



الجمهورية العربية السورية

وزارة التعليم العالي

جامعة حماة

كلية الزراعة

# علم الأحياء الدقيقة

## MICROBIOLOGY

( الجزء النظري )

المحاضرة الثانية عشر

إعداد

الدكتور عبد الواحد الطحلي

دكتوراه باختصاص الأحياء الدقيقة

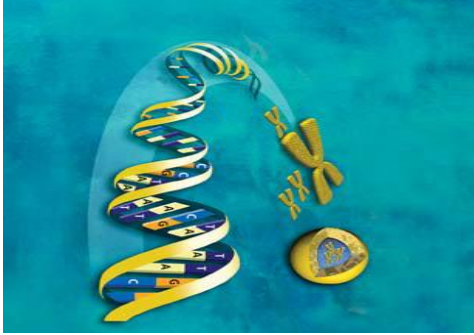


جامعة حماة 2019 - 2020

## وراثة الأحياء الدقيقة

### Microbial Genetics

#### • مقدمة Introduction:

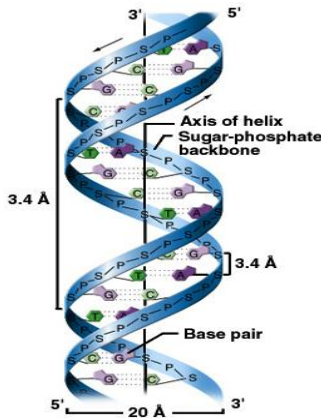


خلق الله الكائنات الحية من الخلايا التي فيها جميع أسرار الكائن الحي لما تحتويه نواتها من آلاف المورثات فقد كشفت الأبحاث العلمية أهمية الحمض النووي DNA الذي يحمل أسرار الكائنات الحية.

تقسم الأحياء إلى قسمين رئيسيين هما الأحياء بدائية النواة والأحياء حقيقية النواة، وتضم المجموعة الأولى الجراثيم والأركيا Archaea، بينما تضم المجموعة الثانية باقي الأحياء من الفطريات والنباتات والحيوانات. تُعدّ الجراثيم من الكائنات المميزة للدراسات الوراثية من بين الكائنات الحية المختلفة لأنها متنوعة صغيرة الحجم وتنمو في مكان وحيز صغير جداً وتتكاثر بشكل سريع.

تتميز الأركيا وهي المجموعة الثانية من الأحياء بدائية النواة بالعيش في ظروف متطرفة كما تعيش في القناة الهضمية للحيوانات المجترة بشكل تعايشي مع أحياء أخرى متباينة التخمر، وهذه المجموعة ذات أهمية كبيرة في التقنية الحيوية نظراً لأن بعضها يستطيع العيش في درجات حرارية أكثر من 100°م لذلك تكون إنزيماتها ثابتة حرارياً كما في استخدام إنزيم إكثار الحمض النووي (DNA Taq polymerase) في تقنيات PCR المنتج من جراثيم *Thermus aquaticus*.

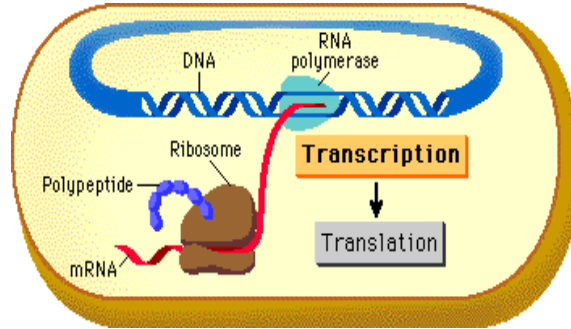
#### • تركيب الحمض النووي DNA:



تتألف المادة النووية في بدائية النواة مثل الجراثيم من الحمض النووي منقوص الأكسجين DNA Deoxyribonucleic acid الدنا الخالي من بروتينات الهستونات، وهي جزيئات منفردة تأخذ شكل دائري عبارة عن سلسلتين ملتفتين حول بعضهما مرتبطتين بقواعد هيدروجينية توجد في أغلب الجراثيم، والجينوم Genome غير محاط

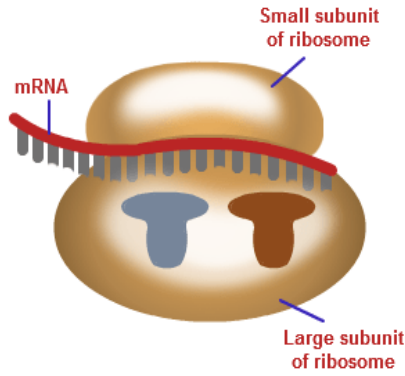
بغشاء نووي (لا توجد نواة حقيقية) لذلك صنف الجراثيم مع طلائعيات النوى ويكون الصبغي في الجراثيم ملتصق بالغشاء السيتوبلازمي، والجراثيم لا تملك مقدرات (جسيمات كوندرية) لكنها تحوي

خمائر تنفسية خاصة في الغشاء السيتوبلازمي مسؤولة عن إنتاج الطاقة، ولا يوجد في هيولى الجراثيم جهاز غولجي لكنها تحوي أجسام ريبية Ribosomes (الشكل 1-11).



الشكل (1-11): المادة النووية في الأحياء بدائية النواة

#### • الريبوسومات Bacterial Ribosome's:



حبيبات صغيرة الحجم كثيرة العدد توجد في السيتوبلازم وفي كل الجراثيم تصنع البروتينات. تتكون الريبوسومات من وحدتين صغيرتين إحداهما أكبر من الثانية ولهما ثابت ترسيب يساوي S70 بينما ثابت الترسيب في خلايا حقيقيات النوى يساوي S80. (وحدة الترسيب Svedberg رمزها S وهي وحدة

لقياس معدل ترسيب الجزيئات بجهاز الطرد المركزي أو المثقلة)، ولهذا الأمر أهمية طبية كبرى حيث أن إحدى آليات القضاء على الجراثيم تعتمد على تركيب صادات حيوية تثبط عمل ريبوزومات الجراثيم بشكل نوعي دون أن تؤثر على ريبوزومات الإنسان فتموت تلك الجراثيم بسبب توقف تركيب البروتين عندها.

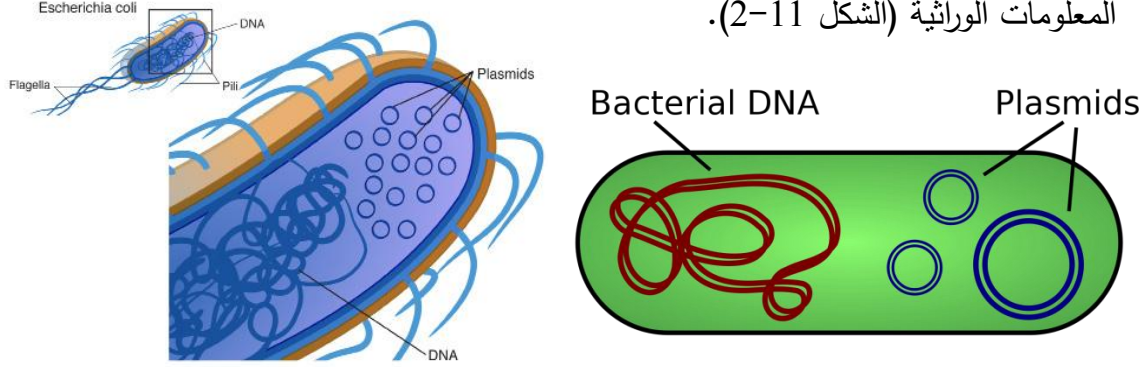
#### • البلاسميدات Plasmids:

عبارة عن دنا بلازميدي غير دنا الصبغيات وهو ليس ضروري لحياة الجراثيم يتضاعف باستقلالية ويحمل صفات وراثية إضافية فهو من النواقل المهمة في تجارب الاستنساخ وظيفته:

- 1- مقاومة المضادات الحيوية.
- 2- يساعد الجراثيم في إنتاج الإنزيمات وإفراز بعض السموم مثل سموم الكزاز وسموم البكتريوسينات Bacteriocins وهي بروتينات تعمل على تحطيم الجراثيم المنافسة.

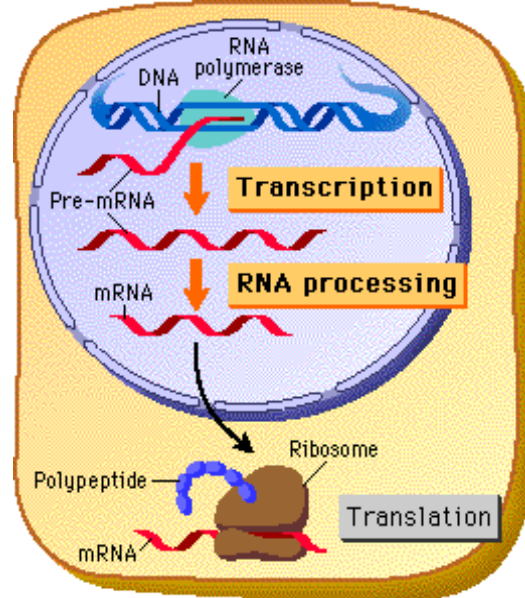
3- يجعل الجراثيم مقاومة لدرجات الحرارة المتطرفة وفيه جينات تكوين العقد الجذرية وتثبيت الآزوت في البقوليات، وجينات تخمير اللاكتوز وتحليل البروتين في جراثيم حمض اللاكتيك.

4- يحمل صفة التزاوج بين الجراثيم كالجينات المسؤولة عن اقتران خلايا الجراثيم وتبادل المعلومات الوراثية (الشكل 2-11).



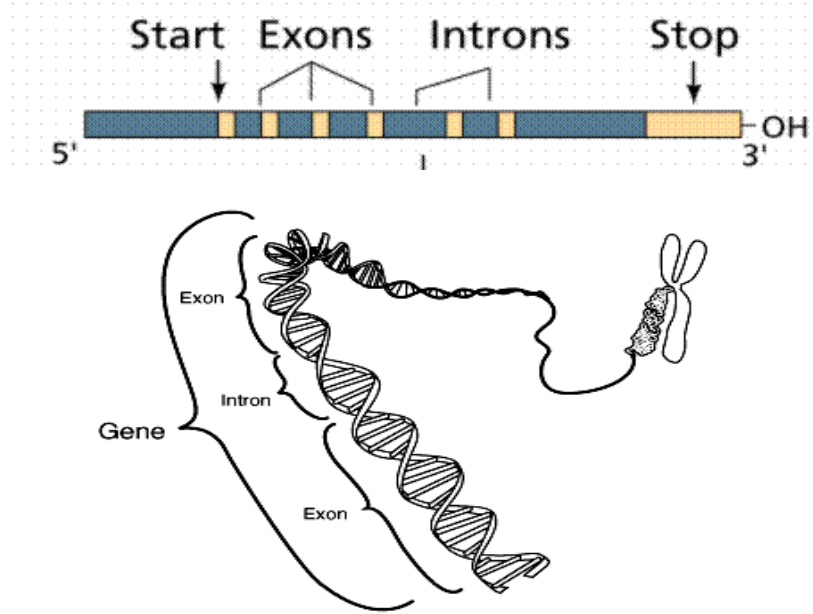
الشكل (2-11): البلاسميدات Plasmids عند الجراثيم

تتميز الأحياء حقيقية النواة باحتوائها على النواة أي أن مادتها الوراثية محاطة بغشاء يُظهر نضوحية انتقائية بسبب وجود ثقب تتكون من معقدات بروتينية تسيطر على دخول المواد وخروجها من النواة، وتتركب مادتها النووية من DNA الذي يترتب بشكل حلزوني مزدوج متصل بالهستونات (وهي بروتينات قاعدية)، وتحوي حقيقيات النواة على النوية الغنية بالحمض النووي RNA وهي مكان تركيب RNA الريبوزومي (الشكل 3-11).



الشكل (3-11): المادة النووية في الأحياء حقيقية النواة

تحدد كمية DNA كمية المعلومات التي يمكن أن تشفر لها لذلك فإن جينات الخلايا حقيقية النواة تحوي على الإكسونات Exons التي تمثل مناطق مشفرة، والإنترونات Introns التي تمثل مناطق غير مشفرة لكنها تساهم في عمليات تنظيم التعبير الجيني ونسخ RNA (الشكل 11-4).



الشكل (11-4): الإكسونات Exons مناطق مشفرة، والإنترونات Introns مناطق غير مشفرة

يجب أن تمتلك الأحياء الدقيقة أنظمة إصلاح لمادتها الوراثية لأن أي ضرر يصيب الجينوم يؤدي إلى كارثة على الخلايا إن لم تكن مميتة لذلك تحاول الأحياء التأقلم لتستمر بالحياة، وهناك العديد من العوامل البيئية التي تؤثر على الخلايا أهمها دخولها في طور الاستقرار حيث تزداد الأعداد والفضلات مما يؤدي إلى ظهور الطفرات إضافة إلى عوامل بيئية أخرى كالأشعة والجفاف والتعرض للمواد الكيميائية والمضادات الحيوية جميعها تؤدي إلى أضرار في DNA منها:

1- كسور في أحد أشرطة DNA وهذه يمكن إصلاحها بالإنزيمات اللاحمة وعادة لا تؤدي إلى موت الخلايا.

2- كسور في أشرطة DNA المزدوجة وهذه لا يمكن إصلاحها بالإنزيمات اللاحمة وتكون مميتة في أغلب الأحيان لذلك تفكك بالإنزيمات المحللة للمواد الوراثية Nucleases.

3- إحداث تغيير في القواعد الأزوتية ينتج عن ضرر تأكسدي والذي ينتج من نشاط الخلايا نفسها أيضاً مثل عمليات التنفس، وعادة تكون هذه التغييرات مميتة لأنها تصبح حواجز أمام عملية تضاعف أشرطة DNA عند نقطة الضرر.

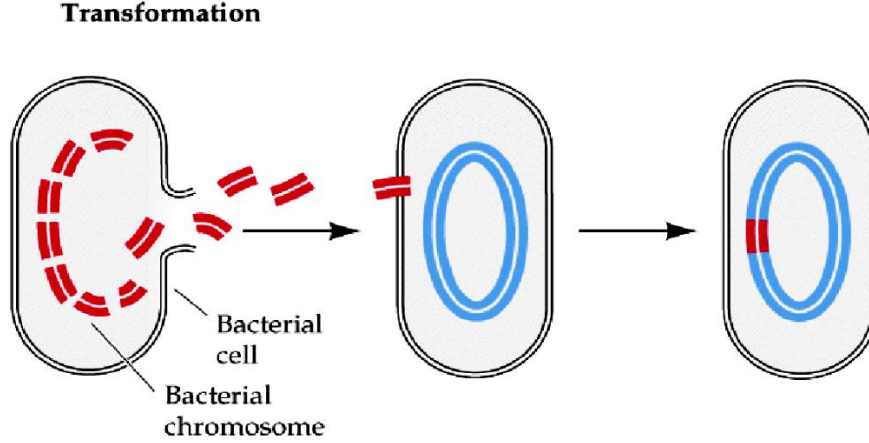
- يتخذ ضرر DNA أشكال مختلفة لذلك وجدت أنظمة إصلاح متعددة، ومن أهم عمليات إصلاح المادة الوراثية ما يلي:
- 1- الإصلاح الضوئي Photoreactivation بمساعدة حمض الفوليك كمتتم إنزيمي.
  - 2- الإصلاح الاستئصالي Excision repair بمساعدة الإنزيمات القاطعة المصححة.
  - 3- نظام إصلاح عدم التلاؤم Mismatch repair system (MMR): يتكون من عدة جينات وهو مسؤول عن الإصلاح بعد التضاعف ويساهم في عملية التطور وتجنب الطفرات.
  - 4- نظام الاستغاثة (SOS) Save Our Souls: وهو منظم كبير عام يستجيب للضرر الذي يحصل في DNA مؤدياً إلى تحفيز حوالي 20 جين تعمل في مسارات مختلفة للإصلاح، وعندما يتعطل هذا النظام بالطفرات تموت الخلايا.

#### • تبادل المعلومات الوراثية عند الأحياء الدقيقة:

تنتقل الصفات الوراثية في الأحياء بنوعين من الانتقال هما العامودي والأفقي أو الجانبي ويمثل الانتقال العامودي توارث المواد الوراثية من الآباء إلى الأبناء بينما يمثل الانتقال الجانبي Lateral gene transfer تبادل المعلومات وإعادة ترتيب جينومات الأحياء وهو المستعمل في الهندسة الوراثية وتحسين السلالات ويمكن أن يحصل طبيعياً يساعد في تطور الأحياء بسرعة أكبر من حدوث الطفرات، وهذا أدى إلى ظهور البلاسميدات المسؤولة عن مقاومة الأدوية والمضادات الحيوية وزيادة ضراوة بعض الجراثيم الممرضة كالسالمونيلا *Salmonella*. إن الكائنات الحية الدقيقة في الطبيعة تتبادل المعلومات الوراثية فيما بينها بأساليب وطرائق مختلفة هي:

#### 1- التحويل Transformation (الشكل 11-5):

تتحلل الأحياء الدقيقة بعد موتها ويتجزأ الحمض النووي DNA إلى قطع صغيرة تنتقل إلى خلية جرثومية ثانية مندمجة مع الدنا الخاص بها مانحة الخلية الصفات الوراثية المحمولة عليها، وقد لوحظت هذه الظاهرة في عدد كبير من جراثيم *Bacillus*، و *Streptococcus pneumonia* (ذات الرئة) التي اكتسبت صفة تكوين الكبسولة وتحولت إلى جراثيم ضارية بهذه الطريقة.



الشكل (11-5): عملية التحويل Transformation عند الجراثيم

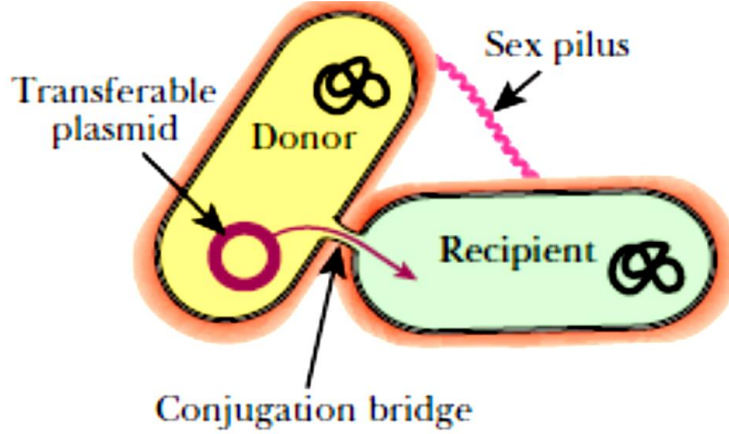
## 2- التوصيل أو التمرير Transduction:

هو انتقال جزء من الدنا من جراثيم إلى أخرى بواسطة العاثي الجرثومي Bacteriophage عند إصابة خلية جرثومية جديدة بهذا العاثي وبذلك تكون الجراثيم قد اكتسبت الصفات الجديدة، وليس بالضرورة أن تكون القطعة المنقولة من الدنا الجرثومي فقد تكون جزء من البلاسميد ولاسيما البلاسميدات المقاومة للمضادات الحيوية كما يحدث في جراثيم *Stahylococcus aureus* التي اكتسبت صفة المقاومة للبنسيلين بهذه الطريقة.

## 3- الاقتران Conjugation:

هي عملية اقتران خليتين من الجراثيم تسمى أحدهما الواهة Donor لاحتوائها على بلاسميد الخصوبة يرمز لها  $(F^+)$ ، أما الخلية الجرثومية الثانية فتدعى بالخلية المستلمة Recipient التي تكون خالية من بلاسميد الخصوبة يرمز لها  $(F^-)$  (الشكل 11-6)، وعند انتقال البلاسميد تصبح الخليتين من نوع  $(F^+)$ ، وشوهدت هذه الظاهرة في جراثيم *E.coli*، *Pseudomonas*، و *Vibrio*. يحدد التزاوج الجرثومي وجود أهداب جنسية Sex pili على سطح الخلية، وعند تلامس الهدبة الجنسية مع جدار الخلية المستقبلة تبدأ العمليات الآتية: ينكسر أحد خيوط DNA للبلازميد وينحل الازدواج ويدخل الخيط إلى الخلية المستقبلة بدءاً من النهاية 5، ثم يبدأ بناء خيط متمم من DNA بواسطة إنزيم DNA-polymeras في كلا الخليتين بشكل يشبه النسخ (التكاثر) الطبيعي مع اختلاف في النهاية حيث توضع أحد النسخ في الخلية المستقبلة وتبقى النسخة الثانية في الخلية الواهة، وبعد ذلك تحصل استدارة البلازميد في الخلية المستقبلة. يحدث الاقتران في الجراثيم موجبة غرام بشكل مختلف عن الذي يحصل في الجراثيم سالبة غرام، ففي الجراثيم موجبة غرام تنتج الخلايا

الواهة اللاصقات التي تساعد على تجمعها مع الخلايا المستقبلية لأن هذه الخلايا لا تحتوي على الشعيرات الجنسية، وفي بعض أنواع الجنس *Streptococcus* تفرز الخلايا مواد فرمونية تؤدي إلى تحفيز الخلايا الحاوية على البلازميدات الاقترانية لكي تصبح خلايا واهبة، والبلازميد الاقتراني يمنع الخلايا الموجودة فيها (الخلايا التي ستتحوّل إلى واهبة) من تكوين فرمونات مشابهة.



الشكل (11-6): عملية الاقتران Conjugation عند الجراثيم

ترتبط المادة الوراثية لأي كائن حي مع قطعة من DNA لكائن حي آخر (من النوع نفسه أو من نوع آخر) بإحدى الآليات الثلاث (التحويل والتوصيل والإقتران) بشكل طبيعي أو عبر طرائق مخبرية مقصودة تسمى الدنا المطعوم Recombinant DNA، والخلية الحاوية على مادة وراثية من هذا



النوع تسمى خلية ذات توليفة وراثية جديدة (معدلة وراثياً). إنّ تكوين توليفات وراثية جديدة بين الكائنات الحية يشكل أساس علم الهندسة الوراثية الذي يتخطى حاجز النوع والجنس فقد ساعدت الهندسة الوراثية في تحسين النباتات والمحاصيل كالرز الذهبي الذي تمّ تعديله لزيادة محتواه من فيتامين A والحديد، وإنتاج الذرة الشامية ذات القيمة الغذائية العالية من الأحماض الأمينية المشابهة من حيث القيمة الغذائية للبروتين الحيواني لإنقاذ ملايين البشر والحيوانات.

### • الأحياء الدقيقة المستخدمة في التقنية الحيوية:

تعتمد التقنية الحيوية الحديثة على الميكروبات المعدلة وراثياً لإنتاج الغذاء، المواد الكيميائية، الأدوية، والوقود، وكانت الجراثيم أول الكائنات التي تم تعديلها وراثياً في عام 1973، ثم تلاها الفئران في عام 1974، وقد تم بيع الأنسولين الذي تنتجه الجراثيم في عام 1982 بينما بدأ بيع الغذاء المعدل وراثياً منذ عام 1994.

تمتاز الأحياء الدقيقة المجهرية بعدة ميزات تؤهلها للاستعمال في عمليات التقنية الحيوية منها:

- 1- سريعة النمو ذات تنوع حيوي كبير ويمكن إنتاج أعداد كبيرة منها وهذه الإمكانية غير متوفرة في الأحياء متعددة الخلايا مثل النباتات والحيوانات.
  - 2- الأنظمة الوراثية فيها أقل تعقيداً من الأحياء الراقية مما يسهل عمليات التطفير والنسخ.
  - 3- تحوي العديد من المسارات الاستقلابية الأيضية للمادة الواحدة عكس الخلايا الراقية التي تكون فيها هذه المسارات محدودة.
  - 4- تستطيع التأقلم السريع لاستهلاك مواد رخيصة متوفرة في الطبيعة.
  - 5- معظمها لا يعاني من الشيخوخة بعد عدة أجيال وإن كان ذلك فلا بد من أن تنشأ مجموعة من الخلايا تحافظ على النوع.
- تُستخدَم الكائنات الحية الدقيقة على نطاق واسع في مشاريع التقنية الحيوية على سبيل المثال إنتاج البروتينات كالأنسولين، والتخمير كإنتاج الخبز واللبن والجبن والمخللات والسيلاج والأغذية العلاجية، واستخدام الجراثيم في إنتاج الاسمدة الحيوية بدلاً من استخدام الاسمدة الكيميائية، وفي تنقية المياه من الملوثات، والتخلص من المخلفات العضوية، وتصنيع المركبات الكيميائية كالإنزيمات والكحول والحموض العضوية، والمضادات الحيوية واللقاح واستخدام الكائن الدقيق كناقل لبعض الجينات التي تحمل الصفات المرغوبة (الشكل 11-7).

هناك بعض الجراثيم ذات أهمية مميزة في التقنية الحيوية مثل:

*Streptomyces*، *Bacillus subtilis*، *Pseudomonas putida*، *Escherichia coli*

*Streptococci*، *Lactobacilli*، *Corynebacterium glutamicum*، *coelicolor*

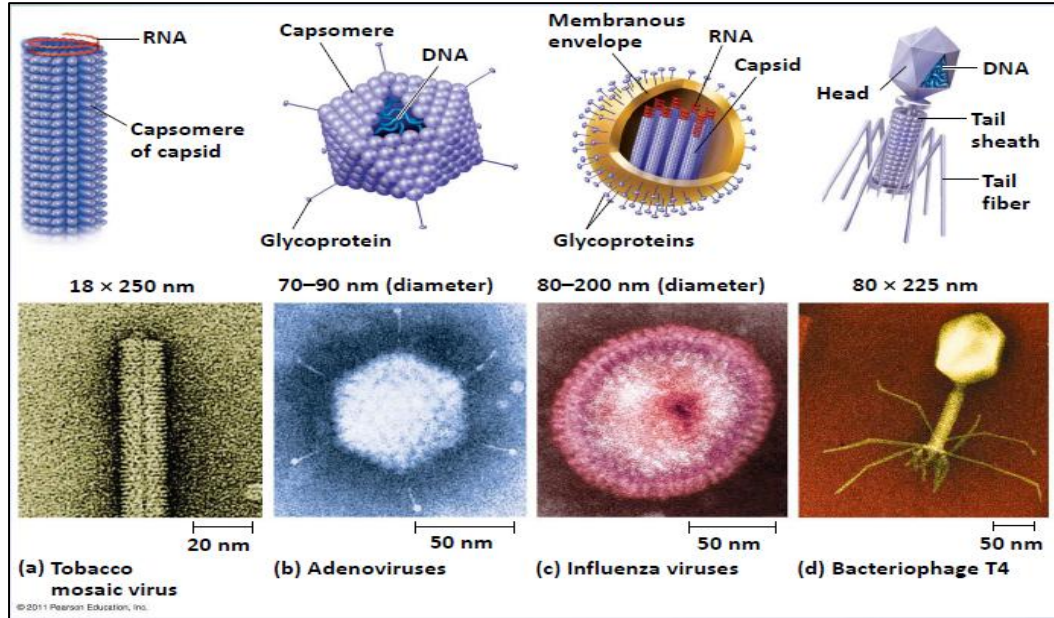
تعدّ الأجناس الفطرية التالية ذات أهمية كبيرة في التقنية الحيوية هي:

*Basidiomycetes*، *Mucor*، *Rhizopus*، *Aspergillus*، *Penicillium*

تضم الخمائر المهمة في التقنية الحيوية مايلي:

*Candida albican*، *Candida utilis*، *Sacharomyces cerevisiae*

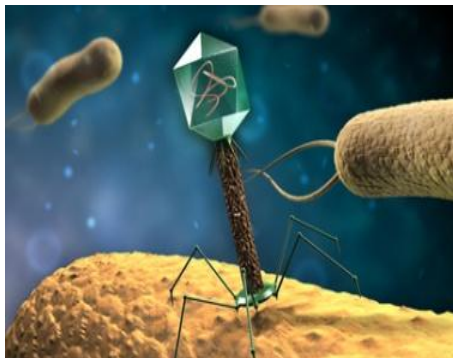
*Pichia pastoris*، *Hansenula polymorpha*، *Schizosaccharmoyces pombe*



الشكل (7-11): بعض الفيروسات المستخدمة كنواقل في العلاج الوراثي

#### • العاثيات الجرثومية Bacteriophages (آكلات الجراثيم):

فيروسات تتضاعف داخل خلايا الجراثيم كطفيليات مجبرة فهي خاملة خارج الخلايا، وتعد من الوسائل الفعالة في دراسة الفيروسات وفي الهندسة الوراثية والتقنية الحيوية منها العاثي لمدا (٨). تتكون العاثيات من غلاف بروتيني يحوي داخله الحموض النووية RNA أو DNA، ويتراوح جينوم العاثي من 2-200 كيلو قاعدة على شكل أشرطة مفردة أو مزدوجة، وهو مثل البلاسميدات لكنه يشفر لبروتينات الغلاف الفيروسي وبروتينات أخرى غير تركيبية ضرورية لتجمع جزيئات العاثي.



تصنف العاثيات إلى مجموعتين هي الضارية Virulent والمعتدلة Temperate، وهناك اختلاف في سلوك العاثي داخل المضيف فالعاثي Phage 1 الذي يصيب الجراثيم *E. coli* يندمج مع صبغي الخلية ويتضاعف معه بينما العاثي الأولي Prophage P1 الذي يصيب الجراثيم نفسها يتضاعف كبلاسميد بشكل مستقل.

من الجدير بالذكر أن العاثيات يمكن أن تمتلك جينات ليس لها علاقة بتحليل الخلايا ويسمى التعبير عن هذه الجينات بتحول العاثي Phage conversion ومن هذه الحالات المهمة من الناحية الطبية ما يحدث في إنتاج سم الخناق في جراثيم *Corynebacterium diphtheriae*، وإنتاج سم البوتولينوم في جراثيم *Clostridium botulinum*، وإنتاج سموم الشيغا Shiga – toxins في جراثيم *E. coli*.

### انتهت المحاضرة