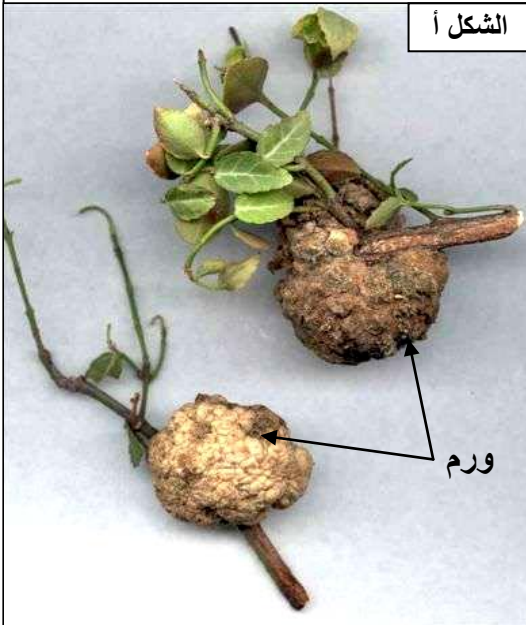


الوحدة الثانية، الفصل الثالث: الهندسة الوراثية: مبادئها وتقنياتها

الوثيقة 1: مفهوم التغيير الوراثي:

مرض جرب السنخ La galle du collet، هو عبارة عن ورم سرطاني ضخم يظهر عند بعض النباتات على مستوى السنخ، وهي منطقة التقاء الساق والجذر (الشكل أ)، 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 $At = Agrobacterium tumefaciens$ (الشكل ب). وبعد ذلك تم زرع هذه البكتيريا في فتحة حديثة (أقل من يومين) أنجزت على نبات سليم، فلاحظ ظهور الورم السرطاني في النبتة.

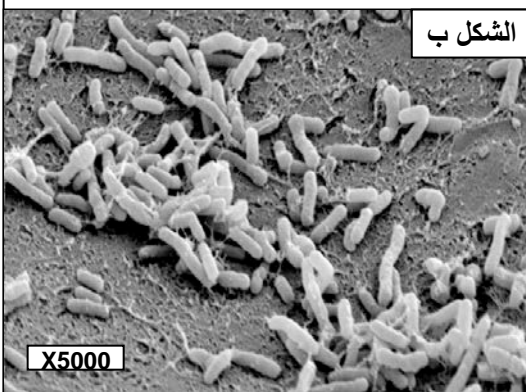
(4) ماذا يمكنك استنتاجه من معطيات هذه التجربة؟

★ 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 متطلب وجود الهرمونات النباتية.

(5) ما التغيير الذي حدث لخلايا السنخ بوجود البكتيريا $A.t$ ؟

(6) ما الفرضية التي يمكنك إعطاؤها حول التغيير الذي أصاب سلوك الخلايا النباتية؟



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

(7) ما مكمل الفرضية الذي يمكنك إعطاؤه حول التغيير الذي أصاب سلوك هذه الخلايا؟

★ التجربة الثالثة:

تمكن باحثون من عزل البكتيريا At وبعد دراسة مكوناتها وجدوا ADN حلقي تدعى البلاسميد Ti . نزرع في درجة حرارة $37^{\circ}C$ أصل ذرية لبكتيريا At من النمط A حساسة للحرارة، فنحصل على أصل ذرية A_1 . يبين الشكل ج بقية التجربة.

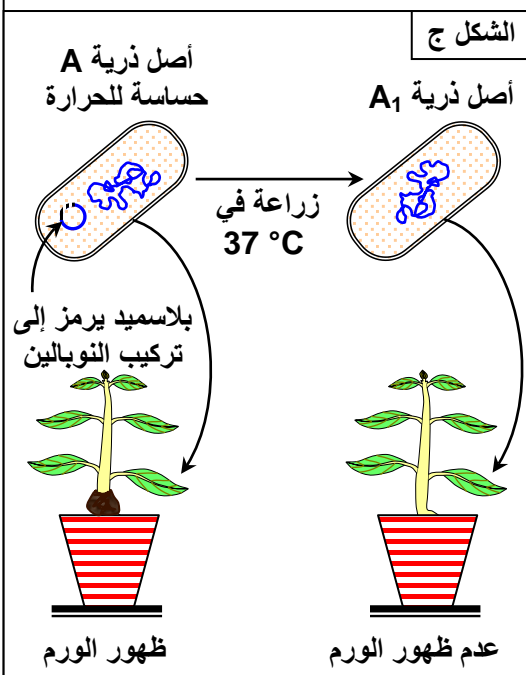
(8) فسر النتائج المحصل عليها.

★ التجربة الرابعة:

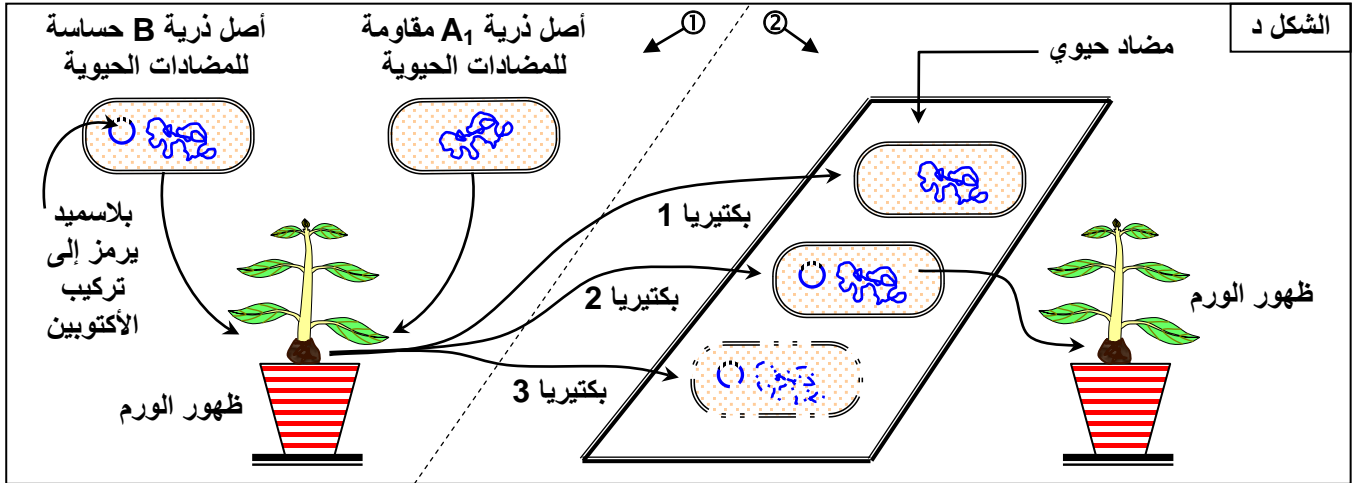
لتوضيح دور البلاسميد (حلقة صغيرة من ADN تحمل مورثات إضافية)، ننجز التجربة التالية:

ندخل في نبات سليم بكتيريا A_1 لا تسبب المرض ومقاومة للمضادات الحيوية، وبكتيريا B مسببة للمرض وحساسة للمضادات الحيوية، فيتكون ورم (أنظر الجزء ① من الشكل د).

(9) ما التفسير الذي تقترحه بالنسبة لنتيجة هذه التجربة؟



نسحق الورم ونبسطة فوق وسط زرع يحتوي على مضادات حيوية. نتائج هذه التجربة ممثلة على الجزء ② من الشكل د.

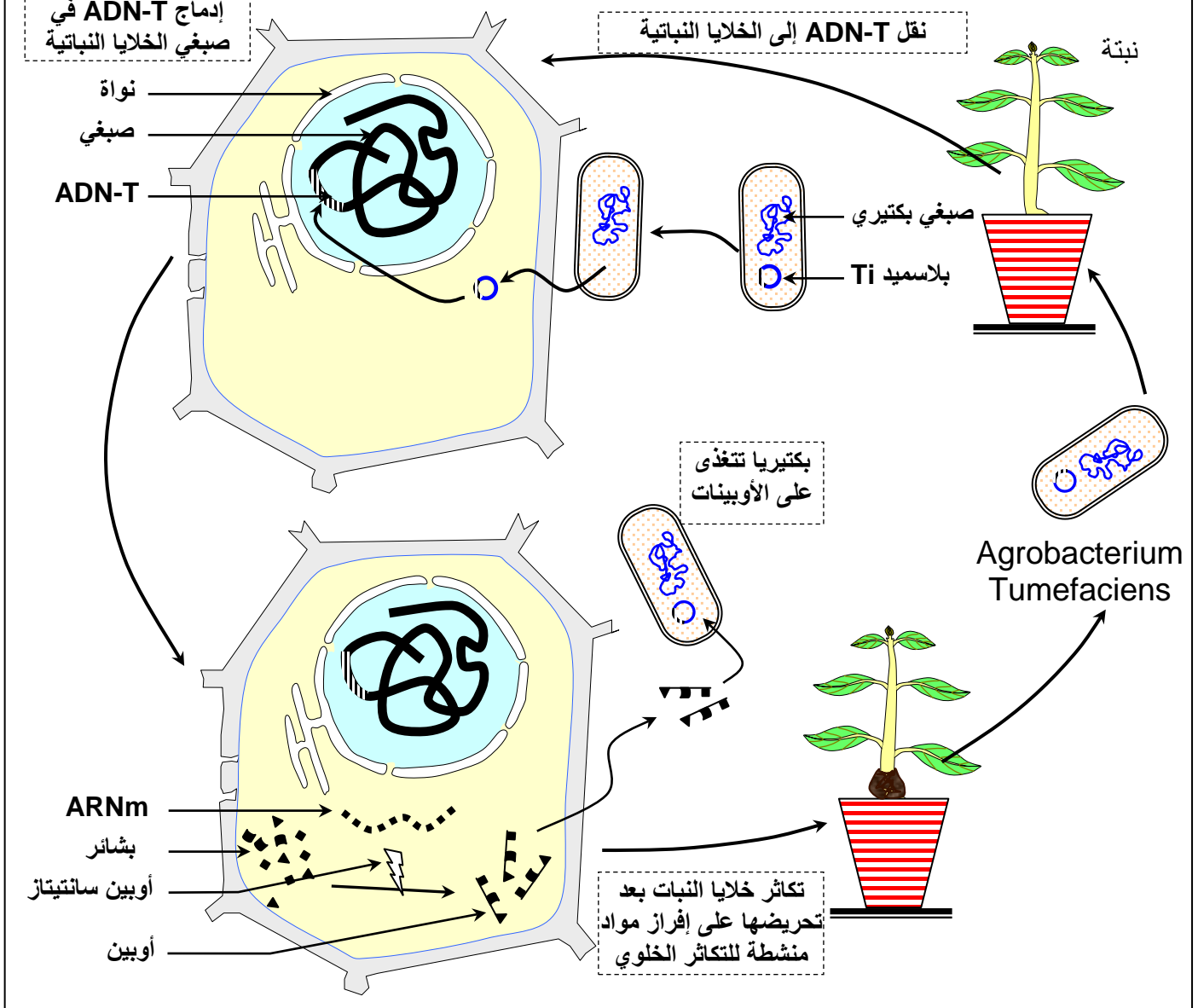


1) تعرف على البكتيريات 1 و 2 و 3 المحصل عليها.

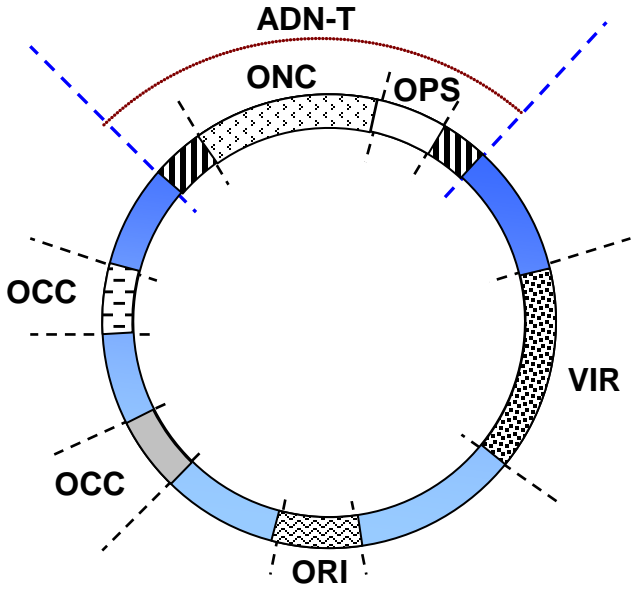
2) هل يمكنك تحديد دور البلاسميد؟

3) انطلاقا من نتائج التجارب السابقة وبعتمادك على الوثيقة 2، اشرح كيفية تكون الورم في مستوى السنخ عند النبات.

الوثيقة 2: رسم توضيحي يبين الانتقال الطبيعي لمورثات البكتيرية At إلى الخلية النباتية:



الوثيقة 3: الخريطة الوراثية للبلازميد Ti عند البكتيريا At.



يرمز لهذا البلازميد بـ Ti، نسبة لـ Tumor inducing أي محرض للورم.

- Transferred ADN = ADN-T الجزء الذي ينتقل إلى الخلايا النباتية ويندمج مع ذخيرتها الوراثية. ويرمز للمورثات المسؤولة عن تركيب الأوبيينات (OPS)، والمسؤولة عن التكاثف العشوائي (ONC)
- الوظيفة VIR مسؤولة عن إدماج ADN-T في المادة الوراثية للخلية النباتية.
- الوظيفة OCC مسؤولة عن هدم الأوبيينات المحررة من طرف النبتة.
- الوظيفة ORI مسؤولة عن النسخ الذي يمكن البلازميد من التكاثف.

الوثيقة 4: الوسائل المستعملة في الهندسة الوراثية:

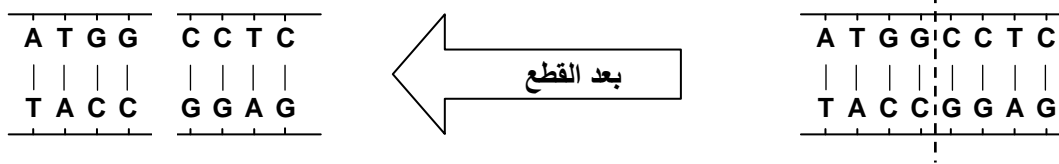
★ أهمية اختيار بكتيريا *Escherichia coli* في الهندسة الوراثية:

تعتبر العصية الكولونية *La Colibacille E.coli*، الكائن المفضل عند العلماء المهتمين بميدان الهندسة الوراثية وذلك لعدة اعتبارات، أهمها القدرة الكبيرة لهذا الكائن على التكاثف (تنقسم في الظروف المثلى كل 20 دقيقة)، وكذلك لتوفره بالإضافة للصبغي الأساسي على عدة بلازميدات يمكن استغلالها كناقلات للمورثات، كما أن سيتوبلازم هذه البكتيريا غني بالجسيمات الريبية (الريبوزومات) والعناصر الضرورية لتركيب البروتينات.

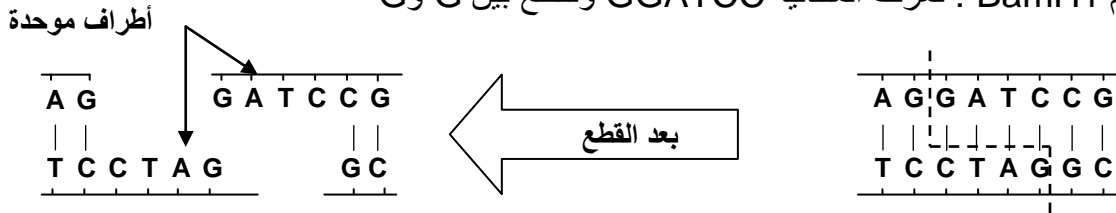
★ أنزيمات الفصل وأنزيمات الربط *Les enzymes de restriction et les Ligases*

في سنة 1965 اكتشف W.arber أن البكتيريا المعفنة بالحماض تستطيع مقاومة هذه الطفيليات بتقطيع ADN الحمة إلى أجزاء صغيرة بفضل أنزيمات نوعية تقطع ADN في مواقع محددة بدقة. بعد ذلك استخلصت مئات الأنواع من هذه الأنزيمات كل واحد يحمل اسم النوع البكتيري الذي استخلص منه متبوع بالرقم الترتيبي لاكتشافه.

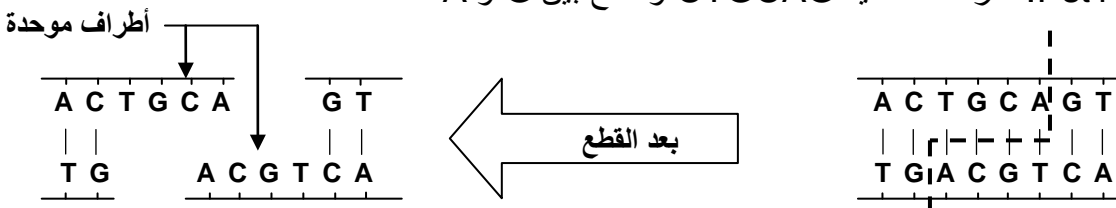
↩ أنزيم HaeIII : تعرف المتتالية GGCC وتقطع بين G و C



↩ أنزيم BamH1 : تعرف المتتالية GGATCC وتقطع بين G و G

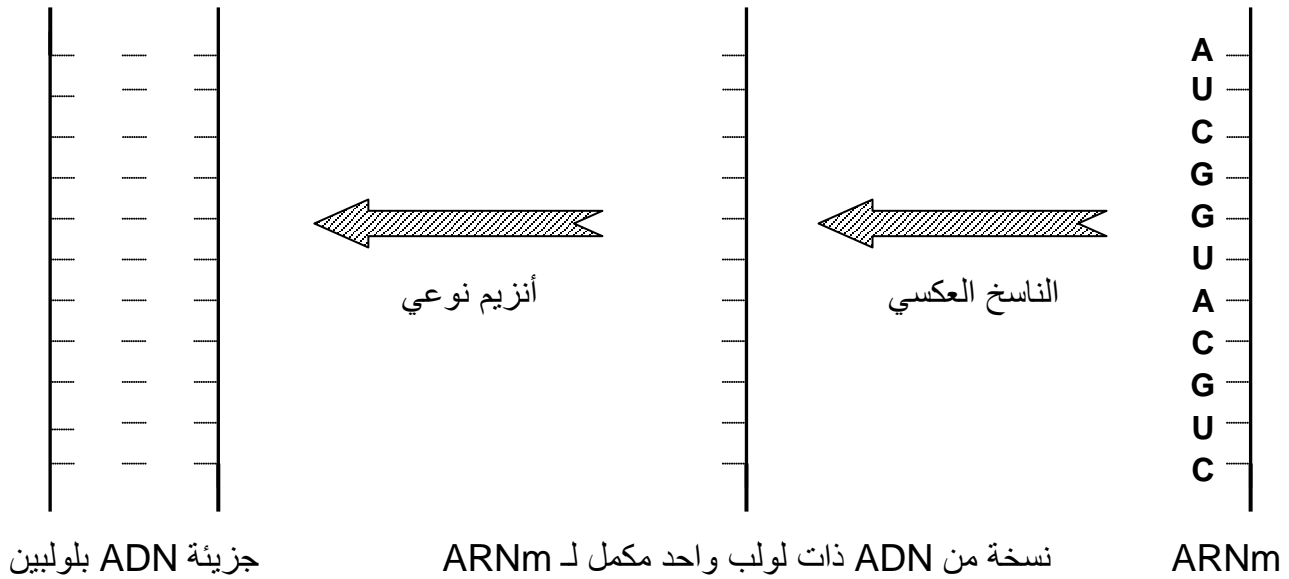


↩ أنزيم Pst1 : تعرف المتتالية CTGCAG وتقطع بين A و G



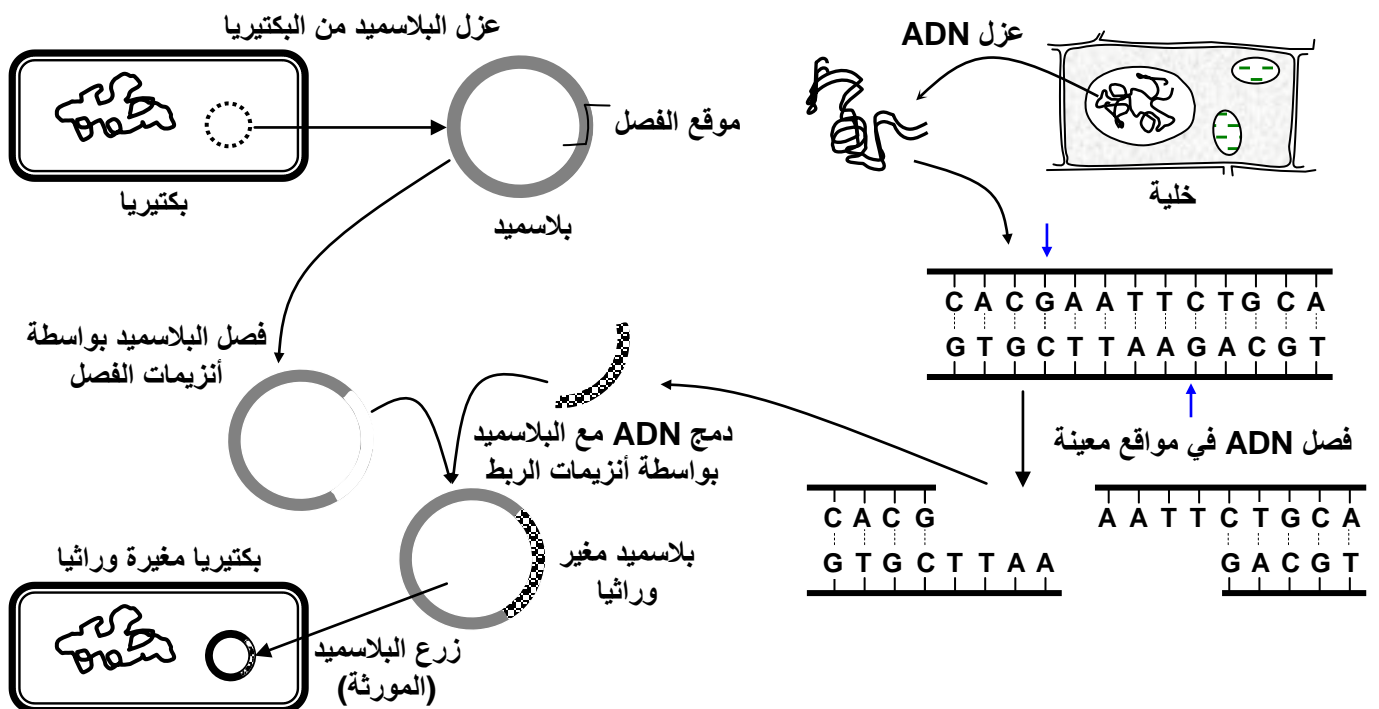
★ الناسخ العكسي Transcriptase inverse:

تمكن باحثون من عزل أنزيم عند الحمات قادرة على تركيب جزيئة ADN انطلاقا من جزيئة ARNm، وأطلقوا عليها اسم الناسخ العكسي. وهكذا أصبح بالإمكان تركيب المورثة التي ترمز لبروتين معين انطلاقا من ARNm الذي يرمز له. انطلاقا من جزيئة ARNm التالية، حدد خييط ADN المنفرد الناتج عن النسخ العكسي، ثم حدد جزيئة ADN المزدوجة والتي تمثل المورثة المرغوبة.



الوثيقة 5: مراحل نقل مورثة من خلية إلى بكتيريا Echerichia-Coli

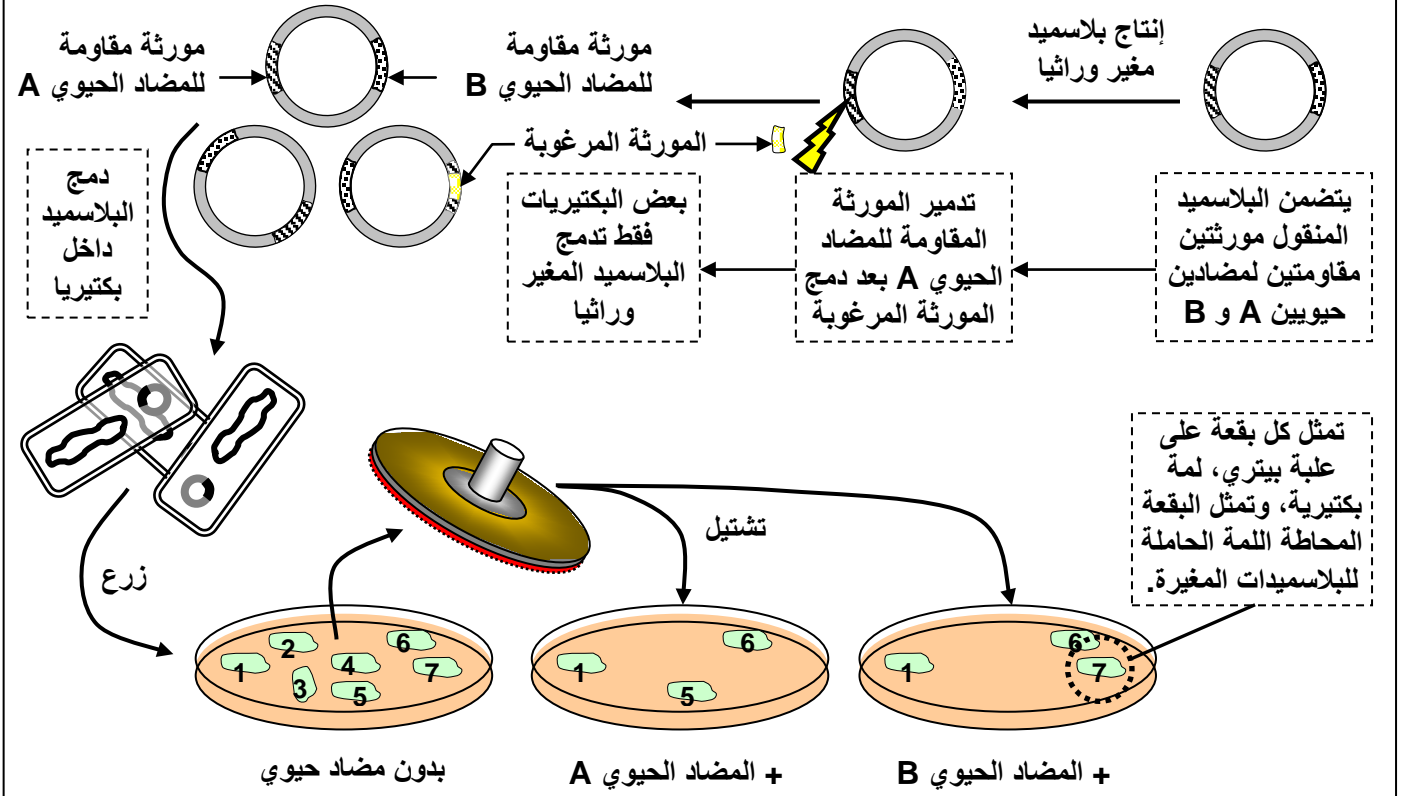
بعد عزل المورثة المراد استغلالها، يتم دمجها ضمن الذخيرة الوراثية لكائن حي آخر، سيعمل على ترجمة هذه المورثة إلى بروتينات مرغوبة. هناك طرق عديدة لدمج المورثة في الذخيرة الوراثية لكائن حي آخر (بكتيريا مثلا)، أهمها الدمج عن طريق بلاسميد يسمى البلاسميد الناقل. توضح الوثيقة التالية، مراحل دمج مورثة معينة في الذخيرة الوراثية لبكتيريا. صف كيفية عزل ودمج مورثة مرغوبة في الذخيرة الوراثية لبكتيريا.



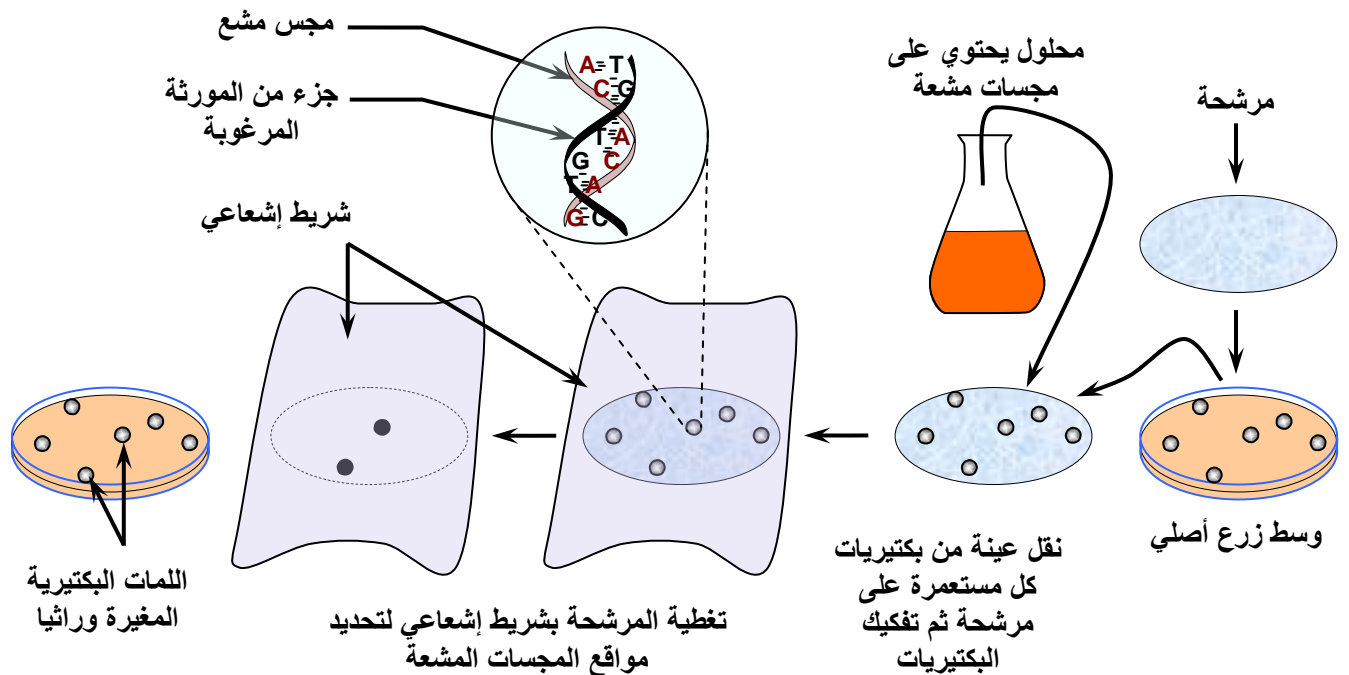
الوثيقة 6: رصد البكتيريات المغيرة وراثيا من خلال استعمال المضادات الحيوية

بعد دمج البلاسميد في البكتيريات العائلة، يتم زرعها داخل علب بيترى في وسط ملائم، بحيث تتكاثر مكونة مستعمرات على شكل لمت. بعد ذلك يتم نقل هذه اللمت إلى علب جديدة، فنحصل بذلك على عدة لمت، فننتكلم بذلك عن التلميم. بعض هذه اللمت يحتوي على البكتيريا المغيرة وراثيا، وبعضها لم تُدمج المورثة. قصد رصد البكتيريات المغيرة وراثيا، يُعتمد على عدة تقنيات، من بينها استغلال خاصية مقاومة المضادات الحيوية بفعل مورثات تتموضع على مستوى البلاسميد. ويتجلى مبدأ هذه التقنية في زرع البكتيريات في أوساط زرع تضم المضادات الحيوية، ثم تحليل النتائج المحصل عليها في كل وسط زرع لتحديد اللمت التي تحتوي على المورثة المرغوبة. توضح الوثيقة أسفله، ظروف و نتائج هذه التجارب.

ماذا تستخلص من معطيات هذه التجربة؟



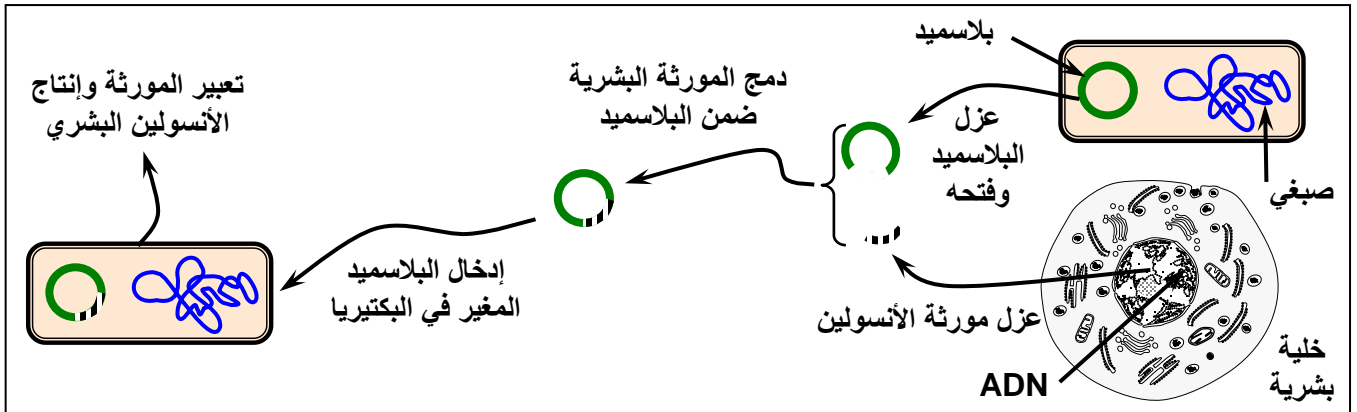
الوثيقة 7: رصد البكتيريات المغيرة وراثيا من خلال استعمال المجسات المشعة



الوثيقة 8: الإنتاج الصناعي للأنسولين Insuline

الأنسولين هرمون مخفض لنسبة السكر في الدم، ويتم إنتاجه من طرف خلايا β لجزيرات Langerhans البنكرياسية. وكل نقص في هذا الهرمون يؤدي إلى مرض السكري. الذي يعالج في هذه الحالة بحقن الشخص بالأنسولين الحيواني، إلا أن استعماله في هذه الحالة يؤدي إلى ظهور حالات أرجية، بحكم اختلاف التركيب الكيميائي بين أنسولين الحيوانات والأنسولين البشري.

يفضل تقنيات الهندسة الوراثية تم إنتاج الأنسولين البشري بكميات صناعية إذ تم تركيب المورثة انطلاقاً من ARNm المسؤول عن إفراز هذا الهرمون. ثم بعد ذلك نقلت هذه المورثة إلى متعضيات مجهرية كخميرة البيرة وبعض العصيات التي تقوم بعد ذلك بإنتاج هذا الهرمون وطرحه في الوسط الخارجي مباشرة. يعطي الرسم التخطيطي أسفله مراحل نقل مورثة الأنسولين لبكتيريا.

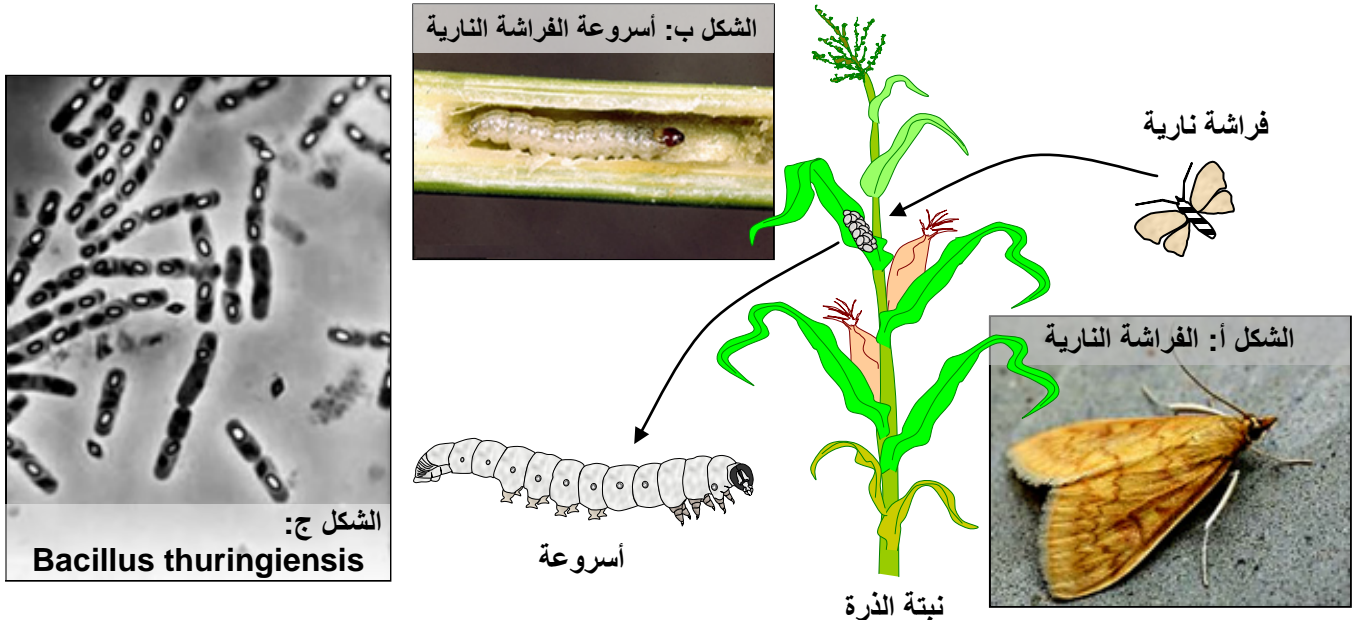


انطلاقاً من معطيات هذه الوثيقة ومن معارفك حول آليات الهندسة الوراثية:

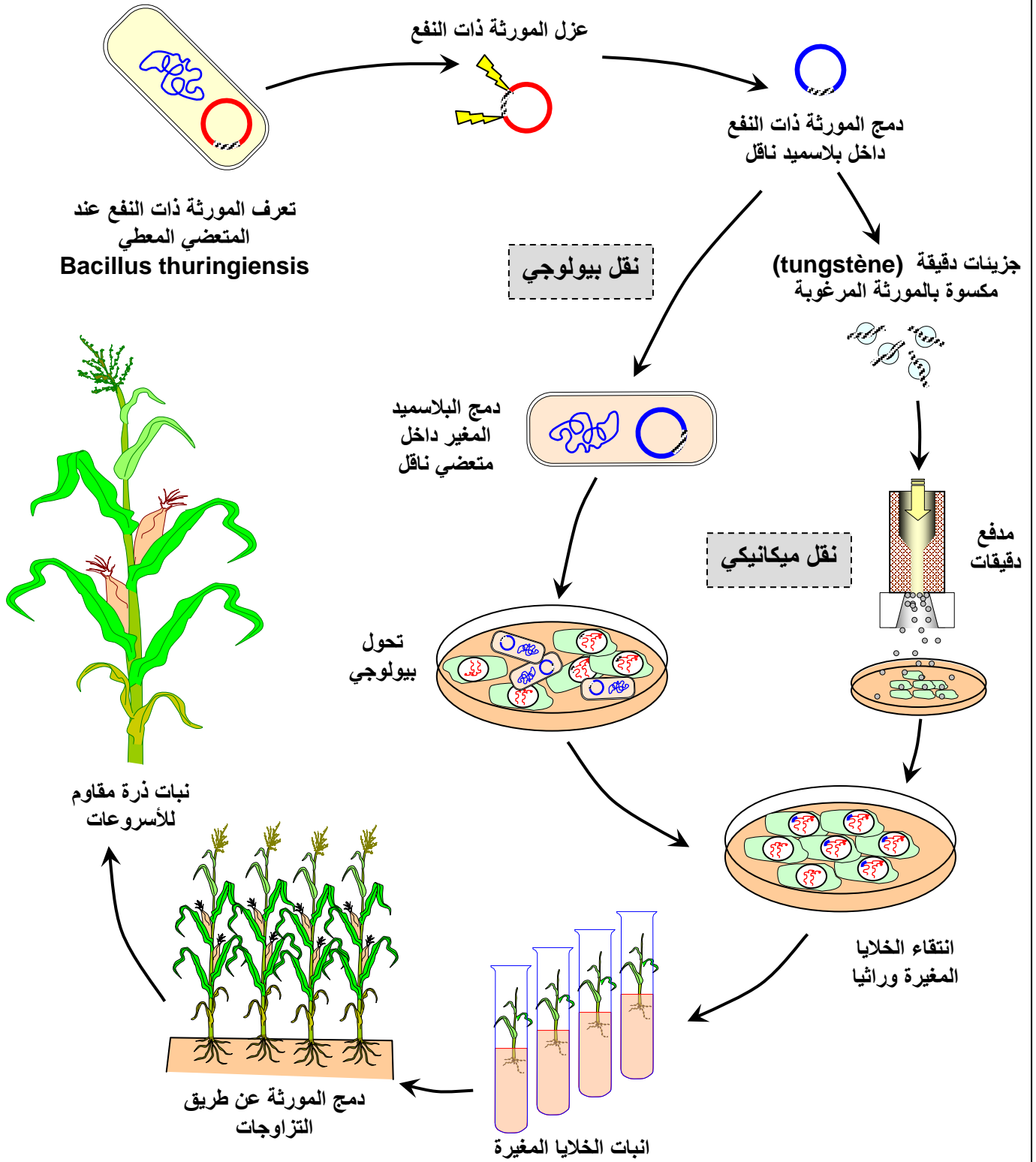
- (1) بين أهمية اللجوء إلى الهندسة الوراثية لإنتاج الأنسولين البشري.
- (2) أعط مراحل تطبيق الهندسة الوراثية لإنتاج الأنسولين البشري.

الوثيقة 9: الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة ضد الحشرات الضارة

تعتبر الذرة من النباتات البالغة الأهمية، إذ تدخل في التغذية البشرية والحيوانية. إلا أن زراعة هذا النبات تعرف خسارات في الكمية والجودة بسبب تطفل أسروعات الفراشات النارية (*Ostrinia nubilalis*) (الشكل أ وب)، إذ بعد انفقاس البييضات، تتوغل الأسروعات داخل ساق النبتة لتتغذى على أنسجتها، كما تحدث أضراراً على مستوى السنابل والبدور، فيصبح النبات المصاب ضعيف النمو. لمقاومة هذه الأسروعات، اكتشف بعض العلماء نوعاً من البكتيريا تدعى *Bacillus thuringiensis* (الشكل ج) تستطيع تركيب بروتين سام بالنسبة للأسروعات، وغير ضار بالنسبة للفقريات. وقد استعملت هذه البكتيريا كوسيلة للمقاومة البيولوجية.



الوثيقة 10: أشكال ومراحل نقل مورثة البروتين السام لنبات الذرة.



بالاعتماد على معطيات هذه الوثيقة ومعطيات الوثيقة 9، استخرج:
 (1) تأثير أسروعات الفراشة النارية على نبات الذرة.
 (2) مراحل التعديل الوراثي لنبات الذرة والهدف من هذا التعديل.