نواقل الكلونة

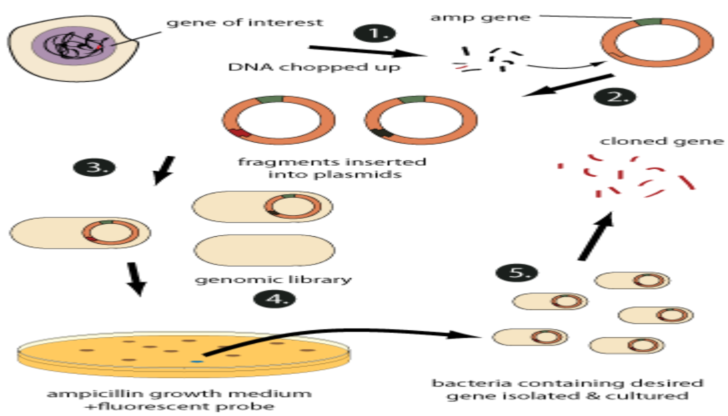
الناقلات Vectors

يجب توفر وسيلة يمكن من خلالها ادخال الجزيئات الهجينة الناتجة من عمليات الربط إلى خلايا الكائن المضيف بحيث يمكن لهذه الجزيئات أن تديم نفسها في المضيف الجديد وتتوارث بثبات بين الاجيال المتعاقبة ومن اكثر الطرق المستخدمة لادخال الجزيئات الهجينة هي طريقة لتحول transformation وطريقة التحول بالعاثي transduction

يطلق على البلازميدات نواقل "Vectors" لاستخدامها كأداة في نقل الجينات من وإلى الكائنات بعضها البعض، وعليه يمكن للباحثين المختصين التحكم في تركيب البلازميدات (النواقل) لادخال صفات وراثية "الجينات" مرغوبة، ومن ثم ادخالها إما داخل الخميرة أو إعادة إدخالها للخلية البكتيرية، بغرض الاستفادة من خاصية التكاثر الذاتي لها، وعليه انتاج كميات كبيرة من هذه الجينات، تسمى هذه العملية بالكلونه Cloning بمعنى ادخال جين معين واندماجه مع البلازميد (الناقل) اى الاستنساخ .

البلازميدات

البلازميدات هي جزيئات DNA حلقية تحمل جينات في البكتيريا، وهي منفصلة عن الكروموسوم البكتيري .وتحتوى على جينات إضافية غير أساسية تساعد على تحسين صفات الكائن الدقيق، ولكن رغم ذلك يمكنه العيش بدونها. يستخدم البلازميد كأداة أساسية في نقل الجينات من وإلى الكائنات وبعضها وقد أدى استخدام البلازميدات إلى نقلة واسعة جداً في علم وتقنيات وأبحاث الهندسة الوراثية والتعامل مع الجينات. تعتبر البلازميدات من اشهر الناقلات موجود في البكتيريا خاصة في (E.Coli) و بعض أنوع الخميرة (Yeast). و لدية القدرة على التكاثر الذاتي و بمعزل من بقية الكروموسومات الموجودة في الخلية.كما أن هناك بلازميدات تستطيع التكاثر داخل البكتيريا و الخميرة في آن واحد.



شكل يوضح اسخدام البلازميدات كنواقل "Vectors" في نقل الجينات من وإلى الكائنات الحية

من أهم الصفات المحمولة على البلازميدات هي المقاومة للمضادات الحيوية وإنتاج الهيمولايسين وتخمير السكريات ومقاومة المعادن الثقيلة وتكوين السرطانات في النباتات ويمكن للبلازميدات أن تحمل جينات عديدة مثل الجينات المسؤولة عن إنتاج السموم وتسمى جينات الضراوة وكذلك الجينات المسؤلة عن إنتاج المضادات الحياتية وغيرها من الصفات . علما" ان هنالك الكثير من البلازميدات التي لا يعرف لها صفات مظهرية لحد الآن ، ولهذا يطلق على مثل هذه البلازميدات اسم البلازميدات الخفية . Cryptic Plasmids ويمكن أن تتواجد البلازميدات بأشكال مختلفة في الخلية

البكتيرية فقد تكون على شكل مغلق أو تكون بشكل مفتوح من طرف واحد أو تكون بشكل خيطي . توجد في بكتريا Streptomycesوفي عدد من الأنواع . كما أنها تتواجد في الخلايا حقيقة النواة فهي موجودة في خميرة الخبز Saccharomyces cervesiaوتختلف البلازميدات في عدد نسخها حيث تتباين عدد نسخها في الخلية الواحدة.

الخصائص العامه للبلازميدات General characteristics of the plasmids

١. توجد البلازميدات باشكال مختلفه ، النوع السائد هو هو جزيئة دنا حلقية الشكل واحيانا توجد بشكل خطي linear DNA molecule
٢. البلازميدات هي جزيئات صغيرة الحجم تتراوح احجامها من ١-١٠٠٠kbp
٣. على الرغم من انه يتضاعف بشكل مستقل عن تضاعف الروموسوم البكتيريautonomous replication الا انه يعتمد على انزيمات الخليه لانجاح عملية التضاعف والاستنساخ. ولكن عملية بدا التضاعف وتوزيع نسخ البلازميدات في الخليه البنويه يتم تنظيمها من خلال جينات البلازميدات
٤. كل بلازميد يحتوي واحده على الاقل من منطقة اصل التضاعف origin of replication
٥. اكثر البلازميدات تحتوي على جينات مسوؤله عن ابراز الطراز المظهري الخاص بالكائن الحي ، مثل صفة المقاومه للمضادات الحياتيه
٦. بعض الخلايا البكتيريه تحتوي على نسخة واحده اوعدد قليل منها ، اثناء حدوث انقسام الخليه وتكوين الخلايا البنويه ، هنالك احتماليه انتاج خلايا بنويه فاقده لذلك النوع من البلازميد
٧. توجد عدة نسخ لكل نوع من البلازميد داخل الخليه الواحده تتراوح من نسخه واحده لعدة الاف من النسخ تحت ظروف خاصه
٨. احتوائها على cloning site وهو منطقة الهضم بواسطة الانزيمات القاطعه المحدده التي عندها يتم اضافة القطعه الوراثيه المراد استنسالها .

بالنظر لوجود أعداد كبيرة من البلازميدات المختلفة ، واستمرار اكتشاف بلازميدات جديدة ، فقد وضعت عدة نظم لتقسيم هذه البلازميدات من اجل تسهيل دراستها . تقسم البلازميدات اعتمادا" على احد هذه النظم إلى نوعين رئيسيين هما:

١. البلازميدات الاقترانية التي تحتوي على مجموعة من الجينات الناقلة والمحفزة لعملية الاقتران في البكتريا . كما وتكون ذات أوزان جزيئية كبيرة وبعدد محدود من النسخ.
٢. البلازميدات غير الاقترانية وهي عكس الاولى لا تحتوي الجينات الناقلة لذلك فالبكتريا الحاوية لها تكون غير قادرة على بدء عملية الاقتران . كما وتكون ذات أوزان جزيئية واطئة ولكنها بأعداد كبيرة من النسخ في الخلية الواحدة.

ويمكن أن تقسم البلازميدات اعتمادا" على عدد نسخ البلازميد الموجودة في خلية المضيف إلى نوعين هما :

١. البلازميدات المسترخية والتي توجد في خلية المضيف بعدد كبير من النسخ.
٢. البلازميدات المتشددة والتي توجد في خلية المضيف بعدد محدد من النسخ.

وفضلا" عن أهمية الجينات المحمولة على البلازميدات ووظائفها الكثيرة فالبلازميدات تستخدم في الوقت الحاضر بشكل واسع كنواقل كلونة ويطلق على البلازميدات نواقل ''Vectors'' لاستخدامها كأداة في نقل الجينات من وإلى الكائنات

بعضها البعض، وعليه يمكن للباحثين المختصين التحكم في تركيب البلازميدات (النواقل) لإدخال صفات وراثية "الجينات" مرغوبة، ومن ثم إدخالها إما داخل الخميرة أو إعادة إدخالها للخلية البكتيرية، بغرض الاستفادة من خاصية التكاثر الذاتي لها، وعليه إنتاج كميات كبيرة من هذه الجينات، تسمى هذه العملية بالكلونة Cloning بمعنى إدخال جين معين واندماجه مع البلازميد (الناقل) أي الاستنساخ. وقد أدى ذلك إلي استخدام البلازميدات في تقنيات وأبحاث الهندسة الوراثية والتعامل مع الجينات من خلال نقل الجينات Gene transfer إلى الخلايا البكتيرية أو إلي خلايا كائنات راقية سواء نباتات أخرى أو حيوانات أو كائنات حية أخرى لتحسين مقاومتها للأمراض أو تحسين معدلات نموها أو تحسين أي صفات أخرى مطلوبة، العلاج الوراثي عن طريق إدخال جينات إلى خلايا الإنسان المريض وراثيا لتعديل تركيبه الوراثي إلى التركيب الطبيعي والإنتاج المكثف لبعض الجزيئات الكيميائية الحيويةBiochemical molecules والتي لها أهمية في علاج بعض الأمراض مثل هرمون الأنسولين وهرمون النمو أو أي جزيئات كيميائية حيوية لها أهمية تجارية أخرى، فيما يعرف بثورة الهندسة الوراثية.

وتمتاز كل من الخلايا البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام باحتوائها على البلازميدات، إلا أن هناك اختلاف في طرق استخلاص البلازميدات من البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، يرجع ذلك لاختلاف تركيب الجدار الخلوي وعدد نُسخ نوع البلازميد الواحد (copy number) داخل الخلية البكتيرية، فنجد أن عدد نسخ النوع الواحد في البكتريا الموجبة اقل بكثير عنه في الخلية البكتيرية السالبة لصبغة كرام ، مما يؤثر في كفاءة وسهولة عملية عزل البلازميدات، علاوة على اختلاف طرق العزل.

وللتشابه ما بين البلازميدات والفيروسات الصغيرة من حيث وجود الحمض النووي والقدرة على نقل الموروثات، فيما عدا عدم احتواء البلازميدات على طبقة خارجية من البروتين، ولا تسبب البلازميدات ضرر لعائلها، بعكس علاقة الفيروس بعائلة وما يسببه من ضرر، أدى ذلك إلى الأعتقاد نظريا أن الفيروسات المنتشرة في الأصل ما هي إلا بلازميدات واكتسبت غلاف بروتيني خارجي و أصبحت فيروسا وتختلف البلازميد عن بعضها البعض من حيث الوزن الجزئ فمنها الصغير ومنها الكبير، وبالتالي تختلف في حملها للجينات، فمنها ما لا يحتوي على أي جين، بينما هناك أنواع كبيرة تحتوي على عدة جينات ويمكن لبعض انواع من الخلايا البكتيرية تبادل د ن أ بنوع من الاقتران أو ما يسمى بالتزاوج الجنسي Conjugation بين خلايا بكتيرية قريبة من بعضها البعض من الناحية التقسيمية أو من نفس الجنس، ويشتمل الاقتران على انتقال د ن أ المباشر من نوع واحد من خلايا بكتيرية مذكرة (تمتلك بلازميد الخصوبة Sex Plasmid) لتميزه بجينات لها القدرة على الانتقال والحركة إلى خلية أخرى مؤنثة .وبانتقال الـ دن أ، تنتقل الصفات الوراثية من الخلايا مذكرة "المعطية" إلى المؤنثة" المستقبلة". فإذا كانت الخلايا البكتيرية مقاومة لنوع معين من المضادات الحيوية مثلاً، فمن الممكن أن تنقل هذه الصفة المميَّزة إلى خلايا بكتيرية غير مقاومة.

..

صورة تظهر الاقتران أو التزاوج الجنسي في خلايا من *E.coli* هو نقل د ن أ من خلية بكتيرية معطية / مذكرة F+ /)العليا) إلى أخرى مستقبلة/مؤنثة) -F /السفلى) من خلال أنبوبيطلق عليه البيلي الخصوبة sex pilus يصل بين الخليتين، وهو نوع منأنواع البيلي خاص بأتصال خلية بأخرى.

وقد أدى ذلك إلي استخدام البلازميدات في تقنيات وأبحاث الهندسة الوراثية والتعامل مع الجينات من خلال نقل الجينات Gene transferإلى الخلايا البكتيرية أو إلي خلايا كائنات راقية سواء نباتات أخرى أو حيوانات أو كائنات حية أخرى

لتحسين مقاومتها للأمراض أو تحسين معدلات نموها أو تحسين أى صفات أخرى مطلوبة، العلاج الوراثى عن طريق إدخال جينات إلى خلايا الإنسان المريض وراثيا لتعديل تركيبه الوراثى إلى التركيب الطبيعى والإنتاج المكثف لبعض الجزيئات الكيميائية الحيوية Biochemical molecules والتى لها أهمية فى علاج بعض الأمراض مثل هرمون الأنسولين وهرمون النمو أو أى جزئيات كيميائية حيوية لها أهمية تجارية أخرى، فيما يعرف بثورة الهندسة الوراثية.

ترجع أهمية البلازميدات في أنها المسبب الرئيسي في فشل المضادات الحيوية في علاج الامراض البكتيرية، فأثبتت العديد من الابحاث حمل البلازميدات لصفات مقاومة المضادات الحيوية. فقد أمكن عزل بلازميد من *Staphylococcus aureus* الموجبة لجرام، مسئول عن حمل صفة المقاومة لكل من Rifampicin وFusidic acid، Chloramphenicol وأطلق عليه أسم pC194. كما أثبتت الدراسات بعد ذلك حمل هذا البلازميد pC194 لصفة المقاومة للأمونيوم الرباعية وقُدر وزنه الجزئي بـ 2.239Kb.
وتوالت الدراسات عن الكشف عن بلازميدين في عزلات *S.aureus* الأول يحمل صفة المقاومة للـ Vancomycin والـ erythromycin أما البلازميد الثاني فهو يحمل شفرة مقاومة لكلاً من مضادات الحيوية التالية :Streptomycin، Gentamycin، Vancomycin، Erythromycin .

بالإضافة إلى الأبحاث التي أيدت عزل بلازميدات من *S.aureus* حاملة لصفة المقاومة للميثيسيللين Methecillin بالإضافة إلى العديد من المضادات الاخري، إلا أنه لخطورة المقاومة للميثيسيللين أطلق على هذه العزلات بـ (MRSA) Methecillin Resistant *Staphylococcus aureus*، ذلك لتمييزها عن عزلات *S.aureus* المقاومة للمضادات الحيوية إلا انها حساسة للميثيسيللين، ويطلق عليها Methecillin Sensitive *Staphylococcus aureus* (MSSA).

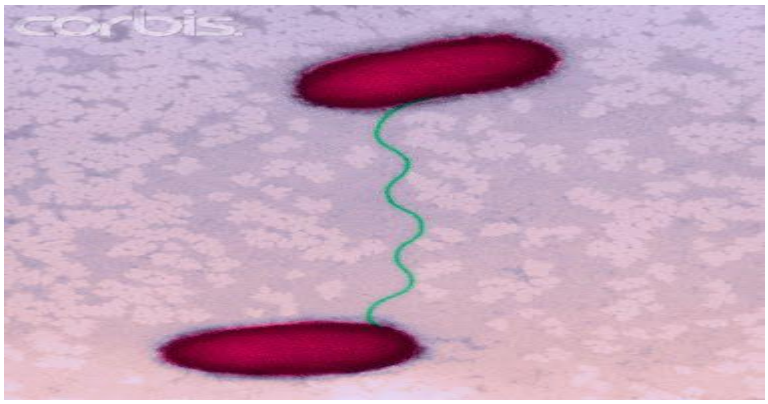
ومن أخطر البلازميدات على كفاءة المضادات الحيوية في العلاج، هي التزاوجية لما لها من قدرة على الحركة (لحملها جينات النقل ألتزاوجي)، ومن ثم نقل الصفة أو الصفات التي تحملها في العشيرة عن طريق التزاوج الجنسي، ففي عزلات *S.aureus*

كشفت الدراسات عن بلازميد حامل لصفة إنتاج سم ExfoliativeToxin B ، كما ثبت حمل أنواع أخرى من *Staphylococcus* sp لنفس البلازميد كما في النوع *S.hyicus* وقد أوضحت دراسة أن هذا التوكسين (TE) يصيب الأطفال حديثي الولادة مسبباً لهم تقرحات جلدية يسمى Staphylococcal Scaled Skin Syndrome(SSSS) أو Ritter disease

أكتشفت بلازميدات من *S.aureus* تحمل على نفس البلازميد/ البلازميدات بجانب صفات المقاومة للمضادات الحيوية، صفة المقاومة للعناصر الثقيلة كالزئبق والنحاس والكادميوم Cadmium علاوة على مقاومتة للـ Chloramphenicol ، وتم الكشف عن بلازميد pI9789 في سلالات *S.aureus* مقاوم للعنصر الثقيل الارسينيت Arsenate علاوة على مقاومته لـ Penicillin و Specitomycin وهو ذو وزن جزيئي ١٩.٧ Kb.
وكان لبلازميدات الخلايا البكتيرية السالبة لجرام خاصة *P.aeruginosa* دور في مضمار ضرر الإنسان، بما تحمله من بلازميدات يرجع لها: القدرة المرضية والمقاومة للمضادات الحيوية والعناصر الثقيلة (الزئبق والأرسنيت والكادميوم)، والسموم والإصابة بالفاجات، علاوة على البلازميدات الحاملة لصفة الانتقال والقدرة التزاوجية ونقل لصفة إنتاج السموم.
ومما هو جدير بالذكر ارتباط بعض البلازميدات لحملها لعدة صفات مجتمعة على بلازميد واحد مما يزيد من قدرته على إحداث الضرر، خاصة إذا كان من البلازميدات التزاوجية ذات القدرة على الانتقال لخلايا اخرى حساسة من نفس النوع أو

من أجناس اخرى ليكسبها صفة المقاومة، وعليه تتضح خطورة تواجد أجناس مختلفة من البكتيرات في عشيرة واحدة، وهذا ما نجده في الاصابات المختلطة سواء لاصابات مجرى الدم، التهابات المسالك البولية، جروح مرضى الداء السكري، والحروق . وقد اكتشف بلازميد RK2 والمسئول عن صفة المدى العائلي في *P.aeruginosa* وقدرته الانتقالية ومن ثم الثبات في الخلايا المستقبلة من*E.coli* ، بالإضافة إلى جين يُعزى إليه القدرة على بداية الانقسام الثنائي للخلايا . كما امتدت البحوث لتشمل أجناس بكتيرية أخرى سالبة لجرام*E.coli* ، ووجد انها تحمل بلازميدات متعددة المقاومة لكل من المقاومة للبنسلين، Tetracycline ، ampicillin، Chloramphenicol، erythromycin ، Sulfachlorpyridazine ،Streptomycin،nitrofurantoin كما Sulfamethoxazole\ trimethoprim. سُجلت عزلات من *E.coli* مقاومة للمضاد Fluoroquinolone، Ciprofloxacin، Ampicillin ، Ceftazidime ، Cefuroxime، Augmentin،Cotrimoxazole

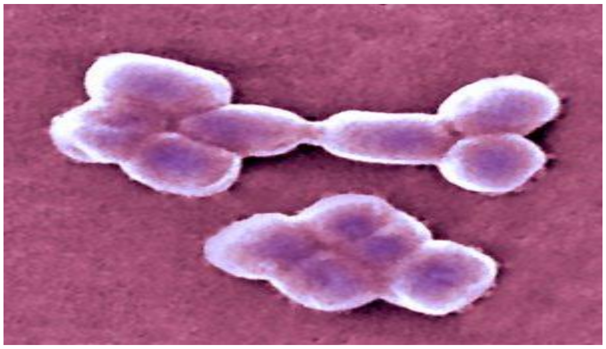
وهناك اختبار تأكيدي يجرى للكشف عن مقاومة العزلات للمضادات الحيوية المحمولة على بلازميدات، فبعد اجراء عزل البلازميدات والكشف عنها بالهجرة الكهربائية، تُنمى العزلة البكتيرية على بيئة تحتوي على المضاد الحيوي المراد اختبارة، فتنمو فقط العزلة الحاملة لصفة المقاومة للمضاد على البلازميد، دون الاخرى التي لا تمتلك للبلازميد المعين .



صورة بالميكروسكوب الالكتروني النافذ تظهر التزاوج بين سلالات من*E. coli*(TEM x27,700)

كما سُجلت بلازميدات في انواع بكتيرية اخرى ممرضة للانسان سالبة لجرام ترجع لها *Haemophilus influenzae* مقاومة لعنصر الزئبق.

ومن ضراوة البلازميدات فقد وُجد أن أغلب حالات الوفيات الناتجة عن الإصابة بداء الذئبة Systemic Lupus erythematosus (SLE), والمتسبب عن النوع البكتيري *Ac.baumannii*, حيث يُعزى ضراوة هذه البكتيره إلى امتلاكها لبلازميد يقوم بتشفير metallo-ß-lactamase والذي قد يؤثر على فعالية عمل المضادات الحيوية التي يدخل في تركيبها حلقة البيتا لاكتام ومنها , penicillins, cephalosporins, rifampicin, tetracyclines, ومن ثمَّ ترجع إلى هذا البلازميد المقاومة للمضادات الحيوية.



الإصابة بداء الذئبة(SLE) Systemic Lupus erythematosus ، والمتسبب عن النوع البكتيري*Ac.baumannii*

صورة بالميكروسكوب الالكتروني الماسح لخلايا بكتيرية للنوع*Acinetobacter baumannii*

انواع البلازميدات Types of plasmid

تختلف اسس تصنيف البلازميدات الى انواع مختلفه بالاعتماد على :

١- التوافق compatibility
٢- الاندماج مع الكروموسوم البكتيري integration with bacterial chromosome
٣- امكانية انتقاله الى الخليه البكتيريه الاخرى ability to transfer to another bacteria
٤- الوظيفه function

تدعى البلازميدات التي ترافق الخليه البكتيريه حتى بعد تضاعفها وانتقالها الى الخلايا البنويه بالبلازميدات المتوافقه compatible plasmid في حين تدعى البلازميدات التي بالامكان فقدانها من الخليه البنويه اثناء الانقسام بالبلازميدات غير المتوافقه incompatible plasmid ، كذلك توجد البلازميدات بشكل حر في السايتوبلازم غير مندمج مع الكروموسوم تدعى بالبلازميدات غير المندمجه nonintegrated plasmid او انه يكون متحد مع الكروموسوم البكتيري ويدعى في هذه الحاله Episome

Episome : بعض البلازميدات لها القابليه على الاندماج مع البلازميدات الاخرى او مع الكروموسوم البكتيري وتدعى الحاله الاخيره بال Episome وبعبارة اخرى الابيسوم هو بلازميد بكتيري او دنا فايروسي بامكانه الاندماج بالدنا الكروموسومي لخليه المضيف ، يتضاعف بتضاعف الماده الوراثيه الكروموسوميه ويصبح جزء من المحتوى الوراثي لتلك الخليه. يمكن اكتساب الايبيسوم بواسطة الاصابه infection او بواسطة الاقتران البكتيري bacterial conjugation ومن الامثله على اللايبيسوم هو التسلسلات المنحشره insertion sequence (IS) والترانسبوزون Transposone ودنا الفايروسات التي بالامكان جينومها الاندماج مع كروموسوم الخليه المضيف .

ومن الاسس المعتمده في تصنيف البلازميدات هو امكانية انتقالها الى الخليه البكتيريه الاخرى عن طريق الاقتران البكتيري . وتدعى البل زميدات المنتقله الى الخليه المستلمه بالبلازميدات الاقترانيه conjugative plasmid وتكون هذه البلازميدات حاويه على Tra genes المسوؤله عن عملية انتقال الماده الوراثيه البلازميديه ، اما البلازميدات غير

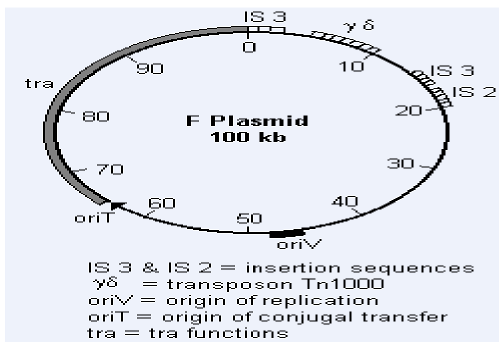
الاقترانيه nonconjugative plasmid فهي غير قادره على الانتقال الى الخليه البكتيريه المستلمه لانها لا تحتوي على المعلومات الوراثيه الازمه لانجاز عملية الاقتران

وهنالك بلازميدات تدعى Mobilizable plasmid ، وهي بلازميدات تكون حالة وسط بين الصنفين السابقين ، اذ تحتوي على بعض الجينات المتطلبه لعملية انتقاله الى الخليه الاخرى ، اذ تقوم بعملية التطفل على بلازميدات الاقتران وبذلك يمكن ان تنتقل الى الخليه المستلمه

ويمكن ايضا تصنيف البلازميدات بالاعتماد على الوظيفه الى:

١. عامل الخصوبه fertility factor or F plasmid

وهو بلازميد ينظم عملية النقل الجنسي (الاقتران البكتيري) للماده الوراثيه بين الخلايا البكتيريه . يحتوي F plasmid على مجموعه من الجينات مسؤوله عن عملية التضاعف الذاتي ، وعن عملية تكوين الاهلاب الجنسيه sex pili ، وعن عملية تكوين الجسور السايتوبلازميه ، وايضا يحتوي على على Tra genes المسؤوله عن عملية نقل البلازميد اثناء الاقتران البكتيري



شكل يمثل F plasmid

٢. بلازميد مقاومة المضادات الحياتيه Resistant plasmid (R plasmid)

يحتوي هذا النوع من البلازميد على مجموعه من الجينات المسؤوله عن مقاومة البكتريا للمضادات الحياتيه او السموم البكتيريه . تتالف مثل هذه البلازميدات من منطقتين من الدنا احدهما تدعى عامل نقل المقاومه resistant transfer factor وهي مسؤوله عن عملية نقل بلازميد المقاومه وعن عملية التضاعف، والمنطقه الاخرى تدعى محددات المقاومه (R- determinant) وهي جينات تشفر لمواد تعادل فعل المضادات الحياتيه او السموم البكتيريه . بلازميدات المقاومه هي من البلازميدات الاقترانيه والتي تنتقل من بكتريا الى اخرى بواسطة الاقتران البكتيري ، اذ انها تحتوي على Tra genes.

٣. Col –plasmid

هذه البلازميدات تحتوي على جينات تشفر للسموم البكتيريه والتي تدعى بالبكتريوسين bacteriocin التي تعمل على قتل السلالات المختلفه لنفس الجنس البكتيري . تدعى السموم المفرزه من بكتريا *E coli* بالـ colicin ومن هذا جاءت

التسميه ، والمفرزه من بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* بال pyocin. بعض Col plasmid هي بلازميدات اقترانيه اذ يمكن انتقالها الى الخليه المستلمه اثناء عملية الاقتران مثل Col B وبعضها غير اقترانيه مثل Col E.

٤. انزيمات التحلل او التفسخ Degradative plasmid

تحتوي هذه البلازميدات على جينات تجهز البكتريا مثل بكتريا Peudomonas باللانزيمات المتخصصه التي يمكن البكتريا من هضم بعض المشتقات النفطيه والمركبات الهيدروكاربون الاروماتيه . Xyl-plasmid الذي يساهم في تحلل الزايلين Xyleneو Toleune

٥. بلازميدات الضراوه Virulence plasmid

بعض اجناس البكتريا مثل*Shigella flexneri* تمتلك عوامل ضراوه Invasinو Interotoxin محموله على البلازميد haemolysin، لبكتريا E.coli .مثل هذه البلازميدات تدعى بلازميدات الضراوه.

٦. بلازميدات المتخفيه Cryptic plasmid

وهي البلازميدات التي لا تمتلك جينات وظيفيه functional genes وبالتالي فهي لا تساهم في ابراز الطراز المظهري phenotype للكائن الحي .

٧. بلازميدات المقاومه للعناصر الثقيله Heavy metal resistant plasmid

هذه البلازميدات تكسب البكتريا صفة المقاومه لبعض العناصر الثقيله مثل الزئبق والنيكل والرصاص مثال على بكتريا *P. florescens, P.aeruginosa, E.coli*.

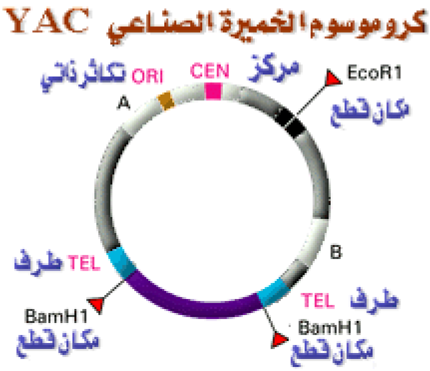
الناقلات الفيروسية (Viral Vectors) :

إن اشهر هذه الأنواع هي الفيروسات البكتيرية المعروفة بالفيج (Phage). و هي عبارة عن قطعة من الدي ان أي مغطاة بغلاف بروتيني. ومن اشهر أنواع الفيج ما يسمى بفيج لمدا (lambda phage) و هو فيروس موجود في الاي كولي E. coli. وهذا النوع من الناقلات تستطيع أن تحمل قطعة من الدي إن أي حتى غاية كيلوبيز.

و لقد حوّرت هذه الفيروسات لكي تستطيع حمل كمية اكبر من الدي إن أي.فعلا سبيل المثال الكوزميد (Cosmids) عبارة عن تهجين جزء(قطعة من الدي ان تسمى اللاصقة cohesive sequenceو تعرف مختصرة بالكوز Cos sequence) من فيج ليمبدا(Phage) مع بلازميد (Plasmid) و الذي يستطيع نقل حتى ٤٠ كيلوبيز (40kb) و الباك الفيروسي المسمى بكروموسوم بي ١ الصناعي (P1-derived Artificial Chromosomes / PAC) عبارة عن تحوير للفيج بي ١ (P1 Bacteriophage) و إضافته إلى البلازميد..

Cosmid	Cos sequence from Lambda phage + Plasmid
PAC	P1 Phage + Plasmid
BAC	Modified E.coli fertility plasmid-factor

الناقلات الكروموسومية الصناعية (Artificial Chromosomes):



نظرا للحاجة إلى نقل إحجام كبيرة من الدي إن أي فقد قام بعض العلماء بتحوير بعض الناقلات الطبيعية لكي تقوم بهذه المهمة.و يوجد حاليا ناقلات على شكل كروموسوم و فيها القطع الأساسية لكي تعمل على شكل كروموسوم.و من هذه الأنواع ما يعرف بــ الياك او كروموسوم الخميرة الصناعي(Yeast Artificial Chromosomes / YAC) و الذي يستطيع نقل أكثر من ٥٠٠ كيلوبيز (500 kb).و الياك عبارة عن قطعة من الدي ان أي مترابطة و تحتوي على طرفين للكروموسوم(2 Telomeres) و مركز للكروموسوم(Centromere) و مركز للتكاثر(Autonomous replicating ARS sequence).بينما الباك البكتيري(Bacterial Artificial Chromosomes / BAC) و الذي يستطيع حمل حتى ١٥٠ كيلوبيز (150 kb) هو تحوير للبلازميد المعروف ببلازميد تناسل بكتيريا الايكولي(E.coli fertility plasmid-factor).

نوع الناقل	Vector	حجم الدي ان أي الذي يستطيع حملة
البلازميد	Standard plasmid	KB ١٠-٠
لمبدا بكتيريوفيج محور	Lambda Bacteriophage	Kb ٢٣0-
كوزميد	Cosmid	Kb ٤٤-٣٠
بكتريوفيج بي ١	Bacteriophage P1	Kb ١٠٠-٧٠
كروموسوم بي ١ الصناعي P1	P1Artificial chromosome PAC	١٥٠Kb -١٣٠
كروموسوم البكتيريا الصناعي	Bacterial Artificial Chromosome BAC	بحد أقصى ٣٠٠ Kb
كروموسوم الخميرة الصناعي	Yeast Artificial Chromosome YAC	Mb ٢-٠.٢