وراثيـــات البكتيـريا

The Genetics of Bacteria

مقدمة:

عندما درس الباحثون آليات التضاعف عند الفيروسات، توصلوا إلى معرفة الآليات التي تنظّم كلاً من انتساخ ال DNA والتعبير الوراثي في الخلايا. وتحتل البكتيريا –كنماذج ميكروبية– نفس الأهمية في الأبحاث الوراثية. فالبكتيريا خلايا بدائية النوى، تُمكن الباحثين من سبر الوراثيات الجزيئية في أبسط الكائنات الحية الحقّة. لقد تراكمت حديثاً المعلومات حول أعدادٍ هائلةٍ من أنواع بدائيات النوى بفضل رواج سلسلة الجينوم genome sequencing على نطاق واسع. سنسلط الضوء على بكتيريا معوية دُرست جيّداً هي الإيشريشية الكولونية E. coli والتي تدعى أحياناً " فأر مختبر البيولوجيا الجزيئية ".

أولاً: الجينوم البكتيري وانتساخه:

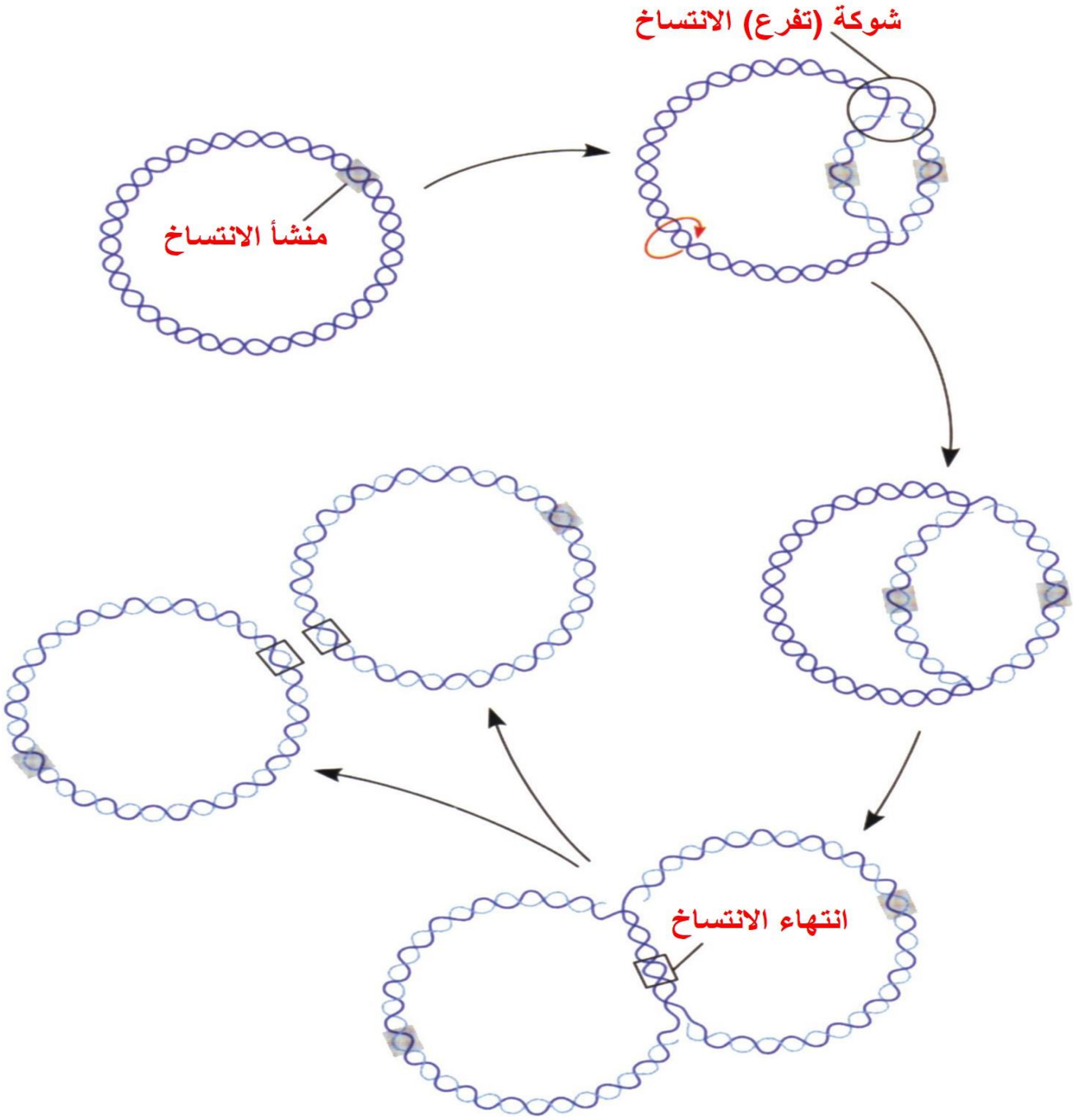
إن المكون الأساسي لجينوم معظم البكتيريا هو جزئية DNA حلقية واحدة مضاعفة السلسلة تشترك مع كميّة صغيرة من البروتين. سنطلق على هذه البنية تسمية الكروموسوم البكتيري bacterial chromosome وإن كانت بعيدة كل البعد عن كروموسومات حقيقيات النوى، التي هي جزئيات من DNA خطي تشترك مع كمية كبيرة من البروتين. يتكون ال DNA الكروموسومي في الإيشريشية الكولونية مما يقرب من 4.6 مليون زوجٍ نكليوتيدي، تُمثل حوالي 4400 مورثة. وهذا يفوق الDNA الموجود في فيروس نموذجي بمئة مرة، لكنه لا يشكل سوى واحد بالألف من متوسط ال DNA الموجود في خلية الإنسان.

يصل طول جزيء ال DNA في البكتيريا إلى حوالي المليمتر، أي أطول من الخلية بخمسمئة مرة، إذ يوجد داخل البكتيريا بروتينات معينة تجعل الكروموسوم محكم الالتفاف. يتوضع الكروموسوم البكتيري ضمن الخلية في منطقة تُدعى بالمنطقة النَوَوانيّة (شبه النواة) nucleoid، ولا يُحاط بغشاء على العكس من نواة الخلية الحقيقية النوى. وفضلاً عن الكروموسوم، تمتلك أيضاً العديد من البكتيريا بلاسميدات (حلقات من ال DNA أشد صغراً) ويملك كل بلاسميد عدداً قليلاً من المورثات فقط، من بضع إلى عدة عشرات.

تنقسم الخلايا البكتيرية بفضل الانقسام الثنائي binary fission يسبقه انتساخ الكروموسوم البكتيري. يتقدم اصطناع ال DNA في كلا الاتجاهين حول الكروموسوم الحلقي منطلقاً من منشأ الانتساخ المفرد (الشكل 9:1) يمكن للبكتيريا أن تتكاثر بسرعة شديدة في بيئة مناسبة. فمثلاً، تستطيع الإيشريشية الكولونية المتنامية في ظروف مثالية أن تنقسم كل عشرين دقيقة. ويمكن في غضون 12 ساعة أن تنتج كتلةٌ أو مستعمرة colony

د. حسان حسن

يتراوح عددها من 10^7 إلى 10^8 من البكتيريا في مزرعة مخبرية من طبق آغار حاوٍ على المغذيات، بدأت بخلية واحدة. وقد تكون معدلات التناسل أبطء في موئل الكائن الحي الطبيعي كالأمعاء الغليظة للثديات (الكولون).



الشكل (9:1): انتساخ الكروموسوم البكتيري: يتقدم انتساخ الDNA انطلاقاً من منشأ واحد في كلا الاتجاهين حول الكروموسوم الحلقي إلى أن ينتسخ كامل الكروموسوم. تعمل الأنزيمات التي تقطع الحلزُون المزدوج double helix وتجد له (السهم الأحمر)، وتعيد ختمه على منع شريكة الDNA. ورغم أن اتجاه انتساخ ال DNA في محمله يسير خارجاً من المنشأ في كلا الاتجاهين. فإنه يتكون بشكل متقطع سلسلة واحدة جديدة عند كل شوكة انتساخ في اتجاه يرجع خلفاً نحو الأصل

ثانياً: الطفرة والتَأَشُّب الجيني كمصدرين للتنوع الجيني

يعد الانقسام الثنائي عملية لا تناسلية (إنتاج ذرية من والد مفرد)، وبذلك تكون معظم بكتيريا المستعمرة مماثلة وراثيّاً للخلية الوالدة. لكن يمكن للطفرة mutation أن تُحدث اختلافاً طفيفاً في التركيبة الوراثية لبعض النسل. إن احتمال حدوث طفرة عفوية في مورثة محددة من الإيشريشية الكولونية يصل وسطياً مع كل انقسام إلى 1×10^{-7}، أي واحد فقط من كل عشرة ملايين. لكن بين الخلايا الجديدة من الإيشريشية الكولونية الـ 2×10^{10} التي تنشأ كل يوم في كولون إنسان واحد، سيكون هنالك (2×10^{10}) (1×10^{-7}) 2000= بكتيريا تحمل طفرة في تلك المورثة.

وعندما نأخذ بالحسبان جميع الأربعة آلاف وثلاثمائة مورثة التي تملكها البكتيريا، يكون العدد الكلي للطفرات في كل إنسان مضيف حوالي 4300×2000= 9 ملايين كل يوم. وهذه الطفرات الجديدة، يمكنها أن تزيد التنوع الوراثي عندما ترتفع معدلات التناسل كثيراً. وهذا التنوع يؤثر بدوره في تطور الجماعات البكتيرية، إذ يكون نتاج هذه الجماعات البكتيرية التي تتألف من أفراد يتناسب تركيبها الوراثي مع بيئاتها المحلية أكثر خصوبة من جماعات أفرادها أقل ملائمة.

وعلى العكس، تسهم الطفرات الجديدة نسبياً بالتنوع الوراثي في جماعة تتناسل الكائنات الحية فيها ببطء، كالبشر. إذ لا يرجع معظم التنوع الموروث الذي نلحظه في جماعات البشر إلى ألائل alleles غريبة قادت إليها طفرات جديدة، وإنما إلى تَأَشُب recombination ألائل موجودة خلال التناسل الجنسي. وحتى في البكتيريا، حيث الطفرات الجديدة مصدر هام لتنوع الأفراد، تنشأ تنوعات إضافية بتاثير التأشُب الجيني (اجتماع ال DNA من مصدرين اثنين).

يظهر الشكل (9:2) أحد أنماط التجارب التي تقدم دليلاً على التأشُب الوراثي الحادث في البكتيريا. تستخدم هذه التجربة سلالتين طافرتين من الإيشريشية الكولونية، تعجز كل واحدة منهما عن اصطناع حمض أميني ضروري هو التريبتوفان، أو الأرجنين. بالنتيجة كانت السلالتان الطافرتان عاجزتين عن النمو في وسط بسيط لا يحتوي سوى الغلوكوز (مصدراً للكربون العضوي)، والأملاح. وعندما حُضنت بكتيريا السلالتين مع بعضهما، نشأت خلايا قادرة على النمو في الوسط البسيط، مما يشير إلى أنها كوّنت التربتوفان والآرجنين في السلالتين. يُفترض أن الخلايا التي استطاعت اصطناع كلا الحمضين الأمينيين أنها اكتسبت واحدة أو أكثر من المورثات من السلالة الأخرى بواسطة التأشب الوراثي.

التجربة: لدى الباحثين سلالتين طافرتين , إحداهما قادرة على صنع الآرجنين دون التريبتوفان (arg+ trp−), والأخرى قادرة على صنع التريبتوفان دون الآرجنين (arg−trp+). تمت تنمية كل من السلالتين الطافرتين , ومزيج من كلا السلالتين في أوساط سائلة حاوية على جميع الحموض الأمينية المطلوبة. ثم ذرعت نماذج من كل سائل على أطباق حاوية على محلول من غلوكوز وأملاح غير عضوية (وسط بسيط) مصلب بالآغار agar.

النتائج: النماذج المأخوذة من مزرعة النسيج فقط , وهي التي احتوت خلايا نشأت عنها مستعمرات على الوسط البسيط (الذي يفتقد للحموض الأمينية).

الخلاصة: بما أنه لايمكن للخلايا القادرة على تركيب الآرجنين والتربتوفان arg+ trp+ أن تنمو في مستعرات على الوسط البسيط , فإن غياب المستعمرات على الطبقين الشاهدين ينفي حدوث طفرات أخرى تحاكي هذه المقدرة في خلايا السلالتين الطافرتين. وبذلك يفترض بكل خلية من المزيج شكلت مستعمرة على الوسط البسيط أنها اكتسبت واحداً أو اكثر من الجينات من خلية سلالة أخرى بوساطة التأشب الجيني.

الشكل (9:2): تساؤل: هل يمكن لخلية بكتيرية أن تتلقى جينات من خلية بكتيرية أخرى؟

ثالثاً: آليات التأشب الجيني وانتقال الجينة في البكتيريا:

تختلف البكتيريا عن حقيقيات النوى في الآليات المستخدمة في اجتذاب DNA من فردين مختلفين إلى خلية واحدة. ففي حقيقيات النوى تجمع العمليات الجنسية من إخصاب وانقسام منصّف ال DNA من فردين اثنين في

لاقحة واحدة لكن الإخصاب والانقسام المنصف لا يحدثان في بدائيات النوى. ويحدث بدل ذلك ثلاث عمليات أخرى تجتذب ال DNA البكتيري من خلايا مختلفة وهي:

- الاستحالة transformation.
- التَنْبيغ transduction.
- الاقتران conjugation

1- الاستحالة:

تُعرف عملية الاستحالة transformation بتغيير الخلية البكتيرية لنمطها الوراثي ونمطها الظاهري باستحواذها على DNA عارٍ غريب naked foreign DNA من بيئتها المحيطة.

فمثلاً، يمكن لبكتيريا سلالة غير مؤذية من المكورات الرئوية أن تستحيل إلى خلايا مُحدِثة لذات الرئة باستحواذها على DNA من وسطٍ يحتوي على خلايا سلالة ممرضة ميّتة محطمة. وتحدث هذه الاستحالة عندما تلتقط خليّة حيّة غير ممرضة قطعة من DNA يحمل ألّيل allele إمراضٍ يُرمِّز لمعطف خلوي يحمي البكتيريا من الجهاز المناعي للمضيف. بذلك يندمج الألّيل الدّخيل مع كروموسوم الخلية غير المؤذية، ليحلّ بوساطة التأشّب الجيني محلّ الألّيل الذي لا يرمِّز لمعطف خلوي (الحالة " اللا معطفية coatless"). فالخلية الآن مأشوبة بما يحويه كروموسومها من DNA مشتق من خليتين مختلفتين.

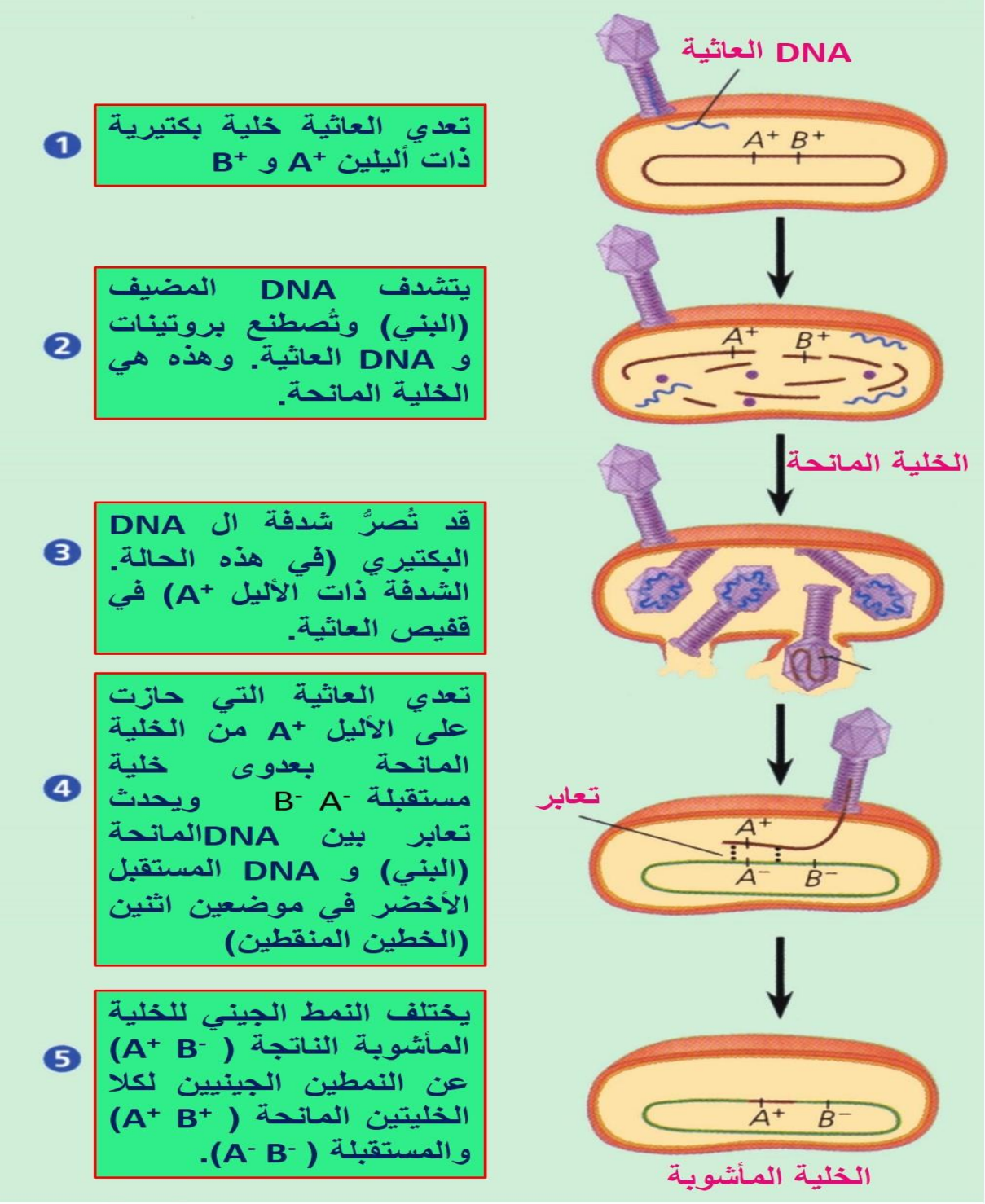
ويبدو أن الإيشريشيا الكولونية وغيرها من البكتيريا تفتقر لآلية الاستحالة هذه. ومع ذلك، يؤدي وضع الإيشريشيا الكولونية في وسط زرعي يحوي تراكيز مرتفعة نسبياً من أيونات الكالسيوم إلى تحريض الخلايا صناعياً على استحواذ قطع صغيرة من ال DNA. تُطبق هذه التقانة لإدخال جينات غريبة في مورثات جينوم الإيشريشيا الكولونية لترمّز لبروتينات مهمة، كالإنسولين الإنساني، وهرمون النمو.

2- التَنْبيغ:

عملية التَنْبيغ transduction: هي حمل العاثيات (الفيروسات المعدية للبكتيريا) المورثات البكتيرية من خلية مضيفة إلى أخرى كنتيجة لزوغانات aberration في الدورة التناسلية للعاثية.

يُصور الشكل (9:3) حوادث التنبيغ المعممة generalized Transduction، كعمليةٍ تنتقل بواسطتها الجينات البكتيرية من خلية بكتيرية إلى أخرى بشكل عشوائي. تُصرُّ قطعة صغيرة من DNA الخلية المضيفة المتحطم صدفةً في قفيص العاثية لتحلّ مكان جينوم العاثية. وبعد انطلاق العاثية من المضيف المنحلّ، يدخل ببكتيريا أخرى (المستقبلة) وتحقن قطعة ال DNA البكتيري المكتسبة من الخلية الأولى (المعطية). في هذه

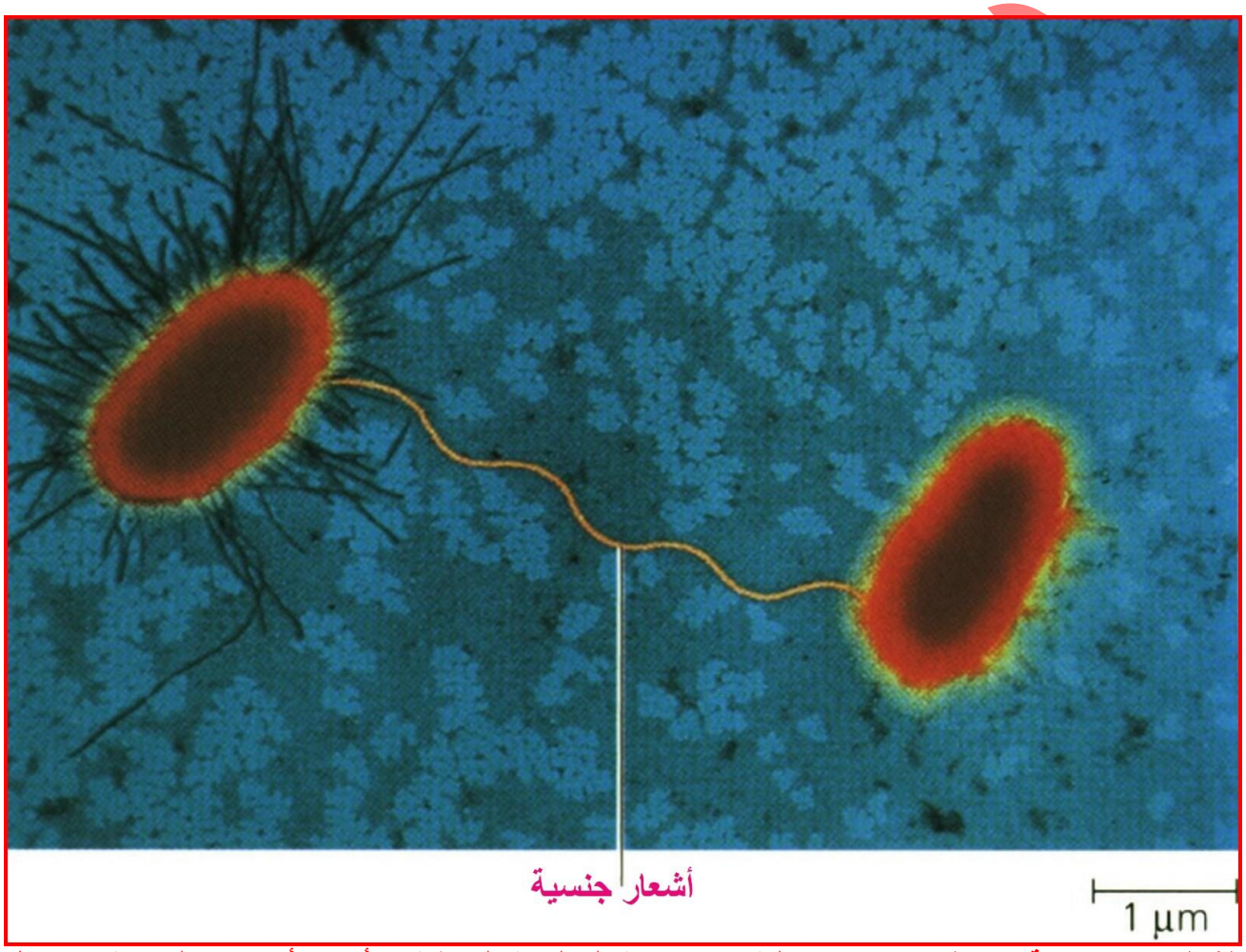
الحالة، يصبح كروموسوم الخلية المستقبلة مزيجاً من DNA مشتقّ من كلا الخليتين أي حصل تأشّب وراثي (جيني).



الشكل (9:3) التنبيغ المعمم. تحمل العاثيات بين الفينة والفينة قطعاً عشوائية من كروموسوم المضيف حاملةً الجينات البكتيرية من خلية (المانحة) إلى أخرى (المستقبلة) وقد يتّحد ال DNA المنقول بجينوم الخلية المستقبلة لتنتهي إلى خليةٍ مأشوبة.

3- الاقتران والبلاسميدات:

الاقتران conjugation: هو انتقال مباشر للمادة الوراثية بين خليتين بكتيريتين انضمتا إلى بعضهما بشكل مؤقت. ويحدث انتقال ال DNA عبر طريق واحد، فإحدى الخليتين تمنح الDNA، والخلية الأخرى تستقبله. وتسمى الخلية المانحة "ذكراً "، إذ تستخدم زوائد تدعى أشعاراً جنسية sex pili لتتصل بالخلية المستقبلة التي تدعى أحياناً " أنثى " (الشكل 9:4). تتقلص الشعرة الجنسية بعد اتصالها بالخلية المستقبلة، مقربة الخليتين إلى بعضهما. بعد ذلك يتشكل جسر شراكةٍ mating bridge سيتوبلاسمي مؤقت بين الخليتين، ليؤمن بذلك معبراً لنقل ال DNA.



الشكل (9:4): الاقتران البكتيري. تمد خلية الايشريشية الكولونية المعطية (الأيسر) أشعارها الجنسية، ويتصل أحدهما بالخلية المستقبلة. ستقترب الخليتان إلى بعضهما، ليتمكن جسر الشراكة السيتوبلاسمي من التشكل بينهما، عبر هذا الجسر تنقل الخلية المانحة ال DNA إلى الخلية المستقبلة (TEMملوّن).

في معظم الحالات، تنتج القدرة على تشكيل أشعار جنسية ومنح ال DNA خلال الاقتران على وجود قطعة من الDNA تدعى عامل الخصوبة F factor (F من fertility). وقد يوجد عامل الخصوبة إما كشدفة من ال DNA في الكروموسوم البكتيري، أو على شكل بلاسميد.

والبلاسميد plasmid: هو جزيئة DNA حلقية صغيرة ذاتية الانتساخ منفصلة عن الكروموسوم البكتيري تحمل عدد قليل من المورثات. وتستطيع بلاسميدات معيّنة كبلاسميدات الخصوبة F plasmid أن تعاني

اندخالاً عكوساً في كروموسوم الخلية. يدعى العنصر الجيني القادر على الانتساخ كجزء من الكروموسوم البكتيري أو مستقلاً عنه بالإبيسوم (يصبوغ) episome. ويُطلَق على بعض الفيروسات المندرجة كالعاثية لامبدا بالإبيسومات.

لا يمتلك البلاسميد سوى عدد قليل من المورثات، وهذه المورثات لا تعد ضرورية لحياة البكتيريا أو تناسلها في الظروف الطبيعية. لكن تستطيع مورثات البلاسميدات أن تكون مفيدة للبكتيريا فمثلاً، تسهل بلاسميدات الخصوبة التأشّب الجيني، والتكيف مع البيئات ذات الشروط الصعبة وكذلك مقاومة المضادات الحيوية antibiotics.

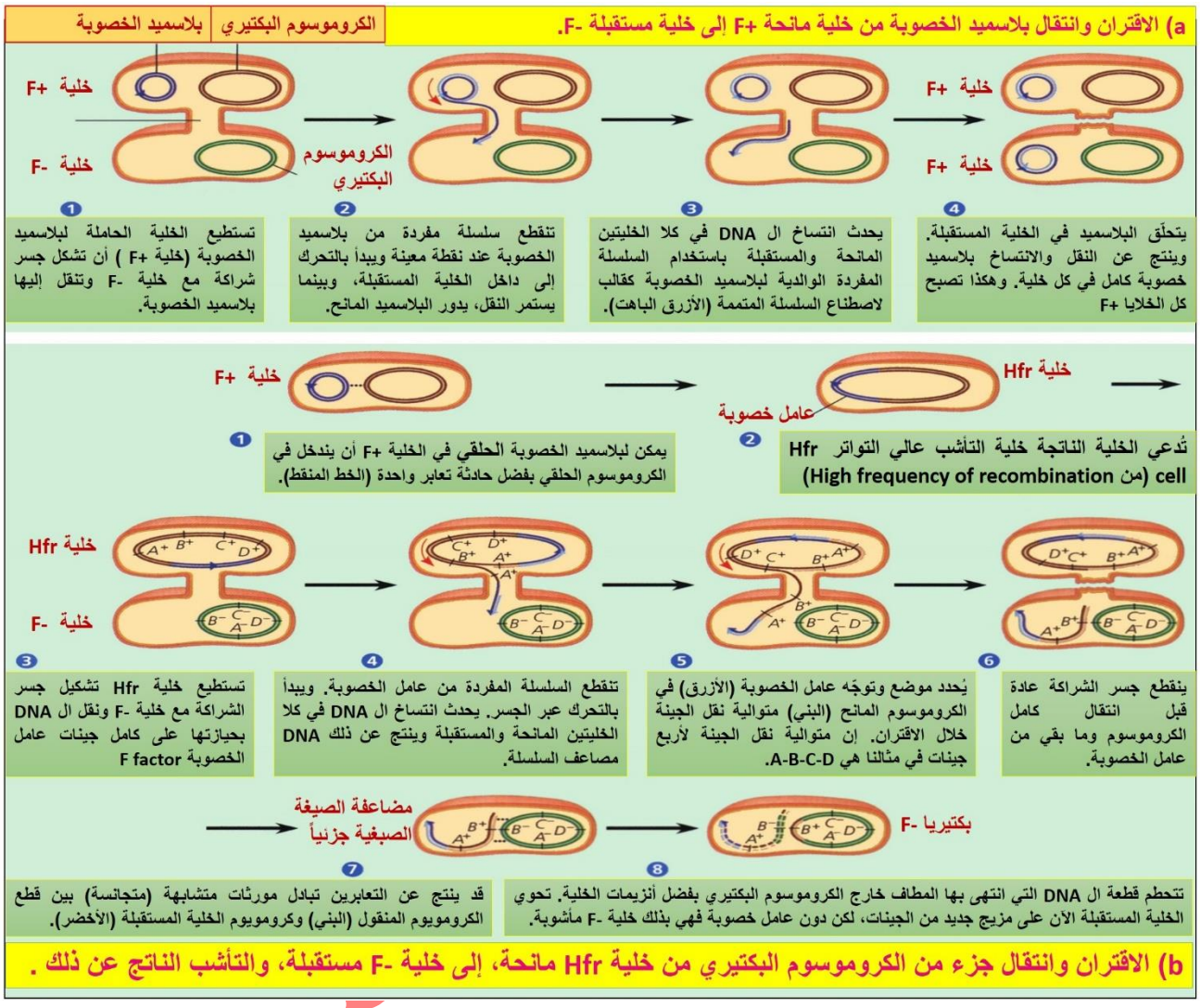
الاقتران وبلاسميد الخصوبة: يشكّل عامل الخصوبة مع بلاسميده ما يُسمى بلاسميد الخصوبة F plasmid، والذي يتألف من حوالي 25 مورثة، معظمها ضروري لإنتاج الأشعار الجنسية. تقوم الخلايا الحاوية على بلاسميد الخصوبة (يرمز إليها بـ F+) خلال الاقتران بدور المانح لل DNA. ينتسخ بلاسميد الخصوبة بالتزامن مع ال DNA الكروموسومي، وعادة ما يعطي انقسام الخلية F+ نسختين كلاهما F+. أما الخلايا التي تفتقر لعامل الخصوبة (يرمز إليها بـ F-)، فتقوم خلال الاقتران بدور المستقبل.

وتعتبر حالة F + بعينها حالةً قابلة للانتقال، بمعنى أن خلية F+ تحوّل الخلية F- إلى F+ حالما تقترن الخليتان، كما يظهر في الشكل (9:5a). تبقى الخلية الأصلية على حالتها " F+ " لأن عملية النقل تشمل نمطاً خاصاً من انتساخ ال DNA. تنتقل سلسلة والدية parental strand واحدة من DNA عامل الخصوبة عبر جسر الشراكة، وتعمل كل سلسلة والدية كقالب لاصطناع السلسلة الأخرى في كل خلية (المانحة والمستقبلة). ولا ينتقل في الشراكة بين خليتي F+ و F- سوى DNA بلاسميد الخصوبة F.

يصبح بمقدور المورثات الكروموسومية أن تنتقل خلال الاقتران عندما يندمج عامل خصوبة الخلية المانحة في الكروموسوم (أعلى الشكل 9.5b). تدعى الخلية ذات عامل الخصوبة الموجود في كروموسومها بخلية Hfr (التأشّب عالي التواتر high frequency of recombination) وتقوم خلية Hfr خلال الاقتران بلعب دور المانح، على غرار خلية F+: يبدأ انتساخ ال DNA في نقطة معينة من DNA عامل الخصوبة المندمج، ثم يتحرك من هذه النقطة سلسلة مفردة من DNA عامل الخصوبة باتجاه الشريك F-، منسحباً على طول ال DNA الكروموسومي المجاور (أوسط الشكل 9:5b).

غالباً ما تُعطل حركات البكتيريا العشوائية الاقتران قبل أن تتمكن كامل سلسلة كروموسوم الـ Hfr من العبور إلى خلية F- بمدة طويلة. تعمل السلسلة في كل خلية كقالب لاصطناع سلسلة أخرى. وبذلك يبقى DNA خلية الـ Hfr على حاله، بينما تكتسب خلية F-، DNA جديداً، بعضه كروموسومي. وبشكل مؤقت، تكون الخلية

المستقبلة جزئياً مضاعفة الصيغة الصبغية، تحتوي على كامل كروموسومها -F بالإضافة إلى ال DNA الكروموسومي من خلية Hfr المانحة..



الشكل (9:5): الاقتران والتأشب في الإيشريشية الكولونية. يدعى انتساخ ال DNA الذي يصاحبه انتقال بلاسميد الخصوبة أو جزء من الكروموسوم البكتيري لخلية Hfr بانتساخ الحلقة الملتفة rolling circle replication. ويشار إليه أحياناً بنموذج "ورق المرحاض" للطريقة التي يلتف فيها السلسلة المفرد في تحريكه من DNA الخلية المانحة إلى الخلية المستقبلة.

وإذا انحاز جزء من ال DNA المكتسب حديثاً إلى منطقة مُجانِسة من الكروموسوم -F، أمكن لقُطَع الDNA أن تتبادل (أسفل الشكل 9:5b). وينتج عن تناسل هذه الخلية جماعة من البكتيريا المأشوبة ذات مورثات مستمدة من خليتين مختلفتين. وتفسر عملية الإقتران والتأشب هذه ما نتج عن التجربة الموضحة في الشكل (9:2) والتي كانت فيها إحدى سلالتي البكتيريا Hfr والأخرى -F.

رابعاً: مناقلة العناصر الجينية

قد يخضع DNA الخلية المعزولة إلى تأشب يعود لحركة ما يدعى بالعناصر الجينية النقولة transposable genetic elements (أو تبسيطاً العناصر النقولة transposable elements) ضمن جينوم الخلية وهذه العناصر النقولة:

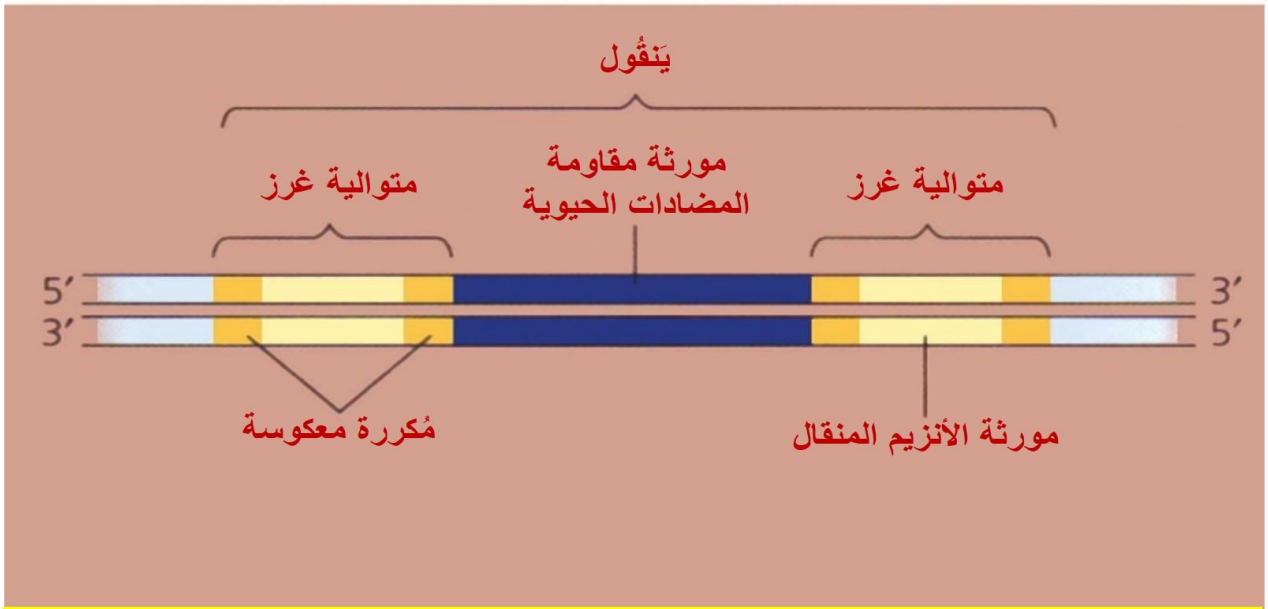
- لا توجد مستقلة أبداً، وإنما تكون دائماً جزءاً من DNA البلاسميد أو الكروموسوم.
- خلال تحرك هذه العناصر المعروف بالمناقلة transposition يتحرك العنصر النَّقول من موضع ما في DNA الخلية إلى موضع أخر (الموضع الهدف) بنمط عملية التأشب.
- قد يتحرك في الخلية البكتيرية العنصر ضمن الكروموسوم، أو من البلاسميد إلى الكروموسوم (أو بالعكس)، أو من بلاسميد لآخر.
- تدعى العناصر النقولة أحياناً "الجينات القافزة jumping genes " علماً أن العناصر النّقولة لا تنفصل كلياً عن DNA الخلية. (يتقارب الموضعان الأصلي والجديد من بعضيهما بفضل انطواء ال DNA).
- تتحرك بعض العناصر النّقولة من موضع DNA إلى آخر بآلية "القص واللصق"، ويتحرك بعضها الأخر بآلية "النسخ واللصق"، وفيها ينتسخ العنصر النّقول في موقعه الأصيل، بينما تندخل النسخة في مكان أخر. وبعبارة أخرى، يضاف العنصر النقول إلى موقع جديد دون أن يفقد موقعه القديم.
- تختلف المناقلة عن آليات التأشيب الجيني الأخرى، فخلال الاستحالة البكتيرية، والتنبيغ، والاقتران (وخلال الانقسام المنصف في حقيقيات النوى أيضاً)، يحدث التأشب بين منطقتين متجانستين من الDNA، أو منطقتين متطابقتين أو تتشابهان كثيراً بمتوالية القاعدة (الأساس) base pairing. بما يمكنها الخضوع لازدواج القاعدة base pairing.
- لا يعتمد اندخال العنصر النقول في موضع جديد على متواليات القاعدة المتممة، إذ يستطيع العنصر النقول تحريك الجينات إلى موضعٍ لم تكن جينات ذلك الغرز موجودة من ذي قبل ابداً.

خامساً: متواليات الغرز insertion:

تدعى أبسط العناصر النقولة بمتواليات الغرز insertion sequences، ويقتصر وجودها على البكتيريا فقط. تحوي متوالية الغرز جينة مفردة ترمز أنزيم المنقال transposase (الترانسبوساز)، وهو أنزيم يحفز حركات اندخال متوالية من موضع في موضع آخر ضمن الجينوم. تتمفصل جينية الأنزيم المنقال بوساطة زوج من متواليات ال DNA غير المرمّزة على طول 20-40 نكليوتيد تقريباً. وتدعى هذه المتواليات بالمُكَرّرات المعكوسة inverted repeats، إذ تتكرر متوالية القاعدة عند إحدى نهايتي متوالية الغرز على شاكلة النهاية الأخرى على أن أولها آخرها وعاليها سافلها (معكوسة) (الشكل 9:6a). يتعرف الأنزيم الناقل على هذه

المكررات المعكوسة كحدود لمتوالية الغرز. وأثناء المناقلة، ترتبط جزيئات الأنزيم مع المُكرّرات المعكوسة ومع موقع الهدف في مكان آخر من الجينوم، محفزة اقتطاع ال DNA الضروري ومن ثم إعادة ختمه. قد تحدث متوالية الغرز طفرات إذا ما تم تحويلها إلى متوالية مرمّزة coding sequence في جينية أو في منطقة من ال DNA تنظم التعبير الجيني. وتشكل متواليات الغرز ما يقرب من 1.5% من جينوم الايشريشيا الكولونية.

a) تشتمل متوالية الغرز (وهي الأبسط بين العناصر النقولة في البكتيريا) على مورثة ترمز للإنزيم المنقال الذي يحفز الحركة في الجينوم. كل واحدة من المكررات المعكوسة ماهي إلا نسخ مقلوبة عكس بعضها البعض. تختلف المتوالية المكررة من نمط متوالية غرز إلى أخرى.



b) تشتمل اليَنقُولات (الترانسبوزونات) على واحدة أو أكثر من المورثات، بالإضافة إلى مورثة الإنزيم المنقال. تتوضع مورثة مقاومة المضادات الحيوية في اليَنقول الموضح في الشكل بين توأم متواليتي الغرز. ويحمل الينقول مورثة مقاومة المضادات الحيوية كجزء منه عندما يتدخل في موضع جديد من الجينوم.

الشكل (9:6): العناصر الجينية النقولة في البكتيريا. لا تعدّ المخططات هذه معياراً، فمعظم الينقولات أطول من متواليات الغرز بكثير.

من ناحية أخرى، لا تحدث الطفرة في جينة ما بالمناقلة transposition إلا فيما قلّ وندر (مرة واحدة تقريباً في كل عشرة ملايين جيل). ويعادل هذا تقريباً معدّل الطفرة الناتجة عن عوامل أخرى.

سادساً: اليَنْقُوْلات:

تطلق تسمية الينقولات transposons (ترانسبوزونات) على العناصر النّقولة التي تفوق متواليات الغرز طولاً وتعقيداً، وهي ذات حركة مستمرة في الجينوم البكتيري. تشتمل الينقولات – فضلاً عن ال DNA المطلوب لعملية المناقلة – على جينات إضافية تصحبها أينما اتجهت، كجينات مقاوَمَة المضادات الحيوية.

مثلاً: تنحشر الجينات الإضافية في بعض الينقولات البكتيرية بين متتاليتي غرز (الشكل 9:6 b) ويعتقد أن متواليتي الغرز تستقرّان في الجينوم قريبتان نسبياً من بعضيهما، ثم ترحلان من جديد ومعهما كامل ما بينهما من DNA، كعنصر نَقولٍ واحد. لا تشتمل الينقولات البكتيرية الأخرى على متواليات غرز، لكنها تمتلك تكرارات معكوسة مختلفة في نهاياتها. لا تعدّ الينقولات حكراً على البكتيريا فحسب، بل هي مكونات هامة في جينومات حقيقيات النوى أيضاً.

سابعاً: التكيف البكتيري للبيئة وتنظيم التعبير الوراثي:

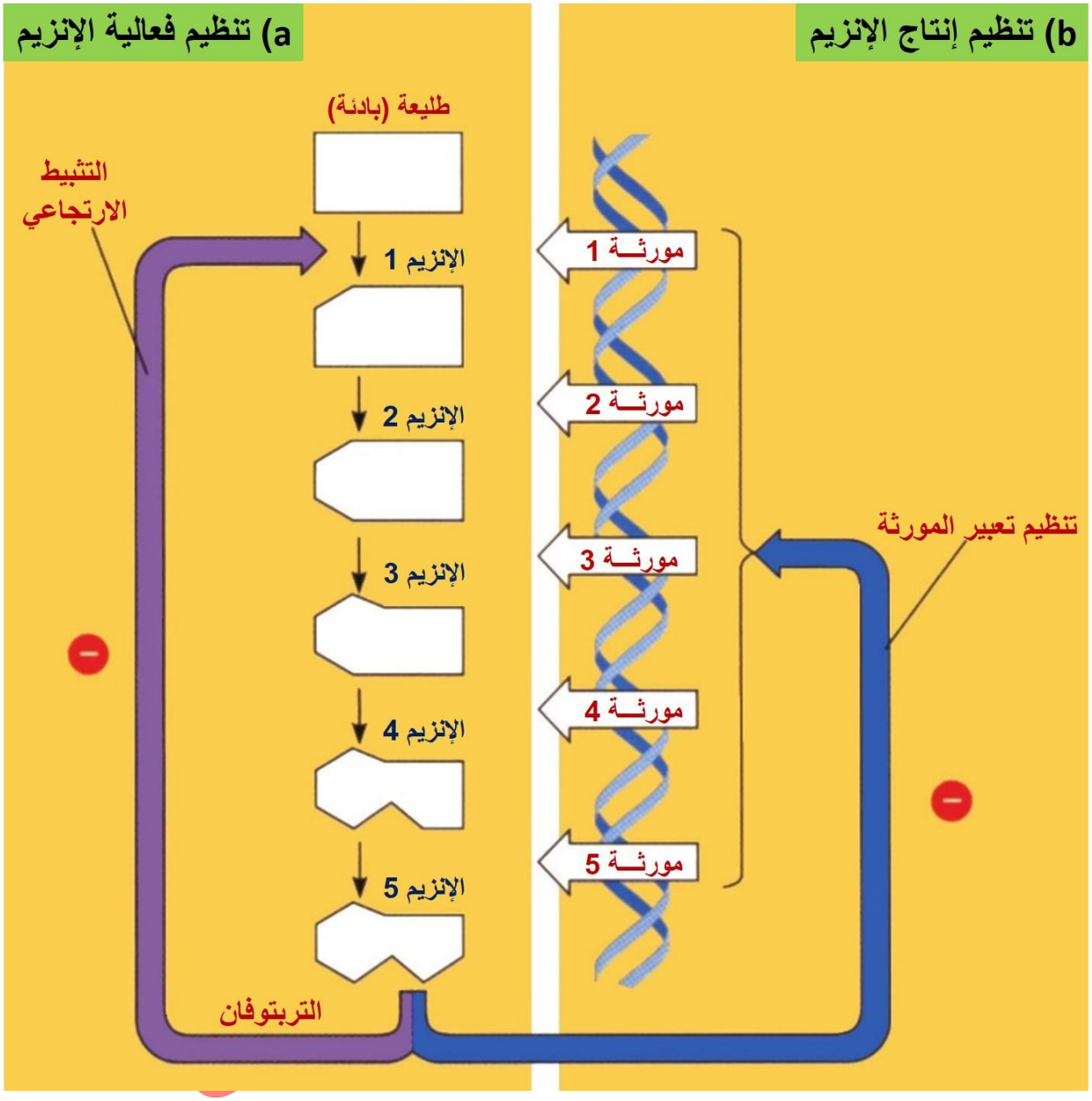
يتولّد عن الطفرات تنوّعٌ جيني يجعل الاصطفاء الطبيعي ممكناً، وقادراً على زيادة نسبة البكتيريا المتكيفة مع الظروف البيئية المستجدة. والسؤال، كيف تتمكن بكتيريا مفردة أن تتكيف مع التقلبات البيئية ؟

إن خلية إيشريشيا كولونية تعيش وحيدةً في بيئة متقلبة الأحوال، ككولون الإنسان تعتمد في غذائها على العادات الغذائية للمضيف. فإذا كانت البيئة فقيرة بحمض التربتوفان الأميني الذي تحتاجه البكتيريا في نموها، فإن الخلية ستستجيب لذلك بتفعيل مسارٍ استقلابي يصطنع التربتوفان من مركّب آخر. وإذا ما أكل الإنسان المضيف قيما بعد وجبة غنية بالتربتوفان، فإن الخلية ستتوقف عن إنتاجه، لتحفظ نفسها عن تبديد مواردها في إنتاج مادةٍ وفيرة في المحلول المحيط بها.

يحدث الضبط الاستقلابي على مستويين (الشكل 9:7):

الأول: تستطيع الخلايا ضبط فعالية أنزيمات موجودة مسبقاً، وهذه الاستجابة سريعة جداً وتعتمد على حساسية العديد من الأنزيمات لمشعرات كيميائية تُزيد أو تُنقص من أفعالها المحفّزة فمثلاً، يُثبّط المنتج النهائي لمسار اصطناع التربتوفان الأنزيم الأول في ذلك المسار، ولذلك عندما يتراكم التربتوفان في الخلية، يتوقف اصطناعه

بتثبيطه نشاط الأنزيم. يُمكّن هذا التثبيط الارتجاعي feedback inhibition الخلية من التكيف مع التقلبات القصيرة الأمد في مورد مادةٍ تحتاج إليها.



الشكل (9:7): تنظيم المسار الاستقلابي. في مسار اصطناع التربتوفان، يمكن لوفرة التربتوفان أن: (a) تُثبط فعالية الإنزيم الأول في المسار (التثبيط الارتجاعي)، في استجابة سريعة، و (b) أن يكظم تعبير جميع المورثات الضرورية لذلك المسار في استجابة طويلة الأمد. ترمز إشارة (-) إلى التثبيط.

الثاني: تستطيع الخلايا ضبط الكمية الناتجة عن أنزيمات معيّنة. ذلك أنها قادرة على تنظيم تعبير الجينات المُرمِّزة للأنزيمات. فإذا ما استمرت البيئة – في مثالنا – بتأمين كامل ما تحتاج الخلية من التربتوفان، أوقفت الخلية اصطناع الأنزيمات العاملة في مسار اصطناعه. والتحكم بالإنتاج الأنزيمي هذا، يحدث على مستوى الانتساخ transcription (اصطناع RNA مرسال يُرمِّز لهذه الأنزيمات).

ثامناً: المَشاغل Operons : مفهومها الأساسي

تصطنع الإيشريشيا الكولونية التربتوفان من جزئية بادئة عبر سلسلة من الخطوات، يتحفّز كل تفاعل فيها بوساطة أنزيم نوعي (الشكل 18:20). وتتجمع الجينات الخمس المُرمَّزة لهذه الأنزيمات في قطاع واحد على الكروموسوم البكتيري. ويُخدِّم بروموتر (حاثّ) promoter واحد كافة الجينات المُرمِّزة المؤلفة لوحدة الانتساخ transcription unit. وبذلك، ينتهي الانتساخ بجزيئة RNA مرسال طويلة تُرمِّز لأنزيمات مسار التربتوفان الخمس كافة. تستطيع الخلية ترجمة الRNA المرسال إلى خمسة عديدات ببتيد منفصلة، لأن الRNA المرسال مرقومٌ براموزات codons ابتداء وانتهاء تشير إلى موضع البداية والنهاية من المتوالية المرمِّزة لكلّ عديد ببتيد.

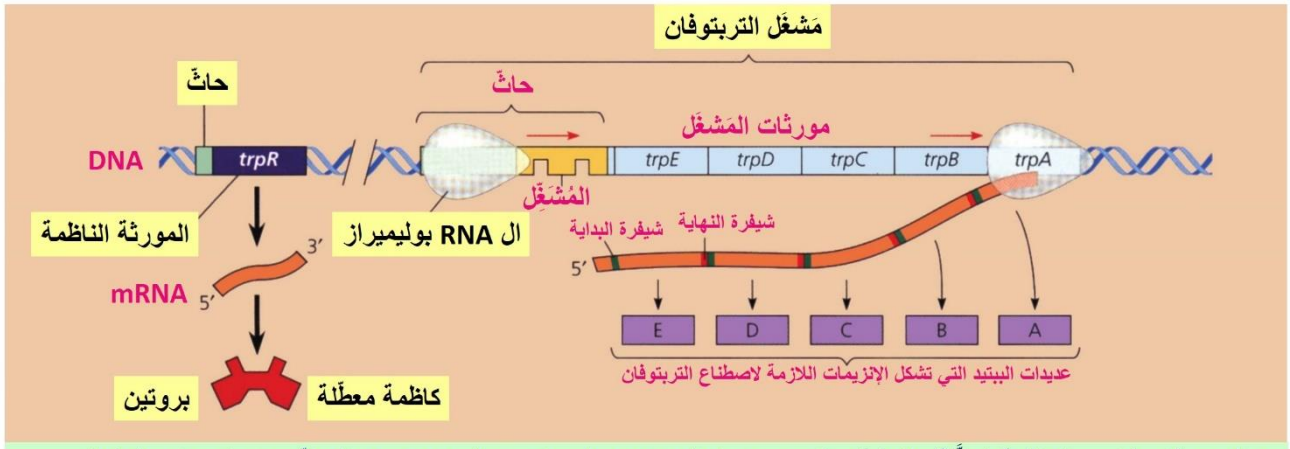
إن المنفعة الرئيسية من اجتماع الجينات المتعلقة بوظيفة ما في وحدة انتساخ واحدة، هي أن " مفتاحاً " واحداً للتشغيل والانكفاء off – on، يستطيع السيطرة على كامل قطاع الجينات المتعلقة ببعضها وظيفياً. وعند ما يتوجب على خلية الإيشريشيا الكولونية صنع التربتوفان بنفسها لافتقار وسطها المغذي إلى هذا الحمض الأميني، فإن جميع أنزيمات المسار الاستقلابي ستصطنع في آن واحد.

المفتاح هو قطعة من ال DNA تدعى المُشغِّل operator، فهو يتوضع في الحاثّ أو بين الحاثّ والجينات المرمِّزة للأنزيمات. يتحكم هذا المفتاح بوصول ال RNA بوليميراز إلى المورثات. يتألف المَشغَل operon من:

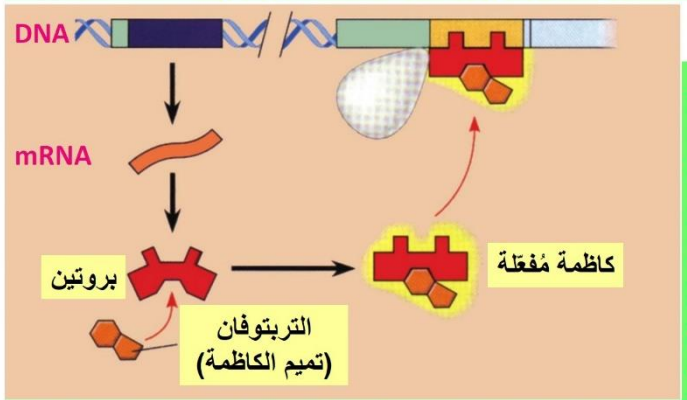
- المُشغِّل،
- والحاثّ،
- والجينات التي يسيطران عليها (مجمل امتداد ال DNA المطلوب لإنتاج الأنزيمات المطلوبة لمسار التربتوفان). إن مَشغَل التربتوفان tryptophan operon، هو واحد من مشاغل عديدة في جينوم الإيشريشيا الكولونية (الشكل 9:8).

يَتفعَّل مَشغَل operon التربتوفان ذاتياً، ذلك أنه يمكن لل RNA بوليميراز أن يرتبط مع الحاثّ وينسخ جينات المَشغَل. وقد ينكفيء المَشغَل بفعل بروتين يدعى كاظمة التربتوفان trp repressor، إذ ترتبط الكاظمة مع المَشغَل حاصرةً اتصال الحاثّ بال RNA بولميراز، مانعةً انتساخ الجينات. ويعتبر بروتين الكاظمة نوعياً، أي أنه لا يتعرف ولا يرتبط إلا بمُشغِّل لمَشغَلٍ معيّن.

تنتج كاظمة التربتوفان عن جينة ناظمة regulatory gene تدعى ناظمة التربتوفان R-trp، وهي في موضع بعيدٍ إلى حدّ ما عن المَشغَل الذي تتحكم به، ولها حاثّها الخاص. يتم التعبير عن الجينات الناظمة باستمرار، ولا تخلو خلايا الإيشريشيا الكولونية أبداً من من بضعة جزيئات كاظمة التربتوفان.



a) التربتوفان غائب والكاظمة مُعطَّلة والمَشغَل مفتوح. يتصل ال RNA بوليميراز مع ال DNA عند الحاثّ وينسخ جينات المَشغل.



b) التربتوفان موجود والكاظمة مُفعّلة والمَشغَل مغلق. عندما يتراكم التربتوفان يُثبّط تفعيل بروتين الكاظمة إنتاجه.

الشكل (18:21): مَشغَل التربتوفان: الاصطناع المنظم للإنزيمات الكظومة. التربتوفان حمض أميني ناتج عن مسار ابتنائي محفز بوساطة أنزيمات كظومة repressible enzyme. (a) تتجمع الجينات الخمس المرمِّزة لعديدات الببتيد التي تتكون منها إنزيمات هذا المسار في مشغل التربتوفان (مع حادث، والمشغل). يتوضع مشغل التربتوفان ضمن حادث التربتوفان. (b) يكظم تراكم التربتوفان (المنتج النهائي في المسار) انتساخ مشغل التربتوفان، مانعاً بذلك اصطناع جميع الأنزيمات في المسار. آلية ذلك في الإيشريشية الكولونية مبين هنا.

الشكل (9:8): مَشغَل التربتوفان: الاصطناع المنظم للإنزيمات الكظومة. التربتوفان حمض أميني ناتج عن مسار ابتنائي محفز بوساطة أنزيمات كظومة repressible enzyme. (a) تتجمع الجينات الخمس المرمِّزة لعديدات الببتيد التي تتكون منها إنزيمات هذا المسار في مشغل التربتوفان (مع حادث، والمُشغِّل). يتوضع مشغل التربتوفان ضمن حادث التربتوفان. (b) يكظم تراكم التربتوفان (المنتج النهائي في المسار) انتساخ مشغل التربتوفان، مانعاً بذلك اصطناع جميع الأنزيمات في المسار. آلية ذلك في الإيشريشيا الكولونية مبين هنا.

لمَ لا يكون مَشغَل التربتوفان منكفئاً على الدوام؟

أولاً: إن ارتباط الكاظمات بالمُشغلات ارتباط عكوس. إذ يتردد المشغل بين حالتين اثنتين: منعزل في الأولى عن الارتباط بالكاظمة، ومرتبط معها في الأخرى. وتعتمد المدة النسبية لكل حالة على عدد جزيئات الكاظمة الفعالة في المحيط.

ثانياً: إن كاظمة الربتوفان – كمعظم البروتينات الناظمة – بروتين تفارغي allosteric (قادرة على تغيير فعالية إنزيم ما بارتباطه بمادة أخرى غير ركيزته)، ذو شكلين متغايرين : مُفعّل ومُعطَّل.