

النشاط 1: مفهوم التغير الوراثي

يتكون البرنامج الوراثي لكائن حي من مجموع المورثات التي تحملها صبغياته وهي المسؤولة عن الصفات الوراثية التي يتميز به ذلك الكائن الحي لكن في بعض الحالات يلاحظ ظهور صفات جديدة لدى الكائن الحي فهل هذا يعني أن برنامجه الوراثي قد تغير؟ وإن صح ذلك فكيف يحدث التغير الوراثي؟ للإجابة عن هذه الأسئلة ندرس مثال انتقال مورثات بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* إلى نبات كما توضح المعطيات التالية:

الوثيقة 1



مرض جرب السنخ *La galle du collet* ، عبارة عن ورم سرطاني ضخم يظهر عند بعض النباتات على مستوى السنخ، وهي منطقة التقاء الساق والجذر (الوثيقة 1) ، ونظرا لأثره الحاسم على الاقتصاد فقد كان موضوع عدة أبحاث وتجارب.

← التجربة الأولى : (E . Smith et C . Townsend en 1907)
عزل الباحثان من ورم سرطاني في جذر نبات بكتيريا تدعى *Agrobacterium tumefaciens* (الوثيقة 2) . وبعد ذلك تم زرع هذه البكتيريا في فتحة حديثة (أقل من يومين) أنجزت على نبات سليم، ف لوحظ ظهور الورم السرطاني في النبتة.

1. اعتمادا على نتائج التجربة، هل يمكن القول ان البكتيريا هي سبب مرض جرب السنخ؟ علل إجابتك.

← التجربة الثانية: (A. Braun 1972) .

لقد استطاع هذا الباحث أن يزرع نسيج جرب السنخ لا يحتوي على بكتيريا في وسط معين بدقة، يتكون فقط من السكروز وأملاح معدنية. فلاحظ أن خلايا النسيج تتكاثر بصورة فوضوية عكس الخلايا العادية التي تتكاثر ببطء متطلبة وجود الهرمونات النباتية.

2. اعتمادا على نتائج التجربة استنتج التغير الذي تسببه البكتيريا في الخلايا النباتية واقترح تفسيرا لكيفية حدوث ذلك التغير.

الوثيقة 2



اكتشفت مجموعة من الباحثين وجود نمطين من بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* : **A** و **B** . وهذان النمطان يسببان المرض (يؤديان إلى تكون ورم) . حيث يؤدي النمط **A** إلى تكون ورم تركيب خلاياه النوبالين **Nopaline** بينما يؤدي النمط **B** إلى تكون ورم تركيب خلاياه الأكتوبيين **Octopine** (النوبالين و الأكتوبيين عبارة عن مشتقات من مستقلبات مشتركة تتكون في معظمها من أحماض أمينية وأحماض سيتونية مختلفة أو سكريات) .

3. اعتمادا على نتائج التجربة ومكتسباتك استنتج العلاقة بين تركيب مشتقات الأحماض الأمينية في خلايا الورم النباتي والتغير التي اقترحتها في جوابك السابقة؟

← التجربة الثالثة:

تمكن باحثون من عزل البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens* ، وبعد دراسة مكوناتها وجدوا ADN حلقية تدعى البلاسميد **Ti** . نزرع في درجة حرارة $37^{\circ}C$ أصل ذرية ل *Agrobacterium tumefaciens* من النمط **A** حساسة للحرارة، فحصل على أصل ذرية **A1**. تبين الوثيقة 3 بقية التجربة .

4. اعتمادا على نتائج التجربة، حدد معلا إجابتك العامل المسؤول عن مرض جرب

لتوضيح دور البلاسميد (حلقة صغيرة من ADN تحمل مورثات إضافية) ننجز التجربة التالية:

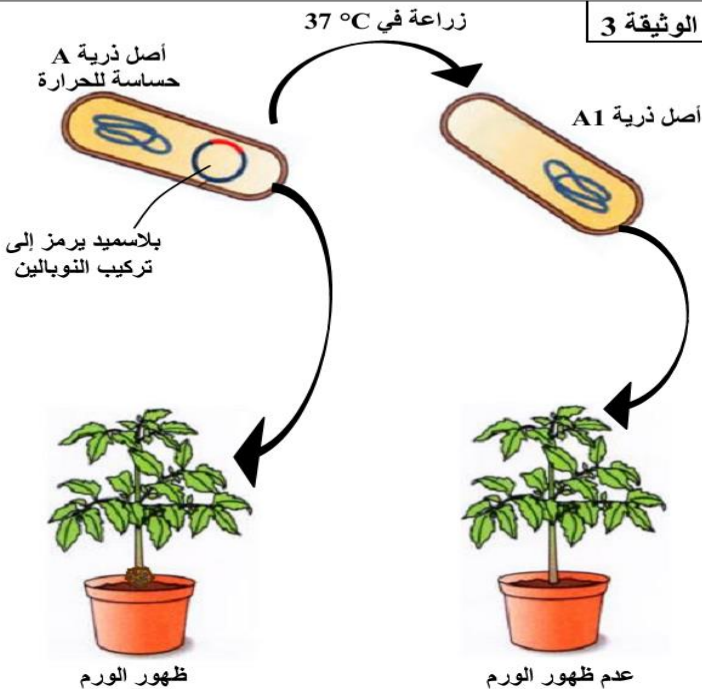
ندخل في نبات سليم بكتيريا **A1** لا تسبب المرض ومقاومة للمضادات الحيوية، وبكتيريا **B** مسببة للمرض وحساسة للمضادات الحيوية فيتكون ورم (أنظر الوثيقة 4.

نسحق الورم ونبسطه فوق وسط زرع يحتوي على مضادات حيوية: نتائج التجربة ممثلة في الجزء الأسفل من الوثيقة 4

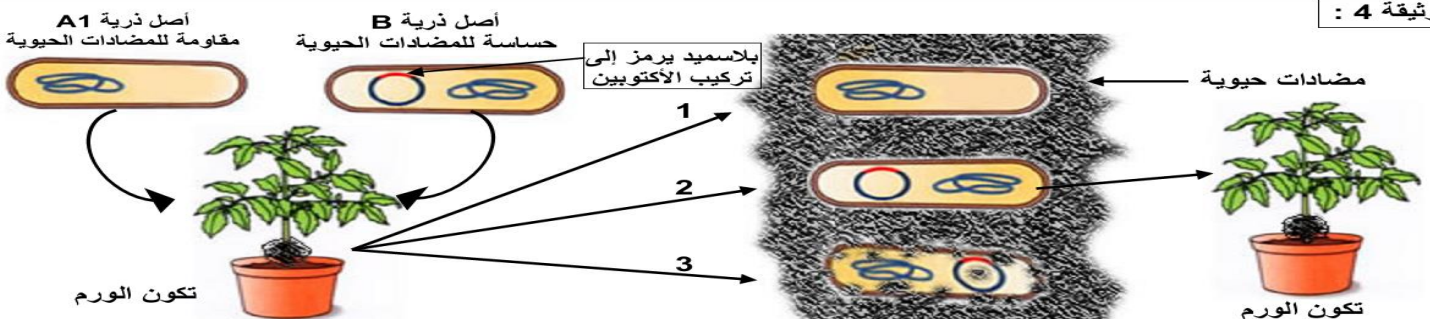
5. كيف تفسر تكون الورم في النبتة في أول عملية زرع (الشكل 1)؟

6. انطلاقا من نتيجة التجربة (الشكل ب) استنتج معلا إجابتك إسم البكتيريا 1

7. تكشف التجربة السابقة عن خاصية يتميز بها البلاسميد. اذكرها.



الوثيقة 4 :



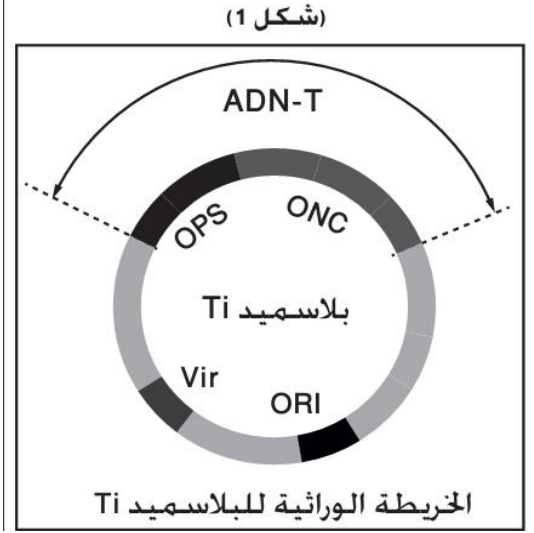
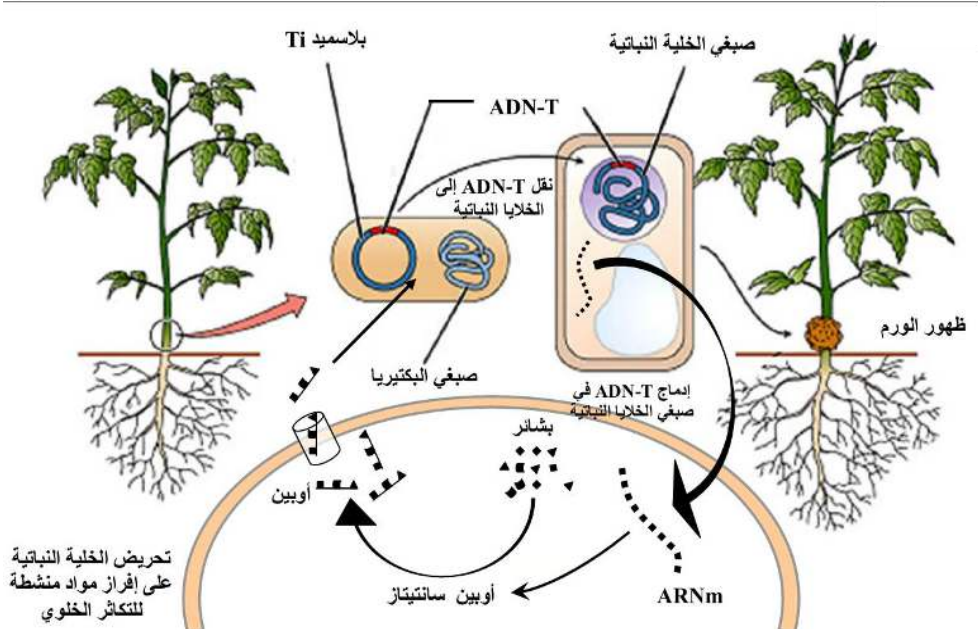
النشاط 1: مفهوم التغير الوراثي (تتمة)

بينت دراسة الخريطة الوراثية للبلازميد Ti (شكل 1) أنه يتكون من :

- جزء من ADN يسمى ADN-T (نسبة إلى Transferred ADN و هو الجزء الذي ينتقل إلى الخلايا النباتية و يندمج في ذخيرتها الوراثية) يشتمل على مورثتين :
- المورثة ONC -من Oncogène- التي تمكن من تركيب الهرمونات المسؤولة عن التكاثف العشوائي و بالتالي تكون السرطان.
- المورثة OPS -من Opine Synthase- التي تمكن من تركيب الأنزيمات الضرورية لتركيب الأوبينات.
- يتوفر البلازميد Ti خارج ADN-T على المورثة VIR -من Virulence- المسؤولة عن نقل ADN-T من البكتيريا إلى الخلية النباتية.

8. انطلاقا من المعطيات أعلاه والشكل 1، بين كيف يسبب دخول البلازميد للخلية النباتية حدوث مرض جرب السنخ

(شكل 2)



9. انطلاقا من كل ما سبق وبالإستعانة بمعطيات الشكل 2 أعلاه، صف كيفية انتقال مورثات البكتيريا Agrobacterium tumefaciens لخليا النبات مسببة مرض جرب السنخ.

النشاط 2: تقنيات الهندسة الوراثية: عزل المورثة المرغوبة

بعدما كشف العلماء عن حدوث الانتقال الطبيعي لمورثات البكتيريا لخليا نباتية، تمكنوا من تسخير نفس المبدأ من أجل نقل مورثات من خلايا لأخرى وذلك باستعمال مجموعة من التقنيات تعرف بالهندسة الوراثية. فماهي أهم التقنيات المعتمدة في الهندسة الوراثية لعزل المورثات المرغوبة؟

يتم عزل المورثة المرغوب فيها انطلاقا من صبغي خلية (بكتيريا، خلية نباتية، خلية حيوانية) وذلك بواسطة أنزيمات. هناك تقنيتان مختلفتان يمكن اعتمادهما:

التقنية الثانية: أنزيم الناسخ العكسي Transcriptase reverse	التقنية الأولى: أنزيمات الفصل Enzymes de restriction
<p>تمكن باحثون من عزل أنزيم عند الحمات Virus قادر على تركيب ADN انطلاقا من جزيئة ARNm و أطلقوا عليه اسم أنزيم الناسخ العكسي. يستعمل هذا الأنزيم في الهندسة الوراثية لتركيب المورثات حسب المراحل التالية:</p>	<p>تستخلص المورثة بواسطة أنزيمات الفصل. و هي عبارة عن بروتينات بكتيرية تتميز بقدرتها على قطع ADN في مواقع محددة بدقة حسب تسلسل معين للقواعد الأزوتية. يحمل كل أنزيم فصل إسم النوع البكتيري الذي استخلص منه متبوع بالرقم الترتيبي لاكتشافه. من بين أنزيمات الفصل الأكثر استعمالا نجد:</p> <p>- EcoR I, BamH I: التي بعد القطع يتحرر طرفان موحدان قابلان للإرتباط بنيكليوتيدات مكتملة</p> <p>- Sma I, Hae III: التي بعد القطع تتحرر أطراف حرة</p>
<p>تطبيق 2: لنعتبر جزء من ARNm المسؤول عن تركيب البروتين المرغوب فيه</p> <p>■ ■ ■ ■ AAG UAU CUG CCG ■ ■ ■ ■</p> <p>2- باعتمادك التقنية أعلاه، مثل مختلف مراحل تركيب المورثة المرغوبة</p>	<p>تطبيق 1: لنعتبر قطعة من ADN حاملة للمورثة المراد عزلها</p> <p>■ ■ ■ ■ GAATTC ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ ■ CTTAAG ■ ■ ■ ■</p> <p>المورثة المطلوبة</p> <p>1- باعتمادك التقنية أعلاه، مثل جزء ADN المعزول محمدا أنزيم الفصل المتدخل</p>

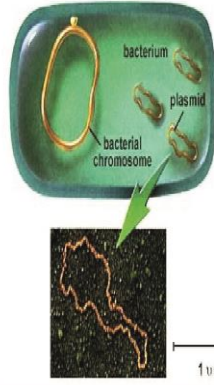
النشاط 3: تقنيات الهندسة الوراثية: دمج المورثة المعزولة في بلاسميد البكتيرية

بعدما كشف العلماء عن حدوث الانتقال الطبيعي لمورثات البكتيريا لخلايا نباتية، تمكنوا من تسخير نفس المبدأ من أجل نقل مورثات من خلايا أخرى وذلك باستعمال مجموعة من التقنيات تعرف بالهندسة الوراثية فبعد عزل المورثة المرغوبة إما باستعمال أنزيمات الفصل او النسخ العكسي يتم نقلها الى خلية عائل (بكتيرية عادة) فمماهي أهم التقنيات المعتمدة في الهندسة الوراثية لنقل المورثات المرغوبة الى البكتيرية؟

الوثيقة 1: أهمية اختيار بكتيرية E. coli كخلية عائل للمورثات

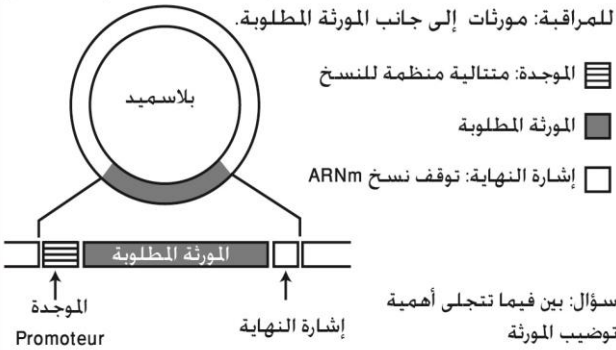
تنقل المورثة المطلوبة إلى خلايا عائل (بكتيريا، خلايا الخميرة، خلايا نباتية أو حيوانية) قصد تعبيرها. تعتمد الأبحاث في الهندسة الوراثية بالخصوص على البكتيريا E. coli كخلية مضيئة للأسباب التالية:

- سهولة زرعها: تتكاثر في أوساط زرع بسيطة ومختلفة
- قدرتها على التكاثر السريع (دورة خلوية = 20min)
- ذخيرتها الوراثية: صبغي واحد بالإضافة إلى جزيئات أخرى من ADN حلقية الشكل وصغيرة القد (1/100) فد الصبغي) تسمى بلاسميدات قادرة على النسخ الجزئي الذاتي ويمكنها أن تنتقل بسهولة من خلية إلى أخرى.



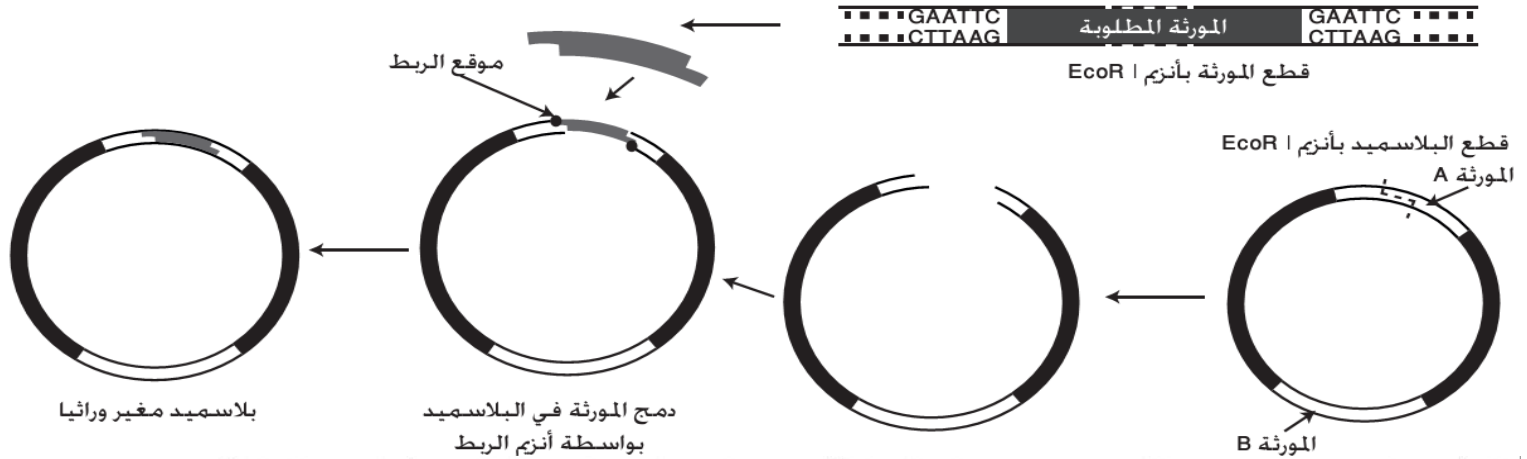
الوثيقة 2: توضيب المورثة المرغوبة

لتحريض المورثة البنيوية المنقولة بواسطة البلاسميد على التعبير داخل البكتيريا العائلة، يجب العمل على توضيبها وذلك بإضافة نظام للمراقبة: مورثات إلى جانب المورثة المطلوبة.



الوثيقة 3: دمج المورثة المرغوبة في بلاسميد البكتيرية

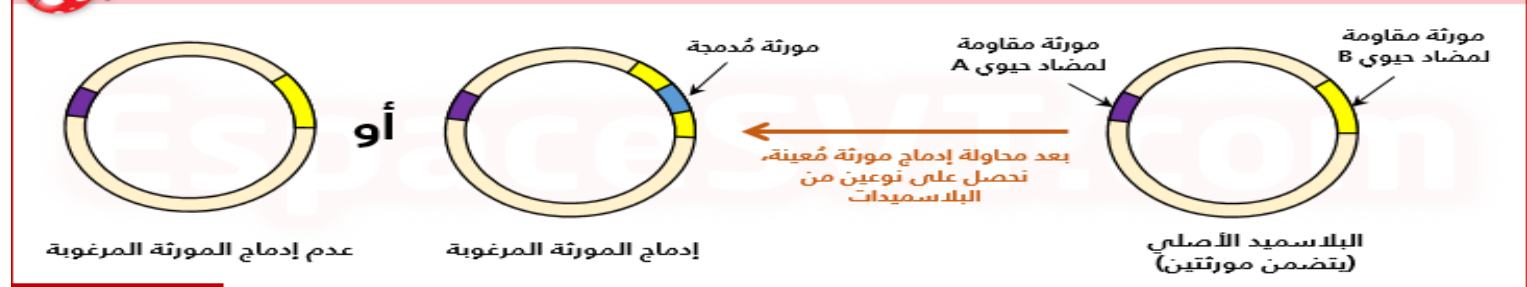
مرحلة دمج البلاسميد البكتيري بالمورثة المعزولة وذلك بتدخل أنزيم الربط: Ligase. الذي يستخلص غالبا من البكتيريا والعائيات .



المورثة A: على مستواها يتم دمج البلاسميد وتضم مواقع القطع لأنزيمات فصل مختلفة، و تكون غالبا إما مورثة لمقاومة المضاد الحيوي Tetracycline (Tet^R) أو مورثة LacZ مسؤولة عن تركيب أنزيم βGalactosidase الذي يحلل سكر اللاكتوز إلى كليكوز و كلاكوز. المورثة B: مورثة تمكن البكتيريا من مقاومة مضاد حيوي معين، مثال: Ampéciline. - Tetracycline: مضاد حيوي يوقف ترجمة ARNm. - Ampéciline: مضاد حيوي يمنع تكون جدار البكتيريا.

الوثيقة 4: محاولة دمج المورثة المرغوبة على مستوى البلاسميد، نحصل تجريبيا على نوعين من البلاسميدات: بلاسميدات أدمجت المورثة المرغوبة، و بلاسميدات لم تدمج المورثة بفعل ارتباط الأطراف الموحدة قبل إدماجها. تمثل الوثيقة أسفله، رسما تخطيطيا للالتين:

أنواع البلاسميدات المَحصلَة بعد محاولة إدماج مورثة مُعينة



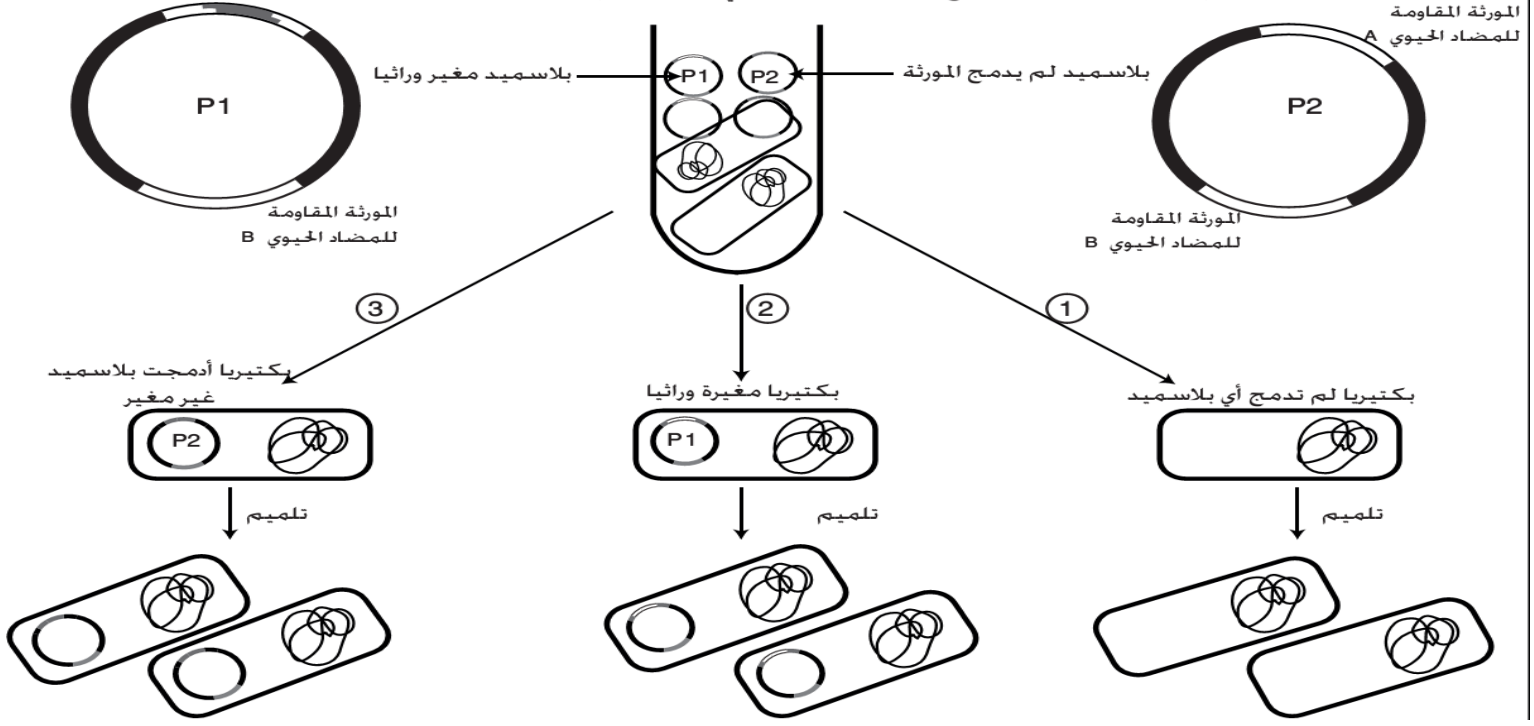
التعليمات

1. انطلاقا معطيات الوثيقتين 1 و 2، بين أهمية البكتيرية كعائل للمورثات المرغوبة ودور توضيب تلك المورثة عند دمجها في البلاسميد.
2. من خلال معطيات الوثيقة 3، لخص بشكل واضح مراحل دمج المورثة المرغوبة في بلاسميد البكتيرية.
3. باستغلالك لمعطيات الوثيقة 4، اقترح أهمية المورثتين A و B المسؤولين عن مقاومة المضادات الحيوية في الكشف عن إدماج أو عدم إدماج المورثة المرغوبة.

النشاط 4: تقنيات الهندسة الوراثية: تلميم المورثة و رصد البكتيريا المغيرة وراثيا

الوثيقة 1

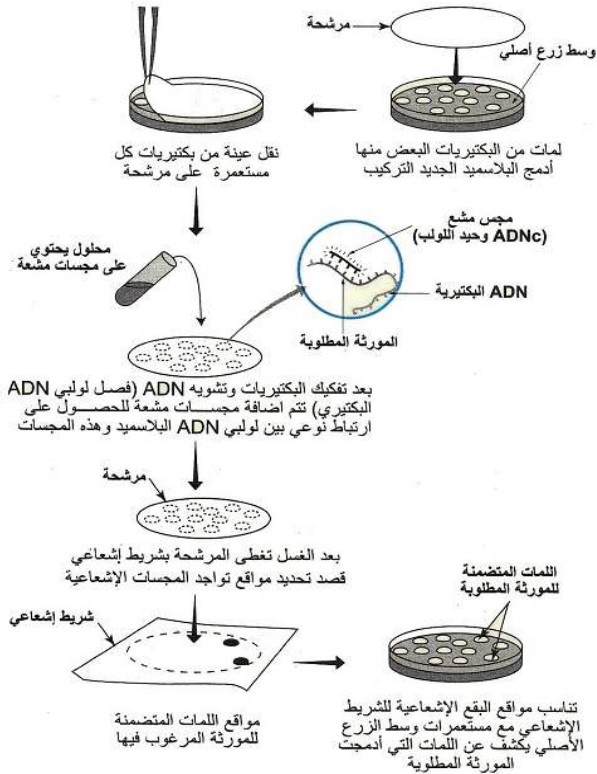
بعد دمج المورثة داخل الناقل تعمل على إدماج هذا الناقل (بلاسميد) المغير وراثيا داخل الخلية العائلة (حساسة للمضادين حيويين A و B) ثم العمل على تلميم المورثة و ذلك عن طريق زرع الخلايا المغيرة وراثيا في وسط ملائم فنحصل على الحالات التالية:



الوثيقة 2: تقنيات رصد البكتيريا المعدلة وراثية (الحاملة للمورثة المرغوبة)

التقنية الثانية: مجسات مشعة

يمكن رصد اللمتات المغيرة وراثيا باستعمال مجسات مشعة (و هي عبارة عن متتاليات نكليوتيدية من ADN أو ARNm مشعة و مكتملة لمتتاليات نكليوتيدات المورثة) و تحديد موضعها بواسطة التصوير الإشعاعي الذاتي. و تتم طريقة الرصد هاته حسب المراحل التالية:

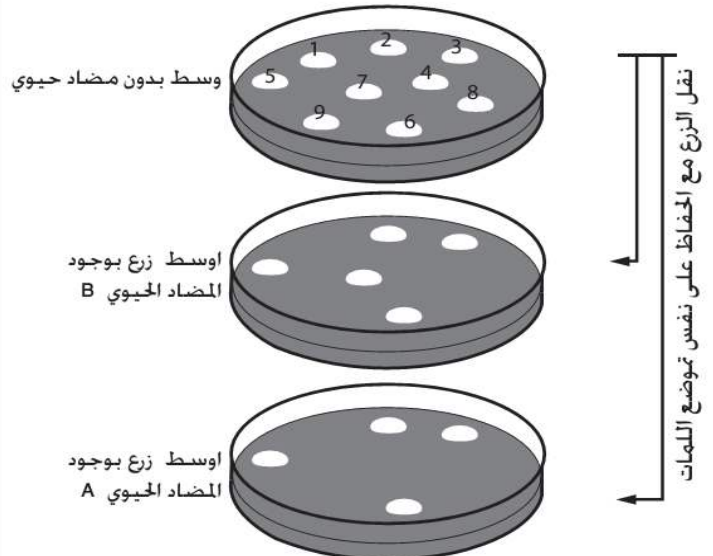


التقنية الأولى: استعمال مضادات حيوية

لرصد البكتيريا المغيرة وراثيا. يمكن الإعتماد على خاصية المقاومة لمضاد حيوي. و ذلك بإضافة مضادات حيوية إلى وسط الزرع.

تطبيق:

لرصد البكتيريا المغيرة وراثيا في المثال السابق نزرع البكتيريا في ثلاث أوساط زرع مختلفة:



التعليمات

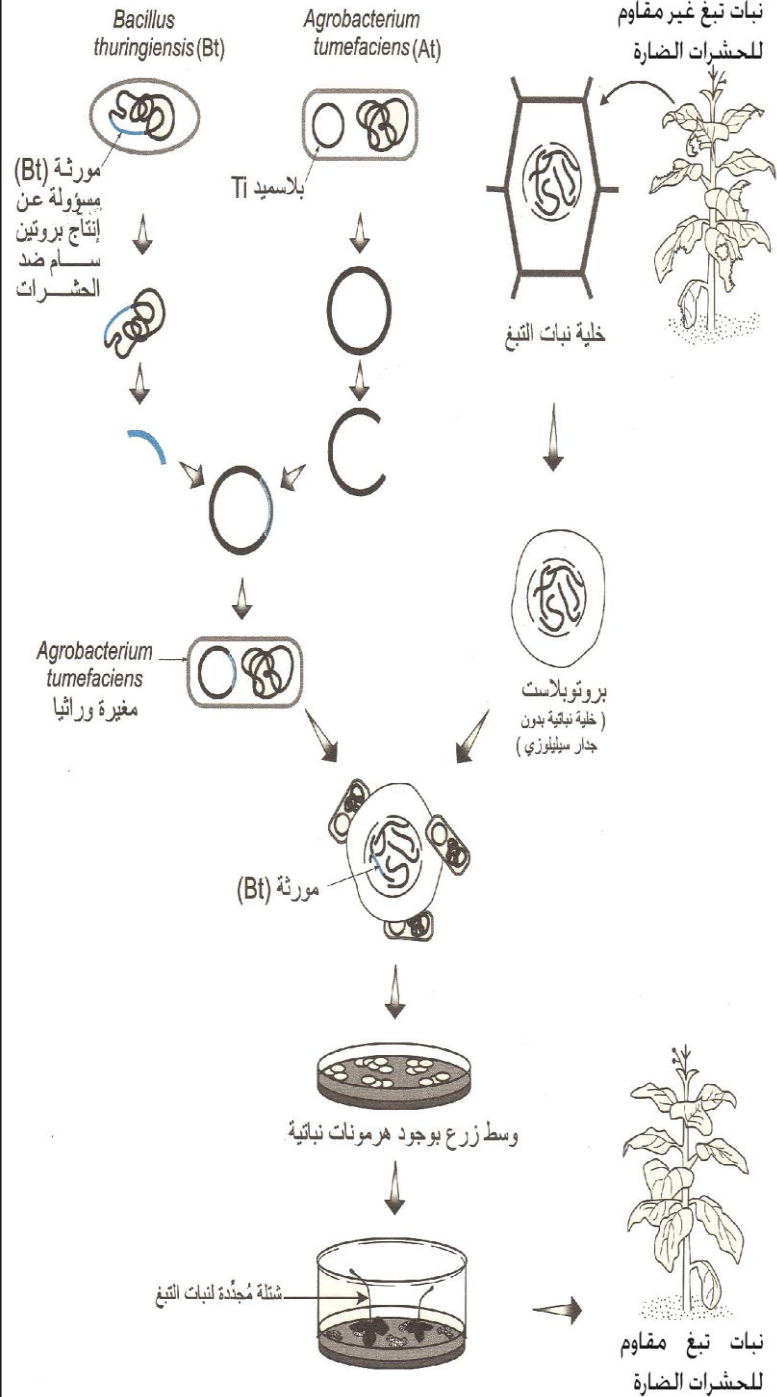
1. من خلال تحليل معطيات الوثيقة 1، وإجابتك عن السؤال الثالث من النشاط السابق، اقترح تجربة تكشف من خلالها عن البكتيريا المعدلة وراثية.
2. فسر النتائج المحصل عليها في تجربة استعمال المضادات الحيوية وحدد معلا إجابتك اللمتات البكتيرية الحاملة للمورثة المرغوبة.
3. لخص بشكل واضح تقنية استعمال المجسات المشعة للكشف عن البكتيريا الحاملة للمورثة المرغوبة.

النشاط 5: بعض تطبيقات الهندسة الوراثية

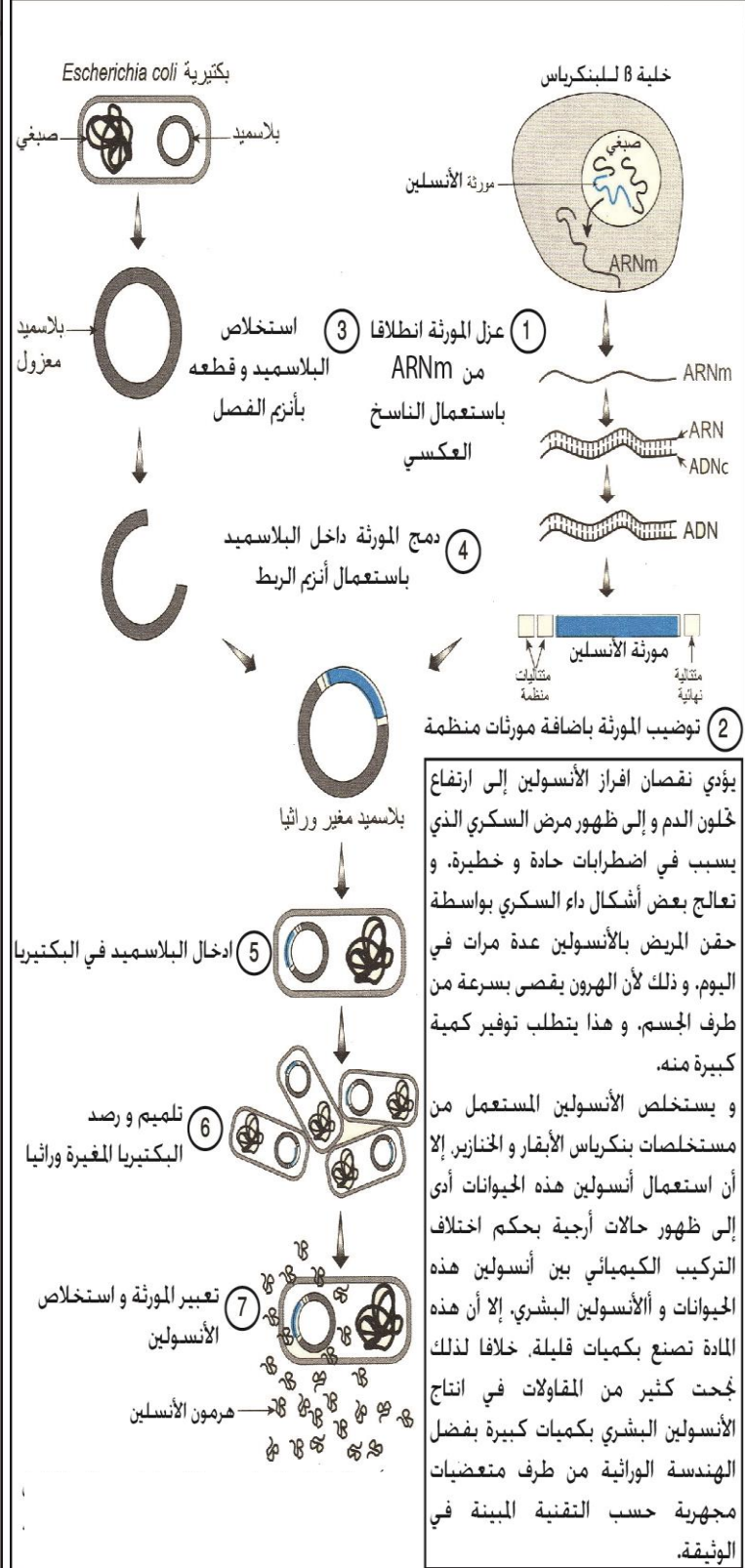
بعد ان تمكن العلماء من ضبط كثير من تقنيات الهندسة الوراثية، بدئوا في توظيفها في عدة مجالات خصوصا في المجالين الطبي والزراعي ومن اهم تلك التطبيقات الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين البشري والبروتينات السامة ضد الحشرات الضارة كما توضح الوثيقتين التاليتين:

الوثيقة 2: الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة ضد الحشرات الضارة

تتعرض كثير من المزروعات من طرف الحشرات وخاصة أسروعات الفراشات و بلجأ الباحثون الزراعيون إلى بكتيرية *Bacillus thuringiensis* التي تنتج بروتينا ساما Pt يقضي على الحشرات الضارة وخاصة الأسروعات حيث ترش هذه البكتيريات على الحفول المزروعة، و لقد تم تسخير الهندسة الوراثية لتحريض النباتات الغيرة وراثيا على انتاج بروتينات سامة حيث تم الحصول على نبات تبغ مقاوم للأسروعات.



الوثيقة 1: الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين البشري



التعليمات

1. باستغلالك لمعطيات الوثيقة 1 ومكتسباتك، بين أهمية الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين البشري وصف مراحل إنتاجه.
2. باستغلالك لمعطيات الوثيقة 2 ومكتسباتك، بين أهمية الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة ضد الحشرات الضارة وصف مراحل إنتاجها.