

Intrm pted mating

E.wollman و *F.jacob* برای اینکه ثابت کنند که انتقال ژنتیکی از سلول دهنده به سلول گیرنده در طی هم یوغی یک پدیده خطی است تکنیک *interrupted mating* را اختراع کردند. در این تکنیک سلول های F^- و *Hfr* در یک مخلوط کن غذا با یکدیگر مخلوط می شوند پس از گذشت زمان معین مخلوط کن روشن می شود سلول هایی که هم یوغی انجام و در نتیجه *interrupted mating* داده اند جدا شده اند سپس سلول های F^- برای داشتن آلل های مختلف مربوط به *Hfr* مورد آزمایش قرار می گیرند. در آزمایش هایی از این دست باکتری *Hfr* معمولاً به یک آنتی بیوتیک مانند استرپتومایسین حساس است و این آنتی بیوتیک همه سلول های *Hfr* را می کشد. سپس ژنوتیپ سلول های F^- را بدون نگرانی از اینکه با سلول های *Hfr* مخلوط باشند می توان بوسیله *replica plating* تعیین کرد در آزمایش عمل *mating* مطابق جدول زیر انجام شد.



Genotypes of Hfr and F⁻ Cells Used in an Interrupted Mating Experiment

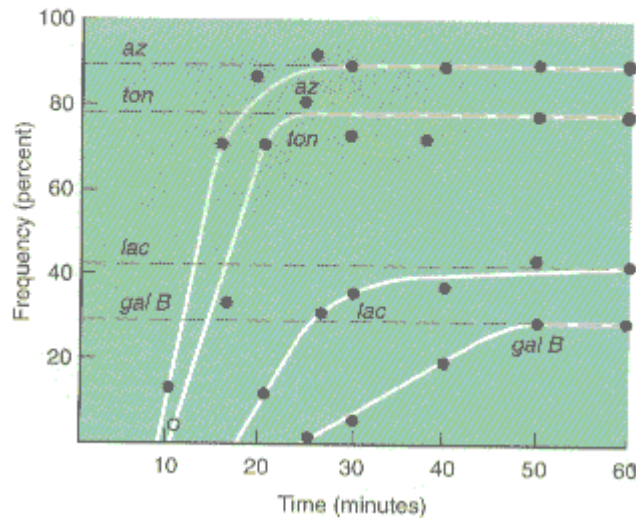
Hfr	F ⁻
<i>str^s</i>	<i>str^r</i>
<i>azi^r</i>	<i>azi^s</i>
<i>tonA^r</i>	<i>tonA^s</i>
<i>leu⁻</i>	<i>leu⁺</i>
<i>galB⁺</i>	<i>galB⁻</i>
<i>lac⁺</i>	<i>lac⁻</i>

در دستگاه مخلوط کن یک سویه Hfr حساس به استرپتومایسین (*str^s*) ولی مقاوم بر آزید (*azi^r*) و فاژ T1 (*tonA^r*) و پروتوتروف برای آمینو اسید لوسین (*Leu⁺*) و قند گالاکتوز (*GalB⁺*) و لاکتوز (*Lac⁺*) به سویه F⁻ که به استرپتومایسین مقاوم (*str^s*) و حساس به آزید (*azi^s*) فاژ T1 (*tonA^s*) و اکسوتروف برای لوسین، گالاکتوز و لاکتوز (*Leu⁻, GalB⁻, leu⁻*) بود مخلوط شد. پس از گذشت چند دقیقه (بین صفر تا 60) مخلوط کن روشن شد. برای کشتن همه سلول های Hfr سوسپانسیون بر روی پلیت محتوی استرپتومایسین کشت داده شد. سپس سلول های باقیمانده بر روی محیط فاقد لوسین کشت داده شدند کلونی هایی که رشد کردند کلونی های نو ترکیب F⁻ بودند آنها باید آلل *Leu⁺* را از سلول های Hfr دریافت کرده باشند تا بتوانند در محیط فاقد لوسین رشد کنند پس همه کلونی های رشد کرده باید کلونی های نو ترکیب F⁻ باشند سپس بوسیله *replica plating* بر روی محیط ویژه، آلل های *galB, lac, tonA, azi* تعیین شد و درصد نو ترکیبی کلونی ها که آلل های Hfr را داشتند محاسبه شد)

توجه کنید اینکه لوسین باید جایگاه ژنی باشد که برای سلول های نوترکیب انتخاب شود با کوشش و خطا تعیین شد همانطور که خواهیم دید جایگاه ژنی لوسین در ابتدا وارد خواهد شد. نمودار شکل زیر نشان می

دهد

Frequency of Hfr genetic characters among recombinants after interrupted mating
From F. Jacob and E. L. Wollman, Sexuality and the Genetics of Bacteria.
Copyright © 1961 Academic Press, Orlando, FL. Reprinted by permission.



هنگامی که زمان mating افزایش می یابد دو رویداد رخ می دهد اولاً، آلل های جدید از سلول های

Hfr به F^- وارد می شوند. آلل $tonA^+$ پس از گذشت ده دقیقه برای اولین بار در بین سلول های نوترکیب

دیده می شود در حالی که $galB^+$ پس از گذشت حدود 20 دقیقه در بین سلول های F^- دیده می شود. این

حقیقت ورود ترتیبی جایگاه ها را از سلول های Hfr به سلول های F^- نتیجه می دهد.

دوماً با گذشت زمان درصد نوترکیبی ها با یک آلل مشخص از Hfr افزایش می یابد. پس از 10 دقیقه

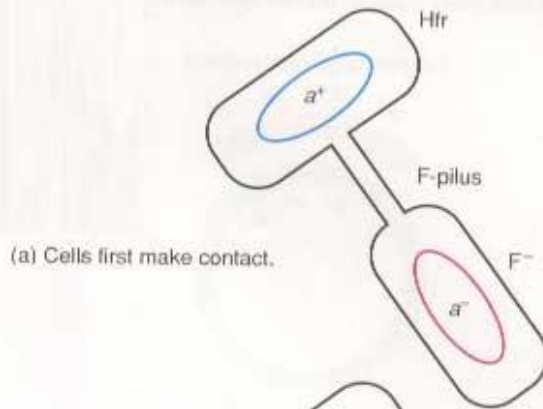
$tonA^+$ برای اولین بار در بین نوترکیب ها دیده می شود پس از 15 دقیقه 40% و پس از 25 دقیقه 80% از نو

ترکیب‌ها دارای آلل $tonA^+$ می‌باشند و دیگر این درصد با گذشت زمان افزایش نمی‌یابد درصد نهایی برای جایگاه‌هایی که بعداً وارد می‌شوند کمتر است حقیقتی که با فرض اینکه حتی بدون مخلوط‌کن؛ عمل

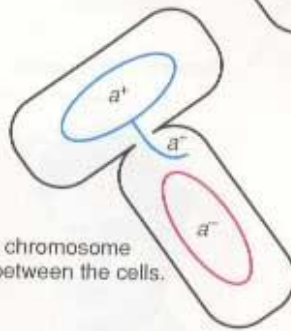
mating معمولاً به صورت متناوب و ترتیبی انجام می‌گیرد.



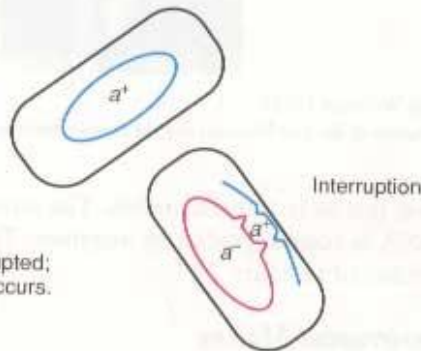
Conjugation between an Hfr cell (with the a^+ allele) and an F^- cell (with the a^- allele)



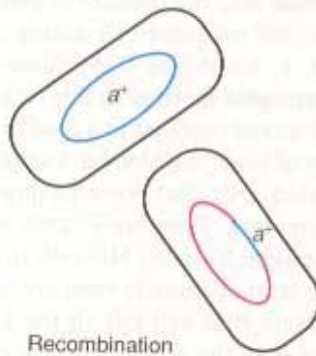
(a) Cells first make contact.



(b) A copy of the Hfr chromosome begins to cross between the cells.



(c) Mating is interrupted; crossing over occurs.



(d) The F^- cell now has the a^+ allele.

شبکه رشد - شبکه ملی مدارس ایران



Olympiad.roshd.ir