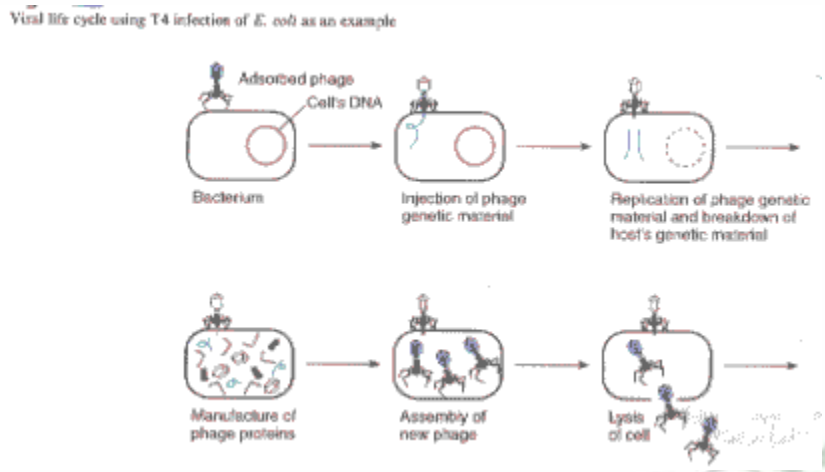
چرخه حیات باکتریوفاژها

فاژها انگل های درون سلولی اجباری هستند. مواد ژنتیکی فاژ پس از اینکه فاژ بـه سـطح سـلول چـسبید وارد سلول باکتری می شود و مواد ژنتیکی ویروس متابولیسم سلول میزبان را در دست می گیرد. در طی مرحلـه ابـتلا مواد ژنتیکی سلول تخریب می شوند در حالی که مواد ژنتیکی ویروس بارها همانند سازی می شوند.

مواد ژنتیکی ویروسی تولید اجزاء پروتئین مختلف را کنترل می کنند. سپس ذرات ویروس جدید در درون سلول میزبان ساخته می شوند با ترشح یک آنزیم و ترکیدن سلول میزبان صدها ذره ویروسی به خارج می ریزنـد و بـه سراغ باکتری های دیگر می روند. این چرخه حیات در شکل زیر نمایش داده شده است.



نوترکیبی :

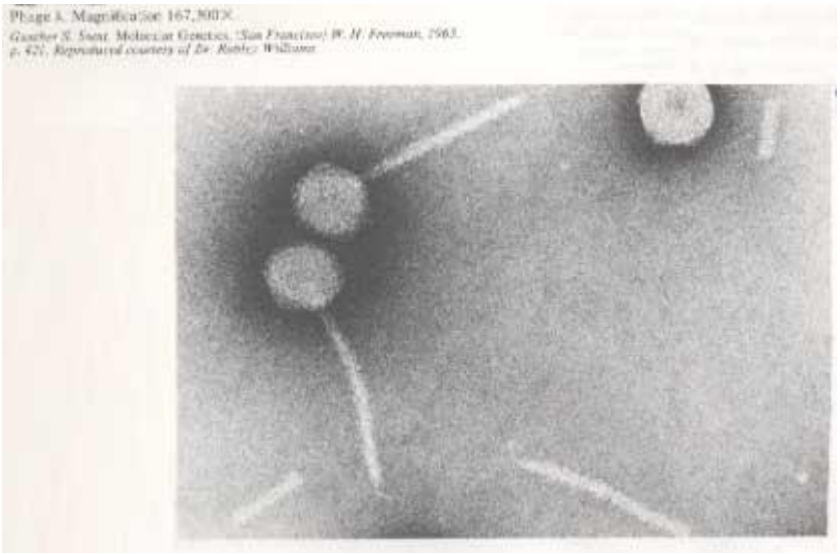
شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

کارژنتیکی اصلی بر روی فاژها بوسیله یک سری متشکل از هفت فاژ $E.coli$ که با نام سری T خوانده می شوند انجام شده است:

$$(T-odd: T1, T2, T3, T4) \qquad (T-even: T2, T4, T6)$$

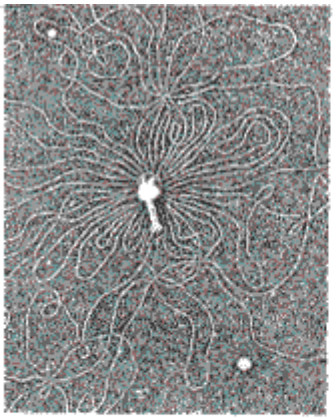
همچنین فاژهای دیگری از جمله فاژ l نیز در این زمینه به کار گرفته شده اند

شکل



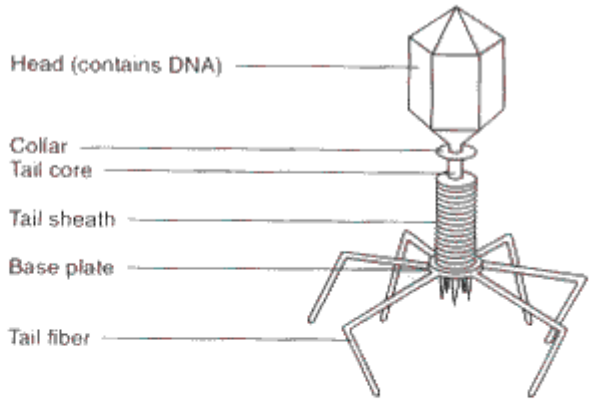
ساختار پیچیده $T2$ در شکل زیر نمایش داده شده است.

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



(a) (b)

کروموزوم باکتریوفاژ 2



پوشش باکتریوفاژ T_2

باکتریوفاژ T_2 و کروموزوم های آن

در هنگامی که یک سلول توسط رو ویریون که از نظر ژنتیکی متفاوتند فاژها می توانند دستخوش نوترکیبی شوند. لذا ژنوم فاژ می تواند توسط نوترکیبی نقشه برداری شود. به عنوان مثال در این جا $rapid-lysis, host-range$ جایگاه ها دیده می شود.

جهش یافته های $rapid-lysis\,(r)$ مربوط به فاژهای $T-even$ پلاک های بزرگ با لبه های تیز ایجاد می کنند. نوع وحشی پلاک های کوچکتر و $fussy-edged$ ایجاد می کند.

آلل های اصلاح شده به عنوان جایگاه های ژنی $host-range$ شناخته می شوند و سویه باکتری را که فاژ می تواند بر روی آن تاثیر گذارد را تعیین می کند. برای مثال $T2$ می تواند سلول های $E.coli$ را تحت تاثیر قرار دهد. این فاژها می توانند برای محدوده میزبان عادی به عنوان $T2h^+$ معرفی شوند. بنابراین $Tto^s, E.cali$

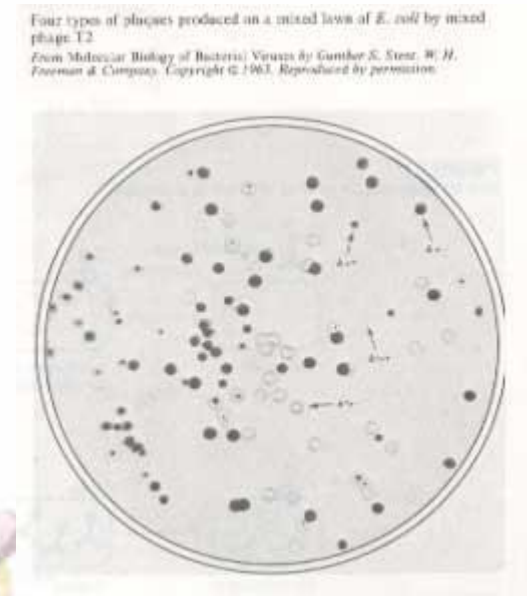
شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

خواهد بود که به حساسیت آن به $T2$ اشاره دارد.

در طی تکامل یک $E.coli$ جهش یافته بوجود آمده که به فاژ عادی مقاوم است این سویه با نام TtO^r برای T_2 نامیده می شود. بعدها فاژها نیز فرم های جهش یافته ای تولید کردند که می توانست در سلول $E.cali$ Tto^r تکثیر یابند این فاژهای جهش یافته به نام $T2h$ خوانده شدند به خاطر داشته باشید محدوده میزبان یک جهش در ژنوم فاژ است در حالی که مقاومت فاژ یک جهش در ژنوم باکتریایی است.

در سال 1945، $MaxDelbruck$ (برنده جایزه نوبل 1969) تکنیک شناساگرهای مختلط را توسعه داد که می تواند برای نشان دادن و ثابت کردن فنوتیپ چهار فاژ در یک پتری مورد استفاده قرار می گیرد

شکل 1

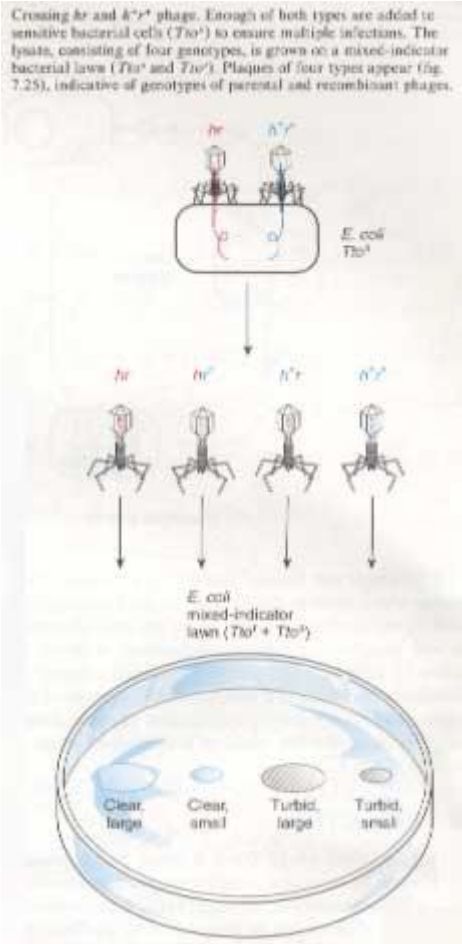


شبکه رشد – شبکه ملی مدارس ایران
Olympiad.roshd.ir

در این روش فاژهای جهش یافته $(r)rapid-lysis$ پلاک های بزرگ تولید می کنند در حالی که گونه وحشی (r^{+}) پلاک های کوچکتری تولید می کنند. فازهای جهش یافته $(h)host-range$ هر دو نوع باکتری Tto^{r}، Tto^{s} را تحت تاثیر قرار می دهند، آن ها پلاک های واضحی تولید می کنند که کدر هستند و در شکل **1** نمایش داده شده اند. از آنجا که فاژهای حامل آلل $\left(h^{+}\right)host-vange$ از نوع وحشی فقط می توانند Tto^{s} را تحت تاثیر قرار دهند تولید پلاک هایی در هم و برهم و غیر یکنواخت می کنند باکتری های Tto^{r} که در این پلاک ها رشد می کنند ایجاد $turbidity$ می کنند (این پلاک ها در شکل **1** سایه روشن به نظر می رسند)

می توان جهش یافته های $host-range$ را با جستجوی برای باکتری های Tto^{r} از یک نمونه از فاژهای نوع وحشی جدا کنیم. در این روش فقط جهش یافته های h رشد خواهند کرد سپس این فاژها می توانند برای داشتن فنوتیپ نوع r مورد آزمایش قرار گیرند. از این جا جهش یافته های با دو جهش جداسازی می شوند. هنگامی که دو سویه (دو جهشی و نوع وحشی) در دسترس باشند می توان آن ها را در مقیاس زیاد به باکتریهای حساس افزود.

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



Crossing *hr* and *h⁺r⁺* phage. Enough of both types are added to sensitive bacterial cells (*Tho⁺*) to ensure multiple infections. The lysate, consisting of four genotypes, is grown on a mixed-indicator bacterial lawn (*Tho⁺* and *Tho⁺*). Plaques of four types appear (fig. 7.25), indicative of genotypes of parental and recombinant phages.

به منظور اطمینان از اینکه هر باکتری حداقل با یک فاژ از هر نوع موجود مورد حمله قرار می گیرد و در نتیجه امکان نوترکیبی در درون سلول باکتری وجود دارد از تعداد بسیار زیادی فاژ استفاده می شود. پس از تکثیر فاژها فاژها جداسازی شده و در *Delbruck' s inductor stock* **کشت داده می شوند از رشد آن ها فنوتیپ (و در نتیجه ژنوتیپ) هر فاژ بدست می آید درصد نوترکیبی مستقیماً از روی پلیت قابل نتیجه گیری است برای مثال برای پلیت شکل 1 داریم.**

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

$hr46$ h^+r^+52

h^+r34 hr^+26

دو مورد اول یعنی h^+r^+, hr **ژنوتیپ اولیه فاژها هستند و دو مورد بعدی یعنی** hr^+, h^+r **از نوترکیبی بین جایگاه های ژنی** r, h **بر روی کروموزوم فاژ بوجود آمده اند یک** *Single Crossover* **در این ناحیه نوترکیب ها را تولید خواهد کرد درصد نوترکیبی عبارت است از :**

$$34 + 26 / (46 + 52 + 34 + 26) = 60/158 = 0.38 \quad or \quad 38\%$$

این درصد نوترکیبی نشانگر فاصله نقشه است در حالی که (در یک یوکاریوت) یک ضریب نسبی بین جایگاه های ژنی است هر چه فاصله فیزیکی بین جایگاه ها بیشتر باشد میزان نوترکیبی بیشتر خواهد بود و از آنجا فاصله نقشه بیشتر خواهد بود یک واحد نقشه (یک سانتی مورگان) برابر 1% *DNA* **نو ترکیب شده می باشد.**

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