وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الانبار- كلية الزراعة
قسم البستنة وهندسة الحدائق
المرحلة الرابعة

المادة: تقانات احيائية
مدرس المادة: أ. م. د. محمد عبد الغفور محمد
العام الدراسي 2020 - 2021

بنية المقرر

الأسبوع	الساعات	مخرجات التعلم المطلوبة	اسم الوحدة / المساق أو الموضوع	طريقة التعليم	طريقة التقييم
الأول	5	التقانات الاحيائية النباتية المفاهيم الأساسية	التقانات الاحيائية النباتية المفاهيم الأساسية	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الثاني	5	المقدمة التاريخية وتطبيقات التقانات الأحيائية	المقدمة التاريخية وتطبيقات التقانات الأحيائية	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الثالث	5	طبيعة المادة الوراثية وتكرارها	طبيعة المادة الوراثية وتكرارها	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الرابع	5	التعبير الجيني في النبات	التعبير الجيني في النبات	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الم الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الخامس		امتحان الشهر الاول			
السادس	5	نواقل الكلونة	كلونة الجين	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
السابع	5	الهندسة الوراثية في النبات	نواقل الكلونة	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الثامن	5	التحول الوراثي في النبات وتطبيقاته	الهندسة الوراثية في النبات	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
التاسع	5	التحول الوراثي باستخدام بكتريا الاكروبكتيريم	التحول الوراثي في النبات وتطبيقاته	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
العاشر		امتحان الشهر الثاني			
الحادي عشر	5	طرق نقل الجين المباشر في النبات	طرق نقل الجين المباشر في النبات	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الثاني عشر	5	التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا وتطبيقاته	التفاعل التضاعفي لسلسلة الدنا وتطبيقاته	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الثالث عشر	5	مؤشرات الدنا في النبات انواعها وتطبيقاتها	مؤشرات الدنا في النبات انواعها وتطبيقاتها	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الرابع عشر	5	تحليل بيانات البصمة الوراثية	تحليل بيانات البصمة الوراثية	المحاضرة، المناقشة ،تقارير، مختبرات افلام علمية	الأسئلة امتحانات سريعة وشهرية ونشاط صفي وتقارير
الخامس عشر		امتحان الشهر الثالث			

المصادر

1-– تقانات احيائية. د. كاظم ابراهيم الصميدعي

2-أساسيات التقنية الحيوية. على إبراهيم على عبيده وأحمد عبد الفتاح محمود

3-تقنيات حيوية. د. محمد بن إبراهيم السويل

التقانة الحيوية Biotechnology:

يعد علم التقنية الحيوية أحد ميادين العلوم التطبيقية والتكنولوجية المبنية على الخصائص الفريدة للمادة الحيوية، وللتقنية الحيوية تعريفات عدة تختلف في نطاقها الشكلي ولكنها تتفق في النطاق الجوهري فهي تعرف بمفهومها الواسع على **انها مجمل التقنيات التي تستخدم النظم الحيوية والكائنات الحية أو مكوناتها لإنتاج أو تحوير أو تطوير منتجات أو عمليات من أجل استخدامات معينة قد تكون ذات قيمة وفائدة للإنسان.** ويعد علم التقنية الحيوية علم متعدد الجوانب ويعتمد على الكثير من العلوم الأخرى ، إذ لا تتحقق التطبيقات الناجمة عنها إلا بدمج عدد كبير من المجالات العلمية والتكنولوجية، كالفيزياء الأحيائية التطبيقية والكيمياء وعلم الأحياء الدقيقة والكيمياء الحيوية وعلم الوراثة وفسلجة الأحياء وعلم الأحياء الجزيئي وعلم الإنزيمات والكيمياء التحليلية وعلوم الأغذية والهندسة الكيميائية والأحياء المجهرية الصناعية وغيرها.، ويتطلع العديد من الباحثين والمختصين لمعرفة التطبيقات الممكنة للتقنية الحيوية، وخاصة في المجالات الزراعية، مما سيساهم في زيادة الإنتاج الزراعي، وذلك عن طريق إنتاج صنف جديد يتميز بصفات مرغوبة كماً ونوعاً وبطرق أكثر كفاءة وأسرع مقارنة بالطرق التقليدية.

تعد التقنية الحيوية علم جديد برز وتطور بشكل سريع ومذهل خلال العشرين سنة الماضية حيث تُستخدم الخلية النباتية، أو الحيوانية ، أو الميكروبية لإنتاج مواد ذات فائدة كبيرة للبشرية وبالتالي تلعب دوراً مهماً في تحسين نواتج كل من النبات والحيوان بغرض استخدامها في الزراعة ، والصناعة ، والمجالات الطبية المختلفة . ومن هذا المنطلق سعت وتسعى كثير من الدول المتقدمة والنامية إلى وضع خطط استراتيجية قريبة وبعيدة المدى لخوض غمار هذه التقنية وتحصيل أكبر قدر من فوائدها الاقتصادية ، والصحية، والزراعية ، والبيئية.

نبذة تاريخية عن تطور علم الهنية الحيوية

يعود مفهوم التقنية الحيوية مع بداية نشوء الزراعة ، أذ يمكن ان يرجع الى فجر التاريخ مع بدا الانسان باستشعار تجربة تلف الطعمة نتيجة الإفساد الميكروبي وحفظه بالتجفيف أو التمليح او اضافة السكر بالإضافة الى ادراكه لتأثير المشروبات الكحولية المتخمرة ، ومع تطور أولى حضارات المدن نجد وثائق ورسومات عن تحضير الخبز والسيرة والنبيذ والجبن وديغ الجلود.

أن هذه العمليات قد استعملت لفترة تمتد الى الف السنين وبطبيعة الحال كانت هذه العمليات التصنيعية تتم في الماضي دون معرفة دور الاحياء المجهرية أو حتى دون معرفة وجود للإحياء المجهرية. ولكن المصطلح الحالي التقنية الحيوية Biotechnology استعمل هذه الصيغة عندما صدرت اول مجلة تحمل هذا الاسم في العشرينات وذلك في مدينة ليدز البريطانية وكانت المجلة في ذاك الوقت تتناول البحوث الخاصة بدور الأحياء المجهرية في صناعات المتخمرات وصناعة الجلود والسيطرة على بعض الأوبئة وهي مشابهة للمواضيع التي تتناولها المجلات الخاصة اليوم مع فارق التطوير والتحديث في كافة المجالات وقد قبل المصطلح سنة ١٩٨٢ من قبل اتحاد المنظمات الأوربية للتقنية الحيوية (The European Federation of Biotechnology EFB) وقد وضع له التعريف الاتي: وهو الاستعمال الأساسي للكيمياء الحيوية، على الأحياء المجهرية وعلوم الهندسة للوصول الى التطبيق الصناعي لقابلات الاحياء والأنسجة المزروعة او مزارع الخلايا او اي جزء منها ، ومن هذا يتضح انه قبل هذا التاريخ فالعلم كان بشار اليه او بعرف مصطلحات اخرى منها على الحياة

التطبيقي، الكيمياء الحيوية التطبيقية، الوراثة التطبيقية، تقنية الانزيمات، على الأحياء المجهرية الصناعي والتطبيقي، الهندسة الكيماوية او الهندسية الحيوية ولكن في الوقت الحاضر وحدت هذه العلوم المشتتة لتقع ضمن حقل عام شامل هو علم التقنية الحيوية أو التصنيع الحيوي .

ويمكن تقسيم مراحل تطور علم التقنية منذ بدايته الى الان الى عدة مراحل منها :

- **المرحلة الأولى**

وتتمثل هذه المرحلة ما عرفه الانسان القديم مثل الفراعنة والسومريين والبابليين من تخمرات الأغذية التي كانت تتم عن عدم معرفة حيث نستعمل أغذية فدعة وتخلط مع الأغذية الطازجة لإجراء التحولات فيها أو تترك الأوعية مفتوحة لتئم التحولات فيها وقد امتدت هذه المرحلة الى حوالي القرن السابع عشر ، الى حين اكتشاف ليفينهوك للأحياء المجهرية وكذلك اكتشاف أن اجسام الحيوانات والنباتات تتكون من حجيرات صغيرة هي الخلايا التي تمثل اصغر الوحدات التركية والوظيفية في جسم الاحياء والحقيقة أن هذه الاكتشافات لم تعط أي دفع العلم التقنية انذاك .

المرحلة الثانية :

وهي المرحلة التي أدت إلى تطور كبير في علم التقنية وابرز احداثها هو اكتشاف باستور (١٨٥٧ – ١٨٧٩) الدور الأحياء المجهرية في عمليات التخمر التي تتم بغياب الأوكسجين وقد أدى هذا الى تطور الصناعات المعتمدة على التخمر مثل انتاج المذيبات العضوية وصناعة مواد كيمياوية من خلال تحويل الكاربوهيدرات الثنائية ، وقد تم في نفس الفترة انتاج القطر Mushroom على نطاق تجاري.

المرحلة الثالثة:

وتمثل هذه المرحلة بداية القرن العشرين وتميزت المرحلة بان العديد من العمليات التصنيع الحيوي كانت تتم تحت ظروف مفتوحة وكانت السيطرة على التلوث تتم بواسطة حسن التعامل مع أعداد العملية التصنيعية وكذلك العناية بالظروف البيئية . وقد تم خلال احداث الحرب العالمية الأولى تطوير عددا من عمليات التصنيع منها انتاج العلف الحيواني وكذلك انتاج الكلسيرول من التخمر الكحولي للخائر، وخلال تلك الفترة قامت صناعات تخمرية اخرى منها انتاج حامض اللبن وحامض الخل، وبعض المواد الكيمياوية مثل الأسيتون والبيوتانول ، ولو أن البعض من هذه الصناعات الحيوية أستعيض عنها بالصناعات البتروكيمياوية في الفترة اللاحقة باستثناء المواد الصناعية التي لها علاقة بإنتاج الأغذية . وقد تم خلال تلك الفترة ايضا انتاج بعض الأنزيمات على نطاق تجاري ، كما تم في تلك المرحلة استبدال عمليات انتاج حامض الليمون من الاعتماد على الحمضيات إلى عمليات الإنتاج المعتمدة على الفطريات

- **المرحلة الرابعة :**

ان هذه المرحلة اعتمدت على ما سبقها من المراحل من المعلومات المتراكمة وكذلك المشاكل المستورثة، وقد حصلت تطورات مهمة في هذه المرحلة منها تميز المرحلة اكتشاف القيادات الحيوية حيث ان البنسلين بطريق الصدفة سنة ١٩٢٨ ولذلك يطلق على هذه المرحلة عهد المضادات الحيوية . ان عمليات انتاج البنسلين كان يجب أن تنتظر تطورات تحمل في مجالات اخرى حيث انه لا يمكن انتاجه بظروف غير معقمة وقد دام الانتظار الى حوالي 1940، وكانت الحرب العالمية الثانية قد بدأت ووجد عندها البنسلين سوقا رائجة لعلاج الجرحى، وقد ادت معرفة عمليات التعقيم التي استعملت لإنتاج البنسلين الى معرفة التعامل مع المزارع النقية وتعقيم الأوساط الغذائية وأقمر، حيث نسخن لدرجة حرارية معينة ولفترة محددة ثم تبرد

وتضاف اليها اللقاحات مع الحفاظ عل الضغط الداخلي بشكل موجب اي اعلى من الضغط الخارجي لتلافي التلوث . وبالإضافة الى انه اصبح بالإمكان ادخال الهواء المعقم واجراء عمليات الخلط والتقليب تحت الظروف المعقمة في المرات المغلوطة والتي لا تزال هي الطريقة المثلى العمليات الانتاج الكبيرة أن تطور العمليات الانتاجية المعقمة للمضادات شجعت قيام صناعات اخرى في تلك الفترة منها انتاج المضافات الغذائية، الحوامض الأمينية والنيوكلوتيدات، وقد استمرت بعض العمليات الانتاجية من المرحلة السابقة بالعمل في هذه المرحلة منها انتاج المواد المتخمرة بواسطة البكتريا Clostridium acetibutylicy ولكنها تطورت قليلا حيث كانت تتم بشكل شبه مستمر فكان يفرغ ثلثي محتوى المحمر لتضاف مكانها موادا جديدة إلى الثلث المتبقي الذي يكون بمثابة لقاح للعملية الانتاجية الجديدة.

المرحلة الخامسة :

تمتد جذور هذه المرحلة الى حوالي 40 - 60 سنة إلى الوراء من الوقت الحاضر وقد اطلق على بداية هذه المرحلة مرحلة انتاج الايثانول او هدية الايثانول حيث استعملت جميع المعلومات والتقنيات السابقة لإنتاج الإيثانول من السكريات المكوثرة المتوفرة مثل النشأ. وتلت عمليات الانتاج المذكورة تطورات في استعمال المزارع المستمرة وانتاج بروتين الخلية الواحدة Single cell protein حيث وصل انتاجه الى مئات الالاف من الأطنان سنويا باستعمال مواد اولية مختلفة مثل الميثانول الألكينات كمصادر للكاربون ولكنه انحسر بعد ذلك

وقد ازدهرت أيضا في تلك الفترة عمليات انتاج الحوامض الابنة مثل حامض الكلوتاميك الذي ينتج بكيات تصل الى مئات الالاف من الأطنان ليستعمل كمواد نكهة في الأغذية وكذلك اتج الحامض الأميني اللابسين بمعدل يصل الاف الأطنان منوياً ليستعمل في تدعيم بعض الأغذية التي تفتقر اليه اما الأنزيمات قد تأخر تطور انتاجها إلى مراحل متأخرة وذلك لعدم ثباتتيها وكذلك صعوبة استخلاصها بعد الانتاج ، بالإضافة إلى صعوبة تزويدها بتميم الازيم Cofactor ، ولكن أغلب هذه المشاكل قد تم التغلب عليها في الوقت الحاضر، وقد وجدت تطورات اخرى في مجال الطب حيث أصبح بالإمكان انتاج العديد من المواد الدوائية غير المضادات بواسطة الاحياء المجهرية مثل الهرمونات والاجسام المضادة . وقد كانت اكبر قفزة ادت الى دفع على التقنية الحيوية إلى الأمام هي التطورات التي حصلت في مجال الهندسة الوراثية وظهور نقية تشكيل الحوامض النووية DNA Recombinant Technology.

مجالات التقنية الحيوية

مع بداية استخدام المادة الوراثية والكائنات الحية للحصول على منتجات مفيدة للإنسان تم تداول واستخدام مصطلح التقنية الحيوية الحديثة التي تمييزها عن التقنية الحيوية التقليدية القديمة التي تعنى باستخدام الكائنات الحية عمليات حيوية مثل التخمر والتعطين وبدأت تظهر مجالات عديدة للتقنية الحيوية منها:

- **التقنية الحيوية الزراعية (Agricultural Biotechnology):** وتختص بالأبحاث والأنشطة المتعلقة بالنبات والحيوان.
- **التقنية الحيوية الطبية (Medical Biotechnology):** وتختص بالأبحاث والأنشطة المتعلقة بصحة الإنسان.
- **التقنية الحيوية البيئية (Environmental Biotechnology):** وتختص بالأبحاث والأنشطة المتعلقة بخدمة البيئة والمحافظة عليها.
- **التقنية الحيوية الصناعية (Industrial Biotechnology)**: وتختص بالأبحاث والأنشطة المتعلقة بالمجال الصناعي.

- **التقنية الحيوية والمعلوماتية الحيوية (Bioinformatics):** وتختص باستخدام الحاسبات الآلية لتحليل نتائج الدراسات الحيوية.
- **التقنية الحيوية متناهية الصغر (Nano-Biotechnology):** وتختص بالأبحاث والأنشطة على مستوى النانو وخاصة في مجال إنتاج الأدوية وقد ساعدت الاكتشافات الجديدة على تعزيز صناعة التقنية الحيوية على المستوى التجاري لا سيما في أمريكا الشمالية وأوروبا، وبدأت العديد من الشركات الكبرى استثمارات كبيرة التحسين إنتاج أنواع النباتات الزراعية كوسيلة المعالجة الفقر والأمن الغذائي للبشر في البلدان.

- **تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال الزراعة والانتاج الحيواني**

ان مجال التكنولوجيا الحيوية معقد عليه امال كثير في توفير الغذاء وتقليل استخدام طاقة البترول التي يعتمد عليها ٨٠ % من النمو في الزراعة ، وذلك بتقليل استخدام المبيدات والأسمدة و الهرمونات وانتاج نبقات تحمل الجفاف والملوحة والآفات ودانت انتاج وجودة عالية تحمل التخزين بالإضافة الى الاستفادة من المخلفات وتحويلها الى قيمة مضافة وبالتالي حماية البيئة من التلوث مع تقليل تكلفة الإنتاج وخلق وظائف جديدة . وقد نجحت تقنيات التكنولوجيا الحيوية في تحسين خصائص النباتات و الحيوانات و زيادة انتاجها وقيمتها الغذائية ، كما ظهرت امكانية انتاج كائنات حية معدلة وراثيا Transformants وتعني كائنات تحتوى وحداتها الوراثية على جزيء DNA من كائن آخر، وهي تعتمد على البحث عن الجينات المرغوبة ثم عزلها ونقلها الى كائنات مختلفة وإلى ذلك درامية قدرة الجينات المنقولة على التعبير Expression او الاتحاد Recombination و الثبات الوراثي Stability في الكائن الجديد . و سوف نعرض بعض تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في المجال الزراعي و مجال الانتاج الحيواني و سوف نبدأها بمجال الزراعة كما يلى:

1 - تمكن العلماء من انتاج نباتات مقاومة للحشرات مثل دودة ورق القطن و ديدان اللوز وثاقبات الذرة.

٢ - انتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية لحوالي ٢٢ فيروس مثل البطاطس و الكنتالوب.

٣ - انتاج نباتات مقاومة للأمراض الفطرية مثل حماية بنجر السكر والخم والبطاطس والطماطم عن طريق ادخال جين يتحكم في الزيم كيتينيز الذي يذيب الكيتين الموجود في جدر خلايا الفطر ، وهو جين مستخلص من احدي انواع البكتيريا كما تستخدم في انتاج اصناف قطن مقاومة لمرض الذبول الوعائي بحيث أن جميع أصناف القطن المنزرعة حاليا تم تربيتها لتكون مقاومة لهذا المرض الذي كان يشكل مشكلة كبيرة للمزارعين

4 - انتاج المبيدات الحيوية لمقاومة الكثير من الحشرات عملية وحرفية الأجنحة التي تصيب البطاطس و الذرة ، كما تم انتاج مبيد المقاومة الديدان التي تهاجم الكرنب و القرنبيط و الخس.

٥ - انتاج نباتات تثبت النيتروجين من الجو مثل الأرز والقمح والأشجار.

6 - تحسين القيمة الغذائية لكثير من النباتات مثل فول الصويا و الذرة وزيادة انتاج البروتينات المرغوبة.

٧ - تحسين خواص حفظ الطماطم و جودة البطاطس و انتاج ش ي لا يستهلك كمية زيت كثيرة . كما اسكن عزل جين من فراشة دودة الشمع و ادخاله لنبات لبطاطس لاكتسابها مناعة ضد اسوداد لونها اثناء النقل و التسويق لرفع قيمتها التسويقية.

8- تحسين خواص التيلة في القطن و تحسين خصائص الموز ليتحمل الشحن مسافات طويلة.

9- استخدام الأجسام المضادة الأحادية والمتعددة ومجس الحمض النووي في تشخيص أمراض النبات وعلاجها ايضا .

١٠ - انتاج نباتات تتحمل الجفاف والملوحة و الظروف القاسية •

١١ - استخدام النباتات كمصانع حيوية لإنتاج الأدوية و البروتينات والأنزيمات.

12 - تمكن العلماء من رقابة نبات الجملة من اخطار يرقات السموم التي تتغذى على حبوب البسلة و ذلك عن طريق ادخال جين B الى تكوينها الوراثي .

١٣ - تمكن العلماء من تخليق فيروس يحتوي على سم مستخلص من انثى العنكبوت الذي له القدرة على شل الحشرات وقتلها للقضاء السريع على الحشرات.

14 - تم التعرف على بروتين في البذور يمنع من هضم النشا ويبطء من نمو الحشرات ، وتم عزل هذا الجين و تم اكثاره وادخاله في بروتوبلاست الارز مما ادى الى ابطاء نمو الخنافس بمعدل خمس مرات.

١٥ - امكن استنساخ العديد من النباتات عن طريق مزارع الخلايا والأنسجة النباتية . ولقد أمكن استخدام هذه التقنية في الاكثار السريع للنباتات ذات الأهمية الاقتصادية وبخاصة الأصناف التي تتميز بالجودة الانتاجية .

اما عن مجال الانتاج الحيواني فان من امثلة التطبيقات في هذا المجال ما يلي:

1- يمكن زيادة انتاج اللبن من الايقار عن طريق حقن الأبقار بهرمون منتج الطريقة الهندسة الوراثية و يسمى BST وهو هرمون يفتح شهية الحيوان الاستهلاك العلف و بكفاءة ، كما انه يفيد من انتاج اللبن بنسبة كبيرة تتراوح من 15 % الى ٣٠ % و يذيد من انتاج البقرة الواحدة من ٥٠٠٠ لتر الى ٨٠٠٠ لترقويا.

2 - تمكن العلماء من عزل جين من النار بإدخاله الى الاغنام يتساقط صوفها تلقائيا بدون الحاجة الى حلقه.

٣ - يتم استخدام الباكيلوفيروس لحماية الأغنام ضد فيروس اللسان الأزرق عن طريق الحصول على الفيروس المسبب للمرض ووضعه في الباكيلوفيروس الحصول على حبيبات منه تشبه الفيروس و لكن غير حية و حينما تعطى للحيوان تكسبه مناعة - في مجال الكائنات البحرية تستخدم التقنيات الحيوية البحرية في انتاج مستحضرات و منتجات طبيعية و ادوية و مضادات حيوية و قد اسكن تعديل او تحسين الصفات الحيوية للأسماك والحيوانات الصدفية و القشريات و الطحالب الحصول على سلالات مهجنة ، ولتصنيع الغذاء و انتاج المستحضرات الطبية و هناك مجموعة من التقنيات التقليدية في هذا المجال مثل عمليات زراعة الخلايا و الأنسجة و التضاعف الدقيق و التخمر او عن طريق مجموعة من التقنيات الحديثة التي تستخدم الأساليب الجزيئية و التعامل المباشر مع المادة الوراثية المتمثلة في جزيء DNA معد الاتحاد وقد تمكن العلماء من التحكم الجيني للأسماك بسهولة نظرا لكبر حجم بيضها و الذي يمكن نقل الجينات اليه عن طريق الحقن او باستخدام المثقاب الكهربي و التي تستخدم في نقل الجينات المسئولة عن انتاج الهرمونات . و قد تم انتاج اسماك سالمون تستطيع مقاومة البرد و الحياة في المياه المتجمدة ، كما امكن استخدام السمك الذهبي لإنتاج هرمون النمو ، وتستخدم الطحالب كمصدر للأدوية و الأطعمة.

4- يمكن استنساخ الحيوانات بتخليق نسخة طبق الأصل من الحيوان وهي محاكاة للتوالد البكري الطبيعي Paitlieulogenesis الذي يحدث في الطبيعة ويعني مقدرة البويضة على النمو لتكوين فرد جديد دون اخصاب بمشيج اذكري ، كما أنه يعد أحد صدور التضاعف إللاجنسي حيث يتم انتاج الأبناء من اب واحد فقط وتعتمد تقنية الاستنساخ الحيواني على اخصاب البويضات عن طريق استبدال الاجهزة الوراثية حيث يتم استبدال النواة من البويضة غير المخصبة بنواة جديدة من اي خلية جسدية لأي كائن حي يمتلك نفس العدد من الكروموسومات الموجودة في البويضة غير المخصبة ، وبذلك تصبح هذه البويضة شبيهة بالبويضة المخصبة وتبدا في الانقسام فيما عدا ان اوامرها تأتي من النواة الجديدة . و تواجه هذه التقنية صعوبات عديدة منها : صعوبة اجراء عملية الاستنساخ على الخلايا الناضجة لأنها قد تخصصت بالفعل جينيا ، وصعوبة الحصول على الوسط الحيوي المتوافق وراثيا مع الاطقم الوراثية المخزنة بالنواة ،

وصعوبة ايجاد وسط يسكن الخلية البويضة ان تستقر فيه ، و قد امكن استنساخ الماعز و الضفادع و الفئران و الأرانب و الجاسوس الأبيض.

5- يمكن عن طريق الإخصاب بواسطة تقنية انابيب الاختبار Invitro (fertilization (VF تحسين السلالات و الحصول على أجناس اكثر صحة وانتاجا للحوم و الألبان.

تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال البيئة في مجال التنوع الحيوي:

اسكن عن طريق مزارع الأنسجة النباتية اعادة تشجير الغابات و المحافظة على نوعيات النباتات البرية التي تعتبر مصدر ثمين للجينات و المفيدة في الإبقاء على التنوع الحيوي . كما امكن استخدام الاستنساخ الحيواني في اكثار الحيوانات و الطيور النادرة المهددة بالانقراض و هي الأمر البري ، و وحيد القرن الأفريقي ، و الظبي الأسيوي ، و الدب الأسود الاسيوي ، والدب الأسود الأمريكي ، و السلحفاة المصرية ، و البندا الصيني و الببغاء الأحمر الأسترالي ، و البغاء الاندونيسي الملون.

- **مجال التلوث :**

١ - التلوث البترولي تدخل مشتقات البترول في عديد من الصناعات مثل صناعة البلاستيك و المطاط الصناعي والالياف الصناعية و المخلفات الصناعية و المبيدات و الأصباغ و الزيوت. كما ان البترول مصدر هام للطاقة ولكن هذه المواد البترولية سواد لا تتكيف معها البينة و لا تتحلل بسهولة فتسبب تلوث البيئة ، ولقد أدى تسرب البترول الى مياه المحيطات والبحار الى حدوث تلوث ضخم في البيئة البحرية وباستخدام التقنيات الحيوية امكن تخليق بكتيريا قادرة على تحمل السمية الحادة لمثل هذه المركبات البترولية و التهامها عن طريق تهجين ثلاثة أنواع من البكتيريا . كما أمكن استخدام سلالات من الفطريات التي لها قدرات عالية على الانتشار الأفقي في رفع قدرتها على هضم العديد بل معظم المركبات البترولية المعقدة مثل الشموع و التي لا تذوب في مياه البحار والمحيطات.

2 - المواد البلاستيكية: أن مادة الفثالات Phthalates و التي تشتق من الحمل العضوي التثاليك تدخل إلى الجسم عن طريق الغذاء والماء والدواء والهواء وتحدث تلوث تراكمي يزداد ليسبب تلوث الأعضاء الداخلية للكائن الحي . كما اتمر هذه المواد من العبوات المغلفة للمواد الغذائية عبر الجلد مذابة في الدهون الغذائية . كما أن البلاستيك أحد النفايات التي تلقى في البحار مما يصيب الأسماك ويؤدي الى موتها كذلك الشعاب المرجانية و الطحالب والحيوانات البحرية الدقيقة . وقد تمكن بالهندسة الوراثية انتاج مادة تحل محل البلاستيك عن طريق سلالة بكتيرية لها القدرة الفائقة على تحويل السكر الي بولي استر بكتيري يشبه في صفاته مادة البلاستيك الى حد كبير.

٣ - الصرف الصحي هو من المصادر الملوثة للبيئة نظرا لاحتوائه على مواد عضوية و غير عضوية و شوائب يصعب التخلص منها بالتنقية البيولوجية و عن طريق التكنولوجيا الحيوية امكن تربية سلالات من البكتريا تنمو بغزارة في مياه المجاري حيث تعتمد في غذائها على المواد العضوية الغنية بها المجاري . ويمكن استخدام الماء الصالح بهذه الطريقة في اغراض الري والزراعة و لكن لا يمكن استخدامها كمياه للشرب . و مع تحسين خواص هذه البكتيريا امكن زيادة قدرتها على التهام الفضلات .

4- المبيدات : هي مواد كيميائية سامة تستخدم المقاومة الآفات الزراعية التي تهاجم المحاصيل الهامة وهي تشمل مواد عضوية و اخرى غير عضوية ملل مادة DDT و مع استمرار استخدامها تتولد مقاومة لدى الآفات لها مما يضعف أو يبطل مفعولها ، كما انها تلوث التربة و الماء و الهواء المحيط بها . وقد تمكن بعض العلماء من برمجة بعض السلالات البكتيرية والتغيير في جمالها الوراثية لتنتج بروتين ذو شكل فراغي

د. محمد عبد الغفور محمد

محمد يسمح تركيبة الفراغي باحتواء جزيئات المبيد في داخله و يغلفه ويمنعه من التداخل مع البيئة المحيطة ، كما امكن استنباط سلالات نباتية مقاومة للآفات الزراعية مثل النيماتودا وفطريات الجذور والحفار.

5 - الأسمدة الزراعية تستخدم عادة الأسمدة الفوسفاتية و مركبات الفترات القيادة الانتاجية الأفقية للفدان الزراعي و مواد الأسمدة تتسرب مع الغذاء الى جسم الكائنات الحية التي بوصولها للدم تتفاعل مع الهيموجلوبين وتعوق قدرته على نقل الأكسجين كما تسبب بعض مركباتها السرطان ، وامكن الأن باستخدام الأسمدة العضوية تحسين صفات التربة و تلافي اخطار الأسمدة الكيميائية و ذلك عن طريق جمع المصادر العضوية الطبيعية و تهيئة بيئة لاهوائية الميكروبات التي تهضم المواد العضوية و تكون مادة تصلح كسماد عضوي.

6 - المنظفات الصناعية هي مواد كيميائية تدخل في كثير من الصناعات مثل صناعة الورق و المنسوجات و المبيدات وعمليات الصياغة و صناعة الجلود و البلاستيك و التعدين . وهي لها اثار ضارة على البيئة فهي تسبب السرطان او تسبب ذوبان الطبقة الشمعية التي تكسر ريش الطيور المائية مما يؤدي الى اغرقها ، كما انها تحدث خلل بيولوجي للإسماك و تفقدها القدرة على ترشيح الماء لاستخلاص الطعام . ولتلافي اخطار المنظفات الصناعية تستخدم الكائنات الدقيقة المحورة وراثيا في انتاج انزيم الليبيز الذي يعمل على كسر الروابط المحبة للذوبان في الدهون و لا تذوب في الماء ثم يجفف و ينقي و يستخدم كمنظف.

7 - القمامة يهتم العالم بإيجاد حل لمشكلة تراكم القمامة و تحسين طرق التخلص منها عن طريق جمعها و فرزها الى عناصرها المتشابهة و تصنيفها و اعادة تصنيع المواد المكونة لها فيما يسمى بإعادة استهلاك المخلفات Recycling Material وفي مجال التقنيات الحيوية تمكن العلماء من استنباط بعض انواع من البكتيريا و الطحالب المائية التي لها قدرة على التغذية على المواد العضوية الموجودة بالقمامة ثم يتم تخفيفها واستخدامها كسماد التربة الحدائق العامة . و يمكن انتاج الورق و الوقود و الطوب المفرغ و السماد العضوي و الحديد من القمامة ايضا بمعالجات متباينة.

8 - المعادن الثقيلة و النظائر المشعة يمكن ازالتها من البيئة عن طريق استخدام أحد جينات الفار Mellallotionein والذي يعبر عنه في بكتيريا سيانو Cyanolacteria وهو جين يمتاز بقوة مسكه للمعادن ويمكن ازاله واستعادة المعادن الثقيلة من المياه الملوثة - تلوث الغذاء : تستخدم تقنيات التكنولوجيا الحيوية في مراقبة المزارع و الحيوانات قبل و بعد ذبحها و اثناء التداول و داخل المطاعم لتحديد نسبة الجراثيم الموجودة عن طريق مجس DNA و RNA و تفاعل PCR و الذي يكشف عن أي عدد من الجراثيم بسرعة و دقة للوقاية من الأمراض ، و المستخدم طرق تحليل بسيطة للتعرف على فساد الأغذية باستخدام عصما مغطاة بمضاد حيوي لجرثومة معينة تغمس في الغذاء المشكوك فيه و توضع بعد ذلك في محلول يعطي لونا خاص بالجرثومة موضع الاختبار

تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال الصناعة:

١ - انتاج زيت الكانولا من أحد نباتات الحشائش باستخدام الهندسة الوراثية ، و هو زيت يحتوي على دهون مشبعة للمحافظة على صحة القلب ، كما يحتوي حمض لوريك الذي يصلح كمنظف صناعي، وبه حمض ستريك الذي لا يحتاج الى هدرجة و يصلح لصناعة المارجرين.

٢ - انتاج الأدوية و البروتينات و الأنزيمات باستخدام الكائنات الحية الدقيقة و النباتات و الحيوانات.

٣ - انتاج مادة مشابهة للبلاستيك تسمى Polyliydroxy Butyrate وهذه المادة تتحول إلى بلاستيك باستخدام بكتيريا تحتوى جين PHB حيث يمكن أن تنتج هذه المادة بطريقة اقتصادية على بينة غذائية من الجولكوز وخالية من النيتروجين ، كما تمكن العلماء من الخال هذا الجين الى البطاطس و الذرة.

4 - انتاج لقاحات و فاكسينات.

5 . انتاج الهرمونات والببتيدات .

6- انتاج الصبغات الطبيعية و مكسبات الطعم و الرائحة للصناعات الغذائية.

- تستخدم البكتيريا في غسيل المعادن مثل النحاس واستخراجه من الأحجار التي تحتوي على كميات قليلة منه ، و توجد هذه البكتيريا في الطبيعة و في المركبات المحتوية كبريت و تحصل على الطاقة الازمة لنموها بأكسدة النحاس مثل كبريتات النحاس و ينطلق تبعا لذلك حمض و ايون حديد مؤكسد و الذي يؤدي الى غسل المعين من الأحجار - تستخدم نبات الدخان في تصنيع القران و هر نوع من النشا الذي يتحلل بفعل الانزيمات الى سكر فركتوز و الذي يستخدم في انتاج اغذية صحية تعطى سعرات حرارية منخفضة ويتم ذلك عن طريق الخال جين B Sac ما خوذ من بكتيريا *Bacillus subtitis* .

- **تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال الطاقة**:

1 - امكن تحسين الأعلاف و زيادة كفاءتها بعد تمكن العلماء من الحصول على انزيم فايتيز من الفطر اسبرجلاس نيجر *Aspergillus niger* و هذا الانزيم يساعد على تلافي مجموعة من المشكلات التي تقلل كفاءة العلف مثل عدم قدرة الحيوان على هضم العلف لتاثير بعض المركبات التي تنتج اثر عصبي على الحيوان او قد تحدث أمراض او تقلل من وضع البيض في الدواجن . كما امكن انتاج ذرة محورة وراثياً غنية في محتواها من الحمض الأميني ميثايونين MIethioline والمقاوم للانبات الذرة مما يزيد من كفائته كعلف.
٢ - امكن انتاج الطاقة من الكتلة الحيوية متمثلة في المحاصيل المنتجة للطاقة مثل قصب السكر و الكاسافا أو من المخلفات العضوية الذي يمكن معالجتهم بالخمائر و الاستفادة من نشاط انزيمات الخميرة فعملية التخمر الحادثة الانتاج الكحولات مثل غاز الميثان و الايثانول ٣ - اسكن انتاج البيوغاز و هو عبارة عن خليط من غاز الميثان وثاني اكسيد الكربون و غازات اخرى مثل كبريتيد الهيدروجين وغير سام عديم الرائحة و اخف من الهواء ذو شعلة نظيفة زرقاء تستخدم كوقود . و قد أمكن انتاجه من المصادر العضوية الطبيعية بمعالجتها بالميكروبات في بيئة لا هوائية.

تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال الطب والعلاج مجال انتاج الأدوية :

تستخدم التكنولوجيا الحيوية لإنتاج العديد من الأدوية واللقاحات و المضادات الحيوية و من أمثلة ذلك - تستخدم الأبقار في انتاج الاجسام المضادة عن طريق حقنها بالأنتيجين المراد الحصول على الجسم المضاد ضده ، فتقوم الأبقار بإنتاج المضاد الحيوي بكميات كبيرة في ليلها ثم يتم تركيزه ويباع كدواء ، كما يتم انتاج ابقار محورة وراثيا الانتاج الأدوية الحيوية في اللبن . كما تستخدم الأبقار لإنتاج لبن الأم عن طريق التلقيح الصناعي لأجنة الأبقار حتى تستطيع انتاج بروتين ليكتوفرين.
٢ - يمكن انتاج بروتين ج اللازم لعلاج الذبحة الصدرية عن طريق استخلاص الجين الخاص به ووضعه في خلية واحدة من جنين الخنزير مع جين اخر من النار ليعمل كمفتاح لإفراز اللبن المحتوى على البروتين المعالج.
٣ - امكن انتاج أجسام مضادة ضد مرض السرطان في بذرة الذرة وفول الصويا بدلا من انتاجها في خلايا الحيوان مما يوفر في التكاليف و يزيد من الانتاج .

4- تستخدم دودة الحرير كوسيلة لإنتاج البروتينات . و عن طريق الباكيلو فيروس يمكن الخال جين يفرز في الهيموليمف ليعبر عن نفسه منتجا البروتينات المرغوبة 0

5. تستخدم تقنية DNA معاد الاتحاد في انتاج بروتينات مفيدة على النطاق التجاري و منها الأنسولين الازم لعلاج مرض السكر ، والانترفيرونات البشرية وهي بروتينات تعمل على تضاعف الفيروسات خاصة تلك التي يتكون محتواها الجيني من RNA مثل فيروس الإنفلونزا و شلل الأطفال مجال تشخيص الأمراض : تمكن العلماء من وضع مليون قطعة DNA للإنسان على قطعة سيليكون صغيرة حجمها لا يتعدى واحد و ربع سنتيمتر مربع وذلك بهدف الإسراع في تشخيص وعلاج الأمراض في الإنسان حيث تحتوي على مليون معلومة عن جينات الانسان ، و حينما يوضع عليها عينة من دم المريض و تعرض لجهال افحص الليزر فان الكمبيوتر يصدر تقرير بالتشخيص ، ويستخدم هذا الجهاز في التشخيص مرضى السرطان و الايدز كما يمكن باستخدام التكنولوجيا الحيوية تشخيص الأمراض الوراثية قبل أو بعد الميلاد . كما يمكن تشخيص الأمراض المعدية مثل الالتهاب الكبد الوبائي مجال العلاج الجيني : يعني عمليي ادخال او نقل جينات سليمة الى خلايا جسدية للحصول على وظيفة جينية غير موجودة اما بسبب مرض وراثي او مرض مكتسب ويهدف العلاج الجيني إلى التخلص من اثار المواد الكيميائية التي قد تؤدي الى اتلاف بعض الجزيئات الخلوية أو الى تثبيط البروتوبلازم و هذا يؤدي إلى ضعف حيوية الخلية و تراكم المواد التالفة بها مما يؤدى الى اصابتها بشيخوخة مبكرة و يلزم للتدخل الجراحي الجيني وجود خريطة كاملة لكل جينات الانسان لفهم تركيب تلك الجينات و ادائها الوظيفي و علاقتها بغيرها من الجينات في المحتوى الجيني ، وذلك بهدف سهولة التعرف على الجينات المعطوبة و محاولة اصلاحها او ازالتها . ويتم العلاج الجيني باستخدام مجموعة من الأساليب و هي كالتالي:

1 - اضافة جين سليم الى الخلية المعدية وراثيا لإعادة نشاط الجن المشوه الى مستوى كاف لازالة اثر المرض.

٢ - استبدال او اصلاح جين معيب عن طريق قلع الجين المعيبة ثم اصلاحه و هي من العمليات الصعبة.

3 - تصميم وظائف جينية جديدة عن طريق تقل جين جديد الى الخلية المريضة لكي يمنع حدوث نقص في وظيفة بيولوجية محددة او ازالة الأثر المرضى اللجين المعيب.

٤ - تغيير نظام تعبير الجين عن طريق نقل منظمات الجينات بهدف تغيير مستويات نشاط الجين ووقف او تقليل نشاط الجين المعيب الى مستوى يمنع أو يقلل من ظهور المرض ويتم نقل الجينات مباشرة الى الخلية او عن طريق الفيروسات . و مازال العلاج الجيني مقصور على مستوى الخلية الجسدية و لم يتم على مستوى الخلية الجنسية بعد . و يتم العلاج باستخدام احدى الطرق الاتية:

١ - يتم عزل الخلايا المريضة ثم زراعتها ثم ينقل اليها الجين المرغوب فيه لم تعاد مرة أخرى الى المريض

٢ - يتم نقل الجين المرغوب فيه الى الخلايا المريضة وهي في مكانها داخل الجسم و ذلك باستخدام ناقلات الجين التي لها القدرة على توجيه الجينات الى أماكن محددة داخل الجسم.

٣ - يتم نقل الجين المرغوب فيه الى الخلايا المريضة عن طريق الاستنشاق من خلال جهاز خاص و تستخدم هذه الطريقة فقط في علاج تليفات الرئتين . وقد قام العلماء بجهود كثيرة في علاج بعض الأمراض الخطيرة علاجا جينيا و من أمثلة هذه الأمراض السرطان و امراض تجلط الدم و الانيميا و أمراض القلب او السكتات المخية و امراض الجهاز المناعي و امراض الفشل الكلوي.

تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال الجينات البشرية:

1 . اطفال الانابيب : يقصد بها انتاج اطفال مخصبة خارج الرحم - In - Vitro Fertilization عن طريق اخراج بويضة ناضجة من الانثى و تخصيبها بحيوان منوي من الذكر في انبوبة اختبار تحتوي على وسط

غذائي مناسب و بعد فترة من التكوين الجنيني يصل فيها الجنين الى عدد قليل من الخلايا ينقل الى رحم الأم لاستكمال التكوين الجنيني حتى الولادة و قد ولد اول طفل انابيب عام ١٩٧٨ في انجلترا.

2 ـ الاستنساخ البشري هو احد صور التضاعف اللاجنسي و يتم باستخدام الأخصاب الذاتي عن طريق اخذ رقعة جلد من الرجل و تنزع احدى خلاياها بحرص شديد وهي خلايا جسدية تحتوي على 46 كروموسوم ، ثم يرفع من الخلية الجهاز الوراثي و هو النواة الحاملة للكروموسومات وشريط الموروثات الجنسية و تغرز في بويضة اللي مفرغة من النواة و اخيرا تزرع بما فيها من موروثات في رحم امرأة متطوعة حتى اكتمال أشهر الحمل التسع يولد طفل له نفس الخصائص الوراثية كما يمكن ايضا استنساخ الأجنة البشرية كمحاكاة لعملية التزام عن طريق شطر خلايا الجنين الأولية الى عدة نسخ تعامل كل واحدة منها على الها جلين مستقل و يمكن حفظها في الثلاجة الحين الاحتياج اليها.

٣ ـ انتاج قطع غيار الأعضاء البشرية تستخدم بعض الحيوانات لإنتاج قطع غيار الاعضاء بشرية مثل تصنيع الدم البشرى . ويتكون الدم من مكونان أساسيان هما الخلايا الحمراء و البيضاء والصفائح الدموية و سائل البلازما و تصنيع الدم يعني بالضرورة فصل و تصنيع مشتقات البلازما التي تفصل و تحضر من دم المتبرعين هي المادة الخام الأولية التي تبدأ منها عملية التصنيع . ويتم انتاج الدم باستخدام نوع نادر من الخنازير المعدلة وراثيا الذي انتجه فريق من الباحثين اليابانين بجامعة ناجويا Nagoya و ذلك بحقن جين بشري معين في بويضات خنازير ملقحة ثم نقل البويضات الملقحة الى ارحام اناث الخنازير الذي تلد مجموعة من الخنازير ويكون واحد منها فقط تحتوى دماؤه على نوع من الدم البشري ، الذي يتحول الى مصنع لإنتاج الدم في المستقبل كما اعلن احد العلماء الفرنسين عام ١٩٩٧ عن نقل الجين البشري الفا و بيتا جلوبين الى كلوروبلاست خلايا نبات التبغ والحصول على النبات الكامل و امكان عزل الهيموجلوبين وتنقيته من بذور وجذور النبات . كما يستخدم الخنزير ايضا كمصدر لأعضاء مثل الكلية والقلب والكيد بعد تحويره وراثيا بحقن DNA الانسان في بيضة مخصبة للحيوان ، ثم تزرع في رحم الحيوان حتى يتكون جنين ثم حيوان كامل خلال أربعة أشهر وبتوالي الأجيال فان الاعضاء الناتجة في هذا الحيوان لا يتوقع رفضها بواسطة الجهاز المناعي

4- مشروع الجينوم البشري بهدف مشروع الجينوم البشري الى رسم خريطة | كاملة لكل جينات الانسان ، و قد تم توزيع الجينات على العديد من المراكز البحثية الدولية المتخصصة في الهندسة الوراثية و سيوفر هذا الانسان معرفة الجين المراد اصلاح عيوبه بسهولة أو ادخال جينات ذات صفات مرغوبة عن طريق تقنيات التطعيم الجيني ، و كما يمكن ادخال العديد من القطع الجينية الى داخل جينوم الخلية الجسمية لزيادة قدراتها الحيوية ، بما يسمح لها بداء وظائفها بكفاءة أعلى و اداء وظائف جديدة لم تكن موجودة من قبل او ازالة مواد ضارة بالخلية باستئصال الجينات الموجهة لتلك المواد . و قد بدا المشروع رسميا في الولايات المتحدة الأمريكية عام ١٩٩٠ و انضمت لها انجلترا وفرنسا وايطاليا واليابان . والمهمة الأساسية لهذا المشروع هي سلسلة الثلاثة الاف مليون نيوكليوتيدة التي تشكل المادة الوراثية البشرية و تحديد هوية المائة الف جين أو نحوها الموجودة بالجينوم البشري وتحصين وتطوير تقنيات السلسلة لتستفيد منها المجالات الأخرى من أوجه البيولوجيا كما تم خرطنة جينوم خمسة من الكائنات الحية الأخرى وهي بكتيريا *E . coli* والخميرة ونيماتودا سينور أبديس Caeiorliabilis و ذبابة الفاكهة الدوروسوفيلا و الفار . وقد تم كشف جينومات هذه الكائنات النموذج في المقارنة والتعرف على الوظيفة المحتملة لبعض الجينات البشرية.

٥ ـ جينوميا الجريمة ، نظرا لأن هناك بعض الأشخاص لديهم الاستعداد الوراثي الارتكاب الجرائم فانه يمكن معالجة ذلك عن طريق تقنيات جينية . و ذلك عن طريق تعديل السلوك الجيني العدواني ، أو خفض

معدل تعبيره عن ذاته عن طريق ادخال جينات معدلة لسلوك الجينات العدوانية او ادخال جينات كمون وراثي ، أو استبدال جينات السلوك العدواني بجينات سلوك منوي . كما تستخدم في انتاج اسلحة يمكن التحكم فيها من خلال البصمة الوراثية اي ان هذه الأسلحة لا يمكن استخدامها الا لصاحب البصمة الشخصية لصاحب رخصة السلاح . كما يتم استخدامها في الطب الشرعي باستخدام البصمة الجينية ، و يمكن تعيين البصمة الجينية لأي فرد عن طريق استخلاص DNA الخاص به من عينة من الدم في حالة اثبات البنوة او من عينة من الحيوان المنوي في حالة اثبات الاغتصاب أو من قطعة جلد من تحت الأظافر او شعيرات بجذورها من الجسم في حالة الوفاة بعد مقاومة ، أو من اي دم او سائل منوي مجمد او جاف موجود على مسرح الجريمة او من عينة لعاب ، كما يمكن استخلاصها من أماكن لمس اليد لمفاتيح أو تيليفون او اكواب و يتم استخلاص المادة الوراثية ثم تقطيعها باستخدام انزيمات التحديد ثم تفصل باستخدام جهاز الفصل الكهربائي ثم تنقل الى غشاء نايلون ثم باستخدام طرق خاصة يتم تعيين بصمة الجينات على فيلم اشعة و التي تستخدم كدليل جنائي في قضايا اثبات البنوة جرائم الاغتصاب و السطو و التعرف على ضحايا الكوارث.

د. محمد عبد الغفور محمد

التقنية الحيوية الزراعية:

تعاني كثير من دول العالم خاصة النامية منها من مشاكل عديدة يبرز في مقدمتها الجوع وسوء التغذية ، حيث قدرت منظمة الغذاء العالمية (FAO) عدد الجوعى في العالم في مطلع عام ٢٠٠٩ م بنحو ٩٩٣ مليون شخص إضافة إلى مليار شخص آخرين يعانون من سوء التغذية يعيش معظمهم في المناطق الريفية من البلدان النامية التي تعتمد على الزراعة بجميع قطاعاتها المختلفة بما في ذلك الصيد والرعي وتربية المواشي كمصدر رئيس للغذاء في كل من أفريقيا وجنوب شرق آسيا وأمريكا اللاتينية. كما يعزى تفاقم هذه المشاكل في تلك البلدان العدة أسباب منها: الازدياد المستمر في عدد سكان العالم إضافة إلى التغير المناخي السلبي المتمثل في زيادة الجفاف وشح وندرة مصادر المياه والأمطار الذي نجم عنه تقلص مساحات الأراضي الزراعية وانخفاض إنتاجية وجودة المحاصيل الزراعية المختلفة في معظم الدول النامية، كما حدث مع البرازيل والأرجنتين وجنوب أفريقيا منذ أواخر التسعينات من القرن الماضي. الجدير بالذكر أن منظمة الغذاء العالمية سجلت نقصا في الإنتاجية العالمية للحبوب والخضروات والفواكه، ولا يزال العالم معرضا لأزمة غذاء حادة إذا لم يتحرك صناع القرار بشكل سريع في الوقت الذي تزداد فيه مشاكل التغير المناخي والاحتباس الحراري التي تزيد من تحديات القطاع الزراعي على مستوى الدول النامية . كانت أولى الخطوات العملية الفعَالة التي اتخذتها حكومات الدول النامية للخروج من المشاكل الغذائية والمناخية السالفة الذكر هو بذل كل الطرق العلمية اللازمة لزيادة إنتاجية المحاصيل الزراعية وجودتها وبخاصة الحبوب ، الرئيسة (الأرز والقمع والذرة ، إضافة إلى انتخاب سلالات حيوانية أكثر إنتاجية . أطلق على تلك المحاولات الناجحة بالثورة الخضراء التي حققت الأمن الغذائي الشعوب البلدان النامية وأحدثت تقدما ملموسا في أساليب الزراعة ومجال تطوير الكيماويات الزراعية كالمبيدات والأسمدة .

ظهرت الثورة الخضراء في الفترة من 1960 م إلى 1990 م ، إلا أنها تسببت بين الإخلال بالتوازن الحيوي للمحاصيل الزراعية التقليدية وهجرها على حساب المحاصيل المحسنة الجديدة . كما تسبب الاستخدام الواسع النطاق للمبيدات والمواد الكيميائية الزراعية الأخرى تدهور بيئي شديد كما عرض الصحة العامة للخطر، إضافة إلى ذلك فقد كانت النظم الزراعية في تلك الفترة تطلب استخدام الري على نطاق واسع، مما أدى إلى استنزاف كبير لموارد المياه في العالم.

تضافرت جهود العلماء وأرجاء عديدة من العالم البحث عن تقنيات بديلة يمكن أن تحدث تطور جوهري و ملموس في المجال الزراعي والغذائي دون الحاق الأضرار بالنظام البيئي والإنسان، ويتجلى ذلك في الثورة التقنية الحيوية (Biotechnology) التي لعبت دوراً أساسيا في زيادة كمية المحاصيل وتحسين جودتها، والتعرف على اسرار الكائن الحي عن طريق فلك ومعرفة رموز الشفرة الوراثية، ونقل المورثات (Genes) من كائن حي لآخر، مما ساهم كذلك في الحفاظ على الأنواع النباتية والحيوانية ذات الصفات المرغوبة وانتخابها . وتكمن تطبيقات التقنية الحيوية الزراعية في زراعة الأنسجة للتحسين النوعي والكمي، إضافة إلى تقنيات أخرى، مثل الإكثار الدقيق، زراعة الخلايا، زراعة الأعضاء والحفاظ على الأصول الوراثية وتوثيقها وتعريفها، مما أدى إلى تقدم هائل في المجال الزراعي.

مفهوم التقنية الحيوية الزراعية

يعد **علم التقنية الحيوية الزراعية** أحد أهم ميادين علم التقنية الحيوية التطبيقية المبني على دراسة خصائص المادة الوراثية للكائنات الحية النباتية والحيوانية، والاستفادة منها إنتاج أو تحوير او تطوير محاصيل نباتية أو منتجات حيوانية ذات قيمة وفائدة للبشرية ، وذلك عن طريق أحدث الوسائل العملية والتقنية والدراسات العلمية المتخصصة، كما تسمى هذه التقنية بالتغذية الحيوية الخضراء كونها متعلقة بالمجال الزراعي والثروة الحيوانية والنباتية. وقد سعت العديد من الدول ومقدمتها أوروبا والولايات المتحدة في النهوض بهذه التقنية ووضع الخطط الاستراتيجية القريبة والبعيدة المدى لخوض غمار هذه التقنية وتحصيل أكبر قدر من فوائدها.

يعود نشأة مفهوم التقنية الحيوية البدائية في المجال الزراعي العام 1864 م، عندما نجح العالم الفرنسي لويس باستير **(Louis pasteur)** بتطوير طريقة يمكن بواسطتها قتل البكتيريا الضارة الموجودة في الألبان والحليب بالتسخين والتي سميت بالبسترة (Fatsleturization). وساهم اكتشاف باستير في حفظ العديد من الأطعمة وسهولة نقلها بين البلدان دون أن تفسد كما قام العالم التساوي جريجور مندل **(Mendel)** العام 1865 م بدراسة الصفات الوراثية لنبات البازلاء واستنتج أن الصفات تنتقل من جيل إلى جيل، كما أجرى عمليات التهجين والانتخاب بين سلالتين مختلفة الصفات للحصول على سلالات ذات صفات مرغوبة.

كما قام العالم الأمريكي هنري والس في عام ١٩٢٩م بتطبيق نظريات مندل على بذور بعض المحاصيل النباتية والتهجين فيما بينها لتحسين جودة بعض الأصناف النباتية الغذائية وتسويقها تجارياً لأول مرة بالتعاون مع شركات الأغذية الرائدة في الولايات المتحدة.

كان لاكتشاف تركيب المادة الوراثية المتمثل في الحلزون المزدوج دوراً أساسياً ومهماً في مجال التقنية الحيوية وذلك عام١٩٥٣ م .بواسطة جيمس واطسون وفرانك كريك استمرت التقنية الحيوية الزراعية في التقدم والتطور، وفي عام 1994 م بدأت منظمة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) في اعتماد تسويق الأصناف الزراعية الغذائية، وكان أحد تلك الأصناف الطماطم الطازجة ذات العمر الطويل التي أنتجتها شركة فلا فرسافر (FlavrSaVT). والتي منحت المستهلكين طعما ألذ وامتازت ببقائها طازجة فترة أطول من الطماطم العادية. تلا ذلك تطوير ١٨ محصولا بطرق التقنية الحيوية الزراعية وتسويقها عام ١٩٩٧م والتي تم اعتمادها من الحكومة الأمريكية، ولا تزال البحوث والتجارب الزراعية قائمة ومستمرة لإنتاج المزيد من المحاصيل النباتية ذات القيمة الغذائية العالية وتسويقها.

تطور مفهوم التقنية الحيوية الزراعية بمرور السنوات حتى تداخلت معها فروع العلم المتخصصة الأخرى، مثل الكيمياء الحيوية، والأحياء الدقيقة وفسيولوجيا النبات والحيوان، والفيزياء الحيوية، بهدف إكثار الأنواع النباتية والحيوانية المرغوبة وتطويرها ودراسة مكوناتها العضوية والوراثية والكيميائية والاستفادة من ذلك في إنتاج أنواع مضاعفة جديدة تخدم الإنسان والكائنات الحية الأخرى، وتقاوم الظروف البيئية الصعبة.

أنواع التقنيات الحيوية الزراعية:

تنوعت أشكال التقنيات الحيوية الزراعية وتطورت بمرور السنوات منذ أواسط القرن الماضي، وتم تقسيم تلك التقنيات إلى نوعين باختلاف طريقة التعامل مع الخلايا النباتية أو الحيوانية، وذلك كما يلي:

1- زراعة الأنسجة والخلايا: ويستخدمان والإنتاج السريع المواد نباتية موحدة الصفات، وعالية الجودة، وخالية من الأمراض، بطريقة فعالة ومنخفضة التكلفة ؛ ويمكن بعد ذلك إكثار النباتات في أي بيئة أخرى في ظروف محكومة بصرف النظر عن موسم النمو والمناخ.

٢- تضخيم المادة الوراثية: وهي تقنية تستخدم المضاعفة الحمض النووي منقوص الأكسجين (DNA) للحصول على البصمات الوراثية التعريف بعض الأصناف والسلالات النباتية والحيوانية ودراسة العلاقات التطورية بينها. ويمكن استخدام نفس التقنية في تشخيص الميكروبات في الأغذية والأعلاف، ويتم إجراء هذه التقنية بجهازي الدوران الحراري والدوران الضوئي.

٣- الدلائل الجزيئية: وهي الحصول على نمط وراثي يميز النبات أو الحيوان. وتستخدم الدلائل الجزيئية بأشكال مختلفة في رسم العلاقات التطورية بين الأنواع النباتية أو الحيوانية ، كما يمكن استخدامها في الإسراع بعملية الانتخاب و عمليات التربية التقليدية والتحسين الوراثي.

4- إنزيمات القطع وتحديد المورثات المرغوبة: وهي إنزيمات متخصصة في قطع الدنا حيث تستخدم تلك الإنزيمات لن تقطيع الدنا ، وتسهل عزل بعض المورثات المرغوبة من مصادر نباتية لاستخدامها في التحوير الوراثي للحصول على صفات مرغوبة .

5- تطعيم الحمض النووي في الخلية: ويقصد به دمج مورثات من مصدرين مختلفين ، ويمكن تطبيقها في إنتاج محاصيل، أو حيوانات أو أسماك محورة وراثيا بإضافة عوامل وراثية أو صفات جديدة معينة، مثل مقاومة الأمراض .

6- الاستنساخ: يستخدم لإنتاج أعداد متطابقة وراثيا من الخلايا والأفراد في النباتات والحيوانات.

7- التحوير الوراثي: وهي عملية شائعة في النبات، ويحدث بنقل المورثات من نوع نباتي إلى آخره بهدف الحصول على صفات مرغوبة .

8- التلقيح الصناعي ونقل الأجنة: ويقصد بالتلقيح الصناعي نقل الحيوانات المنوية من الذكر إلى رحم الأنثى بعد حثها على التبويض باستخدام هرمونات محفزة .أما نقل الأجنة فيتم فيه إنتاج الأجنة خارج الرحم ، ويتبع ذلك انتخاب أفضلها ومن ثم نقلها للرحم حتى مرحلة الولادة، وهاتين الطريقتين تستخدمان قطاعي الثروة الحيوانية والأسماك للإسراع ببرامج التربية، وتشخيص الأمراض وإنتاج لقاحات عالية الكفاءة.

9- هندسة البروتينات: وتعتمد على مفهوم التحوير الوراثي من أجل إنتاج بروتينات محددة أو بروتينات جديدة، ويتم ذلك عن طريق تعديل تركيب البروتين بتغيير أو إزالة أو إضافة أحماض أمينية أو تعديل الشكل الفراغي للبروتين، ويتبع ذلك تفسير الوظيفة التي يقوم بها هذا البروتين، وهي تقنية لها تطبيقات مفيدة، مثل: الإنزيمات والمحفزات الحيوية (Biocatalysts) التي تسهل إتمام التفاعلات الكيميائية.

١٠ - تسلسل المادة الوراثية: وتعتمد على قراءة التقنية الزراعية تسلسل النيوكليوتيدات المكونة للمورثات، وبها تم إنجاز مشروع الجينوم البشري، وهي وسيلة للكشف عن الطفرات، وتشخيص بعض الأمراض الوراثية والبيئية.

أهم تطبيقات التقنية الحيوية الزراعية:

تركزت اهداف تطبيقات التقنية الحيوية الزراعية على تحسين الخصائص العامة للمحاصيل وجعلها مقاومة للعديد من الآفات سواء الحشرات أو المبيدات أو الظروف المناخية السيئة ، وذلك عن طريق نقل وإدخال مورث أو أكثر يعمل على تفعيل تلك الخصائص المحسنة أو التعديل على تلك المورثات بما يزيد من نشاط أو تثبيط مادة معينة الثبات، ومن أهم تلك التطبيقات ما يلي:

1-نباتات غير بقولية مثبتة للنيتروجين الجوي: تتم عن طريق عزل المورثات المسؤولة عن إفراز الإنزيمات المثبتة للنيتروجين الجوي وتحوله إلى نيتروجين عضوي-تلك المورثات موجودة في النباتات البقولية، مثل الفول والفاصوليا والعدل ومن ثم نقل تلك المورثات إلى نباتات الحبوب، مثل الذرة والقمح، والأرز، والشعير بحيث يمكن لهذه النباتات الاستغناء عن إضافة المواد السمادية النيتروجينية.

2- نباتات مقاومة للحشرات والأمراض والحشائش:

يعد إنتاجها ذو أهمية كبيرة في الحفاظ على البيئة وزيادة إنتاجية المحصول، وقد تم استخدام مورثات معزولة من البكتيريا (*Bacillus thuringiensis*) لإنتاج بروتينات فتاكة بالحشرات، حيث تحتوي على مورث ينتج بروتيناً ساماً يؤدي إلى تمزيق القناة الهضمية للحشرة، وقد نجحت تلك التجربة في إنتاج العديد من النباتات المقاومة للحشرات مثل: القطن، والذرة، والأرز، وفول الصويا، ولا تزال المساحات المزروعة من تلك المحاصيل في تزايد مستمر .

كما يعد إنتاج نباتات مقاومة المبيدات الحشائش باستخدام التقنية الحيوية أول تطبيق لهذه التقنية على النطاق التجاري، وتحتوي مبيدات الحشائش على مادة فوسفينوثريسين (Phosphinothricin) الذي يقتل النباتات بإعاقة الإنزيم المسؤول عن عملية تمثيل النيتروجين وإزالة سمية الأمونيا ، وتحتوي النباتات المقاومة المبيدات الحشائش على مورث بكتيري ينتج إنزيم يتخلص من سمية مادة الفوسفينوثريسين، ومن أشهر تلك النباتات التي تم تحويرها نبات فول الصويا، والقطن، والذرة . ومن الجدير بالذكر أن استخدام التقنية الحيوية أصبح مهما في مقاومة مختلف الأمراض، حيث نتجت محاصيل تحمل صفة المقاومة للأمراض الفيروسية أو البكتيرية أو الفطرية، ومثال ذلك المورث (Xa21) الذي منح نبات الأرز مقاومة مرض اللفحة البكتيرية.

٣ ـ نباتات مقاومة للظروف القاسية:

تتطلب توفر إمكانيات وتجهيزات وكفاءات عالية، وقد تم إنتاج نباتات كثيرة مقاومة للظروف البيئية القاسية، مثل: الحرارة المالية، والصقيع الجاف، والملوحة، والعناصر الثقيلة ومن تلك النباتات القمع، الشعير الذرة، فول الصويا، القطن، الطماطم.

4 -إنتاج البلاستيك :

حيث يتم عزل أو استنساخ المورثات المسؤولة عن إنتاج إنزيم يحث على تكوين بعض المركبات الأولية لإنتاج البلاستيك والموجود نبات (Arabalopsis)، ومن ثم نقله إلى المادة الوراثية للنبات المطلوب إنتاجه للبلاستيك.

5 - إنتاج ألياف حيوانية وبرية ذات متانة عالية:

يتم عن طريق عل المورثات المسؤولة عن إنتاج الخيوط المتينة الموجودة لدى العنكبوت، ومن ثم نقلها إلى الماعز لإنتاج خيوط وبرية ذات قوة ومتانة عالية (أقوى من الفولاذ - 50 مرة) ، لكن تطبيق هذه التجربة يتم على المستوى العملي فقط أما على المستوى التجاري يتطلب الكثير من العمل والجهد الضبط العديد من المتغيرات المتعلقة بإجراء التجربة للحصول على نتائج مشجعة.

6- إنتاج بروتين أحادي الخلية: يجب أن يمتاز بنسبة عالية من البروتين الخام والأحماض الأمينية المتوازنة ونسب منخفضة للأحماض الأمينية غير المرغوب فيها. ومن فوائد هذا البروتين رقع كفاءة الإنتاج الحيواني، واختزال مساحة الأراضي الزراعية المخصصة لإنتاج المحاصيل الأخرى.

٧ - نباتات أخرى ذات خصائص أخرى مهمة:

تتمثل فيما يلي:

1- زيادة الإنتاج كما ونوعا، مثل إنتاج الأرز الذهبي المحتوي على مورث والبيتا كاروتين، للتغلب على مشكلة نقص الحديد، كذلك إنتاج البطاطس ذات المحتوى العالي من النشأ.

2- تحسين خصائص الشكل واللون والطعم في الثمار والبذور، مثل: الطماطم، والتفاح، والفراولة.

3- تأخير نضج بعض الثمار وزيادة قدرة بعض النباتات لإعطاء إشارات عند نقص المياه أو بعض العناصر.

4- تطهير البيئة من المخلفات الكيميائية باستخدام بكتيريا محورة وراثياً لها القدرة على تشكيل المركبات المعقدة الضارة إلى مواد بسيطة غير ضارة .

5- استخدام النبات أو الحيوان كمفاعلات حيوية الإنتاج اللقاحات في ثمار بعض الفواكه وألبان الحيوان، ويتم فيها إدخال المورثات الخاصة بالفيروس المسبب لمرض شلل الأطفال مثلاً في الموز، أو إدخال مورثات تحسين إنتاج الألبان إلى الحيوان.

6- رفع إنتاجية الحيوان من اللحم واللين، بإدخال مورثات مسؤولة عن تقليل الدهون، ومن ثم زيادة كمية اللحم على حساب الدهون.

طبيعة المادة الوراثية في الكائنات الحية

الوحدة البنائية للكائن الحي:

يتكون جسم الكائن الحي في النبات والحيوان والإنسان من عدة أعضاء (Organs) وكل عضو يتكون من عدة أنسجة (Tissues)، وكل نسيج يتكون من عدة خلايا (Cells): وعليه فإن الخلية (Cell) هي وحدة التركيب والوظيفة في الكائن الحي. تحتوي الخلية بشكل عام على عدد من العضيات (Cell Organelles)، وهي عبارة عن تراكيب محددة توجد داخل خلية الكائن الحي تقوم بجميع الوظائف الحيوية التي تخصه. ومن أهم العضيات التي توجد فيها المادة الوراثية في الخلية الحيوانية والنباتية هي: النواة (Nucleus). يبلغ عدد الخلايا المكونة لجسم الكائن الحي ملايين أو بلايين الخلايا بجسمها بحسب نوع الكائن ويوجد منها نوعان، هما

1- الخلايا الجسدية (Somatic Cells)، ويطلق عليها كذلك الخلايا الجسمية حيث تمثل كافة أنواع الخلايا الجسم فيما عدا الحيامن (الخصيتين) في الرجل، والمبيض في رحم المرأة، وكذلك الأسدية (Statens)، و المبيض في النبات، تحتوي نواة الخلية الجسدية على العدد الكامل من الصبغيات (Chromosomes) في صورة زوجية (Diploid)، حيث يوجد في نواة الخلية الجسدية للإنسان على سبيل المثال 46 صبغي (٢٣ زوج).

٢ - الخلايا الجنسية أو التناسلية (Germ Cells): وهي عبارة عن وحدات التكاثر الجنسي في الكائن الحي، مثل: البويضة في المرأة والحيوان المنوي في الرجل. وتحتوي نواة الخلية التناسلية على نصف عدد الصبغيات في صورة فردية (Haploid)، حيث يوجد في نواة الخلية التناسلية للإنسان ٢٣ صيفي فقط ، وبذلك يتجلى إبداع الخالق سبحانه وتعالى حين ينتج العدد الكامل من الصبغيات مرة أخرى بتزاوج الأمشاج المذكرة مع المؤنثة. وهي وسيلة للمحافظة على النوع عبر الأجيال المتعاقبة.

النواة : تعد النواة البنك المركزي للمعلومات الوراثية في الخلية، وتتوزع المعلومات الوراثية على عدد من التراكيب داخل النواة تسمى الكروموسومات والتي تمثل الوحدات الحاملة للصفات الوراثية في الكائن الحي. ومن الناحية الشكلية يتكون الكروموسوم من كروماتيدتين (Chromatids) يرتبطان عن طريق السنترومير (Centromere)، أما من الناحية الكيميائية فإن الكروموسوم يتكون من الحمض النووي منقوص الأكسجين DNA (Deoxyribonucleic Acid) وبروتين.

المادة الوراثية Genetic Material

اثبتت الدراسات العلمية أن الأحماض النووية هي المادة الوراثية في الخلية والمسئولة عن نقل الصفات الوراثية عبر الأجيال المتابعة لجميع الكائنات الحية . وهناك ادلة كثيرة على ذلك و من الدلائل النظرية أن الأحماض النووية في المركبات البيو-كيميائية الوحيدة التي لا تتحول الى مركبات اخرى اثناء عمليات الأيض، كما أن كمية الأحماض النووية الموجودة في خلايا الكائن الواحد ثابتة ، و أن الخلايا الجسدية تحتوي على اضف محتوى الخلايا التناسلية منها واثبت العلماء ان DNA هو المادة الوراثية المعظم الكائنات الحية ويمثل RNA المادة الوراثية في بعض الفيروسات. ومن الدلائل العملية لإثبات آن DNA هو المادة الوراثية الأساسية للكائنات

الحية ما قام به العالم كريفث عام ١٩٢٨ من حقن مجموعة من الفئران بخلايا بكتيريا غير مميتة حية ممزوجة مع خلايا بكتيريا مميتة غير حية ادى الى وفاة بعض الفئران مما دل على انتقال المادة الوراثية للبكتيريا المميتة الى المادة الوراثية للبكتيريا غير المميتة مما غير من خصائصها الوراثية. كما قام العالم أفري عام 1944 بالتعرف على المادة الوراثية ضمن مكونات البكتيريا الميتة وهى دهون وكربوهيدرات وبروتينات وDNA و RNA والتي قام بتجزئتها الى مكوناتها ثم خلطها مع بكتيريا غير مميتة ثم قام بحقن الفئران بها فلاحظ موت الفئران التي حقنت بالحمض النووي DNA مما اثبت ان DNA هو المادة الوراثية التي نقلت الصفة المميتة الفئران وتتميز المادة الوراثية بقدرتها على تخزين المعلومات الوراثية ونقل هذه المعلومات بدقة الى الآباء الى الأبناء جيلا بعد جيل كما انها تتميز بدقة التعبير عن نفسها في الوقت والمكان المناسب مما يسمح بتطور تكوين الشكل الظاهري الكائن الحي من الزيكوت وحيد الخلية الى الكائن الكامل البالغ ويمكن تلخيص صفات المادة الوراثية في الاتي:

1. الثبات كي تحافظ المادة الوراثية على صفات النوع.

٢ . المقدرة على التضاعف الذاتي لكي تنتقل من خلية الى خلية ثم من جيل إلى جيل عبر الأجيال المختلفة.

٣ . المقدرة على تخزين المعلومات الوراثية في صورة مادة كيميائية هي DNA المقدرة على ترجمة هذه المعلومات المخزنة لتوين البروتينات هو القابلية للتغير الوراثي المسئول عن التنوع والاختلاف في الكائنات الحية .

تقسم الكائنات الحية على حسب وجود الكروموسومات داخل النواة من عدمه إلى:

1- كائنات حقيقيات النواة (Eukaryotes): وهي مجموعة الكائنات الحية التي توجد كروموسوماتها داخل النواة ويحيطها غلاف نووي ، وتشمل النباتات الراقية والحيوان والإنسان .

٢- كائنات أوليات النواة (Prokaryotes): وهي مجموعة الكائنات الحية التي توجد كروموسوماتها حرة في سيتوبلازم الخلية، أي لا يفصلها عنه غلاف نووي، ومنها البكتريا (Bacteria)، والطحالب الخضراء المزرقة (Blue Green Algae).

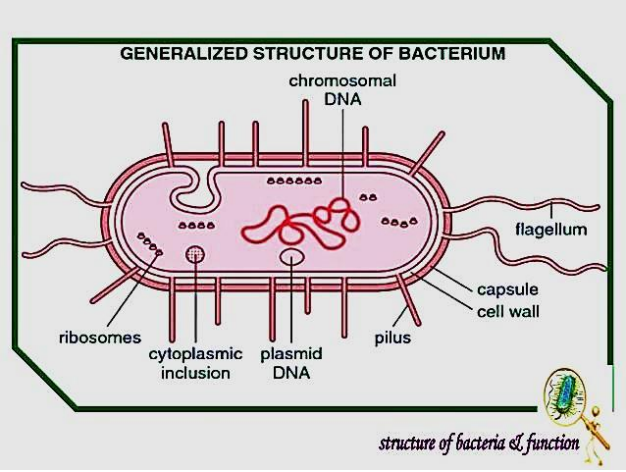
تركيب المادة الوراثية في الكائنات بدائية النواة Prokaryotes

تشمل البكتريا Bacteria والطحالب الخضراء المزرقة Blue green algae حيث تفتقر هذه الكائنات الى الغلاف النووي كما تكون مادتها الوراثية من كروموسوم منفرد Haploid يتكون من جزيئة DNA دائرية التي يكون موقعها في المجال النووي Nucleoid (نيوكليود). يعتقد من الناحية التطورية أن الكائنات بدائية النواة تُعد اسلاف الكائنات حقيبة النواة.

أن المادة الوراثية للخلايا بدائية النواة Prokaryotic cells والمتمثلة بالحامض النووي DNA المسؤول عن خزن المعلومات الوراثية ونقلها تكون موزعة في بروتوبلازم الخلية المسمى Nucleoplasm وهي غير مفصولة بنظام غشائي عن السايتوبلازم ، وتترتب بدرجة عالية من الالتفاف Supercoiled الذي يعتمد على نوع البروتين والحامض النووي أو كلاهما، ويعتقد اشتراك التلافيف الفائقة في عمليات الاتحادات الجديدة Recombination والتعبير الجيني Gene expression وتنظيمه. فمن خلال توسط ملتهمات البكتريا Bacteriophage في الاتحادات الجديدة يمكن الاستعاضة عن حلقات معينة من المادة الوراثية في البكتريا

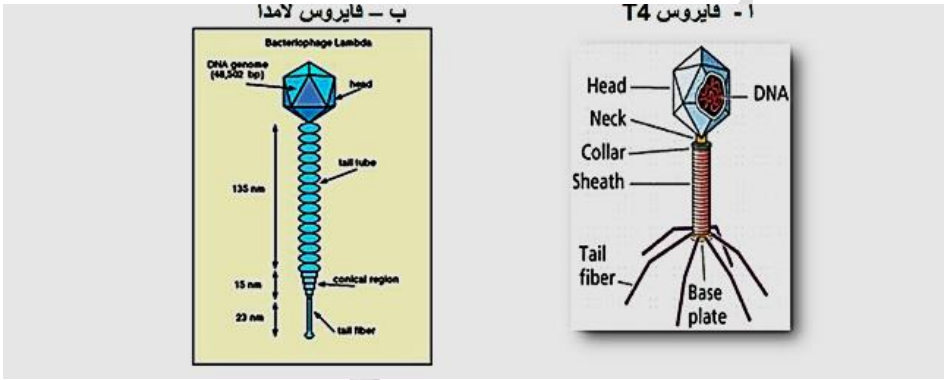
وبذلك يمكن الحصول على التحول البكتيري Transformation والذي يتم خلاله إدخال DNA عاري مثل البلازميد Plasmid ضمن خلية محولة والمحافظة على ذلك التحول. وتستعمل غشاء البلازما plasma lemma والتراكيب النامية منه لإنجاز معظم الوظائف الحيوية دون تجزئة هذه الوظائف الى عمليات صغرى . فمثلاً العمليات الحيوية المتعلقة بالتنفس والتركيب الضوئي تحدث في الأغشية المتصلة بالغشاء الخلوي (غشاء البلازما) إن حجم خلية البكتريا يقارب (2-4) مايكرون أي بقدر حجم المايتوكوندريا في الخلايا النباتية والحيوانية، يتميز فيها مناطق نووية خفيفة Nucleoid والمتمثلة بالكروموسوم وهو جزينة من الـ DNA الدائرية المفردة وتحتوي على جميع المعلومات الوراثية للبكتيريا. أن المعلومات الوراثية الموجودة في الـ DNA للبكتريا كافية لتشفير وبناء 2000 - 3000 نوع من البروتينات. فضلاً عن وجود الكروموسوم فان قسماً من البكتريا التي تولد مقاومة للمضادات تحتوي على DNA حلقي (او دائري صغير تسمى البلازميدات Plasmids وهي مادة وراثية بشكل جزيئات من الـ DNA تكون خارج الكروموسوم الرئيسي ، وباستطاعتها التكرار الذاتي Replicon بصورة مستقلة ، وتعد أغلب البلازميدات غير ضرورية لبقاء الخلية التي تتواجد فيها لكن وجودها ضروري في العديد من الحالات وجود المضادات الحيوية (بمعنى آخر تعد كروموسومات إضافية صغيرة يمكن عزلها وإعادة دمجها مرة ثانية) . وهناك ثلاثة أشكال من البلازميدات البكتيرية هي :

1 - بلازميدات عوامل الخصوبة .2 - بلازميدات مقاومة المضادات الحيوية .3 - بلازميدات الكوليسين والبكتريوسين . وفضلا عن ما ذكرناه من عوامل وراثية في البكتريا هناك عناصر وراثية تستطيع التكرار بأحد الطريقتين التاليتين - أولاً - بشكلها المتكامل مع الكروموسوم البكتيري الرئيسي .ثانيا .بشكل عناصر وراثية مستقلة عن الكروموسوم الرئيسي يطلق على هذه العناصر الوراثية Episomes ومنها عناصر تواليات الاقحام Insertion Sequences Elements (IS elements) وهي تواليت قصيرة من الحامض النووي DNA تتوسط الكروموسوم الرئيسي للاتحادات الجديدة التي تحصل بين العناصر الوراثية غير المتماثلة وعناصر Transposon elements منها العناصر المسؤولة عن إحداث الورم (Tumor - inducing Ti element elements) للبكتريا *Agrobactrium tumefaciens* وقد أمكن استخدامها في إدخال جينات جديدة ومن ثم نقلها داخل الخلية النباتية .لذلك فهي عناصر وراثية تشارك في ترتيب جينوم الكائن الحي وتساهم في حذف ودمج المتضاعفات وتستعمل بكثرة في الهندسة الوراثية.



Viruses (الرواشح)

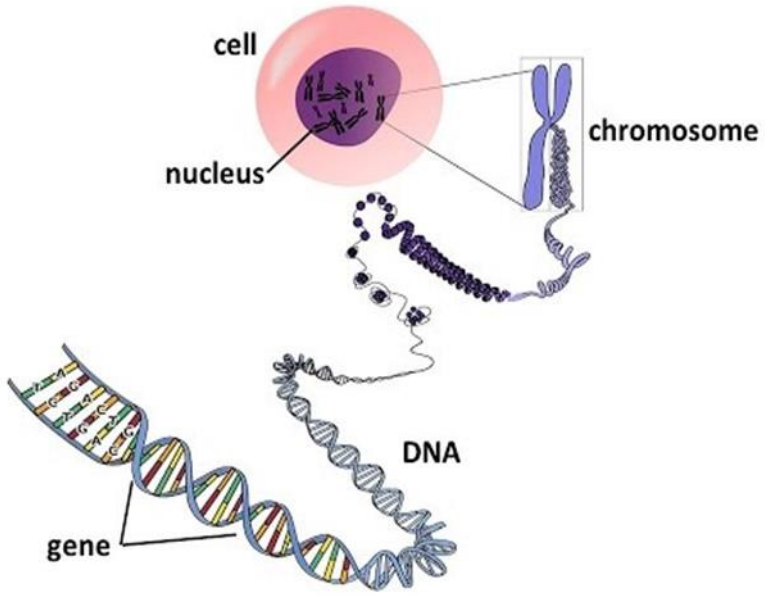
تُعد العاثيات (الرواشح) مجموعة مختلفة فهي لا تأتي ضمن الكائنات بدائية النواة ولا حقيقية النواة، وعلى الرغم من التباين الكبير بين الفايروسات المختلفة إلا أن جميعها تشترك في مميزات أساسية فجميعها طفيليات مجبرة Obligate parasite لا تستطيع التكاثر ما لم تكن موجودة في خلية مضيف خاصة بها ، كأن تكون بكتريا أو خلية حيوانية أو نباتية .فضلاً عن ذلك فأن الفايروسات قد توجد في حالة مختلفة عن ذلك تماماً وهي وجودها خارج حدود الخلية وفي هذه الحالة تكون الفايروسات بصورة جسيمات تسمى Virions. والفايروسات لا تمتلك نواة أو سايتوبلازم او غشاء خلوي، وبدلاً عن ذلك تحتوي على جزئية مفردة من واحد من الحامضين النوويين الـ DNA و RNA وليس كليهما الذي يحتل لب الـ Virion ، وان امتلاك الفايروسات نوعاً واحداً فقط من الحوامض النووية ميزها عن جميع الخلايا الحية التي تحتويعلى كلا النوعين من الحوامض النووية يختلف المظهر الخارجي للفايروسات باختلاف أنواعها المختلفة ، فمنها تكون عصويا فايروسات التي تصيب الخلايا النباتية ومنها دائرية او قد تكون متعددة السطوح .يبلغ طول أو قطر الفايروس بين (30) إلى (300) نانوميتر، وهكذا فان اصغر الخلايا الحية (البكتريا والمايكوبلازم . . . الخ) تتعرض للإصابة بالفايروسات .وتدعى تلك التي تهاجم البكتريا ملتهمات البكتريا (Bacteriophages وللاختصار تسمى phages).والشكل التالي يوضح بعض انواع الفايروسات.



تركيب المادة الوراثية في الكائنات حقيقية النواة Eukaryotes

تحتوي الكائنات حقيقية النواة على كتلة صغيرة من المادة الأولية Protoplasm محاطة بغشاء البلازما Plasma membrane وتتكون من السايتوبلازم والنواة والعضيات. تضم هذه الكائنات الحية مجموعة كبيرة من الأحياء مثل الابتدائيات Protozoa والفطريات Fungi والطحالب Algae والحيوانات ومنها الأنسان والنباتات الراقية إن المادة الوراثية للكائنات حقيقية النواة تكون ثنائية المجموعة الكروموسومية Diploid بمعنى أن لها مجموعتين كاملتين من الجينات (كل مجموعة تأتي من أحد الأبوين) وهنالك العديد من النباتات الراقية يتضاعف فيها المجاميع الكروموسومية Polyploid وهذا يعني أنها تحمل عدة نسخ من الجينوم Genome (مصطلح يطلق على المجموعة الكاملة من المادة الوراثية للكائن الحي). **والكروموسوم** تركيب أسطواني الشكل يوجد في نواة الخلية. يطلق على كل زوج من الكروموسوم عادة تسمية كروماتيد واعتمد استعمال **مصطلح الكروموسوم** لوصف الكروماتيدين المتحدين. كل كروماتيد يترتب بشكل حلزوني ويحمل في طياته على عشرات الآلاف من المورثات Genes حيث يحمل كل كروموسوم في طياته ما يقارب 60 . 000 الى 100 . 000 مورثة وكل مورثة لها موقع خاص بها على التركيب الحلزوني للكروماتيد مشابه بالضبط لموقع نفس المورثة على الكروماتيد المقابل. كل مورثة بدورها تتألف من سلسلة من النيوكليوتيدات Nucleotides. وأظهر التحليل الكيميائي للكروماتين Chromatin المعزول من نواة خلية في الطور البني

Interphase بانه يحتوي على حامض نووي رايبوزي منقوص الأوكسجين DNA وبروتينات هيكلية وكمية أقل من الحامض النووي الرايبوزي RNA . ترتبط أنواع معينة من البروتينات مع الـ DNA لتكوين الوحدات الثانوية من الكروماتين والتي تسمى Nucleosomes. والبروتينات فنتين هما : 1 - بروتينات القاعدة Basic proteins وهي ذات شحنة موجبة عند درجة الحموضة المتعادلة تدعى Histones . توجد في كروماتين جميع الكائنات الراقية حقيقية النواة وبكمية تكافئ الحامض النووي DNA وزن وزن ويلعب هذا النوع من البروتينات دوراً رئيسياً في تكوين الوحدات الثانوية للكروماتين 2 - بروتينات غير متجانسة Heterogeneous proteins وهي ذات شحنة سالبة و غالباً تكون حامضية في درجة الحموضة المتعادلة يطلق عليها Non - histones . وأكد فحص المجهر الإلكتروني للكروماتين احتواءه على سلسلة من حبات أهليجية ترتبط بخيط دقيق ، وعند هضم الكروماتين باستعمال انزيمات Nuclease أعطى قطع من الـ DNA يبلغ طولها 146 نيوكليوتايد ، وهذه القطع تكون محمية بطريقة ما من استمرار فعل انزيمات الهضم ، كما أن الهضم الجزئي للكروماتين بهذا النوع من الأنزيمات يعطي قطع من الـ DNA بطول 200 زوج من النيوكليوتيدات Nucleotides من كل نيوكليوسوم Nucleosome تكون متضاعفات كاملة من قطع أصغر حجماً ، وهذا يدل على أن الكروماتين تركيب متكرر من وحدات متشابهة. مما سبق يتضح لنا أن الحامض النووي الـ DNA هو المادة المكونة للمورثات والتي تعد المسؤولة عن ورائه الصفات في الكائنات الحية عدي بعض الحالات النادرة لبعض الكائنات يكون فيها الحامض النووي RNA هو المادة الوراثية كما في بعض الرواشح .



تقسم الخلايا الحقيقية النواة الى ما يأتي:

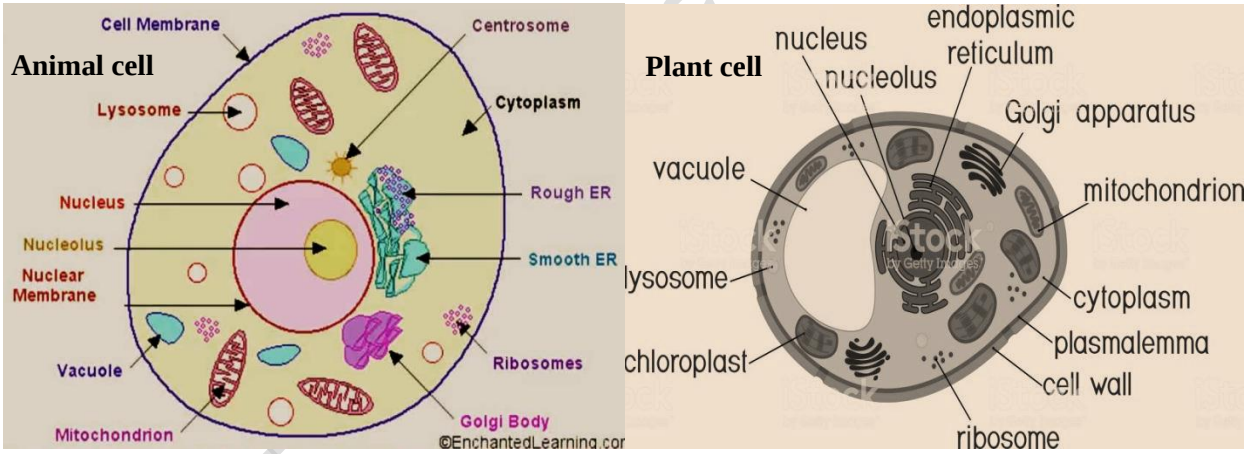
: 1 - خلايا حقيقية النواة نباتية Plant cell:

في هذه الخلايا تترتب وتنتظم الأجزاء الخلوية بحيث يختص كل جزء ثانوي بوظيفة بايولوجية معينة وتسمى هذه الأجزاء الخلوية الثانوية المحكمة التنظيم باسم العضيات الخلوية Cell organelles . فالتركيب الضوئي Photosynthsl5 يجري في البلاستيدات الخضراء Chloroplasts والفعالية التنفس ية Respiratory والفسفرة التاكسدية Oxidative phosphorylation تحدث في المايتوكوندريا Mitochondria والمادة الوراثية تتركز في النواة كما تحتوي الخلية النباتية على فجوات Vacuoles لخزن المواد المغذية أو لإجراء

التفاعلات مهدمة degredative reactions الفضلات الخلوية. وبعبارة أخرى فان الوظائف الحيوية المختلفة تحدث في عضيات الخلوية المنفصلة المنتظمة التركيب والمتعاونة مع بقية أجزاء الخلية

2 - خلايا حقيقية النواة حيوانية Animal cells :

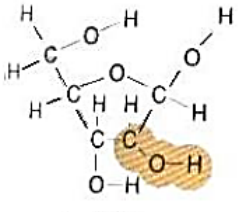
الخلية الحيوانية عبارة عن كتلة من البروتوبلازم المحاط بغشاء محدد وبداخله السايتوبلازم Cytoplasm ويحتوي على نواة واحدة أو أكثر، يمثل السايتوبلازم الجزء السائل الموجود داخل الخلية ويحتوي على عدة عضيات خلوية Cell organelles اكثر كثافة من السايتوبلازم مثل اجسام كولجي والمايتوكوندريا والنواة وبعض الأجسام الكروية مثل جسيمات البيروكسومات Peroxisomes التي يحنث فيها تحطيم الأحماض الأمينية Amino والأحماض الدهنية Fatty acids وكذلك الجسيمات الحالة Lysosomes التي تعمل على تحطيم المواد الغريبة الداخلة الى الخلايا ، هذا فضلا عن احتواء الخلية على بروتينات ليقية fibrous proteins يطلق عليها اسم Cytoskeleton، كما يحتوي السايتوبلازم على تركيب رقيق غشائي يعرف بالشبكة الاندوبلازمية endoplasmic reticulum ومحتويات ناشئة عن فعالية البروتوبلازم تسمى بالمواد البروتوبلازمية المؤقتة مثل المشتملات Inclusions والتي تشمل مواد دهنية وحبيبات مفرزة. وفي بعض الخلايا على نشا حيواني Glycogen وكذلك حبيبات صبغية وبلورات. كما أن بعض الخلايا المسنة Old cells قد تحتوي على فجوات مختلفة الأحجام يوضح الجدول التالي الفريق بين الخلية النباتية الحقيقية النواة والخلية الحيوانية الحقيقية النواة .

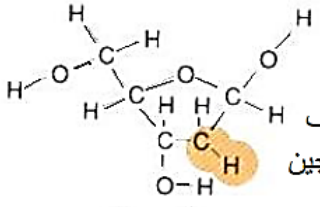


- **الأحماض النووية:**

يوجد الحمض النووي منقوص الأكسجين **(DNA)** على امتداد الكروموسومات في الخلايا مشكلاً أساس الوراثة. وهو اسم مختصر مشتق من اسمه، وذلك نسبة النوع السكر الخماسي الذي يدخل في تركيب وحداته البنائية. ويوجد داخل كروموسومات الخلية في شكل حلزون مزدوج - أي خيطين يلتمان على بعضهما والوحدة البنائية له هي النيوكليوتيدة **(Nucleotide)** والتي تتكون من سكر خماسي، وقاعدة نيتروجينية، ومجموعة فوسفات. وكل مجموعة من النيوكليوتيدات على امتداد الحمض النووي منقوص الأكسجين (DNA) تكون وحدة مستقلة تُسمى مُورّث **(Gene)**، ويمكن اعتبار الحمض النووي منقوص الأكسجين (DNA) مقسم لعدد من العقل كل منها يسمى مُورّث، وهو أساس تصنيع البروتين الموجود في الخلية، ويتم تصنيعه عن طريق حلقة وصل بينهما هو الحمض النووي الريبوزي **RNA (Ribonucleic Acid).**

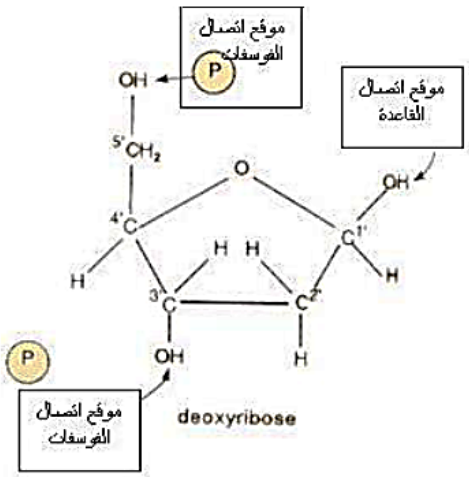
تركيب DNA (DeoxyriboNucleic Acid)

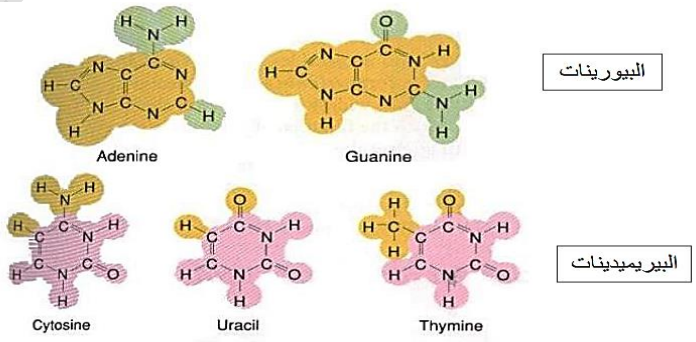




توصل العالم إرون شارجاف Erwin Chargaff ومساعدوه أن حمض DNA يتكون من وحدات بنائية أسماها **النيوكليوتيدات Nucleotides** ، ويتركب النيوكليوتيد من ثلاث مكونات : سكر خماسي (وهو الرايبوز منقوص الأكسجين Deoxyribose في نيوكليوتيد DNA وهو يختلف عن سكر الريبوز في نيوكليوتيد RNA بذرة أكسجين واحدة في ذرة الكربون رقم 2) . ومجموعة من الفوسفات مرتبطة برابطة تساهمية بذرة الكربون الخامسة في السكر ، وواحدة من القواعد النيتروجينية الأربعة ترتبط برابطة تساهمية بذرة الكربون الأولي في السكر الخماسي والقاعدة النيتروجينية قد تكون أحد مشتقات البيريميدين Pyrimidine الحلقية المفردة ثايمين (T) Thymine أو سايتوسين (C) Cytokine ، أو أحد مشتقات البيورين Purine الحلقية المزدوجة أدنين (A) Adenine أو جوانين (G) Guanine .

عندما ترتبط النيوكليوتيدات بعضها ببعض في شريط DNA فإن مجموعة الفوسفات المتصلة بذرة الكربون رقم '5 في سكر أحد النيوكليوتيدات ترتبط برابطة تساهمية مع ذرة الكربون رقم '3 في سكر النيوكليوتيد التالي . والشريط الذي يتبادل فيه السكر مع الفوسفات يطلق عليه هيكل سكر- فوسفات وهذا الهيكل غير متماثل بمعنى أنه يوجد به مجموعة فوسفات طليقة مرتبطة بذرة الكربون رقم '5 في السكر الخماسي عند إحدى نهاياته ، ومجموعة هيدروكسيل OH^- طليقة مرتبطة بذرة الكربون رقم '3 في السكر الخماسي عند النهاية الأخرى ، أما قواعد البيورينات والبريميدينات فإنها تبرز على جانب واحد من الهيكل سكر فوسفات . وكما علمنا فقد توصل شارجاف إلى أن في كل جزئ من DNA يكون عدد نوكليوتيدات $A \approx T$ وكذلك عدد نيوكليوتيدات $G \approx C$ وعرف ذلك بقانون شارجاف .

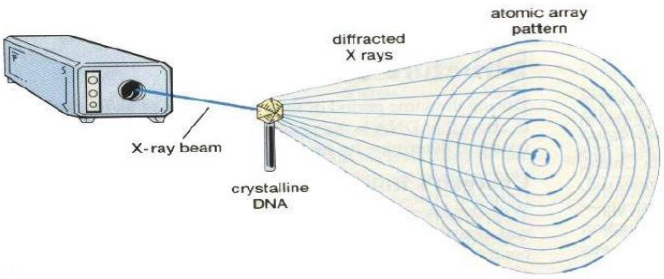


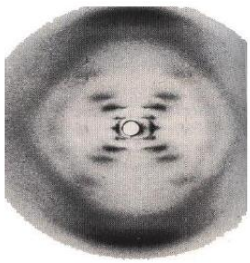


اكتشاف اللولب المزدوج (The Double Helix)

لقد جاء الدليل المباشر على تركيب DNA من دراسات قامت بها روزالين فرانكلين Rosalin Franklin حيث استخدمت تقنية حيود أشعة X في الحصول على صور لبلورات من DNA عالي النقاوة ، حيث تمرر

أشعة X خلال بلورات من جزيئات ذات تركيب منتظم مما ينشأ عنه تشتت أشعة X فيظهر طراز من توزيع نقطي يعطي تحليلها معلومات عن شكل الجزيء .

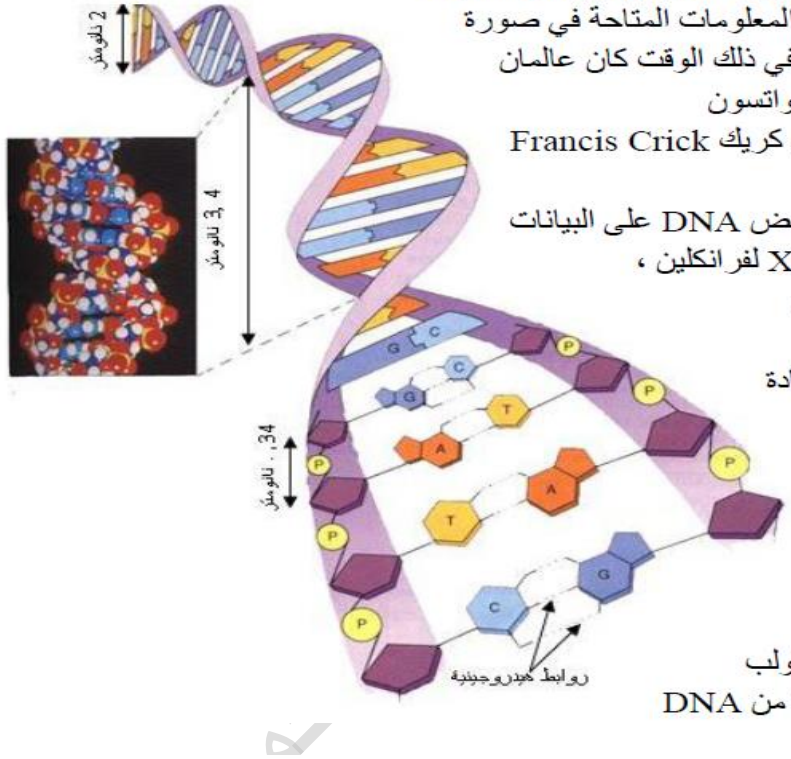




لفرانكلين DNA لحمضXصورة حيود أشعة

وفي عام 1952م نشرت فرانكلين صور بلورات من DNA عالي النقاوة ، حيث بدأ سباق رهيب بين العلماء لوضع المعلومات المتاحة في صورة نموذج model لتركيب جزئ DNA .وفي ذلك الوقت كان عالمان غير معروفين جيداً هما الأمريكي جيمس واتسون James Watson والإنجليزي فرانسيس كريك Francis Crick قد حلا لغز DNA .

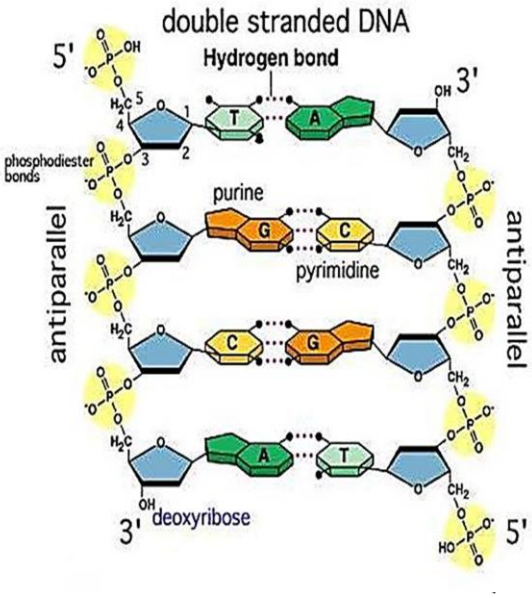
اعتمد واتسون وكريك في أنموذجيهما لحمض DNA على البيانات التي استخلصاها من صورة حيود الأشعة X لفرانكلين ، وفسرا نمط البقع على صورة الأشعة لتدل على أن جزئ DNA ملتف على شكل حلزون أو لولب Helix معتمدين على إعادة جمع واتسون للصورة ، حيث استنتجا أن عرض اللولب 2نانومتر بحيث تكون القواعد متعامدة على طول الخيط ، كما وفرت هذه الصورة دليلاً على أن هيكل سكر - فوسفات يوجد في الجهة الخارجية من اللولب وتوجد القواعد النيتروجينية جهة الداخل ، كما أن قطر اللولب دل على أنه يتكون من سلسلتين من شريط من DNA



والذي أصبح معروفاً باللولب المزدوج ، كما تم استنتاج أن اللولب يعمل لفة كاملة 3.4 نانومتر من طوله ، ولأن القواعد النيتروجينية يفصل بينها 34, . نانومتر، لذلك توجد عشر طبقات من القواعد النيتروجينية ، أو درجات على السلم في كل لفة من اللولب ، وقد حدد هذا التركيب وضع القواعد النيتروجينية الأكثر كرهاً للماء داخل الجزئ ، وبذلك فهي بعيدة عن الوسط المائي الخارجي .

ولعمل قطر 2 نانومتر للولب المزدوج فالحل هو ازدواج بيورين مع بريميدين ، كما أن كل قاعدة نيتروجينية يمكنها تكوين روابط هيدروجينية مع الشريك المناسب لها ، فيمكن للأدنين عمل رابطة هيدروجينية ثنائية مع التايمين فقط ، كما يمكن للجوانين عمل رابطة هيدروجينية ثلاثية مع السايتوسين فقط .

ولكي تتكون الروابط الهيدروجينية بشكل سليم بين زوجي القواعد النيتروجينية وحتى يتساوى قطر اللولب المزدوج رأى واتسون وكريك أن شريطي النيوكليوتيد في جزئ DNA يكون أحدهما معاكس للآخر بمعنى أن مجموعة الفوسفات الطرفية المتصلة بذرة الكربون '5 في السكر الخماسي في شريطي DNA ، كما أن مجموعة الفوسفات في إحدى النيوكليوتيدات ترتبط مع ذرة الكربون '3 للنيوكليوتيد المجاور . والنتيجة سلسلة DNA بقطبية واضحة Distinct polarity . والكربون الطرفي في إحدى نهايتي هيكل السكر – فوسفات ذرة الكربون '3 ، ولا يرتبط هذا الطرف مع مجموعة الفوسفات ويرتبط مع مجموعة OH^- ويسمى النهاية '3 للسلسلة ، وفي الطرف المقابل ينتهي هيكل السكر – فوسفات بمجموعة فوسفات ترتبط مع الكربون '5 للنيوكليوتيد الآخر ويسمى النهاية '5 لسلسلة DNA في اللولب المزدوج ، وبذلك فمن الضروري أن يكون العمودان الفقريان لسلسلتي DNA مقلوبين بالنسبة لبعضهما ، ولأن السلسلتين متعاكستين ، لهذا نجد أنه إذا كان اتجاه إحدى السلسلتين '5 '3 (القطبية) ، يكون اتجاه السلسلة المكملة لها '3 '5 .



سلسلتا DNA المتعاكستان

وفسر نموذج واتسون وكريك قانون شارجاف ، وفي عام 1953م فاجأ واتسون وكريك العالم بمقالة موجزة في مجلة الطبيعة Nature البريطانية أوضحا فيها نموذج جزئ جديد لحمض DNA اللولب المزدوج . والجيد في هذا النموذج أنه أقترح الآلية الأساسية لتضاعف DNA .

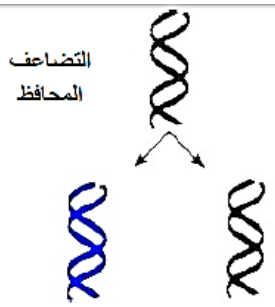
تضاعف DNA

قبل أن تبدأ الخلية في انقسامها تتضاعف كمية DNA بها حتى تستقبل كل خلية جديدة نسخة طبق الأصل من المعلومات الوراثية الخاصة بالخلية الأم ، وقد أشار واتسون وكريك إلى أن تركيب الشريط المزدوج ذي القواعد المتزاوجة لجزئ DNA يحتوي على وسيلة يمكن بها مضاعفة المعلومات الوراثية بدقة . فحيث أن الشريطين يحتويان على قواعد متكاملة ، فإن تتابع النيوكليوتيدات في كل شريط يوفر المعلومات اللازمة لإنتاج الشريط المقابل ن فمثلاً إذا كان تتابع القواعد النيتروجينية في جزء من الشريط ('3 – T – C - C – A - A 5') فإن قطعة الشريط التي تتكون معها يكون ترتيب قواعدها النيتروجينية ('5 – A – G – G - T – T 3')، فإذا تم فصل شريطي DNA عن بعضهما البعض فإن أياً منهما يمكن أن يعمل كقالب لإنتاج شريط يتكامل معه، أي لكل جزئ ابن من DNA سلسلة قديمة (القالب) وسلسلة جديدة ، وهو ما يعرف بالتضاعف شبه المحافظ وقام العديد من العلماء بإجراء تجارب للتأكد من ذلك .

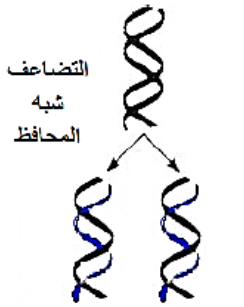
فقد فرض كل من العالمان ماثيو ميسلسون Mathew Messelson وفرانكلين ستال Franklin Stahl .

أن هناك ثلاثة طرق محتملة لتضاعف DNA :

1- التضاعف المحافظ (Conservative model) :
يعمل DNA بعضهما مع بعض كقالب لبناء جزئ DNA جديد مزدوج الشريط حيث يستمر جزيء DNA الأصلي على حاله ويذهب إلى إحدى الخليتين الجديدتين بينما يذهب الجزيء الجديد للخلية الأخرى .



2- التضاعف شبه المحافظ (Semi Conservative model) :
ينفصل شريطا DNA بعضهما عن بعض بكسر الروابط الهيدروجينية التي تربط القواعد النيتروجينية المتزاوجة ويعمل كل شريط من الشريطين كقالب لبناء شريط جديد ثم يتم تكوين روابط بين القواعد المتزاوجة للربط بين شريطين أحدهما جديد والأخر قديم ، وعند انقسام الخلية ترث كل خلية جديدة DNA هجين أي يتكون من شريط قديم وآخر جديد .



3- التضاعف المشتت (Dispersive model) :
يقطع جزئ DNA ككل إلى قطع صغيرة يستخدم كل منها كقالب لبناء لولبين جديدين يرتبط أن بعضهما ببعض بطريقة ما .

وباستخدام سلسلة من التجارب على بكتيريا القولون تمكن ميسلون وستال من إثبات

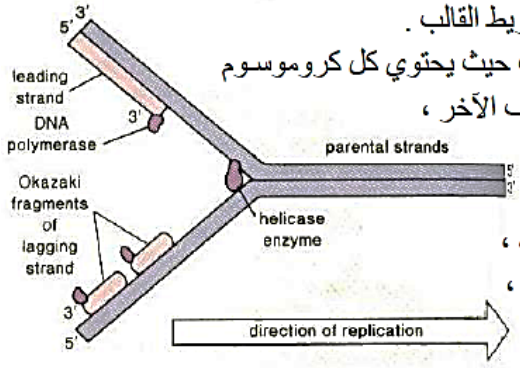
أن الطريقتين الأولى والثالثة لا يمكن حدوثهما ، ووفرا دليلاً قوياً على صدق الطريقة الثانية وهي التضاعف شبه المحافظ .

الإنزيمات وتضاعف DNA :

يتطلب نسخ DNA تكامل نشاط عدد من الإنزيمات والبروتينات في الخلية ، ولكي يتم النسخ يتعين حدوث ما يلي :

1- ينفك التفاف اللولب المزدوج .
2- ينفصل الشريطان بعضهما عن بعض بكسر الروابط الهيدروجينية الموجودة بين القواعد المتزاوجة في الشريطين .
3- يبتعد الشريطان بعضهما عن بعض لتعريض القواعد لتتمكن من تكوين روابط هيدروجينية مع نيوكليوتيات جديدة .

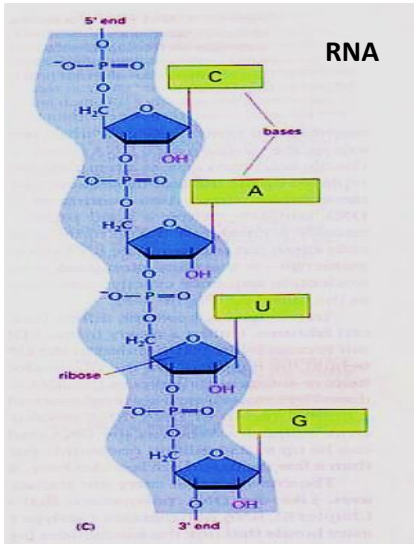
ومن المعروف الآن أن إنزيمات اللولب DNA – helicaes تتحرك على امتداد اللولب المزدوج فاصلة الشريطين عن بعضهما البعض ، أما البناء الفعلي لأشرطة DNA الجديدة فتقوم به إنزيمات البلمرة DNA- Polymerases والتي تساعد على إضافة النيوكليوتيدات واحدة بعد الأخرى إلى النهاية '3 لشريط DNA الجديد ، ولكي يتم إضافة النيوكليوتيدة إلى الشريط الجديد لا بد أولاً أن تتزاوج القواعد النيتروجينية في النيوكليوتيدة مع القاعدة النيتروجينية الموجودة على شريط القالب .



ينتظم DNA في حقيقيات النواة في صورة كروموسومات حيث يحتوي كل كروموسوم على جزئ واحد من DNA يمتد من أحد طرفيه إلى الطرف الآخر ، ويبدأ نسخ DNA عند أي نقطة على امتداد الجزئ ، ومن المعروف أن إنزيم البلمرة يعمل في اتجاه واحد فق من الطرف'5 في اتجاه '3 للشريط الجديد الذي يجري بناؤه ، وحيث أن شريطي لولبDNA المزدوج متوازيان عكسياً ، أي أن أحدهما يكون في اتجاه '5 إلى '3 بينما الشريط المتزاوج معه يتوجه في الاتجاه المعاكس أي في اتجاه '3 إلى '5 ، وعلى ذلك فعندما يعمل إنزيم اللولب على فصل شريطي جزئ DNA يتم ذلك في اتجاه النهاية '3 لأحد الشريطين والنهاية '5 للشريط الأخر . وبالنسبة للشريط '3 - '5 ليست هناك مشكلة حيث أن إنزيم البلمرة يتبع إنزيم اللولب مباشرة مضيفاً نيوكليوتيدات جديدة إلى النهاية '3 . إلا أن ذلك لا يحدث بالنسبة للشريط الآخر المعاكس ، وذلك لن إنزيم البلمرة لا يعمل في إتجاه '3 - '5 ولذا فإن هذا الشريط يتم بناؤه على شكل قطع صغيرة (قطع أوكازاكي) في اتجاه '5- '3 ثم ترتبط هذه القطع الصغيرة مع بعضها البعض بواسطة إنزيم الربط DNA- ligase .

حامض النووي الريبوزي Ribonuclic Acid RNA

يمثل الحمض النووي الريبوزي RNA المادة الوراثية لبعض انواع الفيروسات كما انه يمثل الأحماض النووية الغالبة في معظم الخلايا الحية والتي تقوم أساسا بعملية تكوين البروتين الخلوي، ويتكون الحمض RNA من شريط مفرد من القواعد النيوكليوتيدية غير المتفرع الذي له نفس تركيب الحمض النووي الديوكسي ريبوزي DNA ماعدا ان السكر الخماسي الريبوزي يدخل في تركيبه بدلا من السكر الديوكسي ريبوزي الذي يدخل في تركيب DNA، كما أنه على هيئة شريط مفرد من النيوكليوتيدات التي تحل فيه قاعدة اليوراسيل محل قاعدة الثايمين التي تتكامل مع قاعدة الأدينين عليه.



يوجد الحمض النووي الريبوزي RNA في ثلاثة أنواع هم:

- **الحمض النووي الريبوزي الرسول mRNA:** الذي يقوم بحمل الشفرة الوراثية التي تحدد تتابع الأحماض الأمينية في سلسلة عديد الببتيد.
- **والحمض النووي الريبوزي الناقل tRNA:** الذي يحمل الأحماض الأمينية الى الريبوسومات ويضعها في المكان الصحيح في سلسلة عديد الببتيد النامية حيث تترجم الشفرة .
- **الحمض النووي الريبوزي الريبوسوم rRNA:** الذي يدخل في تركيب الريبوسومات.

أهم الفروقات بين أنواع الرنا RNA

mRNA	rRNA	tRNA
جزئ طويل	جزئ قصير	جزئ قصير جداً
غير مدعوم بالبروتين (عاري)	مدعوم بالبروتين	غير مدعوم بالبروتين (عاري)
يشفر لبناء سلسلة عديد الببتيد (بروتين)	يساهم في تكوين الرايبوسوم وربط الأحماض الأمينية	متخصص في نقل الأحماض الأمينية
يحمل الشفرة الوراثية	----	يحمل الشفرة الضدية
يمثل 5٪ من أنواع الرنا	يمثل 80٪ من أنواع الرنا	يمثل 15٪ من أنواع الرنا

مقارنة بين الحامض النووي DNA و RNA

جزئ الدنا DNA	جزئ الرنا RNA
يتكون من شريط حلزوني مزدوج من النيوكليوتيدات	يتكون من شريط حلزوني مفرد من النيوكليوتيدات
يحتوي على القواعد النيتروجينية A, T, G, C	يحتوي على القواعد النيتروجينية A, U, G, C
يحتوي على سكر خماسي رايبوزي منزوع الأكسجين	يحتوي على سكر خماسي رايبوزي
يحمل مورثات جميع الكائنات الحية وبعض الفيروسات	يحمل المورثات في بعض الفيروسات فقط بالإضافة إلى بناء البروتينات
يوجد في النواة (الكروموسومات) والبلاستيدات والمايتوكوندريا	يوجد في النواة (النوية) والسايتوبلازم (الرايبوسومات)
طويل جداً مقارنة بالرنا	قصير جداً مقارن بالدنا
يستطيع تكوين الـ RNA	لا يستطيع تكوين الـ DNA

الموروث هو تتابع النيوكليوتيدات بنظام معين ضمن الكروموسوم والذي سوف يحدد تتابع تكوين الأحماض الأمينية في جزيئة البروتين. ولكي تؤدي المورثات نشاطها وعملها لا بد من نشاط يتم خلاله تحويل المعلومات الوراثية المخزونة في المورث الى بروتين داخل الخلية، وهذه العملية تدعى بالتعبير الجيني **Gene expression**، والتي تنجز خلال مرحلتين أساسيتين هما :

اولا - عملية الاستنساخ Transcription:

في الكائنات ذات النواة الحقيقية تبقى الجينات الكروموسومية التي تحتوي على DNA في النواة بينما تصنع البروتينات في السيتوبلازم لذلك لا يستطيع الـ DNA ان يعمل مباشرة كقالب التصنيع البروتين وعوضاً عن ذلك يستعمل احد اشرطة الـ DNA الذي يدعى بالشريط الحساس seins sastrand كقالب لتصنيع شريط مكمل من الـ RNA والذي اطلقنا عليه اسم المرسل تسمى بالاستنساخ Transcription ان الشريط المستنسخ (الحساس) لاثنين من الجينات المختلفة، وفي الجينات المتجاورة لا يكون دائما نفس الشريط ، وعلى كل حال يستنسخ احد الأشرطة فقط في جين معين ، بعد ذلك يقوم المرسال بنقل المعلومات الوراثية من موقع تصنيعها في النواة الى موقع تصنيع البروتين في الرايبوسومات الواقعة في السيتوبلازم.

و يمكن تلخيص الية الاستنساخ بالشكل الآتي :

1 . يقوم انزيم Helicase بفك التواء الـشريط DNA جزئياً.

2- يرتبط انزيم بلمرة الـ RNA Polymerase بأحد اشرطة الـ DNA الذي يدعى بالشريط الحساس.

3- تبدأ عملية بناء الـ mRNA بواسطة انزيم RNA Polymerase وذلك من خلال اضافة القواعد النيتروجينية على طول احد سلاسل الـ DNA (شريط الحساس)

4- كلما انفك سلسلة الـ DNA يقوم انزيم بلمرة RNA Polymerase بالإضافة ويستمر الانزيم بالبناء

الـ mRNA على طول الـ DNA (الأساسية) في الاتجاه من 3 ⟵ 5

5- يتم يصنع الـ mRNA في الاتجاه من 5 ⟵ 3

6- عند بناء الـ mRNA يحل اليوراسيل محل الثايمين

7- يتم انتاج الـ mRNA وتتوقف عملية البناء عند وصول الانزيم البلمرة الى شفرات التوقف .

8- ينفصل انزيم بلمرة الـ RNA عن الـ DNA .

9- تلتحم سلسلتي DNA مع بعض ومن ثم خروج جزيئة الـ mRNA من النواة الى السيتوبلازم عبر الثقوب النووية .

وهناك فرق بين mRNA قبل خروجه من النواة وبعدها يتم معالجته بعملية تدعي splicing

mRNA الأولي (غير المعالج) ويطلق عليه immature mRNA

1- له نفس طول DNA 2 - يحوي شفرة DNA كلها (جميع تسلسل القواعد) . mRNA النهائي (المعالج قبل خروجه من النواه) ويطلق عليه mature mRNA

1- يتم التخلص من الأنترونات (intron) : المناطق الغير مشفرة والموجودة على DNA

2- تبقي عليه الإكسونات (Exon) : المناطق المشفرة وهي القطع الفعالة

3 - إضافة غلاف (Cap) واقي على النهاية 5 من mRNA (يساعد على تعرف الريبوسومات) 3 - إضافة ذيل (tail) مكون من نيوكليوتيدات الأدنين على النهاية 3 من mRNA

ثانياً : الترجمة Translation:

عملية الترجمة وهي العملية التي تترجم من خلالها المعلومات الوراثية (المخزونة في متواليات النيوكليوتيدات في جزيئة المرسال) بعد املاء الشفرة الوراثية الى متوالية من الأحماض الامينية في السلسلة البروتينية .

ويشترك في عملية الترجمة ثلاث انواع من الـ RNA وجميعها يستنسخ من الـ DNA ومنها :

1 - الـ mRNA وهي الجزيئة الحاملة للمعلومة الوراثية الخاصة ببناء البروتين ستصبح جاهزة للترجمة بعد اكتمال استنساخها واجراء بعض تحورات عليها كما هو الحال في الخلايا حقيقية النواة و التي ذكرت سابقاً في مرحلة الاستنساخ.

٢ - الـ tRNA وهذه الجزيئات ستتوسط عملة الترجمة عبر التعرف على الشفرة على جزيئة الكودونات الموجودة على ال mRNA من خلال موقع يقع tRNA يحتوي على ما يعرف بالشفرة المضادة (inticodon) وتحتوي اي خلية على عدة أنواع الناقل tRNA يتراوح عددها ما بين 40 – 60 نوعاً.

3- rRNA : وهي تراكيب جزيئات كبيرة معقدة وتقع في السيتوبلازم تعمل كمنصة لتصنيع السلسلة البروتينية.

وتشتمل عملية تخليق البروتين على ثلاثة خطوات هي :

أ - بدء عملية الترجمة (قراءة الشفرة وترجمتها لبناء بروتين) .

ب - استطالة سلسلة عديد الببتيد Elongation of the polypeptide chain (تفاعل بناء البروتين)

ج - إنهاء تكوين سلسلة عديد الببتيد Termination of polypeptide (إنهاء بناء البروتين) .

الخطوة الأولى (أ) : بدء عملية الترجمة ترتبط تحت وحدة ريبوسوم صغيرة بجزئ m RNA الذي أول كودون به هو AUG ويكون متجها 1 - إلى أعلى . 2 ء تتزاوج قواعد مضاد الكولون لجزئ tRNA الخاص بالميثيونين مع كونون AUG وبذلك يصبح الحمض الأميني ميثيونين Methionine أول حمض أميني في سلسلة عديد الببتيد التي تبني 3 - ترتبط وحدة ريبوسوم كبيرة بالمركب السابق ليكون كودون البدء AUG أو أول جز tRNA في موقع الببتيديل (p) . ملاحظة : يوجد على واحدة الريبسوم الكبيرة موقعان يمكن أن ترتبط بهما جزيئات tRNA - الموقع الأول (P) : يطلق عليه موقع الببتيديل Peptidy . - الموقع الأخر (A) : يطلق عليه أمينو اسيل Amino – aeyl

(ب) : استطالة سلسلة عديد البيتيد أو تفاعل بناء البروتين:

1 - يرتبط مضاد كودون tRNA الثاني بالكودون التالي على جزئ m RNA في الموقع A لوحدة الريبوسوم الكبيرة وبالتالي يصبح الحمض الأميني الذي يحمله هذا tRNA هو الحمض الأميني التالي في سلسلة عديد الببتيد.

2 - يحدث تفاعل نقل الببتيديل Peptidyl transferase reaction الذي ينتج عنه اتكوين رابطة ببتيدية بين الحمض الأميني الأول والثاني - والإنزيم الذي ينشط هذا التفاعل عبارة عن جزء من تحت وحدة الريبوسوم الكبيرة ، ونتيجة لذلك يتحرر الحمض الأميني الأول ويصيح tRNA الأول فارغاً ويترك الريبسوم وقد يلتقط ميثيونيناً آخر أما tRNA الثاني فيحمل الحمضين الأمينيين معا.

3 - يتحرك الريبوسوم على امتداد mRNA ، وهذه العملية تأتي بـ tRNA الثاني إلى الموقع P على الريبسوم ويصبح A فارغا ثم تبدأ الدورة مرة أخرى حيث يرتبط مضاد كودون ثالث على tRNA مناسب يكونون mRNA جالياً الحمض الأميني الثالث إلى الموضع المناسب على الموقع ، وترتبط سلسلة عديد البيتيد النامية بالحمض الأميني الجديد القادم على هذا الجزء من tRNA الثالث ، ثم يتكرر التتابع.

الخطوة الثالثة (ج) : إنهاء تكوين سلسلة عديد الببتيد عندما يصل الريبوسوم إلى كودون وقف على m RNA فإن عامل الاطلاق Release factor يرتبط بكودون الوقف مما يجعل الريبوسوم يترك mRNA حيث تنفصل وحدتا الريبسوم عن بعضهما البعض وتقف عملية بناء البروتين .

قد يكون الحامض الأميني أكثر من شفرة . كذلك يوجد شفرة لبدء البروتين هو AUG هناك U GA - UAA ثلاثة شفرة التوقف بناء البروتين هي (UAG) ويلاحظ أن الشفرة الوراثية عامة : واحدة بمعنى أن الشفرات التي تدل على الأحماض الأمينية في الفيروسات والبكتيريا والفطريات والنبات والحيوان.

الشفرة الوراثية Genetic Code

هي مجموعة من الكودونات ويتكون كل كودون من تتابع من ثلاث قواعد نتروجينيه متتابعة على جزئي mRNA الرسول والتي تشفر لتكوين حمض أميني واحد ، ويشفر كل كودون لحمض أميني واحد و هناك 64 كودون ممكن و ٢٠ حمض اميني (جدول1) ويكون ترتيب تتابع الكودونات بنظام معين في الجين هو المحدد لتتابع الأحماض الأمينية المكونة لنوع البروتين المراد بنائه حيث يتكون البروتين من مجموعة من الأحماض الأمينية المحددة.

جدول الشفرة الوراثية

Second Letter

1st letter	U		C		A		G		3rd letter
U	UUU	Phe	UCU		UAU	Tyr	UGU	Cys	U
	UUC		UCC	Ser	UAC		UGC		C
	UUA	Leu	UCA		UAA	Stop	UGA	Stop	A
	UUG		UCG		UAG	Stop	UGG	Trp	G
C	CUU		CCU		CAU	His	CGU		U
	CUC	Leu	CCC	Pro	CAC		CGC	Arg	C
	CUA		CCA		CAA	Gln	CGA		A
	CUG		CCG		CAG		CGG		G
A	AUU		ACU		AAU	Asn	AGU	Ser	U
	AUC	Ile	ACC	Thr	AAC		AGC		C
	AUA		ACA		AAA	Lys	AGA	Arg	A
	AUG	Met	ACG		AAG		AGG		G
G	GUU		GCU		GAU	Asp	GGU		U
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC		GGC	Gly	C
	GUA		GCA		GAA	Glu	GGA		A
	GUG		GCG		GAG		GGG		G

مقدمة في علم الهندسة الوراثية

حتى تاريخ 1970 ميلادية كان إجراء الأبحاث على الحمض النووي (DNA) من أصعب الأمور التي كانت تواجه علماء الوراثة و الكيمياء. و كانت معظم الأبحاث تجرى بشكل غير مباشر على الحمض النووي الريبوزي (RNA) أو البروتين (Protein). و لكن الحال تحول بشكل كامل فأصبح علم الوراثة المتعلق بفحص (DNA) (المعروف بعلم الوراثة الجزيئية) من أسهل العلوم وأكثرها تطورا. لقد أصبح من السهل صنع نسخ عديدة من أي جين (مورث) أو مقطع محدد من(DNA). كما أمكن معرفة تسلسل الأحماض النووية بسرعة تتعدى المئات في اليوم الواحد. كما استطاع العلماء استكشاف الموروثات الموجودة على الكروموسومات او الصبغيات كما استطاعوا تغييرها و تعديلها بالشكل المطلوب وليس هذا فحسب بل استطاعوا أن يعيدوا هذه الموروثات المعدلة إلى الخلية وغرزها في الكروموسوم المطلوب. كما أمكن إنتاج كميات كبيرة من البروتينات كالهرمونات و اللقاحات المختلفة و التي كانت تنتج في السابق من الجثث الميتة أو تستخلص من الحيوانات و التي كانت لا تخلو من المخاطر و الخوف من انتقال العدوى إلى الإنسان من المصادر التي كانت تستخلص منها. كما أن هذه الثورة العلمية فتحت المجال أمام الكثير من الباحثين في هذا المجال لاختراع واكتشاف طرق جديدة و حديثة في التعامل وحفظ وتغيير هذه المادة الحيوية في الإنسان والحيوان والنبات. لقد غير هذا العلم السريع التطور الكثير من المفاهيم الطبية والتي ادت الى تعديل المقررات الدراسية في كثير من كليات الطب لتزويد طلابها بالمزيد من المعلومات التعلقة بهذا العلم.

لقد أُطلق على **عملية نسخ و تعديل و نقل الجينات اسم الهندسة الوراثية** (Engineering Genetic) وهو اسم عام لا يحدد فكرة معينة أو تقنية محددة، ولكنه يعني بكل ما يقام به من تغيير أو تعديل للمادة الوراثية. وقد تعني الهندسة الوراثية على النطاق الضيق نقل المورثات من كائن حي إلى كائن آخر مختلف كلياً عنه بحيث يعبر المورث المنقول عن نفسه في الكائن الجديد المنقول إليه، مثل نقل المورثات من البكتريا إلى النبات والذي كان مستحيلاً قبل ظهور هذه التقنية و تطورها. لقد تطورت هذه التقنية بصورة سريعة جداً في النبات وذلك بسبب التطور السريع في علم البيولوجية الجزيئية للنبات منذ بداية التسعينات من القرن المنصرم ففي عام 1991 حضر المؤتمر العلمي الثالث للبيولوجية الجزيئية للنبات المنعقد في توسان-اريزونا 3000 شخص وعرضت 2000 بحث في المؤتمر. هذا بالإضافة إلى العدد الكبير من المجلات العلمية الجديدة في هذا المجال. و يتفرع من هذا العلم الكثير من التقنيات و هي عديدة و موزعة على الكثير من فروع الطب و العلوم الحيوية المختلفة.

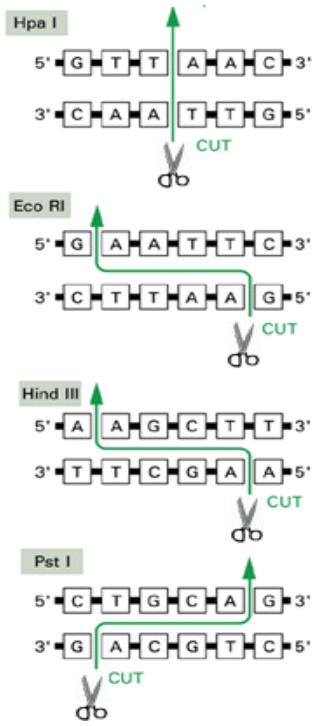
ومن اهم هذه التقنيات :

1- قص او قطع الحمض النووي(Cleavage of DNA)
2- فصل قطع DNA على الهلام بطريقة الترحيل الكهربائي Gel Electrophoresis
3- معرفة التسلسل النووي (DNA sequencing)
4- تقنية تهجين الحمض النووي(Nucleic acid hybridization)
5- استنساخ الحمض النووي (DNA cloning)
6- تقنية هندسة أو تعديل الحمض النووي(DNA engineering)

قص و قطع الحمض النووي

كما هو معروف فان البروتينات موجودة داخل الخلية على شكل قطع منفصلة عن بعضها البعض و هذا بالطبع سهل عملية فصلها عن بعضها البعض بطرق فنية مناسبة. ولكن الموروثات موجودة على الصبغيات على شكل

وحدات متصلة ببعضها البعض و ليست على شكل قطع منفصلة. وهذا التسلسل و الترابط في الموروثات جعل عملية فصلها و عزلها و استخلاص موروث محدد من بين الموروثات العديدة مهمة صعبة ان لم تكن مستحيلة قبل عام 1970. ولكن اكتشاف الإنزيمات القاطعة (Restriction Nucleases) ساعد في عملية استخلاص الموروثات المحددة و قطع الحمض النووي المختلفة. حيث تم عزل انزيمات من البكتريا لها القدرة على تقطيع الدنا بطريقة غير عشوائية. وقد تم عزله من البكتريا *Heamophilus influenz*



الإنزيمات القاطعة (Restriction Nucleases)

لا شك أن كل كائن حي لديه طرق دفاع مختلفة تحميه من الأعداء الموجودة في البيئة التي يعيش فيها. البكتيريا هي إحدى هذه الكائنات و لها أعداء كثر و من أهم أعدائها الفيروسات المختلفة. وقد لوحظ ان البكتريا تنتج انزيمات مختلفة مهمتها تدمير الفيروسات. من هذه الإنزيمات ما طلق عليه بالإنزيمات القاطعة أو المقيدة او المحددة (Restriction Nucleases) تقوم هذه الانزيمات بقص او قطع الحمض النووي (DNA) للفيروس و بذلك يشل عمله و يبطل مفعوله. و قد اكتشفت هذه الانزيمات لاول مرة من قبل العالم Arber عام 1962 حيث اكتشف مجموعة من الإنزيمات المحددة للـD.N.A وقام بفصلها، وتنقيتها. وفي سنة 1973 اكتشف ديفيز و ميرتز Devies & Mertez إنزيمات الإندونيوكليز المحددة، وتم استعمالها في تقطيع جزيئات الـD.N.A إلى مقاطع، ثم أعيد تجميعها على صورة تتابعات مرغوبة. وطبقت هذه الطريقة في قطع وإعادة وصل ودمج مقاطع كبيرة من جينات الكائن نفسه أو جينات كائنات مختلفة.

وفي سنة 1974 تمكن كوهين Kohen من استخدام هذا الأسلوب في نقل جينات من الضفدع إلى بكتيريا القولون E.coli . ومنذ ذلك الحين سميت تقنية الـD.N.A الهجين باسم استزراع الـD.N.A أو مجازا الهندسة الوراثية.

د. محمد عبد الغفور محمد

لقد قدمت هذه التقنية أساليب عملية فريدة لتفهم الميكانيكية المعقدة التي ينظم بها تعبير الجين في الكائنات. ومن الناحية التطبيقية فقد فتحت آفاقا تجارية واسعة لإنتاج الهرمونات البروتينات والأمصال بكميات وفيرة وبتكلفة زهيدة. كما زادت من إمكانية تداول الخصائص الوراثية للنباتات والحيوانات والكائنات الحية الدقيقة.

بما أن (DNA) مادة موجودة بشكل طبيعي في البكتيريا كما هو الحال في الفيروسات و الكثير من الكائنات الحية فان هذه الانزيمات القاطعة قد تشكل خطرا على البكتيريا نفسها في قصها الDNA الخاص بها. ولكن هذا لا يحدث و السر في ذلك هو قيام البكتيريا بتحوير أجزاء من الDNA الخاص بها عن طريق إضافة مجموعة الميثيل (Methyl) إلى بعض الأحماض النووي من نوع الادنين او السيتوسن (Methylation at an A or a C residue) فلا يستطيع الانزيم القاطع من قص الحمض النووي الخاص بالبكتيريا.
اوضحت الدراسات الوراثية وجود ثلاثة موروثات مسؤلة عن اجهزة التحوير و والتقييد في بكتريا الايكولاي وهي (hsd S, hsd R, hsd M). وقد وجد ان هذه الموروثات مرتبطة مع بعضها (Linked genes) يعمل ناتج الموروث hsd M على تحوير جزيئات الدنا باضافة جزيئة مثيل الى الادنوسين او السيتوسين في تتابعات معينة مما يجعلها مقاومة لانزيم التقييد الذي يشفر له الموروث hsd R اما ناتج الموروث hsd S فهو ضروري لكلا الانزيمين (التقييد و التحوير) حيث يساعدهما في التعرف على المواضع الحساسة لعملهما.
يعتقد ان لاجهزة التقييد و التحوير وظيفة دفاعية في البكتريا حيث تقوم بحماية البكتريا من الدنا الغريبة الدخلة لها خاصة عند الاصابة بالعاثيات وذلك من خلال فعاليات انزيمات التقييد في تحطيم الدنا الداخلة. او بتحوير الدنا الخاص بها باضافة المثيل لحماية الدنا من انزيمات العاثي.
عند اكتشاف هذه الانزيمات في السبعينيات من القرن المنصرم بدأ العلماء في استخدامها لتقطيع ال (DNA)، وقد ساعدت في عملية التحكم في المادة الوراثية. يوجد حاليا أكثر من مائه نوع من هذه الانزيمات.

تقسم هذه الانزيمات إلى نوعين رئيسيين:

1- النوع الأول يقص شريط ال DNA المزدوج بشكل رأسي مستقيم (Blunt ends)
مثل الانزيم المستخلص من بكتريا(Hemophilus parainfluenzae) و الذي يعرف ب(Hpa I)
2- النوع الثاني يقص بشكل متعرج (Staggered cuts,) و بتالي يجعل طرفي ال (DNA) المقطوع مادة قابلة للارتباط بقطعة غريبة من ال (DNA). مثل الانزيم المستخلص من البكتريا (Escherichia coli) المعروف باسم (Eco RI).
ان استعمال الانزيمات القاطعة ساعد على انتاج قطع ال (DNA) الهجينة (Recombinant DNA) اي قطعة مركبة من قطعتين مختلفتين من ال (DNA).

كيف يتم تسمية الانزيمات؟؟

تتم التسمية حسب طريقة Smith & Nathans 1973 يتكون الاسم من ثلاثة حروف الحرف الاول يمثل الحرف الاول من اسم جنس البكتريا التي يعزل منها و الحرفين الثاني و الثالث يمثلان الحرفين الاول و الثاني لاسم النوع لتلك البكتريا.
كما يضاف حرف اخر في اغلب الاحيان وهذا يمثل الحرف الاول من السلالة او الضرب واذا تم عزل اكثر من انزيم من من البكتريا نفسها يعطى لكل انزيم رقم روماني (I, II, …) فان (HpaI) سمي بهذا الاسم لأنه يوجد في بكتيريا الهيموفلس بارا انفلونزا (Hemophilus parainfluenzae) و هذا الإنزيم يعتبر من

الإنزيمات التي تقطع بشكل رأسي مستقيم. اما الانزيم (EcoRI) فهو مأخوذ من بكتيريا الايكو كولي (Escherichia coli)، ويعتبر من الإنزيمات التي تقطع بشكل متعرج .
و يكتب الاسم في المصادر العلمية بحروف مائلة او يوضع خط تحت الاسم.

السؤال الذي يطرح الان كيف يتعرف الإنزيم القاطع على المكان المفترض أن يحدث القطع فيه؟
كل إنزيم قاطع يعتبر مقص خاص لقطع (DNA) في نقطة محددة. يتعرف الإنزيم القاطع على مكان القطع حسب تسلسل القواعد النووية للقطعة. فكل إنزيم قاطع يميز و يقطع في تسلسل محدد. فمثلا الإنزيم القاطع (Hpa I)يقطع عندما يجد 6 من الأحماض النووية في هذا التسلسل (GTTAAC) بينما الإنزيم القاطع (EcoRI) يقطع عندما يجد 6 من الأحماض النووية في هذا التسلسل(GAATTC)

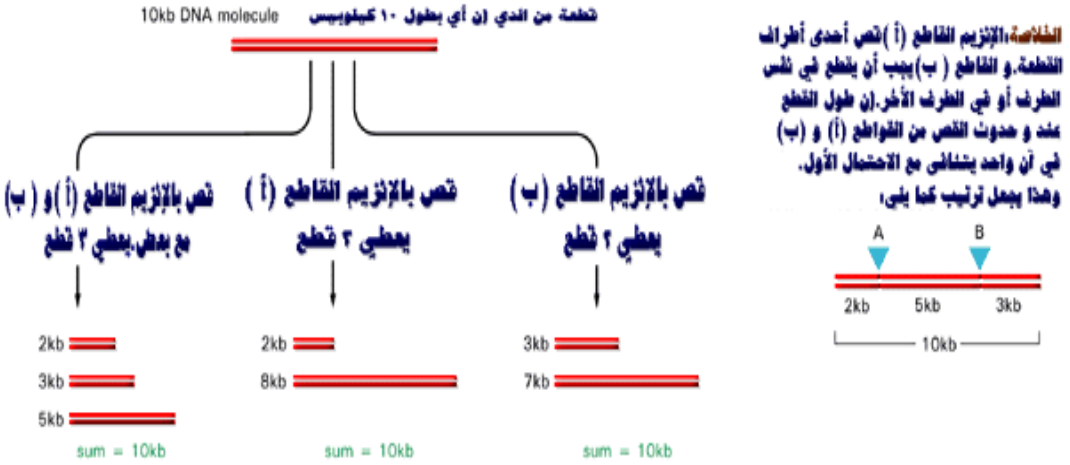
تسلسل مواقع القطع Recognition Sites لبعض الإنزيمات القاطعة

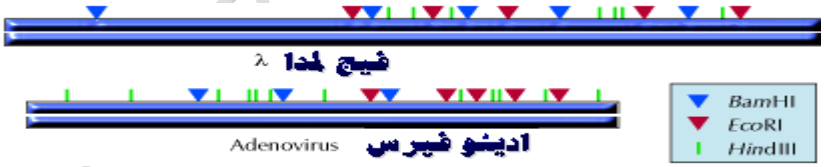
الانزيم القاطع	المصدر	المقطع الذي يميزه
BamHI	Bacillus amyloliquefaciens	GGATCC
EcoRI	Escherichia coli	GAATTC
HaeIII	Haemophilus aegyptius	GGCC
HindIII	Haemophilus influenzae	AAGCTT
HpaI	Haemophilus parainfluenzae	GTTAAC
HpaII	Haemophilus parainfluenzae	CCGG
MboI	Moraxella bovis	GATC
NotI	Nocardia otitidis-caviarum	GCGGCCGC
TaqI	Thermus aquaticus	TCGA

القطع المحددة (Restriction fragments):
عندما يضاف الإنزيم القاطع إلى محلول به شريط من الDNA فانه يقطّعه إلى عدة قطع و ليس إلى قطعتين فقط. كل قطعة مقطوعة بالإنزيم تسمى قطعة محددة. يختلف طول هذه القطع على حسب المسافة بين كل مقطع و أخر. و لكن يجب أن تكون كل قطعة محددة لها نفس الحجم في كل نوع من الكائنات الحية. و ذلك يعني أن كل انسان لديه قطعة محددة معينه يقطعها الإنزيم HpaI القاطع في الكروموسوم رقم 2. و يمكن التأكد من ذلك بتحليل قياس لهذه القطعة بتقنيه الترحيل الكهربائي لل DNA على الجيل بتقنية (Gel Electrophoresis) و إذا حدث أن وجد إنسان ليس لديه نفس الحجم المفترض للقطعة ففي هذه الحالة نستنتج أن هذا الشخص لدية طفرة (تغير في تسلسل الDNA) في احد الأماكن التي كان من المفترض أن يقطعها الإنزيم فلم يتم القطع فيها. و بذلك فان حجم القطعة قد اختلف تعرف هذه الظاهرة عند علماء الوراثة بتفاوت القطع المحددة المصحوب بطفرة (RFLP) Restriction Fragment Length polymorphism-

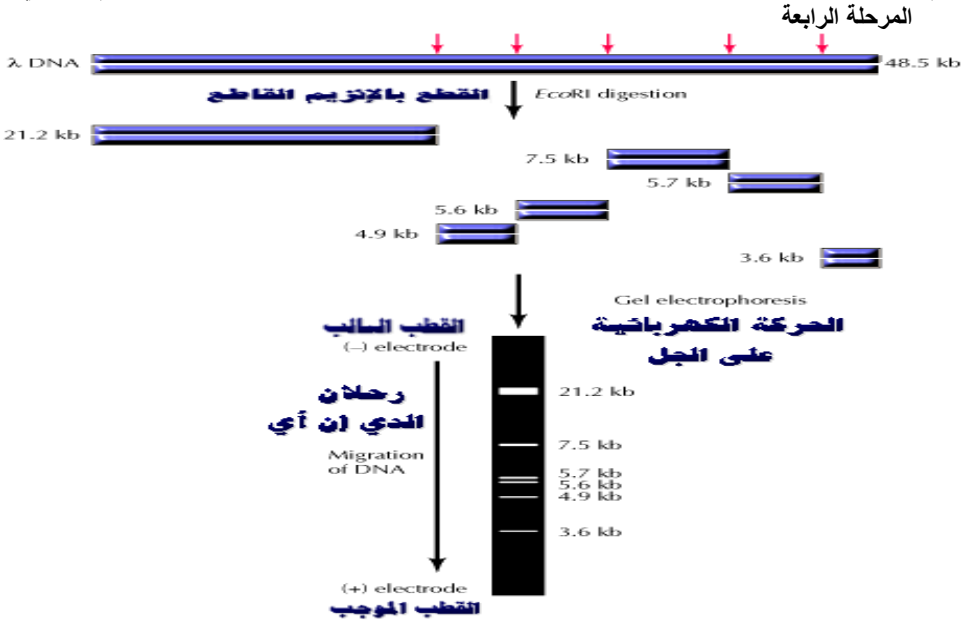
خريطة القطع المحددة Map RFLP's

لقد أنشاء العلماء خريطة تسمى خريطة القطع المحددة لكثير من الكائنات الحية. و هذه الخريطة تبين مكان القطع و محلها مقارنة بالقطع الأخرى. و عملت هذه الخريطة عن طريق تقطيع جميع الكروموسومات بإضافة أنواع مختلفة من الإنزيمات القاطعة ثم رتبت هذه القطع بشكل منتظم. و كان الهدف من هذه الخريطة هو لتحديد نقاط و علامات على طول الشريط الطويل من الDNA التي تتركب منه الكروموسومات و لكي يستطيعوا أن يقارنوا بين هذه القطع في الكائنات المختلفة.





خريطة للقطع المحدودة للامبدا فيج و فيروس الادينوفيرس. توضح مواقع القص لثلاث أنواع من الإنزيمات القاطعة (BamHI, EcoRI, and HindIII)

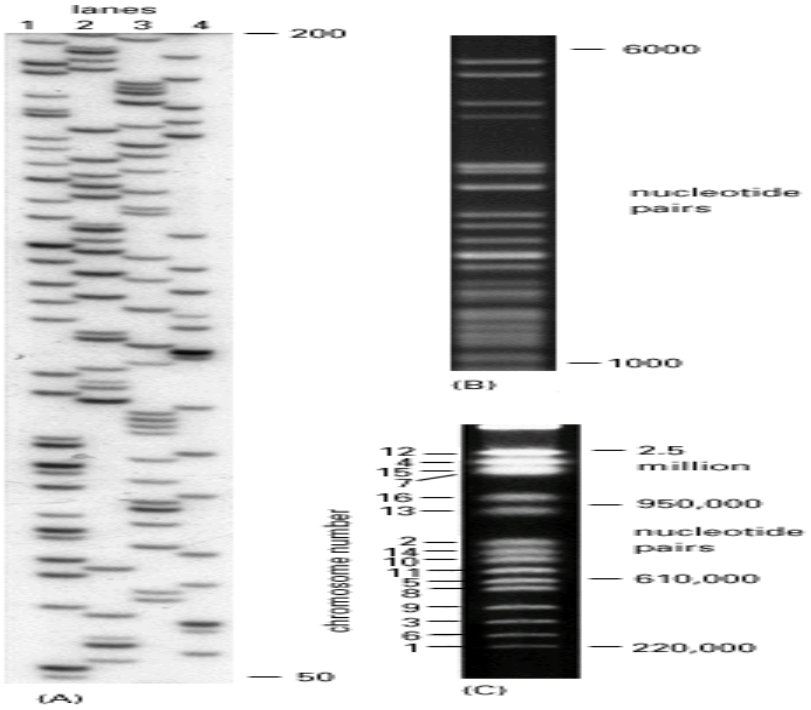


قطعة بطول 48,5 كيلوبيس من البكتريوفيج لامبدا قطع بالإنزيم القاطع EcoRI في خمس أماكن و نتج عنه ست قطع متفاوتة الطول و الحجم. و لقد وضعت هذه القطع على لوح من الاكاروز و فصلة و اخرج حجمها كما هو موضح في الشريط الأسود في أسفل الصورة (الشكل اعلاه) .

فصل قطع الDNA على لوح من الهلام بالكهرباء(Gel Electrophoresis)

استعمل العلماء تقنية فصل البروتينات عن بعضها البعض بطريق انتقالها (الترحيل) وانفصالها عن بعضها البعض، و ذلك عن طريق تعريضها إلى تيار كهربائي و هي على لوح من المادة الهلامية المعروفة بالجيل. ولقد استعمل العلماء نفس الفكرة في فصل قطع الDNA عن بعضها البعض. ومن المعروف أن الحمض النووي عبارة عن شحنة سالبة و لذلك فعند و ضع بعض من الDNA في طرف من أطراف لوح الهلام ثم وتعريضها لتيار كهربائي بحيث يكون القطب السالب عند الطرف الذي وضعنا فيه الDNA و القطب الموجب عن الطرف الأخير من ألواح فان الDNA ينتقل تلقائيا بتجاه الطرف الذي فيه القطب الموجب و تتوقف حركة قطع الDNA على حسب إحجامها على طول اللوح. فالقطع الصغيرة تتحرك بشكل اكبر من القطع الكبيرة. و بذلك يمكن فصل هذه القطع عن بعضها البعض. و يمكن تحديد ا لحجم الفعلي لكل قطعة عن طريق إضافة قطع معروفة الحجم من الDNA و التي تكون مقياس يرجع إليه لاستنتاج أحجام القطع.

هناك نوعان أساسيان من ألواح الجيل. الأول يسمى بجيل الاكاروز (Agarose gel) و الثاني بجيل البولي اكريل اميد (Polyacrylamide gel). نظرا لصغر الفراغات التي بين البولي اكريل اميد فانه يستخدم لفصل القطع الصغيرة الحجم من الDNA و في العادة التي تكون اصغر من 500 جزيء من الحمض النووي و التي تتفاوت بين بعضها البعض بجزيء أو جزيئين (انظر الرسم A). بينما يستخدم الاكاروز للأحجام الأكبر من الDNA. و التي يتراوح حجمها بين 300 إلى 10000 جزيء من الDNA (انظر الرسم B). ومادة الاكاروز هي مادة سكرية مستخرجة من الطحالب و عند تحضيرها فإنها تشبه في قوامها الجيلاتين الذي نأكله و لكنها أقوى في قوامها بعض الشيء وهي قابلة للتمزق عند نقلها بغير حرص.



لقد واجه العلماء صعوبات في فصل القطع الكبيرة من الDNA و ذلك لان هذه القطع و عند وضعها على جيل الاكاروز و بعد تسليط التيار الكهربائي عليها تتوقف لأنها تتمدد بشكل متعرج على شكل ثعبان ملتوي طرف باتجاه القطب السالب و الأخر بتجاه القطب الموجب. و لقد حلت هذه المشكلة عن طريق تعريض جيل الاكاروز إلى مستويات متفاوتة من القوة الكهربائية على طول اللوح و بذلك فان قطعة الDNA الطويلة عندما تتعرض إلى تيار كهربائي مختلف يجعلها تعدل من تمددها المتعرج قبل أن تدخل في التيار الكهربائي الجديد و يستمر هذا التفاوت في التيار و التعديل في قوام القطعة حتى تصل إلى المكان الذي يجب أن تقف فيه حسب حجمها. و يسمى هذا النوع من الفصل بالفصل عن طريق المجال الكهربائي المتردد (Pulsed-field gel electrophoresis). و أمكنت هذه التقنية من فصل قطع كبيرة من الDNA و حتى فصل قطع من الكروموسومات على الجيل و تتراوح القطع التي يمكن فصلها بهذه الطريقة بين 220000 إلى 2.5 مليون جزيء من الDNA (انظر الرسم C).

لا تكون القطع المفصولة بالبولي اكريليميد و الاكاروز واضحة للعيان و لذلك فان لوح الجيل يعرض إلى مادة لصباغة الDNA و اشهر هذه المواد هو مادة برميدات الاثيديوم (Ethidium Bromide) و التي تلمع عند تعريضها للأشعة فوق البنفسجية. و هناك طريقه أكثر دقه لمشاهدة القطع على لوح الجيل و هذه الطريقة تعتمد على إضافة مادة مشعة نووية إلى الDNA قبل أن يوضع على لوح الجيل و لكن هذه الطريقة تحتاج إلى احتياطات معينه لكي لا تضر بمن يستخدمها.

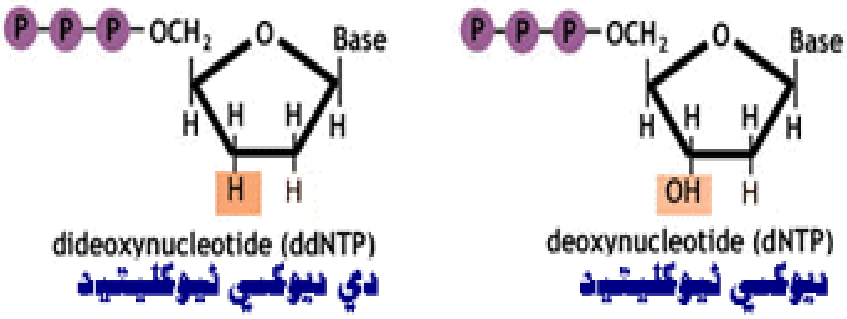
معرفة التسلسل النووي(DNA sequencing)

لا شك أن العلماء يحتاجون إلى معرفة التركيبة التسلسلية لكل موروث و هذا يمكنهم من معرفة المزيد عن البروتين الذي يصنعه ذلك الموروث وعن التركيبة التنظيمية لعمل الموروث و قد يصلون على ضوءه إلى معرفة الأمور التي تتحكم في عمله. كما انه بمعرفة التسلسل النووي للموروث يمكن مقارنته بالموروثات التي

سبق اكتشافها و هذا قد يعطي معلومات غزيرة عن وظيفة هذا الموروث و يختصر الكثير من الابحاث و يتجنب اعادة اجرائها. وهناك طريقتان أساسيتان لمعرفة التسلسل النووي لأي قطعة من الDNA. الأولى تسمى بالطريقة الإنزيمية (Enzymatic method) و الأخرى بالطريقة الكيميائية (Chemical method). و لقد طغت الطريقة الأولى حتى أصبحت هي الطريقة الأكثر استعمالا.

الطريقة الإنزيمية (Enzymatic method):

يطلق على هذه الطريقة أيضا طريقة سانجر (Sanger procedure) نسبة إلى د.فريدريك سناجر و الذي أسس هذه الطريقة. كما أنها أيضا تعرف التسلسل عن طريق دي ديوكسي (dideoxy sequencing). و ترتكز هذه الطريقة على مفهوم أن شريط الDNA في الأساس مبنى من جزيئات من الديوكس يختلف الديوكسي نيوكلويتيد عن دي ديوكسين نيوكلوتيد بعدم و جود مجموعة (هيدروكسي) في النقطة الثالثة من حلقة السكر الخماسية الشكل نيوكلويتيد (dNTPs) deoxynucleotides) و يوجد على النقطة الثالثة من حلقة السكر الريبوزي مجموعة مؤكسدة أي مجموعة هيدروكسيه(OH) و هذه النقطة هي التي ترتبط في النقطة الخامسة من الجزيء الذي يليها و هكذا يتم الترابط لتكوّن شريط طويل من الDNA. و لقد قام د.ستنجر بالاستفادة من هذه الخاصية فبدّل الجزيء من (OH) إلى (H) عن طريق إضافة دي ديوكسيو نيوكلوتيد(ddNTPs) بدل من ديوكسي نيوكلوتيد(dNTPs) و ذلك عن طريق نسخ الشريط مرة أخرى و هذا يؤدي الى توقف ترابط الجزيئات و يكون في طرف كل جزيء نوع واحد من الأحماض النووية.



يختلف الديوكسي نيوكلويتيد عن دي ديوكسي نيوكلوتيد بعدم و جود مجموعة (هيدروكسي) في النقطة الثالثة من حلقة السكر الخماسية الشكل

و فيما يلي الخطوات الأساسية للقيام بهذا الاختبار بالترتيب:

1- القيام بنسخ الDNA و ذلك على الشكل التالي:

أ- أضف إلى عينة الDNA قطع من البريمر(specific primer) يعرف انه سوف يلتصق بالDNA المراد نسخة و معرّف (ملتصق بطرفة) بعنصر مشع.

ب- قسم العينة إلى أربع أنابيب اختبار و كل أنبوبة اكتب عليها الاسماء التالية

(dGTP, dATP, dCTP, and dTTP).

ج- أضف إنزيم البولمريز (DNA polymerase)

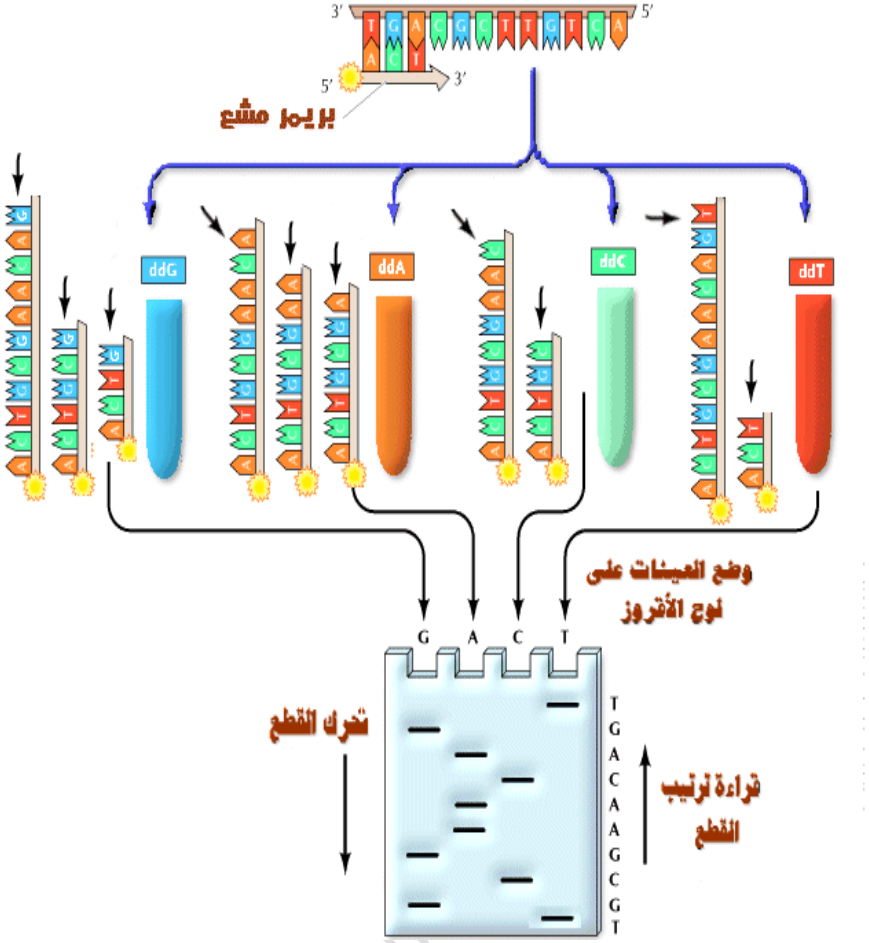
د-أضف إلى كل أنبوبة نوع واحد من الدي ديوكسي نيوكليتيد حسب اسم الأنبوب. و أضيف معه كمية من ديوكسي نيوكليوتيد. سوف يحدث التفاعل و يبداء البريمر ببناء و تركيب و رص هذه الأحماض النووية. وعند إضافته لدي ديوكسي نيوكليتيد فان الشريط يتوقف على هذه النقطة. ثم يحدث تفاعل أخر لنسخ شريط أخر و عند إضافة دي ديوكسي نيوكليتيد يتوقف التفاعل و هكذا تستمر العملية و ينتج في النهاية قطع منسوخة و متفاوتة الطول في كل أنبوب اختبار.

2- أضيف كمية من كل الأربعة أنابيب في حقل خاص على لوح الاكاروز ثم امرر تيار كهربائي و من ثم تظهر على طول اللوح القطع المنسوخة و المتفاوتة الأطوال كل حقل يعطيني ترتيب القطع.

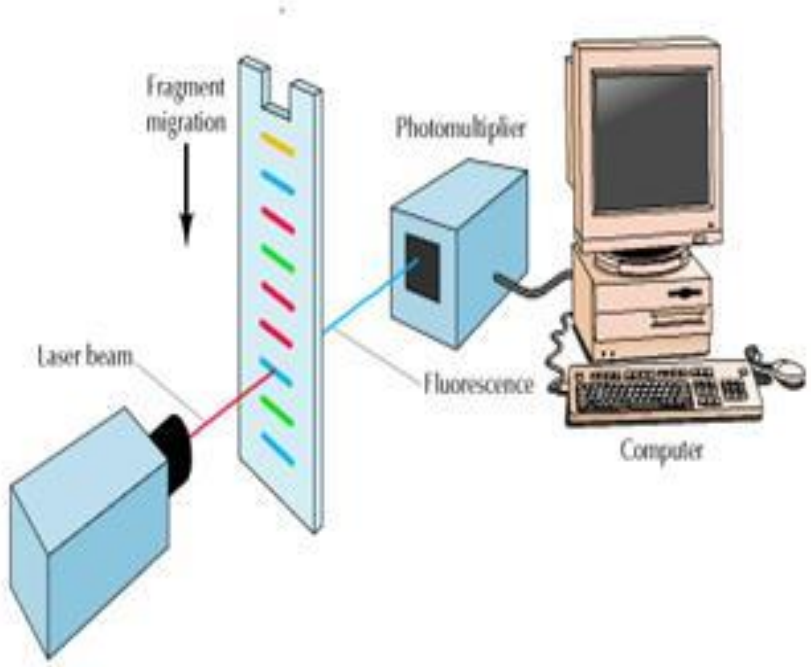
3- تعريضها للأشعة (Autoradiography) لكي يتسنى رؤية الDNA و الذي عليه مادة مشعة.

4- ابدأ بقراءة لوح الاكاروز من أسفل إلى أعلى. وكل ما مر على نسخة من الDNA اعرف ترتيب و نوع الديديوكسي نيوكليتيد الذي في طرفه و استمر في القراءة إلى أن ينتهي لوح الاكاروز.

د. محمد عبد الغفور محمد



لتسهيل عملية القراءة استخدم الكمبيوتر لكي يقرأها بشكل آلي و ذلك بتعريض لوح الاكاروز إلى أشعة ليزر و عن طريق وحدة استشعار و مضخم للنبضات (photomultiplier) يستطيع الكمبيوتر أن يحدد نوع الدي ديوكسي نيوكليتيد و ثم يرتبها و يطبعها و يعطي رسماً بيانياً لاماكن كل حمض نووي و بالألوان. و لا تستخدم المواد المشعة في القراءة الآلية بالكمبيوتر بل يستعاض عنها بمادة مضيئة (fluorescent) توضع على البريمر على أن يكون لكل دي ديوكسي نيوكليتيد لون مختلف عن الآخر(أي أربعة ألوان من المادة المضيئة) و بذلك يمكن أن تمر جميع القطع في ممر واحد كما هو واضح في الرسم الجانبي. و نظرا إلى أن جهاز الكمبيوتر قابل للخطأ فانه يلزم التدقيق و المراجعة لتفادي حدوث الأخطاء. و لقد قامة أجهزة كمبيوتر عملاقة تعمل على مدار الساعة و تحت مظلة مشروع الجينوم البشري بالكشف الكامل(99% تقريباً) عن التسلسل النووي لجميع الDNA الموجود في الإنسان و قد سبق ذلك الكشف عن التسلسل النووي لكثير من الكائنات الحية و العمل جاري لمعرفة المزيد.



د. محمد عبد الغفور محمد

الناقلات (Vectors): **الناقل** والتي تسمى باللغة الإنجليزية "فيكتور" هي في الغالب فيروسات أو قطع من الحمض النووي موجودة في البكتيريا (بلازميدات). كما أن هناك أنواع صناعية تم صنعها في المختبرات و هي في العادة مواد شبه صناعية لأنها في الأصل مصنعة من مواد موجودة في الطبيعة.

البلازميد (Plasmid) وهي من اشهر الناقلات، وهو عبارة عن قطعة صغيرة من الحمض النووي قابلة للتكاثر بمعزل عن بقية الحمض النووي الموجود في الكروموسومات . و هي شبيهة بالفيروس الصغير و لكنها لا تحتوي على طبقة خارجية من البروتين. و البلازميد عبارة عن قطعة من الحمض النووي موجود في البكتيريا خاصة في الاي كولي (E.Coli) و بعض أنوع الخميرة (Yeast). و لديه 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. و يوجد نوعان من البلازميد على حسب نوع الحمض النووي فيها فهناك البلازميد المصنوع من ال DNA و نوع أخر مصنوع من الRNA. و هناك أنواع عديدة من البلازميد فمنها الصغير و منها الكبير كما أن منها ما لا يحتوي على أي موروث بينما هناك أنواع كبيرة تحتوي على عدة موروثات. و بالإضافة إلى وحدة التكاثر الذاتي الموجد على البلازميد هناك الكثير من الموروثات التي قد تكون على البلازميد و هي مفيدة للعلماء في عملية نسخ الموروثات و القطع النووية فمثلا قد يوجد على البلازميد موروث خاص يكافح المضادات الحيوية كالامبيسيلين و التتراسايكلين. و هذه الموروثات الحامية من المضادات الحيوية تساعد في التعرف و عزل البكتيريا التي تحتوي على البلازميد الذي عليه الموروث الذي نريد استنساخه. و يعتقد نظريا أن الفيروسات المنتشرة في الأصل كانت بلازميدات حيث أنها اكتسبت غلاف بروتيني خارجي و أصبحت فيروساً.

YIP, yeast integrating plasmid = selectable marker +cloning sites
YRP, yeast replicating plasmid = YIP + ARS origin of replication
YEP, yeast expression plasmid = YIP + 2 micron origin of replication
YCP, yeast centromere plasmid = YRP + centromere sequence

أنواع البلازميد التي تنمو في خميرة الخبز

الناقلات الفيروسية : (Viral Vectors)

إن اشهر هذه الأنواع هي الفيروسات البكتيرية المعروفة بالفيج .(Phage) و هي عبارة عن قطعة من ال DNAمغطاة بغلاف بروتيني. ومن اشهر أنواع الفيج ما يسمى بفيج لامدا (lambda phage) و هو فيروس موجود في الاي كولي .E. coli وهذا النوع من الناقلات تستطيع أن تحمل قطعة من الDNA حتى غاية كيلوبيز. و لقد حوّرت هذه الفيروسات لكي تستطيع حمل كمية اكبر من الDNA.فعلا سبيل المثال الكوزميد (Cosmidsعبارة عن تهجين جزء (قطعة من ال DNA تسمى اللاصقة cohesive sequence و تعرف مختصرة بالكوز (Cos sequence من فيج لامبدا (Phage) مع بلازميد (Plasmid) والذي يستطيع نقل حتى 40 كيلوبيز (40 kb) و الباك الفيروسي المسمى بكروموسوم بي 1 الصناعي (PAC P1-derived (Artificial Chromosomesعبارة عن تحوير للفيج بي 1 (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 الDNA 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 بـ الياك او كروموسوم الخميرة الصناعي (Yeast Artificial Chromosomes /YAC) الذي يستطيع نقل أكثر من 500 كيلوبيز (500kb)

و **الياك** عبارة عن قطعة من الDNA مترابطة و تحتوي على طرفين للكروموسوم(2 (Telomeres و مركز للكروموسوم (Centromere) و مركز للتكاثر(Autonomous replicating sequence ARS) . بينما الباك البكتيري(Bacterial Artificial Chromosomes / BAC) والذي يستطيع حمل حتى 150 كيلوبيز (kb150) و تحوير للبلازميد المعروف ببلازميد تناسل بكتيريا الايكولي-E.coli fertility plasmid factor)

نوع الناقل Vector	حجم الDNA الذي يستطيع حمله
البلازميدStandard plasmid	0- 10 KB
لامبدا بكتيريوفيج محور Lambda Bacteriophage	0-23 Kb
كوزميدCosmid	30-44 Kb
بكتريوفيج بي 1 Bacteriophage P1	70-100 Kb
كروموسوم بي 1 الصناعيP1 P1Artificial chromosome PAC	130- Kb 150
كروموسوم البكتيريا الصناعي Bacterial Artificial	بحد أقصى Kb300

Chromosome BAC	
كروموسوم الخميرة الصناعي Yeast Artificial Chromosome YAC	0.2-2 Mb

النسخ والاستنساخ :(Cloning)

يشتهر بين الناس كلمة الاستنساخ نظرا لارتباطها بخلق الكائنات أو إنشاء نُسخ منها. و لكن بالمصطلح الطبي فان كلمة نسخ أو استنساخ تعنى عملية إنشاء صورة طبقا الأصل من المادة التي يراد نسخها. و قد يكون النسخ لقطعة من الDNA أو نسخ كائن حي متكامل. و لا شك أن لغتنا العربية تفرق بين كلمة نسخ و استنساخ و لكننا سوف نستخدم كلمة نسخ أو استنساخ في حديثنا لنعني نفس الشيء. و في كلمة استنساخ باللغة العربية تعني) (Cloningوينتج عنه نسخة أو مستنسخ (Clone) عندما قام الدكتور... و فريقه العلمي بنشر ,Nature 385) (1997 ,13-810خبر استنساخ النعجة' دولي' في احد مختبرات اسكتلندا (مختبر روزيلين) عام 1997 زاد اهتمام العالم بموضوع الاستنساخ و زاد الفضول العلمي في الحديث عن استنساخ الإنسان و فجر ذلك الخبر الكثير من التحفظات الدولية من كثير من المراكز الدينية و العلمية على الجانب الأخلاقي من عملية استنساخ الإنســـان .

بعد ذلك الخبر أصبحت كلمة استنساخ تستخدم بين العامة في الحديث عن عملية خلق نسخة أخرى من الحيوان أو الإنسان و بذلك بدأ البس بين الكثيرين في معنى هذه الكلمة. و لا شك فان العلماء كانوا و مازالوا يستعملون هذه الكلمة في الإشارة إلى عملية صنع نسخة من أي مادة وراثية و ليس بالضرورة خلق أو نسخ كائن حي بالكامل. و لذلك فالعلماء يقسمون الاستنساخ أو النسخ إلى 3 أنواع :

1- نسخ أو استنساخ القطع من ال DNA عن طريق الهندسة الوراثية و بما يعرف بتهجين ال DNA Recombinant DNA technology

2- الاستنساخ التكاثري أو الجنسي Reproductive cloning.

3- الاستنساخ العلاجي Therapeutic cloning.

نســـخ أو استنســـاخ القطـــع مـــن ال DNA عـــن طريـــق الهندســـة الوراثيـــة

إن ما يهتم به العلماء في باب الاستنساخ هو نسخ قطع من ال DNA كانت هذه القطع عبارة عن جين(مورث) أو جميع الجينوم(أي كل ال DNA الموجود في الكائن الحي). و اشهر العمليات التي تجرى هي نسخ قطعة من ال DNA. و يحتاج العلماء للقيام بنسخ القطع لأنهم يحتاجون إلى كمية كبيرة من هذه النسخ و ذلك لندرة استخلاصها في كل مرة من داخل الخلية و ذلك لوجود التعقيدات الإنشائية للكروموسومات . و على سبيل المثال فان الموروث المنتج لسلسة بيتا في الهيموجلوبين و المعروف بمورث ببيتا جلوبين (Beta-Globin Gene) يمثل فقط 0.00005% من حجم ال DNA الكلي في الخلية (و الذي يتراوح ب 3بلايين قاعدة نووية). كما أن الموروث العملاق و المعروف بجين الدستروفين (Dystrophin Gene) و الذي يتراوح حجمه بال2.5 ميكابيز (2.5(Megabases لا يمثل أكثر من 0.08% من الحجم الكلي لل DNA في الخلية. و لذلك فان العلماء يحتاجون إلى إجراء نسخ لهذه الموروثات أو القطعة من ال DNA لكي يتسنى لهم التعامل بها و إجراء التجارب عليها. و هناك طريقتان رئيسيتان للنسخ :

1- النسخ عن طريق استخدام الخلايا الحية (Cell-Based DNA cloning)
2- النسخ عن طريق غير الخلايا الحية (Cell-Free DNA cloning) و ذلك باستخدام PCR (Polymerase chain reaction)

النسخ عن طريق استخدام الخلايا (Cell-Based DNA cloning)

يرتكز النسخ باستخدام الخلايا الحية على ثلاث خطوات:

1- تصميم قطعة مهجنة من ال DNA المراد نسخها و الDNA من ناقل (Vector) و لدية القدرة على التكاثر. و ذلك عن طريق استخدام الإنزيمات القاطعة (Restriction enzymes).

2- نقل القطعة المهجنة و التي هي بداخل الناقل إلى خلية حية و في العادة تستخدم البكتيريا (Bacteria) خاصة النوع المعروف بالايكولي (E,coli) او الخميرة (Yeast).

3- اختيار المستعمرات البكتيرية التي تحتوي على الناقل و القطعة المهجنة و السماح لها بالتكاثر.عن طريق أطباق الزراعة (Culture Plates)أو في محاليل سائلة.

4- استخلاص القطع المهجنة و استخراج الـ DNA منها بكميات كبيرة .

1- تصميم القطع مهجنة من ال DNA

يعتمد النسخ باستخدام الخلايا الحية على قدرة القطعة المراد نسخها على الانقسام أو التكاثر الذاتي عندما توضع داخل الخلية الحية. و لا شك أن قطع ال DNA العادية ليس لديها القدرة على التكاثر الذاتي و لذلك فان العلماء قاموا بتجاوز هذا الأمر بان ادخلوا القطعة التي يريدون نسخها في ناقل من النواقل (Vectors) المعروفة بقدرتها على التكاثر الذاتي(راجع موضوع النواقل). و بغض النظر عن نوع الناقل فان طريقة إدخال قطعة ال DNA المراد نسخها إلى الناقل تقريبا واحدة.

و هذه الخطوات ببساطة كما يلي

1- بعد أن يتم تحديد القطعة المراد نسخها يضاف إليها إنزيم قاطع محدد و ليكن مثلا إنزيم (أ) فيقوم هذا الإنزيم بقطع ال DNA في مكان محدد حسب التسلسل النووي .

2- يضاف نفس الإنزيم للناقل و الذي يقوم بقطعة أيضا في نفس التسلسل النووي.

3- تضاف القطع المراد نسخها بعد قطعها بالإنزيم القاطع إلى الناقل المقطّع. فتتداخل التسلسلات النووية بين الناقل و بين قطع ال DNA المراد نسخها. ينتج من ذلك قطعة مهجنة من الناقل و بداخله القطعة المراد نسخها. و ترتبط قطعة ال DNA البلازميد من أطرافها برابطة هيدروجينية و هي رابطة ضعيفة لذلك يضاف إنزيم يسمى لايكيز أو اللاصق (Ligase) لكي يحول الترابط بين قطعة ال DNA والناقل إلى رابطة قوية (Covalent Bond).إن أكثر الناقلات استخداما هي البلازميد و لكن يمكن استخدام الفيج أو الياك أو أي ناقل أخر. و الذي يحدد نوع الناقل المراد استخدامه هو في العادة كبر القطعة المراد استنساخها. ففي حالة القطع الصغيرة يستخدم البلازميد أو الفيج بينما يستخدم الياك أو الباك في حالة القطع الكبيرة.

2- نقل القطعة المهجنة و التي هي بداخل الناقل إلى خلية حية

في الغالب تستعمل البكتيريا خاصة النوع المعروف الايكولي (E.Coli) في عملية الزراعة و ذلك لسهولة إدخال الناقل إليها، و إلى سرعة انقسامها (تنقسم البكتريا تقريبا كل 20 دقيقة)، إضافة إلى توفر طرق الاختيار خاصة التي تعتمد على خاصة الحماية من المضادات الحيوية. و يدخل البلازميد أو الفيج تلقائيا إلى داخل البكتيريا بينما الناقلات الأخرى تحتاج إلى مساعدة، و في العادة بتغيير تركيز الأملاح المحيطة بالبكتيريا أو تعرض إلى نبضة كهربائية لكي يسمح الجدار المحيط بالبكتيريا بدخول الناقلات. و من طبيعة البكتريا إنها تنقسم تلقائيا و بشكل سريع و كذلك البلازميدات .

3- اختيار المستعمرات البكتيرية التي تحتوي على الناقل و القطعة المهجنة مع تكاثر الخلايا البكتيرية و تكاثر البلازميد التي بداخلها ينتج لدينا أعداد كثيرة من المستعمرات البكتيرية و بها البلازميد المهجن. و لكن قد يكون في داخل الطبق الذي زرع فيه البكتريا بعض البكتريا التي لا تحتوي على البلازميد المهجن و لكي يمكن التعرف على البكتيريا التي تحتوي على البلازميد المهجن فانه في العادة يقام باستعمال ناقلات عليها جينات واقية من المضادات الحيوية، كالجين الواقي من المضاد الحيوي امبيسيلين أو التتراسيكلين و غيرها. و بذلك فالمضاد الحيوي سوف يمنع تكاثر أي خلية بكتيرية لا تحتوي على البلازميد المهجن و الذي على الجين الواقي من المضاد الحيوي.

4-استخلاص القطع المهجنة و استخراج ال DNA منها بكميات كبيرة

بعد أن يُتعرف على المستعمرات التي تحتوي على البلازميد المهجن فانه يمكن نقلها إلى طبق جديد و يحافظ عليها و تغذى لكي تستمر بالتكاثر. و هذه البكتيريا يكون فيها أعداد كثيرة من البلازميد و بذلك تنتهي عملية النسخ. و يستفاد من هذه القطع المنسوخة في القيام بالمزيد من البحوث أو التجارب عليها كأن يقام مثلا إنتاج مكتبة من ال DNA أو محاولة استنتاج التسلسل النووي للقطعة. كما يمكن تحوير هذه العملية بحيث يحتوي البلازميد على قطعة من سي دي إن أي (cDNA) بدل و من ال DNA ثم تحوير المراحل الأخيرة من الزراعة لإنتاج بروتين. و هذه الطريقة هي التي تستعمل في إنتاج بعض الهرمونات كهرمون النمو و الانسولين.

تفاعل البليمريز التتابعي

تحفظ المعلومات الوراثية وانتاج المواد لصنع الخلايا والحفاظ عليها في داخل الحمض النووي (DNA). وتقوم الخلية بمضاعفة كمية الحمض النووي وقت انقسام الخلية بشكل تلقائي وبشكل سريع مع وجود نظام تصحيح للأخطاء خلال النسخ. وتبلغ سرعة النسخ والمضاعفة إلى 1000 قاعدة نيتروجينية بالثانية (داخل النظام الحيوي) وهي كما ذكرنا تحدث في الخلية في وقت التكاثر والانقسام فقط.

ومع التطور في مجال التكنولوجيا الحيوية والذي يقوم على التعامل مع الحمض النووي (DNA) بشكل أساسي ، استدعى ذلك العلماء على أن يبحثوا عن طريقة أو تقنية تقوم على مضاعفة كمية الحمض النووي (DNA) بشكل كبير ، فكان هناك عدة محاولات لتنشيط الخلية على الانقسام المستمر بإضافة عوامل النمو growth factors ، ولكن هذه الطريقة لم تكن ذات جده لدى العلماء لأسباب كثيرة. إلى أن توصل العالم د. كري مولس Dr. Kerry Mullis في عام 1985 (و قد حصل على جائزة نوبل في الكيمياء عام 1993) بنشر اختراعه لتقنية البي سي ار PCR فكانت هذه التقنية بوابة لكثير من التطورات المتسارعة في مجال التكنولوجيا الحيوية ، من أهم الأسباب التي ساعدت هذه التقنية على الانتشار عدم اعتمادها على النظام الحيوي (أي الخلية) و التحكم بكمية الحمض النووي (DNA) وسرعة في الإنتاج ولكن كان من عيوب هذه التقنية عدم وجود نظام إصلاح أخطاء الارتباط الخاطئ miss match .

ما هو PCR :

هو تقنية مختبريه تم اكتشافها عام 1983م تقريباً تقوم على إكثار نسخ الحمض النووي (DNA) خارج النظام الحيوي . أي أنها طريقة لنسخ الحمض النووي في المختبر. و لذلك فهي تقنية حيوية لاستنساخ قطعة محددة من الحمض النووي و مضاعفة إنتاجها لكي يتسنى إجراء اختبارات و فحوصات إضافية عليه.

ما هي متطلباتPCR :

لإنتاج الحمض النووي (DNA) بواسطة PCR يتتطلب توفير :

1. جهاز للتحكم بدرجات حرارة التفاعل بشكل دقيق و متتالي الدورة الحرارية Thermocycle) : ويقوم هذا الجهاز بتغير درجة الحرارة بشكل سريع ، لآن تغير درجة الحرارة هو الأساس الذي تقوم عليه فكرة هذه التقنية .

2. البوليمريزPolymerase : وهو الإنزيم الذي يقوم ببناء وترتيب القواعد النيتروجينية (و حدات الحمض النووي (DNA) ، ويجب أن يكون هذا الإنزيم مقاوم للحرارة العالية ليتمكن من العمل . و قد اكتشف انزيم مقاوم للحرارة و اسم تاك Taq Polymerase. حيث تم عزله من البكتريا التي تعيش قرب الابار الساخنة و تعيش في درجات حرارة تتراوح بين 50 -80 درجة مئوية.

3. مجموعة متفرقة من القواعد النيتروجينية: (A T C G) ليتمكن الإنزيم من ترتيبها في مواقعها أثناء عملية نسخ الحمض النووي (DNA) .

4. بريمر Primer : وهو قطعة صغيرة من الحمض النووي (DNA) ليتمكن الإنزيم من بداء البناء و النسخ عليها .

5. Template DNA: وهو الأهم ويمثل نسخة من الحمض النووي (DNA) المراد نسخه.

6. بالإضافة إلى محلول أو وسط ليتم به التفاعل : وهذا المحلول يختلف بين تفاعل و أخر .

عملية النسخ :

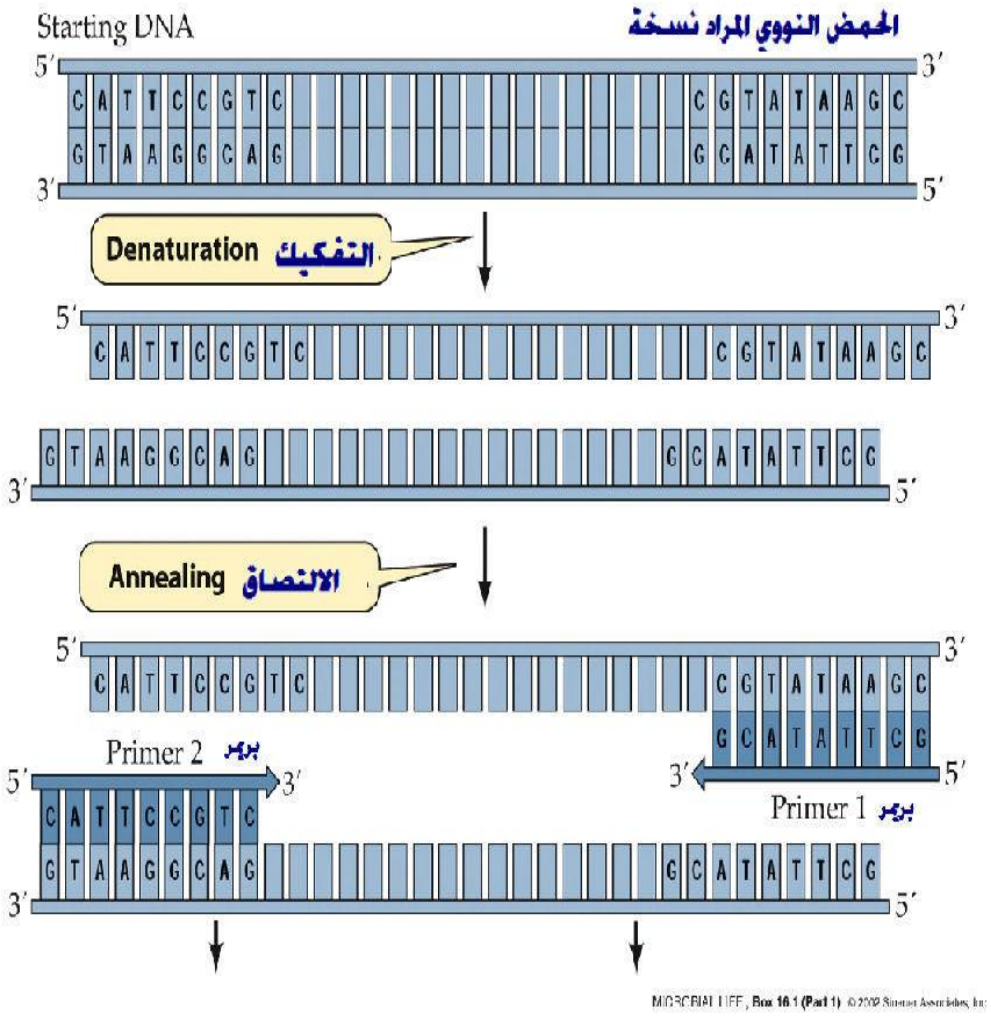
بعد وضع الحمض النووي المراد نسخة مع البرايمر و إنزيم البوليميريز و مجموعة مع القواعد النووية في أنبوب مع محلول التفاعل في داخل جهاز التحكم الحراري فان هناك 3 مراحل منفصلة تمر بها عملية النسخ:

1. مرحلة التفكيك Denature : رفع الحرارة إلى 94˚م وذلك لفك الحمض النووي (DNA) الأصل وتحويله الى سلسلة مفردة.

2. مرحلة الالتصاق anneal : إنزال الحرارة إلى ما بين 55-60˚م ليقوم البريمر بالألتزاق فيزيائياً بواسطة الروابط الهيدروجينية مع الحمض النووي (DNA) الأصل او القالب.

3. مرحلة الامتداد extend : ثم يقوم برفع درجة الحرارة إلى 75˚م ليقوم البوليمريز بعمله في بناء الحمض النووي (DNA) الجديد .

وهذه المراحل الثلاث تعتبر دورة كاملة وفيها يصبح الحمض النووي (DNA) الأصل قد تضاعف ، وتعتمد كمية ناتج الحمض النووي (DNA) على عدد الدورات (والصورة التالية توضح العملية) .



تطبيقات PCR :

لتقنية PCR تطبيقات كثيرة في مجال أبحاث الحمض النووي (DNA) و الوراثة ومنها :

1. الكشف عن الطفرات الوراثية : وذلك عن طريق وضع بريمر خاص للطفرة لتكثير الجين الخاص بها . ومنه نقوم بمعرفة المرض إذا كان على زوجين الكروموسومات أو على احدهما (allele) .

2. تعين البصمة الوراثية .

3. الكشف عن الفيروسات : وهذه الطريقة هي الأدق في تحديد نوع وجنس الفيروس وكميته.

4. هو العنصر الأهم في عملية التجميع الجيني (Recombinant الحمض النووي (DNA)) : حيث نقوم بتكثير الجين المراد إدخاله على البلازمد أو الحمض النووي (DNA) المضيف .

5. استخدامه في تغير نهايات الجين لتصبح متوافقة مع إنزيمات القطع (Restriction enzyme) .

6. هو العملية الأساس في تحديد تتابع القواعد النيتروجينية في الحمض النووي (DNA) (الحمض النووي (DNA) Sequencer) .

7. معرفة طول الحمض النووي (DNA) .

8. تقنية الحمض النووي (DNA) المكمل (الحمض النووي (cDNA) .

9. تحديد الجين المطلوب من خليط من الجينات .

10. يستخدم في تقنية (microarrays).

11. في مشروع الخارطة الجينية البشرية (human genome project) .

12. الساوثرين بلوت (southern plot) .

13. تقنية ارتباط الحمض النووي (DNA)– بروتين

(DNA-Protein Interaction).

14. في مجال الطب الشرعي (اختبار الأمومة ، حالات الاغتصاب ، تحديد الهوية ... الخ) .

وغيرها من التطبيقات المخبرية والبحثية .

أنواع PCR : هناك نوعان من PCR :

1. PCR العادي: وهو ما تم شرحه والتطرق اليه في الخطوات السابقة.

2. RtPCR: وهو اختصار لـ (Real Time PCR): وهذا النوع يقوم على نفس المبدأ ولكن الخلاف الوحيد يكون مربتط الجهاز بكمبيوتر لتحديد الوقت الحقيقي لبدا التفاعل ومن ثم الكمية الحقيقية لعدد نسخ الحمض

د. محمد عبد الغفور محمد

النووي (DNA) ويعتمد ذلك على وجود قواعد نيتروجينية حرة مشعة لتحديد ذلك. مما يسهل على الباحثين الوقت لتحدد وجود الجين المطلوب أو لا ، وكمية الجين بدون الوصول إلى نهاية الدورات الحرارية المحددة .

محاضرة: التحوير الوراثي

تقنية الهندسة الوراثية

تعني الهندسة الوراثية نقل المورثات من كائن حي إلى كائن آخر مختلف كلياً عنه بحيث يعبر المورث المنقول عن نفسه في الكائن الجديد المنقول إليه، مثل نقل المورثات من البكتريا إلى النبات والذي كان مستحيلاً قبل ظهور هذه التقنية و تطورها. لقد تطورت هذه التقنية بصورة سريعة جداً وذلك بسبب التطور السريع في علم البيولوجية الجزيئية للنبات منذ بداية التسعينات من القرن المنصرم ففي عام 1991 حضر المؤتمر العلمي الثالث للبيولوجية الجزيئية للنبات المنعقد في توسان-اريزونا 3000 شخص وعرضت 2000 بحث في المؤتمر. هذا بالإضافة إلى العدد الكبير من المجلات العلمية الجديدة في هذا المجال.

لماذا الهندسة الوراثية؟

1-تساعد طرائق التربية التقليدية على نقل المورثات بين كائنات حية متوافقة جنسياً، بينما يمكن باستخدام الهندسة الوراثية نقل المورثات بين أي كائنين حيين.

2-تساعد الهندسة الوراثية في التحكم في مكان تعبير المورثات المنقولة مثلا التعبير عن موروثة منقولة في الأوراق و ليس في الثمار.

3-تساعد الهندسة الوراثية في اسراع برامج التربية.

طرائق ادخال الموروثات الى النباتات Plant transformation

أولا-استعمال بكتريا *Agrobacterium tumefaciens*

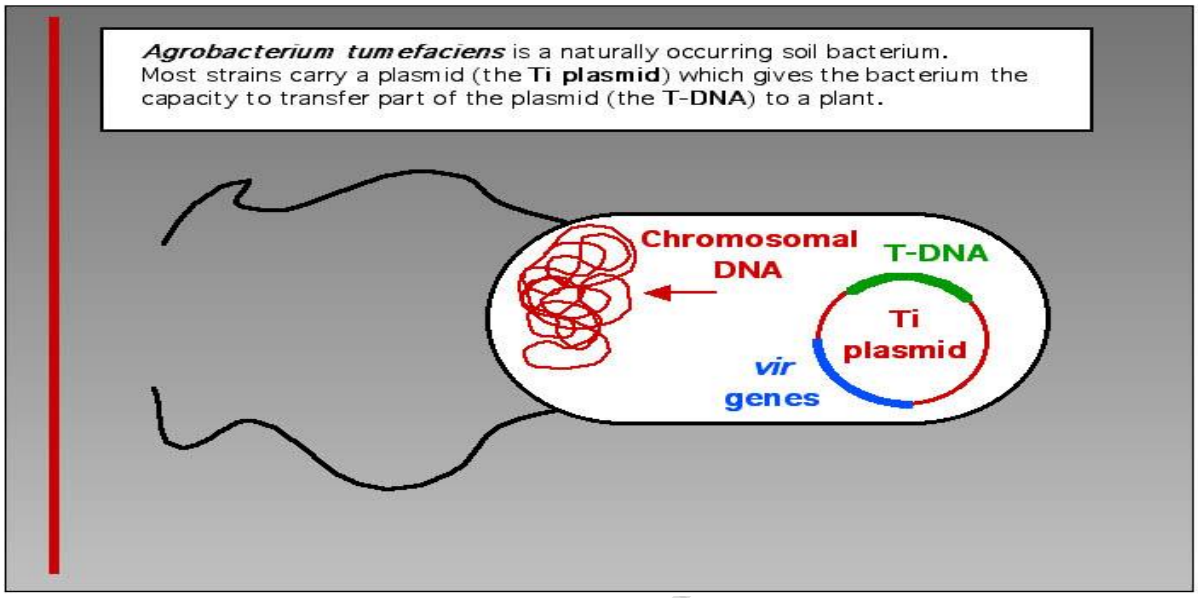
الاكروبكتريوم نوع من البكتريا التي تعيش في التربة و هي من نوع كرام السالب. تصيب هذه البكتريا عادة نباتات ذات الفلقتين مسببة اورام فيها تعرف ب crown gall او التدرن التاجي حيث تنتقل قطعة من دنا البكتريا الى دنا النبات وبذلك يقوم النبات بإنتاج الهرمونات و مشتقات الأحماض الأمينية اللازمة لتغذية البكتريا مؤدية الى اصابة النبات بالمرض. وفي بداية عام 1980 تمكن علماء البيولوجيا الجزيئية من انتاج سلالات معدلة وراثياً من هذه البكتريا التي يمكن استخدامها كناقل لادخال الموروثة المرغوبة الى النباتات المختلفة. فقد تم التخلص من الموروثة المسببة للمرض من الدنا البلازميدي للبكتريا و استبداله بالموروثة المرغوبة المراد نقلها الى النبات مع إضافة الموروثات الأخرى التي تساعد على الكشف عن خلايا النبات المتحولة و اخرى تساعد الموروثة على التعبير في النبات.كما تم تحوير البكتريا بحيث اصبحت قادرة على اصابة نباتات ذات الفلقة الواحدة التي اصلا تقاوم الاصابة بهذه البكتريا وقد تم استخدامها بنجاح لتحوير نبات الحنطة والرز.

تعتمد هذه الطريقة على خاصية الاكروبكتريوم التي تعيش في التربة و تحتوي على موروثين على كروموسوم البكتريا تتحسس بوجود جرح على سطح النبات، حيث انها تستشعر بذلك لان النبات يفرز المواد الفينولية من منطقة الجرح. فتتجه البكتريا نحو النبات المجروح و تدخل الى داخل خلاياه. و لهذه البكتريا خاصية اخرى فهي تحتوي على بلازميد علاوة على الكروموسوم يعرف ب Ti بلازميد. هذا البلازميد يحمل عدة موروثات (شكل1-3) احدها مسؤول عن الاصابة بالمرض، كما يحتوي على قطعة من الدنا تعرف بال T-DNA لها القابلية على الاندماج مع دنا نواة النبات. وهذه القطعة من الدنا تحتوي على مجموعة من الموروثات المسؤولة عن انتاج الهرمونات واشباه الاحماض الامينية اللازمة لتغذية البكتريا و بهذه الطريقة تقوم البكتريا بتحوير دنا النبات و تجبره على انتاج المواد الضرورية لنموها و هكذا تحدث الاصابة بالمرض في الطبيعة.

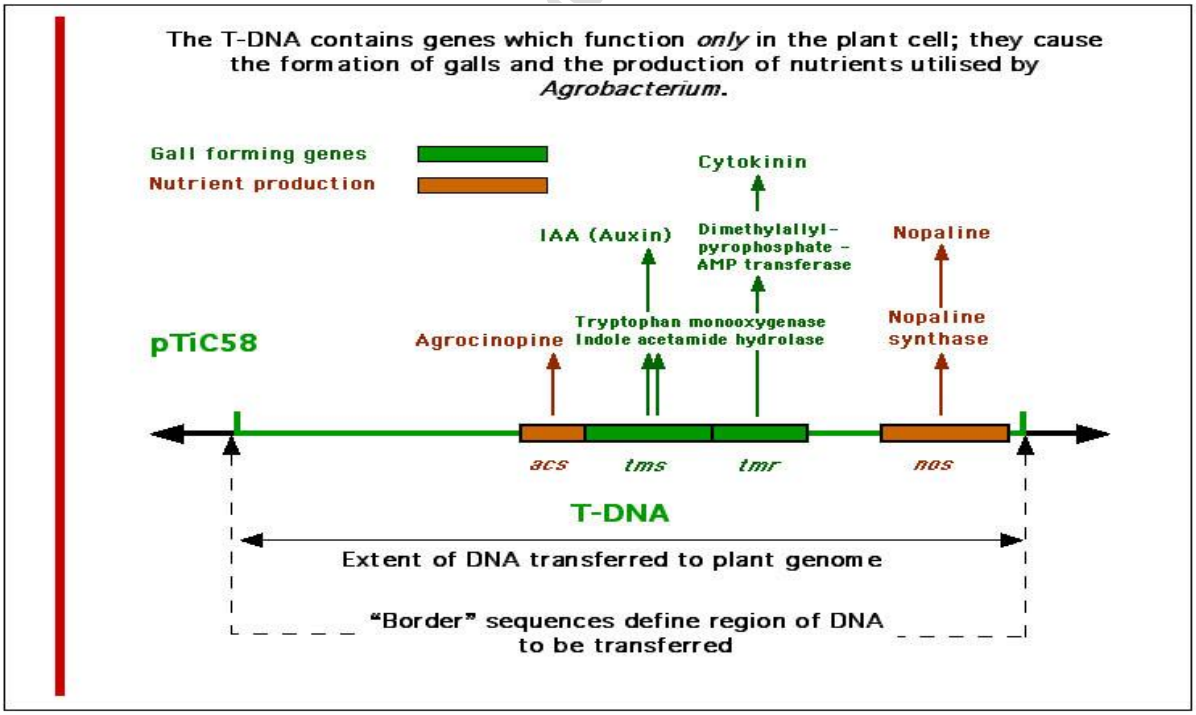
وقد استفاد العلماء كما ذكرنا من هذه البكتريا عن طريق تحوير البلازميد و استخدامه كناقل للموروثات المطلوبه. فقد تم ازالة الموروث المسبب للمرض اولا ثم تم التخلص من اغلب الموروثات في قطعة T-DNA واضافة الموروث المراد نقله الى النبات بدلا منها وكذلك اضافة موروث للكشف عن عملية التحوير (الموروث الكاشف) (شكل 3) مثل

موروث المقاومة للمضاد الحيوي كانامايسين، وكل الموروثات الازمة لجعل الموروث المنقول قادر على التعبير في النبات المحور.

شكل (1) يبين الاكروبكتريوم و المحتوى الوراثي لها (الكروموسوم و البلازميد)



شكل (2) يبين الموروثات المكونة لقطعة الT-DNA الموجودة ضمن الTi بلازميد للاكروبكتريوم



ثانياً-التحوير الوراثي للخلية المنزوعة الجدار

أ- الطريقة الكيماوية

كانت اول محاولة لنقل الدنا مباشرة الى النبات في عام 1984 حيث تم عزل الدنا من البلازميد و ادخل الى بروتوبلاست (خلية منزوعة الجدار) التبغ و البتونيا بوجود ال poly-L ornithine او polyethylene glycol (PEG) وقد تم تحسين هذه الطريقة و زادت كفاءتها و تم تحوير العديد من المحاصيل المهمة اقتصاديا بهذه الطريقة.

كفاءة هذه الطريقة تعتمد على إمكانية الحصول على نبات كامل من البروتوبلاست بوجود وسط انتخابي عالي الكفاءة الذي يميز الخلايا المتحولة عن غيرها. و كانت أول المحاولات على الأنواع التابعة للعائلة Solanaceae حيث يمكن الحصول على نبات من البروتوبلاست بسهولة. واستخدم المورث neomycin phosphotransferases npt II المسؤول عن المقاومة للمضاد الحيوي Kanamycin للكشف عن الخلايا المحورة وراثياً ولما كانت اغلب نباتات احادية الفلقة تقاوم المضاد الحيوي لذا تطلب ايجاد وسيلة انتخاب اخرى فقد استخدم المورث المسؤول عن مقاومة الهيكرومايسين فوسفوترانسفريز hygromycin phosphotransferase (hpt) و المورث phosphinotricin acetyl transferase (pat) التي اثبتت كفاءة عالية في انتخاب الخلايا المحورة وراثيا من ذوات الفلقة الوحدة و ذوات الفلقتين.. و استخدم نبات الارابيدوبسس Arabidobsis thaliana كنبات مثالي لتثبيت مستلزمات التقنية و بعدها امكن الحصول على نبات من بروتوبلاست اغلب الانواع النباتية وقد تم تحوير نباتات الرز و الذرة الصفراء و غيرها.

ما يجب مراعاته

1-تركيز ايون المغنيسيوم و الكالسيوم في محلول التحضين.
2-تركيز ال PEGووزنه الجزيئي.
3-الوضع الفسيولوجي للدنا مثلا الجزيئة المزدوجة المستقيمة افضل من الملتوية وكذلك الجزيئة المفردة و الرنا يمكن ادخالها مباشرة الى الخلايا.

شكل(4) يبين اندماج البروتوبلات بطريقة الثقب الكهربائي

ب- الثقب الكهربائي:

حيث تستعمل صدمات كهربائية لعمل ثقوب في اغشية الخلايا و التي تسهل عملية نفاذ الدنا الى الخلايا المنزوعة الجدار بكفاءة أعلى من الطريقة الكيماوية.

وتتميز الطريقتين أعلاه بما يأتي:

1-سهلة وذات كفاءة عالية.
2-يمكن معاملة عدد كبير من البروتوبلاست في التجربة الواحدة و يمكن الحصول على آلاف النباتات المحورة.
3-يمكن تحوير المادة الوراثية قبل عملية النقل.
4- لا تقتصر على نوع واحد من النباتات.

المساوئ

قد ترتبط عدة نسخ من الموروثة المنقولة.
إعادة ترتيب القواعد النووية في الدنا المضاف.
دخول الدنا المنقول في مواقع عشوائية.

ثالثاً-التحوير الوراثي للخلايا الكاملة بواسطة الثقب الكهربائي

استخدمت طريقة الثقب الكهربائي في عام 1985 لتحوير البروتوبلاست و تم الحصول على العديد من النباتات المحورة وراثيا بهذه الطريقة الا ان صعوبة الحصول على نبات كامل من البروتوبلاست لاغلب المحاصيل المهمة اقتصاديا دفعت الباحثين الى محاولة إدخال الدنا مباشرة الى الخلية باستخدام الثقب الكهربائي و قد تكللت هذه المحاولات بالنجاح في عام 1986 بعد اجراء بعض التعديلات على الطريقة و ذلك بعمل جروح في النسيج بطريقة ميكانيكية او بتحضين النسيج في محلول انزيمي قبل ادخال الدنا الى الخلايا. كما لوحظ ان بعض أنواع الخلايا تتقبل الدنا بدون أي معاملات أولية مثل الاجنة غير الناضجة للحنطة، الذرة الصفراء، والرز.

العوامل التي يجب مراعاتها لنجاح هذه الطريقة

1-قوة التيار الكهربائي المستخدم.
2-نوع و تركيز الايونات في المحلول الحاوي على الدنا.
3-المدة الزمنية لتحضين النسيج المجروح في المحلول الدارئ لمنع عمل الأنزيمات.
4-المدة الزمنية لتحضين النسيج المجروح في المحلول الحاوي على الدنا المراد إدخاله الى الخلايا.
5-الصدمة الحرارية قبل عمل الثقب.
6-طريقة وضع و ترتيب النسيج في غرفة الثقب الكهربائي.

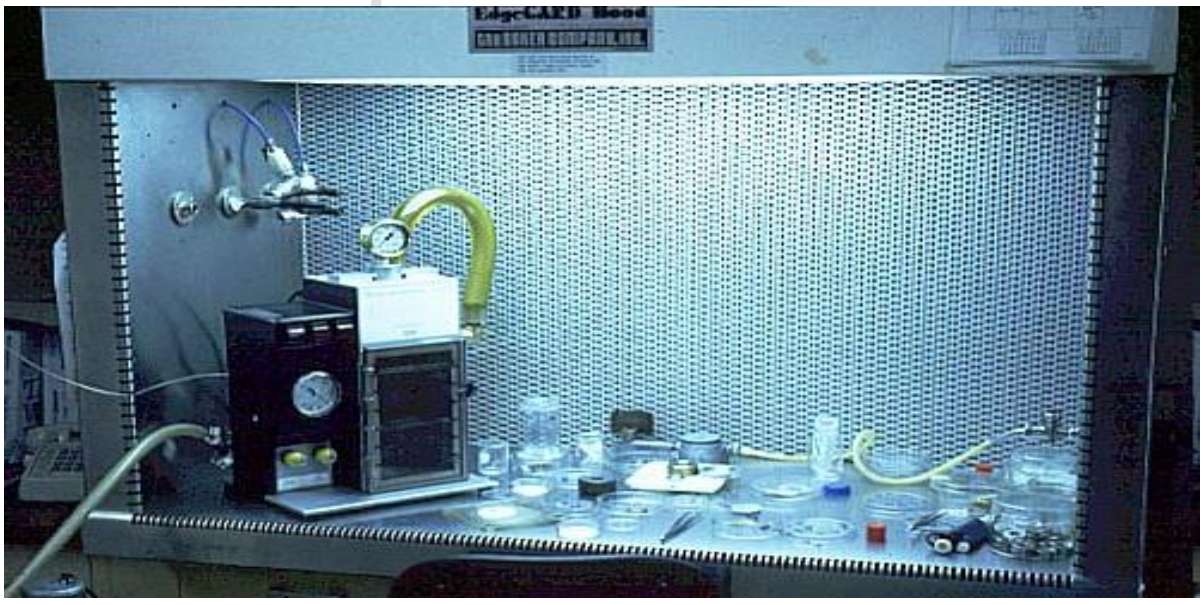
وتعتبر هذه الطريقة سهلة وسريعة و رخيصة وتصلح للعديد من الأنواع النباتية خاصة إذا كان النسيج المستخدم من النوع الذي لا يحتاج الى معاملات أولية قبل عملية إدخال الدنا.

رابعاً-المدفع الجيني

لهذه الطريقة عدة اسماء منها (Particle bombardment, Biolistic, Microprojectile bombardment, Particle acceleration) او ما يعرف بالمدفع الجيني. هذه الطريقة عالية الكفاءة و تستخدم لكل الكائنات الحية و تعتبر الطريقة المثلى في الوقت الحاضر للأسباب آلاتية:

1-يمكن إجراء عملية التحير الوراثي على الأنسجة المتخصصة.
2-واسعة الاستعمال حيث يمكن استخدامها لجميع الكائنات الحية.
3-يمكن تحوير جميع أصناف المحاصيل الاقتصادية الشائعة التداول.

شكل (5) جهاز البايولستك



تعتمد هذه الطريقة على توفر جهاز البايولستك. ويعمل هذا الجهاز بطريقة الفراغ و الضغط. يحتوي الجهاز على غرفة وضع النماذج التي يتم تفريغ الهواء منها بواسطة جهاز تفريغ الهواء (VACUMالفاكيوم) الى حد معين و من ثم ادخال غاز الهليوم بضغط عالي مما يساعد على دفع ذرات الذهب او التنكستن المحملة بالدنا الى الخلايا المراد تحويرها.

تحضر النماذج النباتية بوضعها وسط طبق معقم بطبقة خفيفة لضمان وصول الدنا المنقول لها و يوضع في المكان المخصص له داخل الجهاز. اما الدنا المراد نقله فيتم مزجه جيدا بواسطة الرجاج مع ذرات الذهب او التنكستن المعقمة. ثم توزع بدقة على الفلتر المعقم الخاص بالجهاز ويوضع الفلتر مع قرص خاص في الحاوية الخاصة ثم يوضع في غرفة القذف في المكان المخصص له و الذي يكون فوق الطبق المفتوح الحاوي على النسيج النباتي المراد تحويره. ومن الجدير بالذكر ان جميع المراحل اعلاه تتم تحت ضروف معقمة.

العوامل التي يجب مراعاتها عند استخدام هذه الطريقة

العوامل الخاصة بطريقة العمل:

1-الخصائص الطبيعية و الكيماوية و الفيزياوية لذرات المعدن المستخدم لحمل الدنا المراد إدخاله الى الكائن الحي:

يجب ان تكون ذرات المعدن ذات كتلة عالية ليكون لها زخم ملائم لاختراق النسيج مثل الذهب و التنكستن و البلاديوم. و لا تتفاعل مع الدنا او مكونات الخلية الأخرى.

2-طبيعة وتحضير و ارتباط الدنا بذرات المعدن:

مراعاة كمية الدنا المستخدمة و كذلك إضافة مواد أخرى مثل كلوريد الكالسيوم و السبرميدين لتساعد على التصاق الدنا بذرات المعدن.

3-النسيج المراد تحويره:

يجب ان يكون النسيج المستخدم ذو سمك يسمح بدخول ذرات المعدن و له القابلية على إخلاف نبات.

العوامل البيئية

وتشمل درجة الحرارة و شدة الإضاءة و الرطوبة التي تعرض لها النسيج او الجزء المراد تحويره وهذه لها تأثير مباشر على نجاح العملية.

العوامل البيولوجية

1-نوع و طبيعة الجزء النباتي المستخدم و الظروف البيئية التي تعرض لها قبل وبعد عملية التحوير.

2-تعرض النبات الى الشدود البيئية مثل الإصابة بالأمراض الفطرية و البكتيرية المختلفة او التعرض الى الجفاف او الرطوبة العالية.

بعض التطبيقات العملية للهندسة الوراثية

أولا-ما تم إنجازه في تحسين النبات في الهندسة الوراثية

أ-المقاومة للحشرات

من أهم إنجازات الهندسة الوراثية في النبات نقل المورث المسؤول عن مقاومة الإصابة بحشرة حفار الساق التي تصيب العديد من المحاصيل الاقتصادية حيث تم عزل المورث المعروف Bt من البكتريا المعروفة (*Bacillus thuringiensis*) وتم إدخاله بطرق النقل المختلفة إلى الذرة والقطن والبطاطا والرز التي أصبحت مقامة لهذه الحشرة دون الحاجة إلى استعمال المبيدات الحشرية الملوثة للبيئة. وتمت هذه العملية من قبل شركات مختلفة التي احتكرت بيع التقاوي المحسنة و أصبحت تتحكم بأسعار السوق.

ب-المقاومة لمبيدات الأدغال

تم عزل المورث المسؤول عن المقاومة لمبيد الأدغال المعروف كلايفوسيت و نقله إلى العديد من المحاصيل الاقتصادية مثل القطن و الذرة وفول الصويا و بذلك اصبح من الممكن استعمال هذا المبيد في الحقول المزروعة بتلك

المحاصيل للقضاء على الأدغال بنوعيها العريضة و الرفيعة الأوراق دون أن تتأثر المحاصيل الاقتصادية. و تقاوي هذه المحاصيل أيضا محتكرة من قبل الشركات المنتجة.

ت-تحسين نوعية الحاصل

تم عزل المورثات من البكتريا و الفيروس و الطماطة المسؤولة عن سمك جدران ثمرة الطماطة و تأخير موعد النضج ونقلها إلى الأصناف المختلفة من الطماطة لتحسين نوعيتها ورفع القيمة الاقتصادية لها و المحافظة عليها من التلف أثناء عملية التسويق.وكذلك تم نقل مورثات من البكتريا المسؤولة عن تثبيت النيتروجين إلى محصول الجت لزيادة إنتاجيته.

ث-المقاومة للفيروسات

تم عزل المورثات المسؤولة عن مقاومة الفيروسات المختلفة من البكتريا و الفيروسات و إدخالها إلى المحتوى الوراثي للبباية و الشجر فأصبحت هذه المحاصيل مقاومة للإصابة الفيروسية دون الحاجة إلى استعمال المبيدات.

ج-استحداث العقم الذكري

تم استحداث العقم الذكري في أصناف معينة من الذرة الصفراء بنقل مورثات غير معروفة الأصل لاحتكار الشركات لها حيث إن هذه النباتات المحورة تسهل عملية إنتاج الهجن ذات الإنتاجية العالية.

بالإضافة إلى تلك المنجزات التي تمت بواسطة الشركات التجارية الاحتكارية هنالك بحوث أجريت في بعض المختبرات العالمية مثل معهد الرز العالمي في الفليبين وبعض الجامعات في دول العالم المختلفة إلا إن النباتات المحورة وراثياً المنتجة عن طريق الهندسة الوراثية لم تستعمل في الحقول إلا بتطبيق ضوابط معينة فقد سنت الدول المختلفة القوانين اللازمة لذلك. وتجرى البحوث الخاصة بالهندسة الوراثية في مختبرات خاصة ويتم زراعة النباتات في بيوت زجاجية مصنوعة بطريقة خاصة بحيث تقاوم الكوارث الطبيعية مثل الأعاصير البراكين والهزات الأرضية.

ثانيا-استخدام المؤشرات الوراثية الجزيئية في تربية و تحسين المحاصيل

لقد تطور علم البيولوجية الجزيئية وتوفرت العديد من التقنيات التي ساعدت على عزل المورثات ومعرفة التركيب الجزيئي لها فقد اصبح من الممكن رسم خارطة للمورثات وتحديد موقع كل منها على الكروموسومات مما يسهل عملية نقلها من كائن حي إلى آخر والكشف المبكر عن الهجن الحاملة للموروث المعني وبذلك يتم اختصار الزمن والجهد المطلوب باستخدام طرق التربية الكلاسيكية. وتعتمد هذه التقنيات على توفر بعض الأجهزة مثل جهاز PCR الذي يساعد على تخليق المادة الوراثية خارج الجسم الحي بدقة متناهية وبسرعة هائلة مما يسرع في عملية الكشف والتشخيص وتحتاج هذه العملية أيضا إلى توفر بعض المواد الكيميائية مثل الأنزيمات القاطعة وإنزيمات تخليق المادة الوراثية وبعض المواد القياسية الأخرى.

وباتباع هذه التقنيات تم وضع الخارطة الوراثية لمحصول الرز والحنطة ولازالت البحوث قائمة في هذا المجال لإكمال تحديد المواقع على الكروموسومات للمورثات المختلفة في المحصولين المذكورين أعلاه ومحاصيل أخرى.

استخدام المؤشرات الوراثية الجزيئية في تشخيص هوية النباتات المختلفة

المقدمة

حدث تقدم كبير في انتاج العديد من المحاصيل الاقتصادية في العالم نتيجة لأستخدام الطرائق الحديثة في العمليات الزراعية من السقي والمكافحة والتسميد علاوةً على استخدام الأصناف ذات الانتاجية العالية التي تم الحصول عليها من قبل مربي النبات بطرق التربية الكلاسيكية مثل التهجين والتشعيع والانتخاب. الا ان هذه الزيادة لا تكفي نتيجة النمو السكاني السريع في العديد من دول العالم وزيادة الطلب على المواد الغذائية للانسان والحيوان. وفي العقدين المنصرمين ساهمت التقنيات الحياتية والتطور الذي حدث في علم الوراثة الخلوية و الجزيئية في توفير وسائل ساعدت على زيادة كفاءة طرق التربية والحصول على العديد من المحاصيل ذات

المواصفات الانتاجية الجيدة وصفات الجودة المرغوبة التي تعذر الحصول عليها في الماضي. فقد ظهر التطور في اتجاهين متميزين من التقنيات الحياتية وهما زراعة الانسجة و الطرائق الوراثية الحديثة. وقد شمل الاتجاه الاول على :

1- نجاح اخلاف نباتات من الانسجة و الخلية المنزوعة الجدار.
2- انتاج النباتات المحورة وراثياً من الخلايا التي تحمل الجينات المسوؤلة عن الصفات الاقتصادية المحسنة.
3- انتاج الهجن الجسمية باندماج الخلايا المنزوعة الجدار و اندماج الخلايا المنزوعة الانوية.
4- استحداث الاصناف الجديدة من خلال زراعة الاجزاء الجنسية.
5- استحداث التغييرات الوراثية في الخلايا الجسمية واخلاف نباتات منها.

اما الاتجاه الثاني فقد شمل على:

1- ايجاد خرائط وراثية غنية للمحاصيل الاقتصادية.
2- عزل وتقطيع المادة الوراثية في النواة والاعضاء.
3- استخدام المؤشرات الجزيئية في تعليم جينات الصفات النوعية و الكمية.
4- استخدام المؤشرات الجزيئية في عملية الانتخاب.
5- نقل الجينات من الاصناف البرية الى المحاصيل الاقتصادية.
6- التوصيف الجزيئي للمسببات المرضية.

أن الاتجاه الثاني يعتمد مباشرةً على تقنيات الوراثة الجزيئية والمؤشرات الوراثية وان الاتجاهين متداخلين ولا يمكن الفصل بينهما. كما ان المؤشرات الوراثية الجزيئية تمثل حلقة الوصل الفعالة بين هاتين الاتجاهين و تربية النبات. ولما كان الهدف الرئيسي لمربي النبات هو تحسين الانتاج النوعي والكمي للمحاصيل الاقتصادية لذا لابد من الدخول في هذه التقنية لزيادة الدقة والكفاءة في الانتخاب واختصار الفترة الزمنية اللازمة لها وانتاج الاصناف الجديدة المحسنة.

المؤشرات الوراثية

تعرف المؤشرات الوراثية بانها أي وسيلة لشخيص وتحديد أي موروث على الصبغيات للنوع وتقسم المؤشرات الوراثية الى ثلاثة انواع وهي:

1- المؤشرات المظهرية: هي أي موروث له تأثير واضح على الشكل المظهري للفرد.
2- المؤشرات الكيمياوية: هو أي موروث يسيطر على تكوين بروتين معين او انزيم يمكن استخلاصه وتشخيصه بطريقة الترحيل الكهربائي او أي وسيلة اخرى.
3- المؤشرات الجزيئية: قد يكون قطعة صغيرة من الحامض النووي التي يمكن تشخيصها بالتقنيات الجزيئية الحديثة.

يمكن استخدام المؤشرات الجزيئية في وضع الخرائط الجينية التي توفر فرصة جديدة في استخداماتها التطبيقية في الوراثة وتربية النبات، فهذه المؤشرات مستقلة عن بعضها البعض، سيادتها شبه تامة، وهي صفات غير مميتة ولا تتأثر بالبيئة و لا يوجد تداخل بيئي.

انواع المؤشرات الوراثية الجزيئية

توجد عدة انواع من المؤشرات الجزيئية ولكل منها فوائد خاصة به لذلك يجب اختيار المؤشر الملائم لتحقيق هدف معين. ان ملائمة المؤشر الوراثي لبرنامج معين تنحصر في قدرته على تمييز الفرد الوحد ضمن المجتمع، عدد المواقع الجينية التي يمكن الكشف عنها في تفاعل واحد، وكلفة الطريقة مقارنةً بالهدف الذي ستحققه. والانواع هي:

1- RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphisms

هذه المؤشرات الجزيئية لا تعتمد على تقنية الPCR حيث يتم تقطيع الدنا بالانزيمات القاطعة ثم ترحل القطع المتكونة على الهلام وهذه الطريقة مفيدة في تحديد الاختلافات في موقع موروث معين في الصنف الواحد وكذلك وضع الخارطة الوراثية للموروثات لانها ذات سيادة غير تامة. تحتاج هذه الطريقة الى كمية كبيرة و نقية من الدنا ووقت طويل وايدي عاملة ماهرة كما انها باهضة الثمن ويستخدم فيها مواد مشعة.

2-المؤشرات التي تعتمد على تقنية الPolymerase chain reaction (PCR) : وهي طريقة سريعة وتحتاج الى كمية قليلة جداً من الحامض النووي وذات كلفة واطئة مقارنةً بالطريقة السابقة. وقد ظهرت عدة طرق منها تختلف عن بعضها البعض بنوع البادئ وهذه الطرق هي:

1- RAPD: هذا المؤشر يكشف عن التغاير بكفاءة أعلى من الطريقة السابقة ويحتاج الى كمية قليلة من الحمض النووي ومن مساوئه يكون سائد.

2- SSR) Simple Sequence Repeats): مؤشر يتطلب جهد كبير حيث يجب تحديد تلك المواقع اولاً ثم تقطيعها. وهي مؤشرات مهمة لأنها ذات سيادة غير تامة وتساعد على الكشف حتى بين الافراد ذات القرابة العالية وهي الأفضل في دراسة الارتباط الوراثي في النبات ووضع الخرائط الفيزياوية ودراسة المجتمعات النباتية والكشف عن الأصناف.

3- AFLP) Amplified Fragment Length Polymorphisms): يساعد هذا المؤشر في الكشف عن التغاير في عدة مواقع في تفاعل واحد. وهي من النوع السائد والعمل فيها اكثر صعوبة من RAPD و SSR .

4- SAMPL وهو عبارة عن دمج للمؤشرين SSR و AFLP وتساعد هذه المؤشرات على الكشف عن مواقع متعددة في تفاعل واحد كما في AFLP وتعطي المعلومات التي يمكن الحصول عليها من SSR دون الحاجة الى معرفة تسلسل القواعد النووية في قطعة الحامض النووي.

5- SCARD : وهي مؤشرات قد تكون ذات سيادة تامة او غير تامة.

6- Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) هذا المؤشر يكشف الفرق بين الاصناف حتى وان كان نيوكليوتيدة واحدة.

استخدامات المؤشرات الجزيئية

1- تقدير الاختلافات الوراثية بين و داخل المجتمعات، العينات، او مجاميع النباتات المنزرعة و اقاربها البرية.
2- تشخيص المتطابقات.
3- تحديد مركز التدجين.
4-دراسة العلاقة التطورية بين الانواع و الرتب الاعلى.
5- ايجاد افضل الطرائق لحفظ المصادر الوراثية.
6- تحديد الثبات الوراثي للاصناف.
7- تتبع الاحياء المجهرية و النباتات المحورة وراثياً.

في الوقت الحاضر يمكن اعتماد المؤشرات الجزيئية (RAPD , AFLP) كوسيلة لتشخيص هوية الاصناف المستخدمة في برامج التربية الحالية ومنها يمكن تشخيص التغييرات الوراثية التي استحدثت في هذه الاصناف من طرق التربية المختلفة لزيادة دقة و كفاءة برامج التربية واختصار الزمن. وكذلك يمكن الكشف عن النباتات المحورة وراثياً الداخلة الى القطر باستخدام المؤشرات الذكورة اعلاه.

وتتضمن هذه التقنية الخطوات التالية:

1- عزل الحامض ا لنووي من النواة والاعضاء وتنقيته.
2- تحديد البادئات الخاصة بقطعة الحامض النووي المطلوب تشخيصه.

3- مضاعفة جزء معين من الحامض النووي باستخدام التفاعل المتسلسل (PCR).
4- الترحيل الكهربائي للحامض النووي الناتج من التفاعل المتسلسل تشخيص التغايرات وهوية الصنف قيد الدراسة.

د. محمد عبد الغفور محمد