الفصل 11

التّكاثر الْجنسيّ والانقسام الاختزاليّ

Sexual Reproduction and Meiosis

مقدّمة

تتكاثر معظم الحيوانات والنباتات تكاثرًا جنسيًّا. تتحد جاميتات مختلفة الجنس لتكون خلية تنقسم بشكل متكرر انقسامًا متساويًا لتعطي في النهاية الجسد البالغ الذي يحوي 100 تريليون خلية تقريبًا. إنّ الجاميتات التي تكوّن الْخليّة الأولى هي نتاج شكل خاص من انقسام الْخليّة يُدعى الانقسامَ الاختزاليّ *Meiosis*، ويظهر في الصورة الجانبية إلى اليسار، وسوف يكون مدارَ الحديث في هذا الفصل. إنّ الانقسام الاختزاليّ أكثر تعقيدًا من الانقسام المتساوي، وتفاصيل ذلك غير معروفة بشكل جيد. إنّ أساس العملية واضح. وإنّ النتائج العميقة المترتبة على التّكاثر الْجنسيّ واضحة كذلك: إنه اللاعب الرئيس في عملية إنتاج تنوّع وراثيّ هائل تشكل المادة الخام لعملية التطور.

- *يهيئ الطّور التّمهيديّ الأول للانقسام الاختزاليّ.*
- *تصطف الكروموسومات المتماثلة خلال الطّور الاستوائيّ الأول.*
- *ينتج الطّور الانفصاليّ الأول بسبب فقدان الكروماتيدات الشقيقة لخاصية الالتصاق على طول أذرعها.*
- *يكتمل الانقسام الاختزاليّ الأول مع نهاية الطّور النهائي الأول.*
- *الانفصال غير التصالبي للكروموسومات المتماثلة أمر محتمل.*
- *يشبه الانقسام الاختزاليّ الثاني الانقسام المتساوي، ولكن من دون تضاعف DNA.*
- *تُنتج الأخطاء التي تحدث في عملية الانقسام الاختزاليّ جاميتاتٍ لا تحتوي على العدد الصحيح من الكروموسومات.*

4-11 تلخيص: مقارنة الانقسام الاختزاليّ مَعَ الانقسام المتساوي.

- *ازدواج الكروموسومات المتماثلة والعبور قد يتطلب لاصقات cohesins خاصة بالانقسام الاختزاليّ.*
- *يُحافظ على التصاقُ الكروماتيدات الشقيقة خلال الانقسام الاختزاليّ الأول، ثم تتحرر في الانقسام الاختزاليّ الثاني.*
- *تَرتبط مواقعُ التحريك الشقيقة مع القطب نفسه خلال الانقسام الاختزاليّ الأول.*
- *يتمّ تثبيط عملية التضاعف بين الانقسامات الاختزالية.*
- *يُنتج الانقسامُ الاختزاليُّ خلايا غير متطابقة.*

سوجز المفاهيم

1-11 يحتاج التّكاثر الْجنسيّ إلى الانقسام الاختزاليّ

- *الانقسام الاختزاليّ يختزل عدد الكروموسومات.*
- *تضم دورة الحياة الجنسية المرحلتين: أحادية الكروموسومات وثنائية الكروموسومات.*
- *تنفصل خلايا الخطّ الجرثوميّ في وقت مبكر في عملية التكوين الجنيني في الحيوانات.*

2-11 خصائص الانقسام الاختزاليّ

- *تزدوج الكروموسومات المتماثلة خلال الانقسام الاختزاليّ.*
- *يتسم الانقسام الاختزاليّ بوجود انقسامين مع تضاعف واحد لـ DNA.*

3-11 عملية الانقسام الاختزاليّ

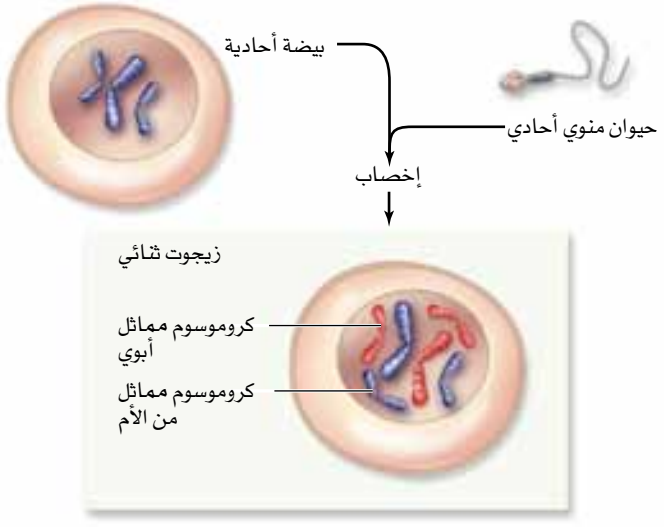
1-11 يحتاج التّكاثر الْجنسيّ إلى الانقسام الاختزاليّ

إن جوهر التّكاثر الْجنسيّ يكمن في مساهمة خليتين في العملية. ويفرض هذا النمط من التّكاثر صعوبات للمخلوقات التي تتناسل جنسيًّا، تبينها العلماء في وقت مبكر. ولقد بدأنا حديثًا في فهم سلوك الكروموسومات خلال عملية الانقسام الاختزاليّ. في البداية، سوف نتطرق بشكل مختصر إلى تاريخ الانقسام الاختزاليّ، وعلاقته بالتناسل الْجنسيّ.

الانقسام الاختزاليّ يختزل عددَ الكروموسومات

بعد سنوات قليلة من اكتشاف العالِم والتر فليمنج للكروموسومات عام 1879، دُهِشَ عالِمُ الْخليّة البلجيكي إدوارد فان بنيدِن من وجود أعداد مختلفة من الكروموسومات في خلايا دودة الإسكارس *Ascaris*. تحديدًا، لاحظ أن **الجاميتات Gametes** (البويضات والحيوانات المنوية) تحتوي على كروموسومين، في حين احتوى كلّ من **الخلايا الجسمية** (الجسدية) **Somatic cells** للأجنة وللبالغين على 4 كروموسومات.

بناءً على هذه الملاحظة، اقترح فان بنيدِن عام 1883 أنّ كلًّا من البويضة والحيوان المنوي احتويا على نصف العدد الكامل للكروموسومات الموجود في الخلايا الأخرى، وأنّهما قد اندمجا ليشكلا **الزيجوت** (البويضة المخصبة) **Zygote**. يحتوي الزيجوت، كباقي الخلايا التي نتجت منه، على نسختين من كلّ كروموسوم. ويسمى اندماج الجاميتات المكوّن للخلية الجديدة **الإخصاب Fertilization أو اتحاد الجاميتات Syngamy**.



الشكل 11-1

خلية ثنائية تحمل كروموسومات من أبوين. تحتوي الْخليّة ثنائية العدد الكروموسومي على نسختين من كلّ كروموسوم: كروموسوم مماثل أمي أسهمت به البيضة الأحادية، القادمة من الأم، وكروموسوم مماثل أبوي أسهم به الحيوان المنوي الأحادي القادم من الأب.

لقد كان واضحًا للباحثين الأوائل أنَّ تكوُّن الجاميتات يتطلّب آليةً لإنقاص العدد الكروموسومي إلى نصف العدد الموجود عند باقي الخلايا. وإنْ لم يحدثْ هذا الاختزال في العدد فسوف تتضاعف أعداد الكروموسومات بعد أجيال قليلة لتصل إلى عدد عالٍ لدرجة مستحيلة. فعلى سبيل المثال، بعد 10 أجيال سيزيد عدد الكروموسومات في خلايا الإنسان من 46 إلى ما يزيد على 47,000 كروموسوم (أي 46×2^{10}).

إن عدد الكروموسومات لا يزيد على حد معين، وذلك بسبب حدوث **الانقسام الاختزاليّ Meiosis** خلال عملية تكون الجاميتات التي تحمل نصف العدد الطبيعي. بعد ذلك يأتي، اندماجُ الجاميتين ليضمنَ ثباتَ عدد الكروموسومات المنتقل من جيل إلى آخر.

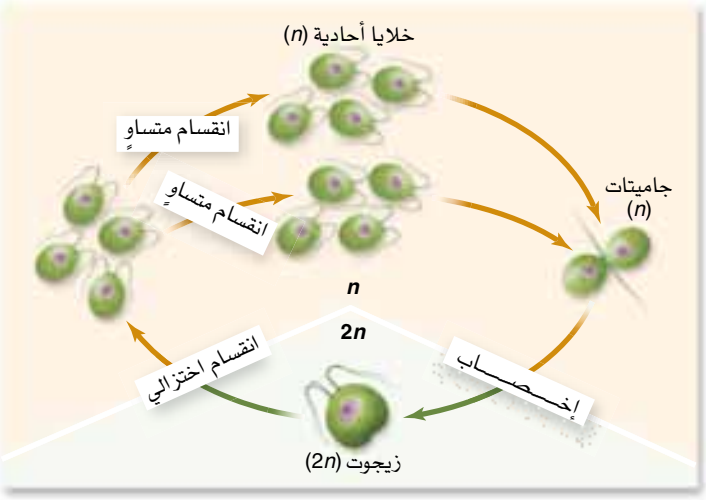
تضم دورة الحياة الجنسية المرحلتين: أحادية الكروموسومات وثنائية الكروموسومات

يكوّن الانقسام الاختزاليّ والإخصاب دورة التّكاثر. هناك مجموعتان من الكروموسومات موجودتان في الخلايا الجسمية للفرد البالغ ما يجعل الخلايا **ثنائية الكروموسومات Diploid**، وهناك مجموعة واحدة من الكروموسومات في الخلايا الجاميتية يجعلها **أحادية الكروموسومات Haploid**. إنّ التّكاثر المرتبط بتعاقب الانقسام الاختزاليّ والإخصاب يسمى **التّكاثر الْجنسيّ Sexual reproduction**. إحدى صفاته الرائعة أنّ النّسل يرثون الكروموسومات من كلا الأبوين (الشكل 11-1). فأنت مثلًا، ورثتَ من والدتِك 23 كروموسومًا (يدعى واحدها المتماثل الأمي) و23 كروموسومًا من والدك (المتماثل الأبوي). تتبع دورة حياة المخلوقات المتكاثرة جنسيًّا نمطًا من التعاقب بين أحادي وثنائي الكروموسومات، ولكن هناك بعض الاختلافات في دورات الحياة. فكثير من أنواع الطحالب مثلًا تقضي معظم دورة حياتها في الطّور الأحادي، إذ ينقسم الزيجوت انقسامًا اختزاليًّا لينتج الخلايا الأحادية التي بدورها تنقسم انقسامًا متساويًا (الشكل 11-2 أ). معظم الحيوانات تكون السيادة فيها للطّور الثنائي، حيث يقوم الزيجوت بالانقسام المتساوي، فينتج منه خلايا ثنائية، ثم يقوم لاحقًا في دورة حياته بالانقسام اختزاليًّا لينتج الجاميتات الأحادية (الشكل 11-2 ب). وتتبادل بعض النباتات وبعض الطحالب بين المرحلتين الأحادية والثنائية خلال دورة حياتها (الشكل 11-2 جـ).

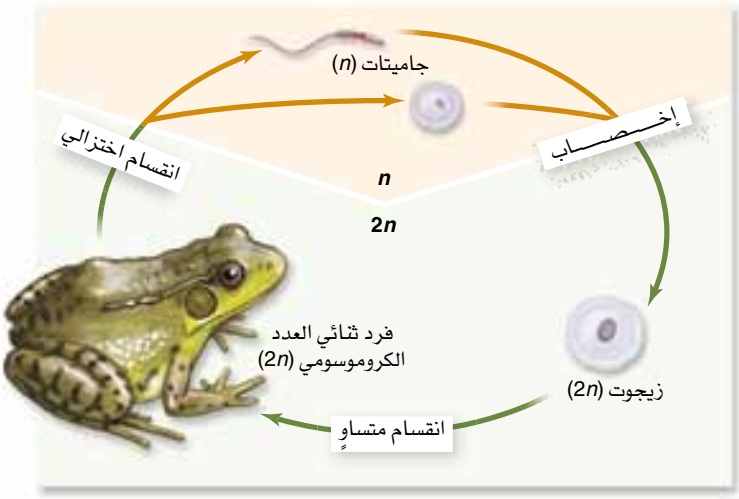
تنفصل خلايا الخطّ الجرثوميّ في وقت مبكر في عملية التّكوين الجنينيّ في الحيوانات

تقوم خلية الزيجوت في الحيوانات بالانقسام المتساوي لينشأ منها الخلايا الجسمية للحيوان البالغ. ويتمّ عزل الخلايا التي ستقوم بإنتاج الخلايا الجاميتية بوضعها جانبًا وبعيدًا عن الخلايا الجسمية في المراحل الأولى من عملية التكوين الجنيني. تعرف هذه الخلايا **بخلايا الخطّ الجرثوميّ Germ-line cells.**

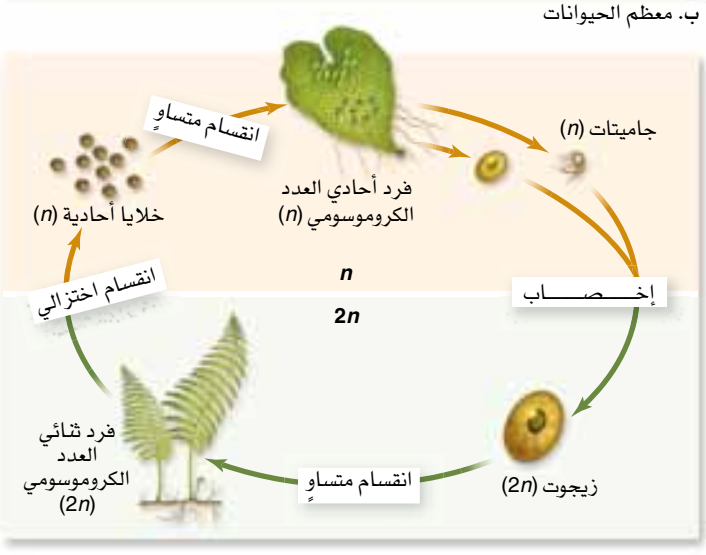
تُعدُّ الخلايا الجسمية وخلايا الْخطّ الجرثوميّ المنتجة للجاميتات من الثنائيات، لكن الخلايا الجسمية تقوم بإنتاج خلايا ثنائية مطابقة لها في التركيب الوراثيّ،



أ. الطحالب والفطريات



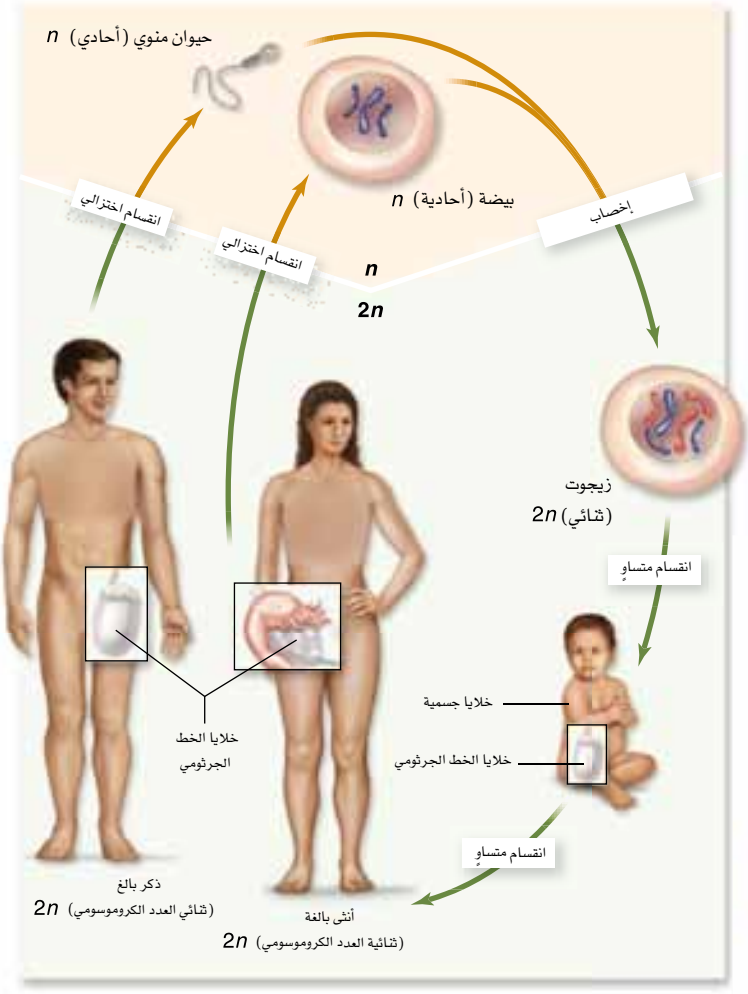
ب. معظم الحيوانات



ج. بعض النباتات وبعض الطحالب

الشكل 11-2

ثلاثة أنواع من دورات الحياة الجنسية. في التّكاثر الْجنسيّ، تتبادل الخلايا أو المخلوقاتُ الأحاديّة العددَ الكروموسوميَّ مع الخلايا أو المخلوقات الثنائية العدد الكروموسومي.



الشكل 11-3

دورة الحياة الجنسية عند الحيوانات. يقوم الزيجوت بالانقسام المتساوي في الحيوانات، وينتج الخلايا الجسمية جميعها. تُعزل جانبًا خلايا الْخطّ الجرثوميّ في وقت مبكر من التشكل، وتقوم بالانقسام الاختزالي؛ لكي تنتج الجاميتات أحادية العدد الكروموسومي (بيضة أو حيوان منوي). تُسمَّى باقي خلايا الجسم الخلايا الجسميةَ.

في حين تقوم خلايا الخطِّ الجرثوميِّ بالانقسام الاختزاليّ لإنتاج الجاميتات الأحادية (الشكل 11-3).

يتطلب التّكاثر الْجنسيّ مساهمة وراثية من قبل خليتين من فردين مختلفين. يقوم الانقسام الاختزاليّ بإنتاج خلايا أحادية تحتوي على نصف العدد الكروموسومي ما يجعل التّكاثر الْجنسيّ ممكنًا. بعد ذلك، يقوم الإخصاب بدمج هذه الخلايا الأحادية لاستعادة الحالة الثنائية في الجيل القادم. يحدث الانقسام الاختزاليّ في خلايا الخطِّ الجرثوميِّ فقط، وتُسمَّى خلايا الجسم الأخرى الخلايا الجسمية، وهي قادرة على القيام بالانقسام المتساوي فقط.

2-11 خصائص الانقسام الاختزاليّ

تختلف آلية الانقسام الاختزاليّ بين المخلوقات المختلفة، وهذه الاختلافات تظهر جلية في آلية انفصال الكروموسومات. فالآلية الموجودة في الطلائعيات والفطريات تختلف بشكل كبير عن تلك الموجودة في الحيوانات والنباتات.

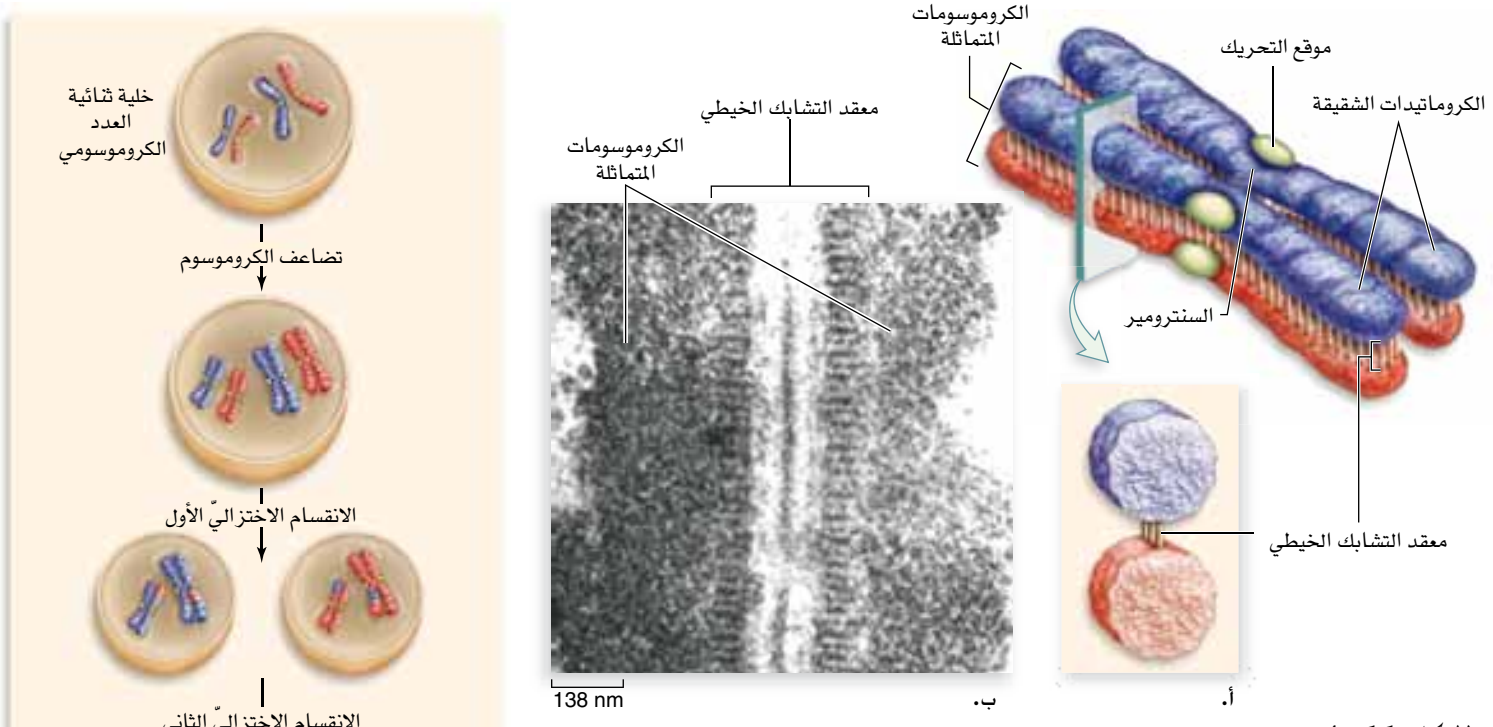
يتكون الانقسام الاختزاليّ في خلايا المخلوق الثنائي من مرحلتين انقساميتين تُسمّيان **الانقسام الاختزاليّ الأول Meiosis I** و**الانقسام الاختزاليّ الثاني Meiosis II**. وتنقسم كلّ مرحة من المرحلتين إلى: الطّور التّمهيديّ، والطّور الاستوائيّ، والطّور الانفصاليّ، والطّور النهائي. قبل أنْ نبدأ بالتفاصيل، علينا أنْ نبحث أولًا في صفات الانقسام الاختزاليّ التي تفرقه عن الانقسام المتساوي.

تزدوج الكروموسومات المتماثلة خلال الانقسام الاختزاليّ

تقوم الكروموسومات المتماثلة خلال المرحلة المبكّرة من الطّور التّمهيديّ الأول بالاقتراب من بعضها في عملية تُسمَّى **الازدواج أو الاقتران Synapsis** (الشكل 11-4 أ) وعلى الرغم من الأبحاث الكثيرة في هذا المجال، إلا أنّ التفاصيل الجزيئية للعملية ما زالت غير واضحة. لقد استخدم علماء الأحياء المجهر الإلكتروني، وعملية التهجين الوراثيّ، والتحاليل الكيميائية الحيوية؛ للكشف عن تفاصيل عملية الازدواج، إلا أنّ صورة هذه العملية لم تكتمل بعد.

معقد التشابك الخيطي

لقد أصبح من الواضح أنّ الكروموسومات المتماثلة تقترب من بعضها في مرحلة الطّور التّمهيديّ الأول. تشمل هذه العملية تكوين بنية معقدة في كثير من الأنواع تُسمَّى **معقد التشابك الخيطي Synaptonemal complex**، التي تتكون من شبكة بروتينية بين الكروموسومات المتماثلة بعد أن ازدوجت عن كثب على طول شبكة من البروتينات التي تمتد بينها (الشكل 11-4 ب). تضم مكونات معقد التشابك الخيطي نوعًا من البروتينات خاصًّا بالانقسام الاختزاليّ يُسمَّى اللاصقات Cohesin وهو البروتينات نفسها التي تربط بين الكروماتيدات الشقيقة في أثناء الانقسام المتساوي (سبق وصفها في الفصل السابق). يساعد هذا النّوع من اللاصقات على ربط الكروموسومات المتماثلة، وعلى ربط الكروماتيدات الشقيقة كذلك، وذلك يؤدّي في النهاية إلى ضمّ الكروماتيدات الأربعة التابعة للكروموسومين المتماثلين بشكل قريب في أثناء هذه المرحلة من الانقسام الاختزاليّ. يُطلقُ على هذه البنى التركيبية الرباعيات *Tetrads* أو الثنائيات المتكافئة *Bivalents*.



جـ.

الشكل 11-4

سمات فريدة للانقسام الاختزاليّ.

أ . تزدوج الكروموسومات المتماثلة خلال الطّور التّمهيديّ الأول من الانقسام الاختزاليّ. تُسمَّى هذه العملية الاقتران، وهي تقوم بإنتاج كروموسومات متماثلة مرتبطة عن طريق تركيب يُسمَّى معقد التشابك الخيطي. تستطيع الكروموسومات المتماثلة، المزدوجة أنْ تتبادلَ الأجزاء خلال عملية تُسمَّى العبورَ.

ب. جزء من معقد التشابك الخيطي للفطر الزِّقيّ *Neotiella rutilans*، وهو فطر كأسي.

جـ. تسمح عملية الازدواج بين الكروموسومات المتماثلة، وليس بين الكروماتيدات الشقيقة في أثناء الانقسام الاختزاليّ الأول بحدوث الانفصال. إن تثبيط تضاعف DNA قبل الانقسام الاختزالي الثاني يؤدي إلى انفصال الكروماتيدات الشقيقة، وينتج منها الناتج الأحادي العدد الكروموسومي النهائي.

تبادل المادة الوراثية بين الكروموسومات المتماثلة

بينما تـزدوج الكروموسـومات المتماثلة في أثنـاء الطّور التّمهيـديّ الأول، تحدث عملية خاصة بالانقسام الاختزاليّ: **إعادة الاتحاد الوراثيّ Recombination** أو **العبـور Crossing over** التـي تسـمح بتبـادل المـادة الكروموسـومية بيـن الكروموسـومات المتماثلـة. تُسـمَّى الملاحظـة الخلويـة لهـذه الظاهـرة العبورَ، ويُدعى الكشـف عنها وراثيًّا إعادة الاتحاد (الخلط الوراثيّ) – إذ إن الأليلات التي كانـت موجودة على الكروموسـومات المتماثلة منفصلـة، قد تصـبح موجودة على الكروموسوم نفسه. (سوف نتناول إعادة الاتحاد الوراثيّ في الفصل المقبل).

تُسمَّى مواقع العبور **التصالبات (الكيازماتا) Chiasmata**. ويتمّ الإبقاء على تلك المواقع حتى نهاية الطّور الانفصاليّ الأول. إنّ الاتصال الفيزيائي بين الكروموسومات المتماثلة من خلال العبور، إضافة إلى الاتصال المستمر بين الكروماتيدات الشقيقة، يؤديان إلى تثبيت الكروموسومات المتماثلة معًا بشكل محكم.

ارتباط الكروموسومات المتماثلة وانفصالها

يستمر الارتباط بين الكروموسومات المتماثلة طوال الانقسام الاختزاليّ الأول، وهو يملي على الكروموسومات طريقة تصرفاتها. في أثناء الطّور الاستوائيّ الأول، تتحرك الكروموسومات المتماثلة المزدوجة في اتجاه صفيحة الطّور الاستوائيّ. وتتوجه، بحيث يكون كلّ فرد من زوج الكروموسومات المتماثلة مرتبطًا مع القطب المقابل للمغزل. وفي المقابل، تتصرف الكروموسومات المتماثلة بشكل مستقل عن بعضها في أثناء الانقسام المتساوي.

في الطّور الانفصاليّ الأول، تُسحب أفراد الكروموسومات المتماثلة نحو الأقطاب المتقابلة لكلّ زوج كروموسومي. يشكل هذا تضادًّا أيضًا بالمقارنة مع الانقسام المتساوي الذي تُسحب فيه الكروماتيدات الشقيقة، وليس الكروموسومات المتماثلة.

ويمكنك أنْ ترى الآن لماذا سمّي الانقسام الأولُ «الانقسامَ الاختزاليَّ»؛ لأنه ينتج خلايا جديدة تحتوي على متماثل واحد من كلّ زوج من الكروموسومات. ولا يقوم الانقسام الاختزاليّ الثاني باختزال عدد الكروموسومات، إنما يقوم بفصل الكروماتيدات الشقيقة العائدة للكروموسوم الواحد.

يتسم الانقسام الاختزاليّ بوجود انقسامين مع تضاعف واحد لـ DNA

إنّ من أكثر الفروق وضوحًا بين الانقسامين الاختزاليّ والمتساوي هو حدوث انقسامين متتاليين في أثناء الانقسام الاختزاليّ دون حدوث تضاعف للمادة الوراثية بينهما. وبمعنى آخر، يجب أنْ يتمّ تثبيط تضاعف DNA بين الانقسامَين الاختزاليَين. إن تصرف الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزاليّ الأول يجعل الخلايا الناتجة، وكأنها قد نتجت عن انقسام متساوٍ لم يحدث خلاله تضاعف لـ DNA، ما ينتج خلايا لديها نصف العدد الأصلي للكروموسومات (الشكل 11-14 جـ). وهذا هو المفتاح الأخير لفهم الانقسام الاختزاليّ: فالانقسام الاختزاليّ الثاني هو مثل انقسام متساوٍ من دون حدوث تضاعف لـ DNA.

يتصف الانقسام الاختزاليّ بازدواج الكروموسومات المتماثلة خلال الطّور التّمهيديّ الأول، وعادة ما يتصاحب مع تكوين تركيب معقد بين الكروموسومات المتماثلة يسمى معقد التشابك الخيطي. يحدث خلال عملية الازدواج تبادُلٌ للمادة الكروموسومية عند مواقع تُسمَّى التصالبات. يسمح الانقسام الاختزاليّ بفصل الكروموسومات المتماثلة في الانقسام الأول، ويتبع ذلك انقسامٌ ثانٍ من دون تضاعف للمادة الوراثية من أجل فصل الكروماتيدات الشقيقة وإنتاج الخلايا مفردة الكروموسومات.

3-11 عملية الانقسام الاختزاليّ

لفهم عملية الانقسام الاختزاليّ؛ من الضروري أنْ نتتبع بتأنٍّ سلوك الكروموسومات خلال الانقسام. تعتمد أحداث الانقسام الاختزاليّ على تبادل أجزاء من الكروموسومات المتماثلة في أثناء عملية العبور، وهذا بدوره يساعد على التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند نقاط التبادل لإبقاء الكروموسومات المتماثلة معًا. إنّ فقدان التصاق الكروماتيدات الشقيقة يختلف عند أذرع الكروموسوم وعند السنترومير (القطعة المركزية). يفقد هذا الالتصاق عند أذرع الكروموسومات في مرحلة الطّور الانفصاليّ الأول، في حين يبقى قائمًا عند السنترومير حتى مرحلة الطّور الانفصاليّ الثاني.

يهيئ الطّور التّمهيديّ الأول للانقسام الاختزاليّ

تمرّ الخلايا المختزلة بالطّور البيني الذي يشـبه أطوار G_1، S، G_2 من الانقسـام المتسـاوي. بعـد الطّـور البيني، تدخل خلايـا الْخـطّ الجرثوميّ عملية الانقسـام الاختزالـيّ الأول. في أثناء الطّـور التّمهيديّ الأول، يلتـف الحمض النووي DNA بشـكل أكثر إحكامًا، وتصبح الكروموسـومات مرئية تحت المجهر الضّوئيّ كشبكة من الخيوط. ولأنّ DNA قد تضاعف قبل بداية الانقسام الاختزاليّ، فإنّ كلّ خيط يمثل اثنتين من الكروماتيدات الشقيقة مرتبطتين عن طريق السنترومير. في أثناء الطّور التّمهيديّ الأول، تصـبح الكروموسـومات المتماثلة أكثـر ارتباطًا من خلال الاقتران، وتتبادل قطعًا عن طريق العبور، ثم تنفصل بعد ذلك.

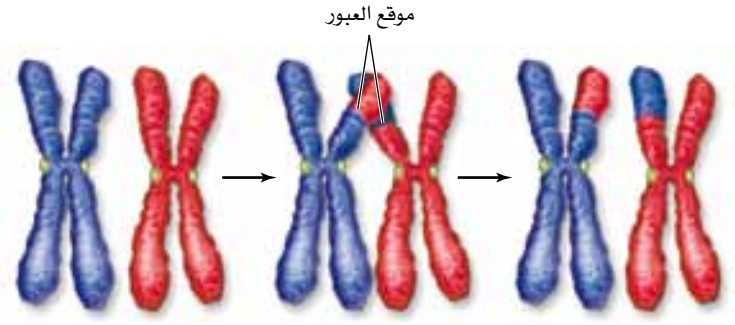
الاقتران *Synapsis*

خلال الطّور البيني في الخلايا الجرثوميّة، تظهر أطراف الكروماتيدات ملتصقة بغلاف النواة في مواقع محددة. وتتقارب المواقع التي تلتصق بها الكروموسومات المتماثلة خلال مرحلة الطّـور التّمهيديّ الأول من بعضها. بعدئذٍ تصطف الكروموسومات المتماثلة جنبًا إلى جنب بهدي من تعاقبات الكروماتين المغاير في عملية تُسمَّى الاقتران.

يؤدي الارتباط إلى ضمِّ الكروموسومات المتماثلة لبعضها على امتداد طولها. أما الكروماتيدات الشقيقة لكلّ كروموسوم متماثل فإنّها تنضمّ هي أيضًا لبعضها عن طريق معقد البروتينات اللاصقة في عملية تُسمَّى التصاق الكروماتيدات الشقيقة *Sister chromatid cohesion* على نحو مماثل لما يحدث في الانقسام المتساوي. وبهذا تكون الكروماتيدات الأربعة العائدة لكلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة المزدوجة قد ازدوجت بشكل حميم.

الْعبور *Crossing over*

إضافة إلى معقد التشابك الخيطي الذي تكوّن في أثناء الطّور التّمهيديّ الأول (انظر الشكل 11-4)، فإنّ هناك نوعًا آخر من التراكيب يظهر متزامنًا مع عملية إعادة الاتحاد *Recombination*. يُسمَّى هذا عقدة إعادة الاتحاد *Recombination nodule*، ويُظَنُّ أنّها مواقع تحتوي على الأنزيمات اللازمة لقطع وإعادة ربط كروماتيدات الكروموسومات المتماثلة.



الشكل 11-5

نتائج العبور. قد تتبادل الكروموسومات المتماثلة أجزاءً منها خلال عملية العبور.

يتضمن العبورُ سلسلةً معقدة من الأحداث، يتمّ بها تبادل قطع بين الكروماتيدات غير الشقيقة (الشكل 11-5). ويجدر القول: إنّه يتمّ تثبيط عملية العبور بين الكروماتيدات الشقيقة في أثناء الانقسام الاختزاليّ. ويتمّ التحكم في عملية تبادل العبور بين الكروماتيدات غير الشقيقة، بحيث إنّ كلّ ذراع كروموسوم يقوم بهذه العملية مرة واحدة، أو عددًا قليلًا من المرات خلال الانقسام الاختزاليّ، بغض النظر عن حجم الكروموسوم. وتقوم كروموسومات الإنسان بعمليتين أو ثلاث عمليات عبور خلال الانقسام الاختزاليّ الواحد.

عند انتهاء عملية العبور، تتحطّم معقداتُ التشابك الخيطية، وتصبح الكروموسومات المتماثلة أقلَّ ارتباطًا، ولكنها تبقى مرتبطة عند التصالبات. عند هذه النقطة يكون هناك أربعة كروماتيدات لكلّ نوع من الكروموسومات (اثنان من الكروموسومات المتماثلة، لكلّ منها كروماتيدان شقيقان).

لا تنفصل الكروماتيدات الأربعة بشكل تام؛ لأنها ما زالت مرتبطة بطريقتين:

(1) الكروماتيدات الشقيقة لكلّ كروموسوم متماثل التي تكونت بتضاعف المادة الوراثية مرتبطة معًا بسنترومير مشترك.

(2) الكروموسومات المتماثلة مرتبطة معًا عند نقاط العبور عن طريق التصاق الكروماتيدات الشقيقة حول موقع التبادل. هذه النقاط هي التصالبات التي يمكن رؤيتها بالمجهر الضَّوئيّ. تتحرك التصالبات، مثل حلقات صغيرة تتحرك منزلقة على شريطين من الحبال، نحو نهاية ذراع الكروموسوم قبل الدخول في مرحلة الطّور الاستوائيّ الأول.

وبينما يحدث هذا الازدواج المعقد للكروموسومات، تأخذ أحداث أخرى مجراها خلال الطّور التّمهيديّ الأول. فغلاف النواة يجب أنْ يتبعثر كما تتبعثر تراكيب المرحلة البينية للأنيبيبات. تتحول الأنيبيبات إلى مغزل، تمامًا كما يحدث في الانقسام المتساوي.

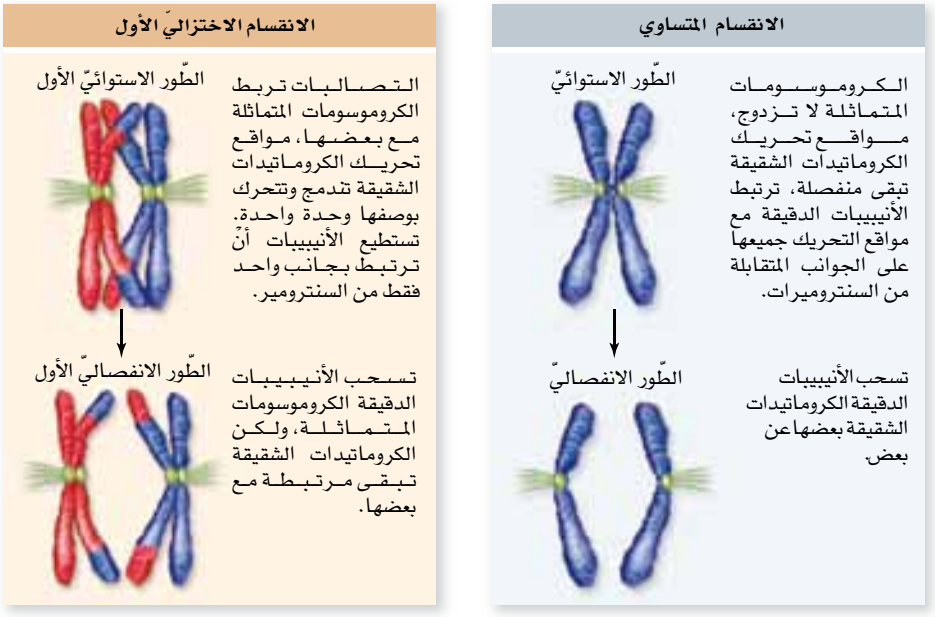
تصطف الكروموسومات المزدوجة خلال الطّور الاستوائيّ الأول

يبلوغ الطّور الاستوائيّ الأول، وهي المرحلة الثانية في الانقسام الاختزاليّ، تكون التصالبات قد تحركت إلى نهاية الكروموسومات المزدوجة؛ وعند هذه النقطة، فإنّها تُسمَّى التصالباتِ الطرفيةَ *Terminal chiasmata* وهي التي تربط الكروموسومات المتماثلة في الطّور الاستوائيّ الأول بعضها مع بعض بحيث تصطف الكروموسومات المتماثلة عند خطٍّ استواء الْخليّة.

ترتبط الأنيبيبات الدقيقة بمواقع التحريك (كاينيتوكور) بحيث تعمل مواقع تحريك الكروماتيدات الشقيقة بوصفها وحدة واحدة. يسبب هذا تعلق الأنيبيبات من الأقطاب المتقابلة بمواقع تحريك الكروموسومات المتماثلة *Homologues* وليس بتلك الكروماتيدات الشقيقة (الشكل 11-6). إن قدرة السنترومير الشقيقة على التصرف بوصفها وَحدة واحدة في أثناء الانقسام الاختزاليّ الأول غير مفهومة بعد. ولقد اقترح بناء على بيانات من المجهر الإلكتروني أنّ السنترومير/موقع التحريك تتراص في أثناء عملية الانقسام الاختزاليّ الأول، ما يسمح لهما بالعمل بوصفهما وَحدة واحدة.

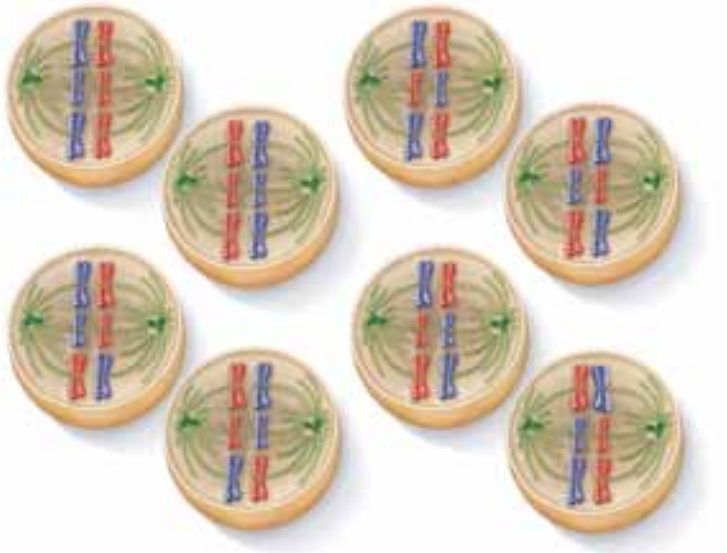
إنّ الارتباط أحادي القطب لسنترومير الكروماتيدات الشقيقة قد يكون له نتائج كارثية لو حدث في الانقسام المتساوي، لكنه حرج جدًّا في الانقسام الاختزاليّ. إنه ينتج شدًّا على الكروموسومات المتماثلة المتصلة عن طريق التصالبات، وعن طريق التصاق الكروماتيدات الشقيقة، فيسحب الكروموسومات المتماثلة المزدوجة إلى خط استواء الْخليّة. بهذه الطريقة، يصطف كلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة على الصفيحة الاستوائية (انظر الشكل 11-6).

إن توجه كلّ زوج على محور المغزل عشوائيّ؛ فإما أنْ يتجه الكروموسوم المماثل الأمي أو الأبوي إلى قطب معين (الشكل 11-7 والشكل 11-8).



الشكل 11-6

اصطفاف الكروموسومات يختلف بين الانقسام الاختزاليّ الأول والانقسام المتساوي. خلال الطّور الاستوائيّ الأول، تقوم التصالبات والروابط بين الكروماتيدات الشقيقة بتثبيت الكروموسومات المتشابهة مع بعضها، وترتبط المواقع المزدوجة لتحريك الكروماتيدات الشقيقة العائدة للكروموسومات المتماثلة بأنيبيبات قادمة من قطب واحد. عند انتهاء الانقسام الاختزاليّ الأول تتحطم الروابط بين أذرع الكروماتيدات، وتتقلص الأنيبيبات لتفصل الكروموسومات المتماثلة عن بعضها. تبقى الكروماتيدات الشقيقة مرتبطة عن طريق السنترومير. خلال الانقسام المتساوي، ترتبط الأنيبيبات القادمة من الأقطاب المتقابلة بمواقع التحريك التابعة لكلّ سنترومير، وعندما تتحطم الروابط بين السنترومير الشقيقة، تقصر الأنيبيبات، وتُسحب الكروماتيدات الشقيقة نحو الأقطاب المتقابلة.



الشكل 11-7

الاتجاه العشوائيّ للكروموسومات على الصفيحة الاستوائية. إن عدد الاتجاهات المحتمل أنْ تصطف عليها الكروموسومات تساوي 2 مرفوعًا إلى القوة المساوية لعدد أزواج الكروموسومات. في هذه الخلية الافتراضية التي تحمل 3 أزواج من الكروموسومات، هناك 8 احتمالات لاصطفاف الكروموسومات (2^3). كلّ اتجاه يقوم بإنتاج جاميتات بتوافيق مختلفة من الكروموسومات القادمة من الأبوين.

ينتج الطّور الانفصاليّ الأول بسبب فقدان الكروماتيدات الشقيقة لخاصية الالتصاق على طول أذرعها

تبدأ الأنيبيبات الموجودة في الخيوط المغزلية بالقصر خلال الطّور الانفصاليّ الأول، وفي أثناء عملية تقلصها تنكسر التصالبات، وتنجذب السنترومیرات نحو أقطاب الخليّة المنقسمة ساحبة معها الكروموسومات.

تبدأ عملية الطّور الانفصاليّ الأول عندما تتحرر الكروماتيدات من الالتصاق على طول الأذرع، ولكن ليس من منطقة السنترومير. هذا التحرر ينتج من تدمير اللاصقات الخاصة بالانقسام الاختزاليّ في عملية تشبه تلك التي توجد في الطّور الانفصاليّ من الانقسام المتساوي. يَكْمُنُ الفرقُ بينها في أنّ تدمير اللاصقات عند السنترومير في الانقسام الاختزاليّ يتمّ تثبيطه بطريقة غير معروفة.

ونتيجة لهذا التحرر، تُسحب الكروموسومات المتماثلة بعيدًا عن بعضها، ولكن ليس الكروماتيدات الشقيقة. ينجذب كلّ واحد من الزوج الكروموسومي المتماثل إلى أحد قطبي الخليّة، ساحبًا معه الكروماتيدين الشقيقين. وعندما تكون خيوط المغزل قد تقلصت لأقصى درجة سيكون لدى كلّ قطب طقم مفرد الكروموسومات كامل، مكوّن من فرد من كلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة.

وبسبب التّوجه العشوائيّ للكروموسومات المتماثلة الموجودة على الصفيحة الاستوائية، فإنّ القطب الواحد سيجذب نحوه كروموسومات أبويّة أو أمية من كلّ زوج متماثل. نتيجة لذلك، فإنّ الجينات الموجودة على الكروموسومات المختلفة تتوزع بشكل مستقل؛ أي إنّ الانقسام الاختزاليّ الأول ينتج **توزيعًا حرًّا Independent assortment** لكروموسومات الأم والأب في الجاميتات.

يكتمل الانقسام الاختزاليّ الأول مع نهاية الطّور النهائي الأول

مَعَ بداية الطّور النهائي الأول، تكون الكروموسومات قد انفصلت، وتجمعت في رزمتين، كلّ منهما موجودة عند قطب من الخليّة. يبدأ الآن غلاف النواة بإعادة التكوّن حول كلّ من النواتين الجديدتين.

ولأنّ كلّ كروموسوم موجود داخل نواة ابنة قد تضاعف قبل بدء الانقسام الاختزاليّ الأول، فإنّ كلّ كروموسوم يتألف من كروماتيدين شقيقين مربوطين عن طريق سنترومير مشترك. لاحظ أنّ الكروماتيدات الشقيقة غير متطابقة، وذلك بسبب عملية العبور التي حدثت في الطّور التّمهيديّ الأول (الشكل 11-8) وسوف نرى كيف سيكون لهذا الأمر معنى مهم في التّنوع الوراثيّ.

قد تحدث عملية الانقسام السيتوبلازمي، فتقسم السيتوبلازم ومحتوياته أو قد لا تحدث بعد الطّور النهائي الأول. ويحدث الانقسام الاختزاليّ الثاني بعد مدة فاصلة قد يختلف طول مدتها.

الانفصالُ غير التصالبي للكروموسومات المتماثلة أمرٌ محتمل

يشير الوصف السابق للانقسام الاختزاليّ الأول إلى أنّ الكروموسومات المتماثلة يرتبط بعضها مع بعض عن طريق التصاق الكروماتيدات وبالتصالبات. ينتج من هذا الارتباط سلوكٌ حرج للكروموسومات في أثناء الطّور الاستوائيّ الأول والطّور الانفصاليّ الأول، عندما تتحرك الكروموسومات المتماثلة نحو صفيحة الطّور الاستوائيّ، ومن ثَمَّ تتحرك في اتجاه الأقطاب المتقابلة.

على الرغم من أنّ الارتباط بين الكروموسومات المتماثلة هو القاعدة، إلا أنّه يوجد هناك استثناءات. فعلى سبيل المثال، لا تحدث عملية إعادة الاتحاد في ذكر ذبابة الفاكهة *Drosophila* ومع ذلك، فإنّ عملية الانقسام الاختزاليّ تسير بشكل دقيق، وهي عملية تُدعى **الانفصال غير التصالبي Achiasmate segregation** (دون تصالب). هناك مؤشرات تدلّ على حدوث عمليات بديلة لربط الكروموسومات والسماح لها بالانفصال خلال الطّور الانفصاليّ الأول. ولقد تمت الإشارة إلى دور القطعة الطرفية (التيلومير) وتعاقب الكروماتين المتغاير، غير أنّ التفاصيل غير معروفة.

على الرغم من وجود هذه الاستثناءات، إلا أنّ الغالبية العظمى لأنواع المخلوقات تعتمد على التصالبات والالتصاق بين الكروماتيدات في عملية فصل الكروموسومات المتماثلة بعضها عن بعض في أثناء مرحلة الطّور الانفصاليّ الأول.

يشبه الانقسامُ الاختزاليُّ الثاني الانقسامَ المتساويَ ولكن دون تضاعف DNA

عادة ما تكون المرحلة البينية بين الانقسام الاختزاليّ الأول والانقسام الاختزاليّ الثاني قصيرة، ولا تتخللها مرحلة صناعة DNA: بمعنى أنّ هناك تشابهًا بين الانقسام الاختزاليّ الثاني والانقسام المتساوي. تتلاحق بعد ذلك بسرعة مراحل الطّور التّمهيديّ الثاني، ثم الطّور الاستوائيّ الثاني، ثم الطّور الانفصاليّ الثاني، ثم الطّور النهائي الثاني (انظر الشكل 11-8).

الطّور التّمهيديّ الثاني Prophase II: تدخل رزم الكروموسومات عند قطبي الخليّة في طور تمهيدي مختصر، ويتمّ تحطم غلاف النواة، وتبدأ الخيوط المغزلية في التكوُّن.

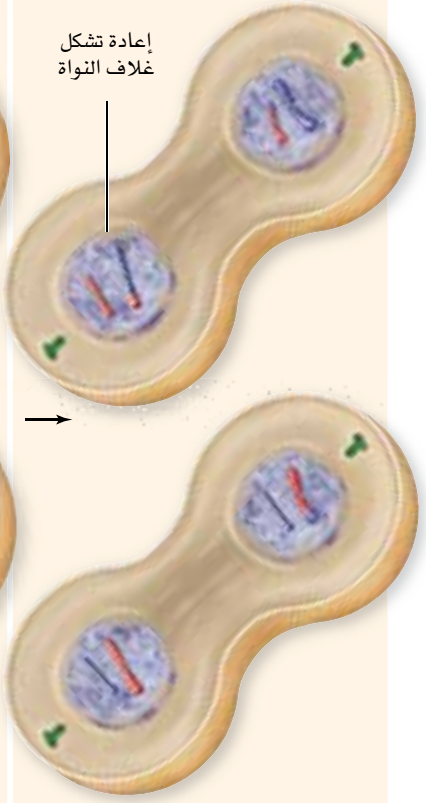
الطّور الاستوائيّ الثاني Metaphase II: تبدأ الخيوط المغزلية القادمة من قطبي الخليّة في الارتباط بمواقع التحريك لكلّ كروماتيد شقيق، وتسمح لكلّ كروموسوم أنْ يتحرك نحو صفيحة الطّور الاستوائيّ نتيجة للشّدّ على الكروموسومات من قِبَلِ الأنيبيبات الدقيقة التي تسحب السنترومیرات الشقيقة. تشبه هذه العملية إلى حد كبير الطّور الاستوائيّ في الانقسام المتساوي.

الطّور الانفصاليّ الثاني Anaphase II: تبدأ الخيوط المغزلية في التقلص، وتتحطم معقدات اللاصقات التي تربط سنترومير الكروماتيدات الشقيقة، ما يشق السنترومیرات، ويسحب الكروماتيدات الشقيقة إلى الأقطاب المتناظرة. هذه العملية هي نفسها التي تجري في الانقسام المتساوي.

الطّور النهائي Telophase II: أخيرًا، يتكون غلاف النواة حول المجموعات الأربع من الكروموسومات الابنة، ثم يتبع ذلك الانقسام السيتوبلازمي.

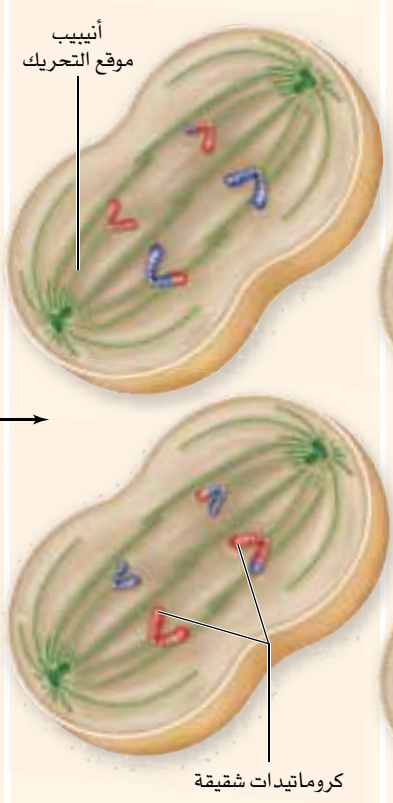
إنّ المحصلة النهائية لهذا الانقسام هي أربع خلايا أحادية الكروموسومات، ويمكن لهذه الخلايا أنْ تتشكل لتصبح جاميتات، كما يحدث في الحيوانات. بدلا من ذلك، قد تنقسم الخلايا انقسامًا متساويًا لكي تعطى أعدادًا كبيرة من الجاميتات، كما يحدث في النباتات والفطريات وكثير من الطلائعيات، أو تنتج أفرادًا بالغين يحملون أعدادًا مختلفة من الكروموسومات، كما يحدث في بعض النباتات والحشرات.

الطّور النهائي الثاني



في الطّور النهائي، يتمّ إعادة تشكل غلاف النواة حول أربع مجموعات مختلفة من الكروموسومات. ويتمّ إنتاج أربع خلايا أحادية العدد الكروموسومي بعد انقسام السيتوبلازم. لا توجد خليتان متماثلتان بين الخلايا الأربع الناتجة بسبب الاصطفاف العشوائيّ للكروموسومات المتماثلة خلال الطّور الاستوائيّ الأول، وعملية العبور خلال الطّور التمهيدي الأول.

الطّور الانفصاليّ الثاني



عندما تتقلص الأنيبيبات خلال الطّور الانفصاليّ الثاني، تنشق السنترروميرات، ويتمّ سحب الكروماتيدات الشقيقة إلى الأقطاب المتقابلة.

الطّور الاستوائيّ الثاني

في أثناء الطّور الاستوائيّ الثاني، يتشكل جهاز مغزل كامل في كلّ خلية جديدة. تصطف الكروموسومات المتماثلة المكونة من كروماتيدات شقيقة مرتبطة عن طريق سنترومير على صفيحة الطّور الاستوائيّ للخلية. ومن ثم ترتبط أنيبيبات مواقع التحريك من الأقطاب المتقابلة مع مواقع تحريك الكروماتيدات الشقيقة.

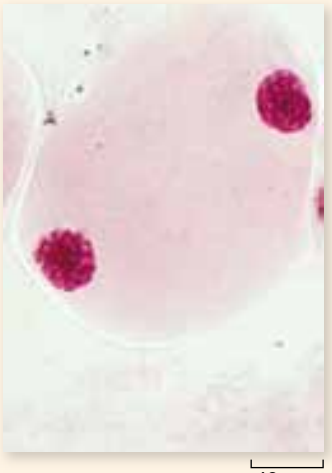
الطّور التّمهيديّ الثاني

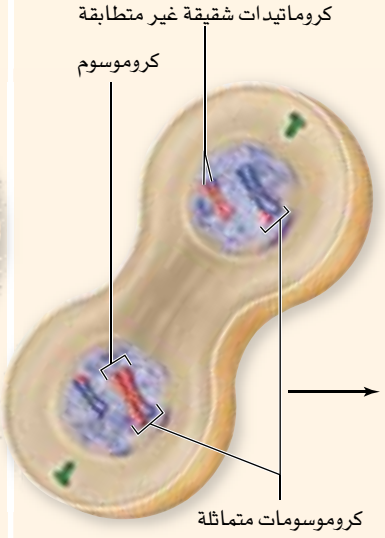
بعد توقف قصير بين مرحلتي الانقسام الاختزاليّ، ودون حدوث مرحلة التضاعف، تبدأ عملية الانقسام الاختزاليّ الثاني. خلال الطّور التّمهيديّ الثاني، تتكون خيوط مغزلية جديدة في كلّ خلية، ويتلاشى غلاف النواة. في بعض الأنواع، لا يعاد تشكيل غلاف النواة في الطّور النهائي الأول، وبذلك لا تكون هناك حاجة إلى تحطيم غلاف النواة.

الشّكل 11-8

مراحل الانقسام الاختزاليّ. الانقسام الاختزاليّ في خلية نباتية (الصور)، وفي خلية حيوانية (الرسم).

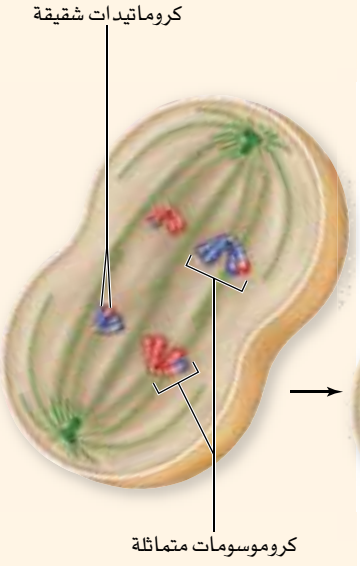
الطّور النهائي الأول





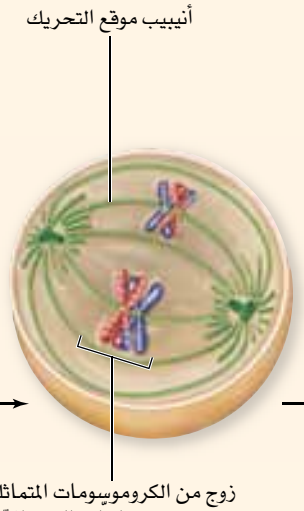
تتجمع الكروموسومات المتماثلة التي تم فصلها عند كلّ من القطبين، وتتمّ إعادة تشكيل غلاف النواة للخلية الجديدة، ويحتمل حدوث الانقسام السيتوبلازمي عند هذه المرحلة. الخليتان الجديدتان تحملان نصف العدد الكروموسومي الموجود أصلاً في الخليّة الأم، وفي هذا المثال تحديدًا فإنّ كلّ نواة تحمل كروموسومين (مقابل ٤ كروموسومات كانت تحملها الخليّة الأصلية). كلّ كروموسوم ما زال بحالة مضاعفة، ويتكون من كروماتيدين شقيقين، ولكنهما ليسا متطابقين بسبب حدوث العبور.

الطّور الانفصالي الأول



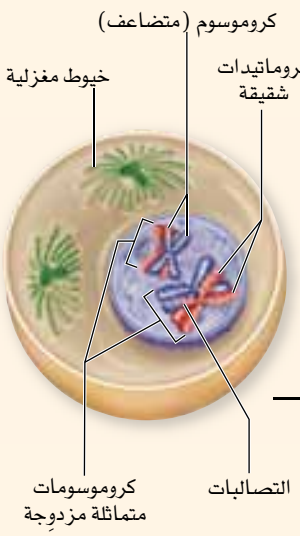
تتقلص أنيبيبات مواقع التحريك، وتتباعد الكروموسومات المتماثلة عن بعضها. وسيذهب أحد الكروموسومات المتماثلة المتضاعفة إلى أحد أقطاب الخليّة، في حين يذهب الكروموسوم المماثل الآخر المتضاعف إلى القطب الآخر. ولا يتمّ انفصال الكروماتيدات الشقيقة عن بعضها، وهذا يختلف عما يحدث في الانقسام المتساوي، حيث تصطف الكروموسومات المتماثلة المتضاعفة بشكل فردي على صفيحة الطّور الاستوائيّ. وترتبط بعدها أنيبيبات مواقع التحريك من الأقطاب المتقابلة للخلية بالجوانب المتقابلة لأحد سنترروميرات الكروموسوم المماثل، حيث تُجذب الكروماتيدات الشقيقة، وتفصل عن بعضها في الطّور الانفصاليّ.

الطّور الاستوائيّ الأول



في أثناء الطّور الاستوائيّ، تصطف أزواج الكروموسومات المتماثلة على طول صفيحة الطّور الاستوائيّ. تسهم التصالبات في المحافظة على ازدواجية الكروموسومات، وتحدث شدًّا عندما ترتبط الأنيبيبات من الأقطاب المتقابلة بمواقع التحريك الشقيقة لكلّ من الكروموسومات المتماثلة. يرتبط أنيبيب موقع تحريك من أحد أقطاب الخليّة بواحد من الكروموسومات المتماثلة في حين يرتبط أنيبيب موقع التحريك من القطب الآخر بالكروموسوم المتماثل الآخر من الزوج.

الطّور التّمهيديّ الأول



في الطّور التّمهيديّ الأول من الانقسام الاختزاليّ الأول، تبدأ الكروموسومات بالتجمع، وتبدأ أنيبيبات الخيوط المغزلية في التّكوّن. لقد تم تضاعف DNA وكلّ كروموسوم يتكون من كروماتيدين شقيقين. في الصورة الموضحة، هناك أربعة كروموسومات (زوجان من الكروموسومات المتماثلة). تزدوج الكروموسومات المتماثلة، وتصبح قريبة من بعضها في أثناء الاقتران. يحدث العبور، ويتمّ تشكيل التصالبات التي تثبت الكروموسومات المتماثلة مع بعضها.

تُنتجُ الأخطاءُ التي تحدثُ في عملية الانقسام الاختزاليّ جاميتاتٍ لا تحتوي على العدد الصّحيح من الكروموسومات

من الضروري أنْ تتمّ عملية الانقسام الاختزاليّ بشكل دقيق، وإلا فسوف ينتج منها جاميتاتٌ لا تحمل العدد الصحيح من الكروموسومات. وتُسمَّى الحالة التي تنتج من فشل الكروموسومات في الانجذاب نحو أقطاب الخليّة في أثناء عملية الانقسام الاختزاليّ، عدم الانفصال *Nondisjunction*، ويترتب عليها إنتاج جاميت لا يحتوي على كروموسوم وجاميت آخر يحتوي على نسختين من ذلك الكروموسوم. تُسمَّى هذه الجاميتاتُ **جاميتاتٍ غيرَ حقيقية التضاعف الكروموسومي** (لا تحتوي على العدد الصحيح من الكروموسومات) **Aneuploid gametes**. وهذه الحالة من أكثر الحالات المسببة لعملية الإجهاض في الإنسان.

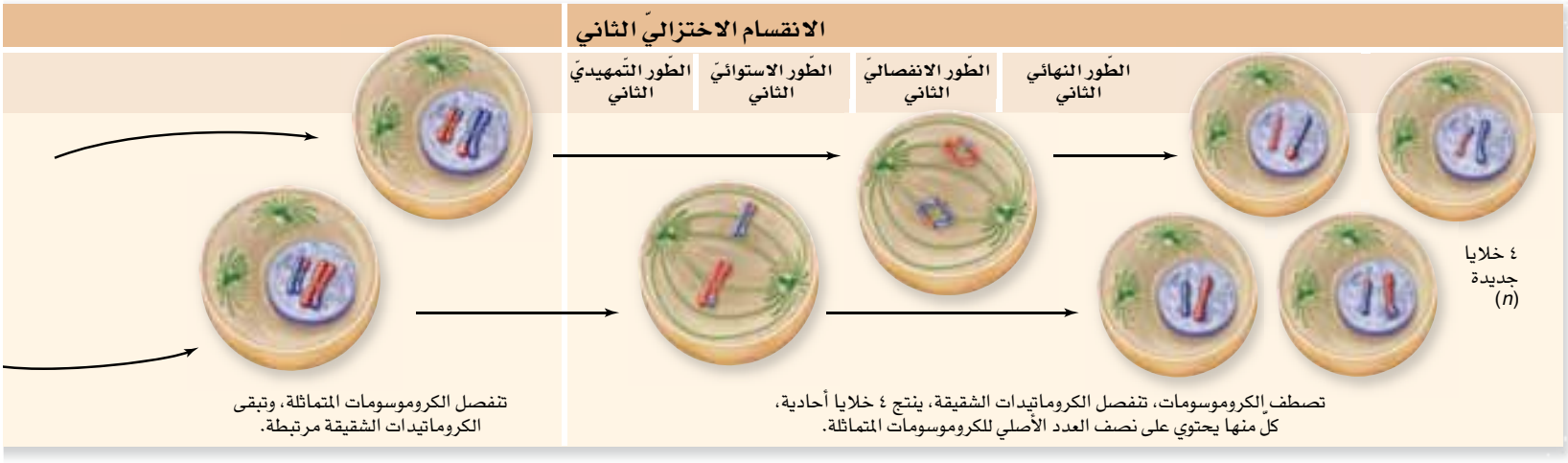
خلال الطّور التّمهيديّ الأول، تقوم الكروموسومات المتماثلة بالازدواج على كامل طولها. يسهم تبادل قطع من الكروموسومات بين الكروموسومات المتماثلة إضافة إلى التصاق الكروماتيدات الشقيقة في ربط الكروموسومات المتماثلة، بحيث يتمّ فصلهما خلال الطّور الانفصاليّ الأول. يؤدي فقدان التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند الأذرع، ولكن ليس عند السنترومير، إلى انجذاب الكروموسومات المتماثلة نحو الأقطاب المتقابلة ما ينتج عنه تنصيف العدد الكروموسومي بشكل فعال. يبدأ الانقسام الاختزاليّ الثاني بعد الانقسام الاختزاليّ الأول، ولا يصاحبه تضاعف، وفيه تنجذب الكروماتيدات الشقيقة نحو الأقطاب المتقابلة تمامًا كما يحدث في الانقسام المتساوي.

4-11 تلخيص: مقارنة الانقسام الاختزاليّ مع الانقسام المتساوي

يَكْمُنُ مفتاحُ فهم الانقسام الاختزاليّ في معرفة الفرق بين الانقسامين الاختزاليّ والمتساوي. فعلى الرغم من أنّ الآلية واحدة، فإن سلوك الكروموسومات في الانقسام الاختزاليّ الأول هو الذي يشكل الفرق بين الانقسامين.

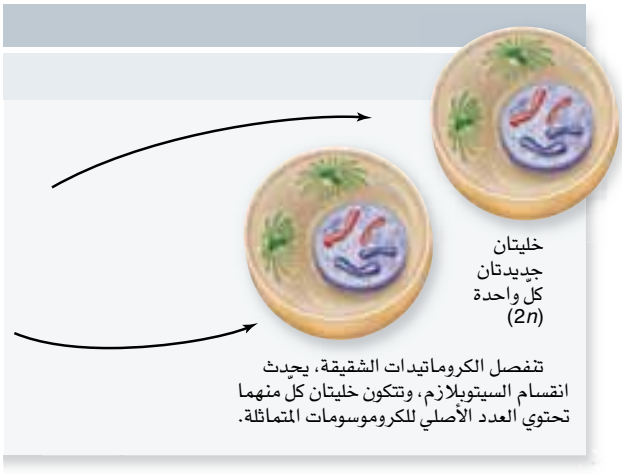
يتميز الانقسام الاختزاليّ بأربع سمات:

1. ازدواج الكروموسومات المتماثلة والعبور هما اللذان يربطان الكروموسومات الأبوية والأمية المتماثلة.
2. الانفصال المترافق للسنترومیرات الشقيقة في أثناء الطّور الانفصاليّ الأول بسبب محافظة الكروماتيدات الشقيقة على الالتصاق عن طريق السنترومیرات الشقيقة.
3. ارتباط مواقع التحريك الشقيقة الموجودة على الكروماتيدات مع القطب نفسه في أثناء عملية الانقسام الاختزاليّ الأول، ومَعَ الأقطاب المتقابلة في الانقسام المتساوي.
4. تثبيط عملية التضاعف بين الانقسامين الاختزاليّين الأول والثاني.



الشكل 11-9

مقارنة بين الانقسام الاختزاليّ والانقسام المتساوي. يرتبط الانقسام الاختزاليّ بحدوث انقسامين نوويين دون أنْ يحصل تضاعف DNA بينهما. وبناء عليه، فإنه ينتج 4 خلايا جديدة، كلّ واحدة منها تحتوي على نصف العدد الأصلي من الكروموسومات. يحدث العبور في الطّور التّمهيديّ الأول من الانقسام الاختزاليّ. الانقسام المتساوي يرتبط بحدوث انقسام نووي واحد بعد تضاعف DNA، ولهذا تنتج منه خليتان جديدتان، كلّ واحدة تحتوي على العدد الأصلي من الكروموسومات.



استقصاء

لو أنّ كروموسومات الخليّة المنقسمة انقسامًا متساويًا تصرفت بشكل مماثل للكروموسومات في الانقسام الاختزاليّ الأول، فهل ستكون الخلايا الناتجة حاملة للتركيب الكروموسومي الطبيعي؟

وعلى الرغم من عدم وضوح الآلية الجزيئية، فإننا سوف نستعرض في الجزء الآتي ما هو معروف عن هذه السّمات.

ازدواج الكروموسومات المتماثلة والعبور قد يتطلّب لاصقاتٍ Cohesins خاصة بالانقسام الاختزاليّ

يعدّ ازدواج الكروموسومات المتماثلة في أثناء الطّور التّمهيديّ الأول في الانقسام الاختزاليّ أول انحراف عن الانقسام المتساوي (الشكل 11-9). وتُعَدُّ الكيفية التي تجد من خلالها الكروموسومات المتماثلة بعضها، وتصطف من أعظم الأمور الغامضة المتعلقة بالانقسام الاختزاليّ. غير أنّ هناك بعض الأدلة الخلوية التي تشير إلى دور التيلومير، إضافة إلى مواقع نوعية أخرى بوصفها ضرورة للازدواج. غير أنّ هذه المعلومة لا توضح إلا القليل من أساسيات هذه العمليّة.

لقد تم تسليط بعض الضَّوء على تلك الآلية بعد اكتشاف بروتينات اللاصقات الخاصة بالانقسام الاختزاليّ. ففي الخميرة، يصبح بروتين Rec8 جزءًا من معقد اللاصقات، فيحلّ بذلك محلّ بروتين Scc1 الخاص بالانقسام المتساوي. ولقد رأينا في الفصل العاشر كيف يتمّ تحطيم Scc1 في أثناء الطّور الانفصاليّ للانقسام المتساوي، ليسمحَ للكروماتيدات الشقيقة لكي تسحب نحو الأقطاب المتقابلة: إنّ دور Rec8 مشابه، ولكنه معقد بدرجة أكبر، وسوف نرى ذلك في الجزء الآتي.

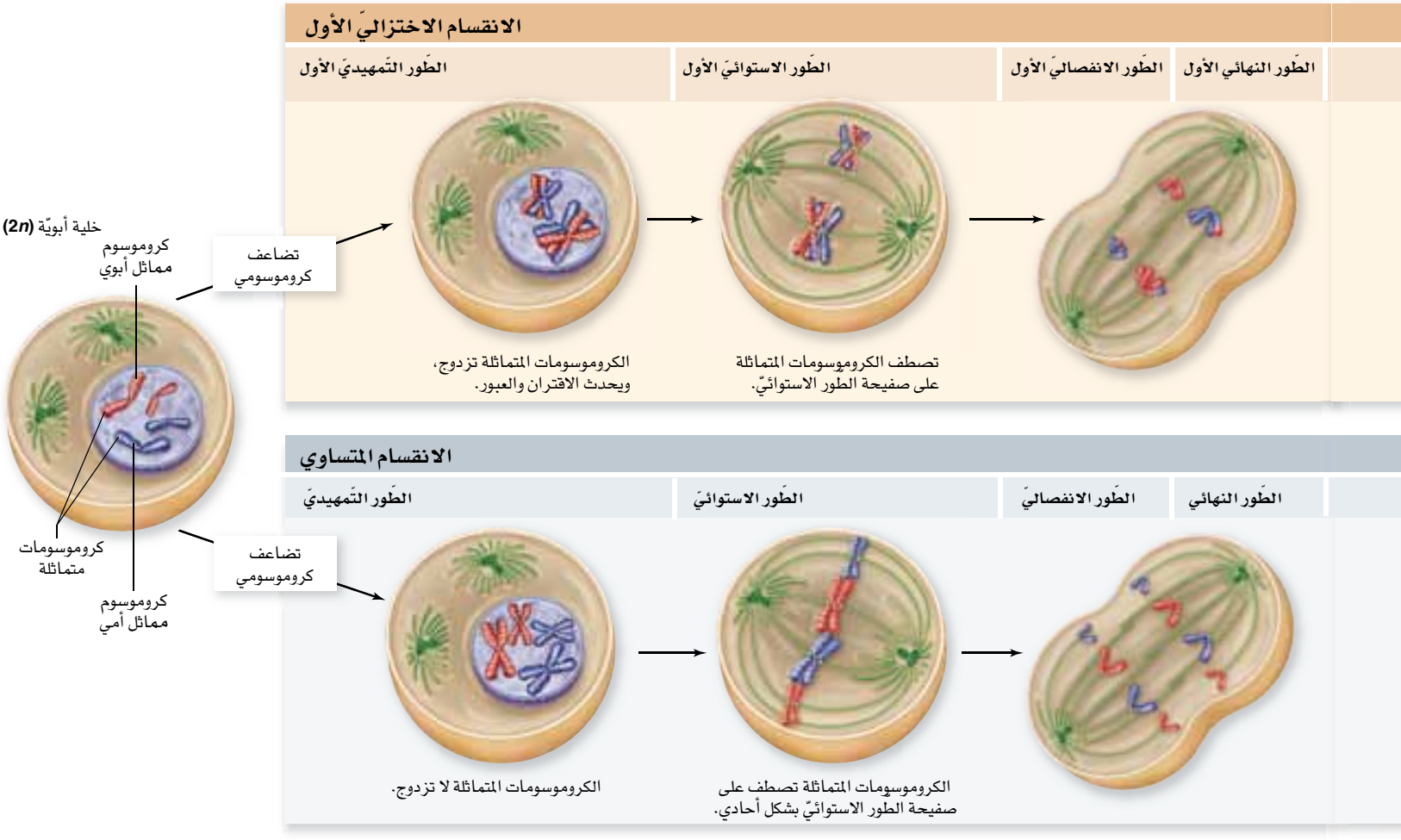
في أنواع أخرى من المخلوقات، مثل الفئران، يتمّ استبدال مكونات أخرى من اللاصقات في أثناء الانقسام الاختزالي. فهناك بروتينات تشكل جزءًا من معقد اللاصقات وجدت مرتبطة مع معقد التشابك الخيطي. وعلى على الرغم من أنّ هذه النتائج لا تشير إلى كيفية عثور الكروموسومات المتماثلة على بعضها، فإنّها تضع عملية الازدواج في السياق المألوف لعملية التصاق الكروماتيدات الشقيقة عن طريق بروتينات اللاصقات.

إن التفاصيل الجزيئية لعملية إعادة الاتحاد التي تُنتج العبور معقدة، ولكن الكثير من أنزيماتها قد تم التعرف إليها. ما يثير الاهتمام، الملاحظة المتعلقة بوجود تداخل بين الآلية الضرورية لعملية إعادة الاتحاد الاختزاليّ، والآلية المتعلقة بإصلاح الكسر ثنائي الخيط في DNA. فمن المحتمل أنْ تكون إعادة الاتحاد قد تطورت من آلية الإصلاح، ومن ثَمَّ تم تسخيرها في فصل الكروموسومات. إنّ أهمية إعادة الاتحاد بالنسبة إلى الانفصال السليم يظهر جليًّا من ملاحظة متعلقة بمخلوقات أخرى، وهي أنّ فقدان أنزيمات إعادة الاتحاد لوظيفتها تتسبب أيضًا في وجود مستويات عالية من عدم الانفصال.

يُحافظ على التصاق الكروماتيدات الشقيقة خلال الانقسام الاختزاليّ الأول، ثم تتحرّر في الانقسام الاختزاليّ الثاني

يتميز الانقسام الاختزاليّ الأول بانفصال الكروموسومات المتماثلة، لا الكروماتيدات الشقيقة، وذلك خلال الطّور الانفصاليّ الأول. ولكي يحدث هذا الانفصال، يجب على السنترومير التابعة للكروماتيدات الشقيقة أنْ تنجذب نحو القطب نفسه من الخليّة، أو تنعزل معًا خلال الطّور الانفصاليّ الأول. هذا يعني أنه يجب إزالة بروتينات اللاصقات الخاصة بالانقسام الاختزاليّ من أذرع الكروموسومات أولًا، ثُمَّ من السنترومير الشقيقة لاحقًا.

ترتبط الكروموسومات المتماثلة عن طريق التصالبات، ثم يربط التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند موقع التبادل الكروموسومات المتماثلة معًا. لقد تبين أنّ تدمير البروتين اللاصق Rec8 الموجود على أذرع الكروموسوم هو الذي يسمح بسحب



الكروموسومات المتماثلة بعضها بعيدًا عن بعض خلال الطّور الانفصاليّ الأول.

بناء على ما تقدم، فإنّ الفرق الرّئيس بين الانقسام الاختزاليّ والانقسام المتساوي يكمن في بقاء التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند السنترومير طوال مراحل الانقسام الاختزاليّ الأول، في حين يُفقد هذا الالتصاق بين أذرع الكروموسومات في أثناء الطّور الانفصاليّ الأول (الشكل 11-9). إنّ من غير الواضح كيف تتمّ حماية معقد اللاصقات عند السنترومير من التحطم، ولكن يظهر أنّ هذه الحماية تأتي من استبدال بروتين Sec1 ببروتين Rec8. إنّ هذا البروتين اللاصق الخاص بالانقسام الاختزاليّ مهم جدًا لبقاء التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند السنترومير إلى أنْ تصل مرحلة الطّور الانفصاليّ الثاني.

ترتبط مواقع التّحريك الشقيقة مَعَ القطب نفسه خلال الانقسام الاختزاليّ الأول

يتطلّب عزل السينترومير الشقيقة معًا أنْ ترتبط مواقع التحريك إلى القطب نفسه في أثناء الانقسام الاختزاليّ الأول. يختلف هذا الارتباط عما يحدث في الانقسام المتساوي والانقسام الاختزاليّ الثاني (الشكل 11-9) حيث ترتبط مواقع التحريك الشقيقة بالأقطاب المتقابلة.

إنّ أسس عملية ارتباط مواقع التحريك الشقيقة بالقطب الواحد غير واضحة التفاصيل، ولكن من الظاهر أنّها تعتمد على وجود اختلافات تركيبية بين معقدات السنترومير ومعقدات مواقع التحريك خلال الانقسام الاختزاليّ الأول والانقسام المتساوي. فمواقع التحريك المتكوّنة في الانقسام المتساوي تظهر في المجهر الإلكتروني أنها غائرة قليلًا ومتراجعة ما يجعل الارتباط ثنائي القطب أكثر احتمالًا. أما مواقع التحريك المتكوّنة في الانقسام الاختزاليّ فتبرز بشكل أكبر ما يجعل الارتباط أحادي القطب أكثر سهولة.

من الواضح أنّ المحافظة على التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند السنترومير، والارتباط أحادي القطبية هما متطلبان مهمان لعزل الكروموسومات المتماثلة، وهو ما يفرق بين الانقسام الاختزاليّ الأول والانقسام المتساوي.

يتمّ تثبيط عملية التضاعف بين الانقسامات الاختزالية

بعد الانقسام المتساوي، يجب أنْ يتمّ تضاعف DNA قبل أنْ تدخل الْخليّة في انقسام آخر، أمّا في الانقسام الاختزاليّ، فيجب أنْ يتمَّ تثبيط التضاعف بين الانقسامين الأول والثاني؛ كي يختزل عدد الكروموسومات إلى النصف بنجاح. إنّ الآلية التفصيلية لتثبيط التضاعف بين مرحلتي الانقسام غير معروفة. إحدى الملاحظات تشير إلى أنّ مستوى أحد السايكلينات، وهو سايكلين ب، ينخفض بين الانقسامات الاختزالية، ولكن لا يتم فقدانه كليًّا كما هو الحال بين الانقسامات المتساوية.

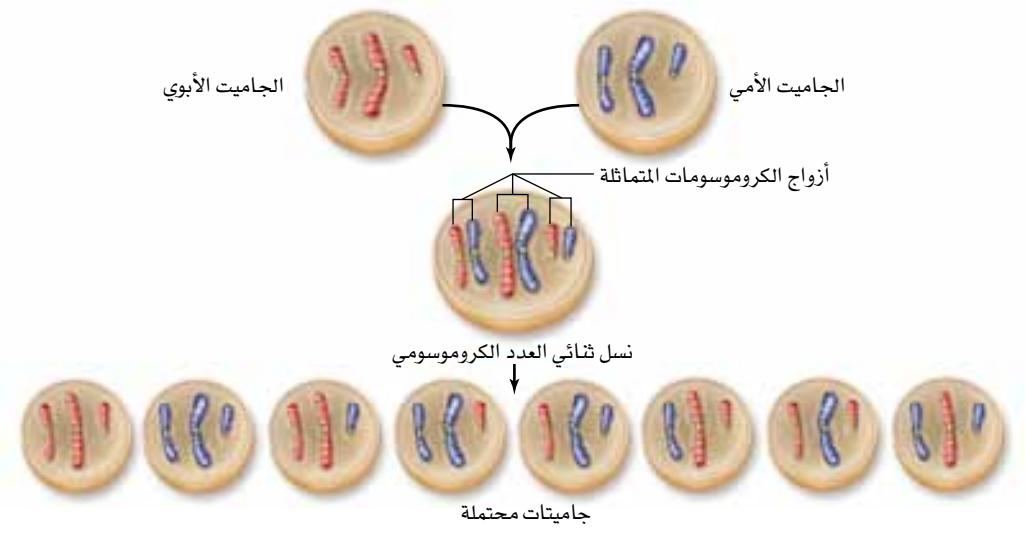
خلال الانقسام المتساوي، يكون تحطيم السايكلينات الخاصة بالانقسام المتساوي ضروريًّا من أجل الدخول في انقسام خلوي آخر. إنّ نتيجة المحافظة على سايكلين ب بين الانقسامات الاختزالية في خلايا الْخطّ الجرثوميّ هو الفشل في تكوين معقدات البدء الضرورية لسير عملية تضاعف DNA. ويبدو أنّ الفشل في تكوين معقدات البدء مهم من أجل تثبيط تضاعف DNA.

ينتج الانقسام الاختزاليّ خلايا غير متطابقة

تتطابق الخلايا الابنة الناتجة عن الانقسام المتساوي مع آبائها من حيث التكوين الكروموسومي على الأقل. هذا التطابق مهم جدًا لإنتاج خلايا جديدة للنمو، أو التكوين الجنيني أو التئام الجروح. أما بالنسبة إلى الانقسام الاختزاليّ، فبسبب التوجه العشوائيّ للكروموسومات المختلفة في الانقسام الاختزاليّ الأول، وبسبب العبور، فإنّ من النادر أنْ يُنتج خلايا متطابقة (الشكل 11-10). فالجاميتات الناتجة عن الانقسام الاختزاليّ جميعها تحمل كامل العدد الأحادي الكروموسومات. غير أنّ هذه الكروموسومات خليط من الكروموسومات المتماثلة الأبوية والأمية، إضافة إلى أنّ الكروموسومات المتماثلة نفسها قد تبادلت المواد من خلال العبور. يُعَدّ هذا الاختلاف الناتج أساسًا لعملية التطور، ولهذا السبب فإنّ المجتمعات التي تتكاثر جنسيًّا لديها تنوّع يفوق المجتمعات التي تتكاثر بطريقة لاجنسية.

إن الانقسام الاختزاليّ ليس مهمًّا لعملية التّكاثر الْجنسيّ فحسب، وإنما هو أساس لفهم مبادئ الوراثة. فالخلايا المختلفة التي تنتج من الانقسام الاختزاليّ تشكل قاعدة أساسية لفهم سلوك الصفات الملاحظة في التهجينات الوراثية. في الفصل القادم، سوف نتعرف إلى سلوك الصفات الناتجة في التهجينات الوراثية، وكيف ترتبط بسلوك الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزاليّ.

يتصف الانقسام الاختزاليّ بازدواج الكروموسومات المتماثلة، وبالتبادل؛ وذلك بفقدان التصاق الكروماتيدات الشقيقة عند الأذرع في الانقسام الأول، ولكن ليس عند السنترومير حتى بداية الانقسام الثاني؛ ويتصف أيضًا بتثبيط تضاعف DNA بين الانقسامين الاختزاليين. الخلايا الأحادية الناتجة عن الانقسام الاختزاليّ ليست متطابقة، وبذلك تسمح بتنوع الأجيال اللاحقة.



الشكل 11-10

التّوزيع الحر يزيد التّنوع الوراثيّ. يدخل التّوزيع الحر تشكيلات جينية جديدة إلى الجيل المقبل بسبب عشوائية اتجاهات الكروموسومات على صفيحة الطّور الاستوائيّ. فعلى سبيل المثال، في الخلايا التي يوجد فيها ثلاثة أزواج من الكروموسومات، يمكن أن تنتج ثمانية جاميتات مختلفة كلّ واحد منها لديه تشكيلة مختلفة من الكروموسومات الأبوية. يزداد ذلك مع حدوث العبور أو إعادة الاتحاد الوراثيّ؛ لأنّ هذا يؤدي إلى عملية خلط إضافية، وترتيب جديد للجينات على الكروموسومات.

مراجعة المفاهيم

11-1 يحتاج التّكاثر الْجنسيّ إلى الانقسام الاختزالي (الشكل 11-2 ب)

الانقسام الاختزاليّ يحوِّل الْخليّة الثنائية الكروموسومات إلى أربع خلايا أحادية العدد الكروموسومي، يحتوي كلّ منها على مجموعة كاملة من الكروموسومات.

- البيضة والحيوان المنوي كلاهما أحادي العدد الكروموسومي، ويحمل مجموعة كاملة من الكروموسومات.
- خلال الإخصاب، يندمج جاميتان أحاديّا العدد الكروموسومي، وينتج زيجوت ثنائي العدد الكروموسومي، ويحوي مجموعتين من الكروموسومات.
- الانقسام الاختزاليّ والإخصاب يكوّنان دورة التّكاثر الْجنسيّ، حيث يتعاقبان بين ثنائي العدد الكروموسومي وأحادي العدد الكروموسومي.
- تنقسم الخلايا الجسمية انقسامًا متساويًا، وتكوّن جسم المخلوق الحيّ.
- تُسمَّى الخلايا التي تنقسم اختزاليًّا خلايا الْخطّ الجرثوميّ.

11-2 خصائص الانقسام الاختزاليّ

الانقسام الاختزاليّ في الخلايا ثنائية العدد الكروموسومي يُقسم إلى مرحلتين انقساميتين تسميان الانقسام الاختزاليّ الأول، والانقسام الاختزاليّ الثاني، دون أنْ يحدث تضاعف للمادة الوراثية بينهما.

- تُسمَّى عمليةُ ازدواجِ الكروموسومات المتماثلة الاقترانَ، وتحدث في وقت مبكر من المرحلة التمهيديّة؛ ولا يحدث الاقتران في أثناء الانقسام المتساوي.
- في أثناء الاقتران، تزدوج الكروموسومات المتماثلة على امتداد طولها، ويربط بينها – غالبًا – بنية تركيبية تُسمَّى معقد التشابك الخيطي (الشكل 11-4).
- تحدث عملية العبور في أثناء الاقتران، ويتمّ خلالها تبادل قطع الكروموسومات (الشكل 11-5).
- تتحرك الكروموسومات المتماثلة المزدوجة نظرًا لازدواجها بوصفها وحدة واحدة نحو صفيحة الطّور الاستوائيّ في أثناء الطّور الاستوائيّ الأول.
- في أثناء الطّور الانفصاليّ الأول، تُسحب الكروموسومات المتماثلة المزدوجة نحو الأقطاب المتقابلة لينتج عنها خليتان في كلّ منهما مجموعة كاملة من الكروموسومات.
- الانقسام الاختزاليّ الثاني شبيه بالانقسام المتساوي، ولكن دون تضاعف DNA.

11-3 عملية الانقسام الاختزاليّ (الشكل 11-8 و 11-9)

يعتمد الانقسام الاختزاليّ على تبادل قطع من الكروموسومات بين الكروموسومات المتماثلة المزدوجة في أثناء العبور ما يساعد على ربط الكروموسومات المتماثلة خلال الانقسام النووي.

- تمرّ الخلايا المنقسمة اختزاليًّا في الطّور البيني وبمراحل G_1، S، و G_2 مثلما يحدث في الانقسام المتساوي.
- تزدوج الكروموسومات المتماثلة على امتداد طولها في عملية تُسمَّى الاقترانَ خلال مرحلة الطّور التّمهيديّ الأول.
  - ترتبط الكروماتيدات الشقيقة لكلّ من الكروموسومين المتماثلين بعضها مع بعض عن طريق البروتينات اللاصقة في عملية تُسمَّى التصاقَ الكروماتيدات الشقيقة.
  - بينما تكون مرتبطة عن طريق معقد التشابك الخيطي، تتكون عقد إعادة الاتحاد ما يسمح للكروموسومات المتماثلة بتبادل المواد الوراثية، ويتمّ تثبيط العبور بين الكروماتيدات الشقيقة للكروموسوم نفسه.
  - يُسمَّى موقع العبور التصالبات.
  - بعد انتهاء العبور، يتمّ تحطيم معقد التشابك الخيطي تاركًا خلفه الكروموسومات المتماثلة مرتبطة مع بعضها عن طريق التصالبات فقط.
  - تبقى الكروماتيدات الشقيقة مرتبطة مع بعضها عن طريق السنترومير.
  - قبل الطّور الاستوائيّ، تتحرك التصالبات إلى نهايات أذرع الكروموسومات المتماثلة المزدوجة لتصبحَ تصالبات طرفيةً تربط الكروموسومات المتماثلة مَعَ بعضها.
- يتبعثر غلاف النواة، وتبدأ الخيوط المغزلية في التكوّن.
- تصطفّ أزواج الكروموسومات المتماثلة خلال الطّور الاستوائيّ الأول على خط استواء الْخليّة.
  - ترتبط الخيوط المغزلية مع مواقع التحريك للكروموسومات المتماثلة، لا مع تلك الموجودة على الكروماتيدات الشقيقة.
  - تصبح أزواج الكروموسومات المتماثلة مرتبطة عن طريق أنيبيب موقع التحريك مع الأقطاب المتقابلة.
  - يكون اتجاه الكروموسومات المتماثلة المزدوجة عشوائيًّا عند خط استواء للخلية. وقد يتوجه أيّ من الكروموسومين المتماثلين، سواء أكان الأبوي أم الأميّ إلى أيٍّ من الأقطاب.
- يتمّ سحب كلّ فرد من زوج من الكروموسومات المتماثلة خلال الطّور الانفصاليّ الأول نحو القطب المضاد.
  - خلال الطّور الانفصاليّ الأول، يتمّ فقدان البروتينات اللاصقة التي تربط بين أذرع الكروماتيدات الشقيقة، ولكن ليس بين السنترومير التي تربط الكروماتيدات الشقيقة.
  - فقدان اللاصقات من على أذرع الكروماتيدات الشقيقة، وليس بين السنترومير، يسهل عملية فصل الكروموسومات المتماثلة.
  - تتقلص أنيبيبات مواقع التحريك لتسحب الكروموسومات المتماثلة بكلّ كروماتيداتها نحو الأقطاب المتقابلة.
  - عند انتهاء الطّور الانفصاليّ الأول، يكون كلّ قطب محتويًا على مجموعة كاملة من الكروموسومات ليصبحَ العددُ أحاديًّا، ويضم واحدًا من كلّ من الكروموسومات المتماثلة.
  - نتيجة الاتجاه العشوائيّ لأزواج الكروموسومات المتماثلة خلال الطّور الاستوائيّ الأول، فإنّ الانقسام الاختزاليّ الأول يؤدي إلى التّوزيع الحرّ للكروموسومات الأبوية والأمية في الجاميتات.
- يتسم الطّور النهائي الأول بإعادة بناء غلاف النواة حول كلّ نواة جديدة، ولا يحدث هذا عند أنواع المخلوقات جميعها.
- قد يحدث انقسام للسيتوبلازم بعد الطّور النهائي الأول، وقد لا يحدث.
- يحدث طور بيني ثانٍ قصير، ولا يحدث خلاله تضاعف للمادة الوراثية.
- الانقسام الاختزاليّ الثاني يشبه الانقسام المتساوي.
- يتمّ تدمير اللاصقات التي تربط سنترومير الكروماتيدات الشقيقة ما يسمح للأخيرة بالتحرك نحو الأقطاب المتضادة.
- ينتج من الانقسام الاختزاليّ الأول والثاني أربع خلايا، يحمل كلّ منها العدد الأحادي من الكروموسومات التي تكون غير متطابقة.
- عند الانتهاء، تقوم الخلايا الأحادية بالانقسام المتساوي لإنتاج عدد أكبر من الجاميتات، أو أفراد بالغين ذوي أعداد أحادية الكروموسومات.
- تقع أخطاء في أثناء الانقسام الاختزاليّ نتيجة لعدم الانفصال بين الكروموسومات.
- ينتج عن عدم الانفصال جاميت يحمل نسختين من الكروموسومات، وجاميت لا يحوي أيًّا من الكروموسومات.
- الجاميتات التي لا تحتوي على العدد الصحيح من الكروموسومات تُسمَّى غير حقيقية التضاعف الكروموسومي.

11-4 تلخيص: مقارنة الانقسام الاختزاليّ مع الانقسام المتساوي

إن الآلية الأساسية للانقسامين الاختزاليّ والمتساوي متماثلة، ولكن سلوك الكروموسومات مختلف تمامًا خلال الانقسام الاختزاليّ الأول.

- هناك أربع سمات للانقسام الاختزاليّ الأول لا توجد في الانقسام المتساوي.
  - ازدواج الكروموسومات المتماثلة الأبوية والأمية، وتبادل المادة الوراثية عن طريق العبور.
  - تتصرف مواقع تحريك الكروماتيدات الشقيقة بوصفها وَحْدة واحدة خلال الانقسام الاختزاليّ الأول، ما يسمح للكروماتيدات الشقيقة بالانفصال معًا في أثناء الطّور الانفصاليّ الأول.
  - ترتبط مواقع تحريك الكروماتيدات الشقيقة مع أحد الأقطاب في أثناء الانقسام الاختزاليّ، في حين ترتبط مع كلا القطبين في الانقسام المتساوي.
  - يتمّ تثبيط تضاعف DNA في المدة بين الانقسامين الاختزاليّين؛ الأول والثاني.
- إنّ الخلايا الجديدة الناتجة عن الانقسام الاختزاليّ ليست متطابقة وراثيًّا بسبب التّوزيع الحرّ للكروموسومات المتماثلة، وبسبب العبور.
- الانقسام الاختزاليّ أساسي لفهم مبادئ الوراثة.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. تحتوي الجاميتات على _____ عدد الكروموسومات الموجودة في الخلايا الجسمية.
   أ . نفس. ب. ضعف.
   جـ. نصف. د . ربع.
2. الخلايا الجسمية _____، في حين خلايا الجاميتات _____
   أ . أحادية؛ ثنائية. ب. ثنائية؛ متعددة.
   جـ. متعدد؛ أحادية. د . ثنائية؛ أحادية.
3. يُعدُّ المخلوقُ الحيُّ ثنائيًّا إذا كان:
   أ . محتويًا على مواد وراثية من الأبوين.
   ب. متعدد الخلايا.
   جـ. يتكاثر.
   د . يقوم بالانقسام المتساوي.
4. الكروموسومات المتماثلة هي:
   أ . نصفان من كروموسوم تضاعف.
   ب. كروموسومان متطابقان من أحد الأبوين.
   جـ. كروموسومان متطابقان وراثيًّا، واحد من كلٍّ من الأبوين.
   د . كروموسومان متشابهان وراثيًّا، واحد من كلٍّ من الأبوين.
5. عندما تكون الكروموسومات المتماثلة تصالبات، فإنها:
   أ . تتبادل المعلومات الوراثية.
   ب. تضاعف الحمض النووي DNA.
   جـ. تفصل كروماتيداتها الشقيقة.
   د . تضاعف كروماتيداتها.
6. يرتبط العبور بحدوث كلّ ما يأتي ما عدا:
   أ . نقل DNA بين الكروماتيدات غير الشقيقة.
   ب. نقل DNA بين الكروماتيدات الشقيقة.
   جـ. تكوين معقد التشابك الخيطي.
   د . ترتيب الكروموسومات المتماثلة.
7. في أثناء الانقسام الاختزاليّ، تظهر التصالبات الطرفية في الطّور:
   أ . الانفصاليّ الأول. ب. التّمهيديّ الأول.
   جـ. الاستوائيّ الأول. د . الاستوائيّ الثاني.
8. واحدٌ مما يأتي يحدث في أثناء الطّور الانفصاليّ الأول:
   أ . تنفصل الكروماتيدات الشقيقة، وتتحرك نحو الأقطاب.
   ب. تتحرك الكروموسومات المتماثلة نحو الأقطاب المتقابلة.
   جـ. تصطف الكروموسومات المتماثلة عند منتصف الخليّة.
   د . تصطف الكروموسومات جميعها بشكل مستقل عند منتصف الخليّة.
9. يترتب على الطّور النهائي الأول إنتاج:
   أ . أربع خلايا تحتوي على متماثل واحد من كلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة.
   ب. خليتين تحتويان على متماثلين من كلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة.
   جـ. أربع خلايا تحتوي على متماثلين من كلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة.
   د . خليتين تحتويان على أحد المتماثلين من كلّ زوج من الكروموسومات المتماثلة.
10. واحدٌ مما يأتي لا يسهم في التّنوع الوراثيّ:
    أ . التّوزيع الحر.
    ب. إعادة الاتحاد.
    جـ. الطّور الاستوائيّ في أثناء الانقسام الاختزاليّ الأول.
    د . الطّور الاستوائيّ في أثناء الانقسام الاختزاليّ الثاني.
11. يختلف طور S بعد الانقسام الاختزاليّ الأول عن طور S في الانقسام المتساوي في أنَّ:
    أ . تضاعف DNA يأخذ وقتًا أقصر؛ لأنّ الخليّة هنا أحادية.
    ب. DNA لا يتضاعف في أثناء الطّور S بعد الانقسام الاختزاليّ.
    جـ. تضاعف DNA يأخذ وقتًا أطول بسبب البروتينات اللاصقة.
    د . لا يوجد فرق.
12. الذي يحدث في أثناء الطّور الانفصاليّ في الانقسام الاختزاليّ الثاني هو:
    أ . اصطفاف الكروموسومات المتماثلة.
    ب. سحب الكروماتيدات الشقيقة للأقطاب المتقابلة.
    جـ. سحب الكروموسومات المتماثلة للأقطاب المتقابلة.
    د . اصطفاف الكروموسومات الأحادية.
13. الجاميت غير حقيقي التضاعف الكروموسومي هو:
    أ . جاميت ثنائي.
    ب. جاميت أحادي.
    جـ. جاميت يحتوي على العدد غير الصحيح من الكروموسومات.
    د . خلية جسمية أحادية.
14. واحدٌ مما يأتي لا يعدّ صفة مميزة للانقسام الاختزاليّ:
    أ . ازدواج المادة الوراثية للكروموسومات المتماثلة وتبادلها.
    ب. ارتباط مواقع التحريك الشقيقة مع أنيبيبات الخيوط المغزلية.
    جـ. حركة الكروماتيدات الشقيقة نحو القطب نفسه.
    د . تثبيط تضاعف DNA.
15. المرحلة من مراحل الانقسام الاختزاليّ الآتية التي أكثر شبهًا بالمرحلة المناظرة من مراحل الانقسام المتساوي هي الطّور:
    أ . التّمهيديّ الأول. ب. الاستوائيّ الأول.
    جـ. الانفصاليّ الأول. د . النهائي الأول.

أسئلة تحدٍّ

1. ارسم عملية الانقسام الاختزاليّ لخلية ثنائية تحتوي على ستة كروموسومات.
   أ . كم زوجًا من الكروموسومات المتماثلة في هذه الخليّة؟ ارسم شكلًا يفرق بين زوج من الكروموسومات المتماثلة.
   ب. أشر إلى كلّ كروموسوم مماثل مبينًا ما إذا كان أبويًّا أو أميًّا.
   جـ. ارسم خلية جديدة، وبيّن كيف ستقوم الكروموسومات بترتيب نفسها خلال الطّور الاستوائيّ التابع للانقسام الاختزاليّ الأول. هل يجب أن تصطف الكروموسومات الأمية جميعها على الجانب نفسه من الخليّة.
   د . كيف ستختلف هذه الصورة لو أنك كنت ترسم الطّور الانفصاليّ من الانقسام الاختزاليّ الثاني.
2. البغال، نسل ناتج عن تزاوج أنثى الحصان مع الحمار، وهي غير قادرة على التّكاثر. يحمل الحصان 64 كروموسومًا، في حين يحمل الحمار 62 كروموسومًا. استخدم ما تعلمته عن الانقسام الاختزاليّ لكي تتوقع العدد الثنائي للبغل. اقترح تفسيرًا لعدم قدرة البغل على التّكاثر.
3. قارن بين عمليتي التّوزيع الحر والعبور. أيٌّ من هذه العمليات لها تأثير أكبر على التّنوع الحيوي؟
4. الجاميتات غير حقيقية التضاعف الكروموسومي، هي خلايا لا تحتوي على العدد الطبيعي من الكروموسومات، نتيجة لعدم الانفصال بين الكروموسومات، أو تفتقر لانفصال الكروموسومات في أثناء أي طور من الانقسام الاختزاليّ.
   أ . عند أي نقطة في أثناء الانقسام الاختزاليّ يحدث عدم الانفصال ؟
   ب. تخيل أنّ هناك خلية ثنائية تحتوي على 4 كروموسومات. ارسم شكلًا موضحًا تأثير عدم الانفصال على أحد أزواج الكروموسومات المتماثلة في الانقسام الاختزاليّ الأول، مقارنة بالانقسام الاختزاليّ الثاني.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ قم بزيارة الموقع www.ravenbiology.com. لتتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 12

أنماط الْوراثة
Patterns of Inheritance

مقدّمة

إن كلّ مخلوق حيّ هو نتاج التاريخ التطوري الطويل للحياة على الأرض؛ فالمخلوقات جميعها تشترك في هذا التاريخ. ولكن كما نعلم، فإن الإنسان هو الوحيد الذي تساءل عن العمليات التي أدت إلى نشوئه وبحث في الاحتمالات. ومع أننا بعيدون جدًا عن فهم الحيثيات المتعلقة بنشوئنا جميعها، إلا أننا تعلمنا الشيء الكثير. وكأحجية الصور المقطعة متداخلة الحواف، فإنه تم وضع حدود هذا السؤال المعقد بموضعها الصحيح، والكثير من التركيب الداخلي تم توضيحه. سوف نقوم في هذا الفصل بمناقشة جزء من هذه الأحجية، وهو الجزء الصعب المتعلق بالوراثة. والسؤال المطروح هو: لماذا يختلف الأفراد، كالأطفال الذين يظهرون في الصورة، في أشكالهم على الرغم من أن جميعهم ينتمون للنوع نفسه؟ ولماذا يشبه أفراد العائلة الواحدة بعضهم أكثر مما يشبهون أفراد عائلة أخرى؟

سوجز المفاهيم

12-1 لغز الوراثة

- *قام علماء النبات الأوائل بإنتاج الهجين، وشاهدوا نتائج محيِّرة.*
- *استخدم العالِم مندل الرياضيات لتحليل نتائج تهجيناته.*

12-2 تزاوجات أحادي الهجين (أحادي الصّفات): مبدأ الانعزال.

- *يظهر الجيل الأول F_1 صفة واحدة من الصفتين، ودون خلط.*
- *يظهر الجيل الثاني F_2 كلتا الصفتين بنسبة 3:1.*
- *نسبة 3: 1 هي في الواقع 1:2:1.*
- *يفسر مبدأ الانعزال لمندل ملاحظات أحادي الهجين.*
- *يسمح مربع بانيت بالتحليل الرمزي.*
- *تبدي بعض صفات الإنسان وراثة سائدة/متنحية.*

12-3 تزاوج ثنائي الهجين: مبدأ التّوزيع الحرّ.

- *يظهر الجيل الأول F_1 صفتين من الصّفات الأربعة، ودون خلط.*
- *يُبدي الجيل الثاني F_2 أربعة أنواع من النسل بنسبة 9:3:3:1.*
- *يفسر مبدأ التّوزيع المستقل لمندل نتائج ثنائي الهجين.*

12-4 الاحتمالات: التكهن بنتائج التزاوجات

- *يساعد قانونان للاحتمالات على التكهُّن بنتائج تزاوج أحادي الهجين.*
- *احتمالات تزاوج ثنائي الهجين مبنية على احتمالات تزاوج أحادي الهجين.*

12-5 تزاوج اختباري: الكشف عن الطراز الجيني

12-6 امتدادات مندل

- *في الوراثة متعددة الْجينات، يستطيع أكثر من جين أن يؤثر في صفة واحدة.*
- *يستطيع الجين الواحد أن يؤثر في أكثر من صفة من خلال تعدد النمط الظاهري Pleiotropy.*
- *قد يكون للجين أكثر من أليلين.*
- *السيادة ليست دائمًا كاملة.*
- *قد تتأثر الْجينات بالبيئة المحيطة.*
- *في السيطرة الفوقية (السيادة فوق التامة)، تفاعل الجينات مع بعضها يغير النسب الْوراثيّة.*

1-12 لغز الوراثة

منذ أن بدأت السجلات المدونة، لوحظت أنماط الشبه بين الأفراد في عائلات معينة، وتم التعليق عليها (الشكل 12-1)، ولكن لم يكن هناك نموذج واضح ومنطقي ليفسر هذه الأنماط.

قبل حلول القرن العشرين، كان هناك مفهومان يشكلان البنية الأساسية للتفكير في مسألة الوراثة: الأول هو أن الوراثة تحدث ضمن الأنواع. والثاني أن الصّفات تنتقل مباشرة من الأبوين إلى الأبناء. وبأخذ المفهومين معًا، فقد قادت هذه الأفكار إلى النظر إلى الوراثة على أنها ناتجة عن خلط الصّفات في أنواع ثابتة لا تتغير.

تم النظر إلى الوراثة بحّد ذاتها على أنها صفات تنتقل خلال السائل، وعادة ما يعرَّف بالدم، ما يؤدي إلى خلطها في الأبناء. وما زالت هذه الفكرة القديمة متداولة إلى يومنا هذا من خلال استخدام مصطلح سلالات الدم "bloodlines" التي تُستخدم عند الحديث عن سلالة الحيوانات الدّاجنة مثل الخيول.

بناءً على الأفكار السابقة، أدى هذان الافتراضان السابقان إلى ظهور مفارقة. فإذا لم يتم إدخال اختلافات من خارج النوع الواحد، وإذا كانت الاختلافات الموجودة في النوع الواحد تختلط في كلّ جيل، فيجب على أفراد النوع الواحد جميعهم أن يكون لهم المظهر نفسه. ومن الواضح أنّ هذا لا يحدث- إذ إن أفراد النوع الواحد يختلفون فيما بينهم، ويختلفون كذلك في الصّفات التي تنتقل من جيل إلى آخر.

قام علماء النبات الأوائل بإنتاج الهجين، وشاهدوا نتائج محيرة

إن أول باحث استطاع أن يسجل تجارب ناجحة في **التهجين Hybridization** هو العالِمُ جوزيف كولرويتر عام 1760 عندما أخصب خطيًّا (أو زاوج أو هجَّن، للاختصار) سلالات مختلفة من نبات التّبغ، وحصل على نسل خصب. اختلف الهجين في مظهره عن كلّ من سلالتي الأبوين. وعندما تم تهجين أفراد من الجيل الهجين فيما بينها، كان نسلها متنوعًا بشكل كبير. وبعض هذا النسل شابه نباتات الجيل الهجين (والديها)، ولكن قليلًا منه شابه السلالة الأصلية (أجدادها).

يمثل العمل الذي قام به كولروتير بداية علم الوراثة الحديث. فأنماط الوراثة التي لاحظها في النباتات التي قام بتهجينها ناقضت نظرية النقل (البث) المباشر بسبب التنوع الذي لوحظ في نسل الجيل الثاني.

بعد أكثر من مئة عام، قام باحثون آخرون باستكمال عمل كولروتير. ففي واحدة من سلسلة التجارب التي أجريت عام 1823 والتي قام بها ت.أ. نايت، وهو إقطاعي إنجليزي، قام بتهجين نوعين من نبات البازيلاء *Pisum sativum* (الشكل 12-2). إحدى هذه الأنواع لها بذور خضراء والأخرى لها بذور صفراء. كلا النوعين يُعدان **سلالة نقية True-breeding**، أي بمعنى أن النسل الذي ينتج من الإخصاب الذاتي يبقى منتظمًا من جيل إلى آخر.

جميع النسل الذي نتج من التزاوج بين هذين النوعين كان له بذور صفراء. إلا أنه ضمن نسل ذلك الهجين، أنتجت بعض النباتات بذورًا صفراء، وبعضها الآخر، وهو أقل شيوعًا، أنتج بذورًا خضراء.

دوَّن باحثون آخرون ملاحظات شبيهة لملاحظات نايت، وتحديدًا هي أن الأشكال البديلة للصفات التي لوحظت قد تم توزيعها بين النسل. وقد عُرِّفت السمة المورَّثة بأنها صفة *Character*، إذ يمكن لعالِم الوراثة المعاصر أن يقول: إن الأشكال البديلة لكلّ صفة تنعزل **Segregating** بين النسل الناتج عن التزاوج، بمعنى أن هناك بعض النسل سوف يظهر أحد أشكال الصّفة (البذور الصفراء)، وأن نسلًا أخر من التزاوج نفسه سيظهر شكلًا مختلفًا (البذور الخضراء). هذا الانعزال للأشكال البديلة للصفة **Trait**، زودنا بالمفتاح الذي قاد جريجور مندل لفهم طبيعة الوراثة.

في داخل هذه النتائج التي تظهر أنها بسيطة، وإنْ بصورة خادعة، كَمَنَت الثورة العلمية. إلاَّ أنه، مضى قرن آخر قبل أن يتم تقدير عملية الانعزال التقدير الذي تستحقه.

الشكل 12-1

الوراثة والتشابه العائلي. التشابه ضمن أفراد العائلة غالبًا ما يكون قويًّا-مظهر بصري لآلية الوراثة.

الشكل 12-2

بازيلاء الحديقة *Pisum sativum*. البازيلاء، سهلة الزراعة، وتنتج سلالات مختلفة ومتمايزة، كانت مدار بحث تجريبي شائع في حقل الوراثة مدة تزيد على القرن قبل أن يقوم جريجور مندل بتجاربه.

استخدم العالِمُ مندل الرياضيات لتحليل نتائج تجارب تهجيناته

ولد جريجور مندل (الشكل 12-3) عام 1822 لوالديَن قرويَيْن، وتلقى تعليمه في دير، ثم ذهب بعد ذلك ليدرس العلوم والرياضيات في جامعة فيينا، وهناك فشل في الامتحان الذي يؤهله للحصول على شهادة في التدريس، فعاد إلى الدّير ليمضي بقية حياته هناك، وأصبح رئيسًا للدّير. بدأ مندل سلسلة تجاربه على تهجين النباتات في حديقة الدّير. وقد غيرت نتائج تلك التجارب نظرتنا للوراثة بوجه دائم.

استخدام بازيلاء الحديقة لاعتبارات عملية

اختار مندل نبات بازيلاء الحديقة لعمل تجاربه، وهو النّبات نفسه الذي درسه العالِم نايت وآخرون. وقد كان اختياره جيدًا لأسباب عدة: أولًا، قام باحثون سابقون بإنتاج بازيلاء هجينة من تزاوج أنواع مختلفة؛ لذا فإن مندل كان على ثقة من ملاحظة انعزال الصّفات بين النسل.

ثانيًا، كان يتوافر لديه عدد كبير من السلالات النقية لنبات البازيلاء. وقد قام مبدئيًّا بفحص 34 سلالة. بعد ذلك، ولدراسات مستقبلية، قام باختيار خطوط تختلف في سبع صفات سهلة التمييز، مثل البذور الدائرية مقابل البذور المجعدة، والبذور الصفراء مقابل البذور الخضراء، وهذه الصّفة الأخيرة هي التي قام بدراستها نايت.

ثالثًا، إن نبات البازيلاء صغير وسهل النّموّ، وله دورة حياة قصيرة مقارنة بغيره. فبإمكان الباحث أن يستخدم كثيرًا من النباتات خلال تجاربه، ويقوم بتنمية أجيال عدة خلال سنة واحدة، ويحصل على النتائج بسرعة.

الشكل 12-3

كيفية قيام مندل بتجاربه. في زهرة البازيلاء يحيط التويج بالمتك المذكر (يحتوي على حبوب اللقاح، ويعطي الحيوان المنوي الأحادي الكروموسومات) والخباء أو الكربلة (يحوي المبيض، الذي يعطي البيضة الاحاديّة). لذا، فإن الاخصاب يحدث بسهولة وبشكل مؤكد، إلا إذا حدث اضطراب ما. قام مندل بجمع حبوب اللقاح من المتك لزهرة بيضاء، ووضعها على ميسم زهرة بنفسجية منزوعة المتك. وقد نتج من هذا التزاوج بذورا هجينة أعطت أزهارًا بنفسجية.

استقصاء

ما المشكلات العويصة التي كانت ستحدث لو أن مندل استخدم نباتًا آخر له أعضاء تذكير وتأنيث مكشوفة؟

رابعًا، كلّ من أعضاء التذكير والتأنيث موجودة معًا في كلّ زهرة (الشكل 12-3). لذا، فإن الجاميتات الناتجة عن أجزاء الذكر والأنثى للزهرة نفسها تستطيع أن تندمج لتكون نسلًا قابلًا للحياة، وتسمى هذه العملية **الإخصاب الذاتي Self fertelization**. تحدث عملية الإخصاب الذاتي تلقائيًّا في الزهرة الواحدة إذا لم يتم إحداث اضطراب بها، وينتج منها جيل يشكلون نسلًا من فردٍ واحد. ويمكن منع الإخصاب الذاتي بإزالة الأجزاء الذكرية قبل حدوث الإخصاب، ثم يتم إدخال حبوب لقاح مأخوذة من سلالة أخرى، وبهذا يمكن القيام بعملية التلقيح الخلطي *cross-pollination* الذي ينتج عنه **الإخصاب الخلطي Cross fertilization** (انظر الشكل 12-3).

مخطط تجارب مندل

كان مندل حريصًا على أن يركز في دراسته على بضعة اختلافات محددة بين النباتات التي استخدمها، وأهمل الاختلافات الأخرى التي لا تُحصى والتي كان قد رآها. وقد كان لديه وضوح في الرؤية ليدرك أن الاختلافات التي اختارها يجب أن تكون قابلة للمقارنة مع بعضها. فمثلًا، كان مدركًا أنه من العبث مقارنة وراثة البذورالدائرية مع الارتفاع الطويل.

قام مندل بتصميم تجاربه وإجرائها على ثلاث مراحل:

1. سمح لنباتات من نوع معين بالتزاوج الذاتي لأجيال عدّة، واستطاع أن يؤكد لنفسه أن الصّفة التي يدرسها هي سلالة نقية، أي إنها تنتقل من جيل إلى آخر دون تغيير.

سائد	متنحٍّ	جيل F_2
1. لون الزهرة		
بنفسجي	أبيض	705 بنفسجي: 224 أبيض 3.15:1
2. لون البذرة		
أصفر	أخضر	6022 أصفر: 2001 أخضر 3.01:1
3. ملمس البذرة		
مستدير	مجعد	5474 مستديرًا: 1850 مجعدًا 2.96:1
4. لون القرن		
أخضر	أصفر	428 أخضر: 152 أصفر 2.82:1

سائد	متنحٍّ	جيل F_2
5. شكل القرن		
منتفخ	منقبض	882 متضخمًا: 299 منقبضًا 2.95:1
6. موقع الزهرة		
محوري	طرفي	651 محوريًّا: 207 طرفي 3.14:1
7. طول النبتة		
طويل	قصير	787 طويلًا: 277 قصيرًا 2.84:1

الشكل 12–4

صفات مندل السبع. درس مندل كيف تورث الفروق بين سلالات نبات البازيلاء عند التهجين. أجريت التجارب نفسها في دراسات سابقة، لكن مندل كان الأول الذي يحلل نتائجه تحليلًا كميًّا، ويقدر قيمتها حسابيًّا. تظهر النتائج سبعة تزاوجات أحاديّة الهجين. الشكل لا يُظهر أفراد الجيل الأول F_1.

2. بعد ذلك ،أجرى مندل تزاوجات بين أنواع السلالات النقية التي تظهر أشكالًا بديلةً من الصّفات (طويل وقصير مثلًا). وقام أيضًا بإجراء **تزاوجات تبادلية Reciprocal crosses:** أي استخدم حبوب لقاح من نبات زهرة بيضاء لإخصاب نبات زهرة بنفسجية، ثم استخدم حبوب لقاح من نبات زهرة بنفسجية لإخصاب نبات زهرته بيضاء.
3. أخيرًا، قام مندل بجعل النسل الهجين الناتج من تلك التزاوجات أن يمارس الإخصاب الذاتي لأجيال عدة، ما سمح له بملاحظة وراثة الأشكال البديلة للصفات. الأهم من ذلك، أنه أحصى أعداد النسل التي تبدي كلّ صفة في كلّ جيل لاحق.

إن النتائج الكمية (العددية) التي حصل عليها مندل هي التي ميزت دراسته عن باقي الدراسات التي قام بها الباحثون الأوائل، الذين لاحظوا الاختلافات بطريقة نوعية فقط. ولقد أدى تحليل مندل الرياضي لنتائج التجارب إلى النموذج الوراثي الذي لا يزال يُستخدمُ إلى يومنا هذا.

إن الأفكار المتعلقة بالوراثة قبل مندل لم تشكل نموذجًا مقبولًا. وقد كانت وراثة الخلط هي النظرة السّائدة، لكن مهجني النباتات قبل مندل كانوا قد ألقوا بظلال الشك على هذا النموذج. تابع مندل ما قام به مهجنو النباتات السابقون، وذلك بجعل ملاحظاته منهجيةً منظمةً وكميةً.

2-12 تزاوجات أحادي الهجين (أحادي الصّفات): مبدأ الانعزال

إن تزاوج **أحادي الهجين Monohybrid cross** هو تزاوج يتتبع دراسة متغايرين أو شكلين فقط للصفة نفسها، مثل اللونين الأبيض والبنفسجي للأزهار. بمقدور هذا النوع من التزاوج، الذي يبدو، وكأنه بسيط، أن يقود إلى استنتاجات مهمة تتعلق بطبيعة الوراثة.

إن الصّفات السبع التي قام بدراستها مندل في تجاربه تتضمن سلالتين تختلف كلّ واحدة منهما عن الأخرى اختلافًا واضحًا سهل الملاحظة والتسجيل (الشكل 12–4). سوف نفحص تفاصيل تزاوجات مندل المتعلقة بلون الزهرة. وكانت تجاربه المتعلقة بالصّفات الأخرى مشابهة، وقد نتج عنها نتائج مشابهة.

يظهر الجيل F_1 صفة واحدة فقط من الصفتين، ودون خلط

عندما زاوج مندل نباتات ذوات زهرة بيضاء مع نباتات ذوات زهرة بنفسجية، حصل على نسل هجين لم يكن يحمل لونًا وسطيًّا، كما كانت تقول فرضية الخلط الوراثي. بدلًا من ذلك، وفي كلّ حالة، كان لون زهرة النسل يشبه لون زهرة أحد الأبوين. وقد عرف هذا النسل تقليديًّا باسم **الجيل البنوي الأول First filial generation** أو F_1. ففي تزاوج نباتات ذات زهرة بيضاء وذات زهرة بنفسجية، ظهرت زهرات كامل نسل F_1 باللون البنفسجي، وهذا يتطابق مع ما حصل عليه العلماء السابقون.

الشكل 12-5

شكل البذرة. صفة مندلية. تتعلق إحدى الصّفات التي درسها مندل بشكل البذرة. بعض السلالات كانت مستديرة، أما الأخرى فكانت مجعدة.

قام مندل بتعريف شكل كلّ صفة تم التعبير عنها في نباتات الجيل الأول F_1 **بالسّائدة Dominant**، في حين عرَّف الشكل البديل غير المُعبّر عنه في نباتات الجيل الأول F_1 **بالْمتنحّية Recessive**. وفي كلّ من الأزواج السبعة من الصّفات المتقابلة التي قام مندل بفحصها، أثبت أن أحد فردي الزوج كان سائدًا والآخر متنحٍّ.

يظهر الجيل الثاني F_2 كلا الصفتين بنسبة 3: 1

بعد السماح لأفراد نباتات F_1 بالنضج والإخصاب الذاتي، جمع مندل بذور الجيل الأول وزرعه؛ ليرى كيف سيظهر نسل **الجيل البنوي الثاني Second filial generation** أو **F_2**. فوجد أنه على الرغم من أن معظم نباتات الجيل الثاني أزهارها بنفسجية، إلا أن بعضًا منها أظهر أزهارًا بيضاء، أو الصّفة الْمتنحّية. وعلى الرغم من أن الصّفة الْمتنحّية كانت مختفية في جيل F_1 إلا أنها عادت لتظهر في أفراد F_2.

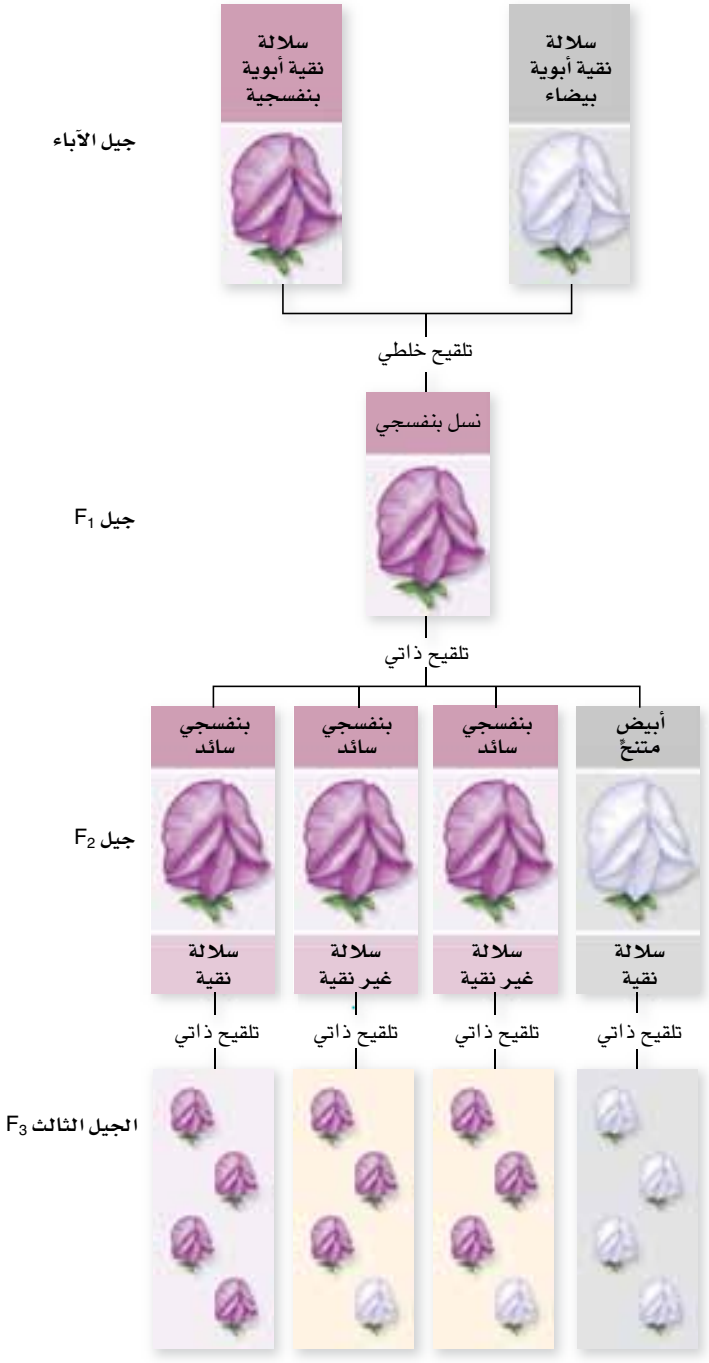
لأن مندل كان يعتقد أن نسب أنواع F_2 قد تسهم في تفسير آلية الوراثة، فقد قام بإحصاء أعداد كلّ نوع ضمن نسل F_2. في التزاوج بين نباتات F_1 ذوات الأزهار البنفسجية، حصل على ما مجموعه 929 من أفراد F_2. وجد أن 705 (75.9%) منها لديها أزهار بنفسجية، و 224 (24.1%) لديها أزهار بيضاء (انظر الشكل 12-4). وبذلك يكون أفراد F_2 تقريبًا قد أظهر الشكل المتنحي لهذه الصّفة.

وقد حصل مندل على النتائج الرقمية نفسها، عندما فحص الصّفات السّتّ الأخرى: فمن أفراد F_2، أظهر $\frac{3}{4}$ الصّفة السّائدة، في حين أظهر $\frac{1}{4}$ الجيل الصّفة الْمتنحّية. بعبارة أخرى، إن نسبة السائد إلى المتنحي ضمن نباتات F_2 كان دائمًا قريبًا من 3: 1. قام مندل بإجراء تجارب مماثلة على صفات أخرى، مثل البذور المجعدة مقابل البذور المستديرة (الشكل 12-5)، فحصل على النتيجة نفسها.

نسبة 3: 1 هي في الواقع نسبة 1: 2: 1

عندما فحص مندل كيفية انتقال الصّفات من F_2 إلى الأجيال اللاحقة وجد أن النباتات التي تظهر الصّفات الْمتنحّية تكون دائمًا نقية السلالة. فمثلًا، أفراد F_2 ذوات الأزهار البيضاء تنتج بشكل مؤكد دائمًا نسلًا له أزهار بيضاء عند السماح لها بالإخصاب الذاتي. في المقابل، أثبتت أفراد F_2 السّائدة ذوات الأزهار البنفسجية (نسل F_2) فقط أنها نقية السلالة، في حين لم تكن كذلك. المجموعة الأخيرة من النباتات أنتجت أفرادًا سائدة وأخرى متنحية في الجيل البنوي الثالث F_3 بنسبة 3: 1.

اقترحت هذه النتائج أنه، لكامل العينة، كانت نسبة 3: 1 التي لاحظها مندل في F_2 هي في الحقيقة 1:2:1 مموهة: فالربع، أفراد نقية السلالة سائدة، والنصف، أفراد غير نقية السلالة سائدة، والربع، أفراد نقية السلالة متنحية (الشكل 12-6).



الشكل 12-6

الجيل الثاني F_2 يخفي النسبة 1: 2: 1 بالسماح لأفراد الجيل الثاني بالإخصاب الذاتي، وجد مندل من أفراد (F_3) أن النسبة الحقيقية لنباتات F_2 هي 1 سلالات نقية سائد: 2 سلالات غير نقية سائد: 1 سلالات نقية متنحية.

يفسر مبدأ الانعزال لمندل نتائج أحادي الهجين

استطاع مندل من خلال تجاربه فهم أربعة أمور تتعلق بطبيعة الوراثة، هي:

- النباتات التي تم تزاوجها لم تنتج نسلًا يحمل مظهرًا وسطًا، كما كانت تتوقع فرضية الخلط الوراثي. في المقابل، ورثت النباتات كلّ صفة بشكل سليم وكامل، بوصفها سمة منفصلة.
- لكل زوج من الأشكال البديلة للصفة، هناك بديل لم يُعَبَّر عنه في هجين الجيل الأول F_1، على الرّغم من عودته للظهور في بعض أفراد F_2. لذا، فإن الصّفة «غير الظاهرة» لا بد أن تكون مستترة (موجودة، ولكن غير مُعَبَّر عنها) في أفراد F_2.
- إن أزواج الصّفات البديلة التي فحصها قد تم انعزالها بين النسل لتزاوج معين، فبعض الأفراد يظهرون صفة ما، في حين يُظهر بعضها الآخر الصّفة الأخرى البديلة.
- ظهرت الصّفات البديلة في جيل F_2 بنسبة $\frac{3}{4}$ سائد إلى $\frac{1}{4}$ متنحٍّ. وتعرف صفة الانعزال 3: 1 **بالنسبة المندلية Mendelian ratio** لتزاوج أحادي الهجين (يدرس صفة واحدة كلون الزهرة).

نموذج العناصر الخمسة لمندل

وضح مندل نموذجًا بسيطًا لتفسير النتائج التي حصل عليها، وقد أصبح هذا النموذج من أشهر ما عُرِفَ في تاريخ العلوم، احتوى هذا النموذج على خمسة عناصر، هي:

1. الآباء لا ينقلون صفات فسيولوجية لذريتهم بشكل مباشر، بل ينقلون معلومات محددة عن هذه الصّفات التي سمَّاها مندل «عوامل». نسمِّي اليوم هذه العوامل **الْجينات Genes**.
2. يستقبل كلّ فرد عاملَين أو جينين يُشَفِّران الصّفة الواحدة. ونحن نعلم اليوم أن هذين العاملين محمولان على الكروموسومات، وأن كلّ فرد بالغ هو ثنائي العدد الكروموسومي (ثنائي العدد). أما الجاميتات المُنتَجة عن طريق الانقسام الاختزالي، فتكون أحاديّة العدد الكروموسومي (أحادي العدد).
3. ليست كلّ نسخ الجين متطابقة. تسمى الأشكال البديلة من الجين أليلات ومفردها **أَلِيل Allele**. فعندما يندمج جاميتان أحاديا العدد يحتويان على الأليل نفسه خلال عملية الإخصاب، فإن النسل الناتج يدعى **متماثل الْجينات Homozygous**. وإذا كان الجاميتان الأحاديا العدد يحتويان على أليلين مختلفين، فإن النسل الناتج يدعى غير **متماثل الْجينات Heterozygous**.
4. يبقى الأليلان منفصلين ولا يختلطان معًا، ولا يغير أحدهما الآخر. وعندما يكبر الفرد، ويصبح قادرًا على إنتاج جاميتات خاصة به، فإن الأليلات تنعزل بشكل عشوائي في هذه الجاميتات.
5. إن وجود أليل معين لا يعني بالضرورة أنه سوف يقوم بالتعبير عن الصّفة التي يُشفِّرها. ففي الأفراد غير متماثلة الْجينات، يتم التعبير عن أليل واحد فقط (السائد)، أما الأليل الآخر (المتنحي) فهو موجود، لكن لا يتم التعبير عنه.

يُعرِّف علماء الوراثة مجموعة الأليلات التي يحتويها الفرد بأنها **الطراز الجيني Genotype** للفرد، أما المظهر الخارجي والصّفات الملحوظة للفرد التي تنتج عن التعبير عن الأليل، فتدعى **الطراز الظاهري Phenotype** (المظهري أو الشكلي) للفرد. وبعبارة أخرى، يكون الطراز الجيني بمنزلة الطبعة الزرقاء، أما الطراز الظاهري فيكون النتيجة الظاهرة والمرئية.

وبناءً على ما تقدم، يمكننا تقديم نسب مندل بمصطلحات معاصرة. فالنسبة 3: 1 التي تمثل نسبة الصّفة السّائدة إلى الْمتنحِّية هي نسبة الطراز الظاهري لأحادي الهجين. أما النسبة 1: 2 :1 لمتماثل الْجينات السّائدة إلى غير متماثل الْجينات إلى متماثل الْجينات الْمتنحِّية فهي نسبة الطراز الجيني لأحادي الهجين. وتتجزأ نسبة الطراز الجيني عند تحولها للطراز الظاهري بسبب الأليل السائد الذي يجعلُ غيرَ متماثل الْجينات يبدو كمتماثل الْجينات السائد.

مبدأ الانعزال

استطاع نموذج مندل أن يرصد النِّسب التي حصل عليها بشكل منظم ومقنع. واستنتاجه الرئيس – أن الأليلات البديلة للصفة تنعزل عن بعضها خلال عملية تكوين الجاميتات، وتبقى منفصلة– تم التحقق منه في كثير من المخلوقات الأخرى لاحقًا. يعرف هذا الاستنتاج بقانون مندل الأول في الوراثة أو **مبدأ الانعزال Principle of segregation** وينص على: الأليلان العائدان لجين ما ينعزلان خلال تكوين الجاميت، ويتم جمعهما بشكل عشوائي، واحد من كلّ والد في أثناء الإخصاب.

إن الأساس الفيزيائي المادي لانعزال الأليلات هو سلوك الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي. فكما رأينا في (الفصل الـ 11)، تنفصل الكروموسومات المتماثلة في الطّور الانفصالي الأول من الانقسام الاختزالي. ثم يقوم الانقسام الاختزالي الثاني بإنتاج جاميتات تحتوي على متماثل واحد لكلّ كروموسوم.

ويرجع الفضل إلى ذكاء مندل، حيث توصل تحليله إلى هذا المخطط الصحيح، على الرّغم من أنه لم يكن على علم بآليات الوراثة الخلوية، فلم تكن الكروموسومات ولا الانقسام الاختزالي قد تم وصفهما بعد.

يسمح مربع بانيت Punnet square بالتحليل الرمّزيّ

لفحص نموذجه، بدأ مندل بالتعبير عنه على شكل مجموعة رموز بسيطة. بعد ذلك، استخدم الرموز لتفسير نتائجه.

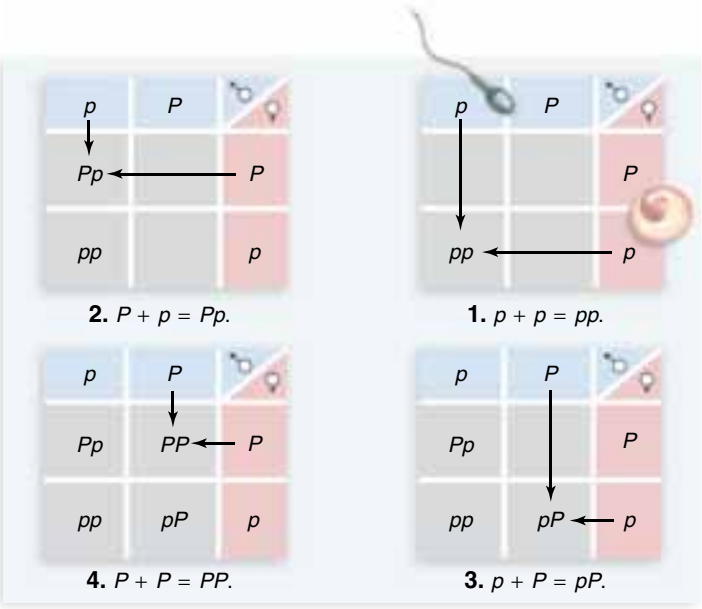
لنفكر مرة أخرى في تزاوج مندل لنباتات ذوات أزهار بنفسجية مع ذوات أزهار بيضاء. على هذا النحو، سنستعمل الرمز P (الحرف الكبير) لكي نشير إلى الأليل السائد والمرتبط بإنتاج الأزهار البنفسجية، في حين نستعمل الحرف p (الحرف الصغير) كي نشير إلى الأليل المتنحي المرتبط بإنتاج الأزهار البيضاء.

في هذا النظام، سيشار إلى الطراز الجيني لفرد السلالة النقية الذي يحمل صفة لون الزهرة الأبيض الْمتنحِّية بـ pp. وبالمثل، سيشار إلى الطراز الجيني لفرد السلالة النقية الذي يحمل صفة اللون البنفسجي بـ PP. وفي المقابل، فإن الزيجوت غير متماثل الْجينات يكون رمزه Pp (الأليل السائد يكتب أولًا). وباستخدام هذه الرموز والاصطلاحات، وبالإشارة لعملية التزاوج بالحرف (×) فإنه يمكننا أن نَرمِز للتزاوج الأساسي البنفسجي مع الأبيض الذي قام به مندل كالآتي $PP \times pp$.

ولأن الآباء ذوي الأزهار البيضاء (pp) تستطيع أن تنتج الجاميتات التي تحمل الأليل p فقط، ولأن الآباء ذوي الأزهار البنفسجية نقية السلالة (متماثلة الْجينات السّائدة *Homozygous dominant*, PP) تستطيع إنتاج الجاميتات P فقط كذلك، فإن اتحاد هذه الجاميتات سينتج منه نسل غير متماثل الْجينات Pp فقط في جيل F_1. ولأن الأليل P هو السائد، فإن جميع أفراد F_1 سيكون لونها بنفسجيًّا.

وعندما تتزاوج أفراد F_1 عن طريق الإخصاب الذاتي، فإن أليلات P و p سوف تنعزل في أثناء تكوين الجاميتات، وتنتج جاميتاتP وجاميتات p. ويكون اتحادها عند الإخصاب لتكوين أفراد F_2 عشوائيًّا.

ويمكن رؤية احتمالات F_2 باستخدام مخطط بسيط يسمى **مربع بانيت Punnet square**، الذي سمي نسبة إلى العالِم الذي قام بابتكاره، واسمه R. C. Punnet (الشكل 12-7 أ). إن تحليل نموذج مَندل بالاستناد إلى مربع بانيت، يتوقع – وبشكل



أ.

ب.

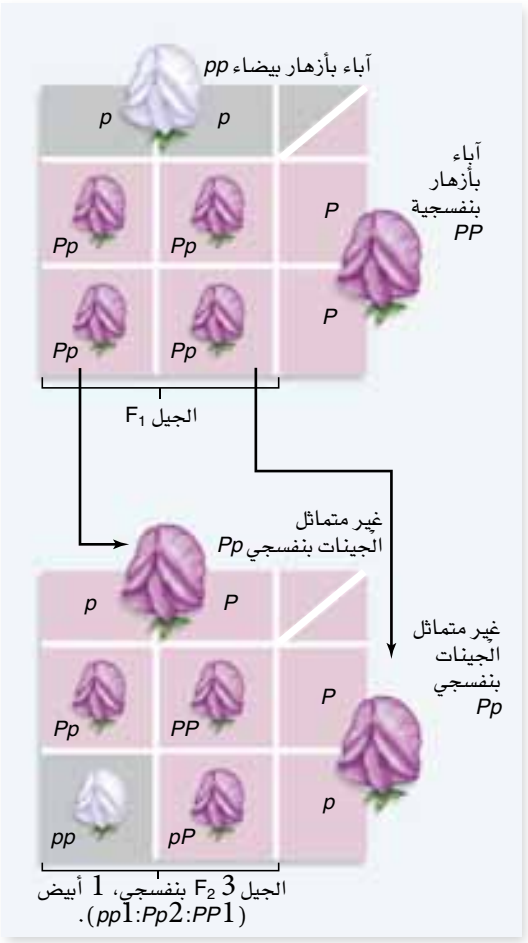
الشكل 12–7

استخدام مربع Punnet لتحليل تزاوجات مندل.

أ . لعمل مربع بانيت؛ ضع الاحتمالات المختلفة للجاميتات المؤنثة في العمود الجانبي، والجاميتات المذكرة في السطر الأفقي العلوي، فيكون احتمال الزيجوت هو حاصل تقاطع العمود مع السطر الأفقي.

ب. في التزاوجات التي قام بها مندل بين الأزهار البنفسجية والبيضاء، تقوم الآباء بإنتاج نوع واحد من الجاميتات، ويكون أفراد جيل F_1 جميعه غير متماثل الجِينات *Pp* ذوي أزهار بنفسجية. تقوم أفراد جيل F_1 بدورها بإنتاج نوعين من الجاميتات التي تجتمع لتعطي 3 أنواع من أفراد الجيل F_2: *PP* متماثل الجِينات (أزهار بنفسجية)، *Pp* غير متماثل الجِينات (أزهار بنفسجية)، *pp* متماثل الجِينات (أزهار بيضاء). تكون نسبة السائد إلى المتنحي هي 3: 1 وتكون نسبة الطرز الجينية 1: 2: 1 (1*PP* :2*Pp* :1*pp*)

واضح – أن جيل F_2 يجب أن يتكون من نباتات ذوات أزهار بنفسجية و نباتات ذوات أزهار بيضاء. وعليه، فإن نسبة الطراز الظاهري ستكون 3:1 (الشكل 12–7ب).



تبدي بعض صفات الإنسان وراثة سائدة / متنحية

هناك عدد من صفات الإنسان تبدي وراثة سائدة ومتنحية (جدول 12–1 يوضح أمثلة على ذلك). ولأنّ الباحثين لا يستطيعون القيام بعمل التزاوج المُوَجَّه في الإنسان مثلما فعل مندل بنبات البازيلاء، فإن علماء الوراثة يدرسون التزاوجات التي تمت حقًّا–بمعنى آخر، تاريخ العائلة. تسمى هذه الطريقة المنظمة **شجرة النسب Pedigree** وهي رسم بياني مُنتظم يبين التزاوجات والنسل في أجيال

الجدول 12-1 **بعض الصّفات السّائدة والْمتنحّية لدى الإنسان**

الصّفات الْمتنحّية	الطراز الظاهري	الصّفات السّائدة	الطراز الظاهري
المهق	يفتقر إلى صبغة الميلانين.	الشعر على عقل الأصابع الوسطى	وجود الشعر على العقلة الوسطى من الأصابع:
الكابتونيوريا	عدم القدرة على تمثيل حمض الهوموجينتسك.	قصر الأصابع	أصابع قصيرة
عمى الألوان الأحمر – الأخضر	عدم القدرة على التمييز بين الموجات الضوئية الحمراء والخضراء.	مرض هنتنجتون	تدهور الجهاز العصبي بعد منتصف العمر
التليف الكيسي	إفرازات غير طبيعية لبعض الغدد تؤدي إلى تهتك الكبد وفشل رئوي.	تذوق الفينيلثُيوكارباميد (PTC)	تذوق PTC بطعم مر
الحَثَل العضلي من نمط دوشين	ضمور العضلات وهزالها في الصغر.	انكماش الأصابع	عدم القدرة على فرد الإصبع الصغير
نزف الدم الوراثي (الناعور)	فقدان الدم للقدرة على التجلط، أو قد يحدث التجلط، ولكنه يتأخر.	فرط الكوليسترول في الدم (الصّفة المندلية الأكثر شيوعًا في الإنسان)	ارتفاع مستوى الكوليسترول في الدم وخطر الإصابة بنوبة قلبية
فقر الدم المنجلي	عيب في الهيموجلوبين يجعل خلايا الدم الحمراء تنحني، وتلتصق معًا.	تعدد الأصابع	أصابع إضافية في القدم واليد

متعددة لصفة معينة. وبناء على معلومات شجرة النسب، يستطيع علماء الوراثة أن يستنبطوا نمطًا وراثيًّا لصفة معينة.

شجرة نسب سائدة لِزَرَق العين (الجلوكوما) في اليافع *Juvenile glaucoma*

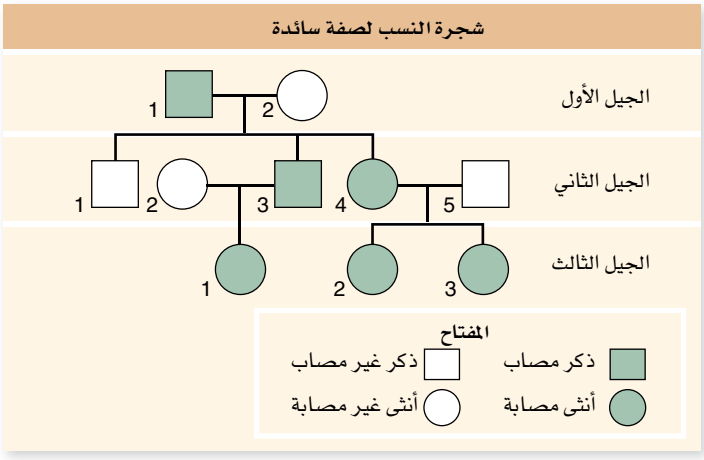
أحد أكثر أشجار النسب تفصيلًا تم إنتاجها حتى يومنا هذا تتبعت أحد أشكال العمى الذي يسببه أليل سائد. يسبب أليل المرض شكلًا من أشكال المرض الوراثي وهو زَرَق العين اليافع. يسبب المرض ضمورًا في الألياف العصبية المكوّنة للعصب البصري، ومن ثم فقدان البصر.

لقد تتبعت شجرة النسب هذه وراثة هذا المرض خلال مدة تزيد على ثلاثة قرون حتى وصلت الى أصل منشئه الذي يعود لزوجين في مدينة صغيرة في شمال غرب فرنسا توفيا عام 1495. ويظهر جزء من شجرة النسب في (الشكل 12-8). أن الطبيعة السّائدة لهذه الصّفة واضحة من حقيقة أنها تظهر في الأجيال جميعها. وهذا غير محتمل إلى حد كبير لو كانت صفة متنحية؛ لأنها كانت ستتطلب أعدادًا كبيرة من الأفراد من غير الأقارب أن يكونوا حاملين لأليل المرض.

شجرة نسب متنحية: المَهَق *Albinism*

يُعَدُّ المهقُ مثالًا على وراثة الصّفة المتنحّية في الإنسان، والمهقُ حالةٌ تحدث عندما لا تُنتَج صبغة الميلانين. وقد كان يُعتقد سابقًا أن هناك جينًا واحدًا مسؤولًا عن هذه الحالة، ولكن هناك جينات عدة كلّها تسبب هذه الحالة. ومن أبرز سمات المَهَقِ فقدان الصّبغة في الشّعْرِ والجلد والعين. ومن ثم، فإن الشخص الأمهَق يكون حساسًا للشّمس. إن اللون البرونزي (السُّمرَة) المعروف والناتج من التعرض لأشعة الشّمس سببه زيادة عدد الخلايا المُنتجة للصبغة وزيادة إنتاج الصبغة. وهذا غير ممكن في الأفراد المصابين بالمهق بسبب افتقارهم لأي صبغة أصلًا.

إن شجرة النسب المبينة في (الشكل 12-9) هي لشكل من المَهَقِ ناتج عن عدم

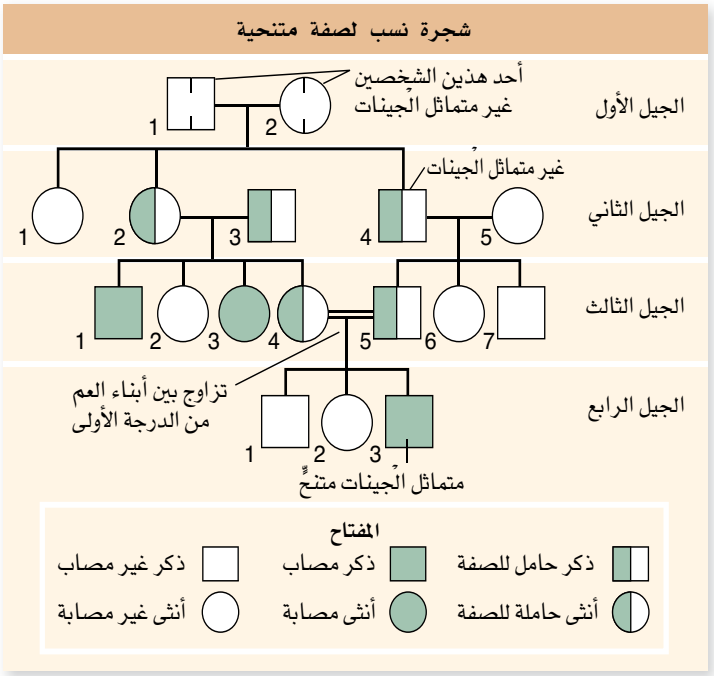


الشكل 12-8

شجرة النسب لصفة زرق العين اليافع الوراثيّة Juvenile glaucoma يُرمز إلى الذكور بشكل المربع، ويُرمز إلى الإناث بشكل الدائرة. يظهر الأشخاص المصابون بالشكل المظلل. الطبيعة السّائدة لهذه الصّفة تظهر من خلال وجوده في كلّ جيل، وهذا من خصائص الصّفة السّائدة.

استقصاء

إذا تزوجت أنثى مصابة من الجيل الثالث من ذكر غير مصاب، فهل يمكن أن تنجب نسلًا غير مصاب؟ إذا تم ذلك، فما احتمالات إنجاب نسل غير مصاب؟



الشكل 12-9

شجرة نسب المهق المتنحّية. أحد الفردين من الجيل الأول يجب أن يكون غير متماثل الجينات. وأفراد الجيل الثاني رقم 2 و 4 يجب أن يكونا غير متماثلي الجينات. لاحظ أن كلّ فرد مصاب له أبوان غير مصابين، ولكنهما غير متماثلي الجينات (حاملين). يمثل الخط المزدوج التزاوج بين أبناء العمومة الذين أنجبوا في هذه الحالة نسلًا مصابًا.

استقصاء

استنادًا إلى الأمراض الوراثيّة، لماذا لا يُنْصَحُ الأقارب من الدرجة الأولى بالزواج من بعضهم والإنجاب؟

فعالية أليل الأنزيم تايروسينيز (محلل تايروسين) المطلوب لتكوين صبغة الميلانين. من الخصائص الوراثيّة لهذا النوع من المَهَقِ أنّ الإناث والذكور تتأثر به على حد سواء، وأن معظم آباء الأفراد المتأثرين يكونون غير متأثرين. وإذا كان أحد الآباء متأثرًا بالحالة فلن يتأثر أبناؤه. وتزيد احتمالات إصابة الأبناء إذا كان الآباء ذوي صلة قرابة ببعضهم. كلّ هذه السمات المذكورة بالإمكان ملاحظتها في (الشكل 12-9)، وكلها تمثل نمط الوراثة المتنحي بشكل تام.

يُظهر تزاوج أحادي الهجين أن الصّفات ناتجة عن وراثة عوامل سليمة كاملة ودون خلط. الصّفات التي تظهر في جيل F_1 تسمى السّائدة، في حين تسمى الصّفات التي لا تظهر المُتنحّية. تظهر كلتا الصفتين في جيل F_2 بنسبة 3 سائد إلى 1 متنحٍّ. قانون الانعزال ينص على أنه خلال تكوين الجاميتات تنفصل الأليلات، وتتوزع في الجاميتات بشكل عشوائي، ثم تتجمع مرة أخرى عند الإخصاب. يتم تحليل وراثة الصّفة السّائدة أو المُتنحّية في الإنسان عن طريق شجرة النسب.

3-12 تزاوج ثنائي الهجين: مبدأ التّوزيع الحرّ

يوضح مبدأ الانعزال سلوك الأشكال البديلة للصفة الواحدة في تزاوج أحادي الهجين. الخطوة الآتية هي تتبع سلوك صفتين في تزاوج واحد: **تزاوج ثنائي الهجين Dihybrid cross** (يدرس صفتين معًا). بعد أن عَرَف سلوك الصّفة المنفردة، تساءل مندل ما إذا كانت الصّفات المختلفة تتصرف بشكل مستقل عن بعضها في الهجين. لقد قام بتحضير سلسلة من خطوط نقية السلالة لنبات البازيلاء التي تختلف في اثنتين من الصّفات السبع التي قام بدراستها. ثم قام بعد ذلك بتهجين السلالات النقية ذات الأزواج المتقابلة من الصّفات بقصد الحصول على أفراد غير متماثلة الْجينات. هذه الأفراد غير متماثلة الْجينات هي الآن مُضاعَفَة أو ثنائيّة الهجين. أخيرًا، زاوج ذاتيًّا نباتات F_1 ثنائيّة الهجين لكي يُنتج جيل F_2 ثم أحصى كلّ أنواع النسل.

يُظهر الجيل الأول F_1 صفتين من الصّفات الأربعة، ودون خلط

لنفكر في تزاوج النباتات التي تحمل أليلات شكل البذرة (مستدير R ومجعد r) مع نباتات تحمل أليلات لون البذرة (أصفر Y وأخضر y). إن تزاوج المستديرة الصفراء ($RRYY$) مع الخضراء المجعدة ($rryy$) يُنتج أفراد F_1 غير متماثلي الجينات، ويكون لها جميعًا الطراز الظاهري نفسه (مستديرة، صفراء) والطراز الجيني نفسه ($RrYy$). وإذا سمحنا لأفراد F_1 ثنائي الهجين بالإخصاب الذاتي فإنها ستنتج جيل F_2.

يُبدي الجيل الثاني F_2 أربعة أنواع من الأبناء بنسبة 9: 3: 3: 1

عند تحليل هذه النتائج، يجب أن نأخذ في الحسبان عدد الطرز الظاهرية المحتملة. فنحن نتوقع أن نرى نوعين من الطرز الظاهرية الأبوية: المستديرة الصفراء والمجعدة الخضراء. وإذا كانت الصّفات تتصرف باستقلال (بحرية) عن بعضها، فسوف نتوقع أيضًا صفة واحدة من كلّ أب أن تنتج نباتات لها بذور مستديرة خضراء، وأخرى لها بذور مجعدة صفراء.

بعد ذلك، لنفكر في أنواع الجاميتات التي يمكن إنتاجها من قبل أفراد F_1. مرة أخرى،نتوقع نوعي الجاميتات التي توجد في الآباء: ry و RY. وإذا ما كانت الصّفات تتصرف بحرية، فإننا نتوقع أيضًا أن يكون هناك جاميتات Ry و rY. وباستخدام اللغة العصرية: هناك جينان، وكلّ واحد لديه أليلان بمقدورهما أن يجتمعا لإنتاج هذه الجاميتات RY، ry، Ry، rY.

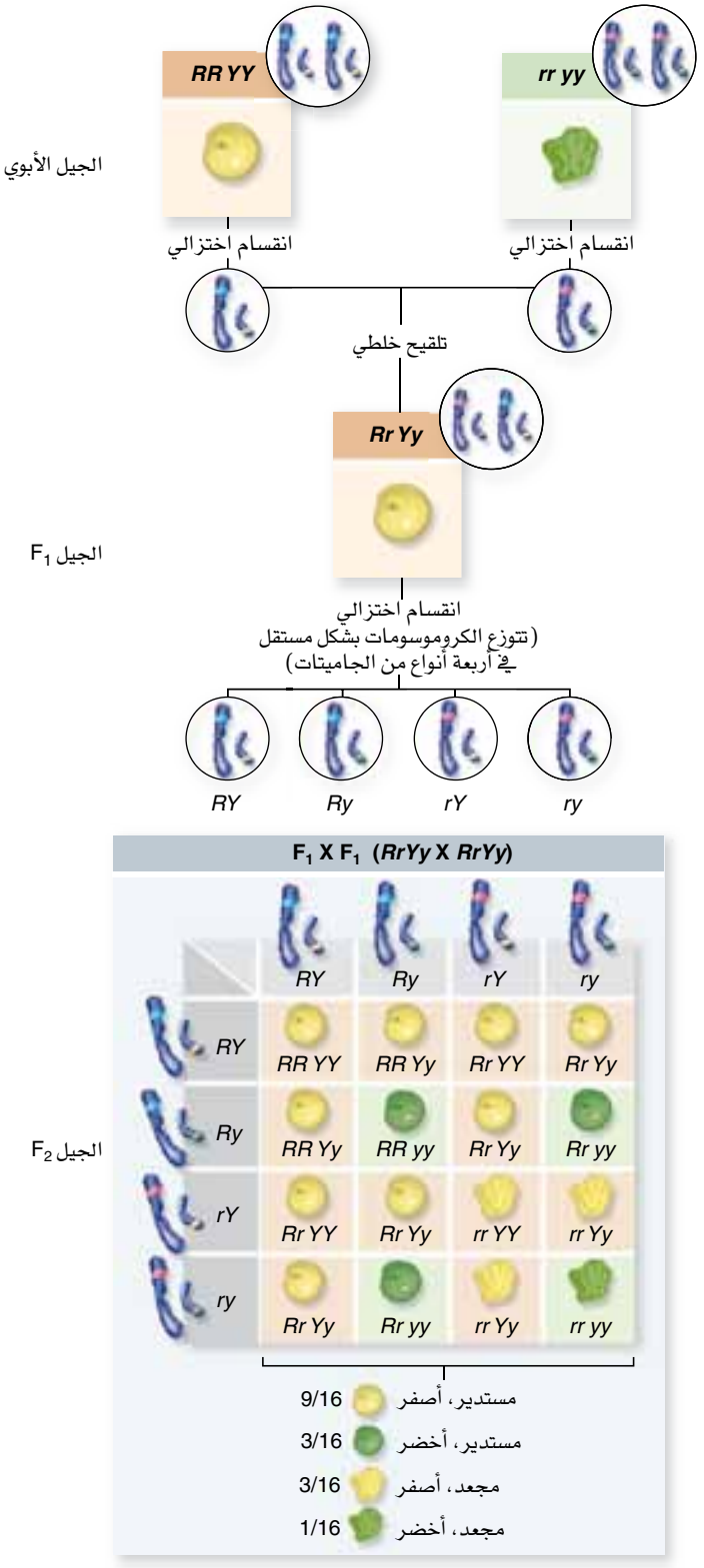
مربع بانيت لثنائي الْهجين

بالإمكان إعداد مربع بانيت لهذه الجاميتات لتوليد احتمالات النسل جميعها. سوف نحتاج إلى مربع 4×4 ولديه 16 نتيجة محتملة. إن تعبئة مربع بانيت يُنتج احتمالات النسل جميعها (الشكل 12-10). يبين لنا المربع أن هناك 9 مستديرة صفراء، 3 مجعدة صفراء، 3 مستديرة خضراء و 1 مجعدة خضراء. وبذا نتوقع أن تكون نسبة الطراز الظاهري 9: 3: 3: 1 للصفات التي تتصرف بشكل حرّ.

نتائج مندل

ماذا لاحظ مندل فعلًا؟ بعد أن قام بِعَدِّ 556 بذرة نتجت من الإخصاب الذاتي لنباتات ثنائي الهجين. لاحَظَ ما يأتي:

- 315 بذرة مستديرة صفراء (رمزها R-Y-) ويمثل ما تحته خط احتمال وجود أحد الأليلين.



الشكل 12-10

تحليل تزاوج ثنائي الهجين يُظهر مربع بانيت نتائج تزاوجات مندل لثنائي الهجين لنباتات لها بذور مستديرة صُفر، ونباتات مجعدة خُضر.

النسبة المحتملة للطرز الأربعة هي 9: 3: 3: 1 وهي النسبة التي حصل عليها مندل.

- 108 بذور مستديرة خضراء ($R\text{-}yy$)
- 101 بذرة مجعدة صفراء ($rrY\text{-}$)
- 32 بذرة مجعدة خضراء ($rryy$)

هذه النتائج قريبة جدًا من نسبة 9: 3: 3: 1 (علمًا أن النتائج المتوقعة لهذا العدد الكبير من النسل هي 313: 104: 104: 35).

وبذلك تكون أليلات الجينين قد تصرفت باستقلال عن بعضها. وقام مندل بتسمية هذه الظاهرة بالصّفات التي تتوزع باستقلال. لاحظ أن **التّوزيع المستقل Independent assortment** للجينات المختلفة لم يؤثر في انعزال الأليلات بشكل عشوائي. فصفة البذرة المستديرة مقابل المجعدة وقعت بنسبة 3: 1 (423: 133) وكذلك صفة اللون الأصفر مقابل الأخضر (416: 140). وقد حصل مندل على النتائج نفسها، عندما درس الصّفات الأخرى.

يفسر مبدأ التّوزيع المستقل لمندل نتائج ثنائي الهجين

يُشار إلى اكتشاف مندل غالبًا بقانون مندل الثاني للوراثة، أو **مبدأ التّوزيع المستقل Principle of independent assortment** وينص ببساطة: في تزاوج ثنائي الهجين، تتوزع أليلات كلّ جين بشكل مستقل.

وكما في الانعزال، ينشأ التّوزيع المستقل عن سِلوك الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي لتكوين الجاميتات أحاديّة العدد (الفصل الـ 11) –في هذه الحالة، الاصطفاف المستقل للأزواج المختلفة من الكروموسومات المتماثلة في أثناء الطّور الاستوائي الأول.

أظهر تحليل مندل لتزاوجات ثنائي الهجين أن انعزال أزواج أليلات الْجينات المختلفة يكون حرًا. وهو ما يدعى مبدأ مندل للتوزيع المستقل. عندما يتم تزاوج أفراد يختلفون في صفتين، ومن بعدها يتم تزاوج نسلهما ذاتيًا أو داخليًا، فإن الناتج هو أربعة أنواع من النسل بنسبة 9: 3: 3: 1 وهي نسبة مندل لثنائي الهجين.

4-12 الاحتمالات: التكهن بنتائج التّزاوجات

تعطينا الاحتمالات القدرة على توقع نتائج الأحداث التي تقع عشوائيًّا. ولأن سلوك الكروموسومات المختلفة في أثناء الانقسام الاختزالي يكون مستقلًا، فإن بالإمكان استخدام الاحتمالات لتوقع نتائج التزاوج. إن احتمال وقوع أمر مؤكد هو1، في حين أن احتمال وقوع أمر لن يحدث هو صفر. لذا، فإنّ احتمالات وقوع الأحداث تأخذ قيمًا جزئية تتراوح بين 1 وصفر. فمثلًا، إذا رمينا قطعة نقد معدنية، فإنّ هناك احتمالًا لوقوع القطعة المعدنية واستقرارها على أحد الوجهين، هذا الاحتمال هو 1 مقسومًا على 2.

وإذا أردنا تطبيق ذلك على الوراثة، فان نبتة البازيلاء غير متماثل الْجينات لصفة لون الزهرة تحمل أليلين، هما P و p. مثل هذا الفرد باستطاعته إنتاج نوعين من الجاميتات بأعداد متساوية، وهذا مرة أخرى، بسبب سلوك الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي. هناك طريقة واحدة للحصول على جاميت P. لذا، فإن احتمال تكوين أي جاميت يحمل الأليل P مثلًا، هو 1 مقسومًا على 2، أي، تمامًا كما حدث مع قطعة النقد المعدنية.

يساعد قانونان للاحتمالات على التكهُّن بنتائج تزاوج أحادي الهجين

يمكننا أن نستخدم الاحتمالات، ونتكهن بنتائج التزاوج الوراثي باستخدام قانونين بسيطين. وقبل أن نَصِفَ هذين القانونين واستخداماتهما، نحتاج الى تعريف آخر. نقول: إن هناك حدثين تبادليي الاستثناء *Mutually exclusive*، إذا كان من غير الممكن وقوعهما معًا في الوقت نفسه. فسقوط القطعة النقدية على الرأس أو الذيل هو مثال على إحداث تبادل الاستثناء، فهما لا يمكن أن يحدثا معًا. لاحظ أن هذا يختلف عن رميتين متتاليتين للقطعة النقدية، حيث بإمكانك الحصول على رأسين أو ذيلين. في هذه الحالة، فإن كلّ رمية للقطعة النقدية تمثل حدثًا مستقلًا *Independent event*. إن التفريق بين الأحداث المستقلة وتبادل الاستثناء هو الذي يشكل أساس القانونين.

قانون الإضافة

إذا فكّرنا في مكعب حجر النرد ذي الستة أوجه بدلًا من القطعة النقدية، فكيفما كانت دحرجة النرد سيكون هناك احتمال واحد للنتيجة. واحتمال الحصول على أي رقمين مختلفين، وسيكون حاصل جمع الاحتمالات الفردية لكلّ وجه، وهذا ما يسمى **قانون الإضافة Rule of addition**.

ومن ثم، فإن احتمال وقوع أحد حدثين تبادليي الاستثناء هو حاصل جمع الاحتمالات الفردية.

احتمال الحصول على الرقم 2 أو 6 يصبح:

$$\frac{1}{3} = \frac{2}{6} = \frac{1}{6} + \frac{1}{6}$$

وإذا أردنا تطبيق هذا على تزاوج الجيل الأول F_1 غير متماثل الْجينات البنفسجي، فإن هناك أربع نتائج تبادلية الاستثناء متوقعة، هي: PP، Pp، pP، pp. واحتمال أن يكون غير متماثل الْجينات هو نفس احتمال أن يكون Pp أو pP أي $\frac{1}{4} + \frac{1}{4}$ أو $\frac{1}{2}$.

احتمال وجود فرد غير متماثل الْجينات=

$$\frac{1}{2} = \frac{1}{4}\ Pp + \frac{1}{4}\ pP$$

في المثال السابق، نتوقع من النسل الذي مجموعه 379 أن يكون هناك 190 فردًا غير متماثل الْجينات (العدد الفعلي هو 189.5).

قانون المضاعفة

القانون الثاني، وهو الأكثر نفعًا في الوراثة، يتعامل مع نتائج الأحداث المستقلة، ويسمى قانون **حاصل الضرب Product rule** أو **قانون التضاعف Rule of multiplication** وينص على أن احتمال وقوع حدثين مستقلين هو ناتج ضرب احتمالات وقوع كلّ حدث منهما.

يمكننا تطبيق هذا القانون على تزاوج أحادي الهجين، حيث يتم تشكيل النسل من جاميتات من كلا الأبوين. وأي نتيجة بعد ذلك، ستكون ناتجة عن حدثين مستقلين: تكوين جاميتين مختلفين. ولنفكر في حالة آباء F_1 البنفسجية. فهي جميعًا Pp أو غير متماثلة الْجينات، لذا فإن احتمال أن يكون فرد معين في F_2 pp (متماثل الْجينات متنحٍّ) هو احتمال استقبال جاميت p من الذكر ($\frac{1}{2}$) مضروبًا في احتمال استقبال جاميت p الأنثى ($\frac{1}{2}$) أو $\frac{1}{4}$:

احتمال pp متماثل الْجينات متنحٍّ = $\frac{1}{2}\ p$ (الأب) × $\frac{1}{2}\ p$ (الأم) = $\frac{1}{4}\ (pp)$.

وهذا هو أساس مربع بانيت الذي استخدمناه سابقًا. فكل مربع صغير في المربع الكبير

هو ناتج احتمالات الجاميتات التي تسهم في الخلية. بعد ذلك، نقوم باستخدام قانون الإضافة لجمع الاحتمالات تبادلية الاستثناء التي تقوم بتشكيل كلّ خلية.

يمكننا أن نستخدم نتائج حسابات الاحتمالات للتكهن بأعداد النسل متماثل الْجينات الْمتنحِّية في تزاوج بين فردين غير متماثلي الْجينات. فمثلًا، من بين 379 فردًا جديدًا، فإننا نتوقع أن يكون 95 فردًا منهم يحمل الطراز الظاهري لمتماثل الْجينات المتنحي. (الرقم الحسابي الحقيقي هو 94.75).

احتمالات تزاوج ثنائي الهجين مبنية على احتمالات تزاوج أحادي الهجين

يمكن أن تمتد التحليلات الاحتمالية لتشمل ثنائي الهجين. فلو أخذنا اللون البنفسجي في تزاوج بين F_1 و F_2 فإن هناك أربع نتائج محتملة، ثلاثة منها تظهر الطراز الظاهري السائد. لذا، فإن احتمال ظهور الطراز الظاهري السائد هو $\frac{3}{4}$ والمتنحي هو $\frac{1}{4}$. بإمكاننا الآن أن نستخدم هذا وقانون ناتج الضرب للتكهن بنتائج تزاوج ثنائي الهجين. سوف نستخدم مثال شكل البذرة ولونها، ولكن لنفحصه باستخدام الاحتمالات.

إذا كانت الأليلات التي تُؤثر في شكل البذرة ولونها تنعزل بشكل مستقل، فإن احتمال أن يجتمع زوج معين من أليلات شكل البذرة معًا مع زوج معين من أليلات لون البذرة هو حاصل ضرب الاحتمالات الفردية لكلّ زوج. فمثلًا، احتمال ظهور بذرة مجعدة خضراء ($rryy$) في جيل F_2 سيساوي احتمال الحصول على بذرة مجعدة مضروبًا في احتمال الحصول على بذرة خضراء أي.

احتمال وجود $rryy = rr \times yy = \frac{1}{4} \times \frac{1}{4} = \frac{1}{16}$ $rryy$

وبسبب التّوزيع المستقل، يمكننا أن نفكِّر في أن تزاوجًا ثنائي الهجين هو ببساطة تزاوجان مستقلان أحاديّا الهجين؛ وحيث إنهما حدثان مستقلان، فإن قاعدة حاصل الضرب تنطبق عليهما. وبالإمكان حساب احتمالات كلّ طراز ظاهري لثنائي الهجين.

احتمال الحصول على المستديرة الصفراء ($R__Y__$) =

$$\frac{3}{4}\ Y__ \times \frac{3}{4}\ R__ = \frac{9}{16}$$

احتمال الحصول على المستديرة الخضراء ($R__yy$)

$$\frac{3}{4}\ R__ \times \frac{1}{4}\ yy = \frac{3}{4}$$

احتمال الحصول على المجعدة الصفراء ($rr\ Y__$) =

$$\frac{1}{4}\ rr \times \frac{3}{4}\ Y__ = \frac{3}{16}$$

احتمال الحصول على المجعدة الخضراء ($rryy$) =

$$\frac{1}{4}\ rr \times \frac{1}{4}\ yy = \frac{1}{16}$$

تتوقع الفرضية التي تقول: إن جينات الشكل واللون تتوزع بشكل مستقل عن بعضهما أن يُظهرأفراد F_2 نسبة طراز ظاهري هي 9:3:3:1. وبالإمكان تطبيق هذه النسب على مجموعة نسل كاملة للتكهن بالأعداد في كلّ مجموعة طراز ظاهري. إن المنطق الذي بُنيت عليه والنتائج هي نفسها التي نحصل عليها من مربع بانيت.

إن احتمال وقوع حدثين يساوي مجموع احتمال وقوع كلّ منهما منفردًا. وإن احتمال وقوع حدثين مستقلين ومتزامنين يساوي حاصل ضرب احتمال وقوع كلّ منهما منفردًا. بالإمكان تطبيق ما سبق على التزاوجات الْوراثيّة لتحديد احتمالات الحصول على طرز ظاهرية وجينية محددة.

5-12 تزاوج اختباري: الكشف عن الطراز الجيني

قام مندل بفحص النموذج الذي وضعه، وذلك بعمل تزاوج اختباري أو **تجريبي Testcross**. لقد قام بتهجين فرد غير معروف الطراز الجيني مع فرد متماثل الجينات ومتنحٍّ-أي من السلالة الأبوية الْمتنحِّية. ويمكن إهمال مساهمة الأب متماثل الجينات المتنحي؛ لأنه يسهم بأليلات متنحية فقط.

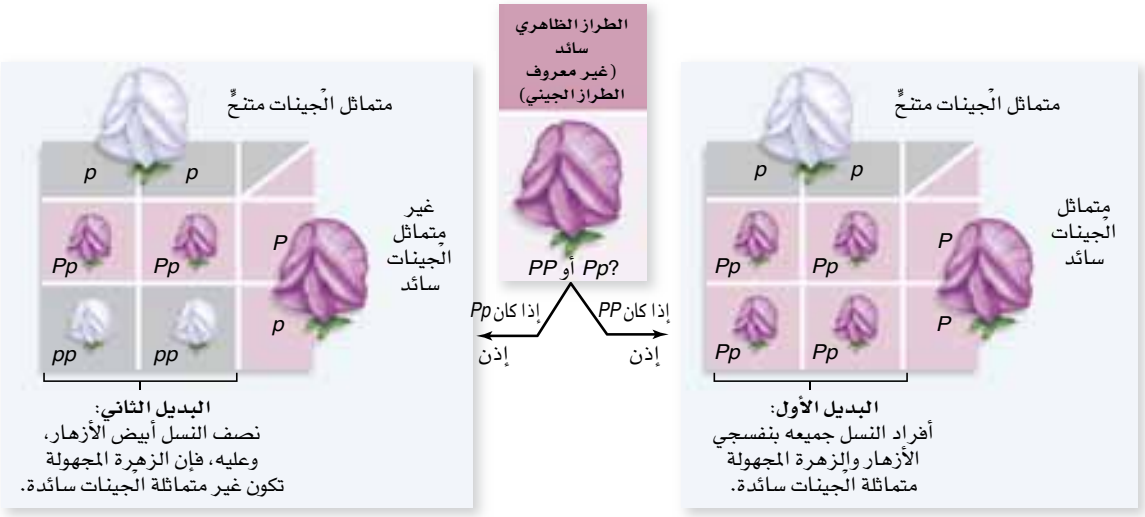
لنفكر في نبات البازيلاء ذي الزهرة البنفسجية. من المستحيل أن نحدد فيما إذا كانت النبتة متماثلة الْجينات أو غير متماثلة الْجينات بمجرد النظر إليها. لمعرفة الطراز الجيني للزهرة البنفسجية يمكننا تهجين نبات ذي زهرة بنفسجية مع نبات ذي زهرة بيضاء في تزاوج اختباري ليعطينا إحدى النتيجتين الْمُحْتملتين للطراز الجيني للزهرة البنفسجية (الشكل 12-11)

البديل الأول: فرد غير معروف متماثل الْجينات سائد (PP).

$PP \times pp$ = جميع أفراد النسل بزهرة بنفسجية (Pp).

البديل الثاني: فرد غير معروف غير متماثل الْجينات (Pp).

$Pp \times pp$ = $\frac{1}{2}$ النسل بزهرة بيضاء (pp) $\frac{1}{2}$ النسل بزهرة بنفسجية (Pp).



الشكل 12-11

تزاوج اختباري. لتحديد ما إذا كان الفرد الذي يبدي الطراز الظاهري السائد، مثل الزهرة البنفسجية، متماثل الْجينات أم غير متماثل الْجينات للأليلات السّائدة؛ قام مندل بتهجين النباتات المراد التعرف إليها مع أفراد معروفة أنها متماثلة الْجينات ومتنحية، في هذه الحالة الزهرة البيضاء.

فإذا ظهرت هذه النتيجة الأخيرة، يمكننا القول ببساطة: إن ظهور الطراز الظاهري المتنحي في النسل يشير إلى أن الطراز الجيني للفرد الذي يجري اختباره غير متماثل الْجينات.

لكل زوج من الأليلات التي درسها مندل، لاحظ أن نسبة الطراز الظاهري في الجيل الثاني F_2 هي 3 : 1 (انظر الشكل 12-4). وتكون نسبة التزاوج الاختباري هي 1:1 وهو ما يطابق النتائج المتوقعة من النموذج. ويمكن استخدام التزاوج الاختباري لتحديد الطراز الجيني لفرد عندما يكون الأمر متعلقًا بجينين. فقد كان مندل يقوم بتزاوج اختباري لتحديد الطراز الجيني للأفراد ذوي الصّفة السّائدة من أفراد F_2.

فأفراد الجيل الثاني F_2 الذين يُظهرون الّصفتين السائدتين (A–B–) قد تحتوي على أيّ من الطرز الْوراثيّة الآتية: *AABB*، *AaBB*، *AABb*، أو *AaBb*. وبتهجين الأفراد السّائدة من F_2 مع الأفراد متماثلة الْجينات الْمتنحّية (أي، *aabb* × *A–B–*) استطاع مندل أن يحدد ما إذا كانت إحدى الصفتين أو كلتاهما نقية ضمن النسل، وبذا يتم تحديد الطراز الظاهري لآباء F_2 (الجدول 12-2).

يُعَدُّ التزاوج الاختباري طريقة فعالة لتبسيط التحليلات الْوراثيّة. وسوف نستخدم هذه الطريقة في الفصل الآتي الذي يبحث في موضوع الخرائط الْوراثيّة.

الجدول 12-2 تزاوج اختباري ثنائي التهجين

الطراز الجيني	نتائج تزاوج اختباري	
	صفة A	صفة B
AABB	سلالة A نقية	سلالة B نقية
AaBB	---	سلالة B نقية
AABb	سلالة A نقية	---
AaBb	---	---

الأفراد الذين يظهرون الطرز الظاهرية السّائدة يمكن أن يكونوا متماثلي الْجينات السّائدة أو غير متماثلي الْجينات. بالإمكان تحديد الطرز الجينية عن طريق تزاوج اختباري يتضمن تزاوج الأفراد غير معروفي الطرز الجينية مع أفراد متماثلي الْجينات الْمتنحّية. الأفراد غير متماثلي الْجينات ينتجون طرزًا ظاهرية سائدة ومتنحية وبأعداد متساوية عند تطبيق التزاوج الاختباري.

12-6 امتدادات مندل

على الرغم من أن نتائج مندل لم تلقَ اهتمامًا كبيرًا في أثناء حياته، فإن ثلاثة باحثين وبشكل مستقل قاموا عام 1900 بإعادة اكتشاف نشرته العلمية الرائدة، وذلك بعد 16 عامًا من وفاته. لقد عثروا عليها عندما كانوا يبحثون عن النشرات السابقة المتعلقة بأبحاثهم التي كانوا يعدون لنشرها، وقد كانت نتائج أبحاثهم تشبه إلى حد كبير النتائج التي حصل عليها مندل قبل ثلاثين عامًا.

بعد إعادة اكتشاف نتائج مندل بعشرات السنين، حاول علماء كثيرون إعادة التجارب التي قام بها مندل، ولكن غالبًا ما كانوا يواجهون مشكلات في الحصول على النِّسب نفسها التي حصل عليها مندل، والسبب يرجع في ذلك إلى أنهم قاموا بدراسة صفات غير تلك التي درسها مندل. فهناك عدد من الافتراضات التي وضعها مندل تُعَدُّ تبسيطًا زائدًا لحقيقة ما يحدث ما يجعلها لا تطبق على الصّفات جميعها. من ضمن الافتراضات البسيطة، أن كلّ صفة محددة بجين واحد له أليلان بديلان، وأنه لا يوجد هناك مؤثرات بيئية، وأن نواتج هذه الْجينات تعمل باستقلالية. إلى جانب هذه الافتراضات البسيطة، فإن فكرة السيادة تخفي الكثير من التعقيدات الكيميائية الحيوية. في الجزء القادم، سوف نرى كيف أن أفكار مندل البسيطة يمكن أن تمتد لتزودنا بنظرة شاملة لعملية الوراثة (الجدول 12-3).

في الوراثة متعددة الْجينات، يستطيع أكثر من جين أن يؤثر في الصّفة الواحدة

غالبًا ما تكون العلاقة بين الطرازين الظاهري والجيني أعقد من مجرد أن يقوم أليل واحد بإنتاج صفة واحدة. وإن معظم الطرز الظاهرية لا تمثل حالات ثنائيّة مثل صفة لوني الأزهار الأبيض أو البنفسجي فقط.

فلنفكر في التزاوجات التي قام بها مندل بين نباتات البازيلاء الطويلة والقصيرة. النباتات الطويلة لها طول طبيعي، في حين النباتات القصيرة يقزمها أليل واحد عند جين مفرد. ولكن في معظم أنواع المخلوقات، ومن ضمنها الإنسان، فإن الطول له مدى متواصل، ولا تكون له قيم محددة. هذا التّوزيع المتواصل لهذا الطراز الظاهري له تفسير وراثي بسيط؛ وهو أن هناك أكثر من جين يؤثر في الصّفة الواحدة، وهو ما يعرف **بالوراثة متعددة الْجينات Polygenic inheritance**.

الجدول 12-3 عندما لا تلاحظ نتائج مندل أو قوانينه.

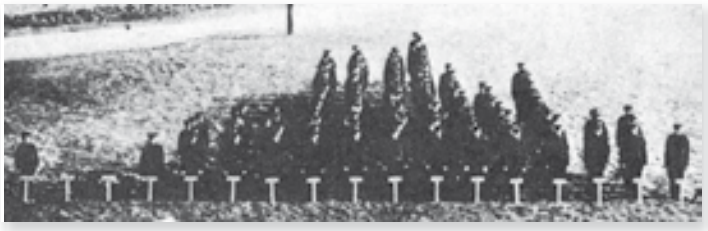
الحدث الوراثي	التعريف	الأمثلة
الوراثة متعددة الْجينات.	يستطيع أكثر من جين واحد أن يؤثر في الصّفة الواحدة.	• أربعة جينات مرتبطة بتحديد لون العين. • طول الإنسان.
تعدد النمط الظاهري.	قد يؤثر الجين الواحد في أكثر من صفة.	• تعدد النمط الظاهري للأليل السائد للون الأصفر لفراء الفأر يكون متنحيًا لعيب تكوين جنيني قاتل. • التليف الكيسي • فقر الدم المنجلي
تعدد الأليلات للجين الواحد.	قد تحتوي الْجينات على أكثر من أليلين.	• فصائل الدم ABO في الإنسان.
السيادة ليست دائمًا كاملة.	في السيادة غير التامة، يكون غير متماثل الْجينات متوسطًا. في السيادة المشتركة، لا يوجد أليل سائد، ويظهر غير متماثل الْجينات بعض صفات الأليلين.	• أزهار الساعة الرابعة اليابانية. • زمر دم الإنسان.
العوامل البيئية.	تتأثر الْجينات بعوامل بيئية.	• القطط السيامية.
تفاعل الْجينات.	تتفاعل نواتج الْجينات مع بعضها لتؤثر في النسب الْوراثيّة.	• إنتاج الصبغة البنفسجية في الذرة. • لون الفراء في الثدييات.

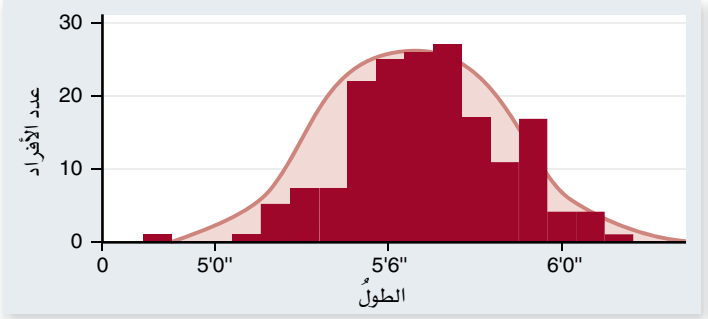
وفي الواقع، هناك عدد قليل من الطرز الظاهرية تنتج من جين واحد، في حين أن أغلب الصّفات تنتج من مساهمة أكثر من جين. وعندما يشترك أكثر من جين في التأثير في الصّفة الواحدة مثل الطول أو الوزن، فإن الصّفة تبدي مدىً من الاختلافات الصغيرة. عندما تنعزل هذه الْجينات باستقلال، يمكننا أن نلاحظ تدرجًا في الصّفات عندما يتم فحص مجموعة مكونة من أفراد كثيرين (الشكل 12-12). يسمى هذا التدرج **التنوع المستمر أو المتواصل Continuous variation**. وتسمى مثل تلك الصّفات، **صفات كمّية Quantitative traits**. وكلما كان عدد الْجينات المؤثرة في الصّفة أكبر، زاد اتساع التّوزيع المتوقع لأشكال تلك الصّفة.

يشبه التنوع المستمر في الصّفات عملية خلط الألوان، فعند خلط جزء واحد من اللون الأحمر مع سبعة أجزاء من اللون الأبيض، فإننا نحصل على لون مائل إلى الوردي الفاتح، ولكن لو خلطنا خمسة أجزاء من اللون الأحمر مع ثلاثة أجزاء من اللون الأبيض، فإننا سنحصل على لون أغمق. لذا، فإن النسب المختلفة من اللونين الأحمر والأبيض ستعطي ظلالًا متدرجة من الألوان تمتد ما بين اللونين الأحمر الصافي والأبيض الصافي.

بالإمكان تمثيل التنوعات في رسم بياني يسمى المخطط النسيجي *Histogram* كما يظهر في (الشكل 12-12). فالتّوزيع الطبيعي *Normal distribution* يعطي شكلًا يشبه شكل الجرس تمامًا. حيث يكون الوسط ممثلًا للأغلبية، ويمتد المنحنى ليشمل الاختلافات جميعها.

هناك صفات أخرى بسيطة تخضع لهذا النوع من القاعدة التعددية. فمثلًا، يتدرج لون العينين من اللون البنّي السائد إلى اللون الأزرق، وقد كان يُعتقد خطأً أن اللون البني هو السائد. إلا أن التحليلات المكثفة تشير إلى اشتراك أربعة جينات في التأثير في لون العين. هذا يؤدي الى وجود أنماط وراثة أكثر تعقيدًا مما عُرف سابقًا. فمثلًا، يمكن لأبوين لهما عينان زرقاوان أن ينجبا طفلًا له عينان بنيتان، مع أن من النادر حدوث ذلك.





الشكل 12-12

الطولُ صفةٌ متغيرةٌ متواصلةٌ. الصورة والرسم البياني المصاحب لها يظهران اختلاف أطوال الطلاب الخريجين من كلية الزراعة في ولاية كونيكتيكت عام 1914. لأن كثيرًا من الْجينات تسهم في تحديد الطول، وتتوزع بشكل حر، فإن المساهمة التراكمية للتشكيلات المختلفة للأليلات على صفة الطول ينتج منها توزيع متواصل من الأطوال، تكون القيم الطرفية فيه أقل من القيم المتوسطة، ويمكن أن تنتج الاختلافات من عوامل بيئية مثل التغذية.

يستطيع الجين أن يؤثّر في أكثر من صفة من خلال تعدد النمط الظاهري Pleiotropy

ليس فقط بمقدور جينات عدة أن تؤثر في صفة واحدة، ولكن أيضًا بمقدور جين واحد أن يؤثر في صفات عدة. وهذا غير مستبعد إذا أخذنا في الحسبان تعقيدات الطرق االكيميائية الحيوية في الجسم، والترابط الوظيفي بين الأعضاء المختلفة للمخلوقات متعددة الخلايا.

ويعرف الأليل الذي له أكثر من أثر واحد في الطراز الظاهري **بمتعدد النمط الظاهري Pleiotropic**. ولقد درس عالِمُ الوراثة الفرنسي لوسيان كينوت صفة اللون الأصفر لفرو الفئران، وهي صفة سائدة، ووجد أن ليس بالإمكان الحصول على سلالة نقية من الفئران الصفراء بتزاوجها مع بعضها. فقد ماتت الأفراد متماثلات الْجينات للأليل الأصفر؛ لأن الأليل الأصفر متعدد النمط الظاهري: فمن ناحية، يؤثر في لون الفراء، ومن ناحية أخرى، فإن له تأثيرًا قاتلًا في أثناء عملية التكوين الجنيني. وبهذا يكون لهذا الأليل تأثير سائد في الطراز الظاهري، وهو اللون الأصفر، وتأثير متنحٍّ قاتل في عملية التكوين الجنيني.

يمكن للأليل متعدد النمط الظاهري أن يكون سائدًا بالنسبة إلى طراز ظاهري مترتب عليه (الفرو الأصفر) ومتنحيًا بالنسبة إلى طراز ظاهري آخر (عيب في التكوين الجنيني القاتل). من الصعب التكهن بتأثير تعدد النمط الظاهري؛ لأن الجين الذي يؤثر في صفة واحدة، غالبًا ما ينجز وظيفة أخرى غير معروفة.

يصاحب تأثير تعدد النمط الظاهري كثير من الأمراض الْوراثيّة في الإنسان، مثل مرض التليف الكيسي، وفقر الدم المنجلي (سيناقش في الفصل القادم). في هذه الأمراض.

يمكن إرجاع كثير من الأعراض (الطرز الظاهرية) إلى خلل يحدث في جين واحد. فأعراض مرض التليف الكيسي تشمل انسدادًا في الشرايين، ولزوجة في المخاط، وملوحة في العرق، وفشلًا بنكرياسيًّا وكبديًّا، إضافة إلى مجموعة أخرى من الأعراض. من الصعب التكهن بطبيعة الخلل الأوّلي الناجم عن مدى من تأثيرات جين متعدد النمط الظاهري. ولقد ظهر أن أعراض التليف الكيسي جميعها هي تأثيرات متعددة النمط الظاهري ناتجة عن خلل واحد، وهو طفرة في الجين الذي يحمل الشيفرة الْوراثيّة للقناة المسؤولة عن نقل أيون الكلور عبر غشاء الخلية.

قد يكون للجين أكثر من أليلين

لقد نظر مندل في دراسته إلى جينات ذوات أليلين بديلين. على الرغم من أنّ أيّ فرد ثنائي العدد الكروموسومي يكون لديه أليلان لكل جين، فقد يكون هناك أكثر من أليلين في المجموعة السّكّانيّة. فمثلًا فصائل الدم ABO في الإنسان، ستوصف لاحقًا، تتضمن سلسلة أليلية ثلاثة أليلات.

إذا ما فكرنا في الجين على اعتبار أنه سلسلة من القواعد النيتروجينية الموجودة في مركب DNA، فإن عدد الأليلات المحتملة كبير جدًا إذا عرفنا أن الاختلاف في قاعدة واحدة نيتروجينية يؤدي إلى إنتاج أليل جديد. ولكن في الحقيقة، فإن عدد الأليلات المحتملة لجين واحد مقيد، ومع ذلك عادة ما يكون هناك أكثر من أليلين لجين واحد في أيّ مجموعة خارجية التزاوج. وعلى الرّغم من صعوبة التكهن بالسيادة بين هذه الأليلات، إلا أنه يمكن تحديدها بملاحظة الطرز الظاهرية لتشكيلات متغايرات الْجينات المختلفة.

السّيادة ليست دائمًا كاملة

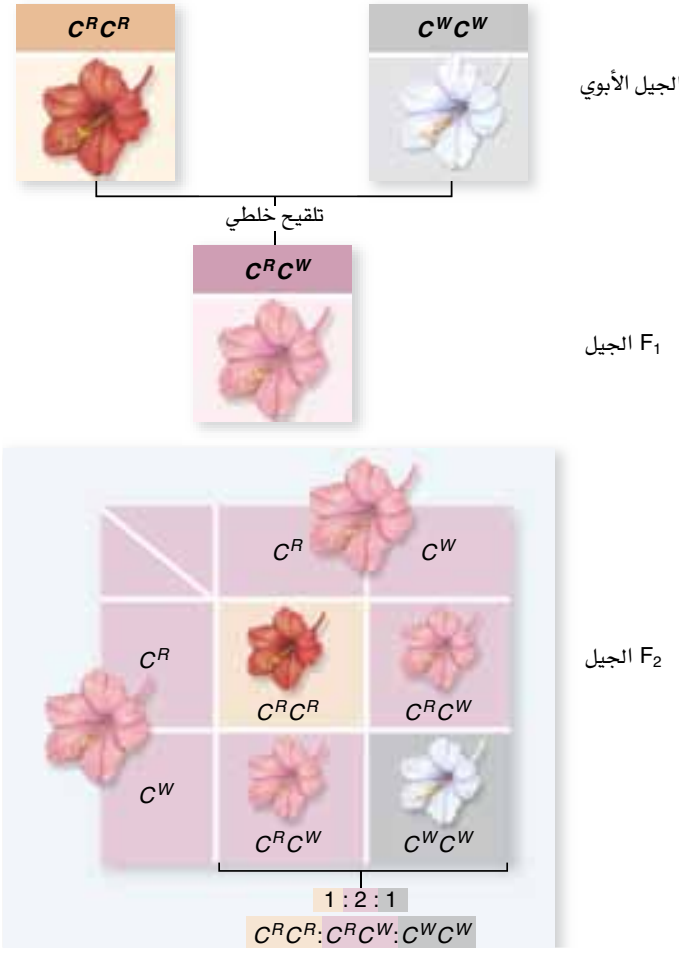
إن أفكار مندل عن الصّفات السّائدة والْمتنحّية قد تبدو صعبة التفسير من منظور الكيمياء الحيوية الحديثة. فمثلًا، إذا كانت هناك صفة متنحية نتجت عن فقدان

وظيفة أنزيم معين مشفَّر من قبل أليل متنحٍّ، إذن، فلماذا يكون لغير متماثل الْجينات الذي يملك نصف نشاط هذا الأنزيم مظهر متماثل الْجينات السائد؟

الجواب هو أن الأنزيمات غالبًا ما تعمل ضمن منظومة مسارات، وليس وحدها. هذه المسارات، وكما عرفت في فصول سابقة، قد تكون شديدة التعقيد فيما يتعلق بمدخلاتها ومخرجاتها، وتستطيع أن تتحمل النقص الكبير في نشاط أحد الأنزيمات دون أن يكون هناك نقص في الناتج النهائي. وعندما تكون الحال هكذا، فستكون السيادة كاملة، إلا أن الجينات كلها لا تعمل بهذه الطريقة.

السّيادة غير الْكاملة

في السّيادة غير الكاملة Incomplete dominance يكون للفرد غير متماثل الْجينات مظهرٌ وسطيٌّ بين متماثلي الْجينات. فمثلًا، عند تزاوج أزهار الساعة الرابعة اليابانية الحمراء والبيضاء التي تم الحديث عنها في (الشكل 12-13)، يظهر أفراد F_1 جميعهم باللون الزهري (الوردي) ما يشير إلى عدم سيادة أيّ منهما. وبالنظر إلى أفراد F_1 يمكننا الاستنتاج أن هناك خلطًا وراثيًّا بين الصفتين السائدتين. ولكن عند تزاوج أفراد F_1 فإن الناتج يكون أزهارًا حمراء وزهرية وبيضاء بنسبة 1 : 2 : 1. وبذا، تكون نسبة الطراز الظاهري مماثلة لنسبة الطراز الجيني ؛ لأن بالإمكان تمييز الطرز الْوراثيّة الثلاثة.



الشكل 12-13

السيادة غير الكاملة. في تزاوج زهرة الساعة اليابانية الحمراء (الطراز الجيني C^RC^R) مع الزهرة البيضاء C^WC^W لا يوجد أليل سائد. النسل غير متماثل الْجينات له لون زهري وطرازه الجيني C^RC^W. إذا تزاوج نباتان غير متماثلي الْجينات، فإن الطراز الظاهري للنسل يكون بنسبة 1 : 2 : 1 (أحمر: زهري: أبيض).

السيادة المشتركة

تمتلك معظم الْجينات الموجودة في مجموعة سكانية كثيرًا من الأليلات المختلفة، وفي الغالب لا تكون هناك سيادة لأحد الأليلات على الأخرى، وبدلًا من ذلك، يكون لكلّ أليل تأثيره، ويكون لغير متماثل الْجينات بعض جوانب الطراز الظاهري لكلّ من متماثلي الْجينات، وتسمى هذه أليلات ذات **سيادة مشتركة Codominant**.

بالإمكان تمييز السيادة المشتركة عن السيادة غير الكاملة من مظهر غير متماثل الْجينات. ففي السيادة غير الكاملة، يكون غير متماثل الْجينات في حالة وسطية بين كلا متماثلي الْجينات المتزاوجين. أما في السيادة المشتركة فترى بعض جوانب كلا الأليلين في الفرد غير متماثل الْجينات. وأوضح مثال على ذلك زمر الدم في الإنسان.

يتم تقسيم زمر الدم في الإنسان بناء على استجابة جهاز المناعة للبروتينات الموجودة على غشاء خلايا الدم الحمراء. ففي متماثل الْجينات، هناك نوع واحد من البروتينات على سطح الخلية، في حين هناك نوعان من البروتينات في غير متماثل الْجينات. وعليه، تكون هناك سيادة مشتركة.

نظام زمر الدم *ABO* في الإنسان

إن الجين المسؤول عن تحديد زمر الدم ABO في الإنسان يحمل الشيفرة الْوراثيّة لأحد الأنزيمات التي تقوم بإضافة جزيئات سكر للبروتينات الموجودة على سطح خلية الدم الحمراء. تعمل هذه السكريات بوصفها علامات تعرف لجهاز المناعة (الفصل الـ 51). الجين الذي يحمل الشيفرة الْوراثيّة لهذا الأنزيم يرمز إليه بـ I. وله ثلاثة أليلات مشتركة: I^A ويُنتج أنزيمًا يعمل على إضافة جلاكتوزأمين، I^B، ويُنتج أنزيمًا يعمل على إضافة الجلاكتوز و i المُشفِّر لبروتين لا يضيف سكرًا.

بالإمكان جمع الأليلات الثلاثة التابعة للجين I بتشكيلات مختلفة لإنتاج ستة طرز وراثية مختلفة. فالفرد غير متماثل الْجينات للأليلين I^A و I^B ينتج الأنزيمين، ومن ثم، فإن خلايا الدم الحمراء سوف تحمل على سطحها جلاكتوز وجلاكتوزأمين. ولأن كلا الأليلين يُعَبَّرُ عنهما بشكل متزامن في غير متماثل الْجينات فإن I^A و I^B متشاركان في السيادة.

ويُعَدُّ كلا الأليلين I^A و I^B سائدًا على الأليل i لأن I^A و I^B يؤديان إلى إضافة السكر. لذا، فإن التوليفات المختلفة لهذه الأليلات الثلاثة تؤدي إلى إنتاج أربعة طرز ظاهرية، هي: (الشكل 12-14):

1. أفراد النوع A تحتوي جلاكتوزأمين، ولهم أحد نوعين من الطرز الجينية، إما $I^A\,I^A$ متماثل الْجينات، أو I^Ai غيرمتماثل الْجينات.
2. أفراد النوع B تحتوي على جلاكتوز، ولهم أحد نوعين من الطرز الجينية، $I^B\,I^B$ متماثل الْجينات، أو I^Bi غيرمتماثل الْجينات.
3. أفراد النوع AB تحتوي على نوعي السكر، وهم غيرمتماثلي الْجينات $I^A\,I^B$ (نوع واحد من الطرز الجينية).
4. أفراد النوع O التي لا تحتوي على أي سكر، وهم متماثلو الْجينات ii (نوع واحد من الطرز الجينية).

تسمى هذه الطرز الظاهرية الموجودة على سطح الخلية **زمر الدم ABO ABO Blood groups**.

يستطيع جهاز المناعة في الإنسان أن يميز بين هذه الطرز الظاهرية الأربعة، فإذا تم نقل دم من شخص يحمل زمرة الدم B إلى شخص آخر يحمل زمرة الدم A، فإن جهاز المناعة لدى الشخص المستقبل يتعرف إلى مولد الضدّ أو الأنتيجين "الغريب" (الجلاكتوز)، ويقوم بمهاجمة خلايا دم المانح ما يؤدي إلى تكتل

	الأليلات	زمرة الدم	السكريات الموجودة	يمنح أو يستقبل
	I^AI^A , I^Ai (i سائد على I^A)	A	جالاكتوزأمين	يستقبل من A و O ويمنح A و AB
	I^BI^B , I^Bi (i سائد على I^B)	B	جالاكتوز	يستقبل من B و O ويمنح B و AB
	I^AI^B (سيادة مشتركة)	AB	جالاكتوزأمين	مستقبل عام ويمنح AB
	ii (i متنحٍّ)	O	لا يوجد	يستقبل من O ومانح عام

الشكل 12-14

توضح زمر الدم ABO السيادة المشتركة وتعدد الأليلات. هناك ثلاثة أليلات للجين I: I^A، I^B و i؛ وهما سائدان على i (انظر نوعي A و B) غير أنهما يشتركان في السيادة، عندما يجتمعان معًا (انظر نوع AB). يظهر في الجدول الطراز الجيني لكل نوع دم والطراز الظاهري المرتبط بالنوع بدلالة السكريات المضافة على سطح البروتينات والسلوك في أثناء عمليات نقل الدم.

خلايا الدم الحمراء. ويحدث الشيء نفسه إذا كان المانح له زمرة الدم AB. ولكن، لو كان المعطى حاملًا زمرة الدم O فلا يحدث هجوم مناعي؛ لعدم وجود أي نوع من السّكّريات على سطح الخلايا.

بشكل عام، يستطيع جهاز المناعة أن يتحمل نقل دم من زمرة O. ولهذا، فإن زمرة الدم O تسمى "المانح العام".

ولأن الأفراد الذين يحملون زمرة الدم AB (كريات الدم الحمراء تحتوي على كلا السكَّريات) لا يعدون جلاكتوز أو جلاكتوزأمين أجسامًا غريبة بالنسبة إليهم، فإنهم قادرون على استقبال دم من الزمر جميعها. لذا، تسمى فصيلة الدم AB "المستقبل العام". ومع ذلك، فإن الكشف عن زمرة الدم (مطابقة الدم) مهم جدًا قبل القيام بعملية نقل الدم.

قد تتأثر الْجينات بالبيئة المحيطة

هناك أمر آخر افترضه مندل، وهو أن العلاقة بين الطرازين الجيني والظاهري لا تتأثر بالبيئة. على الرغم من أن التربة التي استخدمها مندل لزراعة نباتاته لم تكن متماثلة، إلا أن هذا لم يؤخذ في الحسبان. فعلى الرّغم من أن الطراز الجيني ينتج الطراز الظاهري إلا أن البيئة تؤثر في هذه العلاقة.

إن المؤثرات البيئية ليست مقصورة على البيئة الخارجية. فمثلًا، هناك أليلات لبعض الْجينات تشفر نواتج حساسة للتغيُّر في درجة حرارة، وهي تتأثر بالفروق في درجة حرارة الجسم الداخلية. أرانب الهيملايا والقطط السيامية تحمل أليل *ch* الذي يُشفِّر للأنزيم تايروسينيز الحساس للحرارة، والذي يرتبط بالمَهَق كما قد تذكر (الشكل 12-15). تثبط النسخة Ch من الأنزيم عند درجات حرارة أعلى من 33°س. وعلى سطح منطقة الجذع والرأس لهذه الحيوانات تكون درجة الحرارة أعلى من 33°س، ويكون الأنزيم غير نشط، فينتج الفراء الأبيض. في المقابل، تكون درجة الحرارة في الأطراف مثل الأذنين والذيل أقل من 33°س، ويكون الأنزيم نشطًا ما يؤدي إلى إنتاج صبغة الميلانين التي تعطي لونًا غامقًا.

في السيطرة الفوقية (السيادة فوق التامة)، تفاعل الْجينات مع بعضها يغير النسب الْوراثيّة

آخر الفرضيات البسيطة لمندل، هي أن نواتج الْجينات لا تتفاعل، ولا تؤثر في بعضها.

غير أن الْجينات قد لا تعمل بشكل مستقل، وأن سلوك نواتج الْجينات قد يغير في النسب الناتجة عن التّوزيع المستقل، حتى لو كانت الْجينات موجودة على كروموسومات مختلفة، وتظهر توزيعًا مستقلًا.

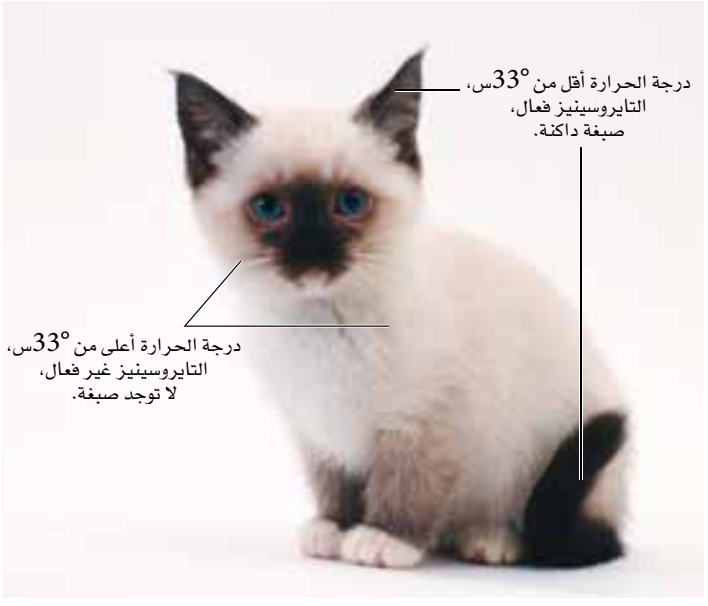
إذا أخذنا في الحسبان الطبيعة الترابطية في أنشطة الأيض، فلن يكون مستغربًا أن تكون نواتج كثير من الْجينات غير مستقلة. فالْجينات التي تعمل في طرق الأيض نفسها، مثلًا، ستبدي بعض التبعية على المستوى الوظيفي. وفي هذه الحالات، لا تظهر نسب مندل واضحة، ولكنها ستكون موجودة، ولكن بشكل مختلف.

السّيطرة الفوقية أو السّيادة فوق التّامة في الذّرة

بعد إعادة اكتشاف نتائج مندل، واجه العلماء الكثير من الصعوبات للحصول على النسب البسيطة التي حصل عليها مندل نفسها، خصوصًا في تزاوجات ثنائي الهجين. وغالبًا ما كان يصعب التعرف إلى الطرز الظاهرية الأربعة في تلك التزاوجات؛ لأن اثنين أو أكثر من تلك الطرز الظاهرية تبدو متشابهة.

المثال على ذلك يأتي من تحليل سلالات معينة من أنواع الذرة، *Zea mays*. بعض الأنواع التجارية تبدي صبغة بنفسجية تسمى الأنثوسيانين في غلاف بذرتها، أما الأخرى فليست كذلك. قام العالِمُ الوراثي ر. أ. إيميرسون عام 1918 بتهجين نوعين من الذرة من سلالات نقية تفتقر كلتاهما إلى الصبغة البنفسجية. وللغرابة، وجد أن أفراد F_1 جميعها أنتجت بذورًا بنفسجية.

وعندما زاوج اثنين من نباتات F_1 التي تنتج الصبغة من أجل الحصول على جيل F_2، وجد أن 56% منها ينتجون الصبغة، في حين 44% لا ينتجونها، وهي نتائج لا تتطابق مع النسب المتوقعة بحسب قوانين مندل. ولهذا، استنتج إيميرسون بشكل صحيح أن هناك جينين مرتبطين بإنتاج تلك الصبغة، وأن التزاوج الثاني



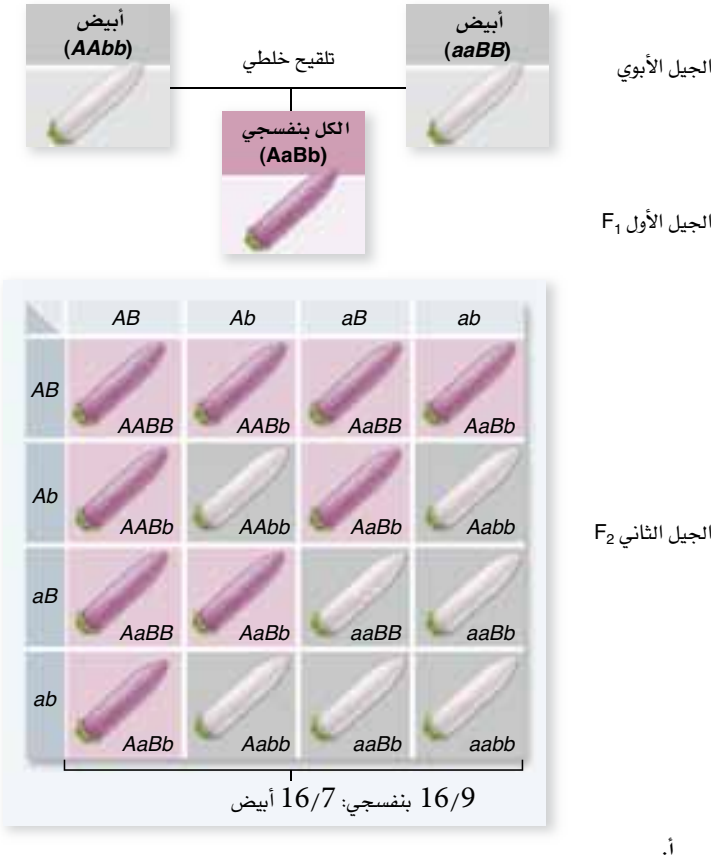
الشكل 12-15

قطة سيامية؛ يعتمد نمط لون الفراء على أليل يشفر أنزيم التايروسينيز الحساس لدرجة الحرارة.

استقصاء

تُبين كثير من الدراسات التي أجريت على التوائم المتطابقة التي تم فصلها عند الولادة أن هناك اختلافات ظاهرية بينها في أثناء تطورها (الطّول، الوزن، ...إلخ). إذا كانت هذه توائم متطابقة، فهل تستطيع افتراض تفسير لهذه الاختلافات؟

هو عبارة عن تزاوج ثنائي الهجين. وبالرجوع إلى نظرية مندل، فإن الجاميتات في تزاوج ثنائي الهجين يمكن أن تتحد بـ 16 طريقة محتملة بالتساوي- ولهذا، فإن الأحجية الآن هي معرفة كيفية حدوث التوليفات الستة عشرة في مجموعتي الطرز الظاهرية في النسل. وقد قام إيميرسون بضرب الجزء المنتج للصبغة 0.56 في 16 ليحصل على 9. وضرب الجزء غير المنتج للصبغة 0.44 في 16 ليحصل على 7. وبذا يكون إيميرسون قد حصل على **نسبة معدَّلَة Modified ratio** وهي 9:7 بدلًا من 9 :3: 3: 1 التي حصل عليها مندل (الشكل 12-16).



الشكل 12-16

طريقة تأثير السيادة فوق التامة على حبة الذرة

أ . تزاوج السلالات البيضاء من الذرة ينتج أفرادًا F_1 جميعها بنفسجية اللون. ولو كانت أكواز الذرة بيضاء بسبب أليل متنحٍّ لجين مفرد، فسوف نتوقع نسلًا أبيض اللون. التلقيح الذاتي لأفراد F_1 ينتج 9 بنفسجي: 7 أبيض، ويمكن أن يعزى ذلك إلى وجود جينين يقوم كلّ منهما بإنتاج أنزيم ضروري لتكوين الصبغة. وما لم يكن الأنزيمان معًا نشيطين (النبات يحتوي على أليل سائد لكل من الجينين $A_B_$) فلن يتم تكوين الصبغة.

ب. المسار الكيميائي الحيوي لإنتاج الصبغة عن طريق أنزيمين يشفرهما الجينان A و B.

بالإمكان تفسير هذه النسبة المعدلة إذا فكرنا في وظيفة النواتج التي تشفرها هذه الْجينات. عندما يكون هناك نواتج جينات تعمل بشكل متعاقب كما هو الحال في طرق الأبيض، فإن وجود أليل ينتج أنزيمًا غير نشط مبكرًا في المسارات الأيضية سيوقف تدفق المواد خلال بقية المسار. في هذه الحالة، يصبح من الصعب التكهن ما إذا كانت الخطوات اللاحقة تعمل بشكل صحيح. هذا النوع من التفاعلات بين الْجينات، الذي يقوم في أثنائه أحد الْجينات بالتدخل في التعبير عن جين آخر يشكل أساس ظاهرة السيطرة الفوقية أو السيادة فوق التامة **Epistasis**.

يتم إنتاج صبغة الأنثوسيانين بخطوتين:

الأنزيم 1		الأنزيم 2
الجزيء البادئ ⟵	**المادة الوسيطة**	⟵ **الأنثوسيانين**
(عديم اللون)	(عديم اللون)	(بنفسجي)

لإنتاج الصبغة، يجب أن يحمل النبات نسخة واحدة فعالة على الأقل من جين كلّ أنزيم. الأليل السائد يُشَفِّر الأنزيمات الفعَّالة، في حين يُشفِّر الأليل المتنحي الأنزيمات غير الفعَّالة. ومن ضمن الستة عشر طرازًا وراثيًّا المتوقع من التّوزيع العشوائي، هناك 9 طرز وراثية تحتوي على أليل واحد سائد على الأقل من كلا الجينين. وعليه، فإن هذه الطرز تنتج اللون البنفسجي. أما الطرز الْوراثيّة السبعة الباقية فهي تفتقر إلى الأليلات السّائدة في أحد الموقعين أو كليهما ($3 + 3 + 1 = 7$) وبذا فهي تنتج نسلًا عديم اللون، وتكون المحصلة النهائية لنسب الطرز الظاهرية 9: 7، التي لاحظها إيميرسون (انظر الشكل 12-16). وعلى الرّغم من أن هذه النسبة ليست المتوقعة من التزاوج ثنائي الهجين إلا أنها تعديل للنسبة المتوقعة.

السيادة فوق التامة في كلاب الصيد

كثيرًا ما يكون لون الفراء في الحيوانات ناجمًا عن تفاعلات سيطرة فوقية بين الْجينات. فمثلًا، لون فراء كلاب الصيد اللابرادور هي نتيجة تفاعل جينين بشكل أساسي: الأول E وهو المسؤول عن تكون صبغة يوميلانين (الميلانين الحقيقي) الداكنة في الفراء. ولا يكون للكلب صاحب الطراز الجيني *ee* صبغة داكنة، ويكون لون فرائه أصفر. في حين يكون للكلب ذي الطراز الجيني EE أو ($E__$) Ee صبغة داكنة في الفراء.

أما الجين الثاني B فيحدد درجة اللون الداكن. هذا الجين يحدد توزيع الأجسام الميلانينية في الشعر. فالكلاب التي تحمل الطراز $E__bb$ يكون لون فرائها بُنيًّا، في حين يكون لون فراء الكلاب التي تحمل الطراز الجيني $__B__E$ أسود.

حتى في الكلاب الصفراء، يكون للجين B بعض التأثير. فالكلاب الصفراء التي تحمل الطراز الجيني *eebb* تبدي اللون البني على الأنف والفم، وعلى محيط العين، أما الكلاب التي تحمل الطراز الجيني $__eeB$ فيكون لها صبغة سوداء في هذه الأماكن.

جينات (الوراثة متعددة الْجينات) ويستطيع جين واحد أن يؤثر في أكثر من صفة (تعدد النمط الظاهري). لبعض الْجينات أكثر من أليلين ما يؤدي إلى عدم ظهور السيادة البسيط. في السيادة غير الكاملة، يكون غير متماثل الْجينات في حالة وسطية بين متماثل الْجينات السّائدة والْمتنحّية، أما في السيادة المشتركة، فيظهر غير متماثل الْجينات كلًّا من الصّفة السّائدة والْمتنحّية. إن الْجينات لا تعمل دائمًا بشكل مستقل. وهذا بدوره يؤدي إلى تغيير في نِسب ثنائي الهجين على الرّغم من أن الأليلات تتوزع باستقلال عن بعضها في الجاميتات. في السيطرة الفوقية، أو السيادة فوق التامة يعمل أحد الْجينات على إخفاء أو عمل الْجينات الأخرى أو تغطيتها.

مراجعة المفاهيم

12-1 لغز الوراثة

إن فهمنا للوراثة نتاجٌ للملاحظات العلمية التي دوَّنها مندل من أبحاث تهجين البازيلاء.

- تنتقل الصّفات إلى النسل مباشرة، ولكنها لا تختلط بالضرورة.
- تختفي الصّفات المورثة من أحد الأجيال لتظهر في جيل لاحق؛ أي إن الصّفات تنعزل ضمن نسل تزاوج معين.
- تظهر بعض الصّفات بشكل متكرر أكثر من صفات أخرى في النسل الناتج عن تزاوج ما.
- تضمنت تجارب مندل على تزاوجات متبادلة بين أنواع بازيلاء ذات سلالات نقية متبوعة بالإخصاب الذاتي لجيل أو أكثر.
- إن التحليل الرياضي الذي قام به مندل على نتائج تجاربه أدى إلى ظهور النموذج الوراثي الحالي.

12-2 تزاوجات أحادي الهجين (أحادي الصّفات): مبدأ الانعزال (الشكل 12-6)

تزاوجات أحادي الهجين تتعقب شكلين فقط من الصّفة الواحدة

- تتحدد الصّفات الْوراثيّة عن طريق عوامل محددة نسميها الآن الْجينات.
- الأليلات أشكال بديلة للجين، وتنتج أشكالًا بديلة من الصّفات.
- يعرف الطراز الجيني بأنه مجموعة أطقم الأليلات التي يمتلكها الفرد.
- يعرف الطراز الظاهري بأنه المظهر الطبيعي أو الصّفة التي يمكن ملاحظتها في الفرد، وتنتج من التعبير عن الطراز الجيني.
- النسل الناتج عن تزاوج الأبوين (P) هو الجيل البنوي الأول F_1.
- عند تزاوج سلالات نقية من الآباء يتم التعبيرعن الصّفة السّائدة، ولا يتم التعبير عن الصّفة البديلة أو الْمتنحّية حتى جيل F_2.
- في جيل F_2 تظهر النسب المندلية 75% سائدة و 25% متنحية، ويمكن التعبير عنها بشكل 3: 1.
- النسبة المندلية لجيل F_2 تخفي نسبة 1: 2: 1 حيث يكون $\frac{1}{4}$ الجيل من سلالات نقية سائدة، و $\frac{2}{4}$ (أو $\frac{1}{2}$) من سلالات غير نقية، $\frac{1}{4}$ الجيل من سلالات نقية متنحية.
- ينص مبدأ الانعزال على أن الأليلات البديلة للجين الواحد تنعزل عن بعضها خلال عملية تكوين الجاميتات، ويتم جمعها مرة أخرى عشوائيًّا عند الإخصاب.
- يحمل الفرد متماثل الْجينات أليلين متشابهين للجين نفسه.
- يحمل الفرد غير متماثل الْجينات أليلين مختلفين للجين نفسه.
- تَظهر الصّفة التي يحددها الأليل السائد في متماثل الْجينات السائد، وفي غير متماثل الْجينات.
- تَظهر الصّفة التي يحددها الأليل المتنحى في متماثل الْجينات المتنحي فقط.
- يُمكن التكهن بنتائج التزاوجات المندلية عن طريق مربع بانيت، أو بنظرية الاحتمالات (الشكل 12-7).
- يتم دراسة الوراثة في الإنسان باستخدام شجرة النسب.

12-3 تزاوج ثنائي الهجين: مبدأ التّوزيع الحر. (الشكل 12-10)

تتوزع أزواج الأليلات المختلفة بشكل حرّ خلال عملية الانقسام الاختزالي.

- تتعقب تزاوجات ثنائي الهجين سلوك صفتين مختلفتين خلال تزاوج واحد.
- يُظهر جيل F_1 الناتج عن تزاوجٍ ثنائي الهجين صفتين من ضمن 4 توليفات للصفات المحتملة، ولا يحدث خلط بينها.
- يُبدي أفراد الجيل الثاني الناتج عن تزاوجٍ ثنائي الهجين 4 توليفات محتملة للصفات بنسبة 9: 3: 3: 1.
- ينص مبدأ التّوزيع المستقل على أنّ أليلات جين معين تتوزع باستقلال عن بعضها.

12-4 الاحتمالات: التكهن بنتائج التزاوجات

لأن سلوكَ الكروموسومات المختلفة خلال الانقسام الاختزالي مستقلٌ، فإنه يمكن استخدام مبدأ الاحتمالات للتكهن بنتائج التزاوجات.

- يساعد قانونان للاحتمالات على التكهن بالطراز الجيني والطراز الظاهري الناتجين عن تزاوجٍ أحادي الهجين.
- ينص قانون الجَمْع على أن احتمال وقوع حدثين تبادلي الاستثناء يساوي مجموع احتمال وقوع كلّ منهما.
- ينص قانون التضاعف على أن احتمال وقوع حدثين مستقلين يساوي حاصل ضرب احتمال وقوع كلّ منهما.
- تعتمد الاحتمالات الناتجة عن تزاوجٍ ثنائي الهجين على احتمالات تزاوج أحادي الهجين وباستخدام قانون حاصل الضرب.

12-5 تزاوج اختباري: الكشف عن الطراز الجيني (الشكل 12-11)

في تزاوج اختباري، يتم تزاوج طراز جيني غير معروف مع طراز جيني متنحٍّ متماثل الْجينات.

- إذا كان الطراز الجيني غير المعروف سائدًا ومتماثل الْجينات، فإن نسل الجيل F_1 يكون مشابهًا للآباء.
- إذا كان الطراز الجيني غير المعروف غير متماثل الْجينات، فإن نسل الجيل F_1 سوف يبدي نسبة 1:1.
- تؤكد نتائج التزاوج الاختباري مبدأ الانعزال.

12-6 امتدادات مندل

توصل العلماء الذين تعاقبوا بعد مندل إلى صحة النموذج الأساسي الذي وضعه، غير أن النموذج لم يكن كاملًا، وإن الافتراضات التي وضعها لم تكن صحيحة.

- في الوراثة متعددة الْجينات، تسهم جينات عدة في الطراز الظاهري.
- تنتج كثير من الصّفات المعقدة من مساهمات تتراكم من جينات عدة ما يؤدي إلى ظهور اختلافات كَمِّية متواصلة في الصّفات.
- يحدث تعدد النمط الظاهري عندما يؤثر أليل في أكثر من صفة، ويصعب التكهن بتأثيره.
- قد يكون للجين أكثر من أليلين.
- تحدث السيادة غير التامة عندما يبدي غير متماثل الْجينات طرازًا ظاهريًّا وسطيًّا، وتنتج النسبة 1: 2: 1 (الشكل 12-13).
- يُظهر كلا الأليلين في السيادة المشتركة تأثيرهما في الصّفة الْوراثيّة، حيث لا توجد سيادة لأحدهما على الآخر.
- قد تؤثر البيئة في التعبير الجيني ما يؤدي إلى ظهور اختلافات في الطراز الظاهري.
- تتفاعل الْجينات مع بعضها في السيطرة الفوقية أو السيادة فوق التامة، بحيث يقوم جين معين بالتدخل في التعبير عن جين آخر.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. النباتات ذات السلالات النقية هي التي:
   أ . تنتج نسلًا يختلف عن الآباء.
   ب. تشكل نسلًا هجينًا من خلال التلقيح الخلطي.
   جـ. تنتج نسلًا يشبه الآباء دائمًا.
   د . تستطيع أن تتكاثر مع نفسها فقط.

2. الخاصية التي ميزت أبحاث مندل عن الدراسات السابقة هي:
   أ . استخدم مندل نباتات بازيلاء ذات سلالات نقية.
   ب. قام مندل بعمل دراسة كمية للنتائج.
   جـ. فحص مندل صفات مختلفة ومتعددة.
   د . درس مندل انعزال الصّفات.

3. تزاوج أحادي الهجين:
   أ . هو نفسه الإخصاب الذاتي.
   ب. يفحص شكلًا واحدًا للصفة الواحدة.
   جـ. ينتج فردًا واحدًا من النسل.
   د . يفحص شكلي الصّفة الواحدة.

4. ظهرت أفراد جيل F_1 الناتجة عن تزاوج أحادي الهجين البنفسجية (PP) والبيضاء (pp) لنبات البازيلاء؛ لأن:
   أ . أفراد F_1 جميعها لها زهرة بيضاء.
   ب. أفراد F_1 لها زهرة بنفسجية فاتحة اللون أو لون خليط.
   جـ. أفراد F_1 جميعها لها زهرة بنفسجية.
   د . معظم أفراد F_1 ($\frac{3}{4}$) له زهرة بنفسجية بينما $\frac{1}{4}$ لها زهرة بيضاء.

5. إذا قمنا بعملية الإخصاب الذاتي لأفراد F_1 من السؤال السابق، فإن نسب الطرز الظاهرية لأفراد F_2 ستكون:
   أ . جميعها بنفسجية. ب. 1 بنفسجي: 1 أبيض.
   جـ. 3 بنفسجي: 1 أبيض. د . 3 أبيض: 1 بنفسجي.

6. واحدٌ مما يأتي ليس جزءًا من نموذج مندل الخماسي العناصر:
   أ . الصّفات لها أشكال متبادلة (تسمى اليوم أليلات).
   ب. ينقل الآباء صفات محددة إلى الأبناء.
   جـ. وجود الأليل يحتم التعبير عنه.
   د . الصّفات لا تختلط.

7. الفرد غير متماثل الْجينات هو الفرد الذي يحمل:
   أ . طقمين مختلفين من الْجينات. ب. أليلين متطابقين لجين معين.
   جـ. أليلًا فعّالًا واحدًا. د . أليلين مختلفين لجين معين.

8. يتم تحديد ________________ للمخلوق عن طريق ________________ له.
   أ . الطراز الجيني، الطراز الظاهري. ب. الطراز الظاهري، الطراز الجيني.
   جـ. الأليلات، الطراز الظاهري. د . الجيل الأول F_1، الأليلات.

9. واحدٌ مما يأتي يمثل الطراز الظاهري لحالة المهق، وهي صفة متنحية في الإنسان:
   أ . غياب صبغة الميلانين.
   ب. وجود أليلات غير فعالة لأنزيم التايروسينيز (محلل التايروسين).
   جـ. غياب أنزيم التايروسينيز (محلل التايروسين) من الخلايا.
   د . أ و ب.

10. في تزاوج ثنائي الهجين لنباتين: أحدهما له ورقة طويلة ملساء، والآخر له ورقة قصيرة شَعَرِيَّة، تنتج أفراد من F_1 لها ورقة طويلة ملساء. فإذا سمح لأفراد F_1 بالتزاوج الذاتي لإنتاج F_2 فإن نسب الطراز الظاهري لأفراد F_2 ستكون:
    أ . 9 طويلة ملساء: 3 طويلة شَعَرِيَّة: 3 قصيرة شَعَرِيَّة: 1 قصيرة ملساء.
    ب. 9 طويلة ملساء: 3 طويلة شَعَرِيَّة: 3 قصيرة ملساء: 1 قصيرة شَعَرِيَّة.
    جـ. 9 قصيرة شَعَرِيَّة: 3 طويلة شَعَرِيَّة: 3 قصيرة ملساء: 1 طويلة ملساء.
    د . 1 طويلة ملساء: 1 طويلة شَعَرِيَّة: 1 قصيرة ملساء: 1 قصيرة شَعَرِيَّة.

11. يقوم التزاوج الاختباري بتحديد ما إذا كان الفرد:
    أ . متماثل الْجينات سائدًا أو غير متماثل الْجينات.
    ب. متماثل الْجينات متنحيًا أو متماثل الْجينات سائدًا.
    جـ. غير متماثل الْجينات أو متماثل الْجينات متنحيًا.
    د . سلالة نقية.

12. صفة متعددة الْجينات هي:
    أ . مجموعة من الطرز الظاهرية المحددة عن طريق جين معين.
    ب. طراز ظاهري واحد محدد عن طريق أليلين.
    جـ. طراز ظاهري واحد محدد عن طريق أكثر من جين.
    د . مجموعة الصّفات التي يحملها الفرد.

13. عندما يؤثِّر جين معين في طرز ظاهرية عدة فإن هذا التأثير يسمى:
    أ . السيادة المشتركة. ب. السيادة فوق التامة.
    جـ. السيادة غير التامة. د . تعدد النمط الظاهري.

14. احتمال الحصول على فرد يحمل الطراز الجيني bb من تزاوج فردين يحملان الطراز الجيني Bb هو:
    أ . $\frac{1}{2}$ ب. $\frac{1}{4}$ جـ. $\frac{1}{8}$ د. صفر

15. احتمال الحصول على فرد يحمل الطراز الجيني CC من تزاوج فردين يحملان الطرازين الوراثيين CC و Cc هو:
    أ . $\frac{1}{2}$ ب. $\frac{1}{4}$ جـ. $\frac{1}{8}$ د. $\frac{1}{16}$

أسئلة تحدٍّ

1. صمم بانيت مربعًا للتزاوجات الآتية، ثم تنبأ بنسبة الطراز الظاهري للصفات السّائدة والْمتنحِّية. ارمز للأليلات السّائدة بحرف كبير، وللمتنحية بحرف صغير.
   أ . تزاوج أحادي الهجين بين فردين لهما الطرازان الجينيان Aa و Aa.
   ب. تزاوج ثنائي الهجين بين فردين لهما الطرازان الجينيان $AaBb$.
   جـ. تزاوج ثنائي الهجين بين فردين لهما الطرازان الجينيان $aabb$ و $AaBb$.

2. استخدم مبدأ الاحتمالات للتنبؤ بالآتي:
   أ . ما احتمال الحصول على فرد يحمل الطراز الجيني rr من إخصاب ذاتي لنبات يحمل الطراز الجيني Rr؟
   ب. ما احتمال الحصول على نسل متماثل الْجينات متنحٍّ من تزاوج اختباري لفرد غير متماثل الْجينات؟
   جـ. تم إخصاب نبات يحمل الطراز الجيني Gg ذاتيًّا. استخدم مبدأ الاحتمالات لتحديد نسب النسل التي سيكون لها طراز ظاهري سائد.
   د . استخدم مبدأ الاحتمالات لتحديد نسب النسل الناتج عن تزاوج ثنائي التهجين ($GgRr \times GgRr$) الذي سيحمل الطراز الظاهري $ggR_$.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع .www.ravenbiology.com لتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 13

الكروموسومات، خرائطها، والصّلة بين الانقسام الاختزالي والوراثة

Chromosomes, Mapping, and the Meiosis–Inheritance Connection

موجز المفاهيم

13-1 الارتباط بالجنس ونظرية الوراثة الْكروموسوميّة

- *ربط مورجان بين وراثة صفة وكروموسومات الجنس.*
- *يقع الجين المسؤول عن لون العين على الكروموسوم X.*

13-2 كروموسومات الْجنس وتحديد الجنس

- *يحدد الكروموسوم Y صفات الذّكورة في الإنسان.*
- *تكشف بعض الاضطرابات الْوراثيَّة في الإنسان عن الارتباط بالجنس.*
- *تمنع معادلة الجرعة تضاعف نواتج الجينات المرتبطة بالجنس.*
- *يؤدي تثبيط فعالية الكروموسوم X إلى وراثة فسيفسائية.*

13-3 استثناءات لنظرية الوراثة الْكروموسوميّة

- *تُورّث جينات الميتوكوندريا من الأم.*
- *تُورّث جينات البلاستيدات الخضراء من أحد الأبوين.*

13-4 الخرائط الْوراثيَّة

- *تعمل إعادة الاتحاد الوراثي على تبادل الأليلات بين الكروموسومات المتماثلة.*
- *تعدّ إعادة الاتحاد أساس الخرائط الجينية.*
- *قد يؤدي العبور المتعدد إلى نتائج تشبه التّوزيع الْحرّ.*
- *يمكن استخدام التّزاوج ثلاثي النقاط لترتيب الجينات في أماكنها.*
- *يمكن بناء خرائط وراثيّة للمحتوى الجيني للإنسان.*

13-5 أمثلة مختارة على الاضطرابات الْوراثيَّة عند الإنسان

- *قد تحدث الاضطرابات الْوراثيَّة بسبب بروتينات محوّرة.*
- *يغير عدم انفصال الكروموسومات العدد الكروموسومي.*
- *تعتمد البصمة الْوراثيَّة على المنشأ الأبوي للأليلات.*
- *يمكن الكشف عن بعض العيوب الْوراثيَّة في المراحل المبكرة من الحمل.*

مقدّمة

فتحت تجارب مندل الباب لفهم الوراثة، إلا أن كثيرًا من الأسئلة بقيت دون إجابة. في بداية القرن العشرين، لم نكن نعلم حقيقة العوامل الْوراثيَّة التي قام مندل بدراسة سلوكها في نقل الصِّفات الْوراثيَّة. فكانت الخطوة الآتية—التي شغلت كثيرًا من الباحثين في بداية القرن العشرين- توحيد المعلومات حول سلوك الكروموسومات، التي تظهر في الصورة، وعلاقتها بالوراثة. فالمبادئ التي وضعها مندل، والمتعلقة بالانعزال والتّوزيع الْحرّ مبنية على الأحداث التي تتم في أثناء عملية الانقسام الاختزالي.

إن سلوك الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي لا يفسر مبادئ مندل فحسب، بل يقودنا إلى تبني توجّه جديد مختلف لدراسة الوراثة. وتُعَدُّ القدرة على بناء خرائط جينية تبين مواقع الجينات إحدى الوسائل الفعالة التي تستخدم في التحليل الوراثي. فالوسائل المستخدمة لوضع الخرائط الجينية للذباب ومخلوقات حية أخرى، إضافة إلى وضع الخريطة الجينية للإنسان أسهمت الآن في تحديد مواقع الجينات ذات العلاقة بالأمراض الْوراثيَّة وعزلها.

13-1 الارتباط بالجنس ونظرية الوراثة الْكروموسوميّة

أبرز عالِمُ الوراثة الألماني كارل كورينز الدور المحوري للكروموسومات في عملية الوراثة من خلال إحدى نشراته العلمية التي أعادت اكتشاف أعمال مندل. ثم تبع ذلك بمدة وجيزة الملاحظات التي تبين أن الكروموسومات المتماثلة تزدوج في أثناء عملية الانقسام الاختزالي، وأدت هذه الملاحظة إلى ظهور **نظرية الوراثة الْكروموسوميّة Chromosomal theory of inheritance** التي صاغها العالم الأمريكي والتر ساتون عام 1902.

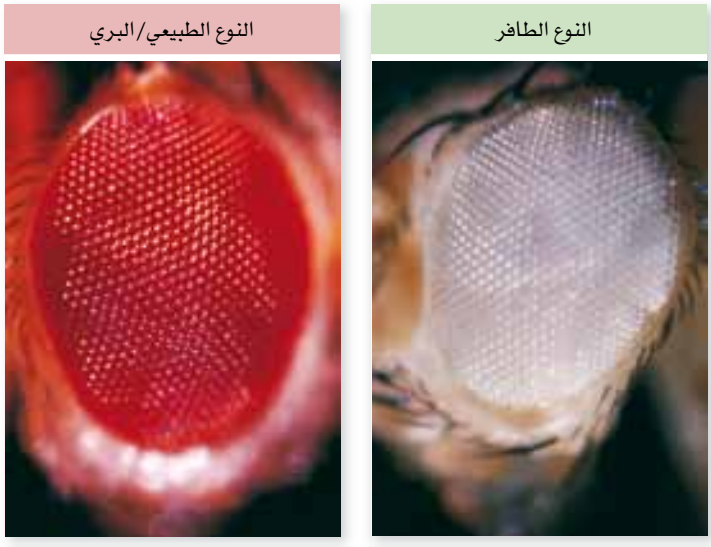
ربط مورجان بين وراثة صفة وكروموسومات الجنس

اكتشف العالِمُ توماس هانت مورجان عام 1910، من خلال الدراسة التي أجراها على ذبابة الفاكهة دروسوفيلا ميلانوجاستر *Drosophila melanogaster*، ذبابة ذكرًا لها عينان لونهما أبيض، وليس أحمر (الشكل 13-1).

فقام مباشرة بإجراء الاختبارات لمعرفة ما إذا تم توريث هذه الصّفة الجديدة بالطريقة الْمندليّة، فزاوج ذكرًا طافرًا (حدثت به طفرة) أبيض العينين مع أنثى طبيعية لها عينان حمراوان لمعرفة ما إذا كانت صفة العين الحمراء أم العين البيضاء هي السائدة. وجد مورجان أن جميع أفراد الجيل الأول F_1 ذوو عيون حمراء، واستنتج أن العين الحمراء هي الصّفة السائدة على العين البيضاء.

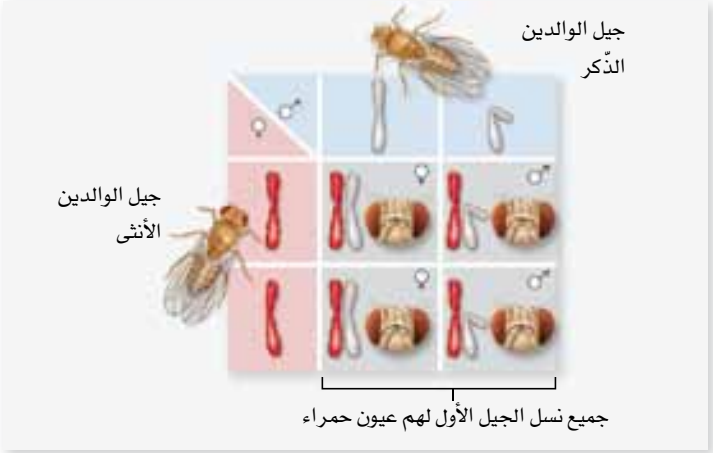
تزاوج أفراد الجيل الأول F_1

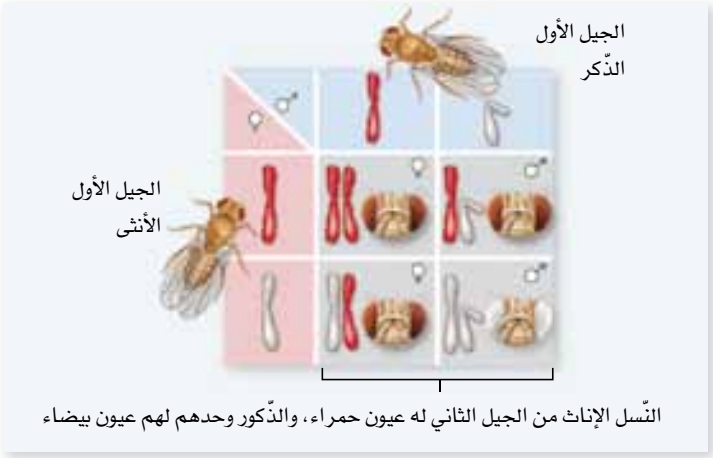
وبتتبع الطريقة التي اعتمدها مندل في إجراء التجارب، قام مورجان بمزاوجة أفراد الجيل الأول الذين يحملون صفة العين الحمراء مع بعضهم، فكانت النتيجة أنه من بين 4252 فردًا من الجيل الثاني F_2 كان هناك 782 (18%) لهم عيون بيضاء. وعلى الرغم من أن نسبة العيون الحمراء إلى العيون البيضاء في أفراد الجيل الثاني كانت أكبر من 1:3، ألا أن هذه النتيجة بينت بشكل واضح أن صفة لون العين تنعزل. ومع ذلك، بينت هذه النتيجة أمرًا آخر لم تتوقعه نظرية مندل، ألا هو أن أفراد الجيل الثاني كلّه ذوي العيون البيضاء كانوا ذكورًا (الشكل 13-2).

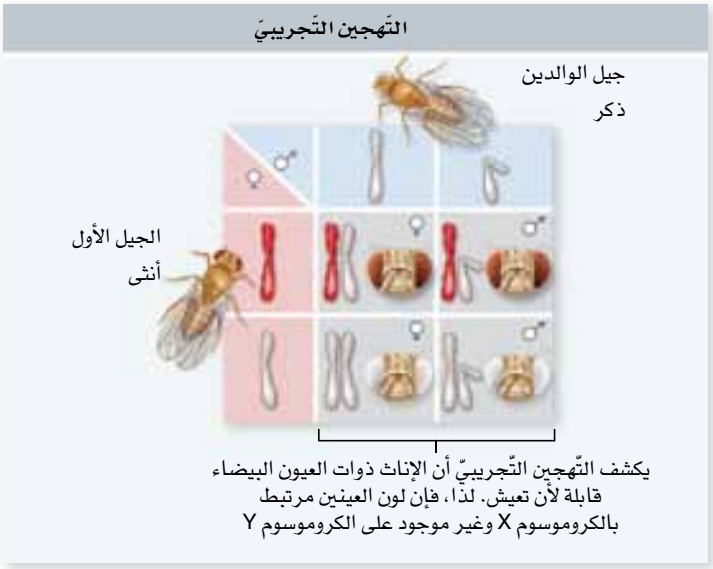


الشكل 13-1

العين الحمراء (الطبيعية) والعين البيضاء (الطافرة) في ذبابة الفاكهة.
الطفرات عبارة عن تغيرات متوارثة في المادة الْوراثيّة. وبدراسة النمط الوراثي لأليلات العين البيضاء والحمراء (الموجودة على كروموسوم X)، بيَّن مورجان للمرة الأولى أن الجينات موجودة على الكروموسومات.







الشكل 13-2

الأسس الْكروموسوميّة للارتباط بالجنس. تم تهجين ذكر ذبابة ذي عين بيضاء مع ذبابة أنثى ذات عين حمراء. أفراد الجيل الأول F_1 جميعهم لديهم عيون حمراء، وكما هو متوقع لأليل العين البيضاء المتنحي. في الجيل الثاني F_2، جميع الذباب ذوو العيون البيضاء هم ذكور؛ لأن الكروموسوم Y يفتقر إلى جين اللون الأبيض. لذا، فإن وراثة كروموسومات الجنس المتعلقة بلون العين، تُظهر أن جين اللون الأبيض موجود على الكروموسوم X.

التّهجين (التّلقيح) التّجريبيّ *Testcross*

حاول مورجان أن يجد تفسيرًا لهذه النتيجة، وكان أحد الاحتمالات التي وضعها هي عدم وجود ذبابات إناث ذوات عيون بيضاء، حيث قد لا تعيش مثل هذه الذبابات لسبب غير معروف. لاختبار هذه الفكرة، قام مورجان بتهجين تجريبيّ، فزاوج أفراد الجيل الأول من الإناث مع ذكور عيونهم بيضاء. كانت نتيجة هذه التجربة أن حصل على ذبابات لها عيون بيضاء وأخرى لها عيون حمراء بنسبة 1:1:1:1 تمامًا كما توقعت نظرية مندل. أي إن الذبابات الإناث ذوات العيون البيضاء موجودة فعلًا. فقام مورجان بعد ذلك بالنظر في طبيعة الكروموسومات في الذّكور وفي الإناث باحثًا عن تفسير لهذه الظاهرة.

يقع الجين المسؤول عن لون العين على الكروموسوم X

يتم تحديد جنس أفراد ذبابة الفاكهة *Drosophila* بناءً على عدد النسخ من كروموسوم معين هو **الكروموسوم X chromosome X**. فقد كشفت الملاحظات أن إناث ذبابة الدروسوفيلا لها زوج من الكروموسوم X، أما الذكور فلهم كروموسوم X واحد. لذا، فإن الكروموسوم X في الذّكور يزدوج في أثناء عملية الانقسام الاختزالي مع كروموسوم مختلف، وهو **الكروموسوم Y chromosome Y**. يسمى هذان الكروموسومان **كروموسومي الجنس Sex chromosomes** وذلك لارتباطهما بالجنس.

في أثناء الانقسام الاختزالي، تنتج إناث الدروسوفيلا نوعًا واحدًا من الجاميتات هو الذي يحمل الكروموسوم X، في حين تنتج الذّكور نوعين من الجاميتات هي التي تحمل الكروموسومين X أو Y. فإذا قام حيوان منوي يحمل الكروموسوم X بإخصاب البيضة، فإن الزيجوت الناتج سيتطور ليصبح أنثى XX، ولكن قام حيوان منوي يحمل الكروموسوم Y بإخصاب البيضة، فإن الزيجوت الناتج سيتطور ليصبح ذكرًا XY.

يكمن حل لغز مورجان في أن يكون الجين المسبب لبياض عين الذبابة محمولًا على الكروموسوم X، وليس على الكروموسوم Y. (نحن نعرف الآن أن الكروموسوم Y في الذباب لا يحمل جينات فعالة). وبناءً على ما تقدم، فإن الصّفة التي يتم تحديدها من قبل جين موجود على الكروموسوم X تسمى صفة **مرتبطة بالجنس Sex-linked**، أو مرتبطة بـ X-linked X، لأنها تعتمد على جنس الفرد. ولأن صفة اللون الأحمر سائدة على اللون الأبيض، فإننا نرى أن نتائج مورجان تتسق مع نظرية انعزال الكروموسومات المُندليّة (الشكل 13-2).

لقد كانت تجربة مورجان من أهم التجارب في تاريخ علم الوراثة؛ إذ بينت بما لا يدع مجالًا للشك أن الجينات التي تحدد الصِّفات المُندليّة موجودة فعلًا على الكروموسومات، كما اقترح ساتون، وأن الصِّفات المُندليّة تنعزل في أثناء التّزاوج؛ لأن الكروموسومات المتماثلة تنفصل عند تكون الجاميتات.

اقترح والتر ساتون نظرية الوراثة الْكروموسوميّة التي تنص على أن الصِّفات الْوراثيَّة محمولة على الكروموسومات. اكتشاف توماس هَنْت مورجان لصفة العيون البيضاء في ذبابة الفاكهة سمح بربط الصِّفات بالكروموسومات؛ لأن أليلات العيون البيضاء موجودة على الكروموسوم X.

2-13 كروموسومات الجنس وتحديد الجنس

تختلف تراكيب الكروموسومات الْجنسيَّة وأعدادها باختلاف الأنواع (جدول 13-1). في ذبابة الفاكهة، تحمل الأنثى الكروموسومين XX، في حين يحمل الذّكر الكروموسومين XY، كما هو الحال في الإنسان وثدييات أخرى. أما في الطيور فيحمل الذّكر اثنين من الكروموسوم Z، في حين تحمل الأنثى الكروموسومين Z وW. بعض الحشرات كالجراد ليس لديها كروموسوم Y، فالإناث لديها الكروموسومان XX، أما الذّكور فلديها فقط الكروموسوم X ويرمز إليها XO (حيث تشير O إلى عدم وجود كروموسوم).

الجدول 13-1 تحديد الجنس في بعض المخلوقات

	أنثى	ذكر
الإنسان، ذبابة الفاكهة	XX	XY
الطيور	ZW	ZZ
الجراد	XX	XO
نحل العسل	ثنائي العدد الكروموسومي	أحادي العدد الكروموسومي

يحدد الكروموسوم Y صفات الذّكورة في الإنسان

تعلمنا في الفصل العاشر أن الإنسان لديه 46 كروموسومًا، أو 23 زوجًا من الكروموسومات. اثنان وعشرون من هذه الأزواج متطابقة في الذّكر والأنثى وتسمى الكروموسومات **الجسمية Autosomes**. أما الزوج المتبقي فهو كروموسوم الجنس: XX في الأناث و XY في الذّكور.

الكروموسوم Y في الذّكور قصير ومكثف. ولأن هناك فقط عددًا قليلًا من الجينات التي يجري التعبير عنها على الكروموسوم Y، فإن أليلات الصِّفات المتنحية الموجودة على الكروموسوم X لدى الذّكور، ليس لديها نظير على الكروموسوم Y.

إن الترتيب المبدئي الطبيعي لنمو الجنين في الإنسان يتجه نحو تكوين الأنثى. غير أن بعض الجينات الفعالة على الكروموسوم Y، وبالأخص الجين *SRY*، هي المسؤولة عن تكوين الأجهزة التناسلية الذّكرية والأعضاء الذكرية الثانوية، منتجة خصائص الذّكورة في الإنسان. وبالنتيجة، فإن أيّ فرد لديه كروموسوم Y واحد على الأقل سيكون ذكرًا.

هناك بعض الاستثناءات لما ذكر سابقًا، وهي تقدم دعمًا لهذه الآلية في تحديد الجنس. فمثلًا، قد يتحرك جزء من الكروموسوم Y ليرتبط بالكروموسوم X ما يتسبب في تطور أفراد XX بوصفهم ذكورًا. هناك أيضًا اضطراب وراثي ينتج عنه فشل في الاستجابة لهرمونات الجنس الذكرية (متلازمة انعدام الحساسية للهرمونات الذكرية) ما يؤدي إلى نمو أفراد XY بوصفهم إناثًا. أخيرًا، فإن الطفرات التي تحدث في جين SRY تؤدي إلى نمو أفراد XY بوصفهم إناثًا.

يوجد هذا النوع من تحديد الجنس، والموجود في الإنسان أيضًا، في الثّدييّات، ولكنه ليس عامًّا في الفقريات جميعها. هناك بعض العوامل البيئية التي تؤثر في تحديد الجنس لدى بعض الفقريات مثل الأسماك والزواحف، وذلك بالتأثير في التعبير الجيني لبعض الجينات المحددة للجنس.

تكشف بعض الاضطرابات الْوراثيَّة في الإنسان عن الارتباط بالجنس

منذ زمن بعيد، لاحظ البشر ظهور حالات تصيب الذّكور بدرجة أكبر من الإناث. فمثلًا، عمى الألوان الأحمر والأخضر حالةٌ معروفة ومنتشرة عند الرجال؛ لأن الجين المصاب يوجد على الكروموسوم X.

هناك مثال آخر، وهو مرض **نزف الدّم الوراثيّ** (الناعور) **Hemophilia** الذي ينتج عن تغير في بروتين واحد ضمن سلسلة من البروتينات المسؤولة عن تجلط الدم. لذا، فإن الأشخاص المصابين بنزف الدم الوراثي لا يتوقف لديهم نزف الدم عند تعرضهم لجرح بسيط. هذا النوع من نزف الدم الوراثي ينتج عن جين متنحٍّ مرتبط بكروموسوم X. فالنساء غير متماثلات الجينات لهذا الأليل لا يُظهرن المرض، ويُعَدّن ناقلات له، أما الرجال الذين يرثون الكروموسوم X متنحي الأليل فإنهم يظهرون المرض.

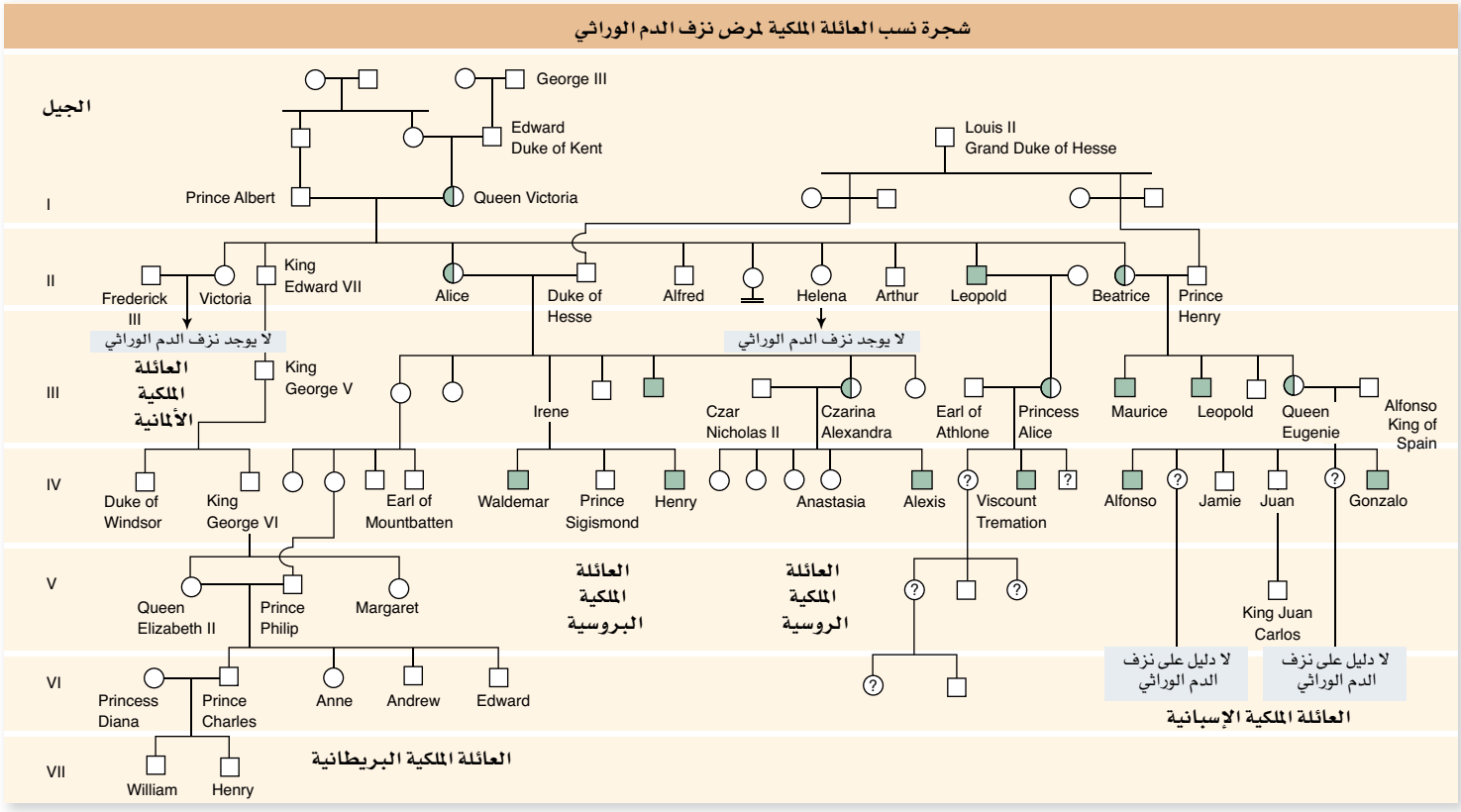
لقد تم إدخال مرض نزف الدم الوراثي لعدد من العائلات الملكية الأوروبية عن طريق الملكة فيكتوريا ملكة إنجلترا. ولأن تلك العائلات تحتفظ بسجل نَسَب لها، فإن لدينا الآن شجرة نسب مفصلة تبين وجود هذا المرض في عشرة أحفاد من رجال العائلة، خلال الأجيال الخمسة التي أعقبت الملكة فيكتوريا (الشكل 13-3).

ورثت عائلة رومانوف الروسية مرض نزف الدم الوراثي من خلال حفيدة الملكة فيكتوريا أليكساندرا فيدوروفنا. تزوجت أليكساندرا من القيصر نيكولاس الثاني، وأنجبت منه ابنهما الوحيد أليكسس الذي كان مصابًا بالمرض. أُعْدمت العائلة بأكملها في الثورة الروسية. (ولقد كشفت التقانات الْوراثيَّة الحديثة لرفات المرأة التي طالما ادعت أنها أناستاسيا، البنت الناجية، أنها لا تنتمي إلى عائلة رومانوف).

الشكل 13-3

شجرة نسب العائلة الملكية لمرض نزف الدم الوراثي

الملكة فيكتوريا، التي تظهر في منتصف أسفل الصورة، كانت حاملة لمرض نزف الدم الوراثي. اثنتان من بنات الملكة الأربعة، وهما أليس وبياتريس، ورثتا أليل نزف الدم الوراثي من فيكتوريا. اثنتان من بنات أليس تقفان خلف فيكتوريا (وترتديان الفرو): الأميرة آيرين لبروسيا (اليمين) وأليكساندرا (اليسار)، التي ستصبح فيما بعد إمبراطورة روسيا. كلّ من آيرين وأليكساندرا كانتا حاملتين لمرض نزف الدم الوراثي أيضًا. بالنظر إلى شجرة النّسَب، فإنه يظهر جليًّا أن أليس قامت بإدخال مرض نزف الدم الوراثي للعائلة الملكية الروسية والبروسية، وقامت بياتريس ابنة فيكتوريا بإدخال المرض إلى العائلة الملكية الإسبانية. نقل ليوبولد ابن فيكتوريا، وهو أيضًا ضحية لمرض نزف الدم الوراثي، المرضَ لسلالة ثالثة منحدرة من الملكة فيكتوريا. تمثل الرموز نصف المظللة الحاملين للمرض ولهم أليل طبيعي وأليل معطل؛ في حين تمثل الرموز المظللة بالكامل الأفراد المصابين بالمرض.



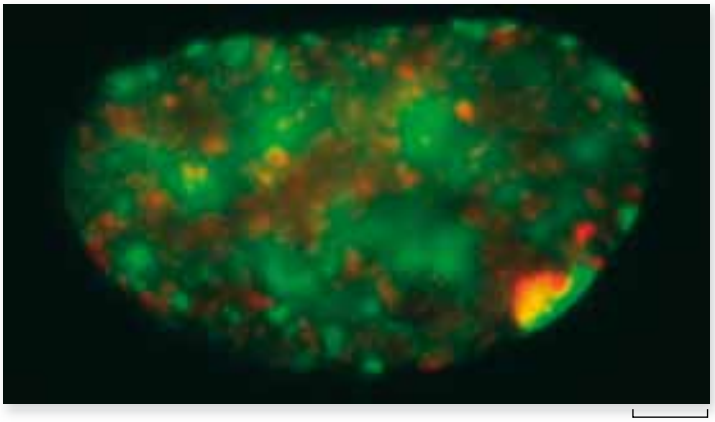
من المفارقات أن هذه الحالة لم تصب أحدًا من العائلة الملكية البريطانية؛ لأن إدوارد ابن الملكة فيكتوريا، الذي أصبح الملك إدوارد السابع، لم يستقبل أليلات نزف الدم الوراثي. وحكام بريطانيا المتعاقبين جميعهم من نسله.

معادلة الجرعة

تمنع تضاعف نواتج الجينات المرتبطة بالجنس

على الرغم من أن الذّكور يحملون نسخة واحدة من الكروموسوم X، وتحمل الإناث نسختين من الكروموسوم نفسه، إلا أن الإناث لا يقمن بإنتاج كمية مضاعفة من البروتينات التي تشفرها الجينات الموجودة على الكروموسوم X. عوضًا عن ذلك، فإنه يتم تثبيط نسخة من الكروموسوم X في المراحل المبكرة من عملية النمو الجنيني وتحديدًا بعد وقت قصير من تحديد الجنس. يسمى هذا التثبيط **معادلة الجرعة Dosage compensation** التي يتم من خلالها التوازن في عملية التعبير الجيني للجينات الموجودة على الكروموسومات الْجنسيَّة على الرغم من اختلاف عددها بين الذّكور والإناث. (تقوم ذبابة الدروسوفيلا بعكس ما تقدم، إذ تقوم عملية معادلة الجرعة بزيادة نواتج التعبير الجيني للجينات الموجودة على الكروموسوم X في الذّكر).

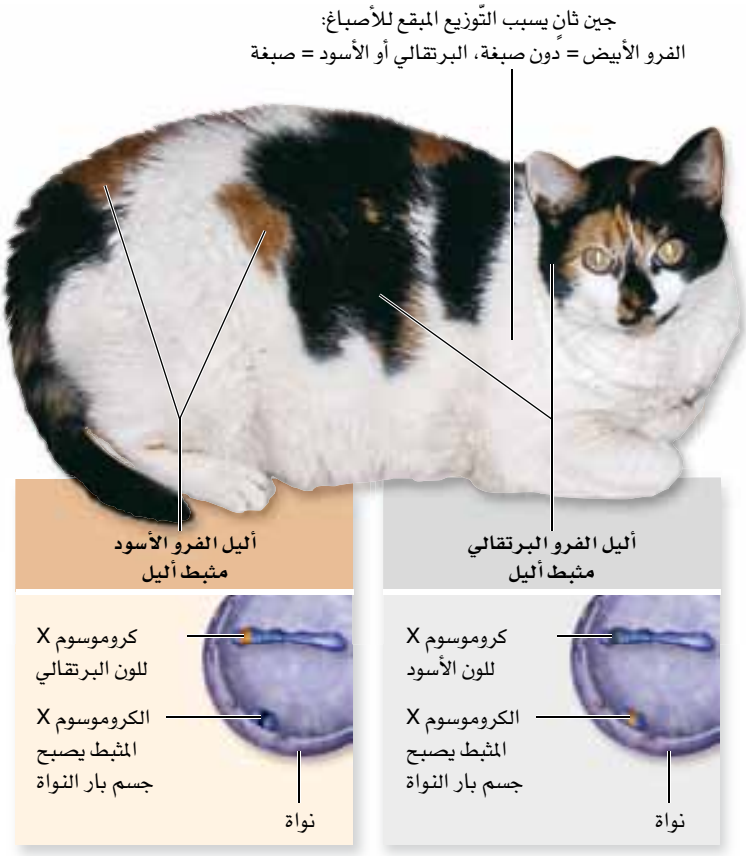
يتم انتقاء الكروموسوم X المراد تثبيطه في الإناث بشكل عشوائيّ من خلية إلى أخرى. فإذا كانت المرأة غير متماثلة الجينات لصفة مرتبطة بالجنس، فإن بعضًا من الخلايا تقوم بالتعبير الجيني لأحد الأليلات على أحد الكروموسومات X، في حين تقوم الخلايا الأخرى بالتعبير الجيني للأليل نفسه، ولكن الموجود على كروموسوم X الآخر. يكون الكروموسوم X المثبط متشكلًا بشكل مكثف، وبلون غامق، ويسمى **جسم بار Barr body** ويكون متصلًا بغشاء النواة.



تثبيط فعالية الكروموسوم X يؤدي إلى وراثة فسيفسائية

إن تثبيط الكروموسوم X للحصول على معادلة الجرعة ليس مقصورًا على الإنسان، وإنما يوجد في الثّدييّات جميعها. وتشكل الإناث غير متماثلة الجينات للأليلات الموجودة على الكروموسوم X **فسيفسائية الوراثة Genetic mosaics** أي إن الخلايا تقوم بالتعبير الجيني عن أليلات مختلفة، اعتمادًا على الكروموسوم المثبّط.

من الأمثلة على الوراثة الفسيفسائية قطط الكاليكو التي لها فرو مبقع باللون الداكن، والبرتقالي والأبيض (الشكل 13-4). ويعود تكون اللونين الداكن والبرتقالي إلى عدم تماثل جين يوجد على الكروموسوم X وهو مسؤول عن تحديد نوع الصبغة. يقوم هذا الجين بإنتاج اللونين، فأحد الأليلين التابعين لهذا الجين يقوم بإنتاج اللون الداكن، أما الأليل الآخر فيقوم بإنتاج اللون البرتقالي. ويعزى أي



الشكل 13-4

قطط الكاليكو. القطة غير متماثلة الجينات للأليلات المسؤولة عن لون الفرو، التي تنتج إما الفرو الأسود، أو الفرو البرتقالي. يوجد هذا الجين على الكروموسوم X. لذا، فإن الفرو مختلف الألوان هو نتيجة تثبيط أحد كروموسومي X. التّوزيع المبقع للألوان ووجود اللون الأبيض هو نتيجة جين آخر له سيطرة فوقية على جين لون الفرو، ومن ثم يظهر تأثيره.

من هذه الألوان- سنشاهده في بقعة محددة - إلى تثبيط واحد من كروموسومي X: فإذا تم تثبيط الكروموسوم الذي يحمل أليل اللون البرتقالي، فإن لون الفرو سيكون داكنًا والعكس صحيح بالنسبة إلى الفرو البرتقالي.

إن توزيع الألوان بشكل بقع على الفرو، إضافة إلى وجود اللون الأبيض، دليل على وجود جين ذي سيطرة (سيادة) فوقية على جين لون الفرو (الفصل 12)؛ أي إن وجود هذا الجين الثاني ينتج توزيعًا مبقعًا للصبغة، حيث تظهر بعض المناطق فاقدة للصبغة تمامًا. وفي المناطق التي تفتقر إلى الصبغة، يحجب تأثير أيّ من أليلي اللون. ولذا يعدّ توزيع الألوان في فرو هذه القطط مثالًا واضحًا على عمليتي السيطرة الفوقية وتثبيط الكروموسوم X.

لا تمتلك المخلوقات جميعها كروموسومات الجنس نفسها. فهناك بعض الاختلاف في هذه الكروموسومات بين أجناس المخلوقات المختلفة. ويعتمد تكوين الجنس الذكري في الإنسان على الكروموسوم Y. وتُظهر ذكور XY صفات متنحية للأليلات الموجودة على الكروموسوم X مؤدية بذلك إلى وجود الوراثة المرتبطة بالجنس. تقوم إناث الثّدييّات بتثبيط أحد كروموسومات X لتحقيق التوازن في مستويات التعبير الجيني بين الذّكور والإناث. إن التثبيط العشوائي لكروموسومات X في خلايا الإناث غير متماثلة الجينات الموجودة على الكروموسوم X يؤدي إلى حدوث الوراثة الفسيفسائية.

13-3 استثناءات لنظريّة الْوراثة الْكروموسوميّة

على الرغم من أن النظرية الْكروموسوميّة تفسر معظم الوراثة، إلا أن هناك استثناءات. والسّبب في ذلك أساسًا هو وجود DNA في المحتوى الجيني لبعض العضيات، مثل الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء. لقد تم دراسة الوراثة غير الْمندليّة عن طريق العضيات بعمق من قبل العالِمة روث ساجر، التي قامت، على الرّغم من النقد الواسع، ببناء خريطة الجينات الأولى لجينات البلاستيدات الخضراء الموجودة في طحلب الكلاميدوموناس *Chlamydomonas*، أحادي الْخليّة الأخضر، في الستينيات والسبعينيات من القرن الماضي.

الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء لا تنقسم مع المحتوى الجيني في أثناء عملية الانقسام الاختزالي. لذلك، فإنّ أيّ صفة ظهرت بفعل الجينات في هذه العضيات لن تظهر الوراثة الْمندليّة.

تُورّث جينات الميتوكوندريا من الأم

تُورّث العضيات عادة من أحد الأبوين فقط، وهي الأم بشكل عام. فعند تكون الزيجوت، فإنه يستقبل عددًا متساويًا من المحتوى الجيني من كلا الأبوين، إلا أنه يحصل على الميتوكوندريا كلّها من البيضة التي تحتوي على سيتوبلازم أعلى (ومن ثم على العضيات). عند انقسام البيضة المخصّبة تنقسم عضيات الميتوكوندريا الأصلية أيضًا، ويتم توزيعها بشكل عشوائيّ.

نتيجة لذلك، بالإمكان أن نعزو وجود الميتوكوندريا في كلّ خلية من خلايا المخلوق البالغ إلى ميتوكوندريا الأم الأصليّة التي كانت موجودة في البيضة. يسمى هذا النوع من الوراثة الأحادية من الأم **الوراثة الأميّة Maternal inheritance**.

فمرض العصب البصري الوراثي لليبر Leber's Hereditary Optic Neuropathy (LHON) الذي يصيب الإنسان يظهر وراثة أميّة. الأساس الجيني لهذا المرض هو حدوث طفرة في أليل في وحدة من أنزيم نازع هيدروجين NADH. تقلل الطفرة من كفاءة انتقال الإلكترون في سلسلة نقل الإلكترون التي تحدث في الميتوكوندريا (انظر الفصل الـ7)، ما يقلل من كمية ATP الناتجة. بعض خلايا العصب البصري حساسة لنقص كمية ATP ما يؤدي إلى ضمور في الأعصاب.

الأم المصابة بهذا المرض ستنقله إلى نسلها كلّه، أما الأب المصاب فلن ينقله إلى أيٍّ من نسله. لاحظ أن هذه الحالة تختلف عن الوراثة المرتبطة بالجنس ؛ لأن الذّكور والإناث يتأثرون بشكل متساوٍ.

تُورّثُ جينات البلاستيدات الخضراء من أحد الأبوين

إن النسق الوراثي للبلاستيدات الخضراء عادة ما يكون من الأم أيضًا، إلا أنه في بعض الحالات يكون أبويًّا أو من كلا الأبوين، وذلك يعتمد على نوع المخلوق الحيّ. وقد افترض العالِمُ كارل كورينز عام 1909 أن البلاستيدات الخضراء هي المسؤولة عن الوراثة المبرقشة في النبات المعروف بالساعة الرابعة *Mirabilis jalapa*، (فيه أوراق خضراء وأخرى بيضاء)، وتظهر نسل هذه النبتة الصِّفات الشكلية للأم بغض النظر عن صفات الأب.

وقد ظهر من خلال أعمال العالِم ساجر على الكلاميدوموناس أن مقاومته للمضاد الحيوي ستربتومايسين ناتجة عن انتقال هذه الصّفة عن طريق DNA البلاستيدات الخضراء لواحد فقط من نوعي التّزاوج (تدعى السالب والموجب).

تحتوي العضيات كالميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء على المحتوى الجيني الخاص بهما. تنقسم هذه العضيات باستقلالية عن النواة، وتكون موجودة في سيتوبلازم البيضة. لذا، فإن وراثة صفات تلك الجينات تسمى الوراثة الأمية. وقد تكون وراثة البلاستيدات الخضراء في بعض أنواع المخلوقات أبويّة أو من كلا الأبوين.

13-4 الخرائط الْوراثيَّة

عرفنا أن الصِّفات الْمندليّة تُحددها جينات موجودة على الكروموسومات، وأن التّوزيع الْحرّ لهذه الصفات يعكس توزيعًا حرًّا للكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي. هذا أمر جيد حتى الآن، إلا أن ما تقدم لا يمثل الصورة بشكل كامل. لقد عرفنا من الشكل 12-4 للصفات الْمندليّة السّبع، أنّ ستًّا منها موجودة على كروموسومات مختلفة، واثنتين موجودتان على الكروموسوم نفسه، إلا أن جميعها تظهر توزيعًا حرًّا مع بعضها. ولكن يجب ألّا تتصرف الصفتان الموجودتان على الكروموسوم نفسه كباقي الصِّفات الموجودة على كروموسومات مختلفة. في الحقيقة، تحتوي المخلوقات الحية بشكل عام على جينات تتوزع بشكل حر أكثر بكثير من عدد الكروموسومات. وهذا يعني أن التّوزيع الْحرّ لا يمكن أن يكون فقط بسبب الاصطفاف العشوائي للكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي.

استقصاء

لم يفحص مندل طول النبتة وشكل قرن البازيلاء في التّزاوج ثنائي التّهجين. إن جينات هذه الصّفات قريبة جدًا من بعضها على الكروموسوم نفسه. كيف كانت هذه الحالة ستغير نتائج مندل؟

يكمن حل هذه المشكلة في الملاحظة التي تم تقديمها (في الفصل الـ11): عملية العبور للكروموسومات المتماثلة في أثناء عملية الانقسام الاختزالي. ففي الطور التمهيدي الأول من الانقسام الاختزالي، تُظهر الكروموسومات المتماثلة تبادلًا لقطع الكروموسومات بينها بعملية العبور (الشكل 13-5). وقد رأينا (في الفصل الـ11) أن هذا جزء من الآلية التي تسمح للكروموسومات المتماثلة، لا الكروماتيدات الشقيقة، بالانفصال في أثناء الطور الانفصالي الأول.

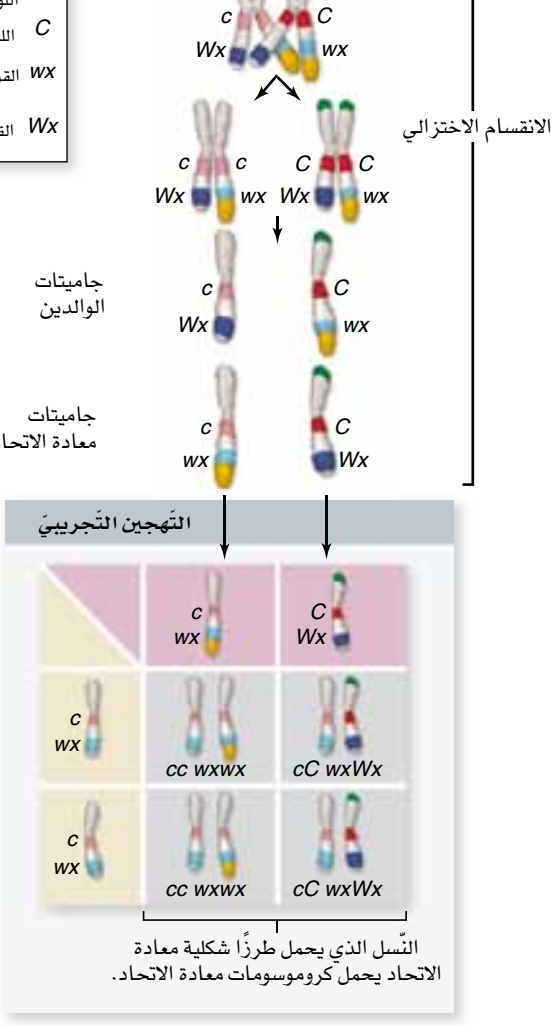
تعمل إعادة الاتحاد الوراثي على تبادل الأليلات الموجودة على الكروموسومات المتماثلة

افترض تزاوجًا ثنائي التّهجين باستخدام طريقة مندل. بتزاوج أبوين نقيي السلالة يختلفان في صفتين، فإنهما سيقومان بإنتاج نسل F_1 غير متماثل الجينات للصفتين. إذا كانت جينات هاتين الصّفتين موجودة على كروموسوم واحد، فإننا نتوقع في أثناء الانقسام الاختزالي، انعزال أليلات كلا الموقعين معًا، وتنتج جاميتات تماثل الوالدين فقط. ولكن إذا تمت عملية العبور بين الموقعين، فإن

أحد الكروموسومات المتماثلة سوف يحمل أليلًا واحدًا من كلا الوالدين، ومن ثم سوف تنتج جاميتات تجمع صفات الأبوين مجتمعة (الشكل 13-5). تسمى الجاميتات التي تحمل هذا الاتحاد الجديد من الأليلات الجاميتات معادة الاتحاد *Recombinant gametes* لأنها تتكون بإعادة اتحاد أليلات الوالدين.

كان مورجان أول باحث قدّم الدليل على هذه الظاهرة، عندما درس ثلاثة جينات موجودة على كروموسوم X في ذبابة الفاكهة. حيث وجد فائضًا من صفات الوالدين الذي فسّر أنه بسبب وجود الجينات كلّها على الكروموسوم X ومن ثم تُورّثُ مَعَ بعضها. واقترح أن التراكيب الجينية معادة الاتحاد هي نتيجة لعملية عبور تتم بين الكروموسومات المتماثلة.

قدّمت تجارب أجراها بشكل مستقل العالِمان باربارا ماكلينتونك وهاريت كرايتون



الشكل 13-5

يتم تبادل أليلات الكروموسومات المتماثلة من خلال عملية العبور. عندما تحدث عملية العبور بين موقعين، فإنها تؤدي إلى إنتاج كروموسومات معادة الاتحاد. إذا لم يحدث العبور، فإن الكروموسومات ستكون حاملة لتراكيب الوالدين من الأليلات.

على نبات الذّرة، والعالم كيرت ستيرن على ذبابة الفاكهة الدليل على حدوث عملية تبادل فيزيائي للمادة الْوراثيَّة. ويبين (الشكل 13-6) المخطط التفصيلي لتجربة كرايتون وماكلينتوك. حيث قاما باستخدام كروموسوم لديه تغيران يمكن رؤيتهما تحت المجهر: زر في أحد أطراف الكروموسوم وجزء من كروموسوم مختلف متصل بالطرف الآخر. إضافة إلى العلامات الخلوية هذه، يحمل هذا الكروموسوم علامتين جينيتين: جين يحدد صفة لون كوز الذّرة، وآخر يحدد صفة قوامه.

الشكل 13-6

تجربة كرايتون وماكلينتوك. برهنت هذه التجربة أن الكروموسومات تتبادل المادة الجينية فيزيائيًّا خلال عملية إعادة الاتحاد. تم تصميم التجربة لاستخدام الاختلافات الْكروموسوميّة الظاهرة تحت المجهر، إضافة إلى جينين مختلفين على الكروموسوم نفسه. عندما تم القيام بتهجين تجريبي لنباتات غير متماثلة الجينات لعلامات جينية وملاحظة (فيزيائيّة)، فإن النّسل الذي تمت به إعادة اتحاد وراثي تبادل أيضًا العلامات الملاحظة. وهذا يبين أن الكروموسومات تتبادل المواد الْوراثيَّة فيزيائيًّا.

يحمل الكروموسوم الطويل، ذو الزر، الأليل السائد لصفة اللون (C) والأليل المتنحي الشمعي لقوام الكوز (wx). تم إنتاج أفراد غير متماثلة الجينات بها الكروموسوم المتغير بعد أن ازدوج مع كروموسوم طبيعي يحمل الأليل المتنحي عديم اللون لصفة لون الكوز (c) والأليل السائد النشوي لصفة قوامه (Wx) (انظر الشكل 13-6). تظهر هذه النباتات ملونة ونشوية؛ لأنها غير متماثلة الجينات لكلا الموقعين، وهي غير متماثلة للكروموسومين المتميزين شكلًا.

تم إجراء تهجين تجريبي لأفراد الجيل الأول F_1 لهذه النباتات مع نباتات عديمة اللون وشمعية. وقد تم تحليل النّسل من حيث إعادة الاتحاد الفيزيائي (باستخدام المجهر لرؤية الكروموسومات) وإعادة الاتحاد الوراثي (بالنظر إلى الطّراز الشكلي للنسل). والنتيجة الملاحظة كانت مدهشة: إن النّسل الذي أظهر الطّراز الشكلي جميعه معاد الاتحاد يحمل واحدة من العلامات الْكروموسوميّة فقط، ما يدل على أن التبادل الفيزيائي يكون مصحوبًا بظهور طراز شكلي معاد الاتحاد.

إعادةُ الاتحاد أساسُ الخرائط الجينية

تُعَدُّ قابلية تحديد مواقع الجينات على الكروموسومات باستخدام نتائج التّهجين الوراثي واحدة من أقوى الوسائل في علم الوراثة. إن النظرة الثاقبة التي أدت إلى هذه التقنية، كغيرها من التأملات العظيمة، تبدو بسيطة جدًا وواضحة عند النظر إليها بمنظور عكسي الآن.

كان مورجان قد اقترح قبلها أن تكرار ظهور نسل معاد الاتحاد هو انعكاس ومؤشر للمواقع النسبية للجينات على الكروموسوم، التي تحمل صفات هذا النّسل. وقد وضع أحد تلاميذ مورجان وهو ألفريد ستيرتيفانت هذه الملاحظة على أساس كمّيّ. فقد استنتج أنه يمكن استخدام تكرار إعادة الاتحاد الملاحظ في التّزاوج بوصفه مقياسًا لبعد المسافات بين الجينات. فكلما زاد البعد الفيزيائي على الكروموسوم، زاد احتمال حدوث إعادة الاتحاد (عملية العبور) بين مواقع الجينات. وباستخدام هذا المنطق، يكون تكرار الجاميتات معادة الاتحاد المنتجة مقياسًا لبعدها عن بعضها على الكروموسوم.

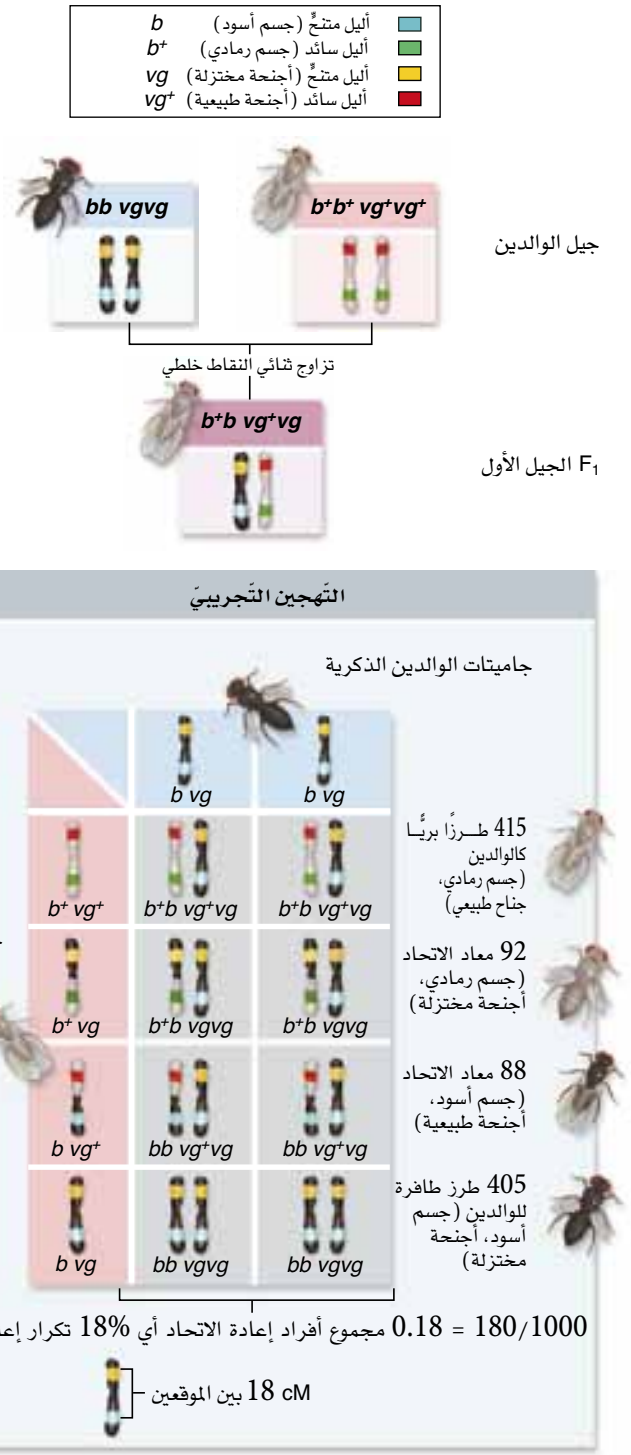
نتائج الارتباط

للتمكن من قياس تكرار إعادة الاتحاد بسهولة، استخدم الباحثون تهجينًا تجريبيًّا بدلًا من التّزاوج الخلطي لنسل الجيل الأول، وذلك لإنتاج أفراد الجيل الثاني F_2. ففي الاختبار التّجريبيّ، الذي وُصِفَ سابقًا، كانت الطرز الشكلية للنسل تعكس الجاميتات الناتجة عن أفراد الجيل الأول غير متماثلة الجينات للصفتين. وفي حالة إعادة الاتحاد، فإن النّسل الذي يظهر صفات الوالدين لم يخضع لعملية العبور والنّسل التي يظهر معاد الاتحاد خضع لعملية عبور بين الموقعين قيد الدراسة (الشكل 13-5).

وعندما تكون الجينات قريبة من بعضها، فإن عدد النّسل معاد الاتحاد يكون أقل بكثير من عدد النّسل الذي أظهر صفات الوالدين، وتسمى الجينات في هذه الحالة **جينات مرتبطة Linked genes**. ويسمى ناتج قسمة عدد النّسل معاد الاتحاد على العدد الكلي للنسل **تكرار إعادة الاتحاد Recombination frequency**. ويتم تحويل هذه القيمة إلى نسبة مئوية، حيث إن كلّ 1% من إعادة الاتحاد يمثل **وحدة خريطة Map unit**. وقد سميت هذه الوحدة بالسنتيمورجان (cM) تكريمًا للعالِم مورجان، على الرّغم من أنها تسمى كذلك وحدة خريطة (m.u).

إنشاء الخرائط

أصبح إنشاء خرائط الجينات بعدئذ طريقة بسيطة تتمثل في عمل اختبارات تجريبية لأفراد غير متماثلي الجينات لصفتين وعَدِّ أفراد النّسل لتحديد نسبة إعادة الاتحاد. أفضل توضيح لذلك يكون باستخدام تزاوج ثنائي الصِّفات على سبيل المثال.



الشكل 13-7

تـزاوج ثنائي النقاط لمعرفة مواقع الجينات. تـزاوج ذباب متماثل الجينات للأجنحة الطويلة (vg^+) ولون الجسم الرمادي (b^+) مع ذباب متماثل الجينات للأجنحة المختزلة (vg) ولون الجسم الأسود. (b) كلٌّ من الأجنحة المختزلة واللون الأسود متنحية أمـام الأجنحة الطويلة ولون الجسم الرمادي (الطّراز البري). تم اختبار أفراد الجيل الأول F_1 بالتهجين مع متماثل الجينات للأجنحة المختزلة واللون الأسود لإنتاج نسل يتم استخدامه لرسم خريطة الجينات. حُلِّلت النتائج في الشرح.

تم مزاوجة ذبابة الفاكهة متماثلة الجينات لطفرتين هما الجناحان المختزلان (vg) ولون الجسم الأسود (b)، مع ذبابة متماثلة الجينات للنوع البري، أو الأليلات الطبيعية، لهذين الجينين ($vg^+ b^+$). ومن ثم تم تزاوج تجريبي لنسل الجيل الأول غير متماثلة الجينات مع أفراد متماثلة الجينات للصفة المتنحية ($vg\ b/vg\ b$)، وتم عد النّسل الناتج (الشكل 13-7). النتائج مبينة أدناه:

الجناح المختزل، الجسم الأسود ($vg\ b$)	405 (صفات الوالدين)
الجناح الطّويل، الجسم الرّمادي ($vg^+ b^+$)	415 (صفات الوالدين)
الجناح المختزل، الجسم الرّمادي ($vg\ b^+$)	92 (معادة الاتحاد)
الجناح الطّويل، الجسم الأسود ($vg^+ b$)	88 (معادة الاتحاد)
مجموع النّسل	1000

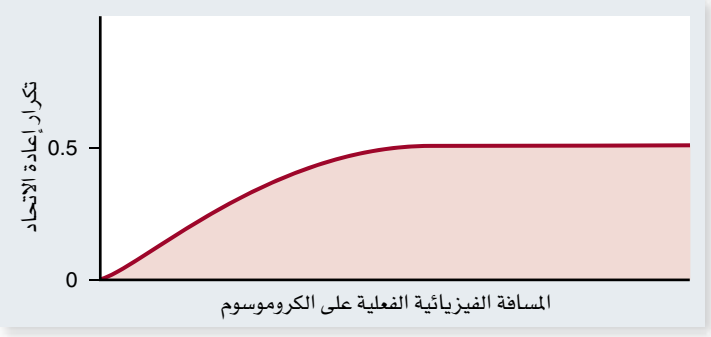
تكرار إعادة الاتحاد هي 92 + 88 مقسومًا على 1000، أو 0.18. وبتحويل هذا العدد إلى نسبة مئوية يصبح 18% cM وهي المسافة بين الموقعين على الخريطة.

قد يؤدي العبور المتعدد إلى نتائج تشبه التّوزيع الْحرّ

بازدياد المسافة الفاصلة بين الموقعين، يزداد احتمال حدوث إعادة الاتحاد بين الجينات في أثناء الانقسام الاختزالي. ولكن ماذا يحدث لو حدثت أكثر من عملية إعادة اتحاد واحدة؟

إذا حدثت عمليتا عبور بين موقعين على الكروموسومين المتماثلين، فإن التشكيلات الأبوية تُستعاد. يؤدي هذا إلى نقص تقدير المسافة الجينية الحقيقيّة؛ لأنه لا يمكن ملاحظة أحداث العبور التي تحصل جميعها. نتيجة لذلك، فإن العلاقة بين المسافة الحقيقة على كروموسوم وتكرار عملية إعادة الاتحاد ليست علاقة خطية. إنها تبدأ خطًّا مستقيمًا، ومن ثم يتناقص الميل ليتحول إلى منحنى، ثم يثبت بوصفه خطًّا مستقيمًا عند تكرار إعادة الاتحاد الذي يساوي 0.5 (الشكل 13-8).

في المسافات الطويلة، يتكرر العبور المتعدد بين المواقع. في هذه الحالة، تُنتج أعداد عمليات العبور الفردية (1، 3، 5) جاميتات معادة الاتحاد، في حين ينتج عدم حدوث العبور أو حدوثه بأعداد زوجية (0، 2، 4) جاميتات الوالدين. وفي حالة المسافات الكبيرة جدًا، تكون هذه التكرارات متساوية، مؤدية إلى عدد من الجاميتات معادة الاتحاد مساويًا لعدد الجاميتات الأبوية، وتبدي مواقع الجينات توزيعًا حرًّا مستقلًّا! هكذا استطاع مندل استخدام موقعين على الكروموسوم نفسه وجعلهما يتوزعان بشكل حر مستقل.



الشكل 13-8

العلاقة بين المسافة الحقيقية وتكرار إعادة الاتحاد. كلما زادت المسافة على الكروموسومات، لا يتم الكشف عن عمليات إعادة الاتحاد جميعها، وذلك بسبب العبور المزدوج. هذا يعطي منحنى يثبت مستواه عند 0.5.

استقصاء

ماذا كان سيلاحظ مندل في تهجين ثنائي الصّفات إذا كان موقعا الجينين يبعدان 10 cM على الكروموسوم نفسه؟ هل كانت هذه الملاحظة ستقوده إلى فكرة التّوزيع الْحرّ؟

يمكن استخدام التّزاوج ثلاثي النقاط لترتيب الجينات في أماكنها

لأن عمليات العبور المتعددة تؤدي إلى إنقاص عدد النّسل معاد الاتحاد الملاحظ، فإن المسافات الطويلة على الخريطة غير دقيقة. نتيجة لذلك، عندما يقوم علماء الوراثة بإنشاء خرائط جينية باستخدام تزاوجات ثنائية النقاط، فإن تحديد ترتيب الجينات يقود إلى مشكلة. لذا، فإن استخدام ثلاثة مواقع بدلًا من اثنين، أي تزاوجات ثلاثية النقاط، يمكن أن يكون حلًّا للمشكلة.

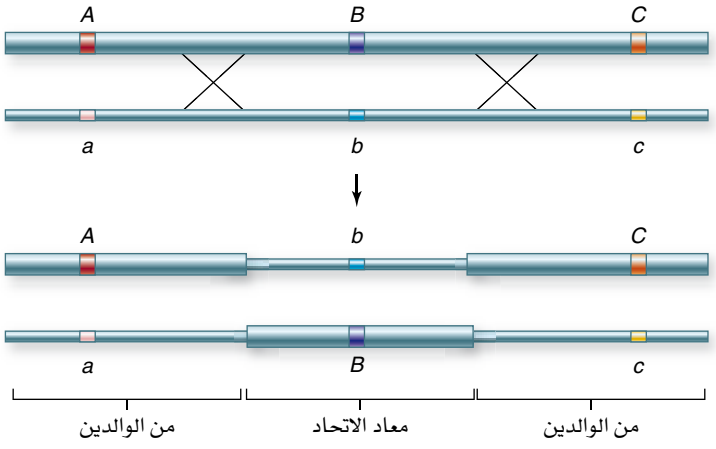
في التّزاوج ثلاثي النقاط، يسمح الجين الأوسط برؤية إعادة الاتحاد على كلا الطرفين. فمثلًا، عبوران للموقعين الخارجيين، هما فعلًا بمنزلة عبور واحد بين كلّ موقع خارجي والموقع الأوسط (الشكل 13-9).

إن احتمال حدوث عبورين يساوي حاصل ضرب احتمال كلّ عبور منهما على حدة، وكلّ احتمال منخفض نسبيًّا. لذا، وفي أي تزاوج ثلاثي النقاط، يكون النّسل الذي ينتج عن عبورين هو الأقل تكرارًا. إن تحليل هذه الأفراد لمعرفة أي المواقع معاد الاتحاد يعرِّف الموقع الأوسط بين المواقع الثلاث في التّزاوج (انظر الشكل 13-9).

ومن الناحية العملية، يستخدم علماء الوراثة التّزاوج ثلاثي النقاط لتحديد ترتيب الجينات، ثم يستخدمون بيانات تزاوج أقرب نقطتين لتحديد المسافة. يمكن معرفة المسافات البعيدة من خلال الجمع الرياضي البسيط للمسافات القصيرة. وهذا يمنع استخدام قياسات غير دقيقة من تهجين ثنائي النقاط بين مواقع بعيدة.

يمكن بناء خرائط وراثيّة للمحتوى الجيني للإنسان

يمكن تحديد مواقع الجينات في الإنسان، ولكن نحتاج إلى معلومات عن شجرة النّسَب كتلك المتعلقة بالعائلة الملكية المذكورة سابقًا. المبدأ هو نفسه -الذي



الشكل 13-9

استخدام تهجين ثلاثي النّقاط لمعرفة ترتيب الجينات. في حالة تهجين ثنائي النقاط، ستظهر المواقع الجينية الخارجية كالوالدين عند حدوث عبور مزدوج. عند إضافة موقع ثالث، ما زال من الممكن الكشف عن العبور المزدوج؛ لأن الموقع الأوسط سيكون معاد الاتحاد. هذه الدرجة من الصنف من العبور المزدوج يجب أن يكون الأقل تكرارًا، لذلك، في هذا الصنف، ومهما كان الموقع الذي يحتوي على أليلات معادة الاتحاد، يجب أن يكون في الوسط.

ينصّ على أن المسافات الجينية ما زالت تتناسب طرديًّا مع تكرار إعادة الاتحاد- ولكن يحتاج التحليل إلى بعض العمليات الإحصائية المعقدة، وجمع المعلومات لعدد من العائلات.

الصّعوبات الْمتعلقة بتحديد الخريطة الْجينية في الإنسان

بالنظر إلى الحيوانات، غير الإنسان، التي لها خرائط جينية مفصلة، نرى أن الغالبية العظمى للعلامات الجينية موجودة عند المواقع التي تسبب فيها الأليلات تغيرات شكلية، كتنوع لون العين، أو لون الجسم، أو شكل الجناح في الحشرات. أما في الإنسان، فإن هذه الأليلات عادة، ولكن ليس دائمًا، ما تكون متعلقة بمرض معين. حديثًا ومنذ مطلع ثمانينيات القرن الماضي، يقدر عدد العلامات للمحتوى الجيني للإنسان ببضع مئات. ويُعَدُّ هذا رقمًا صغيرًا جدًا مقارنة بمحتوى الإنسان الجيني الكبير جدًا، ولا يكفي لتغطية مواقع الجينات بشكل مكثف لاستخدامها في رسم الخريطة.

هناك اعتبار آخر، وهو أن الأليلات المسببة للأمراض، التي نتمنى أن نحدد مواقعها على الخريطة، موجودة بتكرارات ضئيلة في السّكان. فمن غير المحتمل أن توجد عائلة واحدة تحمل كثيرًا من أليلات الأمراض، بحيث يسمح الانعزال الْحرّ لها في وضع الخريطة الْجينيّة.

علامات مجهولة

لقد تغيرت هذه الظاهرة مع ظهور **العلامات المجهولة Anonymous markers**، وهي علامات جينية يمكن الكشف عنها باستخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية، ولكنها لا تسبب ظهور طراز شكلي ملحوظ. تطورت طبيعة هذه العلامات مع التقنية، ما أدى إلى ظهور مجموعة من العلامات المعيارية متناثرة خلال المحتوى الجيني. ويمكن الكشف عن هذه العلامات باستخدام تقنيات أوتوماتيكية سهلة، وإن لها كثافة عالية نسبيًّا. نتيجة لذلك التحليل، فإن لدى علماء الوراثة الآن بضعة آلاف من العلامات للعمل بها بدل المئات، وقد أنتجوا خريطة جينية للإنسان كان من المستحيل التفكير فيها منذ 25 سنة (الشكل 13-10). (ستتعلم في الفصول الآتية من هذه الوحدة، بعض تقنيات البيولوجيا الجزيئية التي تم تطويرها لاستخدامها مع المحتوى الجيني).

التّعدد الشّكليّ للنيكليوتيد الواحد (*SNPs*)

يمكن استخدام المعلومات التي نتجت عن معرفة تسلسل القواعد النيتروجينية للمحتوى الجيني في الإنسان لمعرفة ووضع خريطة للقاعدة النيتروجينية الواحدة التي تختلف بين الأفراد. إن أيّ اختلاف بين الأفراد في المجموعة السكانية يُسمى التعّدد الشّكليّ *Polymorphisms*؛ ويسمى التّعدد الشّكليّ المؤثّر في قاعدة واحدة من موقع جيني **التّعدد الشّكليّ للنيكليوتيد الواحد Single-nucleotide polymorphisms (SNPs)**. وقد تم التعرف إلى مليونين من هذه الاختلافات ووضعها على خريطة الإنسان الجينية، وعلى تعاقب المحتوى الجيني له. وسيمنح هذا التقدم المتتابع للتقنيات الحل النهائي للتحليل الوراثي.

الشكل 13-10

الخريطة الجينية لكروموسوم X في الإنسان. هذه خريطة جزئية للكروموسوم X في الإنسان، وتحتاج الخريطة الأكثر تفصيلًا إلى شكل أكبر. تمثل الأشرطة السوداء أنماط صبغة يمكن أن تظهر تحت المجهر، ويمثل التخصر السنترومير. كشف تحليل تسلسل قواعد الكروموسوم X أن هناك 1098 جينًا موجودًا عليه. وربما لكثير من هذه الجينات أليلات طافرة مسببة للأمراض. هناك 59 مرضًا موضحة، ويمكن تتبعها إلى قطع محددة على الكروموسوم X (مشار إليها بأقواس) عن طريق تحليل أنماط وراثة لأشخاص مصابين وغير مصابين.

ويطبق الاتجاه الحديث لوضع الخرائط الجينية على أكثر من هذا العدد الصغير من الجينات التي تبدي وراثة مندلية بسيطة. وقد فتح تفصيل الخرائط الجينية العالي، ووصف ملايين التعدد الشكلي للنيوكليوتيد الواحد، احتمال القدرة على وصف الصِّفات الكمية المعقدة في الإنسان بشكل جيد.

وعلى مستوى التطبيقي الحالي، استخدمت أنواع العلامات الجزيئية التي وصفت سابقًا في التحليل القضائي. وعلى الرّغم من عدم سرعتها، كما تجعلنا بعض البرامج التلفزيونية نعتقد، إلا أنها تسمح باختبار DNA سريع في عينات مسرح الجرائم للمساعدة على تجريم المشتبه فيهم أو تبرئتهم، ولاختبار نسب الأبوة كذلك.

استفادت الخرائط الجينية إيجابيًا من ظاهرة العبور في أثناء الانقسام الاختزالي، حيث يتم تبادل الأليلات بين الكروموسومات المتماثلة. إن الجينات القريبة من بعضها توصف بالمرتبطة، وتظهر تكرارًا أكبر للأنواع الأبوية خلال الاختبار التّجريبيّ. إن تكرار إعادة الاتحاد بسبب العبور يمثل مقياسًا للمسافات الجينية. فالمواقع البعيدة عن بعضها سيحدث بينها عبور متعدد. وهذا بدوره يمكن أن يؤدي إلى التّوزيع الْحرّ المستقل للمواقع على الكروموسوم نفسه.

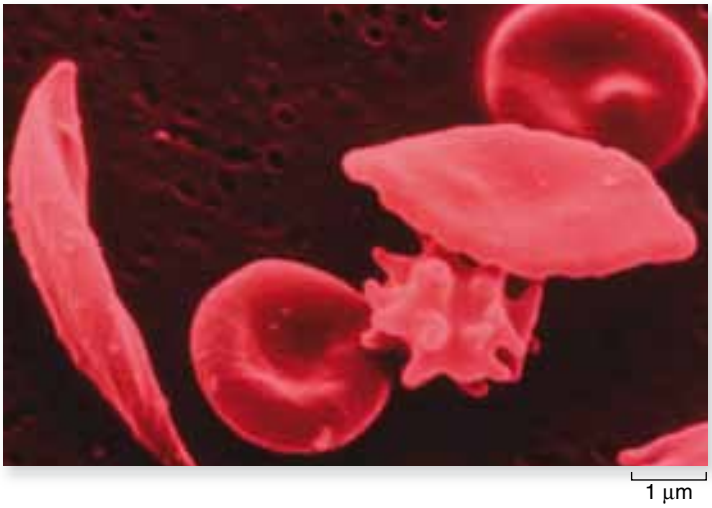
13-5 أمثلة مختارة على الاضطرابات الْوراثيَّة عند الإنسان

عُرفت الأمراض الْوراثيَّة السّارية في العائلات منذ وقت طويل؛ ابتداءً من المهاق غير القاتل، أو المرض المسبب للموت المبكر، مثل مرض هنتنجتون، وكلاهما مرض استشهد به سابقًا كمثال على الصِّفات المتنحية والسائدة في الإنسان. سوف نستعرض أنواع التغيرات الْوراثيَّة التي تسبب مثل هذه الاضطرابات والأمراض. وهذا يتراوح من تغيير لقاعدة واحدة إلى الفقدان الكامل لجزء من المادة الْوراثيَّة، أو فقدان الكروموسوم كاملًا. في هذا القسم، سنناقش بعض الاضطرابات الْوراثيَّة الموجودة في مجتمعات الْبشر.

قد تحدث الاضطرابات الْوراثيَّة بسبب بروتينات مُحَوَّرة

يؤدي التغير الذي يحدث لحمض أميني واحد في البروتين إلى طراز شكلي مرضي. وكما سترى (في الفصل الـ 14)، غالبًا ما يحدث هذا الوضع نتيجة تغير في قاعدة واحدة من سلسلة DNA المنتجة لهذا البروتين. ويعرض (الجدول 13-2) عينة صغيرة من الأمراض الناتجة بسبب تغيرات في أليلات جين واحد.

يُعَدّ مرض **فقر الدم المنجلي Sickle cell anemia** المرض الأول الذي عُرِفَ أنه يحدث بسبب حدوث تَغَيُّر كهذا في الإنسان. يحدث هذا المرض بسبب عطل في جزيء الهيموجلوبين الحامل للأكسجين، فيؤدي إلى تعذر إيصال الأكسجين إلى الأنسجة. تلتصق جزيئات الهيموجلوبين المعطلة (غير الطبيعية) مع بعضها منتجة تركيبًا شبه عصوي جامدًا يُغَيِّر شكل خلايا الدم الحمراء الحاملة للهيموجلوبين. وتأخذ خلايا الدم الحمراء شكلا مُمَيّزًا قاد إلى تسميتها الخلايا الْمنجليّة (الشكل 13-11).



الشكل 13-11

فقر الدم الْمنجليّ. عند الأشخاص متماثلي الجينات لصفة الخلايا الْمنجليّة، تكون أشكال كثير من خلايا الدم الحمراء منجلية أو غير منتظمة، كالخلية التي تظهر في أقصى يمين الصورة.

الجدول 13-2 بعض الأمراض الْوراثيَّة المهمة

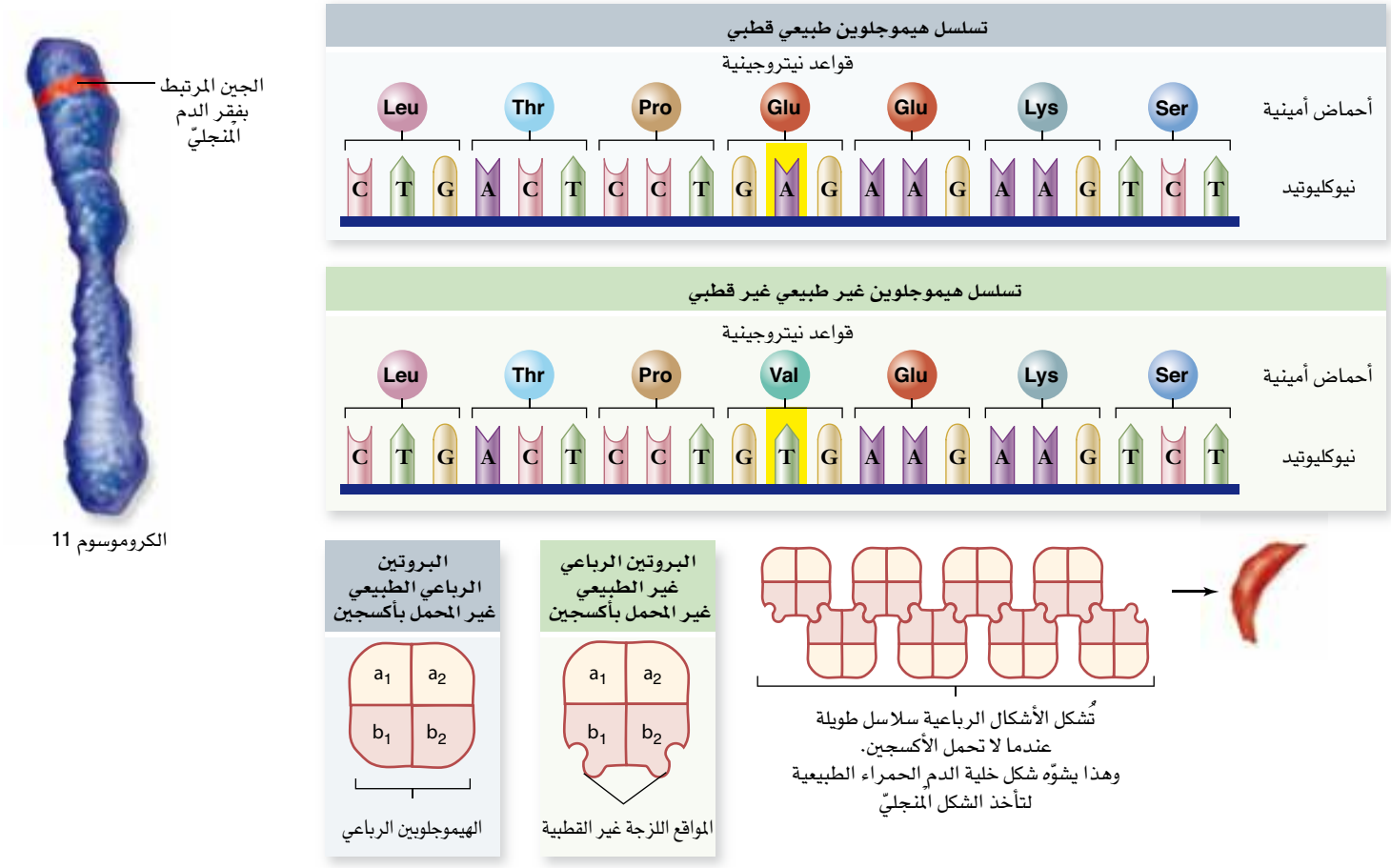
المرض	الأعراض	العيوب	سائد / متنحٍّ	التكرار ضمن ولادات الإنسان
التّليف الكيسيّ Cystic fibrosis	المخاط الذي يسد الرئتين، والكبد، والبنكرياس	فشل نقل أيونات الكلور	متنحٍّ	1 / 2500 (القوقازيون)
فقر الدم الْمنجليّ Sickle cell anemia	دورة دموية ضعيفة	هيموجلوبين غير طبيعي	متنحٍّ	1 / 600 (الأفارقة الأمريكيون)
مرض تاي–ساكس Tay-Sachs disease	تلف الجهاز العصبي المركزي في مرحلة الطفولة	عطل في أنزيم (الهكسوزأمينيديز أ)	متنحٍّ	1 / 3500 (اليهود الأشكناز)
فينيل كيتونيوريا Phenylketonuria	عدم نمو الدماغ في مرحلة الطفولة	عطل في أنزيم فينيل ألانين هيدروكسيليز	متنحٍّ	1 / 12,000
نزف الدم الوراثي Hemopilia	فشل تجلط الدم	عطل في عامل تجلط الدم رقم 8	مرتبط بـ X متنحٍّ	1 / 10,000 (ذكور القوقازيين)
مرض هنتنجتون Huntington disease	تلف أنسجة الدماغ تدريجيًّا في منتصف العمر	إنتاج مثبط لعمليات الأيض في الدماغ	سائد	1 / 24,000
ضمور العضلات (دوشين) Muscular dystrophy (Duchenne)	ضمور العضلات وهزالها	تآكل الميلين المغطي للأعصاب المحفزة للعضلات	مرتبط بـ X متنحٍّ	1 / 3700 (الذّكور)
فرط الكوليستيرول في الدم Hypercholesterolemia	زيادة الكوليستيرول في الدم المؤدي إلى أمراض القلب	مستقبلات كوليسترول غير طبيعية على سطح الْخليّة	سائد	1 / 500

يظهر الأفراد ذوو خلايا الدم الحمراء الْمنجليّة أعراضًا مرضيّة تبرز على مدد متقطّعة، وإن أعمارهم عادة ما تكون قصيرة. وعلى المستوى الجزيئي، تنتج هذه الحالة عن تغير حمض أميني واحد رقمه 146 في سلسلة بروتين بيتا-جلوبين، وهو حمض جلوتاميك إلى حمض أميني آخر وهو فالين. إن موقع الحمض الأميني المعطل ليس في موقع ارتباط الأكسجين بالبروتين، لكن لهذا التغير تأثير كارثي في وظيفة الهيموجلوبين. يؤدي استبدال حمض جلوتاميك الذي يحمل شحنة كهربائية بحمض فالين، غير القطبي على سطح البروتين، إلى جعل البروتين لزجًا. يكمن السبب في هذه اللزوجة إلى قابلية الأحماض الأمينية غير القطبية للتجمع معًا في المحاليل المعتمدة على الماء مثل بلازما الدم، مؤديًا إلى تراكيب عصوية جامدة في خلايا الدم الحمراء الْمنجليّة (الشكل 13-12).

لا يمكن تمييز الأشخاص غير متماثلي الجينات لأليل الْخليّة الْمنجليّة عن الأشخاص الطّبيعيين في البيئة التي يتوافر فيها الأكسجين بنسبة طبيعية، مع أن خلايا دمهم الحمراء تظهر انخفاضًا في قابلية نقل الأكسجين.

يكثر أليل الْخليّة الْمنجليّة في الأشخاص من أصول إفريقيّة. وقد تصل نسبة غير متماثلي الجينات لهذه الصّفة إلى 45% في بعض المناطق في إفريقيا، وتصل نسبة متماثلي الجينات إلى 6%. وتُعَدُّ نسبة غير متماثلي الجينات أعلى مما يُعْتقد أنه حدث بمحض المصادفة. ولقد تبين أن الأشخاص غير متماثلي الجينات يظهرون مناعة للطفيل الذي يعيش بالدم والمسبب لمرض الملاريا. ويكثر حدوث أليل الْخليّة الْمنجليّة في مناطق إفريقيا الوسطى التي يستوطن فيها مرض الملاريا.

لا يُعَدُّ أليل الْخليّة الْمنجليّة نهاية الموضوع بالنسبة إلى جين بيتا-جلوبين؛ حيث تم ملاحظة عددٍ كبيرٍ من التغيرات في هذا الجين التي تؤدي إلى فقر الدم. وفي الحقيقة، تم فهرسة أكثر من 700 تغاير تركيبي بالنسبة إلى جزيء الهيموجلوبين المكون من سلسلتي ألفا-جلوبين وسلسلتي من بيتا-جلوبين. ويقدر أن هناك 7% من البشر في العالم حاملين لاضطرابات وراثيّة مختلفة في جزيء الهيموجلوبين. لقد فهرست قاعدةُ بيانات الطفرات الجينية في الإنسان، طبيعةَ كثير من أليلات الأمراض، ومن ضمنها أليل الْخليّة الْمنجليّة. وتبدي الغالبية العظمى من الأليلات تغيّرات بسيطة. هناك نحو 60% من الأليلات الموجودة في قاعدة بيانات الطفرات لجين الإنسان التي يبلغ عددها 28,000 أليل تقريبًا، تحدث نتيجة



الشكل 13-12

يحدث مرض فقر الدم الْمنجليّ نتيجة بروتين مغيَّر. يتركب جزيء الهيموجلوبين الرباعي من سلسلتي ألفا-جلوبين (α) وسلسلتي بيتا-جلوبين (β). تسلسلات هذا البروتين مشفرة في DNA في مجموعات من ثلاث قواعد نيتروجينية (الفصل 15 يفصل الشيفرة الْوراثيَّة). لدى أليل الْخليّة الْمنجليّة لجين بيتا-جلوبين تغير واحد في تسلسل DNA يُنتج استبدال الحمض الأميني فالين بالحمض الأميني جلوتاميك. الفالين حمض أميني يُوجد مناطق غير محبة للماء على سطح البروتين التي تكون «لزجة». عند الأشخاص المصابين بفقر الدم الْمنجليّ، تكوِّن سلاسل بيتا-جلوبين الطافرة سلاسل طويلة ما يؤدي إلى تشويه شكل خلية الدم الحمراء.

استبدال قاعدة واحدة. وإن هناك 23% أخرى تحدث نتيجة إدخال أو حذف لأقل من 20 قاعدة. أما باقي الأليلات فيحدث فيها تغيرات معقدة. ومن الواضح أن التغيرات البسيطة في الجينات لها تأثير كبير وعميق.

يُغَيِّرُ عدمُ انفصال الكروموسومات العددَ الكروموسوميّ

يُسمّى فشل الكروموسومات المتماثلة أو الكروماتيدات الشقيقة في الانفصال عند عملية الانقسام الاختزالي **عدم الانفصال Nondisjunction**. ويؤدي هذا الفشل إلى كسب كروموسوم أو خسارته، وهي حالة تسمى **اختلال تضاعف العدد الكروموسومي Aneuploidy**. ويُعَدُّ تكرار اختلال تضاعف العدد الكروموسومي في الإنسان عاليًا بشكل مدهش، ويحدث بنسبة 5% من الحالات.

عدم انفصال الكروموسومات الجسميّة

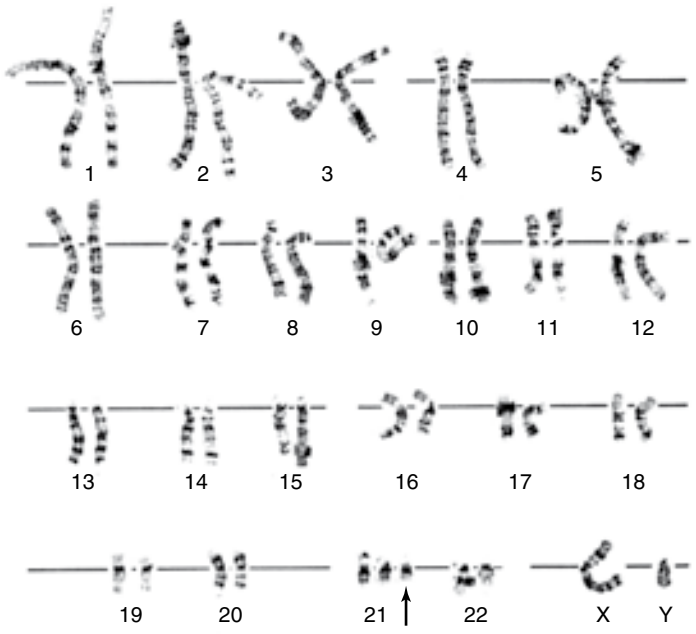
يُسمّى الإنسان الذي فقد نسخة من كروموسوم جسمي واحد **أحادي النسخة الكروموسوميّة الجسمية Monosomic**، وعادة ما يموت في المراحل المبكرة من التكوين الجنيني. ويموت الإنسان أيضًا في معظم الحالات التي يكسب فيها كروموسومًا جسميًّا إضافيًّا، ويسمى **ثلاثي النسخة الكروموسوميّة الجسمية Trisomic**. وأظهرت النتائج أن 35% من حالات الإجهاض التلقائي تحدث بسبب اختلال العدد الكروموسومي.

غير أن أصغر خمسة كروموسومات الجسمية في الإنسان -التي تحمل رقم 13، 15، 18، 21، و 22 - يمكن أن تكون بثلاث نسخ، ولا تسبب موت الشّخص على الأقل لبعض الوقت. يؤدي وجود كروموسوم 13، أو 15، أو 18 إضافي إلى حدوث عيوب خلقية بالغة، وعادة ما يموت المولود خلال شهور عدة. وفي المقابل، يعيش الأشخاص الذين لديهم نسخة إضافية من الكروموسومين 21 و 22 إلى مرحلة البلوغ. عند هؤلاء الناس، يكون نمو الهيكل العظمي بطيئًا، ولذلك غالبًا ما يكونون قصيري القامة وعضلاتهم ضعيفة. ويتأثر نمو الدّماغ أيضًا، إضافة إلى أن الأطفال ثلاثيي النسخة الكروموسوميّة للكروموسوم رقم 21 متخلفون عقليًّا لدرجة معينة.

وعام 1866، تم وصف العيب الخلقي الناتج عن ثلاثية النسخة الكروموسوميّة للكروموسوم رقم 21 من قبل العالِم لانجدون داون؛ ولهذا السبب سميت الحالة **بمتلازمة داون Down syndrome**. يظهر طفل واحد من بين 750 طفلًا متلازمة داون، ويكون التكرار متقاربًا في المجموعات العرقية جميعها. وتحدث حالات مشابهة في الشمبانزي وغيره من الرئيسيات.

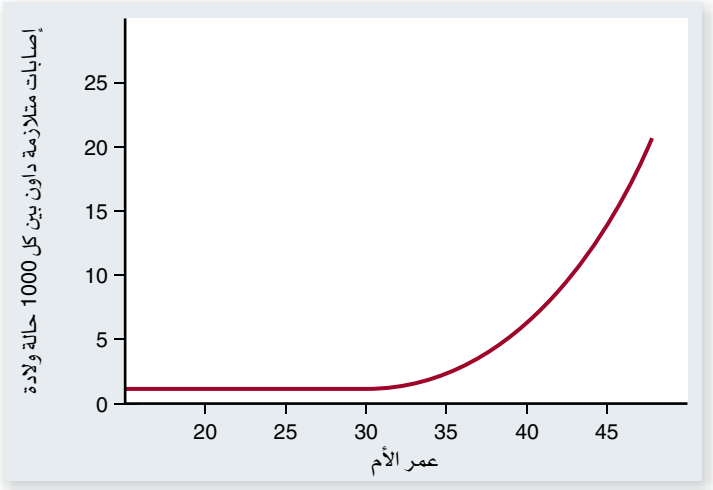
يحدث هذا العيب في الإنسان عندما يوجد جزء معين صغير من الكروموسوم رقم 21 بثلاث نسخ بدلًا من نسختين. ففي 97% من الحالات المدروسة، كان الكروموسوم 21 كله موجودًا بثلاث نسخ. أما في 3% الباقية، فقد أضيف جزء صغير من الكروموسوم 21 يحتوي على القطعة الفعالة إلى كروموسوم آخر عن طريق عملية تسمى الانتقال *Translocation* (انظر الفصل 15)؛ ويوجد هذا الجزء مع النسختين الطبيعيتين للكروموسوم 21. وتسمى الحالة الأخيرة متلازمة داون الانتقالية *Translocation Down syndrome*.

تصل خطورة إنجاب طفل، في حالة الأمهات صغيرات السن (أقل من 20 سنة)، لديه متلازمة داون إلى 1 لكلّ 1700، في حين تزداد لتصبح 1 لكلّ 1400، عند الأمهات اللاتي تتراوح أعمارهن بين 20 و 30 سنة. أما الأمهات ما بين 30 و35 سنة، فإنها تزداد لتصبح 1 لكلّ 750، ويكون أخطرها عند الأمهات اللاتي تزيد أعمارهن على 45 سنة، فتكون 1 لكلّ 16 (الشكل 13-14).



الشكل 13-13

متلازمة داون. كما يظهر هذا النمط النووي Karyotype لذكر، فإن متلازمة داون مرتبطة بثلاث نسخ من الكروموسوم 21 (يشير السهم إلى النسخة الثالثة من الكروموسوم 21).



الشكل 13-14

العلاقة بين عمر الأم، واحتمال الإصابة بمتلازمة داون. كلما كبرت المرأة في السن، تزيد احتمالات إنجابها طفلًا مصابًا بمتلازمة داون. بعد أن تصل المرأة سن 35، يزداد تكرار متلازمة داون بشكل سريع.

استقصاء

خلال مدة خمس سنوات من عمر 20 إلى 25، تزداد نسبة حدوث متلازمة داون بمقدار 0.1 لكلّ 1000؛ في حين تزداد النسبة لتصبح 8.0 لكلّ 1000، خلال مدة خمس سنوات من عمر 35 إلى 40، أي أكبر بثمانين مرة. فإذا كانت المدة العمرية متساوية في كلتا المجموعتين، ما التغيرات التي تعلّل هذه الزّيادة؟

إن حالات عدم الانفصال الأولية في النّساء شائعة بشكل أكبر منها في الرّجال، والسّبب في ذلك يعود إلى أن البيوض التي تنتجها المرأة منذ ولادتها جميعها يتم تكوينها حتى تصل مرحلة الطّور التمهيدي من الانقسام الاختزالي الأول. وفي الوقت الذي يكون للمرأة فيه أطفال، يكون عمر البيضة مساويًا لعمرها. ولذلك تكون الفرصة أكبر لحدوث مشكلات مختلفة الأشكال في أثناء انقسام الْخليّة، بما في ذلك، المشكلات التي تحدث بسبب عدم الانفصال الأوليّ، ولتتراكم مع الوقت في جاميتات الأنثى. وفي المقابل، ينتج الرّجال حيوانات منوية بشكل يومي. ولهذا السبب، يكون عمر الأم عاملًا مهمًّا أكثر من عمر الأب إذا رغب الزوجان في الإنجاب.

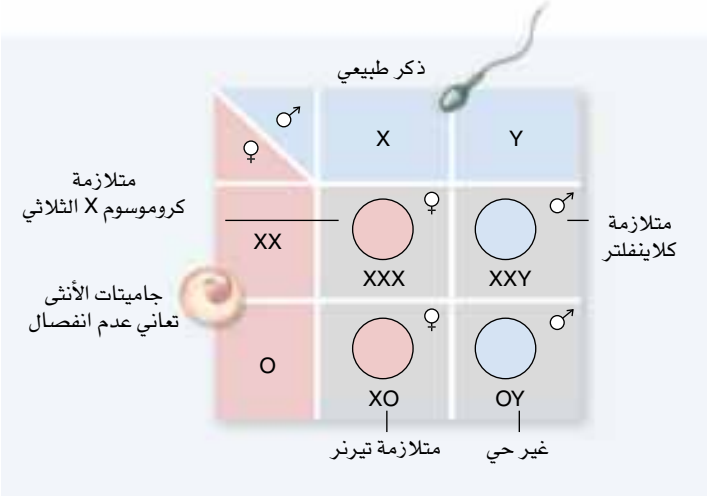
عدم انفصال كروموسومات الْجنس

لا يظهر الأشخاص الذين يكسبون أو يفقدون كروموسومًا جنسيًّا عيوبًا خلقية خطيرة كتلك الناتجة عن التغيرات نفسها في الكروموسومات الجسمية. وعلى الرّغم من أن هؤلاء الأشخاص قد يظهرون بعضًا من الصِّفات غير الطّبيعيّة، إلا أنهم عادة ما يصلون إلى مرحلة البلوغ، ويكونون قادرين على الإنجاب في بعض الحالات.

عدم انفصال الكروموسوم X chromosome nondisjunction X

عندما تفشل كروموسومات X في الانفصال عند عملية الانقسام الاختزالي، فإن بعض الجاميتات الناتجة تحتوي على نسختين من الكروموسوم X، وتكون جاميتات XX؛ أما الجاميتات الأخرى فلا تحتوي على كروموسوم جنسي، ويشار إليها O (الشكل 13-15).

فإذا ما اندمج جاميت XX مع جاميت X فإن البيضة المخصبة XXX الناتجة تتطور إلى أنثى تحمل كروموسوم X واحدًا فعالًا وجسمي بار. وقد تكون هذه الأنثى طويلة القامة، لكنّ مظهرها طبيعي.



الشكل 13-15

كيف يمكن لعدم الانفصال إنتاج حالات غير طبيعية في عدد كروموسومات الجنس. عند حدوث عدم الانفصال في أثناء إنتاج الجاميتات الأنثوية، فإن الجاميت الذي يحمل كروموسومي X (XX) يقوم بإنتاج ذكور مصابة بمتلازمة كلاينفلتر (XXY) وإناث لديها ثلاثة كروموسومات X (XXX). أما الجاميت الذي لا يحمل كروموسوم X (O) فيقوم بإنتاج إناث مصابة بمتلازمة تيرنر (XO) وذكور (OY) غير قادرة على الحياة، ولا تحوي أي كروموسوم X.

استقصاء

هل يمكنك التفكير في حالتين من عدم الانفصال تؤديان إلى إنتاج ذكر XXY؟

وإذا ما اتحد جاميت XX مع جاميت Y، تكون التأثيرات السلبية أكثر خطورة. وتتطور البيضة المخصبة XXY لذكر لديه كثير من الصِّفات الجسمية للأنثى، وفي بعض الحالات، وليس جميعها، يكون لديه سعة عقلية متدنية. تسمى هذه الحالة **متلازمة كلاينفلتر** *Klinefelter syndrome*، التي تحدث بنسبة 1 من كل 500 مولود ذكري. إذا اندمج جاميت O مع جاميت Y، فإن الزيجوت OY الناتج لا يستطيع الحياة، ويفشل في التطّور الجنيني اللاحق؛ لا يستطيع الإنسان النّجاة عندما يكون فاقدًا لجينات كروموسوم X. ولكن إذا اندمج جاميت O مع جاميت X، فإن البيضة المخصبة XO الناتجة تتطور لأنثى عقيمة قصيرة القامة، ولديها رقبة وتَرية (ذات غشاء) وأعضاء جنسية لا تكون مكتملة البلوغ أبدًا في مرحلة النضج الجنسي. وتكون القدرة العقلية للفرد XO في الحد الأدنى من المستوى الطّبيعي. تسمى هذه الحالة **متلازمة تيرنر** *Turner syndrome*، وهي تحدث مرة واحدة في كلّ 5000 مولود أنثى تقريبًا.

عدم انفصال الكروموسوم Y chromosome nondisjunction Y

يمكن أن يفشل الكروموسوم Y أيضًا في الانفصال عند الانقسام الاختزالي، مؤديًا إلى تكوين جاميتات YY. وعندما ترتبط هذه الجاميتات بجاميتات X، يتطور الزيجوت XYY إلى ذكور خصبة وقادرة على الإنجاب وذات مظهر طبيعي. ويكون تكرار الطّراز الجيني XYY (**متلازمة جاكوب** *Jacob syndrome*) نحو 1 لكلّ 1000 مولود ذكر.

تعتمد البصمة الْوراثيَّة على أصل أليلات الوالدين

في نهاية القرن العشرين، كان علماء الوراثة على ثقة من فهم الآليّات الأساسيّة المتحكّمة في الوراثة. وكانت المفاجأة عندما وجد علماء الوراثة في الفئران استثناءً مهمًّا للوراثة الْمندليّة الأساسية، التي بدا أنها مميزة للثدييات. في **البصمة الْوراثيَّة Genomic imprinting**، يظهر الطّراز الشكلي الذي يسببه وجود أليل محدد عندما يأتي الأليل من أحد الوالدين، ولكن ليس من الآخر. إن أساس البصمة الْوراثيَّة هو التعبير الجيني اعتمادًا على المرور بالخطوط الجرثومية للأب أو الأم. إن بعض الجينات مثبطة في الخطّ الجرثوميّ للأب، ومن ثم غير ظاهرة في الزيجوت. وهناك جينات مثبطة أيضًا في الخط الجرثومي للأم، وتؤدي إلى النتيجة نفسها. تجعل هذه الحالة الزيجوت أحادي العدد الكروموسومي للجين ذي البصمة. يعتمد التعبير عن الأليلات المتغايرة للجينات ذات البصمات على الوالد الأصل. وإضافة، تبدو الجينات ذات البصمات مركزة في مناطق معينة للمحتوى الجيني. وتتضمن هذه المناطق جينات ذات بصمات أبوية وأمية.

متلازمتا بريدر– ويلي وأنجلمان

إن أوضح مثالين على البصمة الْوراثيَّة في الإنسان هما **متلازمتا بريدر-ويلي** Prader-Willi syndrome (PWS) وأنجلمان Angelman syndrome (AS). تشمل التأثيرات السلبية لمتلازمة بريدر-ويلي صعوبة في التّنفس، وسمنة، وقِصر القامة، وتخلّفًا عقليًّا طفيفًا، واضطراب الوسواس القهريّ. أما التأثيرات السّلبية لمتلازمة أنجلمان فتشمل، تأخرًا في النّمو، وتخلّفًا عقليًّا حادًّا، وزيادة في النّشاط، وسلوكًا عدوانيًّا، والضّحك دون سبب.

تشير الدراسات الجينية إلى جينات على الكروموسوم 15 ذات علاقة بكلتا المتلازمتين، لكنّ نمطَ الوراثة وراثةٌ تكاملية. إن المسبب الأكثر شيوعًا لهاتين المتلازمتين هو حذف مادة من الكروموسوم 15، وفي الحقيقة، يمكن أن يسبب هذا الحذف كذلك أيًّا من المتلازمتين. والعامل المحدد هو الأصل الأبوي للكروموسومات الطّبيعية والمنقوصة. فإذا كان الكروموسوم الذي به حذف قد جاء من الأب، فإنه يسبب متلازمة بريدر-ويلي (PWS)، ولكن إذا جاء من الأم فإنه يسبب متلازمة أنجلمان (AS).

تكون المنطقة المفقودة من الكروموسوم 15 خاضعة للبصمة، حيث تتعطل بعض الجينات في الخطّ الجرثوميّ للأم، وأخرى في الخطّ الجرثوميّ للأب. في متلازمة بريدر-ويلي، تكون الجينات المعطّلة في الخط الجرثومي للأم، بحيث إن حذفًا كهذا، أو فقدانًا وظيفيًّا آخر للأليلات الآتية من الأب يُنتج هذه المتلازمة. والعكس صحيح بالنسبة إلى متلازمة أنجلمان: تتعطل الْجينات في الخطِّ الجرثوميّ للأب، بحيث إن فقدان الأليلات الآتية من الأم يؤدي إلى المتلازمة.

الأساس الْجزيئي للبصمة الْوراثيَّة

على الرّغم من أن البصمة الْوراثيَّة غير مفهومة جيدًا، إلا أن جانبًا واحدًا على الأقل قد بدا واضحًا: يبدو أساس الجينات المعطّلة على أنه مرتبط بتحويرات لـ DNA نفسه. يمكن تحوير DNA بإضافة مجموعة ميثيل، وتسمى هذه العملية إضافة مجموعة الميثيل *Methylation*. إن هذه التعديلات مرتبطة بتثبيط الجينات. ويمكن أيضًا تحوير البروتينات المرتبطة بالكروموسومات، ما يقود إلى تأثيرات على التّعبير الجينيّ. وستتم مناقشة السّيطرة على التّعبير الجيني بشكل مفصّل في الفصول اللاحقة.

يمكن الْكشف عن بعض الْعيوب الْوراثيَّة في المراحل المبكّرة من الْحمل

على الرغم من أن معظم الاضطرابات الْوراثيَّة لا يمكن معالجتها، إلا أننا نتعلم الكثير عنها، ونتجه نحو المعالجة الناجحة لكثير من الحالات. وفي غياب العلاج، فإن الملجأ الوحيد هو محاولة تجنب إنجاب أطفال يعانون هذه الاضطرابات. وتسمى عملية تعريف الوالدين بخطورة إنجاب أطفال يعانون اختلالات وراثيّة، وتقييم الحالة الْوراثيَّة للأجنّة المبكرة **الاستشارةَ الْوراثيَّة Genetic counseling**.

تحليل شجرة النّسَب

إن إحدى الوسائل التي يتم عن طريقها تقييم أخطار إنجاب أطفال مضطربين وراثيًّا هو تحليل شجرة النّسَب، التي توظف غالبًا بوصفها عاملًا مساعدًا في الاستشارة الْوراثيَّة. وبتحليل شجرة النّسَب لشخص ما، فإن من الممكن أحيانًا حساب احتمال أن يكون هذا الشّخص حاملًا لاضطرابات معينة. فمثلًا، إذا كشف تاريخ العائلة لأحد الأشخاص أن أحد أفراد عائلته كان مصابًا بمرض متنحٍّ مثل التّليّف الكيسيّ، فإن من المحتمل أن يكون هذا الشّخص غير متماثل الجينات حاملًا لأليلات متنحية لهذا المرض.

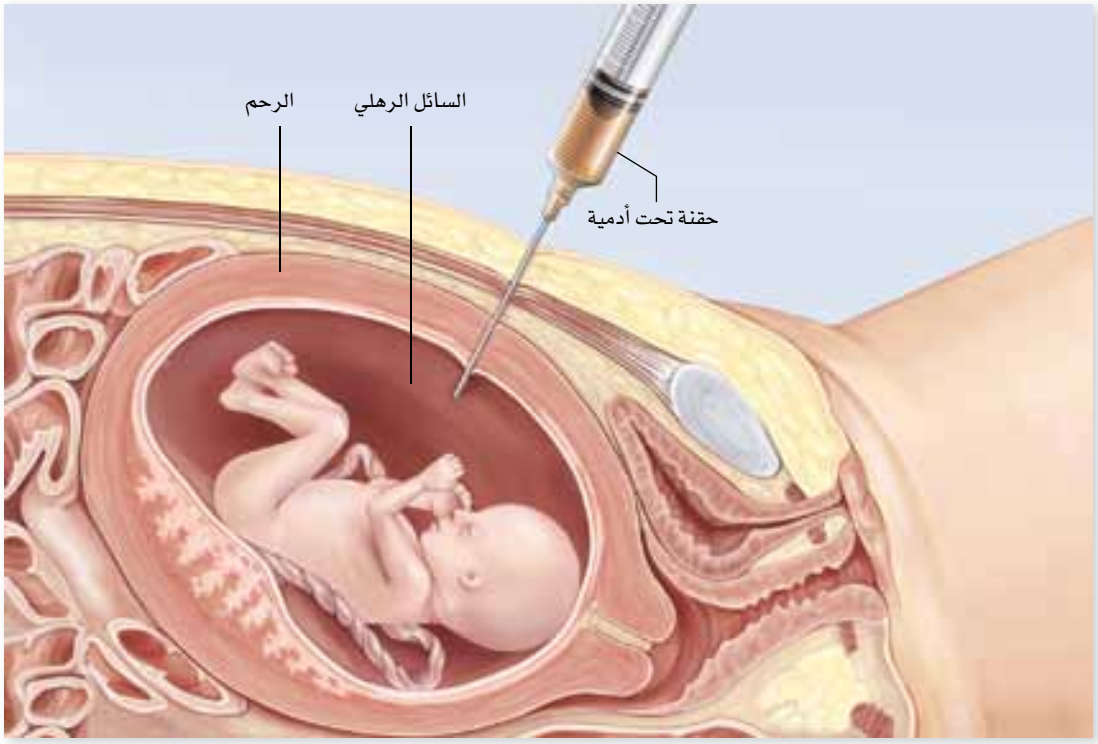
وعندما يتوقع الزوجان طفلًا، ويبين تحليل شجرة النّسَب أن لدى كلٍّ منهما فرصة كبيرة ليكون غير متماثل الجينات لأليل متنحٍّ ضار، فإن الحمل يكون على درجة عالية من الخطورة. وفي مثل هذه الحالات، يوجد احتمال كبير لأن يُظهر الطفل هذا المرض.

تحدث درجة أخرى من الحمل مرتفع الأخطار عندما يكون عمر الأمهات أكثر من 35 سنة. وكما نوقش سابقًا، فإن تكرار الأطفال المصابين بمتلازمة داون يزداد في حالات حمل أمهات أكبر عمرًا (انظر الشكل 13-14).

بزل السّائل الرّهليّ

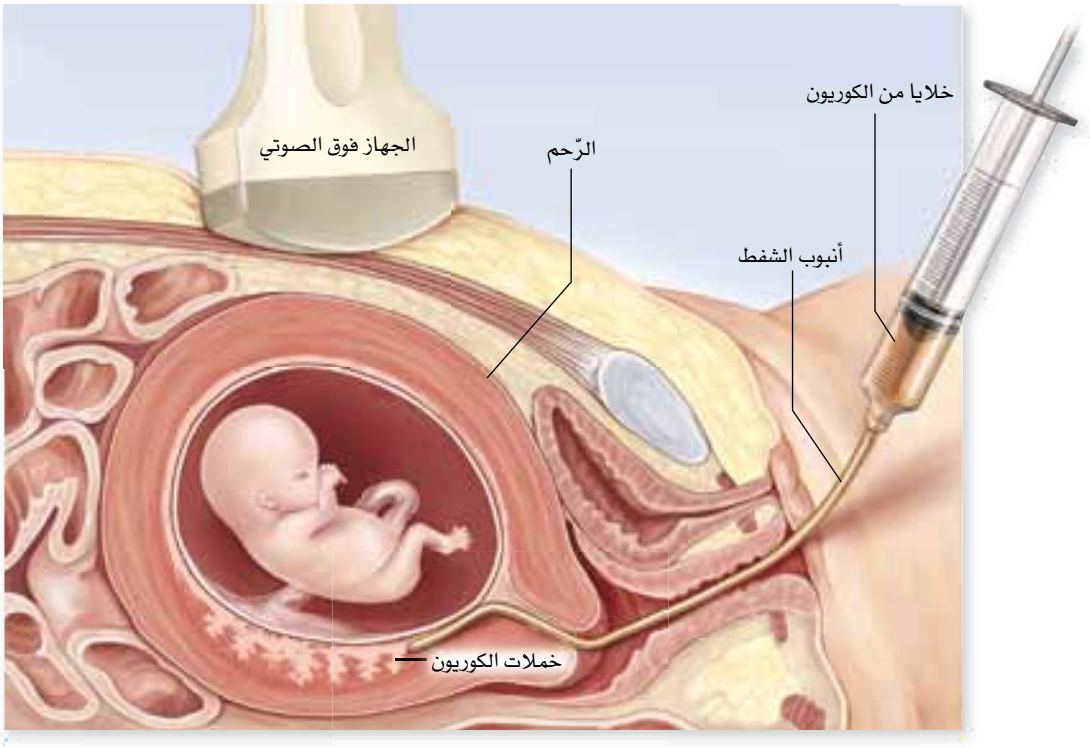
عندما يُشخص حمل ما على أنه عالي الخطورة، تختار كثير من النساء الخضوع لبزل **السائل الرهلي Aminocentesis**، وهي طريقة تسمح بتشخيص كثير من الاختلالات الْوراثيَّة قبل الولادة. في الشّهر الرّابع من الْحمل، يتم إدخال إبرة معقمة داخل الرحم المتوسع للأم، ويتم أخذ عينة صغيرة من السائل الرهلي المحيط بالجنين (الشكل 13-16). يحتوي السائل على خلايا حرة طافية قادمة من الجنين؛ وعند أخذها، يمكن أن تنمو بأوساط نموّ في المختبر.

خلال بزل السائل الرهلي، غالبًا ما تتم رؤية موقع الإبرة بالنسبة إلى الجنين باستخدام جهاز **فوق صوتي** *Ultrasound*، حيث إن أمواج الصوت المستخدمة



الشكل 13-16

بزل السائل الرهلي. يتم إدخال إبرة إلى تجويف السائل الرهلي، وتُسحب عينة منه تحتوي على بعض الخلايا الْحرّة من الجنين، في حقنة. ثم تنمى الخلايا في وسط نمو، لتتم معاينة النمط النووي، إضافة إلى الأنشطة الأيضية لهذه الخلايا.



الشكل 13–17
أخذ عينات من خملات الكوريون. يمكن أخذ خلايا من خملات الكوريون في وقت مبكر عند الأسبوع الثامن إلى العاشر من الحمل. حيث يتم سحب بعض الخلايا عن طريق أنبوب يدخل خلال المهبل. بعد ذلك، تنمى هذه الخلايا في وسط نمو، ثم تتم معاينة النمط النووي لها، إضافة إلى بعض الفحوص الكيميائية الحيوية التي تكشف عن العيوب.

في الجهاز فوق الصوتي ليست مؤذية للأم أو الجنين، وتسمح للشخص الذي يقوم بسحب السائل الرهلي بسحبه دون الإضرار بالجنين. إضافة إلى ذلك، يسمح استخدام الجهاز فوق الصوتي بمعاينة الجنين لعلامات الاختلالات الرئيسة. ومع ذلك، فإن نحو 1 من بين 200 طريقة لبزل السائل الرهلي يمكن أن تؤدي إلى موت الجنين والإجهاض.

أخذ عينات من خملات الكوريون

في السنوات الأخيرة، اتجه الأطباء بشكل متزايد إلى طريقة جديدة للمسح الوراثي أقل ضررًا تسمى طريقة أخذ **عينات من خملات الكوريون Chorionic villi sampling**. باستخدام هذه الطريقة، يأخذ الأطباء خلايا من الكوريون، وهو جزء غشائي من المشيمة يغذي الجنين (الشكل 13-17). يمكن استخدام هذه الطريقة مبكّرًا في الحمل (في الأسبوع الثّامن من الحمل) حيث تعطي نتائج أكثر سرعة من طريقة بزل السائل الرهلي. إن أخطار طريقة أخذ عينات من خملات الكوريون مماثلة لأخطار طريقة بزل السائل الرهلي.

ومن أجل الفحص عن اختلالات وراثيّة معينة، يبحث اختصاصيو الاستشارات الْوراثيَّة عن ثلاث مميزات لمزارع الخلايا المأخوذة من طريقة بزل السائل الرهلي، أو طريقة أخذ عينات من خملات الكوريون. الأولى، قد يكشف تحليل النمط النووي للخلايا معرفة اختلال عدد الكروموسومات (كروموسومات مفقودة أو إضافية) والاختلافات الْكروموسوميّة الشكليّة الكبيرة. والثّانية، يمكن إجراء الفحص المباشر للنشاط الوظيفي المناسب لبعض الأنزيمات المتعلقة بالاختلالات الْوراثيَّة. حيث يشير فقدان نشاط الأنزيمات الطبيعي إلى وجود خلل ما. وعلى سبيل المثال، يؤدي فقدان الأنزيم المسؤول عن تحطيم الحمض الأميني فينيل ألانين إلى مرض فينيل كيتونيوريا (Phenylketonuria (PKU؛ ويؤدي غياب الأنزيم المسؤول عن تحطيم الجانجليوسايد إلى مرض تاي–ساكس Tay–Sachs؛ وهكذا. إضافة إلى ذلك، يمكن معرفة أليلات أمراض وراثيّة كثيرة من خلال معلومات مخطط المحتوى الجيني للإنسان. وإذا كان هناك عدد صغير من الأليلات لمرض معين في المجموعة السكانية، فإنه يمكن تحديد هويتها كذلك.

بحدوث التغيرات الكبيرة التي حصلت في علم الوراثة بعد معرفة المخطط الجيني للإنسان (الفصل الـ 18)، أصبح من الممكن تصميم فحوص لكثير من الأمراض. وما زالت هناك صعوبات في معرفة عدد الأليلات المسببة للمرض وتكرارها، لكن هذه المشكلات ليست مستعصية. في الوقت الحاضر، تتوافر فحوص للكشف عن 13 جينًا على الأقل ذات أليلات تؤدي إلى المتلازمات. ويميل هذا الرقم للازدياد والتوسع ليتضمن الأليلات التي لا تؤدي مباشرة إلى حالات مَرَضِيَّة، لكنها قد تجعل الشّخص عرضة للإصابة بمرض معين.

استقصاء

اعتمادًا على ما قرأت في هذا الفصل، ما الأسباب التي تجعل المرأة تقوم بعمل فحص أخذ عينات من خملات غشاء المشيمة، علمًا، أن فيها درجة قليلة من الخطورة، ولكنها موجودة؟

قد تحدث الاختلالات الْوراثيَّة في الإنسان نتيجة طفرات تحدث لقاعدة واحدة، أو نتيجة تغيرات عدة، أو إضافات، أو حذف في المادة الْوراثيَّة للجينات. وعلى مستوى الكروموسوم، قد ينتج عدم الانفصال في أثناء الانقسام الاختزالي جاميتات تحتوي كروموسومات أكثر أو أقل، ومعظم هذه الحالات تنتج أفرادًا غير قادرين على الحياة. تشير البصمة الْوراثيَّة إلى تثبيط أليلات معينة بالاعتماد على مصدرها من أيٍّ من الوالدين. وفي حالة الوالدين اللذين هما على درجة عالية من الخطورة لإنجاب أطفال يحملون عيوبًا وراثيّة، يمكن أن يساعد فحص الجنين في الحصول على معلومات حول صحّته الْوراثيَّة.

مراجعة المفاهيم

13-1 الارتباط بالجنس ونظرية الوراثة الْكروموسوميّة

تنص نظرية الوراثة الْكروموسوميّة التي صاغها ساتون على أن الصِّفات الْوراثيَّة محمولة على الكروموسومات.

- بيّن مورجان أن صفة العيون البيضاء لذبابة الفاكهة تنعزل مع كروموسومات الجنس، ما يدل على أن الصِّفات مرتبطة مع الكروموسومات (الشكل 13-2).
- الصِّفات المحمولة على كروموسومات الجنس تسمى مرتبطة بالجنس.

13-2 كروموسومات الجنس وتحديد الجنس

يختلف عدد الكروموسومات وتركيبها باختلاف المخلوقات.

- تحديد الجنس عند الحيوانات غالبًا ما يكون مرتبطًا باختلاف الكروموسومات.
- في بعض الحيوانات، مثل الثّدييّات والحشرات، لدى الإناث كروموسومان جنسيان متشابهان، في حين لدى الذّكور كروموسومان جنسيان مختلفان.
- في أنواع أخرى، مثل الطيور وبعض الزواحف، لدى الذّكور كروموسومان جنسيان متشابهان، في حين لدى الإناث كروموسومان جنسيان مختلفان (جدول 13-1).
- إن «الترتيبات الفطرية» لنمو جنين الإنسان تتجه نحو تكوين الأنثى.
- يحدد الكروموسوم Y الذّكورة في الإنسان.
- الكروموسوم Y في الإنسان متكاثف جدًا، ولا يوجد به نظير فعّال لمعظم الجينات الموجودة على الكروموسوم X.
- الجين SRY على الكروموسوم Y هو المسؤول عن اكتمال الأعضاء الْجنسيَّة الذكرية وإظهار صفات الرّجولة الثانوية.
- إذا انتقل جزء من الكروموسوم Y إلى الكروموسوم X لدى فرد يحمل XX، فإن الجنين سينمو ليصبح ذكرًا.
- إذا حدثت طفرة لجين SRY أو فشل الجين في الاستجابة لهرمونات الْجنس الذّكريّة في الفرد الحامل للكروموسومين XY فإنه سينمو ليصبح أنثى عاقرًا.
- الاضطرابات الْوراثيَّة مثل عمى الألوان ونزف الدم الوراثي هي اضطرابات مرتبطة بالجنس (الشكل 13-3).
- يتم تثبيط أحد كروموسومي X بشكل عشوائيّ في إناث الثّدييّات في أثناء عملية النمو الجنيني.
- يُعَدُّ هذا الكروموسوم المكثف المثبط، أو جسم بار، مثالًا على معادلة الجرعة، حيث تتم عن طريقها المحافظة على مستويات التعبير الجيني بين الذّكور والإناث.
- يمكن أن يؤدي تثبيط الكروموسوم X إلى وراثة فسيفسائية إذا كانت الأنثى تحمل كروموسومات X غير متماثلة الأليلات. مثال على هذا قطط الكاليكو (الشكل 13-4).

13-3 استثناءات لنظرية الوراثة الْكروموسوميّة

لا تفسر الكروموسومات الحالات الْوراثيَّة جميعها.

- تتم وراثة جينات الميتوكوندريا من الأمهات.
- تتم وراثة جينات البلاستيدات الخضراء من الأم في الغالب، مع أنه تم ملاحظة أن هناك وراثة أبوية ووراثة من كلا الوالدين.

13-4 الخرائط الْوراثيَّة

إذا كان هناك جينان مرتبطان، فلا بد أن يقعا على الكروموسوم نفسه، ويختلف سلوكهما الوراثي إذا وقعا على كروموسومين منفصلين.

- قد تقوم الكروموسومات المتماثلة بتبادل الأليلات في أثناء عملية العبور (الشكل 13-5).
- تعد إعادة اتحاد الأليلات في أثناء عملية العبور أساسًا لإنشاء الخرائط الجينية.
- كلما زادت المسافة بين الجينين المرتبطين زاد تكرار إعادة اتحادهما نتيجة العبور.
- يعبر عن وحدة الخريطة بنسبة النّسل معاد الاتحاد إلى النّسل كاملًا.
- يزيد احتمال حدوث عبور متعدد بين جينين مرتبطين بزيادة المسافة بينهما، ويؤدي ذلك إلى انخفاض تقدير تكرار إعادة الاتحاد.
- يمكن استخدام الخرائط المنشأة باستخدام العبور بين ثلاثة جينات مرتبطة، في تحديد ترتيب الجينات على الكروموسومات (الشكل 13-9).
- يمكن حساب المسافات الطويلة على الخريطة بجمع المسافات الأقصر والأكثر دقة.
- عملية تحديد الخريطة الجينية للإنسان كانت صعبة، وعادة ما كانت تتضمن أليلات مُمْرِضَةً إلى أن تم تطوير العلامات المجهولة.
- بالإمكان استخدام ظاهرة التعدد الشكلي للنيوكليوتيد الواحد للكشف عن الاختلافات بين الأفراد.

13-5 أمثلة مختارة على الاضطرابات الْوراثيَّة عند الإنسان

تتراوح مسببات الأمراض الْوراثيَّة في الإنسان ابتداءً من التغير في قاعدة واحدة إلى حذف في المادة الْوراثيَّة وحتى فقدان كروموسوم كامل.

- التغير في حمض أميني واحد يمكن أن يؤدي إلى حالة مَرَضِيَّةٍ.
- عدم انفصال الكروموسومات المتماثلة أو الكروماتيدات الشقيقة في أثناء عملية الانقسام الاختزالي يؤدي إلى حدوث اختلال العدد الكروموسومي.
- يفقد أحاديو النسخة الْكروموسوميّة نسخة واحدة من الكروموسوم الجسمي على الأقل، وعادة ما يموتون في المراحل المبكرة من التكوين الجنيني.
- يكتسب ثلاثيو النسخة الْكروموسوميّة كروموسومًا جسميًّا إضافيًّا وغالبًا ما يموتون في أثناء النموّ الجنينيّ.
- تحدث عملية الانتقال، عندما يرتبط جزء من كروموسوم معين بكروموسوم آخر، ما يؤدي إلى وجود ثلاث نسخ من هذا الجزء الكروموسومي.
- يحدث عدم انفصال الكروموسوم X عندما تفشل كروموسومات X في الانفصال في أثناء الانقسام الاختزالي. يكون الجاميت الناتج إما XX أو O (خالي كروموسوم الجنس) (الشكل 13-15).
- يؤدي عدم انفصال الكروموسوم Y إلى إنتاج جاميتات YY.
- يعتمد التعبير الجيني في البصمة الْوراثيَّة على قدومه من الخط الجرثومي للأم أو للأب.
- يتم تثبيط جينات البصمة من خلال إضافة مجموعة الميثيل.
- يمكن تحديد العيوب الْوراثيَّة في المجاميع السكانية من خلال تحليل شجرة النّسَب، أو بزل السائل الرهلي، أو أخذ عينات من خملات غشاء المشيمة.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. تتم ملاحظة الطّراز الشكلي للعيون البيضاء دائمًا في الذّكور الذين يحملون أليلات العيون البيضاء؛ لأنّ:
   أ. الصّفة سائدة. ب. الصّفة متنحية.
   جـ. الأليل موجود على الكروموسوم X والذّكر لديه كروموسوم X واحد فقط.
   د . الأليل موجود على الكروموسوم Y والذّكر وحده لديه كروموسوم Y.
2. الكروموسوم الجسمي:
   أ. يحتوي معلومات وراثيّة تحدد جنس المخلوق الحي.
   ب. يحدد الصِّفات الأخرى للمخلوق الحي جميعها ما عدا الجنس.
   جـ. يتم توريثه من قبل الأم فقط (وراثة من الأم).
   د . لا يوجد له كروموسوم شبيه في المحتوى الجيني للمخلوق.
3. يحدث الارتباط بالجنس في الإنسان، عندما:
   أ. يوجد أليل على كلا الكروموسومين Y و X.
   ب. يوجد أليل على الكروموسوم X.
   جـ. يوجد أليل على كروموسوم جسمي.
   د . يظهر الطّراز الشكلي في الإناث فقط.
4. أجسام بار هي كروموسومات:
   أ. X تم تثبيطها لمنع زيادة التعبير الجيني لأليلات موجودة على الكروموسوم X في الإناث.
   ب. Y المكثفة بدرجة عالية في الذّكور.
   جـ. X تم تثبيطها للسماح بالتعبير الجيني للطرز الشكلية الخاصة بالذكور.
   د . جسمية مثبطة خاصة بالإناث.
5. تختلف الوراثة من الأم لجينات الميتوكوندريا عن الارتباط بالجنس؛ لأنّ:
   أ. جينات الميتوكوندريا لا تشارك في إعطاء الطرز الشكلية للأفراد.
   ب. الميتوكوندريا تورّث من الأم، تتأثر الإناث فقط.
   جـ. الميتوكوندريا تورث من الأم ، الذّكور والإناث يتأثرون بها بشكل متساوٍ.
   د . جينات الميتوكوندريا دائمًا سائدة، بينما الصِّفات المرتبطة بالجنس تكون متنحية.
6. العملية الخلوية المسؤولة عن إعادة الاتحاد الجيني هي:
   أ. التّوزيع الحرّ.
   ب. انفصال الكروموسومات المتماثلة في الانقسام الاختزالي الأول.
   جـ. انفصال الكروماتيدات في الانقسام الاختزالي الثاني.
   د . عملية العبور.
7. يحدد عدد وحدات الخريطة الجينية بين جينين عن طريق:
   أ. تكرار إعادة الاتحاد.
   ب. تكرار أنواع الأبوية.
   جـ. مجموع أعداد الجينات الموجودة في قطعة من DNA.
   د . عدد الجينات المرتبطة في الكروموسوم.
8. كم وحدة خريطة تفصل بين أليلين إذا كان تكرار إعادة الاتحاد يساوي 0.07؟
   أ. 700 cM. ب. 70 cM.
   جـ. 7 cM. د . 0.7 cM.
9. يؤدي تعدد عمليات العبور إلى:
   أ. إعادة اتحاد الجينات من الأب. ب. زيادة التنوع الجيني الوراثي.
   جـ. زيادة أعداد النّسل معاد الاتحاد. د . اختلال العدد الكروموسومي.
10. يحدث مرض فقر الدم المنجليّ بسبب تغيّر في:
    أ. التعبير عن الجين HBB.
    ب. حمض أميني واحد في بروتين الهيموجلوبين.
    جـ. جين HBB
    د. ب و جـ معًا.
11. الذي يحدد ما إذا كان الفرد فسيفسائي الوراثة هو:
    أ. وجود أليلات مختلفة على الكروموسومات الجسمية.
    ب. تثبيط أليل على كروموسوم جسمي.
    جـ. تثبيط أليل على الكروموسوم X لأنثى غير متماثلة الجينات.
    د. تثبيط أليل على الكروموسوم X لذكر متماثل الجينات.
12. تنتج متلازمة داون من:
    أ. استبدال قاعدة واحدة على الكروموسوم 21.
    ب. عدم انفصال الكروموسوم 21 في أثناء الانقسام الاختزالي.
    جـ. تثبيط الكروموسوم 21.
    د. عدم انفصال الكروموسوم 21 في أثناء الانقسام المتساوي في النمو المبكر.
13. مثال من الأمثلة الآتية على عدم انفصال كروموسومات الجنس تعدّ قاتلة؟
    أ. XXX. ب. XXY.
    جـ. OY. د . XO.
14. البصمة الجينية الوراثيّة هي:
    أ. مزيج من الطرز الشكلية نتيجة مشاركة كلا الوالدين في المادة الوراثيّة.
    ب. التعبير الجيني عن أليل سائد.
    جـ. ظهور طرز شكلية استجابة للتفاعل بين أليلات محددة.
    د . التعبير عن طرز شكلية اعتمادًا على أصل الوالد للأليلات.
15. الطّريقة التي لا تستخدم في الاستشارات الوراثيّة هي:
    أ. الجهاز فوق الصوتي. ب. أخذ عينات من خملات الكوريون.
    جـ. بزل السائل الرهلي. د . تحليل شجرة النّسَب.

أسئلة تحدٍّ

1. يحدث مرض عمى الألوان بسبب جين متنحٍّ ومرتبط بالجنس. فإذا تزوجت امرأة غير متماثلة الجينات لأليل عمى الألوان من رجل طبيعي البصر فيما يتعلق بالألوان، ما نسبة أطفالهم الذين سوف يصابون بعمى الألوان؟ من أي جنس سيكون الأطفال المصابين بعمى الألوان؟
2. ما الظروف التي تؤدي إلى إنتاج أنثى مصابة بعمى الألوان؟
3. تخيل أن جينات لون البذرة وشكلها كانت على كروموسوم واحد. تم تهجين نباتين نقيي السلالة: أحدهما ينتج بذرة خضراء مجعدة (*rryy*) والآخر ينتج بذرة صفراء مستديرة (*RRYY*). تم إجراء تهجين تجريبي بين أفراد الجيل الأول F_1 وكانت النتائج كالآتي:

خضراء، مجعدة	645
خضراء، مستديرة	36
صفراء، مجعدة	29
صفراء، مستديرة	590

احسب المسافة بين موقعي الجينين.

4. هل يمكن الحصول على قط كاليكو ذكر؟ علل الإجابة سواء أكانت نعم أم لا.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. لتتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 14

المادة الوراثية: DNA

DNA: The Genetic Material

مقدّمة

لقد أثار الإدراك بأن أنماط الوراثة يمكن تفسيرها بانعزال الكروموسومات في أثناء الانقسام الاختزالي سؤالًا شغل علماء الأحياء مدّة خمسين عامًا: ما طبيعة العلاقة بين الصِّفات الْوراثِيَّة والكروموسومات؟ سنتناول في هذا الفصل شرح سلسلة التجارب التي تمت من خلالها معرفة ماهية DNA وشكلها، والآلية الجزيئية للوراثة. تعدّ هذه التجارب من أروع ما قام به العلماء في حقل العلوم. وكما هو الحال في البحث الاستقصائي، فكل اكتشاف تم التوصل إليه كان يقود إلى سؤال جديد. وعلى الرغم من أن مسار التجارب قد يبدو غريبًا، إلا أن الصورة المتعلقة بحقيقة الوراثة أصبحت أكثر وضوحًا ودقة.

سوجز المفاهيم

14-1 طبيعة المادة الْوراثِيَّة

- *وجد جريفيث أن البكتيريا بإمكانها أن تتحول.*
- *عرَّف آفري، وماكلويد، وماكارتي عامل التحول.*
- *بَيَّنَ هيرشي وتشيس أن المادة الْوراثِيَّة لفيروس آكل البكتيريا هي DNA.*

14-2 تركيب DNA

- *كانت مكونات DNA معروفة، لكن شكلها ثلاثي الأبعاد كان غامضًا.*
- *توصل تشارجاف، وفرانكلين، وويلكنز إلى بعض الأدلة التي تبين تركيب DNA.*
- *تطابق نموذج واطسون. كريك مع الأدلة المتوافرة.*

14-3 الصِّفات الأساسيَّة لتضاعف DNA.

- *بيَن ميسلسون وستال آلية التَّضاعُف شبه المحافظ.*
- *عملية التَّضاعُف: نظرة شاملة.*

14-4 التَّضاعُف في بدائيّات النّوى

- *يبدأ التَّضاعُف في بدائيّات النّوى عند منشأ واحد.*
- *يوجد لدى E.coli ثلاثة أنواع على الأقل من مبلمرات DNA.*
- *يتطلب فك التفاف DNA طاقة، ويتسبب في جهد التوائي.*
- *التَّضاعُف شبه متقطع.*
- *يتم التخليق عند شوكة التَّضاعُف.*
- *يحتوي جسيم التَّضاعُف على الأنزيمات اللازمة للتضاعف جميعها.*

14-5 التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى

- *يتطلب التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى مناشئ عدة.*
- *النظام الأنزيمي للتضاعف في حقيقيّات النّوى أكثر تعقيدًا.*
- *تتطلب الكروموسومات الخطية عملية إيقاف مختلفة.*

14-6 إصلاح DNA

- *تتعرض الخلايا باستمرار لعوامل تتلف DNA.*
- *تقوم عملية إصلاح DNA بتجديد DNA التالفة.*
- *يكون الإصلاح نوعيًّا محددًا أو غير نوعي.*

1-14 طبيعة المادة الْوراثِيَّة

تعرفنا في الفصلين السابقين إلى طبيعة الوراثة، وكيف أن الجينات التي تحتوي على الشيفرة الْوراثِيَّة لصفة معينة تكون موجودة على الكروموسومات. أدى هذا الاكتشاف إلى تساؤل العلماء عن جزء الكروموسوم الذي يحتوي على الشيفرة الْوراثِيَّة. وبشكل خاص، تساءل العلماء عن ماهية المعلومات الْوراثِيَّة، علمًا بأنهم كانوا يعرفون أنّ الكروموسومات مكونة من بروتينات و DNA، فأي من تلك الْمركّبات الْعضويّة يحتوي على الجينات؟

بدأت سلسلة الأبحاث للإجابة عن هذه التساؤلات في نهاية العشرينيّات من القرن الماضي، واستمرت مدّة ثلاثين عامًا. يتكون DNA من أربع نيكلوتيدات متشابهة كيميائيًّا، في حين يتكون البروتين من 20 حمضًا أمينيًّا، ومن ثم فإن البروتين له قدرة معلوماتية أكبر.

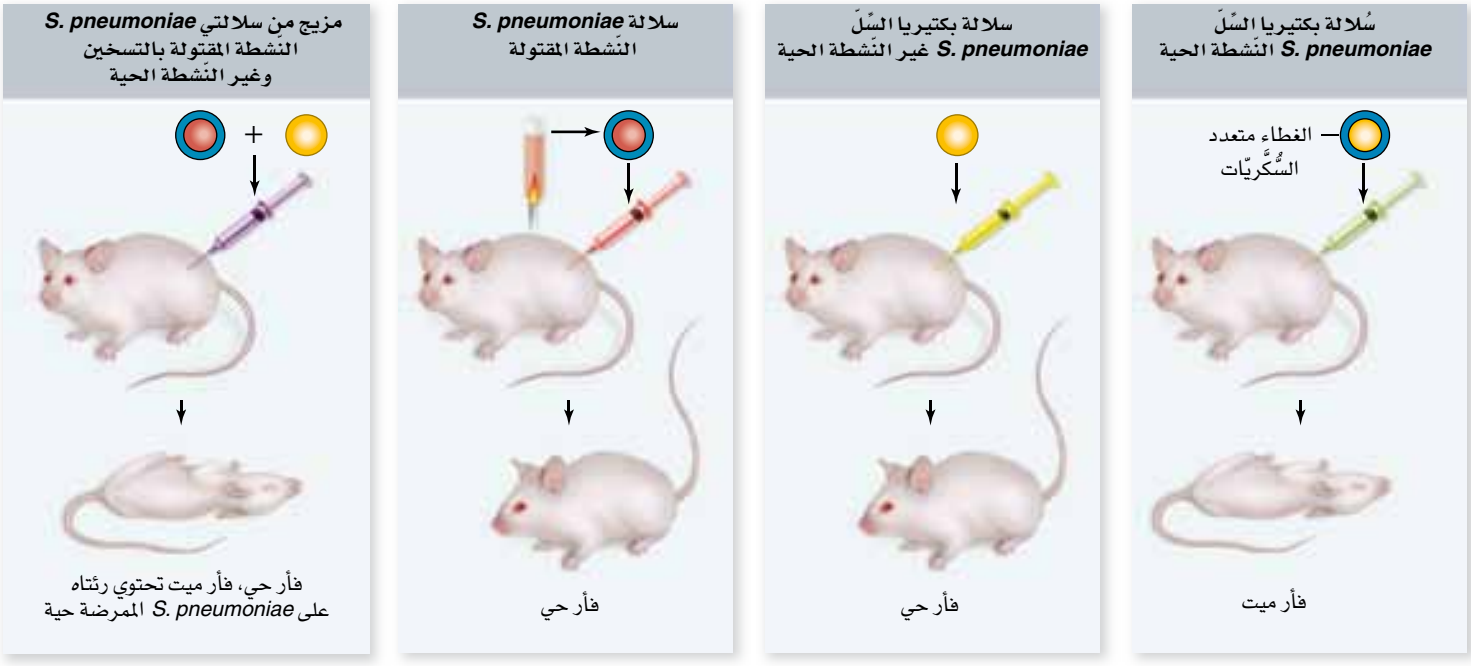
بدأت التجارب بالكشف عن أدلة لمصلحة DNA بوصفه مادة وراثية، وسوف نقوم باستعراض بعضٍ من هذه التجارب في الجزء الآتي.

وجد جريفيث أن خلايا البكتيريا يمكن أن تتحول

جاء أول تلميح بهذا الخصوص من قبل عالِم الأحياء الدقيقة فريدريك جريفيث عام 1928 عندما قام بدراسة نوع من البكتيريا المُمْرضة تسمى *Streptococcus pneumoniae*، التي تسبب مرض السِّلّ الرئَوِيّ في الفئران. هناك نوعان من هذه البكتيريا، الشَّكل الطَّبيعيّ النّشط، وهو مُمرض، ويسبب السِّلّ، في حين الآخر طافر، وغير نشط، ولا يسبّب الْمرض. يُرمز إلى البكتيريا الطبيعية بالحرف S؛ لأنها تشكل مستعمرات ناعمة في صحون الاستنبات، ويرمز إلى البكتيريا الطافرة بالحرف R؛ لأنها تشكل مستعمرات خشنة، كونها لا تحتوي الأنزيم الذي يقوم بإنتاج الغطاء متعدد السُّكَّريّات حول الْخليَّة الذي يضفي على الْخليَّة والمستعمرات ملمسًا خشنًا.

أجرى جريفيث سلسلة من التجارب البسيطة، إذ حقن الفئران بالبكتيريا S وR، ثم راقب ظهور أعراض المرض (الشكل 14-1). ماتت الفئران التي تم حقنها بالبكتيريا S بسبب السِّلّ، في حين بقيت التي حُقنت بالبكتيريا R على قيد الحياة. تُبين هذه النتيجة أن الغطاء متعدد السُّكَّريّات الموجود حول الْخليَّة له دور في نشاط البكتيريا وحدوث المرض. وإذا تم قتل البكتيريا S بالتسخين، فإن العدوى لا تؤذي الفأر، ما يدلّ على أن الغطاء وحده لا يكفي لإحداث المرض. وأخيرًا عندما قام بحقن الفئران بمزيج من البكتيريا S الميتة بالتسخين والبكتيريا R الحية، ماتت الفئران بالسِّلّ الرئويّ. كانت هذه النتيجة غير متوقعة، إذ إن كلّ معاملة للفئران على حدة لم تتسبب في إحداث المرض. إضافة إلى ذلك، وُجِدَ تركيزٌ عالٍ من البكتيريا S في رئات الفئران الميتة.

هناك طريقة ما، تَمَّ من خلالها نقل المعلومات المحددة لإنتاج الغطاء متعدد السُّكَّريّات من البكتيريا S الميتة إلى البكتيريا R الحية ما أدى إلى تحويلها بشكل دائم إلى بكتيريا من النوع S. أطلق جريفيث على هذه العملية اسم **التحول Transformation**. أما تفسيرنا الحديث فهو أنه تم نقل المادة الْوراثِيَّة بين الخلايا.



الشكل 14-1

تجربة جريفيث. كان جريفيث يحاول صنع لقاح ضد السِّلّ الرئوي، لكنه اكتشف عملية التحول بدلًا من ذلك (أ) حَقَن الفئران بالبكتيريا النّشطة الحية أصابها بالسِّلّ. حقن البكتيريا غير النّشطة (ب) أو النّشطة المقتولة بالتسخين (جـ) لم يكن له تأثير. (د) إلا أنّ مزيجًا من البكتيريا النّشطة المقتولة بالتسخين مع البكتيريا غير النّشطة الحية أصاب الفئران بالسِّلّ. يشير هذا إلى أن المعلومات الْوراثِيَّة قد انتقلت من الخلايا النّشطة الميتة إلى الخلايا الحية غير النّشطة، وحوَّلَها من غير نشطة إلى نشطة.

عرَّف آفرى ومكلويد ومكارتي عامل التحول

لم يتم اكتشاف العامل المسؤول عن تحويل بكتيريا السِّلّ حتى عام 1944. فقد قام العالِمُ أزوالد آفرى وزميلاه كولن مكلويد وماكلين مكارتي بالتعرف إلى المادة المسؤولة عن التحول في تجربة جريفيث.

في البدء، حضّروا المزيج الذي استخدمه جريفيث، وهو البكتيريا S الميتة والبكتيريا R الحية، ثم أزالوا البروتينات جميعها من هذا الخليط بنسبة 99.98% تقريبًا. لاحظوا أنه على الرّغم من إزالة البروتينات كلّها تقريبًا، فإن عملية التحول لم يقل نشاطها.

إضافة إلى أن صفات المادة المسؤولة عن التحول شبيهةٌ بصفات DNA من الوجوه الآتية:

1. تحليل العناصر يتوافق مع تركيب DNA.
2. عندما تم وضعها في جهاز الطرد المركزي عالي السرعة تحركت بالمستوى نفسه (الكثافة) الذي يوجد فيه DNA.
3. إزالة البروتينات والدّهون لم يقلل من عملية التّحول.
4. لم تؤثر الأنزيمات المُحطمة للبروتينات ولا الأنزيمات الهاضمة لـ RNA في فعالية التحول.
5. قامت الأنزيمات الهاضمة لـ DNA بتدمير عملية التحول.

هذه التجارب دعَّمت فكرة أن DNA هو المسؤول عن عملية التحول، وأنه المادة الْوراثِيَّة التي انتقلت بين الخلايا.

بيَّن هيرشي وتشيس أن المادة الْوراثِيَّة لفيروس آكل البكتيريا هي DNA

لم تحظَ نتائج آفرى بقبول واسع في البداية؛ ذلك لأن كثيرًا من علماء الأحياء ما زالوا يعتقدون أن البروتينات هي مستودع المادة الْوراثِيَّة. غير أن أدلة إضافية تم التّوصل إليها من قبل العالِمَيْن ألفريد هيرشي ومارثا تشيس عام 1952 عندما أجريا التجارب على الفيروس الذي يصيب البكتيريا. تسمى هذه الفيروسات **آكلة البكتيريا Bacteriophage** أو **الآكل Phage** للاختصار.

الفيروسات التي سنتناولها بشكل مفصل (الفصل الـ 27) هي أبسط من الخلايا؛ فهي تتكون من مادة وراثية (DNA أو RNA) محاطة بغطاء بروتيني. يسمى الفيروسُ آكل البكتيريا الذي تم استخدامه في التجربة الفيروسَ آكل البكتيريا التحللي *Lytic*؛ لأنه يقوم بتدمير الْخليَّة البكتيرية، وبسبب تحللها. فعندما يغزو الفيروس البكتيريا، يقوم في البداية بالالتصاق بالسطح الخارجي، ثم يحقن المادة الْوراثِيَّة داخل البكتيريا. بعد ذلك، يقوم باستخدام آلية التعبير الجيني في البكتيريا لتصنيع آلاف الفيروسات الجديدة. يؤدي هذا التراكم في الفيروس آكل البكتيريا إلى تحلل الْخليَّة البكتيرية وتحرير الفيروسات.

يحتوي الفيروس آكل البكتيريا الذي تم استخدامه في تجربة هيرشي وتشيس على DNA وبروتين فقط، ومن ثم فهو يقدم نموذجًا أسهل إذا ما أردنا تتبع العامل الوراثي في الفيروس. شرع هيرشي وتشيس في معرفة المادة التي يقوم الفيروس بحقنها داخل البكتيريا. للقيام بذلك، قام العالِمان بوضع علامات مميزة لمعرفة المادتين بشكل دقيق. فالنيكلوتيدات تحتوي على الفوسفور، في حين لا يوجد الفوسفور في الأحماض الأمينية، وتحتوي بعض هذه الأحماض على الكبريت الذي لا يوجد في DNA. لذا قاما باستخدام الفوسفور المشع ^{32}P لتعليم DNA بشكل محدد، والكبريت المشع ^{35}S لتعليم البروتين بشكل محدد أيضًا.كلا النظيرين يسهل تمييزهما بناء على الدقائق التي يشعها كلّ منهما في أثناء تحلله.

أجريت عندها تجربتان (الشَّكل 14-2): في واحدة، نمّيت الفيروسات في وسط يحتوي ^{32}P المندمج في DNA؛ وفي الأخرى نمّيت الفيروسات في وسط يحتوي ^{35}S المندمج في الغطاء البروتيني. ثم سمح لكلٍّ مجموعة من الفيروسات أن تصيب مزرعة بكتيرية منفصلة.

بعد العدوى بالفيروس آكل البكتيريا، تم فصل الفيروس الملتصق بسطح البكتيريا عن طريق خلاط كهربائي لإزالة دقائق الفيروس العالقة بسطح البكتيريا. تضمنت هذه الخطوة رصد ذلك الجزء فقط من الفيروس الذي حُقن إلى داخل الخلايا البكتيرية، أي المادة الْوراثِيَّة. ثم وضع كلّ معلق بكتيري بجهاز الطرد المركزي لترسيب البكتيريا في أسفل الأنبوب، من أجل تحليلها.

الشكل 14-2

تجربة هيرشي وتشيس. استُخدم الكبريت ^{35}S والفسفور ^{32}P المُشِعَّان لتعليم البروتين و DNA على التوالي. يقوم الفيروس آكل البكتيريا بحقن المادة الْوراثِيَّة داخل البكتيريا، ويسخرها لصناعة نسله. استخدم الخلاط لفصل غلاف الفيروس آكل البكتيريا عن الخلايا التي حُقنت بها المادة الْوراثِيَّة. وجود الفوسفور المشع، وعدم وجود الكبريت المشع في الراسب البكتيري يشير إلى أنّ المادة الْوراثِيَّة المحقونة التي استخدمت لإعادة برمجة الخلايا كانت DNA وليست البروتين.

في التجربة التي تم فيها استخدام الفوسفور المشع ^{32}P، كانت هناك كمية كبيرة من ^{32}P موجودة في كتلة الخلايا البكتيرية، أما في التجربة التي استخدم فيها ^{35}S فقد وجدت كمية صغيرة فقط من الكبريت المشع في كتلة الخلايا البكتيرية المترسبة (انظر الشَّكل 14-2). استنتج هيرشي وتشيس أن DNA وليس البروتينات يشكل المادة الْوراثِيَّة التي يُدخلها الفيروس آكل البكتيريا إلى داخل البكتيريا.

البروتينات و DNA كانا مرشحين لأن يكونا المادة الْوراثِيَّة. بينت تجربة البكتيريا المسببة للسل الرئوي في الفئران أن العوامل الممرضة يمكن أن تنقل بين الخلايا في عملية تسمَى التَّحوّل. وعندما تم تنقية العوامل المسؤولة عن التَّحوّل، تبين أنها DNA. أظهرت تجارب التعليم الإشعاعي مع الفيروس آكل البكتيريا أن المادة الْوراثِيَّة هي DNA.

14-2 تركيب DNA

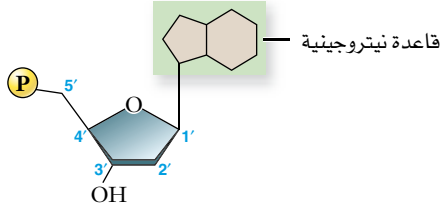
اكتشف العالِمُ فريدريك ميشر DNA عام 1869، أي بعد 4 سنوات من ظهور أعمال مندل ونشرها. ولا يُعتقد أنّ العالِمَ ميشر كان على علم بأعمال مندل. استخلص ميشر مادة بيضاء من أنوية خلايا إنسانية وخلايا الحيوانات المنوية للسّمك. وكانت نسبة النيتروجين والفوسفور في هذه المادة أكبر منها في أيٍّ من مكونات الْخليَّة. عندها، أدرك ميشر أنه اكتشف مادة جديدة، وسماها «النَّوَين» nuclein وذلك لأنها بدت مقتصرة على النواة. ولأن النوين كانت حمضية بعض الشيء فقد تم تسميتها **الحمض النووي Nucleic acid**.

كانت مكونات DNA معروفة لكن شكله ثلاثي الأبعاد كان غامضًا

على الرّغم من أنه لم يُكشف عن الشَّكل الثلاثي الأبعاد لجزيء DNA إلا في وقت واطسون وكريك، إلا أنه كان معروفًا أنه يحتوي على ثلاثة مكونات (الشكل 14-3)، هي:

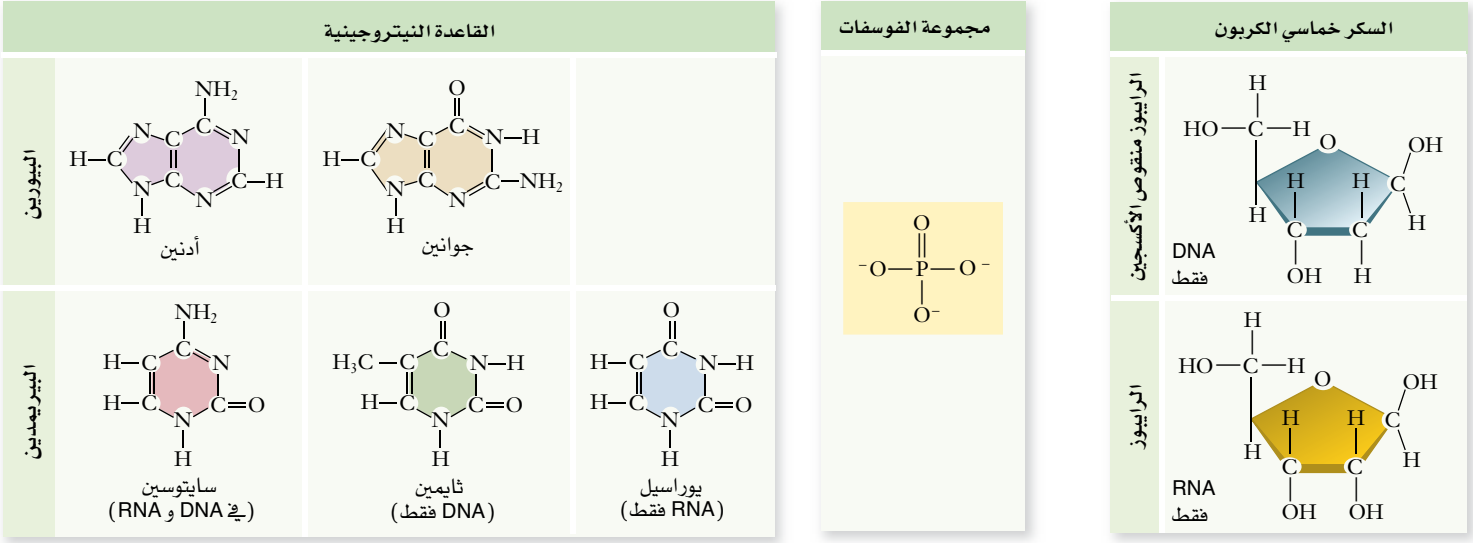
1. سكّر خماسيّ.
2. مجموعة فوسفات (PO_4).
3. قاعدة نيتروجينية. القاعدة إما أن تكون **بيورين Purine** (أدينين A أو جوانين G) وهي ذات حلقتين، أو **بيريمدين Pyrimidine** (ثايمين T أو سايتوسين C) ولها حلقة واحدة. ويحتوي RNA على يوراسيل (U) بدلًا من ثايمين.

إن الطرق التقليدية في الكيمياء الْعضويّة هي ترقيم ذرات الكربون في الجزيء، ثم استخدام هذه الأرقام للاستدلال على موقع المجموعات الفعالة المرتبطة بذرات الكربون (الفصل الثالث). توجد في سكر الرايبوز الموجود في الحمض النووي أربع من ذرات الكربون مع ذرة أكسجين لتشكّل معًا الحلقة الخماسيّة. وكما هو موضح في (الشَّكل 14-4) ترقم ذرات الكربون من 1` إلى 5` في اتجاه عقارب الساعة ابتداءً من الأكسجين ترمز (`) إلى أن الأرقام هي لذرات الكربون في السُّكَّر، وليس الموجودة على حلقة القواعد النيتروجينية المرتبطة بالسُّكَّر.



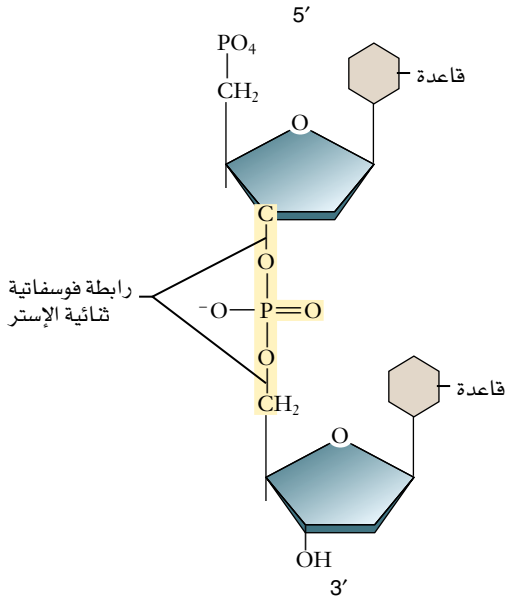
الشكل 14-4

ترقيم ذرات الكربون على النيكلوتيد. تُرَقَّم ذرات الكربون على السُّكَّر من 1` إلى 5` وفي اتجاه عقارب الساعة. الشرطة (`) تشير إلى أن الكربون تابع للسكر، وليس للقاعدة النيتروجينية.



الشكل 14-3

تحت وحدات نيكلوتيدات DNA و RNA. تتكون نيكلوتيدات DNA و RNA من ثلاثة مكونات: (اليسار) السُّكَّر خماسي الكربون (الرايبوز منقوص الأكسجين في DNA ورايبوز في RNA) (الوسط) مجموعة الفوسفات، (اليمين) قاعدة نيتروجينية (إما بيورين أو بيريميدين).



الشكل 14–5

الرابطة الفوسفاتية ثنائية الإستر.

في هذا المخطط الترقيمي، تكون مجموعة الفوسفات مرتبطة بذرة الكربون الخامسة `5، في حين تكون القاعدة النيتروجينية مرتبطة بذرة الكربون الأولى `1، وتكون مجموعة الهيدروكسيل (OH—) الحرة مرتبطة بذرة الكربون الثالثة `3.

تسمح مجموعتا الفوسفات `5 والهيدروكسيل `3 لـ DNA و RNA بتكوين سلاسل من النيكلوتيدات عن طريق التخليق بإزالة الهيدروجين (الفصل الثالث). تسمى الرابطة المصنوعة رابطة **فوسفات ثنائية الإستر Phosphodiester bond**؛ لأن مجموعة الفوسفات مرتبطة بجزئي سكر عن طريق رابطتي إستر (الشكل 14-5). يمكن لآلاف النيكلوتيدات أن ترتبط مع بعضها عن طريق هذه الرابطة لتشكل مبلمرات الحمض النووي.

تحتوي الأشرطة الخطية لـ DNA وRNA مهما كان طولها على طرفين: أحدهما له مجموعة فوسفات حرة `5، والآخر له مجموعة هيدروكسيل حرة `3. لذا، فإن DNA و RNA لهما قطبية داخلية، ويمكن الإشارة إلى طرفي الجزيء دون أي التباس. يكتب اتجاه تسلسل القواعد وبشكل تقليدي في الاتجاه من `5 إلى `3.

توصّل تشارجاف، وفرانكلين، وويلكنز إلى بعض الأدّلة التركيبيّة التي تبين تركيب DNA

لفهم النموذج الذي أتى به واطسون وكريك، علينا الرجوع إلى الأدلة التي كانت متوافرة لديهما لبناء نموذجهما.

قانون تشارجاف

أظهرت دراسة متأنية قام بها إيروين تشارجاف أن مكونات جزيئات النيكلوتيدات تختلف بطرق معقدة باختلاف مصدره. دَلَّ هذا بشدة على أن DNA ليس مجرد مبلمر متكرر، وأنه يمكن أن يحمل خصائص تشفير المعلومات التي تتطلبها المادة الْوراثِيَّة. على الرّغم من هذا الاختلاف والتعقيد في التركيب، فإن تشارجاف لاحظ سمة مميزة، وهي انتظام تساوي النسب بين القواعد المكونة لـ DNA «كمية أدنين الموجودة في DNA تساوي كمية ثايمين، وكمية جوانين الموجودة دائمًا تساوي كمية سايتوسين».

تعرف هذه الاكتشافات **بقواعد تشارجاف Chargaffs rules**:

1. نسبة A دائمًا تساوي نسبة T، ونسبة G دائمًا تساوي نسبة C أو A=T و G=C.
2. يتبع ذلك، وجود نسب متساوية من البيورنات (A،G) والبيريمدينات (T،C) دائمًا.

مع ازدياد كمية الأدلة التي تشير إلى DNA بوصفها مادة تخزِّن المعلومات الْوراثِيَّة، حار العلماء إزاء إمكانية قيام مركب بسيط بوظيفة تشفيرية معقدة.

فرانكلين: أنماط انحراف الأشعَّة السِّينيَّة لـ *DNA*

هناك مصدر آخر للأدلة التي تشير إلى تركيب DNA. استخدمت الكيميائية البريطانية روزاليند فرانكلين (الشكل 14-6أ) تقنية انحراف الأشعَّة السِّينيَّة لتحليل DNA. تعتمد هذه التقنيّة على تسليط حزمة من الأشعَّة السِّينيَّة على جزيء معين، وذلك يؤدي إلى انحراف هذه الأشعَّة عندما تصطدم بالجزيء، ثم يُسَجَّل نمط الانحراف على فيلم تصوير. تشبه هذه الأنماط الدوائر التي تتكون نتيجة رمي حصى على صفحة الماء (الشكل14 - 6ب). عند تحليل هذه الأنماط رياضيًّا يمكن الحصول على معلومات تدل على الشَّكل ثلاثي الأبعاد للجزيء.

تعمل تقنية انحراف الأشعَّة السِّينيَّة بشكل جيد، عندما تكون المادة المدروسة على شكل بلَّوري منتظم، ولم يكن بمقدور فرانكلين في ذلك الوقت الحصول على شكل بلَّوري لـ DNA الطَّبيعيّ، فاكتفت بتحضير DNA بشكل ألياف، وقام بمساعدتها في هذا التحضير موريس ويلكينز الذي كان يعمل في مختبرها، وكان أحسن مَنْ يُحَضِّرُ الألياف في ذلك الوقت. نجحت فرانكلين في الحصول على نتائج انحراف مبدئية لـ DNA الطَّبيعيّ. وقد أشارت أنماط الانحراف إلى أن DNA له شكل حلزوني بقطر منتظم؛ نانومترين، وبلَفَّة حلزونية كاملة كلّ 3.4 نانومترات.

أ. ب.

الشكل 14–6

أنماط انحراف (حيود) الأشعَّة السِّينيَّة لروزاليند فرانكلين. (أ) روزاليند فرانكلين. (ب) صورة انحراف الأشعَّة السِّينيَّة لألياف DNA التي حضرتها روزاليند فرانكلين عام 1953 وفُسِّرت لتُظهر وجود شكل حلزوني لـ DNA.

الأشكال الصنوية للقواعد

أحد الأدلة المهمة التي كان يحتاج إليها واطسون وكريك هو أشكال القواعد النيتروجينية نفسها. وبسبب تعاقب وجود روابط أحادية وثنائية في القاعدة الواحدة، فإن القواعد توجد في حالة اتزان بين شكلين مختلفين في الوسط المائي. توجد علاقة لهذين الشكلين بوجود مجموعات الكيتو (C=O) مقابل الإينول (C—OH) والأمين (NH_2—) مقابل الإمينو (=NH) المتصلة بالقواعد. تسمى هذه الأشكال الصنوية *Tautomers*.

تأتي أهمية معرفة هذا الفرق من أن القواعد تستطيع أن تُبدي احتمالات مختلفة من الروابط الهيدروجينية. فالأشكال السائدة للقواعد تحتوي على مجموعتي الكيتووالأمين (الشكل 14-3)، في حين كانت المعلومات المتوافرة في أحد كتب الكيمياء الحيوية المهمة في ذلك الوقت تشير إلى معلومات معاكسة تمامًا وغير صحيحة. وتشير المعلومات إلى أن واطسون تعلَّم الأشكال الصحيحة من زميل متخصص في الكيمياء الحيوية في أثناء تناولهما طعام الغداء.

تطابق نموذج واطسون وكريك مع الأدلة المتوافرة

عرف جيمس واطسون وفرانسيس كريك، وهما باحثان صغيرا السّن في جامعة كمبردج، نتائج فرانكلين قبل أن تقوم بنشرها عام 1953، فقاما بسرعة بتنظيم شكل محتمل لجزيء DNA (الشكل 14-7) وهو متطابق في جوهره مع ما نعرفه اليوم عن هذا المركب. لم يقم واطسون وكريك بعمل أي تجربة تتعلق بتركيب DNA، بل جمعا المعلومات المتوافرة في ذلك الوقت، ووضعا نموذجًا جزيئيًّا مفصلًا لـ DNA.

الشكل 14-7

الحلزون المزدوج لـ DNA. جيمس واطسون (يسار) وفرانسيس كريك (يمين) اللذان استنتجا تركيب DNA عام 1953 باستغلال قاعدة تشارجاف ومعرفة الأشكال الصنوية الصحيحة للقواعد، ونتائج فرانكلين عن انحراف الأشعَّة السِّينيَّة لـ DNA.

إن القاعدة الأساسية للنموذج الذي وضعاه تستند إلى فهمهما أن DNA يتكون من سلسلتين ملتفَّتين من النيكلوتيدات-الحلزون المزدوج.

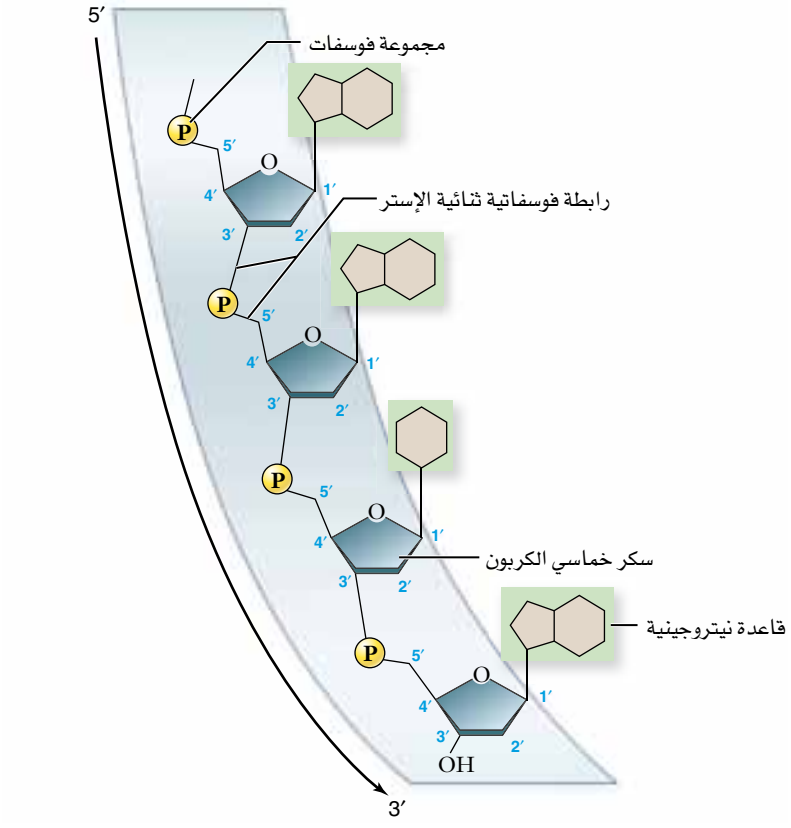
هيكل الفوسفات ثنائي الإستر

يتكوّن الخيطان المُكوِّنان للحلزون المزدوج من مبلمَر طويل من النيكلوتيدات. ويحتوي خيط على وحدات متكررة من السُّكَّر والفوسفات مرتبطة مع بعضها برابطة فوسفات ثنائية الإستر (الشكل 14-8). وتسمى هذه التركيبةُ هيكلَ الفوسفات ثنائي الإستر *Phosphodiester backbone*. يلتف الخيطان المشكلان للهيكل حول محور مشترك ليكوِّنا الحلزون المزدوج (الشكل 14-9). ويشبه الحلزون المزدوج غالبًا بدرج حلزونيّ، حيث يمثل شريطا الحلزون مقابض الأيدي التي يُستعان بها، وتمثل درجات السلم القواعد النيتروجينية.

تكاملية القواعد

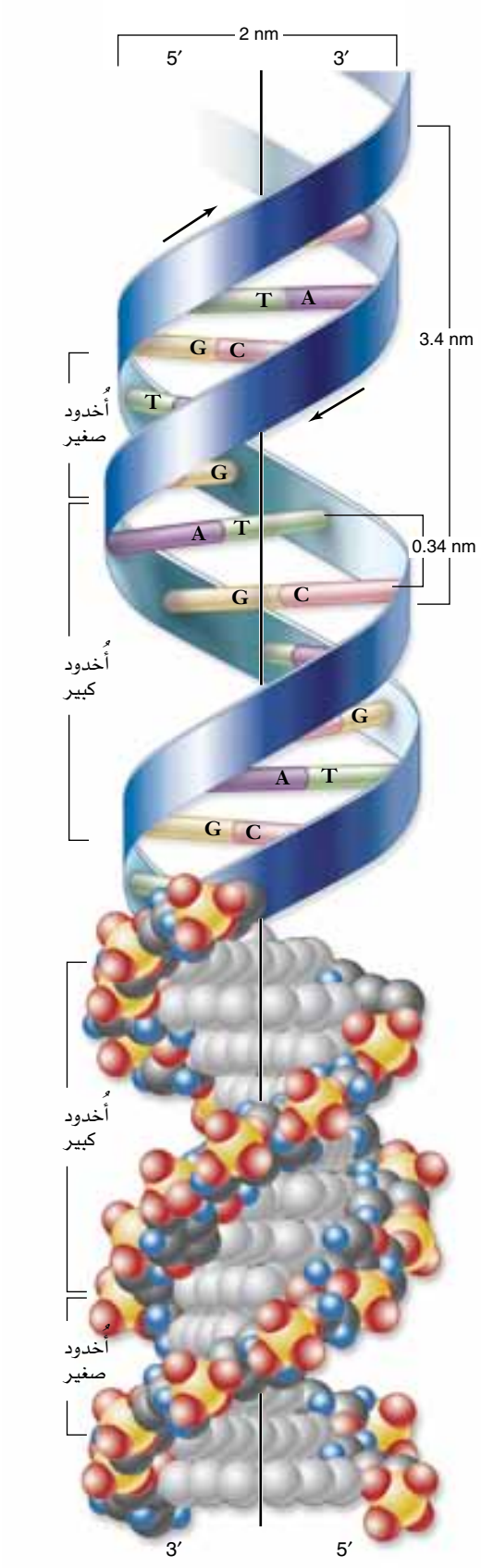
اقترح واطسون وكريك أن يكون الربط بين شريطي DNA عن طريق روابط هيدروجينية تتكون بين القواعد النيتروجينية عن الشريطين المتقابلين. ينتج عن هذه الروابط **أزواج قواعد Base pairs** محددة: حيث يستطيع الأدينين بعمل رابطتين هيدروجينيتين مع ثايمين (T) ليكوِّنا زوج A–T. في حين يستطيع جوانين (G) عمل ثلاث روابط هيدروجينية مع سايتوسين (C) ليكونا زوج G–C (الشكل 14-10).

لاحظ أن هذا التشكيل يصنع ازدواجًا بين البيورين ثنائي الحلقة مع البيريميدين أحادي الحلقة في كلّ حالة. لذا، فإن قطر كلّ زوج قواعد يبقى ثابتًا، وقد ظهر هذا القطر الثابت واضحًا في نتيجة انحراف (حيود) الأشعَّة السِّينيَّة.



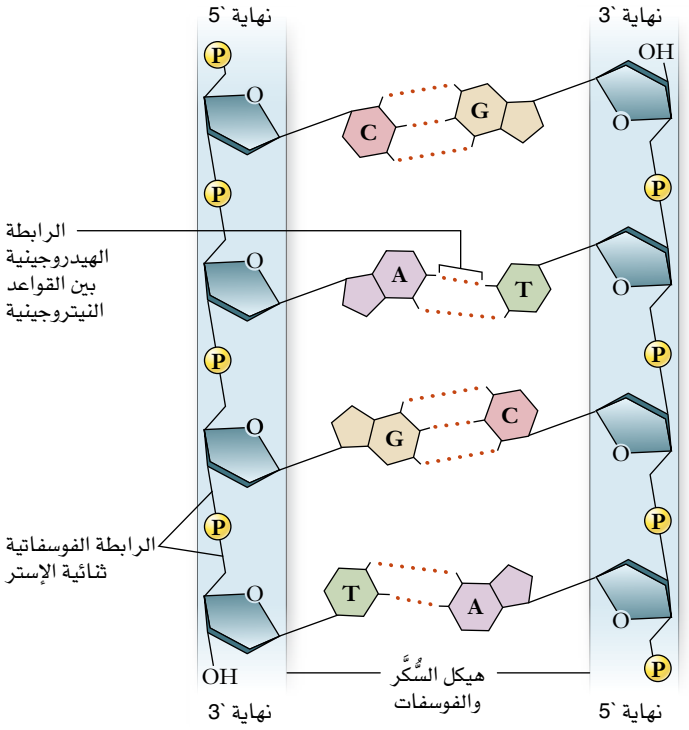
الشكل 14-8

تركيب شريط مفرد لـ DNA. يتألف هيكل الفوسفات ثنائي الإستر من سكر ومجموعات فوسفات متعاقبة. وترتبط القواعد بكل جزيء سكر.



الشكل 14–9

الحلزون المزدوج. مبين هيكل الفوسفات ثنائي الإستر بشكل شريطي في الأعلى والنموذج المحشو في الأسفل. تتجه القواعد إلى داخل الحلزون المزدوج، وتُثَبَّت عن طريق ازدواج القواعد. يُشَكِّل الهيكل أُخدودين؛ الرئيس الكبير، والثانوي الصغير.



الشكل 14–10

ازدواج القواعد يثبت الشريطين معًا. تظهر الروابط الهيدروجينية بين A و T وبين G و C بالخط المتقطع. ينتج عن هذه الروابط ازدواج قواعد من AT و GC التي تثبت الشريطين. يتم دائمًا تكوين زوج من بيورين وبيريميدن، ومن ثم يبقى قطر الحلزون المزدوج ثابتًا.

استقصاء

هل يفسر نموذج واطسون وكريك النتائج التي تمّت مناقشتها في الشرح جميعها؟

يشار إلى هذا النمط من ازدواج القواعد **بالتكاملي Complementary**، ما يعني أنه على الرّغم من أن الشريطين ليسا متطابقين، يمكننا معرفة أحد الشريطين إذا عرفنا القواعد المكونة للآخر. فإذا كان تسلسل أحد الشريطين ATGC فإن تسلسل الشّريط الآخر المتمّم له يجب أنْ يكون TACG. وهذه السمة تصبح حرجة لتضاعف DNA والتعبير عنه، كما سترى لاحقًا في هذا الفصل.

يفسر نموذج واطسون وكريك نتائج تشارجاف، حيث يقوم أدنين في الحلزون المزدوج بعمل رابطتين هيدروجينيتين مع ثايمين، لكنه لن يكوِّن روابط هيدروجينية مع سايتوسين، وكذلك الأمر للجوانين، فإنّه سيشكل ثلاث روابط هيدروجينية مع سايتوسين، ولن يشكل روابط هيدروجينية مع ثايمين. لذلك، فإن نسبة أدنين سوف تكون مطابقة لنسبة ثايمين، وكذلك الأمر للجوانين وسايتوسين.

تشكيلة التّوازي المتعاكس

ذكرنا آنفًا أن شريط الفوسفات ثنائي الإستر له قطبية فطرية، بمعنى أنّ هناك طرفًا ينتهي بمجموعة الهيدروكسيل الحرة 3` OH، وأنّ هناك طرفًا آخر ينتهي بمجموعة من الفوسفات الحرة 5` PO_4. لذا، فإنّ شريطي الحلزون المزدوج يشار إليهما إما بقطبية 5` إلى 3` أو بقطبية 3` إلى 5`. ويمكن وضع الشريطين بطريقتين؛ إما (بالتوازي) أي إنّ الشريطين بالقطبية نفسها، أو بقطبية معكوسة (عكس التوازي).

يوجد DNA مزدوج الشّريط في الطّبيعة دائمًا بتنظيم التّوازي المتعاكس؛ بمعنى أنّ أحد الشّريطين يسير في اتجاه `5 إلى `3، والآخر يسير بعكسه؛ أي من `3 إلى `5 (انظر الشّكل 14-10). وإضافة إلى التكاملية، فإنّ طبيعة التوازي المتعاكس هذه سيكون لها مضامين مهمة في تضاعف DNA.

جزيء *DNA* لواطسون وكريك

يبين نموذج واطسون وكريك أن كلّ جزيء DNA يتكون من شريطين من فوسفات ثنائي الإستر مكمّلين لبعضهما، ويلتف كلاهما بشكل حلزونيّ حول محور مشترك. يكون هذان الشريطان عكسيي التوازي، وتكون القواعد ممتدة داخل الحلزون. ترتبط القواعد من الشريطين المتقابلين مع بعضها بشكل أزواج قواعد عن طريق الروابط الهيدروجينية، لترتبط الشريطين المتكاملين معًا (الشكل 14-9، 14-10). على الرّغم من أن الروابط الهيدروجينية بين كلّ زوج قواعد روابط منخفضة الطاقة، فإن مجموع الروابط بين أزواج القواعد تعطي طاقة كافية للجزيء، بحيث يكون مستقرًّا.

على الرّغم من أن نموذج واطسون وكريك لـ DNA كان مقنعًا، إلا أن العلماء أرادوا الإجابة عن الأسئلة المتعلقة بتضاعفه، وهي خطوة مهمة في انقسام الْخليَّة، وكذلك عن كيفية إصلاح الأعطال والتغييرات التي تحدث له. وسنستقصي هذه الأسئلة في الجزء المتبقي من الفصل. (وفي الفصل القادم سوف نستمر في الحديث عن الشيفرة الْوراثِيَّة، والصِّلة بين الشيفرة وتصنيع البروتين)

كشفت تجربة تشارجاف المتعلقة بتركيب DNA أن كمية أدنين مساوية لكمية ثايمين، وبالمثل، فإن كمية جوانين كانت مساوية لسايتوسين. وكشفت دراسة قام بها فرانكلين وولكنز باستخدام طريقة انحراف (حيود) الأشعَّة السِّينيَّة أنّ DNA له شكل حلزوني. بنى واطسون وكريك نموذجًا يفسر تركيب DNA مكونًا من شريطين حلزونين مُلتفَّين حول محور مشترك ومرتبطين عن طريق روابط هيدروجينية. يزدوج أدنين مع ثايمين وجوانين مع سايتوسين، ما يجعل الشريطين مكملين لبعضهما.

3-14 الصِّفات الأساسيَّة لتضاعف DNA

إن تضاعف DNA قبل الانقسام الخلوي عملية مهمة وأساسية، ولقد كشفت الدراسات أنّ هذه العملية تتطلب مساهمة أعداد كبيرة من بروتينات الْخليَّة. قبل الدخول في تفاصيل العملية، كان على العلماء إرساء القواعد المتعلقة بالآلية العامة لهذه العملية.

بين ميسلسون وستال آلية التَّضاعُف شبه المحافظ

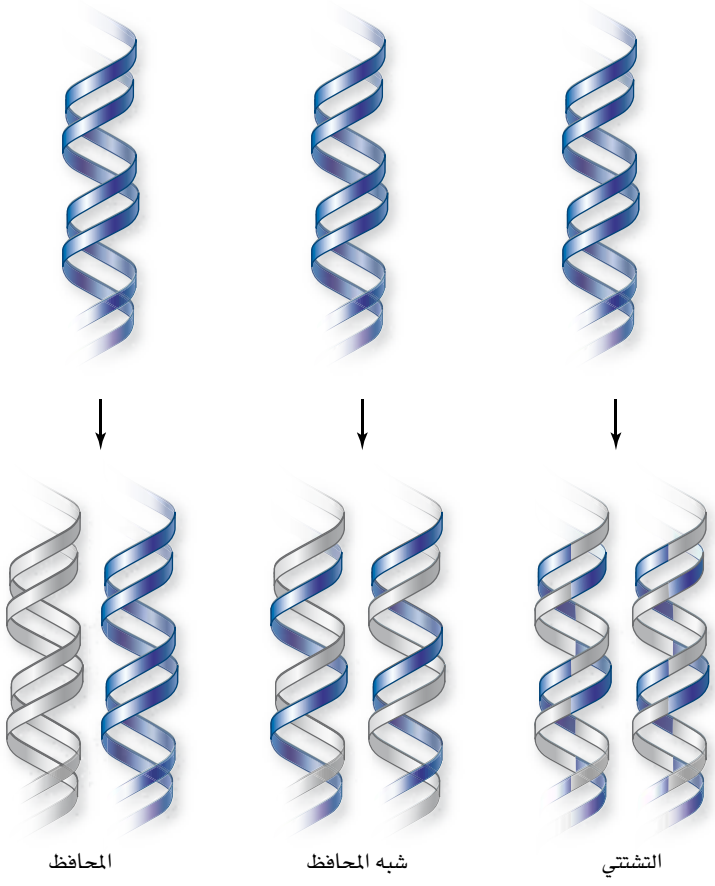
اقترح نموذج واطسون وكريك بشكل فوري أن أسس تضاعف DNA لا بد أن تعتمد على التكاملية، فقد تكون هناك سلسلة DNA لها أيّ تسلسل محتمل من القواعد، غير أنّ هذه السلسلة تملي وبشكل كلِّي تعاقب السلسلة الشريكة في المزدوج.

يتم في التَّضاعُف استخدام التعاقب في الشريطين الأبويين لتضاعف الشريطين البنويين. لذا، فإنّ الحلزون الأبويّ الواحد يقوم بإنتاج حلزونيين بنويين بأربعة أشرطة، ومن ثمّ تنفصل هذه الأشرطة البنوية في أثناء الانقسام الخلوي.

ثلاثة نماذج لتضاعف DNA محتملة الحدوث (الشكل 14-11).

1. **النموذج المحافظ Conservetive model**: تبقى الأشرطة الأبوية المزدوجة مع بعضها (تحفظ)، في حين تنضم الأشرطة البنوية الجديدة مع بعضها. لذا، فإنّ الأشرطة البنوية تتضمن جزيئات جديدة.
2. **النموذج شبه المحافظ Semiconservetive model**: يبقى شريط أبوي واحد من الحلزون الأبوي مع الحلزون البنوي (شبه محافظ)؛ حيث يبنى شريط جديد مكمل لكلِّ شريط أبوي. لذا، فإنّ الأشرطة البَنَوِية تتضمن شريطًا واحدًا أبويًّا وآخر بنويًّا مكملًا له.
3. **النموذج التشتتي Dispersive model**: تتكون النسخ الجديدة من DNA من خليط من الأشرطة الأبوية وأشرطة بَنَوِية جديدة، لذا، فإنّ DNA الجديد يكون متفرقًا ومبعثرًا في كلّ النسخ الجديدة من DNA عند انتهاء عملية التَّضاعُف.

لاحظ أن النماذج الثلاثة السابقة افترضت آلية عامة لعملية التَّضاعُف، ولم توضح العملية تفصيلات على المستوى الجزيئي.



الشكل 14-11

ثلاثة نماذج محتملة لتضاعف DNA. يُنتج النموذج المحافظ جزيء DNA جديدًا كاملًا، ويحافظ على الجزيء القديم. يُنتج النموذج شبه المحافظ جزيئي DNA هجينين يتكون كلاهما من شريطين: قديم وجديد. يُنتج النموذج التشتتي جزيئات هجينة يتكون كلّ منها من خليط من القديم والجديد.

تجربة ميسلسون وستال

قام العالِمان ماثيو ميسلسون وفرانكلين ستال عام 1958 بفحص النماذج الثلاثة التي تم ذكرها آنفًا. وللتمييز بين النماذج هذه، قاما بتعليم DNA عن طريق مادة مشعة، ومن ثم تابعا DNA المعلَّم خلال جولتين من التَّضاعُف (الشكل 14-12).

استخدم ميسلسون وستال مادة لتعليم DNA وهي النيتروجين الثقيل (^{15}N)، وهي مادة تعليم غير مشعة. لدى الجزيئات المحتوية على ^{15}N كثافة أكبر من تلك المحتوية على النظير المشع ^{14}N الشائع. وبالإمكان استخدام تقنية الطرد المركزي عالي السرعة لفصل الجزيئات ذات الكثافات المختلفة.

زُرعت البكتيريا في المرحلة الأولى في وسط يحتوي على ^{15}N، الذي اتحد بدوره مع قواعد DNA في البكتيريا. بعد أجيال عدة، أصبح DNA في تلك البكتيريا أكثر كثافة من ذلك الموجود في البكتيريا التي زُرعت في وسط يحتوي نظير ^{14}N الطبيعي والمتوافر. نقل ميسلسون وستال البكتيريا من الوسط المحتوي على ^{15}N إلى وسط يحتوي على ^{14}N، ثم جمعا DNA على مدد زمنية مختلفة.

أُذيب DNA من كلّ مدة زمنية في محلول ملحي ثقيل، كلوريد السيزيوم. وتم تدوير المحلول في جهاز الطرد المركزي عالي السرعة. سببت قوة الطرد المركزي الكبيرة هجرة السيزيوم نحو قعرأنبوب الطرد المركزي، صانعة تدرجًا من تركيز السيزيوم، ومن ثم تدرجًا في الكثافة.

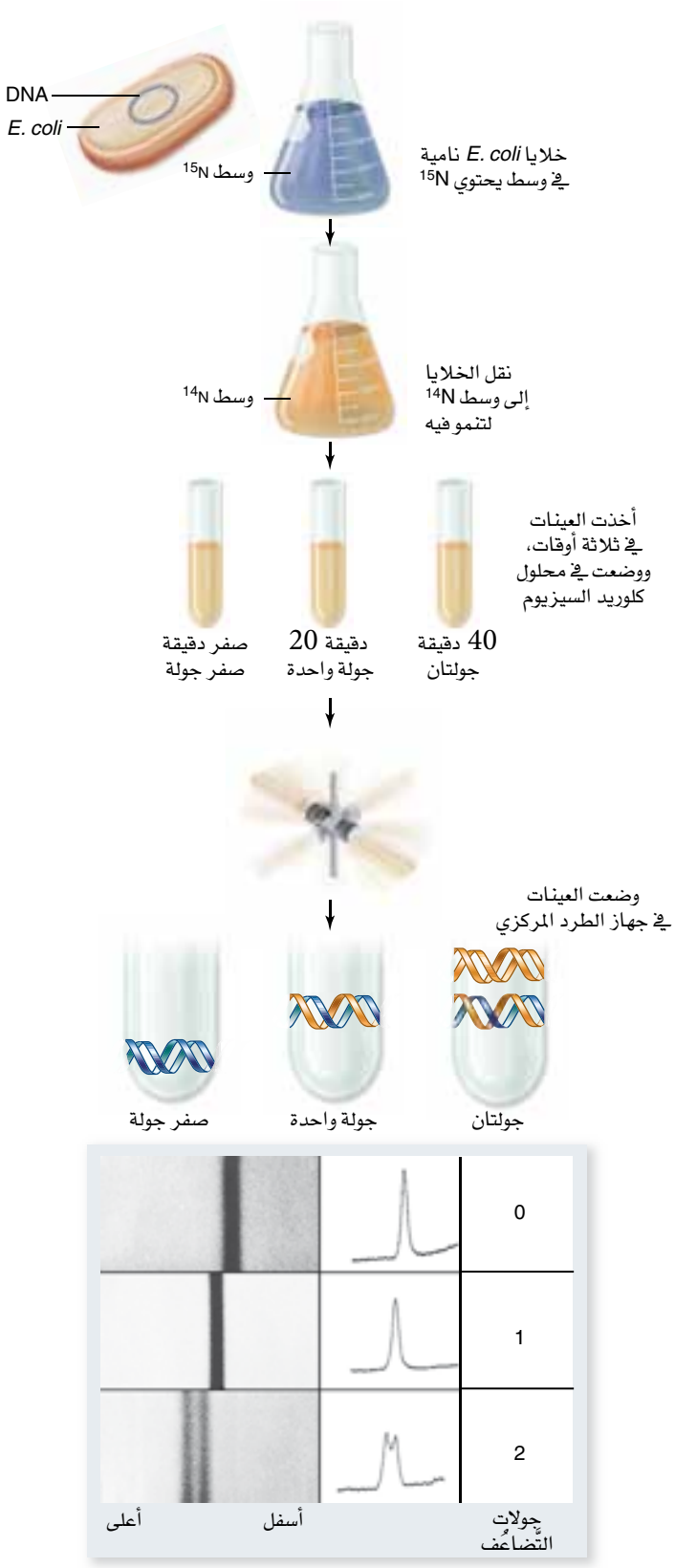
كلّ شريط DNA طاف أو غاص في هذا التدرج إلى أن وصل إلى نقطة تطابق كثافته تمامًا كثافة السيزيوم في ذلك الموقع. ولأن أشرطة ^{15}N أكثر كثافة من أشرطة ^{14}N فإنها تهاجر أبعد نحو قاع الأنبوب.

تساوت كثافة عينات DNA التي جمعت فورًا بعد أن نقلت البكتيريا إلى وسط ^{14}N مع DNA المحتوي على ^{15}N فقط. إلا أنّه بعد أن أنهت البكتيريا أول جولة من التَّضاعُف، قَلَّت كثافة DNA إلي قيمة وسطى بين ^{14}N-DNA وحدَه و ^{15}N-DNA. لوحظ بعد الجولة الثانية من التَّضاعُف صنفان من DNA: واحد وسط، وواحد يساوي ^{14}N-DNA (انظر الشَّكل 14-12).

تفسير نتائج ميسلون وستال

قارن ميلسون وستال نتائج تجربتهما مع النتائج التي يمكن توقعها بناءً على النماذج الثلاثة.

1. لم يكن النموذج المحافظ متماشيًا مع نتائج الجولة الأولى من التَّضاعُف، إذ كان لا بدّ من ملاحظة كثافتين: أشرطة DNA تكون إما ثقيلة (أبويّة) أو خفيفة (بَنَوِيّة). وهكذا رُفض هذا النموذج.
2. توافق نموذج شبه المحافظ مع الملاحظات جميعها: فبعد أول جولة من التَّضاعُف، يتوقع أن تكون هناك كثافة وحيدة؛ لأن جزيئات DNA جميعها سيكون لها أشرطة خفيفة وأخرى ثقيلة. وبعد جولتين من التَّضاعُف، سيكون لدى نصف الجزيئات شريطان خفيفان، ونصف الجزيئات الآخر سيكون له شريطان؛ خفيف وثقيل. وبذا، سيلاحظ هناك كثافتان. لذا، فإنّ النتائج تدعم النموذج شبه المحافظ.
3. النموذج التشتتي كان متطابقًا مع نتائج الجولة الأولى من التَّضاعُف، ففي هذا النموذج، سيتكون كلّ حلزون DNA من أشرطة خليطة من $\frac{1}{2}$ خفيف (جديد) و $\frac{1}{2}$ ثقيل (قديم). ولكن بعد جولتين من التَّضاعُف، سيبقي النموذج التشتتي يُنتج كثافة وحيدة فقط؛ تتألف من $\frac{3}{4}$ أشرطة DNA خفيفة و $\frac{1}{4}$ جزيئات ثقيلة. عوضًا عن ذلك، لوحظ وجود كثافتين. لذا، فقد رُفض هذا النموذج أيضًا.



الشكل 14-12

تجربة ميسلسون وستال. زُرعت البكتيريا في وسط فيه ^{15}N الثقيل، ثم نقلت البكتيريا إلى وسط فيه ^{14}N الخفيف. أخذت العينات في أوقات مختلفة بعد صِفر، 1 ، 2 جولة تضاعفية، ثم وضعت في محلول كلوريد السيزيوم في جهاز الطرد المركزي لتشكل تدرجًا. تظهر النتائج الأصلية في أسفل الشَّكل، ويوضح الرسم تفسير النتائج المتسقة مع النموذج شبه المحافظ.

إن الآلية الأساسيَّة لعملية تضاعف DNA هي شبه محافظة. ما يحدث ببساطة، هو أن ينفك حلزون DNA المتضاعف، ويصنع نسخًا من الشريطين لإنتاج حلزونيين بَنَويين يتألف كلّ واحد منهما من شريطين: قديم وجديد.

عملية التَّضاعُف: نظرة شاملة

تحتاج عملية التَّضاعُف إلى ثلاثة أشياء: شيء يتمّ نسخه، وشيء يقوم بالنّسخ، ومكوّنات بنائيّة لعمل النّسخة. يعمل جزيء DNA الأبوي كقالب، وتقوم الأنزيمات بعملية نسخ القالب، والمكونات البنائية هي النيكلوتيدات ثلاثية الفوسفات.

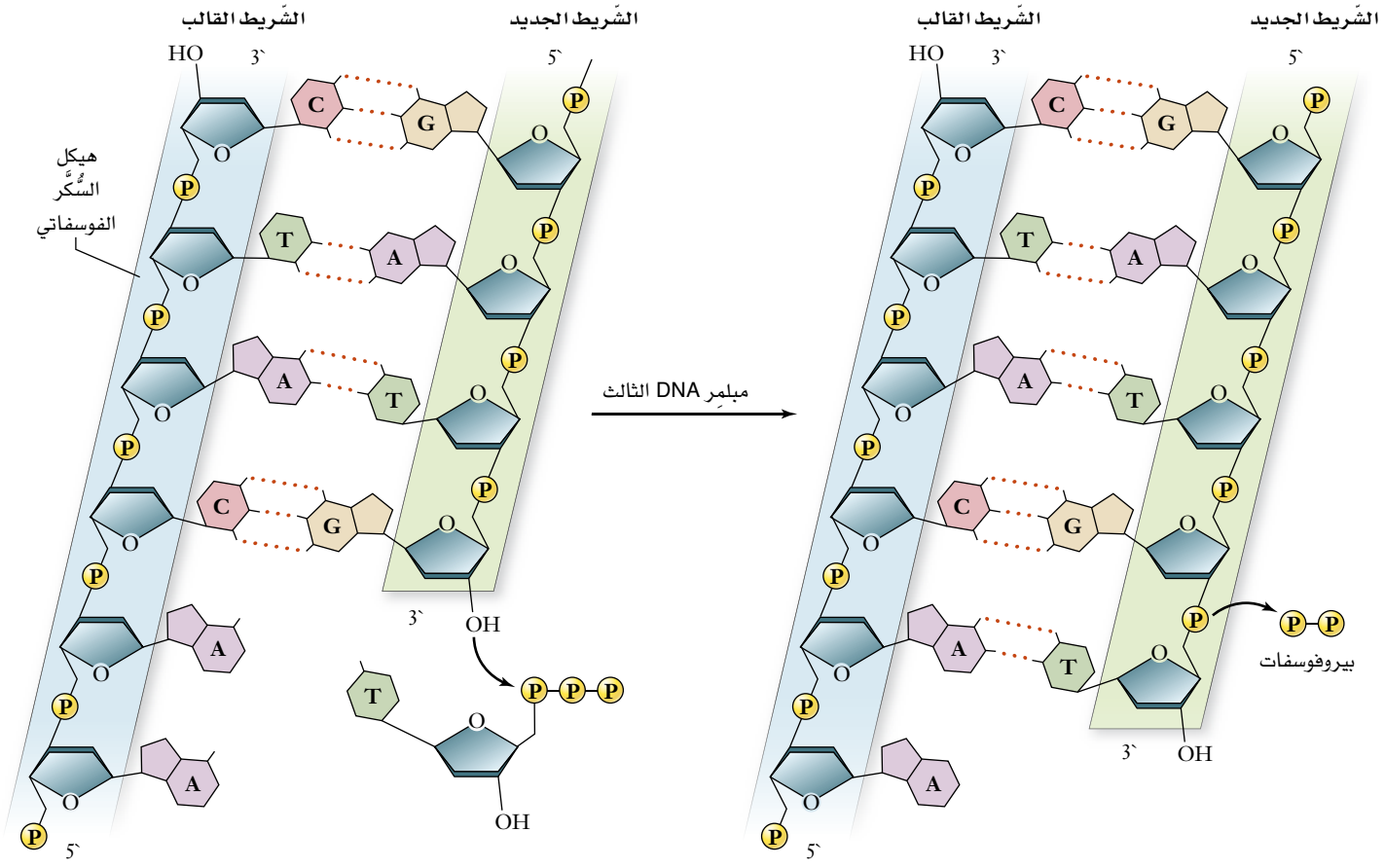
ويمكن التفكير في عملية التَّضاعُف أنّ لها بداية ووسطًا، حيث تتم إضافة المكونات البنائية ونهاية، حيث تُوقَف العملية. ونستخدم مصطلحات الاستهلال *initiation*، والاستطالة *elongation*، والإيقاف *termination* لوصف العملية الكيميائية الحيوية. وعلى الرّغم من أنّه قد يظهر أن هناك زيادة في تبسيط العملية، ولكنّ في الحقيقة، تتطلب عمليتا الاستهلال والإيقاف عادة وظائفَ محددة، وهو ما ليس ضروريًّا في الاستطالة.

الاستهلال: المنشأ

لا تبدأ عملية التَّضاعُف من نقطة عشوائية على شريط DNA المزدوج، وإنما وجد أنها تبدأ من موقع أو أكثر يُسمّى **منشأ التَّضاعُف Origin of replication**. تقوم بروتينات متخصّصة بالتعرف والارتباط بالمنشأ، حيث تشكل عنده معقدًا يقوم بفك الحلزون، ليعرِّي شريط القالب المنفرد؛ لكي يتم استخدامه لبناء شريط جديد.

الاستطالة: مبلمر *DNA Polymerase DNA*.

تتعاون أنزيمات عدة، وتنسق فيما بينها لإتمام مهمة تجميع الشّريط الجديد، ولكن الأنزيم الذي يقوم فعليًّا بمطابقة قواعد DNA الموجودة مع نيكلوتيدات مكملة لها، ثم يربط النيكلوتيدات مع بعضها ليكَوِّن الشّريط الجديد هو **مبلمر DNA polymerase DNA** (الشّكل 14-13). وكما تم وصفه قبل قليل، تم اكتشاف أنواع عدة مختلفة من مبلمرات DNA.



الشكل 14-13

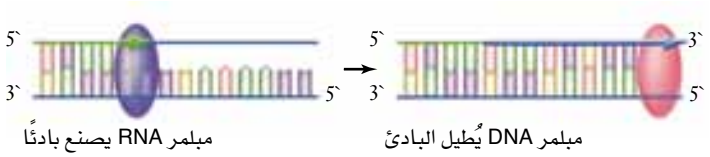
عمل مبلمِر DNA. يقوم مبلمِر DNA بإضافة النيكلوتيدات إلى الطرف `3 من السلسلة النامية. ويعتمد اختيار القاعدة المضافة على القاعدة الموجودة في الشّريط القالب، بحيث تكون كلّ قاعدة جديدة مكملة للقاعدة الموجودة على الشّريط القالب. عند إضافة النيكلوتيدات ثلاثية الفوسفات، يتم إزالة اثنتين من مجموعات الفوسفات على شكل بيروفوسفات.

استقصاء

لماذا تعتقد أن من المهم تثبيت هيكل السكر-فوسفات في DNA عن طريق الروابط التساهمية وتثبيت الجسور العرضية بين الشريطين عن طريق الروابط الهيدروجينية؟

تشترك أنواع مبلمرات DNA التي تم فحصها جميعها بصفة مشتركة. فجميعها تضيف القواعد الجديدة إلى طرف `3 من الشّريط الموجود. أي إنّها تُصنِّع في اتجاه من `5 إلى `3 بإطالة الشّريط الذي يزدوج قاعديًّا مع شريط القالب. تتطلب المبلمرات جميعها **البادئ Primer** للبدء في عملية التصنيع؛ ولا تستطيع البدء دون شريط RNA أو DNA يزدوج قاعديًّا مع القالب.

ولا تحتاج مبلمرات RNA إلى هذا البادئ، لذا، فإنّها عادة ما تقوم بتصنيع البادئ.



الإيقاف

لنقطة النهاية أهميتها كنقطة البداية. تنتهي عملية التَّضاعُف في بدائيّات النّوى، التي لها DNA حلقي، عندما تصل العملية إلى المنشأ مرة أخرى. في حين تنتهي عملية التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى عند أطراف الكروموسومات، حيث توجد القطع الطرفية أو التيلوميرات *telomeres*، وهي مناطق محددة من قواعد متكررة.

سيتم وصف تفاصيل هذه العملية في الجزء الآتي. في بدائيّات النّوى أولًا، التي استخدمت كثيرًا في الأبحاث الأولى على تضاعف DNA، ثم حقيقيّات النّوى بعد ذلك.

بيّن ميسلسون وستال أن الآلية الأساسيَّة لعملية التَّضاعُف تتم بطريقة شبه محافظة: حيث يتكون كلّ حلزون DNA من شريط قديم وآخر جديد. تتضمن عملية التَّضاعُف ثلاث مراحل: الاستهلال والاستطالة والإيقاف. تتم عمليتا الاستهلال والإيقاف في مناطق محددة، وهي عملية تختلف عن عملية الاستطالة. تقوم بعملية الاستطالة أنزيمات تسمى مبلمرات DNA حيث تصنَع DNA في اتجاه من `5 إلى `3 ابتداءً من طرف `3 التابع للبادئ، الذي عادة ما يكون RNA.

4-14 التَّضاعُف في بدائيّات النّوى

لبناء صورة مفصلة للتضاعف، علينا أنْ نسلط الضَّوء على تضاعف بدائيّات النّوى باستخدام بكتيريا القولون *E.coli* بوصفها نموذجًا. بعد ذلك، يمكننا النظر في نموذج التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى واختلافه عن النظام في بدائيّات النّوى.

يبدأ التَّضاعُف في بدائيّات النّوى عند منشأ واحد

تستهل *E.coli* عملية التَّضاعُف من نقطة نوعية، هي المنشأ (وتسمى *OriC*)، وتنتهي عند موقع نوعي هو النهاية. تتكون سلسلة *OriC* من نيكلوتيدات متكررة ترتبط مع بروتين مُستَهِل وسلسلة غنية بقواعد A.T التي يمكن أن تفتح بسهولة في أثناء عملية استهلال التَّضاعُف. (لدى أزواج القواعد A.T رابطتان هيدروجينيتان، مقارنة بأزواج قاعدة G.C التي لديها ثلاث روابط هيدروجينية).

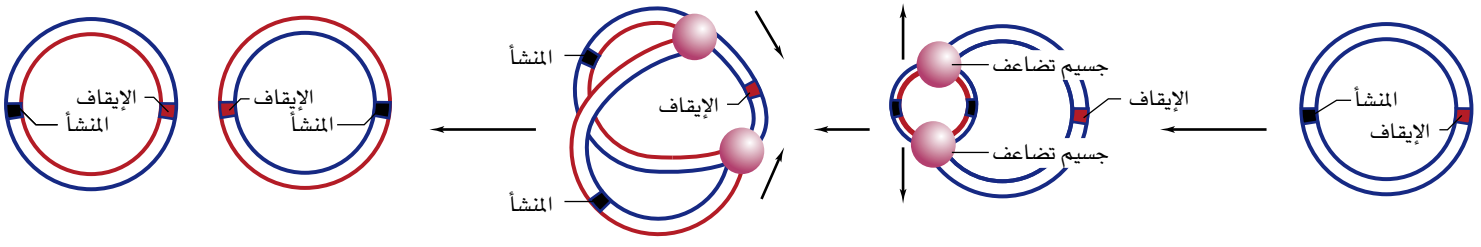
بعد الاستهلال، تمضي عملية التَّضاعُف في اتجاهين متضادين، ابتداءً من هذا المنشأ الفريد إلى طرف أو نهاية فريدة (الشكل14-14). وبالإمكان اعتبار الكروموسوم الكامل إضافة إلى المنشأ وحدة وظيفية واحدة تسمى **وحدة تضاعف** (ريبليكون) **Replicon**.

يوجد لدى *E.coli* ثلاثة أنواع على الأقل من مبلمرات DNA

تقوم مبلمِرات DNA، كما ذكرنا، ببناء شريط DNA، جديد بالاعتماد على DNA القالب. سمي أول مبلمِر DNA عُزِلَ من *E.coli* **مبلمِر DNA الأول Polymerase I DNA (Pol I)**. في البداية، افترض الباحثون أن هذا المبلمبر هو الذي يقوم بالعبء الأكبر في تصنيع DNA في أثناء التَّضاعُف. إلا أنه تم عزل بكتيريا طافرة لا تحتوي على نشاط المبلمِر الأول، ولكنها بقيت تُظهر نشاطًا تضاعفيًّا. عُـزل مبلمران إضافيان من *E.coli* وسُمِّيا **مبلمِر DNA الثاني DNA Polymerase II (Pol II) ومبلمِر DNA الثالث DNA Polymerase III (Pol III)**. وكما هو الحال مع المبلمِرات جميعها، فالأنزيمات الثلاثة تصنع شريط DNA متعدد النيكلوتيدات الجديد في اتجاه واحد هو `5 إلى `3 وتتطلب بادئًا.

لدي كثير من المبلمِرات أنشطة أنزيمية إضافية تساعدها على وظيفتها. هذا النشاط هو نشاط تحطيم DNA أو القدرة على تكسير رابطة الفوسفات ثنائي

الشكل 14-14



التَّضاعُف هو ثنائي الاتجاه من منشأ محدد. تبدأ عملية التَّضاعُف من منشأ فريد. يتم وضع جسيمي تضاعف منفصلين على المنشأ؛ ليستهلا التصنيع في اتجاهين متعاكسين على الكروموسوم؛ حتى يصلا إلى نقطة انتهاء فريدة.

الإستر بين النيكلوتيدات. تصنّفُ أنزيمات التحطيم إلى **محطّمات داخليّة Endonucleases** (تقطع DNA داخليًّا) أو **أخرى خارجيّة Exoncleases** (تقطع DNA عند الأطراف).

لدى مبلمِرات DNA الأول والثاني والثالث خاصية التّحطيم الخارجيّ في الاتجاه من `3 إلى `5، وتنجز وظيفة تدقيق القراءة؛ لأنها تسمح للأنزيم بإزالة القواعد التي لم تزدوج بشكل صحيح. إضافة إلى ذلك، لدى مبلمر DNA الأول نشاط تحطيم خارجي في الاتجاه `5 إلى `3. سنوضِّح أهمية ذلك بعد قليل.

تقوم المبلمِرات الثلاثة بمهام مختلفة في أثناء عملية التَّضاعُف. مبلمِر DNA الثالث هو المسؤول عن الجزء الأكبر من تصنيع DNA. في حين يعمل مبلمِر DNA الأول على الشّريط المتلكئ، ويزيل بوادئ ويستبدلها بقواعد DNA. ولا يظهر أن مبلمِر DNA الثاني يؤدي وظيفة معينة في أثناء تضاعف DNA، وإنما يلزم في عملية إصلاح DNA.

لقد كان يُعتقد، سنوات عدة، أنّ هذه الأنزيمات الثلاثة هي مبلمِرات DNA الوحيدة في *E. coli*، غير أنّه تم التّعرّف حديثًا إلى مبلمِرات عدة في *E. coli*. فهناك خمسة أنزيمات مبلمرة لـ DNA معروفة، مع أنّها لا تعمل جميعها في تضاعف DNA.

يتطلب فك التفاف DNA طاقة، ويتسبب في جهد التوائي

على الرّغم من أنّ بعضًا من مبلمِرات DNA تستطيع أنْ تفكّ التفاف DNA في أثناء تصنيعها DNA الجديد، فإن هناك مجموعة أخرى من الأنزيمات لديها وظيفة وحيدة وهي فكّ التفاف شريط DNA لجعل سير العملية أكثر كفاءة. تسمى الأنزيمات التي تستخدم طاقة ATP لفكّ التفاف DNA القالب، **محلل الحلزون Helicases**.

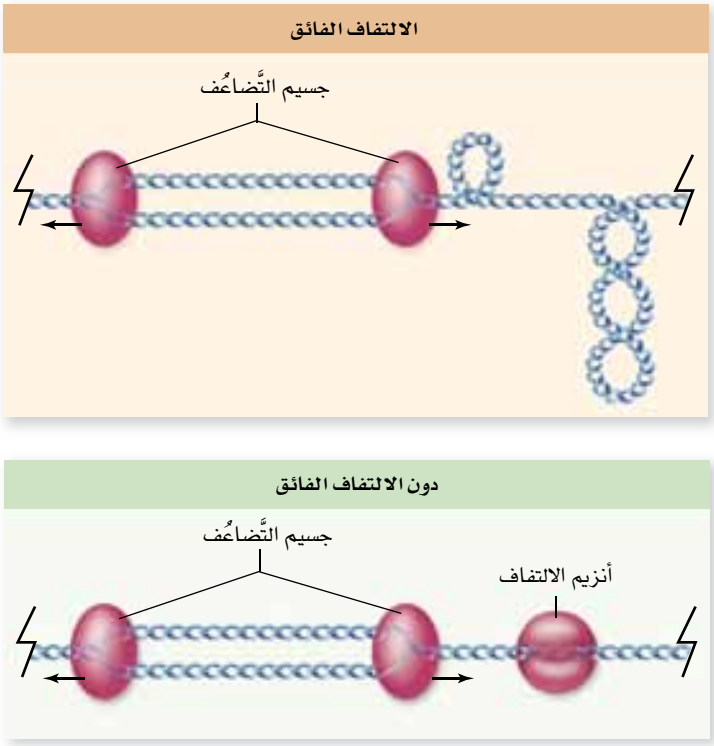
شريط DNA المفرد الذي ينتجه أنزيم محلل الحلزون غير مستقر؛ لأن العملية تعرض القواعد غير المحبة للماء للوسط المائي. تقوم الْخليَّة بحلّ هذه المشكلة بوضع بروتينات ترتبط بالشّريط المفرد، وتمنع تعرضه للوسط المائي، وتسمّى البروتينات الرابطة للشريط المفرد.

إن فكّ التفاف DNA يؤدي إلى حدوث جهد التوائي لجزيء DNA. تخيل أنّ هناك شريطين مطاطيين ملتفين حول بعضهما. ماذا يحدث لو أنّك قمت بفكّ التفاف الشريطين المطّاطيّين؟ سيقوم جزءا الشريطين المطّاطيين اللذين ما زالا ملتفَّين حول بعضهما بالالتفاف بشكل أكبر في الفراغ. عندما يحدث هذا في جزيء DNA فإنّه يسمّى **الالتفافَ الفائق Supercoiling** (الشّكل 14-15). إن فرع الرياضيات الذي يختص في كيفية التواء الأجسام والتفافها في الفراغ يسمى الطبولوجيا *Topology* لذا، فبإمكاننا أن نصف التفاف الحلزون المزدوج في الحالة الطوبولوجية لـ DNA. تصف هذه الحالة كيف يَلُف الحلزون المزدوج نفسه في الفراغ. ولقد لاحظنا مثالًا على هذا الالتفاف عند دراسة التفاف DNA حول بروتينات الهيستون في الجسيمات النووية لكروموسومات حقيقيّات النّوى. (الفصل الـ 10).

تسمى الأنزيمات القادرة على تغيير الحالة الطوبولوجية لـDNA **متجازئات الحالة الطبولوجية Topoisomerases**. تعمل هذه الأنزيمات على تخليص DNA من جهد الالتواء، وتمنع تكون الالتفاف الفائق. تسمى هذه الأنزيمات التي تستخدم في التَّضاعُف **أنزيمات الالتفاف** (الجايريز) **DNA gyrases** (الشكل 14-15).

التَّضاعُف شبه متقطع

فيما سبق، وصفنا DNA بأنه عكسي التوازي. بمعنى أنّ أحد الشّريطين يسير في اتجاه `5إلى `3، أما الآخر فيسير في اتجاه `3 إلى `5. لذا، فإنّ طبيعة



الشكل 14-15

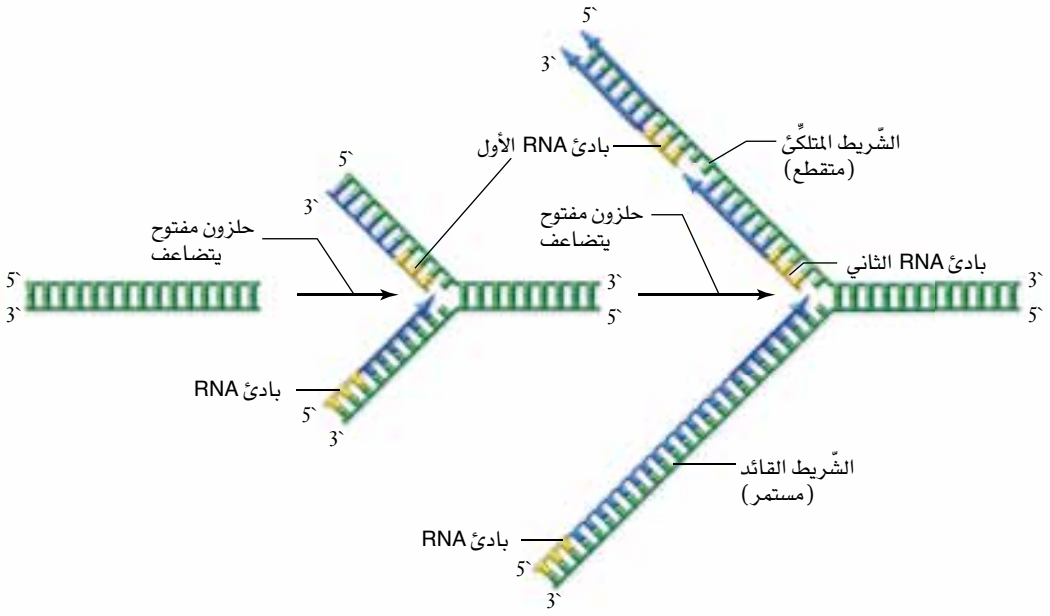
يتسبب فكّ التفاف الحلزون في جهد التوائي. إذا كانت نهايات DNA الخطي مقيدة، كما هي في الْخليَّة، فإنّ فكّ التفاف الحلزون يُحدث جهدًا التوائيًّا يمكن أن يتسبب في إحداث التفاف أكبر في الفراغ (التفاف فائق). يحرر أنزيم الالتفاف هذا الالتفافَ الفائق.

الاتجاهات، إضافة إلى طبيعة عمل مبلمِرات DNA، تضع قيودًا على الطريقة التي تتم بها عملية تصنيع DNA. ولأنّ المبلمِرات تصنع DNA في اتجاه واحد فقط، والشريطان يسيران في اتجاهين متعاكسين، فيجب على المبلمِرات إذن أن تصنع DNA في اتجاهين متعاكسين (الشكل 14-16).

إن حاجة مبلمِرات DNA إلى البادئ تعني أنّ أحد الأشرطة يحتاج إلى بوادئ كلما تمّ فكّ الحلزون (انظر الشكل 14-16). هذا يعني أنه يتم تصنيع أحد الشريطين بشكل مستمر ابتداءً من البادئ الأول، في حين يتم تصنيع الشّريط الثاني بشكل متقطع باستخدام بوادئ عدة، وتجميع قطع قصيرة من DNA. يُطلق على الشّريطَ المستمر **الشّريط القائد Leading strand** في حين يُسمّى الشّريط المتقطع **الشّريطَ المتلكئ Lagging strand**. تسمى قطع الشّريط المتلكئ **قطع أوكازاكي Okazaki fragments** تكريمًا للرجل الذي كان أول من وضح طريقة التصنيع المتقطع. لقد أظهرت هذه القطع الحاجة إلى أنشطة أنزيمية أكثر على الشّريط المتلكئ، كما سيتم وصفه لاحقًا.

يتم التصنيع عند شوكة التضاعُف

إن الانفتاح الجزئي لحلزون DNA يشكل شريطين فرديين على شكل شوكة. لذا، فهي تسمى **شوكة التَّضاعُف Replication fork**. توجد الأنزيمات التي تمت مناقشتها جميعها إضافة إلى أنزيمات أخرى في شوكة التَّضاعُف (الجدول 14-1). ومع ذلك، يسير التصنيع على الشّريطين، القائد والمتلكئ بشكل مختلف.



الشكل 14-16

التَّضاعُف شبه متقطع. صناعة المبلمِر لـ DNA في اتجاه 5` إلى 3` إضافة إلى طبيعة DNA عكسي التوازي تقتضي أن يتمّ تصنيع أحد الشريطين، الشّريط القائد بشكل مستمر، في حين يُصنّع الشّريط الآخر؛ المتلكّئ، بشكل متقطع، بحيث يكون لكلّ قطعة بادئ خاص بها.

الابتداء

تُصنَع البوادئ التي يحتاج إليها مبلمِر DNA في أثناء التَّضاعُف عن طريق أنزيم يسمى **صانع البادئ** (برايميز) **Primase**. هذا الأنزيم عبارة عن مبلمِر RNA يستطيع أن يصنع من 10-20 زوجًا قاعديًّا لتعمل بادئًا لمبلمِر DNA. يزال بادئ RNA لاحقًا، واستبدال DNA به.

صناعة الشّريط القائد

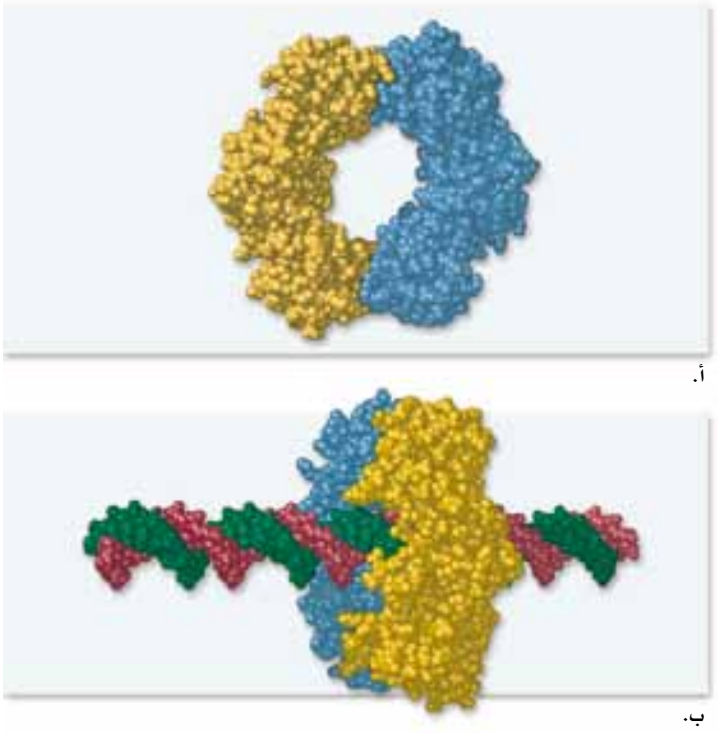
تعدّ عملية تصنيع الشّريط القائد عملية بسيطة نوعًا ما، إذ يتم وضع البادئ مرة واحدة، ثم يقوم مبلمِر DNA الثالث بعملية الاستطالة بشكل مستمر. إذا بقي الأنزيم مرتبطًا مع القالب، فبإمكانه تصنيع كامل الكروموسوم الحلقي في *E.coli*. إن قدرة المبلمِر على البقاء مرتبطًا مع القالب تسمَّى **تقدمية Processivity**. ويُعَدُّ مبلمِر DNA الثالث أنزيمًا كبيرًا متعدد تحت الوحدات ذا تقدمية عالية بفضل تحت الوحدة بيتا *β subunit*. (الشكل 14-17أ).

الجدول 14-1

أنزيمات تضاعف DNA في بكتيريا *E. coli*

البروتين	الوظيفة	الحجم (KDa)	عدد الجزيئات في الْخليَّة
محلل الحلزون	فك التفاف الحلزون المزدوج	300	20
صانع البادئ	صناعة البادئ RNA	60	50
البروتينات الرابطة للشريط المفرد	استقرار مناطق الشّريط المنفرد	74	300
أنزيم الالتفاف	إزالة الالتواء	400	250
مبلمِر DNA الثالث	تصنيع DNA	≈900	20
مبلمِر DNA الأول	إزالة البادئ وملء الفراغ	103	300
اللاحم	ربط قطع DNA، وإصلاحه	74	300

تتكون تحت الوحدة بيتا من سلسلتي بروتين متطابقتين تشكلان حلقة. يتم وضع الحلقة على القالب، مثل لاقط لتثبيت المبلمِر الثالث على DNA(14-17ب). لذا، يعرف هذا التركيب «باللاقط المنزلق». يوجد تركيب شبيه لهذا في مبلمِرات حقيقيّات النّوى.



أ.

ب.

الشكل 14-17

اللاقط المُنزَلِق لمبلمِر DNA. أ. تحت وحدة بيتا β تشكل حلقة تحيط بـ DNA ب. تظهر تحت وحدة بيتا مرتبطة بـ DNA وتشكل «لاقطًا منزلقًا» تُبقي المبلمِر متصلًا بالقالب.

صناعة الشّريط المتقطّع

تتطلب صناعة الشّريط المتلكئ ذي الطبيعة المتقطعة عملًا إضافيًّا أكبر من صناعة الشّريط القائد (الشكل 14-16). إذ يجب على أنزيم صانع البادئ أن يقوم بتصنيع البادئ لكلِّ قطعة من قطع أوكازاكي، ثم يتم بعد ذلك إزالة البادئ وملء الفراغ الناتج عن هذه الإزالة، ثم ربط القطع بعضها مع بعض.

يُتِم مبلمِر DNA الثالث تصنيع قطع أوكازاكي. إلا أنّ إزالة البادئ واستبداله تتم عن طريق مبلمِر DNA الأول. ويستخدم في ذلك قدرته على التحطيم الخارجي في الاتجاه من `5 إلى `3، إذ بإمكانه إزالة البادئ من المقدمة أولًا، ثم استبداله مستخدمًا نشاط المبلمِر في اتجاه `5 إلى `3. هذا التخليق يحفّز بقطعة أوكازاكي السابقة المكونة من DNA التي لها مجموعة هيدروكسيل حرة في طرف `3 يمكن إضافة المزيد لها.

يتبقى في النهاية الحاجة إلى عمل رابطة فوسفات ثنائية الإستر بين قطع أوكازاكي التي صُنّعت، ويقوم بذلك **الأنزيم اللاحم DNA ligase** الذي يُلْحم الندب بين قطع أوكازاكي ليكون شريطًا كاملًا. الأنشطة التي تتم على الشّريط المتلكئ ملخصة جميعها في(الشّكل 14-18).

استقصاء

ما وظيفة الأنزيم اللاحم؟ ماذا يحدث في الْخليَّة لو لم يكن هذا الأنزيم غير فعال؟

الإيقاف

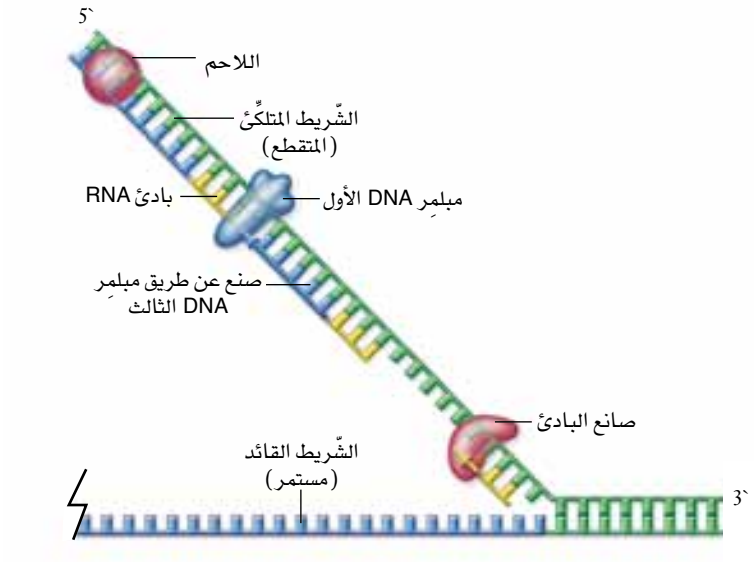
تحدث عملية الإيقاف في مكان نوعي محدد يقع مقابل نقطة المنشأ (*oriC*) على الكروموسوم الحلقي تقريبًا. تنتج المراحل الأخيرة للتضاعف جزيئين بنويين ملتفين حول بعضهما كحلقتين في سلسلة. ويقوم بفصل هذين الجزيئين الملتفين الأنزيمُ نفسُه الذي يزيل الجهد الالتوائي على شوكة التَّضاعُف: أنزيم الالتفاف.

يحتوي جسيم التَّضاعُف على الأنزيمات اللازمة للتضاعف

تشكل الأنزيمات المشاركة في عملية التَّضاعُف جميعها تجمعًا يسمى **جسيم التَّضاعُف Replisome** ويُنظر إليه «كمضية للتضاعف» أي مثل الرايبوسومات الخاصة بعملية صناعة البروتينات. جسيم التَّضاعُف هو آلة بروتينية قادرة على مضاعفة DNA بشكل سريع ودقيق في أثناء انقسام الْخليَّة.

يتكون جسيم التَّضاعُف من جزيئين رئيسين هما؛ جسيم البدء *Primosome*، واثنين من مبلمِر DNA الثالث، واحد لكلِّ شريط. ويتكون جسيم البدء من أنزيمين، هما: صانع البادئ ومحلل الحلزون، وعدد من البروتينات المساعدة. تفسِّر الحاجة إلى الابتداء المستمر على الشّريط المتلكئ الحاجة إلى وجود معقد جسيم البدء بوصفه جزءًا من جسيم التَّضاعُف الكامل على شوكة التَّضاعُف.

يضم معقدا مبلمِر DNA الثالث وحدتين أساسيتين مخلَّقتين، كلّ منها لديها تحت وحدة b وعدد من البروتينات الأخرى التي تساعد على تثبيت المعقد الكامل مع بعضه. وعلى الرّغم من الجهد الإضافي المطلوب عمله على الشّريط المتلكئ، إلا أنّ كِلا المبلمِرين يعملان بشكل متزامن.

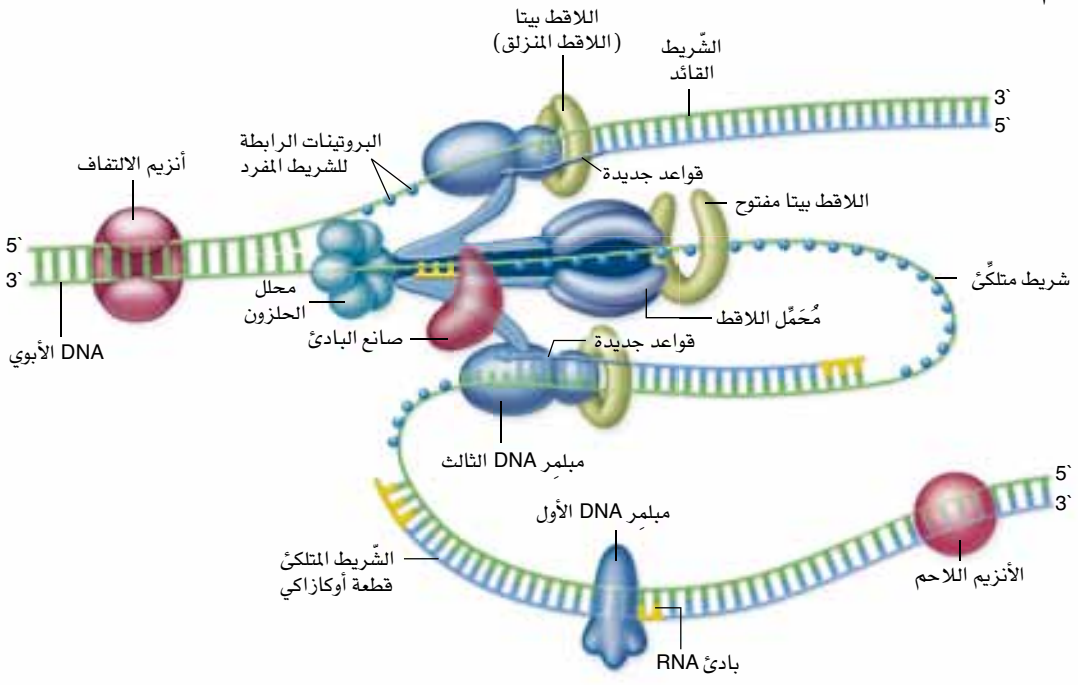


الشكل 14-18

صناعة الشّريط المتلكئ. يقوم صانع البادئ بتصنيع البادئ الذي يحتاج إليه المبلمِر DNA الثالث (غير ظاهر). تزال مجموعة البوادئ عن طريق مبلمِر DNA الأول مستخدما نشاط المحطم الخارجي في اتجاه `5 إلى `3 ثم استطالة القطعة السابقة من قطع أوكازاكي لاستبدال RNA البادئ. يُلحَم القَطْع بين القطعتين عن طريق الأنزيم اللاحم.

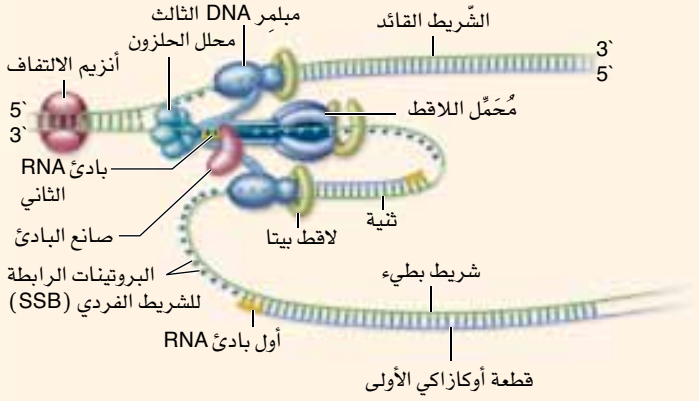
الشكل 14-19

شوكة التَّضاعُف. نموذج تركيب شوكة التَّضاعُف، حيث يوجد أنزيمان لمبلمِر DNA الثالث متّصلان مع بعضهما عن طريق بروتينات ثانوية. تضم هذه البروتينات، مُحَمِّل اللاقط، ويقوم بتحميل تحت وحدة بيتا التابعة للاقط المنزلق بشكل دوري على الشّريط المتلكِّئ. يقوم مبلمِر DNA الثالث على الشّريط المتلكِّئ بترك القالب بشكل دوري ليرتبط مرة أخرى بتحت وحدة بيتا اللاقطة. تسمح الثنية المتكونة من الشّريط المتلكِّئ بتحرك أنزيمي مبلمِر DNA في اتجاه واحد على الرّغم من عكسية التوازي. يشترك أنزيم صانع البادئ، الذي يقوم بصناعة البوادئ في قِطَع الشّريط المتلكِّئ ومحلل الحلزون مع المعقد المركزي. ويزيل المبلمِر DNA الأول البوادئ، ويربط اللاحم القِطَع بعضها مع بعض.

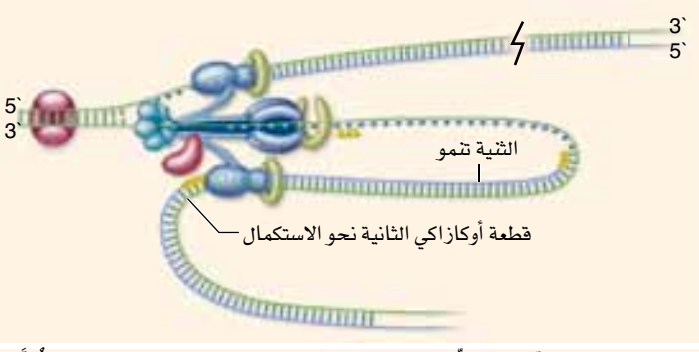


وحتى بوجود الصعوبات التي تصاحب تكوين الشّريط المتلكئ، إلا أن أنزيمي DNA الثالث يكونان نشيطين على الشريطين؛ القائد والمتلكئ في الوقت نفسه. كيف يُصَنَّعُ الشريطان في الاتجاه نفسه مع أنهما متعاكسان؟ إن أول نموذج اقتُرح، وما زال معنا بشكل ما، يستلزم تكوين ثنية على الشّريط المتلكئ، وبذا تتحرك المبلمِرات في الاتجاه نفسه (الشكل 14-19). تشير بعض الأدلة الحديثة إلى أنّ معقد التَّضاعُف ثابت، ويمرّ شريط DNA من خلاله كما يمرّ الخيط في مَكِنَةِ الخياطة. يقوم المعقد المستقر بدفع DNA المصنَّع حديثًا إلى الخارج، ما يساعد على انعزال الكروموسوم. وهذه العملية ملخّصة في (الشَّكل 14-20).

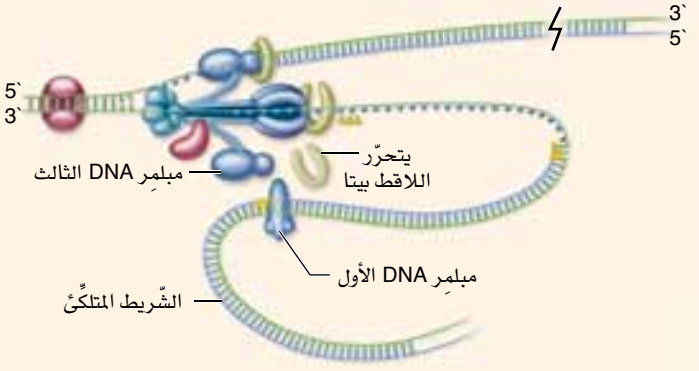
يحدث التَّضاعُف في منطقة شوكة التَّضاعُف التي ينفصل عندها شريطا DNA. يتجمع عند شوكة التَّضاعُف معقد ضخم، هو جسيم التَّضاعُف، الذي يضم مبلمِر DNA الثالث، وصانع البادئ، ومحلل الحلزون، ومجموعة أخرى من البروتينات. تتطلب عملية تضاعف الشّريط المتلكئ أنزيم مبلمِر DNA الأول، حيث يقوم باستبدال البادئ بـ DNA ثم يقوم الأنزيم اللاحم بربط قطع أوكازاكي. تتكون عروة من الشّريط المتلكئ فيُسهِّل ذلك إمكانية وجود مبلمِري DNA في المعقد نفسه. تبدأ عملية التَّضاعُف في نقطة فريدة، وهي المنشأ (*oriC*) ثم تستمر في اتجاهين متعاكسين، حتى تنتهي عند نقطة إيقاف فريدة.



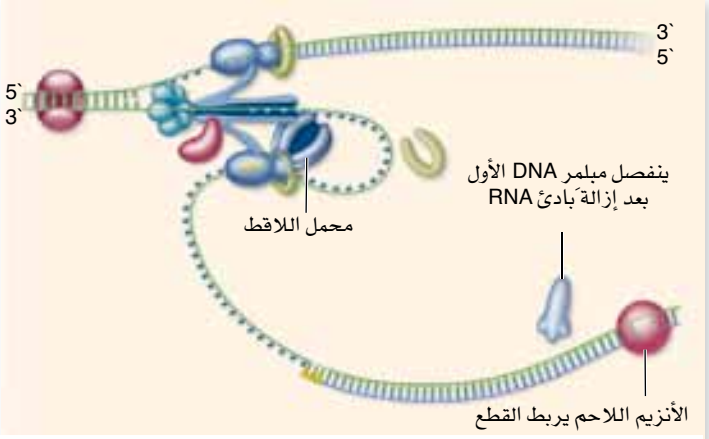
1. مبلمِر DNA الثالث فعَّال على الشريطين، يقوم صانع البادئ بصنع بوادئ جديدة للشرَيط المتلكئ.



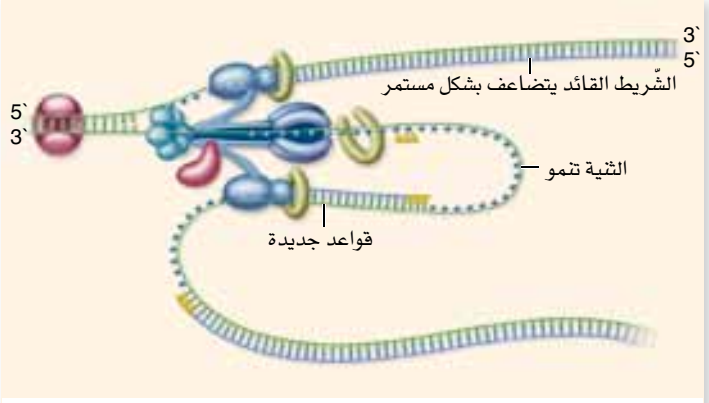
2. تسمح «ثنية» الشّريط المتلكِّئ بصناعة الشريطين في اتجاه 5` إلى 3` ويتحرك المُركَّب إلى اليسار.



3. عندما يصطدم مبلمِر DNA الثالث على الشّريط المتلكِّئ بالقطعة السابقة، فإنّه يحرّر لاقط بيتا والشّريط القالب. يرتبط مبلمِر DNA الأول ليزيل البادئ.



4. يقوم محمل اللاقط بربط لاقط بيتا ونقله إلى مبلمِر DNA الثالث، لينشئ ثنية جديدة على الشّريط المتلكئ. يقوم الأنزيم اللاحم بربط قطع DNA بعد أن يزيل مبلمِر DNA الأول البوادئ.



5. بعد تحميل لاقط بيتا، يقوم مبلمِر DNA الثالث بإضافة القواعد على قطعة أوكازاكي اللاحقة على الشّريط المتلكئ.

الشكل 14-20

صناعة DNA عن طريق جسيم التَّضاعُف. توضيح صناعة DNA بالطريقة شبه المتقطعة على مراحل بالاستعانة بالنموذج من الشكل 14-19.

14-5 التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى

يعدّ التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى مُعَقّدًا بدرجة أكبر من بدائيّات النّوى بسبب عاملين رئيسين، هما: كمية DNA الموجودة في حقيقيّات النّوى أكبر من تلك الموجودة في بدائيّات النّوى، وهي مرتبة بشكل كروموسومات، وإنّ الكروموسومات لها شكل خطيّ، وليس حلقيًّا كبدائيّات النّوى. ولهذا السَبب هناك عملية إضافية خاصة بحقيقيّات النّوى عند التعامل مع أطراف الكروموسومات.

الشكل 14-21

DNA لكروموسوم واحد من الإنسان. تمّ تحرير هذا الكروموسوم من أغلبية البروتينات التي تسبب تراصّه، وأصبح على هيئته الأصليّة. وتظهر بروتينات القالب المتبقية باللون الداكن في الجزء السفلي من الصورة.

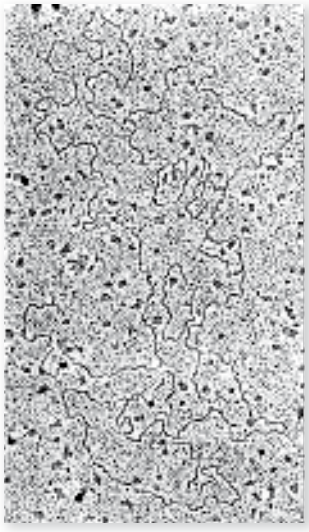
يتطلب التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى مناشئ عدة

تشكل كمية DNA وطريقة تراصها مشكلة لحقيقيّات النّوى (الشكل 14-21). فحقيقيات النّوى لديها أكثر من كروموسوم، وكلّ واحد فيها أكبر حجمًا من كروموسوم *E.coli*. قد تكون الآلية الأنزيمية من حيث المبدأ متشابهة، ولكن، إذا كان هناك منشأ تضاعف واحد عند حقيقيّات النّوى فسوف يُوجد ذلك عائقًا أمام الزمن اللازم لإنهاء عملية التَّضاعُف في كامل DNA. ولقد حُلَّت هذه المشكلة باستخدام مناشئ متعددة للتضاعف لكلِّ كروموسوم، ما يعني وحدات استنساخ عدة، ويعني أن أجزاء من DNA تضاعفت من مناشئ منفردة (الشكل 14-22).

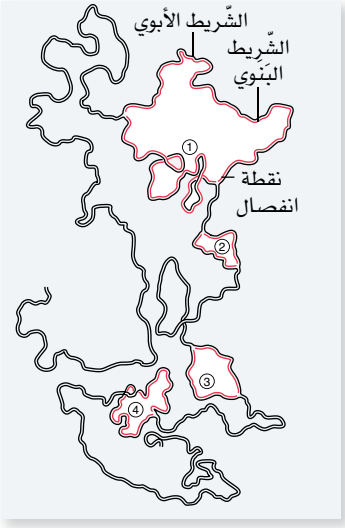
المناشئ الموجودة في حقيقيّات النّوى ليست نوعية للسلسلة مثل *oriC* من حيث تسلسل القواعد الخاص بتلك النقطة، وإنّ التعرف إليها يعتمد على تركيب الكروماتين، وعلى السلسلة أيضًا. عدد المناشئ التي «تنطلق» يمكن أن يتغير في أثناء مسار التكوين الجنيني، ففي المراحل المبكرة، يزداد عدد المناشئ النّشطة، حيث الحاجة إلى انقسام خلوي سريع.

النظام الأنزيمي للتضاعف في حقيقيّات النّوى أكثر تعقيدًا

تتشابه آلية التَّضاعُف عند حقيقيّات النّوى مع تلك الموجودة في *E.coli* ولكنها أكبر وأعقد لدى حقيقيّات النّوى. إذ تتطلب مرحلة الاستهلال في حقيقيّات النّوى عددًا أكبر من العوامل المساعدة لضم محلل الحلزون وصانع البادئ إلى موقع التَّضاعُف، ومن ثم تحميل المبلمِر مع وحدة اللاقط المنزلق.



أ.



ب.

الشكل 14-22

يمتلك الكروموسوم في حقيقيّات النواة كثيرًا من وحدات التَّضاعُف. أ. تظهر صورة المجهر الإلكتروني أربع وحدات تضاعف لـ DNA حقيقي النواة. لكلٍّ منها شوكتا تضاعف. ب. يوضح الرسم أربع وحدات تضاعف، وتظهر الأشرطة الجديدة باللون الأحمر و الأشرطة الأبوية باللون الأسود.

إن صانع البادئ في حقيقيّات النّوى مثير للاهتمام، فهو يتكون من مبلمِر RNA ومبلمِر DNA. يقوم الأول بوضع بوادئ RNA قصيرة، ثم يقوم الثاني بإطالتها بوضع DNA لإنتاج البادئ النهائي. والسبب غير معروف لهذا النوع من التعقيد الإضافي.

مبلمِر التَّضاعُف الرئيس نفسه هو معقد مكون من أنزيمين مختلفين يعملان معًا. واحد يسمى مبلمِر DNA إيبسيلون *polymerase epsilon DNA (pol ε)* والآخر يسمى مبلمِر DNA ديلتا *polymerase delta DNA (pol δ)* ويسمى الجزء الذي يقابل اللاقط المنزلق الموجود في بدائيّات النّوى، الأنتيجين النووي للخلايا المتكاثرة PCNA. وسمّي بهذا الاسم لأنه تم اكتشافه كأنتيجين محفز على إنتاج الأجسام المضادة في الخلايا المتكاثرة (المنقسمة). وعلى الرّغم من وجود التعقيد الإضافي، فإن عمل جسيم التَّضاعُف يشبه الذي وصف آنفًا في *E.coli*، ولدى شوكة التَّضاعُف المكونات نفسها بشكل أساسي.

تتطلب الكروموسومات الخطية عملية إيقاف مختلفة

تسمى التركيبات المتخصصة الموجودة في أطراف الكروموسومات **القطع الطرفية** (تيلوميرات) **Telomeres**. تقوم هذه التراكيب بحماية أطراف الكروموسومات من الأنزيمات المحطمة للمادة النووية، وتحافظ على الشَّكل الخطّي للكروموسومات. تتكون هذه القطع الطّرفيّة من تسلسل قواعد نوعيّ، ولكنها لا تصنع عن طريق معقد التَّضاعُف المعروف.

تضاعف الأطراف

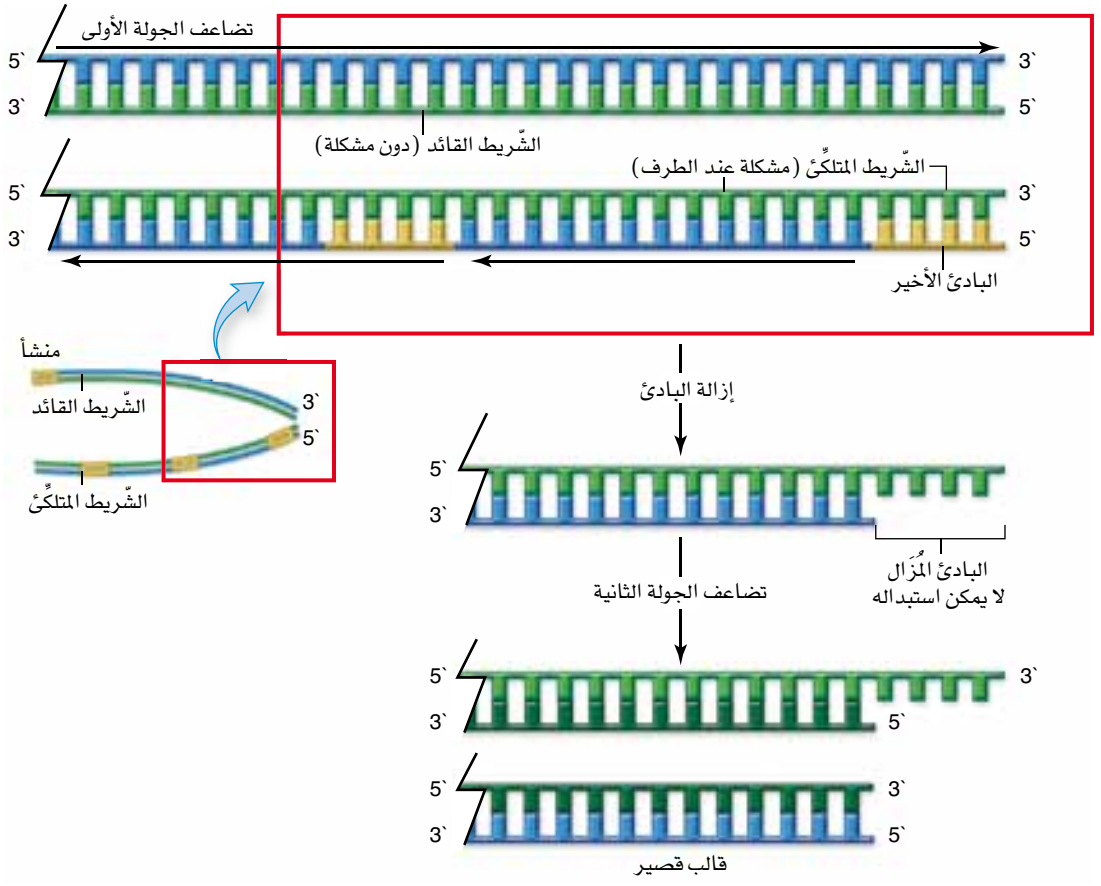
يتسبب الشَّكل الخطي للكروموسومات في إيجاد مشكلة خلوية في تضاعف الأطراف. سبب هذه المشكلة وجود التوجُّهية عند المبلمِرات، إضافة إلى حاجتها إلى البادئ.

لنفكر في جزيء خطّي بسيط مثل الموجود في(الشَّكل 14-23). إنّ تضاعف أحد الأطراف لكلّ شريط أمر بسيط، تحديدًا طرف 5` من قالب الشّريط القائد. فعندما يصل مبلمِر DNA إلى النهاية، بعد أنْ يبدأ التصنيع في الاتجاه من 5` إلى 3`، سوف لا يتبقى أيّ من القالب، وتنتهي العملية.

ولكن عند تضاعف الشّريط المتلكئ، فإنّ البادئ الأخير الذي تم وضعه لإضافة آخر قطعة أوكازاكي سوف يُزال ما يخلف فجوة. هذا يعني أن معقد المبلمِر لن ينهي عمله في هذا الطرف، ما يؤدي إلى صنع فجوة تتسبب في تقصير أطوال الكروموسومات تدريجيًّا مع كلّ جولة من الانقسام الخلوي (انظر الشكل 14-23).

عمل أنزيم القطع الطرفية

عندما تم اكتشاف سلاسل القطع الطرفية، وُجد أنها تتكون من سلاسل قواعد متكررة من DNA. يمكن معرفة هذه الطبيعة المتكررة من خلال طريقة صنعها. تصنع عن طريق أنزيم يسمى أنزيم **القطع الطرفية Telomerase**، الذي يستخدم قطعة من RNA موجودة في داخله بوصفها قالبًا لصناعة DNA (الشكل 14-24).



الشكل 14-23

تضاعف الأطراف لـ DNA الخطي. لتبسيط الرسم، يظهر طرف واحد فقط، ولكن المشكلة تكون عند الطرفين. بالإمكان تضاعف الشّريط القائد بشكل كامل، لكن الشّريط المتلكّئ لا يمكن إكماله. إذ لا يُستبدل البادئ الأخير بعد إزالته. وعند الجولة الثانية من تضاعف الشّريط الذي قَصُر، فإنه يزداد قِصَرًا، ويُنتِج كروموسومًا أقصر من الأصلي.

إن استخدام RNA الداخلي يسمح بتكوين قطع صغيرة ذات سلاسل قواعد متكررة من DNA مكملة لذلك الـ RNA في الأنزيم. يصنع بعد ذلك الشّريط الآخر من هذه الوحدات المتكررة عن طريق نشاط التَّضاعُف التقليدي التي تنسخ الشّريط عن طريق أنزيم القطع الطرفية.

أنزيم القطع الطّرفية والشَّيخوخة والسَّرطان

عند انعدام نشاط أنزيم القطع الطرفية تبدأ أطراف الكروموسومات بفقدان أجزاء منها، وذلك يؤدي إلى قِصَرِ الكروموسومات. وتكون فعالية أنزيم القطع الطرفية في أعلى مستوى لها في مدة التكوين الجنيني، ومرحلة الطفولة عند الإنسان، وتكون فعالية أنزيم القطع الطرفية ضعيفة في الخلايا الجسمية عند الإنسان البالغ باستثناء الخلايا التي تنقسم بشكل مستمر مثل الخلايا اللمفية. يستمر نشاط أنزيم القطع الطرفية في الخلايا الجسمية منخفضًا، بمنع التعبير عن الجين المشفِّر لهذا الأنزيم.

تم التوصل إلى الدليل المتعلق بِقِصَرِ الكروموسومات عند غياب أنزيم القطع الطرفية، من خلال إنتاج فئران ليس لديها نشاط أنزيم القطع الطرفية. ظهرت هذه الفئران طبيعية على مدى ستة أجيال، ولكنّها أظهرت تناقصًا ثابتًا لأطوال القطع الطرفية، وذلك أدى في النهاية إلى ذرية غير قادرة على الحياة.

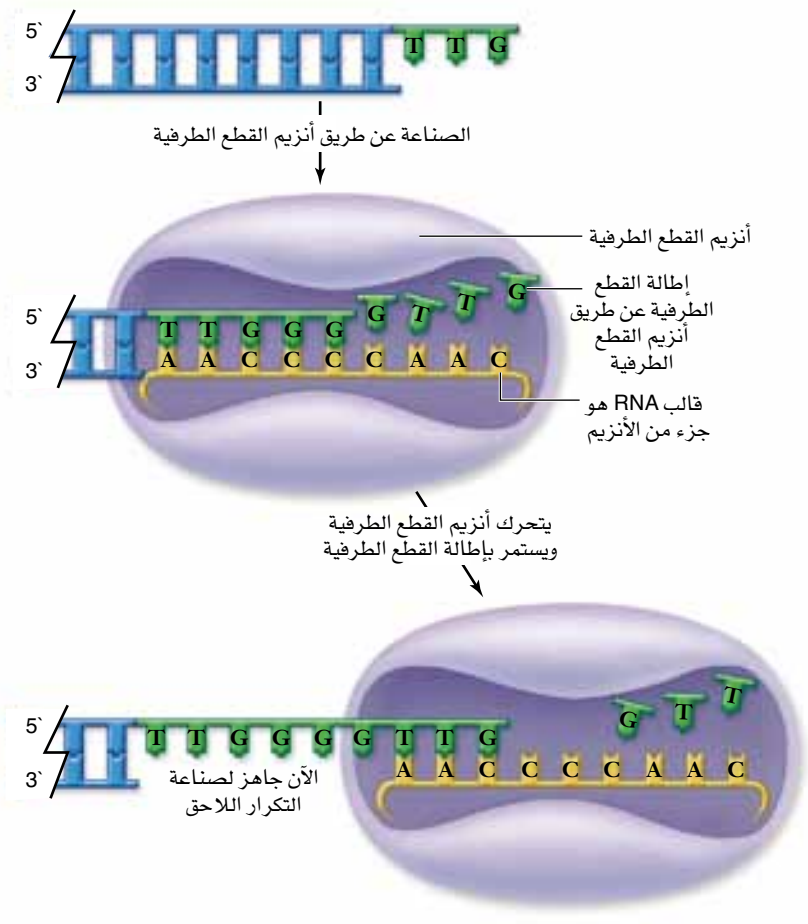
تشير هذه الأدلة إلى وجود علاقة بين شيخوخة الخلايا، وطول القطع الطّرفية. فعدد الانقسامات التي تقوم بها الْخليَّة الطّبيعية محدود، وهذه المحدودية مقترنة جزئيًّا بطول القطع الطّرفية.

يأتي إثبات العلاقة بين الشَّيخوخة وطول القطع الطّرفية من خلال التجارب التي تم فيها إدخال أنزيم القطع الطّرفية على خلايا مُوَلِّدة الألياف الموجودة في مُستَنبَت. ازداد طول الحياة لهذه الخلايا مقارنة بالخلايا الضابطة التي لم يُضف إليها أنزيم القطع الطرفية. من المثير أن هذه الخلايا لم تظهر بوادر التحول إلى خلايا سرطانية ما يشير إلى أن نشاط أنزيم القطع الطّرفية وحده لا يحول الخلايا إلى سرطانية خبيثة.

إلا أنه تبين أن هناك علاقة بين أنزيم القطع الطرفية والسَّرطان. فالخلايا السرطانية تستمر في الانقسام بلا حدود، وهذا غير محتمل إذا كانت الكروموسومات تقصر بشكل مستمر. تُظهر الخلايا السرطانية بشكل عام نشاطًا لأنزيم القطع الطرفية، الذي يسمح بالمحافظة على طول القطع الطرفية؛ إلا أنه من الواضح أن هذا وجه واحد للظروف التي تساعدها على الهروب من منظمات النمو الطَّبيعيّ.

استقصاء

كيف يؤثر تركيب المادة الْوراثيَّة في حقيقيّات النّوى على التَّضاعُف؟ وهل هذا يشكل عائقًا غير موجود عند بدائيّات النّوى؟



الشكل 14-24

عمل أنزيم القطع الطرفية. يحتوي أنزيم القطع الطرفية على قالب RNA داخلي يستخدمه لإطالة DNA عند أطراف الكروموسومات. يقوم أنزيم القطع الطرفية بكثير من الجولات لصنع سلاسل متكررة من القواعد، ثم يتمّ تصنيع الشّريط الثاني من هذه السلاسل بالطريقة المعروفة (غير ظاهرة).

تستخدم حقيقيّات النّوى المنظومة الأنزيمية الأساسيَّة للتضاعف نفسها التي لدى بدائيّات النّوى. تستطيع حقيقيّات النّوى أن تقوم بتضاعف كمية كبيرة من DNA في وقت قصير لاحتوائها على أكثر من منشأ واحد للتضاعف. تنتهي الكروموسومات الخطية بالقطع الطرفية التي لا تُبنى بآلية التَّضاعُف. تُصنّع أطراف الكروموسومات أنزيمًا آخر، هو أنزيم القطع الطرفية. تظهر الخلايا السرطانية نشاطًا لأنزيم القطع الطرفية.

6-14 إصلاح DNA

كما تعلمنا، فإنّ كثيرًا من مبلمِرات DNA لها القدرة على التحطيم الخارجي لـ DNA في الاتجاه 3` إلى 5` ما يسمح «بتدقيق القراءة» للقواعد المضافة. ويزيد هذا من دقة التَّضاعُف. إلا أنّ بعض الأخطاء قد تحدث في أثناء التَّضاعُف.

ولولا وجود آليات لتصحيح الأخطاء، لتراكمت بأعداد كبيرة، وذلك قد يؤدي إلى خلق طفرات مميتة. يجب أنْ يكون هناك توازن بين الطفرات التي ينتج منها تنوع جديد والطفرات التي تضر بالفرد.

تتعرض الخلايا باستمرار لعوامل تتلف DNA

إضافة إلى الأخطاء التي تحدث لـ DNA في أثناء التَّضاعُف، هناك عوامل خارجية تؤثر فيه، مثل الأشعَّة فوق البنفسجية والأشعَّة السِّينيَّة، والمواد الكيمائية الموجودة في البيئة المحيطة. يمكن أن يسبب العامل المتلف لـ DNA طفرة، ويسمى أيّ عامل يزيد عدد الطفرات على الحد المسموح به **المطفِّر** أو **مسبب الطفرة Mutagen**.

تتعرض المخلوقات إلى عدد كبير من العوامل المطفّرة. يحتوي ضوء الشمس ذاته على إشعاعات في مدى الأشعَّة فوق البنفسجية، لذا فهي مطفرة. وعلى الرغم من قدرة طبقة الأوزون على حجب جزء كبير من هذه الأشعَّة، فإن بعضها يتسرب. وتتضح العلاقة بين ضَوء الشمس والطفرات بارتفاع أعداد حالات سرطان الجلد الناتج عن أضرار الأشعَّة في الأجزاء الجنوبية من الكرة الأرضية نتيجة وقوعها تحت ثقب الأوزون.

تتعرض المخلوقات أيضًا إلى المواد المُطَفِّرة في الغذاء من خلال الغذاء الملوث أو النباتات المحتوية على مواد مطفّرة يمكن أن تسبب تلف DNA. عندما تم تصميم فحص بسيط للكشف عن المطفّرات، أشارت عملية غربلة المصادر المحتملة إلى التعدد المذهل للمطفّرات الموجودة في البيئة وفي المصادر الطبيعية. ولهذا السبب، يتم الآن غربلة المنتجات المستهلكة للتقليل من كمية المطفرات التي نتعرض لها، غير أننا لا نستطيع أن نفلت من المصادر الطبيعية.

تقوم عملية إصلاح DNA بتجديد DNA التالف

لا تستطيع الخلايا أن تتفادى التعرض للعوامل المطفرة، غير أن الأنظمة قد تطورت لتُمَكِّن الْخليَّة من إصلاح بعض التلف. إن أنظمةَ إصلاح DNA حيويةٌ من أجل استمرار البقاء، سواء أكانت خلية حرة المعيشة، أم مخلوقًا وحيد الْخليَّة،أم جزءًا من مخلوق متعدد الخلايا.

يمكن الإشارة إلى أهمية إصلاح DNA نظرًا لوجود كثير من الأنظمة التي تم اكتشافها ووصفها. تحتوي الخلايا التي فُحصت جميعها على أنظمة عدة لإصلاح DNA التالف أو عكس الأخطاء التي تحدث في أثناء التَّضاعُف. وعلى الرّغم من أن هذه الأنظمة لا تخلو من العيوب، فإنها تقلل من معدل حدوث الطفرات بشكل كبير ومقبول. في بقية هذا الجزء، سوف نوضح عمل إصلاح DNA بالتركيز على مِثالَين مأخوذَين من طُرُق إصلاح عدة.

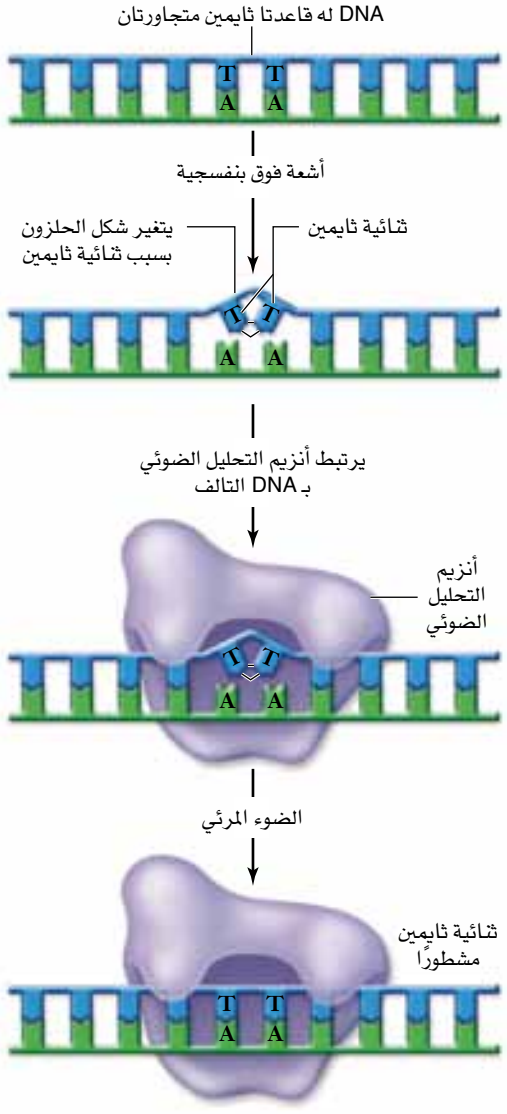
يكون الإصلاح نوعيًا أو غير نوعي

تقسم عملية إصلاح DNA إلى صنفين: النوعي وغير النوعي. أما النوعي، فيستهدف نوعًا معينًا من الأضرار، ويقوم بإصلاحه، في حين يستخدم غير النوعي الآلية نفسها لإصلاح أنواع متعددة من الأضرار في DNA.

الإصلاح الضوئي: آلية إصلاح نوعية

يقوم الإصلاح الضوئي بإصلاح نوع محدد من الأَضرار التي تنجم عن الأشعَّة فوق البنفسجية، وتحديدًا **ثنائية ثايمين Thymine dimer**. تحدث ثنائية ثايمين بسبب التفاعل الكيميائي الضَّوئي الذي يحدث بين قاعدتي ثايمين متجاورتين، فترتبطان برابطة تساهمية (الشكل 14-25)

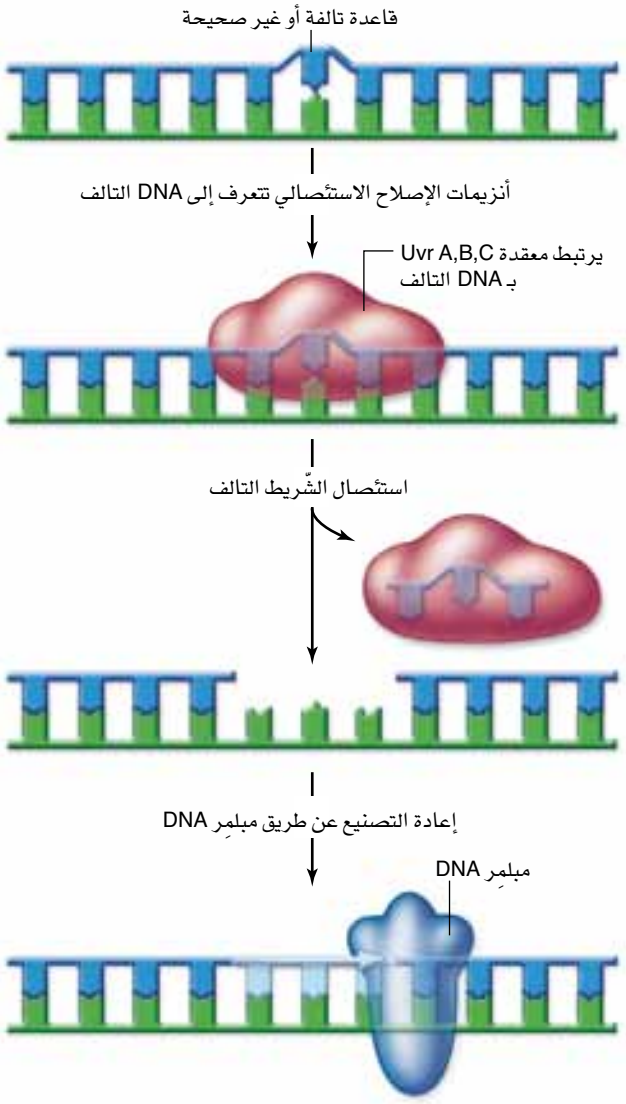
إن إصلاح ثنائية الثايمين يمكن أن يتم بطرق عدة، بما في ذلك الإصلاح الضّوئي. في الإصلاح الضّوئي، يقوم أنزيم التحليل الضّوئي (فوتولاييز) *photolyase* بامتصاص الطّاقة الضّوئية في المدى المرئيّ، ويستخدم تلك الطاقة لتكسير الرابطة بين قاعدتي ثايمين. تسبب هذه العملية إعادة قاعدتي ثايمين إلى وضعهما الأصلي (الشكل 14-25). من المثير للاهتمام أنّ يسبب ضَوء الشّمس في المدى فوق البنفسجي هذا التلف، وأن يستخدم ضوء الشمس بالمدى المرئي لإصلاحه. ولا تحدث آلية الإصلاح الضوئي عند الخلايا التي تعيش بعيدة عن الضّوء.



الشكل 14-25

إصلاح ثنائية ثايمين عن طريق الإصلاح الضَّوئيّ. تستطيع الأشعَّة فوق البنفسجية أنْ تحفز تفاعلًا كيميائيًّا ضَوئيًّا للقيام بتشكيل رابطة تساهمية بين قاعدتي ثايمين متجاورتين، وتكوين ثنائية ثايمين. يتعرف أنزيم التحليل الضوئي إلى هذا التلف، ويرتبط مع ثنائية ثايمين. يمتص الأنزيم الضَّوء المرئيّ، ويستخدم الطاقة لشطر ثنائية ثايمين.

وقد وُجد أنزيم التحليل الضوئي في عدد كبير من أنواع المخلوقات، ابتداء من البكتيريا، إلي حقيقيّات النّوى وحيدات الْخليَّة، وانتهاء بالإنسان. ويوضح الانتشار الكبير لهذا الأنزيم في الطبيعة أهمية هذا النوع من الإصلاح. لقد كانت الخلايا، على امتداد وجودها على الأرض، معرضة للأشعة فوق البنفسجية التي لها القدرة على إتلاف DNA.



الشكل 14-26

إصلاح DNA التالف بالإصلاح الاستئصالي. يتعرف معقد uvr إلى DNA التالف، ثم يرتبط بالجزء المعطوب، ويزيله. يستبدل التصنيع عن طريق مبلمِر DNA المنطقة التالفة. ينهي الأنزيم اللاحم العملية (غير ظاهر في الشّكل).

الإصلاح الاستئصالي: آلية إصلاح غير نوعية

يعدّ **الإصلاح الاستئصالي Excision repair** إحدى الآليات غير النوعية في الإصلاح، وهو يعتمد على إزالة DNA التالف واستبدال آخر سليمًا به (الشكل 14-26). تقوم بهذه العملية في بكتيريا *E.coli* مجموعة بروتينات مشفرة من قبل جينات *uvr A* و *B* و*C*. وعلى الرّغم من أن التعرف إلى تلك الجينات كان بناءً على طفرات زادت من حساسية الخلايا للأشعة فوق البنفسجية (لذا أعطيت الرمز uvr في اسمها)، فإن بمقدور بروتيناتها أنْ تعمل على التّلف الذي تتسبب به مطفِّرات أخرى.

تتَّبع عملية الإصلاح الاستئصالي ثلاث خطوات، هي:

1. التعرف إلى التلف.
2. إزالة الجزء التالف.
3. إعادة التصنيع باستخدام المعلومات في الجزء غير التالف من DNA كقالب (انظر الشّكل 14-26). يتم التعرف والاستئصال عن طريق معقد UvrABC حيث يرتبط بـ DNA التالف، ثم يقوم بقطع الشّريط المفرد على جانبي الجزء التالف، ومن ثم يزيله. ويقوم بعد ذلك أنزيم مبلمِر DNA الأول أو مبلمِر DNA الثاني باستبدال الشّريط التالف. وهذا يعيد المعلومات الأصلية للشريط التالف باستخدام المعلومات الموجودة على الشّريط المكمل.

طرق إصلاح أخرى

هناك نماذج أخرى لعملية الإصلاح غير النوعية، وهي تقسم إلى صنفين: الأول يسمى الخالي من الأخطاء، والآخر يسمى المُعَرَّض للأخطاء. قد يبدو غريبًا أن يكون هناك طرق إصلاح معرضة للأخطاء، ولكنها تستخدم ملاذًا أخيرًا من قبل الْخليَّة، عندما تكون كمية الأشعَّة التي تتعرض إليها كبيرة جدًا. يسمى، في الحقيقة، هذا النظام في *E.coli* «إستجابة نداء الاستغاثة» SOS response.

تستطيع الخلايا أنْ تقوم بإصلاح الكسور التي تحدث لـ DNA ، وهي تستخدم في هذا أنزيمات ذات علاقة بتلك المستخدمة في عملية إعادة الاتحاد التي تحدث خلال عملية الانقسام الاختزالي. ويعتقد أن الْخليَّة تستخدم في عملية إعادة الاتحاد الأنزيمات نفسها التي أُوجدت وتطورت من أجل عملية إصلاح DNA.

تبين التعددية في الأنظمة والطيف الكبير للتلف الذي يمكن إصلاحه أهمية المحافظة على صحة DNA وسلامته. فالتَّضاعُف الدقيق غير مُجْدٍ إذا لم تكن هناك آليات لتعكس الأخطاء، وتصححها عند حدوثها، أو لإصلاح التلف الناتج عن مسببات بيئية.

استقصاء

تتعرض الخلايا لعوامل متلفة لـ DNA ابتداء من الأشعَّة الفوق بنفسجية إلى النواتج الثانوية المصاحبة لعملية الأيض التأكسدي. كيف تستطيع الْخليَّة أن تتعامل مَعَ هذه العوامل؟ وماذا يحدث لو أن الْخليَّة لم يتوافر لديها ما يساعدها على التعامل مَعَ هذه العوامل؟

لدى الخلايا طرق إصلاح متعددة تقوم عن طريقها بإبطال الأضرار التي تحدث لـ DNA، مثل الإصلاح الضّوئيّ الذي يتخلّص من ثنائية الثايمين التي تحدث بسبب الأشعَّة فوق البنفسجيّة، وهذا الإصلاح هو أحد أنواع الإصلاح النّوعيّ. وإن هناك آليات أخرى للإصلاح مثل الإصلاح غير النّوعي، كالإصلاح الاستئصاليّ الذي يزيل الْجزء التالف من DNA ويستبدله.

مراجعة المفاهيم

14-1 طبيعة المادة الْوراثيَّة

إن معرفتنا بالأساس الجزيئي للمادة الْوراثِيَّة جاء بعد تاريخ طويل من التجارب.

- أظهرت تجربة جريفيث أن المادة الْوراثِيَّة تنتقل بين الخلايا في أثناء عملية تُسمّى التّحولَ.
- أظهر آفري وماكلويد وماكارتي أنّ DNA هو المادة التي انتقلت بين خلايا البكتيريا.
- أظهرت نتائج بحث هيرشي وتشيس أنّ DNA هو المادة الْوراثِيَّة للفيروس.

14-2 تركيب DNA

اكتشف ميشير الأحماض النووية التي تتكون من ثلاثة أجزاء: سكّر خماسيّ الكربون، ومجموعة الفوسفات، والقاعدة النيتروجينية.

- السُّكَّر الموجود في DNA هو الرايبوز منقوص الأكسجين.
- القواعد النيتروجينية الموجودة في DNA هي البيورينات ذوات الحلقتين مثل الأدينين (A)، والجوانين (G)، والبيريميدينات ذوات الحلقة الواحدة مثل السايتوسين (C)، والثايمين (T).
- تتكون الروابط الفوسفاتية ثنائية الإستر بربط مجموعة الفوسفات المرتبطة بذرة الكربون `5 لأحد النيكلوتيدات مع مجموعة الهيدروكسيل المرتبطة بذرة الكربون `3 لنيكلوتيد آخر (الشكل 14-5)
- وجد تشارجاف أنّ نسبة أدينين تساوي نسبة ثايمين، وأنّ نسبة سايتوسين تساوي نسبة جوانين.
- توجد القواعد بشكلين صنويين. يسود شكلا كيتو وإينول اللذان يؤثران في الربط الهيدروجيني.
- أشارت الدراسات التي قام بها فرانكلين وويلكنز باستخدام الأشعّة السِّينيَّة إلى أنّ جزيء DNA له تركيب حلزونيّ.
- أعطى واطسون وكريك نموذجًا معقولًا لـ DNA باستخدام النتائج المتوافرة والنماذج البنائية.
- يتضمن نموذج واطسون وكريك الخصائص الآتية (انظر الشكلين 14-9 و14-10)
  - يتكون DNA من شريطين متعددي النيكلوتيدات يشكلان حلزونًا مزدوجًا.
  - يرتبط الشريطان مع بعضهما عن طريق روابط هيدروجينية بين أزواج قواعد نوعية، أدنين مع ثايمين وجوانين مع سايتوسين.
  - نقول: إنّ الشريطين مكمِّلان لبعضهما؛ لأنّ كلّ واحد منهما يحدد الآخر من حيث أزواج القواعد.
  - الأشرطة الفوسفاتية ثنائية الإستر المكملة لبعضها؛ متعاكسة التوازي.

14-3 الصِّفات الأساسيَّة لتضاعف DNA

أظهر ميسلسون وستال أن تضاعف DNA يكون شبه محافظ، وينتج عنه جزيئان متطابقان من DNA يتكون كلّ واحد منهما من شريطين؛ أصلي وجديد (الشكل 14-11).

- ينقسم تضاعف DNA إلى ثلاث مراحل:
  - الاستهلال؛ يبدأ عند موقع نوعي يسمى المنشأ.
  - الاستطالة؛ يقوم فيها مبلمِر DNA بصنع شريط جديد مكمل للقالب.تحتاج هذه العملية إلى البادئ المرتبط مع القالب، وتتم العملية في الاتجاه من `5 إلى `3.
  - الإيقاف؛ ينهي عملية التَّضاعُف عند موقع محدد يسمى النهاية.

14-4 التَّضاعُف في بدائيّات النّوى

يستخدم التَّضاعُف في بدائيّات النّوى قالب DNA حلقيًّا.

- يبدأ التَّضاعُف في بدائيّات النّوى عند نقطة فريدة، وهي المنشأ ثم يسير في اتجاهين متضادين، ويكوّن شوكتي تضاعف.
- يُشَكِّل كروموسوم بدائيّات النّوى ذو المنشأ الواحد وحدة وظيفية تسمى وحدة الاستنساخ.
- هناك ثلاثة أنواع مبلمِرات DNA في بدائيّات النّوى،هي: مبلمِر DNA الأول، ومبلمِر DNA الثاني، ومبلمِر DNA الثالث، وكلّها تصنع DNA في اتجاه `5 إلى `3.
- لدى مبلمِرات DNA القدرة على تحطيم أطراف DNA من جهة واحدة من خلال عملية تسمّى نشاط التحطيم الخارجيّ.
- تستخدم عملية فكّ التفاف DNA أنزيم محلل الحلزون DNA إضافة إلى طاقة.
- يؤدي فكّ التفاف DNA إلى حدوث جهد التوائي يمكن إزالته عن طريق أنزيم التفاف DNA.
- إن طبيعة انعكاس التوازي في DNA، وكون مبلمِر DNA يصنع DNA في اتجاه `5 إلى `3 يعني أن يكون التَّضاعُف بشكل غير متصل (متقطع) على أحد شريطي DNA (الشَّكل 14-16).
  - يسمّى أحد الشريطين الشّريط القائد، ويتضاعف بشكل متصل.
  - يسمّى الشّريط الآخر الشّريط المتلكئ، ويتضاعف بشكل متقطع.
- يحدث التصنيع عند شوكة التَّضاعُف، حيثما ينفك الشريطان.
- يتطلب مبلمِر DNA بوادئ تُصنع عن طريق صانع البادئ لـ DNA.
- يبقى مبلمِر DNA الثالث مرتبطًا مع DNA القالب بفضل وجود اللاقط المنزلق.
- تصنيع الشّريط المتلكئ يحدث بطريقة معقدة.
  - مبلمِر DNA الثالث هو المبلمِر الرئيس.
  - يُصَنِّع صانع البادئ البوادئ القصيرة بشكل دوري متكرر.
  - يتم إطالة كلّ بادئ عن طريق مبلمِر DNA الثالث حتى يصطدم بالقطعة السابقة.
  - تتم إزالة بوادئ DNA عن طريق مبلمِر DNA الأول ويستبدل بـ DNA بها.
  - يتم ربط قطع DNA عن طريق الأنزيم اللاحم.
- تتم الأنشطة المتعلقة بالتَّضاعُف جميعها ضمن معقد يسمى جسيم التَّضاعُف الذي يحتوي على نسختين من المبلمِر الثالث، وصانع البادئ، ومحلل الحلزون، وعدد من البروتينات المساعدة.
- يتحرك جسيم التَّضاعُف في اتجاه واحد، وينشئ ثنيةً في الشّريط المتلكئ، ما يسمح للشريطين المتعاكسين نسخهما في الاتجاه بنفسه (الشكل 14-19).

14-5 التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى

التَّضاعُف في حقيقيّات النّوى معقد بسبب كبر حجم المادة الْوراثِيَّة المرتبة بشكل كروموسومات خطية ومتعددة.

- لدى كروموسومات حقيقيّات النّوى مناشئ عدة للتضاعف.
- منظومة الأنزيمات في حقيقيّات النّوى معقدة بشكل أكبر، وتحتوي على عدد أكبر من الأنزيمات.
- يتكون مبلمِر التَّضاعُف الرئيس من أنزيمين.
- تسمى أطراف الكروموسومات الخطية القطع الطرفية، وهي تقوم بحماية أطراف الكروموسومات.
- أوجدت الكروموسومات الخطية مشكلة إنهاء التَّضاعُف.
- القطع الطرفية عبارة عن تراكيب متخصصة يقوم بصناعتها أنزيم القطع الطرفية، ولا تتضاعف بالآلية التي تتضاعف بها الكروموسومات نفسها.
- يحتوي أنزيم القطع الطرفية على RNA داخلي يعمل بوصفه قالبًا لإطالة DNA في أطراف الكروموسوم.
- تفتقر الخلايا البالغة إلى عمل أنزيم القطع الطرفية، وقِصَرُ القطع الطرفية مُقترِنٌ بالشَّيخوخة.

14-6 إصلاح DNA

التعرف إلى أخطاء DNA وتصحيحها ضروري من أجل التقليل من نسبة الطفرات.

- يتم تقليل عدد الأخطاء الناتجة عن التَّضاعُف عن طريق مبلمِرات DNA التي لها القدرة على تدقيق القراءة.
- تُتلِف المُطَفِّرات البيئية DNA ، وتزيد من معدل حدوث الطفرات أعلى من الحد المسموح به طبيعيًّا.
- لدى الخلايا طرق نوعية وأخرى غير نوعية لإصلاح التّلف في DNA.
- يقوم أنزيم التحليل الضّوئي في أثناء عملية الإصلاح الضّوئي بامتصاص الضّوء المرئيّ، واستغلال الطاقة الضّوئية لفصل رابطة ثنائي الثايمين الناتج عن الأشعَّة فوق البنفسجية.
- الإصلاح الاستئصالي هو أحد الطرق غير النوعية وفي بدائيّات النّوى تزال مناطق DNA التالفة عن طريق منظومة أنزيمات *uvr*.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. الاكتشاف الرئيس في تجربة جريفيث عندما استخدم البكتيريا الحية والأخرى المقتولة بالتسخين هو:
   أ . البكتيريا ذات الملمس الناعم تقتل الفئران.
   ب. البكتيريا ذات الملمس الخشن غير قاتلة.
   جـ. البكتيريا ناعمة الملمس والمقتولة بالتسخين لا تسبب موت الفئران.
   د . البكتيريا ناعمة الملمس والمقتولة بالتسخين تستطيع أن تُحَوِّل البكتيريا الحية غير القاتلة.
2. عندما قام هيرشي وتشيس بتعليم DNA والبروتينات التابعة للفيروس بطريقة تفاضلية، وأفسحا المجال لفيروس آكل البكتيريا أن يصيب البكتيريا، ماذا نقل الفيروس للبكتيريا؟
   أ . الفوسفور والكبريت المشعّين. ب. الكبريت المشع.
   جـ. DNA. د . (ب) و (جـ).
3. واحدٌ مما يأتي ليس من مكونات DNA:
   أ . بيريميدين اليوراسيل. ب. السُّكَّر الخماسي.
   جـ. بيورين الأدنين. د . مجموعة الفوسفات.
4. الرابطة الكيميائية التي تسمح بتكوين مبلِمرات DNA و RNA هي:
   أ . الهيدروجينية. ب. الببتيدية.
   جـ. الأيونية. د . الفوسفاتية ثنائية الإستر.
5. قاعدة تشارجاف هي:
   أ . عدد مجموعات الفوسفات تساوي عدد السُّكَّريّات الخماسية.
   ب. نسبة A تساوي C ، ونسبة G تساوي T.
   جـ. نسبة A تساوي T ، ونسبة G تساوي C.
   د. ترتبط البيورينات بالبيريميدينات.
6. الروابط التي تُثبِّت شريطي DNA المُكملين لبعضهما هي الروابط:
   أ . الهيدروجينية. ب. الببتيدية.
   جـ. الأيونية. د . الفوسفاتية ثنائية الإستر.
7. إذا احتوى أحد شريطي DNA على سلسلة القواعد TACGTtA فإن السلسلة المكملة لها ستكون لديها سلسلة:
   أ . TACGTTA. ب. ATTGCAT.
   جـ. ATGCAAT. د . CGATCCG.
8. واحدٌ مما يأتي ليس جزءًا من نموذج واطسون وكريك لتركيب DNA:
   أ. يتكون DNA من شريطين.
   ب. يتجه الشريطان بشكل متوازٍ في اتجاه `5 إلى `3.
   جـ. ترتبط البيورينات مع البيريميدينات.
   د. يُكوِّن DNA الحلزون المزدوج.
9. أظهر ميسلسون وستال أنّ تضاعف DNA:
   أ . يحدث في البكتيريا. ب. تشتتي.
   جـ. محافظ. د . شبه محافظ.
10. واحدة من الخطوات الآتية في تضاعف DNA تتضمن تكوين روابط فوسفات ثنائية الإستر جديدة:
    أ . الاستهلال عند منشأ التَّضاعُف.
    ب. الاستطالة عن طريق مبلِمر DNA.
    جـ. فك التفاف الحلزون المزدوج.
    د . الإيقاف.
11. الفرق بين تصنيع الشّريط القائد والشّريط المتلكئ ناتج عن:
    أ . شكل DNA عكسي التوازي.
    ب. يصنع مبلِمر DNA الثالث DNA في اتجاه `5 إلى `3 فقط.
    جـ. نشاط أنزيم الالتفاف DNA.
    د . (أ) و (ب).
12. قطع أوكازاكي هي:
    أ . تصنع في اتجاه `3 إلى `5.
    ب. توجد في الشّريط المتلكئ.
    جـ. توجد في الشّريط القائد.
    د . مصنوعة من RNA.
13. يتطلب تصنيع DNA الناجح كلّ الآتي ما عدا:
    أ . محلل الحلزون.
    ب. المُحطِّم الداخلي.
    جـ. صانع البادئ لـDNA.
    د . الأنزيم اللاحم.
14. القطع الطرفية:
    أ . منطقة من DNA غنية بـ A-T.
    ب. نقطة انتهاء DNA في الكروموسوم البكتيري.
    جـ. مناطق فيها تسلسلات متكررة من DNA موجودة على أطراف كروموسومات حقيقيّات النّوى.
    د . سلسلة من RNA موجودة على جزيء DNA المتضاعف.
15. نوع الأنزيم المستخدم في الإصلاح الاستئصالي هو:
    أ . أنزيم التحليل الضوئي.
    ب. مبلِمر DNA الثالث.
    جـ. المحطم الداخلي.
    د . أنزيم القطع الطرفية.

أسئلة تحدٍّ

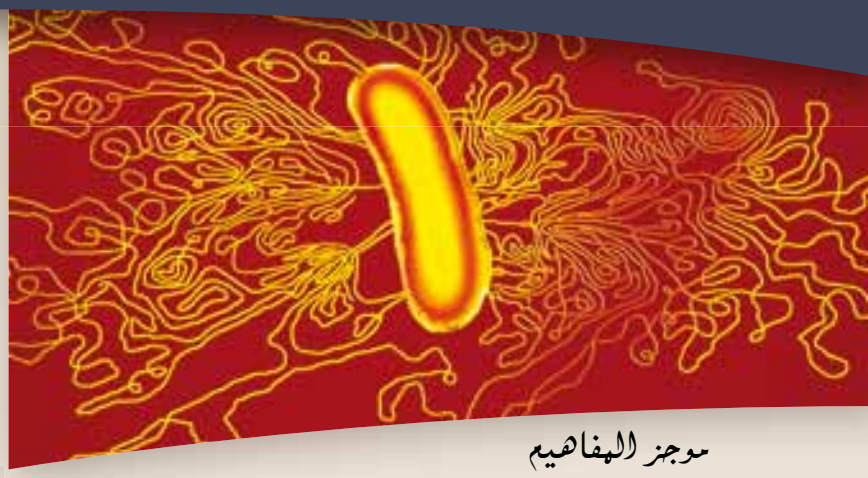
1. أعطى العمل الذي قام به جريفيث الإشارة الأولى إلى أن DNA هو المادة الْوراثِيَّة. راجع التجارب الأربع في الشكل 14-1، ثم تنبأ بنتيجة التجربة إذا قمنا بإجراء التعديلات الآتية عليها:
   أ . بكتيريا ممرضة مقتولة بالتسخين، وبكتيريا غير ممرضة مقتولة بالتسخين.
   ب. بكتيريا ممرضة مقتولة بالتسخين، وبكتيريا غير ممرضة حية، وبوجود أنزيم يحطم البروتينات.
   جـ. بكتيريا ممرضة مقتولة بالتسخين، وبكتيريا غير ممرضة حية، وبوجود أنزيم محطم DNA داخلي.
2. تصور أنك تعرفت إلى سلسلة DNA „5-TTATAAAGCAATAGT-3„ في كروموسوم لحقيقي النواة. هل يمكن لهذه المنطقة أن تعمل بوصفها منشأ للتضاعف؟ تنبأ بسلسلة RNA التي سوف تتشكل، وترتبط بهذه السلسلة بوصفها بادئًا.
3. فعالية الأنزيمات مهمة لضمان عملية تضاعف DNA صحيحة. تنبأ بنتائج ما يحدث عند فقدان فعالية أحد الأنزيمات الآتية.
   أ . أنزيم الالتفاف. ب. مبلِمر DNA الثالث.
   جـ. اللاحم. د . مبلِمر DNA الأول.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. لتتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 15

الجينات: كيفية عملها

Genes and How They Work



موجز المفاهيم

1-15 طبيعة الجينات

- استنتج غارود أنّ الاضطرابات المَوْروثة يمكن أن تشمل أنزيمات معينة.
- أظهر بيدل وتاتم أنّ الجينات تُحدِّد الأنزيمات.
- تصف العقيدة المحورية انسياب المعلومات في الْخليّة بَدْءًا من DNA إلى RNA إلى البروتين.

2-15 الشّيفرة الْوراثيَّة

- تُقرأ الشّيفرة في مجموعات ثلاثية.
- فكّ نيرينبيرج وآخرون الشّيفرة.
- الشّيفرة متأرجحة ولكنها محدَّدة.
- الشّيفرة فعليًّا عامة للمخلوقات جميعها، ولكن هناك بعض الاستثناءات.

3-15 نظرة شاملة إلى التّعبير الْجينيّ

- يصنع الاستنساخ نسخة RNA من DNA.
- تستخدم الترجمة المعلومات الموجودة في DNA لتصنيع البروتين.
- لدى RNA أدوار عدة في التّعبير الْجينيّ.

4-15 الاستنساخ في بدائيّات النّوى

- لدى بدائيّات النّوى مبلمر RNA واحد.
- يحدث الاستهلال عند الْمُحفِّزات (الْمُحَرِّضات أو المثيرات).
- تضيف الاستطالة نيوكليوتيدات متتالية.
- يحدث الإيقاف عند مواقع معينة.
- تقترن عملية الاستنساخ في بدائيات النوى مع الترجمة.

5-15 الاستنساخ في حقيقيّات النّوى

- لدى حقيقيّات النّوى ثلاثة مبلمرات RNA.
- لدى كلّ مبلمر محفِّزٌ أو محرضٌ خاصٌّ به.
- تختلف عمليتا الاستهلال والإيقاف عن تلك الموجودة في بدائيّات النّوى.
- تُحوَّر نُسخ RNA في حقيقيّات النوى.

6-15 وَصْلُ سابق *mRNA* في حقيقيّات النّوى.

- قد تحتوي جينات حقيقيّات النّوى على فواصل.
- جُسيمات الوَصْل هي عضيّات تقوم بالوصل.
- يمكن للوَصْل أن ينتج نُسخًا عدة من الجين نفسه.

7-15 تركيب *tRNA* والرايبوسومات

- تربط الأنزيمات صانعة مركب RNA الناقل مع الحمض الأميني (الأمينوأسيل- tRNA) الأحماض الأمينية مع RNA الناقل.
- لدى الرايبوسومات مواقع ربط عدة مع RNA الناقل.
- لدى الرايبوسومات وظيفة أنزيمية، ووظيفة فكّ التشفير.

8-15 عملية الترجمة

- يتطلب الاستهلال عوامل مساعدة إضافية.
- تضيف الاستطالة الأحماض الأمينية بشكل متتالٍ.
- يتطلب الإيقاف عوامل مساعدة.
- قد تُوَجَّه البروتينات نحو الشّبكة الأندوبلازمية.

9-15 ملخص التّعبير الْجينيّ

10-15 الطّفرات: الجينات المتغيرة

- تؤثر الطّفرات النُّقطية عند موقع واحد في DNA.
- تُغيِّر الطّفرات الكروموسومية تركيب الكروموسومات.
- الطّفرات نقطة البداية للتطور.
- تغيرت نظرتنا عن طبيعة الجينات مع تدفق معلومات جديدة.

مقدّمة

لقد شاهدتم كيف تقوم الجينات بتحديد الصّفات، وكيف يمكن تتبعها في التزاوجات الْوراثيَّة. ورأيتم كذلك أن المعلومات الْوراثيَّة تَكْمُن في جزيء DNA، وتُظهر الصورة إلى اليسار كمية DNA التي يحتويها كامل كروموسوم بكتيريا *E. coli*. تتضاعف المعلومات الموجودة في DNA عن طريق الْخليّة، ثُمَّ تُوزع بالتساوي في أثناء عملية الانقسام الخلوي. تشبه المعلومات الموجودة في DNA إلى حدٍّ كبير الطّبعة الزّرقاء لِمَبنى. إنشاء المبنى يستخدم المعلومات الموجودة في الطّبعة الزّرقاء، إلا أنه يحتاج إلى مواد بناء، ونجّارين، وكثير من العمال المهرة، والحرفيين الذين يستخدمون أنواعًا مختلفة من الأدوات، والعمل معًا لبنائه. وبالمثل، فإنّ المعلومات الموجودة في DNA تتطلب الوحدات البنائية للنيوكليوتيد، والأحماض الأمينية، وأنواعًا عدة من RNA، وكثيرًا من البروتينات التي تعمل بتناسق لتُشكل تركيب الْخليّة.

سوف ننعطف الآن إلى طبيعة الجينات نفسها، وكيف تقوم الخلايا باستخلاص المعلومات الموجودة في DNA في عملية تسمّى **التّعبير الْجينيّ Gene expression**. يمكن التفكير في التّعبير الْجينيّ بوصفه وسيلة لتحويل الطّراز الوراثي إلى طراز ظاهري.

1-15 طبيعة الْجينات

نعرف أن DNA يحمل الشّيفرة الْوراثيَّة للبروتينات، إلا أنّ هذه المعرفة بحدِّ ذاتها تطلعنا على القليل عن الكيفية التي تتحكم عن طريقها المعلومات الموجودة في DNA في الوظائف الخلوية. كان لدى الباحثين أدلة على أنّ الطّفرات الْوراثيَّة تؤثر في البروتينات، وذلك قبل معرفة تركيب DNA والشّيفرة الْوراثيَّة بوقت طويل. سنتناول في هذا الجزء الأدلة التي تربط بين الجينات والأنزيمات.

استنتج جارود أنه يمكن للاضطرابات الموروثة أنْ تشمل أنزيمات معينة

عام 1902، لاحظ الطّبيب البريطاني أرشيبالد جارود أنّ هناك أمراضًا معينة بين مَرضاه تنتشر بشكل أكبر في عائلات معينة. وعند فحص أجيال عدة من هذه العائلات، وجد أنّ هذه الأمراض تتصرف، وكأنها ناتجة عن أليلات بسيطة متنحية. استنتج جارود أنّ هذه الاضطرابات هي صفات مَنْدَليَّة، وأنها ناتجة عن تغير في المعلومات الْوراثيَّة في أحد أسلاف العائلات المتأثرة.

بحث جارود في كثير من هذه الاضطرابات بشكل دقيق. ففي مرض الكابتونيوريا، أنتج المرضى بَوْلًا احتوى على حمض هوموجينيستِك (الكابتون). تتأكسد هذه المادة بسرعة عند تعرضها للهواء، وتُحَوِّل البول إلى اللون الأسود. في الفرد الطّبيعي، يتحطم حمض هوموجينيستِك إلى مواد أبسط. استنتج جارود، ببصيرته النافذة، أنّ المرضى الذين يُعانون الكابتونيوريا لا يوجد لديهم الأنزيمات الضرورية التي تُساعد على هذا التحطيم. وقد خمّن أن تكون الأمراض الْوراثيَّة الأخرى انعكاسًا لنواقص أنزيمية.

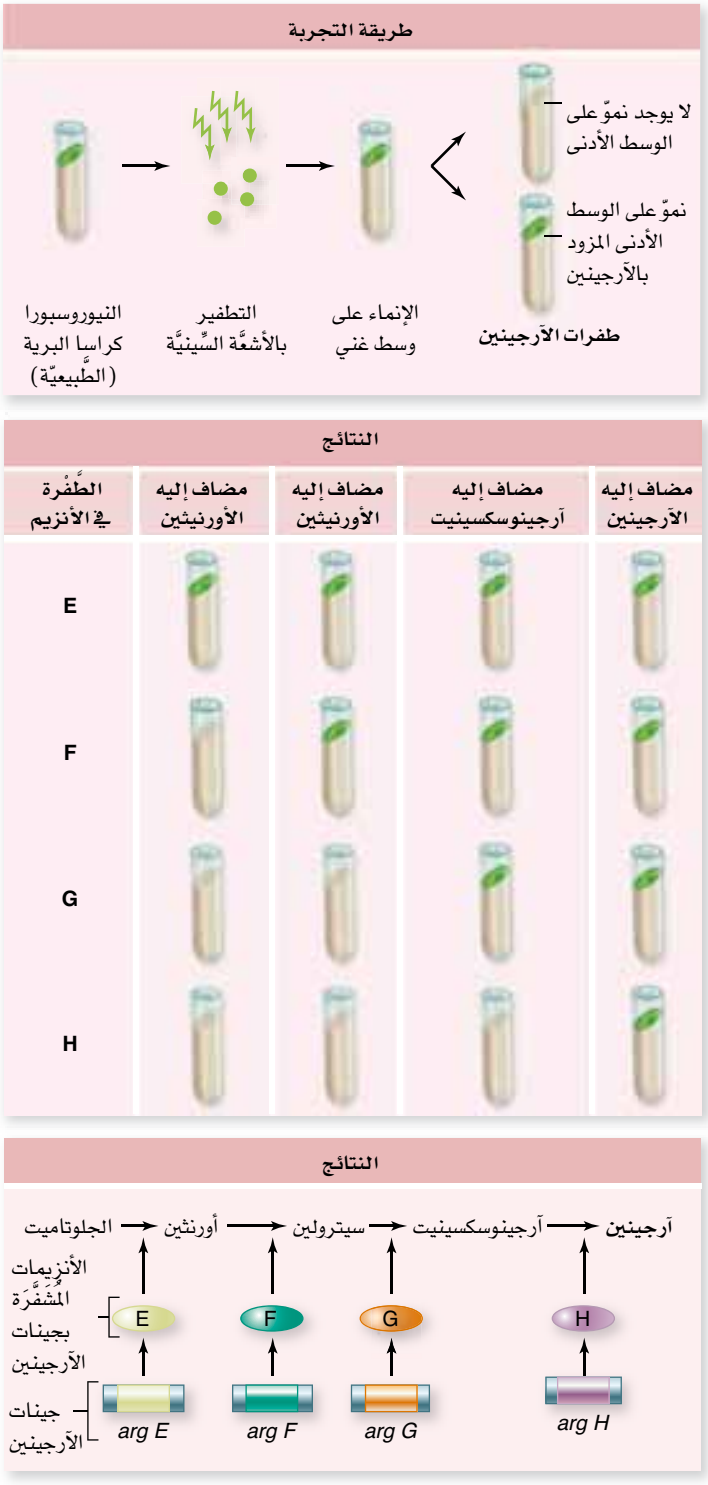
أظهر بيدل وتاتم أنّ الْجينات تحدِّد الأنزيمات

بعد اكتشاف جارود، تطلّب الأمر قفزة بدهية بسيطة للتخمين بأنّ المعلومات المُشَفَّرة في DNA الكروموسومات تعمل على تَحديد أنزيمات بعينها. لم تتأكد هذه المعلومة، مع ذلك حتى عام 1941 عندما قام العالِمان جورج بيدل وإدوارد تاتم من جامعة ستانفورد بإجراء تعاقب من التجارب أعطت الدليل القاطع. بدأ بيدل وتاتم بتصنيع طفرات مدروسة في الكروموسومات، وتأكدا أنّ هذه الطّفرات تتصرف بالطريقة المَنْدَليَّة عند التزاوج. تَمَّ تحليل هذه التغييرات في الجين الواحد وتأثيراتها في المخلوق (الشكل 15-1).

عفن الخبز، نيوروسبورا كراسا

إن أحد الأسباب التي ساعدت بيدل وتاتم على الحصول على نتائج قاطعة من تجربتهما هو اختيارهما للمخلوق التّجريبيّ، وهو عفن الخبز نيوروسبورا كراسا *Neurospora crassa*. يمكن إنماء هذا الفطر بشكل سريع على وسط مُعَرَّف يحتوي على مصدر للكربون (الجلوكوز)، وفيتامين (البيوتين)، وأملاح غير عضوية. يُسَمَّى هذا النوع من الأوساط «الأدنى» لأنها تُمَثِّل أقل المتطلبات لدعم النموّ. لذا، فإنّ أيّ خلايا قادرة على النموّ في الوسط الأدنى يجب أنْ تكون قادرة على تصنيع الجزيئات البيولوجية الضرورية جميعها.

قام بيدل وتاتم بتعريض أبواغ النيوروسبورا للأشعة السِّينيَّة، متوقعين إحداث تلف في DNA لبعض الأبواغ في مناطق تُشَفِّر القدرة على صنع مرَكَّبات يحتاج إليها الفطر من أجل النموّ الطّبيعي (الشكل 15-1). تجعل مثل هذه الطّفرات الخلايا غير قادرة على النموّ في الوسط الأدنى. تسمى هذه الطّفرات، **الطّفرات الغذائية Nutritional mutations** لأن الخلايا التي تحملها تنمو فقط إذا كان الوسط مزودًا بمغذيات إضافية.



الشكل 15-1

تجربة بيدل وتاتم. تَمَّ تطفير نيوروسبورا الطّبيعيّة عن طريق الأشعَّة السِّينيَّة لإنتاج طفرات غير قادرة على تصنيع الآرجينين (الجزء العلوي). عُرِف الخلل الخاص بكلِّ طفرة بزراعة المخلوق في وسط مُزَوَّد بالمواد الوسيطة الموجودة في مسار التّصنيع الحيويّ لآرجينين (الجزء الأوسط). تنمو الطَّفْرة في الوسط المزود بالمواد الوسيطة التي تَنتج بعد الأنزيم المُخْتَل في مسار كلّ طفرة. بعد ذلك، تُربط الأنزيمات في مسار التصنيع مع الجينات على الكروموسومات (الجزء السفلي).

الطّفرات الغذائية

للتعرّف إلى الطّفرات التي تسبب نقصًا أيضيًّا؛ نقل بيدل وتاتم مستنبتات لأفراد خلايا فطرية كانت نامية على وسط غني، إلى وسط أدنى. أي خلية فقدت القدرة على صناعة المواد الضرورية لنموّ الخلايا لن تستطيع النموّ في الوسط الأدنى. باستخدام هذه المقاربة، نجح بيدل وتاتم في عزل الكثير من الطّفرات الغذائية والتعرف إليها.

بعد ذلك، قام الباحثون بتزويد الوسط الأدنى بمواد مختلفة؛ بغية التّعرّف إلى النقص في كلّ طفرة. سمحت لهم هذه الخطوة بتحديد طبيعة النقص الكيميائي الحيوي في السلالة الطّفْرة. وركز بيدل وتاتم بشكل خاص على الطّفرات التي تنمو فقط بوجود الحمض الأميني آرجينين ورُمِزَ إليها الطّفرات *arg*. عند التّعرّف إلى مواقعها الكروموسومية، وُجد أنّ الطّفرات *arg* تتجمع في ثلاثة أماكن.

جين واحد/ عديد ببتيد واحد

الخطوة المقبلة، كانت تحديد مكان حجب كلّ طفرة في المسار الكيميائي الحيوي للتّصنيع الحيويّ لآرجينين. للقيام بذلك؛ قام بيدل وتاتم بتزويد الأوساط بكلٍّ من المواد الوسيطة الموجودة في مسار التصنيع التي تدعم نموّ الطّفْرة. فإذا كانت الطّفْرة تؤثر في الأنزيم الذي يعمل قبل الوسيط المستخدم بوصفه مُكَمِّلًا، فإنّ النموّ سيتم- ولكن ليس إذا كانت الطّفْرة تؤثر في الخطوة التي تعقب الوسيط المستخدَم (الشكل 15-1). لكلّ أنزيم ضمن مسار التصنيع الحيوي لآرجينين، استطاع بيدل وتاتم أن يعزلا سلالات طفرة لديها شكل مُختَل من ذلك الأنزيم. كانت الطّفرات دائمًا موجودة على أحد المواقع الكروموسومية المحدَّدة القليلة، وكلّ طفرة كان لديها موقع فريد. لذا، فإنّ كلّ طفرة تَمَّ فحصها كان لديها خلل في أنزيم وحيد، نتج من طفرة في موقع وحيد على الكروموسوم.

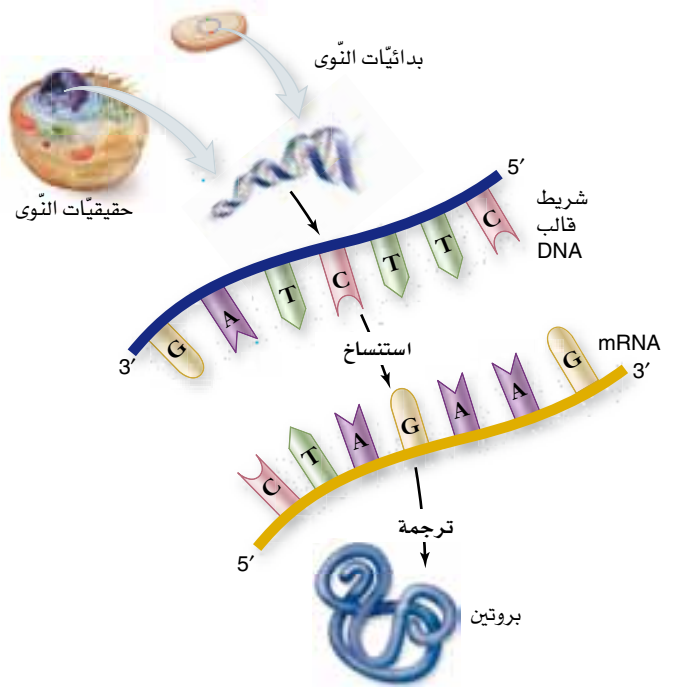
استنتج بيدل وتاتم أنّ الجينات تُحدد تركيب الأنزيمات، وأنّ كلّ جين يُشفِّر تركيب أنزيم وحيد (انظر الشكل 15-1). وقد أطلقا على هذه العلاقة فرضية الجين الواحد/ الأنزيم الواحد *one-gene/ one-enzyme hypothesis*. اليوم، ولأنّ كثيرًا من الأنزيمات تحتوي على تحت وحدات عدة من عديد الببتيد كلّ منها مُشَفَّر عن طريق جين منفصل، فإنّ العلاقة معروفة بشكل أكثر شيوعًا على أنّها **فرضية جين واحد/ عديد ببتيد واحد One-gene/one-polypeptide hypothesis**. تحدد هذه الفرضية بوضوح العلاقة الجزيئية بين الطّراز الوراثي والطّراز الظّاهريّ.

كلّما تعلمت أكثر عن المحتوى الْجينيّ والتّعبير الْجينيّ ستجد أنّ هذه العلاقة مبسطة بشكل زائد. وكما سيتم وصفه لاحقًا في هذا الفصل، فإنّ جينات حقيقيّات النّوى أكثر تعقيدًا. إضافة إلى ذلك، تتكون بعض الجينات بشكل جزئي على الأقل من RNA، وهو نفسه وسيط في تصنيع البروتينات. غير أنّ مفهوم جين واحد/عديد ببتيد واحد يشكل نقطة بداية مفيدة للتفكير في التّعبير الْجينيّ.

يصف المبدأ الرئيس انسياب المعلومات في الْخليّة بدءًا من DNA إلى RNA إلى البروتين

يحتاج تحويل الطّراز الوراثي إلى طراز ظاهري إلى معلومات مخزونة في DNA ليتم تحويلها إلى بروتين. أول من وصف طبيعة انسياب المعلومات في الخلايا **بوصفها عقيدة محورية في البيولوجيا الجزيئية Central dogma of molecular biology** هو فرانسيس كريك. تمر المعلومات في اتجاه واحد من الجين DNA إلى نسخة RNA لهذا الجين، ثُمَّ توجّه نسخة RNA التجميع المتتالي لتعاقب الأحماض الأمينية في بروتين (الشكل 15-2). باختصار،

DNA ← RNA ← بروتين

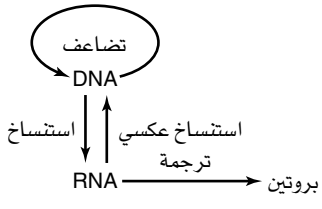


الشكل 15-2

المبدأ الرئيس في البيولوجيا الجزيئيّة. يُستنسخ DNA لعمل mRNA الرَّسول، الذي سيترجم إلى بروتين.

يمكننا أن ننظر إلى هذا بوصفه وصفًا مختصرًا لعملية التّعبير الْجينيّ، أو تحويل الطّراز الوراثي إلى طراز ظاهري. نسمّي خطوة DNA إلى RNA **الاستنساخ Transcription**، وخطوة RNA إلى البروتين **الترجمة Translation** (انظر الشكل 15-2). وسنتناول تفاصيل هذه العمليات في هذا الفصل.

مرة أخرى، يُعَدُّ هذا تبسيطًا مبالغًا فيه لكيفية انسياب المعلومات في خلايا حقيقيّات النّوى. تَمَّ اكتشاف طائفة من الفيروسات تسمى **الفيروسات الراجعة Retroviruses** التي تستطيع أنْ تُحَوِّل محتواها الوراثي المكوّن من RNA إلى نسخة DNA، باستخدام أنزيم فيروسي هو **الناسخ العكسيّ Reverse transcriptase**. يخالف هذا التحويل انسياب المعلومات بحسب المبدأ الرئيس، ولقد فرض هذا الاكتشاف تجديدًا على المبدأ، بحيث يتضمن هذا «الانعكاس» في انسياب المعلومات.



يمكن أن تعزى الاضطرابات الأيضية إلى وجود أنزيمات متغيرة. يُشفِّر كلّ جين المعلومات التي تصنع عديد ببتيد واحد. إن انسياب المعلومات في الْخليّة، بناءً على المبدأ الرّئيس تبدأ بمعلومات في DNA في الجين. يُستنسخ DNA إلى RNA، وتستخدم هذه النسخة لتوجيه صناعة البروتين.

2-15 الشّيفرة الْوراثيَّة

كيف تقوم النيوكليوتيدات في جزيء DNA بتشفير المعلومات التي تُحدد ترتيب الأحماض الأمينية في عديد الببتيد؟ جاء الجواب عن هذا السؤال الأساسي عام 1961 من خلال تجربة أجراها فرانسيس كريك وسيدني برينر. كانت تلك التجربة موفقة جدًا، والنتائج مهمة جدًا كذلك لفهم الشّيفرة الْوراثيَّة التي سنصفها بالتفصيل.

تُقرأ الشّيفرة في مجموعات ثلاثية

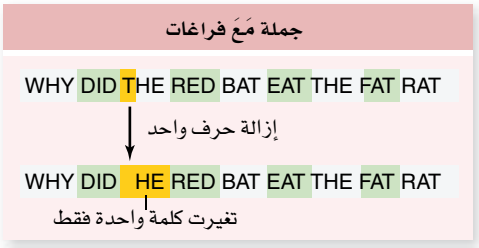
اعتقد كريك وبرينر بالتحليل المنطقي أنّ الشّيفرة الْوراثيَّة على الأغلب تتألف من تعاقب من وحدات معلومات تسمى كودونات (وحدات الشّيفرة) Codons، وتتوافق كلّ واحدة منها مع حمض أميني في البروتين المُشَفَّر.

إضافة إلى ذلك، افترضنا احتمال أن تكون المعلومات الموجودة في كودون واحد عبارة عن تعاقب من ثلاثة نيوكليوتيدات. بوجود أربعة نيوكليوتيدات (A و G، C، T) DNA، فإنّ استخدام اثنين من كلّ كودون سينتج 4^2، أو 16 كودونًا مختلفًا- وهو غير كافٍ لتشفير 20 حمضًا أمينيًّا. غير أنّ ثلاثة نيوكليوتيدات تُنْتِج 4^3، أو 64 توليفة مختلفة من ثلاثيات، وهو أكثر مما يكفي.

كودونات مع فراغات أو دون فراغات؟

نظريًّا، يمكن وضع فواصل من نيوكليوتيدات غير مستخدمة بين الكودونات في تعاقب كودونات جين ما، مثل الفراغات التي تفصل الكلمات في هذه الجملة. بدلًا من ذلك، يمكن وضع الكودونات مجاورة لبعضها مباشرةً لتشكل تعاقبًا مستمرًّا من النيوكليوتيدات.

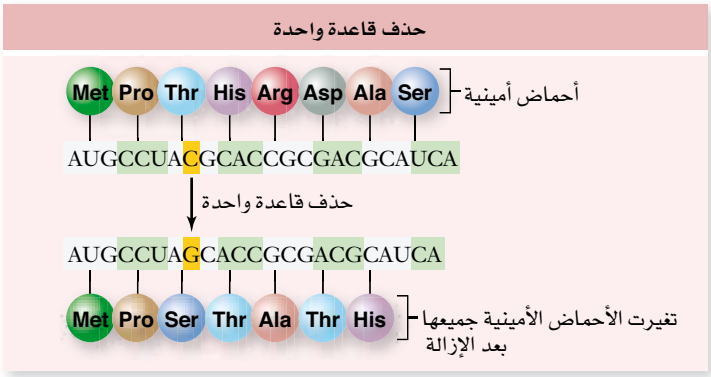
إذا كانت المعلومات في الرِّسالة الْوراثيَّة مفصولة عن طريق فراغات، فإنّ أيّ تغيير في أيّ كلمة واحدة لن يؤثر في الجملة كاملة. في المقابل، إذا كانت الكلمات جميعها تسير مجتمعة، ولكن تُقرأ في مجموعات ثلاثية، فإنّ أيّ تغيير لا يحدث في مجموعة ثلاثية بكاملها سوف يغيّر الجملة كاملة. تشير هاتان الطريقتان في استخدام المعلومات في DNA ضمنيًّا إلى وجود طرق مختلفة لترجمة المعلومات إلى بروتينات.

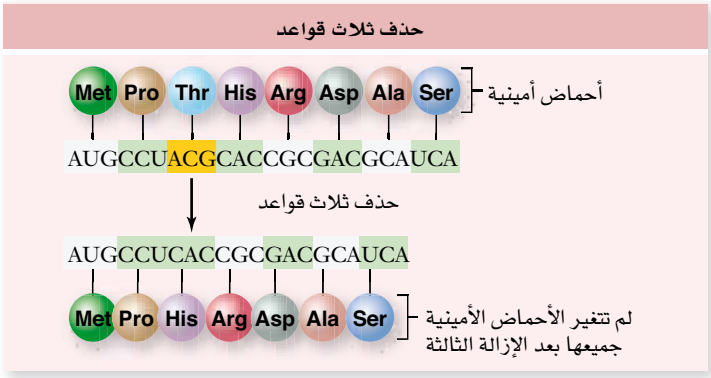


تحديد أن الكودونات لا يفصل بينها فراغات

للاختيار بين هذه الآليات البديلة، استخدم كريك وزملاؤه مادة كيمائية لإنشاء طفرة تحذف واحدًا أو اثنين، أو ثلاثة نيوكليوتيدات من جزيء DNA الفيروسي، جرى لاحقًا استنساخه وترجمته إلى عديد ببتيد. ثُمَّ تساءل العالِمان بعد ذلك ما إذا كان العمل قد غير حمضًا أمينيًّا وحيدًا فقط، أم غيّر الأحماض الأمينية جميعها بعد عمليات الحذف.

عندما أزالا بعمل إزالة واحد أو اثنين، قريبين من بعضهما، حدثت إزاحة جانبية للرسالة الْوراثيَّة، وتغيرت الأحماض الأمينية جميعها بعد الإزالة. وعندما قاما بإزالة ثلاثة نيوكليوتيدات بقي البروتين بعد الإزالات طبيعيًّا. وقد حصلا على النتائج نفسها عندما قاما بعمل إضافات إلى DNA تتكون من 1، أو 2، أو 3 نيوكليوتيدات.





لذا، استنتج كريك وبرينر أن الشّيفرة الْوراثيَّة تُقرأ بمجموعات ثلاثية النيوكليوتيد (بعبارة أخرى هي شيفرة ثلاثية)، وأنّ القراءة تحدث بشكلٍ متواصل دون فواصل بين وحدات ثلاثي النيوكليوتيد.

تشير هذه التجارب إلى أهمية **إطار القراءة Reading frame** للرسالة الْوراثيَّة. وحيث إنه لا توجد هناك فواصل، فإنّ إطار القراءة الذي يتأسس مع أول كودون في التعاقب يحدد كيفية قراءة الكودونات التي تعقبه. نسمّي الآن أنواع الطّفرات التي استخدمها كريك وبرينر طفرات **إزاحة الإطار Frameshift mutations** لأنها تغير إطار قراءة الرِّسالة الْوراثيَّة.

فكّ نيرينبيرج وآخرون الشّيفرة الْوراثيَّة

إن تحديد أيٍّ من الـ 64 كودونًا المحتملة التي تُشَفِّر أحماضًا أمينية معينة كان أحد إنجازات الكيمياء الحيوية العظيمة في القرن العشرين. تطلب تحقيق إزالة التشفير نجاح تطورين أساسيين: الأول، كانت هناك حاجة إلى نظام كيميائي حيوي خارج الْخليّة يساعد على تصنيع البروتين من RNA معروف. ثانيًا، كان من الضروري القدرة على إنتاج RNA مخلق معروف، ويمكن استخدامه في نظام خارج الخلوي المشار إليه.

خلال خمس سنوات منذ 1961 وحتى 1966، قاد العمل الذي قام به بشكل أساسي مختبر العالِم مارشال نايرنبيرج إلى تفسير الشّيفرة الْوراثيَّة. أظهرت مجموعة نايرنبيرج أولًا أنّه عند إضافة جزيء RNA مخلق متعدد اليوراسيل PolyU (جزيء RNA يتألف من شريط نيوكليوتيدات يوراسيل فقط) إلى أنظمة غير حيّة (في أنبوب الاختبار) نتج عديد الببتيد فينيلألانين، (شريط يتألف من الحمض الأميني فينيلألانين متكرر). ولهذا فإنّ UUU يشفّر فينيلألانين.

بعد ذلك، تَمَّ تصنيع مبلمرات RNA تحتوي على أكثر من نيوكليوتيد واحد. لقد سمحت لهم هذه المبلمرات بالتّعرّف إلى كثير من الكودونات المحتملة، لا على ترتيب القواعد في كلّ كودون.

بعد ذلك استطاع الباحثون استخدام أنزيمات لتصنيع تعاقبات ثلاثية القواعد محددة يمكن اختبار ارتباطها مع آلية تصنيع البروتين. يُسَمَّى هذا معايرة ارتباط الثلاثية *Triplet-binding assay*، وهو الذي مكنهم من التّعرّف إلى 54 كودونًا من أصل 64 ثلاثية محتملة.

أضاف الكيميائي العضوي هـ. جوبايند خورانا القطعة الأخيرة للأحجية باستخدام التصنيع العضوي لإنتاج جزيئات RNA مخلَّقة لها تعاقب محددة، ثُمَّ فحص أيّ عديد الببتيد سوف تقوم بصنعه في النظام خارج الخلوي. سمحت الطرق السابقة جميعها بالتّعرّف إلى الـ 64 تعاقبًا ثلاثي النيوكليوتيد المحتملة، وتَمَّ تحديد كامل الشّيفرة الْوراثيَّة (الجدول 15 – 1).

الشّيفرة متأرجحة لكنها محدَّدة

تبرز بعض السِّمات الواضحة للشيفرة من (الجدول 15 – 1). أولًا، هناك 61 كودونًا من أصل 64 محتملة تُستخدم لتعيين الأحماض الأمينية. 3 كودونات هي: UAA، وUGA وUAG محجوزة لوظيفة أخرى: إنها تعطي إشارة «توقف» وتسمى **كودونات الإيقاف Stop codons**. الشكل الآخر من «الفواصل» في الشّيفرة هي AUG وتستخدم للإشارة إلى «البدء» لذا فهي **كودون البدء Start codon**. في هذه الحالة، يكون لدى الكودون وظيفة مزدوجة ؛إذ إنه يشفِّر للحمض الأميني مِيثَيونين (Met) كذلك.

يمكنك الملاحظة أنه مع 61 كودونًا لتشفير 20 حمضًا أمينيًّا فقط، فإنّ هناك عددًا من الكودونات أكبر من عدد الأحماض الأمينية. إحدى طرق التعامل مع هذه الزيادة هي استخدام 20 من 61 كودونًا فقط، ولكن ليس هذا ما تقوم به الْخليّة. في الواقع، إنها تستخدم الـ 61 كودونًا جميعها، ما يجعل الكودون **متأرجحًا Degenerate**، وهذا يعني أن هناك بعض الأحماض الأمينية تُحدّد عن طريق أكثر من كودون واحد. وعكس ذلك أنّ يُحدِّد كودون وحيد أكثر من حمض أميني، لم يتمّ العثور عليه.

التأرجح ليس منتظمًا. بعض الأحماض الأمينية لها كودون واحد فقط، في حين يصل بعضها الآخر إلى 6 كودونات. إضافة إلى ذلك، تقع القاعدة المتأرجحة عادة على الموقع الثالث للكودون، فتبقى القاعدتان الأولى والثانية كما هما، في حين يُشفر اثنان أو أربعة من النيوكليوتيدات المحتملة على الموقع الثالث الحمض الأميني نفسه. (تفسر طبيعة صناعة البروتين على الرايبوسومات كيف تتم عملية استخدام الكودون، وستناقش لاحقًا).

الشّيفرة فعليًّا عامة للمخلوقات جميعها ولكن هناك بعض الاستثناءات

الشّيفرة الْوراثيَّة متشابهة عند المخلوقات جميعها تقريبًا. تُعَدُّ عمومية الشّيفرة الْوراثيَّة من أقوى الأدلة على أن المخلوقات تشترك في موروث تطوري واحد. ولأن الشّيفرة لها صفة العموميّة، فإنّ بالإمكان نقل الجينات من مخلوق إلى آخر، وبالإمكان

الجدول 15 - 1 الشيفرة الوراثية

الحرف الأول	الحرف الثاني: U			الحرف الثاني: C			الحرف الثاني: A			الحرف الثاني: G			الحرف الثالث
U	UUU	Phe	فنيل ألانين	UCU	Ser	سيرين	UAU	Tyr	تايروسين	UGU	Cys	سيستين	U
	UUC			UCC			UAC			UGC			G
	UUA	Leu	لوسين	UCA			UAA	"إيقاف"		UGA	"إيقاف"		A
	UUG			UCG			UAG	"إيقاف"		UGG	Trp	تربتوفان	G
C	CUU	Leu	لوسين	CCU	Pro	برولين	CAU	His	هستدين	CGU	Arg	آرجينين	U
	CUC			CCC			CAC			CGC			C
	CUA			CCA			CAA	Gln	جلوتامين	CGA			A
	CUG			CCG			CAG			CGG			G
A	AUU	Ile	أيزولوسين	ACU	Thr	ثريونين	AAU	Asn	أسباراجين	AGU	Ser	سيرين	U
	AUC			ACC			AAC			AGC			C
	AUA			ACA			AAA	Lys	لايسين	AGA	Arg	آرجينين	A
	AUG	Met	مثايونين؛ "بدء"	ACG			AAG			AGG			G
G	GUU	Val	فالين	GCU	Ala	ألانين	GAU	Asp	أسبارتيت	GGU	Gly	جلايسين	U
	GUC			GCC			GAC			GGC			C
	GUA			GCA			GAA	Glu	جلوتاميت	GGA			A
	GUG			GCG			GAG			GGG			G

يتألف الكودون من ثلاثة نيوكليوتيدات بالتعاقب المبين هنا. فمثلًا ACU يُشفر للحمض ثيرونين. الحرف الأول، A، موجود في عمود الحرف الأول؛ والحرف الثاني، C، موجود في عمود الحرف الثاني؛ والحرف الثالث، U، موجود في عمود الحرف الثالث؛ كل كودون في mRNA يتم التعرف إليه من قبل تعاقب الكودون المضاد الموجود على جزيء tRNA. كثير من الأحماض الأمينية لها أكثر من كودون واحد. فمثلًا، الحمض الأميني ثريونين تحدده أربعة كودونات تختلف فيما بينها في النيوكليوتيد الثالث فقط (ACU، ACC، ACA، وACG).

الشكل 15–3

خنزير معدّل جينيًا. مولود الخنزير الذي يظهر إلى اليمين هو المعروف والشائع، أما الذي يظهر إلى اليسار فقد تمت هندسته وراثيًّا، بحيث استقبل جينًا من حيوان قنديل البحر يشفِّر بروتينًا أخضر مشعًّا. ويرجع لون أنف الخنزير إلى التّعبير عن الجين المُدخل. توضح هذه الحيوانات المعدلة جينيًّا الطّبيعيّة الشمولية للشيفرة الْوراثيَّة.

التّعبير عنها بنجاح في عائلها الجديد (الشكل 15–3). تُعَدُّ هذه العمومية حجر الاساس لكثير من أشكال التقدم العلمي في هندسة الوراثة، التي ستناقش في (الفصل الـ 17).

بدأ الباحثون عام 1979 في تحديد تعاقب النيوكليوتيدات الكاملة للمحتوى الوراثي في ميتوكوندريا الإنسان، والمواشي والفئران. وقد ذهل العلماء عندما وجدوا أنّ الشّيفرة الْوراثيَّة المستخدمة من قبَل ميتوكوندريا تلك الثّدييّات ليست مشابهة تمامًا «للشيفرة العامة» التي أصبحت مألوفة عند البيولوجيين.

في المحتوى الْجينيّ للميتوكوندريا، ما يجب أن يكون كودون إيقاف، UGA، قُرئ على أنه الحمض الأميني تريبتوفان؛ وقُرئ كودون AUA كميثيونين بدلًا عن آيسولوسين وقُرئ الكودونان AGG وAGA كإيقاف بدلًا عن آرجينين. إضافة إلى ذلك، فقد عُثر على اختلافات ثانوية عن الشّيفرة العامة في المحتوى الْجينيّ في البلاستيدات الخضراء وبعض الهدبيّات (أحد أنواع الطّلائعيّات).

لذا، يبدو أنّ الشّيفرة الْوراثيَّة ليست شمولية تمامًا. منذ وقت مضى، بدأت الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء، ربما بعد أنْ بدأ وجودهما في التعايش الداخلي، بقراءة الشّيفرة الْوراثيَّة بشكل مختلف، خصوصًا جزء الشّيفرة المتعلق بإشارات «التوقف».

؟ استقصاء

الشّيفرة الْوراثيَّة شمولية في الغالب، لماذا تعتقد أنها شمولية تقريبًا؟

أظهرت الشّيفرة الْوراثيَّة على شكل كودونات ثلاثية لا يتخللها فواصل: ثلاث قواعد تحدد حمضًا أمينيًا واحدًا، وهذه المجموعات الثلاث تُقرأ مرتبة ولا يتخللها «فواصل». تضم الشّيفرة الْوراثيَّة 61 كودونًا تحدد الأحماض الأمينية (إضافة إلى 3 كودونات تعني «التوقف»، بمجموع 64). الشّيفرة الْوراثيَّة متأرجحة؛ بمعنى أن بعض هذه الأحماض لها أكثر من كودون، ولكن الكودونات جميعها تشفر حمضًا أمينيًا واحدًا فقط. بصورة فعلية، تعدّ الشّيفرة شمولية، مع بعض الاستثناءات.

3-15 نظرة عامة على التّعبير الْجينيّ

يعطينا المبدأ الرئيس في البيولوجيا الجزيئية صورة عقلانية تصف انسياب المعلومات في النظام الحيوي. نسمّي خطوة تحول DNA إلى RNA استنساخًا *Transcription*؛ لأنها تنتج نسخة من DNA تمامًا كالاستنساخ القانوني، حيث يحتوي المحضر على كلّ الكلمات الدقيقة في دعوى قضائية في محكمة. في حين تُسمّى خطوة تحول معلومات RNA إلى بروتين ترجمة *Translation*؛ لأنها تتطلب ترجمة «لغة» الحمض النووي إلى لغة البروتين.

تسمى نسخة RNA المستخدمة لتوجيه صناعة عديد الببتيد، RNA الرّسول Messenger RNA (mRNA). ويعكس اسمه الإقرار بأن جزيئًا ما يجب أن ينقل الرّسالة من DNA إلى الرايبوسومات لاستكمال الإجراءات.

وكما هو الحال في التضاعف، يمكننا القول: إن استنساخ DNA يتضمن ثلاث مراحل، هي: الاستهلال *Initiation*، والاستطالة *Elongation* والإيقاف *Termination*.

يصنع الاستنساخ نسخة RNA من DNA

تنتج عملية الاستنساخ نسخة RNA من المعلومات الموجودة في DNA. أي إنّ الاستنساخ هو البناء المُوَجَّه لـ RNA عن طريق DNA. تستخدم هذه العملية مبدأ التكاملية الذي درسناه في الفصل السابق، حيث تكون نسخة RNA مكملة لـ DNA الذي تستخدمه بوصفه قالبًا (الشكل 15 – 4).

وحيث إن DNA مزدوج الشريط، و RNA فردي الشريط، فإنّ شريطًا واحدًا من DNA يتم استخدامه بوصفه قالبًا في هذه العملية. يُسَمَّى الشريطُ المنسوخُ **الشريطَ القالبَ Template strand**. ويكون تعاقب القواعد في RNA المنسوخ مكملًا لذلك الموجود في القالب. ويُسَمَّى شريط DNA غير المُستخدم كقالب **شريط التّشفير Coding strand**. ويكون له تسلسل القواعد الموجود في RNA نفسه مع استثناء واحد، هو أنّ RNA يضم U ولا يضم T الموجودة في DNA.

شريط تشفير 5`–TCAGCCGTCAGCT–3` ⎤ DNA
شريط قالب 3`–AGTCGGCAGTCGA–5` ⎦
استنساخ ↓
شريط تشفير 5`–UCAGCCGUCAGCU– 3` mRNA

الشكل 15–4

مبلمر RNA. تظهر هذه الصورة بالمجهر الإلكتروني دوائر دكناء تمثل مبلمر RNA عند قيامه بتصنيع RNA من قالب DNA.

استهلال الاستنساخ

تستخدِم مرحلة الاستهلال عددًا من المكونات، التي تختلف بين كلٍّ من بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى:

- تعاقب من DNA، تسمى الْمُحفِّزات (المحرضات) *Promoters*، تشكل لارتباط أنزيم، مبلمر RNA *RNA polymerase* الذي يصنع نسخة RNA.
- موقع البدء *start site* على DNA، ويضم القاعدة الأولى التي يتم استنساخها.
- يتطلب الاستهلال في حقيقيّات النّوى واحدًا أو أكثر من عوامل الاستنساخ *Trnascription factors*

عندما يرتبط مبلمر RNA مع الْمُحفِّز تبدأ عملية الاستنساخ عند موقع الاستهلال.

استطالة النسخة

تصنع نسخة RNA في أثناء الاستطالة:

- ترتبط نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات الجديدة المكملة لقالب DNA بروابط فوسفاتية ثنائية الإستر في الاتجاه $5' \Leftarrow 3'$ بفعل مبلمر RNA، ما ينتج تعاقب RNA جديدة.
- في الوقت الذي تسير عملية الاستنساخ يُفَكّ التفاف DNA عن طريق مبلمر RNA ليسمح بالاستنساخ، ويُعاد الالتفاف خلف الأنزيم. تسمى المنطقةُ مفكوكة الالتفاف عن طريق الأنزيم فقاعةَ الاستنساخِ *Transcription bubble*.

إيقاف الاستنساخ

تمضي عملية الاستطالة إلى أن تصل إلى تعاقب التوقف:

- يسبب تعاقب DNA المسمى المُوقِف *Terminator*، الذي سيوصف لاحقاً، إيقاف عمل مبلمر RNA وتحرير DNA.
- ينفصل RNA المصنوع جديدًا عن DNA ويُعاد التفاف DNA.

تستخدم الترجمة المعلومات الموجودة في DNA لتصنيع البروتينات.

تعدّ عملية الترجمة بالضرورة أعقد من الاستنساخ. في هذه الحالة، لا يمكن استخدام RNA بوصفه قالبًا مباشرًا للبروتين لعدم وجود تكامل بينهما- أي إنّ تعاقبًا من الأحماض الأمينية لا يستطيع أن يصطف على قالب RNA بأي شكل من "التلاؤم الكيميائي". لذا، فقد اقترح علماء الوراثة الجزيئية ضرورة وجود جزيء واصل يستطيع أنْ يتفاعل مع كلّ من الأحماض الأمينية وRNA. واكتشف **RNA الناقل Transfer RNA (tRNA)** لكي يقوم بهذا الدور. هذه الحاجة إلى وسيط تضفي مستوى أكبر من التعقيد على العملية، وهو أمر غير موجود في استنساخ RNA، ولا في تضاعف DNA.

تحدث عملية الترجمة على الرايبوسومات التي هي مَكِنَة تصنيع البروتينات الخلوية، وهي تتطلب مشاركة أنواع عدة من RNA وكثيرًا من البروتينات. سنقوم بسرد موجز لهذه العمليات التي سنتناولها بالتفصيل في الأجزاء الآتية.

استهلال الترجمة

يعتمد الاستهلال على وجود كودون الاستهلال وتكوين معقد الاستهلال:

- يتكون معقد الاستهلال *Initiation complex* وهو يحتوي على رايبوسومات، و*RNA* رسول و*tRNA* والناقل المُستَهِّل *Initiator tRNA* المرتبط بالحمض الأميني ميثيونين.
- يتطلب تجميع هذا المعقد مشاركة عدد من عوامل الاستهلال.

استطالة عديد الببتيد

ينمو عديد الببتيد، في حين تُحْضر tRNA الوسيطة أفراد الأحماض الأمينية إلى معقد الرايبوسومات. يُسَمَّى tRNA الذي يحمل حمضًا أمينيًّا tRNA الناقل المشحون *Charged tRNA*. يجب أنْ يتحرك الرايبوسوم على طول شريط mRNA ويرتبط مع النواقل tRNA المشحونة، بحيث تتمكن كودوناتها المضادة من الارتباط مع كودونات mRNA عن طريق الروابط الهيدروجينية. يستطيع الرايبوسوم أن يرتبط مع اثنين من tRNA، وأن يشكل رابطة ببتيدية بين الحمضين الأمينين المنقولين بهما.

- يُجلب tRNA المشحون إلى الرايبوسومات. يجب أنْ يكون الكودون المضاد لـ tRNA المشحون مكملًا لكلّ كودون جديد موجود على mRNA.
- يساعد أنزيم الناقل إلى الببتيد *Peptidyl transferase* على تكوين رابطة ببتيدية بين الحمض الأميني الجديد والتعاقب الببتيدية قيد النموّ.
- يتحرك معقد الرايبوسوم على طول mRNA، ويتحرر tRNA الفارغ ويُجَهِّز موقع الارتباط لاستقبال tRNA ناقل جديد فوق الكودون المقبل على mRNA.

إيقاف الترجمة

- تمضي الاستطالة حتى تصطدم بكودون توقف.
- تتعرف العوامل المُحرِّرة *Release factor* إلى كودون التوقف، فيحدث انفصال التعاقب الببتيدية، مُحرِّرًا آخر tRNA من معقد الرايبوسومات.

تختلف المواقع التي تحدث بها عمليتا الاستنساخ والترجمة بين بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى؛ لأن لدى حقيقيّات النّوى نواة محاطة بغشاء – فيجب على mRNA أن يخرج من النواة قبل أن تبدأ الترجمة. في بدائيّات النّوى، في المقابل، يحدث الاستنساخ والترجمة غالبًا بالترادف. سنناقش كلًّا من العمليتين بالتفصيل في الأجزاء اللاحقة.

استقصاء

من المقبول أن مبلمر RNA ليس له قدرة على تصحيح الأخطاء، فهل تتوقع أنْ يكون هناك أخطاء كثيرة أم قليلة في الاستنساخ مقارنة بتضاعف DNA؟ لماذا تعتقد أنّ تصحيح الأخطاء مهمة أكثر لمبلمر DNA منها لمبلمر RNA؟

لدى RNA أدوار عدة في التّعبير الْجينيّ

يصنع RNA جميعه من قالب DNA عن طريق الاستنساخ. ويتطلب التّعبير الْجينيّ مشاركة أنواع عدة من RNA، كلٌّ له دور مختلف في العملية بشكل مُجمل. وسنقوم هنا بسرد موجز لأنواع RNA وأدوارها التي سنتحدث عنها بالتفصيل لاحقًا.

RNA الرَّسول messenger RNA حتى قبل أن يتم الكشف عن تفاصيل التّعبير الْجينيّ، أدرك علماء الوراثة أنه لا بدّ من وجود شكل وسيط للمعلومات الموجودة في DNA، الذي بالإمكان نقله من نواة حقيقيّات النّوى إلى السيتوبلازم للمعالجة الرايبوسومية. سمّيت هذه الفرضية "بفرضية الرَّسول" ومازلنا نحتفظ بهذا الاسم، أي RNA الرَّسول (mRNA).

RNA الرايبوسومي Ribosomal RNA تسمّى مجموعة RNA الموجودة في الرايبوسومات RNA الرايبوسومي (rRNA). هناك أشكال عدة من rRNA الرايبوسومي، وهو موجود في كلتا تحت وحدتي الرايبوسومات. إن rRNA الرايبوسومي أساسي لوظيفة الرايبوسومات.

RNA الناقل Transfer RNA إن الوسيط الموصل بين mRNA والأحماض الأمينية هو RNA الناقل (tRNA). لدى جزيئات tRNA أحماض أمينية مرتبطة بروابط تشاركية بأحد الأطراف، والطرف الآخر عليه الكودون المضاد الذي يمكن أن يُكَوِّن أزواجًا قاعدية مع الكودون على mRNA. ويعمل tRNA بوصفه مفسرًا للمعلومات الموجودة على mRNA، ويساعد على وضع الحمض الأميني على الرايبوسومات.

RNA النووي الصغير Small nuclear RNA RNA النووي الصغير (snRNA) هو جزء من الآلية التي تشارك في المعالجة النووية لسابق mRNA (pre-mRNA) أو غير الناضج في حقيقيّات النّوى. وسنناقش دوره في تفاعل الوَصْل لاحقًا.

SRP RNA في حقيقيّات النّوى، حيث تُصنّع بعض البروتينات عن طريق الرايبوسومات على الشّبكة الإندوبلازمية الخشنة، يتوسط **جسيم مُمَيِّز الإشارة Signal recognition particle** أو (SRP) هذه العملية. وسيتم وصف هذا النوع لاحقًا في هذا الفصل. يتكون SRP من RNA وبروتين.

RNA الدقيق micro-RNA تَمَّ اكتشاف مجموعة جديدة من RNA الدقيق (miRNA). وهي عبارة عن قطع صغيرة لم يتمّ التّعرّف إليها سابقًا؛ لصغرها وعدم التحكم في استخلاصها عند تحضير الحمض النووي. ولم تُعرف وظيفتها حتى الآن، إلا أنّ مجموعة واحدة منها، وهي RNA الصغير المُتدخِّل small interfering RNA (si RNA)، يبدو أنها تقوم بالمشاركة في التحكم في التّعبير الْجينيّ، وهو جزء من نظام لحماية الْخليّة من الهجوم الفيروسي.

يُصنّع أنزيم مبلمر RNA خلال عملية الاستنساخ شريط RNA من قالب DNA. يُستنسخ شريط واحد فقط من شريطي DNA هو القالب؛ أما الشريط الآخر، الذي يحمل تعاقب RNA المنسوخ نفسه، فيُسَمَّى شريط التشفير. تتم عملية الترجمة على الرايبوسومات، وهي تستخدم RNA الناقل tRNA وسيطًا بين mRNA والأحماض الأمينية.

4-15 الاستنساخ في بدائيّات النّوى

سنبدأ بدراسة تفاصيل عملية التّعبير الْجينيّ بوصف عملية الاستنساخ في بدائيّات النّوى. الوصف اللاحق للاستنساخ في حقيقيّات النّوى سيركز على اختلافاتها عن بدائيّات النّوى.

لدى بدائيّات النّوى مبلمر RNA واحد

يوجد **مبلمر RNA polymerase RNA** في بدائيّات النّوى على شكلين، هما: لُبّ المبلمر *Core polymerase* والأنزيم الكامل *Holoenzyme*. يستطيع لبّ المبلمر تصنيع RNA مستخدمًا DNA القالب، ولكنه لا يستطع أن يستهل التصنيع بشكل دقيق، في حين يستطيع الأنزيم الكامل أنْ يستهل التصنيع بشكل دقيق.

يتألف لبّ المبلمر من أربع تحت وحدات: تحت وحدتي ألفا متطابقتين α، وتحت وحدة بيتا β بيتا مختلفة يرمز لها „ β (الشكل 15 – 5 أ). تقوم تحت وحدتي ألفا بتثبيت المركب الأنزيمي، وتستطيع أن ترتبط بالجزيئات المُنَظِّمة. يتشكل الموقع النشط عن طريق تحت وحدتي β و `β، اللتين ترتبطان بـ DNA القالب وبسوابق النيكليوتيدات الرايبوزية ثلاثية الفوسفات.

يتشكل الأنزيم الكامل *holoenzyme* الذي يستطيع أن يستهل التصنيع بشكل ملائم بإضافة تحت الوحدة σ (سيجما) إلى لبّ الأنزيم المبلمر (الشكل 15 – 5 أ). وتسمح قدرتها على التّعرّف إلى إشارات نوعية في DNA لمبلمر RNA أن يجد بداية الجين، وهو شيء أساسي لوظيفته. لاحظ أنّ عملية الاستهلال لتصنيع mRNA لا تحتاج إلى البادئ Primer كما هو مطلوب في تضاعف DNA.

يحدث الاستهلال عند الْمُحفِّزات Promoter

يتطلب الاستهلال الدقيق للاستنساخ موقعين على DNA: أحدهما يُسَمَّى الْمُحفِّز Promoter الذي يشكل موقع تعرّف مبلمر RNA وارتباطه، وموقع الاستهلال الفعلي Start site. يحتاج كذلك مبلمر RNA إلى إشارة لإنهاء عملية الاستنساخ، وتسمى **المُوقِف Terminator**. يطلق على المنطقة الواقعة بين الْمُحفِّز والمُوقِف **وحدة الاستنساخ Transcription unit**.

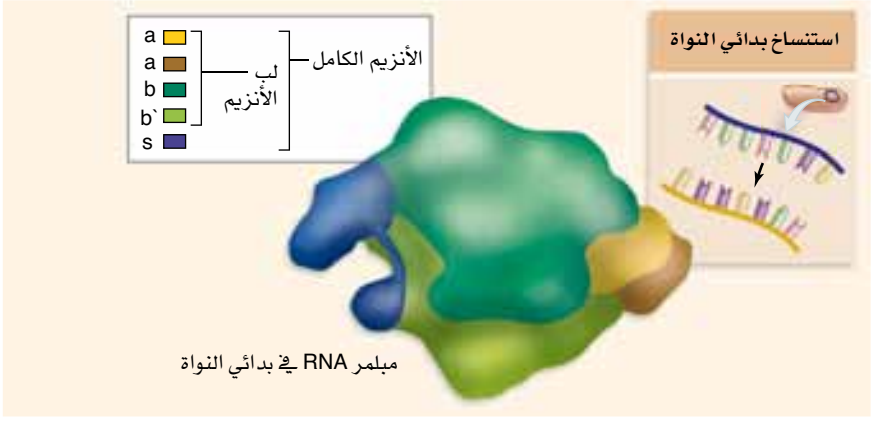
تشبه حركة مبلمر RNA على DNA حركة الماء في جدول. يمكن أن نتحدث عن المواقع على DNA على أنّها "أعلى الجدول" أو "أسفل الجدول" بالنسبة إلى موقع الاستهلال.

أيضًا، يمكن استخدام هذا النظام البسيط لترقيم القواعد على DNA نسبة إلى المواقع على وحدة الاستنساخ. فتأخذ القاعدة الأولى في وحدة الاستنساخ الرقم 1+، ويستمر الترقيم أسفل الجدول حتى نصل آخر قاعدة منسوخة. وتأخذ أيّ قاعدة في أعلى الجدول أرقامًا سالبة ابتداءً من 1-.

الْمُحفِّز تعاقبات قصيرة من القواعد في أعلى الجدول بالنسبة إلى نقطة الاستهلال. لذا، لا يتم استنساخها عن طريق المبلمر. يوجد تعاقبان شائعان في محفِّزات البكتيريا يتكون كلّ منهما من 6 قواعد: الأولى تقع على بعد 35 نيوكليوتيدًا أعلى الجدول من نقطة البداية (35-)، والثانية تقع على بعد 10 نيوكليوتيدات أعلى الجدول من نقطة البداية (10-) (الشكل 15 – 5 ب). يضفي هذان الموقعان على الْمُحفِّز عدم تناظر؛ فهما لا يشيران إلى موقع الاستهلال فقط، بل إلى اتجاه الاستنساخ أيضًا.

الشكل 15-5

مبلمر RNA البكتيري واستهلال الاستنساخ. أ. مبلمر RNA له شكلان: لبّ المبلمر والأنزيم الكامل. ب. تتعرف تحت وحدة σ في الأنزيم الكامل على العنصرين 35- و 10- في الْمُحفِّز، وترتبط مع DNA. ينفكّ الحلزون عند منطقة 10-، ويبدأ الاستنساخ عند نقطة الاستهلال في 1+.



مبلمر RNA في بدائي النواة

أ.

يعدّ ارتباط مبلمر RNA بالْمُحفِّز الخطوة الأولى في عملية الاستنساخ. يتم التحكم في الارتباط بالْمُحفِّز عن طريق تحت وحدة σ التي هي جزء من الأنزيم الكامل لمبلمر RNA، والتي تتعرف إلى تعاقب 35- في الْمُحفِّز، وتضع مبلمر RNA على موقع الاستهلال الصحيح ومتوجهًا للاستنساخ في الاتجاه الصحيح.

عندما يرتبط مبلمر RNA بالْمُحفِّز، يبدأ بفكّ حلزون DNA عند موقع 10- (الشكل 15 – 5 ب). يغطي المبلمر منطقة طولها 75 زوجًا قاعديًّا، ويفكّ التفاف 12 – 14 زوجًا قاعديًّا.

استقصاء

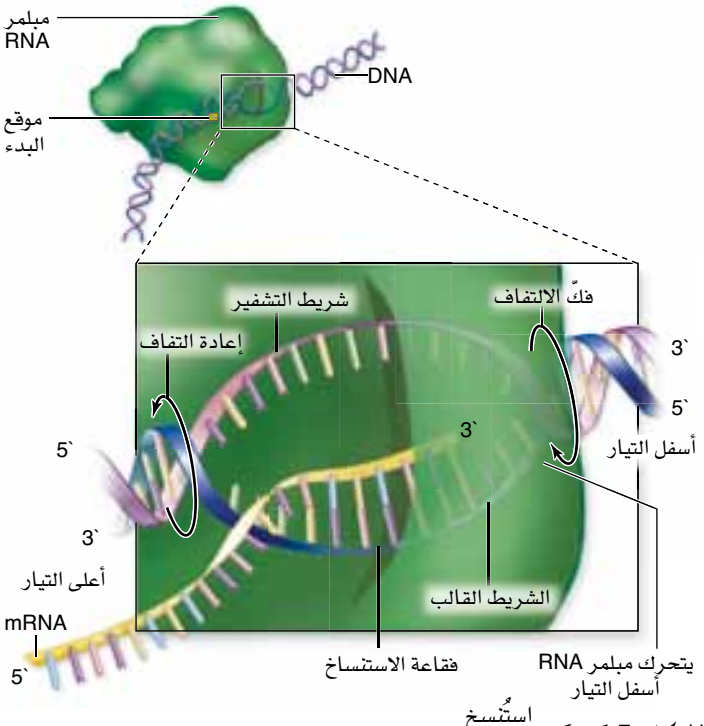
لدى محفّز بدائي النواة عنصران مميزان وغير متطابقين. ما أهمية ذلك في استهلال الاستنساخ؟

تضيف الاستطالة نيوكليوتيدات متتالية

تبدأ عملية استنساخ سلسلة RNA في بدائيّات النّوى عادة بـ ATP أو GTP، حيث تشكل إحداهما طرف ′5 للسلسلة التي تنمو في اتجاه ′5 ⇐ ′3 في حين تضاف النيوكليوتيدات الرايبوزية. عند خروج مبلمر RNA من منطقة الْمُحفِّز لا تعود هناك حاجة لتحت الوحدة مع أنّها قد تبقى مرتبطة مع الأنزيم.

إن عملية الخروج من منطقة الْمُحفِّز التي تسمى التخلص *Clearance* أو الهروب *Escape*، تتضمن أكثر من إضافة أول مجموعة نيوكليوتيدات للنسخة، ثُمَّ المضي قُدُمًا؛ لأنّ الأنزيم اتصل بقوة مع DNA في أثناء الاستهلال. إنّ من الضروري تحطيم هذا الاتصال القوي مع منطقة الْمُحفِّز؛ ليتمكن المبلمر من التحرك قدمًا في اتجاه أسفل القالب. يمرّ مبلمر RNA بعملية تغيير تركيبي خلال مرحلة التخلّص ما يؤدي إلى تقليص عدد الروابط مع الْمُحفِّز، بحيث تكون أقل ما كانت عليه في الارتباط الاستهلالي مع الْمُحفِّز.

تسمى المنطقةُ التي تضم مبلمر RNA و DNA القالبَ، وتعاقبُ RNA المنسوخ **فقاعةَ الاستنساخ Transcription bubble**؛ لأنها تضم DNA منفتح الحلزون موضعيًّا "فقاعة" (الشكل 15 – 6). ضمن الفقاعة، ترتبط القواعد التسع الأولى من تعاقب RNA الجديد النامي مع شريط DNA القالب. يعمل هذا على تثبيت تموضع الطرف ′3 RNA ليتمكن من التفاعل مع النيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات القادمة. يغطي الأنزيم 50 زوجًا قاعديًّا من DNA تقريبًا حول فقاعة الاستنساخ.



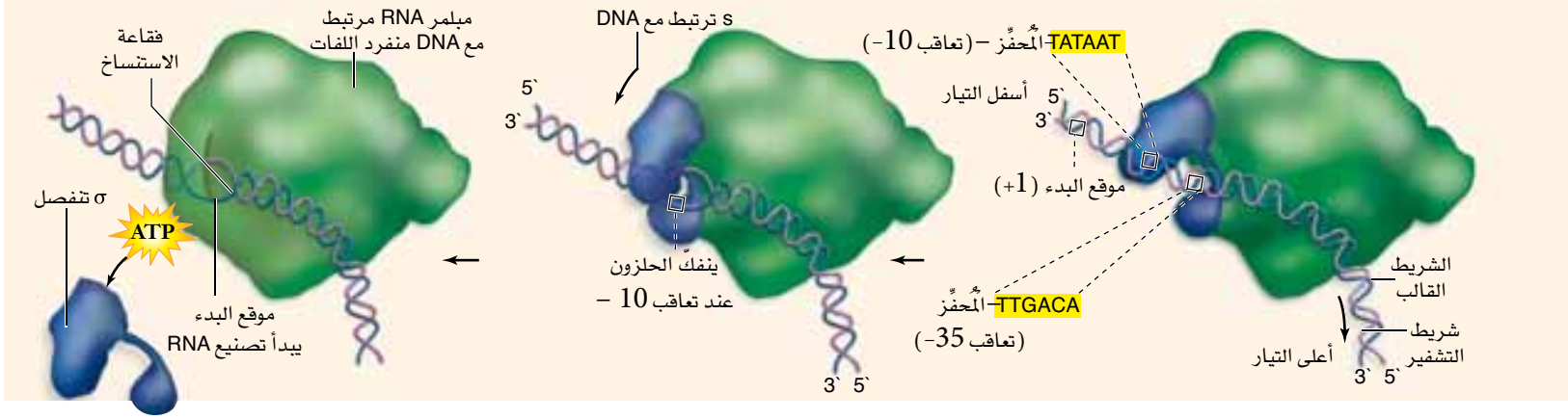
الشكل 15 – 6

نموذج فقاعة الاستنساخ. يُفكّ حلزون DNA عن طريق مبلمر RNA، ويعاد التفافه عند نهاية الفقاعة. يقوم أحد شريطي DNA بالعمل بوصفه قالبًا، ويتم تجميع نيوكليوتيدات RNA طبقًا له. يتكون جزء قصير من DNA– RNA الهجين في داخل الفقاعة.

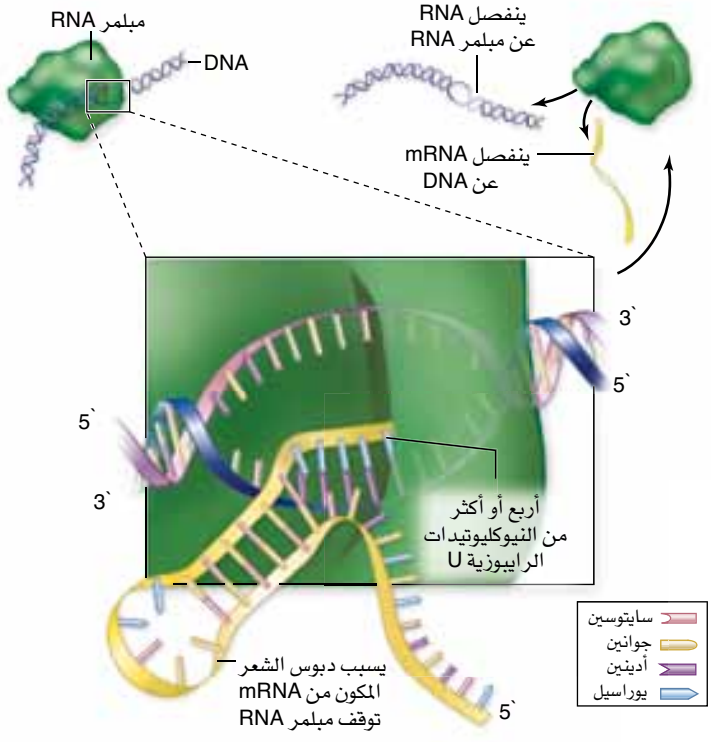
تسير فقاعة الاستنساخ التي كوّنها مبلمر RNA على DNA البكتيري بمعدل ثابت 50 نيوكليوتيد/ ث تقريبًا، مع بروز تعاقب RNA قيد النموّ من هذه الفقاعة. بعد مرور الفقاعة يتم إعادة التفاف DNA الذي استُنسخ إلى الشكل الحلزوني.

يحدث الإيقاف عند مواقع معينة

تتميز نهاية وحدة الاستنساخ البكتيري بوجود تعاقبات الموقِف التي تشير إلى مبلمر RNA "بالتوقف". ويؤدي الوصول إلى تلك النقطة إلى توقف تكون روابط الفوسفات ثنائية الإستر، وإلى انفصال DNA–RNA الهجين داخل فقاعة الاستنساخ، وابتعاد مبلمر RNA عن DNA، وإعادة التفاف DNA.



ب.



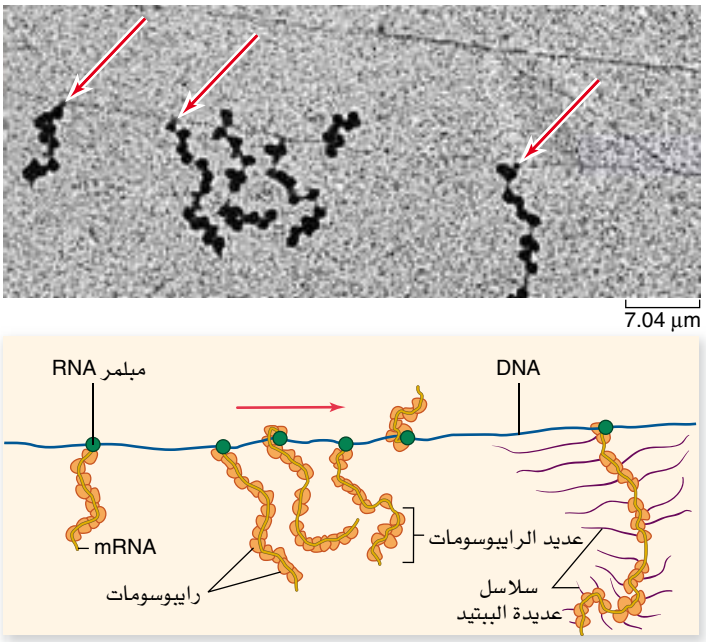
الشكل 15–7

مُوقِف الاستنساخ البكتيري. تُكَوِّن منطقة G–C المكملة لنفسها ساقًا مزدوج الأشرطة مع طوق مكوّن من شريط أحادي يُسَمَّى دبوس الشعر (البُكلة). ويُكَوِّن تتالي U هجينًا من DNA-RNA أقل استقرارًا، فيسقط من الأنزيم.

يتكون أبسط المُوقفات من تعاقب من أزواج القواعد G–C متبوعة بتعاقب من أزواج قواعد A–T. تستطيع نسخة RNA في منطقة التوقف أن تكوّن تركيبًا مزدوج الأشرطة عند منطقة GC تحديدًا، فتسمى دبوس الشعر *Hairpin*، ويتبعها أربعة أو أكثر من النيوكليوتيدات الرايبوزية من اليوراسيل (U) (الشكل 15 – 7). يؤدي تكون دبوس الشعر إلى توقف مبلمر RNA، واضعًا إياه فوق قواعد اليوارسيل الأربعة. إن ازدواج اليوارسيل (U) مع أدينين (A) في DNA هو أضعف الأزواج القاعدية الأربعة الهجينة، وهو ليس قويًّا بشكل كافٍ لتثبيت الشريط الهجين، عندما يتوقف المبلمر. يؤدي هذا إلى انفصال شريط RNA عن DNA داخل فقاعة الاستنساخ وتوقف المبلمر. هناك كثير من العوامل البروتينية التي تشارك في عملية إيقاف الاستنساخ.

تقترن عملية الاستنساخ في بدائيّات النّوى مع الترجمة

تبدأ عملية الترجمة في بدائيّات النّوى قبل الانتهاء من عملية الاستنساخ. بمعنى أنهما مقترنتان *Coupled* (الشكل 15 – 8). فبمجرد ظهور طرف 5′ للرسول mRNA ترتبط الرايبوسومات به، وتبدأ الترجمة. (لا يحدث هذا الاقتران في حقيقيّات النّوى؛ لأن الاستنساخ يحدث في النواة. في حين تحدث الترجمة في السيتوبلازم).



الشكل 15–8

الاستنساخ والترجمة مقترنان في البكتيريا. في هذه الصورة المأخوذة بالمجهر الإلكتروني لعملية التّعبير الْجينيّ في البكتيريا، تبدو الترجمة، وهي تحدث في أثناء الاستنساخ، وتشير الأسهم إلى مبلمر RNA والرايبوسومات، وهي مرتبطة بـ mRNA الممتد من المبلمر. لا تظهر عديدات الببتيد في الصورة، ولكن تَمَّ إضافتها إلى الرسم في آخر mRNA.

هناك فرق آخر بين التّعبير الْجينيّ في بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى، وهو أن mRNA الذي ينتج في بدائيّات النّوى قد يحتوي على جينات عدة. تنتظم الجينات في بدائيّات النّوى عادة، بحيث تكون الجينات التي تشفر وظائف مترابطة، مجتمعة مع بعضها. يُسَمَّى تجمع الجينات ذات الصلة الوظيفية **المنطقة الفعالة Operon**.

تتكون المنطقة الفعالة من وحدة استنساخ تحمل الشّيفرة لأنزيمات عدة تعمل في مسار كيميائي حيوي معين. إنّ تجميع الجينات بحسب الوظيفة يمكِّن من التحكم فيها، وتنظيم عملها بشكل جماعي، وسوف نعود إلى هذا الموضوع في الفصل الآتي.

لمبلمر RNA البكتيري شكلان: لب المبلمر، وله نشاط تصنيعي، والأنزيم الكامل الذي يستطيع استهلال الاستنساخ بدقة. يبدأ الاستنساخ في بدائيّات النّوى عند منطقة تسمى الْمُحفِّز التي يتم التّعرّف إليها من قبل الأنزيم الكامل. تتألف عملية الاستطالة من تصنيع عن طريق لب مبلمر RNA حتى يصل إلى منطقة المُوقِف، حيث يتوقف، التصنيع، وتنفصل النسخة عن الأنزيم.

15-5 الاستنساخ في حقيقيّات النّوى

تتشابه الآلية الأساسية للاستنساخ عن طريق مبلمر RNA بين بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى، إلا أن تفاصيل العمليتين تختلف بدرجة كافية ما يحتم التفكير فيهما بشكل منفصل. سنركز على كيفية اختلاف أنظمة حقيقيّات النّوى عن أنظمة بدائيّات النّوى. ويمكن افتراض أن السمات الأخرى جميعها متشابهة.

لدى حقيقيّات النّوى ثلاثة مبلمرات RNA

خلافًا لبدائيّات النّوى التي تمتلك أنزيم مبلمر RNA واحد، فإنّ حقيقيّات النوى تمتلك ثلاثة أنواع من مبلمرات RNA التي يمكن التمييز بينها في التركيب والوظيفة. يقوم **مبلمر RNA الأول RNA polymerase I** باستنساخ RNA الرايبوسومي، ويستنسخ **مبلمر RNA الثاني RNA polymerase II** mRNA الرَّسول وبعض RNA النووي الصغير، ويستنسخ **مبلمر RNA الثالث RNA polymerase III** tRNA الناقل وبعضًا من RNAs الصغير الآخر. تقوم هذه المبلمرات جميعها باستنساخ كلّ ما تحتاج إليه الْخليّة من RNA وذلك في داخل النواة.

لدى كلّ مبلمر محفِّز خاص به

يتطلب وجود ثلاثة مبلمرات RNA مختلفة إشارات مختلفة لدى DNA للسماح لكلٍّ مبلمر بالتّعرّف إلى نقطة بداية الاستنساخ. لذا، فإنّ كلّ مبلمر يتعرف إلى تركيب محفِّز مختلف عن الآخر.

محفِّزات مبلمر *RNA* الأول

حيّرت محفِّزات مبلمر RNA الأول علماء الحياة في البداية؛ لأنّ مقارنة جينات rRNA الرايبوسومي في الأنواع المختلفة من المخلوقات لم تبين وجود تشابهات خارج منطقة التشفير. تشير المعلومات الحالية إلى أنّ الْمُحفِّزات نوعية تبعًا لكلِّ نوع من المخلوقات، ولهذا السبب، فإنّ المقارنة بين الأنواع لا تُظهر أيَّ تشابه.

محفِّزات مبلمر *RNA* الثاني

تعدّ محفِّزات مبلمر RNA الثاني من أكثر الْمُحفِّزات تعقيدًا بين الأنواع الثلاثة؛ ربما لكثرة أعداد الجينات وتنوعها التي يستنسخها مبلمر RNA الثاني. وعندما عزلت أول جينات لحقيقيّات النّوى، كان لدى كثير منها تعاقب يُسَمَّى **صندوق TATA TATA box** والموجود في أعلى الجدول من نقطة الاستهلال. يشبه هذا التعاقب تعاقب 10 –الموجود في بدائيّات النوى، وافترض أنّه العنصر الْمُحفِّز الأساسي. مع ظهور التعاقب الكامل للمحتوى الْجينيّ، تَمَّ تحليل عدد أكبر، وأُثبت أنّ ذلك الافتراض مبسط بدرجة كبيرة. ولهذا، فقد استبدل بفكرة "لبّ الْمُحفِّز" الذي يمكن أن يتألف من عناصر عدة من ضمنها صندوق TATA، أما العناصر الأخرى فمرتبطة بوظائف تتعلق بالتّعبير الْجينيّ النوعي للنسيج، أو بالتّعبير المحدد بزمن التطور الجنيني (الفصل 16).

محفِّزات مبلمر *RNA* الثالث

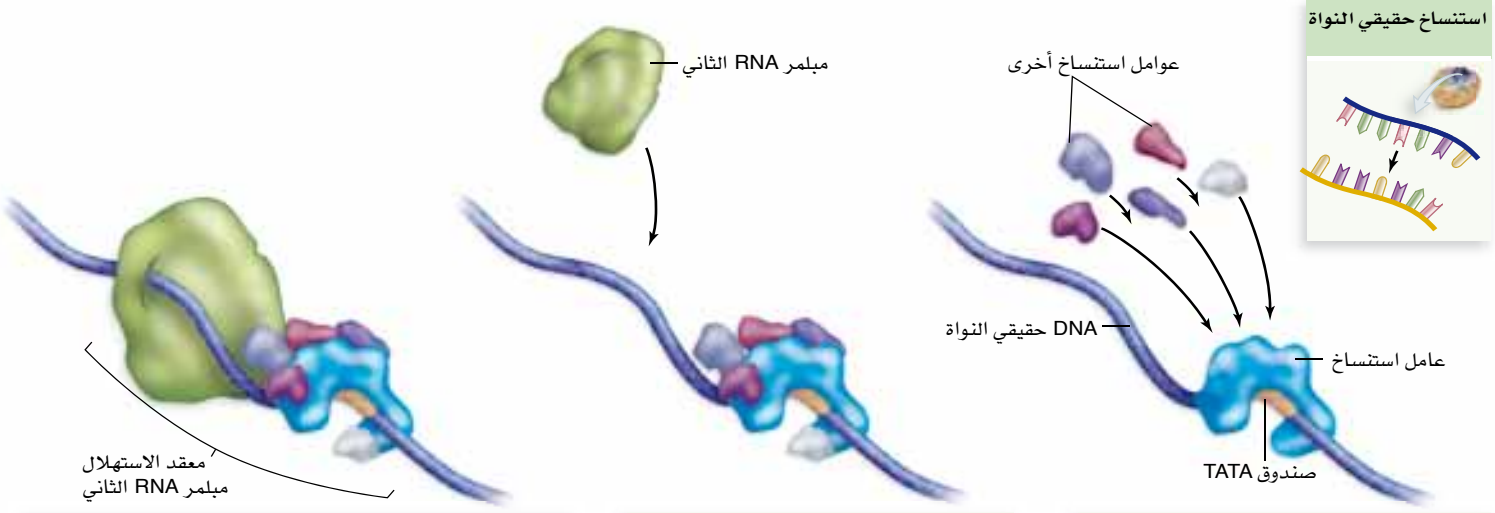
كانت محفِّزات مبلمر RNA الثالث أيضًا مصدر استغراب من قبل علماء الحياة مع بداية ظهور علم البيولوجيا الجزيئية، وفي أثناء دراستهم للتحكم في التّعبير الْجينيّ في حقيقيّات النوى. إحدى الطرق الشائعة المتبعة عند دراسة مناطق التحكم الْجينيّ تتلخص في إزالة طرف ′5 التابع للجين وبشكل متسلسل، حتى تزال كمية كافية لتتوقف عملية الاستنساخ. وقد اتبع العلماء المنطق والخبرة التي تَمَّ الحصول عليها من بدائيّات النّوى، حيث وُجدت مناطق التنظيم في نهاية ′5 للجينات. ولكن عند النظر إلى جين tRNA، لم يكن لإزالة طرف ′5 أي تأثير في التّعبير الْجينيّ! واتضح أن الْمُحفِّز موجود في داخل الجين نفسه، وليس خارجه.

تختلف عمليتا الاستهلال والإيقاف عن تلك الموجودة في بدائيّات النّوى

يشبه استهلال الاستنساخ عند محفِّزات مبلمر RNA الثاني الاستهلال في بدائيّات النوى، ولكنه معقد بدرجة أكبر. فبدلًا من أنْ يكون هناك عامل واحد يساعد على التّعرّف إلى الْمُحفِّز، تستخدم حقيقيّات النوى مجموعة من **عوامل الاستنساخ Transcripton factors**. هذه البروتينات ضرورية لإحضار أنزيم مبلمر RNA الثاني إلى الْمُحفِّز واستهلال التّعبير الْجينيّ.

يتفاعل كثير من عوامل الاستنساخ مع مبلمر RNA الثاني، وتشكل معه معقد الاستهلال عند الْمُحفِّز (الشكل 15 – 9). سنستعرض هذا المعقد بالتفصيل في الفصل 16 عند دراسة التحكم في التّعبير الْجينيّ.

ويختلف إيقاف استنساخ مبلمر RNA الثاني أيضًا عن ذلك الموجود في بدائيّات النوى. فعلى الرغم من وجود مواقع الإيقاف، فإنها ليست محددة، كما هي في بدائيّات النوى. وإنّ طرف mRNA لا يتكون عن طريق مبلمر RNA الثاني؛ لأنّ النسخة الأولية تُعَدَّلُ بعد الاستنساخ.



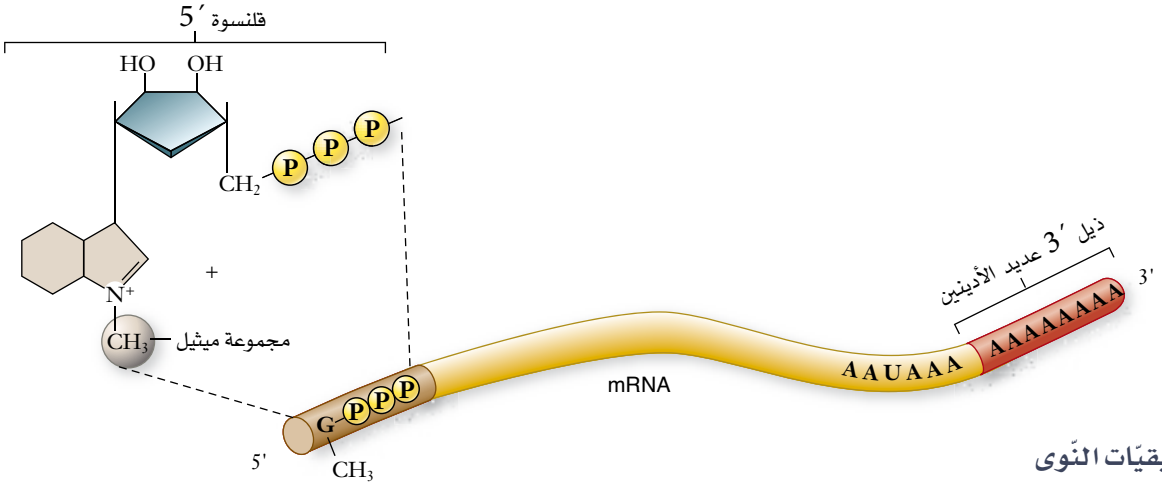
1. يتعرف عامل الاستنساخ، ويرتبط مع صندوق TATA وهو جزء من لبّ الْمُحفِّز.

2. يتم استقطاب عوامل استنساخ أخرى، ويبدأ بناء معقد الاستهلال.

3. في النهاية يتحد مبلمر RNA الثاني وعوامل الاستنساخ مع DNA، ويتم تشكيل معقد الاستهلال ليبدأ الاستنساخ.

الشكل 15 – 9

معقد الاستهلال في حقيقيّات النّوى. خلافًا للاستنساخ عند بدائيّات النّوى، حيث يقوم مبلمر RNA بالتّعرّف والارتباط بالْمُحفِّز، يتطلب الاستنساخ في حقيقيّات النّوى ارتباط عوامل استنساخ مع الْمُحفِّز أولًا، قبل أن يرتبط مبلمر RNA الثاني مع DNA. اتحاد عوامل الاستنساخ مع مبلمر RNA الثاني عند الْمُحفِّز يشكل ما يعرف معقد الاستهلال.



الشكل 15 – 10

تعديلات ما بعد الاستنساخ عند طرفي 5′ و3′. يعَدَّل mRNA حقيقيّات النّوى داخل النواة بإضافة GTP المُرتبط بالميثيل لطرف 5′ للنسخة، وتسمى قلنسوة 5′، وكذلك إضافة تعاقب طويل من الأدينين عند طرف 3′ للنسخة، ويُسَمَّى ذيل عديد الأدينين.

يعَدَّل RNA المستنسخ في حقيقيّات النّوى

إنّ فرقًا أساسيًّا بين بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى يتمثل في مصير النسخة نفسها. إذ تحدث تعديلات عدة على النسخة الأولية المصنوعة عن طريق مبلمر RNA الثاني في المرحلة ما بين الاستنساخ في النواة وإخراج mRNA الناضج إلى السيتوبلازم. نسمي RNA المصنوع عن طريق مبلمر RNA الثاني **النسخة الأولية Primary tanscript** أما النسخة النهائية المعدلة فتسمى **mRNA الناضج Mature mRNA**.

قلنسوة 5′

يُضاف مركب غير عادي على طرف 5′ من mRNA في حقيقيّات النّوى. عادة ما تكون أول قاعدة في النسخة إما أدينين (A) أو جوانين (G)، ويتم تعديلها بإضافة GTP إلى مجموعة الفوسفات عند طرف 5′ لتشكل ما يعرف **بقلنسوة cap5′ 5′** (الشكل 15 – 10). يُرتبط نيوكليوتيد الجوانين (G) الموجود في القلنسوة بالنسخة من خلال طرفها 5′؛ وهي الحالة الوحيدة التي يتم فيها الربط في اتجاه 5′ ⇐ 3′ في الأحماض النووية. ويتم تعديل G في GTP بإضافة مجموعة الميثيل لتصبح **قلنسوة ميثيل الجوانين methyl-G Cap**، وتضاف القلنسوة في أثناء سير عملية الاستنساخ. تعمل القلنسوة على حماية النهاية 5′ لـ mRNA من التحطيم، وتشارك في عملية الترجمة.

الذيل عديد الأدينين

إنّ الفرق الرئيس بين الاستنساخ في بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى يتمثل في أنّ نهاية النسخة ليست نهاية mRNA. تقطع نسخة mRNA أسفل الجدول عند موقع محدد هو (AAUAAA) يقع قبل موقع إيقاف الاستنساخ. ثُمَّ يضاف تعاقب من الأدينين (A) يُسَمَّى ذيل **عديد الأدنين Ploy-A tail** عن طريق أنزيم مبلمر **عديد الأدينين Poly-A polymerase**. لذا، فإنّ نهاية mRNA لا تصنع عن طريق مبلمر RNA الثاني، وليست نهاية النسخة (الشكل 15 – 10).

يُعَدُّ أنزيم مبلمر عديد الأدينين جزءًا من معقد يتعرف إلى موقع عديد الأدينين، ويقطع النسخة، ثُمَّ يضيف 1 – 200 أدينين إلى الطرف. ويظهر أنّ ذيل عديد الأدينين يؤدي دورًا في استقرار mRNA من خلال حمايته من التحطيم (الفصل الـ16).

وَصْل النسخة الأولية

قد تحتوي جينات حقيقيّات النّوى على سلاسل غير مشفِّرة، ويجب إزالتها لإنتاج mRNA النهائي. تسمى العملية وصل سابق mRNA، التي تتم عن طريق عضيّات تسمى جسيم الوَصْل *Spliceosome*. سيُناقش هذا الموضوع في الجزء الآتي.

تحتوي حقيقيّات النّوى على ثلاثة مبلمرات RNA، هي: الأول، والثاني، والثالث. كلّ منها مسؤول عن تصنيع نوع معين من RNA ويتعرف إلى المُحفِّز الخاص به. مبلمر RNA الثاني هو المسؤول عن تصنيع mRNA. يتم تعديل mRNA الأوّلي بإضافة قلنسوة 5′ وذيل 3′ عديد الأدينين الذي يتألف من 1 – 200 أدينين. تتم إزالة المناطق غير المشفِّرة عن طريق الوَصْل.

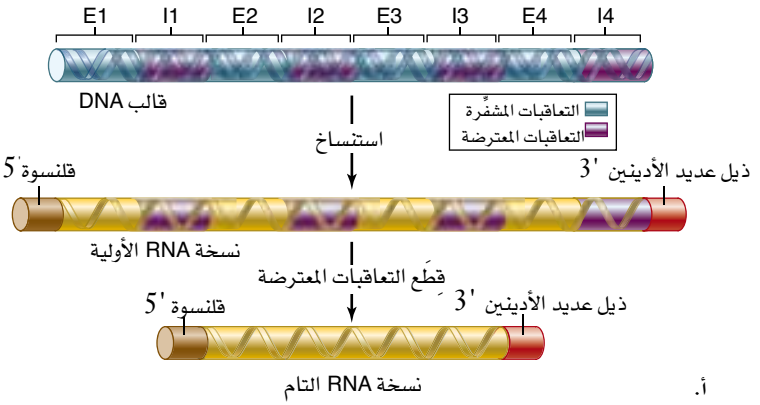
6-15 وَصْل سابق mRNA في حقيقيّات النوى

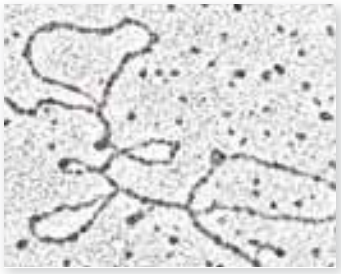
إنّ أول مجموعة من الجينات التي عُزلت كانت جينات بدائيّات النّوى الموجودة في بكتيريا *E.coli* وفيروساتها. ولقد ظهر من دراسة هذه الأنظمة صورة واضحة تبين طبيعة الجينات وبعض جوانب التحكم في التّعبير الْجينيّ قبل أن يتم عزل أيٍّ من جينات حقيقيّات النّوى. وعلى الرغم من وجود اختلافات في التفاصيل، افترض أن يكون الخط العام للتعبير الْجينيّ في حقيقيّات النّوى مشابهًا لبدائيّات النّوى. ولكن ذُهل عالَم البيولوجيا عندما تَمَّ عزل أول مجموعة جينات من مخلوقات حقيقيّات النّوى.

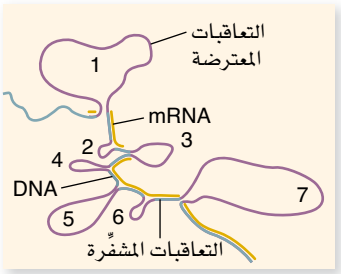
قد تحتوي جينات حقيقيّات النّوى على فواصل

ظهر كثير من جينات حقيقيّات النّوى، وهي تحتوي على سلاسل غير موجودة في mRNA. من الصعب وصف كم كان هذا الاكتشاف مفاجئًا حينئذ. فقد كان المُعتقد السائد في البيولوجيا الجزيئية والمُعتَمِد على بكتيريا *E.coli* أن الجين يترافق طوليًّا *Colinear* مع البروتين الناتج منه، بمعنى أن تسلسل القواعد في DNA يتفق مع تسلسل القواعد في mRNA، الذي يتفق مع تسلسل الأحماض الأمينية في البروتين.

في حالة حقيقيّات النّوى، كانت الجينات مفصولة عن طريق تعاقبات غير موجودة في mRNA ولا في البروتين. ولقد استُخدِم مصطلح "الجينات المشطورة" "split gene" في ذلك الوقت. غير أنّ هذه التسمية التي بقيت قائمة تصف الطَّبيعيّة غير المُتوقعة لهذه التعاقبات. نسمِّي DNA غير المُشفِّر الذي يفصل بين تعاقبات الجين "التعاقبات المعترضة" "Intervening sequences" أو **المتدخلة Introns**، ونسمِّي التعاقبات التي تترجم إلى بروتين السلاسل **المشفِّرة Exons** لأنها تم التعبير عنها (الشكل 15 – 11).




ب.



جـ.

الشكل 15-11

تحتوي جينات حقيقيّات النّوى على تعاقبات معترضة وتعاقبات مشفِّرة.
أ. تحتوي جينات حقيقيّات النّوى على تعاقبات مشفِّرة وتعاقبات معترضة. ب. تظهر صورة المجهر الإلكتروني هجين mRNA و DNA لجين ألبومين البيض الذي يحتوي على سبعة تعاقبات معترضة. لا يوجد للتعاقبات المعترضة في DNA سلاسل مناظرة في mRNA ولذلك تظهر كسبع لفات أو حلقات. جـ. رسم تخطيطي للصورة.

استقصاء

كيف يمكن للجين نفسه أنْ يُشفِّر نسخًا مختلفة؟

جسيمات الوَصل هي عضيّات وَصْل

مازال بإمكاننا القول: إنّ mRNA التام في حقيقيّات النّوى يسير طوليًّا مع البروتين المُنْتَج، ولكن الجين الذي يحتوي على تعاقبات معترضة ليس كذلك.

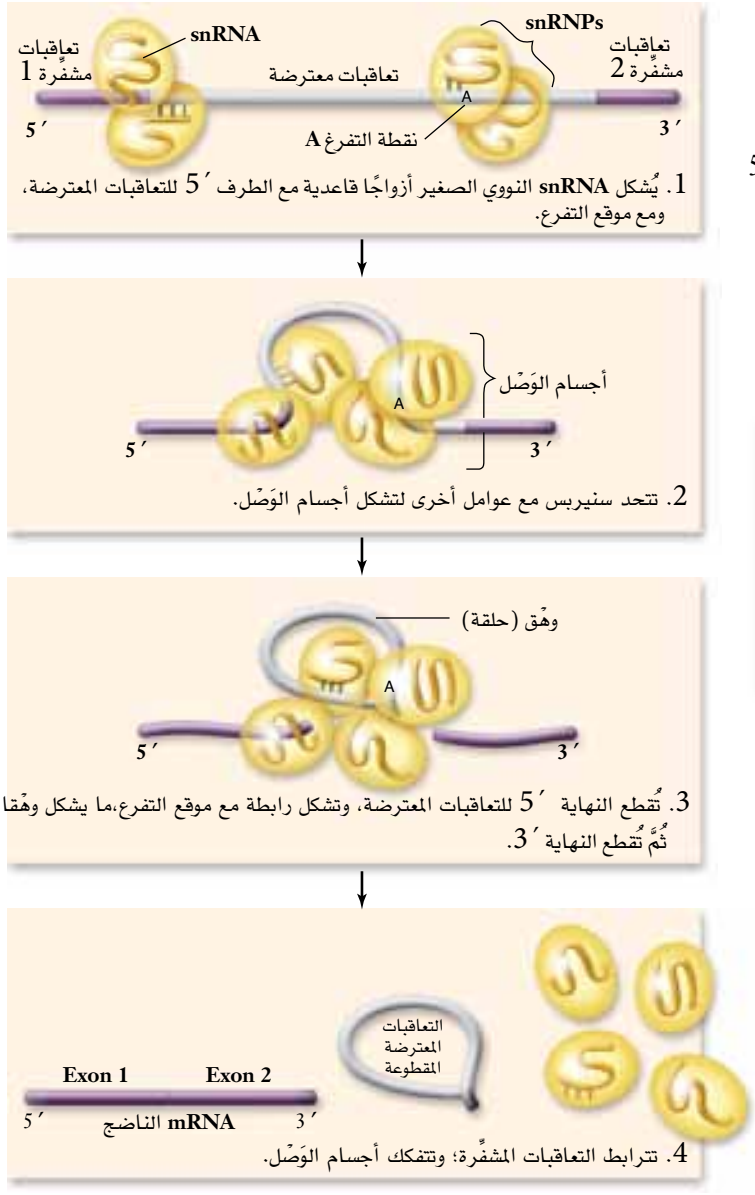
تخيل أنك تنظر إلى الطرق السريعة بين الولايات عن طريق قمر صناعي. سوف تظهر الطرق على شكل خيوط تتناثر عليها السيارات التي تسير فرادى أو على شكل مجموعات، وكذلك تظهر معظم الشوارع خالية. كذلك الأمر بالنسبة إلى جينات حقيقيّات النّوى، فهناك التعاقبات المشفِّرة المدمجة في التعاقبات المعترضة التي تفوقها في الطول.

في الإنسان، هناك 1 إلى 1.5% فقط من الجينات مكرسة للتعاقبات المشفِّرة للبروتين، في حين 24% مكرس للتعاقبات المعترضة غير المشفِّرة التي تندمج التعاقبات المشفِّرة بينها.

تفاعل الوَصْل

والسؤال الآن هو: كيف تتعامل خلايا حقيقيّات النّوى مع التعاقبات المعترضة غير المشفِّرة؟ الجواب: يتم تقطيع النسخة الأولية، ثُمَّ يُعاد وَصْلها لتنتج mRNA الناضج. تسمى هذه العملية وَصْل سابق **الرَّسول mRNA pre-mRNA splicing** وهي تحدث في النواة قبل أن يتم إخراج mRNA إلى السيتوبلازم.

يتم التّعرّف إلى نقاط التقاء التعاقبات المعترضة والتعاقبات المشفِّرة من



الشكل 15-12

وَصْل سابق mRNA عن طريق أجسام الوَصْل. تحتوي أجسام سنيربس على snRNA النووي الصغير الذي يتفاعل مع النهاية 5′ للتعاقبات المعترضة ونقطة التفرع داخلها. تتجمع أعداد من سنيربس مع بعضها ومع بروتينات أخرى لتكون أجسام الوَصْل. عندما تشكّل التعاقبات المعترضة الحلقة، يتم قطع النهاية 5′ وربطها مع موقع قرب النهاية 3′ للتعاقبات المعترضة. تُشكل التعاقبات المعترضة وهْقًا (حلقة) يتم قطعه، ثُمَّ يتبعها وَصْل التعاقبات المشفِّرة مع بعضهما. يتم تفكيك أجسام الوَصْل وتحرير mRNA الموصول.

قِبَل **دقائق الرايبونيكليوبروتين النووي الصغير Small nuclear ribonucleoprotein particles** وتختصر **snRNPs** (وتلفظ سنيربس "snurps"). تتكون سنيربس من معقد **snRNA** النووي الصغير وبروتين. تتجمع سنيربس هذه إضافة إلى بروتينات أخرى لتكون معقدًا أكبر يُسَمَّى **جسيمات الوَصْل Spliceosomes** وهي المسؤولة عن وَصْل التعاقبات المعترضة أو إزالتها.

حتى تتم عملية الوَصْل بشكل دقيق، على أجسام الوَصْل أن تتعرف إلى نقاط التقاء التعاقبات المعترضة والتعاقبات المشفِّرة. تبدأ التعاقبات المعترضة جميعها بالتعاقب

نفسه المكوَّن من قاعدتين، وتنتهي بقاعدتين أخريين وهما نفسهما عند التعاقبات المعترضة جميعها. إضافة إلى ذلك، يوجد في داخل التعاقبات المعترضة نيوكليوتيد أدنين (A) محافظ عليه، ويُسَمَّى نقطة التفرع *Branch point* وهي مهمة لتفاعل الوَصْل (الشكل 15 – 12).

تبدأ عملية الوَصْل بقطع النهاية ′5 للتعاقبات المعترضة. ومن ثُمَّ ترتبط مع مجموعة الهيدروكسيل OH التابعة لنقطة التفرع A لتصنع ما يشبه الوهْق lariat التي يستخدمها رعاة البقر عند الإمساك بالمواشي (انظر الشكل 15 – 12). تقوم نهاية ′3 للتعاقب المشفِّر الأول بتنحية النهاية ′3 للتعاقبات المعترضة، وبالربط بين التعاقبات المشفِّرة معًا ما يُحرر التعاقبات المعترضة كثنية.

لا تحدث عمليتا الاستنساخ والوَصْل بتعاقب خطي، ولكنهما تشكلان أجزاء من عملية منسقة لإنتاج mRNA الناضج. يحدث تفاعل إضافة القلنسوة بتزامن مع الوَصْل في أثناء الاستنساخ، ويقوم مبلمر RNA الثاني باستقطاب عوامل كثيرة مساعدة للمشاركة في عمل التعديلات على النسخة الأولية، وبذا تحدث عمليتا الاستنساخ ومعالجة سابق mRNA من خلال نظام متكامل.

توزيع التعاقبات المعترضة

لا توجد هناك قاعدة معينة تحدد عدد التعاقبات المعترضة في الجين أو حجمها. فبعض الجينات ليس لديها تعاقبات معترضة وبعضها الآخر لديه 50 تعاقبًا معترضًا. يتراوح حجم التعاقب المشفِّر من بضعة نيوكليوتيدات إلى 7500 نيوكليوتيد وينطبق المبدأ نفسه على التعاقبات المعترضة. يُفسر وجود التعاقبات المعترضة جزئيًّا السبب وراء وجود عدد قليل من "السلاسل المشفِّرة" في المادة الْوراثيَّة لحقيقيّات النّوى (انظر الفصل الـ 18 لترى نتائج مشروع المحتوى الْجينيّ في الإنسان).

إنّ أحد التفسيرات لسبب وجود التعاقبات المعترضة هو أن التعاقبات المشفِّرة تمثل الأجزاء الفعالة في البروتينات، وأنّ ترتيب التعاقبات المشفِّرة والتعاقبات المعترضة الموجود في الجينات ما هو إلا نتيجة عملية خلط لهذه الأجزاء الفعالة التي حدثت خلال مدد طويلة من زمن التّطوّر. اقترحت فرضية خلط التعاقب المشفِّر *Exon shuffling* بعد زمن قصير من اكتشاف التعاقبات المعترضة، وهي ما زالت موضع نقاش طوال هذه السنين.

إنّ تدفق البيانات عن المحتوى الْجينيّ قد ألقى الضَّوء على هذا الموضوع، وذلك بعد استخدام التحليلات الإحصائية المتعلقة بمواقع التعاقبات المشفِّرة والتعاقبات المعترضة وتركيب كلٍّ منهما. أضفت هذه التحليلات دعمًا لفرضية خلط التعاقب المشفِّر الذي حدث لكثير من الجينات، إلا أنّه من الواضح أنّها لا تزال لا تلقى قبولًا واسعًا، حيث لا تبدي البروتينات جميعها هذا النمط. يُحتمل ألا تكون التعاقبات المعترضة قد جاءت من مصدر واحد، ومن ثم لا يمكن تفسيرها من خلال فرضية واحدة.

بإمكان الوَصْل أن ينتج نسخًا عدة من الجين نفسه

إحدى النتائج المترتبة على عملية الوَصْل هي التعقيد الأكبر للتعبير الْجينيّ في حقيقيّات النّوى. بإمكان نسخة أولية واحدة أن تنتج نسخًا مختلفة من mRNA من خلال عملية الوَصْل، حيث يتم ضم أطقم مختلفة من التعاقبات المشفِّرة في كلّ mRNA. تسمى هذه العمليةُ **الوَصْلَ المتبادَلَ Alternative splicing**.

تشير الأدلة إلى أنّ النمط الطّبيعي للوَصْل مهم لوظائف المخلوقات. وقد قُدِّر أنّ 15% من الاضطرابات الْوراثيَّة في الإنسان يرجع سببها إلى تغيير في عملية الوَصْل. فبإمكان طفرات الوَصْل أن تُدخِل مواقع جديدة للوَصْل، أو تلغي النمط الطبيعي له. وهذا يؤدي إلى حدوث خلل وراثي (سوف ندرس في الفصل الـ 16 كيفية استخدام الوَصْل المتبادل لتنظيم التّعبير الْجينيّ).

وعلى الرغم من توثيق كثير من حالات الوَصْل المتبادل، فإنّ الانتهاء من مسوّدة تعاقب المحتوى الْجينيّ في الإنسان الذي تَمَّ حديثًا، مصحوب بكمّ هائل من البيانات المتعلقة بالسلاسل المعبَّر عنها، كلّ ذلك ساعد على تسهيل عقد المقارنات على مستوى واسع بين السلاسل الموجودة في mRNA وفي المحتوى الْجينيّ. ولقد تَمَّ استخدام ثلاث برمجيات تحليلية مختلفة، وأظهرت نتائج شبه متقاربة. فهناك 35% إلى 59% من جينات الإنسان تظهر شكلًا من أشكال الوَصْل المتبادل. وإذا ما أخذنا نسبة متوسطة 40%، فإنّ هذه النتيجة سوف تزيد بشكل كبير عدد البروتينات المُشَفَّرة من قِبَل 25,000 جين من المحتوى الْجينيّ للإنسان.

من الأهمية الإشارة إلى أنّ هذه التحاليل تعتمد على برمجيات حاسوبية في الأساس، وأنّ جزءًا صغيرًا من الجينات المحتمل أن تكون جينات وَصْل قد تَمَّ دراستها. مع ذلك، تفسر هذه التحاليل كيف يشفِّر 25,000 جين من المحتوى الْجينيّ للإنسان إنتاج ما يزيد على 80,000 mRNA مختلف موجود في خلايا الإنسان. ويعالج علم البروتينات Proteomics الحديث دراسة عدد ووظائف البروتينات وتحليلها التي يشفرها المحتوى الْجينيّ للإنسان.

تحتوي جينات حقيقيّات النّوى على مناطق تعاقبات مشفِّرة يتمّ التّعبير عنها، وتعاقبات معترضة تفصل بين التّعاقبات المشفِّرة. تُزال التّعاقبات المعترضة عن طريق جسيمات الوَصْل تاركة التّعاقبات المشفِّرة لترتبط ببعضها. يُوَلِّد الوَصْل المتبادل نسخًا مختلفة من mRNA، ومن ثم بروتينات مختلفة من الجين الواحد. تشير التقديرات الحديثة إلى أنّ نصف جينات الإنسان تمرّ بعملية الوَصْل المتبادل.

7-15 تركيب tRNA والرايبوسومات

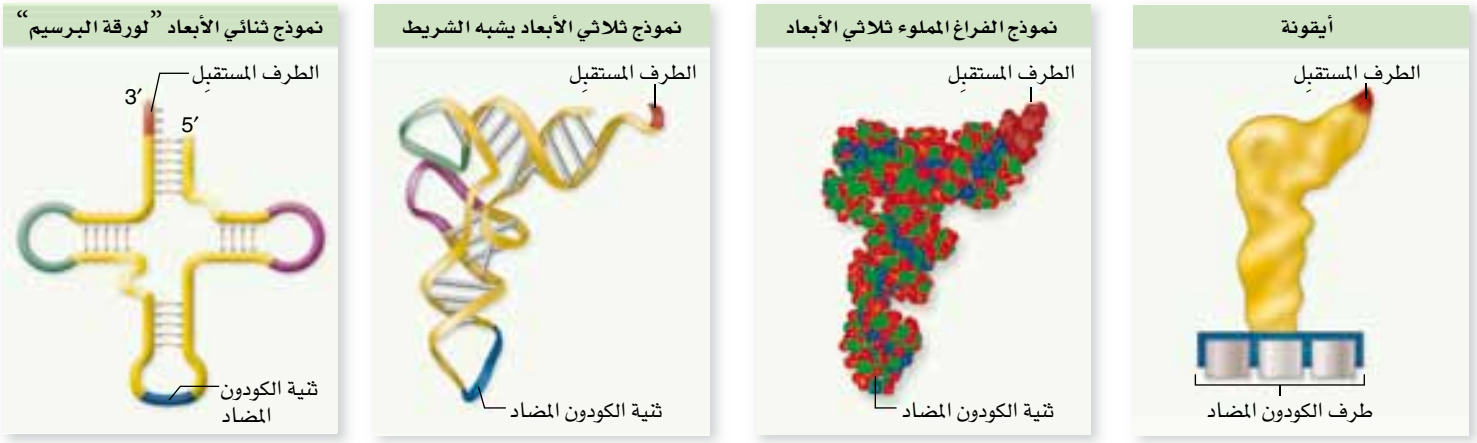
الرايبوسومات عضيّات أساسية في عملية الترجمة، ولكنها تحتاج أيضًا إلى مشاركة كلّ من mRNA، tRNA إضافة إلى عوامل مساعدة أخرى. من أهم الأمور المتعلقة بهذه العملية هو ارتباط الرايبوسومات بـ mRNA وtRNA. ولفهم هذا الأمر، علينا أنْ ندرس تركيب tRNA بوصفه جزيئًا وسيطًا، وكذلك تركيب الرايبوسوم نفسه.

تقوم الأنزيمات المخلقة لمعقد tRNA الناقل والحمض الأميني بربط الأحماض الأمينية مع tRNA

حتى تسير عملية الترجمة بشكل صحيح، يجب على كلّ حمض أميني أنْ يرتبط مع tRNA الخاص به الذي يحمل الكودون المضاد. يقوم بعملية الربط بين الحمض الأميني وtRNA أنزيمٌ يُسَمَّى مخلقَ معقد tRNA **والحمض الأميني Aminoacyl-tRNA synthetases**. هناك أنزيم خاص بكلِّ حمض من الأحماض الأمينية العشرين.

تركيب *tRNA*

RNA الناقل جزيء ذو وظيفتين: إذ يجب أنْ تكون لديه القدرة على الارتباط مع mRNA ومع الأحماض الأمينية. تركيب tRNA محافظ عليه بدرجة عالية في الأنظمة الحية جميعها، ويأخذ شكل ورقة البرسيم بسبب تكون ازدواج القواعد ما يصنع مناطق ذوات أشرطة مزدوجة، ثُمَّ يتمّ طيّ هذا الشكل في الفراغ ليأخذ شكل حرف **L** المحتوي على نهايتين وظيفيتين: إحداهما تسمى **الساق المستقبِل Acceptor stem** والأخرى تسمى **عروة الكودون المضاد Anticodon loop** (الشكل 15 – 13).



الشكل 15–13

تركيب tRNA. يصنع ازدواج القواعد في مركب tRNA ثلاث سيقان وثنيات، وهي شكل يشبه ورقة البرسيم. تحتوي الساق السفلية على الكودون المضاد الذي يزدوج مع الكودون على mRNA. ترتبط الأحماض الأمينية مع مجموعة OH ___ الموجودة على الطرف الحرّ للشريط الفردي للساق المستقبِلة. في الشكل ثلاثي الأبعاد النهائي تنطوي ثنيات tRNA لتأخذ شكل حرف L المقلوب.

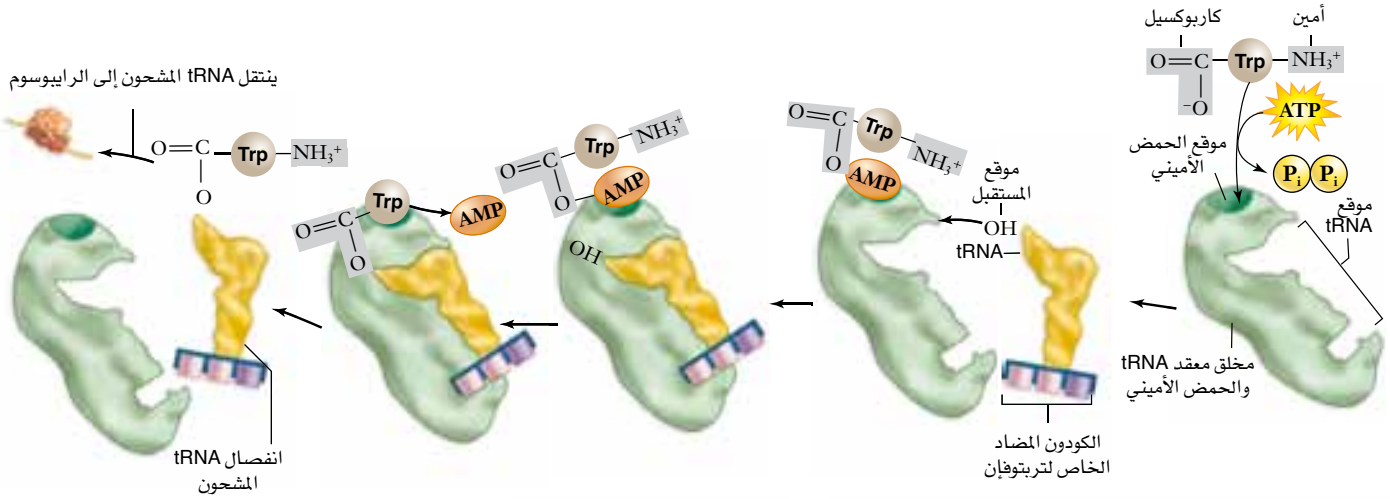
الساق المستقبلة هي النهاية ′3 لجزيء tRNA، وتنتهي دائمًا بتعاقب ′3 CCA ′5. يستطيع الحمض الأميني أنْ يرتبط بهذه النهاية. أما الكودون المضاد فيوجد في أسفل ورقة البرسيم، ويمكن أن تزدوج قواعده مع الكودون في mRNA.

تفاعل الشحن

يجب على الأنزيم مخلق معقد tRNA والحمض الأميني أن يتمكن من التّعرّف إلى جزيئات tRNA معينة إضافة إلى الحمض الأميني المطابق لها. وعلى الرغم من وجود 61 كودونًا للأحماض الأمينية، فإنه لا يوجد 61 tRNA في الخلايا، ويختلف العدد من نوع إلى آخر. لذا، فعلى بعض مخلقي معقد tRNA والحمض الأميني أن يتمكن من التّعرّف إلى أكثر من tRNA – ولكن على كلّ أنزيم أن يتعرف إلى حمض أميني واحد فقط.

يُسَمَّى التفاعلُ الذي يقوم هذا الأنزيم بتسريعه **تفاعلَ الشّحن Charging reaction**. ويكون الناتج حمضًا أمينيًّا مرتبطًا مع tRNA ويُسَمَّى tRNA المشحون *Charged tRNA*. يتم تزويد الطاقة لهذا التفاعل الماص للحرارة عن طريق ATP. ويصبح tRNA المشحون الناتج عن هذا التفاعل مركبًا وسيطًا مفعّلًا يمكنه تشكيل رابطة ببتيدية دون الحاجة إلى إضافة طاقة.

يقوم تفاعل الشحن بربط الساق المستقبلة مع مجموعة الكاربوكسيل الطرفية للحمض الأميني (الشكل 15 – 14). إنّ المحافظة على الاتجاهات مهم جدًا



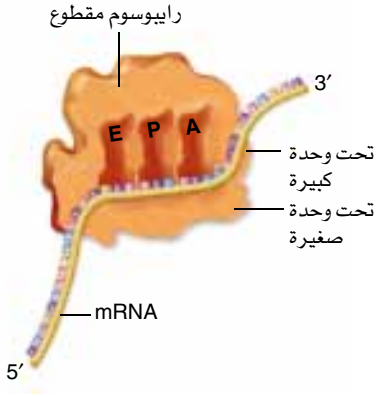
1. في الخطوة الأولى من التفاعل، يُنشَّط الحمض الأميني. يتفاعل الحمض الأميني مع ATP لإنتاج مركب وسيط يرتبط فيه AMP بمجموعة الكاربوكسيل في نهاية الحمض الأميني. تُقطع مجموعتا الفوسفات الطرفيتان من ATP على شكل بيروفوسفات.

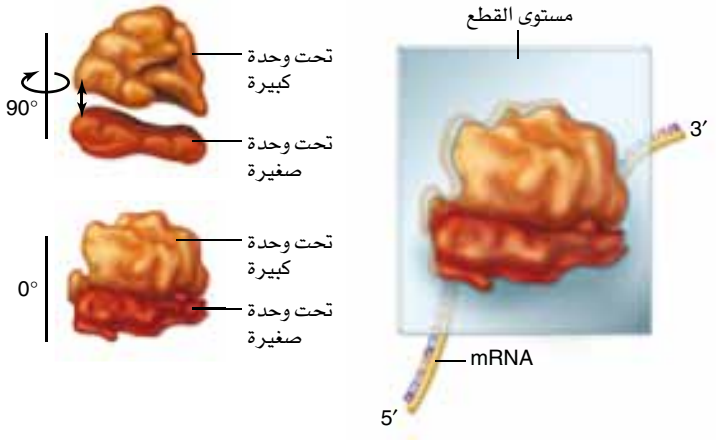
2. يبقى معقد الحمض الأميني و AMP مرتبطًا مع الأنزيم. ثُمَّ يرتبط tRNA بعد ذلك في الأنزيم.

3. الخطوة الثانية من التفاعل تتضمن انتقال الحمض الأميني من AMP إلى tRNA، وينتج tRNA المشحون وAMP. يتألف tRNA المشحون من حمض أميني نوعي مرتبط مع الساق المستقبلة ′3 لـ tRNA.

الشكل 15–14

تفاعل شحن tRNA. هناك عشرون نوعًا مختلفًا من أنزيمات مخلق معقد tRNA والحمض الأميني، و كلّ واحد منها خاص بحمض أميني، مثل تربتوفان (Trp) في هذا المثال. يجب أن يتعرف الأنزيم، ويرتبط بجزيء tRNA الذي له كودون مضاد خاص بالحمض الأميني،أي ACC للتربتوفان. يستخدم التفاعل ATP وينتج وسيطًا لا يحتاج إلى طاقة إضافية لتكوين الرابطة الببتيدية.





الشكل 15 – 15

لـدى الرايبوسومـات تحـت وحدتيـن. ترتبـط تحـت وحدتي الرايبوسومـات وتنفصـل خـلال دورة الرايبوسومات. تتطابق تحت الوحـدة الصغيـرة مـع منخفض على سطح تحت الوحدة الكبيرة. ولـدى الرايبوسومات ثلاثة مواقع للارتباط مـع tRNA، هي: موقع ارتبـاط الحمـض الأميني (A)، وموقـع ارتبـاط الببتيـد (P)، والموقع الفارغ (E).

لفهم وظيفة الرايبوسومات؛ لأنّ كلّ رابطة ببتيدية ستتكون بين مجموعة أمين لأحد الأحماض الأمينية ومجموعة الكاربوكسيل لحمض أميني آخر.

إنّ الارتباط الصحيح بين الحمض الأميني وtRNA مهم جدًا؛ لأنّ الرايبوسومات لا تتأكد من صحّة هذا الارتباط. فالرايبوسومات تضمن لنا ارتباطًا صحيحًا بين الكودون والكودون المضاد. وقد أجريت تجربة رائعة؛ حيث تَمَّ تغيير الحمض الأميني سيستين بإجراء تعديل كيميائي ليُحَوَّل إلى ألانين بعد أنْ تَمَّ تفاعل الشحن، أي بعد أنْ كان الحمض الأميني مرتبطًا مع tRNA. وعند استخدام tRNA المشحون في تصنيع البروتين خارج الخليّة، تَمَّ ربط ألانين بدلًا عن سيستين ما يدل على أنّ الرايبوسومات غير قادرة على "تصحيح القراءة" التي تنتج عن خلل في عملية شحن tRNA.

لذا، وبمعنى واقعي، نرى أنّ شحن tRNA يمثل خطوة ترجمة حقيقية؛ تُدمج الأحماض الأمينية لتُكَوِّن ببتيدًا فقط بناءً على تفاعل الكودون المضاد على tRNA مع الكودون في mRNA.

لدى الرايبوسومات مواقع ارتباط عدة مع tRNA

يمكن تجزئة عملية تصنيع أي مُبَلْمَر حيوي إلى ثلاث مراحل، هي: الاستهلال، والاستطالة، والإيقاف- ولقد رأينا ذلك في عمليتي التضاعف والاستنساخ. في حالة الترجمة، أو صناعة البروتين، تحدث الخطوات الثلاثة كلّها على الرايبوسومات التي هي تجمع جزيئي ضخم يتألف من rRNA الرايبوسومي والبروتينات. بعد قليل سنناقش، تفاصيل العملية التي يتم فيها تجميع تحت وحدتي الرايبوسوم في أثناء الاستهلال.

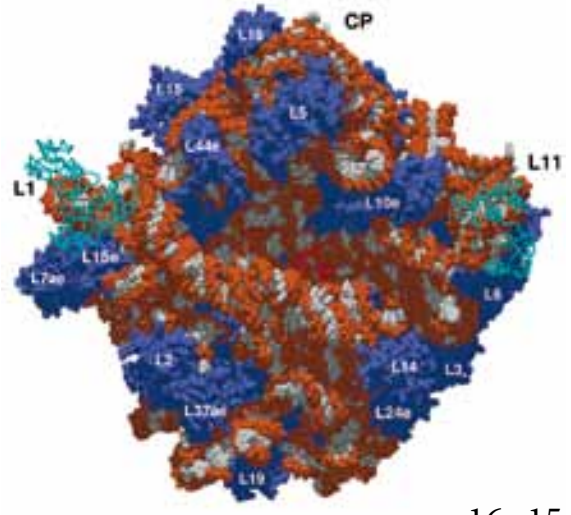
لكي تقوم الرايبوسومات بوظيفتها جيدًا يجب أنْ يكون لديها القدرة على الارتباط مع اثنين من tRNA مشحونين في وقت واحد؛ حتى تتمكن من عمل رابطة ببتيدية بين الأحماض الأمينية المحمولة عليهما، كما تَمَّ وصفه في المراجعة السابقة. في الواقع، تمتلك رايبوسومات البكتيريا ثلاثة مواقع ارتباط، ملخصة في (الشكل 15 – 15):

- **موقع P** (الببتيديل Peptidyl)، يرتبط مع tRNA المرتبط مع الببتيد قيد النموّ.
- **موقع A** (الأمينوأسيل Aminoacyl)، يرتبط مع tRNA الحامل للحمض الأميني المراد إضافته.
- **موقع E** (المَخْرَج Exit)، يرتبط مع tRNA الذي كان يحمل الحمض الأميني السابق.

تتحرك tRNA على هذه المواقع بشكل متتابع خلال عملية الاستطالة. وبالنسبة إلى mRNA، فإنّ المواقع مرتبة في اتجاه `5 ⇐ `3 وترتيبها هو: E ثُمَّ P ثُمَّ A. يدخل tRNA المشحون القادم إلى موقع A، ثُمَّ ينتقل إلى موقع P وأخيرًا يتحرك ليخرج من موقع E.

لدى الرايبوسومات وظيفة فكّ التشفير ووظيفة أنزيمية

الوظيفتان اللتان تقوم بهما الرايبوسومات تتعلقان بفكّ شيفرة الرِّسالة المنسوخة وتكوين روابط ببتيدية. تقع وظيفة فكّ الشّيفرة بشكل أساسي في تحت وحدة الريبوسوم الصغيرة. يتطلب تكون الرابطة الببتيدية أنزيم **ناقل الببتيديل Peptidyl transferase** الموجود في تحت وحدة الكبيرة.



الشكل 15–16

المركب ثلاثي الأبعاد لرايبوسوم بدائيّات النّوى. حُدِّدَ التركيب الذري الكامل لتحت وحدة الرايبوسوم الكبيرة بوضوح تصل دقته إلى 2.4 أنجستروم. تظهر قواعد RNA باللون الأبيض، وهيكل عديد النيوكليوتيدات باللون الأحمر، أما البروتين، فيظهر باللون الأزرق. تُبَطِّن أوجه كلّ تحت وحدة رايبوسومية بـ rRNA، بحيث إن تفاعل tRNA و mRNA والأحماض الأمينية يتم مع rRNA. لا توجد البروتينات على المواقع النشطة، ولكنها موجودة على السطح بكثرة. تساعد البروتينات على استقرار التركيب، من خلال الارتباط مع أشرطة RNA المجاورة لها.

تغيرت نظرتنا للرايبوسومات كثيرًا مع مرور الزمن. في البداية، اعتقد علماء البيولوجيا الجزيئية أنّ الريبوسومات تحتوي على بروتينات، وهي تقوم بوظيفة الرايبوسوم، وأنّ rRNA هو السِّقالة أو الهيكل التركيبي التي تقف عليه هذه البروتينات لأداء وظيفتها. أما الآن، فقد انعكست النظرة؛ حيث يُنظر للرايبوسومات على أنّها rRNA مثبت في مواقعه عن طريق البروتينات. ويبطِّن rRNA الوجهين المتفاعلين لتحت وحدتي الرايبوسوم، وإنّ أجزاء الرايبوسوم التي تتفاعل مع tRNA وmRNA والأحماض الأمينية مكونة من rRNA بشكل أساسي (الشكل 15 – 16). ويظنّ الآن أنّ وظيفة أنزيم ناقل الببتيديل يقوم بها rRNA لتحت وحدة الكبيرة.

tRNA جزيء ثنائي الوظيفة، له نهاية يمكنها تكوين رابطة مع حمض أميني، ونهاية أخرى يمكنها أنْ تزدوج قاعديًا مع mRNA. يتضمن شحن tRNA ارتباط نهاية الكربوكسيل للحمض الأميني مع ساق ′3 المستقبِلة لـ tRNA. يتم تسريع هذا التفاعل عن طريق 20 أنزيمًا مخلقًا لمعقد tRNA والحمض الأميني مختلف، واحد لكلّ حمض أميني. لدى الرايبوسومات ثلاثة مواقع ارتباط مع tRNA؛ موقع للسلسلة النامية (موقع P)، وثانٍ لـ tRNA المشحون القادم (موقع A)، والثالث لـ tRNA الخارج (موقع E). يمكن النظر للرايبوسومات على أنّ لها وظيفة فكّ تشفير ووظيفة أنزيمية.

15-8 عملية التّرجمة

إنّ عملية الترجمة واحدة من أعقد العمليات وأكثرها استهلاكًا للطاقة في الْخليّة. والمراجعة التي رأيناها سابقًا وصف مبسط ومضلل لعملية التّرجمة: يمرّ mRNA على شكل شريط خلال الرايبوسوم، في حين يحمل tRNA الحمض الأميني والارتباط مع الرايبوسوم، حيث يتفاعل بازدواج القواعد مع كودونات mRNA. يضع الرايبوسوم و tRNA الحمض الأميني، بحيث يمكن تكوين الروابط الببتيدية بين الحمض الأميني وعديد الببتيد النامي.

يتطلب الاستهلال عوامل إضافية مساعدة

ذكرنا سابقًا أنّ كودون البداية هو AUG، الذي يشفّر للحمض الأميني مِيثَيونين. وتستخدم الرايبوسومات عادة أول AUG في mRNA إشارة لبدء التّرجمة.

الاستهلال في بدائيّات النّوى

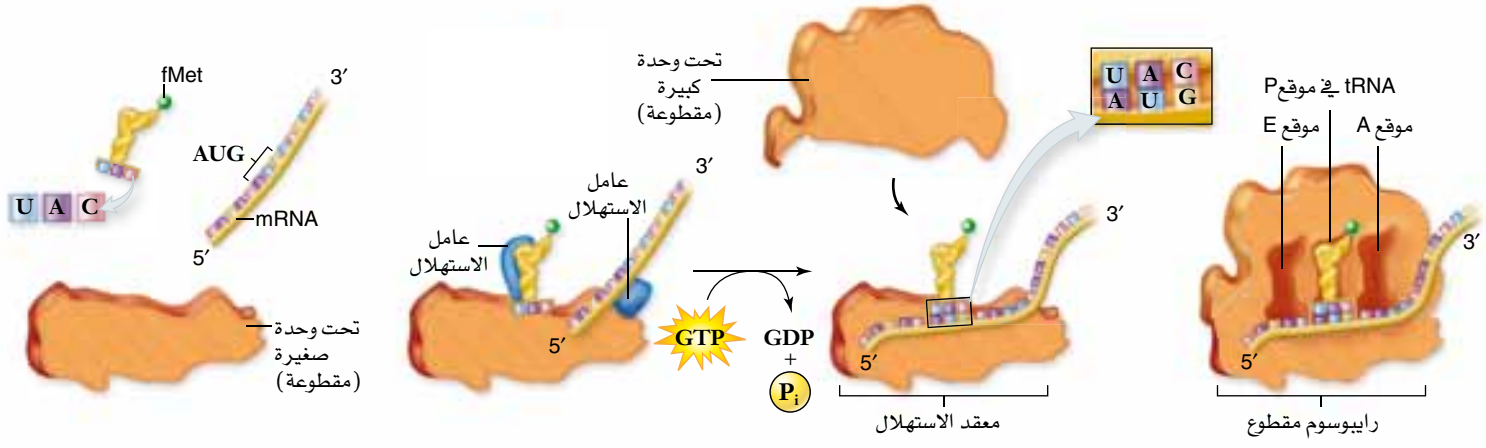
يضم **معقد الاستهلال Initiation complex** في بدائيّات النّوى **جزيء tRNA المستهِل Initiator tRNA** الخاص. ويحمل ميثيونين معدلًا كيميائيًّا على صورة فورميل الميثيونين *N-formylmethionine*. ويظهر tRNA المستهِل في الشكل على هيئة $tRNA^{fmet}$. يشمل معقد الاستهلال كذلك تحت وحدة ريبوسوم صغيرة إضافة إلى mRNA (الشكل 15 – 17). توضع تحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة بشكل سليم على mRNA بسبب وجود تعاقب محافِظ على النهاية ′5 لـ mRNA يُسَمَّى **تعاقب رَبْط الرايبوسوم (RBS) Ribosome binding sequence** ويكون مكملًا للطرف ′3 لـ rRNA الموجود في تحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة.

هناك عوامل استهلال عدة تساعد على ارتباط الرايبوسوم وmRNA و$tRNA^{fmet}$ لكي تشكل معقد الاستهلال. وتشارك هذه العوامل في عملية الاستهلال فقط، وهي ليست جزءًا من الرايبوسوم.

بمجرد تكون معقد mRNA و tRNA المستهِل، وتحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة، تضاف تحت وحدة الرايبوسوم الكبيرة، وتبدأ الترجمة. مع تكون الرايبوسوم الكامل، يرتبط tRNA المستهِل مع موقع P، ويبقى موقع A فارغًا.

الاستهلال في حقيقيّات النوى

عملية الاستهلال في حقيقيّات النّوى مشابهة لما سبق ذكره، إلا أنّها تختلف بطريقتين مهمتين: الأولى، الاستهلال عند حقيقيّات النّوى يبدأ بحمض أميني ميثيونين، وليس فورميل ميثيونين. والثانية، الاستهلال هنا معقد إلى حد أكبر من بدائيّات النّوى، إذ إنها تحتوي على تسعة أو أكثر من العوامل البروتينية، كثير منها يتكون من تحت وحدات عدة.



الشكل 15 – 17

استهلال الترجمة. تقوم بروتينات تسمى عوامل الاستهلال في بدائيّات النّوى بدور مهم في وضع تحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة و$tRNA^{fmet}$ المستهِل عند بداية mRNA. عندما يوضع $tRNA^{fmet}$ فوق أول AUG على mRNA. ترتبط تحت وحدة الرايبوسوم الكبيرة مشكلة المواقع E, P, A حيث ترتبط جزيئات tRNA المتتالية مع الرايبوسوم، ويبدأ تصنيع عديد الببتيد.

كما يفتقر mRNA إلى حقيقيّات النوى تعاقب ربط الرايبوسوم، وترتبط تحت الوحدة الصغيرة مع mRNA عن طريق قلنسوة ′5.

تضيف الاستطالة الأحماض الأمينية بشكل متتالٍ

عندما تنضم الرايبوسومات إلى mRNA وtRNA المستهِل، ينضم tRNA المشحون إلى المعقد، مرتبطًا مع موقع A الفارغ. يتطلب ذلك وجود **عامل الاستطالة Elongation factor** ويُسَمَّى **EF-TU** الذي يرتبط مع tRNA المشحون ومع GTP.

عندئذ، تتكوّن رابطة ببتيدية بين الحمض الأميني لِـ tRNA المستهِل وtRNA المشحون الموجود في موقع A. الموقع الهندسي لهذه الرابطة بالنسبة إلى الناقلين tRNA المشحونين مهم جدًا لفهم العملية. تذكّر أنّ الحمض الأميني مربوط بطرفه الكربوكسيلي على tRNA. وتتكوّن الرابطة الببتيدية بين الطرف الكربوكسيلي للسلسلة الببتيدية النامية (في الموقع P) والطرف الأميني للحمض الأميني القادم (في الموقع A) (الشكل 15 – 18).

إنّ إضافة الأحماض الأمينية المتتالية تحدث في تعاقب متكرر وبشكل دوري. والشكل 15 – 19 يبين تفاصيل دورة الاستطالة.

1. توافق الكودون المضاد على tRNA مع كودون mRNA

يأتي كلّ tRNA مشحون جديد مرتبطًا مع EF-TU وGTP. يرتبط tRNA المشحون مع موقع A فقط إذا تكامل الكودون المضاد مع الكودون الموجود على mRNA. بعد ذلك، يتم تحطيم GTP في عملية تحلل مائي، وينفصل EF-TU-GDP ويعاد استعماله في دورة أخرى. وتعدّ هاتان الخطوتان: الارتباط والتحلل المائي لـ GTP مهمتين للترجمة الدقيقة، حيث يتمّ التأكد من صحة ازدواج قواعد الكودون والكودون المضاد مرتين.

2. تكوين الرابطة الببتيديّة

يربط أنزيم ناقل الببتيديل، الموجود على تحت الوحدة الكبيرة، الطرف الكربوكسيلي للحمض الأميني للسلسلة النامية مع الطرف الأميني للحمض الأميني القادم على موقع A. يكون لهذا التفاعل تأثير يتمثل في نقل السلسلة النامية إلى tRNA على موقع A، فتترك موقع P فارغًا.

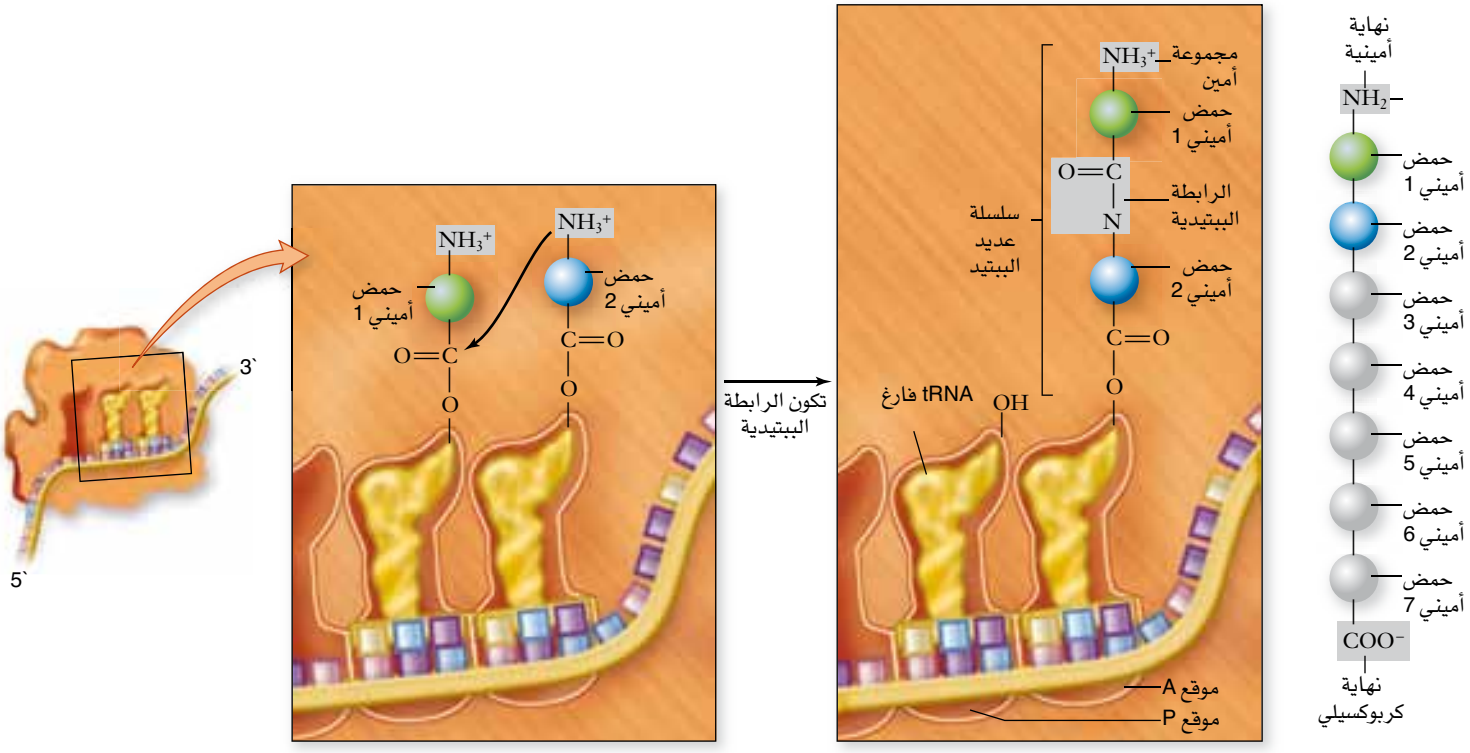
3. انتقال الرايبوسوم

بعد تكوُّن الرابطة الببتيدية، يتحرك الرايبوسوم بالنسبة إلى mRNA وtRNA. يتبع ذلك إزاحة للكودون اللاحق ليصبح في موقع A، ويصبح tRNA الحامل للسلسلة النامية على موقع P. ينتقل tRNA غير المشحون الذي كان موجودًا على موقع P إلى موقع E. تتطلب هذه الخطوة عامل استطالة هو EF-G، إضافة إلى تحلل مائي لجزيء GTP آخر.

وتستمر دورة الاستطالة مع كلّ حمض أميني يضاف إلى السلسلة الببتيدية. وتتحرك الرايبوسومات في اتجاه ′5 ⇐ ′3 على mRNA قارئةً الكودونات المتتابعة. يسير tRNA في اتجاه معاكس في داخل الرايبوسوم من موقع A إلى موقع P وصولًا إلى موقع E قبل أنْ يخرج فاقدًا حمله من الحمض الأميني، ويمكن شحنه بحمض أميني آخر.

الازدواج المتذبذب

ذكرنا سابقًا أن عدد tRNA أقل من عدد الكودونات. يمكن تفسير ذلك إذا عرفنا أنّ ازدواجَ القاعدة ′3 للكودون مع القاعدة ′5 للكودون المضاد أقلُّ صرامة من الطّبيعي. في بعض tRNA، يعزز وجود قواعد محوَّرة، ذات ازدواج أقل دقة في الموقع ′5 من الكودون المضاد تلك المرونة. يعرف هذا التأثير **بالازدواج المتذبذب Wobble pairing**؛ لأنّ tRNA "يتذبذب" قليلًا في الرايبوسوم، وبذا يستطيع tRNA وحيدًا أن "يقرأ" أكثر من كودون واحد في mRNA.

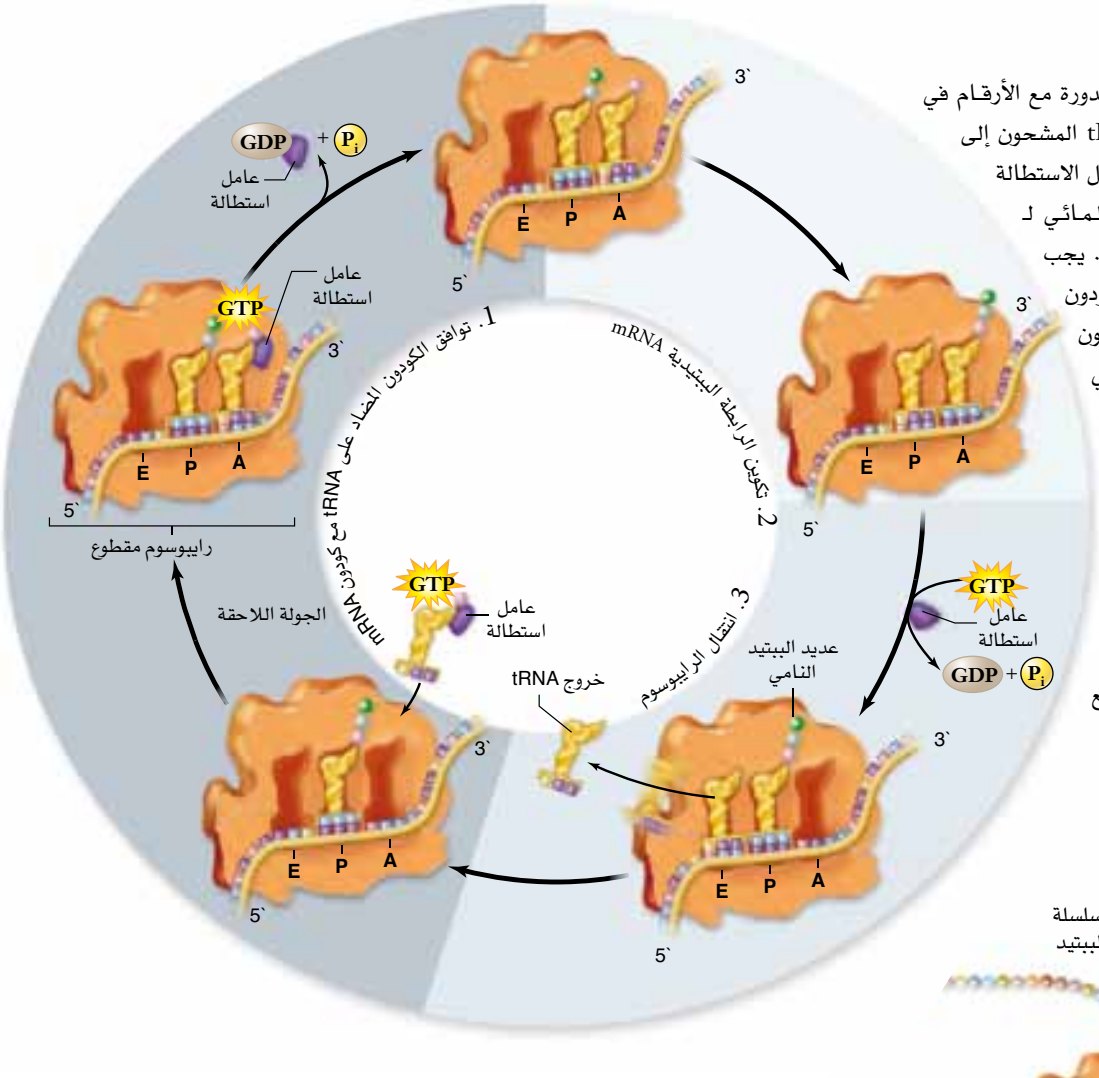


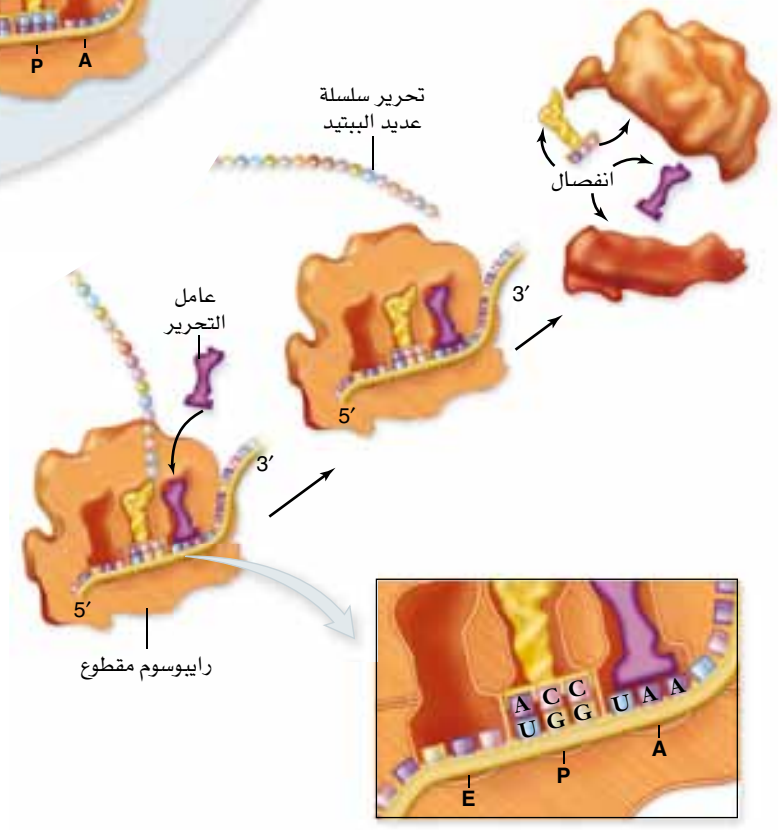
الشكل 15–18

تكوين الرابطة الببتيدية. تتكون الروابط الببتيدية على الرايبوسومات، بين tRNA المشحون "الجديد" في موقع A والتعاقب النامي المرتبط مع tRNA على موقع P. تتكون الرابطة بين مجموعة الأمين على الحمض الأميني الجديد ومجموعة الكاربوكسيل على التعاقب النامي. وينتقل التعاقب النامي إلى موقع A حيث يبقى الحمض الأميني الجديد مرتبطًا مع tRNA عن طريق مجموعة الكاربوكسيل.

الشكل 15 – 19

دورة الاستطالة. يتوافق الترقيم في الدورة مع الأرقام في الشّرح. تبدأ الدورة عندما يأتي tRNA المشحون إلى موقع A على الرايبوسوم عن طريق عامل الاستطالة EF-TU. يقوم EF-TU بالتحليل المائي لـ GTP ومن ثمَّ ينفصل عن الرايبوسوم. يجب أنْ يكون الكودون المضاد مكملًا للكودون الموجود في mRNA في موقع A. تتكون رابطة ببتيدية بين الحمض الأميني في موقع A مع السلسلة النامية في موقع P، ثُمَّ تنتقل السلسلة النامية P إلى موقع A لتترك tRNA فارغًا على موقع P. تتحرك الرايبوسومات على mRNA بمساعدة عامل استطالة آخر وبالتحليل المائي لـ GTP ما يؤدي إلى انتقال tRNA من موقع A إلى موقع P، وانتقال tRNA الفارغ إلى موقع E، ويتموضع الكودون اللاحق في موقع A.





الشكل 15–20

إيقاف تصنيع البروتين. لا يوجد هناك tRNA له كودون مضاد مكمل لأيٍّ من كودونات التوقف الثلاثة، مثل UAA الموضح في الشكل. عندما يصل الرايبوسوم كودون إيقاف، فإنّه يتوقف عن الانتقال. هناك بروتين مخصص لتحرير سلسلة عديد الببتيد، وذلك بقطع الرابطة التشاركية التي تربط عديد الببتيد مع tRNA في موقع P.

استقصاء

كيف ترتبط ظاهرة التذبذب مع عدد tRNA ومع تأرجح الشّيفرة الوراثيّة؟

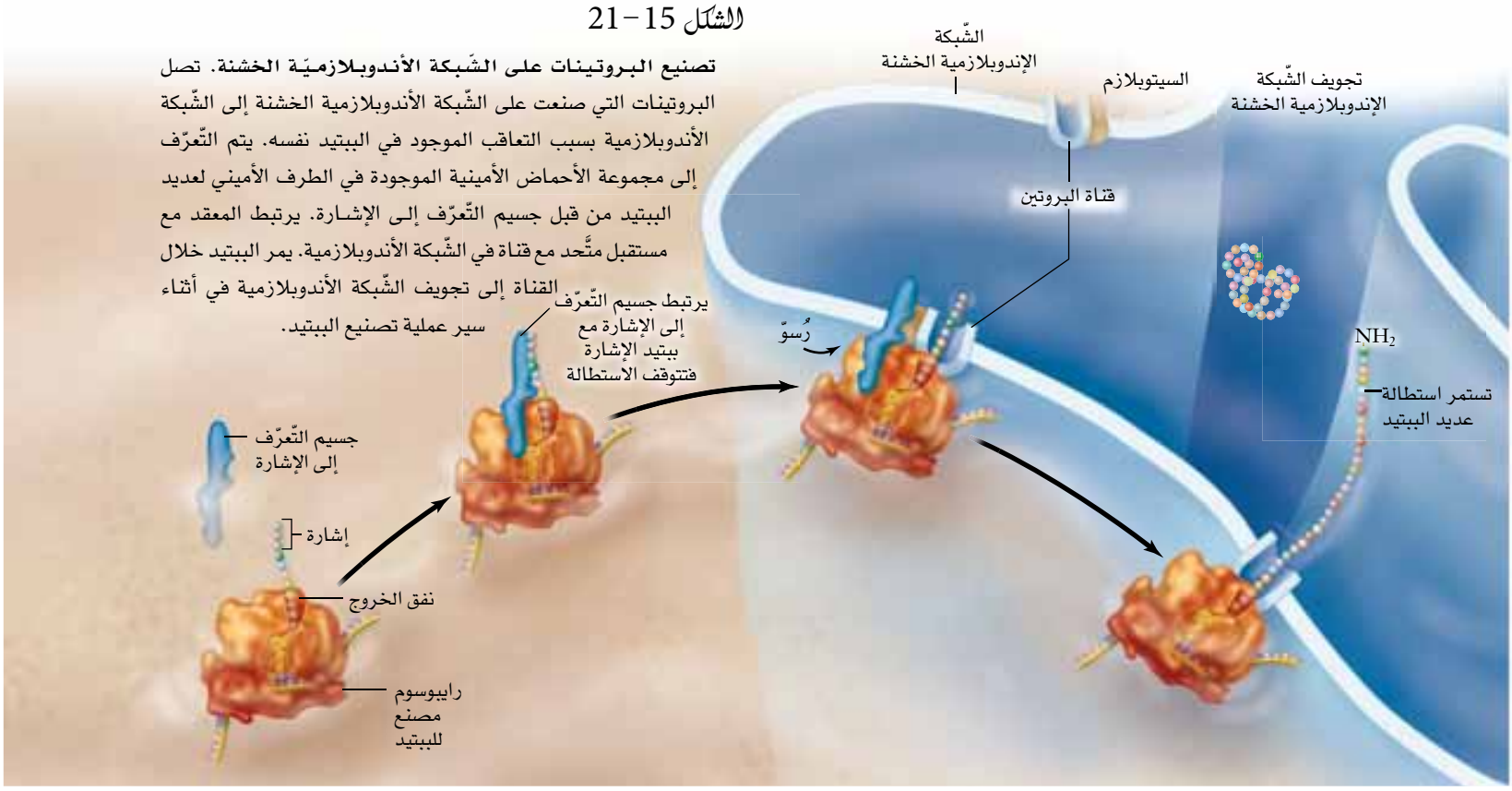
يتطلب الإيقاف عوامل مساعدة

تستمر الاستطالة بهذه الطريقة إلى أنْ تصل إلى كودون توقف (مثل UAA في الشكل 15 – 20). لا يرتبط كودون التوقف مع tRNA؛ ولكن يتم التّعرّف إلى الكودون عن طريق عوامل التحرير، وهي بروتينات تحرر عديد الببتيد من الرايبوسوم.

قد تُوَجَّه البروتينات نحو الشّبكة الإندوبلازمية (ER)

تحدث عملية التّرجمة في حقيقيّات النوى في السيتوبلازم أو على الشّبكة الإندوبلازمية الخشنة (RER). وتتجه البروتينات التي يتمّ صنعها إلى الشّبكة الأندوبلازمية بناء على تعاقب الأحماض الأمينية الابتدائية. الرايبوسومات الموجودة على الشّبكة الأندوبلازمية الخشنة لا تبقى مرتبطة بها بشكل دائم. يبدأ عديد الببتيد بسلسلة قصيرة من الأحماض الأمينية تسمى **تعاقب الإشارة Signal sequence**، التي يتعرف إليها، ويرتبط بها معقد سيتوبلازمي من البروتينات يُسَمَّى جُسيم التّعرّف إلى **الإشارة Signal Recognition Particles (SRP)**. يتم التّعرّف إلى المعقد الناتج عند اتحاد جسيم التّعرّف إلى الإشارة مع تعاقب الإشارة من قِبَل مستقبل بروتيني على غشاء الشّبكة الأندوبلازمية.

الشّكل 15-21



تصنيع البروتينات على الشّبكة الأندوبلازميّة الخشنة. تصل البروتينات التي صنعت على الشّبكة الأندوبلازمية الخشنة إلى الشّبكة الأندوبلازمية بسبب التعاقب الموجود في الببتيد نفسه. يتم التّعرّف إلى مجموعة الأحماض الأمينية الموجودة في الطرف الأميني لعديد الببتيد من قبل جسيم التّعرّف إلى الإشارة. يرتبط المعقد مع مستقبل متّحد مع قناة في الشّبكة الأندوبلازمية. يمر الببتيد خلال القناة إلى تجويف الشّبكة الأندوبلازمية في أثناء سير عملية تصنيع الببتيد.

إن ارتباط المستقبل الموجود على الشّبكة الأندوبلازمية مع معقد الإشارة/ جسيم التّعرّف إلى الإشارة يُبقي الرايبوسومات مستمرة في عملية الترجمة، حتى بعد أنّ ترتبط مع الشّبكة الأندوبلازمية. تسمى هذه العملية الرُّسو *Docking* (الشكل 15 – 21).

بينما يتم تجميع البروتين، يمرّ من خلال قناة يشكلها معقد الرُّسو إلى داخل تجويف الشّبكة الأندوبلازمية. تشبه هذه العملية الرُّسو مجازيًّا–الرايبوسوم غير مرتبط مع الشّبكة الأندوبلازمية ذاتها، ولكن بوجود البروتين المصنع حديثًا الداخل إلى الشّبكة الأندوبلازمية، يشبه الرايبوسوم في ذلك القارب المربوط عن طريق حبل مع المنصّة.

إن آلية انتقال البروتين عبر الأغشية عن طريق جسيم التّعرّف إلى الإشارة ومُستَقْبِلُه ومعقد القناة هي عملية محافِظة وموجودة في أنواع الخلايا الثلاثة: حقيقيّات النّوى، والبكتيريا، والبكتيريا القديمة. ولأنّ خلايا حقيقيّات النّوى وحدها التي تضم نظام الأغشية الداخلي، فإنّ هذه العمومية تبدو مثيرة للفضول؛ إلا أنّ البكتيريا تستخدم النظام نفسه عند تصدير البروتين عبر غشاء الْخليّة، وتشبه الآلية المستخدمة في البكتيريا الطريقة التي تقوم فيها حقيقيّات النّوى بتحريك البروتينات إلى تجويف الشّبكة الأندوبلازمية.

تعدّل البروتينات المصنعة حديثًا عند دخولها إلى تجويف الشّبكة الأندوبلازمية، بإضافة سكّريّات لها، ثُمَّ تنتقل عن طريق حويصلات إلى جهاز جولجي (انظر الفصل 5). تعدّ هذه المرحلة بداية مسار نقل البروتينات الذي ينتهي عند أماكن داخل الْخليّة، أو يفضي إلى الارتباط بغشائها، أو يُفرز خارجها.

يستلزم استهلال الترجمة ارتباط تحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة مع mRNA ومع tRNA المستهل. تستلزم دورة الاستطالة إحضار tRNA مشحون جديد إلى موقع A على الرايبوسوم ليشكل الرابطة الببتيدية، وتحريك الرايبوسوم على mRNA. ينتقل tRNA خلال الرايبوسوم من موقع A إلى P إلى E خلال العملية. في حقيقيّات النّوى، يستخدم تعاقب إشارة يوجد على عديد الببتيد حديث التصنيع لتوجيه البروتين إلى الشّبكة الأندوبلازمية، حيث يدخل إلى التجويف في أثناء التصنيع.

9-15 ملخص التّعبير الْجينيّ

بسبب التعقيد الموجود في عملية التّعبير الْجينيّ، فإنّ من المناسب القيام بمراجعة سريعة لأهم النقاط المتعلقة بتلك العملية:

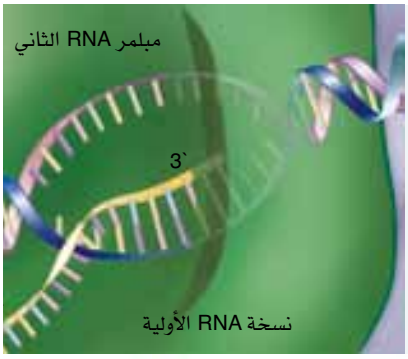
- تحول عملية التّعبير الْجينيّ معلومات الطّراز الْجينيّ إلى الطّراز الظّاهريّ.
- تُنتج نسخة من الجين على شكل mRNA الذي بدوره يوجّه تصنيع البروتين عن طريق الترجمة.
- يمكن تقسيم كلٍّ من عمليتي الاستنساخ والترجمة إلى دورات استهلال، واستطالة، وإيقاف التي تنتج المبلمرات المتعلقة بكلّ منها. (ينطبق هذا على عملية التضاعف أيضًا).
- التّعبير في حقيقيّات النوى أكثر تعقيدًا مما هو عليه في بدائيّات النوى.

إن طبيعة الجينات في حقيقيّات النّوى واحتواءها على التعاقبات المعترضة والتعاقبات المشفِّرة يزيد من مستوى التعقيد في عملية التّعبير الْجينيّ؛ حيث تتطلب خطوات

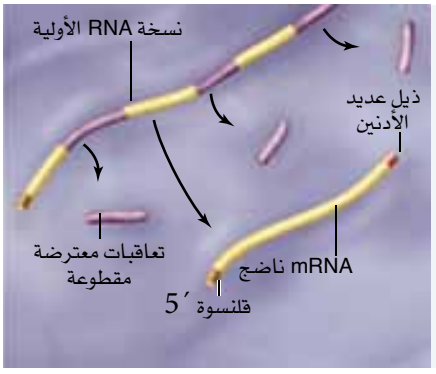
إضافية بين الاستنساخ والترجمة. فيحدث إنتاج لـ mRNA ومعالجته في حقيقيّات النّوى في النـواة، في حين تحدث عملية الترجمة في السيتوبلازم، ما يستدعي بالضرورة نقل mRNA خلال ثقوب النواة إلى الستيوبلازم قبل البدء في عملية الترجمة الملخصة في (الشكل 15 – 22).

يمكن تسليط الضوء على عدد من الفروق في التّعبير الْجينيّ بين كلٍّ من حقيقيّات وبدائيّات النّوى. (الجدول 15 – 2 في صفحة 198) يلخص هذه النقاط الرئيسة.

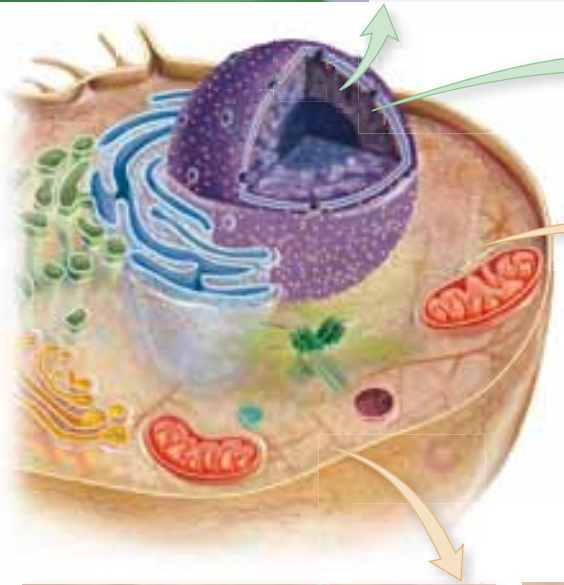
إن عِظَم تعقيد التّعبير الْجينيّ في حقيقيّات النوى نابع من التنظيم الوظيفي للخلية، حيث يوجد DNA في النواة، وتوجد الرايبوسومات في السيتوبلازم. يكمن الفرق في التّعبير الْجينيّ بين حقيقيّات النوى وبدائيّات النوى في التفاصيل، ولكن بعض الفروق لها مدلول وظيفي.

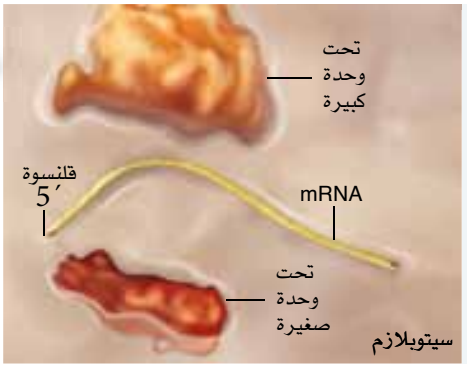


1. تُنتج النسخة الأولية عن طريق مبلمر RNA الثاني في النواة. يسير تفاعل الترجمة في اتجاه 5´⇦3´ وذلك بنسخ شريط DNA قالب واحد.

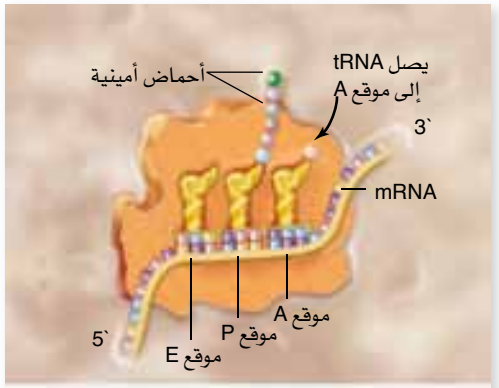


2. تعالج النسخة الأولية لإنتاج mRNA الناضج، وهذا يستلزم إضافة قلنسوة 5´ ميثيل جوانين وقَطْع وإضافة الذيل عديد الأدنين، وقَطْع التعاقبات المعترضة عن طريق أجسام الوَصْل، وتقع هذه الأحداث جميعها في النواة. بعدها، يُنْقل mRNA الناضج خلال ثقوب النواة إلى السيتوبلازم للترجمة.

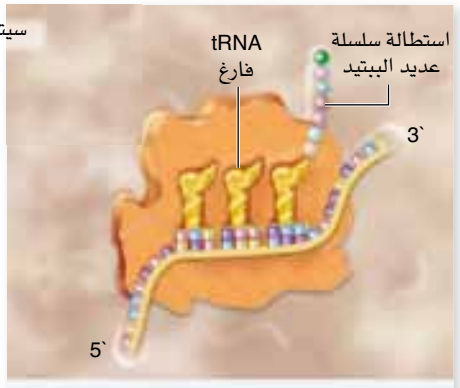




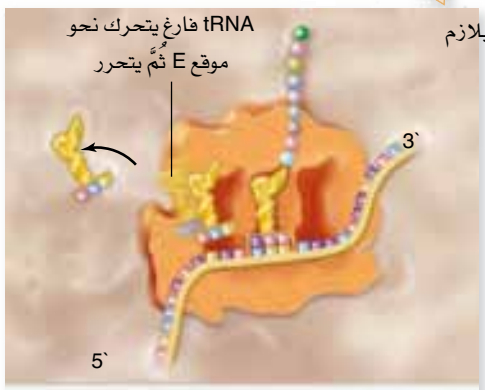
3. يتحد mRNA مع الرايبوسومات في السيتوبلازم، إذ ترتبط قلنسوة 5´ مع تحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة لبدء عملية الاستهلال، ويضاف tRNA المستهل وتحت وحدة الرايبوسوم الكبيرة لإتمام الاستهلال.



4. تتطلب صناعة البروتين دورة الرايبوسوم. وتبدأ هذه الدورة بالتصاق الببتيد النامي مع tRNA في موقع P. يرتبط tRNA اللاحق مع موقع A من خلال كودونه المضاد المكمل للكودون في mRNA في موقع A.



5. تتكون الروابط الببتيدية بين الطرف الأميني للحمض الأميني التابع لـ tRNA القادم مع الطرف الكاربوكسيلي للببتيد النامي. ويتسبب ذلك في كسر الرابطة بين السلسلة النامية و tRNA على موقع P ويصبح tRNA "فارغًا" ويزيح السلسلة النامية إلى tRNA في موقع A.



6. تتحرك الرايبوسومات نسبة إلى mRNA و tRNA ما يؤدي إلى انتقال tRNA الفارغ إلى موقع E، وانتقال tRNA الذي يحمل التعاقب النامي إلى موقع P تاركًا موقع A غير مشغول ومستعدًا لاستقبال tRNA مشحون.

الشكل 15 – 22

مراجعة شاملة للتعبير الْجينيّ في حقيقيّات النّوى

الجدول 15-2	الفروق في التّعبير الْجينيّ بين بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى	
الصّفة	بدائيّات النّوى	حقيقيّات النّوى
التعاقبات المعترضة	لا يوجد تعاقبات معترضة، غير أنّ بعض جينات البكتيريا القديمة تحتوي تمثل هذه التعاقبات.	معظم الجينات تحتوي تعاقبات معترضة.
عدد الجينات في mRNA	قد يستنسخ عدد من الجينات في mRNA واحد. غالبًا ما تكون مرتبطة وظيفيًّا وتشكل المنطقة الفعالة (الأوبيرون) الذي ينظم المسارات الكيميائية الحيوية.	يوجد جين واحد فقط في mRNA، ويتم تنظيم المسارات بطرق مختلفة.
موقع الاستنساخ والترجمة	لا يوجد غشاء يحيط بالنواة، والاستنساخ والترجمة متصاحبان.	الاستنساخ في النواة، يتحرك mRNA خارج النواة من أجل الترجمة.
استهلال الترجمة	يبدأ عند كودون AUG مسبوقًا بتعاقب خاص يرتبط مع الرايبوسوم.	يبدأ عند كودون mRNA مسبوقًا بقلنسوة mRNA (′5 مضاف إليه المثيل) ترتبط بالرايبوسوم.
تعديل mRNA بعد الاستنساخ.	لا يوجد؛ تبدأ الترجمة قبل إتمام الاستنساخ.	تحدث تعديلات عدة في حين لا يزال mRNA في النواة، تزال التعاقبات المعترضة، وتوَصّل التعاقبات المشفِّرة، تضاف قلنسوة ′5 وذيل عديد الأدنين.

15-10 الطّفرات: الجينات المتغيرة

أحد الطرق التي تحدد وظيفة الجينات هو العثورعلى طفرة، أو إحداث طفرة فيها، وملاحظة تأثيرها في وظيفتها. وبالنسبة إلى المخلوق الحيّ، فإنّ إحداث طفرة غالبًا ما يجلب تأثيرات سلبية وضارة في الطّراز الظّاهريّ. ولقد رأينا (في الفصل الـ 13) كيف تحدث أمراض وراثية عدة مثل فقر الدم المنجلي بسبب تغيير في قاعدة واحدة. سنناقش الآن كيف تحدث الطّفرات من منظور التغيير الذي يحدث في DNA نفسه.

تؤثر الطّفرات النقطية في موقع واحد في DNA

تسمى الطَّفْرة التي تغير قاعدة واحدة **الطَّفْرة النقطيةَ Point mutation**. وتكون إما باستبدال قاعدة بأخرى، أو إزالة أو إضافة قاعدة واحدة (أو عدد قليل من القواعد).

استبدال قاعدة

استبدال زوج قاعدي بآخر في DNA يُسَمَّى طفرة **استبدال قاعدة Base substitution mutation**. وتسمى في بعض الأحيان طفرات **مُغَيِّرة المعنى Missense mutation**، إذ إن "معنى" الكودون الذي ينتج بعد الاستنساخ سوف يتغير (الشكل 15 – 3 جـ). ويُقسم هذا النوع إلى قسمين، هما: التّحوّل *Transition* والانقلاب *Transversion*. ففي التّحوّل، لا يتغير نوع القاعدة، بمعنى، تُستبدل قاعدة بيريميدين بقاعدة بيريميدين أخرى أو بيورين بيورين. في المقابل، فإنّ الانقلاب يُغير نوع القاعدة، فستستبدل البيورين بالبيريميدين أو العكس. وبسبب طبيعة الشّيفرة الْوراثيَّة المتأرجحة فقد يغير الاستبدال الحمض الأميني أو لا يغيره. فإذا كان الكودون الجديد الذي نتج عن الاستبدال ما زال يشفر الحمض الأميني نفسه فإنّنا نقول: إن الطَّفْرة **صامتة Silent** (الشكل 15 – 23 ب). هناك كثير من الأمراض الْوراثيَّة في الإنسان تنجم عن الاستبدال مثل فقر الدم المنجلي.

الطّفرات عديمة المعنى

يبرز صنف خاص من استبدال القواعد عندما تتغير قاعدة لينتج منها كودون للإيقاف (الشكل 15 – 23 د). تسمى هذه الطّفرات **عديمةَ المعنى Nonsense mutation** لأن الطَّفْرة لا تحمل "معنى" عند ترجمتها. فكودون الإيقاف يتسبب في حدوث إنهاء للترجمة في المكان الخطأ ما ينتج عنه بروتين مقطوع. ويعتمد قِصَر البروتين على الموقع التي حدثت عنده الطَّفْرة.

طفرة الإزاحة

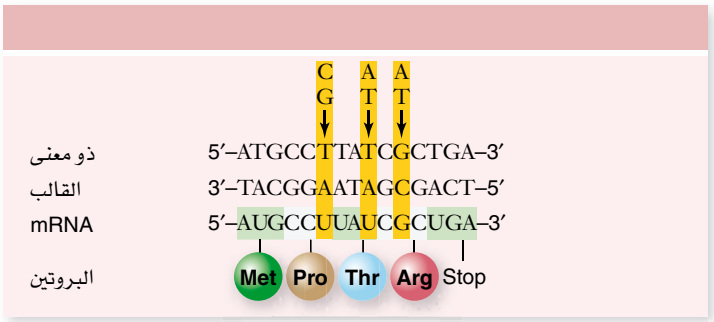
تسبب إزالة قاعدة واحدة أو إضافتها عواقبَ أكثر خطورة من استبدال قاعدة واحدة. تسمى هذه الطّفرات طفراتَ **إزاحةِ الإطار Frameshift mutation**؛ لأنها تسبّب تغيير إطار القراءة الذي يعقب الطَّفْرة في mRNA. استُخدم هذا النوع من الطّفرات من قِبَل كريك وبرينر، كما ذكرنا في بداية الفصل؛ للاستدلال على طبيعة الشّيفرة الْوراثيَّة.

إن تغيير إطار القراءة في بداية الجين، ومن ثم بداية mRNA، يعني تغييرًا في معظم البروتين. وإنّه قد يتسبب في انتهاء مبكر لعملية الترجمة؛ لأنَّ هناك 3 كودونات من أصل 64 مخصصة للتوقف، ما يمثل احتمالًا كبيرًا أنْ تُكوَّن هذه الكودونات في التعاقب الذي غُيِّر بشكل عشوائيّ نتيجة الإزاحة.

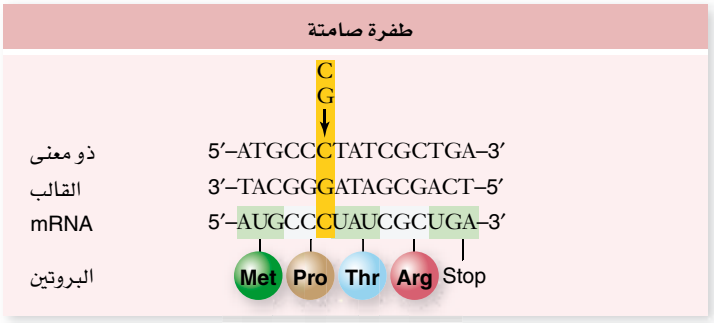
طفرات الثلاثيات المتكررة التوسُّعية

نظرًا لتاريخ الوراثة الجزيئية الطويل، ولقصر الوقت الذي أصبح فيه بمقدورنا عمل تحاليل جزيئية على الإنسان، فإنّ من الغريب اكتشاف نوع جديد من الطّفرات في الإنسان. إلا أن أحد أول الأمراض الْوراثيَّة في الإنسان الذي تَمَّ وصفه وعزل الجين المسبب له هو مرض هنتنجتون *Huntington disease* الذي أبرز نوعًا جديدًا من الطّفرات. فالجين المسبب للمرض فيه تعاقب ثلاثيّ متكرر من DNA. ويتم اتساع هذه الوحدة المتكررة في الأليل المصاب أكثر من الأليل السليم. منذ هذا الاكتشاف المبدئي، ظهر على الأقل 20 مرضًا وراثيًّا في الإنسان يبدو أنّها تحدث بسبب هذه الآلية. انتشار هذه الطَّفْرة غير معروف. ولكن حاليًا، لوحظ وجودها في الإنسان والفئران فقط، ما يشير ضمنيًّا إلى أنها قد تكون محصورة في الفقريات، أو في الثّدييّات تحديدًا. ولم يتم إيجاد مثل هذه الطَّفْرة قط في الدروسوفيلا مثلًا.

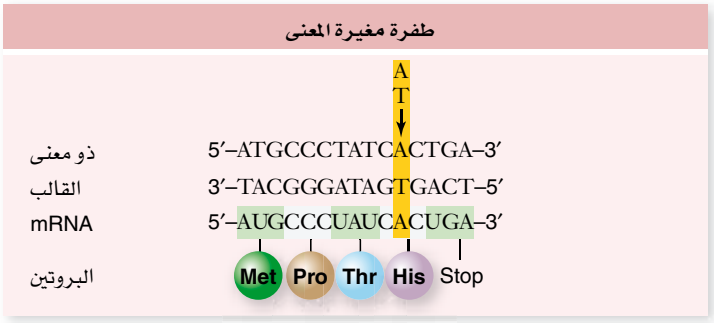
قد يحدث اتساع الثلاثيات في المناطق المشفِّرة أو غير المشفِّرة في DNA المنسوخ. في حالة مرض هنتنجتون، يحدث التكرار في المنطقة المشفِّرة، حيث تتسع الثلاثية التي ترمز إلى الجلوتامين لتصبح منطقة متعددة الجلوتامين في البروتين. هناك عدد من الأمراض المُحَلِّلة للأعصاب تُظهر النوع من الطّفرات نفسه. وفي حالة متلازمة X الهش، وهو تخلف عقلي وراثي، توجد المتكررات في المنطقة غير المشفِّرة من DNA.



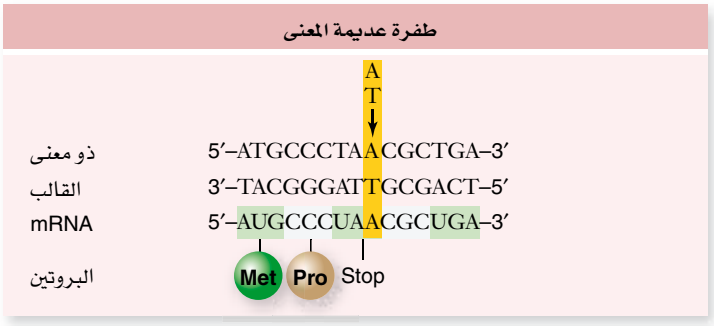
أ.



ب.



جـ.



د.

الشكل 15–23

أنواع الطّفرات. أ. جين افتراضي يبين mRNA المشفِّر والبروتين. توضح الأسهم مواقع الطّفرات في الشكل. ب. الطَّفْرة الصامتة. التغيير في القاعدة الثالثة للكودون غالبًا ما يكون صامتًا؛ بسبب تأرجح الشّيفرة الْوراثيَّة. في هذه الحالة، تغير طفرة T/ A إلى C/ G لا تغير الحمض الأميني المشفَّر (برولين). جـ. الطَّفْرة مغيرة المعنى. تغير طفرة G/ C إلى A/ T الحمض الأميني المشفَّر من آرجينين إلى هيستيدين. د. الطَّفْرة عديمة المعنى. طفرة T/ A إلى A/ T تنتج كودون الإيقاف UAA في mRNA.

تغيّر الطّفرات الكروموسوميّة تركيب الْكروموسوم

تؤثر الطّفرات النقطية في موقع وحيد في الكروموسوم، ولكن إذا تعددت التغييرات فإنّها تـؤدي إلـى تغيير أكبر في شكل الكروموسوم نفسه، وينتج عن ذلك **طفرة كروموسوميّة Chromosomal mutation**. هناك الكثير من حالات السّرطان في الإنسان سببها كروموسومات غير طبيعية. لذا، فإنّ التغيرات الكروموسومية ذات صلة بالحالات السريريّة. سنتناول حالات التحوّرات المحتملة للتركيب الكروموسومي، وجميعها ملخّصة في (الشكل 15 – 24).

الإزالة

تتمثل الإزالة بفقدان جزء من الكروموسوم. قد تحدث إزاحة الإطار بسبب إزالات صغيرة عدة، ولكن قد تُفقد مناطق كبيرة من الكروموسوم أيضًا. وإذا فُقدت معلومات كثيرة فإنّ ذلك يؤدي إلى موت المخلوق.

إحـدى المتلازمات التي تحدث في الإنسان بسبب الإزالـة هو "صراخ القطة" *cri-du-chat* نسبة إلى الصوت الذي يصدره الطفل بسبب المتلازمة. يحدث مرض صراخ القطة بسبب فقدان جزء كبير من الذراع القصير للكروموسوم رقم 5. عادة ما تتسبب في الموت المبكر للطفل مع أنّ بعض الحالات تبقى مددًا عمرية طويلة. ولها تأثيرات عدة من ضمنها المشكلات التنفسية.

المضاعفة

إن **مضاعفة Duplication** منطقة معينة من الكروموسوم قد تسبّب تبعات على الطّراز الظّاهريّ، وقد لا تسبب. يعتمد تأثير المضاعفة على موقع حدوث "نقطة الكسر" حيث حدثت المضاعفة. فإذا لم تحدث المضاعفة في داخل الجين، فإنّه لا ينتج عنها أيّ تأثير. ولكن إذا وقعت بجانب المنطقة الأصلية، فإنّ ذلك يُسَمَّى التضاعف المترادف *Tandem duplication*. وتعدّ هذه المضاعفات المترادفة مهمة من ناحية تطورية خصوصًا تطور عائلات جينية متقاربة، مثل عائلة الجلوبين التي تشفِّر بروتين الهيموجلوبين.

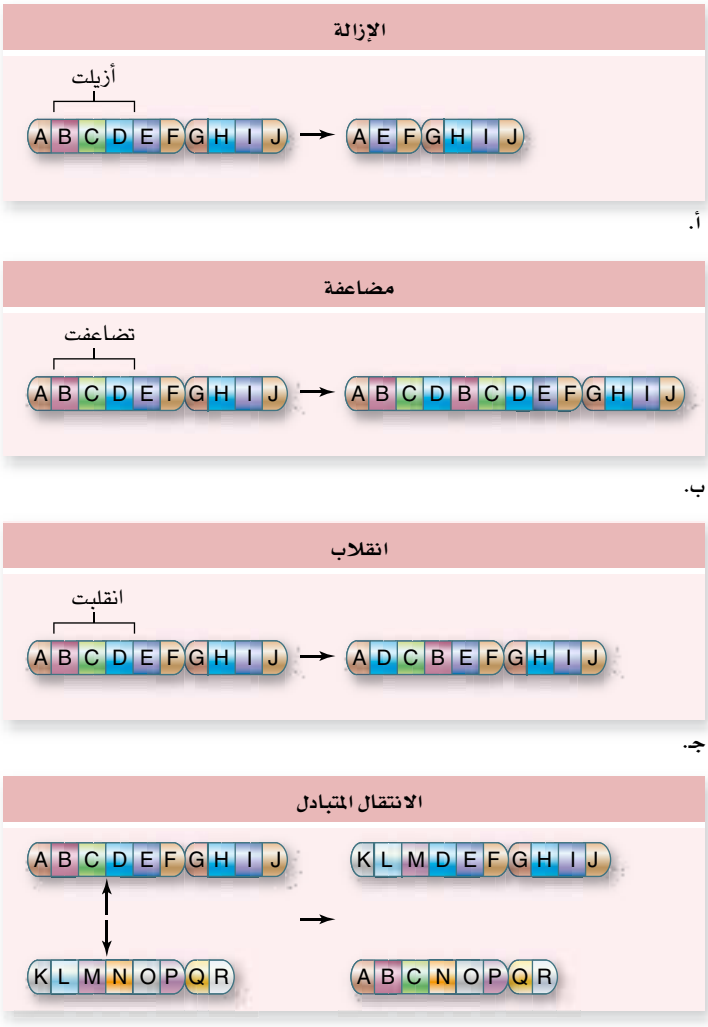
الانعكاس

يحدث **الانقلاب Inversion** عندما يقطع جزء من الكروموسوم عند نقطتين، ثُمَّ تُعكس القطعة، ومن ثَمّ تدخل مرة أخرى في الكروموسوم. قد لا ينتج من هذا الانقلاب أيُّ تأثير في الطّراز الظّاهريّ إذا كان موقع الانقلاب خارج الجين. وعلى الرّغم من أن أفراد الإنسان يحتوون على المحتوى الْجينيّ "نفسه"، فإن ترتيب الجينات في أفراد مجموعة معينة جميعهم ليس متشابهًا بشكل دقيق؛ بسبب حدوث الانقلاب في سلالات مختلفة.

الانتقال

إذا قُطع جزء من كروموسوم معين، وأُلصق بكروموسوم آخر، فإنّ العملية تسمى **الانتقالَ Translocation**. يُعدّ الانتقال عملية معقدة، وقد ينتج عنها مشكلات عند الانقسام الاختزالي خصوصًا عندما يحاول كروموسومان مختلفان الازدواج في أثناء الانقسام الاختزالي الأول.

يمكن أيضًا أنْ يحرك الانتقال جينات من منطقة كروموسومية إلى أخرى بطريقة تؤدي إلـى تغيير التّعبير عن الجينات في المنطقة المشمولة. وهناك نوعان من اللوكيميا مرتبطان بالانتقال الذي يحرك الجينات المسرطنة إلى مواقع كروموسومية أخرى ما يؤدي إلى التّعبير عن هذه الجينات بصورة غير منتظمة في خلايا الدم (انظر الفصل الـ 10).



الشكل 15-24

الطّفرات الكروموسومية. احتمالات حدوث التغيرات الكروموسومية على مستوى واسع. (أ) أجزاء يمكن إزالتها. (ب) أو مضاعفتها. (جـ) أو انقلابها. (د) أو انتقالها. يحدث الانتقال عندما يُكسَرُ جزءٌ من كروموسوم، ويصبح جزءًا من كروموسوم آخر. يحدث هذا غالبًا، عندما ينكسر كروموسومان ليتبادلا القطع فيما بينهما. توصف هذه العملية بالانتقال المتبادل.

الطّفراتُ نقطةُ البدايةِ للتطوّر

إذا لم يحدث تغيير على المحتوى الْجينيّ بمرور الوقت، فقد لا يكون هناك تطور. مع هذا، يؤدي التغيير الكبير، إلى حدوث أضرار في الفرد الذي يحدث لديه تغير كبير في المحتوى الْجينيّ. لذا يجب أنْ يكون هناك اتزان بين التغيرات التي قد تظهر في النوع، وصحة أفراد ذلك النوع. وسيتم التطرق لهذا الموضوع لاحقًا في (الفصل الـ 20) عندما نتحدث عن التطور ووراثة الجماعات السكانية.

كان التغير الكروموسومي على مستوى كبير مهمًّا دومًا للتطور، مع أنّ دوره يفتقر إلى الفهم الكامل. من الواضح أنَّ العائلات الْجينيّة قد نشأت نتيجة مضاعفة جينات الأسلاف متبوعًا بانشقاق وظيفي لهذه الجينات المضاعفَة. ومن الواضح أيضًا أنّ ترتيب الجينات على الكروموسومات، وعددها في الأنواع القريبة من بعضها قد يختلف أيضًا؛ من المحتمل أنْ يكون قد حدث إعادة ترتيب على مستوى واسع.

تغيرت نظرتنا نحو طبيعية الْجينات مع ظهور معلومات جديدة

في هذا الفصل، وفي الفصول السابقة، رأينا أوجهًا عدة للجينات. فقد قام مندل بتتبع الصِّفات المحددة عن طريق ما نسمّيه الآن جينات من خلال التزاوجات التي قام بها. ويمكن توقع تصرفات هذه الجينات بناءً على تصرفات الكروموسومات خلال الانقسام الاختزالي. وعرف مورجان وآخرون كيفية تحديد مواقع الجينات على الكروموسومات.

قادت هذه الاكتشافات في تشكيل نظرتنا إلى الجينات بوصفها وحدات مجردة يمكن تتبعها خلال الأجيال وتحديد مواقعها على الكروموسومات "كالخرز على خيط"؛ فالخرز هو الجينات، والخيط هو الكروموسوم.

إن التحليلات الجزيئية الأولية للجينات قادت إلى التوَصّل إلى مبدأ جين واحد/ عديد ببتيد واحد، وكان هذا تبسيطًا لحقيقة ما يجري، إذ تَمَّ اكتشاف الوَصْل البديل في حقيقيّات النّوى، الذي ينتج عنه بروتينات عدة من المعلومات الْوراثيَّة في DNA نفسها. أضف إلى ذلك أنّ هناك بعض الجينات لا تشفِّر البروتينات، وإنما تشفِّر فقط RNA، الذي يمكن أنْ يكون جزءًا من آلية التّعبير الْجينيّ (rRNA، وtRNA وأنواع أخرى)، أو أنْ يعمل بنفسه بوصفه أنزيمًا. وهناك أجزاء أخرى من DNA تكون مهمتها تنظيم عمل الجينات، ولكن لا يتم التّعبير عنها. تجعل الاكتشافات جميعها من الصعب وضع تعريف دقيق وشامل للجين.

بقي لنا أنْ نذكر أنّ التعقيدات الكثيرة الموجودة في طبيعة الجينات تقاوم التعريف البسيط للجينات. ولكي نفهم حقيقة الجينات؛ علينا أنْ ننظر إلى طبيعتها الجزيئية إضافة إلى التّعبير الظّاهريّ لها. وهذا يعيدنا إلى دائرة العلاقة بين الطّرازين؛ الْجينيّ والظّاهريّ، وبتقدير أكبر لتعقيدات هذه العلاقة.

مراجعة المفاهيم

15-1 طبيعة الجينات (الشكل 15 – 2)

تشير الأدلة إلى أنّ الطّفرات الْجينيّة تؤثر في البروتينات:

- بيَّن جارود أنّ الكابتونيوريا تحدث نتيجة تغير في أنزيم.
- بيَّن بيدل وتاتم أنّ الجينات تحدد الأنزيمات.
- تنساب المعلومات في الْخليّة من DNA إلى RNA إلى البروتين.

15-2 الشّيفرة الْوراثيَّة

إنّ ترتيب النيوكليوتيدات في DNA يشفِّر المعلومات لتحدد ترتيب الأحماض الأمينية في عديد الببتيد.

- يتألف الكودون من ثلاثة نيوكليوتيدات. هناك $4^3 = 64$ كودونات محتملة.
- تستخدم الشّيفرة كودونات متجاورة دون أيّ فواصل بينها.
- هناك ثلاثة كودونات للتوقف وكودون واحد للبداية يشفر للحمض الأميني مِثْيونين. لذا، فإنّ 61 كودونًا يشفِّرون 20 حمضًا أمينيًّا.
- الشّيفرة متأرجحة (عادة في القاعدة الثالثة) ولكنها نوعية.
- الشّيفرة شمولية بشكل أساسي.

15-3 نظرة شاملة إلى التّعبير الْجينيّ

يُنتج الاستنساخ نسخة من RNA باستخدام DNA القالب، وتستخدم الترجمة RNA قالبًا لتوجيه صناعة البروتينات.

- يُسَمَّى الشريطُ المنسوخُ خلال الاستنساخ الشريطَ القالبَ.
- يستلزم استنساخ RNA الاستهلال عند الْمُحفِّز، واستطالة النسخة، والإيقاف عند موقع المُوقِف.
- تستلزم الترجمة تكوين معقد الاستهلال، والاستطالة بإضافة الأحماض الأمينية، والإيقاف عند كودون التوقف.
- يؤدي RNA أدوارًا عدة في التّعبير الْجينيّ (انظر صفحة 283 و284).

15-4 الاستنساخ في بدائيّات النّوى

التّعبير الْجينيّ في بدائيّات النّوى يشبه ذلك الموجود في حقيقيّات النّوى مع وجود اختلافات مهمة.

- لدى بدائيّات النّوى مبلمر RNA وحيد، ويوجد على شكلين: لبّ المبلمر والأنزيم الكامل.
- يُصنِّع لبّ المبلمر RNA. ويستطيع الأنزيم الكامل، اللبّ إضافة إلى عامل استهلال RNA عند الْمُحفِّز (الشكل 15 – 5).
- تبدأ وحدة الاستنساخ عند الْمُحفِّز، وتحتوي على جين أو أكثر، وتنتهي بالمُوقِف.
- يفكّ مبلمر RNA التفاف DNA في منطقة صغيرة عند الْمُحفِّز.
- تنمو سلسلة mRNA في أثناء الاستنساخ في اتجاه $5' \Leftarrow 3'$.
- تحتوي فقاعة الاستنساخ على مبلمر RNA، وقالب DNA، ونسخة mRNA النامية (الشكل 15 – 6).
- تتألف الموقفات من سلاسل مكملة لبعضها تشكل ثنية دبوس الشعر مزدوج الأشرطة، حيث يقف عنده مبلمر RNA (الشكل 15 – 7).
- يُترجم mRNA في بدائيّات النّوى في أثناء عملية الاستنساخ (ازدواج الاستنساخ والترجمة).

15-5 الاستنساخ في حقيقيّات النّوى

تفاعل الاستنساخ في حقيقيّات النّوى يشبه ذلك الموجود في بدائيّات النّوى، ولكن هناك اختلافات مميزة.

- لدى حقيقيّات النّوى ثلاثة مبلمرات، RNA هي: الأول يستنسخ rRNA، والثاني يستنسخ mRNA وبعض sn RNA النووي الصغير، والثالث يستنسخ tRNA.
- يتطلب الاستنساخ عن طريق مبلمر RNA الثاني حشدًا من عوامل استنساخ تُشكل معقد الاستهلال عند الْمُحفِّز.
- يستنسخ مبلمر RNA الثالث tRNA وتوجد محفِّزاته داخل الجين، وليس على طرف $5'$.
- في حقيقيّات النّوى يتم تعديل على نسخة RNA الأولية (الشكل 15-10)
  - تُضاف قلنسوة ميثيل GTP إلى طرف $5'$.
  - يُضاف $3'$ ذيل عديد الأدينين عند النهاية $3'$ عن طريق مبلمر عديد الأدينين عند موقع محدّد.
  - تُزال المناطق الداخلية غير المشفِّرة عن طريق الوَصْل.

15-6 وَصْل سابق mRNA في حقيقيّات النّوى

تزال التعاقبات المعترضة في حقيقيّات النّوى عن طريق الوَصْل (الشكل 15 – 12).

- DNA المشفِّر (التعاقبات المشفِّرة) مفصولة عن طريق التعاقبات المعترضة غير المشفِّرة.
- يتم التّعرّف إلى نقاط اتصال التعاقبات المشفِّرة والتعاقبات المعترضة عن طريق سنيربس.
- تستقطب سنيربس معقدًا أكبر يُسَمَّى أجسام الوَصْل.
- يُقطع طرف $5'$ للتعاقبات المعترضة في أثناء عملية الوَصْل، ويربط مع موقع التفرع لتشكل تركيبًا يُسَمَّى العروة أو الثنية.
- بإمكان نسخة واحدة أن تنتج بدائل عدة مختلفة من mRNA عن طريق الوَصْل البديل.

15-7 تركيب tRNA والرايبوسومات

على الرّغم من أن الرايبوسوم اللاعب الرئيس في الترجمة، فإنه يحتاج إلى مشاركة mRNA، tRNA، وعوامل أخرى.

- يربط تفاعل الشحن الطرف الكربوكسيلي للحمض الأميني مع نهاية $3'$ لـ tRNA المناسب. (الشكل 15-14)
- يُسرِّع التفاعل السابق عن طريق أنزيم مخلق معقد tRNA والحمض الأميني.
- يمكن لثنية الكودون المضاد التابعة لـ tRNA أن تكون ازدواجًا قاعديًّا مع الكودون على mRNA
- يتألف الرايبوسوم من تحت وحدتين: كبيرة وصغيرة.
- ترتبط تحت الوحدة الصغيرة مع mRNA، وتعمل على فكّ الشّيفرة، في حين تحتوي تحت وحدة الكبيرة على أنزيم ناقل الببتيديل.
- الرايبوسوم لديه ثلاثة مواقع للارتباط tRNA (الشكل 15-15):
  - يرتبط موقع P مع tRNA الذي يحمل سلسلة الببتيد النامية.
  - يرتبط موقع A مع tRNA الذي يحمل الحمض الأميني اللاحق الذي سوف يُضاف.
  - يرتبط موقع E مع tRNA الذي كان يحمل الحمض الأميني السابق.

15-8 عملية الترجمة

عملية الترجمة معقدة ومستهلكة للطاقة.

- يتشكل معقد الاستهلال في بدائيّات النّوى من تحت وحدة الرايبوسوم الصغيرة وmRNA وtRNA مستهِل خاص.
- تعاقب ربط الرايبوسوم في mRNA في بدائيّات النّوى هو تعاقب مكمل لـ rRNA في تحت الوحدة الصغيرة. وتستخدم حقيقيّات النّوى قلنسوة $5'$ للغرض نفسه.
- تُصنع الرابطة الببتيدية بين الطرف الكاربوكسيلي للسلسلة النامية والطرف الأميني للحمض الأميني القادم (الشكل 15 – 18).
- يستلزم تصنيع البروتين أحداثًا دورية (الشكل 15 – 19).
  - يتم إحضار tRNA المشحون إلى الرايبوسوم عن طريق عامل الاستطالة EF-TU.
  - تُشكل الرابطة الببتيدية بين الحمض الأميني الجديد والسلسلة النامية.
  - تتحرك الرايبوسومات نسبة إلى mRNA وtRNA.
- يرتبط tRNA واحد مع كودونات عدة بسبب الازدواج المتذبذب.
- يتم التّعرّف إلى كودون الإيقاف عن طريق عوامل الإيقاف.
- لدى البروتينات الموجهة نحو الشّبكة الأندوبلازمية تعاقب أحماض أمينية في طرفها الأميني يرتبط مع جسيم التّعرّف إلى الإشارة الذي يساعد على رُسو الرايبوسوم.
- يرتبط جسيم التّعرّف إلى الإشارة مع تعاقب الإشارة، وهذا المعقد يتم التّعرّف إليه من قبل مستقبل بروتيني في الشّبكة الأندوبلازمية.

15-9 ملخص التّعبير الْجينيّ

يحوّل التّعبير الْجينيّ المعلومات من المحتوى الْجينيّ إلى البروتين. وتختلف هذه العملية بين بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى (الشكل 15 – 22).

15-10 الطّفرات: الجينات المتغيرة

بالإمكان استغلال الطّفرات لفهم الوظائف الْجينيّة.

- تتضمن الطّفرات النقطية تغييرًا في قاعدة واحدة.
- تحول الطّفرات فاقدة المعنى الكودونات إلى كودونات توقف.
- تتضمن طفرات إزاحة الإطار إضافة قاعدة أو إزالتها.
- يمكن أنْ تحدث طفرات تكرار الثلاثيات الممتدة أمراضًا وراثية.
- تغير الطّفرات الكروموسوميةُ تركيبَ الكروموسومات.
- الطّفرات نقطةُ البدايةِ للتطوّر.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. التجارب المتعلقة بالطّفرات الغذائية في فطر نيروسبورا التي قام بها بيدل وتاتم أعطت أدلة على أنّ:
أ . عفن الخبز يستطيع أن ينمو في المختبر على وسط أدنى.
ب. الأشعَّة السِّينيَّة تتلف DNA.
جـ. الخلايا تحتاج إلى الأنزيمات.
د . الجينات تحدِّد الأنزيمات.

2. المبدأ الرئيس للبيولوجيا الجزيئية هو:
أ . DNA هو المادة الْوِراثيَّة.
ب. تُمرر المعلومات من DNA إلى البروتين.
جـ. تمرر المعلومات من DNA إلى RNA إلى البروتين.
د . جين واحد يشفر ببتيدًا واحدًا فقط.

3. تصنيع بروتين جديد يُسَمَّى ________، وإنتاج mRNA المطابق لجين معين يُسَمَّى ________
أ . ترجمة، استنساخ. ب. إيقاف، ترجمة.
جـ. استنساخ، ترجمة. د . نقل، ترجمة.

4. يُحدّد كلّ حمض أميني في البروتين عن طريق:
أ . جينات عدة. ب. محفِّز.
جـ. كودون. د . جزيء mRNA.

5. صندوق TATA في حقيقيّات النّوى جزء من:
أ . لبّ الْمُحفِّز. ب. تعاقب 35-.
جـ. تعاقب 10-. د . قلنسوة ′5.

6. شريط التشفير هو:
أ . شريط DNA مفرد يُستنسخ لإنتاج جزيء RNA.
ب. شريط RNA مفرد يُستنسخ من DNA.
جـ. شريط DNA لا يُستنسخ لصناعة جزيء RNA.
د . جزء الكروموسوم الذي يحتوي على الجين.

7. النوع الذي يوجد عليه الكودون المضاد هو:
أ . snRNA النووي الصغير. ب. mRNA الرَّسول.
جـ. tRNA الناقل. د . rRNA الرايبوسومي.

8. يرتبط مبلمر RNA بـ ________لاستهلال ________
أ . mRNA، الترجمة. ب. الْمُحفِّز، الاستنساخ.
جـ. البادئ، الاستنساخ. د . عامل استنساخ، الترجمة.

9. واحد مما يأتي يعمل بوصفه إشارة "توقف" لمبلمر RNA في بدائيّات النّوى:
أ . تكوين فقاعة الاستنساخ.
ب. إضافة تعاقب طويل من نيوكليوتيدات الأدينين لطرف ′3.
جـ. إضافة قلنسوة ′5.
د . تكوين دبوس الشعر GC.

10. التعاقب المشفِّر هو تعاقب RNA الذي:
أ . يشفر البروتين.
ب. يُزال عن طريق أجسام الوَصْل.
جـ. هو جزء من تعاقب DNA غير المشفرة.
د . ب و جـ.

11. أفضل وصف ينطبق على وصف وظيفة الرايبوسوم في أثناء الترجمة هو:
أ . توجيه البروتينات نحو الشّبكة الأندوبلازمية الخشنة.
ب. تحديد تعاقب الأحماض الأمينية.
جـ. تحمل الأحماض الأمينية إلى mRNA.
د . تسرع عمل الروابط الببتيدية بين الأحماض الأمينية.

12. وظيفة تعاقب الإشارة هي:
أ . تستهل الاستنساخ بتسريع مبلمر RNA على الارتباط.
ب. تستهل الترجمة.
جـ. موقع الارتباط مع جسيم التّعرّف إلى الإشارة.
د . تشير إلى انتهاء الترجمة، وتسبب تفريق الرايبوسومات.

13. تستطيع الطَّفْرة النقطية أنْ تقود إلى طفرة عديمة المعنى من خلال:
أ . تغيير قاعدة واحدة، ليس له أيّ تأثير في البروتين.
ب. تغيير قاعدة واحدة يؤدي إلى حدوث إيقاف مبكر للترجمة.
جـ. تغيير قاعدة واحدة في الكودون من A إلى C.
د . إضافة قاعدة أو إزالتها يغير إطار القراءة في الجين.

14. واحدٌ مما يأتي يُعَدُّ من تبعات الانتقال:
أ . تتحرك الجينات من كروموسوم إلى آخر.
ب. يُنتِج مبلمر RNA جزيء mRNA.
جـ. يتفاعل جزيء mRNA مع الرايبوسوم لإنتاج بروتين.
د . يُقطع جزء من الكروموسوم، وينقلب، ثُمَّ يُعاد إدخاله.

15. العلاقة بين الطّفرات والتطور هي:
أ . الطّفرات تجعل الجينات أفضل.
ب. الطّفرات تنشئ أليلات جديدة.
جـ. تحدث الطّفرات في مراحل تطور مبكرة، ولكن ليس الآن.
د . لا توجد هناك علاقة بين التطور والطّفرات الْوِراثيَّة.

أسئلة تحدٍّ

1. شريط قالب من DNA له التسلسل الآتي:
3′ – CGTTACCCGAGCCGTACGATTAGG – 5′
استخدم المعلومات في التعاقب لتحدد:
أ . تعاقب mRNA المتوقع لهذا الجين.
ب. تعاقب الأحماض الأمينية المتوقع لهذا الجين.

2. صف كيف تؤثر الطّفرات الآتية في البروتين النهائي. اذكر اسم الطَّفْرة ونوعها:
الشريط القالب الأصلي:
أ . 3′-CGTTACCCGAGCCGTAACGATTAGG-5′
3′-CGTTACCCGAGCCGTAACGATTAGG-5′
ب. 3′-CGTTACCCGATCCGTACGATTAGG-5′
جـ. 3′-CGTTACCCGAGCCGTTCGATTAGG-5′

3. توقع ما إذا كان التّعبير الْجينيّ (بدءًا من استهلال الاستنساخ وحتى البروتين النهائي) سيكون أسرع في بدائيّات النّوى أم في حقيقيّات النّوى. علّل إجابتك.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. للتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

ARIS™

الفصل 16

التّحكم في التّعبير الْجينيّ

Control of Gene Expression

موجز المفاهيم

16-1 التّحكم في التّعبير الْجينيّ

- يحدث التّحكم عادة على مستوى استهلال الاستنساخ.
- تتغير إستراتيجيات التّحكم في بدائيّات النّوى؛ لكي تتلاءم مع التغيرات الْبيئيّة.
- تهدف إستراتيجيات التّحكم في حقيقيّات النّوى إلى المحافظة على الاتزان الداخلي.

16-2 البروتينات المنظِّمة

- تستطيع البروتينات أنْ تتفاعل مَعَ DNA من خلال الأخدود الرئيس.
- تتفاعل مناطق ربط DNA في البروتين مع تعاقبات نوعية في DNA.
- تشترك كثير من البروتينات في احتوائها على موتيفات ربط DNA عدة شائعة.

16-3 التّنظيم في بدائيّات النّوى

- يمكن أن يكون التّحكم في الاستنساخ إيجابيًّا أو سلبيًّا.
- تعدّل بدائيّات النّوى التّعبير الْجينيّ استجابة للظروف الْبيئيّة.
- تُنَظَّم المنطقة الفعالة (أوبيرون) lac سلبيًّا عن طريق مثبط اللاكتوز lac.
- يمنع وجود الجلوكوز تحفيز المنطقة الفعالة lac.
- يتم التّحكم في المنطقة الفعالة لـ trp عن طريق مثبط trp

16-4 التّنظيم في حقيقيّات النّوى

- يمكن أن تكون عوامل الاستنساخ عامة أو نوعيّة.
- المحفزات والمعززات مواقعُ ارتباط لعوامل الاستنساخ.
- تصل مرافقات المنشطات والوسائط بين عوامل الاستنساخ ومبلمر RNA الثاني.
- يجمع معقد الاستنساخ الأشياء مع بعضها.

16 - 5 تركيب الكروماتين في حقيقيّات النّوى

- يمكن تحوير كلٍّ من DNA وبروتينات الهستون.
- تغير بعضُ منشطات الاستنساخ تركيبَ الكروماتين.
- تغير معقداتُ إعادة نمذجة الكروماتين تركيبَ الكروماتين أيضًا.

16 - 6 التنظيم بعد النسخ في حقيقيّات النّوى

- بإمكان أنواع RNAs الصغير أنْ تؤثر في التّعبير الْجينيّ.
- بإمكان الوَصْل البديل إنتاج بروتينات عدة من الجين نفسه.
- يغير التحرير mRNA الرَّسول بعد النسخ
- يجب على mRNA أن ينتقل خارج النواة لغرض التّرجمة.
- يمكن التّحكم في استهلال التّرجمة.
- تحطيم mRNA الرَّسول مُسيطر عليه.

16 - 7 تحطيم البروتين

- تُعلِّم إضافة بروتين يوبيكوتين البروتينات للتحطيم.
- يحطّم جسيمُ تحطيمِ البروتين البروتيناتِ متعددةَ اليوبيكوتين.

مقدّمة

في الموسيقا، تعزف الآلات الموسيقية المختلفة الأجزاء الخاصة بها في أوقات مختلفة في أثناء المقطوعة الموسيقية. وتحدد المقطوعة الموسيقية أيّ الآلات تعزف في لحظة ما. كذلك الأمر بالنسبة إلى المخلوقات، حيث تعبر عن جيناتها المختلفة في أوقات مختلفة، وتقوم العلامات الجينية، المكتوبة في مناطق تنظيم DNA، بتحديد أيّ من الجينات ستكون نشطةً وفي أيّ وقت. توضّح الصّورة الجانبيّة «الانتفاخ» الممتد في كروموسوم ذبابة الفاكهة *Drosophila*، وهو يمثل الْجينات التي يجري التّعبير عنها بنشاط. موضوعنا في هذا الفصل هو التّعبير الْجينيّ وطرق التّحكم فيه.

1-16 التّحكم في التّعبير الْجينيّ

التّحكم في التّعبير الْجينيّ أساسيّ للمخلوقات جميعها. فهي تسمح لخلايا بدائيّات النّوى بالاستفادة من تغيرات الظّروف الْبيئيّة. وهي عملية مهمة في حقيقيّات النّوى متعددة الخلايا، حيث توجّه عمليتي التكوين الجنيني والمحافظة على الاتزان الداخلي.

يحدث التّحكم عادة على مستوى استهلال الاستنساخ

في الفصل السابق، عرفنا أن التّعبير الْجينيّ هو تحويل الطِّراز الْجينيّ إلى الطِّراز الظاهري- انسياب المعلومات من DNA لإنتاج بروتينات وظيفية تتحكم في الأنشطة الخلوية. ويمكننا رؤية أنّ التّحكم في هذه العملية يحدث في أيّ خطوة في الطريق. وفي الحقيقة، تحدث أمثلة التّحكم في معظم الخطوات. ومن أكثر المواضع منطقية للتحكم في هذه العملية، مع ذلك، هي الخطوة الأولى؛ إنتاج mRNA من DNA عن طريق الاستنساخ.

يمكن السيطرة على عملية الاستنساخ نفسها في أيّ خطوة، ولكن البداية هي أكثر المواضع منطقية. وعلى الرّغم من أنّ الخلايا لا تتصرف بطرق تتوافق مع منطقية الإنسان، فإن التّحكّمَ في استهلال الاستنساخ شائعةٌ.

يُعَدُّ مبلمر RNA مفتاح عملية الاستنساخ، ويجب أنْ يكون لديه مدخل إلى DNA ويستطيع الارتباط مع محفِّز الجين؛ لكي يبدأ الاستنساخ. تعمل **البروتينات المنظمة Regulatory proteins** على تعديل قدرة مبلمر RNA من أجل الارتباط بالمحفِّز. إنّ فكرة التّحكم في وصول مبلمر RNA إلى المحفِّز موجودة لدى حقيقيّات النّوى وبدائيّات النّوى مع اختلافات في التفاصيل كما سنرى.

ترتبط هذه البروتينات المنظمة مع تعاقب نيكلوتيدات نوعي على DNA طوله بين 10-15 نيوكليوتيدًا. (حتى أكبر بروتين منظم، له «موطئ قدم»، أو منطقة ارتباط، طولها 20 نيوكليوتيدًا تقريبًا). ولقد وصف مئات من هذه التعاقبات من النيوكليوتيد المنظمة، وكل منها يعمل بوصفه موقعًا لارتباط بروتين معين قادر على التّعَرّف إلى التعاقب. ويكون ارتباط البروتينات المنظمة إما لتسد طريق *blocks* الاستنساخ باعتراض طريق مبلمر RNA، أو لتحفز *stimulate* الاستنساخ بتسهيل ارتباط مبلمر RNA بالمحفِّز.

تتغير إستراتيجيات التّحكم في بدائيّات النّوى؛ لكي تتلاءم مع التغيرات الْبيئيّة

يتم التّحكم في التّعبير الْجينيّ في بدائيّات النّوى بطرق تختلف عن تلك الموجودة في حقيقيّات النّوى. لقد تشكلت خلايا بدائيّات النّوى بعملية التطور، بحيث تنمو، وتنقسم بأقصى سرعة ممكنة تمكنها من استغلال الموارد العابرة. وتستطيع بدائيّات النّوى أنْ تقلب البروتينات بسرعة تسمح للخلية بالاستجابة للتغيرات التي تحدث في البيئة بسرعة، وذلك بتغيير أنماط التّعبير الْجينيّ.

فالوظيفة الرّئيسة للتحكم في الجينات، في بدائيّات النّوى، هي تعديل أنشطة الْخليّة بحسب البيئة المحيطة بها. والتغيرات في التّعبير الْجينيّ تغير الأنزيمات الموجودة استجابة لكميات الغذاء المتوافر وأنواعه وكمية الأكسجين. هذه التغيرات جميعها منعكسة، وتسمح للخلية بضبط مستويات الأنزيمات للأعلى أو للأسفل وَفْق تغيرات البيئة.

تهدف إستراتيجيات التّحكم في حقيقيّات النّوى إلى المحافظة على الاتزان الداخليّ

في المقابل، شكل التطور خلايا المخلوقات متعددة الخلايا، بحيث تكون محمية من التغيرات العابرة في البيئة المحيطة بها. لذا، فإنّ معظم المخلوقات تعيش في ظروف ثابتة لا تتغير. بالتأكيد، يُعدّ **الاتزان الداخلي Homeostasis** -المحافظة على بيئة داخلية ثابتة- لدى كثيرين السمة المميزة للمخلوقات متعددة الخلايا. وتقوم الخلايا بالاستجابة للإشارات الواردة في البيئة القريبة منها (مثل الهرمونات وعوامل النمو) بأن تغير التّعبير الْجينيّ، وبهذا العمل تشارك في تنظيم الجسم كاملًا.

تعوض بعض التغيرات في التّعبير الْجينيّ عن التغيرات في الحالة الفسيولوجية للجسم. بعض التغيرات يتوسط عملية اتخاذ القرارات المتعلقة بتكوين الجسم، والتأكد من التّعبير الصحيح عن الجينات في الخلايا المناسبة في الوقت المناسب في أثناء التكوين الجنيني. سنتناول التفاصيل في الفصول اللاحقة، ولكن يمكننا الآن القول ببساطة: إن نمو المخلوقات متعددة الخلايا وتطوّرها يترتب عليه تعاقب من التفاعلات الكيميائية الحيوية، كلّ منها يُسَرِّعه أنزيمات معينة. وما إنْ يحدث تغير معين في التكوين الجنيني، فإنّ نشاط هذه الأنزيمات يتوقف؛ مخافة أنْ تقوم بتعطيل الأحداث التي تأتي بعد ذلك.

لإنتاج هذا التتابع من الأنزيمات، تُستنسخ الجينات بتأنٍّ وبترتيب محدد، كلّ منها محدد بمدة زمنية، متبعة بذلك برنامجًا وراثيًّا ثابتًا قد يؤدي حتى إلى **موت الْخليّة المبرمج Apoptosis**. إنّ التّعبير الْجينيّ، الذي يعمل لمرة واحدة، والذي يحدث للجينات التي تقود برنامج التكوين الجنيني، مختلف في الأساس عن التكيفات الأيضيّة المنعكسة التي تقوم بها خلايا بدائيّات النّوى استجابة للبيئة. ففي المخلوقات متعددة الخلايا جميعها، تخدم التغيرات في التّعبير الْجينيّ الذي يحدث في خلايا معينة، حاجة المخلوق بشكل كامل، مفضلة ذلك على بقاء بعض الخلايا المنفردة.

تستخدم وحيدات الْخليّة في حقيقيّات النّوى آلية تحكم مختلفة عن تلك الموجودة في بدائيّات النّوى. إذ إن حقيقيّات النّوى جميعها لديها نوى محاطة بغشاء، وتستخدم آليات متشابهة لتكثيف DNA على شكل كروموسوم، ولها آلية التّعبير الْجينيّ نفسها، وكل ذلك يختلف عن تلك الموجودة في بدائيّات النّوى.

عادة، يكون التّحكم في التّعبير الْجينيّ على مستوى استهلال الاستنساخ. تؤثر البروتينات المنظمة التي تستطيع أن ترتبط مع مواقع نوعية على DNA في ارتباط مبلمر RNA مع المحفِّزات. تختلف حقيقيّات النّوى عن بدائيّات النّوى في تفاصيل العملية.

2-16 البروتينات المنظِّمة

إن قدرة بعض البروتينات على الارتباط مع تعاقبات تنظيم نوعية specific على DNA تشكل الآلية الأساسية للتنظيم الْجينيّ، أيّ القدرة الأساسية التي تجعل التّحكم في الاستنساخ ممكنًا. ولفهم الكيفية التي تتحكم من خلالها الْخليّة في التعبير الْجينيّ، من الضروري أولًا أنْ نأخذ صورة واضحة عن العملية الجزيئية للتعرف.

تستطيع البروتينات أنْ تتفاعل مع DNA من خلال الأخدود الرئيس

في السابق، اعتقد علماء البيولوجيا الجزيئية أنه يجب انفكاك حلزون DNA حتى يستطيع البروتين أنْ يرتبط ويميِّز بين تعاقب DNA وآخر. ولقد رأوا أنّ هذه هي الطريقة الوحيدة التي يستطيع من خلالها البروتين المنظم الدخول إلى الروابط الهيدروجينية بين أزواج القواعد. نعلم الآن ضرورة انفكاك التفاف الحلزون؛ لأنّ البروتينات ترتبط مع السطح الخارجي لـ DNA حيث تكون أطراف الأزواج القاعدية مكشوفة.

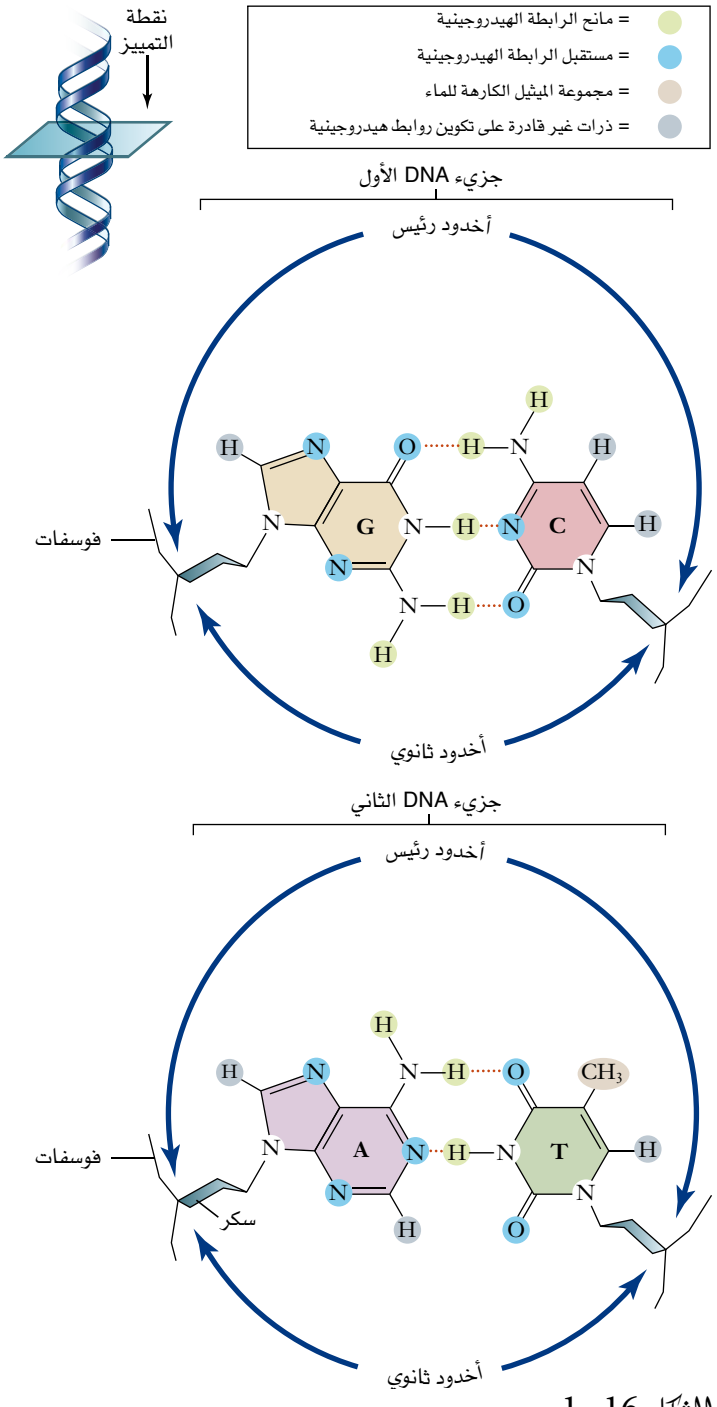
يكشف الفحص المتأني لجزيء DNA عن أخدودين حلزونيين ملتفين حول الجزيء المزدوج، واحد أعمق من الآخر. وتكون النيوكليوتيدات المانحة والمستقبلة للروابط الهيدروجينية والموجودة في الأخدود العميق، المسمى **الأخدود الرّئيس**، مكشوفة والوصول إليها سهلٌ. ويكون نمط الروابط المخلَّق بين هذه المجموعات الكيميائية مميزًا وفريدًا لكلّ من ترتيبات الأزواج القاعدية الأربعة المحتملة، ما يجعل قراءة تعاقب DNA عن طريق البروتين الذي يحضنه الأخدود أسرع (الشكل 16-1).

تتفاعل مناطق ربط DNA في البروتين مع تعاقبات نوعية في DNA.

إن مجالَ تعارف DNA مع البروتين مدارُ بحث نشط. لغاية الآن، تم تحليل تركيب أكثر من 30 بروتينًا منظمًا ودراستها. وعلى الرّغم من أنّ كلّ بروتين فريد في تفاصيله الدقيقة، إلا أنّ الأجزاء البروتينية التي ترتبط مع DNA تكون أقل اختلافًا بشكل كبير. توظف هذه البروتينات جميعها **موتيفات ربط DNA** **DNA-binding motif** تقريبًا. والموتيفُ، كما وصف في (الفصل الـ3)، شكلٌ ثلاثي الأبعاد يوجد لدى كثير من البروتينات. تشترك موتيفات ربط DNA في قدرتها على التفاعل مع تعاقبات محددة من القواعد، وعادة من خلال الأخدود الرّئيس للحلزون المزدوج.

تعدّ موتيفات ربط DNA التركيب الرّئيس داخل منطقة (حقل) ربط DNA لتلك البروتينات. وتعدّ هذه المنطقة الجزء المتميز وظيفيًّا في البروتين الضروري للارتباط مع DNA بصورة نوعية التعاقب. تحتاج البروتينات المنظمة إلى القدرة على الارتباط مع جهاز الاستنساخ، الذي يتم عن طريق مناطق أخرى منظِّمة.

لاحظ أن البروتينين اللذين يشتركان في منطقة ربط DNA نفسها لا يرتبطان بالضرورة مع تعاقب DNA نفسه. ويَظهر أنّ الشبه في موتيفات ربط DNA يكون في شكلهما ثلاثي الأبعاد، وليس بتفاصيل التلامس النوعي مع DNA.

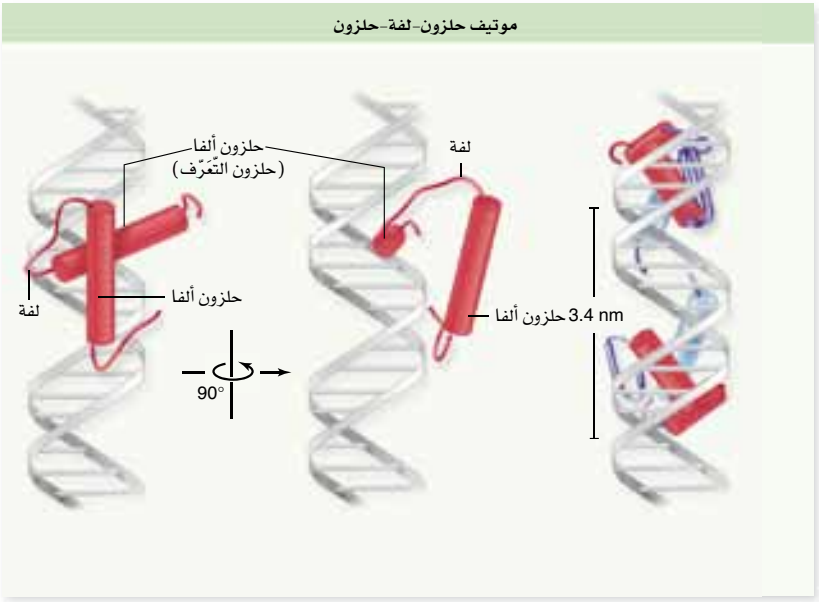


الشكل 16-1

قراءة الأخدود الرّئيس لـ DNA. بالنظر إلى الأسفل نحو الأخدود الرّئيس في حلزون DNA، يمكننا رؤية حواف القواعد تبرز في داخل الأخدود. كلّ من الأربعة ترتيبات المحتملة لأزواج القواعد (يظهر ترتيبان في الشكل) تَمُدُّ طقمًا فريدًا من المجموعات الكيميائية داخل الأخدود، يشار إليها في الرسم بألوان مختلفة. يستطيع البروتين المنظم التعرف إلى تنظيم أزواج القواعد من خلال صفاتها المتميزة.

أ.

الشكل 16-2



موتيفات ربط DNA الرئيسة. يظهر في الشكل عدد من موتيفات ربط DNA الشائعة، ورسمت لتمثل تفاعلها مع DNA. أ. موتيف حلزون-لفة-حلزون يظهر مرتبطًا مع DNA باستخدام حلزون ألفا واحد، وهو حلزون التّعرّف، الذي يتفاعل مع الأخدود الرّئيس، ويقوم الحلزون الآخر بتثبيت حلزون التّعرّف. تكون البروتينات التي لديها هذه الموتيفات على شكل ثنائيات، لها تحت وحدتين متطابقتين، ويحتوي كلّ منهما على موتيف ربط DNA. تكون نسختا الموتيف (الحمراء) مفصولتين بمسافة قدرها 3.4 نانومترات، وهي بشكل دقيق مسافة لفة واحدة من حلزون DNA، ما يسمح للبروتينات المنظمة بالدخول إلى أخدودين رئيسين في DNA.
ب. موتيفات المنطقة المتجانسة شائعة في البروتينات التي تنظم التكوين الجنيني، وتشترك في تشابه تركيبي مع حلزون-لفة-حلزون كما في (أ).
ج. موتيف أصبع الزنك وله حلزونا ألفا يرتبطان مع أخدود رئيس. تعمل موتيفات ربط DNA بوصفها أصابع يد تمسك بـ DNA.
د. يعمل زمام (سحاب) لوسين المنزلق على تثبيت تحت الوحدتين ضمن بروتين متعدد تحت الوحدات، ويسمح لمناطق حلزون ألفا أن تتفاعل مع DNA.

تشترك كثير من البروتينات في احتوائها على موتيفات ربط DNA عدة شائعة

وُصِف عدد محدود من موتيفات ربط DNA الشائعة التي وجدت في أنواع كثيرة من البروتينات المختلفة. سوف نستعرض بالتفصيل أربعة من أكثر موتيفات ربط DNA انتشارًا؛ كي نتعرف إلى طريقة ارتباط البروتينات مع DNA.

موتيف حلزون – لفة- حلزون

أكثر موتيفات ربط DNA شيوعًا هو **حلزون–لفة–حلزون Helix-turn-helix** والمركّب من قطعتين من حلزون ألفا α مربوطتين بقطعة غير حلزونية "اللفة" (الشكل 16-2أ) ومنذ أن تم التّعرّف إلى موتيف حلزون-لفة-حلزون بوصفه أول موتيف، تم التّعرّف إليه منذ ذلك الوقت في المئات من بروتينات ربط DNA.

وبالنظر عن كثب إلى تركيب موتيف حلزون-لفة-حلزون، سنرى كيف تتفاعل البروتينات التي تحتوي على مثل هذه الموتيفات مع DNA. ترتبط القطعتان الحلزونيتان مع بعضهما، بحيث تكونان عموديتين على بعضهما. وعندما يقترب هذا الموتيف من DNA، ترتبط إحداهما (وتُسمّى "حلزون التّعرّف" *Recognition helix*) مع الأخدود الرّئيس بشكل محكم، في حين تبرز الأخرى خارج DNA لتضمن تثبيت حلزون التّعرّف بالوضع الصحيح.

توجد معظم تعاقبات DNA المنظمة التي يتم التّعرّف إليها من قِبَل موتيف حلزون-لفة-حلزون على شكل أزواج متناظرة. ترتبط هذه التعاقبات مع بروتينات تحتوي على اثنين من موتيف حلزون–لفة–حلزون، وتكون المسافة بين الوحدتين 3.4 ناتومترات (nm) وهي المسافة المطلوبة للفة واحدة لحلزون DNA (الشكل 16-2أ). وبوجود موقعي ربط DNA فإنّ ذلك يضاعف من منطقة التلامس بين البروتين و DNA ، ويعزز من قوة الترابط بينهما بشكل كبير.

موتيف المنطقة المتجانسة

هناك مجموعة خاصة من موتيفات حلزون-لفة-حلزون هي **المنطقة المتجانسة Homeodomain**، التي تؤدي دورًا كبيرًا في التكوين الجنيني في عدد كبير من أنواع المخلوقات حقيقيّات النّوى، ومن ضمنها الإنسان. اكتُشف هذا الموتيف عندما بدأ الباحثون يصفون طقمًا من الطفرات الذاتية في الدروسوفيلا (طفرة تسبب استبدال جزء من الجسم مكان جزءٍ آخر). وقد وجدوا أنّ الجينات الطافرة تشفِّر بروتينات منظمة. تستهل هذه البروتينات عادة مراحل رئيسة من التكوين الجنيني عن طريق الارتباط مع جينات تشكل نقاط تحكم. حُلِّل أكثر من خمسين بروتينًا منظمًا، وجميعها تحتوي على منطقة فيها 60 حامضًا أمينيًّا متطابقًا تقريبًا سميت المنطقة المتجانسة *Homeodomain* (الشكل 16-2ب). ويحتوي أكثر جزء محافظ في المنطقة المتجانسة على موتيف حلزون–لفة–حلزون. أما الجزء الآخر من المنطقة المتجانسة فيشكل حلزونين من هذا الموتيف.

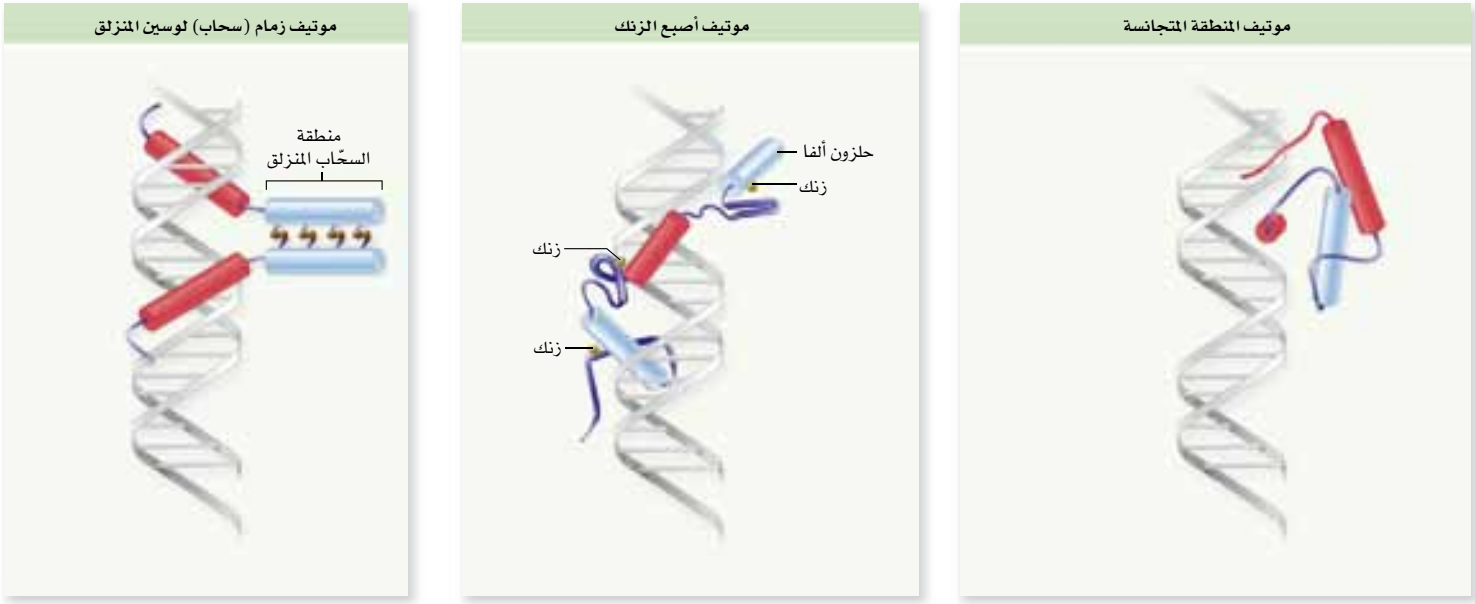
موتيف أصبع الزنك

هناك نوع آخر من الموتيفات التي ترتبط مع DNA ، وتستخدم ذرة أو أكثر من الزنك لتنسق ارتباط البروتين مع DNA. وتوجد هذه الموتيفات التي تُسمّى **أصابع الزنك Zinc fingers** (الشكل 16-2ج)، بأشكال عدة في شكل واحد منها، ترتبط فيه ذرة الزنك، بين قطعة حلزون ألفا α وقطعة صفائح بيتا المثناة (الفصل الثالث) حتى تتلاءم قطعة الحلزون مع الأخدود الرّئيس في DNA.

عادة، يكون هذا النوع من الموتيفات على هيئة تجمعات، حيث تفصل صفائح بيتا بين القطع الحلزونية التي تلامس كلّ منها أخدودًا رئيسًا. وكلما زاد عدد ذرات الزنك، زادت قوة الربط بين البروتين و DNA. وفي أشكال أخرى من موتيفات الزنك، تحلُّ قطع حلزونية مكان صفائح بيتا.

موتيف زمام (سحّاب) لوسين المنزلق

في نوع آخر من موتيفات ربط DNA، تتعاون تحت وحدتي بروتين مختلفتين لتصنعا موقع ربط DNA وحيدًا. ويتطور هذا الموتيف، عندما يرتبط جزء من إحدى تحت الوحدتين يحتوي على أحماض أمينية عدة غير محبة للماء (عادة لوسين) مع منطقة مماثلة من تحت الوحدة الأخرى. يثبت هذا الارتباط تحت الوحدتين مع بعضهما عند تلك المنطقة مع بقائهما منفصلتين عند المناطق الأخرى. ويُسمّى هذا الموتيف



ب. ج. د.

زمام (سحّاب) **لوسين المنزلق Leucine zipper**: لإنه يشبه حرف Y حيث يكوّن الذراعان المناطقَ الحلزونيةَ التي تتناسب مع الأخدود الرّئيس في DNA (الشكل 16-2 د). ولأن تحت الوحدتين تسهمان بمناطق حلزونية مختلفة في الموتيف، فإنّ سحّاب لوسين يسمح بمرونة أكبر في التّحكم بالتعبير الْجينيّ.

يجب أنْ يكون لدى البروتينات المنظمة القدرة على الارتباط مع DNA لتؤثر في الاستنساخ. تحتوي هذه البروتينات جميعها على طقم صغير نسبيًا من موتيفات ربط DNA الشائعة. تشكل هذه الموتيفات الموقع النشط من مناطق ربط DNA، ويرتبط جزء آخر من البروتينات المنظمة مع جهاز الاستنساخ.

3-16 التّنظيم في بدائيّات النّوى

يمكن الكشف عن تفاصيل التّنظيم بفحص الآلية التي تستخدمها بدائيّات النّوى للتحكم في استهلال الاستنساخ. تشترك بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى في كثير من الخصائص الرّئيسة، إلا أنّ هناك اختلافات عميقة في التفاصيل. وسوف نناقش لاحقًا أنظمة حقيقيّات النّوى والتركيز على كيفية اختلافها عن أنظمة بدائيّات النّوى الأبسط.

يمكن أنْ يكون التّحكم في الاستنساخ إيجابيًا أو سلبيًا

يكون التّحكم في استهلال الاستنساخ إيجابيًّا أو سلبيًّا. فأما **التّحكم الإيجابيّ Positive control** فيكون بزيادة تكرار الاستهلال، في حين يكون **التّحكم السّلبيّ Negative control** بنقصان تكرار الاستهلال. ويتم تنظيم كلّ نوع من أنواع التّحكم عن طريق بروتينات منظمة، بحيث يكون تأثيرها معاكسًا لبعضها.

التّحكم السّلبيّ عن طريق المثبطات

يقوم بالتوسط في التّحكم السّلبيّ بروتينات تُسمّى **المثبطات Repressors**. تُسمّى المواقع المنظمة على DNA التي ترتبط بها بروتينات المثبطات، **المُشَغّلات Operators** وبذلك تمنع استهلال الاستنساخ أو تقلل منه. لذا، فهي تعمل كعوائق الطرقات لكي تمنع مبلمر RNA من الاستهلال بفعالية.

لا تعمل المثبطات بمفردها، فكل منها يستجيب لجزيئات نوعية مؤثرة. يمكن أنْ يغيِّر ارتباط المؤثرات من شكل الْمُثَبِّط الفراغي من أجل تعزيز أو إنهاء ارتباطها مع DNA. البروتينات الْمُثَبِّطة عبارة عن بروتينات اللوستيرية؛ أيّ لديها مواقع نشطة تستطيع من خلالها الارتباط مع DNA، ولها أيضًا مواقع منظمة ترتبط عن طريقها مع المؤثرات. يغير الارتباط شكل البروتينات اللوستيرية، كما وُصف في (الفصل الـ 6).

التّحكم الإيجابيّ عن طريق المنشطات

يتم التوسط في التّحكم الإيجابيّ من خلال مجموعة أخرى من بروتينات منظمة واللوستيرية تُسمّى **المنشطات Activators** التي تستطيع الارتباط مع DNA لتحفز استهلال الاستنساخ. تعزز هذه المنشطات من ارتباط مبلمر RNA مع المحفِّز لزيادة مستوى استهلال الاستنساخ.

تعدّ المنشطات المضادات المنطقية والفيزيائية للمثبطات. ويمكن أنْ يعزّز الجزيء المؤثر ارتباط المنشطات أو يحدّ منه.

تعدّل بدائيّات النّوى التّعبير الْجينيّ استجابة للظروف الْبيئيّة

تؤدي التغيرات الْبيئيّة التي تواجهها بدائيّات النّوى والبكتيريا القديمة إلى تغييرات في التّعبير الْجينيّ غالبًا. وبشكل عام، تستجيب الجينات التي تشفِّر البروتينات التي تعمل في مسارات الهدم (تحطيم الجزيئات) بشكل معاكس للجينات التي تشفر البروتينات التي تعمل في مسارات البناء (بناء الجزيئات).

في المناقشة القادمة، سنصف أنزيمات مسار الهدم التي تنقل سكر اللاكتوز وتستهلكه. وسنصف لاحقًا مسار البناء الذي يصنع الحمض الأميني تربتوفان.

كما ذُكر في الفصل السابق، تنتظم جينات بدائيّات النّوى غالبًا في منطقة فعالة (أوبيرون)، وهي جينات عدة تشكل جزءًا من وحدة استنساخ تحت مفردة، ولديها محفِّز وحيد. وتنتظم الجينات اللازمة للمسار الأيضي نفسه غالبًا بالطّريقة نفسها. فالبروتينات الضرورية لاستهلاك اللاكتوز تُشَفَّر عن طريق **المنطقة الفعالة *lac* operon *lac*** وأما البروتينات الضرورية لتصنيع تربتوفان فتشفر عن طريق **المنطقة الفعالة *Trp* operon *Trp***.

استقصاء

ما مصلحة البكتيريا من وراء ربط جينات عدة، لها مُنْتَجات تسهم في المسار الكيميائي الحيوي نفسه، في منطقة فعالة واحدة؟

التحفيز والتثبيط

إذا واجهت البكتيريا اللاكتوز، فإنها تبدأ بتصنيع الأنزيمات اللازمة لاستهلاكه. وفي حال عدم وجود اللاكتوز، فليس هناك حاجة إلى صناعة هذه البروتينات. لذا، نقول: إن صناعة البروتينات حُفِّزت *Induced* بوجود اللاكتوز. ولهذا، يحدث **التحفيز Induction** عندما تُنْتَج الأنزيمات التابعة لمسار معين استجابة لوجود المادة الأساس.

عند وجود تربتوفان في البيئة المحيطة في الْخليّة، لا داعي لأنْ تصنع الْخليّة البكتيرية الأنزيمات اللازمة لصناعة تربتوفان. وإذا لم يتوافر تربتوفان فإنّ الْخليّة تبدأ بعمل هذه الأنزيمات. يحدث **التثبيط Repression** عندما لا تقوم البكتيريا القادرة على بناء أنزيمات الصناعة الحيوية بإنتاجها. في حالتي التحفيز أو التثبيط، تضبط الْخليّة البكتيرية نفسها لإنتاج الأنزيمات الأمثل للبيئة المحيطة بها.

التّحكم السّلبيّ

لا يكون مجرد معرفة أنّ مستوى التّحكم في التّعبير الْجينيّ يكون على مستوى استهلال الاستنساخ كافيًا لكي يخبرنا عن طبيعة هذا التّحكم- فقد يكون سلبيًّا أو إيجابيًّا. فعلى السطح، قد يظهر التثبيط سلبيًّا والتحفيز إيجابيًّا؛ غير أنه في حالتي المنطقة الفعالة *lac* و *trp*، يكون التّحكم سلبيًّا عن طريق البروتين الْمُثَبِّط. والسبب هو أن لدى البروتينات المؤثرة تأثيرات على الْمُثَبِّط في عملية التحفيز معاكسة لتلك المؤثرات الموجودة في التثبيط.

حتى تعمل كلتا الآليتين، تؤثر العوامل الْبيئيّة ممثلة في لاكتوز وتربتوفان المناسب في الجين المنظِّم. ففي حالة تحفيز المنطقة الفعالة *lac*، يجب على اللاكتوز أنْ **يمنع prevent** البروتين الْمُثَبِّط من الارتباط مع التعاقب المنظم له. وفي حالة تثبيط *trp*، في المقابل، يجب أنْ يؤدي وجود تربتوفان إلى ارتباط البروتين الْمُثَبِّط بتعاقب DNA المنظِّم له.

تعدّ هذه الاستجابات متعاكسة؛ لأنّ حاجات الْخليّة معاكسة في مسارات البناء لتلك في مسارات الهدم. وسوف تتناول كلّ مسار بالتفصيل في الأجزاء القادمة؛ لنرى كيف تسمح تفاعلات البروتين مع DNA للخلية بالاستجابة لعوامل البيئة.

تُنَظَّم المنطقة الفعالة *lac* سلبيًّا عن طريق مثبط *lac*

اكتُشف التّعبير الْجينيّ للمنطقة الفعالة *lac* وتوضيحه من خلال العمل الرائد لجاك مونود وفرانسوا جاكوب. تتكون المنطقة الفعالة *lac* من مجموعة جينات تشفِّر أنزيمات تعمل في مسار استهلاك اللاكتوز، وهي: محلل بيتا جلاكتوساید (بيتا-جالاكتوسايديز) (*lacZ*) β-galactosidase، **ومنفذ لاكتوز** (لاكتوزبيرمييز) (*lacY*) lactose permease، ومضيف الأستيل للاكتوز (لاكتوز ترانس أسيتيليز) (*lacA*) lactose transacetylase، إضافة إلى الأجزاء المنظمة والضرورية للتحكم في تعبير هذه الجينات (الشكل 16-3). إضافة إلى ذلك، فإنّ جين مثبط اللاكتوز (*lacI*) متصل مع باقي المنطقة الفعالة *lac* . لذا، يُعَدُّ جزءًا من المنطقة الفعالة على الرغم من وجود محفِّز خاص به. ويُعَدّ ترتيب مناطق التّحكم في المنطقة الفعالة أعلى التيار للمنطقة المُشفِّرة تقليديًّا في معظم المناطق الفعالة لبدائيات النّوى، إلا أنّ الْمُثَبِّط المتصل ليس كذلك.

عمل الْمُثَبِّط

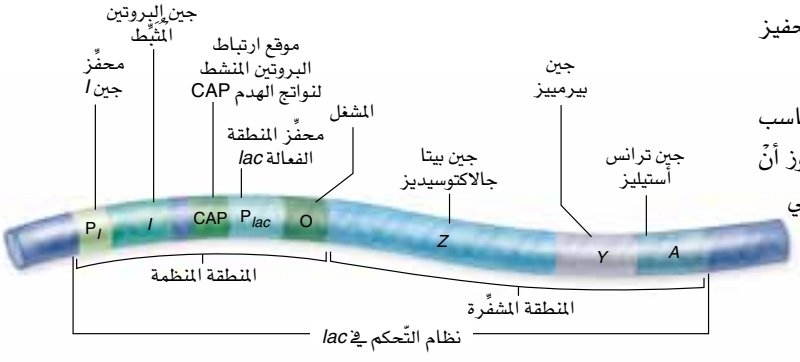
يتم التّحكم في عملية استهلال الاستنساخ في المنطقة الفعالة *lac* عن طريق مثبط lac. يرتبط الْمُثَبِّط بالمشغل الملاصق للمحفِّز (الشكل 16-4أ). يؤدي هذا الارتباط إلى منع مبلمر RNA من الارتباط بالمحفِّز. وتُعَدّ عملية الارتباط هذه حساسة لوجود اللاكتوز: حيث يرتبط الْمُثَبِّط مع DNA في غياب اللاكتوز، ولا يرتبط مع DNA عند وجود اللاكتوز.

تفاعل الْمُثَبِّط مع المؤثر

يرتبط مثبط *lac* في غياب اللاكتوز مع المشغل ما يؤدي إلى تثبيط المنطقة الفعالة (الشكل 16 - 4أ). ويربط المؤثر الذي هو أحد نواتج التغيرات الأيضة للاكتوز، ويدعى ألولاكتوز الذي يُنْتَج عند وجود اللاكتوز ألولاكتوز مع الْمُثَبِّط، ويغير شكله، فلا يعدو بمقدوره الارتباط مع المشغل (الشكل 16-4ب)، ويبدأ تحفيز المنطقة الفعالة.

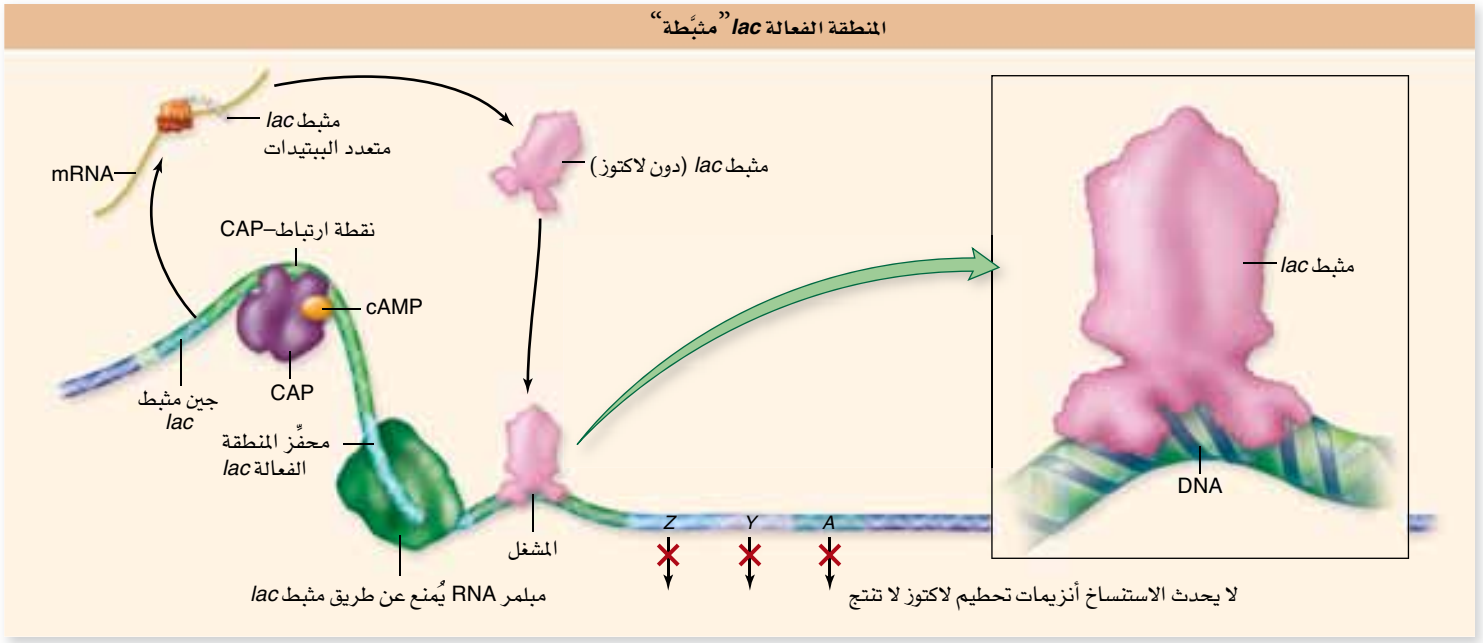
عندما ينخفض مستوى لاكتوز، لا يعود ألولاكتوز موجودًا للارتباط مع الْمُثَبِّط، ما يسمح للمثبط بالارتباط مع DNA مرة أخرى. لذا، فإنّ نظام التّحكم السّلبيّ عن طريق مثبط *lac* ومؤثره؛ أيْ ألولاكتوز، يسمح للخلية بالاستجابة للتغير في مستويات لاكتوز في البيئة المحيطة.

عند غياب لاكتوز، يعبَّر عن المنطقة الفعالة *lac* بمستويات منخفضة. وعند توافره، يُنقل إلى داخل الْخليّة، وإنتاج كميات كافية من ألولاكتوز، وذلك يؤدي إلى تحفيز المنطقة الفعالة.

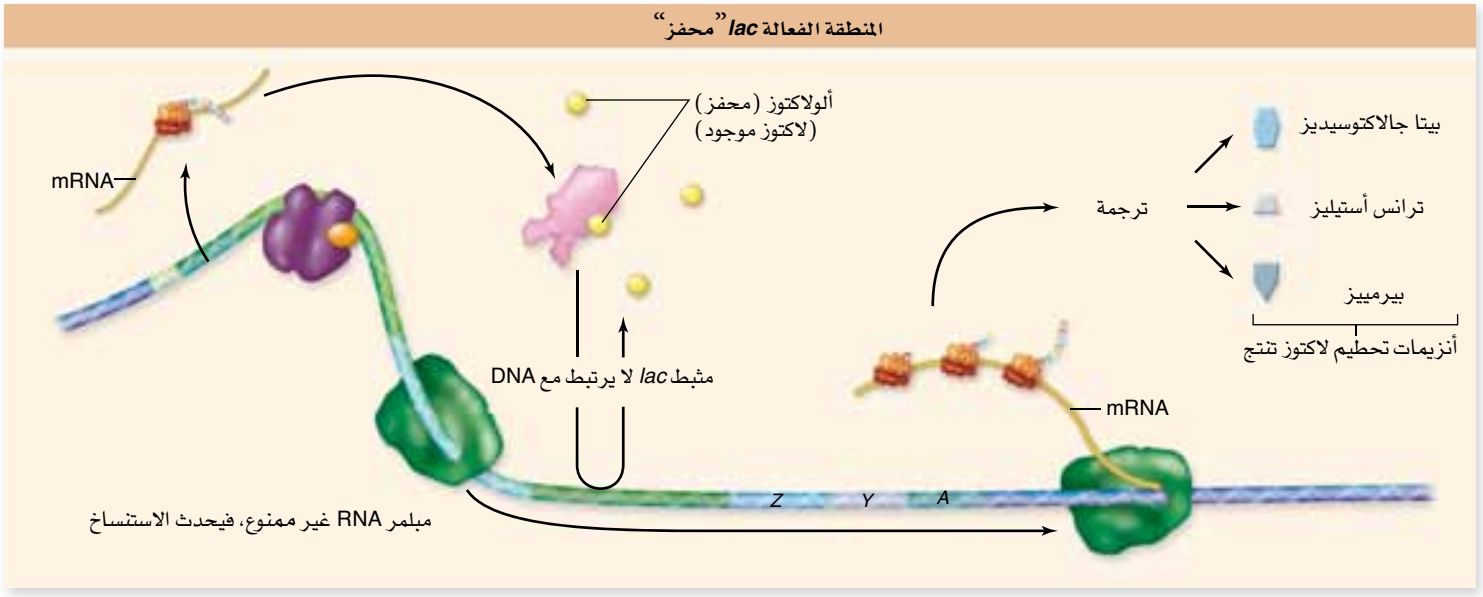


الشكل 16-3

أجزاء *LAC* في كروموسوم *Escherichia coli*. تتألف المنطقة الفعالة *lac* من محفِّز، ومشغل، وثلاثة جينات (*lac Z, Y,A*) تشفّر للبروتينات اللازمة لأيض اللاكتوز. إضافة إلى ذلك، هناك موقع مخصص لارتباط البروتين المنشط لنواتج الهدم (CAP) الذي يؤثر في ارتباط مبلمر RNA مع المحفِّز. يشفر الجين *I* للبروتين الْمُثَبِّط الذي سيرتبط مع المشغل، ويمنع استنساخ جينات *lac*.



أ.



ب.

الشكل 16–4

تحفيز المنطقة الفعالة *LAC*. أ. مثبط *lac*. حيث إن الْمُثَبِّط يملأ الأخدود الرّئيس لحلزون DNA، لا يستطيع مبلمر RNA الارتباط بشكل كامل مع المحفِّز، فيُحجب الاستنساخ. عندما يرتبط بروتين الْمُثَبِّط بموقع المشغل، فإنّ المنطقة الفعالة *lac* تصبح مغلقة (مثبطة). ولأنّ موقعي المحفِّز والمشغل متداخلان، فإنّ مبلمر RNA والْمُثَبِّط لا يستطيعان الارتباط والعمل بشكل متزامن، وليس بمقدور سيارتين الوقوف في موقف سيارة واحد. ب. يتم استنساخ (تُحفز) المنطقة الفعالة *lac* عندما يرتبط البروتين المنشط لنواتج الهدم، وعندما لا يرتبط الْمُثَبِّط. يغير ارتباط ألولاكتوز شكل الْمُثَبِّط الفراغي، بحيث لا يستطيع الارتباط مع موقع المشغل، ويمنع نشاط مبلمر RNA.

يمنع وجود الجلوكوز تحفيز المنطقة الفعالة *lac*

إنّ التثبيط عن طريق **الجلوكوز Glucose repression** استخدام تفضيلي للجلوكوز على السّكّريّات الأخرى مثل لاكتوز. فإذا تم تنمية البكتيريا بوجود الجلوكوز واللاكتوز، فإن المنطقة الفعالة *lac* **لاتُحفّز**. ولكن عند استهلاك كامل الجلوكوز، تُحفّز المنطقة الفعالة *lac*، ما يجعل الْخليّة تستخدم اللاكتوز مصدرًا للطاقة.

وعلى الرّغم من استخدام تسمية التثبيط عن طريق الجلوكوز، فإن هذه الآلية تستخدم بروتينًا منشطًا بمقدوره أنْ يحُثّ على الاستنساخ من مناطق فعالة هدمية عدة، من ضمنها المنطقة الفعالة lac. هذا المنشط هو البروتين **المنشط لنواتج الهدم Catabolite activator protein (CAP)** وهو عبارة عن بروتين له مؤثر هو cAMP. ويُسمّى هذا البروتين أيضًا **البروتين المستجيب لـ cAMP cAMP response protein (CRP)**؛ لأنه يرتبط بـ cAMP،

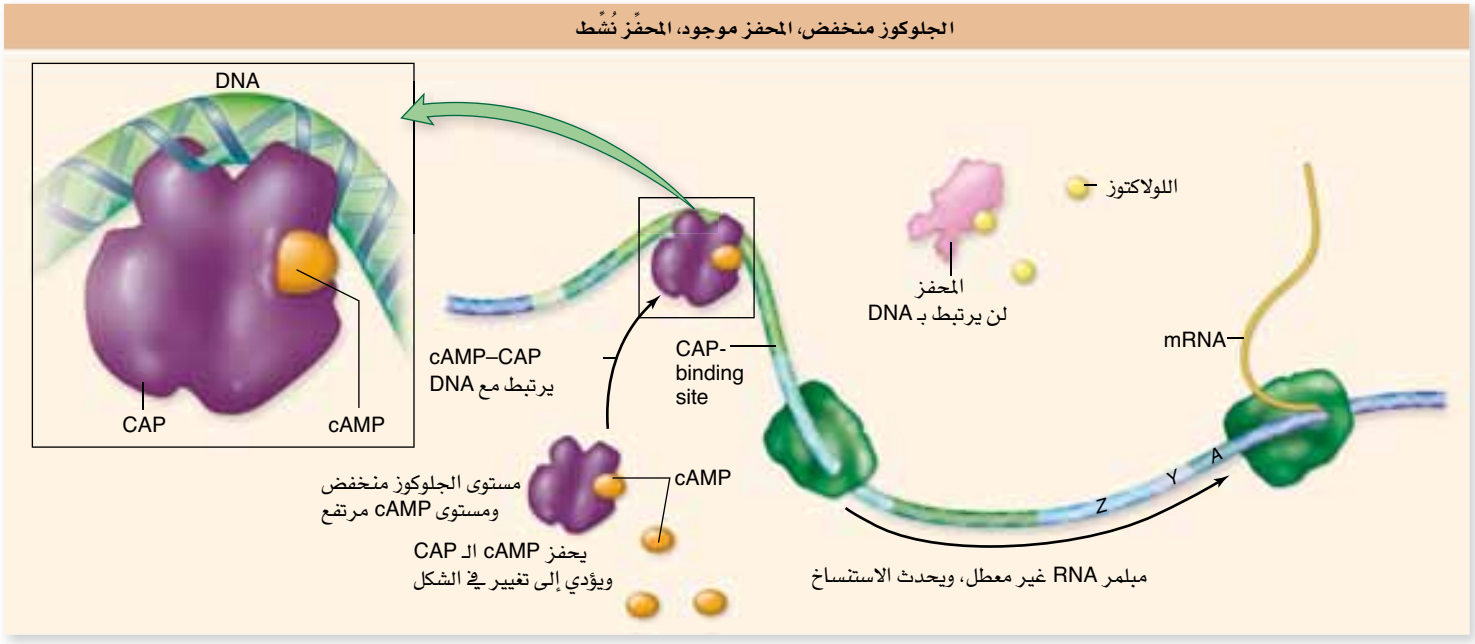
ولكننا سوف نستخدم الرمز CAP لكي نؤكد دوره بوصفه منظمًا إيجابيًّا. لا يستطيع CAP بمفرده أنْ يرتبط بـ DNA، ولكن ارتباط cAMP بهذا البروتين يعمل على تغيير شكله، فيصبح قادرًا على الارتباط مع DNA (الشكل 16-5).

كان يُعتقد سابقًا أن نظام CAP-cAMP آلية وحيدة لتثبيط الجلوكوز. لكن أبحاثًا حديثة أشارت إلى أنّ وجود الجلوكوز يمنع انتقال لاكتوز إلى داخل الْخليّة. هذا يحرم الْخليّة من محفز المنطقة الفعالة *lac*، ألولاكتوز، ويسمح للمثبط أنْ يرتبط مع المشغل. تُسمّى هذه العملية **إقصاء المحفز Inducer exclusion**، ويُعتقد أنها الطريقة الوحيدة لتثبيط المنطقة الفعالة *lac* عن طريق الجلوكوز.

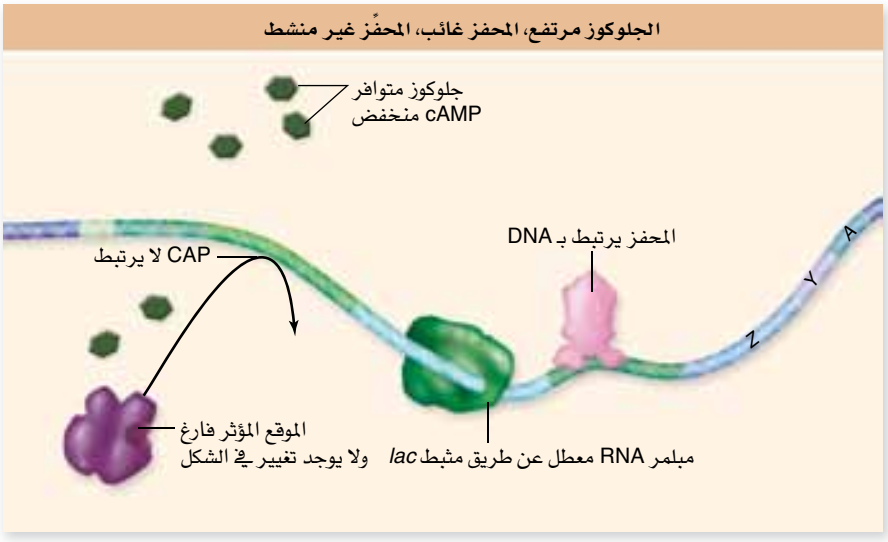
مع الأخذ بحدوث إقصاء المحفز، فإنّ دور CAP في غياب الجلوكوز غير مُجْدٍ. ولكن في الحقيقة، فإنّ عمل CAP-cAMP يسمح بالتعبير الأقصى للمنطقة الفعالة في غياب الجلوكوز. إن التّحكم الإيجابيّ عن طريق CAP-cAMP ضروري؛ لأن محفِّز المنطقة الفعالة *lac* غير قادر بمفرده على الارتباط مع مبلمر RNA. يمكن التغلب على عدم القدرة بفعل التّحكم الإيجابيّ عن طريق منشط CAP-cAMP (انظر الشكل 16-5).

يتم التّحكم في المنطقة الفعالة لـ *trp* عن طريق مثبط *trp*

يشبه تنظيم المنطقة الفعالة *trp* ذلك الموجود في المنطقة الفعالة *lac*، حيث تترتب مجموعة من الجينات تشفر أنزيمات ضرورية لتصنيع تربتوفان. تقع المنطقة المنظمة التي تتحكم في استنساخ هذه الجينات في أعلى التيار بالنسبة إلى تلك. يوجد الجين المشفِّر لمثبط *trp* خارج المنطقة الفعالة. ويتم التّعبير عن المنطقة الفعالة *trp* في غياب تربتوفان، ولا يعبر عنه بوجوده.



أ.

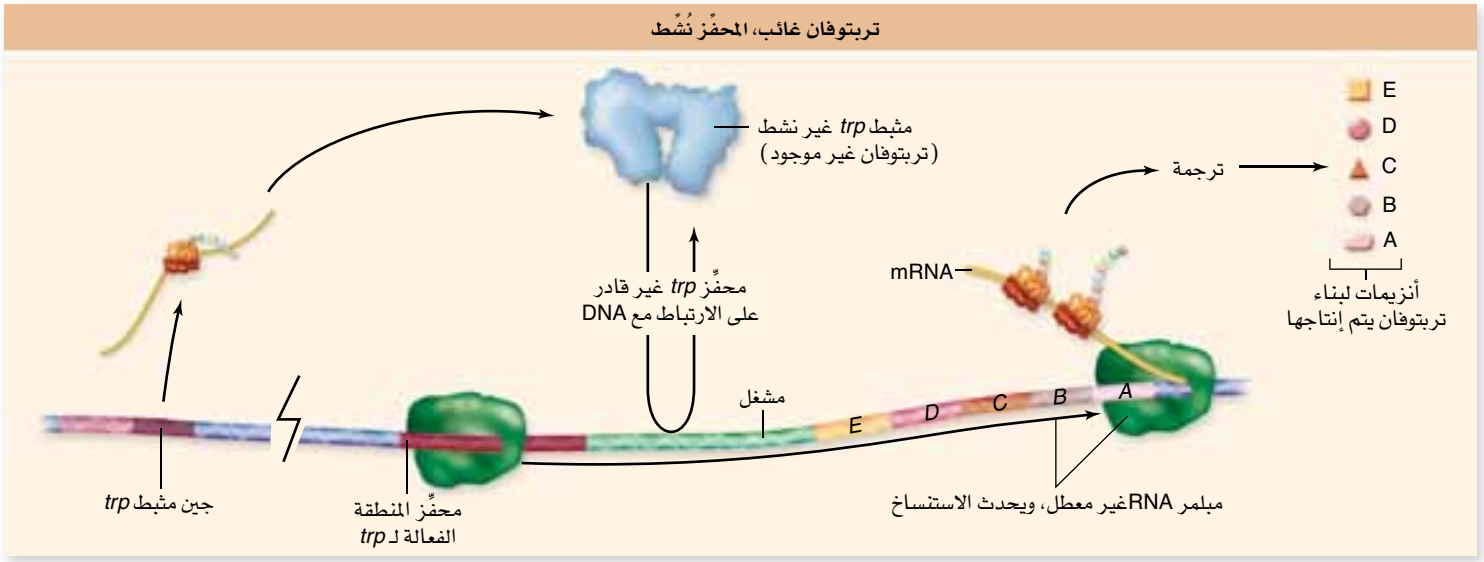


ب.

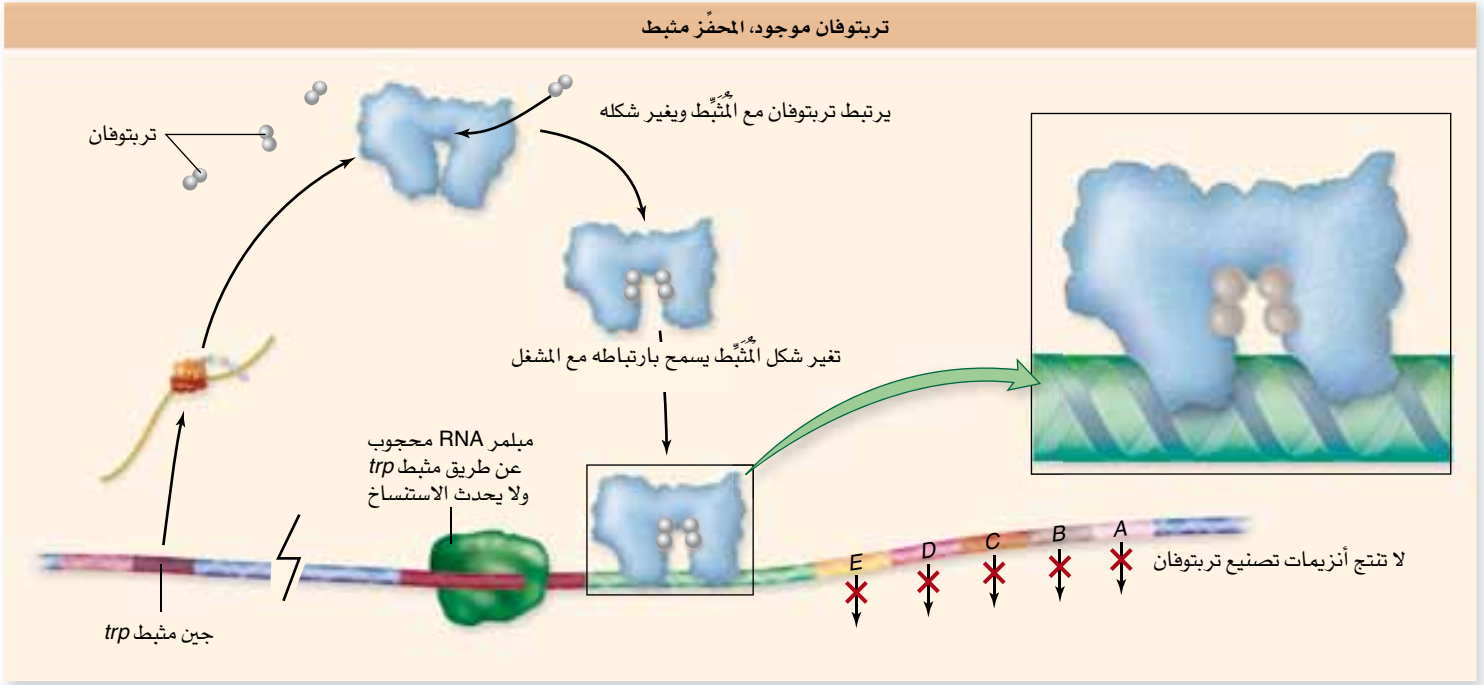
الشكل 16-5

تأثير الجلوكوز في المنطقة الفعالة *LAC*. يتم التّحكم في التّعبير عن المنطقة الفعالة *lac* بمنظم سلبي (الْمُثَبِّط) ومنظم إيجابي (CAP). ويتأثر عمل CAP بمستويات الجلوكوز. أ. كي يرتبط CAP بـ DNA، يجب أنْ يرتبط أولًا بـ cAMP. عندما يكون مستوى الجلوكوز منخفضًا، تكون كمية cAMP عالية، ويرتبط بـ CAP. ثم يقوم معقد cAMP-CAP بثني DNA حوله ما يؤدي إلى تقريب CAP ليلامس مبلمر RNA (غير ظاهر) ويجعل ارتباط مبلمر RNA بـ DNA أكثر كفاءة. ب. عندما تكون مستويات الجلوكوز مرتفعة، يحدث تأثيران: الأول، تركيز cAMP شحيح، لذا فإنّ CAP غير قادر على تنشيط المحفِّز، والثاني، تعطيل نقل اللاكتوز (إقصاء المحفز).

يُعَدّ مثبط *trp* أحد أنواع البروتينات المنظمة ذات موتيف حلزون-لفة-حلزون الذي يرتبط مع موقع المشغل المجاور للمحفِّز (الشكل 16-6). ويتصرف هذا المُثَبِّط بشكل معاكس لمثبط *lac*. ولا يرتبط المُثَبِّط وحده مَعَ المشغل، وإنما يرتبط أولًا بتربتوفان (مرافق المُثَبِّط *Corepressor*) ما يؤدي إلى تغيير شكل المُثَبِّط، الأمر الذي يسمح له بالارتباط مع المشغل، ويمنع مبلمر RNA من الارتباط مع المحفِّز. ويغير ارتباط تربتوفان بالمثبط توجيه زوج موتيف حلزون-لفة-حلزون ما يؤدي إلى تعرف الحلزونين إلى الأخدود الرّئيس المجاور في DNA والارتباط به (الشكل 16 - 7).



أ.



ب.

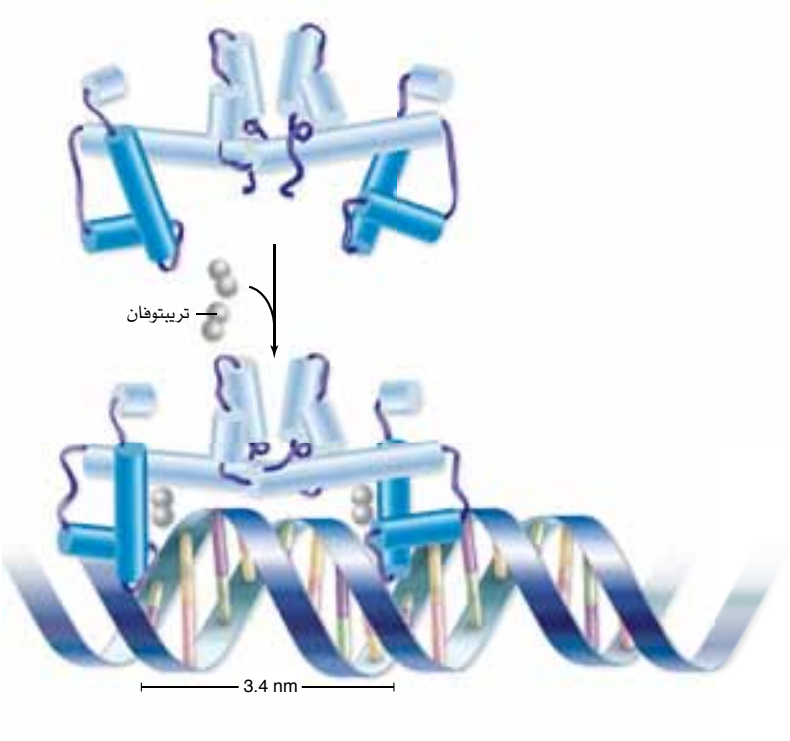
الشكل 16-6

كيفية التّحكم في المنطقة الفعالة *TRP*. تشفِّر المنطقة الفعالة *trp* الأنزيمات اللازمة لتصنيع تربتوفان. أ. مثبط تربتوفان وحده غير قادر على الارتباط مع DNA، ويكون المحفِّز جاهزًا للعمل، ويستنسخ مبلمر RNA المنطقة الفعالة. ب. عند وجود تربتوفان، فإنه يرتبط بالمثبط مغيرًا شكله، بحيث يستطيع المُثَبِّط الارتباط مع DNA. معقد تربتوفان- المُثَبِّط يرتبط بقوة مع المشغل، فيمنع مبلمر RNA من استهلال الاستنساخ.

عندما يكون تربتوفان متوفرًا ومرتبطًا مع الْمُثَبِّط، يقوم الْمُثَبِّط بدوره بالارتباط مع المشغل فَيُقال عن المنطقة الفعالة: إنها **مثبَّطة Repressed**. ويكون الاستنساخ عندها موقوفًا. وعندما ينخفض مستوى تربتوفان، ولا يكون مرتبطًا مع الْمُثَبِّط، ولم يعد الْمُثَبِّط مرتبطًا مع المشغل يُقال: إن المنطقة الفعالة **مزالة التثبيط Derepressed** وهي حالة تختلف عن التحفيز (الشكل 16-6).

إن مفتاح فهم كيف يكون التحفيز والتثبيط من أنواع التّنظيم السّلبيّ يتم بمعرفة سلوك البروتينات المثبِّطة ومؤثراتها. ففي حالة التحفيز، يرتبط الْمُثَبِّط بمفرده مع DNA، ويمنع المحفز ارتباط الْمُثَبِّط مع DNA، وفي حالة التثبيط، يرتبط الْمُثَبِّط مع DNA عند ارتباطه مع مرافق الْمُثَبِّط فقط. يُعَدُّ التحفيز والتثبيط مثالين ممتازين يبينان كيف يمكن للتفاعل بين الجزيئات أنْ يؤثر في أشكالها، ويبين أهمية الشكل الجزيئي للوظيفة.

تتحكم بدائيّات النّوى في التعبير الْجينيّ لتتكيف مع بيئتها. يتم التّحكم في المنطقة الفعالة *lac* عن طريق بروتين مثبط يرتبط مع DNA ليمنع الاستنساخ. عند وجود لاكتوز، يرتبط ألولاكتوز مع الْمُثَبِّط الذي لا يستطيع بعد ذلك الارتباط مع DNA ما يؤدي إلى تحفيز صناعة بروتينات المنطقة الفعالة *lac*. ويتم أيضًا التّحكم في المنطقة الفعالة نفسها إيجابيًّا عن طريق البروتينات المنشطة. تتوقف المنطقة الفعالة لـ *trp* عن العمل عن طريق الْمُثَبِّط الذي يجب أنْ يرتبط مسبقًا مع تربتوفان ليتسنى له الارتباط مع DNA. وفي غياب تربتوفان، لا يستطيع الْمُثَبِّط الارتباط مع DNA، ما يؤدي إلى إلغاء التثبيط.



الشكل 16-7

كيف يعمل مثبط تربتوفان؟ يزيد ارتباط تربتوفان مع الْمُثَبِّط من المسافة بين حلزوني التّعَرّف في الْمُثَبِّط، ما يسمح للمثبط بالارتباط المحكم مع جزأين متجاورين من الأخدود الرّئيس لـ DNA.

4-16 التّنظيم في حقيقيّات النّوى

إن التّحكم في الاستنساخ عند حقيقيّات النّوى أكبر تعقيدًا من الموجود عند بدائيّات النّوى. المفهوم الأساسي المتعلق بارتباط البروتينات مع DNA يبقى قائمًا، إلا أنّ طبيعة البروتينات المتفاعلة وأعدادها أكبر بكثير نتيجة وجود اختلافات واضحة بين النظامين. أولًا، إنّ DNA الموجود في حقيقيّات النّوى منظم بشكل كروماتين ما يزيد تعقيد عملية الارتباط بين البروتينات و DNA. ثانيًا، يحدث الاستنساخ في حقيقيّات النّوى في النواة، وتحدث التّرجمة في السيتوبلازم؛ في حين تتصاحب العمليتان في بدائيّات النّوى في المكان والزمان. لذا، فإنّ استقطاب مبلمر RNA الثاني إلى المحفِّز يكون معقدًا بشكل أكبر عند حقيقيّات النّوى، مقارنة مع مبلمر RNA في بدائيّات النّوى.

وبسبب وجود هذه الفروق، فإنّ كمية DNA التي تدخل في عملية تنظيم جينات حقيقيّات النّوى وتسهم بها تكون أكبر بكثير. وإنّ الحاجة إلى نظام تحكم مرن تكون ملحّة أكثر في حقيقيّات النّوى متعددة الخلايا التي لها برامج تكوين جنيني معقدة وأنواع أنسجة متعددة. تبرز الخطوط الرّئيسة، مع ذلك، من هذا التعقيد.

يمكن أنْ تكون عوامل الاستنساخ عامة أو نوعية

قدمنا في الفصل السابق مفهوم عوامل الاستنساخ. تحتاج حقيقيّات النّوى إلى عوامل بروتينية متنوعة تنضوي تحت مجموعتين، هما: عوامل الاستنساخ العامة *General transcription factors*، وعوامل الاستنساخ النوعية *Specific transcription factors*.

العوامل العامة ضرورية لتجميع جهاز الاستنساخ وإمداد المحفِّز بمبلمر RNA الثاني، أما العوامل النوعية فتعمل على زيادة مستوى الاستنساخ عند أنواع معينة من الخلايا أو استجابة لإشارات.

عوامل الاستنساخ العامة

إنّ عملية استنساخ قوالب مبلمر RNA الثاني (أيّ الجينات المشفرة للبروتينات) تحتاج إلى أكثر من مبلمر RNA لاستهلال الاستنساخ. فهناك حشد من **عوامل الاستنساخ العامة General transcription factors** الضرورية لإقامة استنساخ مثمر. هذه العوامل مطلوبة لكي تحدث عملية الاستنساخ، ولكنها لا تزيد من معدل سرعة العملية لكي تكون أعلى من المعدل الأساسي.

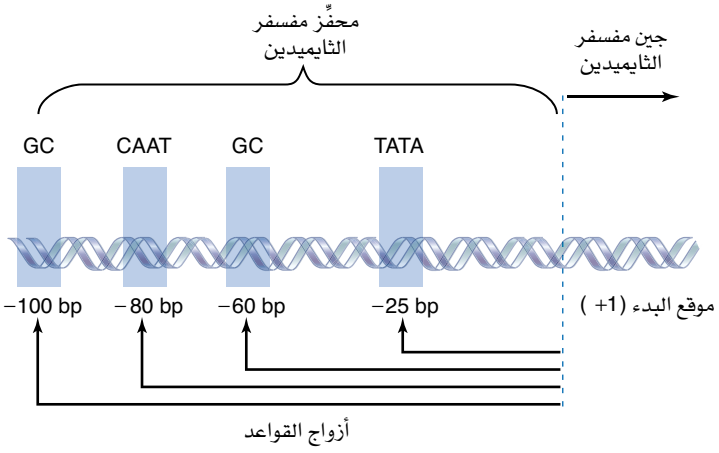
تُسمّى عوامل الاستنساخ العامة بأسماء وحروف مختصرة توضع بعد الاختصار TFII، نسبة إلى "عامل استنساخ مبلمر RNA الثاني". وأكثر هذه العوامل أهمية هو TFIID ، ويحتوي على بروتين ربط TATA الذي يتعرف إلى تعاقب صندوق TATA الموجود في كثير من مُحفِّزات حقيقيّات النّوى (الشكل 16-8).

يتبع ارتباط TFIID، ارتباط TFIIE، و TFIIF، و TFIIA، وTFIIB، و TFIIH وحشد من العوامل الثانوية تُسمّى عوامل مشاركة في الاستنساخ TAFs. *Transcription-associated factors*. ومن الواضح أنّ معقد الاستهلال الناتج (الشكل19-6) سيكون أكثر تعقيدًا من الأنزيم الكامل لمبلمر RNA البكتيري الذي يرتبط مع المحفِّز. ومازال هناك مستوى آخر من التعقيد: معقد الاستهلال، فعلى الرّغم من قدرته على استهلال التصنيع على المستوى الأساسي، فإنه لا يحقق الاستنساخ على مستوى عالٍ دون مشاركة عوامل نوعية أخرى.

عوامل الاستنساخ النوعية

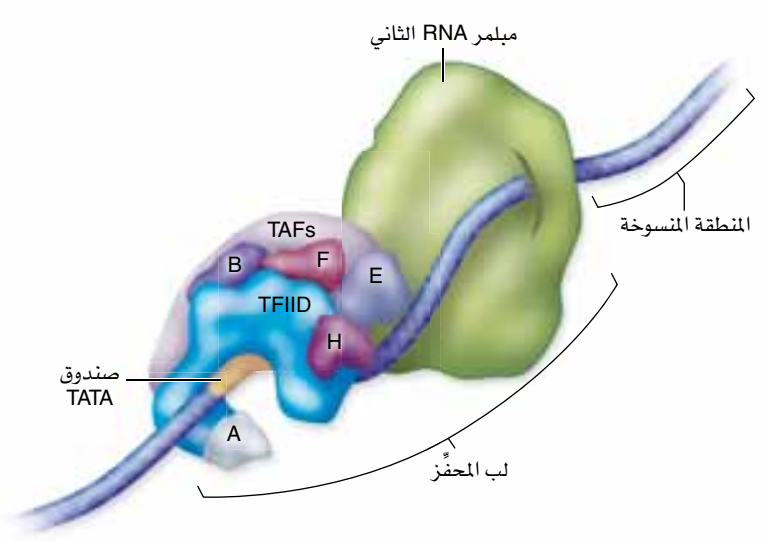
تعمل **عوامل الاستنساخ النوعية Specific transcription factors** بشكل يعتمد على النسيج أو الوقت حتى تحفِّز مستويات من الاستنساخ أعلى من المستوى الأساسي. إنّ عدد هذه العوامل وتنوعه مبهر. ويمكن أنْ يكون هناك بعض العقلانية إزاء كثرة هذه العوامل إذا ركزنا على موتيفات ربط DNA الموجودة في تلك العوامل البروتينية، بالمقارنة مع العوامل النوعية.

هناك عامل مشترك بين هذه البروتينات يبرز من دراسة تلك العوامل، وهو أنّ عوامل الاستنساخ النوعية، وتُسمّى المنشطات *Activators*، لديها تنظيم مكاني، فكل منها يحتوي منطقة ترتبط بـ DNA، ومنطقة أخرى منفصلة تعمل بوصفها منطقة تنشيط تتفاعل مع جهاز الاستنساخ. وتُعدّ هذه المناطق مستقلة في جوهرها في البروتين، بحيث يمكن استبدالها بين البروتينات مع محافظتها على وظيفتها.



الشكل 16-8

محفِّز مخلوق حقيقي النّوى. هذا المحفِّز يتعلق بالجين المشفر لأنزيم مفسفر الثايميدين. يبدأ تكوين معقد استهلال الاستنساخ عندما ترتبط عوامل الاستنساخ العامة مع صندوق TATA. هناك ثلاثة تعاقبات DNA تدير ارتباط عوامل الاستنساخ الأخرى الخاصة.



الشكل 16-9

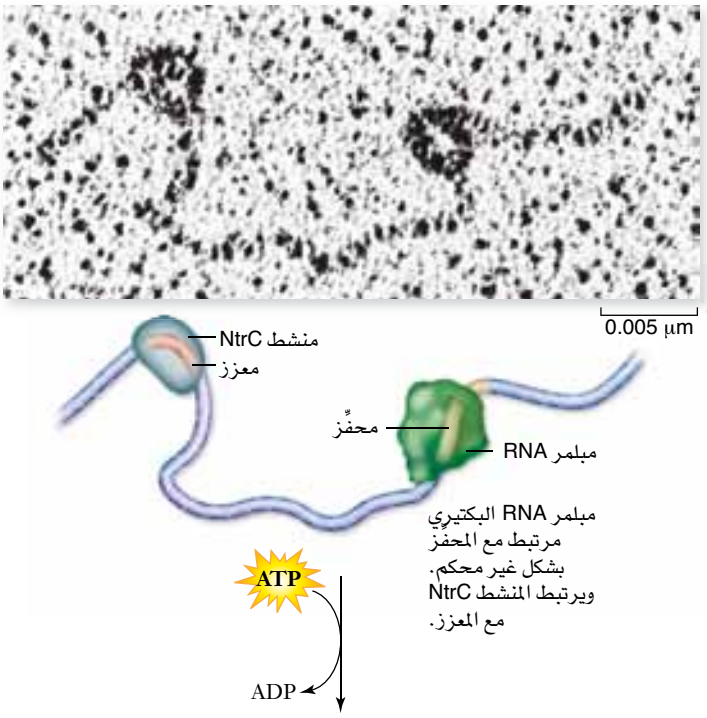
تكوين معقد الاستهلال في حقيقيّات النّوى. يرتبط عامل الاستنساخ العام TFIID مع صندوق TATA، ويشاركه بعد ذلك عوامل الاستنساخ العامة TFIIE, TFIIF,TFIIA, TFIIB,TFIIH، ويُضاف هذا المعقد بمساعدة عوامل استنساخ مشاركة (TAFs)، التي بمجموعها تستقطب مبلمر RNA الثاني نحو لبّ المحفِّز.

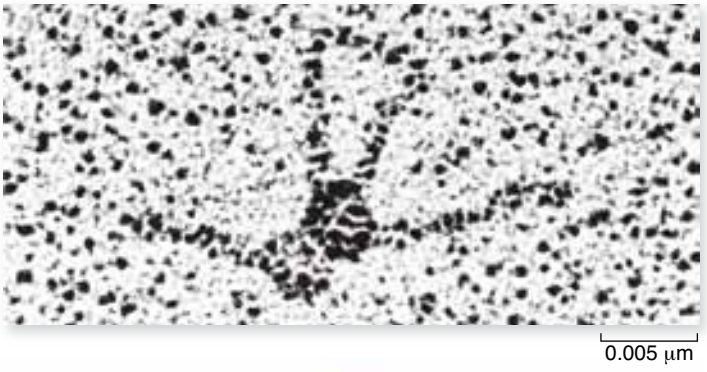
المحفِّزاتُ والمعززاتُ مواقعُ ارتباط عواملِ الاستنساخ

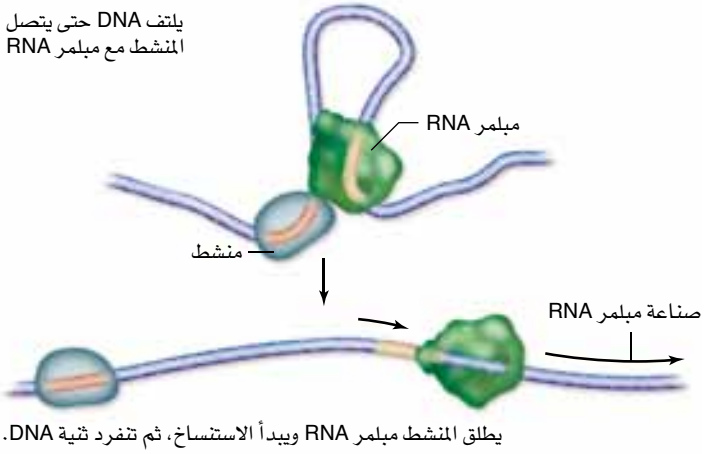
كما ذُكِرَ في الفصل السابق، تشكل المحفزّات مواقع ارتباط عوامل الاستنساخ العامة. تقوم هذه العوامل بدور الوسيط في ارتباط مبلمر RNA الثاني (كذلك تتوسط لارتباط مبلمر RNA الأول ومبلمر RNA الثالث بمحفِّزاتها النوعية). في المقابل، فإنّ الأنزيم الكامل لمبلمر RNA في بدائيّات النّوى يتعرف بشكل مباشر إلى المحفِّز، ويرتبط به.

عُرفت **المعززات Enhancers** في الأصل على أنّها تعاقبات من DNA ضرورية للحصول على مستويات عالية من الاستنساخ، وتعمل بشكل لا يعتمد على موقعها ولا على اتجاهها. كان هذا المفهوم مناقضًا للبديهة في البداية، خصوصًا بعد أنْ تعود علماء البيولوجيا الجزيئية على أنظمة بدائيّات النّوى التي تقع مناطق التّحكم الجينيّ فيها أعلى التيار من المنطقة المشفرة. ولقد تبين أنّ المعززات هي مواقع ارتباط عوامل الاستنساخ النوعية. وإنّ قدرة المعززات على العمل من مسافات بعيدة عن الجين كانت صعبة الفهم في البداية، إلا أنّ الباحثن اكتشفوا أنّ بمقدور DNA الالتواء ليكوّن ثنية كي يقرب المعززات من محفِّزاتها.

على الرّغم من أنّ عملية الالتفاف مهمة لحقيقيّات النّوى أكثر من أهميها لبدائيّات النّوى، فقد تم اكتشافها، وتوضيح فكرة عملها بدراسة بروتينات ترتبط بـ DNA عند بدائيّات النّوى (الشكل 16-10). المهم في الأمر أنّ المسافات الخطية التي تفصل بين موقعين على الكروموسوم الكبير لا تترجم بالضرورة إلى مسافات طبيعية فعلية؛ لأنّ مرونة DNA تسمح له بالانثناء وتكوين ثنية. لذا بإمكان المنشط المرتبط مع المعزز أنْ يلامس عوامل الاستنساخ المرتبطة مع المحفِّز البعيد (الشكل 16-11).







يطلق المنشط مبلمر RNA ويبدأ الاستنساخ، ثم تنفرد ثنية DNA.

الشكل 16-10

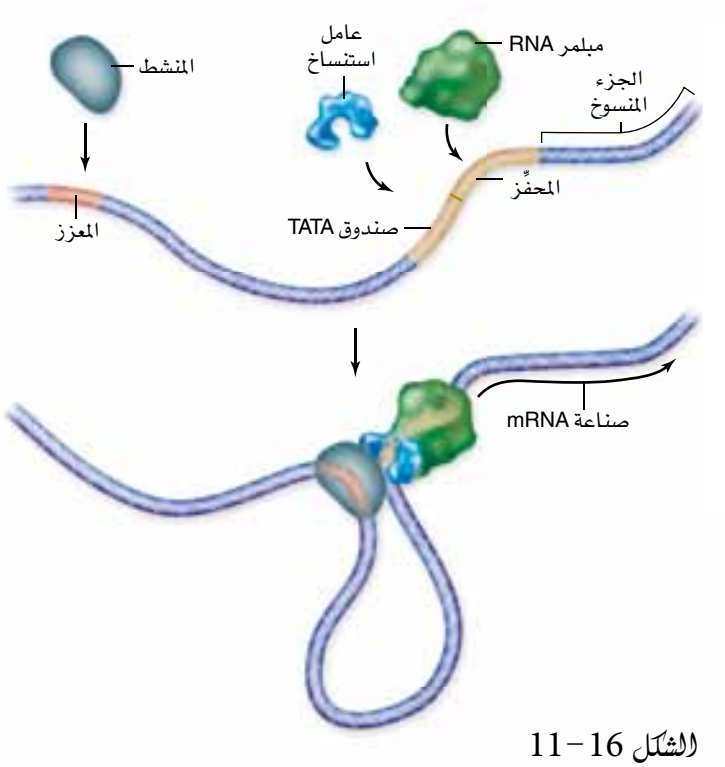
تكوين ثنية DNA عن طريق البروتينات. عندما يرتبط المنشط البكتيري NtrC مع المعزِّز، فإنه يسبب تكوين ثنية من DNA للوصول إلى المنطقة البعيدة التي يرتبط فيها مبلمر RNA ومن ثم يُنشط الاستنساخ. وعلى الرّغم من وجود هذه المعززات بشكل نادر في بدائيّات النّوى، فإنها شائعة في حقيقيّات النّوى.

تصل مرافقات المنشطات والوسائط بين عوامل الاستنساخ ومبلمر RNA الثاني

هناك عوامل خاصة أخرى تتوسط فعل عوامل الاستنساخ. **مرافقات المنشطات Coactivators والوسائط Mediators** ضرورية لتنشيط عملية الاستنساخ التي تقوم بها عوامل الاستنساخ. وهي تعمل بالارتباط مع عوامل الاستنساخ، ثم الارتباط مع جزء آخر من جهاز الاستنساخ. وتكون الوسائط جوهرية لوظيفة بعض عوامل الاستنساخ، ولكن ليس عوامل الاستنساخ جميعها في حاجة إليها. ويكون عدد مرافقات المنشطات أقل من عدد عوامل الاستنساخ؛ لأن بإمكان مرافق المنشط الواحد الارتباط مع عوامل استنساخ عدة.

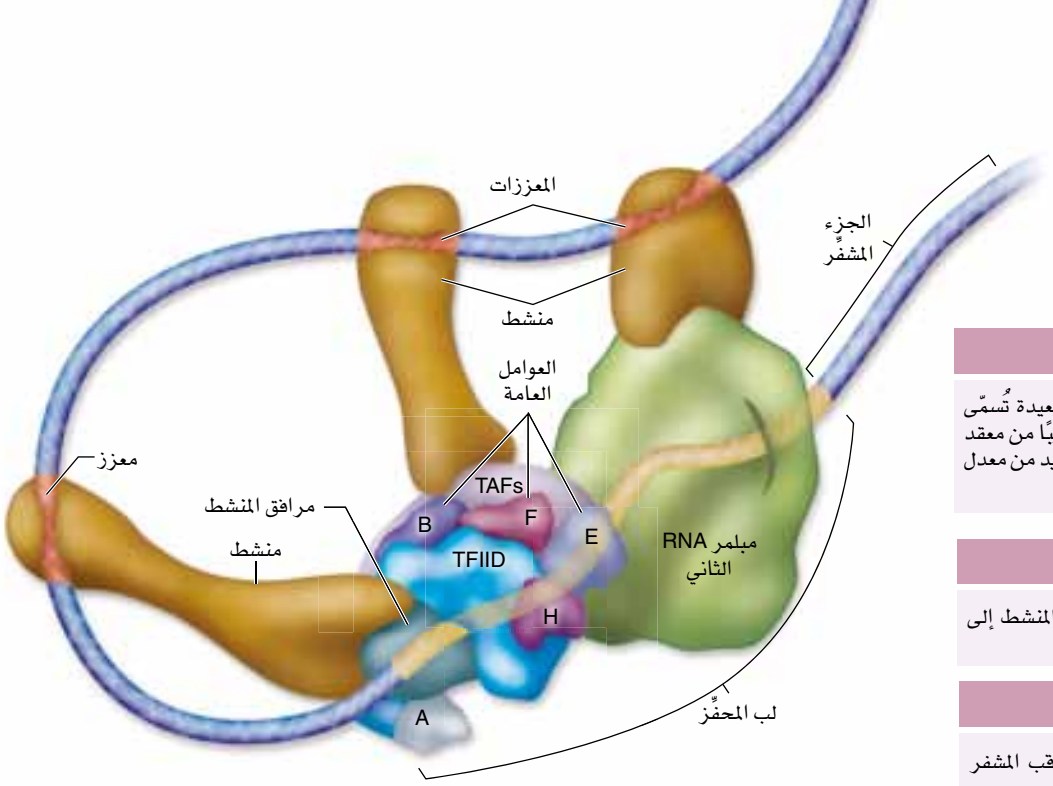
يجمع معقد الاستنساخ الأشياء مع بعضها

على الرّغم من وجود عدد قليل من المبادئ التي تطبّق على مدى واسع من الحالات، فإن كلّ جين في حقيقيّات النّوى تقريبًا- أو مجموعة جينات ذات تنظيم منسق- يمثل حالة خاصة. وفي الحقيقة، فإن الجينات المنسوخة جميعها عن طريق مبلمر RNA الثاني تحتاج إلى العوامل العامة نفسها لكي تبني معقد استهلال، غير أنّ تجميع هذا المعقد والوصول إلى المستوى الأقصى للاستنساخ يعتمد على عوامل استنساخ نوعية تصنع جميعها معًا **معقد الاستنساخ Transcription complex** (الشكل 16-12).



الشكل 16-11

كيفية عمل المعززات. تقع المعززات على مسافات بعيدة من موقع الجين المراد تنظيمه. يسمح ارتباط المنشط (الرمادي) بالمعزز بتفاعل المنشط مع عوامل الاستنساخ (الأزرق) المرتبطة مع مبلمر RNA فيحفِّز الاستنساخ.



المنشطات

ترتبط هذه البروتينات المنظمة مع DNA في مواقع بعيدة تُسمّى المعززات. عندما ينثني DNA بحيث يصبح المعزز قريبًا من معقد الاستهلال، فإن البروتين المنشط يتفاعل مع المعقد ليزيد من معدل الاستنساخ.

مساعدات المنشط

تنقل عوامل الاستنساخ هذه الإشارة من بروتينات المنشط إلى العوامل العامة.

العوامل العامة

تضع عوامل الاستنساخ هذه مبلمر RNA على التعاقب المشفر للبروتين، ثم تحرر المبلمر ليبدأ الاستنساخ.

الشكل 16-12

ارتباط العوامل المختلفة داخل معقد الاستنساخ. ترتبط العوامل الخاصة جميعها مع المعززات البعيدة عن المحفِّز. ترتبط هذه البروتينات مع معقد الاستهلال بالتفاف DNA لجلب العوامل إلى قرب معقد الاستهلال. وكما هو موضح في النص، فإنّ بإمكان بعض عوامل الاستنساخ، وتُسمّى المنشطات، أن تتفاعل مباشرة مع مبلمر RNA الثاني أو معقد الاستهلال، في حين تحتاج عوامل أخرى إلى مرافقات منشطات إضافية.

إن بنية المحفِّزات قد تكون بسيطة إذا نظرنا إلى العوامل الرئيسة التي تحتاج إليها لكي تعمل، وقد تكون معقدة جدًا إذا أخذنا في الحسبان حاجتها إلى العوامل جميعها التي قد ترتبط معها لتقوم بعملية الاستنساخ. هذا النوع من التّنظيم الْجينيّ التوليفي يؤدي إلى مرونة كبيرة؛ لأنه يمكِّن الاستجابة لكثير من الإشارات التي قد تستقبلها الْخليّة، وتؤثر في الاستنساخ، ما يسمح بتكامل هذه الإشارات.

يتطلب استهلال الاستنساخ في حقيقيّات النّوى عوامل استنساخ عامة ترتبط مع المحفِّز، وتستقطب مبلمر RNA الثاني لتكوين معقد الاستهلال. تنتج العوامل العامة مستوى عامًّا وبسيطًا للاستنساخ الذي يزداد عن طريق العوامل الخاصة التي ترتبط مع تعاقبات المعززات. وتقوم مرافقات المنشطات والوسائط بالتفاعل مع عوامل الاستنساخ النوعية وباقي جهاز الاستنساخ.

§ استقصاء

كيف تُنَسِّقُ حقيقيّات النّوى تنشيط كثير من الجينات التي يجب أن يحدث استنساخها في الوقت نفسه؟

16-5 تركيب الكروماتين في حقيقيّات النّوى

لدى حقيقيّات النّوى عقبة إضافية أمام التّعبير الْجينيّ تتمثل في احتوائها على DNA متراص على شكل كروماتين. ويُنظر إلى تراص DNA في البداية على شكل جسيمات نووية متبوعًا بدرجة أعلى من تراكيب الكروماتين – على أنه متعلق مباشرة بالتحكم في التّعبير الْجينيّ. ويكون تركيب الكروماتين في أقل مستوى له عند تنظيم DNA والهستونات على شكل جسيم نووي *Nucleosome* (انظر الفصل الـ 10). تقوم هذه الجسيمات النووية بمنع عوامل الاستنساخ ومبلمر RNA الثاني من الارتباط مع المحفِّز.

ويظهر أن المرتبة الأعلى في ترتيب الكروماتين، غير المفهومة بشكل تام، تعتمد على حالة الهستونات في الجسيم النووي. ويمكن أن ينتج عن تحوير الهستونات كثافة أكبر في الكروماتين، ما يجعل المحفِّزات متاحة بشكل أقل أمام تفاعل البروتين مع DNA. يوجد هناك معقد إعادة نمذجة الكروماتين الذي بإمكانه أن يجعل الوصول إلى DNA ميسورًا.

يمكن تحوير كلٍّ من DNA وبروتينات الهستون

كان يعتقد سابقًا أن إضافة **الميثيل Methylation** لـ DNA هي إحدى وسائل التّنظيم الْجينيّ من خلايا الفقريات. فإضافة مجموعة الميثيل على السايتوسين تكوِّن 5 – ميثيل سايتوسين، إلا أن هذا التغيير لا يؤثر في الازدواج القاعدي مع الجوانين (الشكل 16-13). كذلك الأمر عند إضافة الميثيل ليوراسيل لينتج الثايمين، الذي من الواضح أنه لا يؤثر في الازدواج القاعدي مع الأدنين.

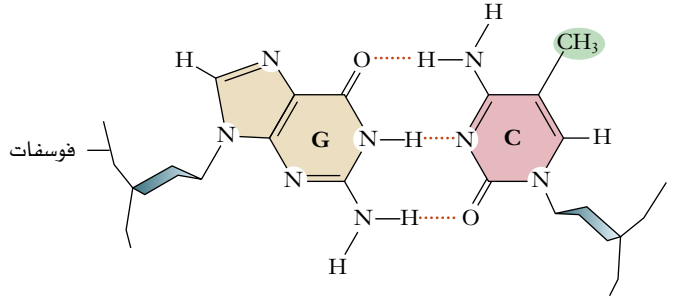
هناك الكثير من جينات الثدييات مضاف لها الميثيل، وقد كان مغريًا استنتاج أن عملية الإضافة تسبب كفّ النشاط، غير أنه ينظر لها الآن على أن لها دورًا أقل مباشرة، وذلك بمنع الاستنساخ العرضي الذي يحدث للجينات "المُطفأة". ومن الواضح أن خلايا الفقريات تمتلك بروتينًا يرتبط مع 5-ميثيل سايتوسين، ويمنع منشطات الاستنساخ من الوصول إلى DNA. لذا، فإنّ إضافة الميثيل إلى DNA في الفقريات يضمن أن الجين المطفأ يبقى موقوفًا عن العمل.

بالإمكان تحوير بروتينات الهستونات التي تشكل لُب الجسيم النووي (الفصل الـ 10). ويترابط هذا التحوير مع المناطق النشطة مقارنة بالمناطق غير النشطة للكروماتين، مثل إضافة الميثيل التي ذُكرت قبل قليل. يمكن كذلك إضافة الميثيل للهستون، ويوجد هذا التعديل عمومًا في المناطق النشطة من الكروماتين. أخيرًا، يمكن أن تحوَّر الهستونات بإضافة مجموعة الأستيل، وهذه الإضافة ذات ارتباط بالمناطق النشطة في الكروماتين.

تغير بعض منشطات الاستنساخ تركيب الكروماتين

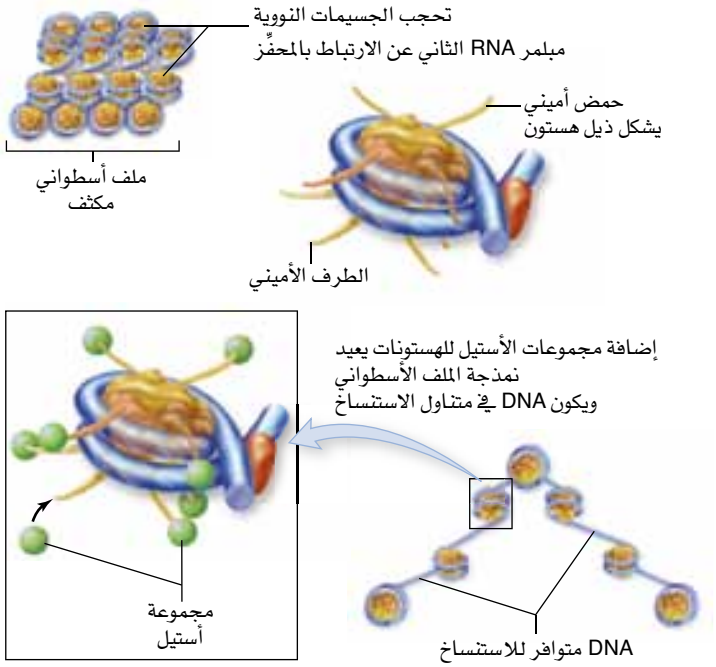
يتطلب تنشيط الاستنساخ في حقيقيّات النّوى وجود عوامل مختلفة. ترتبط بعض هذه العوامل مثل المنشطات مع معقد الاستهلال، أو مع مساعدات المنشطات التي بدورها ترتبط مع معقد الاستهلال، كما ذُكر سابقًا. الحالات الأخرى ليست واضحة بشكل كافٍ. إن الإجماع الذي ظهر، هو أن بعض مساعدات المنشطات تعمل على تحوير تركيب الكروماتين بإضافة مجموعة الأستيل إلى مجموعة من الأحماض الأمينية المكونة للهستونات، فيصبح الوصول إلى DNA من قِبَل عوامل الاستنساخ سهلًا.

حديثًا، تم إبراز نشاط بعض مساعدات المنشطات كأنزيم مضيف الأستيل (أستيليز) للهستون. يظهر في تلك الحالات زيادة الاستنساخ بإزالة درجة الترتيب الأعلى لتركيب الكروماتين التي تمنع الاستنساخ (الشكل 16-14). لقد ظهر أن لبعض مساعدات المثبطات نشاط هستون مُزيل الأستيل.



الشكل 16-13

إضافة الميثيل DNA. تؤدي إضافة الميثيل لسايتوسين إلى إنتاج 5- ميثيل سايتوسين. ولأن مجموعة الميثيل (الخضراء) تتموضع إلى الجانب، فإنها لا تؤثر في الروابط الهيدروجينية بين زوج القواعد G – C ولكن يمكن أن يتم التّعرّف إليها من قبل البروتينات.



الشكل 16-14

تحويرات الهستونات تؤثر في تركيب الكروماتين. يترتب DNA في حقيقيّات النّوى على جسيمات نووية، ومن ثم إلى درجة أعلى من تركيب الكروماتين. يوجد لدى الهستونات التي تمثل لب الجسيمات النووية ذيول أمينية تبرز خارجها. يمكن أن تُحوَّر الذيول الأمينية بإضافة مجموعات أستيل. تغيِّر إضافة الأستيل تركيب الكروماتين، وتجعله مفتوحًا أمام جهاز الاستنساخ.

أدت تلك الملاحظات إلى التفكير في وجود "شيفرة هستون" مماثلة لشيفرة DNA. ولقد افتُرضت شيفرة الهستون هذه لتفسر التّحكم في تركيب الكروماتين، ووصول جهاز الاستنساخ إلى DNA.

تغير معقدات إعادة نمذجة الكروماتين تركيب الكروماتين أيضًا

إن الخطوط العريضة المتعلقة بالكيفية التي من خلالها يستطيع تغيير شكل الكروماتين أن ينظم التّعبير الْجينيّ، قد بدأت بالظهور. أحد الاكتشافات الرّئيسة هو **معقدات إعادة نمذجة الكروماتين Chromation remodeling complexes**. يتضمن هذا المعقد الكبير كثيرًا من الأنزيمات التي تحوِّر الهستونات و DNA التي تغير تركيب الكروماتين أيضًا.

تستطيع معقدات إعادة نمذجة الكروماتين تحريك الجسيمات النووية على DNA وإعادة تموضعها على DNA، وبإمكانها كذلك نقل الجسيمات النووية من مكان إلى آخر على DNA.

DNA حقيقيّات النّوى متراص على شكل كروماتين، ما يضيف صعوبة تركيبية للاستنساخ. يقترن تغيير تركيب الكروماتين مع التحويرات في DNA والهستونات. ويحتاج الوصول إلى DNA من قبل منظمات الاستنساخ إلى تغييرات على تركيب الكروماتين. تحور بعض منشطات الاستنساخ الهستونات عن طريق إضافة الأستيل. تقوم معقدات إعادة نمذجة الكروماتين الكبيرة بتغيير شكل الكروماتين، وبذا تؤثر في التّعبير الْجينيّ.

6-16 التّنظيم الذي يتم بعد النسخ في حقيقيّات النّوى

ناقشنا – حتى هذه النقطة – تنظيم الجين من خلال منظور كلّي لاستهلال النسخ؛ بمعنى متى وكيف يبدأ مبلمر RNA غالبًا في "قراءة" جين معين. ويظهر أن معظم التّنظيم يحدث في هذه المرحلة. غير أن هناك كثيرًا من المراحل التي تتم بعد النسخ، وتنظَّم فيها عملية التّعبير الْجينيّ، وجميعها تعمل بوصفها نقاط تحكم لبعض جينات حقيقيّات النّوى على الأقل. بشكل عام، يتطلّب التّحكم بعد النسخ التّعَرّف إلى سلاسل نوعية تقع على نسخة RNA عن طريق بروتينات منظمة وجزيئات RNA صغيرة.

بإمكان RNAs الصغير أن يؤثر في التّعبير الْجينيّ

تشير تجارب تمت أخيرًا إلى وجود جزيئات صغيرة من RNA ترتبط مع النسخة الأولية من RNA وتؤدي دورًا كبيرًا في تنظيم التّعبير الْجينيّ بالتفاعل مباشرة مع النسخة الأولية للجين. RNAs الصغير قطعٌ من RNA يتراوح طولها بين 21 إلى 28 نيوكليوتيدًا– ويُعدّ RNA الصغير المعترض و RNA الدقيق مثالين على أنواع RNAs الصغير، وقد سبق ذكرهما في الفصل السابق. لم يلاحظ الباحثون هذه الأجزاء الصغيرة من RNA لأنهم كانوا يبحثون عن mRNA وtRNA وrRNA ، وكانوا يتخلصون من الجزيئات الصغيرة في أثناء التجربة.

عام 1993، برز أول تلميح على وجود هذه الجزيئات الصغيرة عندما أصدر الباحثون نشرة تشير إلى أن الدودة الخيطية *Caenorhabditis elegans* تحتوي على RNA لا يشفر لأي بروتين. وقد ظهر أن RNAs الصغير ينظم أنشطة جينات معينة في *C. elegans*.

بعد ذلك بقليل، اكتشف الباحثون دليلًا على وجود RNAs صغير مشابه في مدى واسع من المخلوقات الأخرى. ففي نبات رشاد الجدران *Arabidopsis thaliana*، يبدو أن RNAs الصغير يعمل على تنظيم جينات مهمة لمراحل التكوين الجنيني المبكرة. وتم التّعَرّف إليها في الخميرة بوصفها عوامل تقوم بإسكات الجينات الموجودة في المناطق المتراصة بإحكام في المحتوى الْجينيّ. وفي الطلائعيات الهدبية مثل *Tetrahymena thermophila*، يتم التّحكم في فقدان جزء كبير من DNA خلال مدة التكوين الجنيني عن طريق جزيئات RNA الصغير.

تدخل *RNA*

كيف يمكن لهذه القطع الصغيرة من RNA أن تعمل على تنظيم التّعبير الْجينيّ؟ عام 1998، لاحت مؤشرات عندما حقن الباحثون قطعًا صغيرة من RNA مزدوجة الشريط في دودة *C. elegans*. يتكون RNA مزدوج الشريط عندما يكون لدى RNA فردي الشريط نهايات لها سلاسل نيوكليوتيدات مكملة لبعضها، فتنثني للخلف لتكون ثنية دبوس الشعر؛ ويقوم الازدواج القاعدي بتثبيت الشريطين مع بعضهما كما في حالة أشرطة DNA المزدوج (الشكل 16-15). مَنع شريط RNA المزدوج المحقون، بشدة من التّعبير عن الجينات التي وُلِّد منها شريط RNA المزدوج المحقون. لوحظ هذا النوع من الإسكات الْجينيّ فيما بعد في ذبابة الفاكهة ومخلوقات أخرى. وسمي ذلك **تدخل RNA interference RNA**.

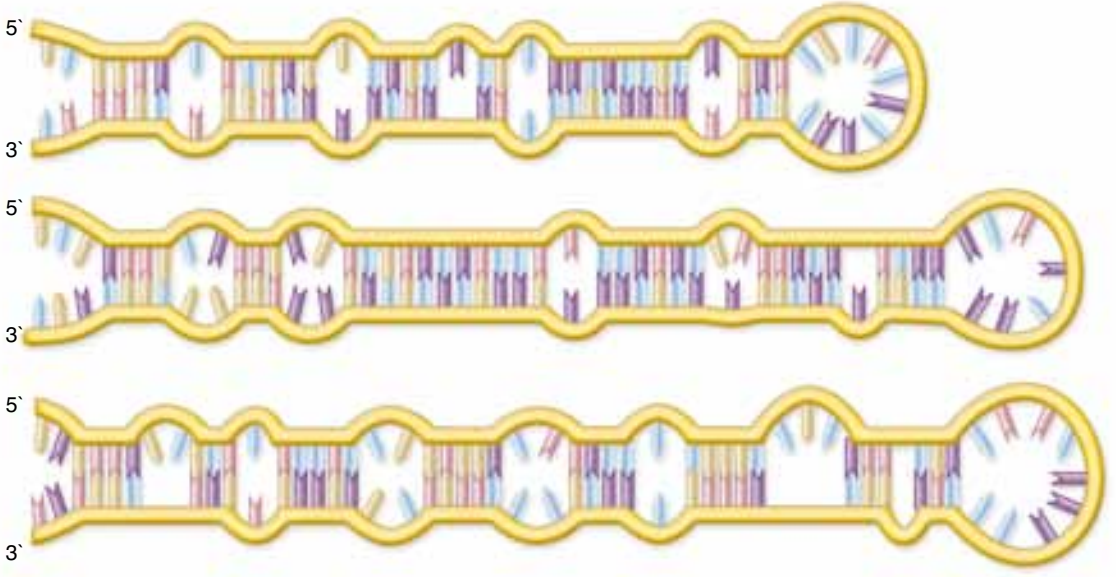
آلية اعتراض *RNA*

عام 2001، اكتشف الباحثون أنزيمًا لُقِّب **المُقَطِّع Dicer** ، الذي يظهر أنه المولد لـ RNAs الصغير في الْخليّة. يُقطّع الأنزيم شريط RNA المزدوج إلى قطع صغيرة لينتج نوعين منها، هما: **RNA الدقيق micro-RNAs (miRNA)** و **RNAs الصغير المعترض Small interfering RNAs (siRNA)**.

أما RNA الدقيق، فيظهر أنه يعمل بالارتباط مباشرة مع mRNA ليمنع ترجمته. تعرَّف الباحثون إلى أكثر من مئة نوع مختلف من miRNA الدقيق، ومازالوا يحاولون معرفة كيفية عمل كلّ واحد منها وأي miRNA دقيق موجود في أيّ نوع من المخلوقات.

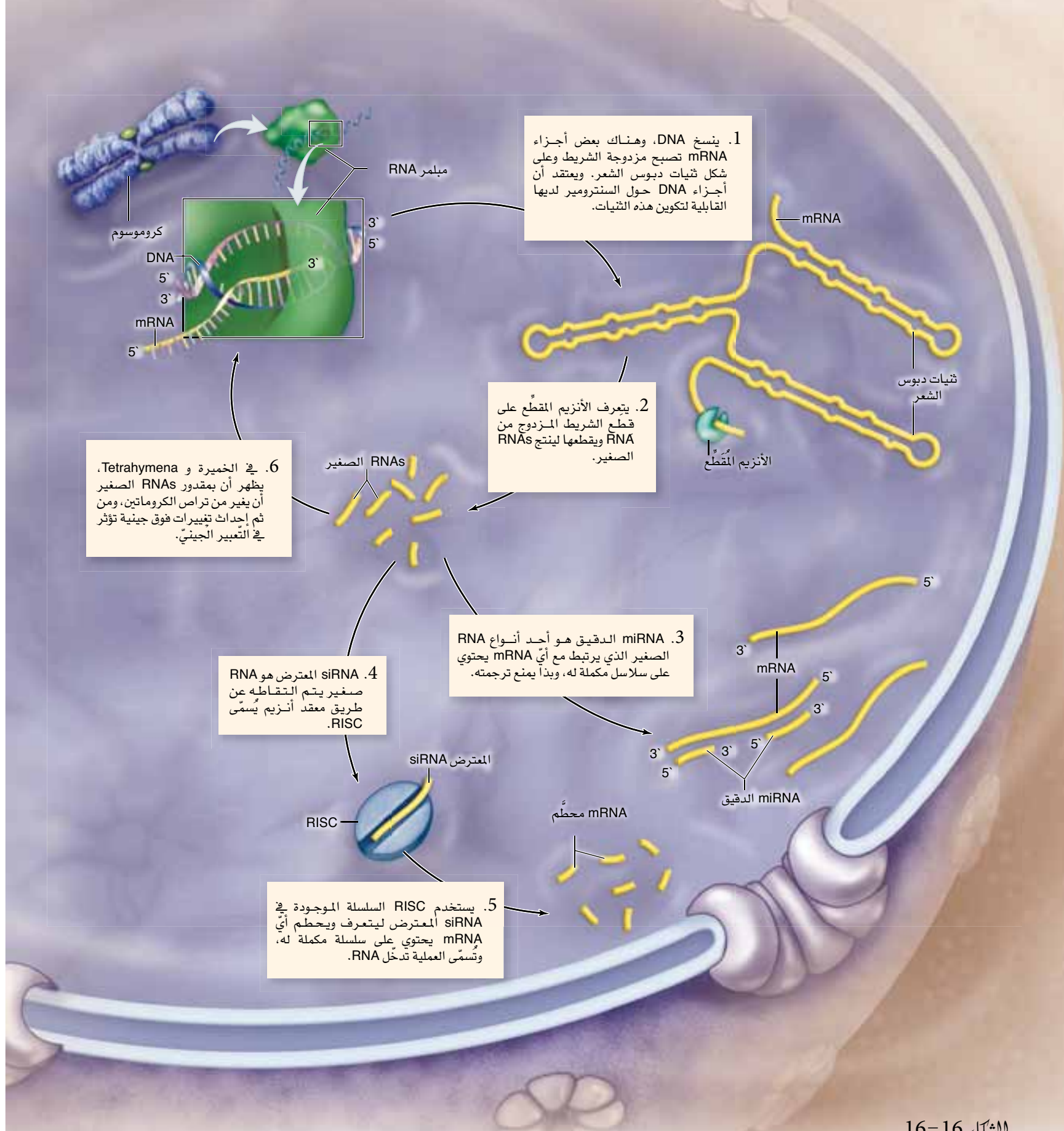
يظهر أن siRNAs المعترض هو العامل الرّئيس في اعتراض RNA حيث يعمل على تحطيم مجموعة معينة من mRNA بعد نسخها، ولكن قبل ترجمتها عن طريق الرايبوسومات. الطريقة الصحيحة التي يتحقق من خلالها تحطيم نُسخ جين منتقى بعينه مازالت غير معروفة.

تقترح النتائج الحالية أن أنزيم المقطِّع يُسلِّم siRNA المعترض إلى معقد أنزيم يُسمّى معقد الإسكات المحفز بـ *RNA* *RNA-induced silencing complex (RISC)*، الذي يقوم بالبحث، ثم تدمير أيّ mRNA لديه سلسلة مكملة له (الشكل 16-16).



الشكل 16-15

RNAs الصغير يشكل ثنيات مزدوجة الشريط. تحتوي جزيئات RNA الثلاثة على مناطق مكملة ذاتيًّا. تلتف الجزيئات إلى الخلف مكونة ثنيات بسبب ازدواج القواعد للمناطق المتكاملة.



الشكل 16-16

الكيفية المحتملة لعمل RNAs الصغير في تنظيم التّعبير الْجينيّ. ينتج RNAs الصغير عندما تُقطع ثنيات دبوس الشعر مزدوج الشريط لنسخة RNA معينة. وعلى الرّغم من أن التفاصيل غير معروفة، فهناك نوعان من RNA الصغير، وهما المعترض siRNA و miRNA الدقيق اللذان يُعتقد أنهما يمنعان بمنع التّعبير الْجينيّ داخل النواة على مستوى mRNA المنسوخ، وتُسمّى العملية تدخّل RNA. وكما يقترح الشكل، يُعتقد أن RNAs الصغير يؤثر في تراص الكروماتين في بعض المخلوقات.

بإمكان الوصل البديل إنتاج بروتينات عدة من الجين نفسه

في الفصل السابق، علمنا أن وَصْل سابق mRNA هو أحد العمليات التي تؤدي إلى mRNA ناضج. قد تُنتِج أحداث الوَصْل كثيرًا من أشكال mRNA المختلفة من نسخة أولية عن طريق الوَصْل البديل. تسمح هذه العملية بوجود مستوى آخر من التّحكم في التّعبير الْجينيّ.

بإمكان الوَصْل البديل أن يغير أحداث الوَصْل التي تقع في مراحل مختلفة في أثناء التكوين الجنيني أو في أنسجة مختلفة. يوجد مثال على اختلافات التكوين الجنينية في الدروسوفيلا، حيث إن تحديد جنس الذبابة ناجم عن سلسلة معقدة من عمليات الوَصْل التي تختلف في الذكور عنها في الإناث.

وهناك مثال رائع على الوَصْل البديل المحدد بالنسيج، موجود في عضوين مختلفين في الإنسان، وهما الغدة الدرقية، وتحت المهاد. فالغدة الدرقية مسؤولة عن إنتاج هرمون يتحكم في معدل الأيض. في حين تجمع تحت المهاد، الواقعة في الدماغ، المعلومات (مثل اتِّزان الملح) من الجسم، وتفرز هرمونات تنظم إفراز الهرمونات من غدد أخرى مثل الغدة النخامية. (سوف نتطرق إليها في الفصل الـ 46).

ينتج هذان العضوان هرمونين مختلفين: الكالسيتونين والببتيد المرتبط بجين كالسيتونين Calcitonin gene-related peptide (CGRP) بوصفهما جزءًا من وظيفتهما. فالكالسيتونين يتحكم في امتصاص الكالسيوم، وتوازن الكالسيوم في الأنسجة كالعظام والأسنان. أما CGRP فيعمل في عدد من الوظائف الغدية والعصبية. وعلى الرّغم من عملهما في وظيفتين مختلفتين إلا أنهما ينتجان من النسخة نفسها من mRNA (الشكل 16-17).

وتكون صناعة أحدهما، مقارنة بالآخر، محددة أكثر من الآخر، ويقررها عوامل نوعية النسيج التي تنظم معالجة النسخة الأولية. وفي حالة الكالسيتونين وCGRP فإنّ وَصْل سابق mRNA يُنظَّم من قِبَل عوامل عدة موجودة في الغدة الدرقية وتحت المهاد.

يغير التحرير mRNA الرَّسول بعد النسخ

في بعض الحالات، يمكن تحرير نسخة mRNA التامة لتُنتج mRNA ليس مشَفَّرًا فعلًا في المحتوى الْجينيّ، وهذا احتمال غير متوقع. اكتُشِفت عملية تحرير mRNA أول مرة على هيئة عملية إدخال لليوراسيل إلى بعض نُسَخ RNA في إحدى الطلائعيات، وكان يُظَنُّ أنها حالة شاذة.

لقد وُجِدَ أن تحرير RNA يتم في أنواع مختلفة في المخلوقات الثّدييّة، ومن ضمنها الإنسان. وفي تلك الحالة، يتضمن التحرير تحويرات كيميائية للقاعدة تؤدي إلى تغير خصائص الازدواج القاعدي، مثل إزالة مجموعة الأمين. فعلى سبيل المثال، شوهدت إزالة مجموعة الأمين من سايتوسين لتصبح يوارسيل، وإزالة الأمين من أدينين لتصبح إينوسين (ويزدوج إينوسين كجوانين عند التّرجمة).

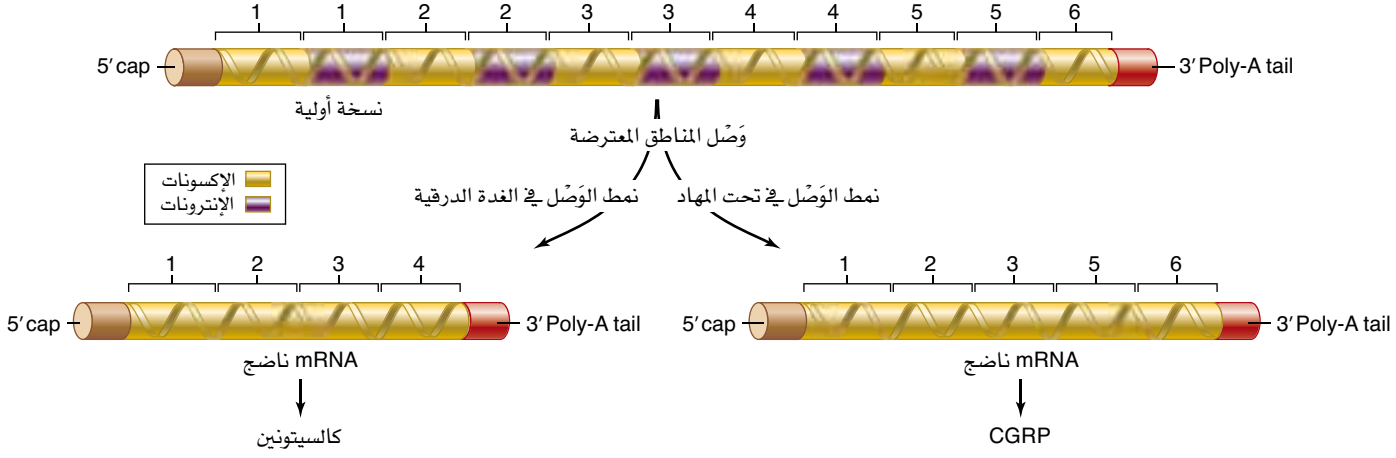
البروتين الدهني الكلي *B* (الإيبوليبوبروتين)

ينقل البروتين الدهني الكلي Apolipoprotein الكولستيرول وثلاثيات الجليسرول. ويتكون الجين، *apoB*، الذي يشفر لهذا البروتين من 29 منطقة مشفرة تمتد على مسافة 50 كيلو قاعدة (kb) من DNA.

يوجد البروتين على صورتين: الكامل APOB100 والمجزوء APOB48. أما المجزوء فينتج من تغيير في mRNA يؤدي إلى تغيير أحد الكودونات، فيتحول من مُشَفِّر لحامض أميني الجلوتامين إلى كودون إيقاف. علاوة على ذلك، يحدث هذا التحرير بنمط محدَّد في النسيج، فهو موجود في خلايا الأمعاء، وغير موجود في خلايا الكبد التي تنتج البروتين الكامل. أما البروتين الكامل APOB100 فهو جزء من البروتين الدهني منخفض الكثافة (LDL) الذي يحمل الكولستيرول. ويستخدم المستوى العالي من LDL في المصل بوصفه متنبئًا رئيسًا لحدوث تصلب الشرايين في الإنسان. ولا يظهر أن التحرير له تأثير في مستويات النسخ الخاصة بالأمعاء.

مستقبل سيروتونين *5-HT*

لوحظ أيضًا وجود تحرير لـ RNA في بعض مستقبلات مسكنات الألم في الإنسان. واحد من هذه المستقبلات، هو مستقبل سيروتونين (5-HT) الذي يتم تحريره في مواقع عدة لإنتاج اثني عشر مستقبلًا مجزوءًا لهذا البروتين.



الشكل 16-17

الوَصْل البديل. يمكن لكثير من النُّسَخ الأولية أن توَصَّل بطرق مختلفة لينتج عنها أنواع عدة من mRNA. ففي هذا المثال توَصَّل النسخة الأولية في الغدة الدرقية لتحتوي على أربع مناطق مُشَفِّرة لبروتين كالسيتونين. وفي تحت المهاد، يتم تخطي المنطقة المشفرة الرابعة التي تحتوي على موقع متعدد الأدينين polyA الذي يستخدم في الغدة الدرقية، ثم تضاف منطقتان مشفرتان ليُشَفِّر الناتجُ الببتيدَ المرتبطَ بجين كالسيتونين (CGRP).

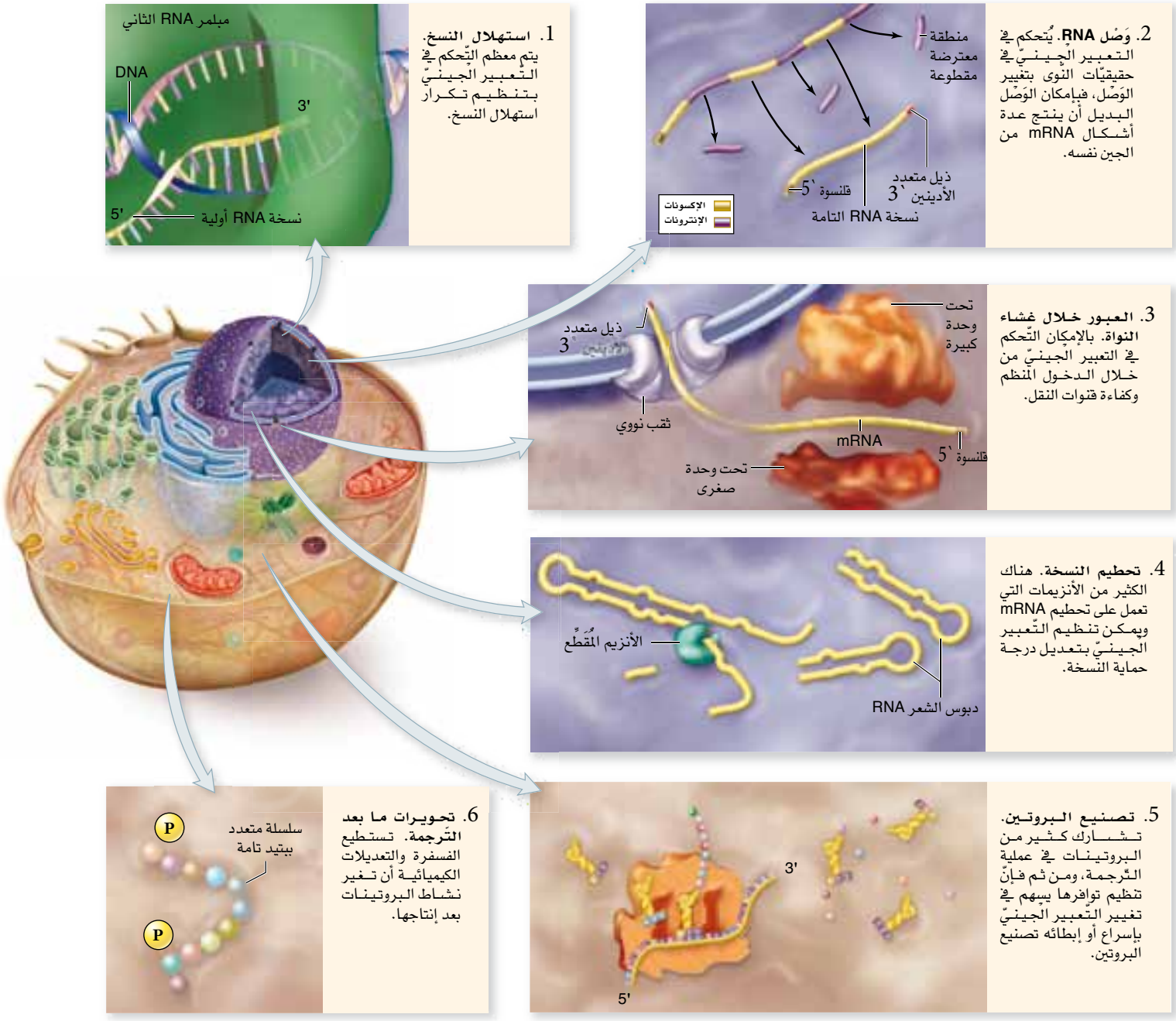
ليس من المعروف مدى انتشار تحرير RNA، إلا أن وجودها يدل بوضوح أن الشيفرة الموجودة في هذه الجينات ليست نهاية المطاف في قصة إنتاج البروتينات.

يجب على mRNA أن ينتقل خارج النواة لغرض التّرجمة

يخرج mRNA المعالَج إلى خارج النواة من خلال ثقوب النواة (وُصِفَتْ في الفصل الـ 5). ويُعدّ مرور النسخة من خلال الثقوب عملية دقيقة وفعالة، حيث يتم التّعَرّف إلى النسخة عن طريق مستقبلات تقع ضمن البروتينات المبطنة للجزء الداخلي من الثقوب. وهناك أجزاء معينة من mRNA يتم التّعَرّف إليها من قبل هذه البروتينات، كالذيل متعدد الأدينين، الذي يبدو أنه يؤدي دورًا في هذا التّعَرّف.

لا تستطيع النسخة أن تعبُرَ من خلال الثقوب إذا كان هناك أيّ من بروتينات الوَصْل مازالت عالقة بها، ما يضمن تمام نضج النسخ المغادرة للنواة.

ليس هناك دليل ثابت على أنّ التّنظيم الْجينيّ يحدث في هذه المرحلة، على الرّغم من أنه محتمل. تشكل المناطق المشفَّرة 10% من النسخة الأولية لـ mRNA،



الشكل 16-18

آلية التّحكم في التعبير الْجينيّ في حقيقيّات النّوى.

وهناك 5% فقط من مجموع mRNA المُنتَج يغادر النواة إلى السيتوبلازم لغرض التّرجمة، وهذا يدل على أن معظم المناطق المشفَّرة في النسخة الأولية لا تغادر النواة، ولا يعرف ما إذا كان اختفاؤها انتقائيًّا.

يمكن التّحكم في استهلال التّرجمة

تتطلب عملية التّرجمة، التي تتم للنسخة المعالَجَة الموجودة في السيتوبلازم، عن طريق الرايبوسومات، معقدًا من البروتينات التي تُسمّى عوامل التّرجمة *Translation factors*. وفي بعض الحالات، على الأقل، يتم تنظيم التّعبير الْجينيّ بتحوير واحد أو أكثر من هذه البروتينات. وهناك حالات أخرى يتم فيها إيقاف التّرجمة عن طريق البروتينات **المثبطة للترجمة Translation repressor proteins** التي ترتبط مع مقدمة النسخة، فتمنعها من الارتباط بالرايبوسومات.

وفي الإنسان، يتم إيقاف إنتاج بروتين فِريتين (بروتين مُخَزِّن للحديد) عن طريق بروتين مثبط للترجمة هو أكونيتيز. يرتبط أكونيتيز مع سلسلة طولها 30 نيوكليوتيدًا في مقدمة mRNA الفيريتين، وتشكل ثنية قوية تمنع ارتباط الرايبوسومات مع mRNA. وعندما يدخل الحديد إلى داخل الْخليّة فإنه يرتبط مع أكونيتيز، فينفصل الأخير عن mRNA الفيريتين ليتحرر mRNA، ويتم إنتاج فيريتين بزيادة مئة مرة.

تحطيم mRNA مُسَيْطَرٌ عليه

هناك مظهر آخر من مظاهر التّحكم في التعبير الْجينيّ هو ثبات mRNA في السيتوبلازم. وخلافًا لبدائيّات النّوى التي يتراوح عمر mRNA فيها ثلاث دقائق، فإنّ نسخ mRNA في حقيقيّات النّوى مستقرة جدًا. فعلى سبيل المثال، لدى جين بيتا-جلوبين نصف عمر يزيد على 10 ساعات، وهذا يُعَدُّ أزليًّا إذا نظرنا إلى عمر الْخليّة الأيضي السريع.

أما النسخ التي تشفر البروتينات المنظمة، وعوامل النمو، فهي أقل ثباتًا واستقرارًا بصورة عامة، وتكون أنصاف أعمارها نحو ساعة واحدة. فما الذي يجعل هذه النسخ أقل استقرارًا؟ في كثير من الحالات، تحتوي هذه النسخ على سلاسل محددة في طرفها `3 وذلك يجعلها هدفًا للأنزيمات التي تحطم mRNA. هناك سلسلة من A و U بقرب ذيل متعدد الأدينين تشجع على إزالة هذا الذيل الذي يجعل mRNA أقل استقرارًا.

على سبيل المثال، نسخ الهستونات لها أنصاف أعمار تقدر بأقل من ساعة في الْخليّة الناشطة في صنع DNA، وفي أوقات أخرى خلال دورة الْخليّة، يُفقد ذيل متعدد الأدينين، ويتم تدمير النسخ خلال دقائق.

يحتوي بعض mRNA على سلسلة عند طرف `3 يتم التّعَرّف إليها من قبل محطمات DNA الداخلية التي تساعد على تحطيم هذه النسخ بشكل سريع. وتكون أنصاف الأعمار القصيرة لنسخ mRNA التابعة لكثير من الجينات المُنَظمة مهمة لوظيفة تلك الجينات؛ لأنها تُمَكِّن من تغيير مستويات البروتينات المُنَظِّمة في الْخليّة بشكل سريع، وذلك يساعد على تنظيم جينات هذه البروتينات بشكل أسرع.

هناك مراجعة للطرق المختلفة للتحكم الذي يتم بعد النسخ في التّعبير الْجينيّ في (الشكل 16-18).

قد يساعد RNAs الصغير على التّحكم في التعبير الْجينيّ عن طريق التحطيم الانتقائي لـ mRNA، أو تعطيل التّرجمة، أو تغيير تركيب الكروماتين. بالإمكان تشكيل أشكال عدة من mRNA من جين واحد عن طريق الوَصْل البديل، الذي قد يكون محددًا بنوع النسيج أو بمرحلة التكوين الجنينية. يمكن أن تتغير سلسلة mRNA عن طريق تحرير RNA. تسمح هذه المعالجات جميعها في التحكم في التعبير الْجينيّ بعد النسخ.

7-16 تحطيم البروتين

إذا بقيت البروتينات كلّها التي أنتجتها الْخليّة خلال مدة حياتها في داخل الْخليّة، فسوف تتسبب في حدوث مشكلات خطيرة. ولقد أشارت تجارب تعليم البروتين التي أجريت في السّبعينيّات إلى أن خلايا حقيقيّات النّوى تحطّم البروتينات واستقلابها بشكل منظم. هذا يعني أنّ البروتينات تُصَنَّعُ، ومن ثَمَّ تُحَطَّمُ بشكل مستمر. وعلى الرّغم من أن تحطم البروتينات لا يتم بالسرعة نفسها عند بدائيّات النّوى، فإنها تشير إلى أهمية وجود نظام ينظم تحطيم البروتين.

يمكن أن تحدث تغيرات كيميائية للبروتينات تجعلها غير فعالة؛ إضافة إلى ذلك، يمكن أنْ تكون هناك حاجة عابرة إلى بروتين معين. يمكن كذلك ألاّ تطوى البروتينات بالشكل الصحيح، أو قد تفقد شكلها الفراغي مع مرور الوقت. تستطيع هذه التغيرات أن تؤدي إلى فقدان وظيفة معينة، أو حدوث سلوك كيميائي معين مثل تجمع البروتينات بشكل تراكمي غير قابل للذوبان. وفي الحقيقية، فإنّ كثيرًا من الأمراض العصبية التحللية مثل مرض خرف الزهايمر، أو باركنسون، أو مرض جنون البقر، كلها متعلقة بالبروتينات التي تتراكم في الدماغ، وتشكل بقعًا أو بثرات مميزة لها في خلايا الدماغ. لذا، فإضافة إلى تحطيم البروتينات، فإنّ الْخليّة تحتاج إلى آلية للتخلص من البروتينات القديمة، أو غير المستعملة، أو غير المطوية بشكل صحيح.

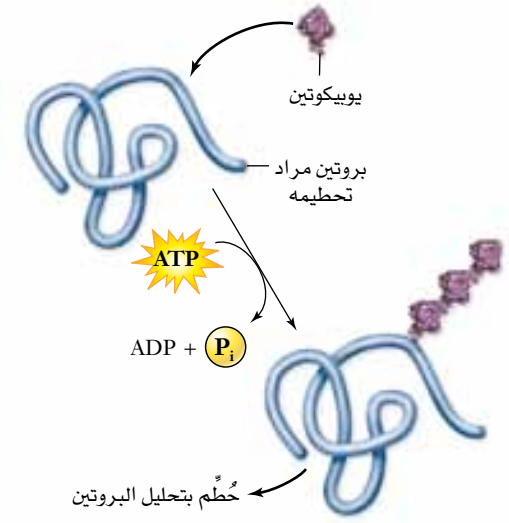
تستطيع أنزيمات تُسمّى **محللات البروتين Proteases** تحطيم البروتينات، بكسر الروابط الببتيدية، وتحويلها إلى وحداتها البنائية من الأحماض الأمينية.

وعلى الرّغم من الحاجة إلى تلك الأنزيمات إلا أنها لا يمكن أن توجد طافية في السيتوبلازم في الأوقات جميعها.

إحدى الطرق التي تقوم عن طريقها خلايا حقيقيّات النّوى بالتعامل مع هذه المشكلة، هي أنْ تقوم باحتواء هذه الأنزيمات في غرف خلوية خاصة. وبإمكاننا الرجوع إلى الفصل الرابع حتى نرى كيف تَصنع الْخليّة تلك الأنزيمات الهاضمة، من ضمنها محلل البروتين، في حويصلات تُسمّى الأجسام الحالّة. تُزيل الأجسام الحالّة البروتينات القديمة أو العضيات العاطلة عن العمل، غير أنّ هذا النظام ليس مقصورًا على نوع معين من البروتينات. تحتاج الْخليّة إلى مسار مُسَيْطَرٍ عليه لمتابعة إزالة البروتينات القديمة وتنظيمها مع الإبقاء على باقي بروتينات الْخليّة بشكل سليم.

تُعلّم إضافة مركب يوبيكوتين البروتينات للتحطيم

استطاعت خلايا حقيقيّات النّوى حلّ تلك المشكلة بتعليم البروتينات المراد تحطيمها، ثم تحطمها بشكل انتقائي. هذه العلامة التي توضع على البروتينات هي مركب **يوبيكوتين Ubiquitin**. سُمي يوبيكوتين بهذا الاسم؛ لأنه موجود في الخلايا جميعها (أيّ إنه موجود بكثرة)، وهو بروتين مكون من 76 حمضًا أمينيًّا، ويوجد بوصفه جزيئًا منعزلًا، أو على شكل سلاسل أطول مرتبطة ببروتينات أخرى.



الشكل 16-19

إضافة يوبيكوتين إلى البروتينات. تُعلَّم البروتينات المراد تحطيمها، بإضافة يوبيكوتين إليها. ويقوم الأنزيم لاصق يوبيكوتين باستهلاك ATP وإضافة يوبيكوتين إلى البروتين. وعند إضافة سلسلة من تلك الجزيئات ليصبح البروتين متعدد اليوبيكوتين يُحطّم البروتين.

تضاف السلسلة الطويلة من يوبيكوتين تدريجيًّا عن طريق أنزيم لاصق يوبيكوتين *Ubiquitin ligase* (الشكل 16-19). يتطلب هذا التفاعل ATP، ويتم على شكل خطوات متعددة في عملية منظمة. تُسمّى البروتينات المرتبطة بيوبيكوتين، متعددة اليوبيكوتين *Polyubiquitinated* وتُعَدّ هذه السلسلة الإشارة التي تضعها الْخليّة على البروتين المراد تحطيمه.

هناك طائفتان من البروتينات التي يُضاف يوبيكوتين إليها: الأولى، تضم البروتينات المراد إزالتها، وهي غير المطوية بشكل صحيح، أو غير الفعالة، والثانية، يتم إنتاجها وتحطيمها بشكل مُتَحَكَّم فيه من قِبَل الْخليّة. من أمثلة النوع الثاني البروتينات الدورية (سايكلين) التي تُسَيِّر دورة الْخليّة (الفصل الـ 10). فعندما ينتهي دور تلك البروتينات في أثناء دورة الْخليّة، يُضاف إليها يوبيكوتين، ثم تُزال. وبهذه الطريقة، تستطيع الْخليّة أنْ تَتَحَكَّمَ في دخولها في الانقسام أو البقاء في حالة عدم الانقسام.

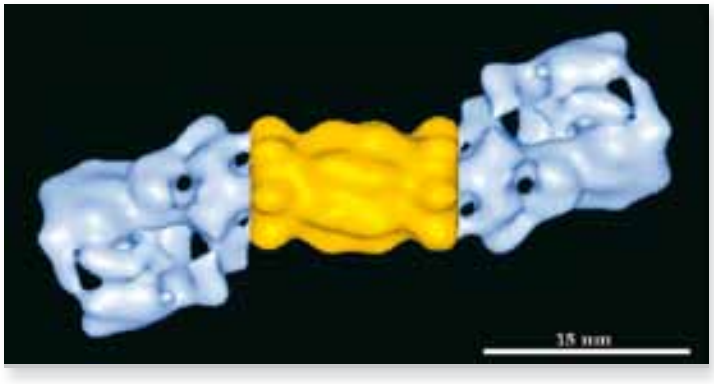
يحطم جسيم تحطيم البروتين

البروتينات متعددة اليوبيكوتين

تُسمّى عضيات الْخليّة التي تحطّم البروتينات المعلمة بيوبيكوتين، جسيمات **تحطيم البروتين Proteosomes**، وهي أسطوانات كبيرة ومعقدة تدخُلها البروتينات من أحد أطرافها، وتخرج من الطرف الآخر بوصفها أحماضًا أمينية أو قطعًا صغيرة ببتيدية (شكل 16-20).

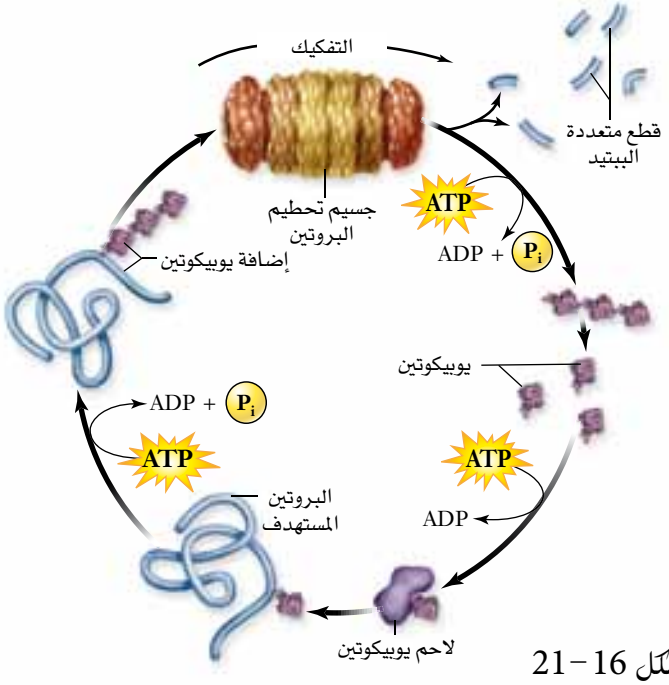
يحتوي معقد جسيم تحطيم البروتين على منطقة مركزية لها نشاط محلل للبروتين، وكذلك على جزءٍ تنظيمي موجود على طرفي البروتين. على الرّغم من أنّ جسيمات تحطيم البروتين غير محاطة بغشاء فإنها تُعَدُّ شكلًا من الحُجرات على مستوى بسيط. وباستخدام عملية ذات خطوتين، يُعلّم أولًا البروتين المراد تحطيمه، ثم يُعالج داخل معقدات ضخمة، في حين تُعزل البروتينات المراد التخلص منها بعيدًا عن السيوبلازم.

إن عملية إضافة يوبيكوتين متبوعة بالتحطيم عن طريق جسيمات تحطيم البروتين تُسمّى مسار يوبيكوتين محطم البروتينات *Ubiquitin–proteasome pathway*. ويمكن اعتبارها حلقة، إذ إنه لا يتم تدمير يوبيكوتين المضاف للبروتينات في



الشكل 16-20

جسيم تحطيم البروتين في الدروسوفيلا. يحتوي المعقد المركزي على نشاط محطم للبروتين، وتعمل الأجزاء الجانبية بوصفها منظمات. تدخل البروتينات من أحد طرفي الأسطوانة ثم تقطع إلى ببتيدات صغيرة تخرج من الطرف الآخر.



الشكل 16-21

التحطيم عن طريق مسار يوبيكوتين المحطم للبروتينات. يتم أولًا إضافة يوبيكوتين إلى البروتينات، ثم تدخل جسيم تحطيم البروتينات لكي تتحطم. ويتم في داخل جسيم تحطيم البروتين إزالة متعدد اليوبيكوتين الذي يتم تفكيكه إلى وحدات صغيرة يعاد استخدامها.

استقصاء

ما السببان اللذان من أجلهما تضيف الْخليّة يوبيكوتين متعدد لمتعدد الببتيد؟

جسيمات تحطيم البروتين. عندما يتحطم البروتين، فإنَّ جزيئات يوبيكوتين تتفكك إلى وحدات صغيرة يتم إعادة استخدامها لاحقًا. (الشكل 16-21).

تُصنع البروتينات، وتُحطم بشكل منظم. يتطلب التّحكم في تحطيم البروتينات في حقيقيّات النّوى إضافة بروتينات يوبيكوتين متبوعة بتحطيم البروتين في داخل جسيم تحطيم البروتين. يُعَدُّ مسار يوبيكوتين محطم البروتينات مسارًا رئيسًا لإعادة استخدام البروتينات القديمة أو التي لم تطوَ بشكل ملائم.

مراجعة المفاهيم

16-1 التّحكم في التّعبير الْجينيّ

التّحكم في التعبير الْجينيّ جوهري للمخلوقات الحية؛ لأنه يسمح للخلايا بالاستجابة للتغيرات في الظّروف الْبيئيّة المحيطة، ويمنح القدرة على حدوث التكوين الجنيني لمخلوقات متعددة الخلايا معقدة.

- يُستهل الاستنساخ عن طريق بروتينات منظِّمة تغير من قدرة مبلمر RNA على الارتباط بالمحفِّز.
- تختلف حقيقيّات النّوى وبدائيّات النّوى في طريقة التّحكم في التعبير الْجينيّ.
- تستجيب إستراتيجيات التّحكم في بدائيّات النّوى بسرعة للتغيرات في ظروف البيئة.
- تعمل إستراتيجيات التّحكم في حقيقيّات النّوى على المحافظة على الاتزان الداخلي.

16-2 البروتينات المنظِّمة

ترتبط البروتينات المنظمة بتعاقبات نوعية محددَّة من DNA تتحكم في حدوث الاستنساخ أو عدمه.

- ترتبط البروتينات المنظمة بسطح الحلزون المزدوج، وتتفاعل مع أزواج القواعد في الأخدود الرّئيس.
- موتيف ربط DNA يشير إلى التركيب ثلاثي الأبعاد للمنطقة التي تربط البروتين المنظم بـ DNA.
- يوجد في البروتينات المنظمة موتيفات عدة ترتبط بـ DNA (الشكل 16-2).

16-3 التنظيم عند بدائيّات النّوى

على الرّغم من وجود اختلافات بين بدائيّات النّوى وحقيقيّات النّوى، فإنهما يشتركان في أوجه شبه عدة فيما يتعلق بالتّحكم في الاستنساخ.

- يتم التّحكم السّلبيّ عن طريق بروتينات متغيرة تُسمّى المثبطات التي تمنع الاستنساخ أو تقلل منه.
- يتم التّحكم الإيجابيّ عن طريق طائفة أخرى من المنظمات البروتينية المتغيرة تُسمّى المنشطات التي تحفز الاستنساخ.
- تضبط بدائيّات النّوى التّعبير الْجينيّ استجابة للظروف الْبيئيّة.
- تُحفز المنطقة الفعالة *lac* عن طريق لاكتوز؛ أيّ إنها تُنتج الأنزيمات التي تستهلك لاكتوزًا بوجوده فقط.
- تثبَّط المنطقة الفعالة *trp*؛ أيّ تتوقف الأنزيمات التي تحتاج إليها الْخليّة لإنتاج *trp* بوجوده *trp*.
- يرتبط المؤثر (ألولاكتوز) بالمثبط في حالة التحفيز أو الحثّ، فيغير شكله، بحيث لا يعود قادرًا على الارتباط مع DNA (الشكل 16-4).
- في حالة التثبيط، يرتبط المؤثر (ويُسمّى هنا مرافق الْمُثَبِّط) مع الْمُثَبِّط، فيغير شكله ليصبح قادرًا على الارتباط مع DNA.
- يمنع وجود الجلوكوز تحفيز المنطقة الفعالة *lac* في عملية تُسمّى التثبيط بالجلوكوز.
- يحدث إقصاء المحفز عندما يتم منع المحفز من الدخول إلى الْخليّة حتى تظل المنطقة الفعالة مثبطة. ويُعدُّ إقصاء المحفز في المنطقة الفعالة *lac* إحدى طرق التثبيط بالجلوكوز.
- يتطلب التّعبير بمستوى عالٍ في المنطقة الفعالة *lac* تحكمًا إيجابيًّا عن طريق المنشط: بروتين منشط نواتج الهدم.
- يصبح بروتين منشط نواتج الهدم فعالًا عند ارتباطه بـ cAMP التي تكون مستوياته مرتفعة عند انخفاض مستوى الجلوكوز.
- يُتحكم في المنطقة الفعالة *trp* سلبيًّا أيضًا عندما لا يرتبط الْمُثَبِّط بـ DNA ما يسمح بالتعبير عند غياب *trp*.
- يرتبط الْمُثَبِّط بـ *trp* (مساعد الْمُثَبِّط) الذي يستطيع أنْ يرتبط عندئذٍ مع DNA ويوقف المنطقة الفعالة *trp* عندما تكون مستويات تربتوفان عالية.

16-4 التّنظيم في حقيقيّات النّوى

إنّ التّحكم في التّعبير الْجينيّ لدى حقيقيّات النّوى أكثر تعقيدًا منه في بدائيّات النّوى. إنّ DNA حقيقيّات النّوى منظم بشكل كروماتين، ويفصل غشاء النواة عملية الاستنساخ عن عملية التّرجمة.

- عوامل الاستنساخ عامةٌ أو نوعيةٌ.
- العوامل العامة ضرورية لتجميع جهاز الاستنساخ واستقطاب مبلمر RNA إلى المحفِّز.
- تعمل العوامل الخاصة بنمط يعتمد على نوعية النسيج، أو على زمن معين من أجل الحصول على معدلات استنساخ عالية.
- المحفِّزاتُ مواقعُ ربطِ عواملِ الاستنساخ العامة، في حين المعززاتُ مواقعُ ربطِ عواملِ الاستنساخ النوعية.
- مرافقاتُ المنشطات وسائط تربط بين عوامل الاستنساخ النوعية وباقي مكونات الاستنساخ (الشكل 16-12).
- بعض، عوامل الاستنساخ لا كلها تحتاج إلى وسائط.
- عدد مرافقات المنشطات قليل بالمقارنة مع عدد عوامل الاستنساخ؛ وذلك لأنّ مرافق المنشط الواحد يستطيع الارتباط بأكثر من عامل استنساخ.
- يتطلب الاستنساخ عن طريق مبلمر RNA معقد الاستهلال وعوامل استنساخ خاصة.

16-5 تركيب الكروماتين في حقيقيّات النّوى

التّعبير الْجينيّ عند حقيقيّات النّوى معقد بشكل أكبر؛ بسبب تراص DNA على شكل كروماتين.

- يلتف DNA في حقيقيّات النّوى حول بروتينات تُسمّى هستونات، ويشكل جسيمات نووية غير متاحة للاستنساخ.
- إضافة الميثيل لأزواج القواعد في DNA، السايتوسين بشكل رئيس، ترتبط مع الجينات "المطفأة أو الموقوفة عن العمل".
- إضافة الميثيل للهستونات ترتبط بالمناطق غير النشطة في الكروماتين.
- إضافة الأستيل للهستونات ترتبط بالمناطق النشطة في الكروماتين.
- منشطات الاستنساخ مثل أنزيم مضيف أ إلى ستيل الهستون ومُزيل الأستيل تغير شكل الكروماتين، وإمكانية الوصول إليه لاستنساخه.
- تحتوي معقدات إعادة نمذجة الكروماتين على أنزيمات تحرك، وتغير مواقع، وتنقل الجسيمات النووية.

16-6 التّنظيم الذي يتم بعد النسخ عند حقيقيّات النّوى

يمكن أنْ يحدث التّحكم في التّعبير الْجينيّ عند حقيقيّات النّوى بعد استهلال الاستنساخ (الشكل 16-16).

- يتم تدخل RNA، عن طريق جزيئات RNA الصغيرة التي تثني نفسها للخلف لتشكل RNA مزدوج الشريط وله ثنية تشبه دبوس الشعر.
- يُقطِّع الأنزيم المُقَطِّع، RNA مزدوج الشريط ويحوله إلى RNA دقيق (miRNA) و RNA الصغير المعترض (siRNA).
- يرتبط RNA الدقيق بشكل مباشر مع mRNA ويمنع الاستنساخ.
- يُحطم RNA الصغير المعترض mRNA معين بعد تكوينه بعملية الاستنساخ.
- يعتقد حاليًا أنّ siRNA يعمل مع أنزيم يُسمّى RISC الذي يُحطم mRNA المكمل لـ siRNA.
- يُنتج الوَصْل البديل لـ mRNA من جين واحد بروتينات عدة مختلفة، وذلك استجابة لعوامل محددة بنسيج معين.
- يعمل تحرير RNA على تحوير mRNA، وتغيير خصائص الازدواج القاعدي.
- يجب نقل mRNA إلى خارج النواة من أجل التّرجمة.
- يُنظم استهلال التّرجمة عن طريق عوامل ترجمة، وبروتينات تثبيط التّرجمة.
- بالإمكان تنظيم التّرجمة عن طريق تحطيم mRNA.

16-7 تحطيم البروتين

تُصنع البروتينات وتحطم بشكل مستمر.

- يضاف إلى البروتينات المستهدفة للتحطيم في حقيقيّات النّوى، ببتيدات يوبيكوتين.
- يضاف يوبيكوتين إلى البروتينات القديمة، وغير الفعالة، أو التي تنتج بشكل منظم مثل البروتينات الدورية (سايكلين).
- تحطم عضيات خلوية-جسيمات تحطيم البروتين- البروتينات التي أضيف إليها يوبيكوتين.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. المرحلة التي يحدث فيها التّحكم في التّعبير الْجينيّ هي:
   أ . وَصْل سابق mRNA لإنتاج mRNA الناضج.
   ب. استهلال التّرجمة.
   جـ. استهلال الاستنساخ.
   د . جميع ما ذكر.
2. تتفاعل البروتينات المنظِّمة مع DNA عن طريق:
   أ . فك التفاف الحلزون وتغيير نمط الازدواج القاعدي.
   ب. هيكل الفوسفات- السكر في الحلزون المزدوج.
   جـ. فك التفات الحلزون وإحداث اضطراب في الازدواج القاعدي.
   د . الارتباط مع الأخدود الرّئيس للحلزون المزدوج والتفاعل مع أزواج القواعد.
3. ترتبط تحت وحدتي البروتين في زمام (سحّاب) ليوسين المنزلق عن طريق:
   أ . مناطق في صفيحة بيتا المثناة.
   ب. التفاعل مع الأحماض الأمينية غير المحبة للماء.
   جـ. مناطق حلزوني ألفا، بينهما لفة.
   د . التفاعل مع ذرة الزنك.
4. المنطقة المسؤولة بشكل مباشر عن الارتباط النوعي مع سلسلة DNA من مناطق بروتين حلزون- لفة- حلزون هي:
   أ . حلزون التّعَرّف.
   ب. المنطقة المتجانسة.
   جـ. أصابع الزنك.
   د . سحاب ليوسين المنزلق.
5. في بدائيّات النّوى، يتطلب التّحكم السّلبيّ جزيئات ---- تغير من شكل بروتينات ----- التي ترتبط مع DNA وتمنع الاستنساخ.
   أ . المشغل؛ الْمُثَبِّط.
   ب. المنشط؛ مبلمر RNA.
   جـ. المنشط؛ المشغل.
   د . المؤثر؛ الْمُثَبِّط.
6. المنطقة الفعالة هي:
   أ . منطقة في DNA تعمل على تنظيم الاستنساخ.
   ب. تجمع جيني يتم التّعبير عنه بوصفه وحدة كاملة.
   جـ. موتيف لربط DNA.
   د . بروتين منظِّم يعزز الاستنساخ.
7. تأثير وجود لاكتوز في المنطقة الفعالة *lac* هو:
   أ . يرتبط الْمُثَبِّط مع موقع المشغل في المنطقة الفعالة.
   ب. يرتبط لاكتوز مع موقع المشغل في المنطقة الفعالة.
   جـ. تستنسخ المنطقة الفعالة *lac*.
   د . ليس له تأثير.
8. يؤثر وجود الجلوكوز في تنظيم المنطقة الفعالة lac عن طريق:
   أ . يقلل الجلوكوز من كمية cAMP المطلوبة لعمل CAP.
   ب. يمنع الجلوكوز نقل لاكتوز إلى داخل الْخليّة.
   جـ. يرتبط الجلوكوز مع البروتين الْمُثَبِّط.
   د . (أ) و (ب).
9. تأثير الحمض الأميني التريبتوفان في المنطقة الفعالة *trp* هو:
   أ . يرتبط تربتوفان الْمُثَبِّط، ويتسبب في استنساخ المنطقة الفعالة *trp*.
   ب. يرتبط تربتوفان الْمُثَبِّط، ويمنع الاستنساخ.
   جـ. يزيد تربتوفان من مستويات cAMP وينشط CAP.
   د . يتفاعل تربتوفان مع الْمُثَبِّط، ما يؤدي إلى إزالة التثبيط عن المنطقة الفعالة *trp*.
10. تختلف عوامل الاستنساخ النوعية عن عوامل الاستنساخ العامة في أن الأولى:
    أ . تزيد من معدل الاستنساخ.
    ب. ترتبط مع صندوق TATA.
    جـ. تُشكل معقد الاستهلال.
    د . ترتبط مع مبلمر RNA.
11. إضافة ميثيل إلى DNA:
    أ . تثبط الاستنساخ بمنع الازدواج القاعدي بين السايتوسين والجوانين.
    ب. تثبط الاستنساخ بمنع الازدواج القاعدي بين اليوراسيل والأدينين.
    جـ. تمنع الاستنساخ بحجب سلسلة صندوق TATA.
    د . مرتبطة بالجينات المطفأة أو الموقوفة.
12. وظيفة RNAs الصغير المعترض هي:
    أ . الارتباط مع mRNA ومنع ترجمته.
    ب. منع استنساخ mRNA المكمل.
    جـ. البدء بتحطيم mRNA المكمل.
    د . التنافس مع tRNA خلال التّرجمة.
13. يحدث تحرير RNA نتيجة:
    أ . استبدال زوج قاعدي بسبب طفرة في DNA.
    ب. وَصْل سابقmRNA.
    جـ. إضافة الميثيل mRNA.
    د . تحوير قاعدة في mRNA.
14. يوبيكوتين هو:
    أ . نوع من أنزيم محلل للبروتين.
    ب. تعديل يحدث بعد التّرجمة يستهدف البروتينات للتدمير.
    جـ. بروتين يسهم في نقل mRNA إلى خارج النواة.
    د . تحوير بعد التّرجمة يحطم mRNA.
15. واحدة من العبارات الآتية المتعلقة بجسيمات تحطيم البروتين غير صحيحة:
    أ . هي عضيات محاطة بغشاء.
    ب. تقوم بتكسير البروتينات إلى أحماض أمينية.
    جـ. لا تحطم يوبيكوتين.
    د . تزيل يوبيكوتين من البروتينات.

أسئلة تحدٍّ

1. بالإمكان إيجاد أمثلة على التّحكم السّلبيّ والإيجابيّ في الاستنساخ من خلال تنظيم التّعبير الْجينيّ في المنطقة الفعالة *lac* و *trp* في البكتيريا.
   استخدم نظامي المنطقة الفعالة لوصف الفرق بين التّنظيم الإيجابيّ والسّلبيّ.
2. ما أوجه الاختلاف بين المشغل والمحفِّز في التّنظيم الْجينيّ عند بدائيّات النّوى؟
3. ما أشكال التّحكم في التّعبير الْجينيّ المُمَيِّزة لحقيقيّات النّوى؟ وهل تستطيع بدائيّات النّوى استخدام هذه الآليات، أم أنها موجودة لأنّ هناك فرقًا بين أنواع هذه الخلايا؟
4. يتأثر عدد البروتينات الموجودة في الْخليّة وأنواعها بالطفرات الوراثية، وتنظيم التّعبير الْجينيّ. ناقش كيف تختلف هاتان الطريقتان.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. لتتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 17

التقانة الْحيويّة

Biotechnology

مقدّمة

أدى تطوير تقنيات جديدة ومؤثرة عبر العقود الماضية في دراسة المادة الْوراثيّة وتحويرها وتعديلها إلى ثورة في علوم الحياة. فالمعلومات التي تَمَّ الحصول عليها خلال 25 سنة الماضية أكبر من تلك التي تَمَّ الحصول عليها في تاريخ علوم الحياة كاملًا. وقد أثر علم التّقانات الْحيويّة أيضًا في كثير من مناحي الحياة اليومية بما يفوق أيّ حقل من علوم الحياة بدءًا من الغذاء اليومي إلى مستقبل الطب.

ظهرت القدرة على عزل قطع مُحَدَّدَة من DNA؛ فوفّر ذلك إمكانية دراسة واستعمال جزيئات صغيرة منه موجودة في خلايا البكتيريا، كتلك البلازميدة التي تبدو في الصورة جانبًا. في هذا الفصل، سنستقصي هذه التقنيات، وننظر كيف يمكن تطبيقها لحل مشكلات خاصة ذات أهمية عملية.

سوجز المفاهيم

17-1 تعديل DNA

- تقسّم الأنزيمات القاطعة *DNA* في مواقع مُحَدَّدَة.
- الأنزيمات الرابطة لـ *DNA* ودورها في بناء جزيئات هجينة
- يفصل التّهجير الْكهربائيّ عن طريق الهلام قطع *DNA*
- يسمح التّحول الْوراثيّ بإدخال *DNA* الغريب إلى بكتيريا القولون *E.coli*

17-2 الاستنسال الجزيئي

- تُمكّن أنظمة العائل – الحامل تكثير المادة الْوراثيّة الغريبة في البكتيريا.
- تحوي المكتبات الْوراثيّة المادة الْوراثيّة للمخلوق كلها.
- الأنزيم الناسخ العكسي قادر على إنتاج نسخة *DNA* من الحمض النووي الرايبوزي *RNA*
- يمكّن التهجين من تعريف أحماض نووية رايبوزية منقوصة الأكسجين في خلائط معقدة.
- يمكن عزل المستنسلات المُحَدَّدَة من المجموع الْوراثيّ.

17-3 تحليل DNA

- توفر الخرائط المُحَدِّدة «معالم» جزيئية.
- تكشف وصمات (طُبَع) ساذرن عن الفروق في *DNA*
- التحليل التسلسلي للحمض النووي الرايبوزي منقوص الأكسجين يوفر معلومات عن الجينات والمجموع الجيني.
- سارعت تقنيةُ تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل عمليةَ التّحليل.
- يمكن الكشف عن تفاعلات البروتين باستعمال نظام التهجين الثنائي

17-4 الهندسة الوراثية

- تسمح حوامل التفعيل بإنتاج منتجات جينية مُحَدَّدَة.
- يمكن إدخال الجينات عبر حاجز الأنواع.
- يمكن استعمال الجينات المستنسلة في بناء فئران تَمَّ تعطيل بعض جيناتها.

17-5 تطبيقات طبية

- يمكن إنتاج البروتينات الإنسانية في البكتيريا.
- قد تُبسِّط مادة *DNA* الهجينة إنتاج المطاعيم.
- يمكن للمعالجة الجينية معالجة الأمراض الجينية مباشرة

17-6 التطبيقات الزراعيّة

- يمكن أن تحول البلازميدة *Ti* النباتات ذات الأوراق العريضة .
- زراعة المحاصيل المقاومة للمبيدات النباتية وعدم الحاجة إلى التعشيب
- محاصيل *Bt* مقاومة لبعض الآفات الحشرية.
- الأرز الذهبي يبين إمكانات المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا.
- طرحت المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا كثيرًا من القضايا الاجتماعية
- يمكن إنتاج مواد صيدلانية من خلال استعمال الصيدلة الْحيويّة.
- الحيوانات الداجنة يمكن أيضًا تعديلها وراثيًّا.

1-17 تعديل DNA

لقد كانت القدرة على العزل المباشر للمادة الوراثيّة وتعديلها من أهم التغيرات العميقة في ميدان علوم الحياة في أواخر القرن العشرين. لقد ابتدأ **بناء DNA الهجين Recombinant DNA** (أي أن جزيئًا منه مصنوع من مصدرين مختلفين) في منتصف السّبعينيّات من القرن الماضي. إن تطور هذه التقنية – التي أدت كليًّا لعلم التقانات الحيويّة – مبني أساسًا على أنزيمات يمكن استعمالها لتعديل DNA.

تقسّم الأنزيمات القاطعة DNA في مواقع مُحَدَّدَة

إن الأنزيمات التي ساعدت على إحداث الثورة في البيولوجيا الجزيئية هي تلك القادرة على تقطيع DNA في مواقع مُحَدَّدَة، وهذه هي التي يطلق عليها **الأنزيمات المحددّة الداخلية Restriction endonucleases**. وكما تَمَّ وصفه في (الفصل الـ 14)، فإنّ الأنزيمات المحللة لـ DNA هي أنزيمات تفتت DNA إلى قطع. وكان كثير منها معروفًا قبل عزل أول أنزيم منها. إلا أن هذه الأنزيمات مختلفة؛ لأنها قادرة على تفتيت DNA في مواقع خاصة. ولو كان الحمض النووي الرايبوزي حبلًا، فستكون هذه الأنزيمات كالسكين التي تقطع الحبل بأطوال محددة.

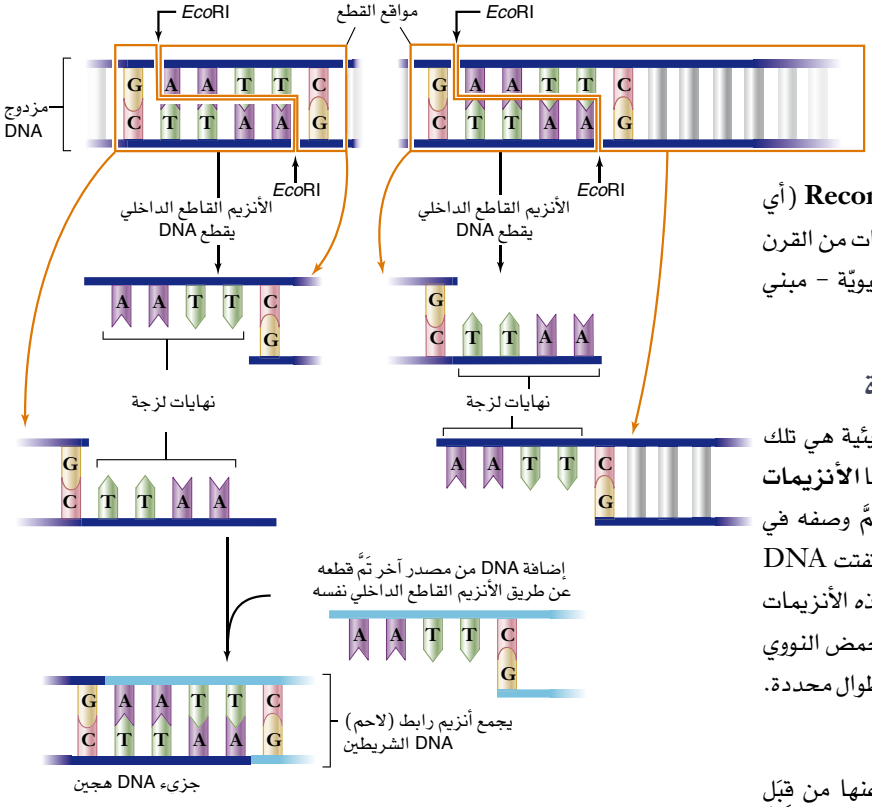
اكتشاف الأنزيمات المحددة وأهميتها

إن فعالية التقطيع المحدَّد لهذه الأنزيمات التي طالما تَمَّ البحث عنها من قِبَل علماء الحياة نجمت عن بحوث أساسية للإجابة عن السؤال: لماذا تستطيع بعض الفيروسات البكتيرية إصابة بعض الخلايا، وليس كلّها؟ وقد أُطلق على هذه الظاهرة اسم محدودية العائل *Host restriction*. تنتج البكتيريا أنزيمات قادرة على تقطيع DNA الخاص بالفيروس في أماكن وتسلسلات مُحَدَّدَة، وتقوم خلايا العائل بحماية حمضها النووي من التقطيع من خلال تعديل هذا الحمض في مواقع التقطيع، حيث لا تقوم هذه الأنزيمات بتقطيع الجزيئات المُعدّلة من DNA. ومنذ الوهلة الأولى لاكتشاف هذه الأنزيمات القاطعة، فإنّ المئات قد عُزلت، وكانت قادرة على التّعرّف إلى كثير من **مواقع التقطيع Restriction sites** وقطعها.

إن القدرة على قطع DNA في أماكن مُحَدَّدَة ذات أهمية من ناحيتين: الأولى أنها تسمح ببناء نمط من الخريطة الفيزيائية، وهو ما كان مستحيلًا قبل ذلك. يمكن بناء الخريطة الفيزيائية اعتمادًا على تحديد أماكن التقطيع لهذه الأنزيمات القاطعة، وتوفر هذه الخرائط المحددة معلومات مهمة للتعرف إلى جزيئات DNA والعمل بها. ومن ناحية ثانية، يؤدي التقطيع الناتج عن الأنزيمات القاطعة هذه إلى ظهور جزيئات هجينة (خليطة أو معادة التكوين) من DNA. إن كثيرًا على بناء الجزيئات الهجينة هذه ذات أثر مهم في البحوث، حيث إن كثيرًا من الخطوات في عملية استنسال DNA وتعديله تحتاج إلى القدرة على خلط جزيئات من مصادر مختلفة.

كيف تعمل الأنزيمات القاطعة؟

هناك نوعان من الأنزيمات القاطعة: الأول I والثاني II، يعمل النوع الأول I قطعًا بسيطًا عبر كلّ من شريطي DNA وليس على موقع التّعرّف. وحيث إنه لا يقطع على مواقع بمحددة بعينها، فإنه لا يستعمل غالبًا في عمليات استنسال DNA وتعديله. أما النوع الثاني II، فإنه يستطيع إنتاج جزيئات هجينة، حيث إن هذه الأنزيمات قادرة على التّعرّف إلى تسلسل معين من DNA مكون من 4-12 قاعدة، وتقطع الحمض النووي عند قاعدة معينة بذاتها في هذا التسلسل (الشكل 17-1). إن مواقع تعرف النوع الثاني II من هذه الأنزيمات يمكن قراءته بالصورة العادية، أو بالاتجاه



الشكل 17-1

تنتج كثير من الأنزيمات القاطعة قطعًا من DNA حاملة نهايات لزجة. يقوم الأنزيم القاطع للبكتيريا *Eco*RI دائمًا بقطع التسلسل GAATTC بين G و A . وبسبب وجود التسلسل في كلا الشريطين، فإنه يقطع كليهما، إلا أن هذين التسلسلين يسيران في اتجاهين متعاكسين على الشريطين. نتيجة لذلك، تنتج أذناب وحيدة الشريط ذات نهايات لزجة، وتكون مكملة لبعضها. ويمكن لاحقًا لهذه النهايات اللزجة الالتحام بقطعة من DNA الآخر الذي قُطِع عن طريق الأنزيم القاطع نفسه. ويمكن لهذين الجزيئين الاندماج عن طريق الأنزيم الرابط لإنتاج جزيء هجين.

المعاكس دون تغيير ترتيب الأحرف، كما هو الحال في كلمة RADAR (يدعى هذا النهج باليندروم). تقرأ تسلسلات DNA الباليندرومية من 5` إلى 3` في الشريط الواحد تمامًا كما تقرأ في الشريط المكمل له (انظر الشكل 17-1).

وبالأخذ في الحسبان هذا النوع من التسلسل فإنّ قَطْع DNA عند القاعدة نفسها في أيّ من الشريطين يمكن أن يؤدي لقطع DNA بطريقة ماهرة تؤدي لإنتاج أطراف لزجة Sticky ends ، وستكون هذه التسلسلات القصيرة غير المزدوجة هي نفسها لأي حمض نووي قُطِع بذلك الأنزيم. وهكذا، فإنّ هذه النهايات اللزجة تسمح لأحماض نووية من مصادر مختلفة بالارتباط ببعضها بسهولة (انظر الشكل 17-1).

الأنزيمات الرابطة لـ DNA ودورها في بناء جزيئات هجينة

كما وصفنا أيضًا، فإنّ نهايتي DNA اللتين تَمَّ قطعهما بأنزيمات النوع الثاني II تمتلك تسلسلات مكملة لبعضها، وهكذا فبإمكانها أن تكوّن مزدوجًا. ولكن، ولكي تكون جزيئًا من DNA مستقرًا مكونًا من القطعتين فلا بد من وجود أنزيم لربط هذه الجزيئات. يساعد **الأنزيم الرابط DNA ligase** على تكوين رابطة

ثنائية الإستر مفسفرة بين مجموعتي الهيدروكسيل والفوسفات المتجاورتين في نيوكليوتيدات DNA. يسبب الأنزيم الرابط هذا التحام الكسر في أحد الشريطين أو كليهما (انظر الشكل 17-1)، وهذا هو نفسه الأنزيم الذي يربط قطع أوكازاكي على الشريط المتلكئ خلال تضاعف DNA (انظر الفصل الـ 14).

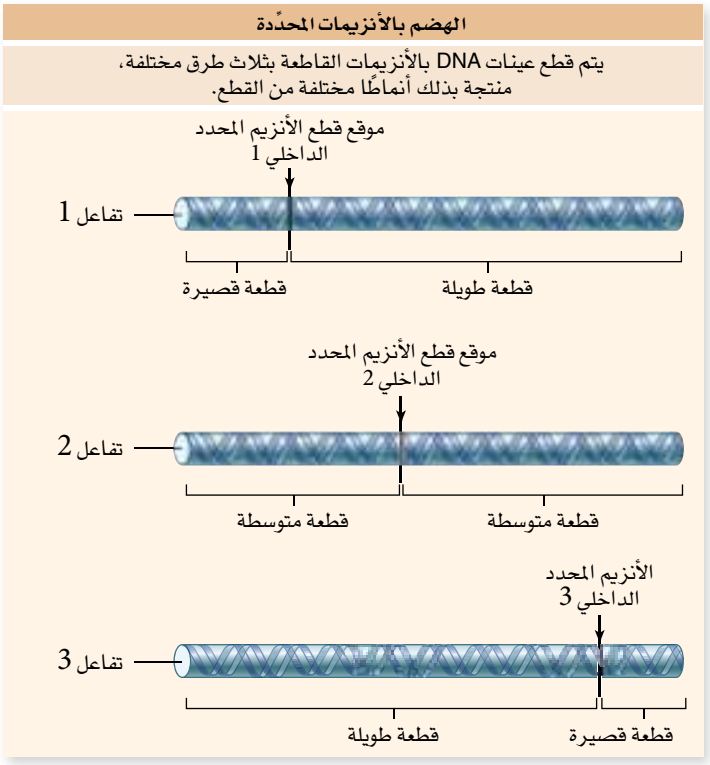
وفي صندوق العدة لعالِم البيولوجيا الجزيئية، يُعَدّ فعل الأنزيم الرابط ضروريًّا لإنتاج جزيئات هجينة مستقرة من قطع وفرتها الأنزيمات المحدِّدة (القطّع).

يفصل التّهجير الْكهربائيّ عن طريق الهلام قطع DNA

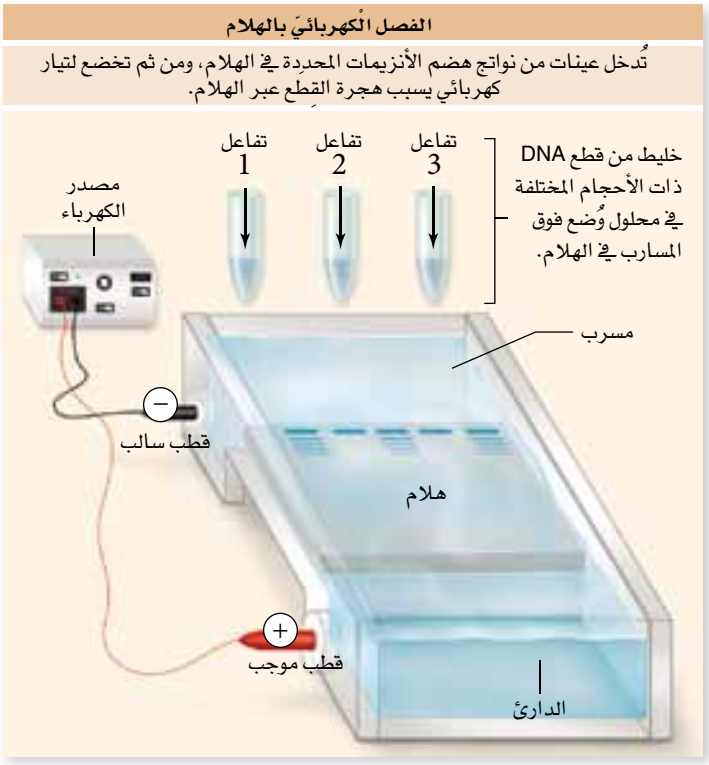
لا فائدة من القطع الناتجة عن عمل الأنزيمات القاطعة إنْ لم يكن بالإمكان فصلها بسهولة لتحليلها. أكثر طرق الفصل شيوعًا هي استخدام التّهجير الْكهربائيّ في الهلام. تعتمد هذه التقنية على الاستفادة من الشحنات السالبة على جزيء DNA باستعمال حقل كهربائي لتوفير القوة اللازمة لفصل جزيئات DNA بناءً على حجمها.

فالهلام المصنوع من الأجروز أو مبلمر أكريلأمايد المنتشر على هيئة طبقة رقيقة على مادة داعمة، يوفر وسطًا ثلاثي الأبعاد يفصل الجزيئات اعتمادًا على حجمها. يتم غمر الهلام في المحلول الدارئ (المنظم) Buffer المحتوي على أيونات يمكنها أن تحمل تيارًا خاضعًا لحقل كهربائي.

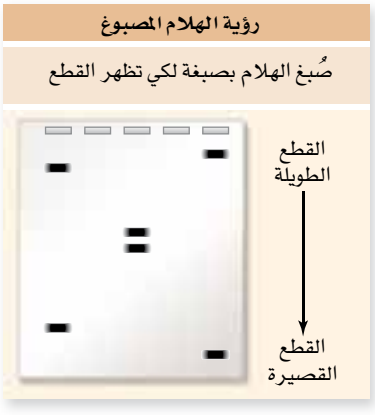
تسبب الشحنات السالبة القوية من مجموعات الفوسفات المكونة للعمود الفقري للحمض النووي DNA هجرة الجزيء نحو القطب الموجب (الشكل 17-2ب). ويعمل الهلام على شكل غربال لفصل جزيئات DNA اعتمادًا على حجمها: حيث كلما كبر حجم الجزيء، كانت هجرته في الهلام أكثر بطئًا. وعلى مدى زمني محدد للهجرة الْكهربائيّة، فإنّ الجزيئات الصغيرة سوف تهاجر مسافات أكبر من الجزيئات الكبيرة. يمكن التّعرّف إلى DNA في الهلام باستعمال صبغة ترتبط به (الشكل 17-2 جـ، د).



أ.



ب.



جـ.

د.

الشكل 17-2

الفصل الْكهربائيّ بالهلام أ. تستعمل ثلاثة من الأنزيمات القاطعة لتقطيع DNA إلى قطع محددة اعتمادًا على التسلسل الذي يميزه كلّ أنزيم. **ب.** يتم تحميل القطع في الهلام، سواء أكان أجروزًا أم مبلمر أكريلأمايد، ومن ثم يمرر التيار الْكهربائيّ، حيث تهاجر قطع جزيئات DNA خلال الهلام اعتمادًا على الحجم، إذ تهاجر الجزيئات الكبيرة ببطء. **جـ.** يؤدي هذا إلى ظهور أنماط من القطع تنفصل بناءً على الحجم، حيث تهاجر القطع الصغيرة لمسافات أكبر من الكبيرة. **د.** يمكن إظهار القطع بصبغها بصبغة بروميد الإيثيديوم، وعند تعرض الهلام للأشعة فوق البنفسجية، فإنّ DNA المرتبط بالصبغة سيتوهج بوضوح على شكل بقع أرجوانية في الهلام. وتبين الصورة بقعة واحدة من DNA اقتُطعت لمتابعة دراستها، ويمكن مشاهدتها تتلألأ في الأنبوب الذي يحمله الفني.

ويعد التّهجير الْكهربائيّ من أهم الطرق في البيولوجيا الجزيئية باستعمالاته في مجالات تمتد من تحليل بصمات DNA إلى تحليل أنماط تسلسله. وسوف نبحث ذلك في مرحلة لاحقة.

يسمح التّحول الْوراثيّ بإدخال DNA الغريب إلى بكتيريا القولون *E.coli*

إن الخطوة الأولى في الهندسة الْوراثيّة هي بناء جزيئات هجينة. من الضروري أيضًا أن نكون قادرين على إعادة إدخال هذه الجزيئات إلى الخلايا. في (الفصل الـ 14)، تَمَّت الإشارة إلى أن المادة الْوراثيّة يمكن انتقالها بين خلايا البكتيريا، كما أوضح فردريك جريفث، وهذه العمليةُ المسماة بالتّحول الْوراثيّ *Transformation* عمليةٌ طبيعية في الخلايا التي كان يدرسها جريفث. فبكتيريا القولون *E.coli* المستعملة بشكل روتيني في مختبرات البيولوجيا الجزيئية غير قادرة على إتمام عملية التّحول الْوراثيّ طبيعيًّا، إلا أن عمليات اصطناعية تَمَّ تطويرها لتسمح بإدخال المادة الْوراثيّة في خلايا بكتيريا القولون هذه. بهذه الطريقة، يمكن إكثار جزيئات هجينة في خلية قادرة على عمل كثير من النسخ من هذا الجزيء الجديد الهجين.

وبصورة عامة، تُدعى عمليةُ إدخال جزيء المادة الْوراثيّة من أصل غريب في خلية أخرى هي عملية تُدعى التحولَ الْوراثيَّ، وهي مهمة جدًا في حالة بكتيريا القولون من أجل الاستنسال الجزيئي، ومن أجل تكاثر DNA المُسْتَنْسَل. يرغب الباحثون أيضًا أن يكونوا قادرين على إعادة إدخال المادة الْوراثيّة في الخلايا الأصلية التي عُزلت منها أصلًا. في هذه الحالة، إذا أمكن استعمال الْخليّة المتحولة لتكوين كلّ أو جزء من مخلوق، فإننا نسمي هذا المخلوق **عابر الجينات** (متحوِّل) **Transgenic** وسوف نستقصي لاحقًا تكوين النباتات والحيوانات عابرة الجينات واستعمالها.

تشمل تقنيات تعديل المادة الْوراثيّة استعمال الأنزيمات القاطعة لتقطيع DNA والأنزيم الرابط لـ DNA لبناء جزيئات هجينة. يُستعمل التّهجير الْكهربائيّ بالهلام لفصل قطع DNA. ويمكن إدخال DNA الغريب إلى بكتيريا القولون من خلال عملية التّحول الْوراثيّ الاصطناعية.

2-17 الاستنسال الجزيئي Molecular cloning

يشير مصطلح **سلالة** (أو نسيلة **Clone**) إلى نسخ متشابهة تمامًا وراثيًّا. إن عملية تكثير النباتات من خلال قطع عقلة من نبات معين وتنميتها للحصول على نبات جديد هي طريقة بدائية مبكرة للاستنسال، استعملت بشكل واسع في التّطبيقات الزّراعيّة، وعلم البستنة. ونكتفي هنا بالتحدث عن فكرة الاستنسال الجزيئية، في حين أننا سنبحث في استنسال مخلوق كامل في(الفصل الـ 19).

تشمل **عملية الاستنسال** الجزيئية عزل تسلسل محدد من المادة الْوراثيّة، وهو تسلسل يترجم في العادة إلى بروتين خاص. يُسمّى هذا أحيانًا الاستنسالَ الجيني *Gene cloning* إلا أن الاستنسال الجزيئي أكثر دقة.

تُمكّن أنظمة العائل – الحامل تكثير المادة الْوراثيّة الغريبة في البكتيريا

مع أنه بالإمكان إنتاج تسلسلات قصيرة من DNA في خارج الْخليّة *In vitro*، فإنّ استنسال تسلسلات كبيرة غير معروفة، يحتاج إلى تكثير جزيئاتDNA الهجين داخل الْخليّة *In vivo*. تمكن الأنزيمات والطرق التي وصفها سابقًا علماء الأحياء من إنتاج المادة الْوراثيّة الغريبة وفصلها، ومن ثَمَّ إدخالها إلى الخلايا.

إن عملية تكثير المادة الْوراثيّة في الْخليّة العائل تحتاج إلى **حامل Vector** (شيء لحمل جزيء المادة الْوراثيّة الهجين) يمكنه التضاعف في العائل عند إدخاله. إن هذه الأنظمة للعائل –والحامل مهمة جدًا لعلوم البيولوجيا الجزيئية.

إن أكثر العوائل شيوعًا ومرونة عند الاستعمال في عمليات الاستنسال الجزيئية بكتيريا القولون *E.coli* ، إلا أنه يتوافر في الوقت الحاضر كثير من هذه العوائل. يعيد الباحثون بشكل روتيني إدخال المادة الْوراثيّة المستنسلة لحقيقيّة النّوى باستعمال خلايا الأنسجة من الثدييات، أو خلايا الخميرة وخلايا الحشرات بوصفها عوائل. وكل نظام من أنظمة العائل – الحامل يتيح استعمالًا خاصًّا للمادة الْوراثيّة المستنسلة.

تمثل البلازميدات والفيروسات البكتيرية أكثر اثنين من الحوامل المستعملة. فالبلازميداتُ *Plasmids* مادةٌ وراثيةٌ صغيرة ودائرية تقع خارج الكروموسوم، وهي غير ضرورية للخلية البكتيرية. أما الفيروسات البكتيرية فهي فيروسات تصيب خلايا البكتيريا.

البلازميدات بوصفها حوامل *Plasmid vectors*

الحوامل البلازميدية (كروموسومات صغيرة دائرية الشكل) تستعمل عادة لاستنسال قطع صغيرة نسبيًّا من المادة الْوراثيّة تصل في أقصاها إلى ما يقارب 10 كيلو قاعدة (10,000 قاعدة) ولا بد للحامل البلازميدي من أن يحوي مكونين، هما:

1. أصل (منشأ) التضاعف *Origin of replication* الذي يسمح للبلازميدة بالتضاعف في بكتيريا القولون بصورة مستقلة عن الكروموسوم.
2. مؤشر قابل للاختيار *Selectable marker* وغالبًا ما يكون هذا المؤشر مقاومًا المضاد الحيوي.

ويضمن مؤشر الاختيار هذا التّعرّف بسهولة إلى وجود البلازميدة خلال الاختيار الْوراثيّ. وعلى سبيل المثال، فإنّ الخلايا المحتوية على البلازميدة الحاملة لجين مقاومة المضاد الحيوي تتمكن من العيش عند زراعتها على وسط غذائي يحوي ذلك المضاد الحيوي، في حين أن الخلايا المفتقرة لتلك البلازميدة سوف تموت بفعل هذا المضاد.

وتُدخَل قطعة من DNA بالطرق التي وُصفت إلى منطقة من البلازميدة تُسمّى **موقع الاستنسال المتعدد Multiple cloning site (MCS)** . تحوي هذه المنطقة عددًا من المواقع المحددة الخاصة، بحيث إنه عند قطع البلازميدة بأحد الأنزيمات المحددة لهذه المواقع تكون النتيجة بلازميدة خيطية. وعند قطع المادة الْوراثيّة قيد الدراسة بالأنزيم القاطع نفسه يمكن عندها ربط القطعة في ذلك الموقع، وبعدها تُدخل البلازميدة إلى الخلايا عن طريق التّحول الْوراثيّ (انظر الشكل 17-3أ).

وغالبًا ما تكون هذه المنطقة من الحامل قد تَمَّ هندستها لكي تحتوي على جين آخر تَمَّ تعطيله؛ لأنه قُطع بالمادة الْوراثيّة التي دخلت توًّا، وهذا ما يُسمّى التعطيل الإدخالي *Insertional inactivation*. واحد من أوائل حوامل الاستنسال هو pBR322 استعمل جينًا آخر مقاومًا للمضاد الحيوي للتنشيط الإدخالي؛ وهكذا فإنّ المقاومة لمضاد حيوي والحساسية لمضاد حيوي آخر تشير إلى وجود المادة الْوراثيّة المدخلة.

وهناك حوامل حديثة تستعمل جين أنزيم محلل بيتا – جلاكتوسايد، وهو الأنزيم الذي يقطع السكريات الجلاكتوسايدية مثل اللاكتوز. فعندما يقطع الأنزيم المادة

الصناعية X-gal ينتج لون أزرق. في هذه البلازميدات يؤدي إدخال المادة الْوراثيّة الغريبة إلى مقاطعة جين الأنزيم المحلل لبيتا جلاكتوساید، فلا يتم إنتاج أنزيم فعال. وعند زراعة الخلايا المتحولة وراثيًّا على وسط يحوي المضاد الحيوي ومادة X-gal (لكي نختار الخلايا المحتوية على البلازميدة) فإنها تبقى ذات لون أبيض، في حين أن الخلايا المتحولة وراثيًّا وغير المحتوية على المادة الْوراثيّة المدخلة تبقى ذات لون أزرق (انظر الشكل 17-3أ).

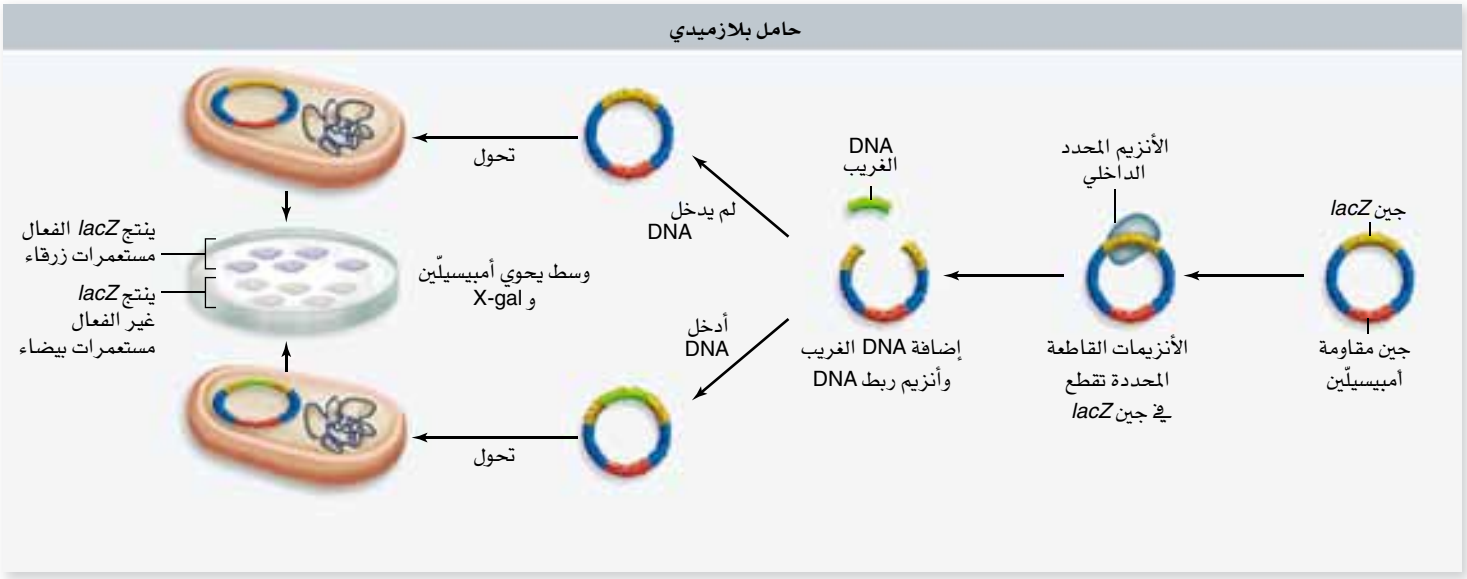
الفيروسات البكتيرية بوصفها حوامل *Phage vectors*

إن الفيروسات البكتيرية أكبر من البلازميدات بوصفها حوامل، أو بوصفها عوامل نقل، ويمكنها أن تحمل قطع DNA تصل إلى 40 كيلوقاعدة. إن معظم الحوامل الفيروسية الناقلة مبنية على دراسة **الفيروس البكتيري لامدا (λ) phage lambda**. مبدئيًّا، تُستخدم حوامل الفيروس لامدا هذه الأيام لأجل بناء مكتبات *cDNA* المكمل *cDNA Libraries* – وهي عبارة عن مجموعات من قطع DNA أُنتجت من الحمض النووي الرايبوزي الرسول mRNA (انظر التفاصيل أدناه).

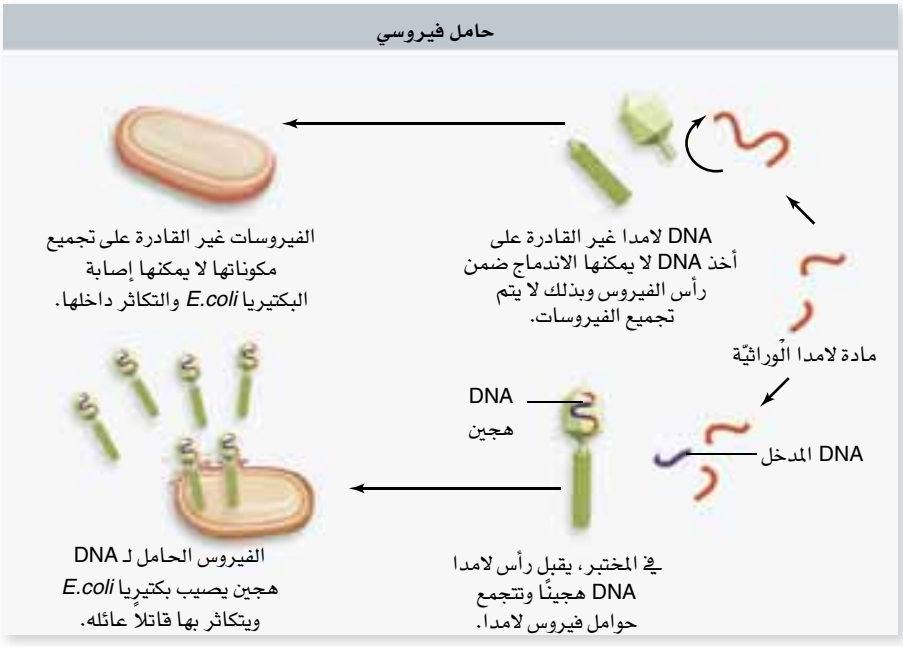
ومع أن فيروس لامدا الحامل مفيد لاستنسال قطع كبيرة من DNA، إلا أن له متطلبين لا تشاركه بهما البلازميدات بوصفها حوامل، هما:

- كلٌّ من البلازميدات والفيروسات البكتيرية تحتاج إلى خلايا حية للتضاعف، إلا أن الفيروسات تقتل هذه الخلايا، حيث تؤدي في النهاية إلى مجموعات فيروسية، وليس خلايا بكتيريا.
- المادة الْوراثيّة للفيروس خيطية، فبدلًا من كسر دائرة، كما هي الحال في البلازميدة، يُزال الجزء الأوسط من المادة الْوراثيّة لفيروس لامدا لتحل محله المادة الْوراثيّة المدخلة.

بعد ربط هذه المادة المدخلة لذراعي فيروس لامدا يجب عندها تغليف مادة لامدا الْوراثيّة برأس الفيروس خارج الْخليّة، وبعدها تستعمل لإصابة بكتيريا القولون *E.coli*. ويلاحظ أن ذراعي الفيروس لامدا المفتقرين إلى أي مادة وراثية مدخلة لا يمكن تغليفهما بصورة فعالة برأس الفيروس. ويؤدي هذا الاختلاف إلى درجة من الانتخاب للفيروسات الهجينة، حيث إنّ الأذرع وحدها لا تُضاعف (الشكل 17-3 ب).



أ.



ب.

الشكل 17-3

استعمال حوامل البلازميدة والفيروس. أ. تُقطع البلازميدة ضمن جين أنزيم بيتا-جلاكتوساید (*LacZ*) ومن ثم تضاف المادة الْوراثيّة الغريبة والأنزيم الرابط إلى DNA. عندئذٍ، تتداخل المادة الْوراثيّة الغريبة المدخلة في الجين *LacZ* مع التسلسل المشفَّر، معطلة بذلك عمل الجين. عند زراعة الخلايا على وسط غذائي يحتوي على المضاد الحيوي أمبيسيلّين، تُختار الخلايا المحتوية على البلازميدة فقط. يحوي الوسط الغذائي مادة *X-gal* ، وفي حالة كون جين *lacZ* سليمًا (الصورة العليا) فإنّ الأنزيم المفعل يحطّم مادة *X-gal* منتجًا مستعمرات زرقاء، وعند تعطيل جين *lacZ* (الصورة السفلى) فإنّ *X-gal* لا يتم تحطيمه، وتبقى المستعمرات بيضاء. **ب.** يتم اختيار الحوامل الفيروسية لوجود DNA الهجين من خلال قدرة الفيروس على تجميع مكوناته خارج الْخليّة، ومن ثم إصابة الْخليّة العائل والتضاعف داخلها. وهكذا، فقد تَمَّ هندسة الفيروس وراثيًّا، بحيث إنّ المادة الْوراثيّة ذات DNA المُدخل فقط تكون بالطول المناسب لآليات التغليف لكي تنتج فيروسًا مكتملًا قادرًا على إصابة الخلايا.

الكروموسومات الصناعية *Artificial chromosomes*

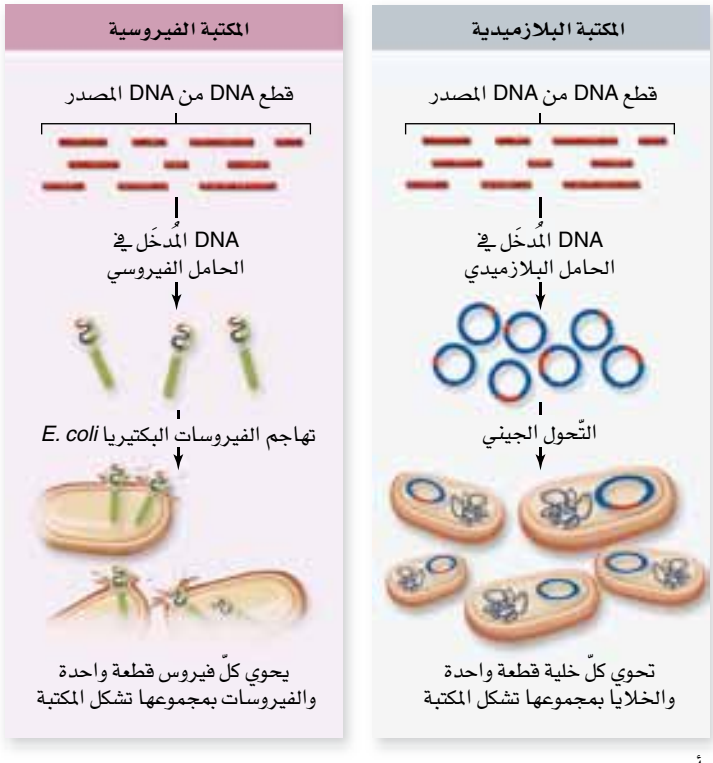
لقد حدد حجمُ المادة الْوراثيّة التي يُمكن استنسالها في الحاملات البلازميدية أو الفيروسية التحليلَ واسع النطاق للمحتوى الْوراثيّ. وللتعامل مع هذا الأمر؛ قرر علماء الوراثة اتباع إستراتيجية الخلايا وبناء كروموسومات، ما قاد لتطوير كروموسومات الخميرة الصناعية YACs وكروموسومات البكتيريا الصناعية BACs. وهناك تقدم نحو بناء كروموسومات صناعية للثدييات. وسيتم وصف استعمال الكروموسومات الصناعية في الفصل الآتي.

استقصاء

يرغب باحث في استنسال جزيء هجين من المادة الْوراثيّة حجمه 32 كيلو قاعدة. في رأيك، ما أفضل حامل يستعمله؟

تحوي المكتبات الْوراثيّة المادة الْوراثيّة للمخلوق كلها

تستند فكرة الاستنسال الجزيئية إلى القدرة على بناء تمثيل لخليط معقد جدًا في المادة الْوراثيّة، بحيث يجعل المحتوى الْوراثيّ كلّه على شكل يكون التعامل معه أسهل مقارنة بالكروموسومات الهائلة داخل الْخليّة. فإذا كان بالإمكان تحويل الجزيئات الضخمة من المادة الْوراثيّة في الكروموسوم إلى قطع عشوائية، وإدخالها في حامل مثل البلازميدة أو الفيروس، فعندها، وعند تضاعفها في الْخليّة العائل، فإنها ستمثل مع بعضها المحتوى الْوراثيّ بكامله. أُطلق على هذا التجمع **المكتبةُ الْوراثيّةُ DNA Library**، وهي مجموعة من المواد الْوراثيّة في الحامل التي إذا ما نظر إليها معًا فإنها تمثل خليطًا معقدًا من المادة الْوراثيّة



أ. ب.

الشكل 17-4

تخليق المجموعات الْوراثيّة. يمكن إنتاج المجموعات الْوراثيّة باستعمال: أ. حوامل البلازميد. ب. حوامل الفيروس.

(الشكل 17-4).

من حيث المبدأ، فإنّ أبسط أنواع المكتبات الْوراثيّة التي يمكن إنتاجها هو **المكتبة الجينومية Genomic library** الممثلة لكلّ المحتوى الجيني في الحامل. يتم تقطيع هذا المحتوى الجيني عشوائيًّا وتكسيره بشكل متكرر باستعمال أنزيم قاطع. عند عدم تقطيع DNA بصورة كاملة، لا يتم تقطيع المواقع جميعها، بل يكون التقطيع عشوائيًّا. ويتم إدخال هذه القطع العشوائية للحامل، ومن ثَمَّ إلى الْخليّة العائل.

تم إنتاج المكتبات الجينية أصلًا في فيروس لامدا بسبب الحجم الكبير للمواد المُدخلة. في الوقت الراهن، ومع تقدم علم الجينات وتحليل المحتوى الجيني بكامله، فإنّ هذه المكتبات الجينية تُبنى عادة في الكروموسومات البكتيرية الصناعية BACs.

ويمكن إنتاج أنواع عدة من هذه المجموعات اعتمادًا على مصدر المادة الْوراثيّة المستعملة. فأي نسيلة في المجموع الجيني تحوي نوعًا واحدًا من المادة الْوراثيّة ومجموعها مع بعضها يشكل المجموع الْوراثيّ، ولا بدّ هنا أن نتذكر أنه بخلاف المكتبة المحتوية على كثير من الكتب المرتبة والمبوبة، فإنّ المكتبة الْوراثيّة مجموعة «عشوائية» من قطع المادة الْوراثيّة المتداخلة. وسوف نستقصي لاحقًا في هذا الفصل كيفية إيجاد تسلسل نمطي من المادة الْوراثيّة مثير للاهتمام.

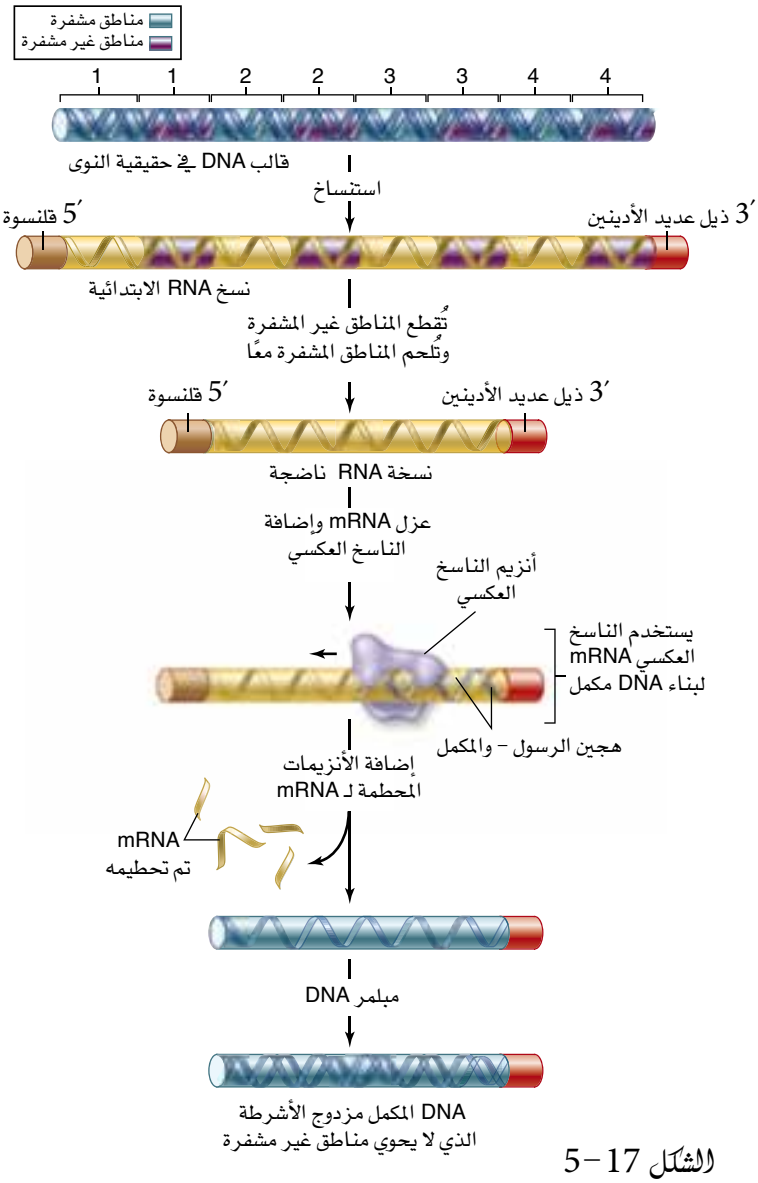
الأنزيم الناسخ العكسي قادر على إنتاج نسخة DNA من الحمض النووي الرايبوزي RNA

إضافة للمكتبات الجينومية، يرغب الباحثون في عزل الجزء المفعَّل غالبًا (المعبّر عنه) *Expressed* من الجينات. إن تركيب الجينات في الخلايا حقيقيّة النّوى يحتم أن يكون الحمض النووي الرايبوزي الرسول mRNA أصغر كثيرًا من الجين نفسه بسبب وجود الأجزاء غير المشفَّرة *Introns* في الجين. وبعد نقل المعلومة عن طريق أنزيم مبلمر RNA الثاني، فإنّ النسخة الأولية ترتبط أو تلتحم *Spliced* لإنتاج mRNA (الفصل الـ 15). وبسبب ذلك، فإنّ المكتبات الجينومية ذات أهمية خاصة لفهم بنية الجين، إلا أنها غير ذات فائدة إذا رغبنا في تفعيل الجين في أنواع من البكتيريا التي لا تحوي جيناتها أجزاء غير مشفَّرة، وليس لديها آلية للارتباط.

والمكتبة المحتوية فقط على تسلسلات مفعلة تمثل جزءًا صغيرًا من DNA مقارنة بالمجموع الجيني الكلي. إلا أنها تحتاج إلى استعمال mRNA بوصفه نقطة بداية. ومثل هذه المكتبة من التسلسلات المفعلة أصبحت ممكنة بفضل استعمال أنزيم آخر، وهو أنزيم **النسخ العكسي Reverse transcriptase**. لقد عُزل أنزيم النسخ العكسي من صنف من الفيروسات المسماة الفيروسات العكسية. تحتاج دورة حياة هذا الفيروس إلى صنع نسخة DNA من مادتها الْوراثيّة المكونة من RNA. ويمكننا الاستفادة من فعالية أنزيم الفيروس العكسي هذا في صنع نسخ من المادة الْوراثيّة DNA من mRNA المعزول. تُسمى هذه النسخ من DNA **الحمض النووي المكمل Complementary DNA (cDNA)** (الشكل 17-5). وتصنع المجموعة الجينية من الحمض النووي المكمل من خلال البدء بعزل mRNA من جينات مفعلة، وبعدها استعمال أنزيم النسخ العكسي لصنع الحمض النووي المكمل من mRNA. ومن ثَمَّ، فإنّ الحمض النووي المكمل يُستعمل لإنتاج مجموع جيني كما ذُكِرَ سابقًا. إن هذه المكتبات الجينية المكملة ذات فائدة قصوى، وتعمل عادة لتمثيل الجينات المفعلة في كثير من الأنسجة والخلايا المختلفة.

استقصاء

تخيل أنك ترغب في نسخة من جزء من المادة الْوراثيّة لخلية حقيقيّة النواة تحتوي الجينات المشفَّرة وغير المشفَّرة، فهل تصنيع الحمض النووي المكمل cDNA هو السبيل الأفضل للتعامل مع هذه الحالة؟



الشكل 17–5

تكوين الحمض النووي المكمل cDNA. إن نسخة mRNA الرسول المكتملة أصغر كثيرًا في العادة من الجين بسبب فقدانها للأنماط غير المشفّرة في أثناء عملية الوَصْل. وعند عزل هذا الرسول من سيتوبلازم الخليّة، فإنّ أنزيم النسخ العكسي يمكنه استعمال هذا بوصفه قالبًا لصنع شريط DNA مكمل لِـ mRNA. ويكون الشريط الجديد من DNA هو القالب للأنزيم المبلمر لِـ DNA الذي يُجَمِّعُ عليه شريطٌ مكمِّلٌ من DNA منتجًا بذلك الحمض النووي الرايبوزي المكمّل cDNA الذي هو صورة من DNA ثنائي الشريط للرسول الخالي من المكونات غير المشفرة.

يمكّن التهجين من تعريف أحماض نووية رايبوزية منقوصة الأكسجين في خلائط معقدة

تستعمل تقنية **التهجين الجزيئي Molecular hybridization** عامة لتعريف أحماض نووية رايبوزية منقوصة الأكسجين في خليط معقد كما هو الحال في المكتبات الوراثيّة. والتهجين الذي يُسمّى أيضًا التّلديـن (التّصليب) يستفيد من خصوصية الازدواج القاعدي بين شريطي DNA. فإذا عُطِّل جزيء DNA أيّ إن الشريطين فُصلا، فإنّ هذين الشريطين يتحدان مجددًا فقط مع شركاء يمتلكون التسلسل المكمل الصحيح. ويستفيد علماء البيولوجيا الجزيئية من هذه الصفة مخبريًّا باستعمال جزيء معروف وخاص من DNA لإيجاد شريكه في خليط معقد.

ويمكن تعريف أيّ شريط منفرد من الحمض النووي DNA وRNA باستعمال النظائر المشعة، أو أيّ مواد معرفة مثل الصّبغات المتوهجة. فيما بعد، يمكن استعمال هذه بوصفها معرّفًا (مجسّ) Probe للتعرف إلى مكمله في خليط من DNA أو RNA. وتُسمّى عملية إعادة التنشيط هذه التهجين؛ لأن الخلط بين المجس المشع وDNA غير المعرّف يكوّن جزيئًا هجينًا من خلال الازدواج القاعدي.

ولقد أنتجت المعرّفات تاريخيًّا كثيرًا من التقنيات. إحداها تشمل عزل البروتين الذي نهتم به، ومن ثم تحديد نمط تسلسله كيميائيًّا. وعند معرفة تسلسل البروتين، نستطيع توقع نمط تسلسل DNA باستعمال الشيفرة الوراثيّة. وفيما بعد، يمكن استعمال هذه المعلومات لبناء DNA لاستعماله بوصفه مجسًّا.

يمكن عزل المستنسلات المُحَدَّدَة من المجموع الوراثيّ

إن عزل مستنسل مُحَدَّد من مجموعة عشوائية، أيّ من المكتبة الوراثيّة، يشبه البحث عن إبرة في كومة قش. ونحتاج إلى بعض المعلومات عن الجين قيد الاهتمام. فعلى سبيل المثال، كان كثير من الجينات المعزولة في البدايات، هي تلك التي تُفعّل بصورة كبيرة في نوع معين من الخلايا، مثل جينات الجلوبين المسؤولة عن البروتينات الموجودة في الهيموجلوبين الحامل للأكسجين.

عملية التهجين هي الأكثر شيوعًا في تعريف مستنسل في مكتبة وراثية. ويقدم (الشكل 17–6) مخططًا لهذه العملية في مكتبة وراثية لِـ DNA في حامل البلازميدة.

في المراحل المبكرة من البيولوجيا الجزيئية، صنع الباحثون بصورة فردية مكتباتهم الوراثيّة كما بيّناه سابقًا في (الشكل 17- 4). أما الآن، فنجد أن المجموعات الجينية ومكتبات cDNA متوافرة تجاريًّا ولكثير من المخلوقات. ويشمل مسح هذه المكتبات تنميتها في أطباق الآجار لبناء نسخة من هذه المكتبة، ومن ثم الاستقصاء أو المسح بحثًا عن تسلسل المستنسل المثير للاهتمام.

المرحلة الأولى: زراعة المكتبة الوراثيّة

من ناحية فيزيائية، المكتبة هي مجموعة من الفيروسات البكتيرية التي يحوي كلّ منها DNA المدخل، أو خلايا بكتيريا يحوي كلّ منها بلازميدة أو كروموسومًا صناعيًّا مدخلًا به DNA. ولإيجاد مستنسل محدد؛ لا بّد أن تمثل المكتبة بصورة منظمة. ويبين (الشكل 17–6) هذا التمثيل لحامل بلازميدة. وتتم تنمية المكتبة البكتيرية المحتوية على البلازميدات على أطباق وبكثافة عالية، بشرط الإبقاء على إمكانية تمييز المستعمرات المنفردة.

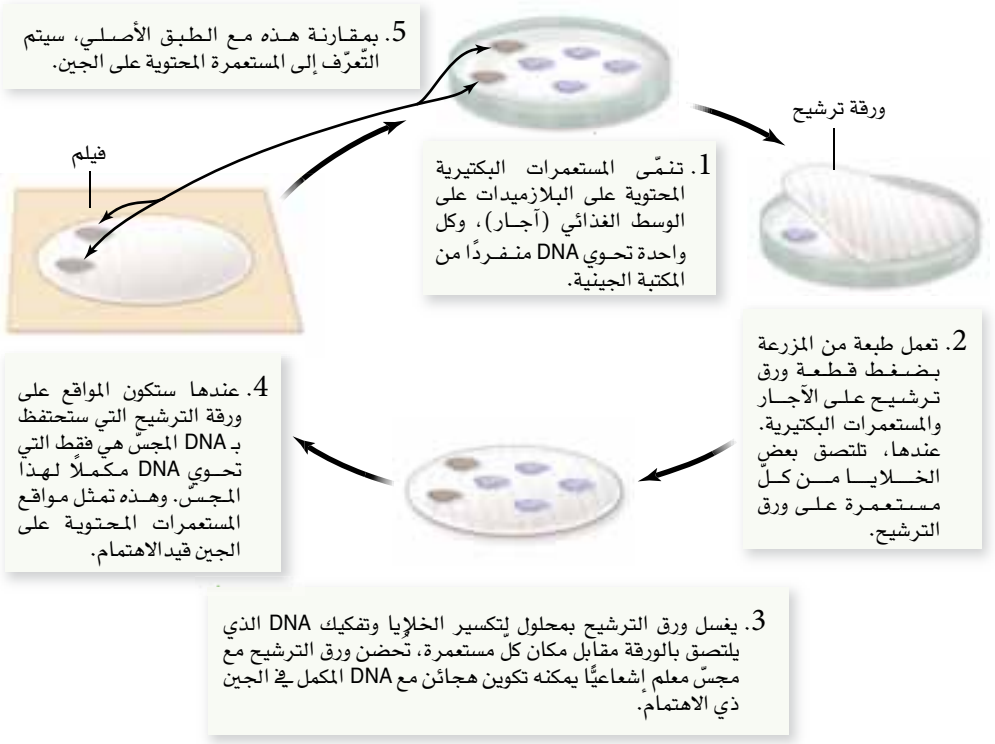
المرحلة الثانية: نسخ المكتبة

عند اكتمال نمو المكتبة على الأطباق، يمكننا عمل نسخ منها من خلال وضع قطعة من ورق الترشيح على سطح الطبق. وعندها، سوف يلتصق كلّ الفيروسات أو بعضها أو الخلايا من المستعمرات بها، وسيبقى بعضٌ منها في الطبق، وستكون نتيجة ذلك نسخة من المكتبة الوراثيّة على ورقة الترشيح، ويمكن تثبيت DNA على هذه الورقة من خلال تسخينها، أو من خلال ربطه بورقة الترشيح باستعمال الأشعة فوق البنفسجية.

المرحلة الثالثة: مسح المكتبة

عند تكوّن النسخة المكتبية على ورقة الترشيح يمكن التّعرّف إلى المستنسل من خلال التهجين. حيث يُعلَّم المجسّ الذي يمثل التسلسل الذي نهتم به بنيوكليوتيد مشع. ومن ثم يضاف المجسّ لورقة الترشيح المثبت عليها نسخة المكتبة. بعد

الشكل 17-6



مسح المكتبة الْوراثيّة باستعمال التهجين. تتم هذه العملية بالاستفادة من قدرة DNA على التفكك وإعادة البناء، حيث تتمكن الأشرطة المتكاملة من التّعرّف إلى بعضها. تزرع الخلايا المحتوية على المكتبة الْوراثيّة على أطباق الآجار، وتُعْمل نسخة من هذا الطبق باستعمال أوراق ترشيح خاصة من النيتروسيللوز أو النايلون الذي يرتبط مع DNA مفرد الشريط. تعامل النسخة على ورق الترشيح لتحليل الخلايا، وتفكيك DNA بحيث سيكون هناك نمط من DNA مرتبط بورقة الترشيح ومناظر لنمط المستعمرات. عند إضافة المجسّ المشع سوف يجد الحمض النووي المكمل له، ويكوّن هجينًا في مواقع المستعمرات المحتوية على الجين قيد الاهتمام.

ذلك، نضع فيلمًا حساسًا للانبعاثات الإشعاعية ليلامس ورقة الترشيح، وستظهر بقعة سوداء عند موقع الإشعاع. عند مقارنة الفيلم مع الطبق الأصلي يمكن تعريف المستنسل الذي نبحث عنه (انظر الشكل 17-6).

الاستنسال الجزيئي هو عزل أنماط محددة من DNA. إن أنظمة العائل - الحامل تُمَكّننا من تكثير الحمض النووي في بكتيريا القولون *E.coli* ومخلوقات أخرى. المكتبات الْوراثيّة لِـ DNA تمثل مزيجًا معقدًا من الحمض النووي، كما هو الحال في المجموع الجيني كاملًا في نظام العائل - الحامل. وغالبًا ما يتم مسح المكتبات الْوراثيّة بحثًا عن مستنسلات محددة باستعمال التهجين الجزيئي الذي يستعمل مجسّات معرفة لإيجاد DNA المكمل لذلك المجسّ.

3-17 تحليل DNA

يوفر الاستنسال الجزيئي DNA متخصصًا لاستعماله في تعديل وتحليل متقدمين. إن الطرق التي يمكن بها تعديل DNA لا نهاية لها، ويمكن أن تحتل بقية هذا الكتاب. ولخدمة غرضنا، سنقوم بتبيان القليل من الطرق المهمة للتحليل واستعمالات المستنسلات الجزيئية.

توفر الخرائط المحددة معالم جزيئية

إذا كنت غريبًا في مدينة ما، فإنّ أسهل الطرق لإيجاد طريقك حول المدينة هو الحصول على خريطتها ومقارنتها مع ما يحيط بك. وبطريقة مشابهة، فإنّ عالِم البيولوجيا الجزيئية يحتاج إلى خرائط لتحليل الحمض النووي المستنسل ومقارنته.

إن أول نوع من الخرائط الفيزيائية كانت تلك المحدِّدة والمكونة من أماكن المواقع التي يمكن قطعها بكثير من الأنزيمات القاطعة المتوافرة، وترتيبها. وفي البداية، تَمَّ تصنيع هذه الخرائط بتقطيع الحمض النووي بأنزيمات مختلفة، ومن ثَمَّ فصل هذه القطع باستعمال التّهجير الْكهربائيّ بالهلام، وأخيرًا تحليل الأنماط الناتجة. ومع أن هذه الطريقة ما زالت مستعملة، إلا أن كثيرًا من الخرائط المحددة يتم الآن تكوينها باستعمال أجهزة الحاسوب للبحث في تسلسلاتDNA المعروفة عن المواقع التي يمكن قطعها بالأنزيمات المحددة.

تكشف وصمات (طُبَع) ساذرن عن الفروق في DNA

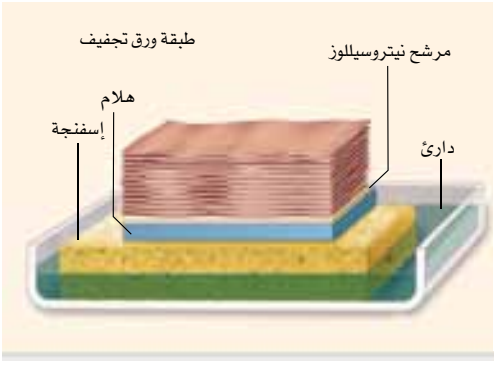
عند استنسال جين معين، يمكن استعماله مجسًّا للتعرف إلى الجين نفسه أو إلى جين مشابه في DNA المعزول من خلية أو نسيج (الشكل 17-7). وفي هذه الطريقة المسماة **طبعة ساذرن Southern blot** يتم قطع DNA من عينة ما إلى قطع باستعمال أنزيم محدد، وتُعْزَلُ هذه القطع بالتّهجير الْكهربائيّ بالهلام. وعندها يتم تفكيك حلزون DNA ثنائي الشريط لكلّ قطعة إلى أشرطة منفردة بجعل درجة أحماضة الهلام قاعدية، ومن ثم نطبع الهلام بورقة ترشيح ناقلين بعضا من أشرطة DNA إلى ورقة الترشيح. يتم بعدها حضن ورقة الترشيح هذه مع مجسّ معرّف مكون من DNA النقي وحيد الشريط المناظر لجين بعينه (أو لِـ mRNA المنسوخ من ذلك الجين). وهنا، فإنّ أيّ قطعة بها تسلسل من النيوكليوتيدات مكمل للمجسّ ستهجن مع المجسّ (انظر الشكل 17-7).

لقد طُوِّرت هذه التقنية من طبعة ساذرن لاستعمالها مع RNA والبروتينات. وعند عزل mRNA بالتّهجير الْكهربائيّ، تُسمى التقنية **طبعة نورذرن Northern blot**. والطريقة هي نفسها فيما عدا استعمال mRNA بدلًا من DNA بوصفه مادة بادئة، إضافة إلى عدم وجود خطوة تفكيك DNA. وكذلك يمكن عزل البروتينات باستعمال التّهجير الْكهربائيّ، وطبعها بطريقة تُسمّى **طبعة وسترن**

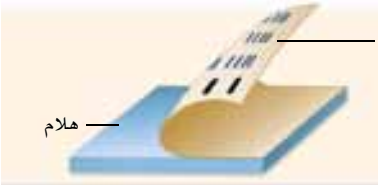
الشكل 17-7

طريقة وصمة ساذرن. لقد طور ساذرن هذه الطريقة عام 1975 لنتمكن من رؤية قطع DNA التي نهتم بها في عينة معقدة تحوي قطعًا أخرى شبيهة الحجم. وفي الخطوات 1-3، يفصل DNA على هلام، ومن ثَمَّ يُنْقَلُ (يُطْبَعُ) على وسط صلب مثل ورق النيتروسيللوز أو النايلون. ويمكن الكشف عن أنماط التسلسل ذات الاهتمام باستعمال مجسّ معلم إشعاعيًّا. يتم حضن هذا المجسّ (المكون في العادة من مئات عدة من النيوكليوتيدات طولًا) من DNA أحادي الشريط (أو RNA الرسول المكمل للجين قيد الدراسة) مع ورق الترشيح المحتوي على قطع DNA. وفي هذه الحالة، ستكون كلّ قطع DNA المحتوية على قطع DNA مكملة للمجسّ هجائن مع المجسّ. ويُبَيِّنُ المسربُ 4 قطعةً قصيرة من المجسّ، والتسلسل المكمل. تختلف هذه القطع في الحجم، حيث تمر القطع الأصغر بسرعة أكبر في الهلام، أما القطع ذات الاهتمام، فيتم كشفها لاحقًا باستعمال فيلم التصوير. وهناك صورة ممثلة في المسرب رقم 5. وحديثًا لم تعد تستعمل الأفلام في الكشف، بل تستخدم أجهزة الصور الفوسفورية، وهي أدوات يتحكم الحاسوب فيها، ولها مجسّات إلكترونية للضوء، أو الانبعاثات الإشعاعية.

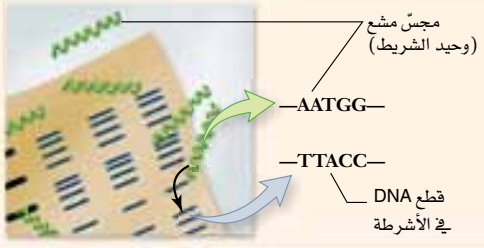
1. يعمل التّهجير باستعمال مؤشرات معلمة إشعاعيًّا بوصفها مرشدًا للحجم في المسرب الأول.



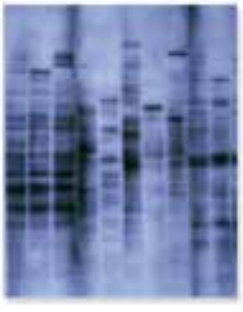
2. يُغطّي الهلام بورقة نيتروسيللوز، ويوضع في صينية بها الدارئ على سطح إسفنجة. تعمل المواد القلوية في الدارئ على تفكيك DNA إلى أشرطة مفردة، يمر الدارئ إلى الأعلى عبر الهلام وورق النيتروسيللوز إلى طبقة ورق التجفيف الموضوع فوق النيتروسيللوز.

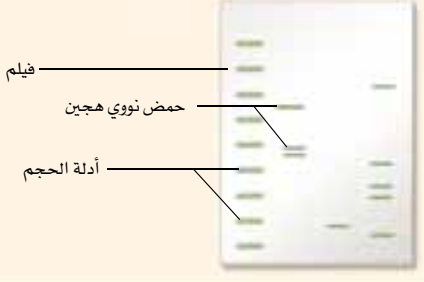


3. يُنقل DNA في الهلام وطبعه على ورقة النيتروسيللوز.

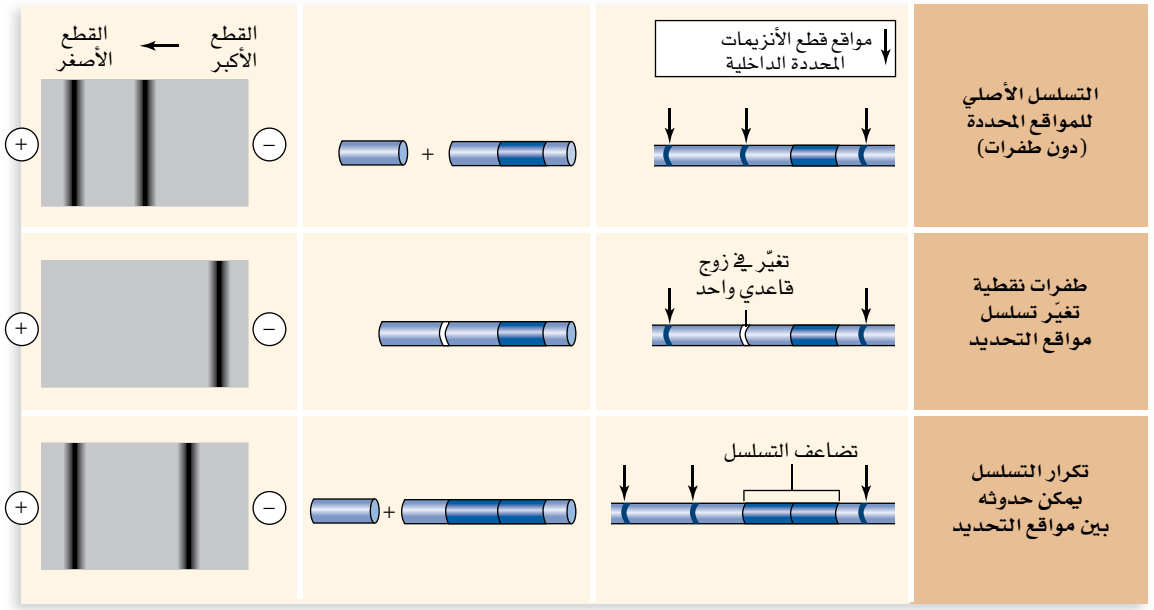


4. يُحضن DNA المرتبط مع النيتروسيللوز مع أحماض نووية معلمة إشعاعيًّا ، ومن ثم تغسل.





5. يوضع الفيلم فوق المرشح ويُعرض في المناطق المشعة فقط (تصوير إشعاعي ذاتي) وتمثل الأشرطة على الفيلم DNA في الهلام، وهو المكمل لتسلسل المجسّ.



الشكل 17−8

تحليل تعدد أشكال طول القطعة المحددة RFLP. أ. ثلاث عينات من DNA مختلفة في مواقع تحديدها بسبب استبدال زوج واحد من القواعد في حالة واحدة، ومضاعفة التسلسل في حالة أخرى. ب. عند قطع العينات بالأنزيم القاطع سَتَنْتُجُ أعدادٌ وأحجامٌ مختلفة من القطع. جـ. يفصل التّهجير الكهربائيّ بالهلام هذه القطع، وتَظْهرُ أنماطٌ مختلفة من الأشرطة.

Western blot في هذه الحالة، التّهجير الكهربائيّ، وكذلك خطوة الكشف عن البروتين مختلفان عن حالة طبعة ساذرن. تحتاج خطوة الكشف هنا إلى وجود أجسام مضادة يمكنها الارتباط لبروتين واحد. وتعود تسمية هذه التقنيات كلها للباحث الأصلي الذي كان اسمه ساذرن. وأصبح استعمال كلمات نورذرن، و ويسترن مجرد تلاعب بالكلمات من الاسم ساذرن باستعمال نقاط وأساسيات البوصلة.

تحليل تعدد أشكال طول القطعة المحددة *RFLP*

يحتاج الباحث أحيانًا إلى عمل ما هو أكثر من مجرد إيجاد جين خاص؛ فهو قد يبحث عن تنوع في جينات أفراد مختلفين. إحدى الطرق المناسبة لذلك تتم من خلال تحليل **تعدد أشكال طول القطعة المحدّدة Restriction fragment length polymorphism** أو **(RFLP)** باستعمال طبعة ساذرن (الشكل 17-8).

فالطفرات في نقطة واحدة، التي تغير نمط تسلسل DNA يمكنها استبعاد أنماط تسلسل تَمَّ التّعرّف إليها بأنزيمات محددة، أو تخليق أنماط تَعَرُّفٍ جديدة قصيرة، مغيرًا بذلك أنماط القطع المشاهدة في طبعة ساذرن. ويمكن كذلك ملاحظة تكرار الأنماط بين مراكز الأنزيمات القاطعة، وكذلك الاختلافات بين الأفراد التي يمكن أن تغير طول قطع DNA. وكل هذه الاختلافات يمكن رصدها باستعمال طبعة ساذرن.

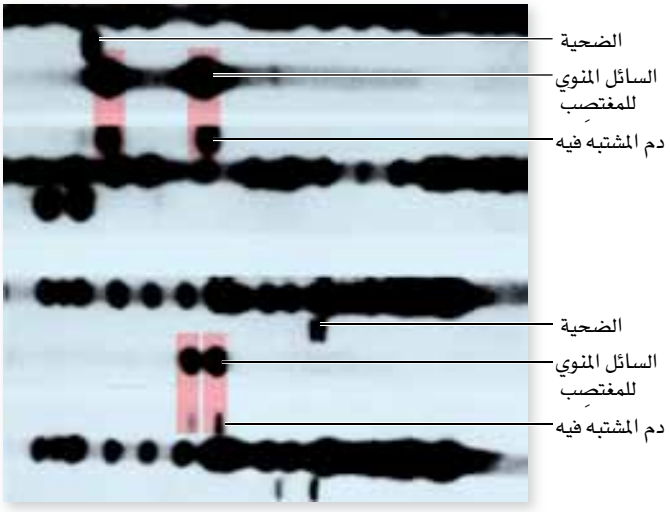
وعند ارتباط مرض وراثي بتعدد أشكال طول القطعة المحددة RFLP، يمكن استعمال هذه الطريقة لتشخيص هذا المرض. لقد لوحظ أن مرض هنتنجتون، ومرض التّليّف الكيسيّ، والأنيميا المنجلية كلها مرتبطة بتعدد أشكال طول القطعة المحددة التي تَمَّ استعمالها مؤشرات (كواشف) في حالات التشخيص.

بصمات *DNA fingerprinting DNA*

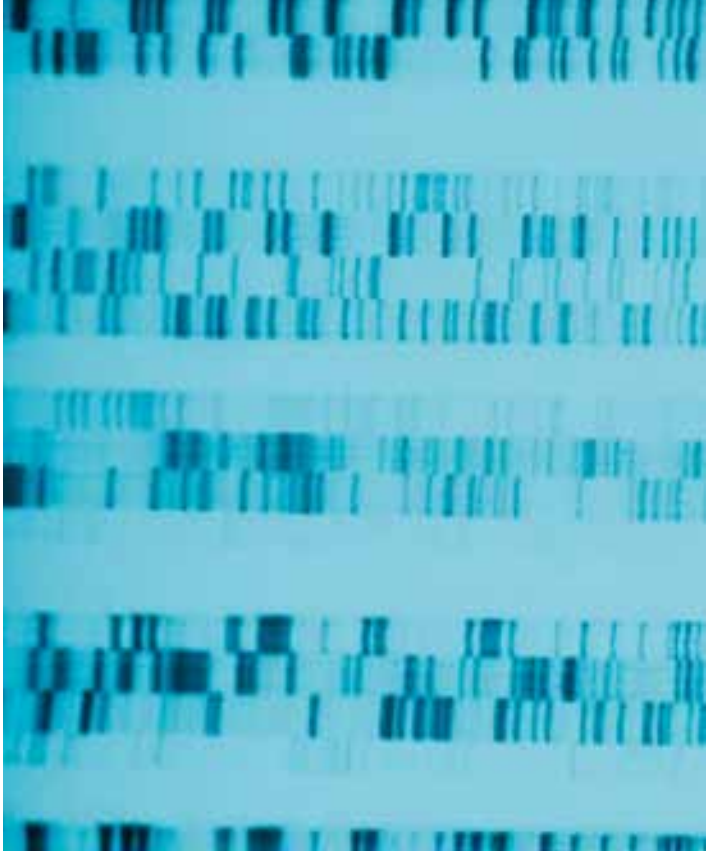
استعملت هذه التقنية في دراسة **بصمات DNA**. فعند استعمال مجسّ لحمض نووي متكرر، يكشف عددًا كبيرًا من القطع. ونقول: إن هذا المجتمع (المجموعة) **متعدد الأشكال Polymorphic** لهذه المؤشرات الجزيئية. ويمكن استعمال هذه المؤشرات بوصفها بصمات وراثية في التحقيقات الجنائية، وتطبيقات تحديد الهوية.

ويبين (الشكل 17-9) البصمات الوراثيّة لادعاء عام، قدمت في قضية اغتصاب عام 1987. وتتكون من صور إشعاعية، وخطوط متوازية على أفلام الأشعة السينية. ويمكن النظر إلى هذه الخطوط من حيث كونها مشابهة لصورة قراءة الأسعار على المنتجات الاستهلاكية، حيث إنها توفّر تعريفًا محددًا ومميزًا، إذ إنّ كلّ خط يمثل موقعًا لقطعة من فعل الأنزيم القاطع تَمَّ إنتاجها بتقنية شبيهة بتلك الموصوفة في (الأشكال 17-7 و 17-8). وأن الممر أو المسرب ذا الخطوط المتعددة يمثل شاهدًا معياريًّا.

الشكل 17−9



نمطان أدّيا إلى إدانة تومي لي أندروز بالاغتصاب عام 1987. لقد تَمَّ هنا استعمال اثنين من مجسّات DNA لتعريف DNA المعزول من الضحية والسائل المنوي للمغتصِب والمشتبه فيه. وتمثل القنوات السوداء الأشرطة الضابطة، ويتضح أن هناك شبهًا واضحًا بين DNA للمشتبه فيه و DNA المأخوذ من السائل المنوي للمغتصِب في كلا التسلسلين.



الشكل 17-10

سلم القطع المستعملة في تحليل تسلسل DNA. تبين الصورة الإشعاعية صور القطع الناتجة عن تفاعلات تسلسل نمط DNA. إنتاج هذه القطع يكون بتفاعلات عضوية تفككه عند قواعد محددة، أو بتفاعلات أنزيمية تنتهي بقواعد محددة. ويمكن للهلام أن يفصل قطعًا تختلف بقاعدة واحدة.

لقد تَمَّ استعمال مجسّين مختلفين للتعرف إلى القطع المحددة، حيث أُخِذَتْ مسحةٌ من المهبل للضحية بعد ساعات من الاعتداء عليها، ومنه تَمَّ جمع بعض الحيوانات المنوية، ومن ثَمَّ حُلِّل حمضها النووي لتبيان أنماط أنزيماتها المحددة.

وبمقارنة هذه الأنماط للسائل المنوي ودم المعتدي (التي بالتأكيد تختلف عن تلك التي للضحية) فبالإمكان رؤية تطابق أنماط تلك الخاصة بالمُغْتَصِب، وكان المُغْتَصِبُ هو تومي لي أندروز. وقد أدين في السادس من تشرين الثاني 1987 وكان أولَ شخصٍ في الولايات المتحدة الأمريكية أدين بجريمة اعتمادًا على دليل البصمات الوراثيّة.

ومنذ القرار في حق أندروز، أصبح تحليل البصمة الوراثيّة دليلًا مقبولًا بالمحكمة في أكثر من 2000 حالة. ومع أن بعض المجسّات توضح نماذج مشتركة في كثير من الناس، إلاّ أن بعضها الآخر نادرٌ. وباستعمال مجسّات عدة، فإنّ احتمال التشابه يمكن احتسابه أو استثناؤه. ومع هذا، لا بد أن تُحَلَّلَ عمليات عينات الحمض النووي بصورة دقيقة؛ لأنّ عدم الدقة يمكن أن يؤدي إلى إدانة غير عادلة.

وبعد انتشار لغط كبير عن أمثلة تشكك في العمليات المخبرية، وُضِعت مواصفات وطنية لهذا الغرض.

التحليل التسلسلي للحمض النووي الرايبوزي منقوص الأكسجين يوفر معلومات عن الجينات والمجموع الجيني

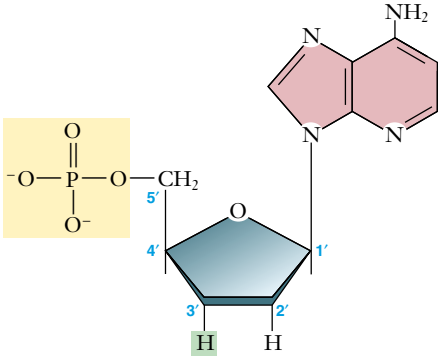
إن المستوى النهائي للتحليل هو تحديد التسلسل الحقيقي للقواعد في جزيء DNA. وقد رافق تطور علوم الحياة الجزيئية تطور تقنيات تحليل التسلسل. ولد حقل علوم الجينات (الجينومات) من القدرة على تحديد تسلسل المجموع الجيني بكامله بسرعة نسبية.

الفكرة الأساسية التي استعملت في تحليل تسلسل DNA تعتمد على إنتاج مجموعة من القطع تبدأ كلّ واحدة منها بالتسلسل نفسه، وتنتهي بقاعدة محددة. وعند عزل هذه المجموعة من القطع بالتّهجير الْكهربائيّ بالهلام ذي قوة التحليل المرتفعة، فإنه سينتج عن ذلك سلم من القطع (الشكل 17-10) حيث إنّ كلّ شريط يتكون من قطع تنتهي بقاعدة محددة. وبالبدء بأقصر هذه القطع يمكن قراءة التسلسل صعودًا مع السلم.

بعد ذلك، أصبحت المشكلة في كيفية إنتاج مجموعات من القطع التي تنتهي بقواعد محددة. ففي الأيام الأولى من التحليل التسلسلي، تَمَّ استعمال الطريقتين؛ الكيميائية والأنزيمية. اشتملت الطريقة الكيميائية على تفاعلات عضوية محددة للقواعد المختلفة التي تعمل على تكسير في سلاسل DNA وفي قواعد محددة. أما الطريقة الأنزيمية، فقد استعملت الأنزيمَ المبلمر للحمض النووي لبناء سلاسل، ولكنها تشمل أيضًا القواعد الْمعدّلة في هذا التفاعل التي يمكن إدخالها، ولا تسبب استطالة السلسلة. ولهذا تُسمّى موقفات السلسلة *Chain terminators*. لقد أثبتت الطريقة الأنزيمية تنوعها وإمكانية استعمالها وتطويرها بسهولة، ولأغراض متعددة.

تحليل التسلسل بالأنزيمات *Enzymatic sequencing*

طُوِّرَتْ طريقة تحليل التسلسل بالأنزيمات عن طريق فردريك سانجر الذي كان أولَ من حدّد التسلسل الكامل لبروتين. فقد استعملت هذه الطريقة **النيوكليوتيدات الثنائية منقوصة الأكسجين Dideoxynucleotides** بوصفها موقفات للتسلسل في تفاعلات تصنيع DNA. فالنيوكليوتيد الثنائي منقوص الأكسجين يحمل H– في مكان OH– على كلا الموضعين 3` ، 2`.

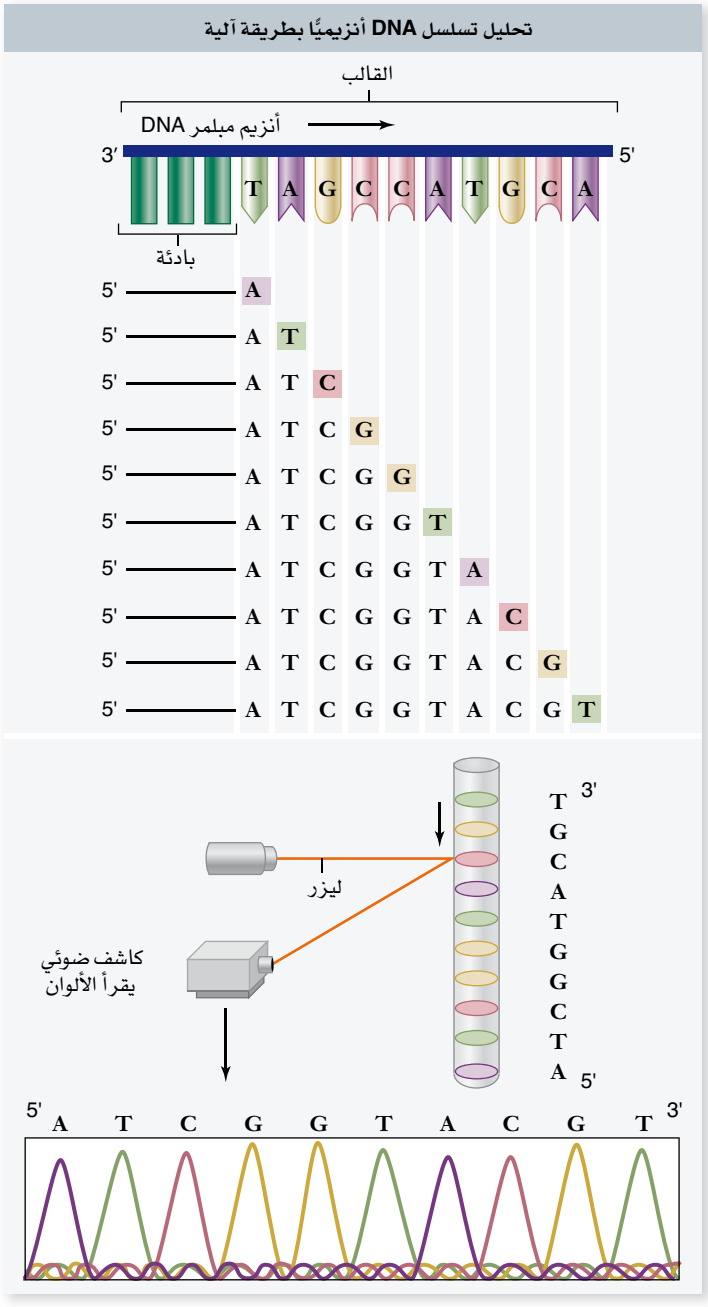


النيوكليوتيدات في DNA جميعها تفتقر إلى مجموعة OH— على الكربون في موضع 2` من السكر، ولكن النيوكليوتيد الثنائي منقوص الأكسجين لا يحمل OH— على ذرة الكربون 3` التي يمكن للأنزيم إضافة نيوكليوتيد جديد عليها، وهكذا يتم إيقاف السلسلة.

وعلى الباحث أن يقوم بأربعة تفاعلات منفصلة، كلّ تفاعل بنيوكليوتيد ثنائي منقوص الأكسجين مستقل، لإنتاج مجموعة من القطع التي تتوقف عند قواعد محددة. وهكذا، فإنّ القطع المنتجة في تفاعل A جميعها ستضم الأدينوسين الثنائي منقوص الأكسجين. ويجب أن تنتهي في تفاعل A، وبالطريقة نفسها وللتفاعلات الثلاثة الأخرى، وباستعمال موقفات مختلفة. وعند فصل هذه القطع باستعمال

التّهجير الْكهربائيّ بالهلام عالي القوة، فإنّ كلّ تفاعل سيمرّ بمسرب مختلف لإنتاج نمط من القطع يمكن قراءاتها من أصغر القطع إلى قطع تكبرها بقاعدة واحدة كلّ مرة (الشكل 17-11أ).

ويجب أن نلاحظ هنا، ولأنه تفاعل الأنزيم المبلمر للحمض النووي، فإنه يحتاج إلى بادئة (قالب) ليبدأ عملية التصنيع. وتحمل الحوامل المستعملة في تحليل تسلسل DNA مناطق معروفة بجانب موقع إدخال DNA. وهكذا، يمكن بناء قطع قصيرة من DNA مكملة لتلك المناطق التي يمكن استعمالها بوصفها بادئات. هذا يخدم الهدف الثنائي المتمثل في تقديم البادئة، والتأكد من أن القواعد القليلة الأولى المحللة معروفة؛ لأنها معروفة في الحامل نفسه. وهذا يوفِّر للباحث إمكانية تحديد موقع التسلسل المثير للاهتمام. وعند إنتاج هذا التسلسل، يمكن حينها تصميم بادئات جديدة عند نهاية التسلسل المعروف، وتصنيع DNA لاستعماله بادئًا لإطالة المنطقة التي يتم تحليل تسلسلها في مجموعة التفاعلات الآتية.



أ. ب.

الشكل 17-11

تحليل التسلسل الأنزيمي اليدوي والآلي لـ DNA. التسلسل المراد تحليله مبين في الأعلى على شكل شريط ليعمل بوصفه قالبًا لمبلمر DNA، ويرتبط به بادئة. أ. في الطريقة اليدوية، تَمَّ إجراء أربعة تفاعلات، واحد لكلّ نيوكليوتيد. فعلى سبيل المثال، سوف يحتوي الأنبوب dATP ، و dGTP ، و dTTP ، و ddATP ، وهذا يؤدي لقطع تنتهي في A بسبب التوقف بنيوكليوتيد ثنائي منقوص الأكسجين. ويبين الشكل القطع الناتجة في كلّ تفاعل، إضافة إلى نتائج التّهجير الْكهربائيّ بالهلام. ب. في التحليل الآلي، يتم تعليم كلّ ddNTP بلون مختلف لصبغة متوهجة ما يسمح بإجراء التفاعل في أنبوب واحد. ويبين الشكل القطع الناتجة. وعند تهجيرها كهربائيًا في أنبوبة شعرية، فإنّ ليزرًا في قعر الأنبوب ينشط الصّبغات، وسينبعثُ من كلّ منها لونٌ مختلف يمكن الكشف عنه باستعمال كاشف ضوئي.

تحليل التسلسل الآلي *Automated sequencing*

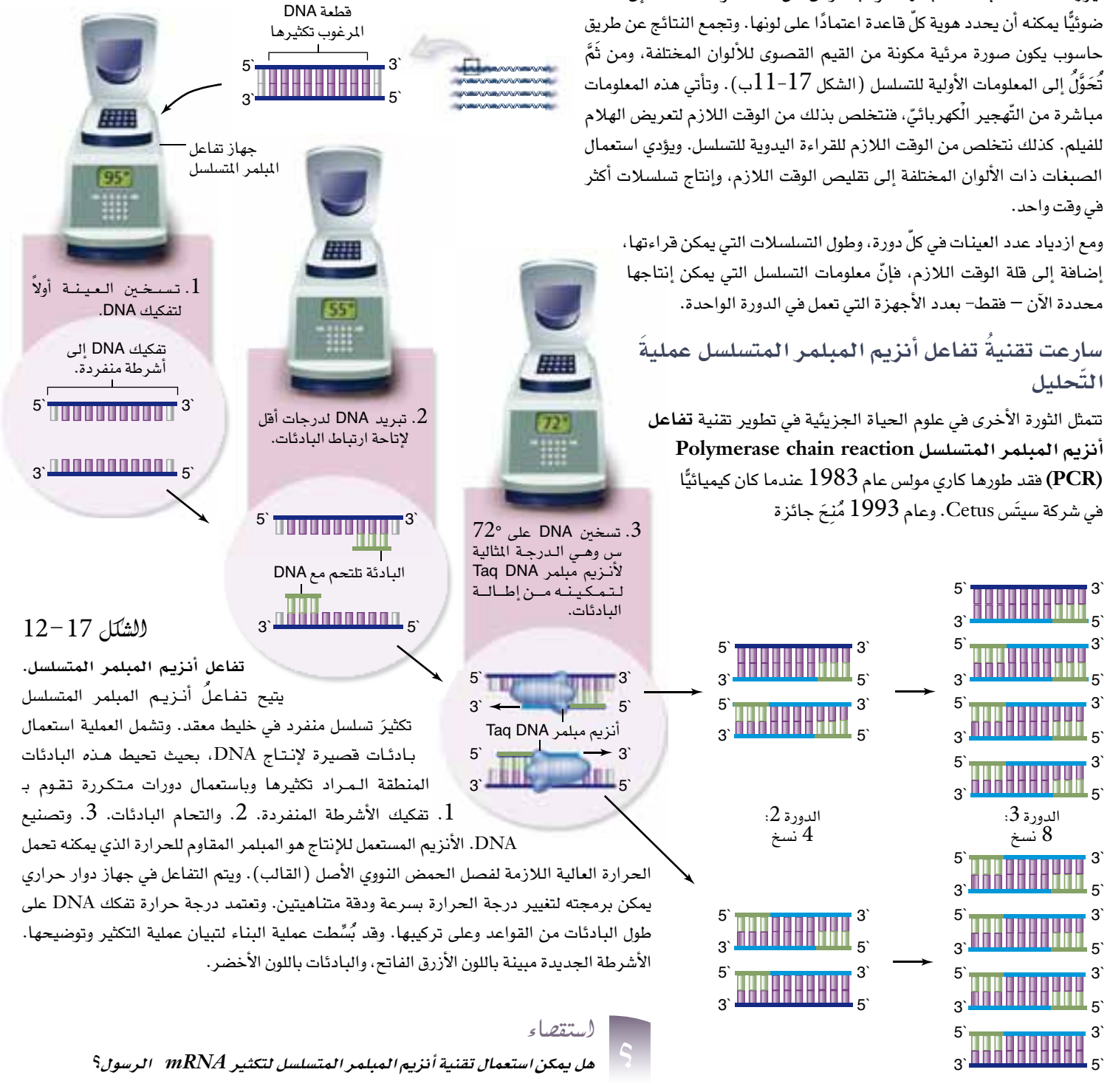
إن تقنية تحليل التسلسل الأنزيمية قوية جدًا، إلا أنها أيضًا تتطلب جهدًا ووقتًا كبيرين. فهي تتطلب سلسلة من التعديلات الأنزيمية، ووقتًا للتهجير الْكهربائيّ، ومن ثم وقتًا لتعريض الهلام للفيلم الإشعاعي. وبنهاية هذا التحليل، يمكن للباحث المتمرس قراءة نحو 300 قاعدة من التسلسل بثقة تامة. إن تطوير تقنية التحليل الآلي جعلت عمليةَ التحليل عمليةً أكثر، وقلّلت المتطلبات الإنسانية المركزة.

وتستعمل أجهزةُ التحليل التسلسلي الآلية صبغاتٍ متوهجةً بدلًا من الكواشف (العلامات) الإشعاعية، وهي تفصل منتجات تفاعلات التسلسل باستعمال هلام في أنابيب شعرية دقيقة بدلًا من الهلام كبير الحجم. وتمر هذه الأنابيب أمام أشعة ليزر لتنشط الصبغات، فتجعلها متوهجة. ولأنّ لكلّ قاعدة لونًا مختلفًا، فإنّ كاشفًا ضوئيًّا يمكنه أن يحدد هوية كلّ قاعدة اعتمادًا على لونها. وتجمع النتائج عن طريق حاسوب يكون صورة مرئية مكونة من القيم القصوى للألوان المختلفة، ومن ثَمَّ تُحَوَّلُ إلى المعلومات الأولية للتسلسل (الشكل 17-11ب). وتأتي هذه المعلومات مباشرة من التّهجير الْكهربائيّ، فنتخلص بذلك من الوقت اللازم لتعريض الهلام للفيلم. كذلك نتخلص من الوقت اللازم للقراءة اليدوية للتسلسل. ويؤدي استعمال الصبغات ذات الألوان المختلفة إلى تقليص الوقت اللازم، وإنتاج تسلسلات أكثر في وقت واحد.

ومع ازدياد عدد العينات في كلّ دورة، وطول التسلسلات التي يمكن قراءتها، إضافة إلى قلة الوقت اللازم، فإنّ معلومات التسلسل التي يمكن إنتاجها محددة الآن – فقط- بعدد الأجهزة التي تعمل في الدورة الواحدة.

سارعت تقنيةُ تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل عمليةَ التّحليل

تتمثل الثورة الأخرى في علوم الحياة الجزيئية في تطوير تقنية **تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR)** فقد طورها كاري مولس عام 1983 عندما كان كيميائيًّا في شركة سيتَس Cetus. وعام 1993 مُنِحَ جائزة نوبل للكيمياء لاكتشافه هذا. وفكرة تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل بسيطة. حيث تَمَّ استعمال بادئتين مكملتين للشريطين المتقابلين من DNA ويتم، توجيههما نحو بعضهما. وعندما يعمل أنزيم المبلمر على هذه البادئات وعلى التسلسل ذي الاهتمام، فإنّ البادئات تنتج أشرطة مكملة، كلّ منها يحوي البادئة الأخرى. وإذا تمت العملية بصورة دورية، فستكون النتيجة كمية كبيرة من التسلسل تطابق DNA الواقع بين هاتين البادئتين (الشكل 17-12).



الشكل 17-12

تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل.
يتيح تفاعلُ أنزيم المبلمر المتسلسل تكثيرَ تسلسل منفرد في خليط معقد. وتشمل العملية استعمال بادئات قصيرة لإنتاج DNA، بحيث تحيط هذه البادئات المنطقة المراد تكثيرها وباستعمال دورات متكررة تقوم بـ 1. تفكيك الأشرطة المنفردة. 2. والتحام البادئات. 3. وتصنيع DNA. الأنزيم المستعمل للإنتاج هو المبلمر المقاوم للحرارة الذي يمكنه تحمل الحرارة العالية اللازمة لفصل الحمض النووي الأصل (القالب). ويتم التفاعل في جهاز دوار حراري يمكن برمجته لتغيير درجة الحرارة بسرعة ودقة متناهيتين. وتعتمد درجة حرارة تفكك DNA على طول البادئات من القواعد وعلى تركيبها. وقد بُسِّطت عملية البناء لتبيان عملية التكثير وتوضيحها. الأشرطة الجديدة مبينة باللون الأزرق الفاتح، والبادئات باللون الأخضر.

استقصاء

هل يمكن استعمال تقنية أنزيم المبلمر المتسلسل لتكثير mRNA الرسول؟

طريقة تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل

لقد أدى تطوران إلى تحويل هذه التقنية البسيطة إلى تقنية مهمة وفاعلة: التطور الأول، هو أن كلّ دورة تحتاج إلى تفكيك DNA بعد كلّ دورة من الإنتاج، وهي عملية سهلة، وتتم برفع درجة الحرارة. إلا أن هذا يؤدي إلى تعطيل معظم أنزيم المبلمر. وكان الحل يكمن في عزل هذا الأنزيم من بكتيريا مقاومة أو محبة للحرارة مثل بكتيريا *Thermus aquaticus* ويُسمّى هذا الأنزيم **أنزيم مبلمر Taq Taq polymerase** الذي يتيح استمرار التفاعل وتسخينه مرارًا دون تعطيله. أما التطور الجديد الثاني فهو تطوير أجهزة حرارية يمكن برمجتها لمدى واسع من درجات الحرارة، وبسيطرة عالية الدقة. وهكذا، فإنّ كلّ دورة من هذا التفاعل تشمل 3 خطوات، هي:

1. التفكيك (درجة حرارة عالية).
2. فصل البادئات (درجة حرارة منخفضة).
3. البناء (درجة حرارة متوسطة).

تعاد الخطوات 1-3، وتصبح النسختان أربعًا، ولا ضرورة لإضافة أيّ أنزيم مبلمر جديد؛ لأن المعالجات الحرارية لا تؤثّر في هذا الأنزيم. وفي كلّ دورة تُضاعف جزيئات DNA بوقت يتراوح بين دقيقة ودقيقتين، وبعد 20 دورة، فإنّ قطعة واحدة تنتج أكثر من مليون نسخة، أيّ 2^{20} نسخة!

وبهذه الطريقة، فإنّ طريقة تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل تمكن من تكثير قطعة واحدة من DNA من كمية قليلة من خليط من DNA. وهذه النتيجة مشابهة لما يمكن عزله باستعمال الاستنسال الجزيئي. إلا أنه في حالة تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل، لا يمكن إعادة إدخال DNA مباشرة إلى الخلية. وفي حالة المنتج من تقنية تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل يمكن تحليله باستعمال التّهجير الْكهربائيّ، ومن ثَمَّ استنساله في حامل لتعديلات أخرى، أو لتحليل تسلسله مباشرة. وهناك محددات على حجم القطعة التي يمكن إنتاجها بهذه الطريقة، إلا أنه أمكن تكييفها لكثير من الاستعمالات المدهشة.

تطبيقات تقنية تفاعل أنزيم المبلمر المتسلسل

أصبحت تقنية PCR الآن آلية جميعها. لذا، فقد أدت لثورة في كثير من نواحي العلوم والطب؛ لأنها أتاحت الكشف عن عينات ضئيلة من DNA. ففي التحقيقات الجنائية يتم إعداد بصمات DNA من خلايا في نقطة صغيرة من الدم الجاف، أو من على نهاية قاعدة شعرة. وفي مجال الطب، بإمكان الأطباء الكشف عن التشوهات الْوراثيّة في المراحل الجنينية الأولى من خلال أخذ خلية واحدة، وتكثير حمضها النووي. ولكون تقنية PCR دقيقة جدًا وسريعة وسهلة، فإنّ الفنيين الآن يقومون روتينيًّا باستعمالها لهذه التّطبيقات.

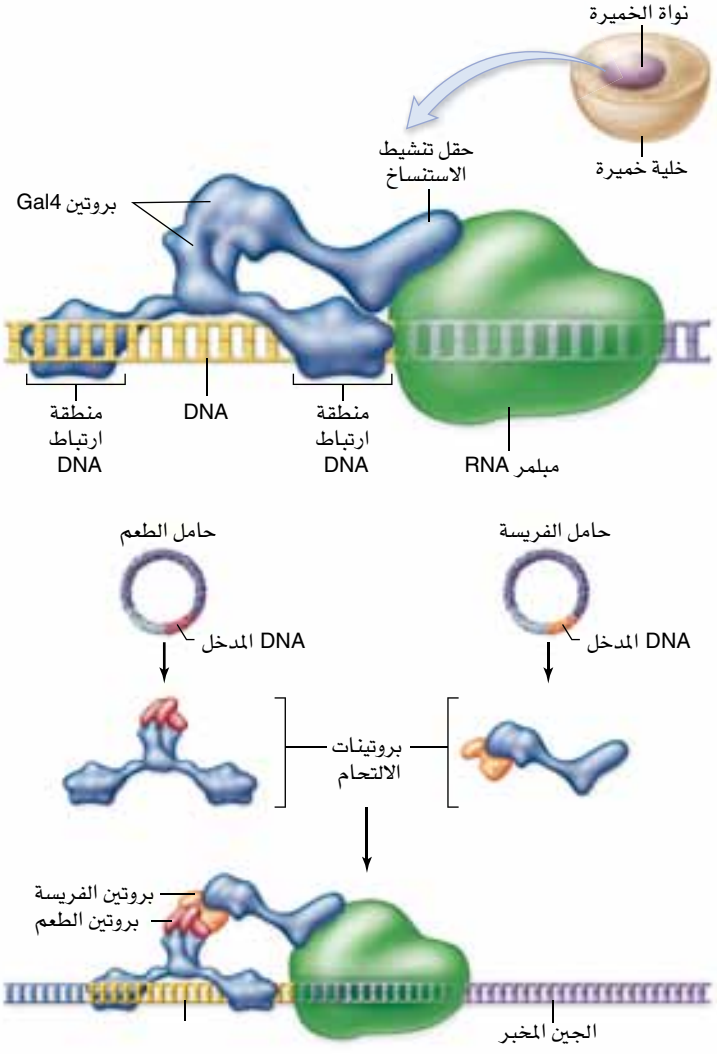
إلى جانب ذلك، فقد تَمَّ استعمال PCR لتحليل DNA الميتوكوندريا من إنسان نانديرثال *Homo neanderthalensis*. وقد وفر هذا التطبيق معلومات أولية عن انقراض الأنواع القريبة له. إن تكثير DNA القديم أمر مثار خلاف؛ لأن التلوث في الحمض النووي الحديث في تقنيات اليوم أمر لا مفر منه، وليس من السهل تجنبه، إلا أن الموضوع يبقى مادة غنية للبحوث الْوراثيّة.

يمكن الكشف عن تفاعلات البروتين باستعمال نظام التهجين الثنائي

إن تفاعلات البروتينات مع بعضها يشكل الأساس لكثير من التراكيب البيولوجية. وكما هو حال اعتماد المجتمع البشري كليًّا على التفاعلات بين البشر، فإنّ الخلايا تعتمد في تفاعلاتها على التفاعلات بين البروتينات. وقد أدت هذه الملاحظة للنظر إلى الهدف الكبير في تقرير التفاعلات جميعها بين البروتينات في الخلايا المختلفة. وقد أصبح هذا الهدف واقعًا بعد أن كان حلمًا في يوم ما. فنظام الخميرة ثنائي التهجين هو إحدى آليات العمل في هذا النوع من التحليل (الشكل 17-13).

ويدمج نظام الخميرة ثنائي التهجين الكثير من التقنيات مدار البحث في هذا الفصل. فهي تستغل إحدى ميزات تنظيم عمل الجينات في المخلوقات حقيقيّة النّوى، وبالتحديد أن تركيب البروتينات التي تنظم التعبير عن جينات الخلايا حقيقيّة النّوى، أيّ عوامل النسخ، له بنية نمطية Modular structure.

إن الجين Ga14 في الخميرة يشفّر منشط الاستنساخ ببنية نمطية تتكون من منطقة ربط DNA التي تربط تسلسلات في المحفزات المستجيبة للجين Ga14، ومنطقة التنشيط التي تتفاعل مع جهاز الاستنساخ لتشغيل عملية الاستنساخ. ويستعمل



الشكل 17-13

يكشف نظام الخميرة ثنائي التهجين البروتينات المتداخلة. إن بروتين Gal4 هو منشط استنساخ (الأعلى). وقد تَمَّ فصل جين Gal4 وهندسته في حاملين مختلفين حيث يُفَعِّلُ أحدهما المنطقة الرابطة للحمض النووي DNA (حامل الطعم) فقط، في حين يُفَعِّلُ الآخر منطقة منشط الاستنساخ (حامل الفريسة). وعند إدخال جينات أخرى في هذه الحوامل، فإنها تنتج بروتينات متحدة تحوي جزءًا من Gal4 والبروتين المراد فحصه، وإذا تداخل البروتين المراد فحصه فإنّ هذا يؤدي إلى استعادة فعالية Gal4، ومن ثم تفعيل الجين المخبر.

النظام حاملين؛ أحدهما يحتوي على قطعة من جين Ga14 الذي يُشفِّر منطقة ربط DNA، والآخر يحتوي على قطعة من جين Ga14 الذي يشفّر منطقة تنشيط عملية الاستنساخ. وليس بمقدور أحدهما منفردًا تنشيط عملية الاستنساخ هذه.

عند إدخال cDNA في كلّ من هذين الحاملين في إطار القراءة الصحيح، فإنه يتم ترجمتها أو تفعيلها على شكل بروتين منفرد مكوّن من البروتين ذي الاهتمام، وجزء من البروتين المنشط للجين Ga14 (الشكل 17-13). تُسمّى هذه البروتينات الهجينة البروتينات المتحدة (المندمجة) *Fusion proteins* حيث إنها فعليًّا متحدة في سلسلة عديد الببتيد نفسها. ويطلق على الهجين الرابط لِـ DNA الطُعْم، والهجين المنشِّط للمنطقة الفريسة.

تُدخل هذه الحوامل في خلايا ذات أنواع تزاوج مختلفة. أحد هذه الحوامل يحوي أيضًا ما يُسمّى الجين المخبر *Reporter gene* المسؤول عن بروتين يمكن الكشف عنه للفعالية الأنزيمية. وهذا الجين المخبر يخضع لسيطرة المنطقة التنظيمية المستجيبة للجين Ga14 لأنه عند وجود الجين Gal4، فإنّ الجين المخبر يفعّل، ويمكن الكشف عنه بمعايرة أنزيمية.

ترتبط منطقة ربط DNA بِـ DNA المجاور للجين المخبر. وعند تداخل البروتين في الطعم والفريسة، فإنّ هجين الفريسة يجلب المنطقة المنشّطة إلى موقع يؤدي لتفعيل الجين المخبر (انظر الشكل 17-13).

إن جمال هذا النظام يقع في بساطته ومرونته، ويمكن استعماله مع اثنين من البروتينات المعروفة، أو مع بروتين معروف في حامل الطعم ومكتبات وراثية مكملة في حامل الفريسة. في الحالة الأخيرة، يمكن وضع خرائط للتفاعلات الممكنة في الْخليّة جميعها.

لقد أصبح واضحًا أن هناك تفاعلات بروتينات أخرى في الْخليّة أكثر مما كنا نظن. وفي المستقبل، ستكون هذه المعلومات الأساس لفهم شبكة تفاعلات البروتينات التي تشكل الأنشطة العادية للخلية.

تستعمل الأنزيمات المحددة لبناء خرائط فيزيائية للحمض النووي DNA. وتسمح تقنية وصمة ساذرن باكتشاف DNA في خليط معقد، مثل DNA المعزول من خلايا أو أنسجة، ويمكن استعمالها أيضًا لتحليل الفروق بين الأفراد. إن أهم مستويات التحليل هو إمكانية تحديد نمط تسلسل DNA الحقيقي. ويستعمل تحديد تسلسل DNA تفاعلًا معدلًا من تفاعل PCR محتويًا على موقفات السلسلة. وقد غيرت تقنية PCR التحليل الجزيئي ما مكن من إنتاج كميات كبيرة من DNA محدد من كميات قليلة نبدأ بها. إن نظام الخميرة ثنائي التهجين يمكن استعماله للكشف عن تفاعلات البروتينات مع بعضها.

4-17 الهندسة الْوراثيّة Genetic engineering

لقد واكبت القدرة لاستنسال جينات منفردة لتحليلها حقبة تقدم البحوث بصورة غير مسبوقة. آنذاك، كانت هذه الإنجازات غير مقترنة بإعلانات كبيرة عن إمكان تحقيق إنجازات طبية أو تطبيقات أخرى. وقد كانت القدرةُ على هندسة أيّ نوع من الخلايا أو المخلوقات وراثيًّا بصورة حقيقيّة بعيدةَ المنال. لكننا الآن نقترب من هذه القدرة. وقد أدت للمزيد من الإثارة وإلى تباين الآراء حولها.

تسمح حوامل التفعيل بإنتاج منتجات جينية مُحَدَّدَة.

لقد أمكن بناء كثير من أنواع الحوامل منذ بداية تقنية الاستنسال. أحد أنواع الحوامل المهمة هذه تلك المسماة **حوامل التفعيل Expression vectors**. تحتوي هذه الحوامل تسلسلات ضرورية لدفع تفعيل DNA المدخل في نوع محدّد من الخلايا، وبالذات التسلسل الصّحيح ليسمح بنسخ ذلك التسلسل وترجمته. إن إنتاج بروتين هجين في البكتيريا مثلًا يستعمل عوامل تفعيل تحمل محفزات (مثيرات) بكتيرية، ومناطق سيطرة أخرى. تنتج البكتيريا المتحولة بهذه الحوامل كميات كبيرة من البروتين المشفَّر عن طريق DNA المدخل للخلية. وقد أمكن إنتاج عدد من المواد الصيدلانية بهذه الطريقة، ومنها الأنسولين المستعمل لمعالجة مرض السكري (سنبحث هذا التطبيق بتفاصيل أكبر في الجزء الآتي).

يمكن إدخال الجينات عبر حاجز الأنواع

إن القدرة على إعادة إدخال جينات في خلية العائل الأصلي، أو إدخالها في عائل آخر هي الهندسة الْوراثيّة الحقيقيّة. فالحيوان الذي يحمل جينًا تَمَّ إدخاله دون استعمال عملية التكاثر التقليدية يُسمّى حيوانًا **عابر الجينات Transgenic animal**. وسوف نستقصي عددًا من الاستعمالات لهذه الحيوانات عابرة الجينات في مجالي الطب والزراعة، ومن المهم إدراك أن الاستعمال الأصلي كان في البحوث الأساسية.

إن القدرة على هندسة الجينات سواء في السياق أو خارجه يسمح للباحث بطرح أسئلة لا يمكن طرحها في مكان آخر. أكثر الأمثلة إثارة ذلك المتعلق باستعمال جين فقدان العين من الفأر في ذبابة الفاكهة *Drosophila*. فعند إدخال هذا الجين في ذبابة الفاكهة كان واضحًا أنه يستطيع القيام بعمل جين الذبابة الأصلي فيما يتعلق بتنظيم تكون العيون. وتمكن من تكوين العيون في مواقع غير مواقعها عند تفعيله في أنسجة لا تسمح في الأصل بتكوين العيون. وقد بينت هذه النتيجة المذهلة أن تكوين العين المركبة في الذبابة ليس مختلفًا جدًا عن تكوين عين الفقريات المعقدة.

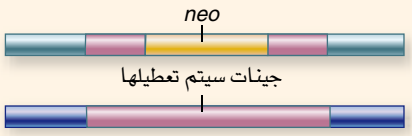
يمكن استعمال الجينات المستنسلة في بناء فئران تَمَّ تعطيل بعض جيناتها

من التقنيات ذات الأهمية الفائقة للأهداف البحثية عملية **التطفير في المختبر In vitro mutagenesis**، وهي القدرة على إحداث طفرات في أيّ موقع في جين مستنسل لمعرفة تأثير ذلك في وظيفته. وبدلًا من الاعتماد على طفرات تَمَّ إحداثها عن طريق عوامل كيميائية أو إشعاعية، حيث نحتاج إلى مزيد من الوقت والجهد، فإنّ من الأفضل أن يتم تعديل DNA مباشرة. الاستعمال النهائي لهذا التوجه يمكّن من استبدال جين مُطَفَّر ليحل محلّ الجين البرّي لفحص وظيفة هذا الجين المطفر. وقد أمكن تطوير هذه التقنية أولًا في الخميرة إلا أنه تَمَّ توسيعها الآن لاستعمالها في الفأر.

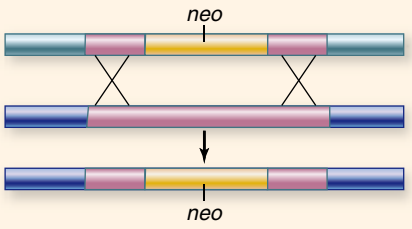
ففي الفئران، مكنت هذه التقنية من إنتاج **فئران عُطِّل بعض جيناتها Knockout mice**، حيث أمكن تعطيل جين بعينه، ومن ثَمَّ قُدِّر أثر فَقْدِ هذه الوظيفة في الفئران مكتملة النمو، أو معرفة فيما إذا كانت الطفرة قاتلة. وأمكن أيضًا تحديد مرحلة التكوين الجنيني المؤدية لفشل وظيفة ذلك الجين. والفكرة

الشكل 17-14

إنتاج فأر عُطِّل بعض جيناته. خطوات إنتاج فأر عُطِّل بعض جيناته، وقد حُذف بعض التفاصيل التقنية، إلا أن الفكرة الأساسية قد تَمَّ بيانها.



1. باستعمال تقنيات تهجين DNA، يتم إدخال الجين المسؤول عن مقاومة النيومايسين *neo* إلى الجين ذي الاهتمام لمقاطعته. يعطي هذا الجين *neo* مقاومة للعقار G418 الذي يقتل خلايا الفأر. تُدخل القطعة المركبة بعدها في الخلايا الجذعية الجنينية.



2. تُهجّن المادة الوراثيّة المركبة في بعض الخلايا الجذعية ذات الجين المرغوب تعطيله والموجود في الكروموسوم. هذا يؤدي لإحلال قطعة *neo* المعطّلة بدلًا من تلك الكروموسومية، وهذا يكافئ عملية عبور مضاعفة في التهجين الوراثيّ.

بسيطة، إلا أن التقنية بالغة التعقيد. وسنجد أدناه تفصيلًا للخطوات في هذا النوع من التجارب، وتخطيطًا موضحًا في (الشكل 17-14).

1. تتم مقاطعة الجين المستنسل من خلال استبدال جين مؤشِّر (علامة) بدلًا منه عن طريق استعمال تقنيات DNA الهجين التي وُصفت سابقًا. هذا الجين المؤشِّر مسؤول عن مقاومة المضاد الحيوي نيومايسين في البكتيريا، وهو يمكِّن خلايا الفأر من النمو عند زراعتها في وسط غذائي يحتوي العقار G418. ويتم البناء بطريقة تضمن أن يكون الجين المؤشِّر محاطًا من طرفيه بالحمض النووي DNA الذي يحيط عادة بالجين الذي نهتم به في الكروموسوم.
2. يُدْخل الجين الذي تمت مقاطعته إلى **خلية جينية جذعية Embryonic stem cells**. تُشتق هذه الخلايا من أجنة بدائية، ويمكنها إنتاج أنسجة مختلفة كاملة النضج. في هذه الخلايا، يمكن للجين الاتحاد بنسخة الجين الكروموسومية اعتمادًا على DNA المحيط بطرفيه. وهذا هو النوع من الخلط الوراثيّ (التهجين) نفسه المستعمل لرسم الخرائط الجينية (الفصل الـ 13). لا يحمل الجين الذي تَمَّ تعطيله ذو المقاومة للمضاد الحيوي أصلًا للتضاعف. وهكذا، فسيفقد إذا لم يحدث أيّ خلط وراثي. تُنَمّى الخلايا في الوسط الغذائي المحتوي على G418 لانتخاب أحداث الخلط الوراثيّ (حيث تنمو فقط الخلايا المحتوية على الجين المؤشر بوجود G 418).
3. تُحقن الخلايا الجذعية الجنينية الحاملة للجين المعطّل في جنين في مرحلة البلاستولة، ومن ثم تُزرع في أنثى حمل كاذب (وهي الأنثى التي تَمَّ تزاوجها مع ذكر قُطعت أوعيته الناقلة للمني، وأصبح رحمها قابلًا لاستقبال البلاستولة). تحمل المواليد من هذه الأنثى نسخة واحدة من الجين ذي الاهتمام، وقد تَمَّ تعطيلها. بعدئذٍ، يمكن مزاوجة الحيوانات عابرة الجينات لإنتاج سلالات متماثلة الجينات، ومن ثم يمكن تحليل طرزها المظهرية.

يعتمد تعريف الجينات في الوراثة التقليدية على طفرات تبين شكلًا ظاهريًّا محددًا. لاحقًا، تستعمل تقنيات الوراثة الجزيئية لإيجاد الجين، وعزل مستنسل جزيئي من أجل التحليل. إنَّ استعمالَ الفأر الذي تَمَّ تعطيل بعض جيناته مثالٌ على **الوراثة العكسية Reverse genetics**، حيث نقوم بأخذ جين مستنسل غير معروف الوظيفة، ومن ثم نستعمله لإنتاج طفرة فاقدة لهذا الجين. يُقَدِّرُ الباحثُ في علم الوراثة بعدها أثرَ حذف الجين على مجمل المخلوق. يؤدي هذا التوجه أحيانًا إلى مفاجآت كما حدث عندما عُطِّل الجين المسؤول عن إيقاف مانع الورم p53. وبسبب وجود هذا البروتين بشكل مطفر في كثير من السرطانات الإنسانية ودوره الأساسي في تنظيم دورة حياة الخليّة (الفصل الـ 10)، فقد كان الاعتقاد بضرورته، وأعتقد أن تعطيله سوف يكون مميتًا. وبدلًا من كلّ ذلك، فإنّ الفئران ولدت عادية؛ أيّ إنها نمت وتطورت بصورة عادية. على الرّغم من تمايزها ظاهريًّا، وذلك بظهور أورام كثيرة في أنسجتها المختلفة مع تقدم العمر.

تمكن عوامل التفعيل المحتوية على جينات مستنسلة إنتاج بروتينات معروفة في خلايا مختلفة. ويمكن عمل هذا لإنتاج مواد صيدلانية أو لأغراض بحثية. ويمكن إدخال الجينات عبر حواجز الأنواع. ففي الفأر يمكن هندسة الطفرات في جينات مستنسلة، ومن ثم إعادة إدخالها للحيوان لإنتاج فئران عُطِّلت جينات محددة بها.

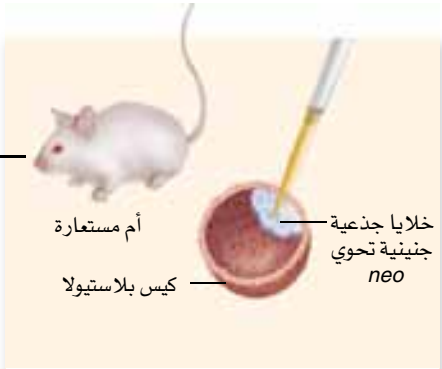
5-17 تطبيقات طبية

لقد أدت الأيام الأولى في الهندسة الوراثيّة لحمى إنشاء الشركات التي خرج معظمها حاليًا من السوق. وفي الوقت نفسه، قامت الشركات الكبيرة في صناعات الأدوية كلها، إما بالبحث العلمي في هذا الحقل، أو أنها بحثت وبجد عن شركات صغيرة ذات تقنيات واعدة. إن عدد تطبيقات هذه التقنية أكبر مما يمكن ذكره هنا، ولهذا فسنركز على القليل منها. والجزء الآتي سيبحث في التّطبيقات الزّراعيّة.

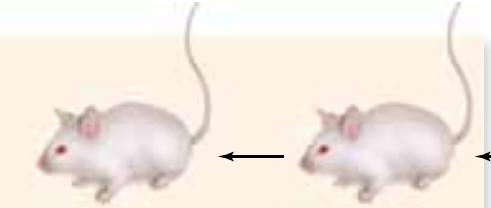
يمكن إنتاج البروتينات الإنسانية في البكتيريا

إدخال جينات مسؤولة عن إنتاج بروتينات ذات أهمية سريرية في البكتيريا كان أول، وربما أوضح مثال للتطبيقات التجارية للهندسة الوراثيّة. ولأنه يمكن تنمية البكتيريا بكميات كبيرة وبكلفة قليلة، فإنّ هذه البكتيريا الحاملة لجينات هجينة يمكنها إنتاج كميات كبيرة من البروتينات التي تشفّرها هذه الجينات. استعملت هذه الطريقة لإنتاج كثير من أشكال الأنسولين والإنترفيرون الإنساني، إضافة

3. توضع الخلايا الجذعية في وسط يحوي العقار G418. هذا العقار يسمح بانتخاب الخلايا التي تمت بها عملية الاستبدال، والتي تحوي الآن نسخة من الجين المُعطّل.



4. تؤخذ الخلايا الجذعية الحاملة للجين المُعطّل، وتحقن في جنين في مرحلة كيس البلاستيولا، ومن ثم تستزرع في أنثى لاكتمال تطورها.



5. ستحوي الأفراد الجديدة كروموسومًا واحدًا يحمل الجين المُعطّل ذا الاهتمام. يمكن أن تنتج عمليات تزاوج جديدة عندها فئرانًا تحمل الجين المُعطّل لمعرفة شكلها الظاهري، وهذا يمكن أن يقع في المدى بين الحالة القاتلة وعدم ظهور تأثيرات ملاحظة بحسب الجين المدروس.

إلى منتجات بروتينية تجارية عالية القيمة مثل هرمون النمو (الشكل 17-15) والأرثروبويتين الذي ينشط إنتاج خلايا الدم الحمراء.

من خلال هذه المقاربات، من بين البروتينات الطبية المصنعة الآن **الببتيداتُ الأذينيةُ Atrial peptides**، وهي بروتينات صغيرة يمكن أن توفّر طريقة جديدة لمعالجة ارتفاع ضغط الدم والفشل الكلوي. منتج آخر هو **منشط بلازمينوجين الأنسجة Tissue plasminogen activator**، وهو بروتين إنساني ينتج بكميات ضئيلة، تسبب إذابة جلطات الدم، التي إذا استعملت خلال الساعات الثلاث الأولى لحدوث الجلطة الدماغية، فإنها تجنبنا إعاقة كارثية.

ومن المشكلات في هذه المقاربة، تنقية هذه البروتينات المفيدة وفصلها عن تلك التي تنتجها البكتيريا. إن عملية تنقية هذه البروتينات من ذلك الخليط المعقد تحتاج إلى الوقت إضافة إلى كلفتها العالية. إلا أنه ما زال أسهل من عزل هذه البروتينات من معالجة كميات كبيرة من الأنسجة الحيوانية، كما كان يجري عزلها في السابق. فعلى سبيل المثال، كان الأنسولين يُسْتَخْلَصُ من بنكرياس الخنزير بسبب مشابهته لأنسولين الإنسان.

الشكل 17-15

فأر تمت هندسته وراثيًا بهرمون النمو الإنساني. لقد أخذ هذان الفأران من السلالة نفسها، وهما يختلفان فقط في أن الفأر ذا الحجم الأكبر يحوي جينًا إضافيًا مسؤولًا عن هرمون النمو الإنساني. وقد أُضيف الجين للمحتوى الجيني للفأر، وهو الآن جزء متأصل من مادة الفأر الوراثيّة.

قد تُبسِّط مادة DNA الهجينة إنتاج المطاعيم

من الحقول الأخرى الواعدة في هذا المجال تلك التي تشمل إنتاج مطاعيم الأمراض السارية باستعمال الهندسة الوراثيّة. ويوجد الآن نوعان من المطاعيم تحت الدراسة، وهما مطاعيم تحت الوحدة، ومطاعيم *DNA*.

مطاعيم تحت الوحدة *Subunit vaccines*

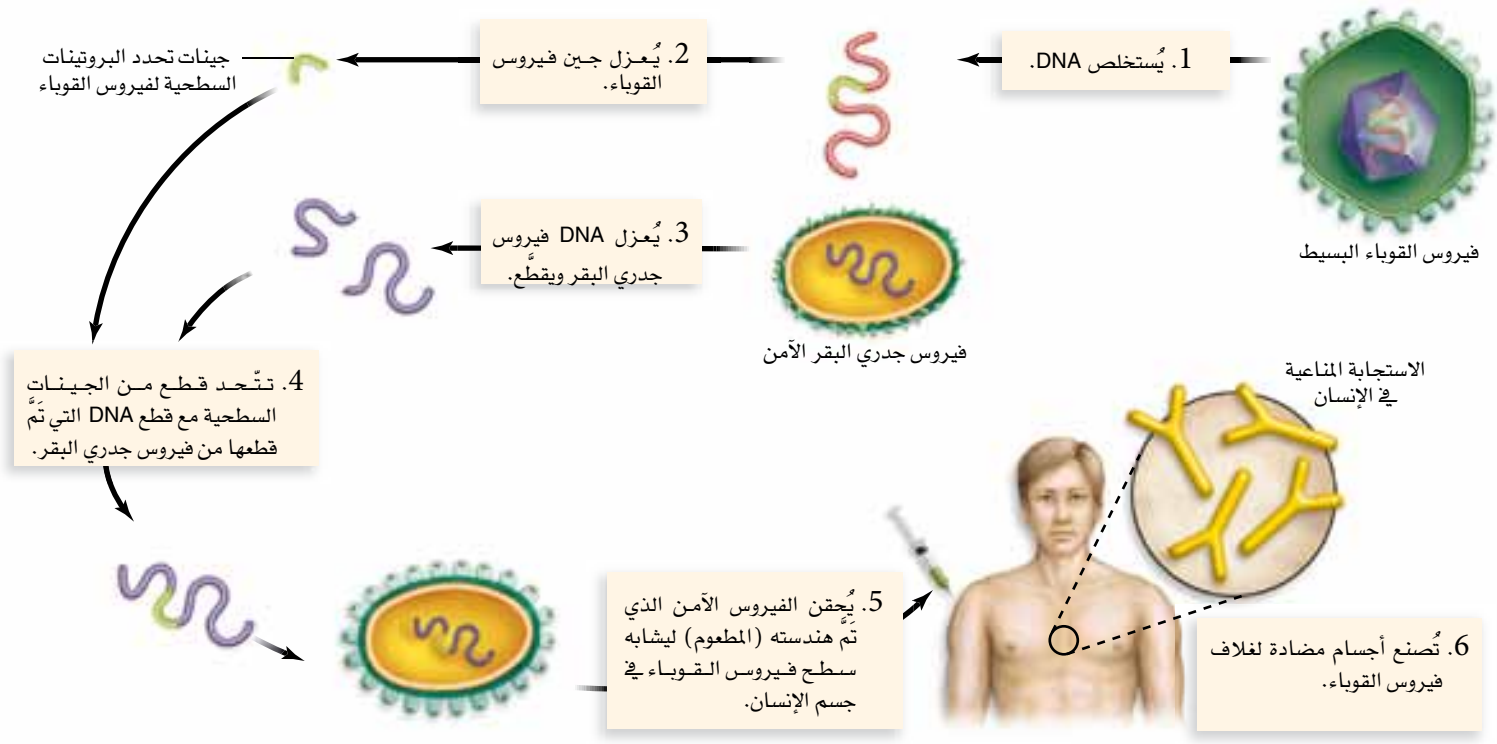
يمكن إنتاج مطاعيم تحت الوحدة ضد الفيروسات مثل تلك المسببة للقوباء والتهاب الكبد. يتم إدخال جينات مسؤولة عن جزء، أو تحت وحدة، من الغلاف البروتيني عديد التسكر لفيروس القوباء، أو فيروس التهاب الكبد من النوع B في قطعة من المحتوى الجيني لفيروس جدري البقر (الشكل 17-16).

إن فيروس جدري البقر هذا الذي استعمله الطبيب البريطاني إدوارد جينر قبل 200 سنة في عمله الرائد في التطعيم ضد مرض الجدري الإنساني، هو نفسه الذي يستعمل الآن حاملًا ليحمل غلاف فيروس القوباء، أو فيروس التهاب الكبد إلى خلايا ثدييات مزروعة. تنتج هذه الخلايا نسخًا عدة من فيروس جدري البقر الهجين الذي يحمل الغلاف الخارجي لفيروس القوباء، أو فيروس التهاب الكبد. عند حقن الفيروس الهجين في فأر أو أرنب، فإنّ جهازه المناعي سينتج أجسامًا مضادة موجهة ضد غلاف الفيروس الهجين. وهكذا، فإنه يطور مناعة ضد فيروس القوباء أو فيروس التهاب الكبد.

إن المطاعيم المنتجة بهذه الطريقة غير ضارة؛ لأن فيروسَ جدري البقر حميدٌ. وقد تَمَّ إدخال جزء قليل من الفيروس الممرض في الفيروس الهجين. وما يشد الاهتمام هنا، هو أن هذا التوجه لا يعتمد على طبيعة المرض الفيروسي. ومن المؤمل في المستقبل استعمال فيروسات هجينة مشابهة في الإنسان لإعطائه مقاومة ضد كثير من الأمراض الفيروسية.

مطاعيم *DNA*

لقد بدأت التجارب السريرية الأولى لإنتاج نوع جديد من مطعوم DNA عام 1995، وهذا المطعوم لا يعتمد على الأجسام المضادة، وإنما على الذراع الثانية من جهاز الجسم المناعي، وتُسمّى الاستجابة المناعية الخلوية، التي من خلالها



الشكل 17–16

إستراتيجية بناء مطعوم تحت الوحدة الخاص بفيروس القوباء *Herpes simplex*.

تهاجم خلايا الدم البيضاء المعروفة بخلايا T القاتلة الخلايا المصابة (الفصل الـ 51). وشمل مطعوم DNA الأول إدخال جين من فيروس الإنفلونزا مسؤول عن إنتاج بروتين نووي داخلي، في بلازميدة، ومن ثَمَّ أُدْخِلَت البلازميدة في جسم الفئران. طورت هذه الفئران استجابة خلوية مناعية لفيروس الإنفلونزا. ومع أن الفكرة جديدة ومختلف عليها، إلا أن هذا التوجه يحمل وعدًا كبيرًا.

يمكن للمعالجة الجينية معالجة الأمراض الجينية مباشرة

عام 1990، حاول العلماء أولًا التغلب على الاختلالات الْوراثيّة بنقل الجينات الإنسانية. فعندما يكون العطل الْوراثيّ ناتجًا عن جين واحد معطَّل، فإنّ الطريقة الواضحة لشفائه تكمن في إضافة جين نشط. وقد تَمَّ استعمال هذا التوجه في محاولة للتغلب على التليف الكيسي، وهي تعطي أملًا في معالجة ضعف العضلات وكثير من الاختلالات الأخرى (جدول 17–1).

أحد الأمراض الذي بَيَّنَ القدرة الكامنة ومشكلات المعالجة الجينية هو **مرضُ نقص المناعة الحاد المركب Severe combined immunodeficiency disease (SCID)**. هناك أشكال عدة من هذا المرض تشمل الشكل المرتبط بكروموسوم الجنس X-SCID وشكلًا يفتقر للأنزيم نازع أمين الأدينوسين ADA-SCID.

بينت التجارب الحديثة على هذين الشكلين إمكانية واعدة؛ حيث استعاد المرضى القدرة المناعية، إلا أنه ظهر بعدئذ بعض المشكلات في حالة X-SCID، حيث أصيب أحد المرضى باللوكيميا (فقر الدم الأبيض) النادر. ومنذ ذلك الوقت ظهرت أعراض هذا المرض على اثنين من المرضى المعالجين، وعلى ما يبدو أن سبب ذلك هو المعالجة الجينية نفسها. فقد تبين أن الحامل الذي استعمل لإدخال جين X-SCID قد التحق بالمحتوى الجيني بجانب جين سرطاني بدائي يُسمّى *LMO2* في هذه الحالات الثلاث جميعها. وواضح أن تنشيط هذا الجين يمكن أن يسبب اللوكيميا مبكرًا في للأطفال.

إن إدخال جين خلال المعالجة الجينية كان دائمًا عملية عشوائية. وكان الخوف دائمًا من أن إدخال الجين – أيّ جين – يمكن أن يؤدي لتعطيل جين ضروري (أساسي) أو يُفعِّل جينًا بشكل غير مناسب، إلا أن هذه النتيجة لم يكن بالإمكان

الجدول 17-1 الأمراض التي تعالج في محاولات سريرية باستخدام المعالجة الجينية

المرض
السرطان (الميلانوما، الْخليّة الكلوية، المبيض، الأورام العصبية، الدماغ، الرأس والرقبة، الكبد، الرئتان، القولون، البروستات، أورام الطلائية المتوسطة، اللوكيميا، الأورام اللمفاوية، الميلوما المضاعفة).
SCID فقر المناعة الحاد المركب
التليف الكيسي
مرض جاوشر
ارتفاع الكوليسترول العائلي
نزف الدم الْوراثيّ
نقص الأنزيم المفسفر لنيوكليوسايد البيورين
فقر مضاد التربسين فئة ألفا 1
فقر دم فانكوني
مرض هنتر
المرض الحبيبي المزمن
التهاب المفاصل الروماتيزمي
المرض الوعائي الطرفي
الإيدز: مرض نقص المناعة المكتسبة

ملاحظتها قبل تجارب X-SCID، على الرّغم من أن عددًا كبيرًا من الجينات قد تَمَّ إدخالها في الخلايا الدموية بشكل خاص. ولكي تحدث اللوكيميا في 10% من المرضى المعالجين، فإنّ هذا يعني ضمنًا أنّ للخلفية الْوراثيّة المرتبطة مع X-SCID بعض التأثير الذي يمكن أن يزيد إمكانية ظهور هذا المرض. ويدعم هذه الإمكانية ملاحظة أن مرضى ADA-SCID الذين عُولجوا لم يتأثروا كالآخرين حتى الآن.

من الناحية الإيجابية، فإنّ 15 طفلًا تمت معالجتهم بنجاح، وما زالوا أحياء. وأربعة عشر منهم بجهاز مناعي فعال بعد أكثر من أربع سنوات. وأمّا من الناحية السلبية، فهناك ثلاثة أطفال ممن تمت معالجتهم قد أصيبوا باللوكيميا.

عندما نفهم أسس الاندماج التفضيلي في حالة X-SCID، سيكون عندها من الممكن التغلب على هذه النتيجة السيئة. وفي هذه الأثناء، فإنّ الباحثين قد أوقفوا تجاربهم، ويعملون الآن على حوامل جديدة لتخفيف إمكانية الاندماج التفضيلي هذا.

تشمل التّطبيقات الطبية للتقنيات الْحيويّة إنتاج البروتينات للصناعات الصيدلانية، وطرقًا جديدة لإنتاج المطاعيم. يمكن أيضًا استعمال الهندسة الجينية لاستبدال جينات تسبب أمراضًا وراثية بعملية تُسمّى المعالجة الجينية. إن تقنية المعالجة الجينية كانت مثار جدل على الرغم من بعض النجاحات وبعض الإخفاقات حديثًا.

6-17 التّطبيقات الزّراعيّة

قد لا تكون أي ناحية من الهندسة الْوراثيّة لامست كلّ واحد منا بشكل مباشر، كما لامستها الهندسة المتعلقة بالتّطبيقات المستعملة في ميدان الزراعة. فقد تَمَّ تعديل المحاصيل لمقاومة الأمراض ومقاومة المبيدات النباتية، ولإحداث تغيير في قيمتها الغذائية والمحتويات الأخرى وبكثير من الوجوه. وقد استعملت الأنظمة النباتية أيضًا في إنتاج المواد الصيدلانية عبر ما نسميه الصيدلة الْحيويّة، وتمّ تعديل وراثي للحيوانات الأليفة، بحيث تصبح قادرة على إنتاج مركبات فعالة حيويًّا.

يمكن أن تحول البلازميدة Ti النباتات ذات الأوراق العريضة

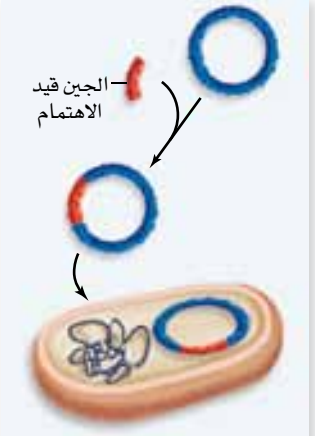
إن المشكلة الأساسية في إدخال DNA هجين للنبات تكمن في تحديد حامل مناسب لذلك. فخلايا النبات تفتقر إلى كثير من البلازميدات التي تمتلكها البكتيريا. لذا، فإنّ خيار الحامل الواعد محدود.

بلازميدة *Ti*

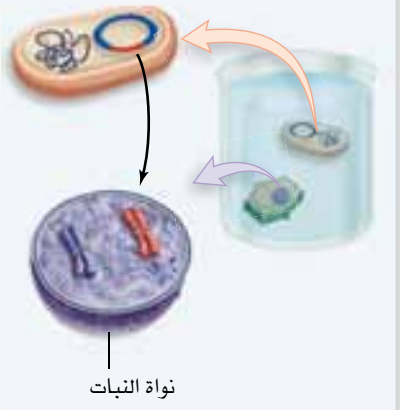
إن أكثر النتائج نجاحًا هي تلك التي تَمَّ الحصول عليها باستعمال **البلازميدة المسببة للسرطان Ti (tumor-inducing) plasmid**، الخاصة ببكتيريا النبات المسماة *Agrobacterium tumefaciens* التي عادة ما تصيب النباتات ذات الأوراق العريضة مثل البندورة، والتبغ، وفول الصويا. إن جزءًا من بلازميدة Ti يتكامل مع DNA النبتة، وقد نجح الباحثون في ربط جينات أخرى لذلك الجزء من هذه البلازميدة (الشكل 17-17). وقد غُيِّرت صفات عدد من النباتات باستعمال هذه التقنية التي من المؤمل أن تكون ذات أهمية في تحسين المحاصيل والغابات.

من الصفات التي يهتم الباحثون بالتأثير فيها مقاومة الأمراض، والصقيع، وبعض أشكال الإجهاد والتوازن الغذائي، والمحتوى البروتيني، ومقاومة المبيدات النباتية. وقد عُدِّلت هذه الصفات جميعها، أو أنها قيد التعديل. لسوء الحظ، فإنّ البكتيريا *Agrobacterium* في العادة لا تصيب الحبوب مثل الذرة والأرز والقمح، إلا أن بالإمكان استعمال طرائق بديلة لإدخال جينات جديدة فيها.

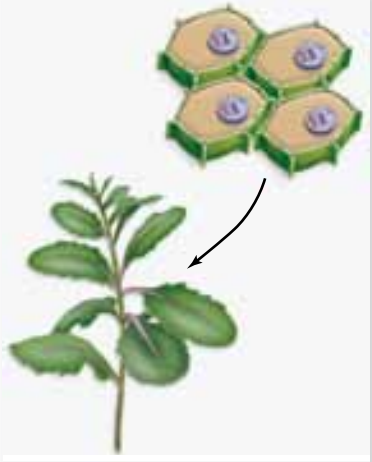
1. تُزال البلازميدة، ومن ثم تفتح وتقطع بالأنزيمات المحددة القاطعة.



2. عُزل الجين قيد الاهتمام من DNA لمخلوق آخر وأدخل في البلازميدة. توضع البلازميدة ثانية في بكتيريا *Agrobacterium*.



3. عند استعمالها لإصابة خلايا النبات، فإنّ هذه البكتيريا تقوم بمضاعفة جزء من البلازميدة، وتنقل الجين الجديد إلى كروموسوم الْخليّة النباتية.



4. تنقسم الْخليّة النباتية، وكل خلية جديدة تأخذ جينًا جديدًا. يمكن استعمال هذه الخلايا المزروعة لتنمية نبات جديد يحمل الجينات المدخلة.

الشكل 17-17

البلازميدة TI. تستخدم بلازميدة *Agrobacterium tumefaciens* في الهندسة الوراثية للنباتات.

طرق أخرى لإدخال الجين

لقد استعملت طرق أخرى في الحبوب التي لا تصيبها عادة البكتيريا *Agrobacterium*. وإحدى الطرق الشائعة هي استعمال المسدس الجيني الذي يستخدم قذف حبيبات صغيرة من الذهب أو التنجستن مغطاة بمادة DNA. تمتاز هذه التقنية بإمكانية استعمالها مع أيّ نوع، إلا أنها لا توفر دقة هندسية؛ لأنّ عدد نسخ الجين المدخل لا يمكن التحكم فيها بسهولة.

حديثًا، طُور البكتيريا *Agrobacterium* بحيث أصبح بالإمكان استعماله مع نباتات المحاصيل. وهكذا، فإنّ المسدس الجيني قد لا يُستعمل بصورة كبيرة في المستقبل. وتَمَّ تعديل بكتيريا جديدة أخرى لتعمل بصورة مشابهة لبكتيريا *Agrobacterium* وتوفر بديلًا مناسبًا؛ ليستخدم في هندسة محاصيل الحبوب.

إن التعديل الْوراثيّ للمحاصيل الحقلية من كلّ الأصناف أصبح تقنية مكتملة ما سيسرع إنتاج محاصيل عابرة للجينات.

دراسة حالة: بندورة أفضل؟

أحد الأمثلة على فاكهة معدلة وراثيًّا هو بندورة كالجين المحتفظة بالنكهة (FlavrSavr) Calgene's التي هُنْدست لتثبط الجين المسؤول عن إنتاج الإيثيلين في الْخليّة. ففي البندورة، ونباتات أخرى، يعمل الإيثيلين بوصفه هرمونًا يُسَرِّعُ نضجَ الفاكهة (الفصل الـ 41). أما في بندورة Flavr Savr فإنّ منع إنتاج الإيثيلين يؤخّر نضجها. وهذا يؤدي إلى إنتاج بندورة يمكنها البقاء مدة أطول، وتقاوم زيادة النضج والتعفن خلال عملية نقلها إلى الأسواق.

لقد كانت بندورة FlavrSavr نجاحًا للهندسة الْوراثيّة، إلا أنها لم تكن نجاحًا في الأسواق؛ لأن مذاقها لم يكن كمذاق الأنواع الأخرى، إضافة إلى أن نموّها كان في منطقة محددة من البلاد، وأن زراعتها لم تتم بصورة واسعة. لذا، تم سحب هذه البندورة من الأسواق عام 1997. يتضح من ذلك أننا نحتاج إلى أكثر من مجرد إنتاج منتج عن طريق نقل صفة محددة عبر الهندسة الْوراثيّة.

زراعة المحاصيل المقاومة للمبيدات النباتية وعدم الحاجة إلى التعشيب

لقد تَمَّ حديثًا هندسة نباتات الأوراق العريضة لتصبح مقاومة **للجلايفوسيت Glyphosate** المبيد النباتي القوي، والقابل للتحلل، الذي يقتل معظم النباتات النامية (الشكل 17-18). يُثبط هذا المبيد الأنزيم المسمى مخلِّق EPSP الذي تحتاج إليه النباتات لإنتاج أحماض أمينية عطرية.

وحيث إنّ الإنسان لا ينتج بجسمه هذه الأحماض الأمينية العطرية، ولكنه يحصل عليها من غذائه، فلن يتأثر بالمبيد. ولإنتاج نباتات مقاومة للجلايفوسيت، استعمل العلماء بلازميدة Ti لإدخال نسخ إضافية من جين مخلق EPSP إلى النبات. تنتج عندها هذه النباتات عشرين ضعفًا من الإنتاج العادي للأنزيم في النبتة، ما يساعدها على إنتاج بروتينات، وعلى النمو، على الرّغم من منع الجلايفوسيت الأنزيم من العمل. وفي تجارب لاحقة، أُدخل نوع من جين مخلق EPSP البكتيري، مختلف عن النوع النباتي بنيوكليوتيد واحد، في النبات عن طريق بلازميدة Ti، وأصبح الأنزيم البكتيري هذا لا يتأثر بوجود الجلايفوسيت.

إن هذه الإنجازات مثيرة جدًا لاهتمام المزارعين؛ لأن المحصول المقاوم للجلايفوسيت لن يحتاج إلى تعشيب، ويمكن معالجة الحقل فقط باستعمال المبيد النباتي. ولأنّ نطاق فعالية هذا المبيد واسع، فلن يحتاج المزارعون إلى استعمال كثير من الأنواع المختلفة من المبيدات النباتية التي لا يقتل بعضها إلا كمية قليلة من الأعشاب، إضافة إلى أن الجلايفوسيت يتحلل بسهولة في البيئة، بخلاف كثير

الشكل 17-18

الهندسة الجينية لمقاومة المبيدات العشبية. تم تعريض نباتات البيتونيا الأربعة المبينة للجرعة نفسها من مبيد الجلايوفوسيت. النباتان إلى يمين الصورة تَمَّ هندستهما جينيًّا لمقاومة الجلايوفوسيت الفعال، أما النباتان إلى يسار الصورة فلم يتم هندستهما.

من المبيدات المستعملة في ميدان الزراعة. يجري الآن البحث والاستقصاء عن بلازميدة جديدة لإدخال الجين مخلق EPSP في محاصيل الحبوب ما يجعلها أيضًا مقاومة للجلايفوسيت.

في هذه المرحلة، تَمَّ تعديل أربعة محاصيل نباتية لتصبح مقاومة للجلايفوسيت وهي: الذرة، والقطن، وفول الصّويا، والكانولا. ومن أكثر هذه المحاصيل المقاومة انتشارًا محصول فول الصّويا الذي يشكل أكثر من 60% من المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا عالميًّا، والمزروعة في تسع دول على مستوى العالم. ففي الولايات المتحدة، 90% من فول الصويا المزروع حاليًا هو من النوعية الْمعدّلة وراثيًّا، وقد ظهر تباين في استعمال هذه الصويا الْمعدّلة وراثيًّا، إلا أن الأمريكيتين هما الرائدتان في مجال الاستعمال وبزعامة الولايات المتحدة. أما المنطقة الأكثر نموًا الآن في استعمال المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا فهي آسيا، في حين أن أوروبا ما زالت الأكثر بطئًا في استعمالها.

محاصيل Bt مقاومة لبعض الآفات الحشرية

تهاجم الحشرات كثيرًا من النباتات ذات الأهمية التجارية. ولمقاومة ذلك، جرت العادة على استعمال المبيدات الحشرية، حيث ما يزيد على 40% من المبيدات الحشرية الكيماوية المستعملة اليوم موجهة ضد خنفساء القطن، ودودة القطن، وبعض الحشرات الأخرى التي تأكل هذا النبات. أنتج العلماء نباتات مقاومة للآفات الحشرية ما أدى إلى عدم الحاجة إلى استعمال مبيدات حشرية خارجية.

تشمل هذه المقاربة إدخال جينات في هذه النباتات تنتج بروتينات ضارة للحشرات عند التغذي عليها، إلا أنها لا تضرّ النبات نفسه. أكثر هذه البروتينات استعمالًا هو ذلك البروتين السَّام المنتج من بكتيريا اسمها *Bacillus thuringiensis* (سُم *Bt*). فعندما تبتلع الحشرة هذا السّمّ فإنّ أنزيماتها الداخلية تحوّله إلى سم نشط خاص بها، ما يؤدي إلى شللها، ومن ثم موتها. وبسبب عدم وجود هذه الأنزيمات في الحيوانات الأخرى، فإنّ هذا البروتين غير ضار بها.

ولقد أمكن تعديل المحاصيل الأربعة التي عُدِّلت لمقاومة مبيدات الأعشاب لمقاومة الحشرات باستعمال سُم Bt. إن استعمال الذرة الْمعدّلة بسِمّ Bt هو ثاني أكثر استعمال شيوعًا بين المواد الْمعدّلة وراثيًّا عالميًّا، ممثلًا 14% من المساحة على مستوى تسع دول تزدهر بها المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا. إن انتشار هذه المحاصيل عالميًّا مشابه لتلك التي عُدِّلت لمقاومة المبيدات النباتية.

وبالنظر إلى شيوع هذه التعديلات في المحاصيل، فليس من المستغرب دمجها باسم المحاصيل المكدسة بالتعديلات الْوراثيّة *Stacked genetically modified crops*، وتحديدًا في الذرة والقطن. وتشكل المحاصيل المكدسة الآن 9% من المساحة العالمية للمحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا.

الأرز الذهبي يبين إمكانات المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا

إن أحد نجاحات تعديل المحاصيل وراثيًّا يكمن في إنتاج الأرز الذهبي، حيث أمكن تعديل هذا الأرز لإنتاج مادة بيتا كاروتين (مولد فيتامين A). تقدر منظمة الصحة العالمية أن نقص فيتامين A يؤثّر عالميًّا في 140-250 مليون طفل في سن ما قبل المدرسة. تتجلى هذه الظاهرة بصورة كبيرة في دول العالم النامية، حيث يعتمد الغذاء الرّئيس على مادة الأرز. يتحول مولد فيتامين A في الغذاء أنزيميًّا في الجسم مكونًا فيتامين A، ومعوضًا بذلك نقصه. ويعود سبب تسمية العِلْم له بالأرز الذهبي إلى اللون المميز المرتبط بوجود مادة بيتا كاروتين في الإندوسبيرم (المنطقة الخارجية في الأرز المطحون). وعادة لا يكوِّن الأرز الكاروتين في نسيج الإندوسبيرم الخارجي، إلا أنه ينتج مولده، وهو الجيرانيل جيرانيل ثنائي الفوسفات الذي يمكن تحويله أنزيميًّا عن طريق ثلاثة من الأنزيمات، هي: مصنع الفايتوئين، ومزيل إشباع فايتوئين، وأنزيم بيتا محلق اللايكوبين، منتجًا بيتا كاروتين.

وقد تَمَّ هندسة هذه الأنزيمات الثلاثة لتفعيلها في نسيج الإندوسبيرم، وأدخلت إلى الأرز لاستكمال سلسلة التفاعلات الْحيويّة لإنتاج البيتا كاروتين في الإندوسبيرم (الشكل 17-19).

إن هذه الحالة من الهندسة الْوراثيّة مثيرة للاهتمام لسببين: الأول، إنها أدخلت سلسلة تفاعلات حيوية جديدة في نسيج نبات عابر للجينات. والثاني، إنه لا يمكن عملها بطريقة التكثير التقليدية بسبب عدم وجود أيّ سلالة أرز معروفة قادرة على إنتاج هذه الأنزيمات في الإندوسبيرم. استعملت البنية الجينية الجديدة اثنين من الجينات: أحدهما من زنبقة، والآخر من بكتيريا (انظر الشكل 17-19). هناك كثير من الأسباب لتوقع فشل إدخال سلسلة تفاعلات حيوية دون أن يتأثر الأيض الطبيعي. وقد كان مدهشًا أن ينتج النوع الأصلي من الأرز الذهبي كميات كبيرة من بيتا كاروتين، وكان النبات يبدو سليمًا. الأكثر إثارة هو أن يتم إنتاج الجيل الثاني من هذا الأرز، وكذلك إنتاج مستويات أعلى من بيتا كاروتين باستعمال جين آخر للأنزيم المصنع للفايتوئين من الذرة بدلًا من جين الزنبقة الأصلي.

لقد تَمَّ بناء الأرز الذهبي بداية في مؤسسة عامة في سويسرا، ووُفّر مجانًا دون أهداف تجارية. ومنذ تبنيه، فقد حُسِّن الأرز الذهبي من قبل مجموعات مجتمعية عامة، ومن علماء الصناعة، وتَمَّ توفير هذه الأنواع من الأرز دون أن تكون مرتبطة بمصالح تجارية.

طرحت المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا كثيرًا من القضايا الاجتماعية

لقد تَمَّ تبني مقاومة المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا في بعض المناطق لكثير من الأسباب. فهناك تساؤلات تطرح حول سلامة هذه المواد للاستهلاك البشري، وكذلك حول انتقال هذه الجينات في النباتات البرية القريبة من هذه الْمعدّلة وراثيًّا، إضافة إلى إمكانية فقدان التنوع الحيوي المرتبط بهذه المحاصيل.

تشكلت قوى كبيرة متعارضة حول هذا الموضوع. ففي الجانب المؤيد لاستعمال المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا، نجد الشركات متعددة الجنسيات التي تستعمل هذه التقنية لإنتاج بذور لتلك المحاصيل المختلفة الْمعدّلة وراثيًّا. وأمّا في الجانب المشكك في استعمال هذه المحاصيل، نجد كثيرًا من المنظمات السياسية المقاومة لمثل هذه الأغذية الْمعدّلة وراثيًّا، ونجد الباحثين موزعين على جانبي هذا النقاش.

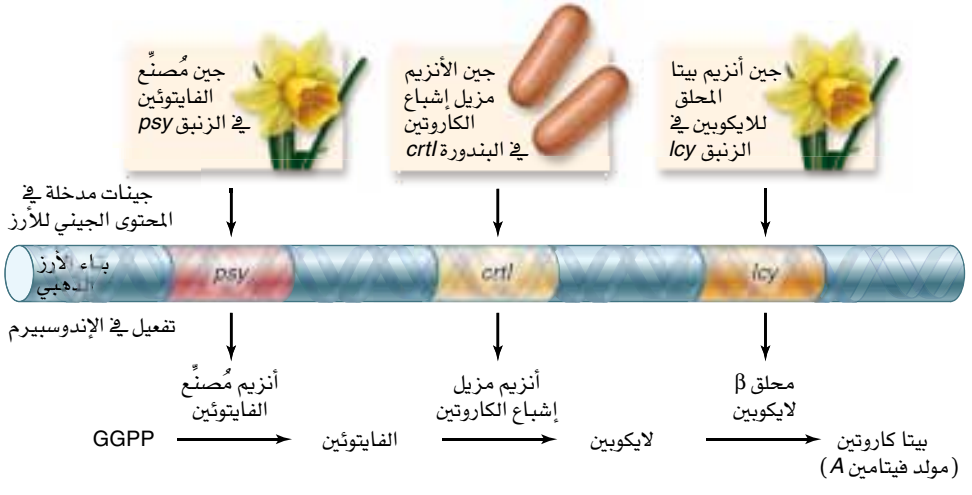
وقد تركزت الآراء أصلًا على سلامة الجينات المدخلة للاستهلاك البشري. ففي الولايات المتحدة، تَمَّ التوصل إلى اتفاق حول المحاصيل المذكورة، حيث نجد أن كميات كبيرة من فول الصويا والذرة الْمعدّلة وراثيًّا تُستهلك. ومع أن بعضهم ما زال يثير الأسئلة حول الاستعمال طويل الأمد لها، وكذلك لإثارتها لبعض الحساسية المناعية، فليس هناك أي نتائج سلبية تَمَّ تسجيلها حتى الآن. وتخضع هذه المحاصيل حاليًا لمراقبة أي آثار بالغة الشدة، حيث سيحتاج كلّ تعديل جديد إلى موافقات تنظيمية لاستعماله من أجل الاستهلاك البشري.

تتركز القضية الأخرى حول الخوف من انتشار هذه الجينات الْمعدّلة خارج نباتاتها. في هذا الأمر، ليس هناك الآن أيّ دليل على انتقال لهذه الجينات المدخلة إلى مثيلاتها البرية. فقد أشارت دراسة حديثة في المكسيك إلى عدم وجود أيّ دليل لانتقال جينات من محاصيل معدلة وراثيًّا إلى أنواع أصيلة، على الرّغم من أن دراسات سابقة أشارت إلى انتشار مهم لهذه الجينات المدخلة.

إن هذه النتائج لا تعني أن عمليات الانتقال مستحيلة، إلا أنها تشير إلى عدم حدوثها حتى الآن. ويبدو واضحًا أن هذا المجال يحتاج إلى دراسات إضافية. وعلى ما يبدو، فإنّ هذه القضية يجب تناولها حالة بحالة؛ لأنّ الأنواع البرية القريبة من تلك الْمعدّلة وراثيًّا، وكذلك سهولة التهجين، تختلف بدرجة كبيرة بين المحاصيل النباتية.

يمكن إنتاج مواد صيدلانية من خلال استعمال الصيدلة الْحيويّة

إن استعمال النباتات الطبية موغل في القدم، ويعود إلى بدايات تدوين التاريخ. وفي العصر الحديث، نجد أن الصناعة الصيدلانية بدأت بعزل مواد فعالة حيويًّا من النباتات. وقد بدأ هذا التوجه في التغير عام 1897 عندما أدخلت شركة باير حمض السلسليك المعروف بالأسبرين. كان هذا المركب هو الشكل



الشكل 17-19

لا يقوم الأرز العادي عادة بإنتاج الأنزيمات اللازمة لإنتاج بيتا كاروتين في الإندوسبيرم. لقد أُضيفت ثلاثة من الأنزيمات للمحتوى الجيني للأرز؛ لتمكنه من تفعيل سلسلة التفاعلات اللازمة لإنتاج بيتا كاروتين في الإندوسبيرم. وبين الشكل مصدر الجينات، وسلسلة التفاعلات اللازمة لتصنيع بيتا كاروتين. والنتيجة هي الأرز الذهبي الذي يحوي مستويات غنية من بيتا كاروتين في الإندوسبيرم.

كاريكاتير كالفن وهبس بقلم بل وترسون

مقتبسة من كالفن وهبس 1995 واترسون. وزعت من نقابة المطابع العالمية. تَمَّ نشرها بإذن والحقوق كلها محفوظة.

الصناعي من حمض السلسليك الذي عُزِلَ من لحاء الصفصاف الأبيض. ومنذ ذلك الحين، أصبح إنتاج المواد الصيدلانية مسيطرًا عليه بشكل أكثر بالتخليق العضوي، وبدرجة أقل بعزل منتجات نباتية.

والاستثناء الوحيد لهذا التوجه متعلق بإنتاج مقاومات الأمراض السرطانية مثل تاكسول وفنبلاستين وفنكريستين، حيث تُعزل جميعها من مصادر نباتية. ومن المثير للاهتمام في هذا المجال هو الوصول إلى نهاية تاريخية لهذا الموضوع، ألا وهي توجه الصناعة لاستعمال النباتات عابرة الجينات لإنتاج مركبات مفيدة.

إن أول بروتين إنساني أمكن إنتاجه في النباتات هو ألبومين مصل الإنسان الذي أنتج عام 1990 بكلا النباتين المهندسين وراثيًّا؛ التبغ والبندورة. ومنذ ذلك الحين فإنّ ما يزيد على عشرين بروتينًا تَمَّ إنتاجها في نباتات عابرة الجينات، وأول محصول من المواد الصيدلانية عابرة الجينات هو في طريقه عبر العمليات التنظيمية.

مطاعيم تحت الوحدة الهجينة

من الصفات المثيرة للاهتمام في هندسة النباتات الْوراثيّة، إنتاج مطاعيم تحت الوحدة الهجينة التي نُوقشت سابقًا. وأحد هذه المطاعيم هو ما أُنتج في البطاطا الْمعدّلة وراثيًّا، وهو مطعوم فيروس نورولك. هذا الفيروس غير معروف بشكل عام، إلا أنه وصل إلى عامة الناس عند قيام سفن الرحلات البحرية الكبيرة بإلغاء رحلاتها نتيجة تفشي هذا الفيروس. يخضع هذا المطعوم الآن للتجارب السريرية. وكذلك نجد أن مطعومًا لفيروس داء الكلب أُنتج في نبات السبانخ عابر الجينات يخضع أيضًا للتجارب السريرية.

إن من أهم وأوضح الفوائد المتوخاة من استعمال النباتات لإنتاج المطاعيم هو مدى إنتاجها الواسع، فقد قُدِّر أن 250 فدانًا من الأرض الزّراعيّة المحمية يمكنها إنتاج بطاطا عابرة الجينات، تكفي لتزويد جنوب شرق آسيا باحتياجاتها كلّها من مطعوم التهاب الكبد B.

الأجسام المضادة الهجينة

عند توظيف الاستنسال الجزيئي وعلم المناعة، يمكننا إنتاج أجسام مضادة، عادة ما تنتج عن طريق خلايا الدم في الفقريات، في نباتات عابرة الجينات. إن إنتاج الأجسام المضادة وحيدة السلالة في أنظمة نباتية، يشكّل عمليةً واعدة في استعمال النباتات عابرة الجينات.

يتم الآن إنتاج عدد من الأجسام المضادة العلاجية الواعدة في النباتات. ووصل بعضها إلى مراحل التجريب السريري. أحد الأمثلة المثيرة للاهتمام هو جسم مضاد للبكتيريا المسببة لتسوس الأسنان. ومثل هذا الأمر سيجعل زيارة طبيب الأسنان مريحة أكثر، حيث يستعمل الجسم المضاد خارجيًّا بدلًا من استعمال آلة الحفر.

الحيوانات الداجنة يمكن أيضًا تعديلها وراثيًّا

لقد اعتاد الإنسان على تكثير الحيوانات الداجنة واختيارها لمئات السنين الماضية. ومع اختراع الهندسة الْوراثيّة، فإنّ هذه الطريقة يمكن تسريعها، ويمكن إدخال جينات من أنواع أخرى. فإنتاج المواشي العابرة للجينات ما زال في مراحله الأولى، ومن الصعب معرفة أين سينتهي ذلك. وفي هذه المرحلة، فإنّ أحد استعمالات التقنيات الْحيويّة ليس إنتاج عابرات الجينات، وإنما استعمال DNA لتعريف الحيوانات، ولرسم الخرائط الجينية للجينات المرتبطة ببعض هذه الصفات كصلاحيتها غذاءً للحيوانات المستعمِلة للأغذية، وقوام الشعر أو الفرو، وبعض صفات أخرى في منتجات الحيوانات. إن استعمال التقنيات الجزيئية مقرونة بالقدرة على استنسال الحيوانات الداجنة (الفصل الـ 19) يمكن أن يؤدي إلى إنتاج حيوانات مُحَسَّنَة لأغراض وصفات اقتصادية مرغوب فيها.

إن تقنية إنتاج الحيوانات عابرة الجينات لم تحقق النجاح الذي كان متوقعًا في البداية. ففي البدايات، تَمَّ هندسة الخنازير لزيادة إنتاج هرمون النمو على أمل أن يؤدي ذلك إلى زيادة النمو وتسريعه. وقد بينت هذه الحيوانات أن قدرتها على الزيادة في النمو ضئيلة، وأنها تحوي كميات قليلة من مستويات الدهون ما يؤدي إلى تغيير المذاق، إضافة إلى ظهور بعض الصفات الضارة الأخرى. أدى هذا، إلى النظر في إنتاج مواد صيدلانية في الحليب بوصفها هدفًا أساسيًّا في هندسة الحيوانات، وهذا مثال آخر لإنتاج الصيدلانيات في الصيدلة الْحيويّة. إن أحد الأخطار المثيرة للاهتمام في عبور الجينات هو الخنزير البيئي EnviroPig، حيث هُندس هذا الحيوان بإدخال جين أنزيم الفايتيز ووضعه تحت سيطرة مثير خاص بالغدة اللعابية. هذا الأنزيم ، يُحطّم الفوسفور في الغذاء ما يؤدي إلى تقليل إخراج الفوسفات إلى 70%. ولأنّ الفوسفات مشكلة أساسية في مخلفات الخنزير، فإنّ تقليلها سيكون مكسبًا بيئيًّا كبيرًا.

وكما هي الحال في المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا، هناك مخاوف من استعمال اللحوم من الحيوانات الْمعدّلة وراثيًّا (عابرة الجينات). وفي هذا المجال، فإنّ هذه المخاوف وعلى ما يبدو، غير مبنية على أسس علمية متينة. ومع ذلك، فإنّ كلّ حيوان عابر الجينات يُنتج لغرض الاستهلاك يجب أن يُنظر إليه حالة بحالة.

يمكن إدخال الجينات للنباتات باستعمال بلازميدة Ti. لقد عُدِّلت المحاصيل لمقاومة المبيدات النباتية، ولإنتاج سُمّ بكتيري لقتل الحشرات. وقد عُدِّل الأرز الذهبي لإنتاج مولد فيتامين A في الإندوسبيرم. الصيدلة الْحيويّة هي إنتاج الصيدلانيات باستعمال النباتات والحيوانات لإنتاج بروتينات مفيدة. وقد أثارت هذه التقنيات في مجملها قضايا أخلاقية.

مراجعة المفاهيم

17-1 تعديل DNA

إن بناء DNA الهجين من جزيئات من مصدرين مختلفين أدى لحقل التقنية الْحيويّة الجزيئية.

- تستعمل الأنزيمات المحدِّدة لتفتيت جزيئات DNA في مواقع مُحَدَّدَة.
- أتاحت الأنزيمات المحدِّدة رسم الخريطة الفيزيائية لـ DNA وتخليق جزيئات هجينة.
- يميز النوع الثاني II من الأنزيمات المحددة تسلسلات DNA ذات 4-12 قاعدة طولًا وذات محور تماثل مركزي، وتُقرأ بالطريقة `5 إلى `3 نفسها في أحد الأشرطة، كما تُقرأ في الاتجاه المعاكس (أيضا `5 إلى `3).
- إن فصل مثل هذه التسلسلات عند القاعدة نفسها في كلّ شريط سيؤدي إلى إنتاج قطع بنهايات لزجة، أو بنهايات مكملة لبعضها (الشكل 17-1).
- يقوم أنزيم رابط DNA بربط قطعتين لتكوين جزيء DNA مستقر.
- تفصل عملية النّهجير الْكهربائيّ بالهلام قطع DNA اعتمادًا على الحجم باستعمال تيار كهربائي يسبب هجرة DNA عبر وسط من الهلام. وتهاجر القطع الصغيرة لمسافات أبعد من القطع الكبيرة (الشكل 17-2).
- يُدخَل DNA إلى الخلايا بعملية تُسمّى التّحول الْوراثيّ.

17-2 الاستنسال الجزيئي

المُستنسَلُ نسخةٌ مطابقة تمامًا للأصل. تشمل عملية الاستنسال الجزيئي عزل تسلسل من DNA وإنتاج كثير من النسخ المتطابقة.

- يستعمل حامل لتكثير DNA الهجين في خلايا العائل.
- الحوامل البلازميدية تتكون من DNA غير كروموسومي صغير، وتستعمل لاستنسال قطع صغيرة نسبيًّا من DNA.
- حوامل الفيروس لامدا تمتلك مجموعًا جينيًّا خيطيًّا يمكنه استقبال جزيئات DNA أكبر.
- تستعمل الكروموسومات الصناعية لاستنسال جزيئات كبيرة من DNA.
- مكتبة DNA أو المكتبة الجينومية مجموعة من قطع المحتوى الجيني كله أمكن إدخالها في خلايا العائل.
- للحصول على الأجزاء المفعَّلة من المحتوى الجيني، فإنّ DNA المكمل يمكن عمله من RNA رسول باستعمال أنزيم الاستنساخ العكسي (الشكل 17-5).
- يمكن تفكيك بناء DNA وإعادة بنائه. وإعادة بناء الأشرطة المكملة من مصادر مختلفة يُسمّى التهجين.
- إن عملية التهجين أداة قوية لإيجاد عينات DNA في مخلوط معقد، ويمكن وضع علامة على DNA ومن ثم استعماله لإيجاد أشرطة مكملة له من خلال التهجين.
- إن عملية التهجين هي الطريقة الأعم للتعرف إلى مستنسل في مكتبة DNA.

17-3 تحليل DNA

يوفر الاستنسال الجزيئي DNA خاصًّا للتحوير المتقدم.

- كانت الخرائط الأولى لجزيئات DNA تمثل مواقع فصل أو قطع الأنزيمات المحدِّدة.
- يمكن إنتاج هذه الخرائط عن طريق عمل الأنزيمات، أو باستعمال حواسيب تبحث في تسلسلات DNA معروفة بحثًا عن مواقع الانفصال.
- عملية الطبع، يتم بها فصل خليط مركب باستعمال النّهجير الْكهربائيّ، ونقلها إلى قطعة من ورق الترشيح.
- تُستعمل وصمة ساذرن DNA المعزول من خلية أو نسيج بمرشح تَمَّ تهجينه بـ DNA معلم ومستنسل ليعمل بوصفه مجسًّا.
- تستعمل وصمات نورذرن RNA رسولًا بدلًا من DNA، أمّا طبعات سترن فتستعمل البروتين.
- كانت طريقة تحليل تعدد أشكال طول القطعة المحددة RFLP أول ما استعمل في الكشف عن فروق فردية في DNA.
- تحليل البصمة الْوراثيّة تقنية تستعمل مجسّات لتحديد قطع DNA متعددة الأشكال المتكررة.
- إن تحديد التسلسل الحقيقي للقواعد في جزيء DNA هو المستوى النهائي للتحليل. وهذا يستعمل محاليل إيقاف السلسلة وهجرة كهربائية ذات قوة تحليل عالية (الشكل 17-11).
- تستعمل تقنية الأنزيم المبلمر المتسلسل لتكثير قطعة صغيرة من DNA باستعمال اثنتين من البادئات القصيرة التي تحيط بجانبي القطعة المراد تكثيرها.
- يُستعمل نظام الخميرة ثنائي التهجين لدراسة التفاعلات البروتينية- البروتينية (الشكل 17-13).

17-4 الهندسة الْوراثيّة

الآن، يمكننا تعديل معظم الأنظمة النباتية والحيوانية وراثيًّا من خلال إدخال DNA جديد لها أو تعديل DNA الموجود في الخلايا.

- تحوي حوامل التفعيل مثيرات ومحسنات ضرورية لدفع التفعيل لمادة DNA المدخلة.
- تحوي المخلوقات عابرة الجينات DNA تَمَّ إدخاله عبر حاجز الأنواع.
- عملية التطفير المخبرية تسمح بتغيير مباشر في الجينات المستنسلة التي يمكن بعدها استعمالها لدراسة وظيفة هذه الجينات.
- تم هندسة الفئران الْمعطّل بعض جيناتها لتفقد فعالية جين معين. هذا يوفر للباحث إمكانية إزالة وظيفة جين، ومن ثم تحليل الشكل الخارجي (الشكل 17-14).

17-5 تطبيقات طبية

هناك كثير من تطبيقات الهندسة الْوراثيّة الطبية.

- تنتج البروتينات الإنسانية مثل الأنسولين في البكتيريا.
- يمكن للحمض النووي DNA الهجين أن يبسط إنتاج المطاعيم بإنتاج مطاعيم تحت الوحدة الآمنة ومطاعيم DNA تعتمد على استجابة الجسم المناعية الخلوية.
- يمكن استخدام المعالجة الجينية، أي إضافة نسخة من جين فعال، لمعالجة أمراض الإنسان الْوراثيّة.
- إحدى المشكلات التي واجهت تجارب المعالجة الجينية تلك التي تسببت المعالجة خلالها في حدوث حالات لوكيميا في بعض المرضى.

17-6 التّطبيقات الزّراعيّة

لقد أمكن تعديل المحاصيل لمقاومة الأمراض، وتحمل مبيدات الأعشاب، وتغيير القيمة الغذائية، وإنتاج مواد صيدلانية وحيوية فعالة.

- تم استعمال البلازميدة المسببة للأورام Ti من بكتيريا النبات لنقل جينات لنباتات عريضة الأوراق.
- مقاومة النبات لمبيد الجلايفوسيت عملية تعديل وراثية شائعة. هذا أدى إلى عدم الحاجة إلى عملية التعشيب في الزراعة.
- تم نقل بعض البروتينات البكتيرية المقاومة للحشرات إلى نباتات محاصيل لجعلها مقاومة للآفات.
- عُدِّل الأرز الذهبي ليحوي معدلات أعلى من مولد فيتامين A ، وهذا ذو أهمية في الغذاء في الدول الأقل تطورًا.
- لقد أثار تبني المحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا قضايا اجتماعية.
- تستعمل النباتات عابرة الجينات بوصفها أنظمة حيوية صيدلانية لإنتاج مواد صيدلانية، مثل مصل الألبومين، ومطاعيم تحت الوحدة، والأجسام المضادة.
- تقنيةُ النباتات عابرة الجينات أكثر نجاحًا من تلك التقنية في الحيوانات.
- أحدُ الخنازير الْمعدّلة وراثيًّا حديثًا والناجحة ينتج أنزيمًا يؤدي إلى تقليل إخراجها للفوسفات الضار في البيئة.

أسئلة مراجعة

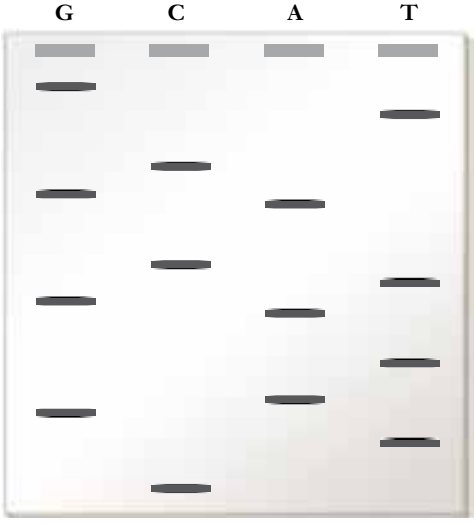
اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. جزيء DNA الهجين:
   أ . يُنتج خلال عملية العبور التي تحصل في الانقسام الاختزالي.
   ب. يُبنى من DNA من مصادر مختلفة.
   جـ. يُبنى من خلطات جديدة من DNA من المصدر نفسه.
   د . يُنتج خلال عملية الانقسام الخلوي المتساوي.
2. الأنزيمات المحددة من صنف II مفيدة؛ لأنها:
   أ . تحطّم DNA من النهاية 5'.
   ب. تفصل DNA في مواقع عشوائية.
   جـ. تفصل DNA في تسلسلات خاصة.
   د . تفصل DNA المعدل فقط.
3. أساس عزل قطع DNA باستعمال التّهجير الْكهربائيّ بالهلام هو:
   أ . الشحنة السالبة على DNA.
   ب. حجم قطعة DNA.
   جـ. تسلسل القطع.
   د . وجود الصبغة.
4. كيف يستعمل جين بيتا محلل جلاكتوساید في بناء البلازميدة؟
   أ . الجين هو مثير حساس لوجود سكر جلاكتوز.
   ب. إنه يشكل أصل التضاعف.
   جـ. إنه موقع الاستنسال.
   د . إنه مؤشر لإدخال DNA.
5. المنطق الأساسي لتحديد تسلسل DNA أنزيميًّا هو إنتاج:
   أ . مجموعة منظمة من قطع DNA أنتجتها الأنزيمات القاطعة.
   ب. مجموعة منظمة من قطع DNA تبدأ كلّ واحدة منها بقاعدة مختلفة.
   جـ. بادئات تسمح بتكثير المنطقة بين البادئتين.
   د . مجموعة منظمة من قطع DNA التي تنتهي بقواعد معروفة.
6. مكتبة DNA هي مجموعة:
   أ . الجينات المرتبة في أيّ مخلوق.
   ب. من الحوامل.
   جـ. من البلازميدات الموجودة في بكتيريا قولون *E.coli* منفردة.
   د . من قطع DNA تمثل المحتوى الجيني للمخلوق.
7. يستعمل التهجين الجزيئي في:
   أ . إنتاج DNA مكمل من RNA رسول.
   ب. إدخال حامل في خلية بكتيريا.
   جـ. مسح المكتبة الجينية.
   د . إحداث طفرات في الجينات.
8. الأنزيمات المستعملة في تفاعل الأنزيم المبلمر المتسلسل هي:
   أ . أنزيمات قاطعة.
   ب. أنزيم مبلمر RNA مقاوم للحرارة.
   جـ. أنزيم الاستنساخ العكسي.
   د . أنزيم مبلمر DNA مقاوم للحرارة.
9. يكشف نظام الخميرة ثنائي التهجين عن تفاعلات البروتين مع البروتين عن طريق:
   أ . ارتباط شركاء الاتحاد (الدمج) ينتج إشارة متدرجة تسبب تعديل تفعيل الجين.
   ب. الكشف عن شركاء الاتحاد (الدمج) باستعمال المجسّ الإشعاعي لوصمة وسترن.
   جـ. ربط البروتين- بروتين لشركاء الدمج بسبب تفعيل الجين المخبر.
   د . ربط البروتين- بروتين لشركاء الدمج بسبب تفعيل جين *Ga14*.
10. يستعمل التطفير في المختبر:
    أ . لإنتاج كميات كبيرة من البروتين المطفر.
    ب. لإحداث طفرات في مواقع معينة في الجين.
    جـ. لإحداث طفرات عشوائية في جينات مكررة.
    د . لتخليق مخلوقات تحمل جينات غريبة.
11. إدخال جين لبروتين سطحي من فيروس ذي أهمية طبيًّا مثل فيروس القوباء في فيروس آمن مثالٌ على:
    أ . مطعوم DNA.
    ب. وراثة راجعة.
    جـ. معالجة جينية.
    د . مطعوم تحت الوحدة.
12. بلازميدة Ti هي حامل:
    أ . يمكنه نقل جينات هجينة إلى المحتوى الجيني لنبات.
    ب. يمكن استعماله لإنتاج بروتينات هجينة في الخميرة.
    جـ. متخصص في نباتات محاصيل الحبوب، مثل الأرز والذرة.
    د . متخصص في الخلايا الجذعية الجنينية.
13. واحدٌ مما يأتي لا يمثل فائدة ممكنة للمحاصيل الْمعدّلة وراثيًّا:
    أ . زيادة القيمة الغذائية للأفراد.
    ب. تحسين مقاومة الآفات الحشرية.
    جـ. تحسين مقاومة مبيدات الأعشاب واسعة الفعالية.
    د . تحسين مقاومة مبيدات الحشرات.

أسئلة تحدٍّ

1. إن كثيرًا من البروتينات الإنسانية مثل الهيموجلوبين فعالة فقط بوصفها مجموعة مكونة من تحت وحدات متكررة. تُجمع هذه الوحدات الفعالة في الشبكة الأندوبلازمية وأجسام جولجي في الْخليّة حقيقيّة النواة. ناقش المحددات، إن وجدت، لإنتاج الهيموجلوبين المهندس وراثيًّا بشكل كبير.
2. حُلِّل تسلسل قطعة قصيرة من DNA أنزيميًّا باستعمال نيوكليوتيدات ثنائية منقوصة الأكسجين. استعمل الهلام المبين أدناه لتحديد تسلسل DNA ذلك.

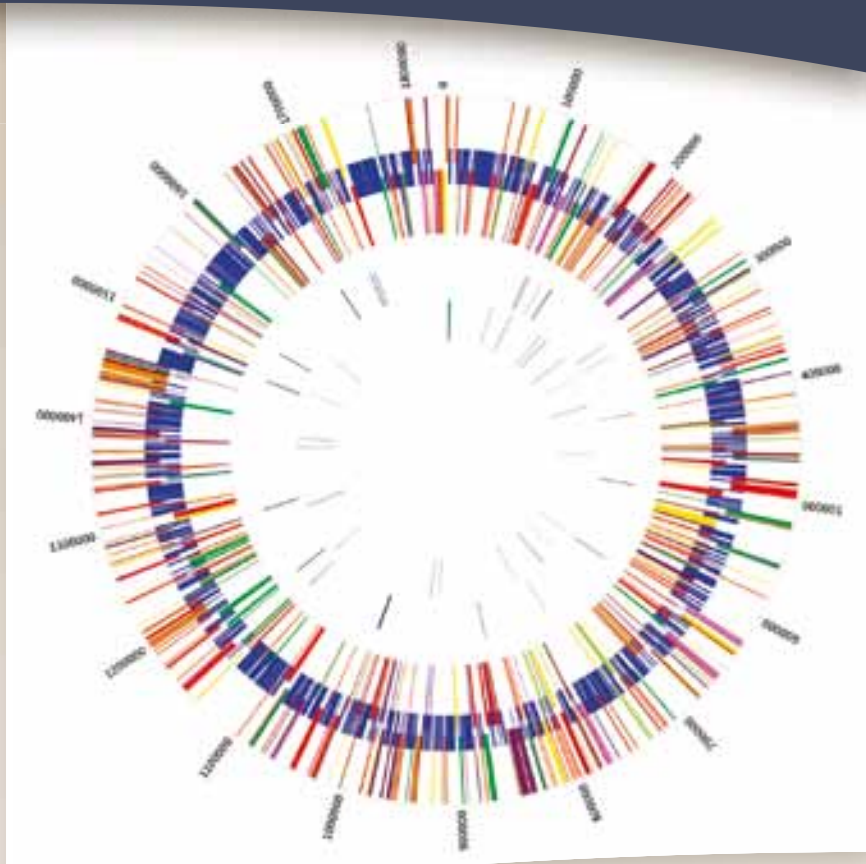


هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. لتتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 18

علم الجينومات

Genomics



سوجز المفاهيم

18-1 خرائط الجينومات

- يمكن إنتاج أنواع مختلفة من الخرائط الطّبيعيَّة.
- تُعدُّ المواقعُ مُعلَّمة التعاقب لغةً مشتركة للخرائط الطّبيعيَّة
- تزودنا الخرائط الجينية برابط مع الطّرز الظاهرية
- يمكن ربط الخرائط الطّبيعيَّة منطقيًّا مع الخرائط الجينية

18-2 معرفة تعاقب كامل الجينوم

- تتطلب معرفة تعاقب الجينوم سلالات جزيئية كبيرة.
- تُباشَر معرفة تعاقب كامل الجينوم بطريقتين: سلالة إثر سلالة وعشوائيًّا.
- استخدم مشروع جينوم الإنسان طريقتي تحديد التعاقب.

18-3 وصف المحتوى الجيني (الجينوم)

- وجد مشروع جينوم الإنسان عددًا من الجينات أقل مما هو متوقع.
- يتطلّب العثور على الجينات في بيانات التعاقب بحثًا مُحَوْسَبًا.
- تحتوي الجينومات على DNA مُشَفِّر وغير مُشفِّر.
- تُعَرِّف علامات التعاقب المُعَبَّر عنها الجينات المنسوخة.
- تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد هي اختلافات قاعدة وحيدة بين الأفراد.

18-4 علم الجينومات والبروتيومات

- يكشف علم الجينومات المقارن عن مناطق محافظة في الجينوم.
- يسمح التصاحب الجيني بمقارنة الجينومات غير معروفة التعاقب.
- تبادلت جينومات العضيّات الجينات مع الجينوم النووي.
- يكشف علم الجينومات الوظيفية عن وظائف الجين على مستوى الجينوم.
- يهتم علم البروتيومات بالانتقال من الجينات إلى البروتينات.
- يكشف المسح على نطاق واسع عن تفاعل بروتينين معًا.

18-5 تطبيقات علم الجينومات

- يستطيع علم الجينومات المساعدة على التّعرّف إلى الأمراض المعدية.
- يستطيع علم الجينومات المساعدة على تحسين المحاصيل الزراعية.
- يثير علم الجينومات موضوعات أخلاقية تتعلق بملكية المعلومات الوراثية.

مقدّمة

سارت الاكتشافات في العلوم الحياتية في الثلاثين سّنة الماضية بسرعة النُّمو الأسيّ للسكان. وبدءًا من عزل أول مجموعة جينات في منتصف السَّبْعينيّات من القرن الماضي، أنجز الباحثون أول تعاقب لمحتوى جيني (المحتوى الجيني هو كامل المادة الْوراثيَّة في نواة الخلية لمخلوق ما، وسنشير إليه من الآن فصاعدًا بكلمة جينوم) كامل في منتصف التِّسْعينيّات من ذلك القرن- ذلك لنوع البكتيريا *Haemophilus influenza* التي تظهر في الصورة الجانبية (الجينات ذوات الوظائف المتشابهة تظهر باللون نفسه). ومع مطلع القرن الواحد والعشرين، أكمل مجتمع البيولوجيا الجزيئية مُسَوَّدة تعاقب جينوم الإنسان.

بعبارة أخرى، بدأت الإنجازات العلمية باستنسال جين واحد، إلى أنْ وصلت إلى تحديد تعاقب القواعد لمليون زوج منها خلال عشرين عامًا، ثم تحديد تعاقب القواعد لمليار زوج منها خلال السنوات الخمس التي أعقبتها. إنّ تتابع الأحداث ليس خطيًّا؛ لأن بعضها كان متداخلًا بدرجة ما- لكن الأمر يبدو كما لو أنّ سيّارة اختُرِعَت يوم الإثنين، ثم صُنّعت على خط التجميع يوم الأربعاء الذي يليه، وفي يوم الجمعة بدأ سباق الفورميولا واحد.

في الفصل السابق، تعلمنا أساسيات طرق البيولوجيا الجزيئية. وفي هذا الفصل، سنرى كيف طُبِّقت هذه الطرق لتحليل الجينوم الكامل. يدمج هذا التحليلُ بين الوراثة الجزيئية التقليدية والتقاناتِ الحيوية.

1-18 خرائط الجينومات

تستخدم الخرائط للاستدلال على المواقع، وبقدر الدّقة التي نرغب في الوصول إليها، فإننا قد نستخدم عددًا من الخرائط ذات تفاصيل مختلفة. نستطيع عن طريق علم الجينومات أنْ نستدلّ على موقع جين معين في جزء من الكروموسوم، ثم في تحت-منطقة في الكروموسوم، وفي النهاية نستدل على موقع هذا الجين بدقة في تعاقب مُعَيَّن على الكروموسوم. ولمعرفة تعاقب الجين، علينا أنْ نعرف تعاقب الجينوم كاملًا، وقد كان ذلك صعبًا، وفي غير متناولنا في وقت من الأوقات لأسباب تقنية. إن معرفة تعاقب الجينوم كاملًا غير مُجدٍ إذا لم يتوافر لدينا أنواع خرائط أخرى. لذا، فإنَّ إيجاد جين معين داخل الجينوم يشبه محاولة العثور على بيتك في خريطة العالم.

للتغلب على هذه الصعوبة، فإنَّ الخرائط الجينومية تُبنى على مستويات مختلفة من التفاصيل، وتستخدم أنواعًا مختلفة من المعلومات. يمكننا أن نفرق بين الخرائط الجينية *Genetic maps* والخرائط الطّبيعيَّة *physical maps*. **فالخرائط الجينية Genetic maps**، هي خرائط مُجَرَّدة تحدد المواقع النسبية للجينات على الكروموسومات بناءً على تكرار إعادة الاتحاد (الفصل الـ 13). أما **الخرائط الطّبيعيَّة Physical map**، فإنها تَستخدم معالم محددة، في تعاقب DNA، وتتراوح بين مواقع القطع (التحديد) (ذُكرت في الفصل السابق) وأقصى مستوى من التفصيل: التعاقب الفعلية لـ DNA.

يمكن إنتاج أنواع مختلفة من الخرائط الطّبيعيَّة

لكي نفهم الخرائط الجينومية، من المهم أن يكون لدينا معالم طبيعية تكون على مستوى أقل وضوحًا من مستوى التعاقب الكامل. وفي الحقيقة، حتى قبل التفكير في مشروع جينوم الإنسان، كانت هناك حاجة إلى معرفة المعالم على الخرائط الطّبيعيَّة لـ DNA السلالة. هناك ثلاثة أنواع من الخرائط الطّبيعيَّة، هي: الخرائط المُحدِّدة التي تُبنى عن طريق الأنزيمات المُحدِّدة (القاطعة)، ونمط أشرطة الكروموسوم، وينتج عن طريق طُرُق الصبغات الخلوية، وخرائط الهجينات المشعة، التي تنتج باستخدام الإشعاعات لتقطيع الكروموسومات.

الخرائط المُحدِّدة

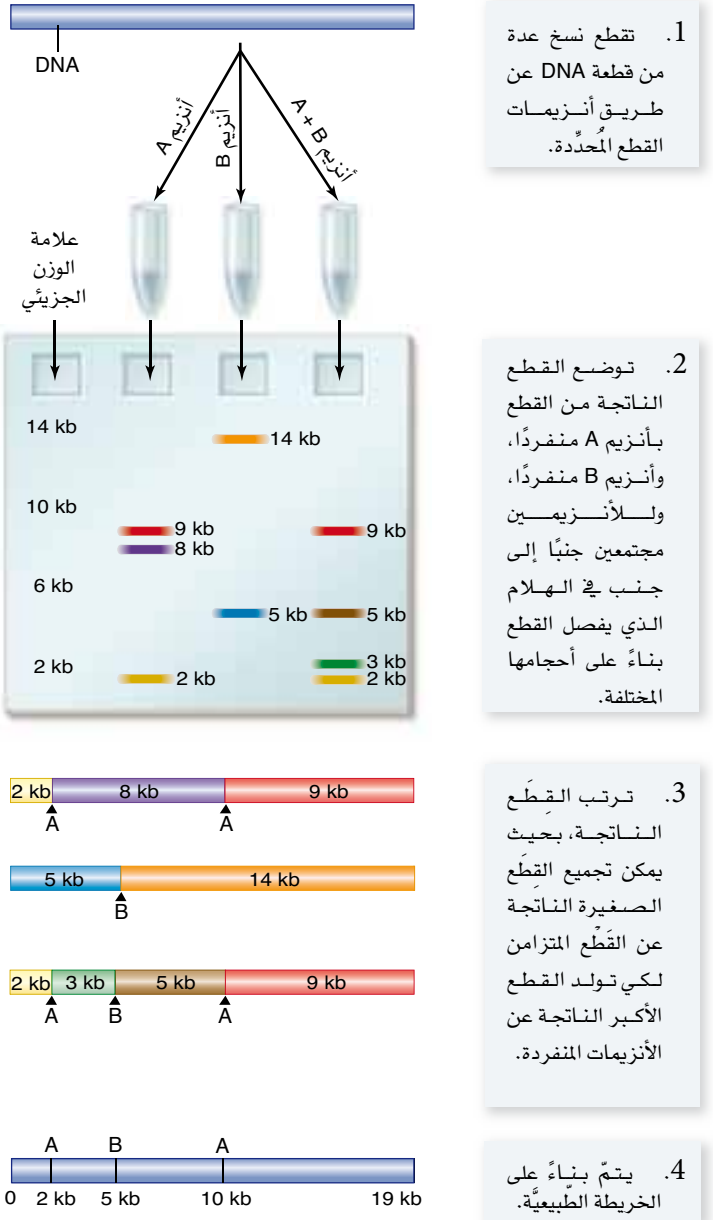
تقاس المسافات بين «المعالم» على الخرائط الطّبيعيَّة بالأزواج القاعدية (1000 زوج قاعدي {bp} يساوي 1 كيلو قاعدة، kb). ليس من الضروري معرفة تعاقب DNA لقطعة DNA ما من أجل إنشاء خريطة طبيعية، أو ما إذا كان DNA يحتوي على معلومات لجين معين.

كُوِّنت أول خريطة طبيعية بقطع DNA جينومي بأنزيمات مُحدِّدة مختلفة باستعمالها منفردة، أو بتوليفات من أنزيمات مختلفة (الشكل 18-1). ثم استُخدِم تحليل نمط القِطَع الناتجة لتكوين خريطة.

وبالنظر إلى القطع الكبيرة من DNA فإنَّ هذه الطريقة تُكَرَّر، ثم تُستعمل القطع الناتجة، ويُعاد لصقها مستفيدين من المناطق المتداخلة بين القطع. ووضعها بوصفها قطعًا كاملة متصلة ومتلاصقة تُسمَّى **السلسة المتصلة Contig**. ومثال على المصادفة البيولوجية، فقد جاءت أول أنزيمات مُحدِّدة يتمّ عزلها من *Haemophilus*، الذي كان أول جينوم يُحدّد تعاقبه بشكل كامل لمخلوق حرّ.

نمط أشرطة الكروموسومات

وجد علماء الخلية الذين يدرسون الكروموسومات بالمجهر الضَّوئيّ أنه عند استخدام صبغات مختلفة يمكن الحصول على نمط متكرر من الأشرطة على



الشكل 18-1

يمكن استخدام أنزيمات القطع المُحدِّدة لبناء الخرائط الطّبيعيَّة. يحطَّم DNA باستخدام اثنين من الأنزيمات المُحدِّدة المختلفة إما منفردة أو بتوليفات، ثم يستخدم التهجير الكهربائي لفصل القطع. يمكن معرفة مواقع القطع واستنساخها بمقارنة أحجام القطع الناتجة من التفاعل المنفرد مع التفاعل ذي التوليفات.

الكروموسومات. بهذه الطريقة، يمكنهم التّعرّف إلى الكروموسومات وتقسيمها إلى تحت مناطق بناءً على نمط الأشرطة.

يسمح استخدام صبغات مختلفة ببناء خرائط خلوية لكامل الجينوم. وباستخدام هذه الخرائط الطّبيعيَّة على نطاق واسع، فكأنما تقوم بالنظر إلى خريطة بلد كامل، فهي تضم كامل الجينوم، ولكن بدرجة منخفضة من التفاصيل.

استُخدمت الخرائط الخلوية لوصف الكروموسومات غير الطّبيعيَّة وربطها بأمراض الإنسان، مثل مرض اللوكيميا النخاعية المزمن. يحدث هذا المرض

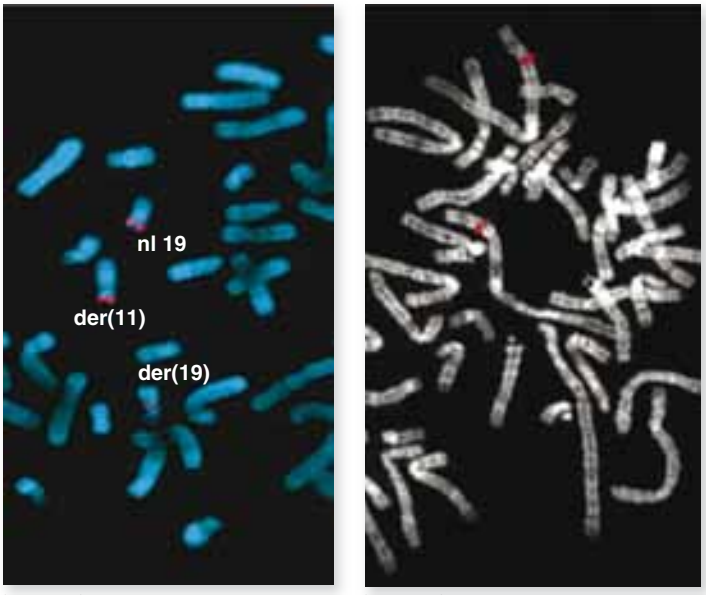
بسبب انتقال متبادل بين الكروموسوم 9 والكروموسوم 22، ما يؤدي إلى حدوث تغير في أنزيم مفسفر التايروسين، فيجعله نشطًا بشكل دائم، وينتج عنه تكاثر خلايا الدم البيضاء.

لقد أضاف استخدام التهجين مع DNA المستنسل إلى استخدام تحليل أشرطة الكروموسوم. ففي هذه الحالة، ولأنّ التهجين يستخدم الكروموسوم كاملًا، فقد سمي التهجين في الموقع *in situ hybridization*. ولأننا نستخدم مسبارًا معلمًا باللَّصف (اللمعان أو الإضاءة) فقد سمِّيت العملية برمتها **التهجين اللامع في الموقع Fluorescent in situ hybridization (FISH)** (الشكل 18-2).

خرائط الهجين الإشعاعي

تستخدم خرائطُ الهجين الإشعاعي الإشعاعات لتقطع وتجزىء الكروموسوم بشكل عشوائي، ثم تُستَرجع القِطَع بدمج الخلية التي تعرضت للإشعاع مع خلية أخرى. ولبناء خرائط التهجين الإشعاعي لجينوم الإنسان، تُعرَّض خلية موضوعة في مستنبت زراعيٍّ إلى كمية كبيرة وقاتلة من الإشعاعات، ثم تُدمج مع خلية مأخوذة من جرذ. تصبح الكروموسومات المتقطعة الناتجة عن الإشعاعات مندمجة مع كروموسومات خلية الجرذ. ويمكن التّعرّف إلى هذه القطع بناءً على نمط الأشرطة، وباستخدام جينات معروفة في التهجين اللامع في الموقع FISH.

ولأغراض بناء الخريطة، بُنيت سلسلة من هذه الخلايا الهجينة التي لها قِطَع متداخلة من كروموسومات الإنسان، وتمثل كامل الجينوم. سوف نتناول استخدام الهجينات الإشعاعية في الخرائط بصورة مفصلة لاحقًا.



الشكل 18-2

استخدام التهجين اللاصف في الموقع لربط DNA المستنسل مع الخرائط الخلوية. أ. جزء من النمط النووي لكروموسومات إنسان باستخدام أشرطة G. تشير الأشرطة الحمر إلى تهجين مع DNA المستنسل. ب. المسبار الذي استخدم في الجزء (أ) يُظهر انتقالًا في هذا المريض ما أدى إلى تشوه خلقي متعدد وتخلف عقلي.

تُعَدُّ المواقعُ مُعلَّمة التعاقب لغةً مشتركة للخرائط الطّبيعيَّة

يتطلب بناء الخريطة الطّبيعيَّة جهودًا متضافرة لكثير من المختبرات في أماكن مختلفة. لقد ظهرت صعوبات عدة من مقارنة النتائج الصادرة من مختبرات مختلفة، ومن تكامل الأنواع المختلفة من معالم DNA المستخدمة في الخرائط الطّبيعيَّة والخرائط الْوراثيَّة.

تَمَّ التطرق لهذه المشكلة في المراحل الأولى من مشروع جينوم الإنسان، ومن ثَمَّ التوصل إلى حلّ لها بوضع لغة جزيئية مشتركة لوصف الأنواع المختلفة من المعالِم المحددة.

تعريف المعالِم المشتركة

لأنّ المعلومات الْوراثيَّة تعتمد بشكل أساسي على تعاقب DNA، فمن الضروري أنْ تكون هذه اللغة المشتركة معتمدة على تعاقب DNA، ولكن لا تتطلب توليد كمية كبيرة من التعاقب لأي معلَم محدد. لقد كان الحل في الموقع **معلم التعاقب Sequence-tagged site**، أو **STS**. هذا الموقع امتداد صغير من DNA وهو فريد في الجينوم، أي إنه يحدث مرة واحدة فقط.

تُعرَّف حدود الموقع معلم التعاقب عن طريق بوادئ تفاعل المبلمر المتسلسل، لذا يمكن التّعرّف إلى الموقع معلَّم التعاقب من خلال تفاعل المبلمر المتسلسل باستخدام أيِّ DNA بوصفه قالبًا (انظر الفصل الـ 17). تتراوح أطوال هذه المواقع من 200 -500 زوج قاعدي فقط، وهي كمية من التعاقب يمكن تحديدها بسهولة. ويمكن أنْ يكون للموقع معلم التعاقب معالِم محددة أخرى- مثلًا، جزء من جين مستنسل معروف الخريطة الجينية، أو موقع أنزيم محدِّد متعدد الشكل. يمكن تحويل أي علامة تَمَّ رسم خريطتها إلى موقع معلم التعاقب بتحديد تعاقب 200- 500 زوج قاعدي.

استخدام الموقع معلم التعاقب

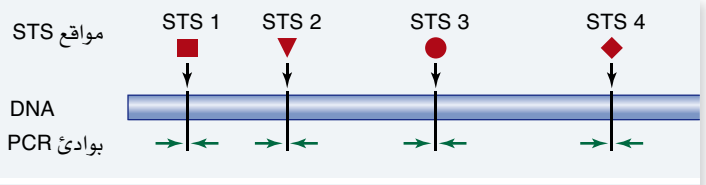
في حين تُنتَج الخرائط، يتمّ التّعرّف إلى موقع معلَّم التعاقب الجديد وإضافته إلى قاعدة البيانات. ولكلّ موقع معلم التعاقب، هناك قاعدة بيانات تشير إلى موقعه على الجينوم، تُستخدم بوادئ تفاعل المبلمر المتسلسل للتعرف إليها. وبذا يستطيع أيّ باحث أنْ يتأكد من وجود الموقع معلم التعاقب أو غيابه في أي DNA يقوم بتحليله ودراسته.

بالإمكان لصق قطع DNA باستخدام الموقع معلم التعاقب بالتّعرّف إلى المناطق المتداخلة في القطع. ونظرًا لكثافة المواقع معلمة التعاقب العالية في جينوم الإنسان، وسهولة التّعرّف إلى الموقع معلم التعاقب في سلالة معينة، فإنَّ الباحثين استطاعوا تكوين خريطة طبيعية ذات نطاق واسع يضاهي 3.2 بليون قاعدة في الجينوم في منتصف التّسعينيّات من القرن الماضي (الشكل 18-3). وتمثل المواقع معلَّمة التعاقب المنصة التي يتمّ تجميع سلاسل الجينوم عليها.

تزودنا الخرائط الجينية برابط مع الطّرز الظاهرية

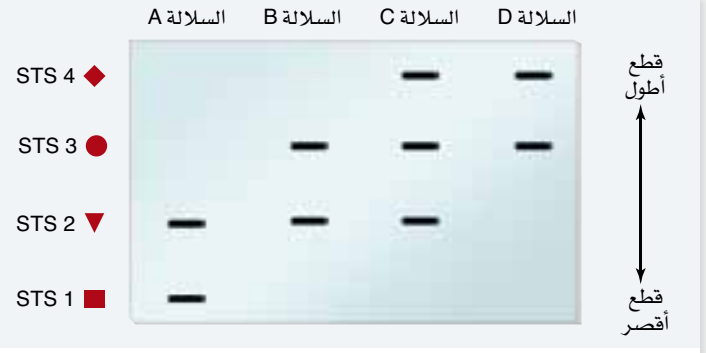
كُوِّنَت أول خريطة (ارتباط) وراثية عام 1911 عندما حدَّد الفريد سترتيفانت خريطة خمسة جينات في الدروسوفيلا. وقد قاس المسافة بين تلك المواقع على الخريطة الجينية بالسنتيمورجان (cM) تخليدًا لذكرى عالِم الوراثة ت. هـ. مورجان، حيث يمثل سنتيمورجان واحد 1% إعادة اتحاد بين مَوقعين. اليوم تَمَّ تحديد مواقع 14.065 جينًا في جينوم الدروسوفيلا.

يمكن عمل خرائط الربط دون معرفة تعاقب DNA لجين معين. وبإمكان البرامج الحاسوبية تكوين خرائط ربط آلاف الجينات دفعة واحدة. ولكن هناك محددات لهذه الخرائط الجينية: أولًا، المسافات بين الجينات التي تُحدّد عن طريق تكرار

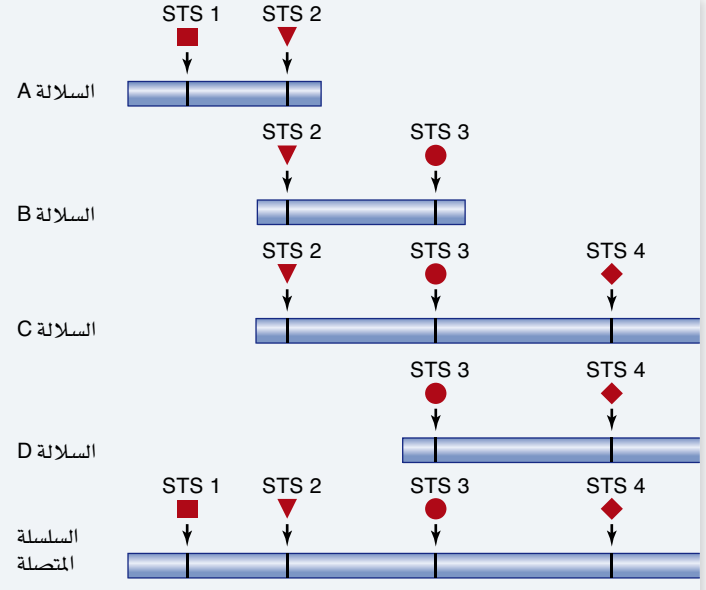


1. تظهر أربعة مواقع معلَّمة التعاقب. يضاعف تفاعل المبلمر المتسلسل كلّ موقع معلَّم التعاقب من السلالات المختلفة في المكتبة. يُكوِّن تضاعفُ كلّ موقع معلَّم التعاقب عن طريق تفاعل المبلمر المتسلسل قطعةً فريدة يمكن التّعرّف إليها.

إجراء تفاعل المبلمر المتسلسل للسلالات الأربع



2. تُفصل نواتج تفاعل المبلمر المتسلسل عن طريق التهجير الكهربائي الذي يؤدي إلى إنتاج قطع مختلفة الحجم لكلّ موقع معلَّم التعاقب.



3. إنّ وجود أو غياب كلّ موقع معلَّم التعاقب في السلالات يُحدِّد مناطق التداخل. النتيجة النهائية هي سلسلة متصلة من السلالات المتداخلة.

الشكل 18-3

تكوين خريطة طبيعية عن طريق المواقع مُعلَّمة التعاقب. مكَّن وجودُ معالِم محددة، تُسمَّى مواقع مُعلَّمة التعاقب في جينوم الإنسان، البدءَ في تكوين الخرائط على مقاييس كبيرة كافية لتشكل أساسًا لمعرفة تعاقب الجينوم كاملًا. (1) تضاف البوادئ (الأسهم الخضر) التي تتعرّف إلى موقع معلَّم التعاقب فريد إلى قطعة من DNA السلالة، ثم يتبعها تضاعف DNA عن طريق تفاعل المبلمر المتسلسل (2) يتمّ فصل نواتج تفاعل المبلمر المتسلسل بناءً على حجم DNA، وعدد المواقع معلَّمة التعاقب التي عُثر عليها في كلّ سلالة (3) يتمّ صَف قطع DNA السلالة بناءً على المواقع معلَّمة التعاقب المتداخلة، ثم تُبنى السلسلة المتصلة.

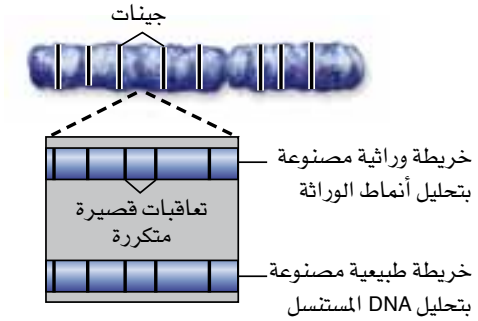
إعادة الاتحاد لا تتوافق مع المسافات الطّبيعيَّة على الكروموسوم. إن شكل DNA الفراغي بين الجينات مختلف، وهذا الشكل يمكن أن يؤثر في تكرار إعادة الاتحاد. هناك قصور آخر، وهو أن الجينات ليست جميعها لديها طرز ظاهرية واضحة يمكن تتبعها بالتزاوجات الانعزالية.

كما وُصِفَ في(الفصل الـ 13)، فإنَّ خريطة الإنسان الْوراثيَّة كثيفة، ولها علامات مميزة توجد عند كلّ 1 cM تقريبًا؛ هذه الدرجة من التفاصيل لم نكن نسمع بها قبل 20 عامًا، وقد أصبح ذلك ممكنًا عن طريق تطوير المعالِم الجزيئية التي لا تسبب تغيرًا في الطّراز الظاهري.

أكثر أنواع المعالِم شيوعًا هي التكرارات الترادفية القصيرة Short tandem repeats أو مواقع STR، وهي تختلف في الطول بين الأشخاص. يتمّ التّعرّف إلى هذه التكرارات عن طريق تفاعل المبلمر المتسلسل لتكثير المنطقة التي تحتوي على هذه التكرارات، ثم وضعها في التهجير الكهربائي لتحليلها. وبمجرد بناء خريطة هذه المعالِم، فإنَّ الجينات وأليلاتها التي تسبب مرضًا معينًا يمكن تحديد خريطتها بالنسبة إلى تلك المعالِم الجزيئية. طوَّر مكتب الاستخبارات الاتحادي FBI ثلاثة عشر موقعًا من هذه التكرارات الترادفية القصيرة التي تشكل البنية الأساسية لبصمات DNA العصرية. وقد تَمَّ فهرسة الأليلات الموجودة عليها تلك المواقع الثلاثة عشر في قاعدة البيانات CODIS التي تستخدم للتعرف إلى مرتكبي الجرائم.

يمكن ربط الخرائط الطّبيعيَّة منطقيًّا مع الخرائط الجينية

نحتاج إلى أنْ نكونَ قادرين على ربط الخرائط الطّبيعيَّة بالخرائط الجينية، خصوصًا تعاقبات الجينوم؛ لكي نساعد على إيجاد التعاقبات الطّبيعيَّة للجينات التي حُدِّدت خريطتها الْوراثيَّة.



تكمن المشكلة في العثور على الجينات في دقة تفاصيل الخرائط الْوراثيَّة التي لا ترتقي إلى مستوى وضوح تعاقب الجينوم. فالعلامات التي تتباعد عن بعضها بمقدار 1 cM قد تتباعد حقًّا بمقدار مليون زوج قاعدي.

لأنّ العلامات التي تُستخدم في بناء الخرائط الْوراثيَّة علاماتٌ جزيئية بشكل أساسيّ، فإنَّ بالإمكان تحديد مواقعها بيسر ضمن تعاقب الجينوم. وبالمثل، فإنَّ بالإمكان وضع أيّ جين تَمَّ استنساله في تعاقب الجينوم، ويمكن تحديد خريطته الْوراثيَّة أيضًا. يؤدي هذا الأمر مباشرة إلى ربط تلقائي بين نوعي الخرائط. تكمن المشكلة المتعلقة في العثور على جينات تَمَّ تحديد خريطتها الْوراثيَّة، ولكن لم يتمّ عزلها كسلالة جزيئية، في طبيعة الخرائط الْوراثيَّة. فالمسافات بين الجينات في الخرائط الجينية ليست متشابهة بسبب الاختلافات في تكرار إعادة الاتحاد على طول الكروموسوم. لذا، فإنَّ 1 cM من المسافة الجينية سوف يُتَرْجَمُ إلى أعداد مختلفة من الأزواج القاعدية في المناطق المختلفة.

تزودنا خرائط الهجين الإشعاعي بالبديل عن الخرائط الْوراثيَّة، وهي سهلة الرّبط مع الخرائط الطّبيعيَّة. تتألف خرائط الهجين الإشعاعي من بيانات ثنائية بسيطة:

وجود علامة جزيئية معينة أو غيابها في كلّ خلية في لوحة الهجين الإشعاعي (وُصفت سابقًا). فكلما تشابهت نتائج أيّ علامتين، زادت درجة القرب بينهما على الكروموسوم، بسبب طبيعة التقطيع العشوائيّ الذي تقوم به الإشعاعات، فإذا وجدت علامتان قريبتان من بعضهما، فسوف يتمّ العثور عليهما على القطعة نفسها، وكلما كانتا بعيدتين عن بعضهما من المرجح الّا تكونا على القطعة نفسها.

تسمح هذه التقنية بترتيب أيّ علامة جزيئية في الجينوم، بما في ذلك المعالِم غير متعددة الشكل، التي لا تصلح من ثم للخرائط الوراثيَّة. يسمح هذا أيضًا بتكامل الخرائط الوراثيَّة والطّبيعيَّة، حيث يمكن وضع كلا النوعين من العلامات على خريطة الهجين الإشعاعية نفسها، وهذا مفيد جدًا في المراحل الأولى من مشروع تعاقب واسع النطاق. بُنيت مثل هذه الخرائط لمعظم أنواع الحيوانات التي يهتم الباحثون بها، إضافة إلى الحيوانات ذات الأهمية الاقتصادية أو الحيوانات الأليفة كالكلاب والقطط. تضمنت معظم مشروعات تعاقب الجينوم مثل هذا النوع من التحليل. حاليًّا، تُستخدم هذه الطريقة في الإنسان للتعرف إلى مواقع النّسخ المعروفة في الجينوم جميعها.

لاحقًا، تخزن كلّ هذه الخرائط في قاعدة بيانات، ثم يصبح بالإمكان ترتيبها ودراستها للمقارنة. المركز الوطني لمعلومات التقانات الحيوية هو فرع من المكتبة الطبية الوطنية، يمثل مستودعًا لهذه البيانات وأكثر. توجد هناك قاعدة بيانات مشابهة في أوروبا واليابان، تُحدّث باستمرار. هناك مخزن ضخم من المعلومات المتوافرة للباحثين في علم الأحياء في أرجاء العالم كلّه.

يمكن أنْ تكون خرائط الجينوم طبيعية أو وراثية. تتضمن الخرائط الطّبيعيَّة الخرائط الخلوية للأشرطة الكروموسومية، وخرائط الأنزيمات المُحدّدة أو خرائط الهجين الإشعاعي. ترتبط الخرائط الْوراثيَّة مع الخرائط الطّبيعيَّة باستخدام المعالِم. يمكن استخدام الهجين الإشعاعي أيضًا لبناء خرائط معتمدة على احتمالية الكسر عن طريق الإشعاعات التي تحدث بين موقعين.

2-18 معرفة تعاقب كامل الجينوم

إن ذروة الخريطة الطّبيعيَّة هي تعاقب أزواج القواعد لكامل الجينوم. وفي المراحل الأولى للبيولوجيا الجزيئية، كانت تتم عملية التعاقب يدويًّا، وقد كانت عملية تستنزف الوقت والجهد. كما ذكرنا سابقًا في (الفصل الـ 17)، زاد تطوير آلات لإجراء هذه العملية آليًّا، من معدل معرفة التعاقب.

تتطلب معرفةُ تعاقب الجينوم على نطاق واسع معرفةَ تعاقب آلية ذات إنتاجية عالية إضافة إلى تحليل حاسوبي (الشكل 18-4). تُعَدُّ معرفة تعاقب الجينوم حالة فيها قادت التكنولوجيا العلم، بدلًا من العكس. خلال ساعات قليلة، يمكن لمُسَلْسِلٍ آلي أنْ يسلسل أزواج القواعد التي يقوم بها فني مختبر خلال سنة كاملة- بما يقارب 50,000 زوج قاعدي. ودون معرفة التعاقب الآلية، فسوف يكون مستحيلًا معرفة تعاقب جينوم كبير كالموجود عند الإنسان.

تتطلب معرفة تعاقب الجينوم سلالات (مستنسلات) جزيئية كبيرة

على الرغم من كونه مثاليًا أن تقوم بعزل DNA من المخلوق، ثم تضعه في جهاز التعاقب، لتعود بعد أسبوع أو أسبوعين فتجد الحاسوب قد أعطاك نسخة مطبوعة من تعاقب الجينوم لذلك المخلوق، فإن الحياة العلمية ليست بهذه السهولة والبساطة. فأجهزة التعاقب تزوِّدنا بتعاقبات دقيقة لقطعة DNA لا يتجاوز طولها 800 زوج قاعدي. ومع هذا، فإنَّ احتمالاتِ حدوث أخطاء واردةٌ. لذا، فإنه يتمّ تعاقب 5-10 نسخ من الجينوم لتقليل الأخطاء.

حتى مع وجود بيانات تعاقب موثوق بها بين أيدينا، فإنَّ كلّ جولة تعاقب تقوم بإنتاج كمية قليلة نسبيًّا من التعاقب. لذا، يجب تجزئة الجينوم، ثم عزل السلالات للقيام بمعرفة تعاقبها (انظر الفصل الـ17).

الكروموسومات الاصطناعية *Artificial chromosomes*

كما ذكرنا في (الفصل الـ 17)، سمح تطوير الكروموسومات الاصطناعية للعلماء باستنسال قطع أكبر من DNA. وقد كان أول جيل من هذه النواقل، كروموسوم الخميرة الاصطناعي (YAC). تُبنى هذه النواقل باستخدام منشأ التضاعف في الخميرة وتعاقب السنترومير، ثم يضاف DNA الغريب إلى هذه البنية. يسمح منشأ تضاعف الكروموسوم المصنع بالتضاعف بشكل مستقل عن الجينوم، ويجعل تعاقب السنترومير الكروموسوم مستقرًّا عند الانقسام المتساوي.

كان كروموسوم الخميرة الاصطناعي مفيدًا في استنسال القطع الكبيرة من DNA، وكان لها كثير من نواحي القصور، مثل القابلية لإعادة الترتيب، أو لفقدان جزء من DNA عن طريق الحذف. وعلى الرّغم من هذه الصعوبات، فإن كروموسوم الخميرة الاصطناعي استُخدم في البداية لبناء الخرائط الطّبيعيَّة عن طريق أنزيمات القطع المُحدِّدة على DNA الكروموسوم الاصطناعي.

الشكل 18-4

معرفة التعاقب الآلية. تُشغِّل وحدة معرفة التعاقب (المُسلسِل) هذه أجهزة تعاقب آلية عدة بشكل متزامن، حيث يعالج كلّ منها 96 عينة في الوقت الواحد.

تُصنع الكروموسومات الاصطناعية الشائعة، خصوصًا تلك التي تُستخدم في معرفة التعاقب بمقاييس كبيرة، في *E.coli*. هذه الكروموسومات الاصطناعية البكتيرية (كروموسومات البكتيريا الاصطناعية)، هي امتداد لاستخدام البلازميدات البكتيرية. تستطيع أن تحمل نواقل الكروموسومات الاصطناعية البكتيرية بين 100 إلى 200 كيلو قاعدي طولًا. أما العيب المصاحب لهذه النواقل فهو أنها تبقى، مثلها مثل الكروموسوم البكتيري، بنسخة واحدة، في حين يوجد البلازميد بنسخ عدة.

كروموسومات الإنسان الاصطناعية

طُوِّرت كروموسومات الإنسان الاصطناعية لكي تنقل قطعًا كبيرة من DNA إلى الخلايا المستنبتة. تُبنى هذه الكروموسومات بتقطيع الكروموسومات وتعاقب السنترومير. حاليًا، توجد هذه الكروموسومات على شكل دائري، ولكن بعضها يمكنه الانعزال بشكل صحيح في الانقسام المتساوي في نحو 98% من المرات. إنّ بناء كروموسوم اصطناعي خطّي في الإنسان غير مُحتمل إلى الآن.

تُباشَر معرفة تعاقب كامل الجينوم بطريقتين: سلالة إثر سلالة وعشوائيًا

إن معرفة تعاقب كامل الجينوم عملية ضخمة. ولقد تَمَّ تطوير طريقتين لمباشرة هذا العمل: الأولى تتمثل في العمل خطوة إثر خطوة، والثانية القيام بالعملية كاملة، ومرة واحدة، ثم الاعتماد على الحاسوب في فرز البيانات. نشأت التقنيتان من المشروعين التنافسيين لتعاقب جينوم الإنسان، كما سيتم وصفه في الجزء الآتي.

تعاقب سلالة إثر سلالة

يُسَهِّل استنسال قطع كبيرة من DNA في كروموسومات البكتيريا الاصطناعية تحليل كامل الجينوم. تتلخص الإستراتيجية المتبعة في بناء خرائط طبيعية أولًا، ثم استخدامها لتحديد موقع سلالات كروموسومات البكتيريا الاصطناعية، لاستخدامها لاحقًا في عملية التعاقب.

يتطلب اصطفاف أجزاء كبيرة من الكروموسوم التّعرّف إلى مناطق تداخل بين السلالات. ويمكن أن يتمّ ذلك ببناء خرائط أنزيمات القطع المُحدِّدة لكلّ سلالة كروموسومات البكتيريا الاصطناعية، أو من خلال التّعرّف إلى مواقع معلَّمة التعاقب في السلالة. فإذا احتوى اثنان من كروموسومات البكتيريا الاصطناعية على الموقع معلَّم التعاقب نفسه، فهذا يعني أنهما متداخلان.

يُنتج اصطفاف عدد من سلالات كروموسومات البكتيريا الاصطناعية قطعًا متلاصقة من DNA تُسمَّى السلسلة المتصلة. يُعرف تعاقب السلالات بمعدل 500 زوج قاعدي في كلّ مرة لإنتاج تعاقب كامل السلسلة المتصلة (الشكل 18-5أ). تُسمَّى هذه الإستراتيجية للخرائط الطّبيعيَّة المتبوعة بمعرفة التعاقب، **تعاقب سلالة إثر سلالة Clone-by- clone sequencing.**

معرفة التعاقب العشوائيّة

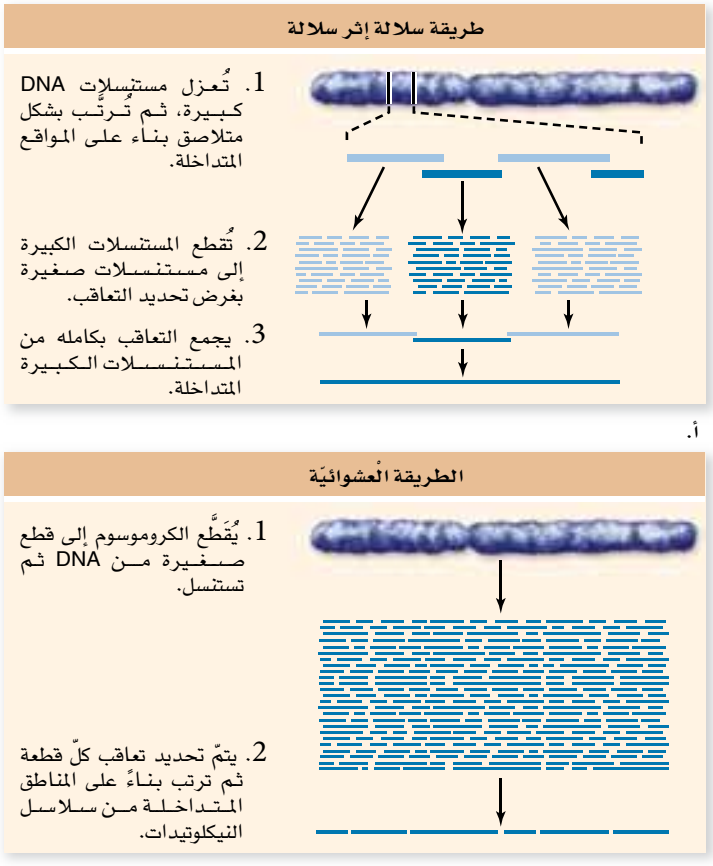
تعتمد معرفة **التعاقب العشوائيّة Shotgun sequencing** على تقطيع DNA إلى قطع صغيرة، ثم معرفة تعاقب قطع السلالة، ومن ثم استخدام الحاسوب الذي يُجمع المتداخلات منها (الشكل 18-5 ب). يرجع قِدَم هذا المصطلح إلى بدايات البيولوجيا الجزيئية، حيث كان يتمّ تجميع السلالات عشوائيًّا لبناء مكتبات السلالات في عملية تُسمَّى **الاستنسال العشوائيّ** *Shotgun cloning*. تُعَدُّ هذه الطريقة أقل مجهودًا من طريقة سلالة إثر سلالة، ولكنها تحتاج إلى جهاز حاسوب أكثر كفاءة ليجمع التعاقبات النهائية، وخوارزميات أكثر كفاءة كذلك لإيجاد التداخلات.

وخلافًا لطريقة سلالة إثر سلالة، فإنَّ معرفة التعاقب العشوائيّة لا تربط التعاقب بأيّ معلومة متعلقة بالجينوم. يستخدم كثير من الباحثين كلًّا من الطريقتين: سلالة إثر سلالة ومعرفة التعاقب العشوائيّة بشكل هجين، الأمر الذي أصبح شائعًا. يضفي هذا الجمع قوة، حيث يربط بين الخرائط الطّبيعيَّة والتعاقب، وكذلك يقلل من الجهد المبذول. ويظهر (الشكل 18-5) كلتا الطريقتين.

تقارن البرامج المُجَمِّعة النّسخ للمناطق التي حددت تعاقباتها من أجل **تجميع التعاقب الإجماعي Consensus sequence**، وهو التعاقب الموجود في النّسخ جميعها. و على الرغم من أنّ المجمعات الحاسوبية قوية جدًا، فلا بدّ من التدقيق النهائي من قبل الإنسان لكلّ من سلالة إثر سلالة، أو معرفة التعاقب العشوائيّة لتحديد ما إذا كان تعاقب الجينوم دقيقًا بما فيه الكفاية لاستخدامه، والاستفادة منه من قبل الباحثين.

استخدم مشروع جينوم الإنسان طريقتي تحديد التعاقب

أظهر النطاق الواسع للعمل في علم الجينومات أهمية العمل الجماعي للبحث البيولوجي. وعلى الرّغم من أنّ شخصًا ما يستطيع استنساخ جين معين واحد، ويُحدّد تسلسله يدويًّا، فإن العمل في جينوم ضخم، كالموجود في الإنسان؛ يتطلب عملًا تعاونيًّا لمئات من الباحثين.



الشكل 18-5

مقارنة طريقتي التعاقب. أ. تَستَخدم طريقةُ سلالة إثر سلالة مستنسلات كبيرةً تُجمع باستخدام المناطق المتداخلة في موقع معلَّم التعاقب. وبمجرد أنْ تُجمع يمكن تقطيعها إلى مستنسلات صغيرة ليعاد تحليل تعاقباتها. ب. في الطريقة العشوائيّة، يُقطع كامل الجينوم إلى مستنسلات صغيرة، ثم يتمّ تحليل تعاقباتها. وتُجمّع الخوارزميات الحاسوبية تعاقب DNA النهائي اعتمادًا على التداخل في تعاقبات النيكلوتيدات.

بدأ مشروع جينوم الإنسان عام 1990 عندما قامت مجموعة من العلماء الأمريكان بتشكيل الائتلاف الدولي لتحديد تعاقب جينوم الإنسان. كان الهدف من هذا المشروع الذي مُوِّل من قبل العامة هو استخدام طريقة سلالة إثر سلالة لتحديد تعاقب جينوم الإنسان. ولقد تَمَّ نشر الخريطة الطّبيعيَّة والخريطة الْوراثيَّة في التسعينيّات من القرن الماضي، واستخدمت بوصفها منصة لتحيد تعاقب كلّ كروموسوم.

في أيار 1998، أعلن كريج فينتر، وهو من سَلسَل *Haemophilus influenzae*، عن شركة خاصة تحدِّدُ تعاقب جينوم الإنسان. واقترح استخدام الطريقة الْعشوائيّة لتعاقب 3.2 بلايين قاعدة في سنتين. وقد قبل الائتلاف ذلك التحدي، وبدأ السباق نحو تحديد تعاقب جينوم الإنسان.

وكانت النتيجة هي التعادل، ففي 26 حزيران عام 2000، أعلنت المجموعتان عن النجاح، ونشرت كلّ منهما نتائجها بالتزامن عام 2001، وقد احتوت النشرة التي أصدرها الائتلاف على 248 مؤلِّفا، وهؤلاء بعض من القائمة الكاملة للمؤلفين.

إن إخراج مسوّدة التعاقب الخاصة بجينوم الإنسان كان فقط البداية. ومازالت الفجوات في التعاقب قيد التعبئة، والخريطة يُعدَّل عليها باستمرار. عام 2004 صدرت النسخة «النهائية» من التعاقب وتَمَّ إعطاؤها اسم التعاقب المرجعي Reference sequence (REF. SEQ) في قاعدة البيانات. وأصبح عدد الفجوات 314، بانخفاض مقداره 400 مرة في الفجوات، وهي تضم الآن 99% من تعاقب الكروماتين الحقيقي، بازدياد بعد أنْ كان 95%. لدى التعاقب المرجعي معدل خطأ مقداره 1 إلى كلّ 100,000 قاعدة.

الأمر الأهم من هذا، هو أنّ البحث المتعلق بالجينوم الكامل يمكن أنْ يمضي قُدُمًا. فبوجود الخريطة الطّبيعيَّة النهائية التي تتكامل مع الخريطة الجينية، فإنَّ الأمراض الناتجة عن الأعطاب التي تحدث في أكثر من جين، مثل مرض السكري، يمكن أن تُدرس. إنّ المقارنة مع الجينومات الأخرى تغير مفهومنا عن تطور الجينوم (انظر الفصل الـ 24).

يتطلب تعاقب كامل الجينوم أجهزة آلية تحدّد تعاقب الجينات في عينات عدة بشكل متواز. هناك حاجة إلى قطع كبيرة من DNA للقيام بتحديد التعاقب. وقد قدم الكروموسومات الاصطناعية طريقة للتعامل مع القطع الكبيرة. هناك طريقتان لمباشرة العمل في تحديد تعاقب الجينوم. تستخدم إحداها مستنسلات اصطفَّت عن طريق الخريطة الطّبيعيَّة (تعاقب سلالة إثر سلالة)، والأخرى تتضمن تحديد التعاقب للمستنسلات عشوائيًا باستخدام حاسوب يُجمّع النسخة النهائية (التعاقب الْعشوائيّ). في كلتا الحالتين، من الضروري توفير أجهزة حاسوب ذات مقدرة عالية جدًا لكي تتمكن من تجميع الصيغة النهائية للتعاقب.

3-18 وصف المحتوى الجيني (الجينوم)

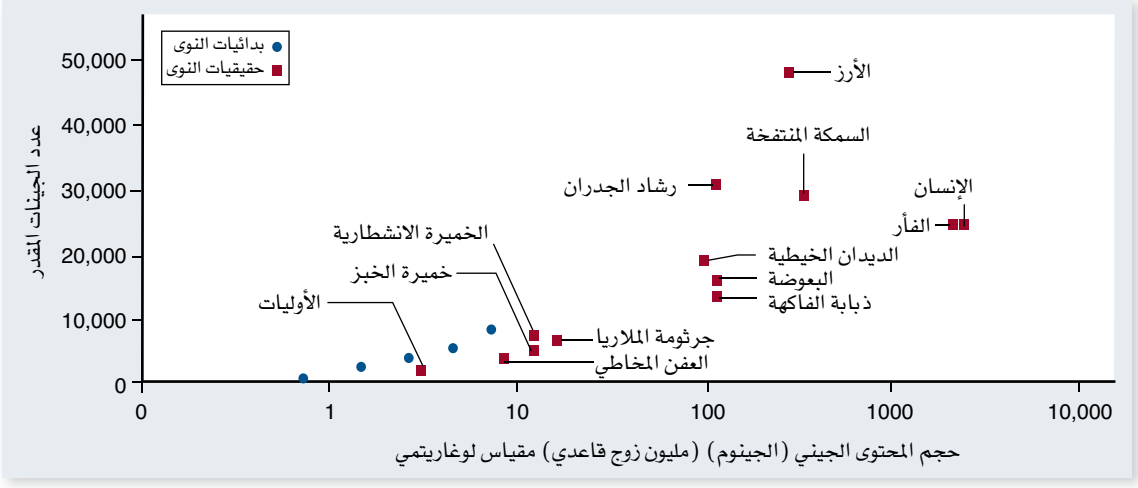
أنتجت تقنية التعاقب الآلية بيانات تعاقب ضخمة، أسهمت في تحديد تعاقب كامل الجينوم، ما سمح للعلماء الذين يدرسون المشكلات المعقدة الذهاب في أبحاثهم وتحليلاتهم بعيدًا لتجاوز النظرة المقتصرة على تحليل الجينات المفردة. تُعَدُّ مشروعات تحديد التعاقب دراساتٍ وصفيةً، ولا تطلعنا على تنظيم شكل الجينوم، ناهيك عن عدم قدرتها على إطلاعنا على وظيفة الجين، أو علاقته مع جينات أخرى. وعليه، فإنَّ الأبحاث الإضافية والتقييم قامت بإعطائنا أجوبة عن أسئلة، ولكنها أعطتنا في الوقت نفسه أحاجي جديدة.

وجد مشروع جينوم الإنسان عددًا من الجينات أقل مما هو متوقع

منذ سنين طويلة مضت، اعتقد علماء الوراثة، أن العدد التقديري لجينات الإنسان هو 100,000 جين. وعلى الرّغم من أنّ هذا التقدير يستند إلى نتائج تجارب، فقد كان مجرد تخمين. تخيل كيف ستكون المفاجأة للعلماء عندما يعلمون أنّ العدد الحقيقي يظهر أنه نحو 25,000 جين. هذا يمثل ضعفي عدد جينات الدروسوفيلا، وأقل بشيء بسيط من عدد الجينات في الأرز (الشكل 18-6). يتضح أن تعقيد المخلوق لا يقاس وظيفيًّا بدلالة عدد الجينات في الجينوم.

يتطلب العثور على الجينات في بيانات التعاقب بحثًا مُحَوْسَبا

بمجرد معرفة تعاقب الجينوم، فإنَّ الخطوة اللاحقة هي معرفة أيّ منطقة من الجينوم تحتوي على أيّ جين، وماذا تفعل هذه الجينات. نستطيع أن نبحث عن كثير من المعلومات من قاعدة البيانات. يمكننا، باستخدام المعالِم من الخرائط الطّبيعيَّة والخرائط الْوراثيَّة، أنْ نجد تعاقب نسبة بسيطة من الجينات التي يتمّ التّعرّف إليها بالتطفير، ولها تأثير مُلاحظ (ذات طراز ظاهري).



الشكل 18-6

حجم تعقيد الجينومات ودرجته. بشكل عام، تكون أحجام الجينومات في حقيقيات النوى أكبر من تلك الموجودة في بدائيات النوى. غير أنّ حجم المخلوق ليس عاملًا محددًا. فجينوم الفأر يقدر حجم جينوم الإنسان نفسه، وإنّ جينوم الأرز يحتوي على عدد أكبر من الجينات من الجينوم الإنساني.

تحديد موقع البدايات والنهايات

يمكن استخدام المعلومات الموجودة في تعاقب النيكلوتيدات للبحث عن الجينات. فالجين يبدأ بكودون البداية مثل ATG، ولا يحتوي على كودونات الإيقاف TAA، TAG، TGA إلا بعد امتداد من التعاقب يكفي لأن يعطي شيفرة وراثية لبروتين. تُسمى المنطقة المُشَفِّرَة إطار **القراءة المفتوح open reading frame (ORF)**. وعلى الرغم من أنّ السلاسل التي تنحصر بين البداية والنهاية هي الجين على الأغلب، فإن من المحتمل، ومن غير المحتمل، أن تُترجم فعليًّا إلى بروتين وظيفي. تحتاج تعاقبات الجينات المُحتَمَلة إلى إخضاعها للتجربة ليتم تحديد ما إذا كانت وظيفية أم لا.

تُسمَّى المعلوماتُ المُضافة إلى معلومات التعاقب الأساسية، كتلك المتعلقة بتحديد ORF، إضافةَ **الحواشي Annotation**. وهذا ما يحول بيانات التعاقب البسيطة إلى مناطق يتمّ تعريفها عن طريق معالِم مميزة كتلك المتعلقة بالمنطقة المنسوخة، والمناطق التي يُعْتَقَدُ أنها تشفِّر لبروتين مُعَيَّن.

استنتاج الوظيفة عبر الأنواع: خوارزميات *BLAST*

من المحتمل أيضًا أنْ نبحث عن تعاقبات في قاعدة بيانات الجينوم تتعلق بجينات مشابهة لجينات معروفة في أنواع أخرى. فبإمكان العالِم الذي عزل سلالة جين غير معروف الوظيفة أنْ يبحث في قاعدة البيانات عن تعاقبات مشابهة لكي يخمن الوظيفة. الأداة التي تساعد على القيام بمثل هذا الأمر هي خوارزميات BLAST التي يقدمها NCBI للبحث في داخل قاعدتهم البيانية. فباستخدام الحاسوب والبريد الإلكتروني، يستطيع الشخص إرسال تعاقب معين إلى مُشَغِّل BLAST ثم الحصول على ردٍّ بجميع الاحتمالات للتعاقبات المشابهة الموجودة في قاعدة البيانات.

باستخدام هذه التقنيات، أمكن التّعرّف إلى التعاقبات التي لا تشكل جزءًا من ORF والتي حوفظ عليها خلال ملايين السنين من التطور. ويمكن أنْ تكمن أهمية هذه التعاقبات في قدرتها على تنظيم عمل الجينات الموجودة في الجينوم.

إن استخدام الحاسوب والبرمجيات للبحث عن جينات، ومقارنتها، وتجميع الجينومات، تمثل القليل من مقاربات علم الجينومات التي تقع تحت عنوان **المعلوماتية الحياتية Bioinformatics**.

تحتوي الجينومات على DNA مُشَفِّر وغير مُشَفِّر

عند تحليل تعاقبات الجينوم، يتمّ الكشف عن المناطق التي تُشَفِّرُ بروتينًا والمناطق الأخرى التي لا تُشفِّر بروتينًا. عرف الباحثون، منذ سنوات عدة، الجينات المشفِّرة. ولكنهم لم يعلموا مدى الجينات غير المشفرّة ولا طبيعتها. سوف نلقي أولًا نظرة على أنواع الجينات المُشفرَّة، ثم ننتقل إلى أنواع DNA غير المُشَفِّر.

DNA المُشفِّر للبروتين في حقيقيات النوى

هناك أربع طوائف من الجينات المشفرة في جينومات حقيقيات النوى، وهي تختلف في عدد نسخ الجين.

جينات فردية النسخة. هناك كثير من الجينات توجد بوصفها نسخة واحدة في كروموسوم معين. تنتج معظم الطفرات في هذه الجينات وراثة مندلية متنحية.

التضاعفات القطَعية. تُنسخ أحيانًا قطعة كاملة فيها جينات من أحد الكروموسومات إلى كروموسوم آخر، منتجة مُضَاعفة قِطَعِية *Segmental duplication*. هناك قطع من الجينات متعددة ومتشابهة موجودة ضمن الجينوم في الإنسان. ويظهر أنّ الكروموسوم 19 كان أكثر هذه الكروموسومات استعارة، فهو يشترك في قطع موجودة عند 16 كروموسومًا آخر.

عائلات متعددة الجينات. في الوقت الذي زادت فيه معرفتنا عن جينومات حقيقيات النوى، تبين أنّ كثيرًا من الجينات توجد بوصفها جزءًا من عائلات متعددة الجينات *Multigene families*، وهي مجموعات من الجينات ذات الصلة ببعضها، إلا أنها مختلفة عن بعضها بشكل متميز، ولكنها على الأغلب تقع معًا ضمن مجموعات. يبدو أنّ هذه الجينات نشأت من سلف مشترك، أي من جين واحد ثم تضاعف في أثناء عبور غير متساوٍ في الانقسام الاختزالي، حيث أُضيف إلى كروموسوم، وفُقِدَ من كروموسوم آخر. قد تحتوي هذه العائلات متعددة الجينات على نسخ صامتة تُسمَّى الجينات الكاذبة *Pseudogenes* التي توقف عملها بسبب الطَّفرة.

المجاميع الترادفية. قد توجد نسخ متطابقة من الجين نفسه في مجاميع ترادفية *Tandem cluster*. تُنسخ هذه الجينات بشكل متزامن بغية زيادة أعداد mRNA ومن ثم تزيد كمية البروتين المصنَّع. تضم المجاميع الترادفية أيضًا جينات لا تُشَفِّرُ بروتينات، كجينات rRNA والتي عادة ما توجد في مجاميع تضم مئات النّسخ.

DNA غير المشفِّر في حقيقيات النوى

لقد اكتملت معرفة تعاقب كثير من جينومات حقيقيات النوى، وأكثر ما يميز تلك الجينومات هو الكمية الملاحظة للجينات غير المشفِّرة التي تمتلكها. لقد أظهر جينوم الإنسان صورة مفاجئة. فكل خلية من خلايانا تحتوي على 6 أقدام من DNA المحشوّة بداخلها. ولكن ضمن هذا الـ DNA هناك أقل من إنش واحد مُخصص للجينات. وهناك قرابة 99% من DNA الموجود داخل خلايانا له دور بسيط، أو ليس له دور في التعليمات التي تحدد الأشكال التي نحن عليها.

تتوزع الجينات الموجودة في جينوم الإنسان على شكل تكتلات ضمن كميات كبيرة من DNA غير المشفر، وتشبه في ذلك القرى الصغيرة المعزولة في الصحراء. هناك ستة أنواع من DNA الإنسان غير المشفر تَمَّ وصفها (الجدول 18-1 يظهر مكونات جينوم الإنسان ومن ضمنها DNA غير المشفر).

DNA غير المشفر Noncoding DNA داخل الجينات. كما أسلفنا في (الفصل الـ 15)، فإنَّ جينوم الإنسان، ليس فقط مجرد DNA. قطع مشفرة للبروتين (المناطق المشفرة) والمدمجة في مجموعة قطع من DNA غير المشفرة (المناطق المعترضة). بالإجمال، تشكل المناطق المعترضة 24% من الجينوم، في حين تُشكّل المناطق المشفرة أقل من 1.5%.

DNA البنائي Structural DNA. تبقى بعض المناطق في الكروموسومات كثيفة، وملتفة بشكل محكم، وغير منسوخة خلال دورة الخلية. تُسمَّى هذه المناطق الكروماتين المتباين التركيبي *Constitutive heterochromatin*، وهي تتركز حول السنترومير، أو على أطراف الكروموسوم عند القطع الطرفية.

التكرارات بسيطة التعاقب Simple sequence repeat. تكون التكرارات بسيطة التعاقب (SSR) مبعثرة في الكروموسوم. وهي تتكون من واحدة إلى ستة نيكلوتيدات مثل CA أو CGG تتكرر كالأسطوانة المشروخة مرارًا وتكرارًا آلاف وآلاف المرات. ويمكن أن تنشأ التكرارات بسيطة التعاقب من أخطاء في تضاعف DNA. وتشكل التكرارات بسيطة التعاقب 3% من جينوم الإنسان تقريبًا.

الجدول 18-1	طوائف سلاسل DNA الموجودة في جينوم الإنسان	
الطائفة	التكرار (%)	الوصف
الجينات المشفرة للبروتينات	1.5	الأجزاء المترجمة لـ 25000 جين مبعثر في الكروموسومات.
المناطق المعترضة	24	DNA غير مشفر، ويكون الغالبية العظمى لكلّ جين في الإنسان.
التضاعفات القِطَعِية	5	مناطق من الجينوم تَمَّ تضاعفها.
الجينات الكاذبة (جينات غير فعالة)	2	تعاقب له صفات الجين، إلا أنه غير فعال.
DNA التركيبي	20	كروماتين متباين تركيبي يقع بالقرب من السنترومير والقطع الطرفية.
التكرارات بسيطة التعاقب	3	تكرارات متقطعة من عدد قليل من النيوكليوتيدات مثل CGG، مكررة آلاف المرات.
العناصر القابلة للنقل	45	21%: العناصر المتناثرة الطويلة (LINEs)، وهي عناصر قافزة نشيطة. 13%: العناصر المتناثرة القصيرة (SINEs)، وهي عناصر قافزة نشيطة. 8%: عناصر قافزة ارتجاعية تحتوي على مكررات طرفية طويلة LTR في كلّ طرف. 3%: عناصر قافزة DNA أحفورية.

التضاعفات القِطَعِية Segmental duplication. قطع كبيرة في السلاسل الجينومية تتشكل من 10,000 إلى 30,000 زوج قاعدي تَمَّ مضاعفتها وانتقالها داخل الكروموسوم أو إلى كروموسوم غير مماثل.

الجينات الكاذبة Pseudogenes. جينات غير فعالة قد تكون فقدت وظيفتها بسبب طفرة.

العناصر القابلة للنقل Transposable elements. يتكون 45% من جينوم الإنسان من عناصر متنقلة تُسمَّى العناصر القابلة للنقل *Transposable elements*. بعض هذه العناصر تشفر البروتينات، ولكن الكثير منها لا يشفرها. وبسبب أهمية هذه العناصر، سنتناولها بشيء من التفصيل في الجزء الآتي.

العناصر القابلة للنقل: *DNA* المتحرك

اكتشفت العالمة باربرا ماكلنتوك العناصر **القابلة للنقل Transposable elements** عام 1950، وسمِّيت أيضًا العناصر المنقولة أو القافزة *Transposones* أو العناصر الوراثيَّة المتحركة *Mobile genetic elements* وهي قطع صغيرة قادرة على التحرك والانتقال من كروموسوم إلى آخر. وقد حصلت باربرا ماكلنتوك على جائزة نوبل عام 1983 لاكتشافها هذه العناصر، وقدرتها العجيبة على التنقل، وتغيير مكانها.

تتحرك العناصر القابلة للنقل بطرق مختلفة. ففي بعض الحالات، يضاعف العنصر القافز نفسه، ومن ثم تنتقل النسخة إلى مكان آخر ما يؤدي إلى زيادة عددها. هناك نوع آخر من العناصر القافزة يقوم باستئصال نفسه من مكان معين في الجينوم، ثم ينتقل إلى مكان آخر. يناقش (الفصل الـ 24) دور العناصر القافزة في تطور الجينوم.

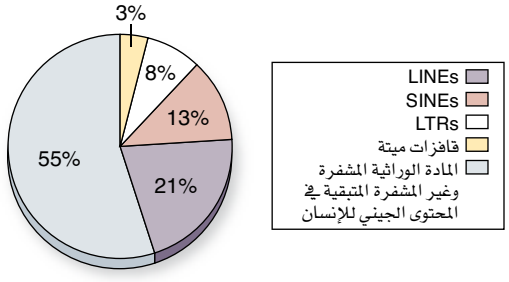
تحتوي كروموسومات الإنسان على 4 أنواع من العناصر القابلة للنقل. هناك 21% من الجينوم تكون من عناصر طويلة متناثرة **long interspersed elements (LINE)**. لدى هذه العناصر العتيقة والناضجة طول يقارب 6000 زوج قاعدي. وتحتوي على كلّ ما يحتاج إليه العنصر للانتقال. فهي تشفر لأنزيم الناسخ العكسيّ الذي يستطيع أنْ يكون cDNA من نسخة طويلة متناثرة لـ RNA. والنتيجة هي قطعة من الشريط المزدوج التي بمقدورها إعادة إدخال نفسها في الجينوم بدلًا من ترجمة RNA إلى بروتين. ولأنّ هذه العناصر تستعمل RNA بوصفه جزيئًا وسيطًا، فإنها تُسمَّى العناصر القافزة الارتجاعية *Retrotransposones*.

العناصر المتناثرة القصيرة short interspersed elements (SINEs)، شبية بالعناصر الطويلة، غير أنّها لا تستطيع الانتقال إلا بمساعدة آلية العناصر الطويلة LINEs. هناك ما يزيد على نصف مليون نسخة من العنصر القصير المسمى Alu (سُمِّي هذا العنصر Alu نسبة إلى أنزيم القطع المحدد Alu الذي يقطع هذا التعاقب) تؤويها العناصر الطويلة LINE.

يمثل العنصر القصير Alu SINE 10% من جينوم الإنسان. مثل البرغوث الذي يحمله الكلب تنتقل Alu داخل العناصر الطويلة الموجودة فيها. وكما يقوم البرغوث بالقفز من كلب إلى آخر تنتقل Alu مستخدمة الأنزيمات التابعة للعناصر الطويلة LINE لتتحرك إلى موقع آخر على كروموسوم جديد. يستطيع Alu أنْ يقفز إلى داخل الجينات مسببًا طفرات ضارة.

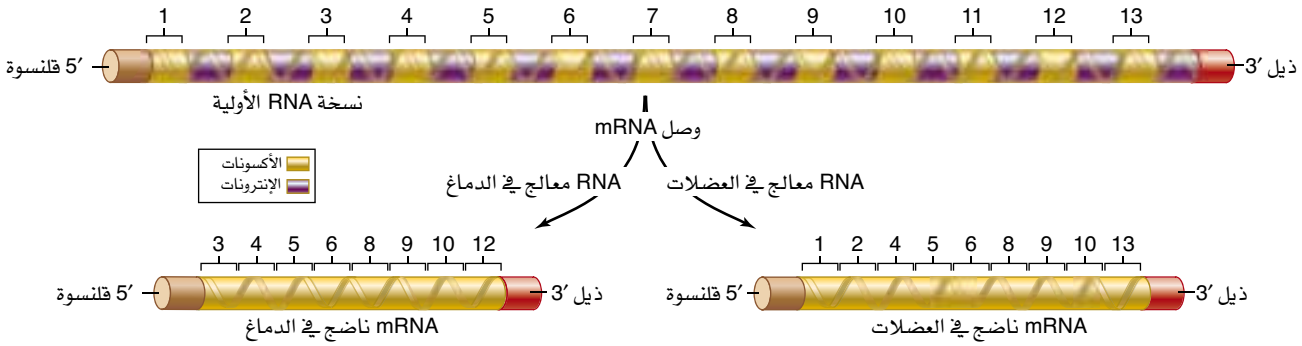
يوجد نوعان آخران من العناصر القابلة للنقل في جينوم الإنسان: 8% من جينوم الإنسان مكرس لعناصر قافزة ارتجاعية تُسمَّى التكرارات الطرفية الطويلة **Long terminal repeats (LTRs)**. وعلى الرغم من أنّ آلية الانتقال تختلف عن تلك الخاصة بالعناصر الطويلة LINEs، فإنَّ التكرارات الطرفية الطويلة LTRs أيضًا تستخدم أنزيم النّسخ العكسيّ لكي تضمن أنّ النّسخ هي مزدوجة الشريط، ويمكن أنْ تعود للاندماج مع الجينوم.

هناك 3% من الجينوم مكرس للعناصر القافزة الميتة، وهذه عناصر فقدت الإشارة اللازمة للتضاعف، ولا تستطيع التحرك.



استقصاء

في اعتقادك، كيف ستؤثر تلك العناصر المكررة في تحديد ترتيب الجين؟



الشكل 18–7

يستطيع الوصل البديل أنْ ينتج أنواعًا من mRNA مختلفة من التعاقب المشفر نفسه. في بعض الخلايا، يمكن أنْ نستأصل المناطق المشفرة مع المناطق المعترضة المجاورة، ما يؤدي إلى إنتاج بروتينات مختلفة. وبذا يفسر الوصل البديل لماذا يستطيع 25,000 جين تشفير ثلاثة أو أربعة أضعاف ذلك العدد من البروتينات.

تُعَرِّف علاماتُ التعاقباتِ المعبَّر عنها الجينات المنسوخةَ

مع الأخذ في الحسبان تعقيد DNA المشفر وغير المشفر، من الضروري أنْ يكون بمقدورنا التّعرّف إلى أجزاء الجينوم التي يتمّ التعبير عنها–أي يتمّ نسخها ثم ترجمتها.

ولأن العمل مع DNA أسهل من العمل مع البروتين، فإنَّ إحدى الطرق تتمثل في عزل mRNA، ثم استخدامه لتصنيع cDNA، ثم تحديد تعاقب طرف واحد أو طرفين لأكبر عدد من cDNA. وبوجود تحديد التعاقب الآلي، فإنَّ هذه المهمة ليست صعبة، وأطلق على هذه الأجزاء القصيرة من cDNA اسم علامات **التعاقبات المعبَّر عنها Expressed sequence tags**. تُعَدُّ علامات التعاقبات المعبَّر عنها شكلًا آخر من الموقع معلَّم التعاقب. لذا، يمكن إدخاله ضمن الخرائط الطّبيعيَّة. هذه التقنية لا تطلعنا على وظيفة أيّ من علامات التعاقبات المعبَّر عنها، ولكنها تزودنا بنظرة إلى الجينوم كاملًا، وتعلمنا عن الجينات المعبَّر عنها في مرحلة mRNA على الأقل.

لقد استخدمت علامات التعاقبات المعبَّر عنها للتعرف إلى 87,000 cDNA في مختلف أنسجة الإنسان. ثمانون في المئة منها لم تكن معروفة سابقًا. ويمكنك التساؤل الآن كيف لخمسة وعشرين ألفًا من الجينات إنتاج 87,000 من cDNA المختلفة. تكمن الإجابة في التعديلات الجينية في حقيقيات النوى، التي تتكون من مناطق مشفّرة تتخللها مناطق معترضة كما ذُكر في (الفصل الـ 15).

بعد الاستنساخ في حقيقيات النوى، تُزال المناطق المعترضة من mRNA ويعاد وصل المناطق المشفرة. في بعض أنواع الخلايا، يتمّ تخطّي بعض مواقع الوَصْل، وتزال منطقة مشفرة أو أكثر مع المناطق المعترضة. تُسمَّى هذه العمليةُ الوصلَ البديلَ *Alternative splicing* (الشكل 18–7)، وينتج عنها بروتينات ذات وظائف مختلفة. وبذا، فإنَّ التعقيد الإضافي في جينوم الإنسان لم يأتِ بسبب جينات إضافية فحسب، وإنما بسبب الطرق الجديدة التي تجمع من خلالها أجزاء الجينات الموجودة مع بعضها.

تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد هي اختلافات قاعدة وحيدة بين الأفراد

هناك حقيقة باتت واضحة بعد تحليل جينوم الإنسان، وهي الاختلافات الْوراثيَّة الكبيرة الموجودة في نوعنا. هذه المعلومات لها تطبيقات عملية.

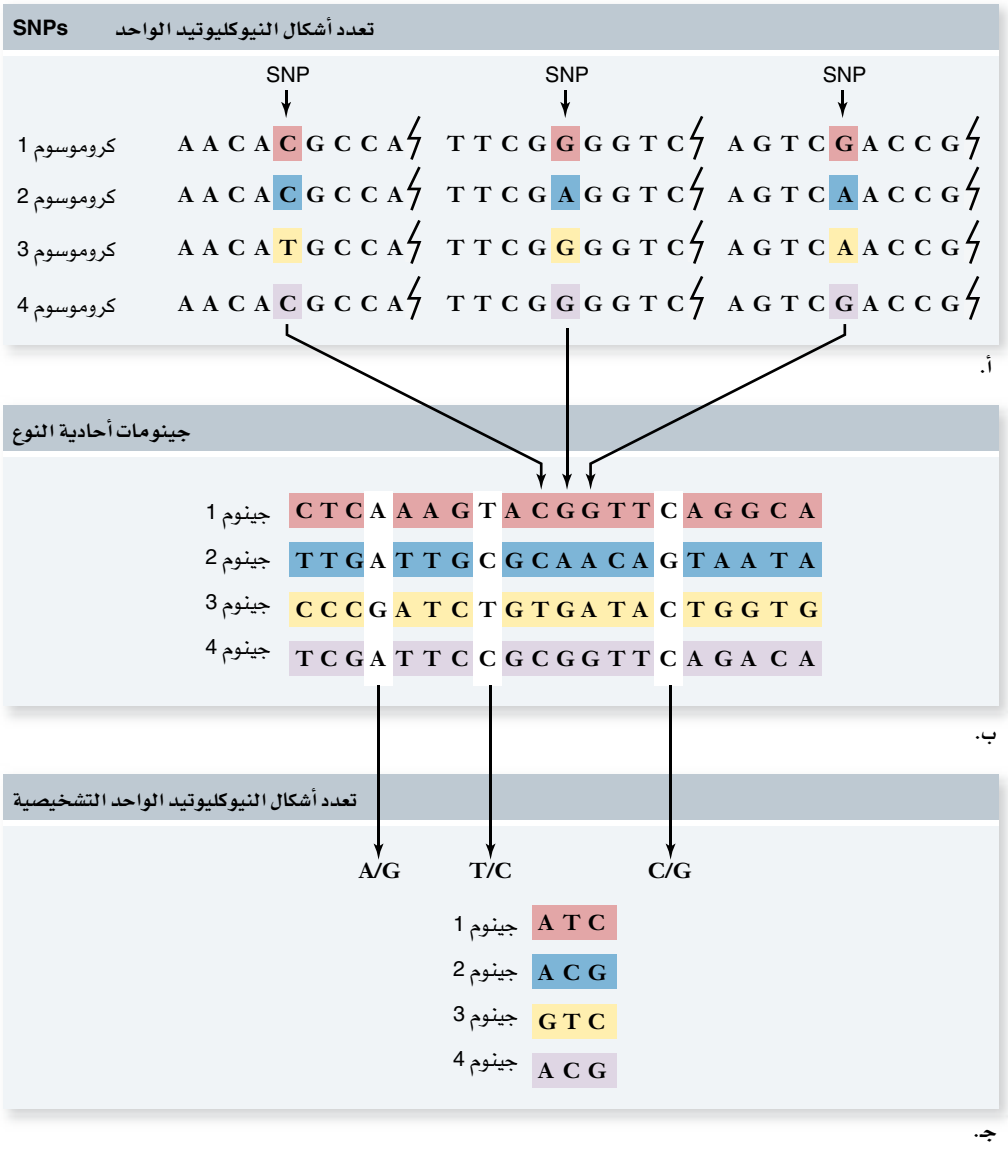
تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد Single nucleotide polymorphism (SNPs)، هي مواقع تختلف من شخص إلى آخر، وتكون في نيكلوتيد واحد فقط. ولكي تصنف بوصفها متعددة الشكل، يجب أنْ تكون موجودة في 1% من الأشخاص. تَمَّ التّعرّف حاليًا، من قبل المجموعة الدولية لتحديد مواقع تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد، إلى 50,000 تعدد شكلي للنيوكليوتيد في المناطق المشفرة في الجينوم، وإنّ هناك 1.4 مليون تعدد شكلي للنيوكليوتيد تَمَّ التّعرّف إليها في المناطق غير المشفرة. ويقدر ذلك بعشرة في المئة من الاختلافات الموجودة.

يُستخدمُ تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد للبحث عن الأشياء المشتركة بين الجينات. ونتوقع أنْ تقوم عملية إعادة الاتحاد التي تحدث خلال الانقسام الاختزالي بترتيب تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد عشوائيًّا، ما عدا تلك المرتبطة بشكل وثيق مع بعضها. ويطلق على قابلية مجموعة الجينات التي لا يمكن إعادة توزيعها عشوائيًّا **الربط غير المتزن Linkage disequilibrium**. هذا النوع من الاشتراك نستطيع استخدامه في خرائط الجينات.

تشير التحليلات الأولية لتعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد إلى أنّ كثيرًا منها يخضع للربط غير المتزن. هذه النتيجة غير المتوقعة قادت إلى فكرة الجينومات **أحادية النوع Haplotypes**، أو مناطق الكروموسوم التي لا تخضع للتبادل في أثناء إعادة الاتحاد. إنّ وجود الأنواع الأحادية يساعد على الوصف الوراثي للمناطق الجينومية، بوصف عدد قليل من تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد (الشكل 18–8).

وإذا حافظت الأنواع الأحادية على مصداقيتها أمام التحاليل الإضافية، فإنّها ستساعد على تحديد موقع الأسس الْوراثيَّة للأمراض. يعمل مشروع جينوم الإنسان حاليًا على خريطة الأنواع الأحادية في الجينوم.

يحتوي جينوم الإنسان عددًا أقل بكثير من عدد الجينات المتوقع في الجينوم: هناك تقريبًا 25,000. يوجد عدد كبير من DNA غير المشفّر في جينومات حقيقيات النوى. ويمكن أنْ تكون السلاسل المشفرة، نسخة منفردة، أو مجاميع مكررة، أو جزءًا من تضاعفات قطعية، أو جزءًا من عائلة جينية. يوجد ضمن الجينوم عناصر قابلة للنقل (قافزة) متنوعة تتكرر مرات عدة. هذه العناصر القادرة على الحركة والانتقال موجودة في حقيقيات النوى جميعها. ويمكن تحديد عدد الجينات المعبرعنها وموقعها بمعرفة تعاقب أطراف cDNAs منتقاة بشكل عشوائي لإنتاج التعاقبات المعلمة المعبر عنها.



الشكل 18–8

بناء الخرائط أحادية النوع. إن تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد هو اختلافات مفردة القاعدة بين الأفراد. يبين هذا الشكل أجزاء من تعاقب DNA لأربعة أشخاص (أ) ويشار إلى ثلاثة من تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد عن طريق الأسهم. ب. تلك الأشكال الثلاثة للنيوكليوتيد الواحد مصطفة للمقارنة مع 17 تعددًا شكليًّا للنيوكليوتيد الواحد أخرى من هذه المنطقة الكروموسومية. يمثل هذا خريطة لأحادي النوع لهذا الجزء من الكروموسوم. أحادية الأنواع هي مناطق من الجينوم لا يتمّ تبادلها عن طريق إعادة الاتحاد في أثناء الانقسام الاختزالي. جـ. يمكن التّعرّف إلى أحاديات الأنواع عن طريق أعداد قليلة من تعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد التشخيصية التي تختلف بين أحاديات الأنواع المختلفة. ففي هذه الحالة، 3 من أصل 20 تعددًا شكليًّا للنيوكليوتيد الواحد في هذه المنطقة هو كلّ ما هو مطلوب من أجل التّعرّف بشكل فريد إلى كلّ أحادي النوع. يساعد هذا وبشكل كبير على تحديد مواقع الجينات المسببة للأمراض، فأحادي النوع يمثل منطقة كبيرة من الجينوم التي تتصرف بوصفها موقعًا وحيدًا في أثناء الانقسام الاختزالي.

4-18 علم الجينومات والبروتيومات

لكي نفهم بشكل متكامل كيفية عمل الجينات؛ علينا وصف البروتينات التي تنتجها. هذه المعلومات مهمة وأساسية لفهم علم الخلية، والفسيولوجيا، والتكوين الجنيني، والتطور. بكثير من الطرق، نحن أيضًا نسأل الأسئلة نفسها التي طرحها مندل، ولكن على مستويات تنظيمية مختلفة.

يكشف علم الجينومات المقارن عن مناطق محافظة في الجينوم

بوجود الأعداد الكبيرة من الجينومات التي تَمَّ تحديد تعاقباتها، نستطيع الآن عقد المقارنات على مستوى الجين والجينوم. أحدُ الدروس المذهلة التي تعلمناها من تحليلنا للجينوم هو الشبهُ القريب بين الإنسان والمخلوقات الأخرى. أكثر من نصف الجينات الموجودة في الدروسوفلا لها نظيراتها في الإنسان، والشبه أكثر من ذلك ضمن الثّدييّات. فالإنسان لديه 300 جين فقط ليس لها مثيل في جينوم الفأر.

إن طوفان المعلومات من الجينومات المختلفة قد أبرز حقلًا جديدًا من العلوم، وهو علم **الجينومات المقارن Comparative genomics**. الآن، يتوافر لدينا تعاقبات كاملة لما يقارب 100 جينوم بكتيري. وضمن حقيقيات النوى، لدينا سلاسل جينوم كاملة لنوعي الخمائر التي تستخدم في علم الوراثة، وهي *S. cerevisiae* و *S. pombe*، وكذلك للطلائعي *Plasmodium*، ومن اللافقريات *Drosophila* والدودة *C. elegans*، ومن الفقريات السمكة الكروية (*Fugu sp.* و *Tetraodon sp.*)، والفأر والإنسان. وفي مملكة النباتات لدينا جينومات رشاد الجدران *Arabidopsis* والأرز. معظم هذه الجينومات هي مسوّدات تعاقبات، ولايزال فيها فجوات عدة في مناطق DNA ذات التكرار العالي.

إنّ استخدام الجينومات المقارن للإجابة عن تساؤلات تتعلق بالتطور يُعَدُّ حقلًا علميًّا واعدًا. فمقارنة كثير من جينومات بدائيات النوى أشارت إلى وجود انتقال جانبي للجينات بدرجة أكبر مما كان معتقدًا. إنّ أحدث جولة من تعاقب

الجينومات هي لقردة الشمبانزي، التي تُعَدُّ الأقرب للإنسان. لقد تَمَّ الانتهاء من تعاقب جينوم الشمبانزي (*Pan troglodytes*)، وسوف يؤدي ذلك إلى الكشف عما يجعلنا بشرًا متميزين.

تؤكد النتائج الأولية لدراسة الجينوم أنّ الجينوم البشري يختلف بمقدار 1.23% بدلالة النيكلوتيدات المُستبدلَة. وبحسب النظرة الأولى، فإنَّ الاختلاف الكبير لجينوم الإنسان يبدو أنه في العناصر القابلة للنقل. ففي الإنسان، توجد عناصر قصيرة SINEs بنحو ثلاثة أضعاف أو أكثر من تلك الموجودة في الشمبانزي، ولكن الشمبانزي اكتسب عنصرين غير موجودين في جينوم الإنسان. فالاختلافات بسبب إدخال وحذف للقواعد هو أقل من الاستبدال، ولكنه مسؤول عن 1.5% من التعاقبات حقيقية الكروماتين المميزة لكلّ من الجينومين.

يسمح التصاحب الجيني بمقارنة الجينومات غير معروفة التعاقب

يمكن استقصاء أوجه الشبه والاختلاف بين الجينات المحافِظَة بشكل كبير في الأنواع على أساس جين إثر الآخر. يسمح علم الجينومات مقارنة الجينومات بمقاربة واسعة النطاق بالاستفادة من التصاحب الجيني.

يشير **التصاحب الجيني Synteny** إلى الترتيبات المحافظة لقطع DNA في جينومات متقاربة. يمكن استخدام تقنية الخرائط الطّبيعيَّة للبحث عن التصاحب الجيني في الجينومات التي لم تُعرف تعاقباتها بعد. ويمكن أنْ تكون المقارنةُ مع القطع المتصاحبة التي عُرف تعاقباتها في نوع آخر مفيدةً جدًا.

لتوضيح ذلك، لنأخذ الأرز مثالًا، الذي تَمَّ معرفة تعاقباته والحبوب القريبة له مثل الذرة والشعير والقمح التي لم يتمّ الانتهاء من سلسلتها. على الرغم من أنّ هذه النباتات قد تفرعت قبل 5 ملايين سنة خلت، فإن كروموسوم الأرز، والذرة، والقمح وكثير من المحاصيل العشبية تُظهر تصاحبًا جينيًّا كثيفًا (الشكل 18-9). فالمنطق الجينومي يقول: الأرز هو القمح.

وبفهم جينوم الأرز على مستوى تعاقب DNA له، فإنَّ التّعرّف إلى الجينات وعزلها من الحبوب ذات الجينومات الكبيرة يصبح أسهل بكثير. إنّ تحليلَ تعاقب DNA للحبوب يمكن أنْ يكون مفيدًا للتعرف إلى الجينات المرتبطة بمقاومة الأمراض، وإنتاج المحصول، ونوعية الغذاء، والقدرة على النموّ.

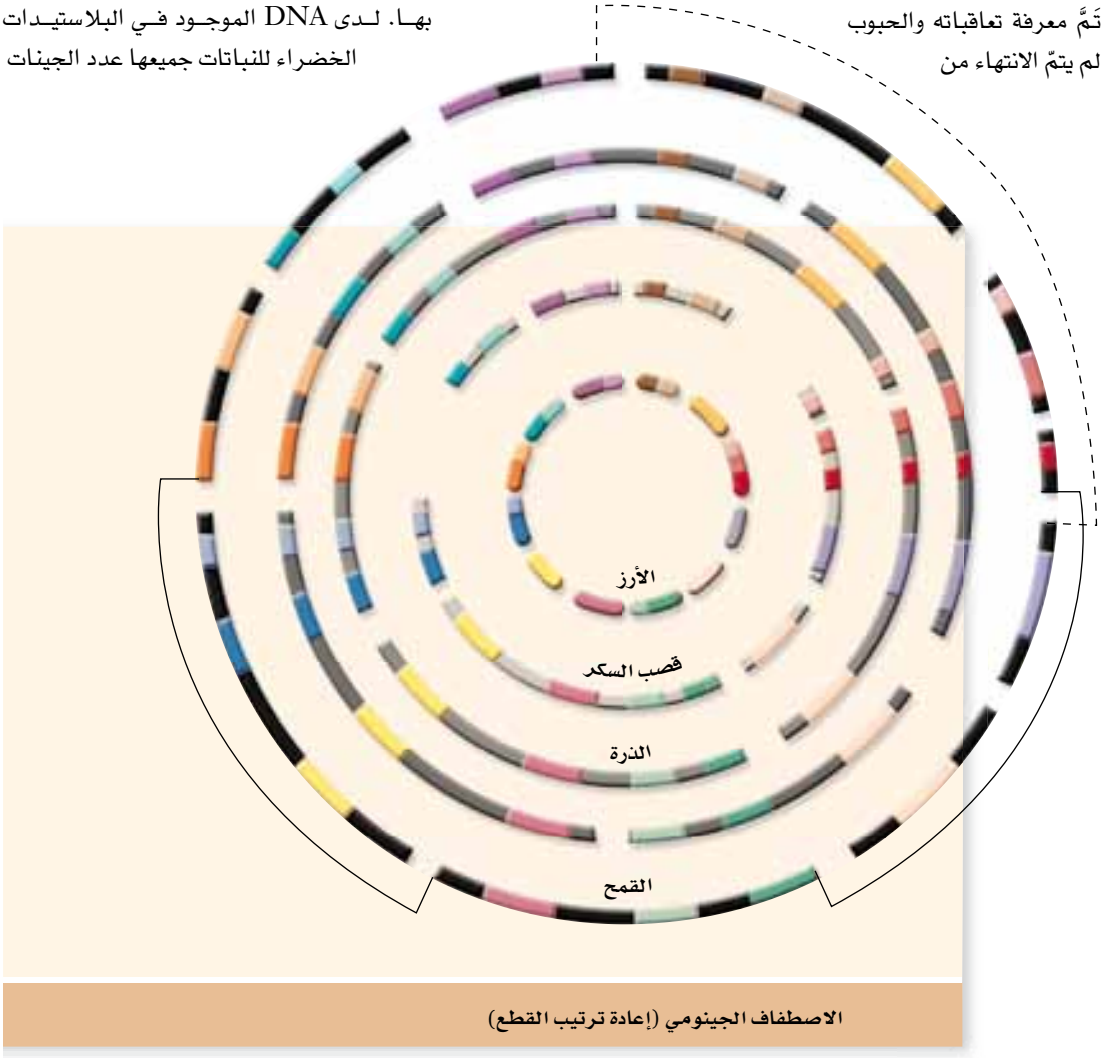
كما ذكر سابقًا، فإنَّ جينوم الأرز يحتوي على جينات أكثر من جينوم الإنسان، إلاّ أنّ الأرز يحتوي على جينوم أصغر من أقرانه من الحبوب، وهو يشكل مصدرًا غذائيًّا للإنسان.

تبادلت جينومات العضيّات الجينات مع الجينوم النووي

تُعَدُّ الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء خلفًا لخلايا بكتيريا قديمة تعيش داخل حقيقيات النوى نتيجة للتعايش الداخلي (الفصل 4). ولقد تَمَّ تحديد تعاقب جينوماتها في بعض الأنواع، وهي تشبه كثيرًا جينومات البكتيريا. تحتوي البلاستيدات الخضراء على 100 جين، وهذا العدد قليل مقارنة مع جينوم الأرز الذي يحوي ما بين 32,000 إلى 55,000 جين.

جينوم البلاستيدات الخضراء

البلاستيدات الخضراء عضيّات نباتية، تعمل في البناء الضّوئيّ، ويمكن أنْ تتضاعف باستقلال عن النبات؛ لإنها تحتوي على الجينوم الخاص بها. لدى DNA الموجود في البلاستيدات الخضراء للنباتات جميعها عدد الجينات



الاصطفاف الجينومي (إعادة ترتيب القطع)

الشكل 18-9

جينومات الحبوب عبارة عن إعادة ترتيب قطع متماثلة من الكروموسوم. ظلال اللون نفسه تمثل قطع DNA المحافظة في الأنواع المختلفة التي أعيد ترتيبها. بتقسيم كروموسومات الأفراد التابعة لأنواع الأعشاب الرّئيسة إلى قطع صغيرة ثم إعادة ترتيبها، وجد الباحثون أنّ مكونات جينوم الأرز، وسكر القصب، والذرة، والقمح محافظة بدرجة كبيرة. يدل هذا ضمنيًّا على أنّ ترتيب تلك القطع في جينوم الأسلاف أُعيد ترتيبها عن طريق إعادة الاتحاد، عندما كانت الأعشاب تتطور.

نفسه، وهي موجودة بالترتيب نفسه كذلك. وبالمقارنة مع تطور DNA الموجود في نواة النبات، فإنَّ DNA البلاستيدات الخضراء قد تطور بشكل محافظ، لذا فهو يظهر نمطًا تطوريًّا سهل التأويل عندما يدرس العلماء أوجه الشبه بين سلاسل DNA. وإنّ DNA غير مُعرَّض للتحوير الناتج عن العناصر القابلة للنقل، أو الطفرات الناتجة عن إعادة الاتحاد.

بمرور الزمن، ظهر بعض التبادل الجيني بين جينومي النواة والبلاستيدات الخضراء. فمثلًا، يحتوي أنزيم روبيسكو، وهو أنزيم مهم في حلقة كالفن في البناء الضوئي (الفصل الـ 8)، على تحت وحدتين؛ صغيرة وكبيرة. تحت الوحدة الصغيرة مشفرة في الجينوم النووي والبروتين الناتج لديه تعاقب هادف يجعله قادرًا على الدخول إلى البلاستيدات الخضراء ليتحد مع تحت الوحدة الكبيرة التي يتمّ تشفيرها في البلاستيدات الخضراء.

جينوم الميتوكوندريا

يتمّ بناء الميتوكوندريا من مكونات مشفرة في الجينوم النووي والجينوم التابع للميتوكوندريا. فمثلًا، يتكون تعاقب نقل الإلكترون (الفصل الـ 7) من بروتينات مشفرة في النواة وفي الميتوكوندريا- ويختلف النمط بين الأنواع المختلفة. تدل هذه الملاحظة على تحرك الجينات من الميتوكوندريا إلى الجينوم النووي مع بعض الاختلافات المرتبطة بالسلالة.

إنّ التاريخ التطوري لمواقع هذه الجينات ما زال لغزًا. وسوف نستقصي بالتفصيل علم الجينومات المقارن ومضامينه التطورية في (الفصل الـ 24)، بعد أنْ نكون قد رسخنا أساسيات نظرية التطور.

يكشف علم الجينومات الوظيفية عن وظائف الجين على مستوى الجينوم

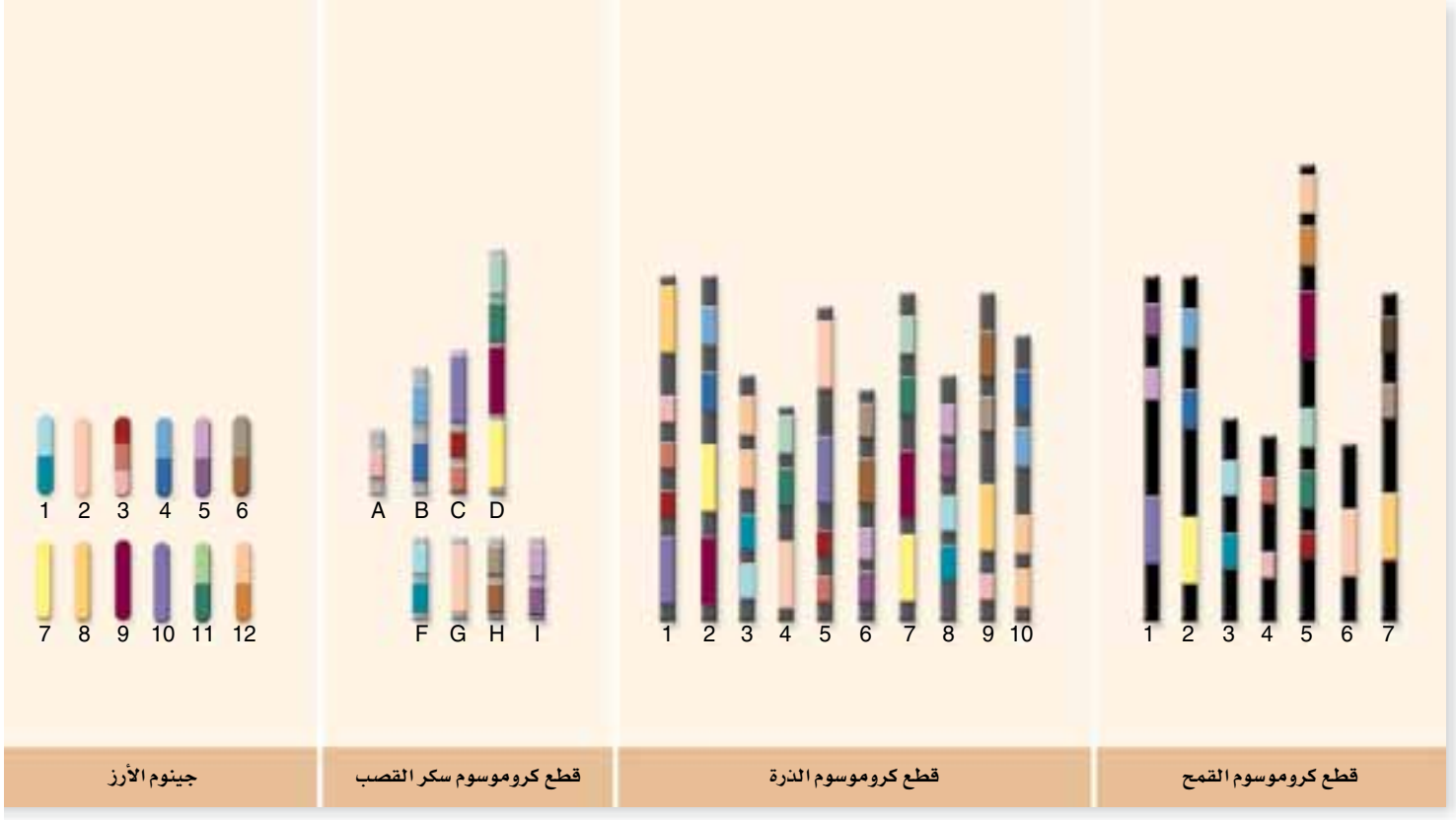
تستغل المعلوماتية الحياتية تقنية استخدام الحواسيب لتحليل القاعدة البيانية المتنامية للجينوم، وتبحث عن العلاقات بين الجينومات المختلفة، ثم تفترض وظائف الجينات بناءً على التعاقب. يغير علم الجينومات اتجاهه نحو علم تقوده الفرضيات، أيْ إلى علم **الجينومات الوظيفية Functional genomics**، وهي دراسة وظائف الجينات ومنتجاتها.

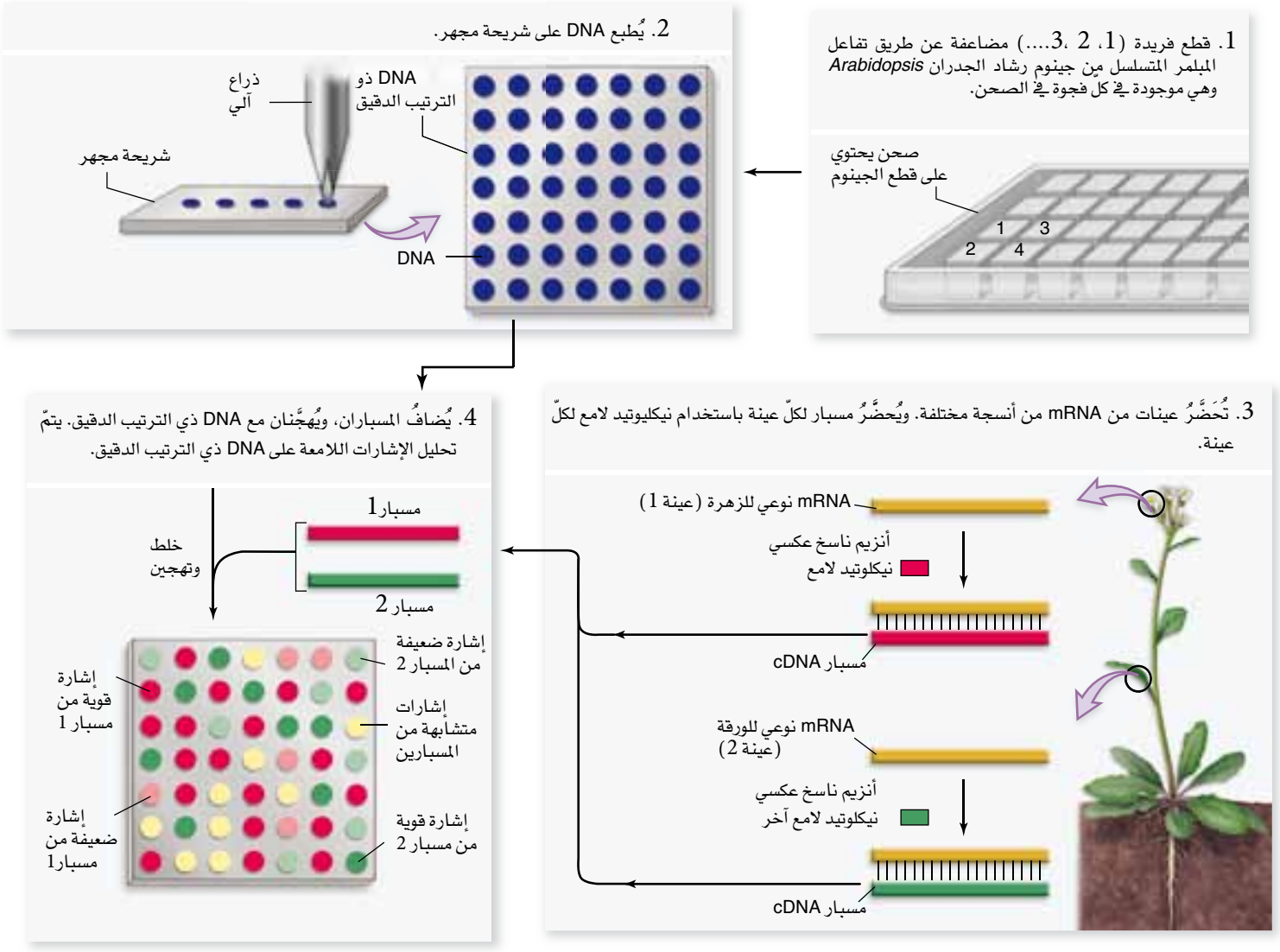
بشكل مشابه تمامًا لتحديد تعاقب كامل الجينوم، تطلب معرفة وظائف الجينات جهود فريق كبير. أخذ مجموعة من العلماء على عاتقهم معرفة وظائف 20,000 إلى 25,000 جين من رشاد الجدران *Arabidopsis* بحلول عام 2010 (مشروع 2010). كانت أولى الخطوات معرفة متى وأين يتمّ التعبير عن هذه الجينات. وتتطلب كلّ خطوة بعد ذلك مقدرة تقنية إضافية.

DNA ذو الترتيب الدقيق

يشير وصفنا السابق لعلامات التعاقب المعبر عنها، إلى أننا نستطيع تحديد مواقع تعاقبات DNA التي تُستنسخ على خرائط DNA- غير أنّ ذلك لا يطلعنا على مكان التعبير عن تلك الجينات ولا وقته. ولمعرفة التعبير على مستوى كامل الجينوم، ينبغي لنا البحث عما يمثل الجينوم، ويمكن تحويره تجريبيًّا. أدى ذلك إلى ظهور DNA ذي الترتيب الدقيق أو «رقائق الجين» (الشكل 18-10).

لتحضير DNA **ذي الترتيب الدقيق Microarray preparation**، توضع قطع من DNA على شريحة مجهر عن طريق ذراع آلي على مواقع مفهرسة بشكل منتظم. يمكن استخدام رقائق السليكون بدلًا من الشرائح الزجاجية.





الشكل 18–10

DNA ذو الترتيب الدقيق. يُصنَعُ DNA ذو الترتيب الدقيق عن طريق آلات روبوت تقوم بوضع DNA على شريحة مجهر. يتمّ بعد ذلك سبر DNA ذي الترتيب الدقيق عن طريق RNA مُستخلص من الأنسجة المدروسة للتعرف إلى DNA المعبَّرعنه. يُحَلَّلُ DNA ذو الترتيب الدقيق المهجن مع المسبار، وتظهر النتائج كصورة ملونة كاذبة. إذا كان الجين متكرر التعبير في إحدى العينات، فإنَّ الإشارة اللاصقة تكون قوية (أحمر أو أخضر) حيث يكون الجين موجودًا على DNA ذي الترتيب الدقيق. أما إذا كان الجين نادرَ التعبير في إحدى العينات، فإنَّ الإشارة تكون ضعيفة (وردية أو خضراء فاتحة). يدل اللون الأصفر على أنّ الجين يُعَبّرُ عنه بشكل متساوٍ في كلّ عينة.

يمكن استخدام هذه الرقائق لاحقًا في تجارب التهجين مع mRNA المُعَلَّم المأخوذ من مصادر مختلفة. يطلعنا ذلك على الجينات التي تعمل والتي لا تعمل في نسيج معين.

الآن، يستخدم العلماء رقائق بها 24,000 جين من رشاد الجدران *Arabidopsis* لمعرفة الجينات التي يتمّ التعبير عنها خلال مراحل التكوين الجنيني، أو تلك التي تعمل استجابة لعوامل بيئية. يُجمع RNA من الأنسجة المختلفة، ثم يُستخدم بوصفه مسبارًا في رقائق الجين هذه. تستطيع السلاسل التي يُعَبَّر عنها فقط الارتباط بـ DNA ذي الترتيب الدقيق.

تحليل DNA ذي الترتيب الدقيق والسّرطان. إنّ أحد استخدامات DNA ذي الترتيب الدقيق هو تحديدُ أنماط التعبير الجيني في سرطانات الإنسان.

كشف DNA ذي الترتيب الدقيق أنّ السّرطانات المختلفة لها أنماط تعبير جيني مختلفة.

تستخدم تلك الأنماط حاليًا لتشخيص علاجات معينة وتصميمها لبعض السّرطانات. وقد برزت من هذه البيانات أنماط متعددة:

1. يمكن تمييز أنواع معينة من السّرطان بثقة عن السّرطانات الأخرى، وعن النسيج الطبيعي على أساس بيانات DNA ذي الترتيب الدقيق.
2. غالبًا ما يوجد نمط تعبير جيني مختلف من DNA ذي الترتيب الدقيق لدى تحت أنواع سرطانات معينة.
3. يمكن استخدام أنماط التعبير الجيني المستخلص من بيانات DNA ذي الترتيب الدقيق لتوقع عودة المرض، وقابليته للانتشار، والاستجابة للعلاج. ويمثل هذا خطوة متقدمة نحو تشخيص سرطانات الإنسان وعلاجها.

نقل الجينات عرضيًّا

كيف نستطيع تحديد ما إذا كان لجينات لها التعاقب نفسه الوظيفة نفسها في أنواع مختلفة؟ كيف نستطيع التأكد أنّ الجين الذي تَمَّ التّعرّف إليه عن طريق برامج إضافة الحواشي يعمل بوصفه جينًا في المخلوق؟ يمكن الإجابة عن تلك الأسئلة عن طريق **نقل الجينات عرضيًّا Transgenics**- إنشاء مخلوق يحتوي على جينات من نوع آخر (مخلوق معدل الجينات).

لقد ذُكِرَ سابقًا عن إنشاء مخلوقات معدلة الجينات في (الفصل الـ 17)؛ وهي موضحة في النباتات في (الشكل 18-11). فعلى سبيل المثال، لكي نفحص ما إذا كان جينُ رشاد الجدران *Arabidopsis* مشابهًا لجين الأرز، يُدخل جين رشاد الجدران داخل خلايا الأرز، ثم يُعاد توليدها عن طريق مستنبت الخلايا الخاص بالأرز (ذُكر هذا النوع من الاستنساخ في الفصل الـ 42). يمكن إدماج علامات مختلفة داخل الجين حتى نتمكن من عزل أو رؤية البروتين الناتج في النبات المعدل جينيًّا، ما يدل على أنّ الجين المدخل تَمَّ التعبير عنه. في بعض الحالات، يُمكِن أنْ يؤثر الجين المنقول (الجين الغريب المُدخل) في الطّراز الظاهري. وبالطّبع فإنَّ تعديل الجينات هو أحد الطرق المتبعة للإجابة عن التساؤلات المتعلقة بوظيفة الجين.

يهتم علم البروتيومات بالانتقال من الجينات إلى البروتينات

إن دراسة البروتينات أصعب من دراسة DNA بسبب تعديلات ما بعد الترجمة التي تحدث للبروتينات، إضافة إلى تكوين معقدات البروتين. كذلك، وكما أسلفنا الذكر، فإنَّ الجين الواحد يمكن أنْ يشفِّرَ عددًا من البروتينات باستخدام الوصل البديل. وعلى الرغم من إمكانية عزل كامل الجينوم من خلية واحدة، إلا أنه يتمّ التعبير عن جزء فقط من البروتينات في خلية واحدة أو نسيج.

علم البروتيومات Proteomics هو دراسة **البروتيومات Proteomes** وهي البروتينات جميعها المشفَّرة من قبل الجينوم. إنّ فهمَ البروتيومات الموجودة حتى في خلية واحدة مهمةٌ أصعب من تحديد تعاقب الجينوم. ولأن الجين الواحد يستطيع أنْ ينتج أكثر من نوع من البروتين بسبب الوصل البديل، فعلينا أولًا أنْ نَصِفَ **الترانسكريبتوم Transcriptome** (المُستنسخ) وهو RNA جميعه الموجود في خلية أو نسيج. وبسبب الوصل البديل، فإنَّ الترانسكريبتوم والبروتيوم أكبر وأكثر تعقيدًا من العدد البسيط للجينات داخل الجينوم.

ولجعل الأمور أكثر سوءًا، فإنَّ البروتين الواحد يتمّ تعديله ما بعد الترجمة لينتج أشكالًا مختلفة وظيفيًّا. وإنّ وظيفة البروتين تعتمد على ارتباطه ببروتينات أخرى. وعلى أي حال، فلأنّ البروتينات تقوم بمعظم وظائف الخلية، فإنَّ معرفةَ تنوعها وفهمه ضروريان.

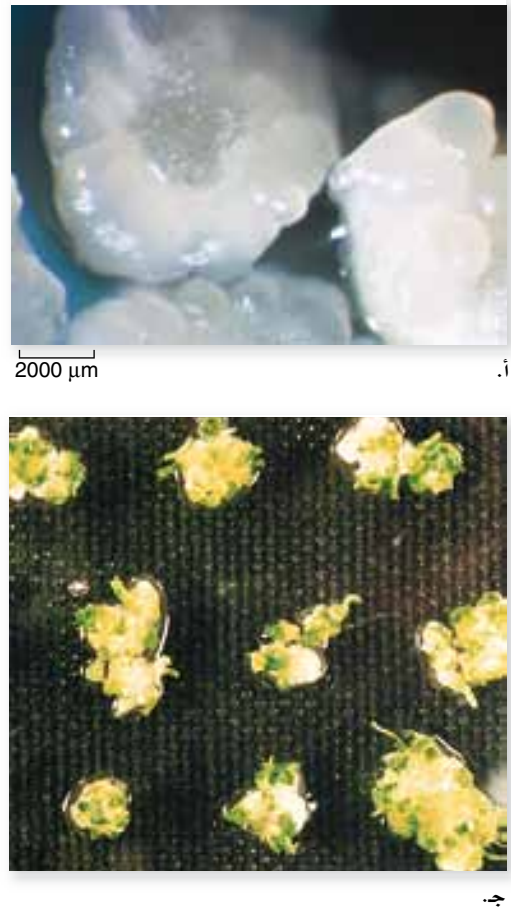
استقصاء

لماذا يبدو «البروتيوم» مختلفًا عن النواتج البروتينة المتوقعة الموجودة في كامل تعاقب الجينوم؟

التنبؤ بوظيفة البروتين

إنّ استخدامَ الطرق الحديثة للتعرف بسرعة، ووصف العدد الكبير للبروتينات هي السمةُ المميِّزة بين الكيمياء الحيوية التقليدية للبروتينات وعلم البروتيومات. كما هو في علم الجينومات، فإنَّ التحدِّيَ كبيرٌ.

من الناحية المثالية، يأمل الباحث أن يكون بمقدوره فحص تعاقب نيكلوتيدي، ويتعرف إلى تعاقب البروتين الذي يحدده. يمكن أنْ تُستخدم قاعدة البيانات



أ. ب. ج. د.

الشكل 18-11

نموّ النبات المعدل جينيًّا. تَمَّ نقل DNA يحتوي على جين لمقاومة مبيد الأعشاب إلى داخل القمح (*Triticum aestivum*). يحتوي DNA كذلك على جين *GUS* الذي يُسْتَخْدَمُ بوصفه علامة. يُنْتِجُ جين *GUS* أنزيمًا يساعد على تحويل محلول الصَّبغ من الصافي إلى الأزرق. **أ.** النسيج الجيني قبل إدخال DNA الغريب. **ب.** بعد نقل DNA، فإنَّ خلايا الندبة التي تحتوي على DNA الغريب مشار إليها باللون من جين *GUS* (بقع زرق). **جـ.** تكوين المجموع الخضري في النبات المعدل جينيًّا النامي على وسط انتقائي. وهنا، نجد أنّ الجين المقاوم لمبيد الأعشاب يسمح بنمو النبات على الوسط الانتقائي الذي يحتوي على مبيد الأعشاب. **د.** مقارنة النمو على الوسط الانتقائي المحتوى على مبيد الأعشاب بين النبات الذي يحتوي على جين المقاومة (اليسار) والنبات غير المعدَّل جينيًّا (اليمين).

المتعلقة بأشكال البروتينات في المخلوقات المختلفة للبحث عن شكل الجين ووظيفته والتنبؤ به عند معرفة تسلسله كما تَمَّ تحديده في مشروع الجينوم. إنّ تحليل تلك النتائج يزودنا بصورة أوضح عن علاقة الجين مع شكل البروتين ووظيفته. يسمح وجود أعداد أكبر من تعاقبات DNA المتوافرة بعقد مقارنات مكثفة، والتّعرّف إلى أنماط تركيبية مشتركة مع ازدياد مجموعات البروتين التي مازالت تظهر.

ولحسن الحظ، ومع أنّ هناك ما يقارب مليون بروتين مختلف، إلا أنّ معظمها يُعَدُّ مجرد متغيرات لمجموعة قليلة من المبادئ. إذ إنَّ هناك الموتيفات التركيبية المشتركة نفسها بين النباتات والإنسان والحشرات، مثل البرميل، والحلزون، والسحّاب الجزيئي المنزلق (الشكل 18-12، أيضًا، انظر الفصل الثالث لمعلومات أكبر عن موتيفات البروتينات). لقد قُدِّرَ العددُ الأقصى للموتيفات المميزة بأنه أقل من 5000، ويُقَدَّرُ عددُ الموتيفات التي تَمَّ تحديدها وفهرستها بنحو 1000. وهناك جهود مدعومة بأموال عامة وخاصة تعمل على تفصيل أشكال الموتيفات المشتركة.

البروتين ذو الترتيب الدقيق

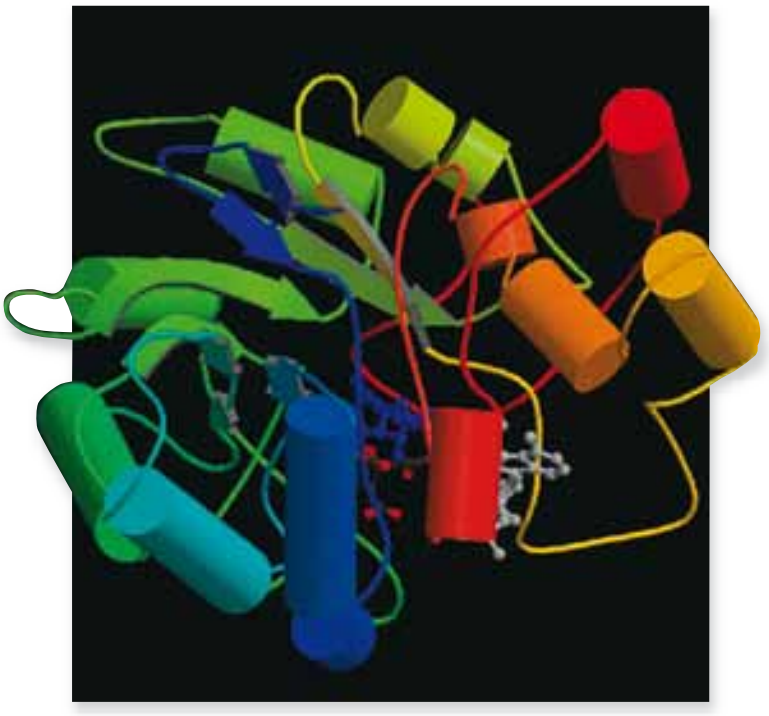
يُعَدُّ **البروتين ذو الترتيب الدقيق Protein microarray**، مماثلًا لِـ DNA ذي الترتيب الدقيق، إنه يستخدم لتحليل أعداد كبيرة من البروتينات بشكل متزامن. يبدأ صنع البروتين ذي الترتيب الدقيق بعزل الترانسكريبتوم من الخلية أو النسيج. ثم يتمّ بناء cDNA، وتكثيرها بالاستنسال داخل بكتيريا أو فيروسات. ويحدث الاستنساخ والترجمة داخل العائل بدائي النواة، ثم تُعزل البروتينات وتُنقى. وتوضع تلك البروتينات على شريحة زجاجية.

بالإمكان سبر البروتين ذي الترتيب الدقيق بثلاث طرق: أولًا، يمكن أنْ يجري له مسح عن طريق أجسام مضادة خاصة بالبروتينات، إذ تُعلَّم الأجسام المضادة بحيث يمكن كشفها، ومن ثم يمكن رؤية نمط البروتين ذي الترتيب الدقيق وتحليله عن طريق الحاسوب. وفي الطريقة الثانية، يمكن كذلك مسح البروتين عن طريق بروتين آخر للكشف عن الارتباط بينهما. يمكن الكشف عن الآف البروتينات بهذه الطريقة في الوقت نفسه. فعلى سبيل المثال، استُخْدِمَ بروتين كالموديولين (الذي يُتوسط وظيفة الكالسيوم Ca^{2+}؛ انظر الفصل الـ 9) بوصفه مسبارًا في بروتيوم ذي ترتيب دقيق للخميرة فيه 5800 بروتين. أظهر المسح أنّ 39 بروتينًا ارتبطت بكالموديولين، منها 33 لم تكن معروفة سابقًا. وأمّا الطريقة الثالثة، من المسح فهي استخدام جزيئات صغيرة لتقييم ما إذا كانت سترتبط مع أيٍّ من البروتينات الموجودة في البروتين ذي الترتيب الدقيق. تُظهر هذه المقاربة إمكانية واعدة تساعد على الكشف عن عقارات جديدة تعمل على تثبيط البروتينات المساهمة في إحداث المرض.

يكشف المسح على نطاق واسع عن تفاعل بروتينين معًا

عادة ما ندرس البروتين في نطاق معزول، مقارنة بوضعه الطبيعي في داخل الخلية. ومن الواضح أنّ هذه المقاربة اصطناعية. إنّ أحد الأهداف الرّئيسة للبروتيومات هو تحديد خرائط الارتباطات الطّبيعيَّة جميعها بين البروتينات في داخل الخلية. هذه المهمة شاقّة، وتتطلب أدوات يمكن حوسبتها كتلك التي تَمَّ حوسبتها في معرفة تعاقب الجينوم.

إحدى المقاربات تكون باستخدام نظام الخميرة ثنائي الهجين التي نوقشت في الفصل السابق. يمكن حوسبة هذا النظام حال توافر مكتبات cDNA في كلا الناقِلَين المُسْتَخدمَين.



الشكل 18-12

نموذج مخلق حاسوبيًّا لأنزيم. قاعدة البيانات البحثية تحتوي على تراكيب بروتيومة من ضمنها أنزيم مختزل الألدوز في الإنسان هنا. تظهر الموتيفات الثانوية التركيبية بألوان مختلفة.

استقصاء

ما العلاقة بين كلّ من: الجينوم، والترانسكريبتوم، والبروتيوم؟

إنّ استخدام المسح ثنائي الهجين جرى تطبيقه في الخميرة المتبرعمة لإنشاء خريطة للبروتينات المحتمل ارتباطها جميعها. يصعب استخدام هذه الطريقة في مخلوقات معقدة ومتعددة الخلايا، ولكن تقنيًّا، تَمَّ تطبيقها على ذبابة الفاكهة *Drosophila melanogaster*.

بالنسبة إلى الإنسان، والفأر، والفقريات الأخرى، يطبق نظام ثنائي الهجين بشكل انتقائي في الوقت الحاضر. ومازالت تُجمع نتائج مهمة تتعلق بعمليات بيولوجية كتلك المتعلقة بالترميز بالإشارات. يمكن استخدام هذه التقنية لمعرفة خرائط البروتينات المرتبطة جميعها مع بعضها في مسار محدد لتوصيل الإشارات.

يَستخدمُ علم الجينومات المقارن مقارناتٍ بين جينومات مختلفة لتخمين العلاقات التركيبية والوظيفية والتطورية بين الجينات والبروتينات. يحاول علم الجينومات الوظيفية تخمين الوظائف باستخدام معلومات على مستوى الجينوم. بالإمكان استخدام نظام الترتيب الدقيق للبحث عن التعبير الجيني لكثير من الجينات في الوقت نفسه. تنقل البروتيومات هذا البحث على مستوى البروتينات. يسمح نظام الترتيب الدقيق للبروتينات بتحليل كثير من البروتينات مرة واحدة، ويمكن عمل دراسة مسحية للارتباطات باستخدام نظام الخميرة ثنائي الهجين، الذي يمكن رفع مستواه لتحليل الارتباطات البروتينية على نطاق واسع في الخلايا.

5-18 تطبيقات علم الجينومات

نظرًا لضيق المساحة المخصصة لهذا الموضوع، فإنه يمكننا استعراض العناوين الرّئيسة للتطبيقات المختلفة للجينوميات من أجل إبراز الإمكانيات القائمة. وتمثل الأدوات المطورة ثورة حقيقية في العلوم الحياتية، سيبقى أثرها طاغيًا في نمط تفكيرنا في الأنظمة الحية.

يستطيع علم الجينومات المساعدة على التّعرّف إلى الأمراض المعدية

أنتجت ثورة علم الجينومات ملايين الجينات الجديدة التي هي قيد البحث والدراسة. إنّ قدرةَ علم الجينومات على تحسين صحة الإنسان كبيرةٌ، فالطفرات في جين معين يمكنها تفسير بعض الأمراض الْوراثيَّة، وليس معظمها. وبوجود الجينومات الكاملة، فإنَّ احتمال الكشف عن أمراض في الإنسان والحيوان والنبات قد تحسنت إلى حدٍّ كبير.

وعلى الرغم من أنّ البروتينات سوف تقود إلى مواد صيدلانية جديدة، فإن علم الجينومات يظهر تأثيرًا مباشرًا في نواحي التشخيص. إن التقنيات المحسنة واكتشاف الجينات يُحسِّن عملية تشخيص الاضطرابات الْوراثيَّة.

تُستَخْدَمُ وسائلُ التشخيص أيضًا للتعرف إلى الأفراد. فمثلًا، التكرارات الترادفية القصيرة هي أدوات تشخيصية جنائية تستخدم للتعرف إلى بقايا ضحايا الحادي عشر من سبتمبر 2001، أي الهجوم الإرهابي على مبنى التجارة العالمي في مدينة نيويورك.

إن هجمات الحادي عشر من سبتمبر قد زادت من الوعي العام حول الأسلحة البيولوجية، فعندما بدأت حالات الجمرة الخبيثة في الظهور في خريف عام 2001، ساعد تعاقب الجينوم على اكتشاف مصادر هذه البكتيريا القاتلة، وفيما إذا تَمَّ هندستها وراثيًّا لتصبح أكثر فتكًا.

إضافة إلى ذلك، فإنَّ جهودًا ضخمة قد ركزت على استخدام أدوات علم الجينومات للتفريق بين الوبائيات التي تحدث طبيعيًّا من جهة، وتلك التي تحدث

الجدول 18-2 الممرضات ذوات الأولوية للبحث الجينومي

الممرض	المرض	الجينوم *
Variola major	الجدري	مكتمل
Bacillus anthracis	الجمرة الخبيثة	مكتمل
Yersinia pestis	الطاعون	مكتمل
Clostridium botulinum	التسمم الوشيقي	قيد العمل
Francisella tularensis	التُّكّريات	مكتمل
Filoviruses الفيروسات الخيطية	حمى إيبولا وماربيرغ النزفية	مكتملان
Arenaviruses	حمى لاسا وحمى أرجنتين النزفية	مكتملان

* هناك عدة سلالات من تلك البكتيريا والفيروسات. تشير «مكتمل» إلى أنّ واحدا على الأقل قد تَمَّ سَلسَلته. فمثلًا، سلالة فلوريدا للجمرة الخبيثة كانت أول من حُدِّدت تعاقباته.

الشكل 18-13

حقل الأرز. معظم الأرز يُزْرَعُ عالميًّا، ويُستهلك مباشرة من قِبَلِ الإنسان، ويعدّ الغذاء الأساس لبليوني نسمة.

عن قصد من جهة أخرى. فقد صنف مركز السيطرة على الأمراض والوقاية منها البكتيريا والفيروسات من ضمن الإرهاب البيولوجي (جدول 18-1).

يستطيع علم الجينومات المساعدة على تحسين المحاصيل الزراعية

بالنظر على مستوى العالم، نجد أنّ الغذاء هو المعوق الوحيد لصحة الإنسان. معظمُ الحماس المصاحب للعمل في جينوم الأرز مبنيٌّ على إمكانية تحسين المحصول، ونوعية المادة الغذائية في الأرز والحبوب الأخرى في العالم. ويعدّ الأرز الذهبي (الفصل الـ 17) مثالًا على تحسين الغذاء من خلال مقاربات وراثية. يأخذ ثلث سكان العالم نصف سعراتهم الحرارية من الأرز (18-13). وفي بعض المناطق، يستهلك بعض الأفراد لغاية 1.5 كجم من الأرز يوميًّا. أكثر من 500 مليون طن من الأرز يتمّ إنتاجها سنويًّا، غير أنّ هذه الكمية قد تصبح غير كافية في المستقبل.

وبسبب التقدم العلمي الكبير الذي حدث في مجال الإنتاج والتقنيات الزراعية، فقد تضاعف إنتاج العالم من الحبوب خلال الخمسين سنة السابقة، وبزيادة 1% من الأراضي الزراعية، فالعالم الآن يزرع في أرض مساحتها تعادل مساحة أمريكا الجنوبية، ودون التقدم العلمي في السنوات الخمسين الماضية، كان على الإنسان زراعة نصف الكرة الأرضية الشمالي؛ حتى ينتج ما يكفي العالم.

مع الأسف، فإنَّ استهلاك الماء بسبب المحاصيل قد ازداد ثلاثة أضعاف في تلك المدة، وبدأت نوعية الأراضي الزراعية في التناقص بسبب تعرية التربة. يهتم العلماء أيضًا بأثر التغير المُناخي على الزراعة في العالم. فزيادة المحاصيل ونوعيتها، خصوصًا في الأرض الزراعية الهامشية سوف تعتمد على كثير من العوامل، إلا

الشكل 18-14

إنتاجية محصول الذرة أقل من إمكاناته الْوراثيَّة بسبب الجفاف. يمكن أن يقل إنتاج الذرة بسبب نقص المياه المؤدي إلى الجفاف الذي يحدث في أثناء الموسم الزراعي في المُناخات الجافة. ويمكن أنْ تؤدي التغيرات العالمية في المُناخ إلى الجفاف في المناطق التي تُعَدُّ فيها الذرة المحصول الرّئيس.

استقصاء

لم يُحدَّد تعاقب جينوم الذّرة بعد. كيف يمكنك استخدام المعلومات من تعاقب جينوم الأرز لمحاولة تحسين تحمل الذّرة للجفاف؟

أنّ الهندسة الْوراثيَّة المبنية على الاكتشافات عن طريق مشروعات علم الجينومات، يمكن أنْ تسهم بشكل كبير في الحلّ.

تنتج معظم المحاصيل الزراعية في الولايات المتحدة أقل من نصف إمكاناته الجينية بسبب الإجهاد البيئي (الملوحة، الماء، الحرارة)، وآكلات الأعشاب والأمراض (الشكل 18-14). إنّ التّعرّف إلى الجينات التي تمنح المقاومة للإجهاد البيئي والأوبئة هو مركزُ اهتمام كثير من مشروعات الأبحاث الجينومية. وسيحسن سهولة الوصول إلى تعاقبات الجينومات جميعها من فرص التّعرّف إلى الجينات الأساسية والمهمة.

يثير علم الجينومات موضوعات أخلاقية تتعلق بِملْكِيَّةِ المعلومات الْوراثيَّة

إنّ علم الجينومات قد يكون مصدرًا لتحدٍّ أخلاقيٍّ ومـآزق: أحدهما هو براءة اختراع الجين، في الحقيقة، إنّ استخدام الجين، وليس الجين نفسه هو الخاضع لبراءة الاختراع، فمن أجل براءة اختراع الجين، يجب أن يكون الناتج ووظيفته معروفين.

إنّ ائتلاف الجينوم العام، مدعومًا من تمويل اتحادي، كان مدفوعًا بالاعتقاد أن تعاقب الجينومات يجب أنْ يكون متوافرًا بحرية للجميع، ويجب ألاّ يكون مقيدًا بامتياز معين. تمتلك الشركات الخاصة براءة اختراع وظائف الجينات، ولكنها تفتح المجال أمام الاطلاع على التعاقب مع بعض القيود أحيانًا. فالعلوم الطّبيعيَّة فاوضت البحوث الممولة من القطاع العام، والبحوث من أجل الرّبح لعشرات السنين، غير أنّ هذا الأمر جديد على علماء الحياة.

هناك موضوع آخر يتعلق بالخصوصية؛ كيفية استخدام التعاقبات هي محط نقاش مستمر. إنّ البيان العالمي المتعلق بجينوم الإنسان، وحقوق الإنسان تنص على أنّ «جينوم الإنسان يُشَكِّلُ الوحدة الأساسية لعائلة الإنسان، وهي أيضًا تمثل اعترافًا بكرامته وتنوعه الفطري. وبشكل مبسط، فهي تراث الإنسانية».

وعلى الرغم من أننا نتحدث عن جينوم الإنسان، فإن كلًّا منا لديه جينوم خفيٌّ يميزه عن غيره من البشر، ويمكن استخدامه للتعرف إليه. فالاضطرابات الْوراثيَّة، مثل التليّف الكيسي، ومرض هنتنجتون يمكن التّعرّف إليهما عن طريق الدراسة المسحيّة، إلا أنّ علم الجينومات سيزيد، وبشكل كبير، من عدد الصفات التي يمكن التّعرّف إليها. ماذا لو حصلت شركات التأمين الصِّحيِّ على المعلومات المتعلقة بتعدد أشكال النيوكليوتيد الواحد الخاص بك؟ هل يمكن التمييز ضدك لأن الجينوم الخاص بك يُظهر قابليتك للإدمان على الكحول، أو الإصابة بمرض في القلب؟ أي نوع من الحماية القانونية يمكن وضعها لكي تمنع مثل هذا التمييز؟

هناك نقطة إيجابية أخرى، تطلب القوات المسلحة الأمريكية من أفرادها عينات DNA بغية استخدامها من أجل التّعرّف إلى الضحايا، والتّعرّف عن طريق DNA جلب ارتياحًا لضحايا مبنى التجارة العالمي. واستُخدم التّعرّف عن طريق DNA في القضايا الجنائية.

علم جينومات السلوك هو أيضًا من الموضوعات الغنية بالاحتمالات والمآزق. هناك القليل من الصفات السلوكية يمكن إرجاعها إلى جينات فردية. فهناك جينان تَمَّ ربطهما مع التخلف العقلي الهش –X، وثلاثة لظهور ألزهايمر مبكرًا. قد تقود مقارنة جينومات عدة إلى تَعَرّفِ جينات عدة تتحكم في مدى من التصرفات. هل سيغير هذا من نظرتنا إلى التصرفات المقبولة؟

في آيسلندا، صَوَّتَ البرلمان على إنشاء شركة تجمع قاعدة بيانات تضم معلومات طبية، ووراثية، وعرقية عن الآيسلنديين وخصوصًا مجموعة الناس المتميزين من الناحية الجينية. وبسبب قلة الهجرة سواء أكان منها أم إليها في السنوات الـ 800 السابقة، فإنَّ المعلومات التي يمكن استخراجها من قاعدة البيانات الآيسلندية مبهرة. في النهاية، يجب أنْ توزن هذه المعلومات ضد أي عمل من المحتمل أنْ يُمَيِّز أو يُوصِمَ الأفراد أو الجماعات.

يُسْتَخْدَمُ علم الجينومات في التّعرّف إلى بقايا ضحايا الكوارث، ويمكن استخدام ذلك للتعرف إلى الأسلحة البيولوجية أيضًا. ويُستخدم هذا العلمُ حاليًا لتحسين المحاصيل الزراعية والحيوانات الداجنة. هذا الحقل أنشأ جدلًا حول من يملك المعلومات الجينومية/ الْوراثيَّة.

مراجعة المفاهيم

18-1 خرائط الجينومات

تشكل الخرائط معالِم على الطريق حول الجينوم.

- تزودنا الخرائط الْوراثيَّة بالمواقع النسبية للجينات على الكروموسوم بناءً على تكرار إعادة الاتحاد، وتزودنا برابط مع الطّرز الظّاهريّة.
- الخرائط الطّبيعيَّة تستند إلى معالِم على DNA الحقيقي.
- هناك خرائط عدة طبيعية.
  - الخرائط المُحدِّدة تعتمد على المسافات بين مواقع الأنزيمات المُحدِّدة (الشكل 18-1).
  - يمكن استخدام التداخل بين القطع الصغيرة لتجميعها في قطع متلاصقة تُسمَّى السّلسلة المتّصلة.
  - تُستخدم الأشرطة الكروموسومية والصبغات والتهجين لإنتاج خرائط خلوية منخفضة التفاصيل.
  - تبنى خرائط الهجين الإشعاعي بعد دمج خلية تعرضت للإشعاعات مع خلية أخرى ليتمّ التّعرّف إلى الأجزاء المتداخلة في الكروموسومات.
  - الخرائط الطّبيعيَّة النهائية هي تعاقب النيوكليو تيد لـ DNA.
- بالإمكان استغلال أي موقع طبيعي كموقع معلَّم التعاقب، بناءً على امتداد صغير من DNA الفريد الذي يسمح بالتّعرّف إلى القطعة دون غموض.
- يمكن ربط الخرائط الطّبيعيَّة مع الخرائط الجينية. أي جين يمكن استنساخه يمكن وضعه داخل تعاقب الجينوم، ومن ثم تحديد موقعه.

18-2 معرفة تعاقب كامل الجينوم

إن تحليل تعاقب الجينوم على مستوى واسع يَتَطَلَّبُ تحليلًا آليًّا ذا قدرة عالية إضافة إلى تحليل مُحَوسب.

- تحليل التعاقب الآلي دقيق لقِطَع من DNA طولها 800 زوج قاعدي. الأخطاء محتملة، ويتمّ تحليل 5-10 نسخ من القطعة ومقارنتها.
- الكروموسومات الاصطناعية التي تستند إلى الكروموسومات البكتيرية تسمح باستنساخ قطع أكبر من DNA.
- تحليل تعاقب سلالة إثر سلالة يقارن بين المناطق المتداخلة للخرائط المُحدِّدة باستخدام كروموسومات البكتيريا الاصطناعية، أو التّعرّف إلى موقع معلَّم التعاقب بين المستنسلات (الشكل 18-3).
- تحليل التعاقب الْعشوائيّ يتطلب تحليل تعاقب مستنسلات عشوائية، ثم استخدام الحاسوب لتجميع التعاقب الذي اسْتُكْمِل.
- تحليل تعاقب كامل الجينوم يستخدم طريقتي سلالة إثر سلالة وتحليل التعاقب الْعشوائيّ (الشكل 18-5).

18-3 وصف المحتوى الجيني (الجينوم)

تعاقبات الجينومات وصفيةٌ، ولا تزودنا بمعلومات عن التنظيم الجينومي، أو نواتجه، ولا عن علاقاتها المتبادلة.

- على الرّغم من أنّ جينوم حقيقيات النوى أكبر، ولديه جينات أكثر من بدائيات النوى، فإن حجم المخلوق لا يرتبط بحجم الجينوم.
- بمجرد تحديد تعاقب الجينوم، يمكن التّعرّف إلى الجينات بالبحث في أُطُر القراءة المفتوحة (ORF).
- يبدأ إطار القراءة المفتوحة بكودون البداية، ولا يحتوي على كودون توقف إلا بعد مسافة كافية لتشفير بروتين ما.
- تَسْتَخْدِمُ المعلوماتية الحياتية برمجياتٍ للبحث عن الجينات، ومقارنة الجينومات وتجميعها.
- تحتوي الجينومات على DNA مُشَفِّر وغير مُشَفِّر.
- في حقيقيات النوى، يضم DNA الذي يُشَفِّرُ لبروتين جينات ذات نسخة واحدة.
- يمكن مضاعفة المناطق التي تحتوي على جينات (التضاعف القِطَعي).
- الجينات الْمُشَفِّرَةُ لبروتينات قد توجد بوصفها جزءًا من عوائل متعددة الجينات ومجاميع ترادفية.
- يُشَكِّلُ DNA غير الْمُشَفِّرِ في حقيقيات النوى 99% من DNA. ويقع DNA غير الْمُشَفِّرِ ضمن الجينات (المناطق المعترضة)، وقد يكون تركيبيًّا، وغير قابل للاستنساخ، ويحتوي على سلاسل قصيرة مكررة.
- قد تراكم الجينات المشفّرة للبروتينات التي تُضاعف طفرات، وتصبح جينات كاذبة.
- 45% تقريبًا من جينات الإنسان تتألف من عناصر قابلة للانتقال، ومتحركة، وتوجد بنسخ عدة.
- يمكن تقديرعدد الجينات المعبر عنها ومواقعها بتحديد تعاقب أطراف DNA منتقاة عشوائيًّا لتنتج تعاقبات معلّمة ومعبّر عنها (ESTs).
- ينتج الوصل البديل للجينات الموجودة بروتينات مختلفة وبوظائف مختلفة (الشكل 18-7).
- الاختلافات الْوراثيَّة بين الأفراد يمكن أن توجد بوصفها اختلافات في نيكلوتيد واحد، منتجة التعدد الشكلي لنيكلوتيد وحيد (SNPs).
- الجينوماتُ أحاديةُ النوع مناطق من الكروموسومات لم تنتج من تبادل عن طريق إعادة الاتحاد. يطلق على ذلك الربط غير المتوازن، ويمكن أنْ يستخدم لتحديد خرائط الجينات بالاشتراك (الشكل 18-8).

18-4 علم الجينومات والبروتيومات

البروتيومات تصف البروتينات التي تنتجها الخلية.

- يدرس حقل علم الجينومات المقارن المناطق المحافظة في الجينوم في الأنواع.
- إنّ الفرق الكبير بين جينوم الإنسان وجينوم الشمبانزي يكمن في العناصر القابلة للنقل.
- التصاحب الجيني يشير إلى الترتيب المحافظ لقطع DNA في جينومات ذات قرابة.
- تحتوي البلاستيدات الخضراء والميتوكوندريا على مكونات مشفّرة من قبل الجينوم الخاص بهما، ومن قبل الجينوم النووي.
- يدرس علم الجينومات الوظيفية، وهو علم تدفعه الفرضيات، وظائف الجينات ونواتجها.
- يسمح DNA ذو الترتيب الدقيق برصد الجينات جميعها ومعرفتها، التي تَمَّ التعبير عنها دفعة واحدة (الشكل 18-10).
- يصف علم البروتيومات البروتينات المنتجة من قبل الخلية جميعها. والترانسكريبتوم (المستنسخ) هو mRNA الموجود في الخلية في وقت معين جميعه.
- يُستخدمُ البروتين ذو الترتيب الدقيق للتعرف إلى أعداد كبيرة من البروتينات ووصفها.
- يُستخدمُ نظام الخميرة ثنائي الهجين لإنشاء خرائط لتفاعلات البروتينات على نطاق واسع.

18-5 تطبيقات علم الجينومات

يمثل علم الجينومات ثورة في علم الأحياء الذي سوف يكون له أثر باقٍ على طريقة تفكيرنا في الأنظمة الحياتية.

- يساعد علم الجينومات على تعرّف أسباب تفشي الأمراض الوبائية إن كانت طبيعية أو حدثت عن قصد.
- يساعد علم الجينومات على تحسين الحيوانات الدّاجنة، والقيمة الغذائية للمحاصيل واستجابتها للإجهاد البيئيّ.
- يُبرز علم الجينومات قضايا أخلاقية تتعلق بِملْكِيَّةِ المعلومات الجينية، والْخصوصيّة الفرديّة.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. تستند الخريطة الجينية إلى:
أ . تعاقب DNA.
ب. الموقع النسبي للجين على الكروموسوم.
جـ. مواقع قطع الأنزيمات المُحدِّدة.
د. نمط أشرطة الكروموسوم.

2. الموقع معلَّم التعاقب هو:
أ . تعاقب فريد داخل DNA يمكن استخدامه في الخرائط.
ب. تعاقب مكرر داخل DNA يمكن استخدامه في الخرائط.
جـ. عنصر أعلى التيار يسمح بتحديد خرائط الطرف 3` في الجين.
د . (أ) و (جـ).

3. الكروموسوم الاصطناعي مفيد لأنه:
أ . يعطي نتائج أكثر انسجامًا وثباتًا من الكروموسوم الطبيعي.
ب. يسمح بعزل سلاسل DNA أكبر.
جـ. يزودنا بعدد أكبر من نسخ DNA.
د . خطّيٌّ.

4. إحدى التقنيات الآتية تعتمد على معرفتنا بالسلاسل المتداخلة:
أ . خرائط الهجين الإشعاعي.
ب. الطريقة العشوائيّة لتحديد تعاقب DNA.
جـ. التهجين اللامع في الموقع.
د . طريقة سلالة إثر سلالة في معرفة التعاقب.

5. العدد الذي يمثل العدد الإجمالي للجينات في جينوم الإنسان هو:
أ . 2,500. ب. 10,000.
جـ. 25,000. د . 100,000.

6. يتميز إطار القراءة المفتوح (ORF) بوجود:
أ . كودون التوقف.
ب. كودون البداية .
جـ. تعاقب DNA طويل بشكل كافٍ ليشفّر لبروتين.
د. كلّ ما ذكر.

7. بحث BLAST هو:
أ . آلية لاصطفاف المناطق التي تَمَّ الإجماع عليها خلال تحديد تعاقب الجينوم.
ب. البحث عن تعاقبات مشابهة لجين معين في أنواع أخرى.
جـ. طريقة لمسح مكتبة DNA.
د . طريقة للتعرف إلى إطار القراءة المفتوح.

8. واحدٌ مما يأتي ليس مثالًا على جين مشفر لبروتين:
أ . جين ذو نسخة واحدة. ب. مجموعة ترادفية.
جـ. الجين الكاذب. د. عائلة متعددة الجينات.

9. يعتقد أن التضاعف الجيني الناتج عن عبور غير متساوٍ في أثناء الانقسام الاختزالي يتسبب في إنتاج:
أ . تضاعف قِطَعي. ب. تضاعف ترادفي.
جـ. تكرار بسيط التعاقب د . عائلة متعددة الجينات.

10. واحدٌ مما يأتي ليس مثالًا على DNA غير المشفّر:
أ . المحفز. ب. المناطق المعترضة.
جـ. الجين الكاذب. د . الإكسون (المنطقة المشفرة).

11. تصبح مقارنة الجينومات أسهل بوجود:
أ . التصاحب الجيني.
ب. أحادية النوع.
جـ. العناصر القابلة للنقل (القافزة).
د . علامات التعاقب المعبر عنها.

12. المعلومات التي يمكن الحصول عليها من DNA ذي الترتيب الدقيق هي:
أ . تحديد تعاقب جين معين. ب. وجود جينات في نسيج معين.
جـ. نمط التعبير الجيني. د . الاختلافات بين الجينومات.

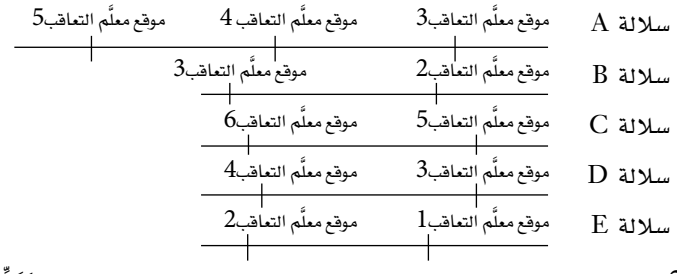
13. واحدٌ مما يأتي صحيح بالنسبة إلى تقنية DNA ذي الترتيب الدقيق والسرطان:
أ . يمكن أنْ يحدد DNA ذو الترتيب الدقيق نوع السّرطان.
ب. يمكن أنْ يقيس مقدار DNA ذي الترتيب الدقيق استجابة السّرطان للعلاج.
جـ. يمكـن استخـدام DNA ذي الترتيـب الدقيـق للتنبـؤ فيمـا إذا كان السرطان سينتشر أم لا.
د . كل ما ذكر.

14. البروتيوم هو:
أ . مجموعة تضم الجينات المشفِّرة للبروتينات جميعها.
ب. مجموعة تضم البروتينات المشفَّرة من قبل الجينوم جميعها.
جـ. مجموعة تضم البروتينات الموجودة في الخلية جميعها.
د . تعاقب الأحماض الأمينية في البروتين.

15. التقنية التي يمكن أنْ تستخدمَ لاختبار تفاعل البروتين- البروتين في الخيلة هي:
أ . المسح ثنائي الهجين.
ب. قاعدة بيانات أشكال البروتينات.
جـ. البروتين ذو الترتيب الدقيق.
د . (أ) و (جـ).

أسئلة تحدٍّ

1. هب أنك تعمل في المراحل الأولى من مشروع تعاقب الجينوم. وقد عزلت عددًا من المستنسلات من مكتبة كروموسومات البكتيريا الاصطناعية، ثم أنهيت تحديد مواقع المدخلات في تلك المستنسلات باستخدام مواقع معلَّمة التعاقب. استخدم المواقع معلَّمة التعاقب لاصطفاف تلك المستنسلات على شكل سلاسل متلاصقة من الجينوم.



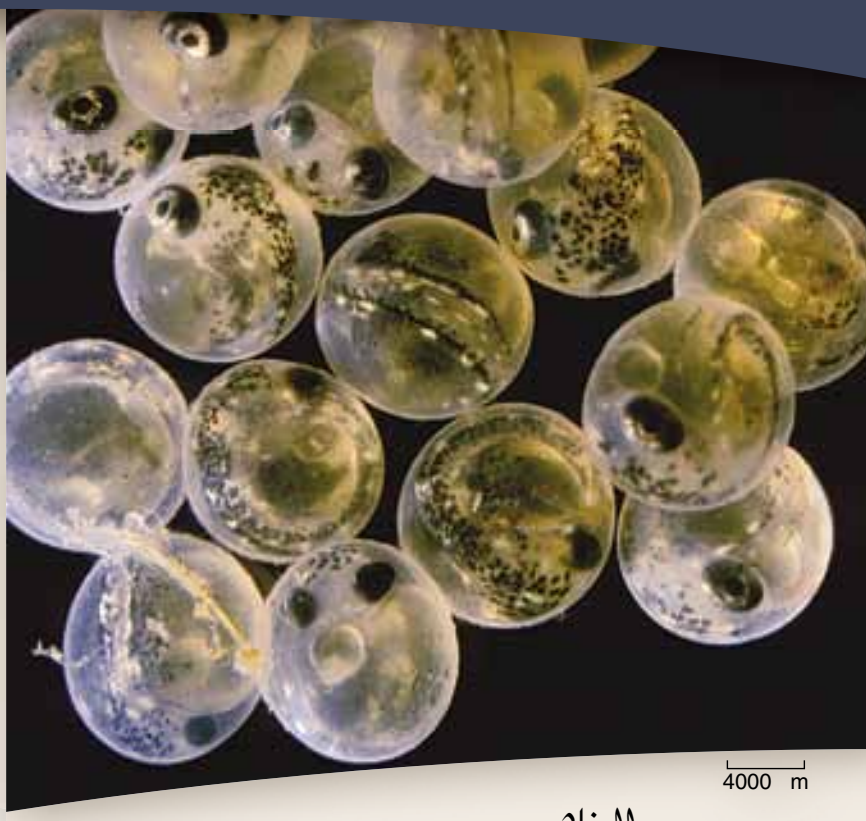
2. يمكن استخدام محرك بحث علم الجينومات لتحديد ما إذا كان تَفَشِّي مرض وبائيٍّ قد حدث بطريقة طبيعية أو عن عمد. وَضِّحْ ما هو الشيء الذي سيبحث عنه باحث علم الجينومات في حالة الاشتباه في عمل مقصود وراء تَفَشِّي مرض مثل الجمرة الخبيثة.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. للتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.

الفصل 19

الآليات الخلوية للتكوين الْجنينيّ

Cellular Mechanisms of Development



موجز المفاهيم

19-1 نظرة عامة على التّكوين الْجنينيّ

19-2 انقسام الْخليّة

- يبدأ التّكوين الْجنينيّ بانقسام الْخليّة.
- كلّ انقسام خلوي معروف في التّكوين الْجنينيّ للدودة *C. elegans*.
- تستمر الخلايا الْجذعيّة في الانقسام، وبمقدورها تشكيل أنواع عدة من الأنسجة.
- يحدث نموّ النّباتات في مناطق نوعية تسمى المرستيمات.

19-3 التّمايز الخلوي

- تصبح الخلايا محددة المصير قبل التّمايز.
- يمكن أنْ يُعزى تحديد المصير إلى محدِّدات سيتوبلازمية.
- بمقدور الْحثّ (التحفيز) أنْ يؤدي إلى التّمايز الخلوي.
- سمح انعكاس التحديد بالاستنسال.
- لدى الاستنسال التكاثري مشكلات متأصلة.
- يشكل الاستنسال العلاجي احتمالًا واعدًا.
- أبحاث الخلايا الْجذعيّة أثارت مناظرات أخلاقية.
- قد تكون الخلايا الْجذعيّة البالغة بديلًا عن الخلايا الْجذعيّة الجنينية.

19-4 تكوين النّمط

- يُنتج التّكوين الْجنينيّ للدروسوفيلا يرقة مُقسَّمة.
- يُكون تدرج تركيز المُشكِّلات المحور الأساسي لجسم الدروسوفيلا
- تنتج خطة الجسم بتنشيط متعاقب للجينات.
- تظهر هُوِيَّة القطع نتيجة فعل الجينات المتجانسة.
- يقع تكوين النّمط في النّباتات تحت السيطرة الوراثية أيضًا.

مقدّمة

نَشَأ كثير من أجيال الأطفال، وهم يفرحون كلما عثروا على يرقات الضفادع (أبو ذنيبة) في رحلاتهم الصيفية إلى برك المياه العذبة، أو شاهدوا وهم مفتونون كتكوت الدّجاج يثقب بمنقاره البيضة عند خروجه منها، أو أنعموا النظر في أزهار الرّبيع، وهي تخرج من الأرض. منذ آلاف السنين وتلك الأحداث العجيبةُ تلهم رغبة الإنسان لفهم الكيفية التي ينشأ بها المخلوق الحيّ، ثم ينموّ، ويتغير، وينضج.

لقد درسنا عملية التعبير الْجينيّ على مستوى الْخليّة، وتفحصنا الآليات المتنوعة التي توظفُها الْخليّةُ؛ بغية التّحكم في استنساخ جينات معينة. أما الآن، فسوف نوسع منظورنا لنرى التحديات الماثلة أمام نموّ الْخليّة الواحدة وتطورها، أي البيضة الْمُخصّبة، حتى تصبح مخلوقًا متعدد الخلايا، مثل ما يحدث في أجنّة الأسماك في الصورة. يحدث خلال رحلة التّكوين الْجنينيّ كثير من أنماط القرارات المتعلقة بالتعبير الْجينيّ، ما يجعل الخلايا تسير في مسارات مختلفة لتنسج شبكة معقدة من الأسباب والنتائج. وعلى الرغم من وجود هذه التعقيدات، فإن عملية التّكوين الْجنينيّ تعمل بدقة مذهلة. في هذا الفصل سوف نستكشف آليات التّكوين الْجنينيّ في المخلوقات متعددة الخلايا.

19-5 التّشكّل

- قد يؤدي انقسام الْخليّة في أثناء التّكوين الْجنينيّ إلى انقسام سيتوبلازمي بشكل غير متساوٍ.
- تغير الْخليّة شكلها وحجمها عند الشّروع في التّشكّل الْجنينيّ.
- موتُ الْخليّة المبرمج جزءٌ ضروريٌّ من التّكوين الْجنينيّ.
- تُوصِل هجرةُ الْخليّة الخلايا الصحيحةَ إلى أماكنها الصحيحة.
- يحدّد مستوى انقسام الْخليّة التّشكّل الْجنينيّ في النّباتات البذرية.

19-6 المؤثرات البيئية في التّكوين الْجنينيّ

- تؤثّر البيئة في التّكوين الْجنينيّ الطّبيعيّ.
- يمكن لمعطِّلات الْغدد الصّمّاء أنْ تُحدِثَ اضطراباتٍ في التّكوين الْجنينيّ.

19-1 نظرة عامة على التّكوين الْجنينيّ

بالإمكان تعريف **التّكوين الْجنينيّ Development** بأنه عملية منتظمة لتغيرات تُدار عن طريق الجينات، ويقوم المخلوق من خلالها بالانتقال إلى المراحل المتعاقبة في دورة الحياة. التّكوين الْجنينيّ متّصل، والبحث فيه يمكن أنْ يركّز على أيّ نقطة على طول الخط المتصل. إنّ دراسة التّكوين الْجنينيّ تؤدي دورًا رئيسًا في توحيد فهمنا لأوجه الشبه والاختلاف في أشكال الحياة على الأرض.

بإمكاننا تقسيم عملية التّكوين الْجنينيّ إلى أربع عمليات فرعية، هي:

- **النموّ (انقسام الْخليّة)**. يبدأ النبات أو الحيوان النامي كبيضة مُخصّبة، أو زيجوت ينبغي أنْ يقوم بالانقسام الخلوي ليكون جسم الفرد الجديد.
- **التّمايز**. بينما تنقسم الخلايا، تحدث تغيرات منسّقة في التعبير الْجينيّ، وذلك يؤدي في النهاية إلى تخصّص الْخليّة. في الخلايا المتمايزة، يتم التعبير عن بعض الجينات في أوقات معينة، في حين يتم إيقاف كامل لتعبير جينات أخرى.
- **تكوين النّمط**. يجب أنْ تتوجه الخلايا في الجنين المتكّون بحسب مخطط الجسم الذي سيصبح عليه الجنين. يتطلب تكونُ النّمط قدرةَ الخلايا على استشعار المعلومات المتعلقة بالتموضع التي ترشدها إلى مصيرها النهائي.
- **التّشكّل الْجنينيّ**. بينما تسير عملية النموّ والتّكوين الْجنينيّ، يتولد شكل الجسم، تحديدًا الأعضاء والخصائص التشريحية. وقد يتطلب التّشكّل الْجنينيّ موت الْخليّة، والانقسام الخلوي، والتّمايز.

وعلى الرغم من الفروق الواضحة بين مجموعات النّباتات والحيوانات، فإن معظم المخلوقات متعددة الخلايا تتطور بناءً على آليات جزيئية متشابهة في أساسياتها. تقترح هذه الملاحظات أنّ الآليات قد تطورت في وقت مبكر من تاريخ أشكال الحياة متعددة الخلايا.

19-2 انقسام الْخليّة

عندما يفقس أبوذنيبة الضفدع، ويخرج من الغلف المحيطة به، يكون حجمه مساويًا لحجم البيضة الْمُخصّبة التي نشأ منها تقريبًا. فبدلًا من أنْ يكون خلية واحدة، يتكون أبو ذنيبة من مليون أو ما يقرب من ذلك من الخلايا التي تكون قد ترتبت على شكل أنسجة وأعضاء لها وظائف مختلفة. لذا، فإنّ أول عملية يجب أنْ تحدث خلال التّكوين الْجنينيّ هي انقسام الْخليّة.

فبعد الإخصاب مباشرة، يمر الزيجوت ثنائي الكروموسومات بمدة سريعة من الانقسام المتساوي التي تؤدي في النهاية إلى تكوين جنين يتألف من عشرات إلى آلاف الخلايا ثنائية الكروموسومات. وفي أجنّة الحيوانات، يكون توقيت الانقسامات وعددها محددًا بحسب نوع الحيوان. ويتم التّحكم فيه عن طريق طقم من الجزيئات التي درسناها في (الفصل الـ 10): السايكلينات (السايكلينات) Cyclins والمفسفر المعتمد على السايكلين **Cyclin dependent kinase (Cdks)**. هذه الجزيئات تتحكم في نقاط التفتيش في دورة الانقسام المتساوي.

يبدأ التّكوين الْجنينيّ بانقسام الْخليّة

تسمى المرحلة السريعة من الانقسامات الخلوية التي تتبع الإخصاب، في أجنّة الحيوانات، **التّفلّج Cleavage**. خلال التّفلّج، يحدث انقسام للزيجوت الضخم، وينتج أعدادًا متزايدة من الخلايا الصغيرة تسمى **قطع البلاستيولا Blastomeres** (الشكل 19-1). لذا، فإنّ التّفلّج لا يصاحبه زيادة في حجم الجنين. ويتم اختصار مرحلتي G_1، G_2 في دورة الْخليّة، التي تحدث خلالهما زيادة في الحجم والكتلة، فتصبح قصيرة جدًا، أو قد يتم حذفها خلال عملية التّفلّج (الشكل 19–2).

ويسبب غياب مرحلتي الثغرات/النموّ، فإنّ المعدل السريع للانقسام المتساوي خلال التّفلّج يتكرر طوال مدة حياة الحيوان. فعلى سبيل المثال، تنقسم قطع بلاستيولا سمكة حمار الوحش مرة واحدة كلّ دقائق عدة خلال التّفلّج، لإنتاج جنين مكوّن من آلاف الخلايا خلال أقل من 3 ساعات. وفي المقابل، فإنّ الخلايا الطّلائيّة للأمعاء الدقيقة تنقسم بمعدل مرة واحدة كلّ 19 ساعة.

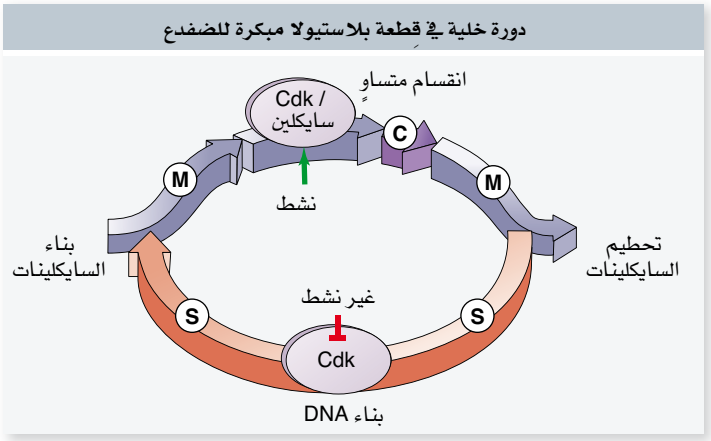
وعندما تتوافر مصادر خارجية للغذاء- كما هو حال طور اليرقة المتغذية أو بعد انغراس الأجنة الحيوانية في الأرحام- فإنّ الخلايا البنوية تزيد في الحجم بعد انقسام السيتوبلازم، ومن ثَم، فإنّ الزيادة في حجم المخلوق تتم بازدياد عدد الخلايا.

كلّ انقسام خلوي معروف في التّكوين الْجنينيّ للدودة *C. elegans*

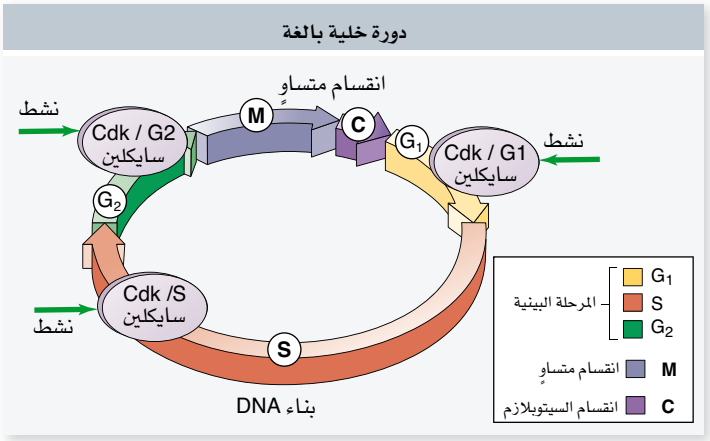
إنّ أحد أهم نماذج التّكوين الْجنينيّ التي تم وصفها بشكل كامل هو للدودة الْخيطيّة الدقيقة *Caenorhabditis elegans*. يبلغ طول الجسم البالغ 1 مم، ويحتوي على 959 خلية جسمية.

الشكل 19–1

انقسامات التّفلّج في جنين الضفدع. أ. الانقسام التفلجي الأول يقسم البيضة إلى قطعتي بلاستيولا كبيرتين. ب. بعد انقسامين، تتكون أربع قِطع بلاستيولا صغيرة تجلس فوق أربع قِطع بلاستيولا كبيرة، وتقوم كلّ واحدة منها بالانقسام حتى تنتج (جـ) كتلة من الخلايا المتراصة.



ب.

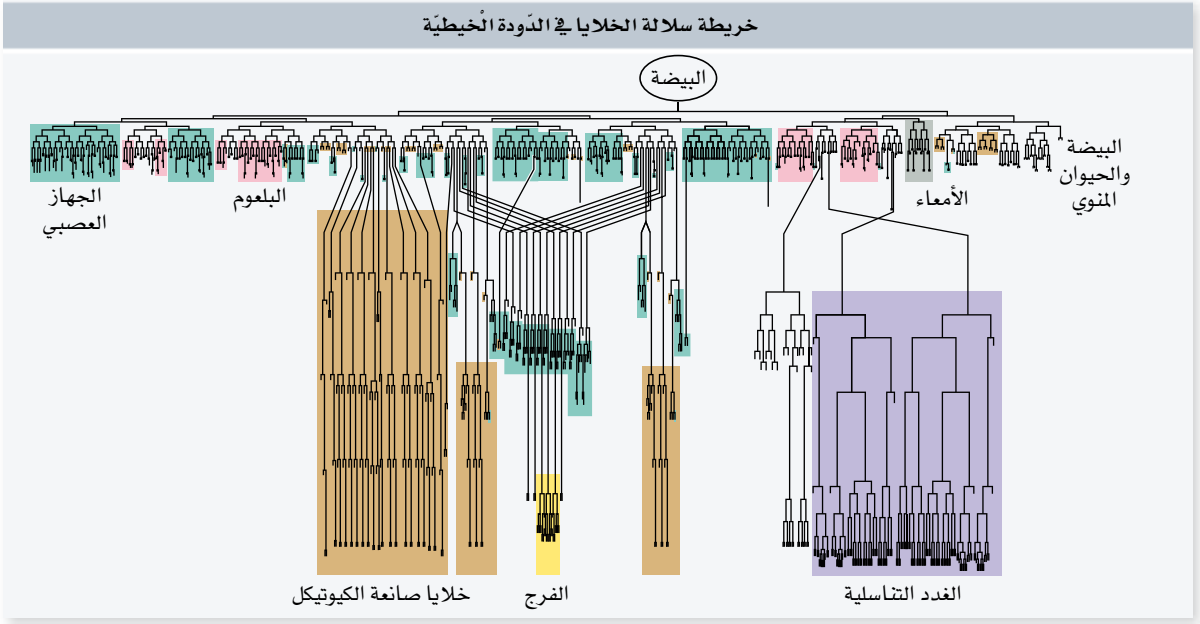


أ.

الشكل 19–2

دورة الْخليّة لخليتين؛ بالغة وجنينية. خلافًا لدورة الْخليّة لخلية جسمية بالغة (أ)، تفتقر الْخليّة الجنينية في الضفدع إلى مرحلتي G_1 و G_2 (ب) وذلك لتُمَكِّن الأنوية في مرحلة التّفلّج من الانتقال بسرعة بين تصنيع DNA والانقسام المتساوي. هناك مخزون كبير من mRNA والسايكلينات في البيضة غير الْمُخصّبة. وإنّ الترجمة الدورية للرسالة تنتج بروتينات السايكلينات. تحطيم السايكلينات وتثبيط السايكلين Cdk يسمح للخلية بإكمال الانقسام المتساوي، والبدء في الجولة الثانية من صناعة DNA.

ولأنّ *C. elegans* شفافة، فبالإمكان تتبع الخلايا في أثناء انقسامها. وبملاحظتها تعلم العلماء كيف اشتقت كلّ خلية من خلايا الجسم البالغ من البيضة الْمُخصّبة. وكما يظهر في خريطة السلالة في (الشكل 19 – 3 أ)، فإنّ البيضة تنقسم إلى خليتين، ثم تستمر هاتان الخليتان البنويتان في الانقسام. وكلّ خط أفقي يمثل دورة انقسام خلوي. يمثل طول الخط العمودي المدة الزمنية بين الانقسامات الخلوية، في حين تمثل نهاية كلّ خط عمودي خلية كاملة التّمايز. وفي (الشكل 19–3 ب)، لُوِّنَتِ الأعضاء الرّئيسة بألوان تماثل ألوان مجموعات الخلايا في خريطة السلالة.



أ.

ب.

الشكل 19–3

دراسة الانقسام الخلوي الْجنينيّ، والتّكوين الْجنينيّ في الدّودة الْخيطيّة. التّكوين الْجنينيّ في *C. elegans* تم رسم خريطته، بحيث حُدِّد مصير كلّ خلية نشأت من البيضة أ. تظهر خريطة السلالة عدد الانقسامات الخلوية من البيضة، كما توضح الألوان أماكن وجودها في المخلوق البالغ (ب). رسومات م. إ. كالينور. مأخوذة من مركز هاوارد هيوز الطبي، كما نُشِرَ في كتاب من البيضة إلى البالغ 1992، تمت الموافقة على إعادة النشر.

بعض من تلك الخلايا المتمايزة، مثل التي تولِّد الكيوتيكل الخارجية للدودة، «تُولَد» بعد 8 جولات من الانقسام الخلوي، هناك خلايا كيوتيكل تحتاج إلى 14 جولة من الانقسامات الخلوية. الخلايا التي تكون بلعوم الدّودة، أو عضو التغذية، تولد بعد 9 إلى 11 جولة من الانقسامات، في حين تحتاج خلايا الغدد التناسلية إلى 17 جولة من الانقسامات.

وهناك تحديدًا 302 خلية عصبية تكون الجهاز العصبي للدودة. هناك 131 خلية تحديدًا يكون مصيرُها الموتَ المبرمج، وهذا يحدث بعد دقائق من «ولادتها». إنّ مصير كلّ خلية في *C. elegans*، هو نفسه في كلّ فرد، ما عدا الخلايا التي ستصبح بيضة أو حيوانًا منويًّا.

تستمر الخلايا الْجذعيّة في الانقسام، وبمقدورها تشكيل أنواع عدة من الأنسجة

قِطعُ البلاستيولا الناتجة عن مرحلة التّفلّج في أجنّة الثّدييّات غيرُ متمايزة، وبمقدورها أنْ تكون أيّ نوع من الأنسجة. وبينما تمضي عملية التّكوين الْجنينيّ، تصبح الخلايا محدَّدة في مصيرها النهائي، كما ستُناقش في الجزء الآتي. توضع بعض الخلايا، وتسمى **الخلايا الْجذعيّة Stem cells**، جانبًا، وتستمر في الانقسام، وتبقى غير متمايزة. فعلى سبيل المثال، هناك مجموعة من الخلايا توضع جانبًا، التي سوف تكوّن الخلايا العصبية، وأخرى ستكوّن الدم، في حين تكوّن، أخرى العضلات. كلّ نسيج رئيس ممثل بمجموعته الخاصة من **الخلايا الْجذعيّة ذات النوعية لذلك النسيج Tissue specific stem cells**. وبينما تستمر عملية التّكوين الْجنينيّ، تستمر الخلايا الْجذعيّة نوعية النسيج باقية- حتى في مرحلة البلوغ.

قد تكوِّن الخلايا الْجذعيّة نوعًا واحدًا من الخلايا، مثل الخلايا النجمية المرافقة للعضلات التي تكوّن خلايا العضلات، أو قد تكوّن أنواعًا عدة من الخلايا، مثل الخلايا النخاعية التي تكوّن الأنواع المختلفة من خلايا الدم. الخلايا الْجذعيّة التي تكوِّن أنواعًا عدة من الخلايا تسمى **شاملة القدرة Totipotent** وهذا يعني أنها تستطيع تكوين أيِّ نوع من الخلايا، وهناك نوع آخر يُسمّى **متعددة القدرة Pluripotent**، ما يعني أنّ لديها القدرة على تكوين أنواع عدة مختلفة من الخلايا.

يستمر التّفلّج في الثّدييّات مدة خمسة أو ستة أيام لينتج بعدها كرة من الخلايا تسمى **كيس البلاستيولا Blastocyst**. يتألف كيس البلاستيولا من طبقة خارجية تكوّن المشيمة التي تحتوي على كتلة الخلايا الداخلية التي ستكوّن الجنين فيما بعد. بالإمكان عزل كتلة الخلايا الداخلية وزراعتها في مستنبت (الشكل 19-4)؛ وتسمى هذه الخلايا **الخلايا الْجذعيّة الجنينية Embryonic stem cells (Es cells)** التي باستطاعتها تكوين أيّ نوع من الأنسجة كما تم دراستها في الفئران بشكل مكثف، وإذا أخذت خلايا جذعية جنينية من جنين في مرحلة مبكرة، ثم وُضِعَتْ في جنين آخر، فإنّ ارتباطها مع الخلايا المحيطة بها سيحدد مصيرها.

لقد تمكن العلماء من حثّ الخلايا الْجذعيّة الجنينية لكي تتمايز بمسارات مختلفة عند وجودها في مستنبت، وذلك بتعريضها لإشارات كيميائية في الوسط الإنمائي. سنناقش هذا النوع من الخلايا في هذا الفصل لاحقًا.

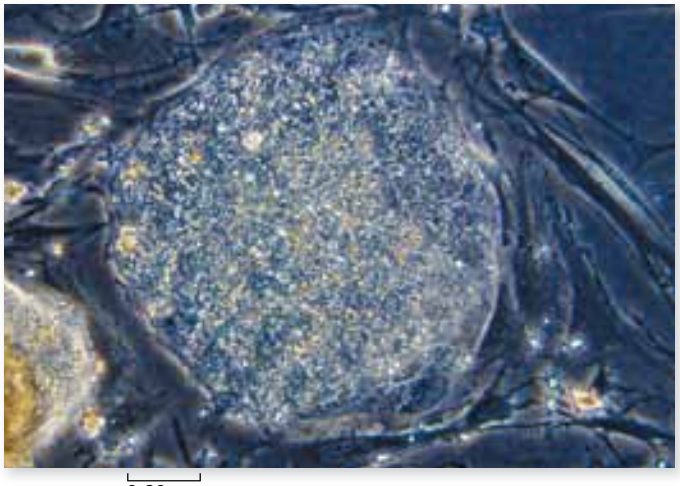
يحدث نموّ النبات في مناطق محددة تسمى المرستيمات

إن أحد الفروق الرّئيسة بين النّباتات والحيوانات، هو أنّ معظم الحيوانات تتحرك، ولو في إحدى مراحل دورات حياتها على الأقل؛ ومن ثم فهي قادرة على الابتعاد عن الظروف غير الملائمة. بالمقارنة، فإنّ النّباتات ثابتة في مكان واحد، وعليها أنْ تتكيف مع الظروف البيئية المحيطة بها أيًّا كان نوعها. وتقوم النّباتات بموازنة هذه القيود بالسماح لعملية التّكوين الْجنينيّ باستيعاب الظروف المحيطة بها والتكيف معها.

فبدلًا من أنْ تصنع جسمًا له أجزاء محددة بحجم ومكان معينين، فإنّها تقوم بتجميع الجسم خلال مدة حياتها من وحدات عدة مثل، الأوراق، والجذور، وعقد الفروع والأزهار. وكلّ وحدة لها تركيبها وتنظيمها الخاص به والمتحكم فيه بدقة. وتبقى عملية استغلال هذه الأجزاء مرنة، حيث تتكيف كلّ واحدة مع الظروف البيئية على طريقتها.

تتكون النّباتات ببناء أجسامها إلى الخارج، حيث تنتج أجزاء جديدة من مجموعات خلايا جذعية موجودة في تراكيب تسمى **المرستيمات Meristems**. تنقسم الخلايا الْجذعيّة المرستيمية باستمرار، وتنتج خلايا تستطيع التمايز لتكون أنسجة النبات.

أ.



ب.

الشكل 19-4

عزل خلايا جذعية جنينية. أ. يؤدي الانقسام الخلوي المبكر إلى تكوين مرحلة كيس البلاستيولا الذي يتكون من طبقة خارجية وكتلة داخلية من الخلايا سوف تكون الجنين. بالإمكان عزل الخلايا الْجذعيّة الجنينية في أثناء تلك المرحلة، وذلك بتمزيق الجنين وزرع الخلايا. الخلايا الْجذعيّة التي تُؤخذ من كيس بلاستيولا عمره 6 أيام يمكن أن تؤسس في مستنبت، وتظلُّ مدة زمنية غير محددة، وهي في حالة غير متمايزة. ب. الخلايا الْجذعيّة الجنينية من الإنسان. تظهر الكتلة في الصورة مستعمرة من الخلايا الجذعية الجنينية غير المتمايزة محاطة بخلايا مولدة الألياف (خلايا متطاولة) تعمل «كطبقة مغذية».

يشير المخطط المبسّط إلى الحاجة إلى التّحكم في الانقسام الخلوي. نحن نعلم الآن أنّ الجينات التي تتحكم في دورة الْخليّة توجد في الخميرة (الفطريات) وفي الخلايا الحيوانية، ما يدل على أنها ابتكار لحقيقيات النوى، وإن الآلية نفسها تتم في النّباتات، وتحدث عن طريق السايكلينات والمفسفرات المعتمدة على السايكلينات. ولقد أوضحت إحدى التجارب على نبات رشاد الجدران المعدّل جينيًّا *Arabidopsis thaliana* أنّ زيادة التعبير الْجينيّ لمثبطات Cdk أدت إلى تثبيط واسع لانقسام الْخليّة في الخلايا المرستيمية للورقة، ما أدى في النهاية إلى تغيير حجم الورقة وشكلها.

تحدث في الأجنة الحيوانية، سلسلة من الانقسامات الخلوية السريعة تؤدي إلى تحويل البيضة الْمُخصّبة إلى خلايا متعددة دون أي تغيير في الحجم. يحدث هذا بعد حذف مرحلتي G_1 و G_2 من الانقسام المتساوي. كلّ انقسام يؤدي إلى تكوين جسم الدّودة *C. elegans* البالغ معروفٍ، وهذا النّمط غير متغير. الخلايا الْجذعيّة خلايا غير متمايزة، وقادرة على أنْ تعطي عددًا من الأنسجة. يكون النموّ في النّباتات مقصورًا على مناطق معينة تسمى المرستيمات، حيث يستمر بقاء الخلايا الْجذعيّة.

3-19 التّمايز الخلوي

في الفصل 16، درسنا الآليات التي تتحكم في عملية التعبير الْجينيّ. هذه العمليات مهمة جدًا من أجل تكوين المخلوقات متعددة الخلايا، حيث تُنجز الوظائف الحيوية في أنسجة وأعضاء مختلفة. وفي أثناء عملية التّكوين الْجنينيّ، تصبح الخلايا مختلفة عن بعضها بسبب التعبير الْجينيّ لمجموعات مختلفة من الجينات- ليس فقط في أوقات مختلفة، ولكن في مواقع مختلفة في الجنين. وسوف ندرس بعض الآليات التي تؤدي إلى التعبير الْجينيّ المتمايز خلال عملية التّكوين الْجنينيّ.

تصبح الخلايا محددة المصير قبل التّمايز

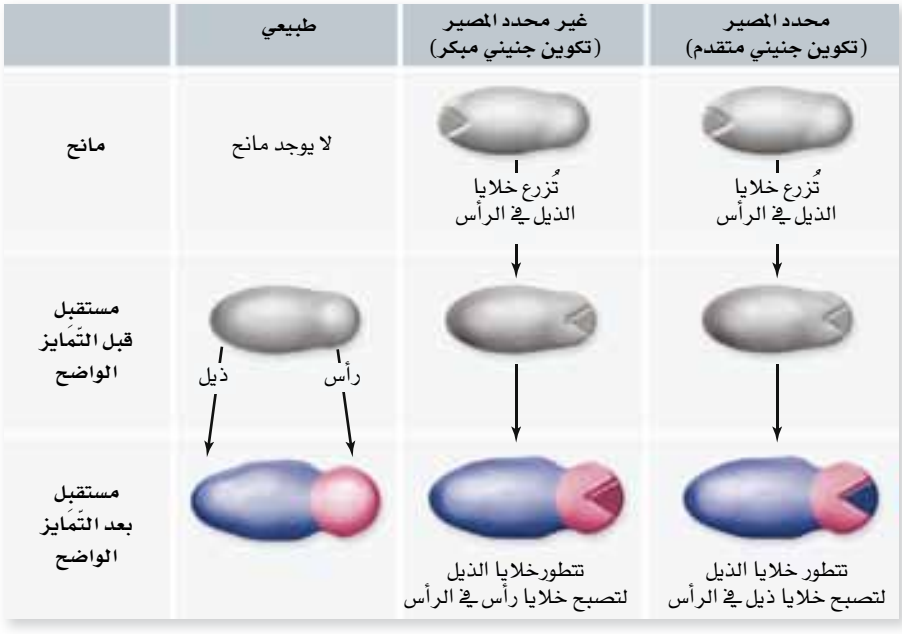
يحتوي جسم الإنسان على 210 أنواع رئيسة من الخلايا المتمايزة. يمكن التفريق بين هذه الأنواع عن طريق البروتينات النوعية التي تنتجها، وبشكل الخلايا ووظائفها المحددة. ويتخذ القرار الجزيئي بأنّ تصبح أي نوع من الخلايا المتمايزة قبل أنْ يحدث أيُّ تغير صريح في الخلايا. تسمى عملية اتخاذ القرار الجزيئي **تحديد مصير الْخليّة Cell determination**، وهي تجبر الْخليّة على الدخول في مسار تكوين جنيني معين.

تتبع تحديد مصير الخلايا

تحديد المصير غير مرئي، وإنما يمكن «رؤيته» فقط بالتجربة. تتمثل التجربة النموّذجية للكشف عن تحديد المصير في نزع خلايا من الجسم المانح ووضعها بين خلايا الجنين المستقبل. فإذا تشكلت خلايا تشبه التي كانت ستكونها في الجسم المانح، فهذا يعني أنّ تلك الخلايا قد تم تحديد مصيرها (الشكل 19-5).

يخضع تحديد المصير لتسلسل زمني، يعتمد على سلسلة من الأحداث الداخلية والخارجية، أو كليهما. فمثلًا، الْخليّة الموجودة ضمن مجموعة الخلايا التي ستكون الدماغ في جنين البرمائيات في المرحلة المبكرة من الجاسترولا (انظر الفصل الـ 53) لم يتم تحديد مصيرها بعد، ولكن إذا زُرعت في مكان آخر في الجنين، فإنها سوف تتطور بحسب خلايا الموقع الجديد. ولكن في المراحل المتأخرة من الجاسترولا، يكون قد حدثت تفاعلات إضافية بين الخلايا، ويكون قد حدث تحديد المصير، حيث ستقوم هذه الخلايا بتكوين النسيج العصبي بغض النظر عن الموقع الذي زُرعت فيه.

غالبًا ما تحدث عملية تحديد المصير على مراحل، تبدأ بالالتزام الجزئي للخلايا، ثم تكتسب علامات تموضع تعكس موقعها في الجنين. لهذه العلامات تأثير كبير



الشكل 19-5

الاختبار النموذجي لتحديد المصير. تمثل الأشكال الرمادية البيضويّة أجنّة في مراحل مبكرة من التّكوين الْجنينيّ. الخلايا على اليمين عادة ما تطوّر تراكيب الرأس، في حين أنّ الخلايا التي إلى اليسار تطوّر تراكيب الذيل. وإذا زرعت خلايا الذيل المنتظرة من الجنين المبكر في النهاية المقابلة لجنين مُستقبِل، فإنها سوف تكوّن تراكيب رأس، تبعًا لموقعها الجديد. فهذه الخلايا لا تكون محددة. أما في المراحل المتقدمة من التّكوين الْجنينيّ، فإن خلايا الذيل تكون قد تحددت؛ لأنها تشكل تراكيب الذيل حتى بعد زراعتها في الموقع المقابل في الجنين المستقبِل.

على نمط تطور الجسم اللاحق. في جنين الدجاجة، يكوّن النسيج في قاعدة برعم الرِّجْل عادة الفخذَ، وإذا زُرع هذا النسيج على طرف برعم الجناح، وهو برعم يشبه برعم الرِّجْلِ، الذي يعطي عادة برعم الجناح، فإنّ النسيج المزروع سوف يكوِّن أخمصَ القدم، وليس الفخذ. وعلى الرغم من أنّ النسيج قد تم تحديد مصيره ليصبح رِجْلًا، فإنه لا يزال غير محدَّدٍ لكي يصبح جزءًا معينًا من الرِّجل. لذا، فإنّ النسيج من برعم القدم يمكن أنْ يتأثر بالإشارات القادمة من موضع على طرف برعم الجناح ليشكل قمة (لكنها قمة الرِّجل في هذه الحالة).

الأساس الجزيئي لتحديد المصير

تستهل الخلايا تغيرات التّكوين الْجنينيّ باستخدام عوامل الاستنساخ لتغير أنماط التعبير الْجينيّ. وعندما تُحفَّز الجينات المشفرة لتلك العوامل، فإنّ أحد تأثيراتها ستكون تعزيز نشاطها الذاتي. يؤدي هذا التعزيز إلى جعل مفتاح التطور مُحَدِّدًا، ما يؤدي إلى اتخاذ مسار تكوين جنيني معين.

الخلايا التي تحفَّز بها مجموعة جينات منظِّمة، قد لا تدخل في عملية التّمايز إلا بعد مضي مدّة من الزمن، عندما تتفاعل عوامل أخرى مع البروتينات المنظمة، وتسبب تنشيط جينات أخرى. ولكن ما إن تبدأ أولى خطوات التّمايز، تلتزم الْخليّة بمسار تكوينها الْجنينيّ.

وتصبح الخلايا ملتزمة بمسار تكوين جنيني محدد بإحدى طريقتين:

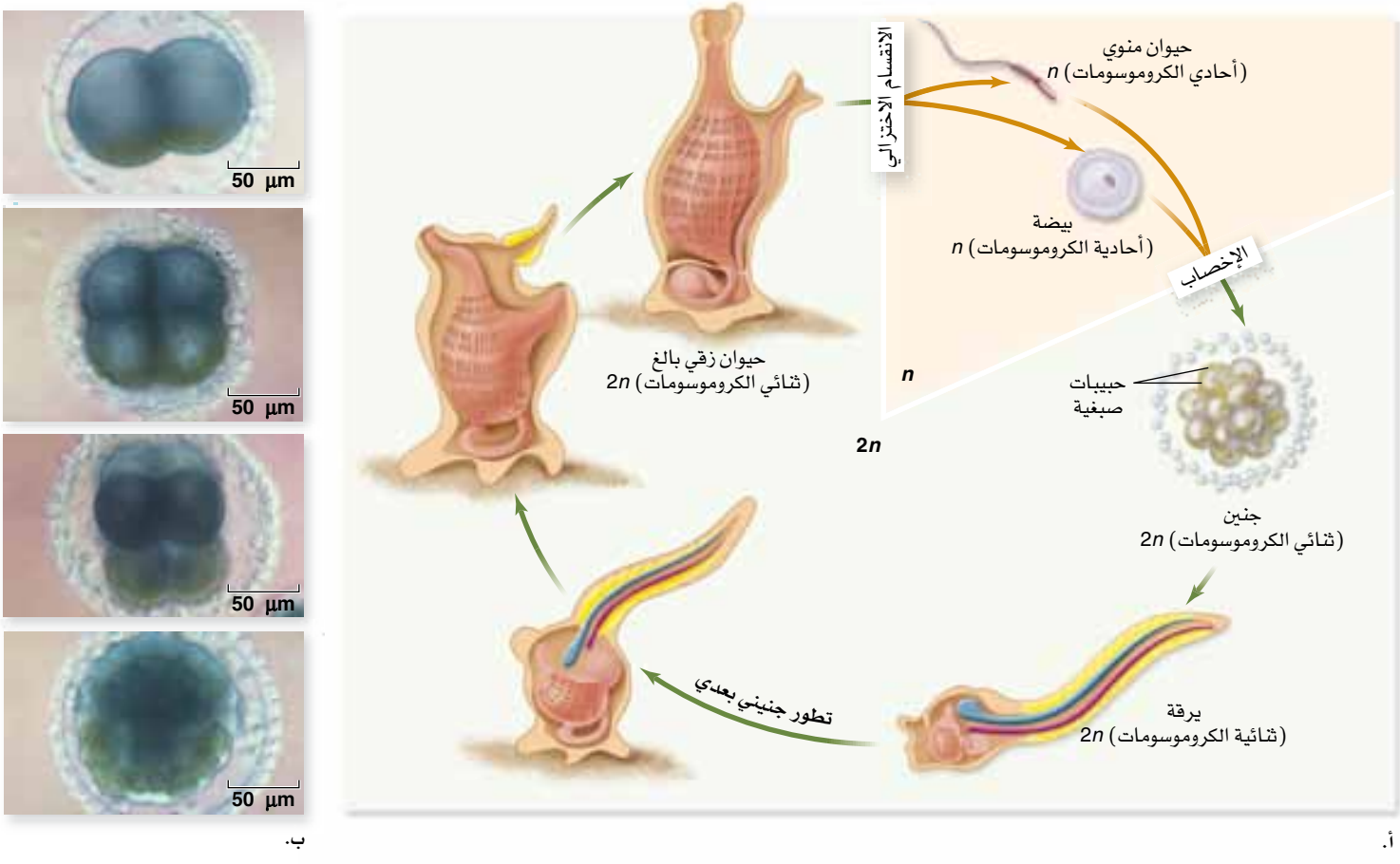
(1) عن طريق الوراثة التّمايزية للمحدِّدات السيتوبلازمية التي تنتج عن طرف الأم، وتوضع في البيضة خلال تكوين البيوض.

(2) من خلال تفاعل الْخليّة مع خلية أخرى.

الحالة الأولى يمكن تشبيهها بالشخص الذي تُحدّد مكانته الاجتماعية عن طريق والديه، وماذا ورث عنهما. أما الحالة الثانية، فبتحديد هذه المكانة من خلال علاقاته مع جيرانه. ويمكن لكل من الطريقتين أنْ تكون عاملًا مؤثرًا في تطور ذلك الشخص ونضجه.

يمكن أنْ يُعزى التحديد إلى محددات سيتوبلازمية

هناك الكثير من أجنّة الفقريات يمكن أنْ تكون مثالًا مرئيًّا للتحديد الخلوي من خلال الوراثة التمايزية لمحددات سيتوبلازمية. الزِّقيّات هي لافقريات بحرية (انظر الفصل الـ 53)، ويكون لمعظم الأطوار البالغة منها أجسام بسيطة شبيهة بالأكياس، تلتصق بالوسط الذي تستقر عليه. توضع الزِّقيّات مع طائفة الحبليات، مع ذلك، بسبب طور اليرقة الذي يشبه أبا ذنيبة، السابع المتميز، الذي يحوي حبلين: عصبي وظهري (الشكل 19-6 أ). تتكون العضلات التي تحرك الذيل على أحد جانبي الحبل الظهري.



الشكل 19-6

محددات العضلات في الزِّقيّات. أ. دورة حياة إحدى الزِّقيّات المنفردة. تترتب الخلايا العضلية التي تحرك ذيل أبي ذنيبة السابع على جانبي الحبلين؛ الظهري والعصبي. يتم فقدان الذيل خلال عملية التحول إلى الطور البالغ غير المتحرك ب. تحتوي بيضة الحيوان الزقي *Styela* على حبيبات صفراء فاقعة. تصبح تلك الحبيبات مرتبة بشكل غير متناظر في البيضة بعد إخصابها، والخلايا التي ترث تلك الحبيبات خلال عملية التّفلّج هي التي ستصبح خلايا العضلات في اليرقة. تظهر في الصورة الأجنة في مرحلة خليتين، 4 خلايا، 8 خلايا، 64 خلية. وسوف ينموّ ذيل أبي ذنيبة من المنطقة السفلى للجنين، كما تظهر في اللوحة السفلية.

في كثير من أنواع الزِّقيّات، تتكون حبيبات صبغية تتوزع بشكل غير متناظر في البيضة بعد الإخصاب، ثم تتوزع لاحقًا في عضلات الذيل خلال عملية التّفلّج (الشكل 19-6ب). عندما تنقل تلك الحبيبات الصبغية عمليًّا إلى خلايا أخرى لا تكوِّن العضلات في الحالات الطبيعية، فإنّ الخلايا المستقبِلة يتغير مصيرها لتصبح خلايا عضلية. لذا، فإنّ الجزيئات المسؤولة عن تكوين العضلات وتطورها يبدو أنها مرتبطة بالحبيبات الصبغية. الخطوة اللاحقة، تحديد ماهية الجزيئات المرتبطة بهذا التّكوين الْجنينيّ. تشير التجارب إلى أن الأم تزود البيضة بـ mRNA مشفَّر من قبل الجين *macho-1* وعندما أزيلت وظيفة *macho-1* فُقدت عضلات الذيل في أبي ذنيبة. وإن سوء التعبير الْجينيّ عن *macho-1* أدى إلى ظهور عضلات ذيل إضافية في أماكن ليست ضمن سلالة الخلايا العضلية. ولقد ظهر أنّ ناتج الجين *macho-1* هو عامل استنساخ بمقدوره أنْ ينشط التعبير الْجينيّ لجينات عدة خاصة بالعضلات.

بمقدور التحفيز أن يؤدي إلى التّمايز الخلوي

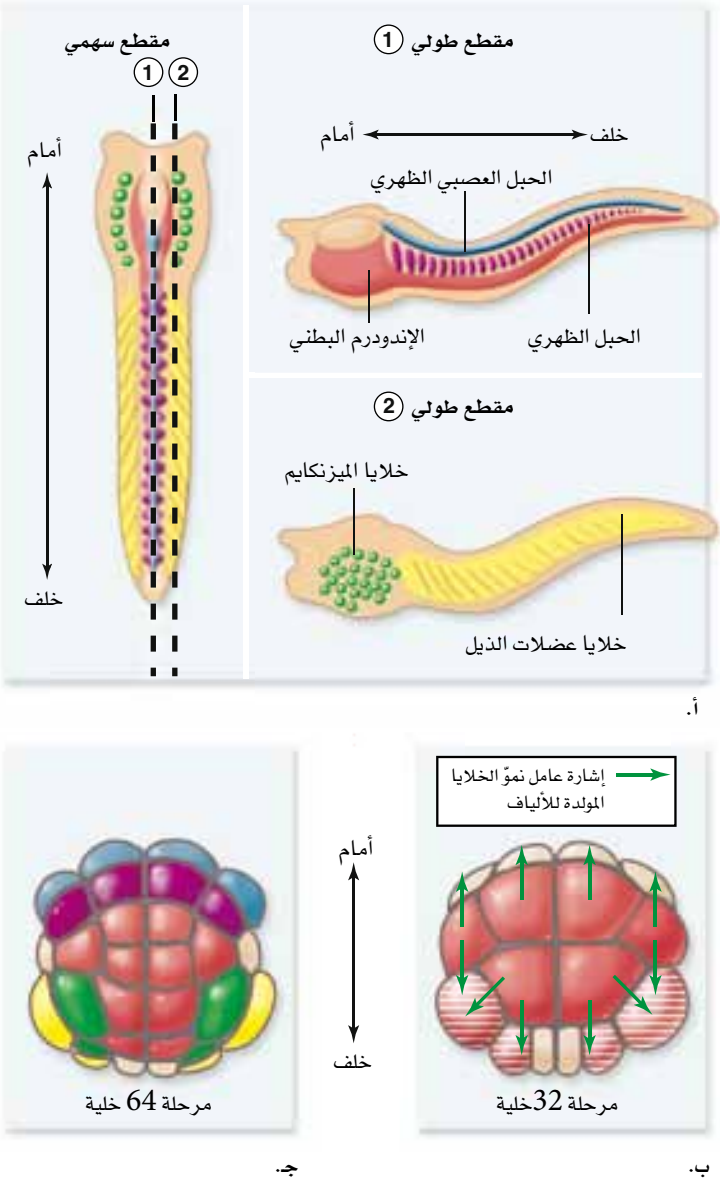
في الفصل 9، درسنا طرقًا متعددة ومختلفة تتواصل الخلايا من خلالها مع بعضها. وبإمكاننا أنْ نوضح أهمية تفاعل الْخليّة-الْخليّة في التّكوين الْجنينيّ، بفصل خلايا من جنين ضفدع، والسماح لها بالتطور بشكل مستقل.

في ظل هذه الظروف، تكوِّن قِطع البلاستيولا في أحد القطبين في الجنين (القطب الحيواني) سِمات الإكتودرم، في حين تكوِّن قِطع البلاستيولا من القطب المناظر (القطب الخضري) سِمات الإندودرم. لا تقوم أيٌّ من المجموعتين المنفصلتين بتشكيل السمات الخاصة بالميزودرم، وهو النوع الثالث من الخلايا. وإذا وُضعت خلايا القطب الحيواني بجوار خلايا القطب الخضري، فإنّ التفاعل بين نوعي الخلايا سيجعل بعض خلايا القطب الحيواني تنتج الميزودرم. هذا التغير في مصير الْخليّة الناتج عن التفاعل مع الخلايا المجاورة يُسمّى **الْحثّ أو التحفيز Induction**. فجزيئات الإشارات بين الخلايا تغير من التعبير الْجينيّ للخلايا المستهدَفة كخلايا القطب الحيواني في هذه الحالة.

هناك مثال آخر على تفاعل الخلايا بالْحثّ، وهو تكون الحبل الظهري والميزنكايم، وهو نسيج خاص في جنين الزِّقيّات. تنشأ العضلات والحبل الظهري والميزنكايم من خلايا الميزودرم التي تتكون عند حافة القطب الخضري في مرحلة الـ 32 خلية، الجنينية. تستقبل خلايا الميزودرم المنتظرة إشارات من سوابق خلايا الإندودرم الواقعة تحتها، التي تؤدي إلى تكوين الحبل الظهري والميزنكايم (الشكل 19-7).

الإشارة الكيميائية هي ضمن عائلة **عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف Fibroblast growth factor (FGF)** من إشارات الترميز. إنها هي التي تحفِّز خلايا الحافة لأنْ تتمايز، فيصبح الحبل الظهري (المقدمة) والميزنكايم (المؤخرة). إنّ مستقبل عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف على الخلايا الطرفية مستقبل مفسفر تايروسين الذي يرسل إشارات عبر سلسلة تفاعلات MAP مفسفر لتنشيط عامل الاستنساخ الذي يشغل التعبير الْجينيّ المنتج لعملية التّمايز (الشكل 19-8).

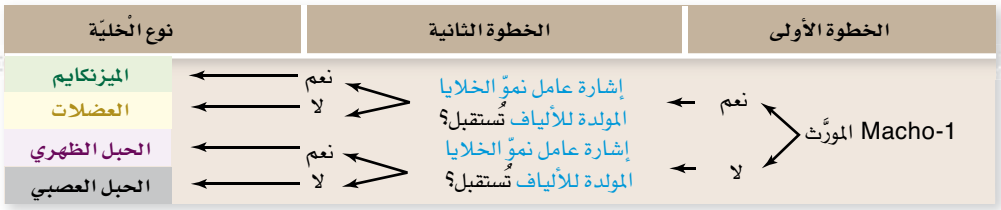
يجسِّدُ هذا المثال أيضًا عمليةَ استجابة خليتين بشكل مختلف للإشارة نفسها. فوجود *macho-1* المحدد للعضلات الذي أشرنا إليه سابقًا أو عدمه يتحكم في اختلاف مصير الْخليّة. فإذا وجد *macho-1* فإنّ الخلايا تتمايز لتصبح ميزنكايم، وفي حال عدم وجوده، فإنّ الخلايا تتمايز لتصبح حبلًا ظهريًّا. لذا، فإنّ الجمع بين *macho-1* وعامل نموّ الخلايا المولدة للألياف يؤدي إلى تكوين أربعة أنواع من الخلايا (انظر الشكل 19-8).



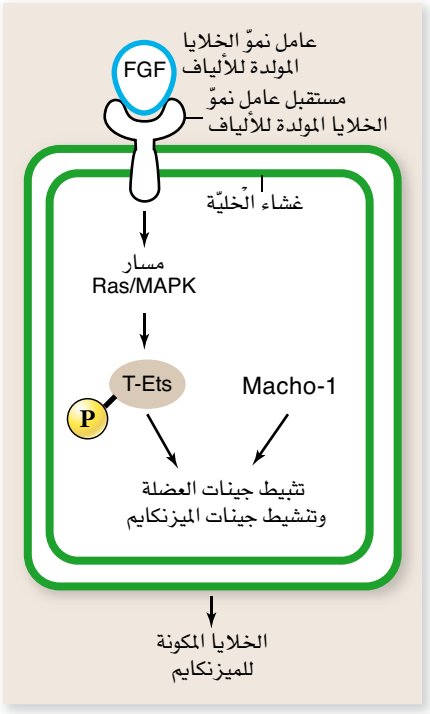
الشكل 19-7

يسهم التفاعل الحثّيّ في تحديد مصير الْخليّة في أجنّة الزِّقيّات

أ . التراكيب الداخلية ليرقة الزِّقيّات. إلى اليسار، يظهر مقطع سهمي لليرقة، حيث تشير الخطوط المتقطعة إلى مقطعين طولين. المقطع الأول يمر خلال خط المنتصف لأبي ذنيبة، ويظهر الحبل العصبي الظهري، والحبل الظهري الواقع تحته، وخلايا الإندودرم البطنية. في حين يظهر المقطع الثاني، الجانبي خلايا الميزنكايم وعضلات الذيل. ب. منظر لمرحلة 32خلية تنظر إلى أعلى نحو الخلايا التي ستكون الإندودرم. عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف الذي تفرزه هذه الخلايا مشار إليه بأسهم خضر فاتحة. ترتبط سطوح الخلايا الطرفية التي تحد مباشرة الخلايا المكونة للإندودرم فقط مع إشارة عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف. لاحظ أنّ قِطع بلاستيولا الخضرية الخلفية تحتوي أيضًا على محددات *macho-1* (أحمر وأبيض مخطط). ج. يتم تثبيت مصاير الخلايا في مرحلة 64 خلية. الألوان هي كما في (أ). الخلايا على الحافة الأمامية من الخلايا المُكوِّنة للإندودرم تصبح الحبل الظهري والحبل العصبي على التوالي. في حين تصبح الخلايا التي تحاذي الحافة الخلفية للإندودرم الميزنكايم والخلايا العضلية على التوالي.



أ.



ب.

الشكل 19-8

نموذج لتحديد مصير الخلايا عن طريق محددات Macho-1 للعضلات وإشارات عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف. أ. نموذج الخطوتين لتحديد مصير الخلايا في الخلايا الحافية الخضرية للجنين الزقّي. الخطوة الأولى تتمثل في وراثة (أو عدم وراثة) mRNA لـ *macho-1* في العضلة. الخطوة الثانية تتمثل في استقبال (أو عدم استقبال) إشارة عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف من الخلايا المكونة للإندودرم. ب. ترث خلايا الحافة الخضرية mRNA لـ *macho-1*. تقوم إشارة عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف بتنشيط مسار مفسفر Ras/MAP الذي ينتج عامل الاستنساخ T-Ets. يُثبط بروتين Macho-1 و T-Ets معًا الجينات الخاصة بالعضلة، ويشغل الجينات الخاصة بالميزنكايم (الخلايا الخضر). في الخلايا التي لا تستقبل بها *Macho-1* إشارات عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف، يقوم *Macho1* وحده بتشغيل الخلايا المحددة للعضلات (الخلايا الصفر). لا ترث خلايا الحافة الخضرية الأمامية mRNA الخاص بـ *macho-1*. إذا استقبلت هذه الخلايا إشارات عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف، فإنّ T-Ets يُشغّل الجينات الخاصة بالحبل الظهري (الخلايا الأرجوانية). في الخلايا التي تفتقر إلى *Macho-1* وإشارات عامل نموّ الخلايا المولدة للألياف، تُثبّط الجينات الخاصة بالحبل الظهري، في حين تُحفّز الجينات الخاصة بالحبل العصبي (الخلايا الرمادية).

استقصاء

ما الذي يملي على macho-1 ليعمل مثبطًا للاستنساخ أو محفّزًا له؟

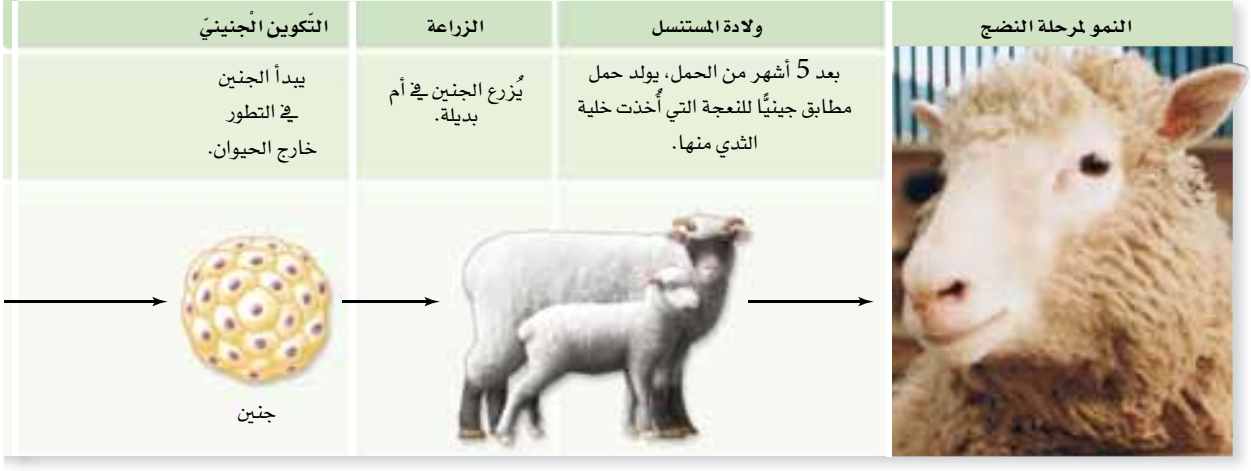
سمح انعكاس التحديد بالاستنسال

أظهرت التجارب التي أجريت في خمسينيّات القرن العشرين أنّ الخليّة المفردة من نسيج متمايز كليًّا لنبات بالغ يمكن أنْ تنموّ لتصبح نباتًا ناضجًا. الخلايا التي تتكون في المراحل المبكرة من التّفلّج في جنين الثّدييّات هي أيضًا شاملة القدرة. وعندما تنقسم أجنّة الثّدييّات بشكل طبيعي إلى اثنين، ينتج التوءم المتطابق. فإذا فُصلت قطع البلاستيولا عن بعضها، فبإمكان أيٍّ من قِطع البلاستيولا أنْ تكون فردًا كاملًا طبيعيًّا. في الواقع، استُخدمت هذه الطريقة لإنتاج أطقم من 4 أو 8 أفراد متطابقين في التهجين التجاري لنوع معين من المواشي المهمة تجاريًّا.

الأبحاث المبكرة على البرمائيات

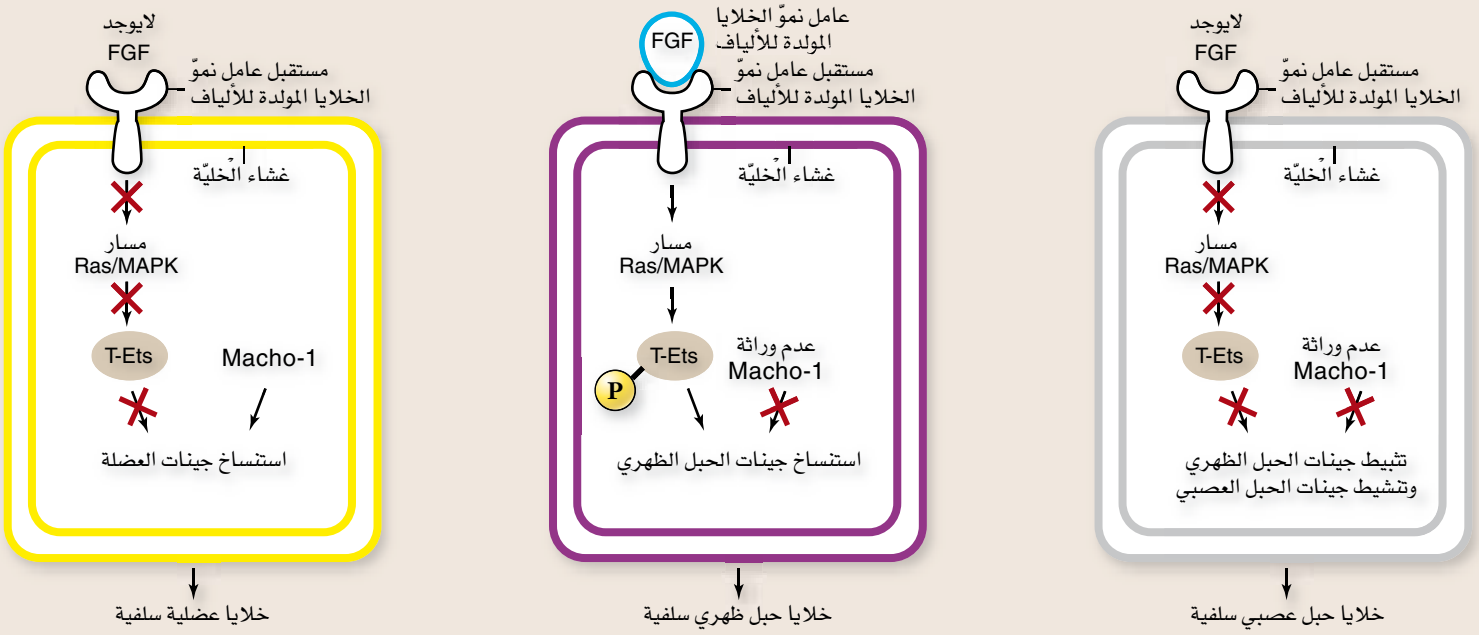
حتى وقت قريب، ظنّ علماء الحياة أنّ التحديد والتّمايز الخلوي عمليتان غير عكسيتين في الحيوانات. التجارب التي أجراها بريج وكنج في الخمسينيّات وجون جوردون وزملاؤه في الستينيّات والسبعينيّات من القرن العشرين قدمت ما هو مقنع.

استخدم هؤلاء الباحثون الماصة الدقيقة (أنبوب زجاجي أجوف)، لامتصاص النواة من بيضة الضفدع أو العلجوم، واستبدلت نواة مأخوذة من خلية جسمية لفرد آخر بالنواة التي أزيلت. فإذا كانت النواة المزروعة مأخوذة من جنين متقدم، فإن البيضة ستنمو، وتصبح أبا ذنيبة، ولكن معظمها سيموت قبل مرحلة البلوغ. أخذ



الشكل 19-9

إثبات أن تحديد المصير في الحيوانات انعكاسي. دمج العلماء نواة من خلايا ثدي بالغة مع بيضة منزوعة النواة، وتم بنجاح استنسال نعجة سميت دوللي، التي كبرت واستطاعت أن تحمل نسلًا بصحة جيدة. هذه التجربة التي نجحت في استنساخ حيوان بالغ هي الأولى من نوعها، وأظهرت أنّ الخلايا البالغة المتمايزة يمكن أنْ تستخدم لتقود كامل التّكوين الْجنينيّ.



جوردون وزملاؤه أنوية من خلايا جلدية كاملة التّمايز لتوجية تطور أبي ذنيبة. غير أنّ كلّ هذه المخلوقات ماتت قبل مرحلة التغذية.

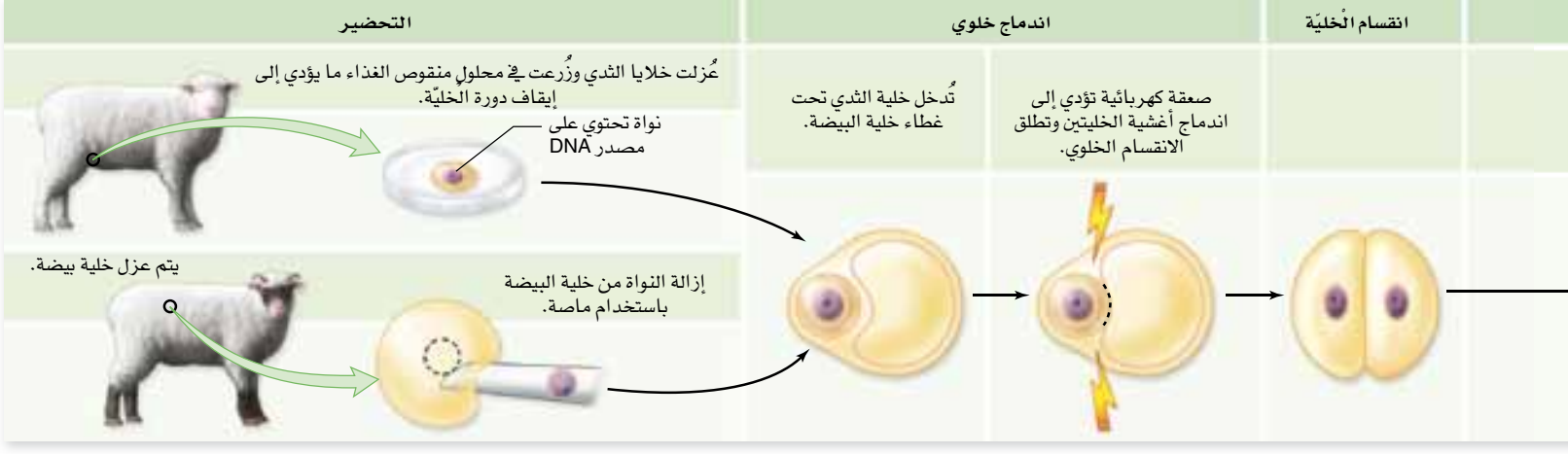
وعلى الرغم من أنّ تلك التجارب أظهرت أنّ أنوية الخلايا البالغة لديها قدرة عجيبة على التّكوين الْجنينيّ، فإنها لم تقدم دليلًا على القدرة الشاملة لتلك الأنوية.

زراعة ناجحة للأنوية في الثّدييّات

إن تجارب زراعة الأنوية في الثّدييّات لم تكن ناجحة مع كثير من الباحثين حتى عام 1984، عندما تم استنساخ نعجة باستخدام نواة من خلية لجنين في مرحلة مبكرة. كان سرّ النجاح في استخدام خلية مانحة في مراحل مبكرة من التّكوين الْجنينيّ. ولقد تم تكرار هذه النتيجة الناجحة بعد ذلك بمدة وجيزة لمخلوقات أخرى مثل الخنازير والقردة. لاقت خلايا الأجنة المبكرة فقط نجاحًا في هذه التجارب.

عزا علماء الوراثة في معهد روزلين في أسكتلندا النجاح إلى أن البيضة والنواة الممنوحتين يجب أن تكونا في مرحلة دورة الْخليّة نفسها. ولفحص هذه الفكرة قاموا بعمل الآتي (الشكل 19-9):

1. إزالة الخلايا المتمايزة من الغدد اللبنية في ضرع نعجة عمرها 6 سنوات. ثم زرعت الخلايا ونميت في مستنبت. ومن ثم قلّلت كمية المغذيات في المصل المعطى على مدة خمسة أيام ما أدى إلى توقفها في بداية دورة الْخليّة.
2. التحضير المتوازي مع الخطوة الأولى لبيضة أزيلت نواتها، مأخوذة من نعجة.
3. ضمّ خلايا الثدي والبيضة جراحيًّا في عملية تسمى **النقلَ النووي للخلايا الجسمية Somatic cell nuclear transfer (SCNT)** في يناير 1996. تم دمج خلايا الثدي والبيضة لإدخال نواة الثدي في البيضة.



4. تطور 29 زوجًا من 277 زوجًا دمجت، وأصبحت أجنّة، ثم نُقِلَتْ إلى جهاز تناسليّ لأم بديلة.
5. قامت إحدى النعجات بعد أقل من خمسة أشهر، في السابع من يوليو 1996، بإنجاب حمل أنثى سُمِّي دوللي، وهو أول مستنسل تم إنتاجه من خلايا حيوانية كاملة التّمايز.

نضجت دوللي، وأصبحت نعجة بالغة، وتمكنت من التكاثر بالطريقة التقليدية، وأنجبت ستة حُملان. لذا فقد أثبتت دوللي بما لا يدع مجالًا للشك أنّ التحديد في الحيوانات هو انعكاسي، أي باستخدام الطرق والتقنيات الصحيحة، يمكن أن يتم إعادة برمجة النواة التابعة لخلية متمايزة بشكل كلّي لتصبح شاملة القدرة.

لدى الاستنسال التكاثري مشكلات متأصلة

يعود مصطلح **الاستنسال التكاثري Reproductive cloning** إلى العملية التي تم وصفها آنفًا، حيث يستخدم العلماء النقل النووي للخلايا الجسمية لتخليق حيوان مطابق جينيًّا لحيوان آخر. ومنذ ولادة دوللي عام 1997، نجح العلماء في استنساخ قطة أو أكثر، وأرانب، وجرذان، وفئران، ومواشٍ، وماعز، وخنازير، وبغال، واستخدم في جميع هذه العمليات خلايا بالغة.

معدل نجاح منخفض، وأمراض مرتبطة بالعمر

إن الكفاءة في عمليات الاستنسال التكاثري منخفضة جميعها، فقط 3-5% من الأنوية البالغة التي تُنقل إلى البيضة المانحة تُنتج مواليد حيّة. إضافة إلى ذلك، فإنّ كثيرًا من المستنسلات التي تولد، تموت عادة بعد الولادة بمدة وجيزة نتيجة فشل في الكبد، أو إصابة وبائية. وكثير منها يصبح كبير الحجم، وهي حالة تسمى متلازمة النسل الكبير *Large offspring syndrome* (*LOS*). عام 2003، نمت ثلاثة من أصل أربعة خنازير مستنسلة حتى البلوغ، لكن الخنازير الثلاثة ماتت بشكل فجائي نتيجة فشل في القلب قبل أقل من ستة أشهر من عمرها.

دولي نفسها تم إخضاعها للقتل الرحيم قبل إكمالها ستة أعوام. على الرّغم من أنّ قتلها بسبب سرطان في الرئة تم تحفيزه فيروسيًّا، إلا أنه تم تشخيصها بمرحلة متقدمة من التهاب المفاصل في السنة التي سبقت ظهور السّرطان. لذا، فإنّ إحدى الصعوبات التي تواجه الهندسة الوراثية والاستنسال لتحسين إنتاج المواشي هي الحصول على حيوانات بصحة جيدة.

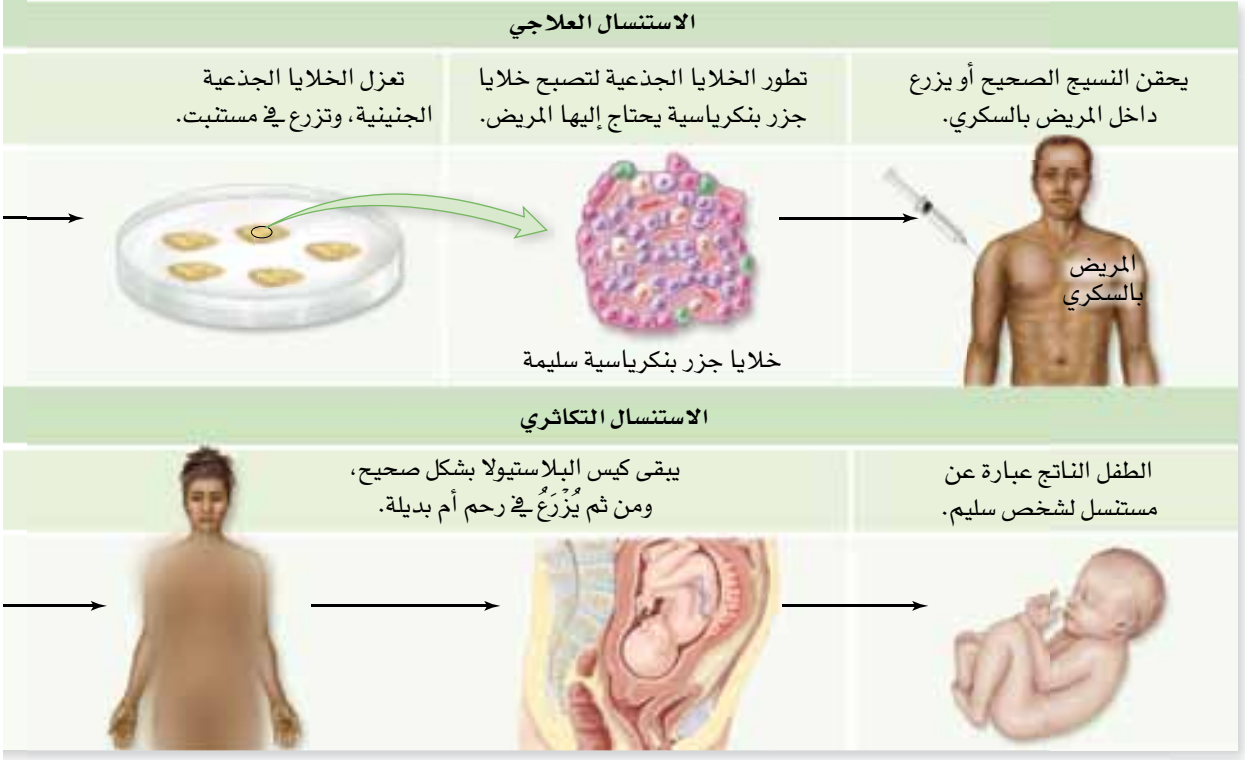
فقدان الدمغة

إن السبب وراء هذه المشكلات يكمن في ظاهرة تم الحديث عنها في (الفصل الـ 13)، وهي **الدّمغة الوراثية Genomic imprinting**. يعبر عن الجينات المدموغة بطرق مختلفة بحسب المنشأ الأبوي، أي إنها يمكن أن تكون موقوفة عن العمل في البيضة، أو في الحيوان المنوي. وهذا الترتيب يستمر خلال عملية التّكوين الْجنينيّ إلى مرحلة البلوغ. معظم التّكوين الْجنينيّ الطّبيعيّ في الثّدييّات يعتمد على دمغة جينومية دقيقة.

إن إعادة البرمجة الكيميائية لـ DNA، التي تحدث في النسيج التناسلي للبالغ تستغرق شهورًا للحيوان المنوي وسنوات للبيضة. وبالمقارنة، خلال الاستنسال، يجب أنْ تحدث إعادة برمجة DNA المانح خلال ساعات قليلة. كذلك، يختلف تنظيم الكروماتين في الخلايا الجسمية عن ذلك الموجود في البيضة الْمُخصّبة حديثًا. يجب أنْ تحدث إعادة نمذجة للكروماتين بشكل كبير في نواة المانح المنقولة إذا أردنا للجنين المستنسل العيش. ويحتمل أنْ يفشل الاستنسال لعدم توافر الوقت الكافي، خلال هذه الساعات القليلة، لإعادة النمذجة والبرمجة بشكل مناسب.

الاستنسال العلاجي احتمال واعد

أحد الطرق التي يمكن من خلالها حل رفض النسيج الطُّعم (المنقول)، على سبيل المثال زراعة الجلد في حالات الحروق، هو إنتاج سلالة معينة من الخلايا الْجذعيّة الجنينية. بداية عام 2001، طوّر فريق في جامعة روكفيلر طريقة لتحقيق هذا العمل.



الشكل 19-10

كيفية استخدام الإنسان في الاستنسال العلاجي. في الاستنسال العلاجي. وبعد المرحلة الاستهلالية للاستنسال التكاثري، يتم تفريق خلايا الجنين، ومن ثم تُستخلص الخلايا الْجذعيّة الجنينية وتُزرعُ في مستنبت، ثم تنقل إلى الشخص المريض لاستبدال النسيج المريض. هذا مفيد فقط في حالة الأمراض غير الوراثية؛ إذ إن الخلايا الْجذعيّة مطابقة لخلايا المريض. في الاستنسال التكاثري، يُزرع الجنين في رحم الأم البديلة حيث سينموّ طوال فترة الحمل. وبسبب بعض الأمور المتعلقة بصحة الأم والجنين المستنسل، فإنّ معظم العلماء قد اتفقوا على ضرورة منع استنسال الإنسان.

أولًا، تم عزل خلايا الجلد؛ بعد ذلك، وباتباع طريقة النقل النووي للخلايا الجسمية التي أنتجت دوللي، تم تجميع جنين. وبعد إزالة النواة من خلايا الجلد، وُضعت النواة في داخل البيضة التي أزيلت نواتها مسبقًا. ثم سُمح للبيضة التي تحتوي على نواة خلايا جلدية بالانقسام حتى مرحلة كيس البلاستيولا الجنينية. بعد ذلك، دُمِّر الجنين الاصطناعي، وأخذت خلاياه، واستعملت بوصفها خلايا جذعية جنينية لنقلها إلى النسيج المصاب (الشكل 19-10).

باستخدام هذه الطريقة التي تسمى **الاستنسال العلاجي Therapeutic cloning**، حيث نجح الباحثون في تحويل خلايا ذيل الفأر إلى خلايا منتجة لدوبامين في الدماغ، الذي يتم فقدانه في مرض باركنسون - نجح الاستنسال العلاجي في حلّ المشكلة الأساسية التي يجب حلّها قبل استخدام الخلايا الْجذعيّة في إصلاح النسيج المعطوب الناتج عن الذبحة القلبية، أو تلف الأعصاب، أو السكري، أو مرض باركنسون- وهي مشكلة القبول المناعي. ولأن الخلايا الْجذعيّة تستنسل من الشخص نفسه في العلاج الاستنسالي، فإنها سوف تجتاز الفحص المناعي الذاتي، وسوف يقوم الجسم بتقبلها.

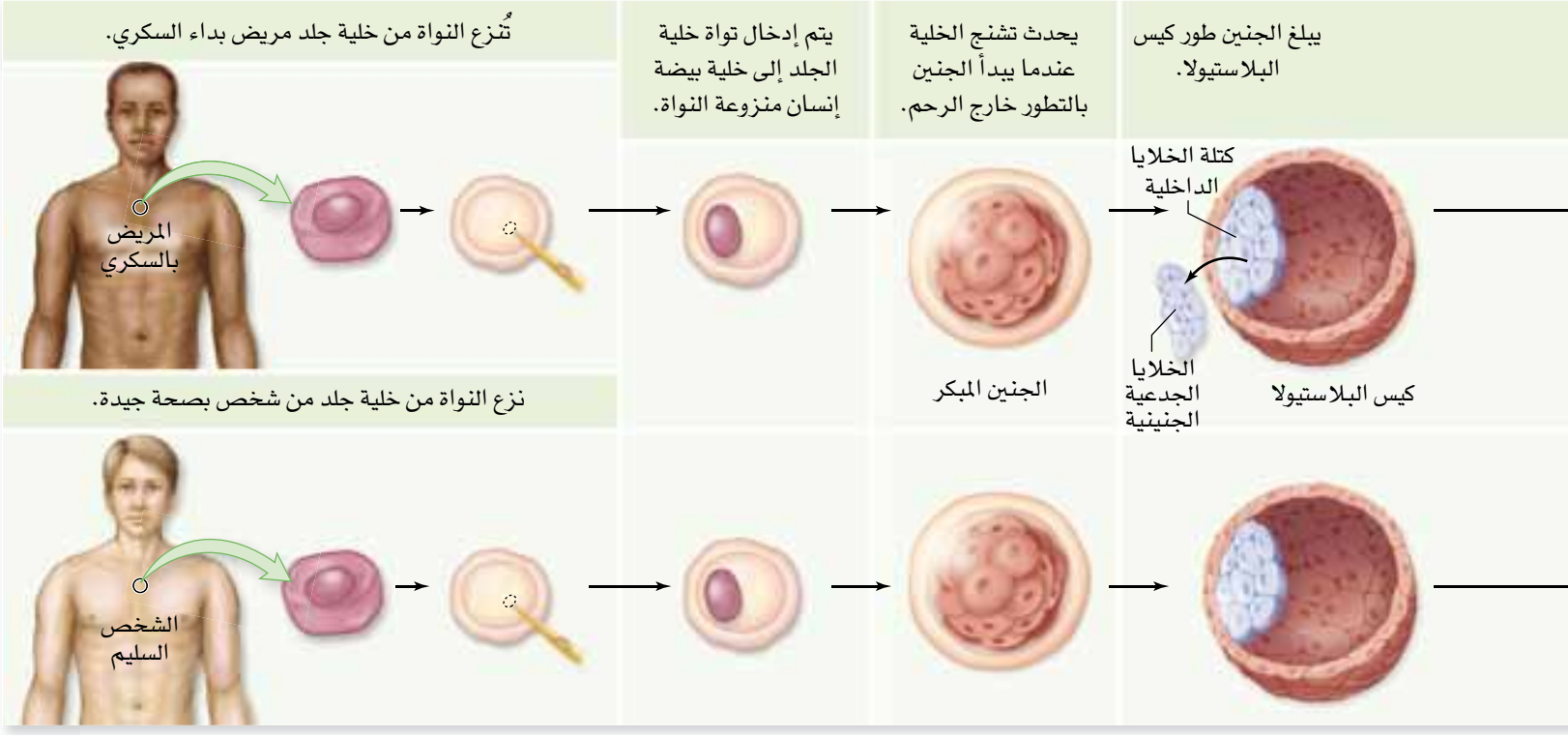
أبحاث الخلايا الْجذعيّة أثارت مناظرات أخلاقية

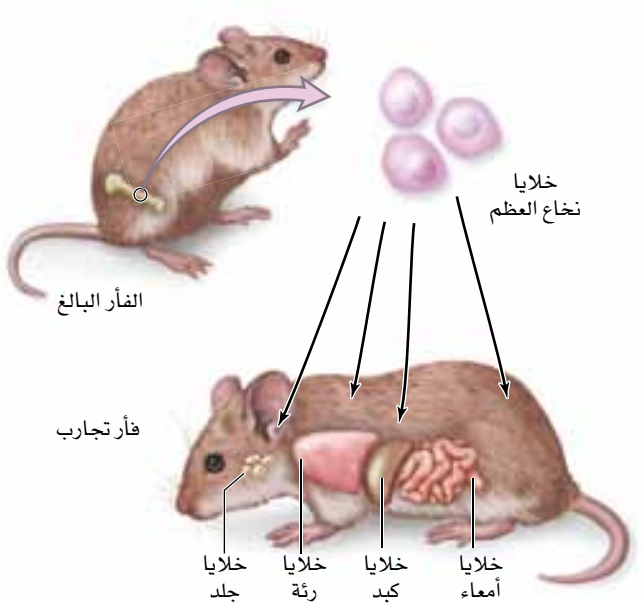
تَعِدُ الخلايا الْجذعيّة الجنينية الإنسانية بمعالجة كثير من الأمراض. تشتق الخلايا الْجذعيّة الجنينية من مرحلة كيس البلاستيولا الجنينية، ويمكن الحصول على أجنّة ما قبل الانزراع من عيادات الإخصاب التي يتوافر لديها الكثير، حيث يتم تحضير كثير منها؛ لمساعدة الأزواج غير القادرين على الإنجاب في أثناء عملية الإخصاب الخارجي.

في الاستنسال العلاجي، يجب أنْ يتم تفكيك جنين في مرحلة مبكرة، وذلك لتصنيع خلايا جذعية جنينية. لهذا السبب، فقد أثارت أبحاث الخلايا الْجذعيّة موضوعات أخلاقية كبيرة. السؤال الأزلي الذي لا يمكن الحَيْد عنه هو: متى تبدأ حياة الإنسان؟ إضافة إلى ذلك، فإنّ السؤال فيما إذا كان جائزًا استخدام الاستنسال التكاثري في الإنسان كما حدث في الخراف التي أنتجت دوللي، هو سؤال مثير للجدل. في بريطانيا، تم منع الاستنسال التكاثري، إلا أنّ الاستنسال العلاجي للحصول على خلايا جذعية سريرية مفيد، والأبحاث على الخلايا الْجذعيّة مسموح بها.

هناك رقابة أخلاقية على الأبحاث تقوم بها لجان حكومية. فعلى سبيل المثال، السلطة البريطانية للإخصاب الإنساني وعلم الأجنة، لديها لجنة من العلماء والأخلاقيين المسؤولين أمام البرلمان البريطاني الذي يشرف على الأبحاث المدعومة من قبل الحكومة. هناك ترتيبات مماثلة تم تأسيسها في اليابان وفرنسا. في حين أن سياسة كلّ من الصين، وتايلاند وكوريا متساهلة تجاه الخلايا الْجذعيّة الجنينية والاستنسال. أما ألمانيا ومعظم دول أمريكا اللاتينية، فإنها لا تشجع على إجراء مثل هذه الأبحاث.

في الولايات المتحدة، تم إنتاج أول سلالة من الخلايا الْجذعيّة الجنينية من خلال مختبرات بحثية مدعومة من قبل جهات خاصة. وبعد جدل طويل، تم توفير الدعم المالي الفدرالي في صيف 2001 لدعم أعداد قليلة من الأبحاث التي كانت جارية على بعض سلالات الخلايا الْجذعيّة الجنينية الإنسانية. ولكن جورج. بوش وإدارته منعا بشدة استخدام أموال فدرالية لتخليق سلالات جديدة من الخلايا الْجذعيّة الجنينية (التي تتطلب تدمير أجنّة الإنسان). ولأن الاستنسال العلاجي المحدد بمرض معين يتطلب تخليق خلايا جذعية جنينية جديدة، فإنّ الدعم الفدرالي الأمريكي يمنع قيام مثل هذه الأبحاث. وقد أجازت بعض الولايات الأمريكية وتحديدًا كاليفورنيا تشريعات تسمح بالقيام بأبحاث الخلايا الْجذعيّة الجنينية الإنسانية، وفي الوقت نفسه، فهي تمنع الاستنسال التكاثري في الإنسان.





الشكل 19-11

خلايا جذعية بالغة متعددة القدرة. تم الادعاء في مايو 2001، بأنّ خلية واحدة من نخاع العظم استطاعت أنْ تضيف خلايا وظيفية إلى الرئتين، والكبد، والأمعاء، والجلد، لفأر تجريبي. الخلايا التي عُزلت من النسيج الدهني، قد يكون لديها القدرة نفسها. منذ ذلك الوقت تم تفنيد هذه النتائج.

قد تكون الخلايا الْجذعيّة البالغة بديلًا عن الخلايا الْجذعيّة الجنينية

كما نوقش آنفًا، قد تكون الخلايا الْجذعيّة خاصة بنسيج معين، ويمكن أنْ تبقى إلى مرحلة البلوغ في بعض الأنسجة. هناك تقارير قديمة تشير إلى أنّ هناك عددًا من الخلايا الْجذعيّة البالغة يمكن إعادة برمجتها لتصبح أنواع خلايا أخرى غير النوع الطّبيعيّ، أي تصبح متعددة القدرة (الشكل 19-11). هذه النتائج تم تفنيدها. لذا، فإنّ القدرة المتنوعة للخلايا الْجذعيّة البالغة ما زالت غير واضحة. كذلك قد يكون من الصعب الحصول على تلك الخلايا من الأشخاص الذين سيعالجون. حتى هذه اللحظة، فإنّ احتمال الاستخدام العلاجي للخلايا الْجذعيّة الجنينية والخلايا الْجذعيّة البالغة ما زالا غير واضحين.

يكون التّمايز الخلوي مسبوقًا بتحديد المصير عندما تلتزم الْخليّة بمصير معين، مع أنها ما زالت غير متمايزة. الوراثة المتمايزة لعوامل سيتوبلازمية يمكن أنْ تسبب التحديد والتّمايز، كما يحدث عند التفاعل بين الخلايا المتجاورة (التحفيز). تحدث التغيرات المحَفَّزة عن طريق جزيئات إشارات تطلق إشارة مسارات الترميز. يمكن أنْ يكون التحديد انعكاسيًا كما وُضّح من خلال الاستنسال التكاثري في بعض الفقريات. أظهرت المخلوقات المستنسلة، مثل النعجة دوللي مدة حياة قصيرة، وبداية مبكرة لظهور أمراض يحتمل أنْ تكون مرتبطة بالدمغة الوراثية. الخلايا الْجذعيّة الجنينية الإنسانية تطرح علاجًا لاستبدال النسيج المعطوب أو المفقود، إلا أنّ الطرق تثير جدلًا كثيرًا، وترتبط بكثير من الموضوعات الأخلاقية.

4-19 تكوين النّمط

حتى تتمايز الخلايا في المخلوقات متعددة الخلايا إلى أنواع الخلايا المناسبة، عليها أن تتلقى معلومات تتعلق بمواقعها في الجسم. ويبدو أن المخلوقات متعددة الخلايا جميعها تستخدم المعلومات المتعلقة بمواقعها في الجسم؛ لتحدد النّمط الأساسي لشكل الجسم، ومن ثم التخطيط الهيكلي للجسم البالغ. تؤدي هذه المعلومات الموقعية إلى تغييرات داخلية في النشاط الْجينيّ لكي تتبنى الخلايا في النهاية مصيرًا يتناسب مع موقعها في الجسم.

تكوين النّمط عمليةٌ ما زالت قيد البحث. وفي المراحل المتأخرة، قد تتضمن تشكل الأعضاء (سيتم الحديث عنها لاحقًا). خلال المراحل الأولى من التّكوين الْجنينيّ، يتم وضع المخطط المبدئي للجسم بناءً على محور المقدمة-المؤخرة (الرأس إلى الذيل A/P) وكذلك محور الظهر-البطن (الخلف إلى الأمام D/V).

لـذا، فإنّ تكوين النّمط يتضـمن عملية تؤخـذ فيها الْخليّة المتناظرة شـعاعيًّا، ثم يفرض عليها محوران متعامدان لتحديد خطة الجسـم الذي يكوّن في هذه الحالة تناظرًا ثنائي الجانب. يسـتخدم علمـاء التّكويـن الْجنينـيّ مصـطلح **القطبيـة Polarity** لتوضيح اكتساب الاختلاف حول المحور في التراكيب قيد التّطوّر.

تُعَدُّ ذبابة الفاكهة *Drosophila melanogaster* أكثر الحيوانات التي تمت فيها دراسة التّحكم الْوراثيّ في تكوين النّمط المبكر. وكما ذُكِرَ سابقًا، فإنّ هناك تراتبية في التعبير الْجينيّ للدروسوفيلا، وتبدأ في الجينات الأمية المعبر عنها. ولفهم تفاصيل التفاعلات الجينية، علينا أنْ نراجع بشكل مختصر مراحل التطور في الدروسوفيلا.

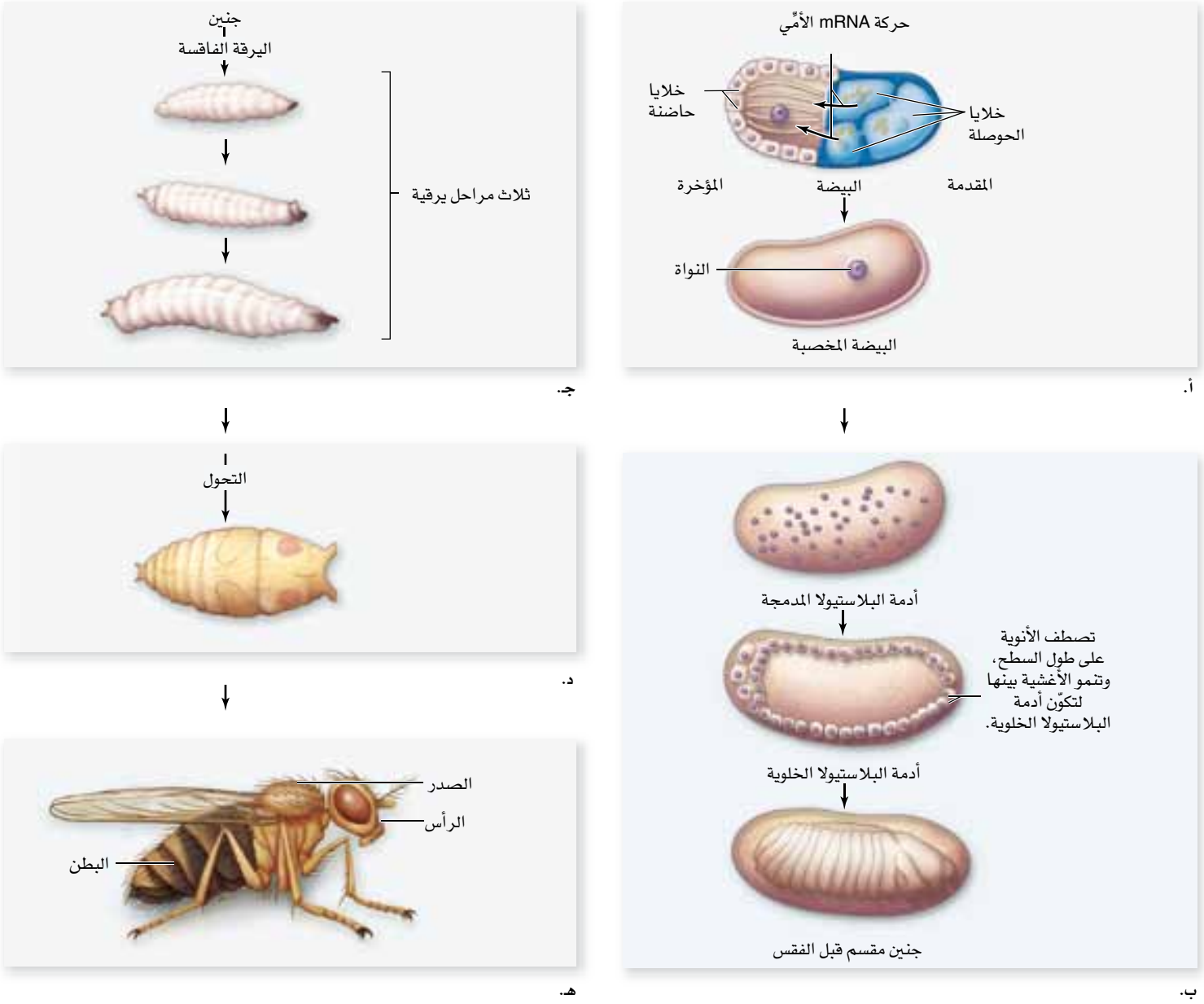
ينتج التّكوين الْجينيّ للدروسوفيلا يرقة مقسمة (ذات عقل)

تنتج الدروسوفيلا، وكثير من الحشرات الأخرى نوعين من الأجسام خلال تكوينها الْجنينيّ الأول، هو آلة أنبوبية متغذية تُسمّى **اليرقة Larva**، والثاني، عبارة عن الجسم البالغ الطائر، وهو جنسي جدًا، وله أرجل وأجنحة. المرور من شكل جسم إلى الآخر يطلق على **التحول Metamorphosis**، وهو يُعَدُّ تغيرًا جذريًّا في التّكوين الْجنينيّ (الشكل 19-12). في هذا الفصل، سنركّز على العملية التي تبدأ من البيضة الْمُخصّبة إلى اليرقة، التي تُسمّى التّكوين الْجنينيّ *Embryogenesis*.

المساهمة الأمية قبل الإخصاب

إن تشكل حشرة مثل الدروسوفيلا يبدأ قبل الإخصاب، فمنذ تكوين البيضة، هناك **خلايا حاضنة Nurse Cells** متخصصة تساعد البيضة في أثناء نموها، وذلك بتمرير mRNA الأمي إلى البيضة النامية (الشكل 19-12أ).

بعد الإخصاب، تتمّ ترجمة mRNA الأمّي إلى بروتين يطلق شلالًا من التنشيط الْجنينيّ المتعاقب. ولا تبدأ الأنوية الْجنينيّة بالعمل (أي تدير استنساخًا جديدًا للجينات) إلا بعد عشرة انقسامات. لذا، فإنّ عمل الجينات الأمّية، وليست الزيجوتية هي التي تحدد المسار الاستهلالي للتكوين الْجنينيّ للدروسوفيلا.



الشكل 19-12

مسار التّكوين الْجنينيّ في ذبابة الفاكهة. المراحل الرّئيسة في التّكوين الْجنينيّ للدروسوفيلا تتضمن (أ) البيضة، (ب) أدمة البلاستيولا المدمجة (جـ) طور اليرقة (د) العذراء وانسلاخها لتصبح (هـ) البالغ الناضج جنسيًّا.

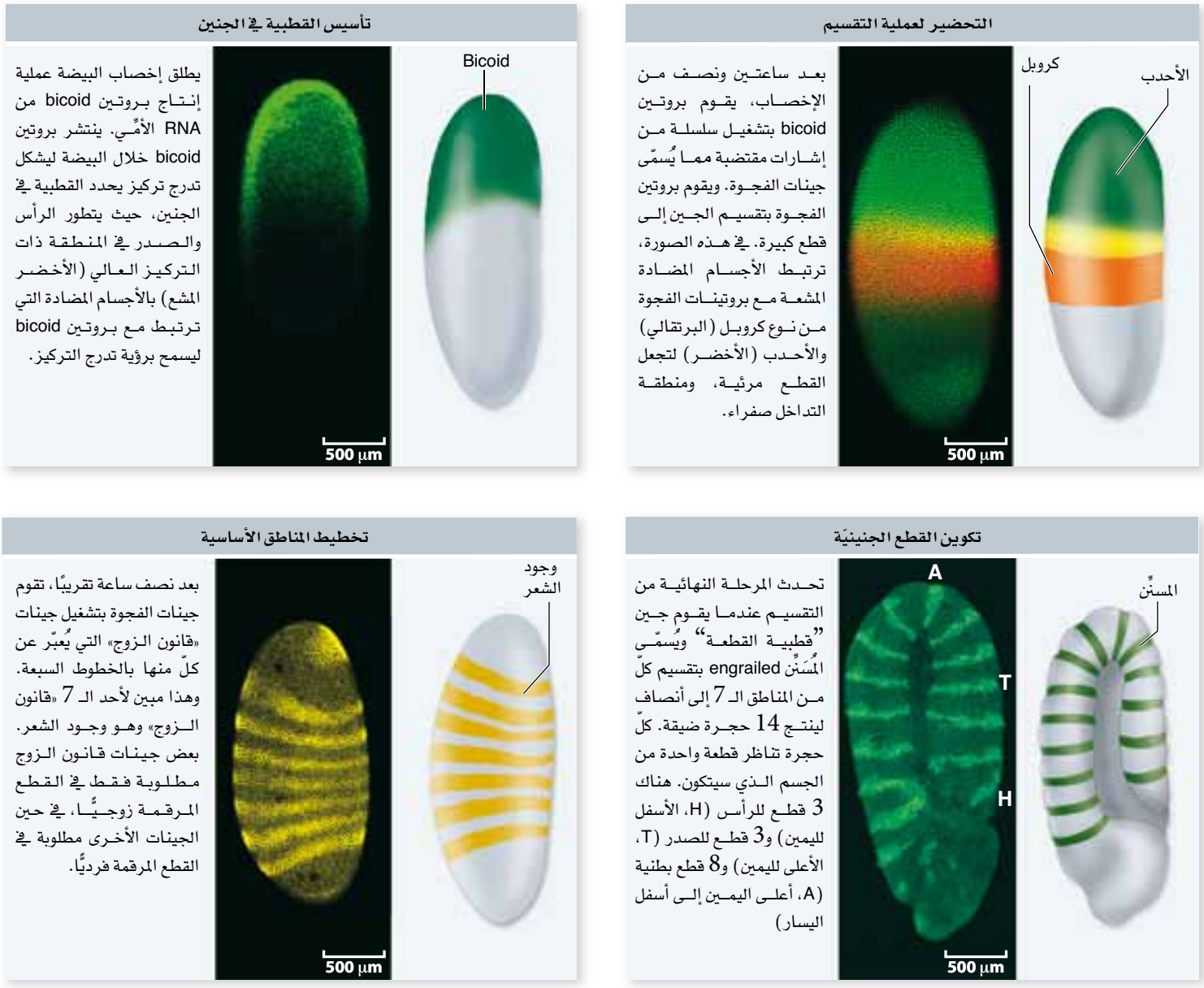
أحداث ما بعد الإخصاب

بعد الإخصاب، تحدث 12 جولة من الانقسامات النووية دون حدوث انقسامات سيتوبلازمية ماينتج 4000 نواة تقريبًا في سيتوبلازم واحد. توجد الأنوية جميعها في **أدمة البلاستيولا المدمجة Syncytial blastoderm** (الشكل 19-12ب) التي تستطيع أنْ تتواصل فيما بينها، غير أنّ الأنوية الموجودة في مقاطع مختلفة من البيضة تواجه نواتج أمِّية مختلفة.

وبمجرد أنْ توزع الأنوية نفسها بالتساوي على سطح أدمة البلاستيولا، تنشأ الأغشية فيما بينها لتكون **أدمة البلاستيولا الخلوية Cellular blastoderm**. الانطواءات الجنينية والنسيج الأولي يتطور بعد ذلك بمدة وجيزة من خلال عملية تشبه تلك الموجودة في التّكوين الْجنينيّ للفقريات. وخلال يوم من الإخصاب، يكوّن التّكوين الْجنينيّ جسمًا أنبوبيًّا مقسمًا مقدرًا له الخروج من الغُلُف الحامية المحيطة بالبيضة كيرقة.

يُكون تدرج تركيز المُشكِّلات المحور الأساسي لجسم الدروسوفيلا

يتطلب تكوين النّمط في جنين الدروسوفيلا المبكر معلومات تموضع مشفرة في علامات يمكن قراءتها من قبل الْخليّة. استحق الباحثان كريستيان نوسلاين فولهارد وإيريك وايشاوس جائزة نوبل عام 1995 على اكتشاف هذا اللغز وحلّه، وهو موضح في (الشكل 19-13). نعلم الآن أنّ هناك مسارين جينيين يتحكمان في تأسيس قطبية مقدمة/مؤخرة، وظهري/بطني في الدروسوفيلا.



الشكل 19–13

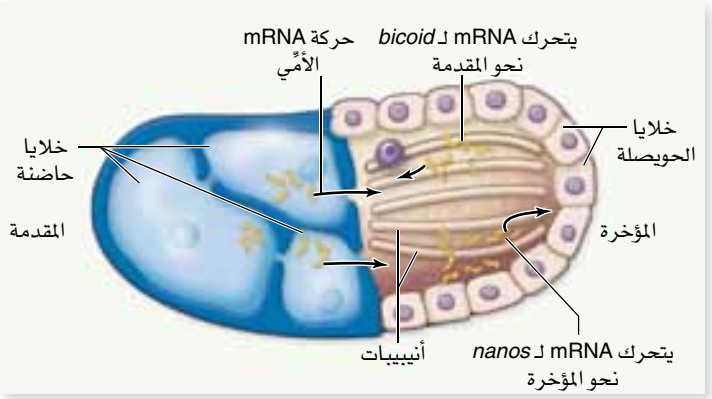
تنظيم الجسم في جنين مبكر للدروسوفيلا. في هذه الصور من المجهر المشع التي أخذها العالِمان كرستيان نسلين فولهارد وشون كارول، الحاصلان على جائزة نوبل عام 1995، نرى البيضة تمر في مراحل مبكرة من التّكوين الْجنينيّ، حيث يتم تأسيس نمط التقسيم في الجنين. ولقد أصبحت البروتينات في الصور إلى اليسار مرئية بعد أنْ ارتبطت مع أجسام مضادة مشعة خاصة ببروتينات معينة. الرسومات إلى اليمين تساعد على إيضاح ما يحدث في الصور.

محور الأمام والخلف

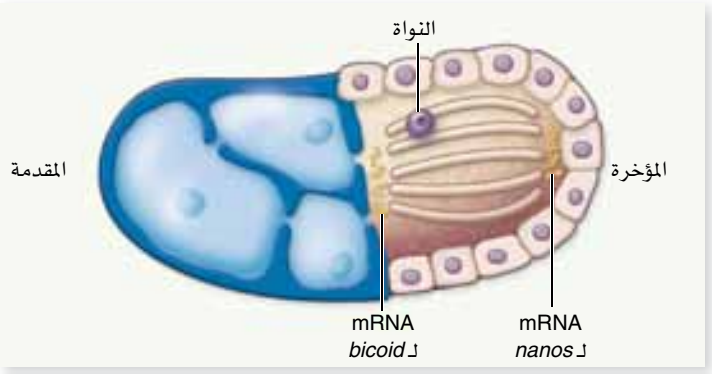
يبدأ تكوين محور مقدمة/ مؤخرة عند نضوج البيضة، وهو يعتمد على تدرج التركيز المتضاد لنوعين من البروتينات، هما: **البايكويد Bicoid والنانوس Nanos**. هذه البروتينات وتدرج تركيزها مؤسّسان بطريقة فريدة.

تقوم الخلايا الحاضنة في المبيض بإفراز mRNA لـ *Bicoid* و*Nanos* الأمِّي في البيضة قيد النضج، حيث سيتوزعان عن طريق الأنيبيبات الدقيقة إلى الأقطاب المتقابلة في البيضة (الشكل 19-14أ). ويرجع التوزيع المتمايز لـ mRNA لاستخدامه بروتينات محركة مختلفة تقوم بنقل نوعي mRNA. يصبح mRNA لـ *Bicoid* مثبتًا في السيتوبلازم قرب طرف البيضة القريب من الخلايا الحاضنة، وهذا الطرف سوف يشكل مقدمة الجنين. أما mRNA لـ *Nanos* فسيتم تثبيته على الطرف المقابل للبيضة، الذي سوف يكون الطرف الخلفي للجنين. لذا، بعد انتهاء تخليق البيضة يكون mRNA لـ *Bicoid* و*Nanos* قد تمت مركزته بوصفه محددات سيتوبلازمية في البيضة الْمُخصّبة (الشكل 19-14 ب).

بعد الإخصاب، تبدأ ترجمة mRNA المثبت، ويبدأ انتشار البروتينات من مواقعها بإنشاء تدرج تركيز لكلّ بروتين: وتكون أعلى مستويات Bicoid في مقدمة الجنين في حين تكون أعلى مستويات Nanos في مؤخرة الجنين. ويمكن أنْ يُحدد تدرج تركيز الجزيئات الذائبة مصاير الخلايا على طول المحور، وتُسمّى البروتينات التي تعمل بهذه الطريقة، مثل Bicoid وNanos، **المُشَكِّلات Morphogens**.



أ.

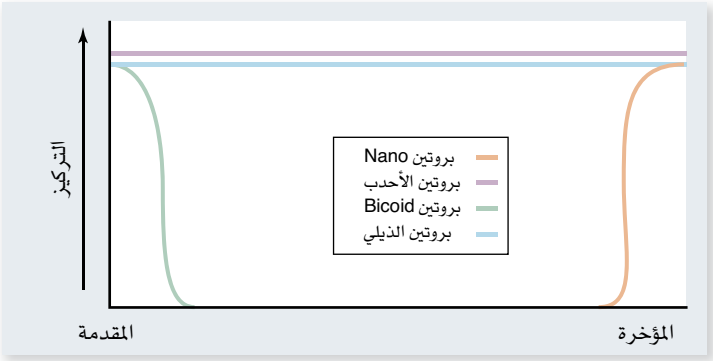


ب.

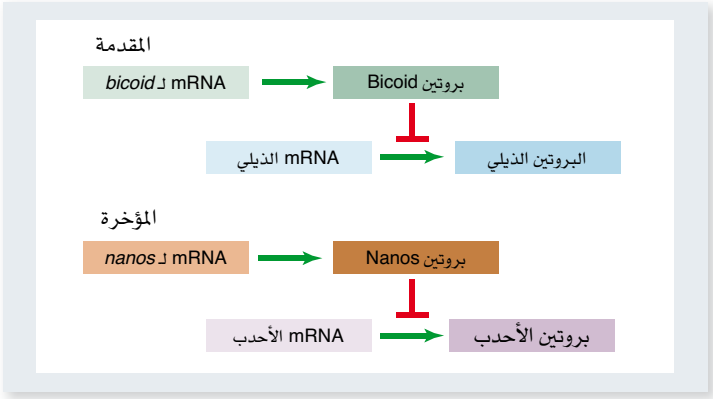
الشكل 19-14

تحديد محور المقدمة/ المؤخرة في الجنين I للدروسوفيلا. أ. تفرز الخلايا الحاضنة في المبيض mRNA أمِّي إلى سيتوبلازم البيضة. تدير مجموعة الأنيبيبات النّموّ والنضج في البيضة. تنتقل البروتينات المحركة على طول الأنيبيبات حاملة معها الجزيئات في طريقين. ينتقل mRNA لـ *Bicoid* إلى القطب في مقدمة البيضة، وينتقل mRNA لـ *Nanos* نحو مؤخرة البيضة.
ب. البيضة الناضجة، تظهر تموضع mRNA لـ *Bicoid* في قطب المقدمة. في حين تظهر mRNA لـ *Nanos* في قطب المؤخرة.

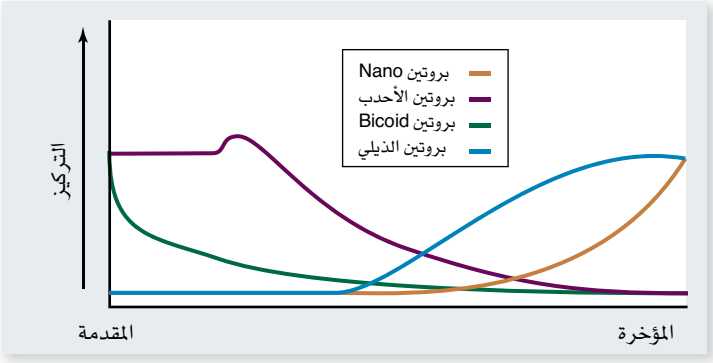
يتحكم Bicoid وNanos في ترجمة رسالتين أمِّيتين أخريين، هما: الحدباء *hunchback* والذيلية *caudal*. تُنشِّط **الحدباء Hunchback** الجينات الخاصة بتكوين التراكيب الأمامية، أما الذيلية *Caudal* فتنشط الجينات اللازمة لتكوين التراكيب الخلفية (البطنية). وتكون رسائل الحدباء والذيلية موزعة بشكل متساوٍ على طول البيضة (الشكل 19-15ب). كيف يتم تموضع البروتينات الناتجة من mRNAs؟



أ. mRNA البيضة



ب. بعد الإخصاب



جـ. بروتين الجنين في المراحل المبكرة

الشكل 19-15

تحديد محور المقدمة/ المؤخرة في جنين II للدروسوفيلا. أ. خلافًا لكلّ من *Bicoid* و *Nanos*، فإنّ الأحدب والذيل يوزعان mRNA التابع لهما خلال سيتوبلازم البيضة. ب. بعد الإخصاب، تتمّ ترجمة mRNA لـ *Bicoid* و *Nanos* إلى بروتين، لتتشكل تراكيز متضادة لكلّ بروتين. يرتبط Bicoid ويكبح ترجمة mRNA الذيلي (في مقدمة البيضة). يرتبط *Nanos* ويثبط ترجمة الأحدب mRNA (في مؤخرة البيضة). جـ. ترجمة mRNA الأحدب في مقدمة البيضة ستنشئ تدرج تركيز للأحدب الذي يناظر تركيز Bicoid. في حين تنشئ ترجمة mRNA الذيلي في منطقة المؤخرة للجنين تدرج تركيز ذيلي يناظر انحدار Nanos.

الجـواب، هـو أنّ بروتينـات Bicoid ترتبـط وتعمل على تثبيـط ترجمة mRNA الذيلـي. لـذا، فـإنّ البروتينـات الذيليـة تتـمّ ترجمتها فـي مناطـق المؤخرة من البيضـة، حيث لا يوجـد Bicoid. الــ 7 وبالمثل، فإنّ بروتينـات Nanos ترتبط وتمنع ترجمة mRNA الأحدب. نتيجة لذلك، يُترجم الأحدب في مقدمة البيضـة فقط (الشـكل 19-15 ج). لذا، وبعد مدة قصـيرة من الإخصاب، تتكون أربعة أشـكال من تـدرج التركيز فـي الجنيـن: أ. تـدرج المقدمة-المؤخـرة لبروتينات Bicoid ب. الأحـدب. جـ. تـدرج المؤخرة-المقدمـة لبروتينـات Nanos. د. الذيلي (الشكل 19-15 د).

المحور الظهري البطني

يتأسس محور الظهر-البطن في الدروسوفيلا بفعل نواتج الجين الظهري *dorsal*. ومرة أخرى، فإنّ العملية تبدأ في المبيض. عندما يتم وضع المستنسخات الأمِّية للجين الظهري في داخل البيضة، ولكن بخلاف *Bicoid* أو *Nanos*، فإنّ mRNA للجين الظهري لا يصبح غير متناظر التوزيع. فبدلًا من ذلك، هناك سلسلة من الخطوات اللازمة للجين الظهري حتى يقوم بوظيفته.

أولًا، تقوم نواة البيضة، التي تقع على أحد جوانب البيضة، بتصنيع mRNA لـ Gurken. بعد ذلك، يتراكم mRNA لـ *Gurken* على شكل هلالي بين النواة وغشاء البيضة على ذلك الجانب من البيضة (الشكل 19-16 أ). وهذه سوف تكون المنطقة الظهرية القادمة للجنين.

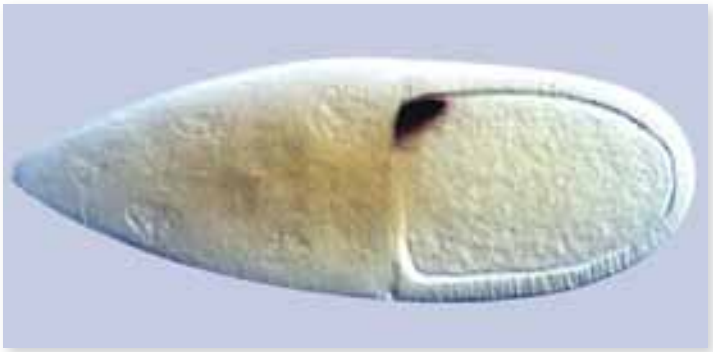
بروتينات Gurken هي جزيئات ذائبة تعمل في الإشارة الخلوية، وعندما تتمّ ترجمتها وإخراجها من البيضة، فإنها ترتبط مع مستقبلات على أغشية خلايا الحويصلة المحيطة بالبيضة (الشكل 19-16 ب). بعد ذلك، تتمايز الخلايا لتعطي الشكل الظهري. في هذه الأثناء، لا يتم إنتاج إشارة Gurken من الجانب الآخر للبيضة، وتقوم خلايا الحويصلة على الجانب الآخر من البيضة باتخاذ مصير شكل البطن في النهاية.

بعد الإخصاب، هناك جزيء إشارة يتم تنشيطه على السطح البطني للجنين من خلال سلسلة من الخطوات المعقدة. يرتبط جزيء الإشارة بعد ذلك مع مستقبلات على أغشية خلايا البطن الجنينية، ثم يُنَشِّطُ مسارات إشارات الترميز في تلك الخلايا. ينتج عن تنشيط تلك المسارات نقل انتقائي للبروتينات الظهرية (الموجودة في كلّ مكان) إلى أنوية البطن مشكلة تدرج تركيز على طول محور ظهري/بطني. تكون مستويات البروتين الظهري الأعلى في أنوية خلايا البطن (الشكل 19-16 ج).

إن البروتينَ الظهري عاملُ استنساخ، وعند انتقاله إلى الأنوية، يُنَشِّطُ الجينات اللازمة لتطور التراكيب البطنية، وفي الوقت نفسه، يكبح الجينات التي تحدد التراكيب الظهرية. لذا، فإنّ نواتج جين الظهر تقوم بالنهاية بإدارة التّكوين الْجنينيّ للتراكيب البطنية.

(لاحظ أن كثيرًا من جينات الدروسوفيلا سميت بناء على الطفرات الظاهرية التي نتجت عن فقدان وظيفة ذلك الجين. إنّ فقدان الوظيفة الظاهرية تنتج أجنّة لها تراكيب ظهرية، وليس لها تراكيب بطنية).

على الرّغم من الاختلافات العميقة بين الآليات اللازمة، فإنّ العوامل الموحِّدة التي تتحكم في تأسيس كلٍّ من مقدمة/ مؤخرة وظهري/ بطني في الدروسوفيلا هي *Bicoid*، *Nanos*، *Gurken* والظهري، وجميعها يتم التعبير عن جيناتها أميًّا. لذا، فإنّ قطبية الجنين القادم في كلتا الحالتين يتم وضعها في البيضة باستخدام المعلومات القادمة من جينوم الأم.



أ.

ب.

جـ.

الشكل 19-16

تحديد المحور الظهري/ البطني في أجنّة الدروسوفيلا. أ. mRNA لـ Gurken (الصبغة الدّكناء) يتركز في المنطقة ما بين النواة (غير ظاهرة) والسطح الأمامي الظهري في البيضة. ب. في البيضة الأكثر نضجًا، يتم إفراز بروتين Gurken (الصبغة الصفراء) من السطح الأمامي الظهري للبيضة، ليشكل تدرج تركيز على طول السطح الظهري للبيضة. بعد ذلك، يرتبط Gurken مع مستقبلات على خلايا الحويصلة. يسمح الصبغ المزدوج بأكتين (الأحمر) برؤية الحدود الخلوية للبيضة، والخلايا الحاضنة وخلايا الحويصلة. جـ. للحصول على هذه الصور؛ تم قطع مرحلة أدمة البلاستيولا الخلوية الجنينية عرضيًّا؛ بغية رؤية أنوية الخلايا حول محيط الجنين. البروتين الظهري (الصبغة الداكنة) يتموضع في الأنوية الموجودة على السطح البطني لأدمة البلاستيولا في الجنين البري (اليسار). الطفرة (الظهري) إلى اليمين لا يشكل تراكيب بطنية، والظهري غير موجود في الأنوية البطنية لهذا الجنين.

تبسط المناقشة السابقة الأحداث، ولكن الخطوط الرّئيسة واضحة: فالقطبية تتأسس بإنشاء المشكّلات لتدرج تركيز في الجنين بناء على معلومات أمِّية في البيضة. هذه التدرجات تقود التعبير الْجينيّ الذي سيحدد نمط الجنين. إن الاعتماد على تراتبية الجينات المنظمة هو الصفة الموحدة للتكوين الْجنينيّ.

تنتج خطة الجسم بتنشيط متعاقب للجينات

لنرجع الآن إلى عملية تكوين النّمط في الدروسوفيلا على طول محور المقدمة/ المؤخرة. يتم إنجاز تحديد التراكيب بتنشيط متعاقب لثلاث مجموعات من **جينات التقسيم Segmentation genes**. تنشئ هذه الجينات التقسيم المميز لجسم الذبابة، الذي يتكون من ثلاثة أجزاء مدمجة في الرأس، وثلاث قطع صدرية، وثماني قطع بطنية (الشكل 19-12 هـ).

في البداية، يقوم Bicoid بفرض تأثيره العميق على تنظيم الجنين من خلال تنشيط الاستنساخ والترجمة لـ mRNA الأحدب (وهو أول mRNA يتم استنساخه بعد الإخصاب). الأحدبُ عضوٌ في مجموعة مكونةٍ من تسعة جينات تُسمّى **جينات الفجوة Gap genes**. تخطِّطُ هذه الجينات التقسيمات الأولية على طول محور المقدمة/ المؤخرة (انظر الشكل 19-13).

تشفر جينات الفجوة جميعها لعوامل استنساخ، التي بدورها تنشط التعبير الْجينيّ لثمانية أو أكثر من جينات **قانون - الأزواج Pair – rule genes**. كلّ جين من جينات قانون الأزواج، مثل وجود الشعر *hairy*، تنتج سبعة أشرطة مميزة من البروتينات، التي تظهر كخطوط عندما تُشاهد عن طريق المواد المشعة (انظر الشكل 19-13). تقسم هذه الأشرطة مناطق الفجوة الواسعة، وتضع حدودًا تقسم الجنين إلى سبع مناطق. وعند حدوث طفرة في أحد جينات قانون الأزواج، فإنها تُغَيِّرُ القطع بشكل متناوب، أي تغير واحدة، وتقفز عن الأخرى.

جينات قانون الأزواج جميعها تشفر أيضًا لعوامل استنساخ، وهي بدورها تنظم تعبير بعضها كما تنظم تعبير تسعة أو أكثر من **جينات قطبية القطعة Segment polarity genes**. يتم التعبير عن كلًّا من جينات قطبية القطعة في 14 شريطًا متميزًا من الخلايا، التي تقسم كلًّا من المناطق السبع التي حددتها جينات قانون الأزواج (انظر الشكل 19-13). فعلى سبيل المثال، جين المسنَّن *engrailed* يقسم كلاًّ من المناطق السبعة التي أسسها جين وجود الشعر إلى حجرات أمامية وخلفية. تشفر جينات قطبية القطعة لبروتينات تعمل في الإشارات الخلوية-الخلوية. لذا، فإنها تعمل في الأحداث التحفيزية الحثية التي تحدث بعد أنْ تقسم أدمة البلاستيولا المدمجة إلى خلايا لكي تثبت المصاير الأمامية والخلفية للخلايا داخل كلّ قطعة.

وباختصار، خلال ثلاث ساعات بعد الإخصاب، يحول نشاط جينات التقسيم المنسق التدرجات الواسعة في الجنين المبكِّر إلى تراكيب دورية قِطَعية لها قطبية مقدمة/ مؤخرة وظهري/ بطني. يعتمد تنشيط الجينات القطعية على الانتشار الحر للمشكِّلات الأمِّية، الذي يكون ممكنًا فقط في أدمة البلاستيولا المدمجة في الجنين المبكر للدروسوفيلا.

تظهر هُوية القطع بفعل الجينات المتجانسة

بعد وضع خطة الجسم الأساسية، فإنّ الخطوة الآتية هي إعطاء هوية لقطع الجنين. لقد زودتنا مجموعة من طفرات الدروسوفيلا المثيرة للاهتمام بمعلومات أولية لفهم تخليق هوية القطعة.

في هذه الطفرات، يبدو أنّ القطعة قد غيرت هويتها؛ أي أصبح لديها خصائص قطعة مختلفة. في الذباب البري، يبرز زوج من الأرجل من كلّ قطعة من قطع الصدر الثلاث. ولكن القطعة الصدرية الثانية يبرز منها زوج من الأجنحة. إن حدوث طفرة في الجين ثنائي الصدر الفائق *Ultrabithroax* يؤدي إلى ظهور زوج إضافي من الأجنحة كما لو أن للذبابة زوجين من القطعة الثانية من الصدر (الشكل 19-17). والأكثر غرابة هو طفرة قرن الاستشعار والأقدام *Antennapedia*، التي تجعل الأرجل تنمو من الرأس بدلًا من قرن الاستشعار.

لذا، فإنّ هذه الطفرات تؤدي إلى ظهور أعضاء طبيعية، ولكن في المكان غير الصحيح. يُسمّى هذا النوع الطفرات المتجانسة *Homeotic mutants* لأن العضو المتحول يشبه الأصلي. وتُسمّى الجينات التي تحدث فيها هذه الطفرات **الجينات المتجانسة Homeotic genes**.

معقدات الجين المتجانس

في بداية الخمسينيّات، اكتشف عالِمُ الوراثة الحائز على جائزة نوبل إدوارد لويس جينات متجانسة عدة، من ضمنها ثنائي الصدر الفائق، الذي يوجد على الكروموسوم الثالث لذبابة الدروسوفيلا وضمن مجموعة تُسمّى **معقد ثنائي الصدر Bithorax complex**. إن حدوث طفرات في تلك الجينات يؤثر في قطع الصدر والبطن. لقد استنتج لويس أنّ جينات معقد ثنائي الصدر تتحكم في التّكوين الْجنينيّ لأجزاء الجسم في الجزء الخلفي من الصدر، وأجزاء البطن كلّه.

ومن المدهش أنّ نرى ترتيب الجينات في معقد ثنائي الصدر يحاكي ترتيب القطع التي يتحكم فيها، وكأنه يتم تنشيط الجينات بشكل متسلسل. فالجينات الموجودة في بداية المجموعة تتحكم في التّكوين الْجنينيّ للصدر؛ أما الجينات الموجودة في منتصف المجموعة، فتتحكم في مقدمة البطن، والجينات في آخر المجموعة تؤثر في الطرف الخلفي من البطن.

هناك مجموعة ثانية من الجينات المتجانسة، تُسمّى **معقد قرون الاستشعار والأقدام Antennapedia complex**، الذي اكتشف عام 1980 عن طريق

الشكل 19-17.

طفرات الجينات المتجانسة. ثلاث طفرات منفصلة في معقد ثنائي الصدر تجعل هذه الذبابة تكوِّن قطعة صدرية ثانية إضافية، تصاحبها الأجنحة.

توماس كوفمان. ويتحكم معقد الاستشعار والأقدام في الطرف الأمامي للذبابة، وترتيب الجينات في هذا المعقد يقابل ترتيب القطع التي يتحكم فيها (الشكل 19-18 أ).

الصندوق المتجانس

لقد تم اكتشاف العلاقة المذهلة بعد استنتساخ وتحديد تعاقب جيني ثنائي الصدر وقرن الاستشعار. تحتوي هذه الجينات على سلسلة محافظة من 180 قاعدة نيكلوتيدية، وتشفِّر لستين حمضًا أمينيًّا تشكل منطقة ارتباط بـ DNA. وبسبب وجود هذه المنطقة في كثير من الجينات المتجانسة سميت المنطقةَ المتجانسةَ *Homeodomain*، ويُسمّى DNA الذي يشفِّر لها **الصندوق المتجانس *Homeobox***. لذا، فإنّ مصطلح، **جين هوكس *Hox gene*** يشير إلى الجين الذي يحتوي على الصندوق المتجانس الذي يحدد هوية أجزاء الجسم. تعمل هذه الجينات بوصفها عوامل استنساخ ترتبط مع DNA مستخدمة منطقة الصندوق المتجانس.

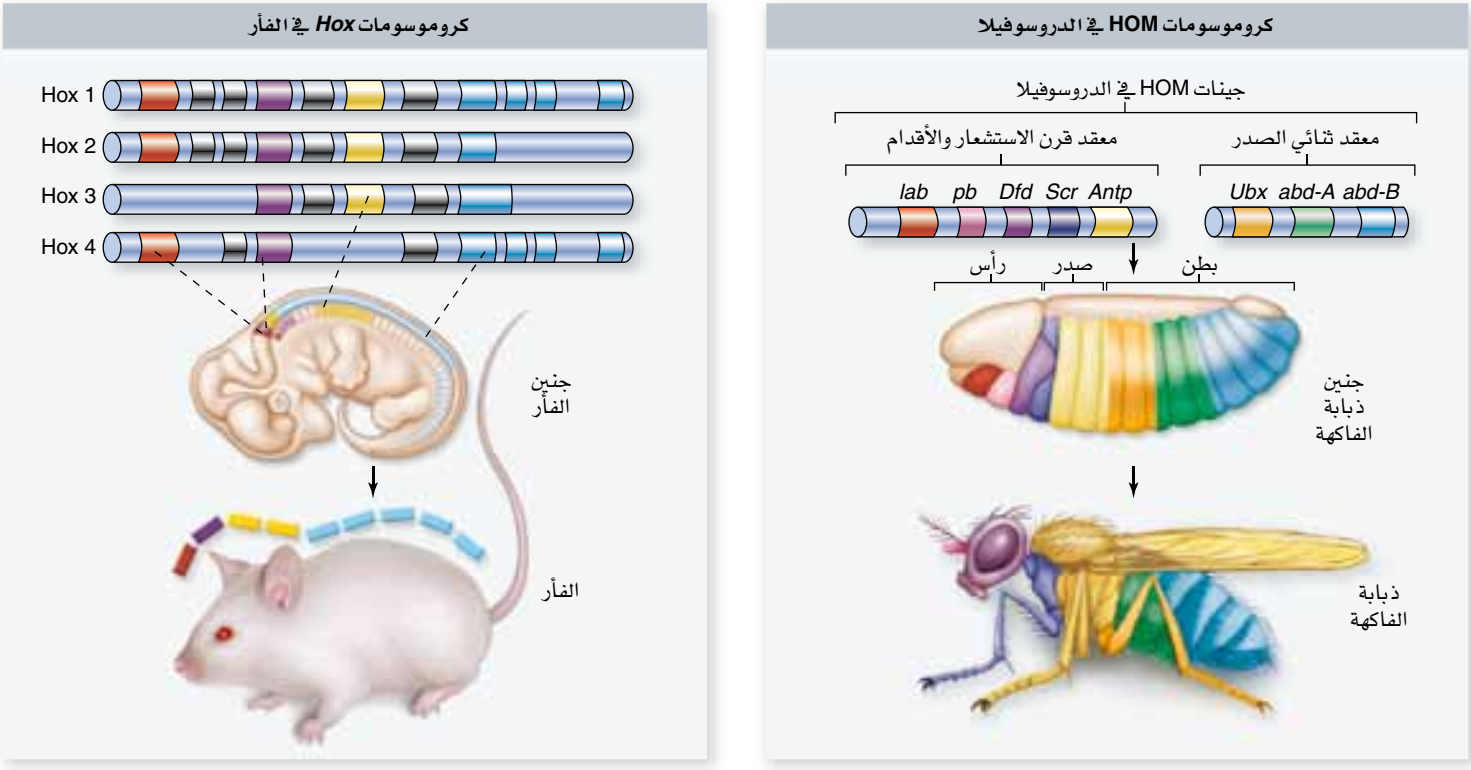
من الواضح أنّ الصندوق المتجانس يميز أجزاءً من الجينوم المنقطعة لتكوين النّمط. أما الكيفية التي يقوم بها جين *Hox* فما زالت موضع بحث. ويعتقد العلماء أنّ الهدف الأكبر لوظيفة جين *Hox* يجب أنْ يكون مجموعة الجينات التي تتحكم في تصرف الْخليّة المتعلق بالتّكوين الْجنينيّ للأعضاء.

تطور الجينات التي تحتوي على الصندوق المتجانس

تم تخصيص عدد كبير من الأبحاث لتحليل مجاميع معقدات جين *Hox* في المخلوقات الأخرى. و قد أدت هذه الأبحاث إلى نظرة متماسكة عن تطور الجينات المتجانسة.

ومن الواضح الآن أنّ الجين ثنائي الصدر، وجين قرن الاستشعار التابعين للدروسوفيلا يمثلان جزأين لمجموعة واحدة من الجينات. وكما هو موجود في الدروسوفيلا، فإنّ التوزيع المكاني لمناطق التعبير عن جين *Hox* يرتبط مع ترتيب الجينات على الكروموسوم (الشكل 19-18 ب). إن وجود أربع مجموعات *Hox* في الفقريات ينظر إليه عدد كبير من العلماء على أنه دليل على حدوث عمليتي تضاعف لكامل الجينوم قد حدثتا في سلالة الفقريات.

أبرزت هذه الفكرة موضوعًا يتعلق بالوقت الذي نشأت فيه المجموعة الأصلية. وللإجابة عن هذا التساؤل، توجه الباحثون لدراسة مخلوقات أكثر بدائية، مثل السهيم *Amphioxus* (يُسمّى الآن *Branchiostoma*)، وهو حبلي (انظر الفصل 35). إنّ اكتشاف وجود مجموعة واحدة من جينات *Hox* في السهيم *Amphioxus* يشير ضمنيًّا إلى حدوث عمليتي تضاعف في سلالة الفقريات بصورة مؤكدة، على



أ. ب.

الشكل 19-18

مقارنة مجموعات الجين المتجانس في ذبابة الفاكهة *Drosophila melanogaster* مع الفأر *Mus musculus*. أ. الجينات المتجانسة لذبابة الفاكهة. تُسمّى معقد الجين المتجانس أو معقد HOM. تُجمع الجينات في مجموعتين: معقد قرن الاستشعار والأقدام (المقدمة) ومعقد ثنائي الصدر (المؤخرة). ب. جينات *HOM* في الدروسوفيلا وجينات *Hox* في الفأر بينها صلة قرابة، وتعمل على التّحكم في التّمايز في مناطق أجزاء الجسم في كلا الحيوانين. توجد هذه الجينات في كروموسوم واحد في الذبابة، وتوجد على أربعة كروموسومات منفصلة في الثّدييّات. في هذا الرسم، الجينات لها لون محدد يطابق أجزاء الجسم على طول محور المقدمة/ المؤخرة الذي يتم التعبير عنها في داخله. لاحظ أنّ ترتيب الجينات على طول الكروموسوم أو الكروموسومات يحاكي أنماطها في التعبير في الجنين وفي تراكيب الذباب البالغ.

الأقل في مجموعة *Hox*. ونظرًا لوجود مجموعة وحيدة في المفصليات، فإنّ هذا الاكتشاف يشير ضمنيًّا إلى أنّ السلف المشترك للحيوانات جميعها التي لديها تناظر جانبي لديه مجموعة واحدة من جين *Hox*.

إنّ الخطوةَ المنطقيةَ الآتية هي دراسةُ جين *Hox* في الحيوانات الدنيا: اللواسع المتناظرة شعاعيًّا، مثل *Hydra* (انظر الفصل الـ 33). حتى الآن، وجدت جينات *Hox* في كثير من أنواع اللواسع، وتقترح تحاليل سلاسل DNA الحديثة أنّ جينات *Hox* في اللواسع منظمة أيضًا في مجموعات. لذا، فإنّ ظهور مجموعة *Hox* سلفية، كان على الأرجح قد سبق التفرع الذي حدث بين التناظرين؛ الشعاعي والجانبي الذي حدث في أثناء تطور الحيوانات.

يقع تكوين النّمط في النّباتات تحت التّحكم الْوراثيّ أيضًا

لقد حدث الانفصال التطوري بين النّباتات والحيوانات منذ 1.6 بليون سنة خلت، وذلك قبل أنْ تتكون عديدات الخلايا. وهذا يعني أنّ التعدد الخلوي قد تطور باستقلال في النّباتات والحيوانات. وبسبب النشاط المرستيمي، فإنّ وحدات أخرى يمكن إضافتها إلى أجسام النّباتات خلال حياتها. إضافة إلى ذلك، فإنّ أزهار النّباتات والجذور لديها تنظيم شعاعي مقارنة بالتناظر الجانبي لمعظم الحيوانات. لهذا، فإننا نتوقع أنْ يكون التّحكم الْوراثيّ في تكوين النّمط في النّباتات يختلف بشكل أساسي عنه في الحيوانات.

وعلى الرغم من احتواء النّباتات على جينات *Hox*، فإنها لا تحتوي على معقدات جينات Hox شبيهة بتلك التي تحدد هوية منطقة التراكيب قيد التطور في الحيوانات. وبدلًا من ذلك، يُظهر أن عائلة الجين المتجانس السائدة في النّباتات أنها جينات **صندوق مادس MADS-box**.

جينات صندوق MADS هي عائلةُ منظمات استنساخ موجودة في معظم المخلوقات حقيقيات النوى، بما فيها النّباتات، والحيوانات، والفطريات. صندوق مادس منطقةُ ربط مع DNA وبلمرة مزدوجة، وقد سميت نسبة إلى الجينات الخمسة الأُوَل التي اكتشفت في هذه المنطقة. وجد عدد قليل من جينات صندوق مادس في الحيوانات، وهي تعمل على التّحكم في تكاثر الخلايا، وفي التعبير الْجينيّ المحدد بالنسيج في مرحلة ما بعد الانقسام المتساوي في الخلايا العضلية. ولا يظهر وجود دور لها في تشكيل النّمط في أجنّة الحيوانات.

في المقابل، زادت أعداد **جينات** Hox-MADS بشكل كبير، وتنوعت وظائفها في أثناء تطور نباتات اليابسة، فهناك أكثر من 100 جين صندوق مادس في جينوم رشاد الجدران *Arabidopsis*. يسود جين *Hox* عملية التّحكم في التّكوين الْجنينيّ في النّباتات الزهرية، فهو ينظم عملية الانتقال من النّموّ الخضري إلى النّموّ التكاثري، والتّكوين الْجنينيّ في الجذر، وهوية أعضاء الزهرة.

على الرّغم من اختلافها عن مجموعة جينات *Hox* في الحيوانات، فإن عوامل الاستنساخ التي تحتوي على مناطق متجانسة في النّباتات لها وظائف تكوين جنينية مهمة. أحد الأمثلة على ذلك، عائلة الصندوق المتجانس شبيه العقدة *(Knox) Knotted like homeobox* وهي منظمات مهمة في عملية التّكوين الْجنينيّ للبراعم القمية من المرستيم في النّباتات البذرية وغير البذرية. تؤدي الطفرات في جين Hox إلى ظهور أشكال مختلفة من الأوراق والبتلات، وهذا يقترح أن هذه الجينات تؤدي دورًا مهمًّا في تكوين الورقة.

يتطلب تكوين الأعضاء في الحيوانات تعبيرًا متناسقًا من قِبَل جينات مرتبة طبقيًّا. يحدد تدرج تركيز المُشَكِّلات في الدروسوفيلا مِحوَرَي المقدمة/ المؤخرة والظهري/ البطني، ثم يؤدي إلى تنشيط متعاقب لجينات التقسيم التي تُقَسِّم الجنين الى قطع متقدمة وأكثر تحديدًا. تعمل الجينات المتجانسة على تزويد قِطع بهويتها. تُسمّى الجينات التي لديها مناطق ربط DNA متجانسة، جينات *Hox* (مشتقة من *homeobox gene*)، وهي منظمة في مجموعات. تغير النّباتات أيضًا التعبير الْجينيّ من أجل التّحكم في التّكوين الْجنينيّ، ولكنها تستخدم أطقم جينات مختلفة تُسمّى جينات صندوق MADS.

5-19 التّشكّل

في نهاية التّفلّج، يكون جنين الدروسوفيلا ما زال بسيط التركيب: يشمل آلافًا عدة من الخلايا المتطابقة التي تمثل طبقة وحيدة تحيط بمنطقة المُحٍّ الرّئيسة. ثم تأتي الخطوة الثانية في التّكوين الْجنينيّ، وهي التّشكّل **Morphogenesis** – توليد شكل مرتب من التركيب.

ينتج التّشكّل من تغير في تركيب الْخليّة وتصرفها. تنظم الحيوانات العمليات الآتية لكي تحقق التّشكّل:

- عدد انقسام الْخليّة وتوقيته وتوجيهه.
- نموّ الْخليّة واتساعها.
- تغيرات في شكل الْخليّة.
- هجرة الْخليّة.
- موت الْخليّة.

هناك اختلافات أساسية بين النّباتات والحيوانات، وهي أنّ لدى الخلايا الحيوانية سطوحًا مرنة، وتستطيع أنّ تتحرك، أما خلايا النّباتات فغير قادرة على الحركة ومحاطة بجدار سليلوزي صلب. فكل خلية في النبات توضع في موقع ثابت، عندما تتخلق. لذا، تستطيع الخلايا الحيوانية استخدام هجرة الْخليّة بشكل مكثف في أثناء التّكوين الْجنينيّ، في حين تستخدم النّباتات الآليات الأربع الأخرى، ولكنها تفتقر إلى هجرة الْخليّة. سوف نستعرض أولًا التغيرات في التّشكّل التي تحدث في الحيوانات، ثم ننتقل إلى النّباتات.

قد يؤدي انقسام الْخليّة في أثناء التّكوين الْجنينيّ إلى انقسام سيتوبلازمي غير متساوٍ

يحدد اتجاه الخيوط المغزلية مستوى الانقسام الخلوي في حقيقيات النوى. وهذا يعتمد على التنسيق بين الأنيبيبات والبروتينات المحركة التي تحدد مواقع الخيوط المغزلية في الْخليّة (انظر الفصل الـ 10). فإذا كانت الخيوط المغزلية مركزية الموقع في الْخليّة المنقسمة، فستنتج خليتان بنويتين متساويتين في الحجم. وإذا كانت الخيوط المغزلية مبتعدة نحو أحد الجانبين، فستنتج خلية بنويتين كبيرة، وصغيرة.

تُحدَّد الاختلافات الكبيرة بين تفلجات الأجنة الحيوانية عن طريق الاختلافات في مواضع الخيوط المغزلية. وفي كثير من الأحيان، يكون مصير الْخليّة محددًا بموضعها عند تفلج الجنين. فمثلًا، في مرحلة ما قبل انـزراع الأجنة الثّدييّة، تتمايز الخلايا الخارجية لتصبح خلايا الإكتوديرم الغذائي، التي ستكوِّن التراكيب الجنينية الخارجية فقط (جزء من المشيمة مثلًا). في المقابل، ينشأ الجنين من كتلة الخلايا الداخلية، وهي الخلايا التي توجد في داخل الجنين، كما يشير الاسم.

تغير الخلايا شكلها وحجمها عند الشروع في التّشكّل

يكون التّمايز في الحيوانات مصاحبًا لتغيرات جذرية في حجم الْخليّة وشكلها. فمثلًا، الخلايا العصبية الكبيرة التي تربط بين الحبل الشوكي وعضلة أخمص القدم تطور زائدة طويلة تدعى المحور *Axon* يمتد على طول هذه المسافة، ويحتوي على أنيبيبات تُستخدم بوصفها مسارات للبروتينات المحركة التي تنقل المواد على طول المحور.

مثال آخر، خلايا العضلات التي تبدأ بوصفها خلايا مولدة للعضلات *Myoblasts* وهي خلايا عضلية مُمَهدة غير متمايزة. تتحول هذه الخلايا في النهاية إلى ليفيفات عضلية *Muscle fibers* كبيرة متعددة النوى تشكل العضلات الهيكلية. وتبدأ تلك التغيرات بتعبير جين *MyoD1* الذي يشفر لعامل استنساخ يرتبط مع محفزات جينات محدد لمصير العضلات من أجل استهلال تلك التغيرات.

موت الْخليّة المبرمج جزء ضروري من التّكوين الْجنينيّ

ليست الخلايا المُنتجة في أثناء التّكوين الْجنينيّ جميعها يكون مصيرها الحياة. فمثلًا، تكون لدى أصابع جنين الإنسان في المراحل الأولى أغشيةٌ. تموت الخلايا التي تُكوِّن هذه الأغشية في مراحل لاحقة من التّشكّل. ومثال آخر، فإنّ أجنّة الفقريات تنتج خلايا عصبية بأعداد كبيرة؛ لكي تضمن تكوّن نقاط اتصال عصبي، إلا أنّ أكثر من نصف تلك الخلايا العصبية لا تشكل نقاط اتصال، وتموت بطريقة منظمة في أثناء تطور الجهاز العصبي.

وخلافًا للموت المفاجئ الناتج عن جرح، فإنّ موت هذه الخلايا يكون مخططًا له–ومطلوبًا بالتأكيد– من أجل تكوين جنيني، وتشكّل مناسبين. الخلايا التي تموت بسبب جرح معين تنتفخ عادة، ثم تنفجر، وتُخرج مكوناتها إلى السائل خارج الخلايا. يُسمّى هذا النوع من **الموت النَّخَر Necrosis**. وبالمقارنة، فإنّ الموت المبرمج يؤدي إلى انكماش الْخليّة في عملية تُسمّى **الموت المبرمج Apoptosis**، ويعني حرفيًّا «السقوط بعيدًا». وتقوم الخلايا المجاورة بتناول مكوناتها.

التّحكم الْجينيّ في الموت المبرمج

يحدث الموت المبرمج عند تنشيط «برنامج الموت». ويظهر أنّ خلايا الحيوانات جميعها تحتوي على مثل هذا البرنامج. في *C. elegans* تموت دائمًا الـ131 خلية نفسها بشكل متكرر، ويمكن التنبؤ به عند التّكوين الْجنينيّ.

أظهر العمل مع *C. elegans* أن هناك ثلاثة جينات أساسية لهذه العملية: اثنان (هما *ced-3* و *ced-4*) يفعّلان برنامج الموت؛ وإذا تم تطفير أيّ منهما، فإنّ الخلايا الـ 131 لا تموت، بل تستمر، وتقوم بدلًا من ذلك بإنتاج النسيج العصبي وأنسجة أخرى. ويقوم الجين الثالث (*ced-9*) بكبح برنامج الموت الذي يشفَّر من قبل الجينين الآخرين. خلايا جنين *C. elegans* الألف وتسعون جميعها تموت في طفرة *ced-9*. وفي حالة الطفرة الثنائية *ced-3/ced-9* فإنّ الألف والتسعين خلية جميعها تعيش، ما يدل على أنّ *ced-9* يثبط موت الْخليّة، وذلك بالعمل قبل *ced-3* في مسار الموت المبرمج (الشكل 19-19أ).

ويظهر أنّ المحافظة على آلية الموت المبرمج تمّت خلال عملية تطور الحيوانات. يشبه جين *Apaf1* في الخلايا العصبية في الإنسان *ced-4* في *C.elegans* وينشط برنامج الموت، وإنّ جين *bcl-2* في الإنسان يعمل مثل *ced-9* ليثبط الموت المبرمج. وإذا نُقلت نسخة من *bcl-2* من الإنسان إلى الدّودة الْخيطيّة التي يوجد بها جين *ced-9* معطوبًا، فإنّ *bcl-2* يثبط برنامج موت الْخليّة الذي يقوم به *ced-3* و *ced-4*.

آلية الموت المبرمج

إنّ ناتج جين *ced-4* في *C. elegans* هو أنزيم محلل للبروتين الذي يحفز ناتج *ced-3* وهو أيضًا أنزيم محلل للبروتين. سُمي *Apaf1* في الإنسان بحسب دوره: عامل منشط أنزيم محلل البروتين للموت المبرمج *Apoptotic protease activating factor* (*Apaf1*). ويقوم بتنشيط اثنين من محللات البروتين، وهما كاسبيزان ولهما وظيفتان مثل محلل البروتين *Ced-3* في *C. elegans* (الشكل 19-19 ب). عند تنشيط أنزيم محلل البروتين النهائي، يقوم بتحطيم التراكيب الخلوية المهمة مثل الهيكل الخلوي والصفيحة النووية، ما يؤدي إلى تجزئة الْخليّة.

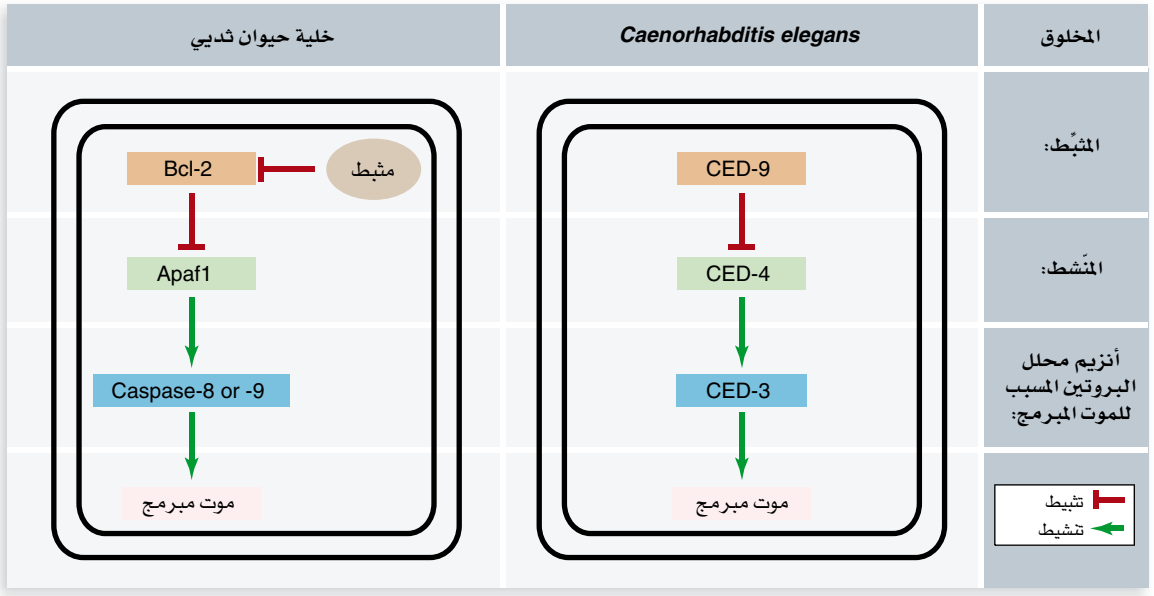
إنّ وظيفة Ced-9/Bcl-2 تثبيط هذا البرنامج، وهي تثبّط عمل أنزيم محلل البروتين النشط بصورة مُحدَّدة، فتمنع تنشيط أنزيم محلل البروتين المدمر. ومن ثم، فإنّ العملية كلّها يتم التحكّم فيها من قبل مثبِّط لبرنامج الموت.

هناك إشارات داخلية وخارجية تتحكم في حالة المثبطات Ced-9/Bcl-2. فمثلًا، في الجهاز العصبي للإنسان، لدى الخلايا العصبية مثبِّط سيتوبلازمي لـ Bcl-2 يسمح لعملية موت الْخليّة بأنْ تتم (الشكل 19-19 ب). بوجود عامل النّموّ العصبي، يؤدي مسار توصيل الإشارات إلى إلغاء نشاط المثبِّط السيتوبلازمي، ويسمح لـ Bcl-2 بمنع موت الْخليّة المبرمج، وببقاء الْخليّة العصبية.

توصل هجرة الْخليّة الخلايا الصحيحة إلى أماكنها الصحيحة

تُعَدُّ هجرة الخلايا من الأمور المهمة لكثير من مراحل التّكوين الْجنينيّ للحيوان. وتقتضي الهجرة أنْ يكون هناك التصاق وفكّ الالتصاق. فالالتصاق يعمل على «جرِّ» الْخليّة، ولكن على الخلايا أنْ تفقد هذا الالتصاق؛ لتتمكن من مغادرة الموقع.

تتطلب حركة الْخليّة أيضًا تفاعلًا بين الْخليّة والأساس، وإنّ الحشوة خارج الخلوية قد تتحكم في مدى هجرة الخلايا وطريقها. إنّ الفكرة الأساسية لحركة الخلايا المتعلقة بالتّشكّل الْجنينيّ هي التغير في درجة التصاق الْخليّة الذي يعتمد على التغير في مكونات الجزيئات الكبيرة في غشاء الْخليّة أو في الحشوة خارج الخلوية، لكن تفاعل الْخليّة مع خلية أخرى يتوسطه غالبًا مركبات كادهرين Cadherins وإن ارتباط الْخليّة يتطلّب عادة تفاعل إنتجرين (المكامل) Integrins مع الحشوة خارج الخلوية.



الشكل 19–19

مسار موت الْخليّة المبرمج. موت الْخليّة المبرمج ضروري للتكوين الْجنينيّ الطّبيعيّ في الحيوانات جميعها. أ. في الدّودة الْخيطيّة قيد التّكوين، مثلًا، يشفر جينا *ced-4* و*ced-3* بروتينات تسبب موت الْخليّة المبرمج لـ 131 خلية معينة. في الخلايا الناجية الأخرى في الدّودة الْخيطيّة قيد التّكوين، يثبّط ناتج جين ثالث، وهو *ced-9* الموتَ المبرمجَ المشفّر من قبل *ced-3* و *ced-4*. ب. الجينات العاملة في الموت المبرمج في الثّدييّات المشابهة لتلك الموجودة عند *C. elegans* هي *bcl-2* (شبيه *ced-9*)، و *Apaf1* (شبيه *ced-4*) *caspase-8* أو*9-* (شبيه *ced-3*). وفي غياب أي عامل بقاء، يتم تثبيط Bcl-2 ويحدث الموت المبرمج. في حالة وجود عامل النّموّ العصبي وارتباطه بمستقبله، يتم تنشيط Bcl-2، وبذلك يتم تثبيط الموت المبرمج.

بروتينات كادهرين

تُعَدُّ كادهرين عائلة جينية كبيرة لها 80 عضوًا معروفًا في الإنسان. وفي جينوم الدروسوفيلا و *C. Elegans* والإنسان، فيمكن تصنيف كادهرين إلى عدة تحت عائلات توجد في الجينومات الثلاثة جميعها.

وتُعَدُّ بروتينات كادهرين بروتينات عبر غشائية، وتشترك في موتيف شائع، في منطقة كادهرين، المكونة من 110 أحماض أمينية في الجزء خارج الخلوي من البروتين الذي يتوسط في عملية الارتباط المعتمد على الكالسيوم بين جزيئات كادهرين المتماثلة (الارتباط المثلي).

توضح التجارب التي يتم فيها السماح للخلايا أن تتوزع في أنبوب الاختبار وظيفة كادهرين. فالخلايا التي تحتوي النوع نفسه من كادهرين ترتبط مع بعضها، في حين لا ترتبط مع الخلايا التي لديها كادهرين مختلف. وإذا تم تفريق مجموعات خلايا لديها كادهرين مختلف، ثم سُمِح لها بإعادة التجمع، فإنها تتوزّع إلى مجموعتين من الخلايا بناءً على طبيعة كادهرين على سطوحها.

ويمكن دراسة عمل كادهرين من خلال مثال التّكوين الْجنينيّ للجهاز العصبي في الفقريات. فخلايا الإكتودرم السطحي الجنينية جميعها تترجم كادهرين من النوع E. يبدأ تكون الجهاز العصبي عندما يقوم شريط مركزي من الخلايا على السطح الظهري للجنين بإيقاف تعبير كادهرين E، وتشغيل تعبير كادهرين N. في مرحلة تكوين **الأنبوب العصبي Neurulation**، (انظر الفصل 53)، ينطوي الشريط المركزي من الخلايا المُعَبِّرة عن كادهرين N لتكوّن الأنبوب.

ينفصل الأنبوب العصبي من الخلايا التي تغطيها، والتي تستمر في تعبير كادهرين E. تتمايز خلايا السطح خارج الأنبوب، وتصبح خلايا بشرة الجلد، في حين يتطور الأنبوب العصبي، ويصبح الدماغ والحبل الشوكي للجنين.

بروتينات إنتجرين *Integrins*

في بعض الأنسجة مثل النسيج الضام، ينتج جزء كبير من حجم النسيج من وجود المسافات بين الخلايا. عادة، تمتلئ تلك المسافات بشبكة من المواد المفرزة من الخلايا المحيطة تُسمّى الحشوة خارج الخلايا *Matrix*. في النسيج الضام مثل الغضروف، هناك سكريات متعددة ذات سلاسل متعددة التّسكّر طويلة (سكّريّات البروتين) ينغمس بداخلها أشرطة من البروتينات اللّيفية (كولاجين وإلاستين وفايبرونكتين). تعبر الخلايا المهاجرة الحشوة خارج الخلايا بالارتباط بها عن طريق بروتينات موجودة على سطح الْخليّة تُسمّى **إنتجرين**.

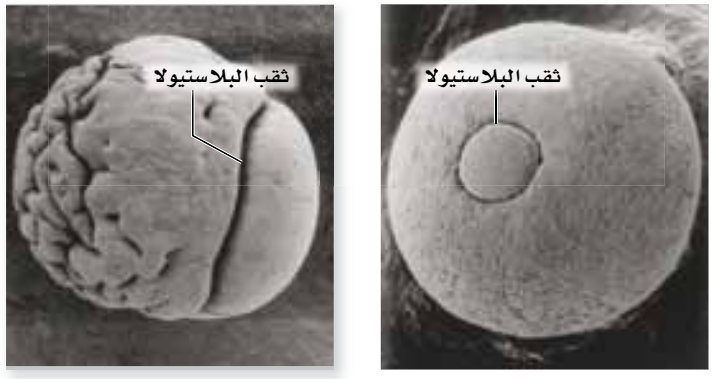
يرتبط إنتجرين مع خيوط أكتين من الهيكل الخلوي، ثم يبرز خارج الْخليّة على شكل أزواج كاليدين. تقبض «اليدان» على جزء معين من الحشوة خارج الخلايا مثل كولاجين أو فايبرونكتين، وبذا تربط بين الهيكل الخلوي وألياف الحشوة خارج الخلايا. إضافة إلى تزويدها بنقطة تثبيت، يمكن لهذا الارتباط أنْ يستهل تغييرات في داخل الْخليّة، فيُعدِّل نموّ الهيكل الخلوي، وينشّط التعبير الْجينيّ، ويُنتج بروتينات جديدة.

تعتمد عملية **تكوين الجاسترولا Gastrulation**، التي تقوم بها كرة من الخلايا الجنينية الحيوانية بالانبعاج الداخلي على نفسها؛ لتشكيل تركيب متعدد الطبقات، على ارتباط فايبرونكتين مع إنتجرين. فعلى سبيل المثال، عند حقن جنين السلمندر بأجسام مضادة لأيٍّ من فايبرونكتين أو إنتجرين، فإنّ ذلك يمنع ارتباط الخلايا مع فايبرونكتين في الحشوة خارج الخلايا، ويمنع تكون الجاسترولا. والنتيجة تشبه ازدحامًا مروريًّا عظيمًا بعد حادث مروري على الطريق السريع: فالخلايا (السيارات) تستمر في القدوم، غير أنها تتجمع في الخلف؛ لأنها لا تستطيع الوصول أبعد من منطقة المنع (موقع الحادث) (الشكل 19-20). وبالمثل، فإنّ إزالة جين فايبرونكتين من الفأر أنتجت خللًا فادحًا في هجرة خلايا الميزودرم الجنينية وتكاثرها وتمايزها.

لذا، فإنّ الهجرة الخلوية تخضع في الأغلب لتغيرات في أنماط التصاق الْخليّة. عند هجرة الْخليّة، تُخرج نتؤاتها باستمرار لتستشعر البيئة المحيطة بها. وبجرِّها بهذه الطريقة، وبالالتصاقات المختلفة العابرة، تتحسّس الْخليّة فعليًّا طريقها متجهة إلى هدفها النهائي.

يُحدِّد مستوى انقسام الْخليّة التّشكّل في النّباتات البذريّة

يعتمد شكل جسم النبات بشكل كبير على المستوى الذي تنقسم فيه الْخليّة. أول انقسام للبيضة الْمُخصّبة في النّباتات الزهرية يكون بعيدًا عن المركز. لذا، فإنّ إحدى الخلايا الجديدة تكون صغيرة، ولها سيتوبلازم كثيف (الشكل 19-21أ). تنقسم هذه الْخليّة، وهي التي ستكون الجنين، بشكل متكرر لتكوِّنَ كرة من



أ. ب.

الشكل 19-20

الكواشف التي تتدخل في ارتباط الْخليّة مع فايبرونكتين تثبط تكوين الجاسترولا في أجنّة البرمائيات. أ. صورة عن طريق مجهر إلكتروني ماسح لجنين طبيعي في خلايا السلمندر عند عملية تكون الجاسترولا. تم حقن الجنين بمحلول ملحي بوصفه ضابطًا للتجربة في مرحلة البلاستيولا. تحركت الخلايا إلى داخل الجنين حول محيط ثقب البلاستيولا، سامحة للخلايا الخارجية بالانتشار بشكل متساوٍ على سطح الجنين. ب. صورة لجنين سلمندر في العمر نفسه تم حقنه مسبقًا بأجسام مضادة لفايبرونكتين الذي سيمنع ارتباط الخلايا المهاجرة بالحشوة خارج الخلايا. في هذا الجنين، تفتقر الخلايا الالتصاقَ لكي تتحرّك إلى مقدمة الجنين، ومن ثم تتراكم على السطح لتكون التعرجات العميقة. لاحظ أيضًا أنّ محيط ثقب البلاستيولا لم يتناقص في هذه الأجنة.

الخلايا. أما الْخليّة البنوية الثانية فتنقسم أيضًا بشكل متكرر لتكون تركيبًا طويلًا يُسمّى المعلِّق *Suspensor*، الذي يربط الجنين بالنسيج الغذائي في البذرة. يشكل المعلِّق طريقًا للغذاء لكي يصل إلى الجنين المتكوّن.

وتمامًا مثلما تكتسب أجنّة الحيوانات المحور الأولي عند تَكَوُّن كتلة الخلايا في أثناء انقسامات التّفلّج، فإنّ أجنّة النّباتات تطور محور الجذر-الساق في الوقت نفسه. تُكوِّن الخلايا التي بقرب المعلِّق الجذر، في حين تكون الخلايا على الطرف الآخر من المحور الساق، وهو الجزء الموجود خارجَ التربة.

إنّ الموقع النسبي للخلايا في الجنين مهم جدًا، وهو المحدد الأساسي للتمايز الخلوي. فتكوّن الخلايا الخارجية البشرةَ. ويتألف الجزء الأكبر من الخلايا في داخل الجنين من خلايا النسيج الأساسي الذي يُستخدم لتخزين المياه والغذاء. أما الخلايا الموجودة في لبّ الجنين فتكوِّن النسيج الوعائي (الشكل 19-21 ب). (سوف نتناول وصف أنسجة النّباتات والتّكوين الْجنينيّ بالتفصيل في الفصلين 36 و 37).

بعد تكوين الأنسجة الأساسية الثلاثة بوقت قصير، يطور جنين النّباتات الزهرية واحدة أو اثنتين من الأوراق البذرية تُسمّى الفلقات *Cotyledons*. في هذه المرحلة يتوقف النّموّ، ويكون الجنين محاطًا بنسيج مغذٍ أو بكمية كبيرة من مخزون الغذاء في فلقاته (الشكل 19-21جـ). تعرف العبوة الناتجة بالبذرة *Seed*، وهي مقاومة للجفاف والظروف الأخرى الصعبة.

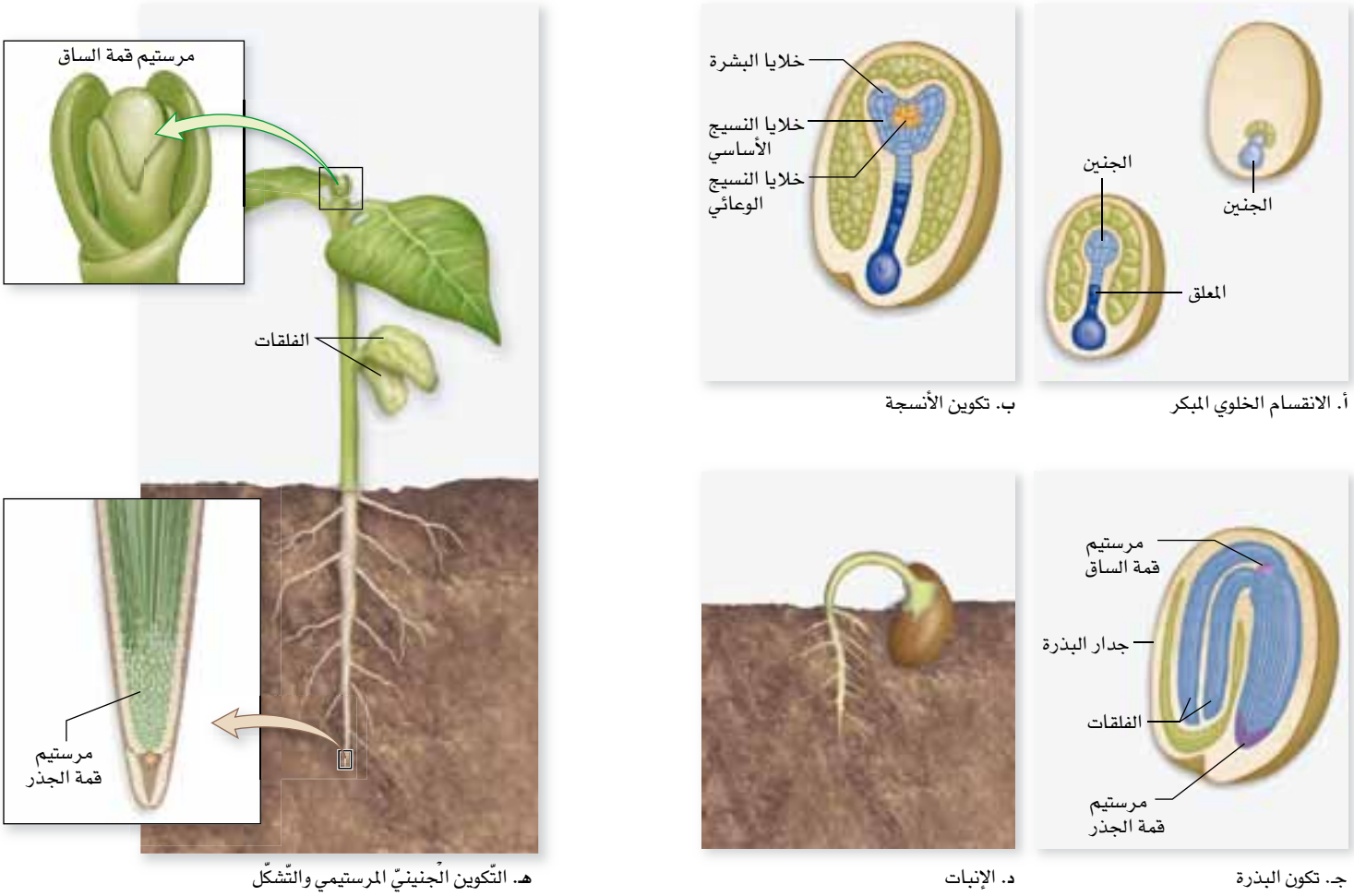
تنبت البذرة في ظل الظروف البيئية الملائمة. ويتابع الجنين تطوره في داخل البذرة، وينمو بسرعة، ويبدأ بمدّ جذوره إلى الأسفل، في حين تمتد الساق التي تحمل الأوراق إلى الأعلى (الشكل 19-21 د).

يُبدي التّكوين الْجنينيّ للنبات مرونة كبيرة عند تجميع الوحدات التي تكوّن جسم النبات، إذ يولد المرستيم القِمِّي الموجود في الجذر أو على قمة الساق عددًا كبيرًا من الخلايا اللازمة لتطور الأوراق، والأزهار، ومكونات النبات البالغ جميعها (الشكل 19-21هـ).

يتم التّحكم في النّموّ في الزهرة المُتطورة عن طريق سلسلة من عوامل الاستنساخ. العضو المهم في هذه السلسلة هو جين *AINTEGUMENTA (ANT)*. يقلل فقدان وظيفة ANT عدد الأعضاء الزهرية وحجمها، ويؤدي التعبير غير المناسب عنه إلى أعضاء زهرية أكبر.

إنّ جسم النبات أيضًا يؤسس بناء على تغييرات منظمة تحدث في شكل الْخليّة، في حين يزداد حجم الْخليّة بالخاصية الأسموزية. وتؤثر الهرمونات المنظمة للنموّ في اتجاه حزم الأنيبيبات إلى الداخل من غشاء الْخليّة. وتقوم هذه الأنيبيبات بإرشاد ترسب السيلولوز على جدار الْخليّة، وتقوم ليبفات السليولوز بتقرير كيف ستستطيل الْخليّة في حين تزداد في الحجم نتيجة الضغط الأسموزي، وبذا تحدِّد الشكل النهائي للخليّة.

التّشكّلُ توليدٌ مرتبٌ للشكل والتركيب. يحدث التّشكّل عن طريق النّموّ الخلوي، وتغير شكل الْخليّة، وموت الْخليّة المبرمج، وهجرة الْخليّة. ولأنّ خلايا النبات لا تستطيع أنْ تتحرك، فإنّ انقسام الْخليّة وتوسعها هما العمليتان الأساسيتان في تشكّل النبات.



أ. الانقسام الخلوي المبكر

ب. تكوين الأنسجة

ج. تكون البذرة

د. الإنبات

هـ. التّكوين الْجنينيّ المرستيمي والتّشكّل

الشكل 19-21

مسار التّكوين الْجنينيّ للنبات. مراحل التّكوين الجنينية في رشاد الجدران *Arabidopsis thaliana* هي (أ) انقسام الْخليّة الْجنينيّ المبكر. (ب) تكوين النسيج الْجنينيّ. (ج) تكوين البذرة. (د) الإنبات. (هـ) التّكوين الْجنينيّ المرستيمي والتّشكّل.

19-6 المؤثّرات البيئيّة في التّكوين الْجنينيّ

عمليةُ التّكوين الْجنينيّ في النّباتات البذرية مرحلةٌ قصيرةٌ في حياة النبات، وينتج عنها البذرة. بعدئذٍ، تؤثّر البيئة في المراحل جميعها التي تأتي بعد ذلك من انتشار البذور وحتى تكوين الزهرة. فمثلًا، يحدث انتشار بذور صنوبر جاك بعد الحرائق، إذ إن ارتفاع الحرارة يؤدي إلى فتح الأقماع المغلقة بإحكام لتحرر بذورها.

يحدث استنبات البذور الخاملة بعد ملاءمة ظروف التربة، ودرجة الحرارة، وساعات ضوء النهار للبذور. وبالمثل، فإنّ مجموعة عوامل تحدد وقت إنتاج الأزهار في النّباتات مغطاة البذور.

يتأثّر التّكوين الْجنينيّ في النّباتات أيضًا بالتفاعل مع المخلوقات الأخرى، فمثلًا، تقاس قدرة النّباتات التي تتغذى عليها الحيوانات بقدرتها على سرعة نموّها من جديد، والتي تعتمد على المرستيم. ويعتمد التّكوين الْجنينيّ للنبات أيضًا على العلاقة التعايشية مع مخلوقات أخرى مثل البكتيريا *Rhizobium* التي تثبت النيتروجين، وهي تساعد جذور البقوليات على تكوين عقدٍ تستضيف تلك البكتيريا.

إنّ تأثير البيئة في التّكوين الْجنينيّ للحيوانات ليس حدسيًّا بهذه الدرجة. فالمخلوقات مثل *C. elegans* والدروسوفيلا تم اصطفاؤهما بوصفهما نظامين نموذجيين لدراسة تكوين الحيوان الْجنينيّ؛ لأنهما يتطوران بصورة منتظمة تحت الظروف المخبرية التقليدية. لكن المخلوقات التي تعيش في الطبيعة معرضة لكثير من التغيرات البيئية، ما قد ينتج طرزًا ظاهرية مختلفة عن الطراز الْجينيّ الوحيد.

في الثّدييّات، يستمر التّكوين الْجنينيّ مدة طويلة يكون فيها الجنين أكثر عرضة للمؤثرات البيئية التي تنتقل من الأم عبر الدم. على سبيل المثال، الوصفة الطبية التي احتوت على العقار المنوِّم ثاليدومايد والتي أعطيت للنساء الحوامل في الْخمسينيّات والسّتينيّات من القرن الماضي وضحت الآثار العميقة لهذا العقار على تكوين الإنسان الْجنينيّ. أنجب كثير من النساء اللائي تناولن هذا العقار أطفالًا بأطراف مشوهة. كذلك الأمر بالنسبة إلى المواد التي تحتوي على الرصاص والتي تؤثر في نموّ الأطفال بعد الولادة وحتى النضج ما يؤدي إلى حدوث اضطرابات إدراكية، وإعاقات دماغية.

تؤثّر البيئة في التّكوين الْجنينيّ الطّبيعيّ

تتحكم البيئة في كثير من أوجه النّموّ الطّبيعيّ للحيوانات. فيرقة بعض اللافقريات البحرية لا تتحول، ولا تنسلخ إلا بعد أنْ تجد أرضية محددة ترتبط بها، وتستقرّ عليها. ومثلما هو في النّباتات، فإنّ تكوين الحيوان الْجنينيّ غالبًا ما يتأثر بالتفاعل مع المخلوقات الأخرى. فمثلًا، برغوث الماء دافنيا *Daphnia* يستطيع أنْ يغير شكله بمضاعفة حجم القبعة على رأسه بعد عثوره على يرقة حشرة طائرة مفترسة (الشكل 19-22). وأخيرًا، عندما يتم تربية الفئران، وسمكة حمار الوحش في بيئة خالية من الجراثيم، فإنّ أمعاءها تكون خالية من البكتيريا التي تستعمر الأمعاء بشكل طبيعي. نتيجة لذلك، تنشأ عيوب في تمايز الأمعاء ووظيفتها في كلا النوعين.

هناك مثال آخر واضح على تأثير البيئة في التّكوين الْجنينيّ، وهو تحديد الجنس المعتمد على الحرارة. ففي بعض الزواحف، تكون درجة حرارة التربة التي تحتوي على البيض محددة لنوع الجنس للفاقسات. ففي بعض الأنواع، يسود جنس معين في درجة الحرارة المتوسطة، في حين يتطور الجنس الآخر فقط في إحدى نهايات المدى الحراري الطّبيعيّ. في أنواع أخرى، تنتج إحدى نهايات المدى الحراري الطّبيعيّ ذكورًا فقط، وتنتج النهاية الأخرى من المدى إناثًا بشكل كلي، وأما الحرارة المتوسطة فهي غالبًا ما تكون محايدة الجنس.

أحد الأخطار المحتملة الناتجة عن تحديد الجنس المعتمد على الحرارة، قد ينتج من زيادة درجة الحرارة على الكرة الأرضية، ما قد يؤدي إلى انحراف نسبة الجنس في مجموعة معينة إلى جنس واحد، ما يؤدي إلى انقراض هذا النوع. وقد عزا بعض العلماء السبب في انقراض الديناصورات إلى درجة الحرارة المتغيرة التي أثّرت في تحديد الجنس وفي نسبة الجنسين في الديناصورات.

يمكن لمعطِّلات الْغدد الصّمّاء أنْ تُحْدِثَ اضطراباتٍ في التّكوين الْجنينيّ

هناك عائلة كبيرة من هرمونات **الغدد الصّمّاء Endocrine hormone** مثل الأندروجينات (الهرمونات الذكرية) تؤدي دورًا مهمًّا في تمايز الجنس والوظيفة في الحيوانات. يُعَدُّ نشاط الغدد الصّمّاء الداخلي جوهريًّا في التّكوين الْجنينيّ الطّبيعيّ وفي الاتزان الداخلي للحيوانات المعقدة جميعها. فمثلًا، تقوم الهرمونات بإطلاق إشارة البدء للتحول والانسلاخ في الضفادع والحشرات، وإذا حدث خلل في الغدة النخامية التي تنتج هرمون النّموّ في الإنسان، فإنّ ذلك يؤدي إلى القَزَم أو العملقة.

وعلى الرغم من أنّ سبب الأمراض والاضطرابات الهرمونية وراثي، فإن الدراسات الحديثة بينت أنّ بعض العوامل البيئية الكيميائية تتدخل في إشارات الغدد الصّمّاء. المواد الكيميائية المسببة لاضطراب **الغدد الصّمّاء Endocrine disrupting chemicals (EDC)** هي أيّ مواد خارجية تتعارض مع إنتاج المستقبل بالهرمون ونقله وارتباطه.

ولعل أهم معطل هرموني هو **ثنائي إيثيل ستلبسترول Diethylstilbestrol** الذي وصف دواءً لملايين النساء الحوامل بين عامي 1938 و 1971 وذلك لمنع الإجهاض والولادة قبل موعدها. لقد ظهر لدى الأطفال الإناث تمايزٌ غير طبيعي في أعضاء التناسل، وكانت البنات أكثر عرضة لنوع نادر من أنواع سرطانات المهبل وعنق الرحم.

وتأتي المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء من البيئة عن طريق ثلاث وسائل رئيسة، هي: النُّفايات الصّناعيّة، والممارسات الزراعيّة، ومُخْرَجات محطات معالجة مياه الصّرف الصّحيّ. تضمّ المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء الصناعية، الدايوكسين Dioxin، والمعادن الثقيلة،

الشّكل 19-22

التغيرات الشكلية المحفَّزة بالافتراس في برغوث الماء دافنيا *Daphnia*. هذه الصورالمأخوذة عن طريق مجهر إلكتروني ماسح تظهر الفرق بين شكل دافنيا بعد مواجهة يرقة الذبابة المفترسة (الجانب الأيسر) والشكل الطّبيعيّ للجسم (الجانب الأيمن). تتكاثر الدافنيا لاجنسيًّا، وهذان الفردان سلالاتٌ وراثيةٌ أحدهما للآخر. لذا، فإنّ البيئة تستطيع أنْ تعمل على طقم واحد من الجينات لتحفز تكوين شكلين مختلفين للجسم.

وثنائيات الفنيل متعددة الكلور (PCBS). يثبّط دايوكسين جهازَ المناعةِ في الإنسان مددًا طويلة بعد التعرض للمركّب. وإنّ دايوكسين والمعادن الثقيلة وثنائيات الفنيل متعددة الكلور جميعها تؤثّر في الذاكرة، والتعلم، وعمليات الإدراك الأخرى في القردة والقوارض.

أما المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء الزراعيّة، فتتمثل في قاتل الحشرات أترازين و د.د.ت. فقد أثبتت الدراسات أنّ سببَ نقصان أعداد النَّسْرِ الأصلع في أمريكا الشمالية تراكمُ د.د.ت في الأنثى البالغ ما أدى إلى وضع بيوض رقيقة القشرة، وتتكسر بسهولة. لقد كان منع استخدام د.د.ت في الولايات المتحدة السبب الرّئيس لرجوع مجموعات النَّسْرِ الأصلع بعد أن كان على شفا هوّة الانقراض.

أظهرت التقاريرُ الحديثة زيادةً في حدوث حالات عيوب تكوين جنينية في الجهاز البوليّ والتناسليّ بدأت تظهر عند ذكور الإنسان، ممثلة في موضع غير طبيعي لفتحة قناة البول والخصيتين غير الهابطتين. وإن هناك انخفاضًا عالميًّا في عدد الحيوانات المنوية ونوعيتها، وتزايدًا في العقم عند الرّجال. تفاقمت هذه المشكلات جميعها في المناطق التي توجد بها كميات كبيرة من المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء.

لقد أظهرت دراسة نشرتها مجلة العلم *Science* عام 2005 أن تعرض الجرذان الحوامل لاثنين من المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء، أحدهما قاتل للفطريات، والآخر قاتل للحشرات أدى إلى إنجابها ذرية لديها نقص في عدد الحيوانات المنوية، وإلى نقص الخصوبة لدى الذكور البالغة من ذرية هذه الأمهات. وإنّ نقصان الخصوبة لدى الذكور قد نقلها إلى أجيال لاحقة تم فحصها (من F_1 إلى F_4). لذا، فإنّ هذه التجارب المروّعة تظهر أنّ تأثير المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء قد يمتد إلى أبعد من الشخص المعرض لها، ويؤثر في أجيال عدة لاحقة.

يتأثّر التّكوين الْجنينيّ في كلٍّ من النّباتات والحيوانات بالمؤثّرات الْبيئيّة. تتحكم الحرارة في تحديد الجنس في الزّواحف. قد يتأثّر تكوين الإنسان الْجنينيّ بالملوّثات البيئيّة التي تشبه تأثير هرمونات الستيرويدات.

مراجعة المفاهيم

19-1 نظرة شاملة على التّكوين الْجنينيّ

- التّكوينُ الْجنينيّ عمليةٌ تتابعيةٌ منظمةٌ تدير فيها الجينات التغيرات خلال دورة الحياة.
- يحدث التّكوين الْجنينيّ في أربع عمليات، هي: النّموّ، وتمايز الْخليّة، وتكوين النّمط، والتّشكّل.

19-2 انقسام الْخليّة

يبدأ النّموّ المبكر عن طريق الانقسام الخلوي المتساوي، وينتج عنه كثير من الخلايا غير المتمايزة

- في الحيوانات، تُقسِّم انقسامات مرحلة التّفلّج البيضة الْمُخصّبة إلى كثير من الخلايا الأصغر تُسمّى قِطع البلاستيولا.
- خلال التفلج، يتم تقصير المُدد الزمنية لمراحل G_1 و G_2 أو إزالتها في دورة الْخليّة (الشكل 19-2).
- سلالة الـ 959 خلية جسمية بالغة في الدّودة *C. elegans* غير متغايرة.
- بمقدور الخلايا الْجذعيّة أنْ تنقسم إلى ما لانهاية، وتنشأ منها أنواع عدة من الخلايا.
- يمكن أنْ تنشئ الخلايا ذات القدرة الشاملة أيّ نوع من الخلايا، في حين تنشئ الخلايا متعددة القدرات أنواعًا عدة من الخلايا.
- تشتق الخلايا الْجذعيّة الجنينية من كتلة الخلايا الداخلية لكيس البلاستيولا وهي متعددة القدرة (الشكل 19-4).
- يستمر نموّ النبات خلال مدة الحياة من الخلايا الْجذعيّة المرستيمية التي يمكنها أنْ تتمايز لتصبح أيّ نسيج في النبات.

19-3 التمايز الخلوي

تتخذ الخلايا، خلال عملية التّكوين الْجنينيّ، مصاير مختلفة بسبب الاختلافات الزمانية والمكانية للتعبير الْجينيّ في الجنين النامي.

- الخلايا التي تلتزم بمسار تكوين جنيني معين تكون محدَّدة المصير.
- تستطيع الخلايا أنْ تصبح محدّدة لمسار تكوين جنيني معين عن طريق وراثة محددات سيتوبلازمية، أو عن طريق التفاعل بين خلية وأخرى.
- تُنتج المحددات السيتوبلازمية مثل mRNA الأمّي خلال تكوين البيضة.
- يحدث التّحفيز أو الْحثّ عندما تنتج خلية من نوع ما جزيء إشارة يحفِّز التعبير الْجينيّ في الخلايا المجاورة.
- بالإمكان إعادة برمجة النواة التابعة لخلية كاملة التّمايز لتصبح شاملة القدرة (الشكل 19-9).
- يعاني الاستنسال التكاثري عن معدل نجاحٍ قليل، ويعاني أمراضًا مرتبطة بالعمر.
- يستخدم الاستنسال العلاجي الخلايا الْجذعيّة من المستقبِل، ومن ثم فهي تحلّ مشكلة رفض النسيج في عمليات زراعة الأنسجة والأعضاء.

19-4 تكوين النّمط

حتى تتمكن الخلايا في المخلوقات متعددة الخلايا من التّمايز إلى نوع الخلايا المناسبة، عليها أنْ تحصل على معلومات عن المواقع النسبية لها في الجسم قبل أن يتم تحديد مصايرها.

- ينتج تكوين النّمط محورين متعامدين؛ مقدمة/ مؤخرة، وظهري/ بطني في المخلوقات المتناظرة جانبيًّا.
- تؤدي المعلومات المتعلقة بالموقع إلى تغيرات في نشاط الجين. لذا، فإنّ الخلايا تتبنى مصيرًا يتناسب مع مواقعها.
- يوضح التّكوين الْجينيّ لذبابة الفاكهة أن هناك تحكّمًا جينيًّا في المراحل المبكرة من تكوين النّمط.
- يوضع mRNA المشفَّر أمّيًّا في البيضة الناضجة عن طريق الخلايا الحاضنة، ويمكنها أنْ تستهل شلالًا من التنشيطات الجينية المتتابعة.
- تكوين محور المقدمة/ المؤخرة يستند إلى تدرج التركيز المتضادة للمشكلات Bicoid وNanos التي تصنع من mRNA الأمّي (أشكال 19-14، 19-15).
- المحور الظهري/ البطني يتأسس عن طريق تدرج التركيز لعامل الاستنساخ الظهري.
- تشفّر جينات الفجوة لعوامل استنساخ، تقوم بدورها بتنشيط التعبير الْجينيّ لجينات قانون الأزواج الذي يقسم الجنين إلى سبع مناطق.
- جينات قانون الأزواج تنظم التعبير الْجينيّ لبعضها، ولجينات قطبية القطعة التي تنهي تحديد هوية القطعة الجنينية.
- تمنحُ الجيناتُ المتجانسةُ هويةً للقِطَع الجنينية. فهي تحتوي على سلسلة DNA تُسمّى الصندوق المتجانس، وتُسمّى جينات *Hox*.
- توجد جينات *Hox* في أربع مجموعات في الفقريّات.
- بدلًا من جينات *Hox*، تحتوي النّباتات على جينات صندوق MADS الذي يتحكم في الانتقال من الطور النّباتي الخضريّ إلى النّموّ التكاثريّ، والتّكوين الْجنينيّ للجذور، وهوية الأعضاء الزهرية.

19-5 التّشكّل

- التّشكّل نتاجُ تغيراتٍ في تركيب الْخليّة وسلوكها.
- بناءً على اتجاه الخيوط المغزلية، تنشأ خلايا متساوية أو مختلفة في الحجم.
- يمكن للتشكل أنْ ينشأ عن طريق تغيرات في شكل الْخليّة، أو حجمها، أو هجرتها.
- الموت المبرمج للخلايا مهم جدًا في التّكوين الْجنينيّ لإزالة التراكيب (الشكل 19-19).
- تتطلَّب هجرةُ الخلايا الالتصاقَ وفقدانه بين الخلايا وقواعدها.
- يتم التفاعل الخلوي-الخلوي بمساعدة بروتينات كادهرين، في حين يتطلب التفاعل الخلوي مع الأرضية ارتباط إنتجرين مع الحشوة خارج الخلايا.
- يرتبط إنتجرين مع ألياف توجد في الحشوة خارج الخلايا، وبذا يتم تغيير الهيكل الخلوي، وتنشيط التعبير الْجينيّ.
- في النّباتات، عمليات التّشكّل الأولية هي: انقسام الْخليّة، والموضع النسبي في داخل الجنين، وتغيرات في شكل الْخليّة.
- تكوين النّباتات الْجنينيّ يبدأ بالمرحلة التي يحدث فيها انقسام الْخليّة، وتنتهي بتكوين المرستيم الْجنينيّ، وبالتّشكّل (الشكل 19-21).
- الموقعُ النسبيُّ للخلايا في أجنّة النبات هو المحدّدُ الرّئيس لتمايز الخلايا.

19-6 المؤثرات البيئية في التّكوين الْجنينيّ

يتأثر التّكوين الْجنينيّ لكل من النّباتات والحيوانات بالعوامل البيئية.

- يتأثر انتشار البذرة، والإنبات، وتكوين النّباتات الْجنينيّ، بعوامل حيوية وأخرى غير حيوية.
- في النّباتات والحيوانات، يتأثر التعبير عن الطّرز الظاهرية لطراز جيني بالعوامل البيئية.
- في الحيوانات، يمكن أنْ تؤثّر العوامل المنقولة عن طريق الدم والملوثات البيئية في التّكوين الْجنينيّ.
- تتحكم البيئة في النّموّ والتّكوين الْجنينيّ الطّبيعيّ للحيوانات بالتّأثير في الخصائص مثل الشكل وتحديد الْجنس.
- قد يتأثر تكوين الإنسان الْجنينيّ بمركبات خارجية تُسمّى المواد الكيميائية المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء مثل دايوكسين، وثنائي الفنيل عديد الكلور، التي تتدخل في عملية إنتاج الهرمونات الداخلية بالمستقبل ونقلها وارتباطها.

أسئلة مراجعة

اختبار ذاتي

ارسم دائرة حول رمز الإجابة الصحيحة فيما يأتي:

1. واحدة من مراحل التّكوين الْجنينيّ الآتية مرتبطة بتوليد الأعضاء:
أ . النّموّ. ب. تكوين النّمط.
جـ. التّمايز. د . التّشكّل.

2. يتطلب نموّ الجنين قيد التطور انقسامات خلوية سريعة من نوع:
أ . الانقسام المتساوي. ب. الانقسام الاختزالي.
جـ. الانشطار الثنائي. د . الجنسي.

3. إنقاص حجم قِطع البلاستيولا ناتج عن تقصير:
أ . مرحلة M. ب. مرحلة S.
جـ. مرحلتي G_1 و G_2. د . جميع ما ذكر.

4. الخليّة ذات القدرة المتعددة هي التي تستطيع أنْ:
أ . تصبح أيّ نوع من الخلايا.
ب. تنتج عددًا غير محدد من نوع واحد من الخلايا.
جـ. تنتج عددًا محدودًا من نوع محدد من الخلايا.
د . تنتج أنواعًا متعددة.

5. العبارة غير الصحيحة بالنسبة إلى الخلايا الْجذعيّة الجنينية هي:
أ . تحافظ على قدرة التطور لتصبح أيّ نوع خلية.
ب. يتم عزلها من الكتلة الداخلية للجنين قيد التّكوين.
جـ. محددة بنوع النسيج.
د . شاملة القدرة.

6. المرستيمات النباتية:
أ . توجد خلال التّكوين الْجنينيّ فقط. ب. تحتوي على خلايا جذعية.
جـ. تقوم بالانقسام الاختزالي. د . جميع ما ذكر

7. المغزى العام لتحديد مصير الْخليّة عن طريق التحفيز (الْحثّ) أو المحددات السيتوبلازمية هو:
أ . تنشيط عوامل استنساخ.
ب. تنشيط مسارات إشارات الْخليّة.
جـ. تغيير في التعبير الْجينيّ.
د . (أ) و (جـ).

8. واحدٌ مما يأتي لا يُعَدُّ قصورًا في الاستنسال التكاثري:
أ . كفاءة العملية. ب. الاعتبارات الأخلاقية.
جـ. المصدر مانح DNA. د . الدمغة الوراثية لـ DNA.

9. تختلف نواتج الاستنسال العلاجي عن الاستنسال التكاثري في أن الأول:
أ . يزودنا بمصدر للخلايا الْجذعيّة الجنينية.
ب. ينتج جنينًا يمكن أنْ يُزْرَعَ في الرّحم.
جـ. ينتج أنسجة كاملة وأعضاء.
د . يزودنا بمصدر للبروتينات.

10. يُحَدَّدُ المحورُ الأماميّ- الخلفيّ لذبابة الفاكهة الدروسوفيلا عن طريق:
أ . عوامل نموّ.
ب. RNA للزيجوت.
جـ. المشكّلات.
د . تكوين أدمة البلاستيولا الخلوية.

11. واحدٌ مما يأتي يصف المُشَكِّلات على وجه دقيق:
أ . خلية تفرز إشارة قابلة للانتشار تحدد مصير الْخليّة.
ب. إشارة قابلة للانتشار تعمل على تحديد مصير الْخليّة.
جـ. بروتين يساعد على تفاعل الْخليّة-الْخليّة، ويغير مصير الْخليّة.
د . بروتين يساعد الْخليّة على أنْ تصبح شاملة القدرة.

12. افترض أنه عند عملية مسح الطفرات لتعزل طفرة في الدروسوفيلا، حصلت على ذبابة لها أرجل نامية من رأسها، إذن، مجموعة الجينات التي قد تأثرت هي:
أ . *Bicoid*. ب. الأحدب.
جـ. ثنائي الصدر. د . قرون الاستشعار والأقدام.

13. النتيجة المحتملة لطفرة في جين *bcl-2* على مستوى الموت المبرمج هي:
أ . لا يوجد تغيير.
ب. نقصان الموت المبرمج.
جـ. زيادة الموت المبرمج.
د . زيادة أولية متبوعة بنقصان الموت المبرمج.

14. تُحَدَّدُ خطة الجسم في النّباتات في بداية الأمر عن طريق:
أ . نشاط جينات صندوق مادس MADS.
ب. الانقسام الأول بعد الإخصاب.
جـ. تكوين الجاسترولا.
د . (أ) و (ب).

15. تؤثر الكيماويات المسببة لاضطراب الغدد الصّمّاء في التّكوين الْجنينيّ عن طريق:
أ . تغيير المسار الطّبيعيّ لنشاط هرمونات الغدد الصّمّاء.
ب. تحفيز الطفرات.
جـ. تغيير تحديد الجنس للجنين قيد التّكوين.
د . (أ) و (ب).

أسئلة تحدٍّ

1. تمثل خريطة مصير *C. elegans* التّكوين الْجنينيّ للمخلوقات متعددة الخلايا من خلية مفردة. (ارجع إلى الشكل 19-3) استخدم هذه الخريطة لتحديد عدد الانقسامات الخلوية المطلوبة لتأسيس مجموعة خلايا ستصبح (أ) جهازًا عصبيًّا . (ب) غددًا تناسليّة.

2. افحص بتأنٍّ خريطة مصير *C. elegans* في (الشكل 19-3). لاحظ أنّ بعض نقاط التفرع (الخلايا البنوية) لا تنتج المزيد من الخلايا بصورة مستمرة. ما الآلية الخلوية التي يستند إليها هذا النّمط؟

3. قُمْتَ بتخليق طقم من خلايا جنينية طافرة من فأر. تنبأ بعواقب التّكوين الْجنينيّ لكلّ من الطفرات الآتية:
أ . طفرة ناتجة عن إزالة كادهرين N.
ب. طفرة ناتجة عن إزالة إنتجرين.
جـ. إزالة المنطقة السيتوبلازمية لإنتجرين.

هل أنت في حاجة إلى مراجعة إضافية؟ زر الموقع www.ravenbiology.com. للتدرب على الاختبارات القصيرة، والرسوم المتحركة، والتسجيلات التلفزيونية، وأنشطة مخصصة؛ لمساعدتك على فهم المادة الموجودة في هذا الفصل.