تعیین نقشه و conjugation

لدر برگ، هنگامی که از هم یوغی برای نقشه برداری از ژن ها استفاده می کرد متوجه شد بعـضی از ژن هـا یک الگوی خطی از خود نشان نمی دهند. در حقیقت او نقشه ای با سه شاخه را با داده هایش مطابقت داد. اما نتیجه کار *jacob* و *wollman* نشان داد که کروموزوم باکتریایی ها خطی است ولی هنگامی که چند سویه از *Hfr* که به طور مستقل تهیه شده بودند برای آزمایش های *mating* int *errupted* استفاده شد برداشت از نتایج حاصله از کار *jacob* و *wollman* دگرگون شد.

Gene Order of Various Hfr Strains Determined by Means of Interrupted Mating

Types of Hfr	HfrH	1	2	3	4	5	6	7	AB 311	AB 312	AB 313
*Order of Transfer of Genetic Characters**	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	T	L	Pro	Ad	B_1	M	Isol	T_1	H	Sm	Mtl
	L	T	T_1	Lac	M	B_1	M	Az	Try	Mal	Xyl
	Az	B_1	Az	Pro	Isol	T	B_1	L	Gal	Xyl	Mal
	T_1	M	L	T_1	Mtl	L	T	T	Ad	Mtl	Sm
	Pro	Isol	T	Az	Xyl	Az	L	B_1	Lac	Isol	S-G
	Lac	Mtl	B_1	L	Mal	T_1	Az	M	Pro	M	H
	Ad	Xyl	M	T	Sm	Pro	T_1	Isol	T_1	B_1	Try
	Gal	Mal	Isol	B_1	S-G	Lac	Pro	Mtl	Az	T	Gal
	Try	Sm	Mtl	M	H	Ad	Lac	Xyl	L	L	Ad
	H	S-G	Xyl	Isol	Try	Gal	Ad	Mal	T	Az	Lac
	S-G	H	Mal	Mtl	Gal	Try	Gal	Sm	B_1	T_1	Pro
	Sm	Try	Sm	Xyl	Ad	H	Try	S-G	M	Pro	T_1
	Mal	Gal	S-G	Mal	Lac	S-G	H	H	Isol	Lac	Az
	Xyl	Ad	H	Sm	Pro	Sm	S-G	Try	Mtl	Ad	L
	Mtl	Lac	Try	S-G	T_1	Mal	Sm	Gal	Xyl	Gal	T
	Isol	Pro	Gal	H	Az	Xyl	Mal	Ad	Mal	Try	B_1
	M	T_1	Ad	Try	L	Mtl	Xyl	Lac	Sm	H	M
	B_1	Az	Lac	Gal	T	Isol	Mtl	Pro	S-G	S-G	Isol

*The 0 refers to origin of transfer.

From F. Jacob and E. L. Wollman, *Sexuality and the Genetics of Bacteria*. Copyright © 1961 Academic Press, Orlando, FL. Reprinted by permission.

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

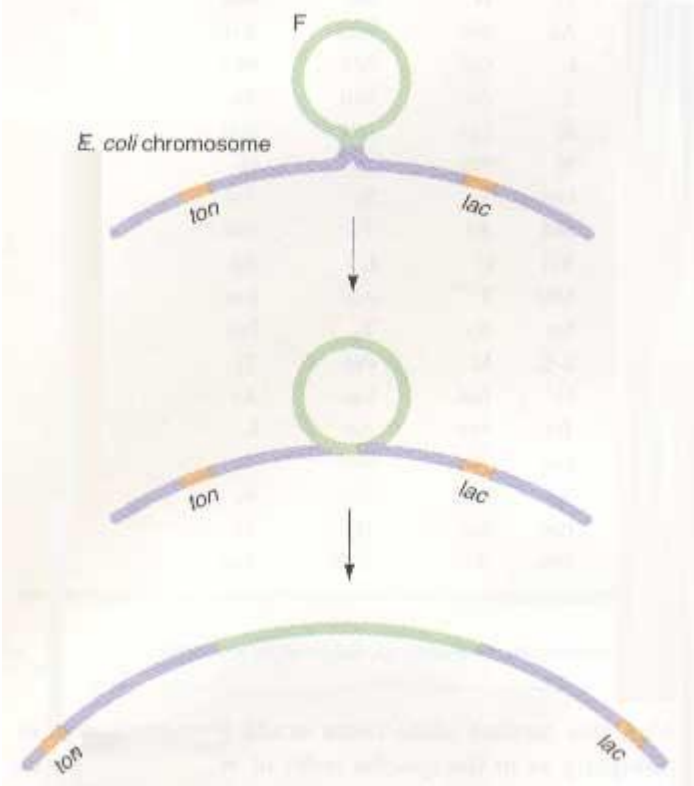
اگر برای مدت کوتاهی در اطلاعات این جدول اندیشه کنیم یک حقیقت روشن می شود ترتیب نسبی جایگاه های ژنی همواره یکسان است. آنچه فرق می کند نقطه مبدا و جهت حرکت است این اطلاعات منجر به این شد که *jacob* و *wollman* پیشنهاد کنند که کروموزوم *E.coli* حلقوی است که نه تنها دقیقاً با داده های آن ها مطابقت داشت بلکه مشکل غیر خطی بودن نقشه ژنی که توسط لدر برگ مطرح شده بود را نیز حل کرد. *jacob* و *wollman* مطرح کردند که فاکتور F یک *DNA* حلقوی با ماهیت مستقل در سلول های F^+ است که در خلال هم یوغی به سلول F^- منتقل می شود. و از آنجا که تکه ای از *DNA* است می تواند با درصد بالا هم یوغی به طور کامل قبل از جدا شدن سلول ها منتقل شود. اگر فاکتور F با کروموزوم میزبان ترکیب شود سلول میزبان به یک سلول *Hfr* تبدیل می شود. نقطه ترکیب دو کروموزوم می تواند در سویه های مختلف متفاوت باشد. هر چند وقتی که فاکتور ترکیب شد جهت و نقطه اولیه ترانسفر کروموزوم *E.coli* *E.coli* را تعیین می کند. فاکتور F آخرین بخش کروموزوم *E.coli* است که از سلول *Hfr* می گذرد. این حقیقت که چرا یک سلول *E.coli* که در تماس با سلول F^+ است به ندرت خودش فاکتور F را عبور می دهد بدین وسیله توضیح داده می شود.

در کار اصلی لدر برگ و تاتوم یک سلول نو ترکیب از هر 10^7 سلول بیشتر مشابه هم یوغی بین یک سلول F^- و یک *Hfr* بود که به طور خود بخودی از یک سلول F^+ بوجود آمده بود. *int egration* فاکتور F در شکل ***1*** نشان داده شده است.

(شکل **1**)

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

Integration of the F factor by a single crossover. A simultaneous breakage in both the F factor and the *E. coli* chromosome is followed by a reunion of the two broken circles to make one large circle, the Hfr chromosome. In this case, integration is between the *ton* and *lac* *loci*.



فاکتور F می تواند این مراحل را بر عکس طی کند و به صورت یک لوپ از کروموزوم $E.coli$ بیـرون بزنـد.

فرآیندی که آن را با جزئیات تحت عنوان $F-duction$ $(Sexduction)$ بررسی می کنیم.

اکنون ما نمای شماتیک کروموزوم $E.coli$ را نشان می دهیم و محل قرار گیـری تمـام جایگـاه هـای ژنـی شناخته شده را نشان می دهیم. واحدهای نقشه بر حسب دقیقه خواهد بود کـه بـا $erruptedmating$ int بدسـت آمده است.

هر چند در این نقطه نقشه کامل نیست $erruptedmating$ int در تعیین مکان های نسبی جایگاه های ژنـی

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

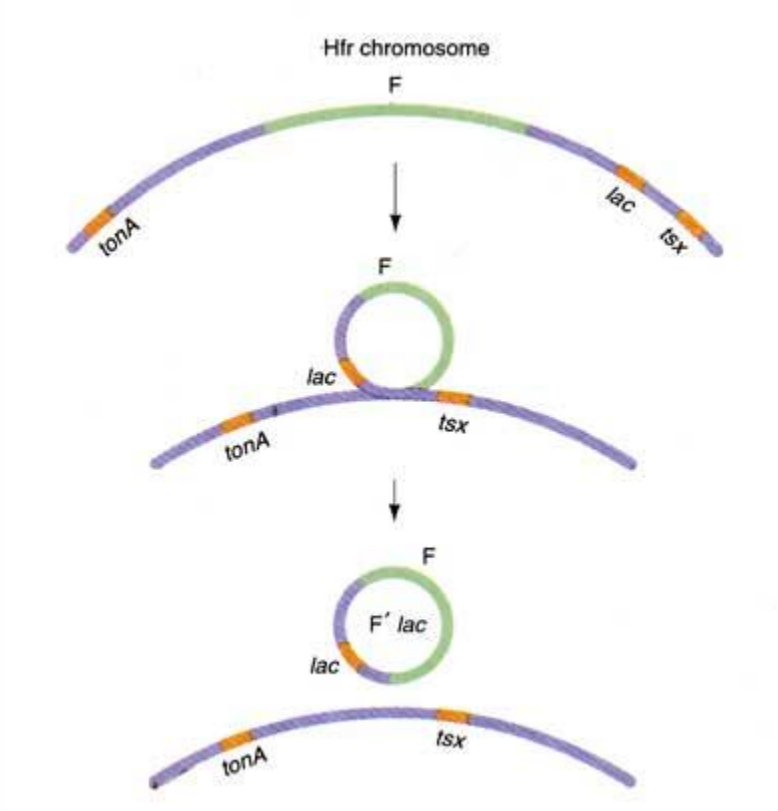
که خیلی به یکدیگر نزدیک نیستند بسیار کارآمد است. این روش به تنهایی برای تعیین جایگاه هـای ژنـی بـسیار نزدیک به یکدیگر در کروموزوم ابهـام فراوانـی تولیـد مـی کنـد. دو فرآینـد جنـسی باقیمانـده در بـاکتری هـا یعنی $transduction, sexduction$ جزئیات غیرقابل دسترس توسـط $transformation, \text{int}\, errupted\ \ mating$ را برای ما فراهم می کند.

$Sexduction\,(F-duction)$

در شکل **1** مشاهده کردیم که فاکتور F می تواند با کروموزوم میزبان ترکیب شود و در فرآیند معکوس مـی تواند ژنوم میزبان را ترک کند (جدا شدن یا $looping\ \ out$) هر چند $looping\ \ out$ فرایند چندان دقیقی نیست : فاکتور F به همراه تعدادی از ژنوم میزبان جدا می شود.

(شکل **2**)

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir



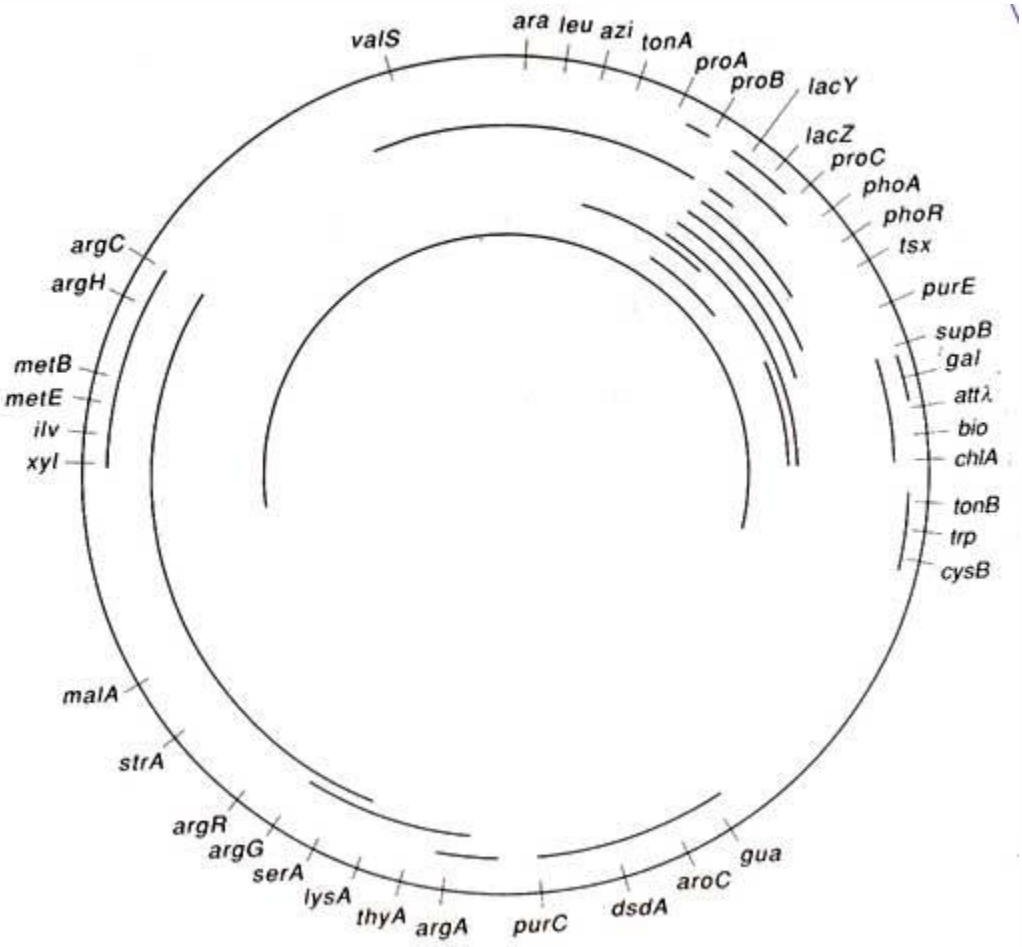
این F فاکتور جدید با نام F^- خوانده می شود و به سلول های باکتریایی مشخصات جالب و ویژه ای می بخشد. اول اینکه F^- ژن ها را با سرعت بسیار بالایی انتقال می دهد حتی اگر سویه Hfr نباشد.

این نتیجه حساسیت ایجاد می کند زیرا ما می دانیم که سلول های F^+ فاکتور F خود را با سرعت بسیار بالایی درطول هم یوغی منتقل می کنند. دوم اینکه F^- سرعت ترکیب شدن بسیار بیشتری نسبت به F دارد و بر خلاف یک فاکتور F عادی معمولاً در همان نقطه ی ابتدایی که جدا شده است با کروموزوم میزبان ترکیب می شود این مورد نیز حساسیت ویژه ای تولید می کند زیرا یک فاکتور F انتقال یافته یک ناحیه مشابه کروموزوم سلول $E.coli$ جدید خواهد داشت و در نتیجه می خواهد در آن ناحیه جفت شود. با یک $Single\ crossing\ over$ به

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

نقطه ابتدایی متصل می شود. اولین فاکتور F^- شناخته شده جایگاه ژنی $lac(lactose)$ را حمل می کرد. پس از آن فاکتورهای F^- فراوانی جداسازی شدند که هر یک با یک ناحیه متفاوت از کروموزوم $E.coli$ جفت شده بودند.

شکل 3



پس، با وجود اینکه $Sexduction$ بعدها چندان مورد استفاده قرار نگرفت این فرایند یک وسیله اضافی برای

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

نقشه برداری است. به طور کلی دو جایگاه ژنی برای اینکه هر دو بتوانند برروی یک فاکتور F^- قرار بگیرند باید به یکدیگر نزدیک باشند درباره جزئیات آن در مبحث *transduction* که معمولترین روش برای تعیین ترتیب قرار گیری ژن های بسیار نزدیک متصل شده به یکدیگر است بیشتر گفته می شود. همان روش هایی که در نقشه برداری *tranlductional* به کار می رود و در نقشه برداری *Sexduction* نیز مورد استفاده قرار می گیرد و لذا در این قسمت از تکرار آن می پرهیزیم. *Sexduction* در کنار نقشه برداری استفاده های دیگری نیز دارد زیرا *partialdiploids* یا مروزیگوت ها هنگامی تشکیل می شوند که یک ژن باکتریایی هم بر روی کروموزوم و هم بر روی فاکتور F یافت شود. وجود آن ها این اجازه را می دهد که به مطالعه تعامل ها بین آلل ها در یک موجود هاپلوئید بپردازیم.

transduction آخرین روش برای کسب *DNA* خارجی به یک سلول باکتریایی است که طی فرایندی با واسطه فاژ صورت می گیرد. بنابراین بحث درباره *transduction* باید تا هنگامی که برخی از مشخصات فاژها توضیح داده شود به تعویق انداخته شود.

شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir