هذا الملف تم تحميله من موقع : Talamid.ma

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:

الوثيقة1

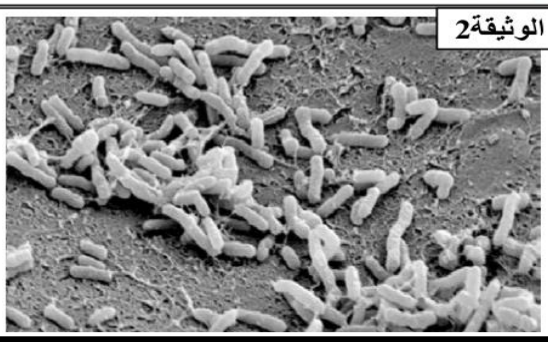
مرض جرب السنخ La galle du collet ، عبارة عن ورم سرطاني ضخم يظهر عند بعض النباتات على مستوى السنخ، وهي منطقة التقاء الساق والجذر (الوثيقة 1) ، ونظرا لأثره الحاسم على الاقتصاد فقد كان موضوع عدة أبحاث وتجارب.

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

1. اعتمادا على نتائج التجربة، هل يمكن القول ان البكتريا 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.

الوثيقة2



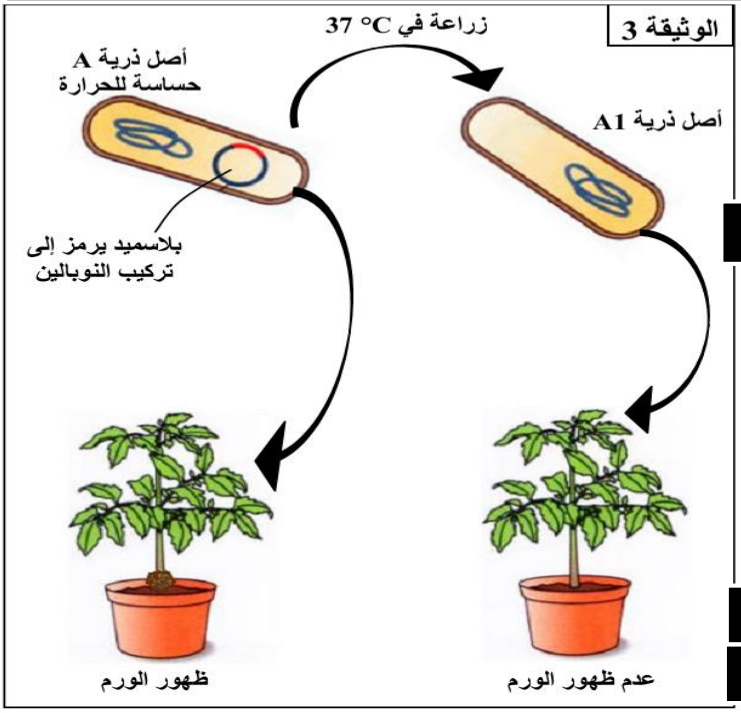
2. اعتمادا على نتائج التجربة استنتج التغير الذي تسببه البكتيريات في الخلايا النباتية واقترح تفسير لكيفية حدوث ذلك التغير.

اكتشفت مجموعة من الباحثين وجود نمطين من بكتيريات Agrobacterium tumefaciens : A و B .وهذان النمطان يسببان المرض (يؤديان إلى تكون ورم). حيث يؤدي النمط A إلى تكون ورم تركب خلاياه النوبالين Nopaline بينما يؤدي النمط B إلى تكون ورم تركب خلاياه الأكتوبين Octopine (النوبالين و الأكتوبين 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 اقترحته في جوابك السابق؟

← التجربة الثالثة:
تمكن باحثون من عزل البكتيريا Agrobacterium tumefaciens ، وبعد دراسة مكوناتها وجدوا ADN حلقية تدعى البلاسميد Ti . نزرع في درجة حرارة 37 ° C أصل ذرية ل Agrobacterium tumefaciens من النمط A حساسة للحرارة، فنحصل على أصل ذرية A_1. تبين الوثيقة 3 بقية التجربة .

الوثيقة 3



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

لتوضيح دور البلاسميد (حلقة صغيرة من ADN تحمل مورثات إضافية) ننجز التجربة التالية:
ندخل في نبات سليم بكتيريات A_1 لا تسبب المرض ومقاومة للمضادات الحيوية، وبكتيريات B مسببة للمرض وحساسة للمضادات الحيوية فيتكون ورم (أنظر الوثيقة4

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 معللا إجابتك إسم البكتيريات 1

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

الوثيقة 4 :

ذ. محمد اشباني

للمزيد من الملفات قم بزيارة الموقع : Talamid.ma

هذا الملف تم تحميله من موقع Talamid.ma

النشاط 1: مفهوم التغير الوراثي (تتمة)

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

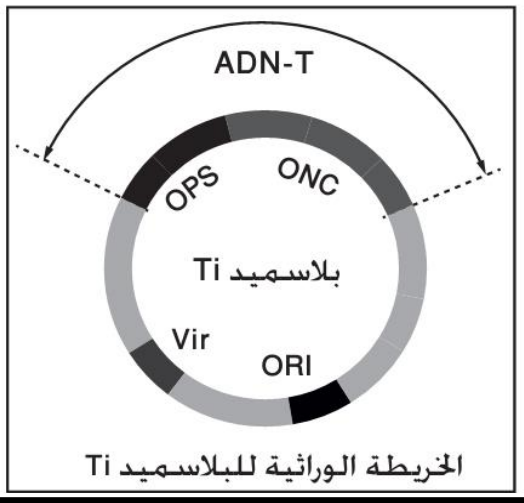
- جزء من ADN يسمى ADN-T (نسبة إلى Transferred ADN و هو الجزء الذي ينتقل إلى الخلايا النباتية و يندمج في ذخيرتها الوراثية) يشتمل على مورثتين :
  - المورثة ONC -من Oncogène- التي تمكن من تركيب الهرمونات المسؤولة عن التكاثر العشوائي و بالتالي تكون السرطان.
  - المورثة OPS -من Opine Synthase- التي تمكن من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

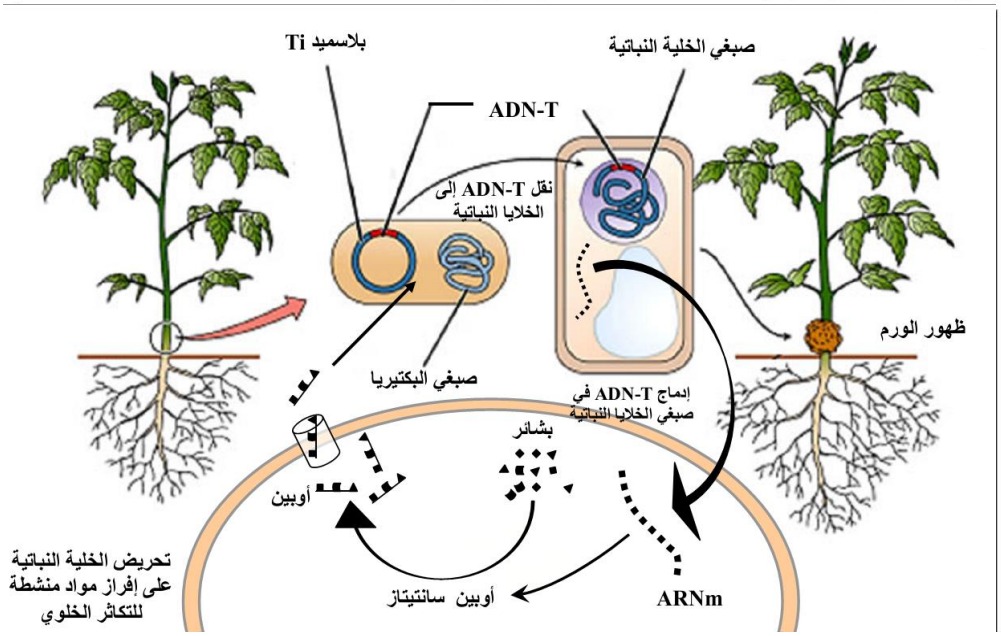
8. انطلاقا من المعطيات أعلاه والشكل 1، بين كيف يسبب دخول البلاسميد للخلية النباتية حدوث مرض جرب السنخ.

(شكل 2)

(شكل 1)

الخريطة الوراثية للبلاسميد Ti



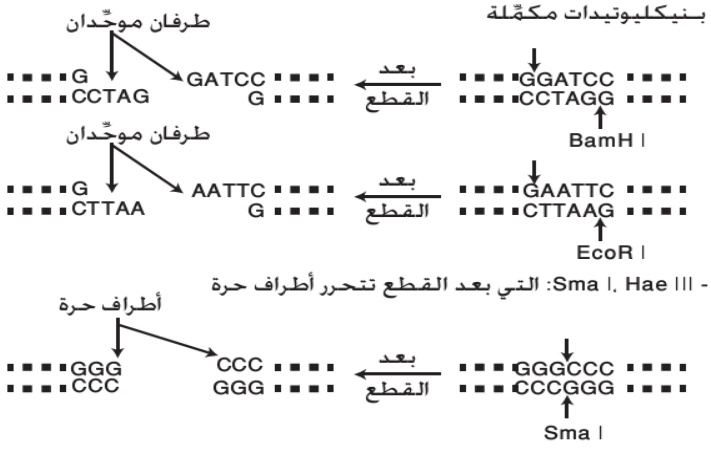


9. انطلاقا من كل ما سبق وبالاستعانة بمعطيات الشكل 2 أعلاه، صف كيفية انتقال مورثات البكتيريا Agrobacterium tumefaciens لخلايا النبات مسببة مرض جرب السنخ.

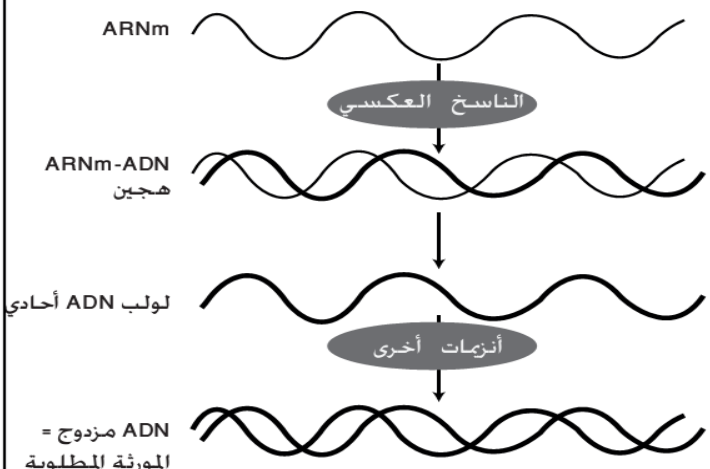
النشاط 2: تقنيات الهندسة الوراثية: عزل المورثة المرغوبة

بعدما كشف العلماء عن حدوث الانتقال الطبيعي لمورثات البكتيريا لخلايا 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 الموثة المرغوب فيها انطلاقا من صبغي خلية (بكتيريا، خلية نباتية، خلية حيوانية) و ذلك بواسطة أنزيمات.
هناك تقنيتان مختلفتان يمكن اعتمادهما:



التقنية الأولى: أنزيمات الفصل Enzymes de réstriction	التقنية الثانية: أنزيم الناسخ العكسي Transcriptase reverse
تستخلص المورثة بواسطة أنزيمات الفصل، و هي عبارة عن بروتينات بكتيرية تتميز بقدرتها على قطع ADN في مواقع محددة بدقة حسب تسلسل معين للقواعد الآزوتية. يحمل كل أنزيم فصل إسم النوع البكتيري الذي استخلص منه متبوع بالرقم الترتيبي لاكتشافه. من بين أنزيمات الفصل الأكثر استعمالا نجد: - EcoR I، BamH I: التي بعد القطع يتحرر طرفان موحّدان قابلان للإرتباط بنيكليوتيدات مكمّلة - Sma I، Hae III: التي بعد القطع تتحرر أطراف حرة 	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:
تطبيق 1: لنعتبر قطعة من ADN حاملة للمورثة المراد عزلها ▪▪▪▪GAATTC [المورثة المطلوبة] GAATTC▪▪▪▪ ▪▪▪▪CTTAAG [المورثة المطلوبة] CTTAAG▪▪▪▪ 1- باعتمادك التقنية أعلاه، مثل جزء ADN المعزول محددا أنزيم الفصل المتدخل	تطبيق 2: لنعتبر جزء من ARNm المسؤول عن تركيب البروتين المرغوب فيه ▪ ▪ ▪ ▪AAG UAU CUG CCG▪ ▪ ▪ ▪ ▪ 2- باعتمادك التقنية أعلاه، مثل مختلف مراحل تركيب المورثة المرغوبة



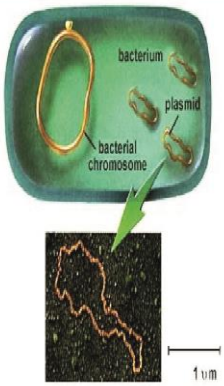
للمزيد من الملفات قم بزيارة الموقع : Talamid.ma

هذا الملف تم تحميله من موقع : Talamid.ma

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 لأخرى وذلك باستعمال مجموعة من التقنيات تعرف بالهندسة الوراثية فبعد عزل المورثة المرغوبة إما باستعمال أنزيمات الفصل او النسخ العكسي يتم نقلها الى خلية عائلة (بكتيرية عادة) فماهي أهم التقنيات المعتمدة في الهندسة الوراثية لنقل المورثات المرغوبة الى البكتيرية؟

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



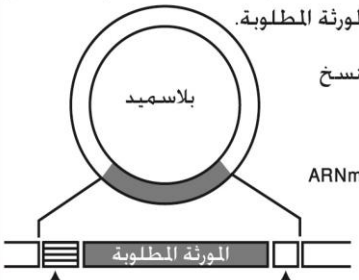
تنقل المورثة المطلوبة إلى خلايا عائلة (بكتيريات، خلايا الخميرة، خلايا نباتية أو حيوانية) قصد تعبيرها.

تعتمد الأبحاث في الهندسة الوراثية بالخصوص على البكتيريا E.coli كخلية مضيفة للأسباب التالية:

- سهولة زرعها: تتكاثر في أوساط زرع بسيطة و مختلفة
- قدرتها على التكاثر السريع (دورة خلوية= 20min)
- ذخيرتها الوراثية: صبغي واحد بالإضافة إلى جزيئات أخرى من ADN حلقية الشكل و صغيرة الحد (1/100 قد الصبغي) تسمى **بلاسميدات** قادرة على النسخ الجزيئي الذاتي و يمكنها أن تنتقل بسهولة من خلية إلى أخرى.

الوثيقة 2: توضيب المورثة المرغوبة

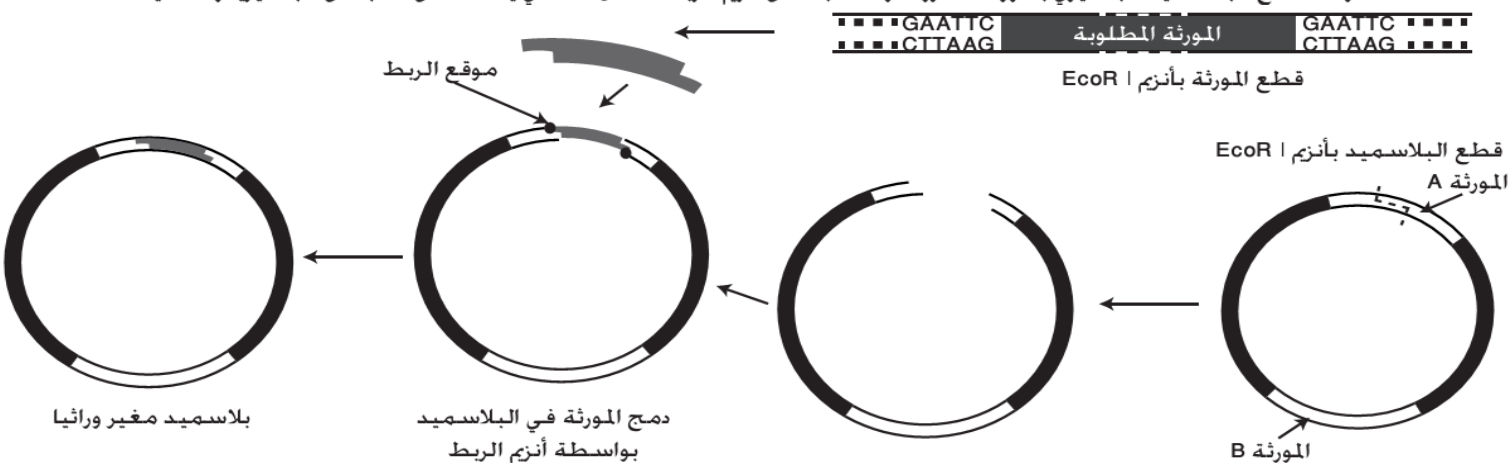
لتحريض المورثة البنيوية المنقولة بواسطة البلاسميد على التعبير داخل البكتيريا العائلة، يجب العمل على توضيبها و ذلك بإضافة نظام للمراقبة: مورثات إلى جانب المورثة المطلوبة.



سؤال: بين فيما تتجلى أهمية توضيب المورثة

الوثيقة 3: دمج المورثة المرغوبة في بلاسميد البكتيرية

مرحلة دمج البلاسميد البكتيري بالمورثة المعزولة و ذلك بتدخل أنزيم الربط: Ligase. الذي يستخلص غالبا من البكتيريا و العاتيات .

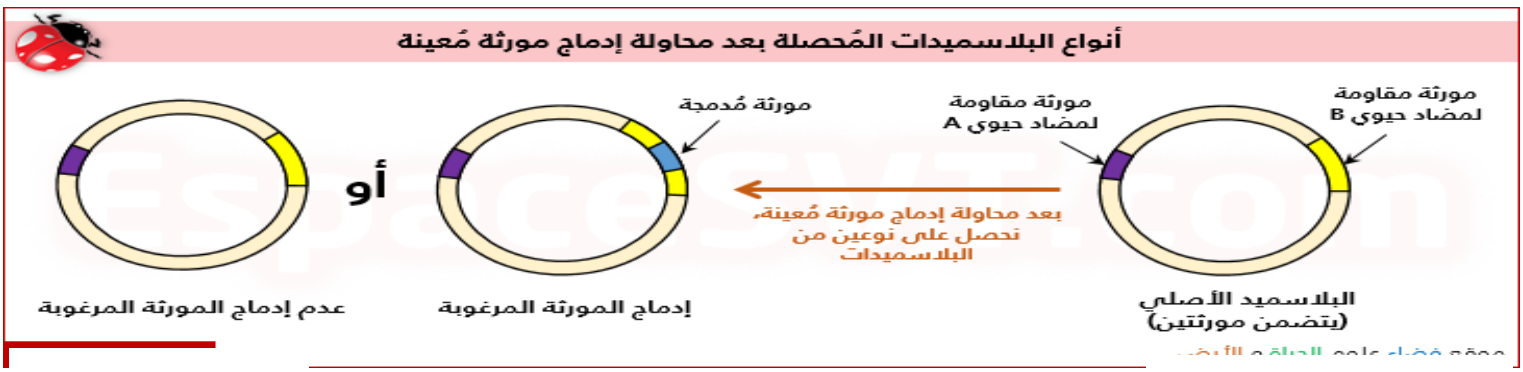


المورثة A: على مستواها يتم دمج البلاسميد و تضم مواقع القطع لأنزيمات فصل مختلفة، و تكون غالبا إما مورثة لمقاومة المضاد الحيوي Tetracycline (Tet^R) أو مورثة LacZ مسؤولة عن تركيب أنزيم ßGalactosidase الذي يحلل سكر اللاكتوز إلى كليكوز و كلاكتوز.

المورثة B: مورثة تمكن البكتيريا من مقاومة مضاد حيوي معين. مثال: Ampéciline.

- Tetracycline: مضاد حيوي يوقف ترجمة ARNm.
- Ampéciline: مضاد حيوي يمنع تكون جدار البكتيريات.

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 للحالتين:



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 المسؤولتين عن مقاومة المضادات الحيوية في الكشف عن إدماج أو عدم إدماج المورثة المرغوبة.

ذ. محمد اشباني

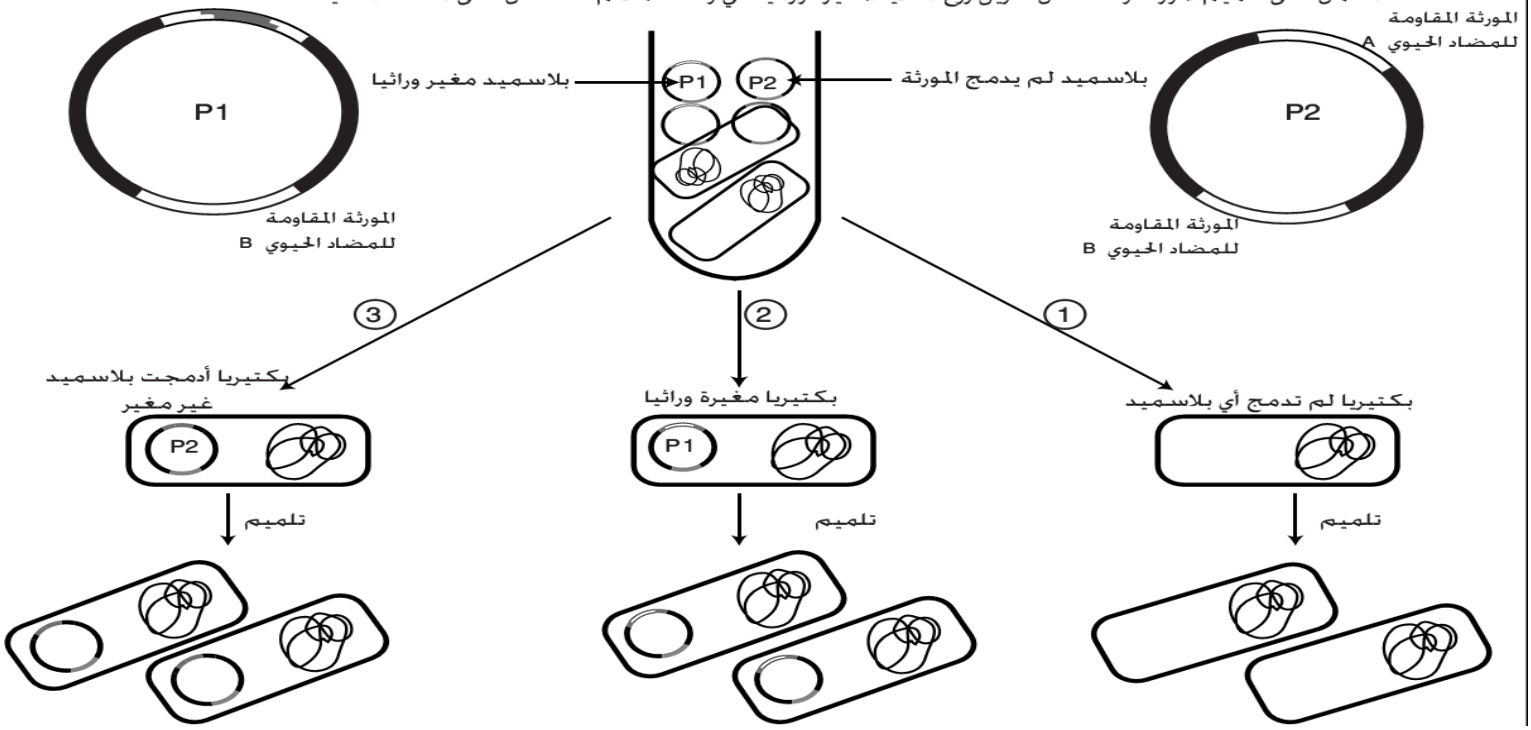
للمزيد من الملفات قم بزيارة الموقع : Talamid.ma

هذا الملف تم تحميله من موقع : Talamid.ma

النشاط 4: تقنيات الهندسة الوراثية: تلميم المورثة ورصد البكتيريا المغيرة وراثيا

الوثيقة 1

بعد دمج المورثة داخل الناقل نعمل 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:



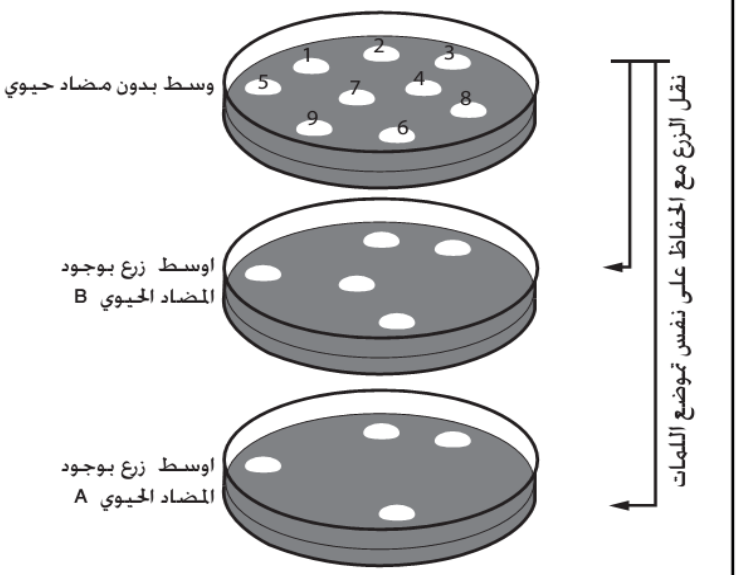
الوثيقة 2: تقنيات رصد البكتيريات المعدلة وراثية (الحاملة للمورثة المرغوبة)

التقنية الأولى: استعمال مضادات حيوية

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

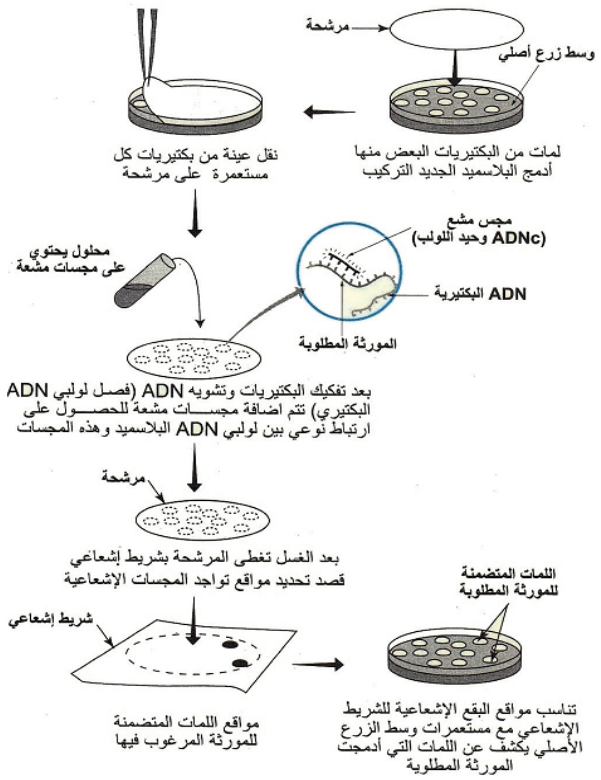
تطبيق:

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



التقنية الثانية: مجسات مشعة

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



التعليمات

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

ذ. محمد اشباني

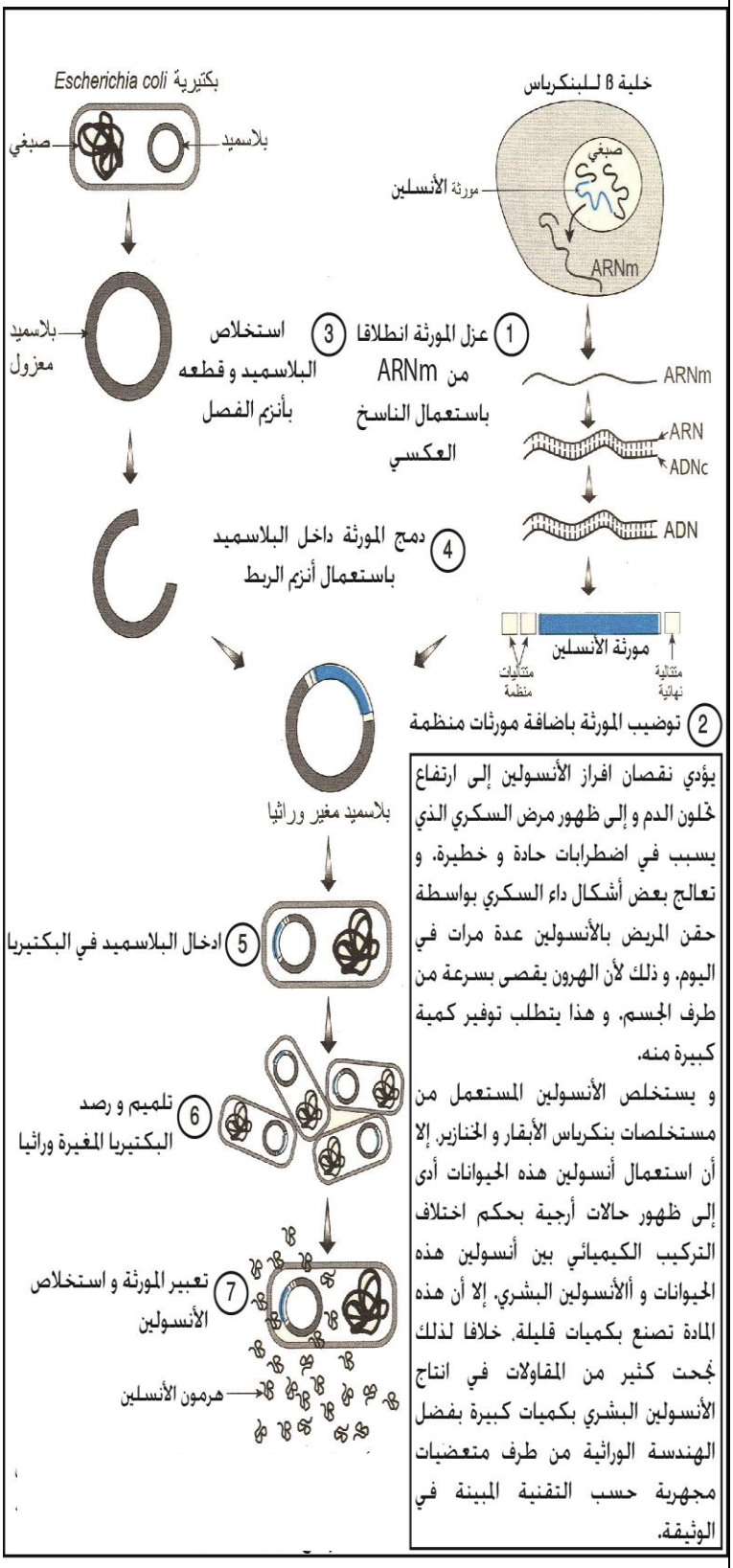
للمزيد من الملفات قم بزيارة الموقع : Talamid.ma

هذا الملف تم تحميله من موقع : Talamid.ma

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 أهم تلك التطبيقات الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين البشري والبروتينات السامة ضد الحشرات الضارة كما توضح الوثيقين التاليتين:

الوثيقة 1: الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين البشري

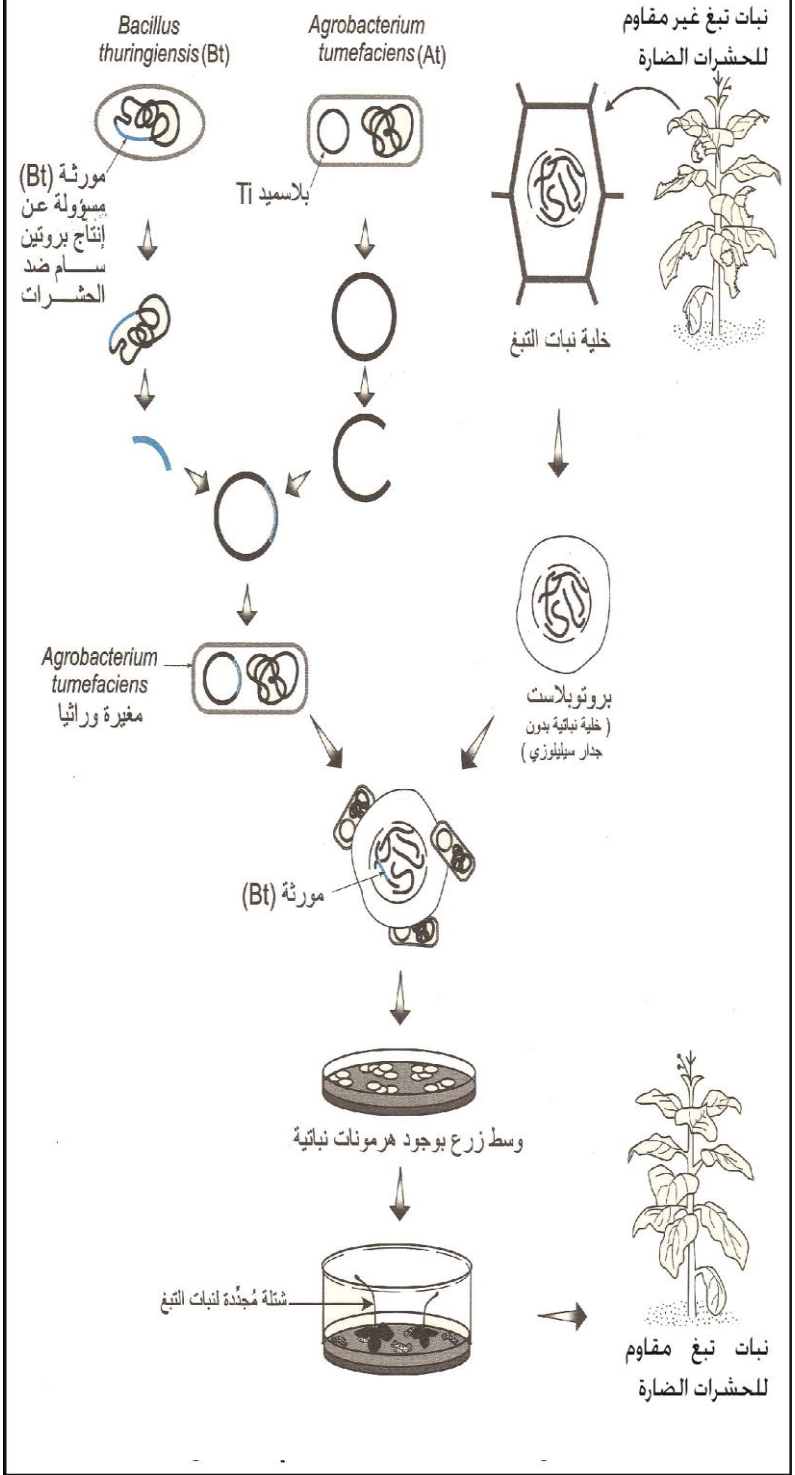


يؤدي نقصان افراز الأنسولين إلى ارتفاع نسبة السكر في الدم و إلى ظهور مرض السكري الذي يسبب في اضطرابات حادة و خطيرة. و تعالج بعض أشكال داء السكري بواسطة حقن المريض بالأنسولين عدة مرات في اليوم، و ذلك لأن الهرون يقصى بسرعة من طرف الجسم، و هذا يتطلب توفير كمية كبيرة منه.

و يستخلص الأنسولين المستعمل من مستخلصات بنكرياس الأبقار و الخنازير. إلا أن استعمال أنسولين هذه الحيوانات أدى إلى ظهور حالات أرجية بحكم اختلاف التركيب الكيميائي بين أنسولين هذه الحيوانات و ألأنسولين البشري، إلا أن هذه المادة تصنع بكميات قليلة. خلافا لذلك نجحت كثير من المقاولات في انتاج الأنسولين البشري بكميات كبيرة بفضل الهندسة الوراثية من طرف متعضيات مجهرية حسب التقنية المبينة في الوثيقة.

الوثيقة 2: الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة ضد الحشرات الضارة

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



التعليمات

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

ذ. محمد اشباني

للمزيد من الملفات قم بزيارة الموقع : Talamid.ma