وحدة ضمان الجودة
كلية الزراعة جامعة بنها
QAUFABU

قسم الهندسة الوراثية
التكنولوجيا الحيوية الزراعية (وراثة)
المادة : وراثة كائنات دقيقة وفيروسات
الفرقة الرابعة
الفصل الدراسي الأول للعام الجامعي ٢٠١٤ /٢٠١٥ الزمن : ساعتان

السؤال الأول : (٢٠ درجة) أجب على نقطتين فقط:

(١) يمثل البكتريوفاج أهمية خاصة في الدراسات الوراثية الميكروبية – وضح الصفات العامة للفاجات المعتدلة والسامة ومراحل نمو كلا منها – وكيف يستفاد من البكتريوفاج كناقل للمادة الوراثية مع ذكر أمثلة .

(٢) أول الكائنا ت الدقيقة التي استخدمت في الدراسات الوراثية الميكروبية هو فطر *Neurospora crassa* وأيضا فطر *Saccharomyces cervisia* – اذكر أهمية هذين الفطرين في الدراسات الوراثية ودورة حياتهما .

(٣) اشرح طريقة لدراسة الطفرات التلقائية المقاومة للمضاد الحيوي (الاستربتومايسين) مع ذكر الأسباب التي تؤدى إلى استحداث هذه الطفرات وكيفية التعرف عليها .

السؤال الثانى : (٢٠ درجة) أجب على نقطتين فقط:

(١) كيف يمكن التعرف على نظام العلاقة التبادلية بين الجينات المدروسة في التحول الوراثي Transformation باستخدام التهجين الثلاثي العوامل – وكيف يمكن إصلاح الأخطاء التي تحدث أثناء هذا التحول الوراثي _ وما أهمية التحول الوراثي في الدراسات الوراثية.

(٢) عملية النقل الجيني لها معايير يجب مراعاتها بكل دقة – اذكر هذه المعايير – القواعد الأساسية لعملية النقل الجيني وطرق هذا النقل وشرح إحداها بالتفصيل .

(٣) الاقتران البكتيري Conjugation تعبر عن النقل المباشر للمادة الوراثية عند اتصال الخلايا البكتيرية اتصال مباشر – وضح مع الرسم كيفية إتمام هذه الخطوات مع ذكر الطرز المذكرة والمؤنثة وكيفية انتقال طراز لآخر – وكيفية الاستفادة من هذه الظاهرة لدراسة المظاهر الحركية للمعطى أثناء عملية التزاوج المتقطع .

السؤال الثالث : (٢٠ درجة)

(١) في التشخيص الجزيئي للنظم الميكروبية يتم استخدام طريقة الـ ELISA لتحليل الإنزيم بالجسم المناعي – اذكر هذه الطريقة وأهمية هذا الاختبار والتعرف على الأجسام المضادة أحادية الكلونة .

(٢) قارن بين الاستقطاع الوراثي العام Universal Transduction والاستقطاع الوراثي المقيد Restricted Transduction مع ذكر أمثلة للفاج المستخدم وما هي الصعوبات التي تواجه عملية الاستقطاع الوراثي .

مع أطيب الأمنيات
أ.د/محمد سراج الدين

وحدة ضمان الجودة
كلية الزراعة جامعة بنها
QAUFABU

والهندسة الو

برنامج: التكنولوجيا الحيوية الزراعية (وراثة)
المادة: وراثة كائنات دقيقة وفيروسات
الفرقة الرابعة
الفصل الدراسي الأول للعام الجامعي ٢٠١٤ /٢٠١٥
الزمن : ساعتان

نموذج إجابة استرشادي غير ملزم

السؤال الاول (٢٠ درجة) :

(١) البكتريوفاج هو مثال للكائنات الدقيقة اللاخلوية من حيث التركيب ودورة الحياةيقوم الطالب بذكر تركيب البكتريوفاج مع شرح دورة الحياة الخاصة بالفاج السام والفاج المعتدل مع رسم دورتى الحياة – الاستفادة من البكتريوفاج كناقل للمادة الوراثية يتم عن طريق وذلك عن ط ريق احداث عدوى للخلايا المطلوب الحصول على الجين المرغوب منها وبعد احداث العدوى يتكاثر الفاج داخل الخلية البكتيرية ويزداد فى العدد حتى تنفجر الخلية البكتيرية ويخرج منها الفاج الذى ضم الية المادة الوراثية المراد الحصول عليها – على الطالب استكمال هذة الدورة . –يرسم الطالب دورة حياه الفاجات المعتدلة وكيفية تحويلها الى فاجات سامة أى تتحول من الحالة البروفاج او الليسوجينية الى الحالة التى تؤدى الى انفجار الخلية البكتيرية نتيجة تكاثر الفاج بداخلها بطريقة لايسعها حجم الخلية فتفجر ويتكرر الحال ومن اشهر الفاجات المستخدمة فى هذا المجال هو فاج لامدا والذى يعزل من البكتريا *E.coli*– ويستطيع الفاج أن يحمل قطعة من الـ DNA حجمها يصل الى كيلو بيز . على الطالب ذكر امثلة توضيحية لذلك .

(٢) فطر النيوروسبورا كراسا وفطر الخميرة هى اول الكائنات الدقيقة التى استخدمت للدراسات الوراثي ة وفطر النيوسبورا هو فطر ذقى أو اسكى ويستفاد منة فى الدراسات الوراثية حيث ا ن به دوره لاجنسية طراز تزاوج A وطراز تزاوج a وعلى الطالب رسم دورة حياة هذا الفطر – وبالنسبة للخميرة فهى فطريات أحادية الخلايا تختلف أوتتعدد حسب طريقة انقسامها فمن الممكن أن تت كاثر بالتبرعم او الانقسام المتساوى واثناء الانقسام الاجنسى بالتبرعم تحدث العملية الميتوزية عادة مع انقسام سيتوبلازمى غير متساو ----- على الطالب استكمال المعلومات الخاصة بالخميرة مع رسم دورة حياتها وجدير بالذكر ان الكائنات الدقيقة لها أهمية فى الدراساتلا الوراثية لعديد من المميزات منها قصر دورة حياتها –سهولة الحصول عليها –بها خلايا احادية ----الخ

(٣) تجربة العالم Lederberg (Replica Plating) لدراسة الطفرات التلقائية المقاومة للاستربتومايسين –وهذة الطريقة تسمح بالتعرف على مقاومة او صمود البكتريا للعوامل الغير مستحبة والموجودة فى البيئة الخارجية للطفرات وبالتالى يمكن التعرف على العوامل المرغوب فيها . واستخدام المضاد الحيوى لايستخدم كسبب مباشر لاحداث التغيرات الوراثية لكن يسمح فقط باختبار أو انتق اء الطفرات الحية

النادرة ذات الشكل االظاهرى الذى يضمن امكانية اقلمتها للتغيرات التى تحدث فى البيئة المحيطة .
على الطالب شرح التجربة تفصيليا .

اجابة السؤال الثانى :

(١): – التحول الوراثى يتناول الطالب شرح هذة الظاهرة موضحا معنى الخلايا المؤهلة لعملية التحول الوراثى وطريقة تجهيزها ثم يعدد مراحل انتقال المادة الوراثية من المعطى للمستقبل دون وسيط وتوضيح ذلك على الرسم وكيفية اصلاح الخطأ الحادث اثناء التحول الوراثى للحصول على حامض نووى سليم مع توضيح الفوائد المتعددة للتحول الوراثى من حيث عمل الخرائط الوراثية وحساب معدل الطفور والانتخاب الخ

التهجين الثلاثي العوامل لتحديد العلاقة التبادلية بين الجينات المدروسة في التحول الوراثي

– يشرح الطالب المثال في حالة وجود أليلان وحشيان a+, c+ وطفرة واحدة b والمستقبل بين طفرتين a , c و أليل برى b+ مع استخدام الماركر الانتخابي – ويوضح ما يسمى بالتحول الوراثي المشترك co-transformation)

–يشرح الطالب معنى التحول الوراثى اى الانتقال المباشر للمادة الوراثية بين الخلايا مباشرة دون وسيط – يتناول هذا الشرح الخطوات التى يتم من خلالها اتمام هذة العملي ة الهامةفى الطبيعة وفى حالة اجرائها فى المعمل نظرا لقلة حدوثها فى الطبيعة يتكلم الطالب رعن الخلايا المؤهلة لاتمام هذا التحول الوراثى وتحدث احيانا اخطاء اثناء هذا التحول يوضح الطالب بالرسم كيف يتم اصلاحها – ثم يوضح الطالب أهمية دراسة هذة الظاهرة حيث انها تؤكد ان مادة التوارث فى البكتريا هى ال DNA وتفيد فى التعرف على التبادل الوراثى بين الجين الذى يحمل الشظية والجين الموجود اصلا فى الكروسوم وفى عملية التزاوج والارتباط ....الخ وعلى الطالب رسم كيفية اصلاح الاخطاء الناجمة عن عملية التحول الوراثى

(٢): عملية النقل الجينى لها معايير أساسية منها : اختيار طريقة ذات كفاءة عالية – عدم الاضرار بالخلايا المحولة– ادخال الجينات الى عدد كبير من الخلايا – ضمان وصول الجينات المنقولة الى النواة– اندماج الجين مع المادة الوراثية للنبات الاصلى .

القواعد الاساسية لعملية النقل الج ينى تتم على اربع خطوات هى :١– تصميم قطعة مهجنة من DNA المراد نسخها والـ] DNAمن الناقل ولدية قدرة على التكاثر وذلك عن طريق استخدام الانزيمات القاطعة ٢–نقل القطعة المهجنة والتى هى بداخل الناقل الى خلية حية مثل E.coliأو Yeast ٣– اختيار المستعمرات البكتيرية التى تحتوى على الناقل والقطعة المهجنة والسماح لها بالتكاثر فى اطباق المستنبت ا وفى محاليل سائلة ٤– استخلاص القطه المهجنة واستخراج DNA منها بكميات كبيرة .

على الطالب ذكر النواقل المسنخدمة فى تجارب الهندسة الوراثية ومميزاتها وعيوبها مع ذكر مثال توضيحى

(٣)" الاقتران البكتيرى يعرف الطالب الاقتران البكتيرى وهى عملية انتقال المادة الوراثية بين بكتريا تقوم بدور المعطى وبكتريا اخرى تقوم بدور المستقبل للمادة الوراثية عن طريق خيط

الجنس او قناة الاقتران – يوضح الطالب بالرسم مراحل هذا الانتقال علما بان خيط الجنس هذا تتحكم فية ٩ عوامل وراثية موجودة على كروموسوم قصير طولة ٥٠٠و٩٤ زوج نيوكليتيدى .

الاقتران المتقطع ونقل البلازميد F فى البكتريا هى تجربة اقامها العالم وولمان وجاكوب عند التهجين بين خلايا عالية فى تكوين اتحادات وراثية جديد ة كاب **(High Frequency Recombination)** وبين خلايا تستخدم كام **(F)** بغرض التاكد من نقل المادة الوراثية المتمثلة فى بعض الاحماض الامينية من المعطى للمستقبل فى تدرج زمنى **وكيف أن المواد الوراثية تنتقل أثناء عملية الاقتران المتقطع من المعطى للمستقبل في اتجاه واحد فقط وهو اتجاه التتابعات الخطية .**

وبالنسبة لنقل البلازميد F **يوضح الطالب طريقة نقل البلازميد مع رسم الخريطة الوراثية له وكيفية بداية عملية الاقتران بقطع في إحدى خيوط البلازميد في الموقع Orit..... إلى نهاية عملية الاقتران .وكذلك يرسم موديل نقل البلازميد F إثناء عملية الاقتران .**

فيما يتعلق بتحول البكتريا الخصبة F الى البكتريا ذات الاتحادات التى لها تكرار على (HFR (high frequency recombination يوضح الطالب ذلك بالرسم مع التركيز على التغيرات الاساسية التى تحدث اثناء هذا التحول .

اجابة السؤال الثالث :

(١) يقوم الطالب بشرح طريق الاليزا بخطواتها المعروفة الخمس ابتداء من ارتباط العينة المختبرة بالداعم ة ذات الحفر الكبيرة ذات ال ٩٦ حفرة لتحتوى على ٩٦ عينة. ثم يضاف لها الجسم المضاد الأولى ويزال الجسم المضاد غير المرتبط ثم يضاف الجسم المضاد الثانوي ليرتبط بالجسم المضاد الأولى ثم مع إنزيمات الالكالين فوسفاتيز والبيروكسيديز لتحفيز التفاعل ويحول المادة عديمة اللون إلى منتج لونى ثم تضاف المادة الغير ملونة ثم مش اهدة وقياس كمية اللون المتكون الخ وتستخدم الأجسام المضادة أحادية الكلونة كعوامل تشخيصية لتحديد المواد السامة الموجودة في العينات الإكلينيكية وتستخدم كعوامل علاجية لعوامل التشخيص. على الطالب استكمال الاجابة بذكر امثلة .

٢- الاستقطاع الوراثى باستخدام البكتريوفاج نوعان عام ومقيد العام فية تكون قطعة المادة الوراثية المطلوب نقلها بالفاج غير محددة أما المقيد أو الخاص ففية تكون القطعة المراد نقلها محددة ومعروفة . الطريقة التى تتناسب مع الفاجات السامة هى الطريقة العامة Universal Transduction والطريقة التى تستخدم مع الفاجات المعتدلة هى طريق Restricted transduction على الطالب الشرح مع الرسم .

.الاستقطاع الوراثي الخاص Restricted Transduction يكون مع الفاجات المعتدلة مثل لا مدا ويقصد بة نقل جزء من المادة الوراثية عن طريق الفاج أما الاستقطاع العام فيقصد بة نقل المادة الوراثية كاملة من إحدى الخلايا إلى الأخرى عن طريق البكتريوفاج من النوع السام .

وهناك فروق أخرى يذكرها الطالب – الرسم مطلوب مع ذكر أمثلة في حالة نقل عامل تكوين الجالاكتوز وتوضيح الموقع att lambda وهو الذى يدخل فيه البروفاج لامبدا في كروموسوم العائل وفى حالة الاستقطاع العام يذكر أنة في حالة حدوث الاستقطاع العام المشترك لاثنين أو أكثر من الماركرات الوراثية التي يوجد بينها ارتباط فمن الممكن أن توزع هذه الماركرات على الخريطة الوراثية بانتظام الخ الصعوبات التى تواجة الاستقطاع هى : فى بعض الاحيان ينقل الفاج العامل الوراثى الجالاكتوز الموجب ويحمل فى نفس الوقت الاليل الاخر السالب اى انة يحمل العاملين الوراثيين وقد يحدث ان يتم احلال للاليلين وعند انقسام الخلية تعطى تراكيب مختلفة –
صعوبة اخرى يلاحظ انة احيانا يتم نقل العاملين معا اثناء انقس ام الخلية وتكوين الافراد الجديدة اى ان هناك ارتباط بين العاملين – صعوبة ثالثة هى ان معدل حدوث الاستقطاع الوراثى منخفضة ولذلك يلجأ الى زيادة هذا المعدل باستخدام المطفرات. الخ

مع أطيب الأمنيات

أ.د/محمد سراج الدين عبدالصبور