

Lactose Operon in *E. coli*

الجين: هو الوحدة الوراثية أو أصغر وحدة فعالة في DNA مسؤولة عن انتقال المعلومات الوراثية.

الجين التركيبي: تتابعات معينة من نيوكليوتيدات ضمن شريط الـ DNA وهي التي تحدد تتابع الأحماض الأمينية الداخلة ضمن تركيب البروتين.

كل جين بنائي يسيطر على عمله نوعين من العناصر المسيطرة التي تشترك مع انزيم RNA Polymerase والبروتينات المنظمة الأخرى لاجراء عملية الاستنساخ.

العوامل المسيطرة:

١- **Promoter:** تتابعات معينة موجودة في بداية الجين البنائي تمثل محل ارتباط انزيم RNA Polymerase لبدء عملية الاستنساخ.

٢- **Terminator:** هو تتابعات معينة موجودة في نهاية الجين البنائي تعطي إشارة لـ RNA Polymerase للانفصال عن شريط DNA قالب ووقف عملية الاستنساخ.

بعض الخلايا البكتيرية والفايروسات تحصل فيها عملية اشتراك أكثر من جين بنائي واحد بحفاز واحد وفاصل واحد وتدعى مثل هذه الجينات بالأوبرون.

نتاج إستنساخ الجين الواحد ← mRNA واحد.

نتاج إستنساخ جينات الأوبرون ← خيط mRNA متعدد المواضع Polycistronic mRNA لأنه متكون من أكثر من جين وبالتالي يعطي أكثر من بروتين وتساعد مجتمعة على إعطاء صفة مشتركة في الأوبرون، كل جين بنائي يساهم في إظهار صفة مميزة للأوبرون.

يتكون أوبرون اللاكتوز من 3 جينات بنائية:

lac Z: يشفر لانتاج انزيم β - galactosidase يعمل على تحليل اللاكتوز ← كلوكوز + كالكثوز.

lac Y: يشفر لانتاج جزيئة M- protein أو تسمى galactoside permease الموجودة ضمن الغشاء الساييتوبلازمي للخلية البكتيرية.

lac A: ينتج انزيم Thiogalactoside transacetylase ووظيفته غير معروفة.

يسيطر على عمل أوبرون اللاكتوز عوامل أخرى:

١- **المشغل Operator:** يوجد بين lac Z و Promoter.

٢- **lac I:** يسيطر على عمل الأوبرون ينتج Regulatory protein.

هناك نوعين من الجينات يجب التمييز بينهما:

١- **الجين التركيبي:** هو الجين الذي يعبر عن نواتجه أو مكوناته بصورة مستمرة في كل الأوقات وبالتالي تكون نواتج الجين (بروتين- انزيم) مستواها ثابت في داخل الخلية والانزيمات الناتجة عن هذا النوع من الجينات تسمى بالانزيمات التركيبية.

مختبر وراثة أحياء مجهرية

٢- **الجينات الخاضعة للتنظيم:** وهي جينات قابلة للتحويل أو التبديل حسب ظروف نمو الكائن المجهرية وبالتالي نواتج هذه الجينات تكون بمستوى مختلف اعتمادا على ظروف نمو الكائن المجهرية والنزيمات الناتجة عن هذا النوع من الجينات تسمى بالانزيمات المستحثة.

تعتبر جينات الأوبرون من الجينات الخاضعة للتنظيم لأنه لايشفر لصفته بصورة مستمرة لأنه موجود بالوسط للبكتريا النامية فيه.

عند تنمية البكتريا في وسط حاوي على الكلوكوز كمصدر وحيد للكربون يتوقف عمل أوبرون اللاكتوز وذلك لقدرة البكتريا على استخدام الكلوكوز الموجود في الوسط كمصدر وحيد للكربون ولاتوجد حاجة لعملية تحليل اللاكتوز.

أما عند تنمية البكتريا في وسط حاوي على اللاكتوز كمصدر وحيد للكربون ففي هذه الحالة:

تعمل M- Protein على سحب اللاكتوز من الوسط النامية فيه البكتريا ويدخله الى داخل البكتريا اذ أن لايعمل *lac Z* الابوجود اللاكتوز واللاكتوز يجلبه الـ *lac Y* فستعمل هذه الجزيئات التي تدعى الجزيئات المؤثرة effector molecules بتحفيز أوبرون اللاكتوز على العمل وذلك من خلال ارتباطها مع البروتين المنظم وسحبه الى الأسفل وبدء عملية الاستنساخ وانتاج Polycistronic mRNA.

التجربة:

- ١- يؤخذ أنبوبتين اختبار ويوضع في الأولى 0.5 ml من N.B وفي الثانية 0.5 ml من Normal saline ويزرع الأثنان 2-3 colony من *E. coli*.
- ٢- نأخذ 2 disc من نوع ONPG مصدر لاكتوز β -galactosidase ، ونضع قرص في كل أنبوبة وتحضن في درجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة.

قراءة النتائج:

نلاحظ في الأنبوبة الحاوية على N.B يتغير لونه ليس بسبب عمل الأوبرون وانما بسبب نمو البكتريا وتكوين عكورة.

أما بالنسبة الى الأنبوبة الحاوية على Normal saline فعند تحول الوسط الى الأصفر الغامق معناه عمل الأوبرون وتحول من الأصفر الشفاف.