

- ONC : مورثة مسؤولة عن التكاثر الخلوي السرطاني.
- OPS : مورثة موجهة لتركيب الأوبين سانتيتاز (أنزيم يُركب الأوبينات).
- VIR : مورثة الحدة (مسؤولة عن نقل مورثات الورم إلى الخلية النباتية).
- OCC : مورثة مسؤولة عن هدم الأوبينات إلى كربون و آزوت.

الأوبينات: مواد ازوتية-كربونية ضرورية لتغذية البكتيريا من أجل نموها وتكاثرها (مصدر طاقة).

اقترح تعريفا للبلاسميد؟

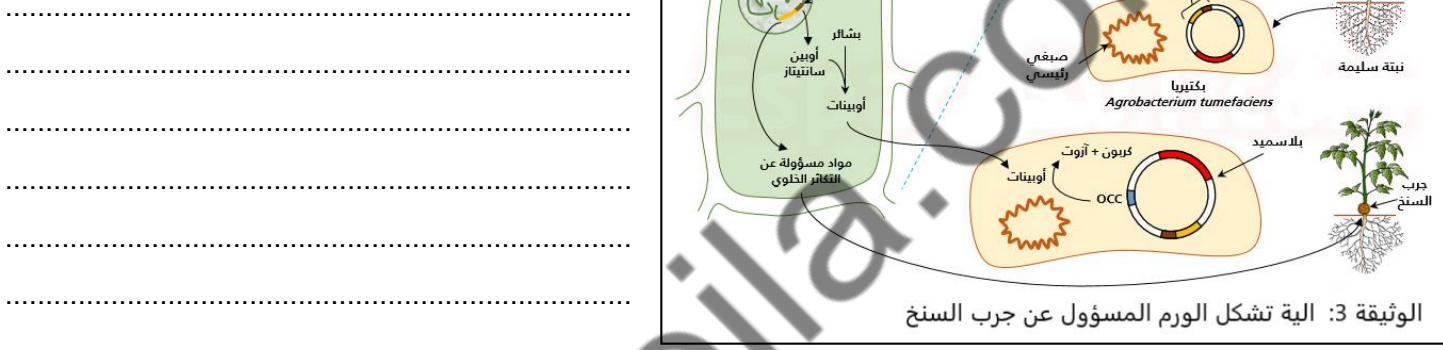
.....

.....

### ب- آلية التغيير الوراثي

تمثل الوثيقة اسفله الية تشكل جرب السنخ

من خلال الوثيقة وضح (ي) كيفية تكون الورم المسؤول عن جرب السنخ عند النبات؟



.....

.....

.....

### ج- خلاصة

يعتبر مرض جرب السنخ مرضا ناتجا عن تغيير وراثي طبيعي لخلايا نباتية، سببه بكتيريا من نوع At حيثتقوم هذه الخلايا النباتية المغيرة وراثيا بإنتاج وإفراز مواد ضرورية لتغذية وتكاثر البكتيريا. هذا الإنتقال الطبيعي للمورثات البكتيريا At الى خلايا نباتية أوحى بإستعمال نفس المبدأ (أحداث تغيير وراثي عند خلايا معينة) لإنتاج مواد مرغوب فيها. فما هي مختلف التقنيات المستعملة في ذلك؟

### 2- تقنيات الهندسة الوراثية

#### 1-2. الوسائل المستعملة

##### أ- البكتيريا:

يتم الإعتماد على البكتريا E. Coli في الهندسة الوراثية لعدة إعتبارات أهمها القدرة الكبيرة لهذا الكائن على التكاثر (تنقسم كل 20 دقيقة)، بالإضافة لتغفوره على صبغي واحد و عدة بلاسميدات يمكن استغلالها كناقلات للمورثات. كما أن سيتوبلازم هذه البكتيريا غني بجسيمات ريبية والعناصر الضرورية لتركيب البروتينات.

##### ب- أنزيمات القطع أو الفصل:

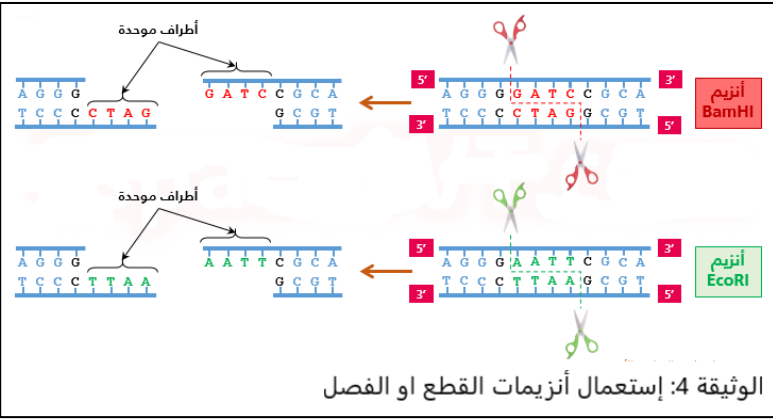
.....

.....

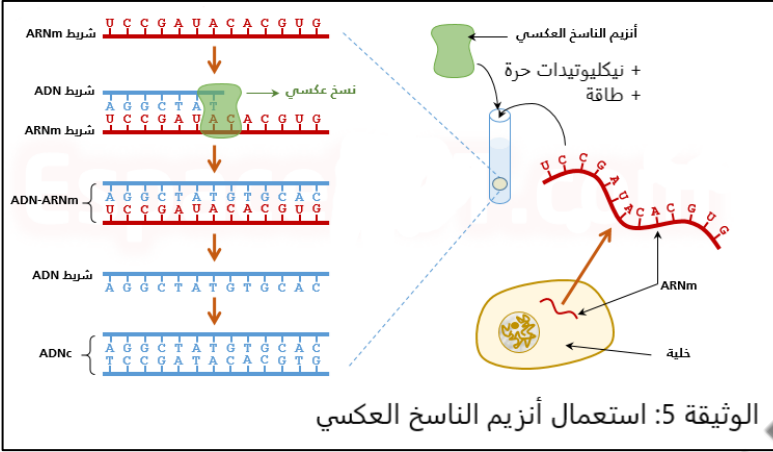
.....

### ت- أنزيمات الربط:

أنزيمات نوعية قادرة على ربط أجزاء ADN مقطوعة للمورثة وللناقل البيولوجي، وذلك بربط الأطراف الموحدة مع بعضها البعض تكامل القواعد الأزوتية بين الأطراف الموحدة للمورثة والأطراف الموحدة للبلاسميد المفتوح.



### ث- أنزيم الناسخ العكسي



.....

.....

.....

.....

.....

.....

### تطبيق:

انطلاقا من جزيئة ARNm التالية، حدد خييط ADN المنفرد الناتج عن النسخ العكسي، ثم حدد جزيئة ADN المزدوجة والتي تمثل المورثة المرغوبة



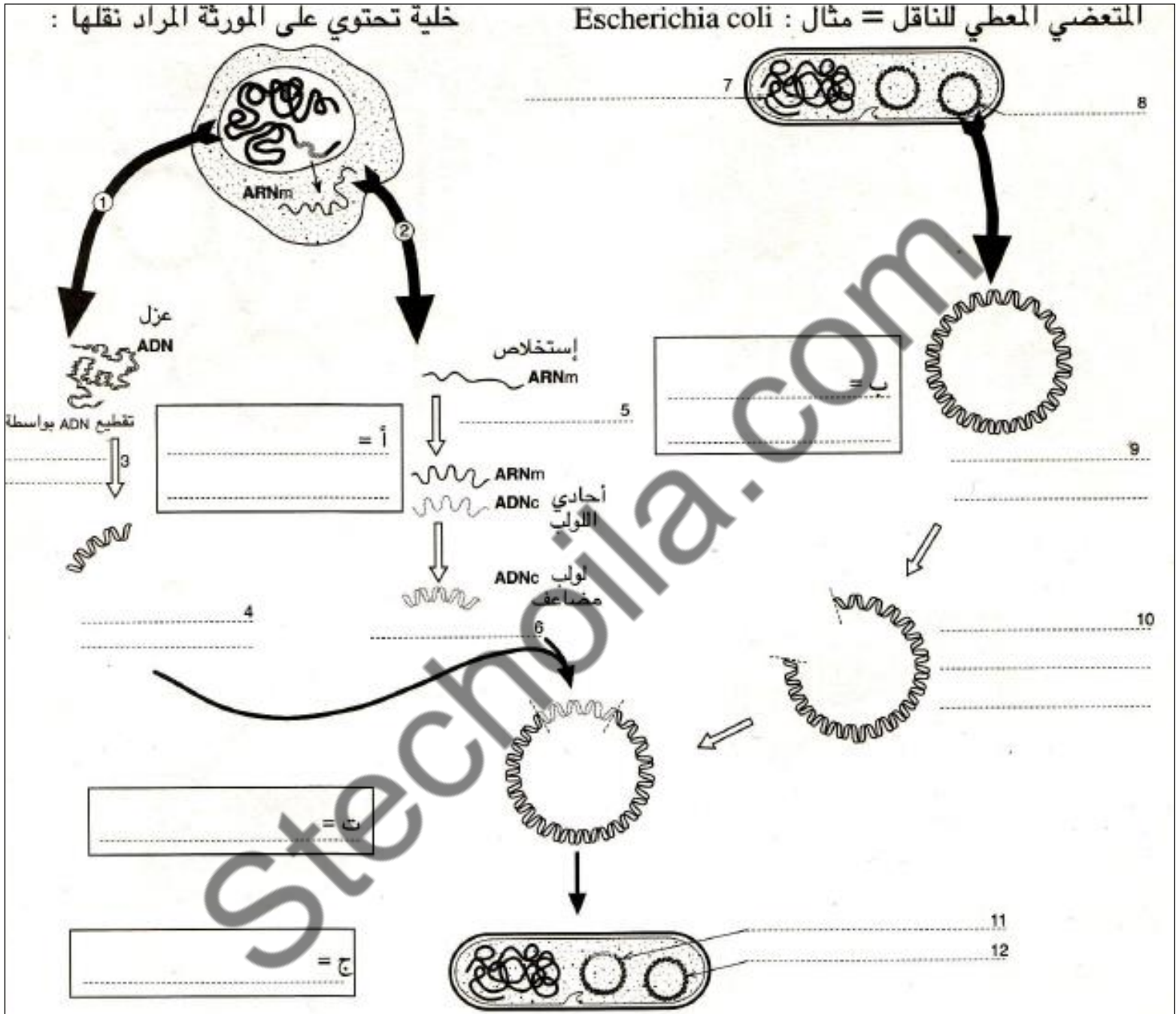
في أغلب الحالات، يستعمل البلاسميد كناقل بيولوجي، حيث يتم فتحه بواسطة نفس أنزيم الفصل، فيصبح له أطراف موحدة ومطابقة للأطراف الموحدة للمورثة. (في حالة ARNm إضافة قطع موحدة مع البلاسميد الADN).

### ملحوظة:

- يمكن كذلك نقل المورثة المرغوبة إلى الخلايا العائلة (المستضيفة)، بواسطة الحُمات ADN فيروسي، كما تُستعمل كذلك نواقل ميكانيكية من قبيل مدفع أو رشاش الجزيئات، كذلك هناك الحقن المجهرية...

- لتحريض المورثة المنقولة بواسطة البلاسميد على التعبير داخل البكتيريا العائلة، يجب العمل على توضيبيها، و ذلك بتدخل نظام للمراقبة، يتمثل في إضافة مورثات في جانبي هذه المورثة المُدمجة.

## 2-2. مراحل عزل ونقل مورثة إلى خلية معينة



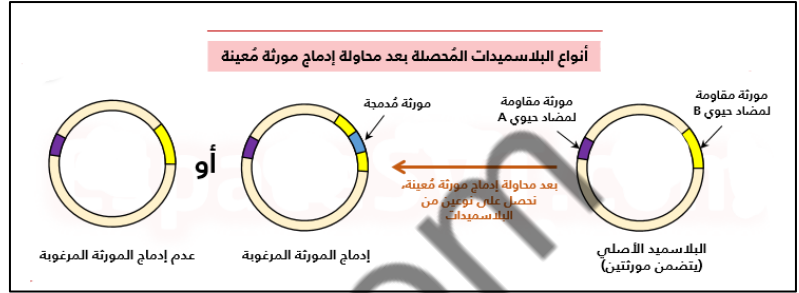
يتطلب نقل مورثة إلى بكتريا معينة المرور من المراحل التالية:

- عزل المورثة المرغوب فيها، وذلك بطريقتين:
- عزل ADN الخلية التي تحتوي على المورثة المراد نقلها، ثم يتم تقطيع جزيئة ADN بواسطة أنزيمات الفصل.
- إستخلاص ARNm من الخلية التي تحتوي على المورثة المراد نقلها، وبواسطة الناسخ العكسي يتم تركيب ADNC الذي يكون حاملا للمورثة المرغوبة، ثم تضاف ل ADNC اطراف موحدة.
- عزل الناقل (البلاسميد) وقطعه بواسطة نفس أنزيمات الفصل المستعملة لعزل المورثة.
- إدماج المورثة في البلاسميد بواسطة أنزيمات الربط.
- إعادة البلاسميد المغير وراثيا الى المتعضي الناقل (البكتريا).

- تلميم البكتريا بزرها في وسط مقبت للحصول على عدد كبير من الخلايا المتوفرة على المورثة المنقولة.
- رصد البكتريا المغيرة وراثيا باستعمال طرق مختلفة؛ كاستعمال مجسات مشعة والمضادات الحيوية
- تعبير المورثة وإنتاج المادة المرغوب فيها.

## ملاحظات

بعد دمج البلاسميدات في البكتيريات العائلة، يتم زرعها في وسط ملائم بحيث تتكاثر مكونة مستعمرات على شكل لامت، إنه التلميم . كل لمة تنتج عن تكاثر بكتيريا واحدة.  
عند محاولة دمج المورثة المرغوبة على مستوى البلاسميد، نحصل تجريبيا على نوعين من البلاسميدات : بلاسميدات أدمجت المورثة الموعوبة، وبلاسميدات لم تُدمج المورثة بفعل ارتباط الأطراف الموحدة قبل إدماجها. تمثل الوثيقة أسفله، رسما تخطيطيا للحالتين.



من خلال المعطيات أعلاه، يتبين لنا أن البكتيريات المحصل عليها لن تضم كلها المورثة المرغوبة لأننا سنحصل كذلك على بكتيريات تضم بلاسميد عادي (دون مورثة)، و كذلك، بكتيريات لا تضم اي بلاسميد، بينما فقط البكتيريات التي تضم البلاسميد جديد التركيب، هي التي تضم المورثة الموعوبة مما يجعل من الضروري رصدها.

تمثل الوثيقة أسفله، الأنواع الثلاث للبكتيريات المحصل عليها.

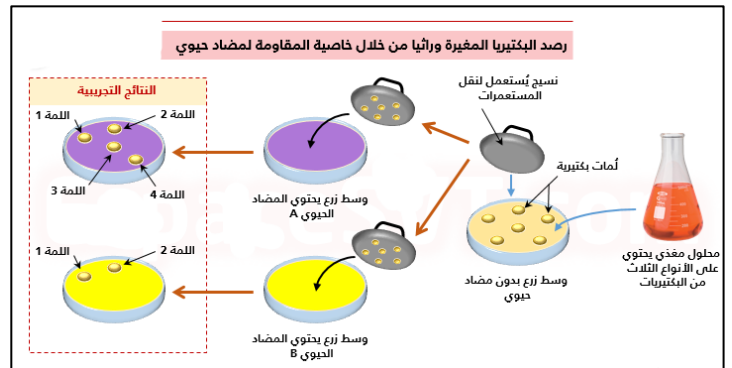


قصد رصد البكتيريات المغيرة وراثيا، يُعتمد على عدة تقنيات، من بينها استغلال خاصية مقاومة المضادات الحيوية بفعل مورثات تتموضع على مستوى البلاسميد.

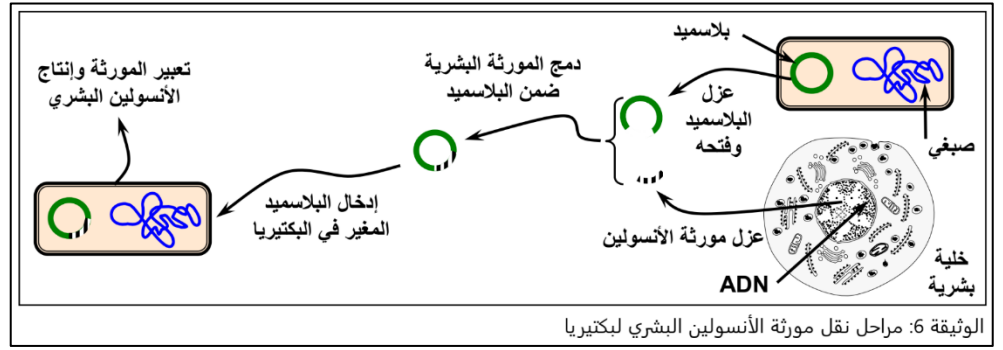
## رصد البكتيريا المغيرة وراثيا من خلال خاصية المقاومة لمضاد حيوي :

يضم البلاسميد المستعمل لدمج المورثة الموعوبة مورثتين إضافيتين، إحدهما مسؤولة عن مقاومة مضاد حيوي A ، و الأخرى مسؤولة عن مقاومة مضاد حيوي B. كل بكتيريا تضم البلاسميد العادي، تكون مقاومة للمضادين الحيويين A و B .

يتجلى مبدأ هذه التقنية في زرع البكتيريات في أوساط زرع تضم المضادات الحيوية، ثم تحليل النتائج المحصل عليها في كل وسط زرع لتحديد اللامت التي تحتوي على المورثة المرغوبة. توضح الوثيقة أسفله، ظروف و نتائج هذه التجارب.







## 2- في الميدان الزراعي

مثال: الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة لمحاربة الحشرات الضارة

تعتبر أسرعات الفراشة النارية *Ostrinia nubilalis*، من الحشرات الضارة، و التي تلحق خسائر كبيرة في محاصيل الذرة. من أجل إنتاج نباتات ذرة مقاومة للأسرعات، تم اعتماد تقنيات الهندسة الوراثية، و ذلك باستغلال إحدى المورثات المتواجدة عند بكتيريا *Bacillus thuringiensis*، و التي ترمز لبروتين يقضي على الأسرعات (البروتين Cry). هذه المورثة يتم إدماجها على مستوى الدخيرة الوراثية لنباتات الذرة، فتصبح قادرة على إنتاج البروتين Cry، و بالتالي القضاء على الأسرعات. تمثل الوثيقة أسفله، أهم مراحل هذه العملية

