

التنوع الوراثي للعشائر

باستخدام المعلومات الجزيئية

Lab 8



المحتوى



مقدمة

١



فوائد دراسة وراثة العشائر على المستوى الجزيئي

٢



أمثلة على التقنيات المعملية الجزيئية

٣



إضاءة

٤

المقدمة



لربما لاحظنا يوماً كيف تعبر الجينات بشكل مختلف باختلاف تفاعلها مع الوسط الذي تعيش فيه، فالبذور التي نمت في الظلام تبدو صفراء باهتة اللون، لكن بمجرد تعرضها للضوء تكتسب اللون الأخضر، الجين موجود لكن تفاعلها مع الوسط اختلف. لكن ليست كل الاختلافات ظاهرية، فبعضها خفي يتطلب تقنيات ملائمة للكشف عنها، كاختلاف البروتينات.

لقد بدأ استخدام تقنيات البيولوجيا الجزيئية في دراسة وراثة العشائر عام ١٩٦٠ م.

مصطلحات جزيئية

التكرار الجيني (Gene duplication)

١ له دور في ظهور وظيفة جديدة للجين و معرفة التغيرات في الحامض النووي أو البروتينات المسببة للخصائص البشرية خصوصًا ما يتعلق بالأمراض.

التصنيف الجزيئي (Molecular systematic)

٢ تصنيف الكائنات عن طريق قراءة تتابع قواعد الحمض النووي DNA أو RNA

حجم الجينوم (Genome size)

يقاس حجم الجينوم بطريقتين:

أ- عن طريق عدد أزواج القواعد النيتروجينية أو قواعد

الشريط المفرد للحامض النووي DNA أو RNA

ب- عن طريق قياس قيمة C: وهذه القيمة تشير إلى

كمية DNA في النواة أحادية المجموعة الكرموسومية

أي في الجاميتات.

عملية تطور الجينوم

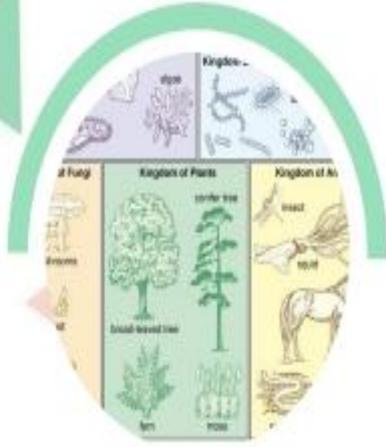
(Genome evolution)

٣ هي الاختلاف في تركيب المتتالية أو حجم الجينوم مع الزمن.

٤



فوائد دراسة وراثة العشائر على المستوى الجزيئي



التصنيف البيولوجي
الدقيق للكائنات أو ما
يسمى بالتصنيف
الجزيئي.

معرفة الجينات المسؤولة
عن بعض الأمراض ومدى
ارتباط هذه الأمراض
بالعشيرة.

تحسين السلالات
الحيوانية و النباتية
واستخدامها في
المجالات الطبية و
الزراعية.

الحفاظ على الأنواع
المعرضة للانقراض و
السلالات المتوحشة و
الحفاظ عليها كمصدر
وراثي.



أمثلة على التقنيات المعملية الجزيئية

النسخ العكسي
لـ DNA

cDNA

إنتاج نباتات
معدلة وراثياً

**Transgenic
plants**

تفاعل البلمرة
المتسلسل

PCR

تهجين الحمض
النوي

**DNA-DNA
hybridization**



أمثلة على التقنيات المعملية الجزيئية

تكبير قطع
مختلفة
الأطوال

AFLP

تكبير المتتاليات
البسيطة التي تقع
بين مواقع التتابع
المجهريّة

ISSR

التتابع
المجهريّة

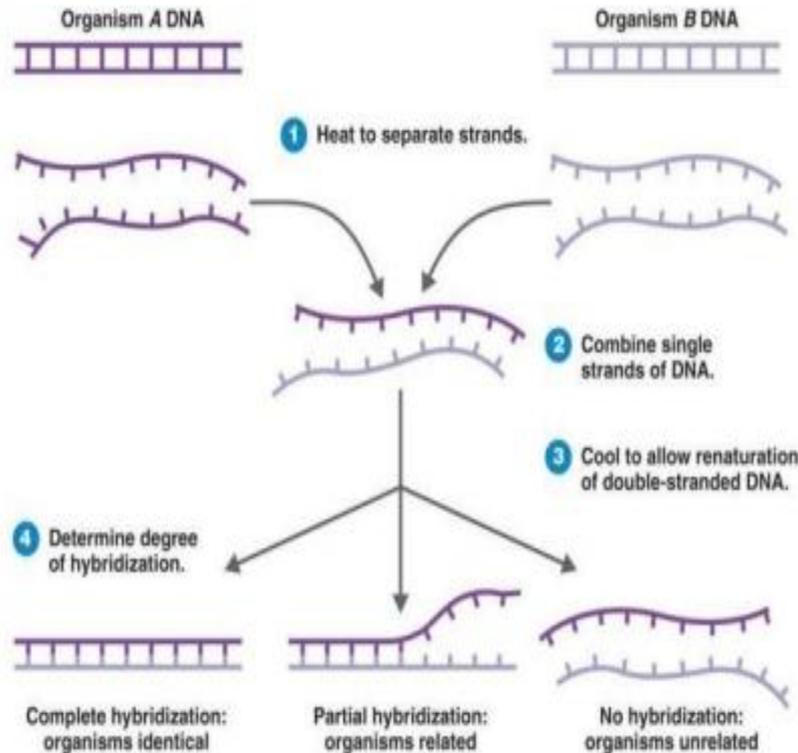
Microsatellites

تكبير قطع
متعددة الأشكال
من DNA
عشوائياً

RAPD

تهجين الحمض النووي

تعتمد هذه الطريقة على ربط شريطين مفردين من الحامض النووي لهما القابلية على الارتباط ببعضهما عن طريق ارتباط قواعدهما النيتروجينية، و هذه الارتباطات تكون غير مستقرة و ضعيفة ما لم تكن النيوكليوتيدات في كلا الشريطين متكاملة.



تفاعل البلمرة المتسلسل

هي تقنية سريعة تحدث **خارج جسم الكائن الحي** في المعمل و يتم خلالها تكبير قطعة من المادة الوراثية لملايين من المرات بغرض التعرف على DNA ، ودراسته **تم عن طريق:**

- ١- فصل الأشرطة المزدوجة و تحويلها إلى أشرطة مفردة في خطوة تسمى "المسخ"
- ٢- يتم استخدام اثنين من البوادئ للتعرف على بداية و نهاية الجزء المرغوب تكبيره وتلتحم به عن طريق تكامل القواعد في خطوة تسمى "الالتحام"
- ٣- و يقوم إنزيم بلمرة DNA باستخدام النيوكليوتيدات الحرة الموجودة في الوسط و وضعها في الأماكن المكتملة و تكرر هذه الخطوة من ٢٠ - ٣٠ دورة بعدها نحصل على ملايين من النسخ من الجزء المراد تكبيره.

PCR Virtual Lab



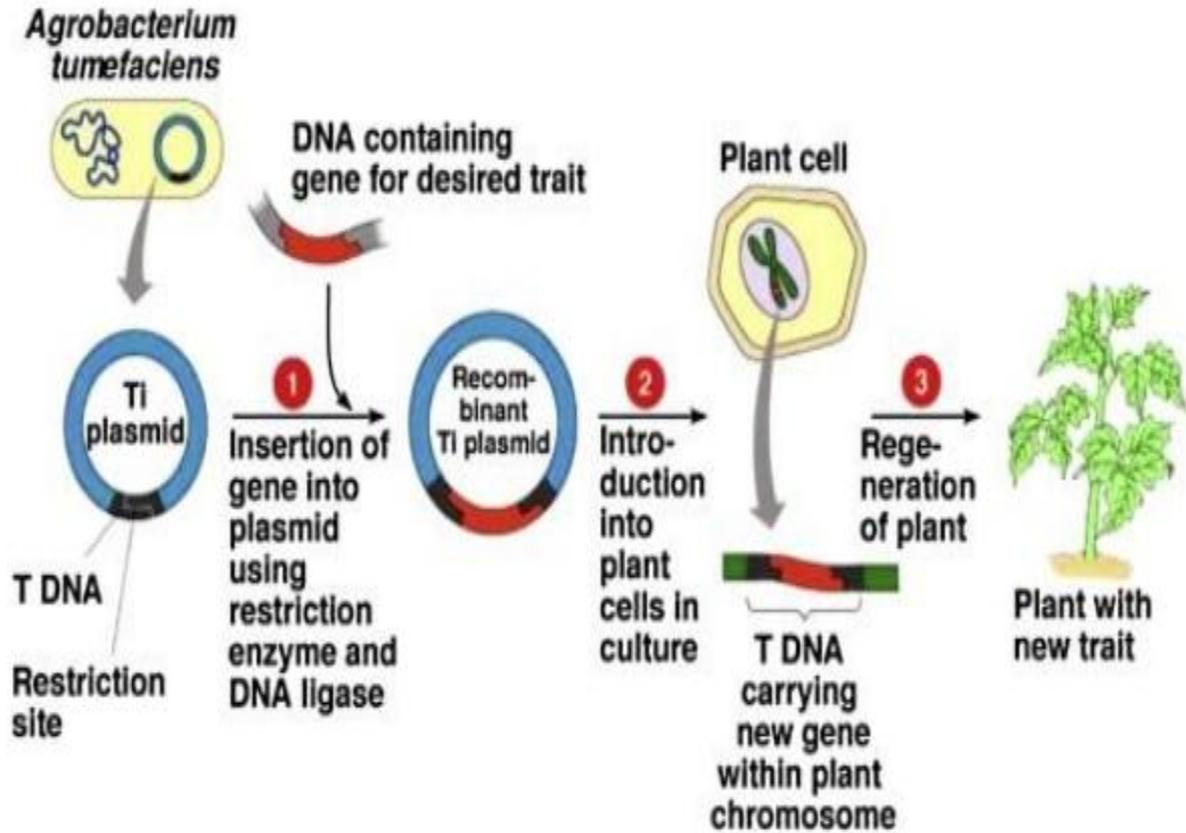
PCR Virtual Lab <http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/pcr/>

إنتاج النباتات المعدلة وراثياً

تستخدم هذه الطريقة لتحسين إنتاج النبات كإضافة جين يساعد النبات على مقاومة بعض الآفات، أو كإضافة فيتامين أ إلى الأرز لتعزيز قيمته الغذائية وتتم هذه العملية عن طريق عدة خطوات:

- ١- عزل البلازميد Ti من بكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*
- ٢- تحميل الجين المرغوب به في البلازميد عند منطقة T DNA باستخدام إنزيمات القطع المحدد
- ٣- البلازميد المعاد تركيبه يمكن إدخاله إلى النبات بإحدى هاتين الطريقتين :
 - أ- التخريم الكهربائي لخلية النبات
 - ب- إعادة البلازميد للبكتيريا و وضعها في معلق مائي ثم يتم وضعها على أوراق النبات ثم تحدث الإصابة
- ٤- بمجرد دخول البلازميد لخلية النبات الـ T DNA الخاص بالبلازميد يندمج مع كرموسوم خلية النبات

إنتاج النباتات المعدلة وراثياً



النسخ العكسي DNA

تتم هذه العملية في المعمل خارج جسم الكائن الحي حيث يتم فيها نسخ ال DNA من mRNA عن طريق إنزيم النسخ العكسي و الفائدة من هذه العملية هي الحصول على خيوط من ال DNA خالية من المناطق الغير مشفرة "introns" ، بالإضافة إلى دراسة جين معين و مدى ارتباطه بالمناطق الغير مشفرة

الخطوات:

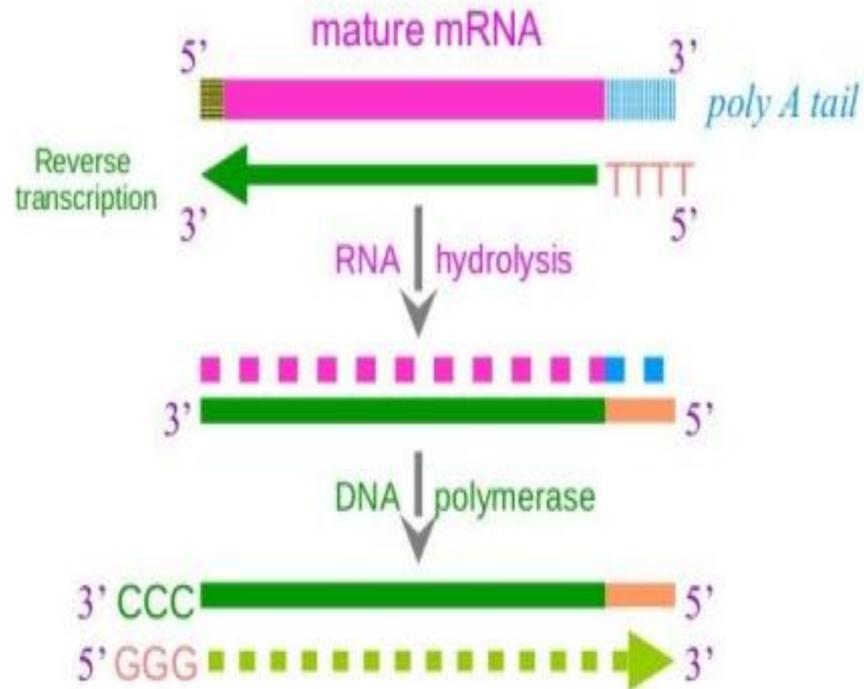
- ١- يتم وضع إنزيم النسخ العكسي في إنبوبة اختبار تحتوي على mRNA من خلية محددة
- ٢- تتم استطالة خيط ال DNA عن طريق امتداد البادئ dt's على poly-A tail لل mRNA
- ٣- يقوم إنزيم بهضم ال mRNA بعد أن تم نسخ القواعد النيتروجينية منه
- ٤- يقوم إنزيم بلمرة DNA بتصنيع الخيط المكمل للخيط الجديد

النتيجة:

الحصول على خيط مزدوج من ال DNA خالٍ من المناطق الغير مشفرة و يطلق عليه (cDNA)

النسخ العكسي لـ DNA

cDNA Is Reverse Transcribed from mRNA



تكبير قطع متعدد الأشكال من DNA عشوائياً

هي تقنية يتم فيها تكبير قطع عشوائية من الجينوم المراد دراسته باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل. يستخدم فيها عدة بوادئ قصيرة مكونة من شريط مفرد و مصممة بطريقة عشوائية.

تستخدم هذه التقنية: للتفرقة بين الأفراد المختلفة وراثياً و في دراسة التنوع الوراثي في الأنواع النباتية و الحيوانية.

التوابع المجهرية

هي عبارة عن تسلسل بسيط من النيوكليوتيدات من ٢-٦ نيوكليوتيدة تتكرر للعديد من المرات وهي أماكن شديدة التنوع و عدد التكرارات بالنسبة لموقع وراثي معين تختلف بين الأفراد و الذي يفسر بوجود أليلات مختلفة لهذه المواقع، وهي أيضاً مواقع لحدوث قدر كبير من الطفرات، و هي

مناسبة كمعلومات جزيئية في:

- ١- إثبات النسب.
- ٢- دراسة التنوع الوراثي.
- ٣- رسم الخرائط الوراثية.
- ٤- معرفة حدوث تضاعف أو فقد للجين.

تكبير المتتايات البسيطة التي تقع بين مواقع التوابع المجهرية

يعني ذلك تكبير المناطق الجينومية ذات التتابعات البسيطة و التي تقع بين التوابع المجهرية. تستخدم أجزاء من النيوكليوتيدات المكملة لاثنين متجاورين من التوابع المجهرية كبادئ في تفاعل البلمرة المتسلسل لتكبير هذه المناطق و تكون نتيجة التفاعل تكبير أجزاء مختلفة التتابع و مختلفة الأطوال من خيوط ال DNA . و في الغالب تكون القطع المكبرة قصيرة ولكنها مختلفة تماماً في أطوالها.

لهذه التقنية استخدامات عديدة منها:

- ١- عمل البصمة الوراثية .
- ٢- تحديد القرابة الوراثية بين العشائر .
- ٣- كمعلم للجينات .
- ٤- الكشف عن عدم استقرار الجينوم .
- ٥- التحديد الدقيق للأنواع.

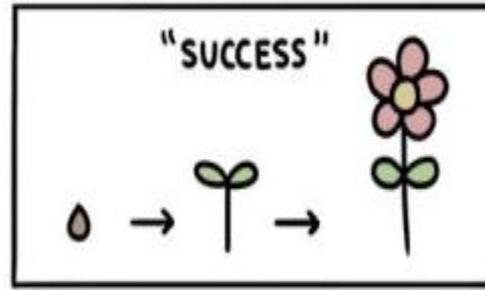
تكبير قطع مختلفة الأطوال

تعتمد هذه التقنية على تكبير القطع مختلفة الأطوال و الناتجة عن هضم الجينوم بالكامل بعدد من إنزيمات القصر و يتم التكبير باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل هذه التقنية تجمع بين دقة استخدام إنزيمات القصر و قوة التكبير باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل. تستخدم هذه التقنية للكشف عن مدى واسع من التنوع الوراثي فهي تصلح لعمل مسح للجينوم بالكامل و في تطبيق عمل البصمة الوراثية للكائنات



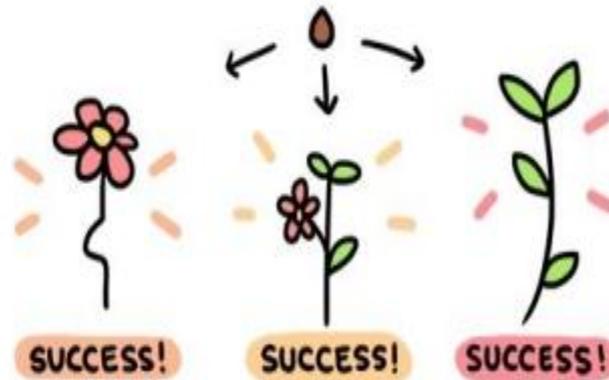
إضاءة

you don't have to fit the mold.



CHIBIRD

you can be different! we need that!



chibird.com

Good
Luck

تم بحمد الله