Sohag University
Faculty of Agriculture
Department of Genetics

جامعة سوهـــــاج
كليــة الزراعـــــــــة
قسم الوراثـــــــة

المحاضرة التاسعة

الوراثة الحيوانية

المستوي الثاني برنامج الانتاج الحيواني والدواجن

اعداد

الأستاذالدكتور/ جلال الشربيني

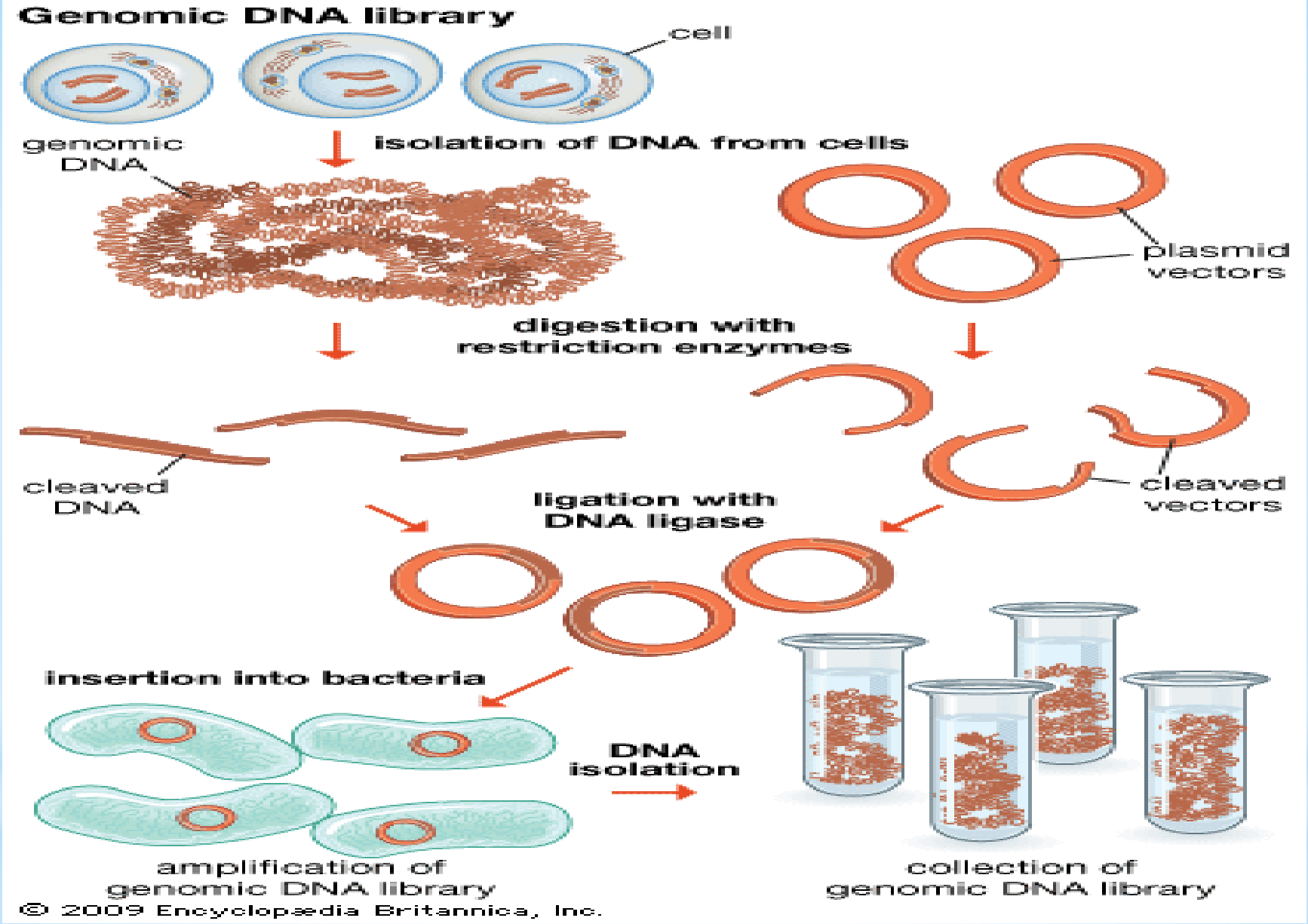
استاذ الوراثة ورئيس قسم الوراثة – كلية الزراعة – جامعة سوهاج

تطبيقات البيولوجيا الجزيئية

مكتبة الـ DNA (بنك الجينات) DNA Library

يمكن باستخدام إنزيمات القطع المحددة والأنواع المختلفة لناقلات الاستنساخ تعبئة جينوم الكائن الحى و يطلق على المجموعة المكونة من هذه النسخ المعاد صياغتها اسم المكتبة. يمكن تكوين مكتبة جينيوم من جميع قطع الـDNAالمأخوذة من مجموعة خلايا أو نسيج معين. فى حين تمثل مكتبة cDNAالـ DNAالمنسوخ على mRNA فقط.

يمكن إنتاج مكتبة الجينيوم بإجراء عملية هضم لجزئ الـDNAبإنزيم قطع يتميز بارتفاع معدل نشاطه القطعى مثل *saulll* والغرض من ذلك هو الحصول على شظايامن الـ DNAطويلة نسبيا مما يضمن أن معظم الجينات ستكون سليمة ولم يحدث لأى منها اى تجزئة نتيجة القطع. و يفضل استخدام الفاجات كناقلات فى مثل هذه المكتبات لأنها تسمح بادخال شظايا من الـ DNAكبيرة نسبيا (حوالى ٢٠ كيلو قاعدة) وحيث أن الهدف هو الحصول على مكتبة كاملة فإن عدد الشظايا المطلوبة يكون متناسبا عكسيا مع حجم الشظية وطرديا مع حجم الجينوم (شكل٨).


Genomic DNA library
cell
genomic DNA
isolation of DNA from cells
plasmid vectors
digestion with restriction enzymes
cleaved DNA
cleaved vectors
ligation with DNA ligase
insertion into bacteria
DNA isolation
amplification of genomic DNA library
collection of genomic DNA library
© 2009 Encyclopaedia Britannica, Inc.

(شكل٨)

مكتبة الـcDNA

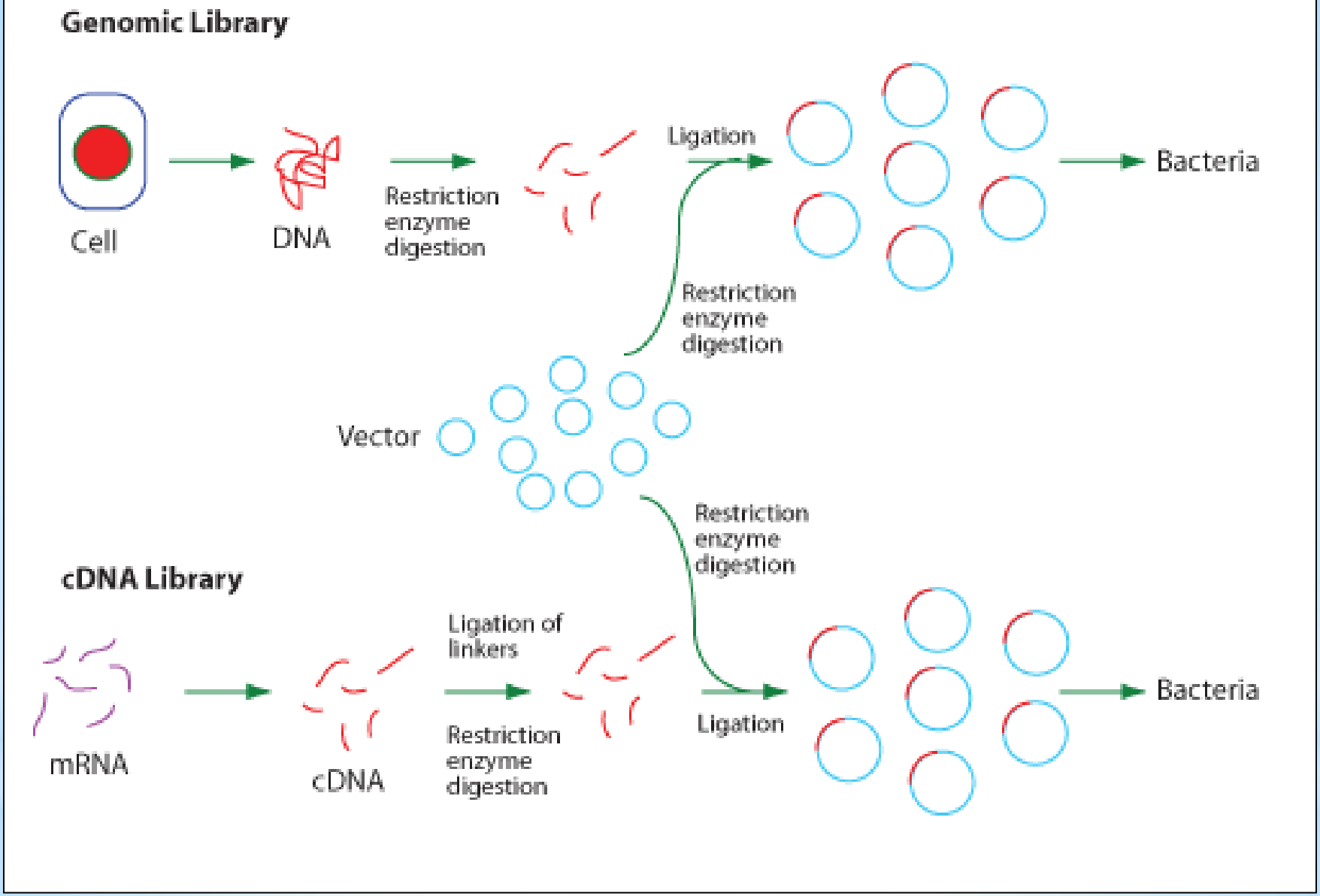
اقترحت تقنية بديلة للتقنية السابقة تعتمد على استنساخ الـDNAالمنسوخ والمسمى بـ cDNA حيث يقتصر الاختيار على تلك التتابعات من الـ DNAالتى يمكن نسخها إلى RNA(شكل ٩) و التى يفترض أنها تمثل جينات معينة. ويحدث ذلك عن طريق استخلاص الـ mRNA من الخلايا المتخصصة فى انتاج بروتين معين بكميات كبيرة حيث تزداد نسبة الـ mRNA النوعى الذى يشفر لهذا البروتين ثم يتم إنتاج نسخ من الـcDNA على قالب من الـmRNA باستخدام انزيم النسخ العكسى Reverse transcriptase.ويتم تحويل جزيئات الـDNA الوحيدة السلسلة الناتجة إلى جزيئات مزدوجة بفعل إنزيم البلمرة *DNA Poly I* ثم يتم بعد ذلك إدخال هذه الجزيئات إلى البلازميد ثم تجرى عملية الاستنساخ.

والفرق بين نسخ الـgenomic DNA و cDNA، إذا نجد أن نسخ الجينوم تمثل عينة عشوائية من جميع تتابعات الـDNA فى كائن ما، وفيما عدا حالات استثنائية نادرة، ستكون متشابهة بصرف النظر عن طراز الخلية المستخدم فى استخلاصها. بعكس الحال فى نسخالـcDNA إذ أنها ستحتوى فقط على تلك المناطق من الجينوم التى تم نسخها من الـmRNA وحيث أن خلايا الأنسجة المختلفة تكون عادة متخصصة لإنتاج أنواع معينة من جزيئات الـmRNA النوعى فإن مكتبة الـcDNA ستختلف بالطبع حسب نوع أو طراز الخلايا المستخدمة لتحضير المكتبة.

توجد عدة مميزات لاستخدام مكتبة الـcDNAلنسخ الجينات

١. أن كثير من البروتينات يتم إنتاجها بكميات كبيرة جدا بواسطة الخلايا المتخصصة

٢. أن وفرة الـcDNA المرغوب فيه فى المكتبة يقلل بشكل كبير مشكلة التعرف على النسخة المرغوبة فى المكتبة. فعلى سبيل المثال نجد أن الهيموجلوبين ينتج بكميات كبيرة فى خلايا الدم الحمراء النامية ولهذا السبب فإن جينات الجلوبين genes Globin كانت من بين أول الجينات التى تم نسخها.

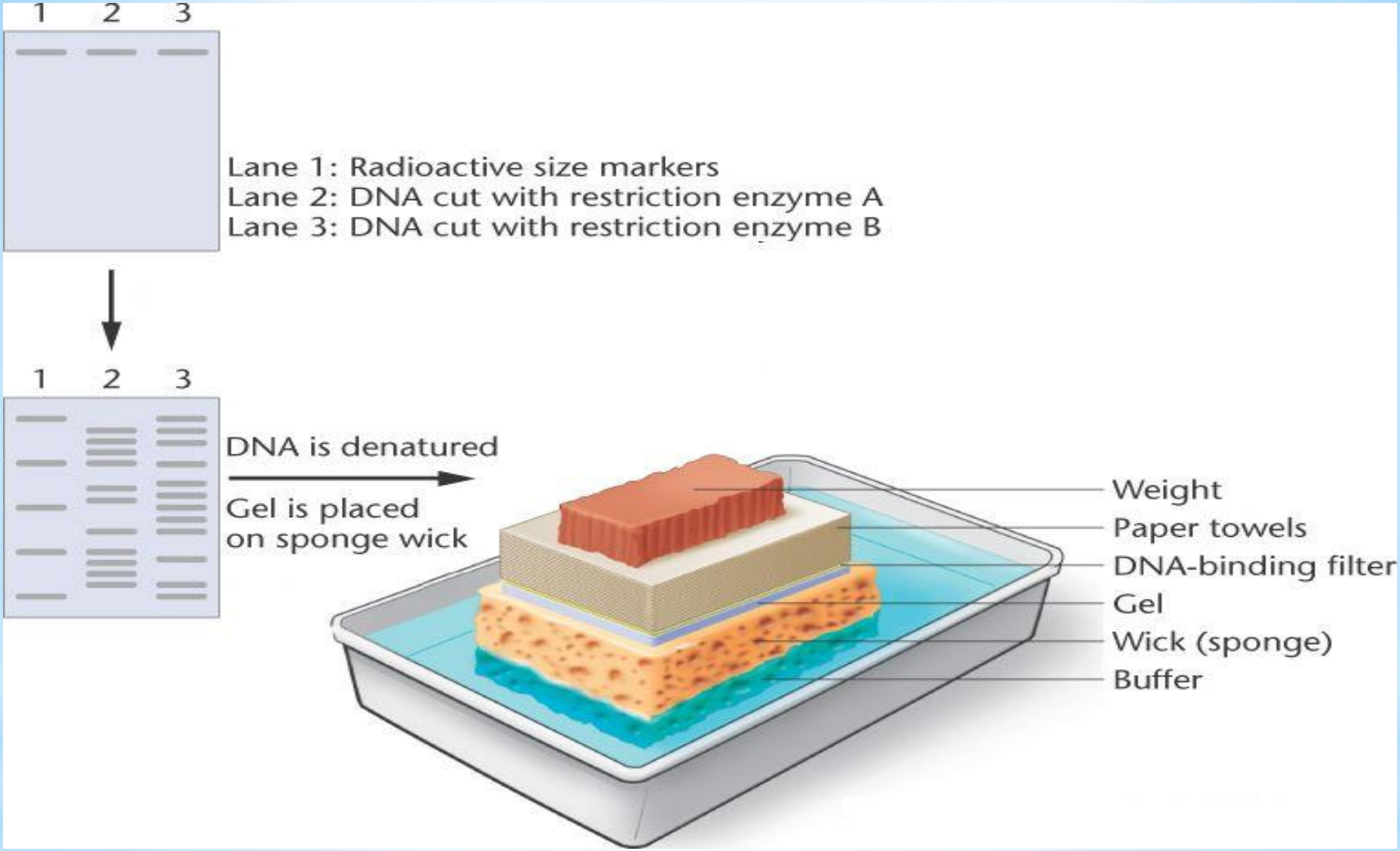

Genomic Library
Cell
DNA
Restriction enzyme digestion
Ligation
Bacteria
Restriction enzyme digestion
Vector
Restriction enzyme digestion
cDNA Library
mRNA
cDNA
Ligation of linkers
Restriction enzyme digestion
Ligation
Bacteria

(شكل ٩)

بصمة المادة الوراثية DNA Fingerprinting

تقنية تهجين DNA/DNA و DNA/RNA من التقنيات الهامة التى أسرت الكثير من الاتجاهات الحديثة فى مجال البيولوجيا الجزيئية. وهى تعتمد بشكل كبير على مقدرة الخيط المفرد من الـDNA التكامل مع خيط آخر مكمل له. ومن التطبيقات الهامة لهذه التقنية ما يطلق عليه Southern blotting (شكل ١٠). هذه الطريقة تعتمد على نقل قطع الـDNA من جل الأجاروز Agarose gel إلى غشاء من النيترو سليلوز nitrocellulose عن طريق الانتشار بأستخدام NaOH بتركيز ١٤% أو بطريقة النقل الكهربائى، و هذا الـblot يحتوى على جينوم كامل عبارة عن مجموعة من الشرائط Bands كل شريط عبارة عن قطع من الـDNA ناتجة عن هدم الجينوم بواحد أو أكثر من الإنزيمات القاطعة Restriction enonucleases و جميع القطع الواقعة فى شريط واحدة تشترك فى نفس الطول ولها نفس الوزن الجزيئ. ومن الملاحظ ان الشرائط صغيرة الوزن الجزيئى تكون فى المقدمة، أما ما يقع فى مؤخرة الجل فهى الحزم ذات الأوزان الجزئية الكبيرة، حيث أن الحركة لجزيئات الـDNA على الأجاروز تعتمد على الحجم أو الأوزان الجزئية، فالأسرع هو الأصغر طولا، هذه الشرائط تكون طرازا فى خط واحد، يطلق عليها Lane فإذا كان الجين المراد البحث عنه موجودا فى ذلك الطراز، فإنه سوف يكون موجودا فى أحد تلك الحزم، فمثلا إذا تم نقل جين مقاومة المضاد الحيوى الكناميسين إلى نبات ما.

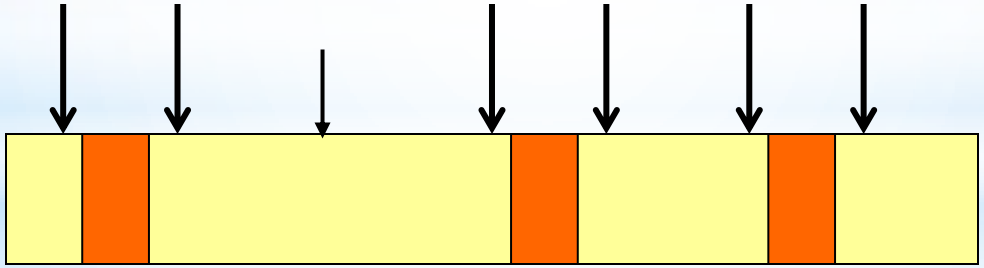
فإن جينوم ذلك النبات يحتوى على هذا الجين. أما النبات الأصلى wild type فلا يملك هذا الجين. فإذا تم استخلاص الـDNA من النبات المحول وراثيا والأصل، وتم قطعهما بإنزيم EcoR1، ويتم نقل الـDNA المقطوع بواسطة إنزيم EcoRI إلى غشاء النيتروسليلوز. ثم يتم تحويل الـ DNAالمزدوج والمنقول إلى الغشاء السليلوزى إلى خيط مفرد بواسطة معاملة معينة قد تكون الحرارة أو مواد كيميائية معينة وبالتالى تصبح قطع الـDNA علي غشاء السليلوز فى حالة مفردة. ويتم الكشف عن وجود هذا الجين بأستخدام جين الكناميسين أو قطعة منه كمجس probe، هذه القطعة توضع تحت فعل إنزيم البلمرة فى وجود قواعد مشعة لتخليق مجس مشع طبعا بأستخدام الفسفور المشع P^{32} أوالكبريت المشع S^{35} . الخيوط حديثة التكوين تكون جميعها مشعة، فإذا حدث لها دنترة ومررت كمجس على الغشاء النيتروسليلوز المدنتر الحاوى على جينوم النبات المحول وراثيا والأصل. فإن المجس يجد الخيط المفرد الذى يستطيع التكامل معه فى طراز الجينوم للنبات المحول فقط. فإذا تم غسيل المجس من على غشاء النيتروسليلوز. فلا نرى آى أثر في طراز النبات الأصلى، ولكن نجد شرائط سوداء فى طراز النبات المحول على الفيلم الحساس. هذه الشرائط السوداء تشير الى موقع شريط الـDNA التى تحتوى على الجين، وهى ناتجة من الازدواج بين المجس المشع مفرد الخيط مع الجين المقصود المتواجد داخل جينوم الكائن الحاوى له.


1 2 3
Lane 1: Radioactive size markers
Lane 2: DNA cut with restriction enzyme A
Lane 3: DNA cut with restriction enzyme B
1 2 3
DNA is denatured
Gel is placed on sponge wick
Weight
Paper towels
DNA-binding filter
Gel
Wick (sponge)
Buffer

(شكل ١٠)

هذه التقنية تستخدم فيما يسمى بصمة DNA ولكن البصمة تعتمد على حقيقة معينة. حيث انه فى عام ١٩٨٥ اكتشف Alec Jeffreys ومعاونوه أن الجين الأدمى Globin α فى الدم يحتوى على تتابع من النيوكليتدات يتكرر عدة مرات. هذا التكرار يسمى Minisatellite (شكل ١١).

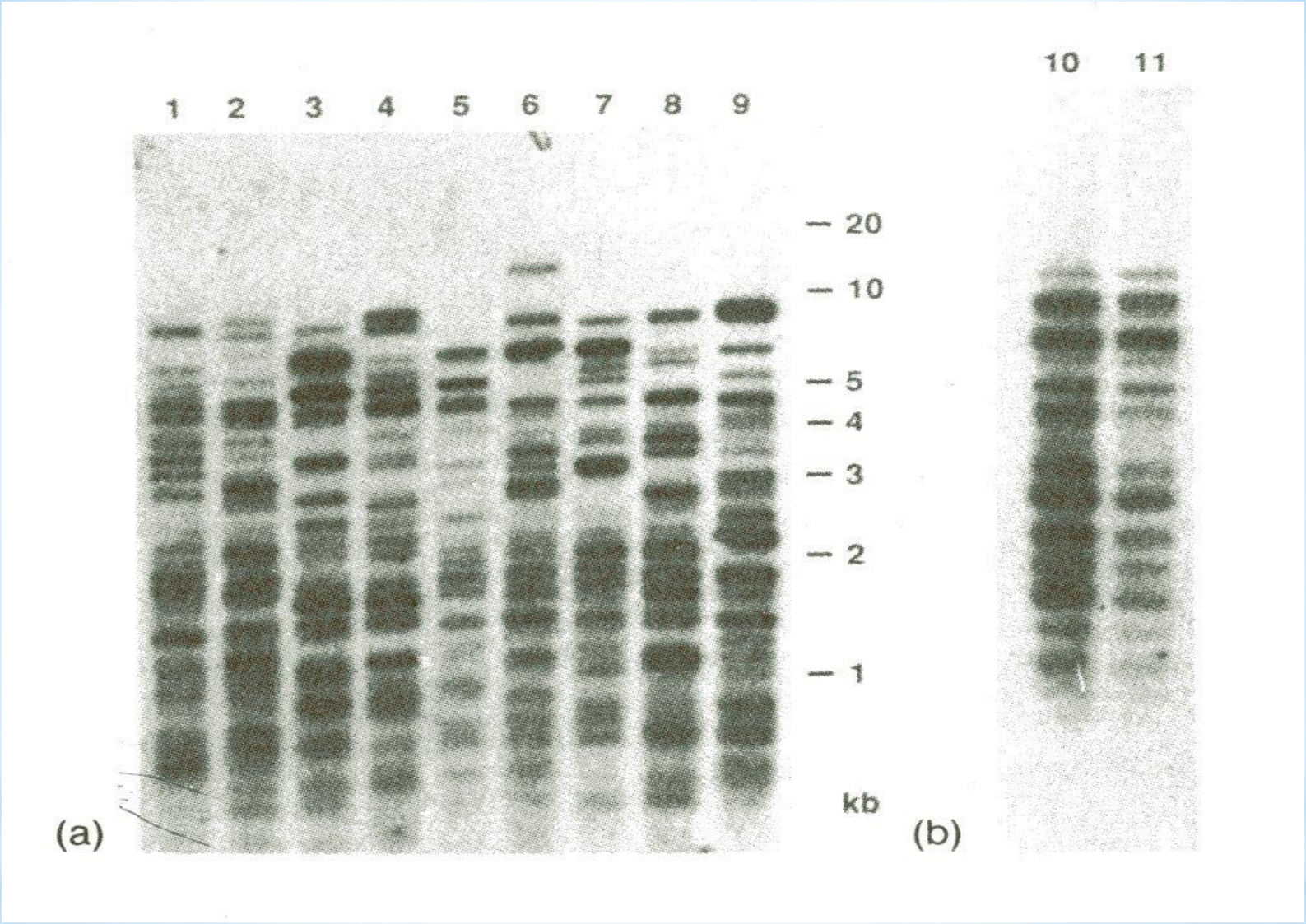
ولقد وجدت مثل هذه التكرارات فى مناطق أخرى فى الجينوم البشرى. الأفراد يختلفون فيما بينهم فى طراز ذلك التكرار مما يسمح باستخدام هذا التتابع كبصمة. لإتمام ذلك العمل، لابد أن يهدم DNA الأفراد المراد التعرف عليهم بواسطة إنزيم *Hae III*



cut with *HaeIII* enzyme

(شكل ١١)

واستخدام هذا الإنزيم دون غيره من الإنزيمات القاطعة للـDNA، لأن الـ Minisatellite لا تحتوى بداخلها على التتابع الذى يتعرف عليه ذلك الإنزيم لقطعه. بعد إتمام القطع يتم عمل فصل كهربى للناتج ثم نقله إلى غشاء نيتروسليلوز ثم عمل blot. كما وصف فيما سبق لابد من إعداد Minisatellite مشع كمجس. هذا المجس سوف يتكامل مع الـ Minisatellite حيث وجد طراز خاصا لكل فرد. فإذا تم تحضين الغشاء بعد ذلك مع فيلم حساس لأمكن التعرف من خلال الطراز المعطى على الفرق بين الأفراد (شكل ١٣). هذه البصمة قد تعين العدالة فى إثبات الجريمة على الجاني فى قضايا الاغتصاب والقتل بإجراء بصمة للسائل المنوى أو لنقطة من دم الجانى، أو حتى لشعره منه. والذى جعل هذه التقنية غير قابلة للشك كون أن نسبة وجود فردين متماثلين فى بصمة DNA ، إذا استثنينا التوائم المتطابقة، هى نسبة ١ : ٩,٣٤ بليون. أي لا يوجد على الأرض أثنين متطابقتين فى البصمة مع الأخذ فى الاعتبار الاستثناء السابق.



(شكل ١٢): علي اليسار موضح البصمة لتسع إفراد مختلفين. على اليمين البصمة متطابقة لحالة زوج من التوائم المتطابقة

تفاعل البلمرة المتسلسل
Polymerase chain reaction (PCR)

عمل بصمة للـ DNAيحتاج إلى كم قليل من نسيج ما، فتكفى عدة قطرات من دم الجانى، أو قطرات من السائل المنوى بعد حوادث الاغتصاب، ولكن أحيانا لا يخلف الجانىوراءه مع الضحية إلا القليل من الشعيرات التى استطاعت أن تنزعها أثناء سكرات الموت. وهذا الكم لايكفى لعمل بصمة الـDNA. إلا أنه تقنيات البيولوجيا الجزيئية استطاعت أن تعالج الكثير من المشاكل ومنها مشكلة ندرة المتحصل عليه من الـDNA ، ومحاولة مضاعفته بعيدا عن الخلية الحية*in vivo* أى فى المعمل *in vitro*. هذا ما تم بالفعل، واصبح له جهاز يعمل بكفاءة شديدة وهو جهاز التدوير الحرارىThermal cycler(شكل ١٣). الـPCR أصبح له استخدامات كثيرة طبيه وعلميه، منها على سبيل المثال: الكشف عن الفيروسات فى المرضى، أو لدراسة التنوع الحيوى والتعرف على الجينات المختلفة. هذا الجهاز يعتمد على حقيقة أن الخيط المزدوج يمكن فرده وتحويله إلى سلسلتين مفردتين برفع درجة الحرارة.

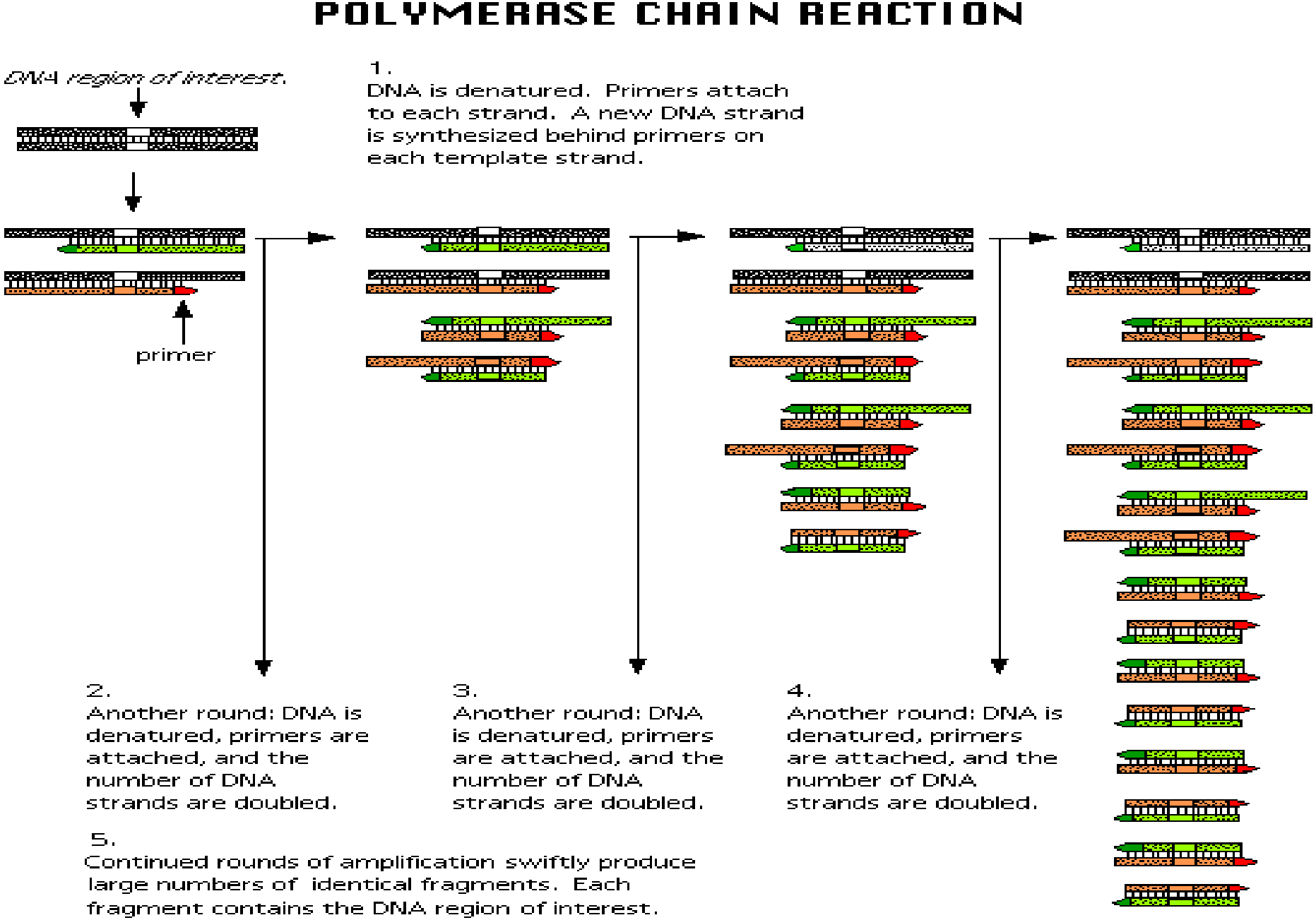
فإذا وضع بادئ Primerعبارة عن قطعة قصيرة من الـDNA على السلسلة المفردة. لاستطاع إنزيم البلمرة الخاص بالـDNA إذا عدلت درجة الحرارة أن ينسخ خيطا جديدا وتعاد الكره مرات ومرات، الناتج يكون كم كبير من قطعة الـ DNA يحددها البادئ الذى يستطيع أن يتكامل على السلستين على جانبى طول معين من الخيط. هذا الطول يتضاعف مرات ومرات حتى يصل الناتج إلى مليون نسخه فى وقت قصير (شكل ١٤). بعد الانتهاء من تضخيم قطعة الـ DNA فى جهاز الـ PCR يتم إظهارها عبر الجل (شكل ١٥). لكى نقوم بإجراء تجربة تنتهى بنا بمعرفة التتابع النيوكليتيدى لجزء منالـDNA، لابد أن يوضع ذلك الجزء فى ناقل وليكن M13، ينتج عن ذلك أن تتكون سلسلة مفردة من الـDNA المراد عمل تتابع له. يوضع بادئ متخصص specific primerبطول ٢٠ نيوكلوتيده مثلا عليه، هذا البادئ مجاور وناحيته فى الطرف ٣، فإذا استخدم Klenow Fragment للبلمرة من الطرف ٣ للبادئ، لنتجت سلسلة كاملة للـDNA المقصود إجراء تتابع لنيوكليتداته.

هذا التفاعل يجرى فى أربع أنابيب. يوضع فى كل أنبوبة منهى بلمرة معين والذى يسمىTerminator، و المنهى هذا عبارة عن نيوكلتيدة أزيل أكسجين هيدروكسيلذرة الكربون رقم ٣. بالإضافة إلى الأكسجين المنزوع من هيدروكسيل ذرة الكربون رقم ٢، و هى ما تكون موجودة عادة فى كل نيوكلوتيده DNA .

النيوكلتيده التى تعانى من فقدان أكسجين الهيدروكسيل فى ذرة الكربون رقم ٣ تصبح غير قادرة على تكوين رابطة مع النيوكلتيده التالية، فيتوقف تفاعل البلمرة عند هذا الحدبدون إضافة جديدة وتسمىهذه النيوكلتيده dideoxy ribonucleotide فإذا كانت النيوكلتيده العادية A فإن المنهى للنيوكلتيده A عبارة عن dideoxy ATP (dd ATP).

(شكل١٣)

Plate of PCR



POLYMERASE CHAIN REACTION

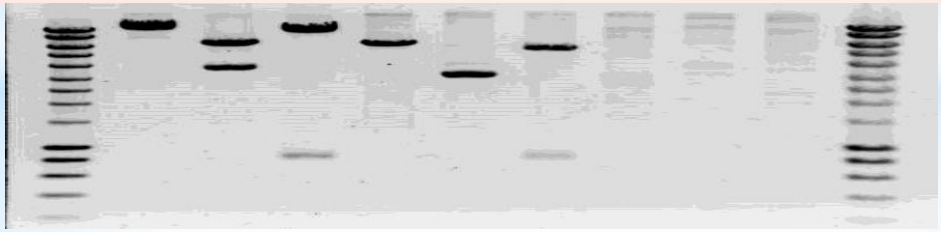
شكل (١٤)

Nucleic acid electrophoresis

A method to separate DNA fragments to allow their visualization and/or identification

Adapted from Griffiths et al. 1996

Copyright: IPGRI and Cornell University, 2003

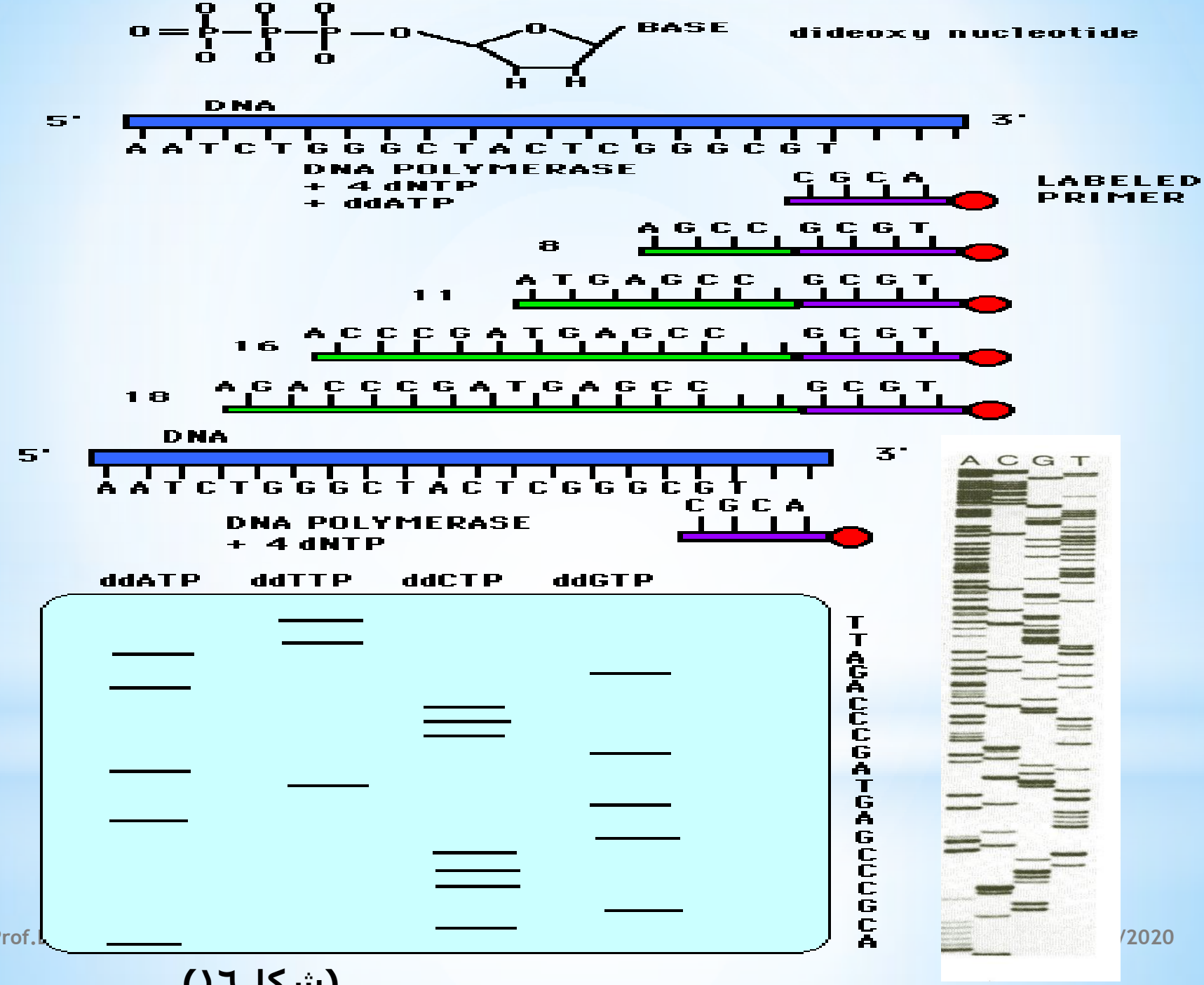


(شكل ١٥)

ويجب أن يوضع زيادة من النيوكلتيده العادية بالإضافة إلى قدر من المنهي dd ATP فى الأنبوبة الأولى، والمنهىdd CTP فى الأنبوبة الثانية، والمنهي dd GTP فى الثالثة الأنبوبةوالمنهىdd TTP فى الرابعة وبالتالى سوف يتوقف التفاعل فى الأنبوبة الأولى بعد كل A، وفى الثانية بعد كل C، وفى الثالثة بعد كل G، وفى الرابعة بعد كلT. ولذلك نتوقع ان يوجد لدينا عدد من القطع تنتهى بالنيوكلتيد Aو T و C و G(شكل ١٦) والنتيجة النهائية تكون هناك لكل منهى قطع بأطوال مختلفة تعبر عن كل موضع من مواضع تواجد المنهي، أو بعدد تواجد هذه النيوكلتيد في القطعة المعطاة.

ومن الجدير بالذكر لابد من وضع ATP مشع فى كل الأنابيب حتى يتثنى تكوين DNA يمكن معاينته على فلم حساس والجدير بالذكر أنة يوجد فى وقتنا الحديث جهاز حديث يسمى Sequencer يقوم بهذة المهمة باستخدام Kits تحتوى على المنهى سابق الذكر.

ثم تعطى نتائج الجهاز إلى الكمبيوتر لتحليله عن طريق برامج مثل Sequencer أو DNA star



O = P — P — P — O
O O O
BASE
H H
dideoxy nucleotide
DNA
5'
3'
A A T C T G G G C T A C T C G G G C G T
DNA POLYMERASE
+ 4 dNTP
+ ddATP
C G C A
LABELED
PRIMER
8
A G C C G C G T
11
A T G A G C C G C G T
16
A C C C G A T G A G C C G C G T
18
A G A C C C G A T G A G C C G C G T
DNA POLYMERASE
+ 4 dNTP
ddATP
ddTTP
ddCTP
ddGTP
T T A G A C C C G A T G A G C C C G C A
A C G T

(شكل١٦)

الكائنات المحوره وراثيا Transgenic organism

الكائنات المعدلة وراثيا هي كائنات حية تم تعديل مادتها الوراثية بواسطة الهندسة الوراثية لتصبح أكثر تطورا وتلبية لحاجات البشرية. أي انها كائنات تم تغيير جيناتهاعن طريق البيوتكنولوجيا الحديثة التي منها الهندسة الوراثية والتي تستخدم تقنيات تعرف عموما بتقنية ال DNA recombinant ولم تتم عن طريق التوليف الطبيعي أو التكاثر. حيث تتم العملية عن طريق نقل جينات منتقاة من جسم معين إلى جسم آخر من نفس النوع أو من وإلى أجسام من أنواع مختلفة مما يمنحه جينات معدّلة أو جديدة .قد تكون هده الكائنات ذات أصل حيواني أو بكتري أو نباتي.

من المعروف أن البروتين يعتبر الناتج النهائى لتعبير الجين لذلك أذا اردنا معرفة او التاكد من وظيفة جين معين يتم تغير تتابعاتة عن طريق ادخال جزء معين من الـ DNA كطفرة فى هذا الجين فيتم تغير تعبيرة لدراسة وظيفتة الحقيقية. والكائن مميز النواة الذى يسهل إجراء ذلك الاختبار به هو الخميره. حيث يتم إدخال شظايا كروموسومية فى صورة نسخ وحيده فى المواقع الكروموسومية المتناظرة بطرق الاتحادات الجديدة بحيث يتم إدخال جين معاد تصميمه مكان النسخة الأصلية للجين. ويعطى للباحث وسيلة فعالة لدراسة وظائف جينات الخميرة.

ولكن فى حالة نقل الـ DNA إلى خلايا ثدييه فإنه على العكس من ذلك توجد طريقة فعالة للتحكم فى الكيفية التى يمكن أن يتم بها ادخال الـ DNA بالكروموسومات ومن كل ألف محاولة تنجح محاولة واحدة للإحلال الجينى ولكن بدلا من الإدخال المتوقع يحدث أن شظايا الـ DNA تلتحم إنزيميا لتكوين مجاميع مترادفة فى الخلية بحيث ينتهى المطاف إلى الدخول ضمن أحد الكروموسومات عند مواقع عشوائية ويطلق على الكائنات التى يتم تغييرها وراثيا بالكائنات المحولة وراثيا.

إستخدامات الكائنات الحية المعدلة وراثيا:

تستخدم الكائنات المعدلة وراثيا في الأبحاث الحيوية والطبية وإنتاج الأدوية الصيدلانية والعلاجات التجريبية (مثال: العلاج الجينى) والزراعة (مثال: الأرز الذهبي). على سبيل المثال فإن جينا مأخوذا من قنديل البحر يعبر عن بروتينا مشعا يدعى بالبروتينات الفلورية الخضراء

(Green Florescent proteinGFP=) والذي يمكن ربطه فيزيائيا ومن ثم مشاركة تعبيره مع جينات الثدييات لتحديد موقع البروتين الذي تم التعبير عنه بواسطة جين GFP المعلم فى خلية الثدييات.

و تستخدم الحيوانات المحورة وراثيا كنماذج تجريبية لأظهار التعبير المظهري Phenotype ولإجراء الاختبارات في الأبحاث الطبية الحيوية وتتضمن التطبيقات الأخرى إنتاج الهرمون البشرى مثل الأنسولين.

تمثل الثدييات المعدلة وراثيا صنفا مهما من الكائنات المعدلة وراثيا فغالبا ما تستخدم الفئران المعدلة في دراسة الاستجابات الخلوية والنسيجية للأمراض.

يتميز السمك المعدل وراثيا بمحفزات تظهر إنتاجا أعلى لهرمون النمو الخاص بكل الأسماك وأدى هذا لتطوير لنمو شديد في فصائل متعددة والتي تشمل السلمونيات salmonids وأسماك الكارب والبلطي.

نقل الجينات فى الحيوانات Gene transfer in animals

أول التجارب التى أجريت على نقل جين حيوان إلى حيوان آخر كانت نقل جين هرمون النمو من الجرذ النرويجى rat إلى الفأر mouse لأجل زيادة نمو وحجم الفئران حيث أنها تعتبر كغذاء فى بعض دول العالم.

حيث أن هرمون النمو يتم تخليقه فى الغدة النخامية ثم ينتقل إلى الكبد حيث يبدأ فى تحضير تخليق هرمون آخر يسمى Somatomedine وهذا الهرمون الأخير يحفز نمو الأنسجة الضامة مثل العضلات والغضاريف والعظام وإعطاء كمية زائدة من هرمون النمو للفرد مما يؤدى إلى زيادة نمو جسمه.

وتتلخص هذه الطريقة (شكل١٧) كما يلى

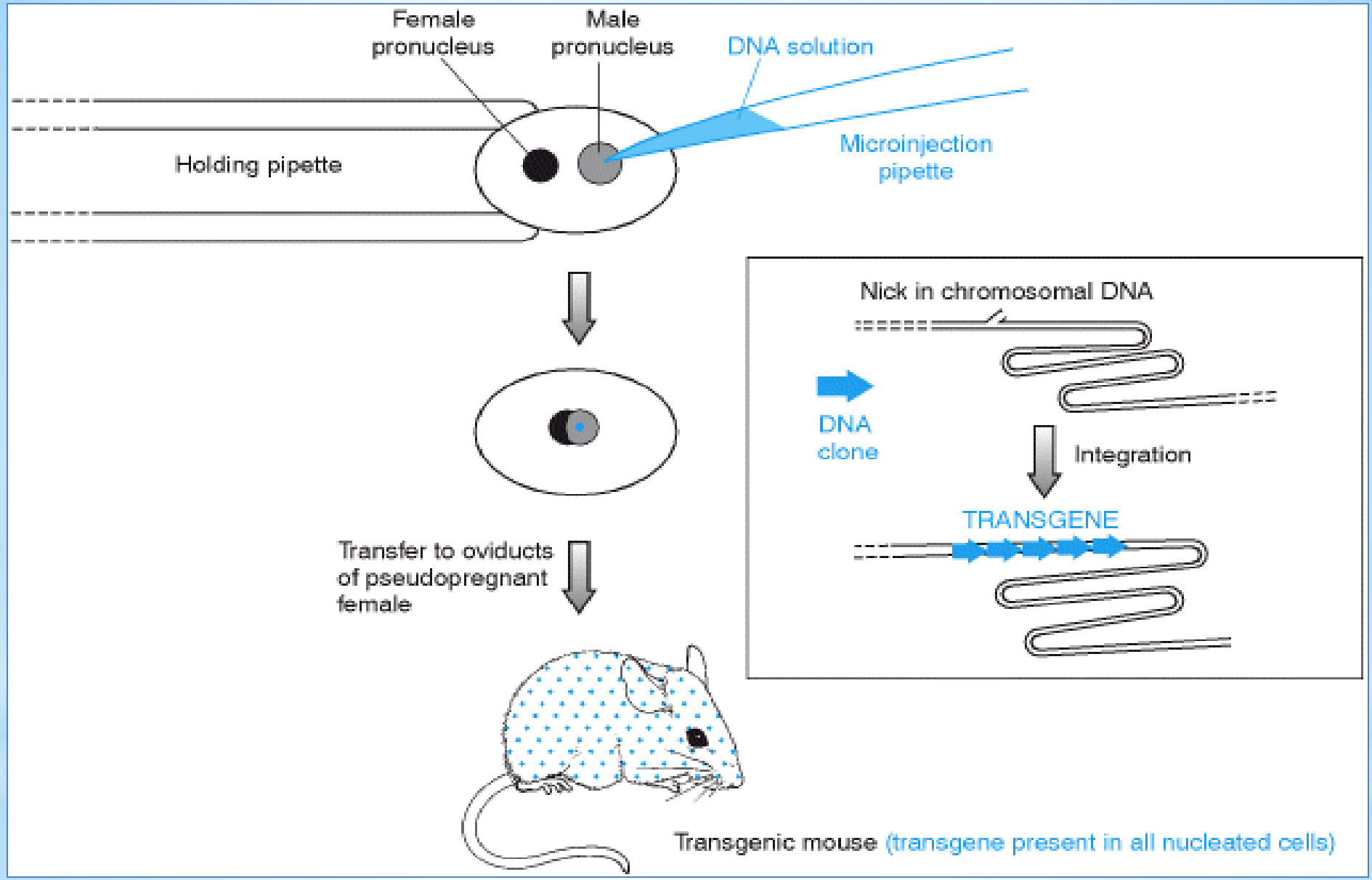
١- ربط جين هرمون النمو للجرذ rat growth hormone gene مع بلازميد مصمم بحيث أن تعبير هذا الجين يكون عالى وبالتالى يؤدى إلى زيادة معدل إفراز هذا الهرمون .

٢- جمع بويضات حديثة الاخصاب fertilized mouse eggs والتى تحتوى على النواة الذكرية Male pronucleus والنواة المؤنثة Female pronucleus والتي لم يحدث بعد اندماج النواتين.

٣- حقن البلازميد الهجين المحتوى على جين هرمون النمو للفأر داخل النواة المذكرة بواسطة ماصة زجاجية Micropipettes تحت الميكروسكوب مما يؤدى إلى أن البلازميد الهجين يلتحم فى عدة مواقع داخل كروموسومات الفئران.

٤- تترك هذه الزيجوتات لتنمو على طبق بترى محتوى على بيئة خاصة ثم يعاد إدخالها فى إناث ذات حمل كاذب.

٥- إختبار الخلايا الجسدية للنسل الناتج لوجود جين هرمون النمو بعد التشريح. فوجد أن نسل الفئران والمحتوية داخل تركيبها الوراثى على جين هرمون النمو للجرذ النرويجى تنمو بمعدل أكبر وكان حجم الجسم ضعف جسم أشقاؤه من الفئران والذين لا يمتلكوا هذا الجين.


Female pronucleus
Male pronucleus
DNA solution
Holding pipette
Microinjection pipette
Nick in chromosomal DNA
DNA clone
Integration
TRANSGENE
Transfer to oviducts of pseudopregnant female
Transgenic mouse (transgene present in all nucleated cells)

(شكل ١٧)

تطبيقات الهندسة الوراثية

استخدمت الهندسة الوراثية فى العديد من المجالات منها:

١- فى مجال الانتاج الحيوانى: أمكن تطويع تكنيك الهندسة الوراثية فى مجال الإنتاج الحيوانى كما يلى:

أ) زيادة إنتاج اللبن واللحم فى الحيوانات وانتاج نسل من الحيوانات المتشابهة.

ب) إنتاج الأنسولين البكتيرى بدلاً من الخنازير والأبقار بطريقة اقتصادية.

حيث أمكن لحم الجين المسئول عن انتاج الأنسولين داخل البلازميد وبعد ذلك تم إدخال البلازميد الهجين إلى بكتريا *E.coli* ثم نقلت هذه الخلايا البكتيرية إلى بيئة غذائية سائلة داخل جهاز التخمير Fermentator الذى يوفر الظروف البيئية الملائمة لنمو البكتريا بأعداد كبيرة وبعد ذلك تم تنقية الأنسولين من البيئة الغذائية. وحديثاً أمكن نقل الجين المسئول عن انتاج الأنسولين إلى الإنسان المريض بالسكر عن طريق العمليات الجراحية بمساعدة فيروس غير ضار ثم تطورت هذه العملية وأصبح النقل مباشرة بدون استخدام الفيروس تجنباً لأخطاره المحتملة وهذا ما يسمى بالمعالجة الجينية Genetherapy

٢- إنتاج بروتين الإنترفيرون البشرى Human interferon وهو عبارة عن جليكوبروتين فعال ضد الأمراض الفيروسية ويستخدم فى السيطرة على مرض السرطان حيث يثبط نمو الخلايا السرطانية ويمنع إنتشارها ولقد أمكن إنتاج هذا البروتين عن طريق نقل الجين فى بلازميد ثم استنساخه فى البكتريا كميات كبيرة منه.

٣- إستطاع فريق من العلماء الأمريكان بقيادة العالم توماس سيتش سنة ١٩٩٧ من تحديد الجين المسئول عن النمو الغير محكوم للخلايا السرطانية حيث يعمل هذا الجين على إفراز بروتين يشكل جزء أساس من إنزيم Telomerase الذى يسمح لخلايا السرطان بالنمو دون كبح. وتتلخص فائدة هذا الكشف فى:

- إمكانية إنتاج أدوية تعوق نشاط هذا الإنزيم مستقبلا.
- إمكانية التشخيص المبكر لوجود ورم سرطان حيث أن هذا الإنزيم يظهر بمجرد تحول الخلية إلى خلية سرطانية.

٤- إنتاج ميكروبات تقوم بمعالجة مياه الصرف الصحى والتخلص من المواد الضارة والروائح وجعلها صالحة لأغراض مختلفة.

المخاطر المحتملة لتطبيق الهندسة الورثة

على الرغم من الأهمية القصوى للهندسة الوراثية وانجازاتها فى خدمة الإنسان فى جميع المجالات إلا أن هناك أضرار محتملة الحدوث سواء من قصد أو بدون قصد منها:

١- إمكانية إنتاج نسخ ميكروبية قاتلة تتسرب عن عمد أو بدون عمد من مختبرات الهندسة الوراثية ولا يمكن السيطرة عليها بأى مضاد حيوى معروف .

٢- إمكانية العبث فى جينات الإنسان مما قد يؤدى إلى إنتاج إنسان مشوه وهدم القيم الدينية والاجتماعية المتوارثة وهذا يثير مخاوف رجال الدين والاجتماع والقانون.

ويلفت الخبراء الانتباه أيضا إلى المخاطر التي تهدد الإنسان مع إدخال هذه الأنواع الحيوانية المعدلة وراثيا في الغذاء بسبب المخاطر غير المعروفة لا سيما ما يمكن أن تثيره البروتينات المنتجة بواسطة المورثات من حساسية . أما بالنسبة للحيوانات المستنسخة أو المنتجات المشتقة منها مثل الحليب البقري، فرغم أن لا شيء يدل في الوقت الحاضر على أن استهلاكها يشكل خطرا على الصحة، فان الخبراء يشددون على ضرورة توخي اكبر قدر من الحذر نظرا لعدم وجود دراسات عن مدى سميتها .

المخاطر المحتملة لتطبيق الهندسة الورثة

على الرغم من الأهمية القصوى للهندسة الوراثية وانجازاتها فى خدمة الإنسان فى جميع المجالات إلا أن هناك أضرار محتملة الحدوث سواء من قصد أو بدون قصد منها:

١- إمكانية إنتاج نسخ ميكروبية قاتلة تتسرب عن عمد أو بدون عمد من مختبرات الهندسة الوراثية ولا يمكن السيطرة عليها بأى مضاد حيوى معروف .

٢- إمكانية العبث فى جينات الإنسان مما قد يؤدى إلى إنتاج إنسان مشوه وهدم القيم الدينية والاجتماعية المتوارثة وهذا يثير مخاوف رجال الدين والاجتماع والقانون.

ويلفت الخبراء الانتباه أيضا إلى المخاطر التي تهدد الإنسان مع إدخال هذه الأنواع الحيوانية المعدلة وراثيا في الغذاء بسبب المخاطر غير المعروفة لا سيما ما يمكن أن تثيره البروتينات المنتجة بواسطة المورثات من حساسية . أما بالنسبة للحيوانات المستنسخة أو المنتجات المشتقة منها مثل الحليب البقري، فرغم أن لا شيء يدل في الوقت الحاضر على أن استهلاكها يشكل خطرا على الصحة، فان الخبراء يشددون على ضرورة توخي اكبر قدر من الحذر نظرا لعدم وجود دراسات عن مدى سميتها .

الوقاية من المخاطر المحتملة للهندسة الوراثية:

١. يجب وضع احتياطات مشددة على مختبرات الهندسة الوراثية حتى لا تتسرب مثل هذه الميكروبات الضارة.

٢. عدم إجراء التجارب على الإنسان بل تطبق عليه النتائج النهائية التى تم تأكيدها فى الكائنات الأخرى وبحرص شديد وبما يتمشى مع القيم الإنسانية والاجتماعية والدينية.

تكملة لما تم تدريسه فى مقرر اساسيات الوراثه فى الفصل الدراسى الاول سوف نتحدث فى هذا الجزء عن بعض التقنيات الهامة التى لا غنى عنها عند العمل فى تربية وتحسين الحيوان

فى PCR يتم مضاعفة جين مرغوب gene of interest بإستخدام بادئات متخصصه هذا النوع من تفاعلات الـ specific primers

و تساعد هذه التقنيه فى التعرف على التعبير الجينى

تفاعل البلمرة المتداخل Nested PCR

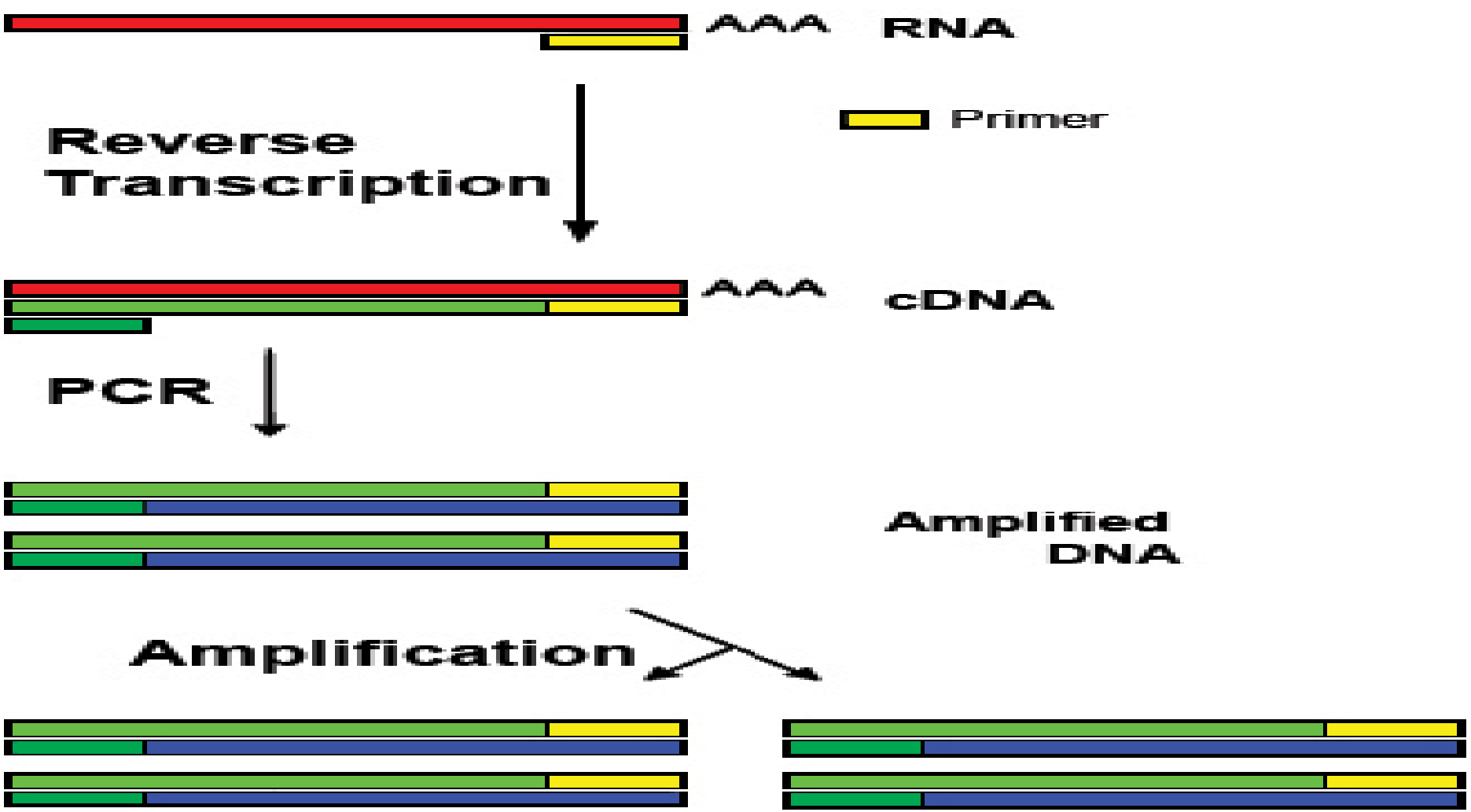
نظرا لوجود كثيرا من العقبات التى تواجه إستخدام تقنية الـ PCR التقليدى حيث القطع الصغيرة من الدنا أو الجينات النادرة حيث يتطلب الأمر إلى بعض التحويرات فى التفاعلات التقليديه لحل هذا النوع من المشاكل. تفاعل البلمرة المتعدد المتداخل تم تصميمه لحل أحد هذه العقبات ومن خلاله يتم تنفيذ الـ PCR على مرحلتين (شكل ١٨):

المرحلة الأولى: يتم تضخيم جزء كبير من DNA يقع داخله جين مرغوب بإستخدام بادئات متخصصه.

المرحلة الثانيه: بعد الإنتهاء من هذا التضاعف يتم نقل نواتج الـ PCR إلى أنابيب أخرى ثم إضافة البادئات المتخصصه للمرحلة الثانيه التى سوف تتعرف على الجين المرغوب وهذا ما يسمى بالتفاعل المتداخل التقليدى.

يوجد تفاعل أخر يسمى بالنصفى المتداخل semi-nested PCR ، فيه يتم عمل التفاعل فى خطوة واحده. حيث يتم إضافة زوجى البادئات

الخارجيه والداخليه على مخلوط الـ PCR، والإختلاف فى هذه التقنيه يتمثل فى، عمل ١٠ دورات حراريه على ٥٨ درجة مئويه وهذه الدرجات مناسبه للبادئات الخارجيه، ثم إستخدام درجات حراره مختلفه (٤٥ درجة مئويه) تتناسب البادئات الداخليه التى سوف تضخم الجين المرغوب بعدد دورات ٢٥ حراريه.



(شكل١٨): تفاعل البلمره المتعدد بداية من دنا DNA ناتج من mRNA بإستخدام إنزيم النسخ العكسى. لاحظ إرتباط البادئ بالـ cDNA من الطرفين لتكوين الخيوط الجديده.