المدرسة العليا للأساتذة آسيا جبار قسنطينة
قسم العلوم الطبيعية

الدكتور بوحوحو مولود

فصل 9:
وراثة البكتيريا واللاقمات

I- وراثة البكتيريا

1- التزاوج البكتيري -

1-1- العامل F والانتقال $F^+ \rightarrow F^-$

1-2- تكون الخلايا Hfr و الانتقال $Hfr \rightarrow F^-$

1-3- رسم الخرائط الوراثية بواسطة التزاوج المتقطع

II وراثة اللاقمات-

1-1- الدورات التحليلية (مثالها دورة حياة الفاج T4)

1-2- الدورات الليزوجينية (مثالها دورة حياة الفاج λ)

2- الاستنقال أو النقل الفاجي

2-1- الاستنقال المتخصص

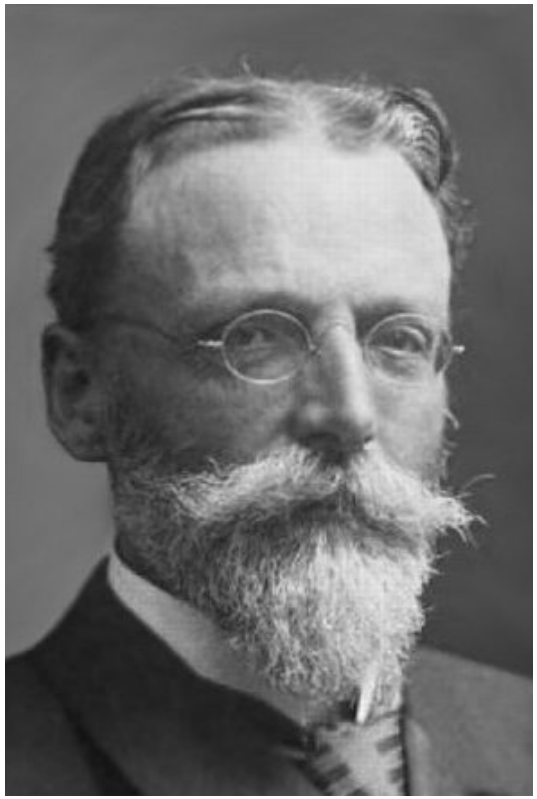
2-2- الاستنقال العام

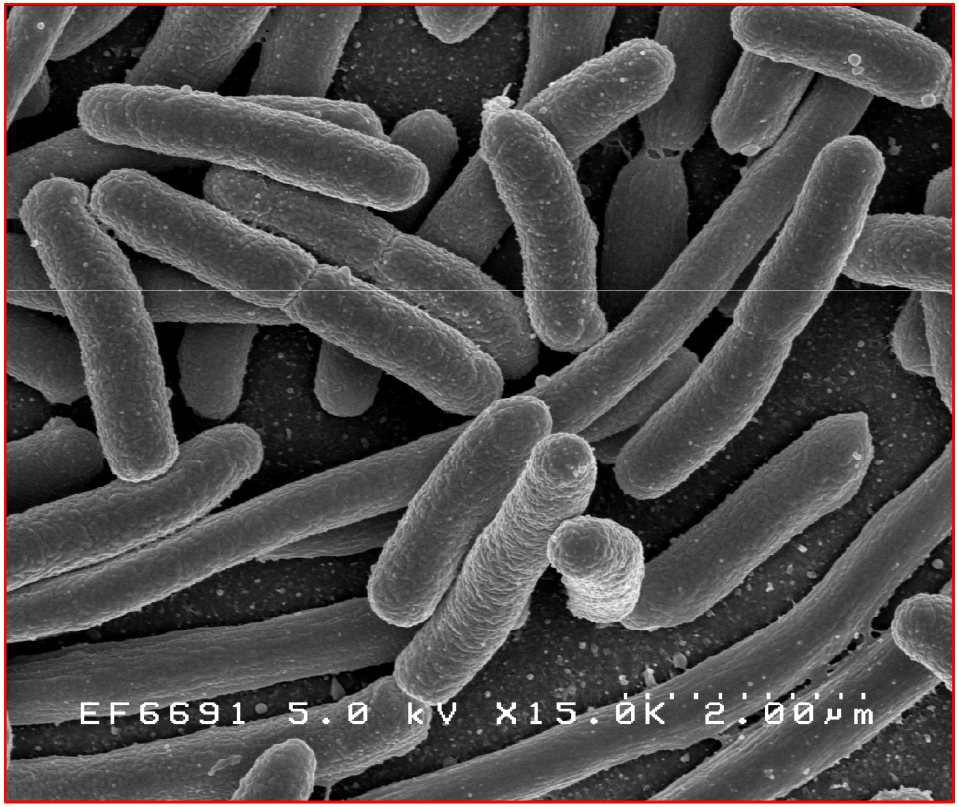
I-Genetics of Bacteria

I- وراثة البكتيريا

Escherichia coli, colibacille ou *E. coli*

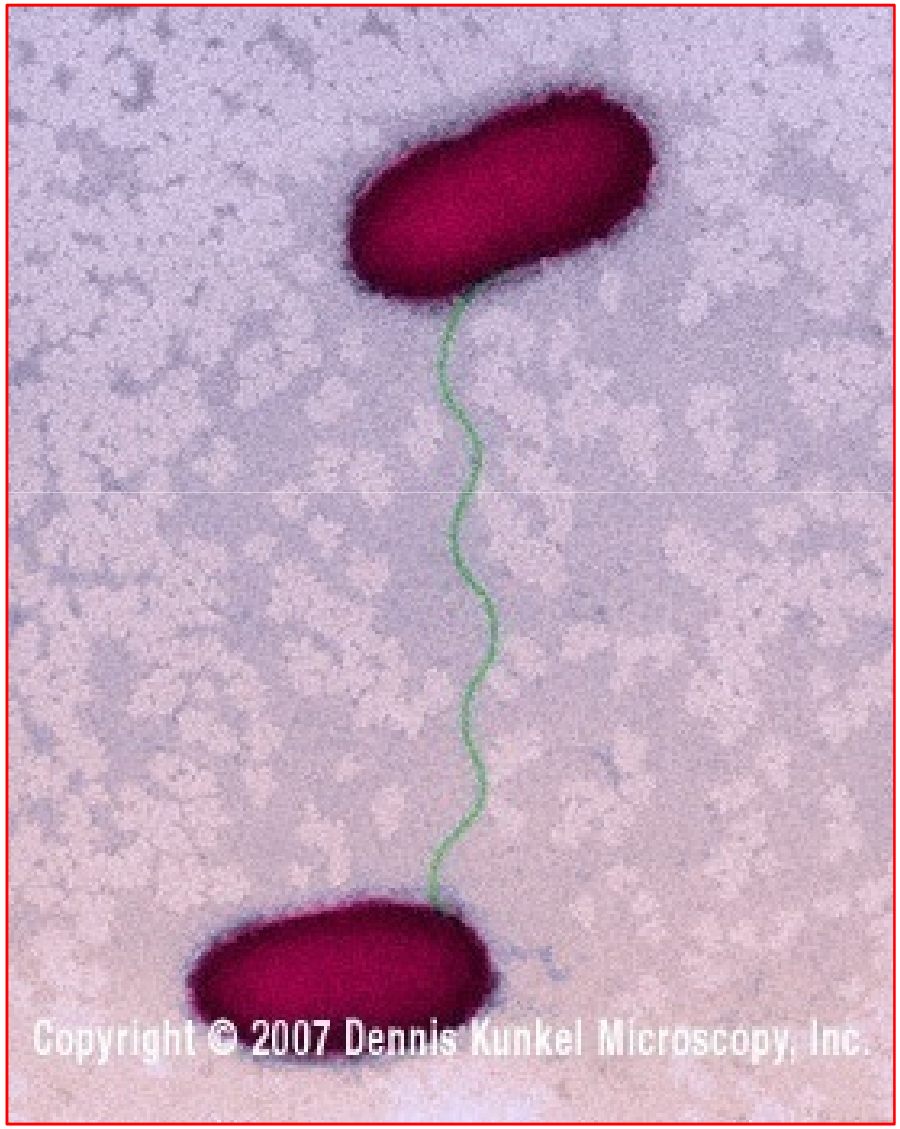
اكتشفها Theodor Escherich عام 1885





Theodor Escherich (1857 - 1911)
طبيب أطفال، بكتريولوجي ألماني-نمساوي

1- التزاوج البكتيري (Conjugaison bactérienne) :



- البلازميد أو عامل الجنس F يلعب دورا رئيسيا في خاصية الجنس لدى البكتيريا (+ و -، مذكرة و مؤنثة، مانحة و مستقبلة)
- يشكل 2 % من DNA البكتيريا.
- خلايا *E. coli* التي تحتوي العامل F تعرف بـ F^+ و هي ناذرة بين العشائر الطبيعية.
- خلايا *E. coli* التي تفتقر للعامل F تعرف بـ F^-

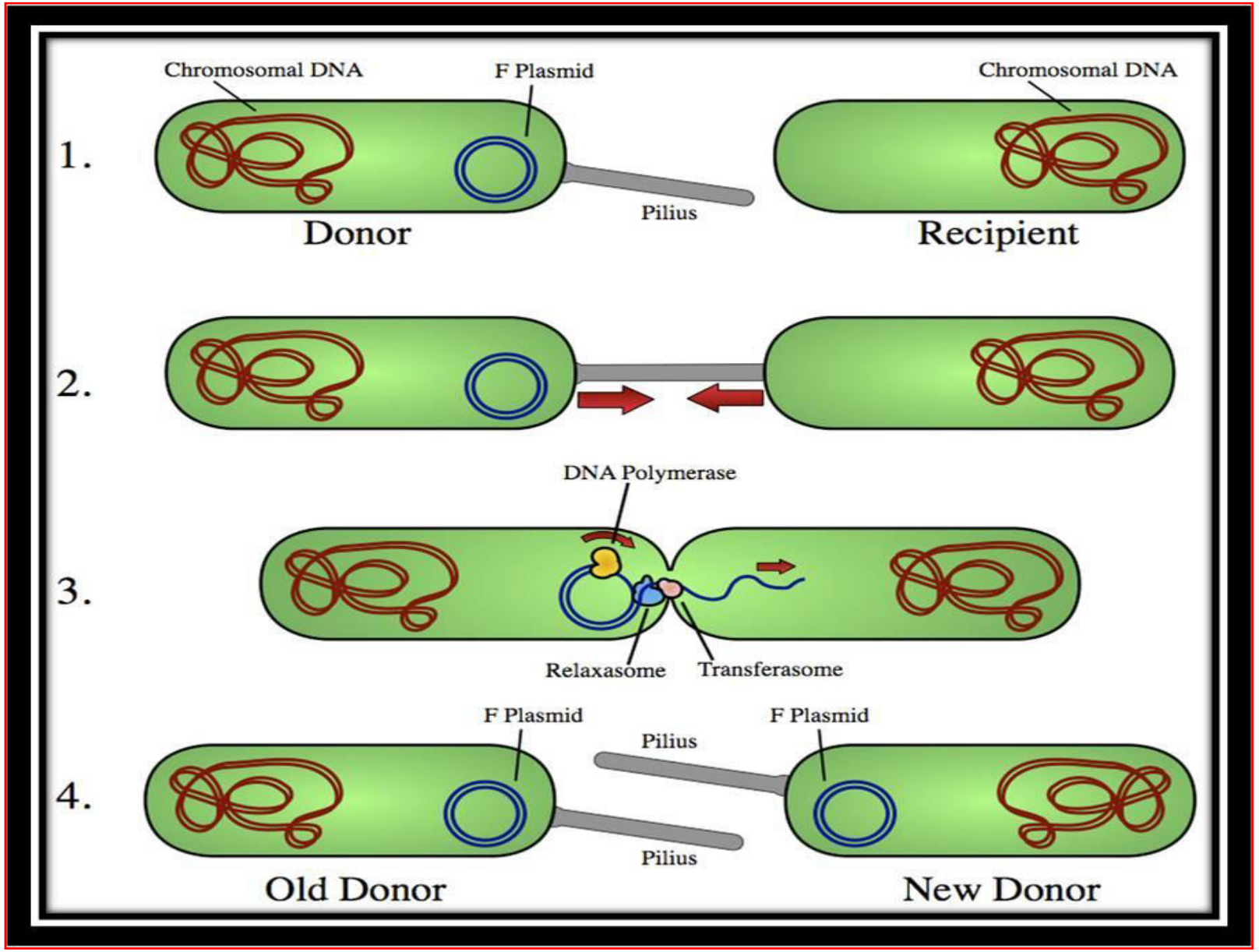
Joshua LEDERBERG (USA, 1925-2008)
who, with his wife Esther, discovered the process of bacterial recombination.
He was awarded the 1958 Nobel Prize in Medicine
for this and other discoveries.

Edward Lawrie TATUM
(1909-1975)
وراثي أمريكي تقاسم جائزة نوبل في الطب و الفسيولوجيا لعام 1958 مع كل من:
- Joschoa Lederberg
- George Wells Beadle

1-1- العامل F (facteur F) والانتقال $F^+ \rightarrow F^-$

(J. Lederberg & E. L. Tatum, 1959)

- في مخلوط من خلايا F^+ و F^-
- تتصل الخلية F^+ بالخلية F^- بواسطة وحدات (Pilis).
- يتشكل بعدها أنبوب التزاوج (Pont Cytoplasmique)
(ممر بروتوبلازمي للمادة الوراثية)
- كل خلية F^+ (واهبة Donatrice) ستمرر نسخة من العامل F
إلى الخلية F^- (المستقبلة Réceptrice).
- تنتقل نسخة العامل F عن طريق آلية الحلقة المتدحرجة
(Cercle roulant : Sigma)
- ينسخ الخيط المفرد الداخل للخلية المستقبلة في الاتجاه 5' ← 3'
- الخيط الثاني يبقى داخل الخلية الواهبة ليتم تناسخ ذاته.


1.
Chromosomal DNA
F Plasmid
Chromosomal DNA
Pilius
Donor
Recipient
2.
3.
DNA Polymerase
Relaxasome
Transferasome
4.
F Plasmid
Pilius
F Plasmid
Pilius
Old Donor
New Donor

2-1- تكون الخلايا Hfr و الانتقال $F^- \rightarrow$ Hfr:

- يلتحم أحيانا العامل F بالكروموسوم البكتيري، وتسمى حينها الخلية البكتيرية بـHfr

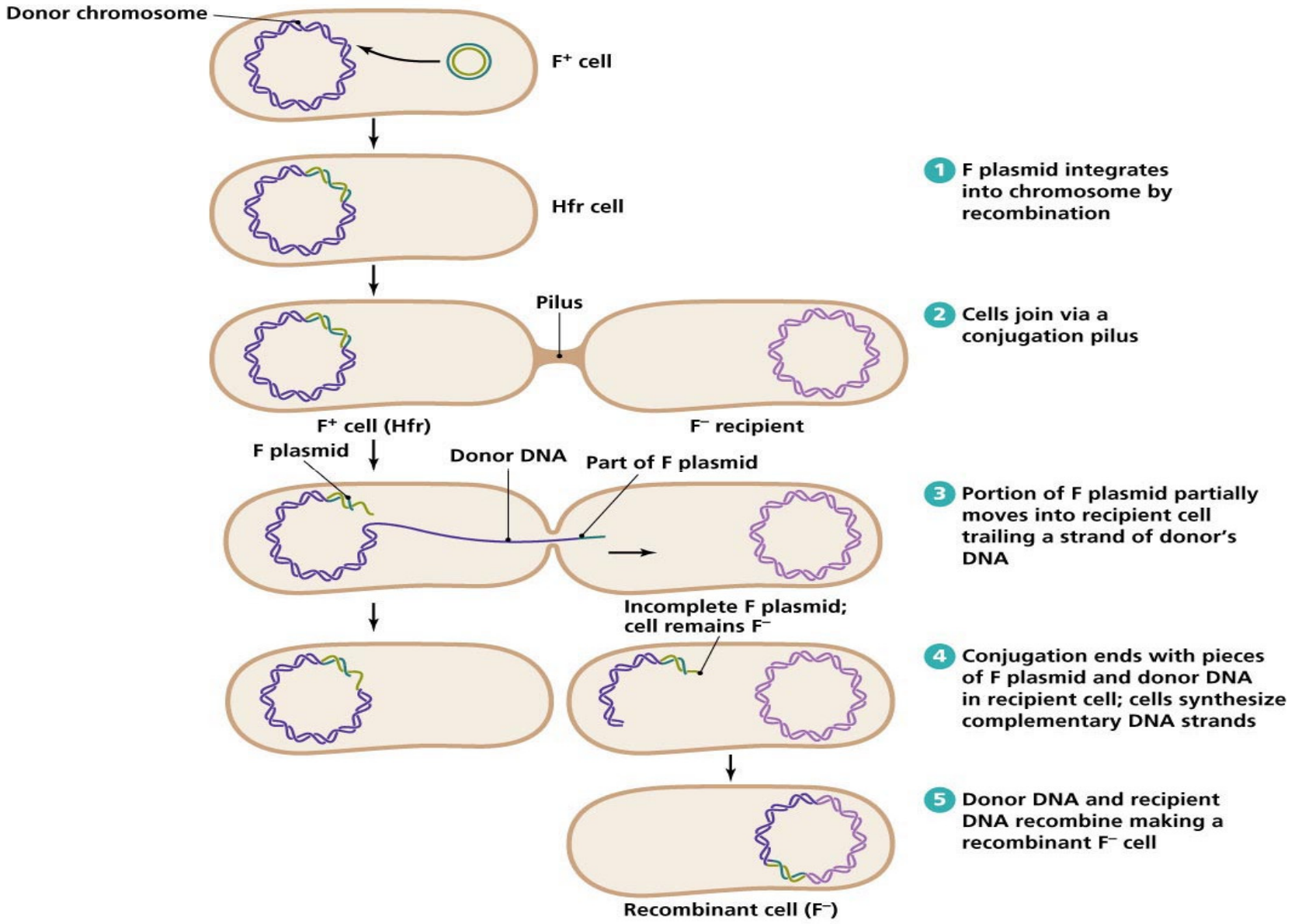
(High Frequency of Recombination)

(Haute Fréquence de Recombinaison)

(ذات التكرار العالي للاتحادات الجديدة)

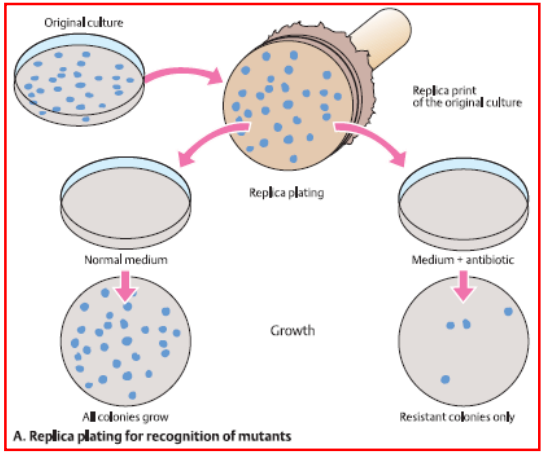
- عند التزاوج ينكسر خيط واحد من DNA الخلية الواهبة عند موضع وسطي ما من العامل F.
- ينتقل الخيط المفرد نحو F^- عبر أنبوب التزاوج بآلية سيجما .
- ينسخ الخيط الداخل للخلية المستقبلة في الاتجاه 5' ← 3'
- غالبا ما ترث الخلية F^- نسخة غير مكتملة من العامل F.
- تندمج بعض قطع DNA الخلية الواهبة مع كروموسوم الخلية المستقبلة. ثم تتحلل جميع شظايا الـ DNA غير المندمجة.

-عادة ما تكون الخلايا الناتجة عن التزاوج ذات اتحادات وراثية جديدة لاختلاف واسمات كروموسومي الخلية الواهبة و المستقبلة.



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

3-1- رسم الخرائط الوراثية بواسطة التزاوج المتقطع:



A. Replica plating for recognition of mutants

نموذج مصغر لتجربة (Elie WOLLMAN & François JACOB, 1957)

- يسمح للخلايا التالية : $Gal^+, Trp^+, Leu^+, Str^s$: Hfr

و $Gal^-, Trp^-, Leu^-, Str^r$: F^-

بالتزاوج في بيئة كاملة (MC) : (Glu +Leu + Trp + MM)

- ثم نجهز ثلاث بيئات انتخابية (MS):

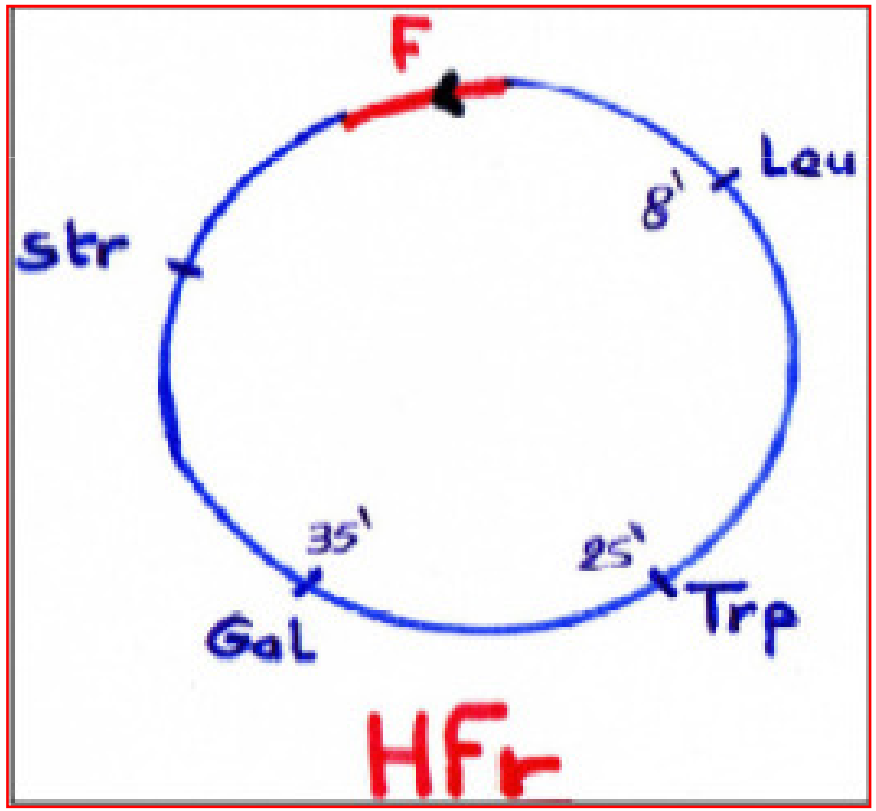
البيئة I:
Str + Trp + MM

البيئة II:
Str + Leu + MM

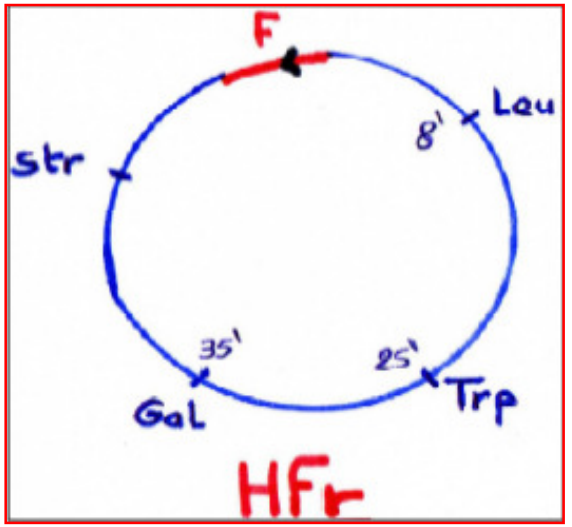
البيئة III:
Gal + Str + Leu + Trp + MM

البيئة I	البيئة II	البيئة III
-السلالة Hfr لا تنمو على البيئة I لأنها حساسة للستربتوماسين -السلالة F^- الأبوية لا تنمو على البيئة I لأنها محتاجة إلى Leu - بينما تنمو السلالات الجديدة من F^- و التي استلمت الجين Leu^+	-السلالة Hfr لا تنمو على البيئة II لأنها حساسة للستربتوماسين -السلالة F^- الأبوية لا تنمو على البيئة II لأنها محتاجة إلى Trp - بينما تنمو السلالات الجديدة من F^- والتي استلمت المورثة Trp^+	- السلالة Hfr لا تنمو على البيئة III لأنها حساسة للستربتوماسين -السلالة F^- الأبوية لا تنمو على البيئة III لأنها لا تستطيع تخمير الـ Gal - بينما تنمو السلالات الجديدة من F^- والتي استلمت المورثة Gal^+

- تتصل السلالتان ببعضهما في بيئة كاملة،
- بعدها وعند فترات زمنية محددة نأخذ عينات ونرجها حتى تنفصل الخلايا المتزاوجة،
- وبذلك نحصل على عينات سمح لها بالتزاوج لفترات زمنية هي 5، 10، 15، 20...دقيقة،
- ثم توزع على الثلاث بيئات انتخابية لمعرفة تركيبها الوراثي،
- والنتيجة هي الخريطة الكروموسومة التالية:



فصل 9: وراثة البكتيريا واللاقمات



أخذ عينة
بعد 5 دقائق من التزاوج

رج العينة لغرض ايقاف التزاوج

بيئة التزاوج الكاملة (MC)

الزرع في بيئات انتخابية

البيئة 1 | البيئة 2 | البيئة 3

استنتاج الخريطة الوراثية للسلالة البكتيرية الناتجة

مثـــــــال

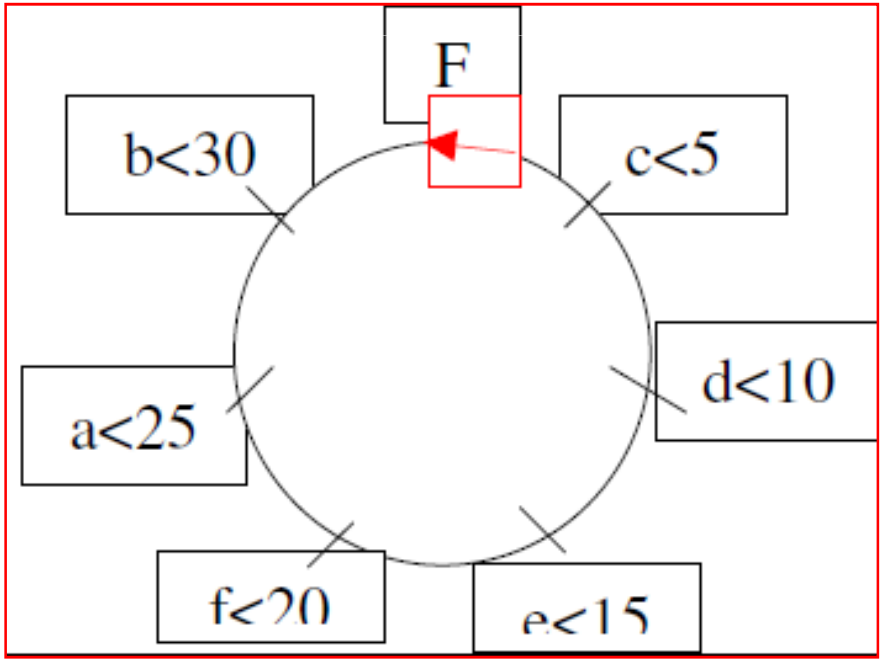
ـ تتحد سلالة Hfr تركيبها الوراثي البري هو: $a^+, b^+, c^+, d^+, e^+, f^+$

مع سلالة F^- ذات الطراز المتنحي: a, b, c, d, e, f.

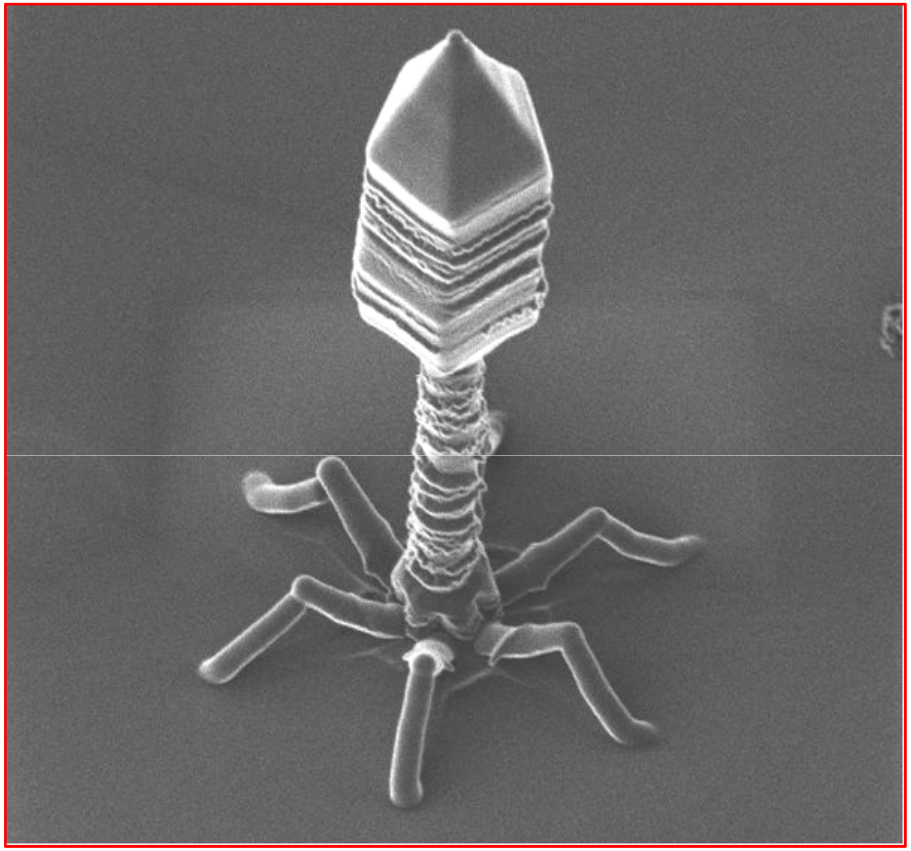
ـ أوقف التزاوج بينهما على مراحل من 5 دقائق، ثم نقلت إلى بيئات غذائية انتخابية للاتحادات الجديدة. وكانت نتائج الاتحادات الجديدة موضحة في الجدول أدناه:

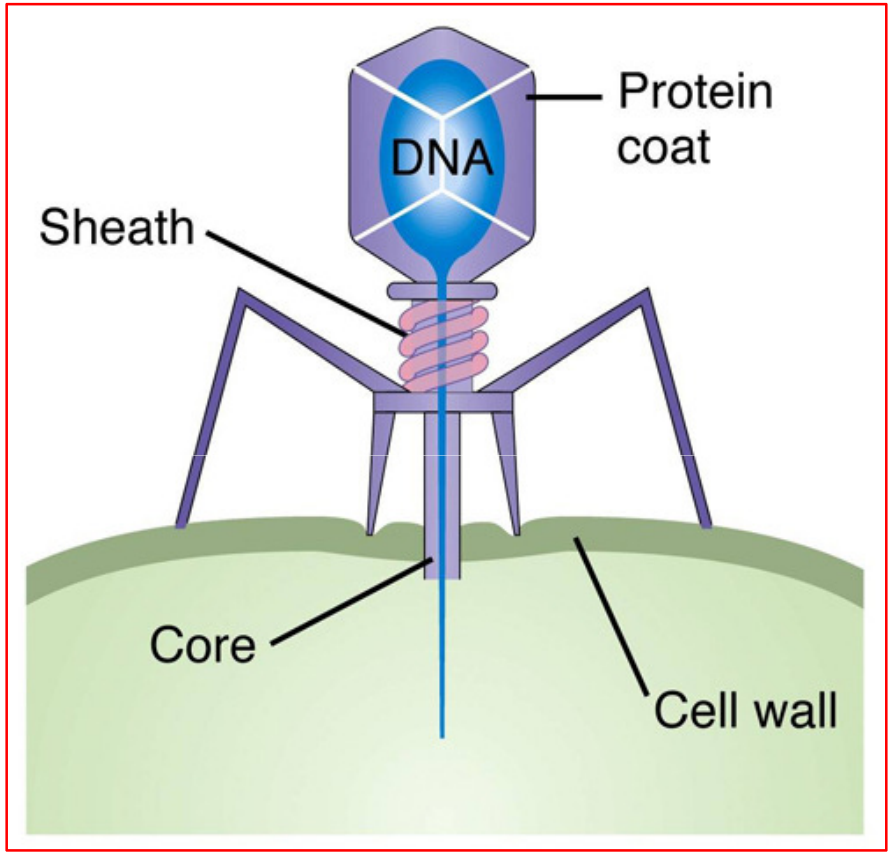
الزمن (د) Temps (min)	الاتحادات الجديدة Recombinants
5'	a, b, c^+, d, e, f
10'	a, b, c^+, d^+, e, f
15'	a, b, c^+, d^+, e^+, f
20'	a, b, c^+, d^+, e^+, f^+
25'	a^+, b, c^+, d^+, e^+, f^+
30'	a^+, b^+, c^+, d^+, e^+, f^+

ـ ارسم الخريطة الوراثية.



II- Genetics of Bacteriophages II - وراثة اللاقمات (العاثيات)



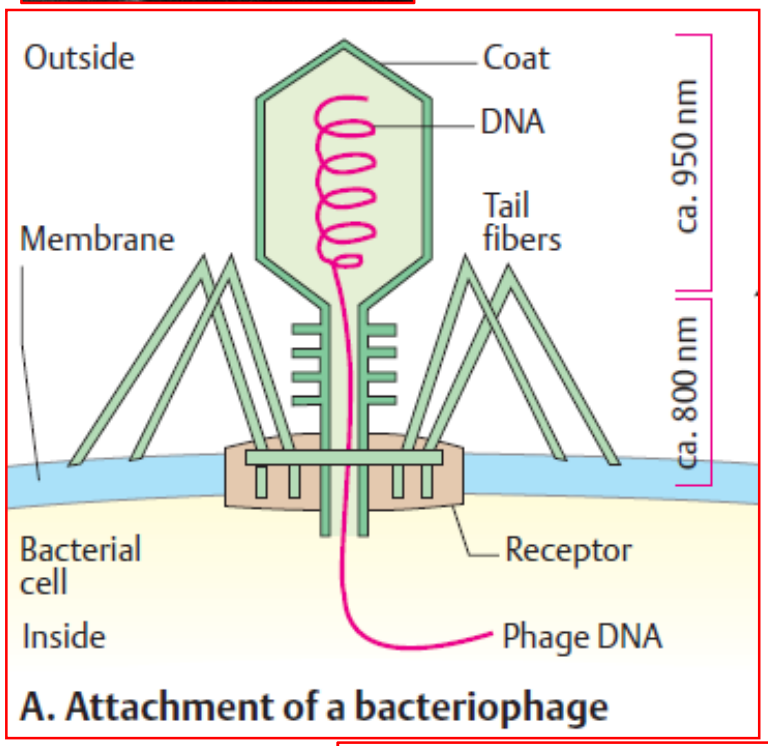


Bacteriophage T4 اللاقم البكتيري

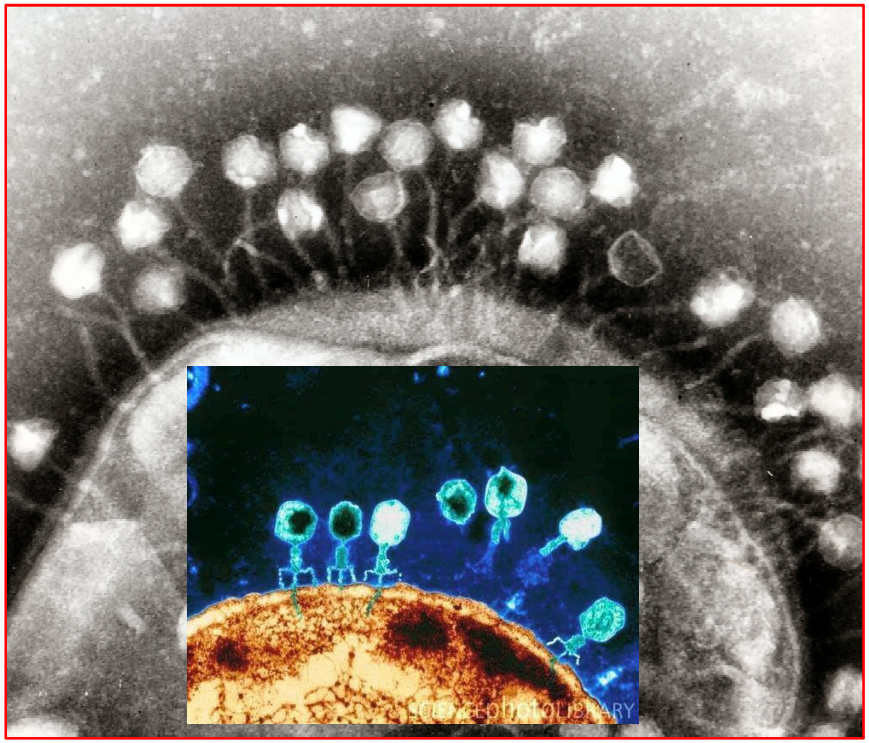
فصل 9: وراثة البكتيريا واللاقمات

- اكتشفت لاقمات البكتيريا (العاثيات) لأول مرة عام 1915 من طرف عالم البكتيريا البريطاني Frederick W. TWORT (1877 – 1950).
- لم تنشر صورها إلا بعد 1940
- و يقدر العلماء مقدار 10^{31} جزيء باكتريوفاج على الكرة الأرضية، وحوالي 10 جزيئات لكل خلية بكتيرية.

(عدد جانفي 2016 من النسخة العربية من مجلة Nature).



A. Attachment of a bacteriophage



Bacteriophages (coliphage T1) attached to a bacterial cell

II-1-1- الدورات التحليلية (Cycles lytiques):

(مثالها دورة حياة الفاج T4)(Virulent)

- ارتباط الـ Virion على مستقبلات غشائية خاصة (RMS) بالخلية العائل cellule hôte (*E. coli*).
- يحقن الـ T4 الـ DNA الخاص به فقط داخل الخلية العائل.
- ينسخ الـ DNA بالخلية العائل إلى RNAm
- يترجم الـ RNAm إلى بروتينات انزيمية، تنظيمية و تركيبية.

- وانزيمات الفاج تضمن مثلا:

1- إنتاج عدد وافر من الجينومات الفاجية الكاملة عن طريق التكرار.

2- وأحيانا هدم DNA الخلية العائل (*E. coli*).

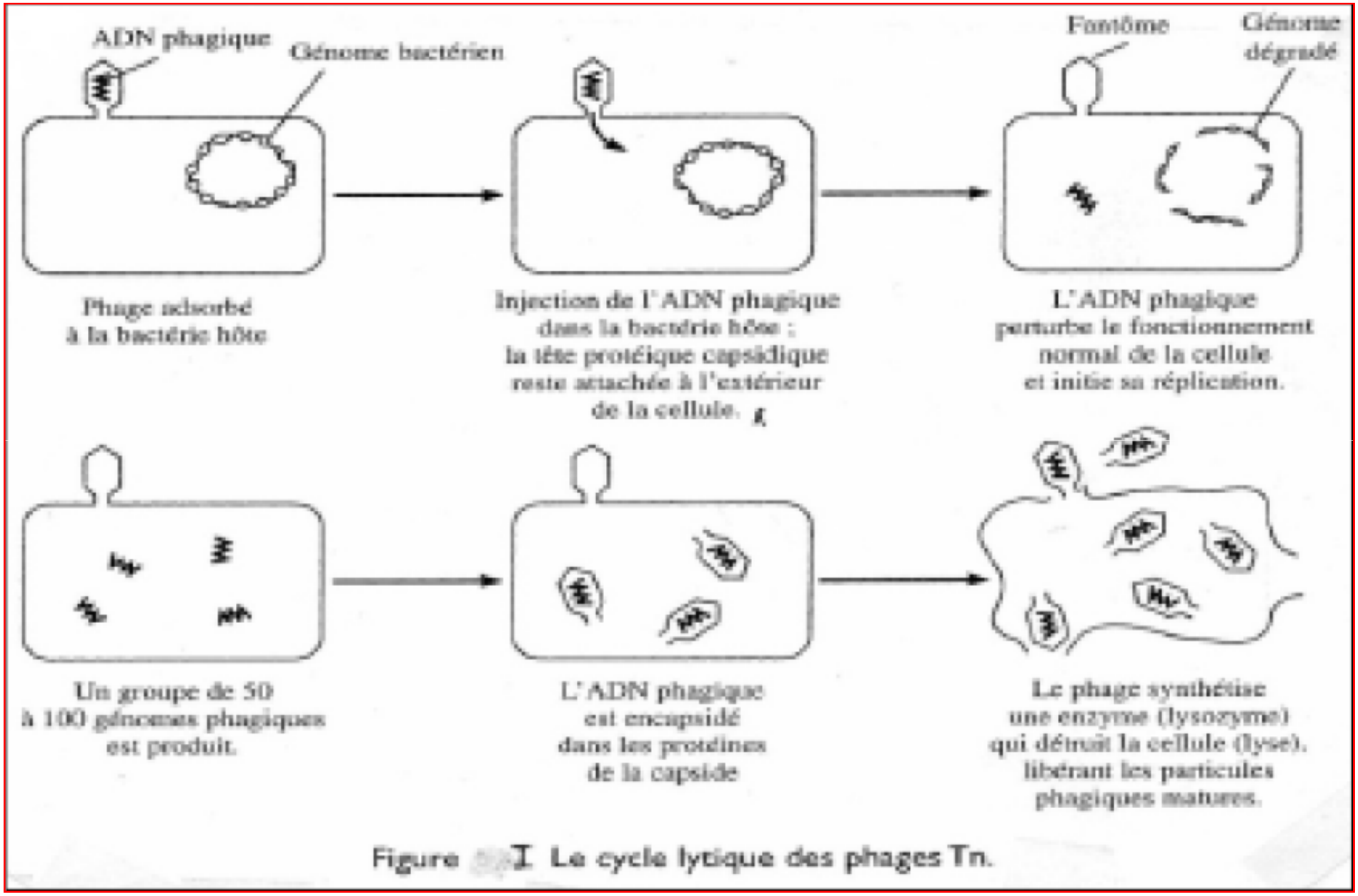


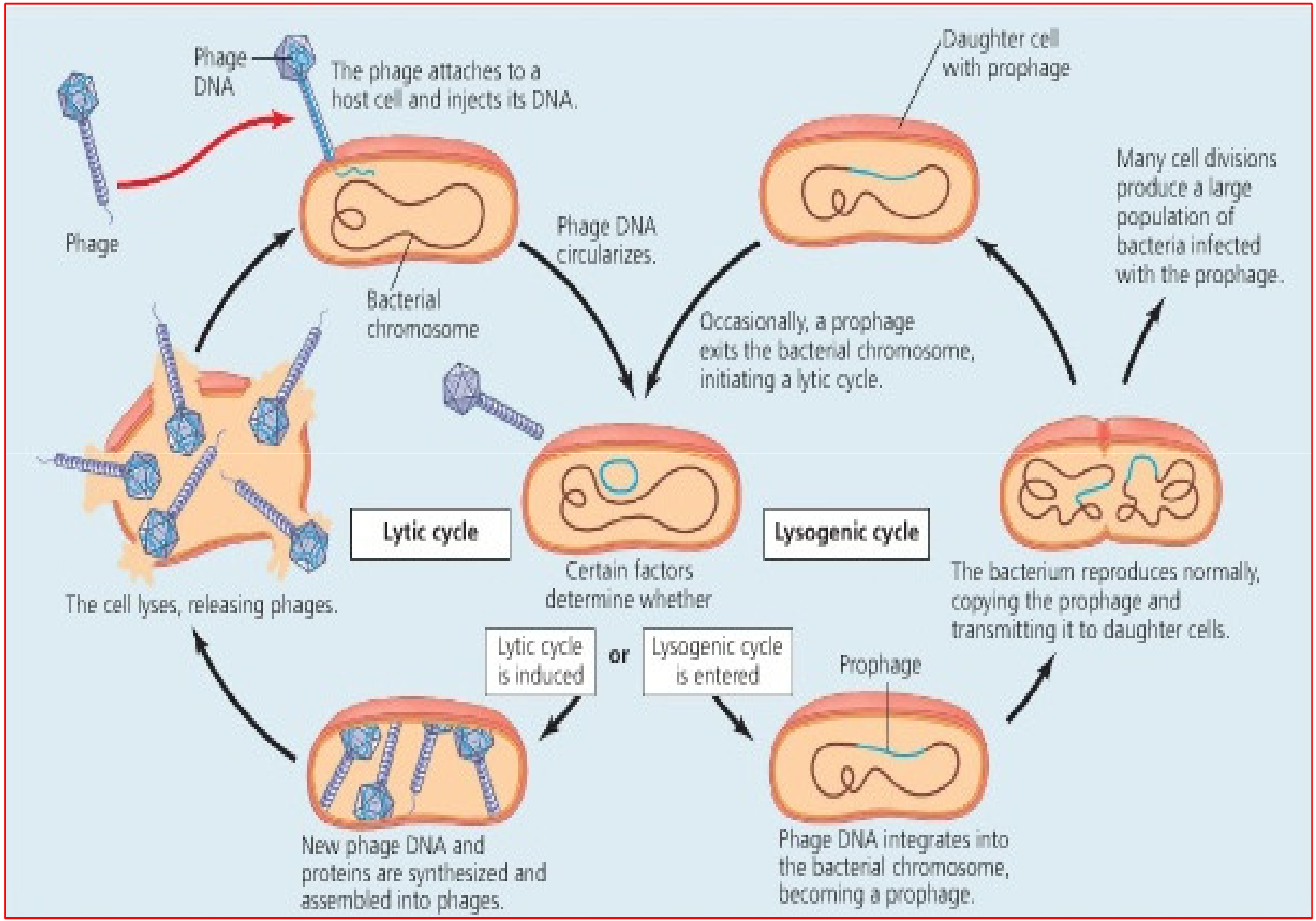
Figure I Le cycle lytique des phages Tn.

II-1-2- الدورات الليزوجينية (Cycles lysogéniques):

(مثالها دورة حياة الفاج λ)(Tempéré, Non Virulent)

- يحقن λ الـ DNA الخطي الخاص به داخل الخلية العائل، ثم يتخذ الشكل الدائري بارتباط طرفيه.
- يندمج الـ DNA الحلقي بالكروموسوم البكتيري بمواقع متخصصة، معطيا الـProphage
- يتضاعف البروفاج بتضاعف كروموسوم الخلية العائل.
- أحيانا ينفصل البروفاج عن الكروموسوم البكتيري، ليدخل في الدورة التحليلية.

فصل 9: وراثة البكتيريا واللاقمات



II -2- الاستنقال أو النقل الفاجي (Transduction):

تعريف: الإستنقال هو عملية نقلDNA بكتيريا واهبة نحو بكتيريا مستقبلة بواسطة فيروس.

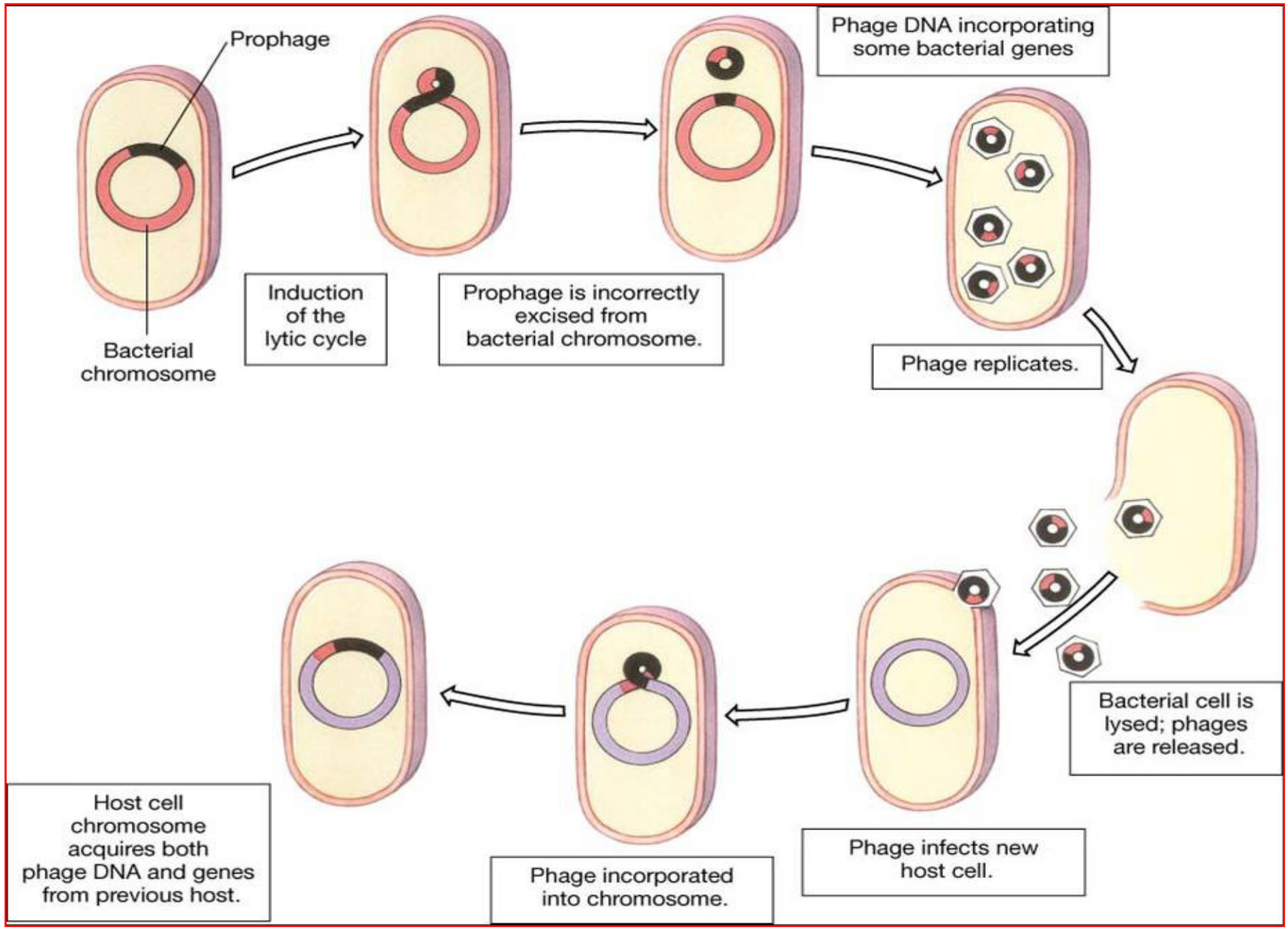
- وهناك نوعين من الاستنقال :

II -2-1- الاستنقال المتخصص (T. Spécialisée):

- هو عملية اندماج قطعة محددة من الكروموسوم البكتيري بجزيء فيروسي ناضج.
  والبروفاج λ هو الوحيد المعني بالعملية.
- والموقع الوحيد من كروموسوم *E. coli* الذي يندمج فيه الفاج
  λ يقع بين جينات تخمير الـ Gal و جينات تخليق الـ Bio.

II -2-2- الاستنقال العام (T. Généralisée):

- هو عملية اندماج أي قطعة من ال DNA البكتيري بجينوم الفيروس الناضج(V. Mature)
- وخصائص هذا النوع من الاستنقال درست لدى الفاجات :
  P1الخاص بـ *E. coli* ، و P22 الخاص بـ *Salmonella typhimurium*.


Prophage
Bacterial chromosome
Induction of the lytic cycle
Prophage is incorrectly excised from bacterial chromosome.
Phage DNA incorporating some bacterial genes
Phage replicates.
Bacterial cell is lysed; phages are released.
Phage infects new host cell.
Phage incorporated into chromosome.
Host cell chromosome acquires both phage DNA and genes from previous host.

فصل 9: وراثة البكتيريا واللاقمات

من الامتحانات السابقة ...

تمرين 5 : لدينا 5 سلالات Hfr: (S1, S2, S3, S4, S5)، وهي مشتقة من نفس السلالة F^+ (البرية) لبكتيريا *E. coli*. والجدول الموالي يوضح أزمنة دخول الواسمات الثلاثة الأولى إلى سلالة العوز F^-.

S1	(min)	S2	(min)	S3	(min)	S4	(min)	S5	(min)
his^+	07	ade^+	03	ade^+	02	leu^+	06	his^+	08
ala^+	17	val^+	08	arg^+	12	phe^+	11	gly^+	18
val^+	22	ala^+	13	leu^+	22	gly^+	16	phe^+	23

- أرسم على الدائرة (أدناه) الخريطة الكروموزومية للسلالة F^+ الأصلية، موضحا مواقع الواسمات والمسافات الفاصلة بينها بالدقائق وكذا مكان ايلاج واتجاه البلازميد F للسلالات الخمس.