تقانـــة ال DNA وعلـــم الجينات (2)

7- تنسيل و تعبير جينات حقيقيات النوى:

كبديل لاستعراض مكتبة ال DNA بحثا عن تتالية نكليوتيدية معينة، يمكن في بعض الأحيان استعراض النسائل بحثا عن جينة مرغوبة بالاستناد إلى كشف بروتينها المرمَز encoded protein . فعلى سبيل المثال، إذا كان البروتين أنزيما، من الممكن قياس فعاليته، وكبديل لذلك يمكن كشف البروتين باستخدام أضداد antibodies ترتبط به حصريا. وما إن يتم تنسيل جينة معينة في خلايا مضيفة host cells حتى يمكن إنتاج كميات كبيرة من منتوجه البروتيني لأغراض البحث العلمي أو من أجل تطبيقات عملية قيمة.

8- منظومات التعبير البكتيري:

قد يصعب جعل جينة منسلة من حقيقيات النوى تعمل وظيفيا في خلايا مضيفة بكتيرية بسبب اختلاف نواح معينة للتعبير الجيني في حقيقيات النوى وبدائيات النوى. وللتغلب على الفوارق في المنظمات promoters وتتاليات التحكم النكليوتيدية، يوظف العلماء في العادة موجه تعبير expression vector على شكل موجه تنسيل يحتوي على حاث كبير الفعالية لحقيقي نوى باتجاه مقدمة موضع الاقتطاع restriction site. بحيث يمكن عنده إدخال جينة حقيقي نواة في الإطار القارئ reading frame الصحيح.

وهنا سوف تتعرف الخلية المضيفة البكتيرية إلى المنظم وتواصل مسيرتها لتعبير الجينة الأجنبية الموصولة الآن بذلك المنظم. وتسمح موجهات التعبير expression vectors هذه باصطناع العديد من بروتينات حقيقيات النوى في خلايا بكتيرية.

ثمة مشكلة أخرى تتعلق بتعبير الجينات المنسلة لحقيقيات النوى في البكتيريا تتمثل في وجود المناطق غير المرمزة (الأنترونات) لدى معظم جينات حقيقيات النوى. فالأنترونات تستطيع جعل جينة حقيقيات النوى طويلة جدا و غير عملية، كما أنها تمنع التعبير الصحيح للجينة بواسطة الخلايا البكتيرية التي لا تملك آلية تضفير لل RNA RNA- splicing machinery. ويمكن

التغلب على هذه المشكلة عبر استخدام شكل من ال DNA المتمم (cDNA) من الجينة يتضمن أكسونات فقط. ونشير إلى أن البكتيريا تستطيع إظهار تعبير جينة ال DNA المتمم إذا كان الموجه vector يحتوي على منظم بكتيري وأية عناصر تحكم أخرى ضرورية للانتساخ والترجمة الجينية.

9- منظومات التنسيل و التعبير عند حقيقيات النوى:

يستطيع المختصون بالبيولوجيا الجزيئية تفادي عدم توافق حقيقيات النوى و بدائيات النوى عبر استخدام خلايا حقيقية النواة مثل الخمائر yeasts بدلا من البكتيريا كمضيفات لجينات التنسيل و التعبير المعنية بالدراسة.

فخلايا الخميرة باعتبارها فطريات وحيدة الخلية، تقدم ميزتين هما:

أ- سهلة النمو كما هو الحال في البكتيريا.
ب- تمتلك بلازميدات والتي تعد نادرة لدى حقيقيات النوى.

ووصل الأمر بالعلماء حتى إنشاء بلازميدات مأشوبة تدمج DNA الخميرة وال DNA البكتيرية وتستطيع التنسخ في أي مكان من الأنماط الخلوية. وثمة أداة نافعة أخرى لتنسيل جينات حقيقيات النوى تتمثل في صبغيات الخميرة الصنعية yeast artificial chromosomes (أو YACs اختصارا) التي تجمع بين أساسيات صبغي حقيقيات النوى "وهي منشأ تنسخ ال DNA والقسيم المركزي centromere والقسيمان الطرفيان telomeres" وبين ال DNA الأجنبي.

هذا وتسلك هذه الموجهات الشبيهة بالصبغيات بشكل سوي في الانقسام الخيطي (التفتلي) بحيث تنسل ال DNA الأجنبي أثناء انقسام خلايا الخميرة. ولما كان صبغي الخميرة الصنعي يستطيع أن يحمل قطعة من ال DNA يفوق طولها ما يستطيعه موجه بلازميدي، فإن الشدفة المنسلة يحتمل أن تحتوي جينة بكاملها وليس جزءا منها فقط.

وهناك سبب آخر لاستخدام خلايا مضيفة لحقيقيات النوى من أجل تعبير جينة منسلة من حقيقيات النوى، وهو أن العديد من بروتينات حقيقيات النوى لا تعمل ما لم يجر تحويرها بعد الترجمة عن طريق إضافة مجموعات كربوهيدراتية أو ليبيدية على سبيل المثال.

ولا تستطيع الخلايا البكتيرية إجراء مثل هذه التحويرات modifications، وإذا كان منتوج الجينة الذي يتطلب مثل هذه المعالجة يخص الثدييات فلن تستطيع حتى خلايا الخميرة تحوير البروتين بشكل صحيح. ولذلك، فإن استخدام خلايا مضيفة مأخوذة من مستنبت خلايا حيوانية قد يكون ضروريا.

لقد أوجد العلماء تشكيلة منوعة من الطرائق لإدخال ال DNA المأشوب في خلايا من حقيقيات النوى ومن هذه الطرائق نذكر:

1- طريقة التثقيب الكهربائي electroporation تطبق نبضة كهربائية خاطفة في محلول يحوي خلايا فتحدث ثقوبا مؤقتة في الأغشية البلاسمية لهذه الخلايا بحيث يستطيع ال DNA دخولها. (وتستخدم هذه التقنية الآن بشكل شائع بالنسبة للبكتيريا كذلك).

2- طرقة الإبر الرفيعة: يستطيع العلماء حقن ال DNA داخل خلايا حقيقيات نوى مفردة وذلك باستخدام إبر رفيعة بشكل مجهري.

3- طريقة استخدام البكتيريا: لغرض إدخال ال DNA في الخلايا النباتية يمكن استخدام البكتيريا التي تحمل اسم الأكروبكتيريوم Agrobacterium.

10- تضخيم ال DNA في أنبوب الاختبار: تفاعل البوليميراز التسلسلي (PCR):

يبقى تنسيل ال DNA في الخلايا أفضل طريقة لتحضير كميات كبيرة من جينة معينة أو من تتالية أخرى من ال DNA. ولكن حينما يكون ال DNA قليلا أو مشوبا، فإن تفاعل التسلسل البوليميري Polymerse chain reaction (PCR) يكون أسرع وأكثر اصطفائية.

ففي هذه التقنية يمكن تضخيم أية قطعة مستهدفة نوعية داخل جزيئة DNA واحدة أو عدة جزيئات من ال DNA بشكل سريع (بمعنى نسخها عدة مرات) في أنبوب الاختبار.

ويستطيع التفاعل بالأتمتة صنع بلايين النسخ لقطعة محددة (مستهدفة) من ال DNA خلال ساعات قليلة، الأمر الذي هو أسرع بشكل كبير من الأيام التي كان سيستغرقها الحصول على

نفس العدد من النسخ عبر استعراض مكتبة ال DNA بحثا عن نسيلة تحتوي الجينة المنشودة ومن ثم جعلها تتنسخ داخل الخلايا المضيفة.

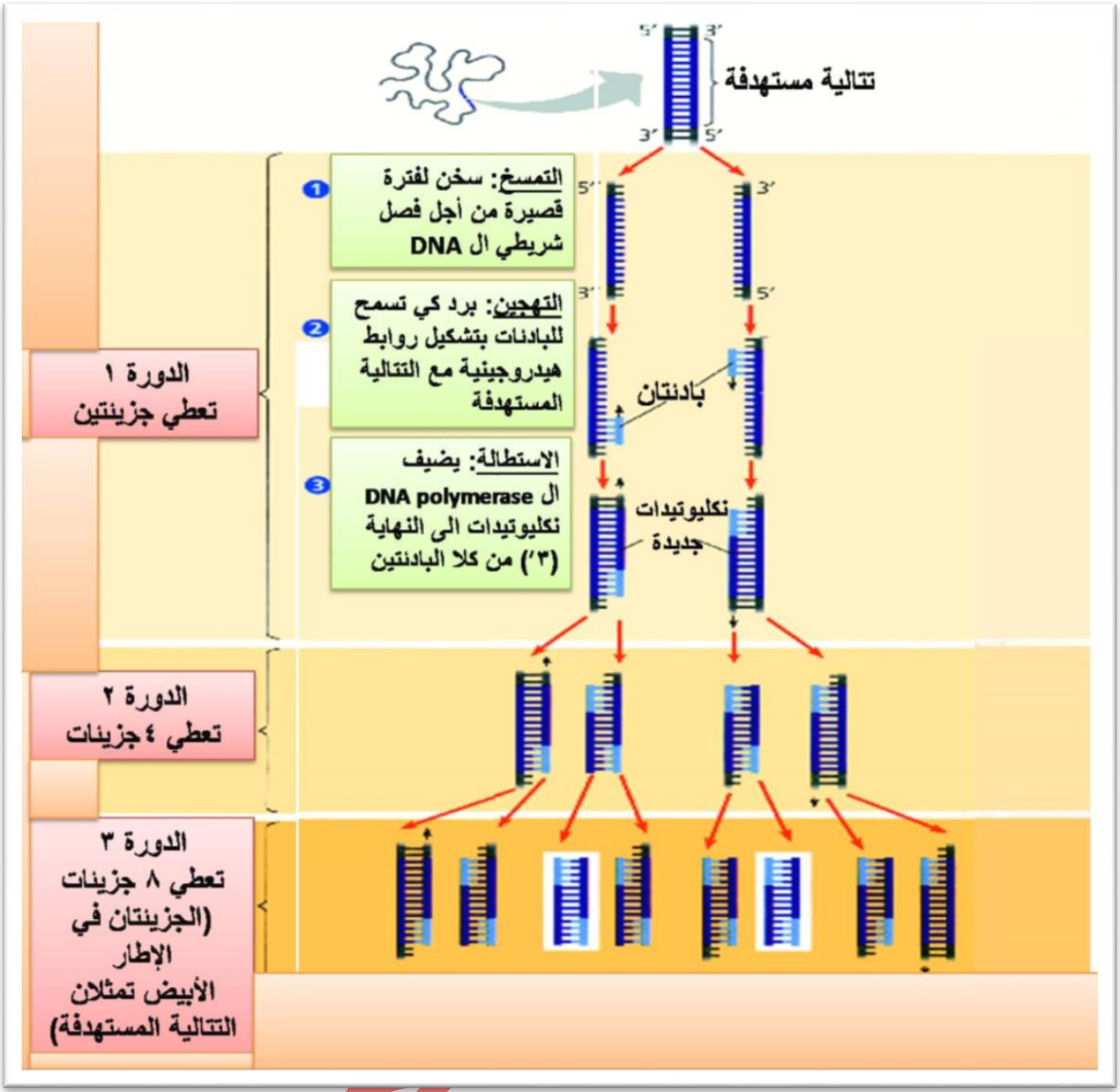
في عملية تفاعل التسلسل البوليميري (PCR) (الشكل 7) تثير دورة من ثلاث خطوات تفاعلا تسلسليا يولد عدد كبير من جزيئات ال DNA المتماثلة التي تزداد بشكل أسي. وفي أثناء كل دورة يجري تسخين مزيج من التفاعل إلى حد تمسخ (انفصال) شريطي (طاقي) ال DNA.

ثم يجري تبريده كي يسمح بتهجين البادئات القصيرة الوحيدة المفردة الطاق من ال DNA والمتممة للتتاليات الموجودة على الأشرطة المقابلة (عبر الربط الهيدروجيني) عند كل من نهايتي التتالية المستهدفة.

وأخيرا يمدد أنزيم ال DNA polymerase المقاوم للحرارة هذه البادئات طبقا للاتجاه (5′إلى 3′) فإذا استخدم ال DNA polymerase المعياري سيتمسخ البروتين ومعه ال DNA أثناء خطوة التسخين الأولى وسيجب استبدالهما بعد كل دورة.

ولقد تمثل مفتاح أتمتة ال PCR في اكتشاف أنزيم DNA بوليميراز استثنائي مقاوم للحرارة جرى عزله من بدائيات نوى تعيش في الينابيع الحارة وتقاوم الحرارة المرتفعة عند بداية كل دورة.

إن تفاعل ال PCR ليس بحاجة إلا لوجود كميات قليلة من ال DNA في المادة الأولية عند شروع التفاعل، ويمكن أن تكون هذه الكمية من ال DNA بحالة مخربة جزئيا. أما مفتاح هذه النوعية فيعود إلى البادئة primers التي لا ترتبط إلا ربطا هيدروجينيا بالتتاليات الموجودة عند النهايات المقابلة من القطعة المستهدفة.



الشكل (7): تفاعلات التسلسل البوليميري (PCR)

وبحلول الدورة الثالثة يكون ربع الجزيئات مماثلا للقطعة المستهدفة وتكون هذه الجزيئات ذات شريطين بطول مناسب. ومع كل دورة متعاقبة يتضاعف عدد جزيئات القطعة المستهدفة ذات الطول الصحيح بحيث سرعان ما يتفوق عددها أعداد جميع جزيئات ال DNA الأخرى في التفاعل.

وبالرغم من سرعة ذلك التفاعل ونوعيته فان تضخيمه لا يقوم مقام التنسيل الجيني في الخلايا حين نرغب بالحصول على كميات كبيرة من جينة ما. وتفرض الأخطاء العرضية أثناء تنسخ ال PCR حدودا لعدد النسخ الجيدة التي يمكن صنعها بهذه الطريقة. وفي كل الأحوال، يتزايد استخدام ال PCR لصنع الكفاية من قطع معينة من ال DNA من أجل تنسيلها عبر إدخالها ضمن موجه ما فقط.

تتميز تقنية ال PCR التي تم ابتكارها عام 1985 بتأثيرها الكبير على الأبحاث والتقانة الحيوية، إذ استخدمت لتضخيم ال DNA المأخوذ من تشكيلة عريضة من المصادر ومنها:

- قطع قديمة من ال DNA تعود لماموث متجمد منذ 40000 سنة.
- DNA من بصمات الأصابع أو من كميات زهيدة من الدم أو النسيج أو الخلايا المنوية التي يمكن أن يعثر عليها في مسرح الجريمة.
- DNA من خلايا جنينية مفردة لتشخيص الأبوة بسرعة.
- DNA جينات فيروسية من خلايا مصابة بفيروسات يصعب اكتشافها مثل ال HIV.

❖ **<u>طريقة بحث</u>: تفاعل التسلسل البوليميري (PCR)** (الشكل 7)

❖ **<u>التطبيق</u>:** يمكن بواسطة ال PCR نسخ أية قطعة نوعية (بمعنى التتالية المستهدفة) داخل عينة من ال DNA عدة مرات (بمعنى تضخيمها) بشكل كامل في أنبوب الاختبار(In vitro).

❖ **<u>التقنية</u>:** تتمثل مواد البداية لغرض ال PCR في DNA مزدوج الطاق يحتوي على التتالية النكليوتيدية المستهدفة التي يراد نسخها وعلى أنزيم ال DNA

بوليميراز المقاوم للحرارة و على النكليوتيدات الأربعة جميعها بالإضافة إلى جزيئتين قصيرتين من ال DNA تعملان كمشرعين (كبادئات PRIMERS) بحيث تكون إحداهما متممة لأحد الطاقين عند إحدى نهايتي التتالية المستهدفة في حين تكون الثانية متممة للطاق الآخر عند النهاية الأخرى من التتالية.

❖ **<u>النتائج</u>:** في أثناء كل دورة من PCR، تتضاعف تتالية ال DNA المستهدفة. وبحلول نهاية الدورة الثالثة فان ربع الجزيئات تمام يوافق التتالية المستهدفة.

وبعد 20 دورة أو نحو ذلك يفوق عدد جزيئات التتالية المستهدفة جميع عدد الجزيئات الأخرى ببلايين الأضعاف أو أكثر.

11- تحليل شدة الاقتطاع و الكشف عن فروق ال DNA التي تؤثر في مواضع الاقتطاع

نستطيع باستخدام التقنيات المتاحة لصنع مستحضرات متجانسة لأعداد كبيرة من شدف متماثلة من ال **DNA** أن تبدأ معالجة مسائل مهمة حول جينات نوعية ووظائفها. وتبرز في هذا الصدد السئلة التالية:

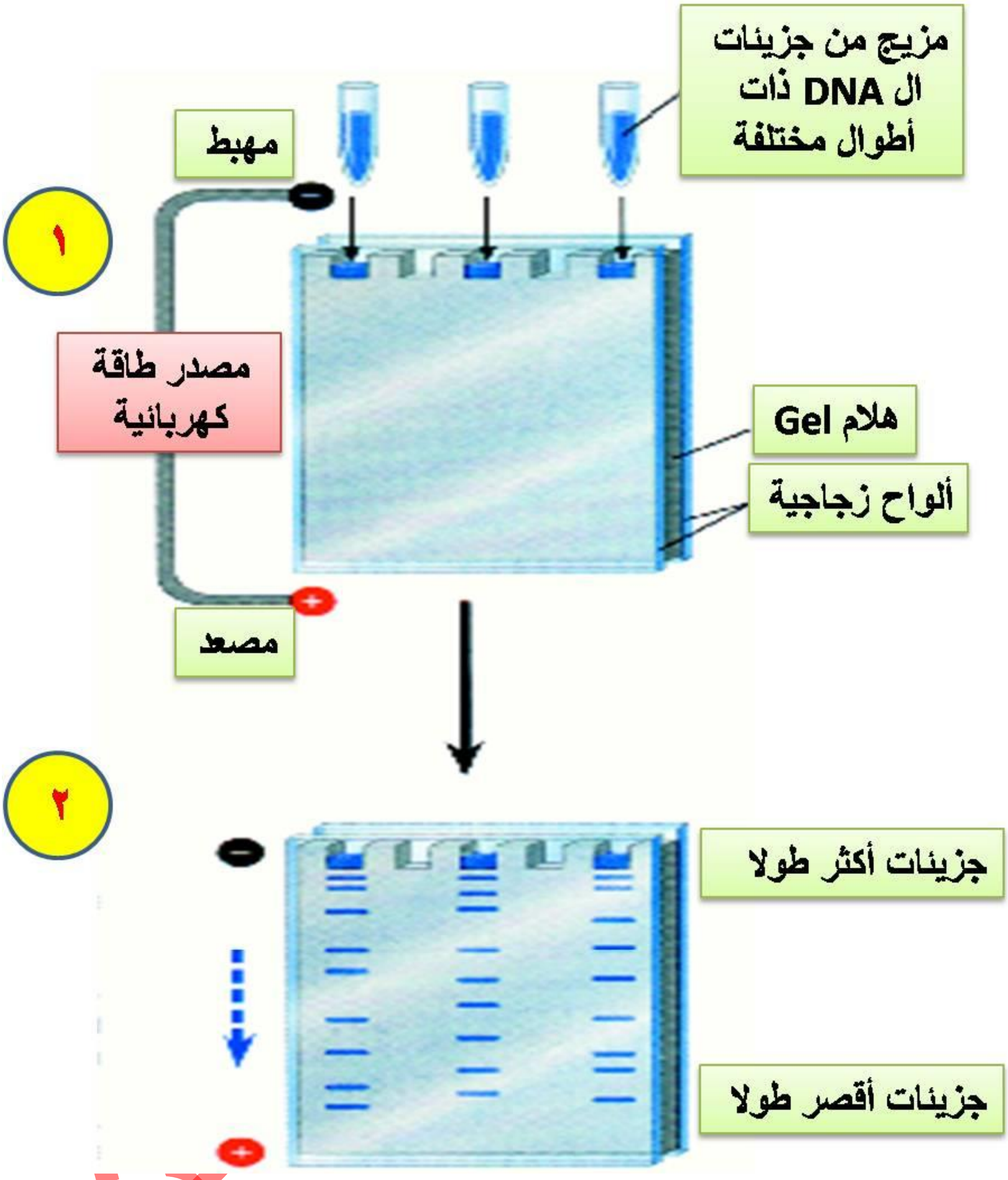
- هل تختلف جينة معينة ما من شخص الى آخر؟
- أين ومتى يتم التعبير الجيني في الجسم؟
- هل يتعلق تعبير الجينة بتعبير الجينات الأخرى؟
- أين تقع الجينة في داخل الجينوم؟
- كيف تختلف الجينة بين نوع حي ونوع حي آخر؟

للإجابة على هذه الأسئلة نحتاج معرفة التتالية النكليوتيدية الكاملة للجينة ونظائرها في مختلف الأفراد والأنواع الحية وكذلك نحتاج معرفة نموذج تعريفها.

12- الرحلان الكهربائي الهلامي Gel electrophoresis و تلطيخ ساوذرن Southern Blotting

تستفيد عدة مقاربات لدراسة جزيئات ال **DNA** من الرحلان الهلامي. وتستخدم هذه التقنية هلامة ما كغربال لفصل الحموض النووية أو البروتينات على أساس حجمها وشحنتها الكهربائية وخواص فيزيائية أخرى (الشكل 8).

وبما أن جزيئات الحموض النووية تحمل شحنات سالبة على مجموعاتها الفوسفاتية، فإنها جميعا ترحل باتجاه الإلكترود الموجب في الحقل الكهربائي. وفي أثناء انتقالها تعيق ألياف البوليمير الأكثر سماكة الجزيئات الطويلة أكثر من إعاقتها الجزيئات القصيرة بحيث تفصلها حسب الطول.



الشكل (8): الرحلان الهلامي Gel electrophoresis

وهكذا يفصل الرحلان الهلامي مزيجا من جزيئات ال **DNA** الخطية إلى شرائط يحتوي كل منها على جزيئات من ال **DNA** ذات الطول نفسه. وفي تحليل شدف الاقتطاع، يجري فرز شد ف ال **DNA**، التي يولدها هضم أنزيم التقييد لجزيئة **DNA** ما، بواسطة الرحلان الكهربائي الهلامي. فعندما يخضع مزيج شدف الاقتطاع المأخوذة من جزيئة **DNA** للرحلان الكهربائي، تعطي نموذج شريطي مميز لجزيئة البداية ولأنزيم الاقتطاع المستخدم.

❖ **طريقة بحث**: الرحلان الهلامي Gel electrophoresis (الشكل 8)

❖ **التطبيق:** يستخدم الرحلان الكهربائي الهلامي لفصل الحموض النووية أو البروتينات التي تختلف في الحجم أو الشحنة الكهربائية أو أية خواص فيزيائية أخرى. ويجري فصل جزيئات ال DNA بواسطة الرحلان الهلامي من خلال تحليل شدفة الاقتطاع لكل من الجينات المنسلة.

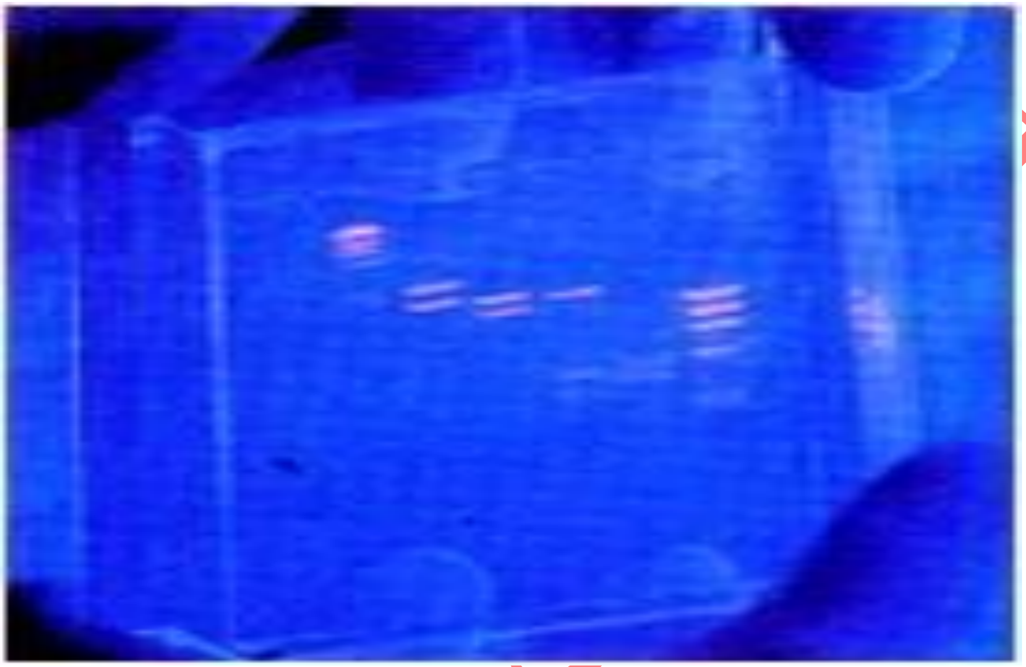
❖ **التقنية:** يفصل الرحلان الهلامي الكهربائي الجزيئات الكبيرة على أساس سرعة حركتها عبر الهلام في حقل كهربائي. وتتناسب مسافة سير جزيئة ال DNA أثناء تشغيل التيار الكهربائي تناسبا عكسيا مع طولها. هذا وإن مزيج جزيئات ال DNA التي تكون في العادة بشكل شدف نجمت عن هضم أنزيمات الاقتطاع تنفصل على شكل شرائط يحتوي كل منها آلاف الجزيئات ذات الطول نفسه.

1-توضع كل عينة (و هي عبارة عن مزيج من جزيئات ال DNA) في بئر منفصل بالقرب من إحدى نهايتي شريحة رفيعة من الهلام. ويجري دعم هذه الهلامة بألواح زجاجية مغمورة في محلول سائلي وتمتلك الكترودين مربوطين بكل نهاية.

2-لدى تمرير التيار الكهربائي تتحرك جزيئات ال DNA ذات الشحنة السالبة نحو الالكترود الموجب مع كون الجزيئات الأقصر طولا تتحرك بسرعة أكبر من الجزيئات الأكثر طولا. وتظهر في هذا الشكل باللون الأزرق ولكن في الهلام الحقيقي لا تكون شرائط ال DNA مرئية إلا عند إضافة صبغة رابطة لل DNA وبما أن أقصر الجزيئات يسير مسافة أبعد لينتهي بها المطاف في أسفل الهلام.

د. حسان

❖ **النتائج:** بعد إيقاف التيار الكهربائي تضاف صبغة رابطة لل DNA، و تتألق (تتفلور) هذه الصبغة بلون وردي في الضوء فوق البنفسجي كاشفة الشرائط المنفصلة التي ارتبطت بها.



وفي هذه الهلامة الحقيقية تقابل الشرائط الوردية شدفا من ال DNA ذات أطوال مختلفة فصلها الرحلان الكهربائي. فإذا كانت جميع العينات مقطعة أصلا بواسطة نفس أنزيم الاقتطاع، تشير نماذج الشرائط المختلفة عندئذ إلى أنها جاءت من مصادر مختلفة.

وفي الحقيقة، يمكن تحديد هوية جزيئات ال **DNA** الصغيرة نسبيا التي تخص الفيروسات والبلازميدات من خلال نماذج شدف الاقتطاع الخاصة بها فقط. (ذلك أن جزيئات ال **DNA** الكبيرة، مثل تلك الموجودة في صبغيات حقيقيات النوى، تعطي شدفا عديدة إلى حد تظهر معه على شكل لطاخة بدلا من شرائط متميزة).

وبما أن ال **DNA** يمكن استرجاعه بشكله غير التالف من الهلامات، فإن هذه العملية تقدم كذلك طريقة لتحضير عينات نقية من شدف منفردة.

وكذلك يفيد تحليل شدف الاقتطاع في المقارنة بين جزيئتين مختلفتين من ال **DNA**، مثال المقارنة بين أليلي جينة ما. ويتعرف أنزيم الاقتطاع على تتالية نوعية من النكليوتيدات ويكفي وجود تغير ما حتى لزوج واحد من القواعد حتى يحول دون قيامه بعمل القطع في موضع معين.

وهكذا، إذا كانت الفروق النكليوتيدية بين الألائل موجودة داخل تتالية التعريف لدى أنزيم اقتطاع ما، فإن الهضم باستخدام ذلك الأنزيم سوف يولد مزيجا مختلفا من الشدف من كل أليل. وسيعطي كل مزيج نموذج شريطه الخاصة في الرحلان الهلامي.

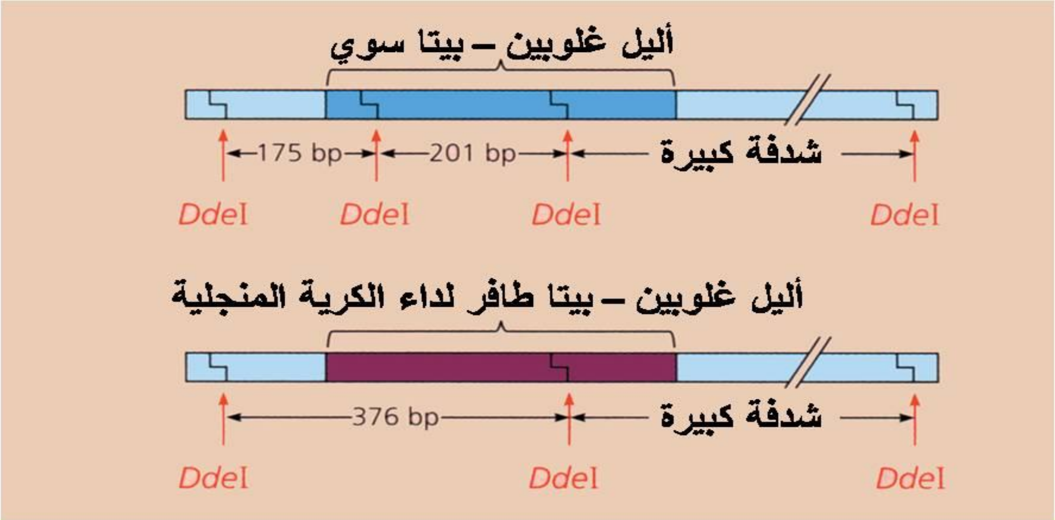
فعلى سبيل المثال، ينجم داء الكرية المنجلية عن طفرة في نكليوتيد موجود داخل تتالية اقتطاع في جينة الغلوبين – بيتا (الشكل 9). إن تحليل شدف الاقتطاع باستخدام الرحلان الكهربائي يستطيع التمييز بين الألائل السوية و ألائل الخلية المنجلية لجينة الغلوبين – بيتا.

إن مواد البداية في الشكل (9) هي عينات من الألائل المنسلة والنقية للغلوبين – بيتا. ولكن لنفترض أننا نريد مقارنة عينات من ال **DNA** مأخوذة من ثلاثة أفراد:

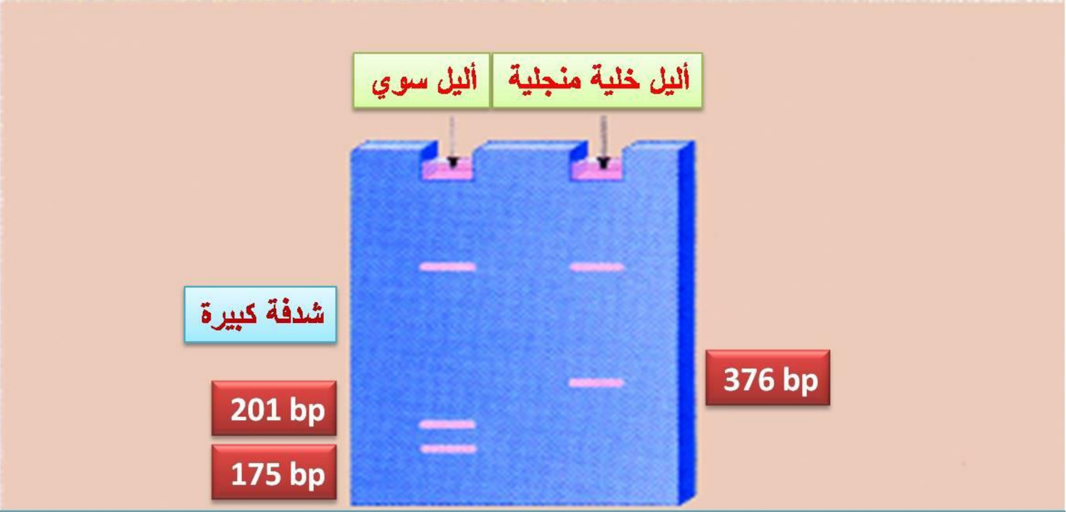
– احدهما شخص متماثل الزيجوتة (اللواقح) بالنسبة لأليل الغلوبين – بيتا السوي.

– الثاني شخص مصاب بداء الكريات المنجلية متماثل الزيجوتة بالنسبة للأليل الطافر،

– الثالث شخص مصاب بداء الكريات المنجلية ومتغاير الزيجوتة. فالرحلان الكهربائي لل **DNA** المهضومة بانزيم اقتطاع يعطي شرائط عديدة تميزها.



(a): مواضع الاقتطاع (Ddel) في ألائل جينة الغلوبين- بيتا السوية و المريضة بداء الكرية المنجلية. و تبدو في هذا الشكل الألائل المنسلة مفصولة عن ال DNA الموجه. إن الأليل السوي يحوي على موضعين اثنين داخل التتالية المرمزة يتعرف إليهما أنزيم الاقتطاع Ddel أما أليل داء الكرية المنجلية فيفتقر لأحد هذين الموضعين



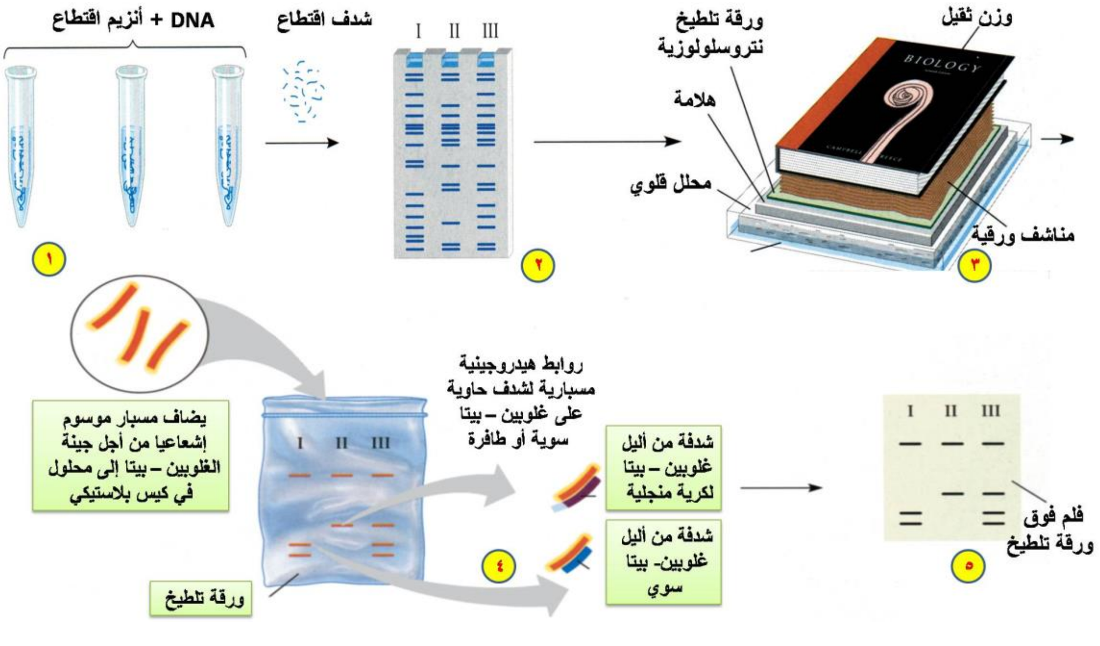
(b): الرحلان الكهربائي لشدف اقتطاع من ألائل سوية و أخرى تعود للخلية المنجلية.لقد جرى تقطيع عينات من كل أليل منقى بواسطة أنزيم Ddel ثم أخضع الى رحلان هلامي فأعطى ثلاثة شرائط بالنسبة لليل السوي و عصابتين بالنسبة لأليل الكرية المنجلية. (تكون الشدف البالغة الصغر على نهايات كل من جزيئتي ال DNA متطابقة و لا تظهر هنا في الشكل).

الشكل (9): استخدام تحليل شدفة الاقتطاع لتمييز الألائل السوية وألائل جينة الغلوبين – بيتا لمرض الكرية المنجلية. (a): تخرب الكرية المنجلية واحدا من مواضع الاقتطاع (Ddel) داخل جينة الغلوبين – بيتا. (b): و كنيجة لذلك يولد الهضم باستخدام الأنزيم (Ddel) شدفا مختلفة من ألائل سوية و ألائل الكرية المنجلية.

ولكن باستخدام طريقة تدعى تلطيخ ساوذرن Southern blotting الذي يجمع بين الرحلان الكهربائي والتهاجن الحمضي النووي نستطيع حصرا اكتشاف تلك الشرائط التي تتضمن أجزاء من جينة الغلوبين – بيتا. ويكون المبدأ هنا هو نفس المبدأ الذي ينطبق على التهجين الحمضي النووي المستخدم في تقصي النسائل البكتيرية (انظر الشكل 5).

ويكون المسبار في هذه الحالة هو جزيئة **DNA** مشعة مفردة الشريط متممة لجينة الغلوبين – بيتا. ويلخص الشكل (10) العملية بأكملها كما يوضح كيفية استعماله لمقارنة عينات ال **DNA** المأخوذة من الأفراد الثلاثة المذكورين سابقا.

ولا يكشف تلطيخ ساوذرن ما إذا كانت تتالية ما معينة موجودة في عينة ال **DNA** فقط بل وتكشف كذلك حجم وطول شدف الاقتطاع التي تحتوي على تلك التتالية. وتتمثل إحدى تطبيقاته العديدة، على غرار ما جاء في مثالنا على الغلوبين – بيتا، في تحديد هوية الموجهات المتغايرة الزيجوتة للالائل الطافرة التي ترافق الأمراض الوراثية.



الشكل (10) : طريقة ساوذرن لتلطيخ شدف ال DNA

❖ **طريقة بحث:** طريقة ساوذرن لتلطيخ شدف ال DNA (الشكل 10).

❖ **التطبيق:** يستطيع الباحثون كشف تتاليات نكليوتيدية نوعية داخل عينة من ال DNA بهذه الطريقة التي تفيد بشكل خاص في مقارنة شدف الاقتطاع المتولدة من عينات مختلفة من ال DNA الجينومي.

❖ **التقنية:** نقارن في هذا المثال بين عينات من ال DNA الجينومي مأخوذة من ثلاثة أفراد: إحداها متماثل اللواقح (الزيجوتة) homozygote بالنسبة لأليل غلوبين – بيتا السوي، و الثاني متماثل اللواقح (الزيجوتة) homozygote بالنسبة للأليل الطافر لداء الكرية المنجلية، و الثالث متغاير اللواقح (الزيجوتة) heterozygote.

1- تحضير شدف الاقتطاع: تمزج كل عينة من ال DNA مع أنزيم الاقتطاع الواحد نفسه. وهو في هذه الحالة (DdeI). يعطي هضم كل عينة مزيجا من آلاف شدف الاقتطاع.

2- الرحلان الهلامي: تفصل شدف الاقتطاع في كل عينة بواسطة الرحلان الكهربائي فيتشكل نموذج متميز من الشرائط. (وفي الحقيقة، سيكون هناك شرائط أكثر عددا من الظاهر هنا ولن تكون مرئية ما لم يجر تلوينها).

3- التلطيخ: باستخدام الهلامة حسبما يظهر في الشكل (10)، يسحب الفعل الشعري هذا المحلول القوي نحو الأعلى عبر الهلامة ناقلا ال DNA إلى ملاءة من ورق نتروسيلولوزية (هي اللطخة) و ممسخا إياها (أي ال DNA) في هذه العملية. و هنا تتموضع الطيقان الأحادية ال DNA (الملتصقة على ورقة التلطيخ) في شرائط توافق تلك المجموعة الموجودة على الهلامة.

4- التهاجن مع مسبار مشع: يجري تعريض ورقة التلطيخ إلى محلول يحتوي على مسبار موسوم إشعاعيا. و في مثالنا هذا يكون المسبار DNA أحادي الطاق متمما لجينة الغلوبين – بيتا. فترتبط جزيئات المسبار عن طريق ازدواج القواعد بأي من شدف الاقتطاع الحاوية على جزء من جينة الغلوبين – بيتا (لن تكون الشرائط مرئية بعد).

حسان حسن

5- التصوير الشعاعي الذاتي autoradiography: توضع ملاءة فيلم فوتوغرافية فوق ورقة التلطيخ. وهنا تكشف الفعالية الشعاعية (الموجودة في المسبار المرتبط) الفيلم فتشكل صورة توافق تلك الشرائط الحاوية على ال DNA التي تزدوج بالقواعد مع المسبار.

❖ **النتائج:** بما أن نماذج الشرائط لهذه العينات الثلاث مختلفة بوضوح، فإن هذه الطريقة يمكن استخدامها من أجل تحديد الحوامل المتغايرة الزيجوتة لأليل الكرية المنجلية (III) و كذلك تلك التي تخص المرض (I).

❖ و تشبه النماذج الشرائطية للعينتين (I) و (II) تلك التي تشاهد في حالة الألائل السوية و الطافرة النقية (على الترتيب). أما نموذج العصابة الخاص بالعينة المأخوذة من الزيجوتة المتغايرة (II) فهي توليفة من النماذج الخاصة بالزيجوتتين المتماثلتين (I) و (II).

د. حسان حسن