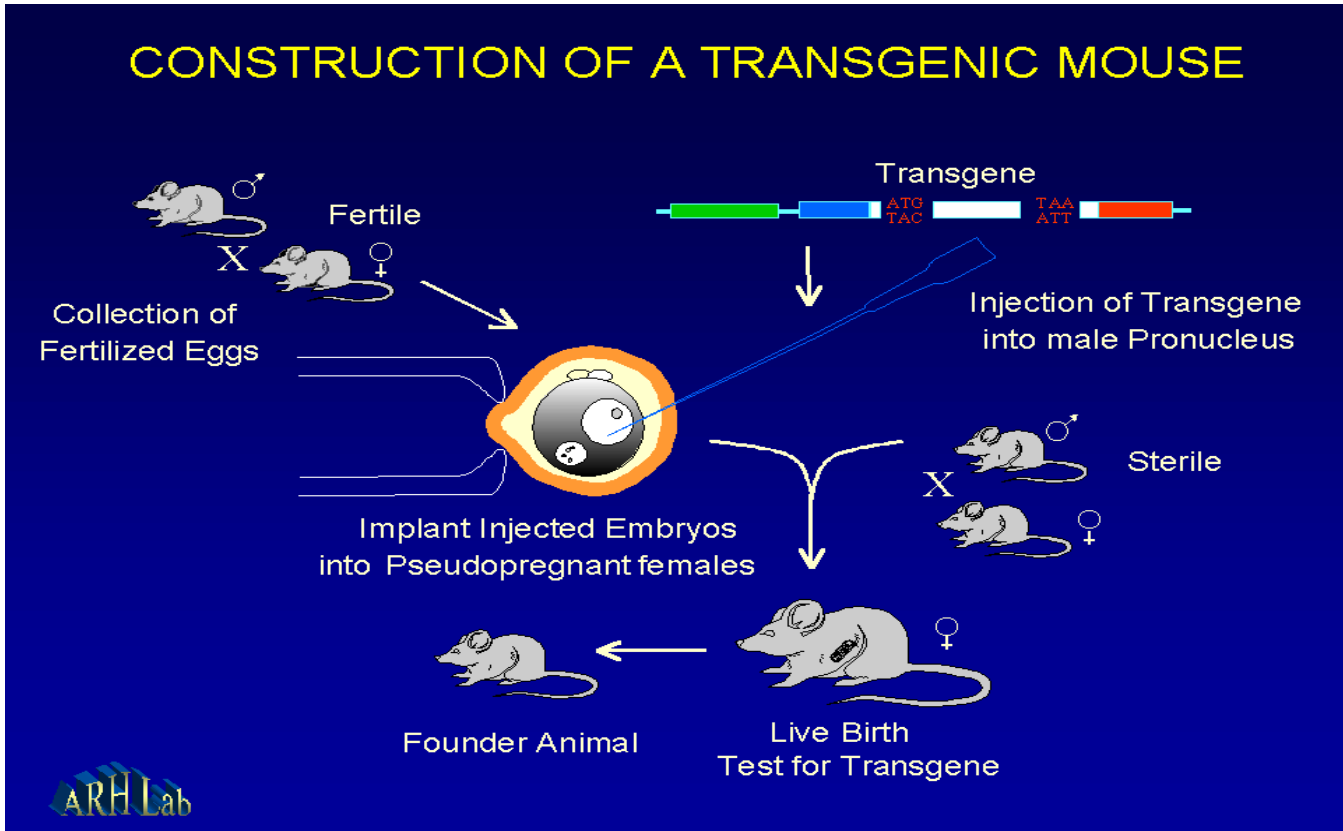


(الخليطة) مع **إناث سوداء** ويختبر النسل Progeny بحثا عن الطفرة المستهدفة ويستبعد الفأر **الاسودوالبني** ويستمر في تزاوج الذكور والإناث الباقية لتلد فئران تحمل الطفرة بصورة نقية أي استنساختين من الجين الطافر فتظهر عندئذ **الشذوذ الجسدي أو المرض** للتعرف على وظيفة الجين المستهدف.



شكل ٤٠: كيفية الحصول على فئران محورة وراثيا.

بعض فوائد الهندسة الوراثية :

لقد اصبح للهندسة الوراثية اهداف عظيمة تحقق بعضها والعمل جارى على قدم وساق لتحقيق الباقي ولن تنتهي الطموحات التي فتحها هذا العلم لخدمة البشرية في كافة المجالات ومنها ما يخص مجال تطوير المحاصيل الزراعية:-

١. إنتاج نباتات مقاومة للأمراض الفيروسية :

وهي من أهم الصفات الواعدة التي تقدمها الهندسة الوراثية لتحسين الإنتاج النباتي حيث لا توجد وسيلة مباشرة لعلاج المحاصيل المصابة بالفيروسات سوى الوقاية من الإصابة بها عن طريق الممارسات الزراعية الجيدة مثل:

١- استخدام دورة زراعية مناسبة.
٢- التخلص من الحشائش وبقايا المحصول السابق التي تكون عائلا ثانيا للفيروس في فترة عدم وجود العائل الأساسي.

٣- استعمال مبيدات الحشرات القاتلة للحشرات الناقلة للفيروس.

وتعتمد فكرة هندسة النباتات المقاومة للأمراض الفيروسية على الدراسات السابقة في مجال **الوقاية المضادة Cross protection** والتي وجدت أن عدوى النباتات بفيروسات ضعيفة تحصن النباتات ضد السلالات الأكثر ضراوة وعندما تمكن **بيتش وزملاءه سنة ١٩٩٠** في جامعة واشنطن من نقل الجين المسئول عن إنتاج الغلاف البروتيني لفيروس التبغ الموازيكي Tobacco mosaic virus (TMV) في نبات الطماطم حيث عبر هذا الجين عن نفسه وانتج بروتين الغلاف الفيروسي وجد أن النباتات قاومت الإصابة الفيروسية بشدة وبذلك اثبت بيتش صحة نظريته الافتراضية القائلة أن بروتين غلاف (TMV) يضيف المقاومة على سلالات هذا الفيروس وغيره من الفيروسات القريبة الصلة به، وبذلك التقنية أمكن هندسة أكثر من اثني عشر نباتا مقاوم للفيروسات.

٢. نباتات مقاومة للحشرات:

اعتمدت فكرة مقاومة الحشرات خلال الثلاثون عاما الماضية على **إنتاج بروتين** تنتجه بكتريا **Bacillus thuringiensis** لنقوم تلك البروتينيات على قتل الحشرات. استخدمت تلك المستخلصات البروتينية Bt على نطاق واسع في **مقاومة الحشرات حرشفية الأجنحة** (الفراشات وأبي دقيق) والتي تعتبر آفات رئيسية حيث تقوم تلك البروتينيات بالارتباط بأغشية أمعاء الحشرات المستهدفة بأن يتم انتقال الأيونات من البروتينات Bt إلى الخلايا الطلائية بالأمعاء فتتعطل قدرة الحشرات على التغذية وتموت. تلك المبيدات الحشرية ليس لها تأثير سام على الثدييات بل ولا على الأنواع الحشرية الأخرى وفعاليتها لا تدوم إلا وقتا قصيرا وبالتالي فهي آمنة بيئيا. ولقد ثبت ان وجود جينات Bt داخل نبات **القطن** قد جعلها مقاومة لكل **الآفات اليرقية الرئيسية** بما فيها **دودة جوزة القطن** وعلية يمكن ان يؤدي استخدام تلك النباتات المهندسة إلى خفض كميات المبيدات الحشرية بنسبة ٤٠-٦٠%. ولقد تم البحث عن جينات Bt أخرى لتؤثر على حشرات غير يرقية وقد امكن تصميم جين فعال ضد **خنفساء كلورادو** التي تصيب البطاطس. كما امكن تصميم جين Bt اخر في شركة ميكوجين بسان ديجو بكاليفورنيا **لمقاومة النيماطودا**، كما صمم جين فعال ضد **البعوض الناقل للملاريا**. وقد اكدت الاختبارات ان بروتينات Bt انها آمنة بيئيا فضلا على ان نسبة وجودها في النباتات المهندسة وراثيا لا تتعدى ٠.١% من البروتين الكلى في النبات المحور وهذا البروتين يتحلل تماما كأى بروتين في القناة الهضمية.

٣. ثمار أفضل نوعية وتقاوم التلف:

طور الباحثين طريقتين لاطالة عمر الثمرة

الاولى: هي ايلاج جينات تؤثر على جينات **النضج** وهذه الجينات هي المسئولة عن انتاج **الاثيلين** والأنزيمات الأخرى وذلك بأن تنتج بروتينات تقوم بالارتباط مع RNA الخاص بالنضج فيمنعه من استنساخ البروتينات الخاصة بالنضج فتؤخر النضج وتقاوم الرخاوة.

ثانيا: اما الاتجاه الآخر هو ايلاج جين يقوم بتصنيع إنزيم يقوم بتحليل مركبات **الطليعة Precursor** التي تكون **الاثيلين** وبذلك يتأخر التلف.

كما تمكن بعض الباحثون من ايلاج جين عرف **High pigment gene** وهو المسئول عن انتاج الصبغات الملونة في الطماطم مثل **الانثوسيانين** بكمية كبيرة ليرفع تركيز الصبغة في ثمار الطماطم لكي تتمكن ربة المنزل من استخدام عدد اقل من الثمار.

المادة الوراثية خارج النواة Extranuclear DNA:

بالإضافة إلى المادة الوراثية الموجودة في نواة الخلايا مميزة النواة، هناك كميات قليلة من المادة الوراثية موجودة في السيتوبلازم ويختلف في تكوينه عن المادة الوراثية النووية في تسلسله من القواعد. وتوجد هذه المادة الوراثية في العضيات التالية:

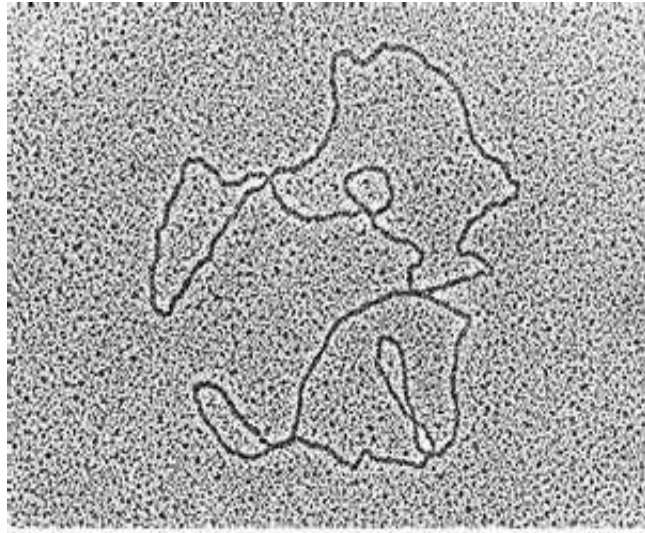
- ١- الميتوكوندريا (شكل 41).
- ٢- البلاستيدات الخضراء (شكل 42).

المادة الوراثية في الميتوكوندريا (Mitochondrial DNA) (mDNA):

تعتبر الميتوكوندريا عبارة عن عضيات (جسيمات) سايتوبلازمية صغيرة توجد في خلايا الكائنات حقيقية (مميزة) النواة، وتمد الكائنات الحية بالطاقة الضرورية للحياة عن طريق أكسدة المواد الغذائية لإنتاج الأدينين ثلاثي الفوسفات (ATP)، الذي يعتبر وقود التفاعلات الحيوية، حيث تنقل الطاقة المطلوبة على جزيء ادينين ثلاثي الفوسفات، بالإضافة إلى دورها في تنظيم العمليات الأيضية بالخلية. وتتميز الميتوكوندريا بأحتوائها على كمية قليلة من المادة الوراثية والتي تحتوي على ٣٧ جين مسؤولة عن قيام الميتوكوندريا بوظائفها الحيوية.

وتتميز المادة الوراثية للميتوكوندريا بما يلي:-

- ١- المادة الوراثية عبارة عن جزيئات صغيرة مقارنة بالنووية.
- ٢- توجد بصورة عامة بشكل DNA مزدوج دائري ذي إتواءات مفرطة
- ٣- ولا يرتبط بالهستونات.
- ٤- تنقسم أثناء انقسام الخلية، فيتضاعف DNA الموجود فيها ويعبر إلى الميتوكوندريا الوليدة.
- ٥- يشفر mDNA للأحماض النووية الرايبوزية الناقلة والرايبوسومية الموجودة في الميتوكوندريا، ولبعض البروتينات، بالرغم من أن ٩٥% من بروتينات الميتوكوندريا تشفر بواسطة DNA النواة.



كروموسوم الميتوكوندريا الحلقي

شكل 41 الشكل الخارجي للميتوكوندريا

اما بالنسبة للأمراض فلقد وجد ان كثيرا من الأمراض الناتجة من الميتوكوندريا لم يتوفر لها علاج مؤكد، حيث وجد ان نصف الأفراد الذين يصابون بسبب خلل في وظائف الميتوكوندريا تظهر عليهم أعراض الأصابة وهم دون الخامسة من العمر، كما ان ٨٠% يموتون قبل بلوغهم سن العشرين، خاصة عند أولئك الذين ينتج عن الأصابة امراض سرطانية.

لذا فأن كثير من الدارسين في الوقت الحالي يعملون على دراسة تأثير المادة الوراثية في الميتوكوندريا والعوامل البيئية المسببه في ظهور مثل هذه الأمراض، ومن الأمراض التي تظهر على الإنسان بسبب اختلالات في المادة الوراثية للميتوكوندريا **شيخوخه مبكرة، وامراض العضلات العصبي وامراض ايضية** تورث للنسل. **والعقم الذكري السايتوبلازمي في النبات.** كما وجد ان نسبة الطفرات في المادة الوراثية في الميتوكوندريا تكون أعلى بـ ١٠ - ٢٠ مره من تلك التي تحصل في المادة الوراثية النووية، حيث ان المادة الوراثية في الميتوكوندريا تكون أكثر عرضه لعمليات الأكسدة من المادة الوراثية النووية.

المادة الوراثية في البلاستيدات الخضراء (cpDNA) Chloroplast DNA :

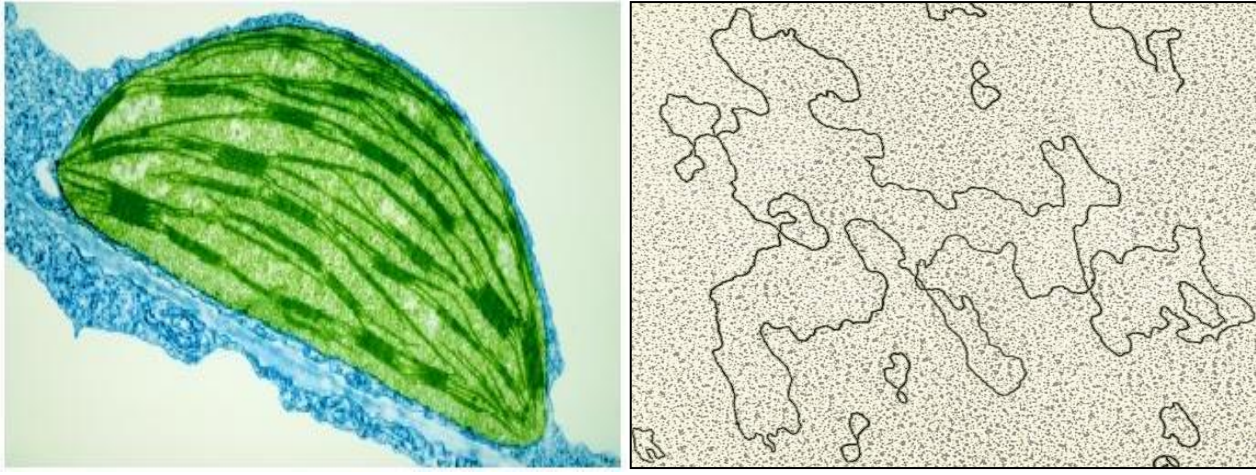
تتميز النباتات عن غيرها من الكائنات الحية بقدرتها على انتاج الطاقة الضرورية للقيام بالوظائف الخلوية عن طريق البناء الضوئي، حيث تعتبر المادة الخضراء Chloroplast المركز الرئيسي للقيام بعملية البناء الضوئي. تم التعرف على وجود مادة وراثية خاصة بالبلاستيدات الخضراء عندما تم ملاحظة تميز احد النباتات بوجود اختلاف للألوان على نفس النبات، حيث كانت اجزاء من النبات ذات لون أخضر وأجزاء أخرى بيضاء اللون ممتزجة مع اللون الأخضر واجزاء اخرى بيضاء.

وتم القيام بالتجربة التالية لإثبات وجود مادة وراثية خاصة بالبلاستيدات بخلاف الموجودة بالنواة فعند تلقيح أزهار تنمو على أفرع **بيضاء** بحبوب لقاح من أزهار تنمو على أفرع **خضراء** وجد ان النسل الناتج كان يتميز بأوراق **بيضاء** وعند تلقيح أزهار تنمو على أفرع **خضراء** بحبوب لقاح من أزهار تنمو على أفرع **بيضاء** كان النسل الناتج يتميز بأوراق **خضراء**. حيث تم التوصل إلى ان أوراق النسل الناتج دائما ما يكون لونها مطابق لصفة ألوان أوراق الفرع الذي تم تلقيح ازهاره. وتم الاستنتاج بأن السبب يعود إلى الصفات الوراثية التي تورث عن طريق **الأم** والتي لايمكن ان تفسر بواسطة قوانين مندل، حيث ان مثل هذه الجينات تكون موجودة في المادة الوراثية في البلاستيدات وليس لها علاقة بالمادة الوراثية الموجودة في النواة.

تتميز أغلب الجينات الموجودة في البلاستيدات بتخصصها في انتاج rRNA والبروتينات التي تدخل بطريق مباشر أو غير مباشر في عمليات البناء الضوئي، وعند حدوث إي خلل في عمليات تكوين المادة الخضراء ينتج عنها أوراق صفراء بشكل جزئي او كامل. كما يتميز الجينوم في البلاستيدات بصغر حجمه ويحتوي بالتقريب على أكثر من ١٠٠ جين بحيث تعمل نصف هذه الجينات على إنتاج جزيئات RNA المهمة في تكوين البروتينات. وتتميز المادة الوراثية في البلاستيدات بالتالي:-

- ١- المادة الوراثية عبارة عن جزيئات صغيرة مقارنة بالنووية.
- ٢- يتميز بأنه دائري ومفرط بالألتواء.
- ٣- لا يرتبط مع الهستونات.

- ٤- ينقسم أثناء انقسام الخلية.
٥- يحمل DNA البلاستيدات المعلومات المشفرة لمكونات غشاء الخلية
٦- أكبر من DNA للميتوكوندريا (mDNA).



شكل ٤٢ الشكل الحلقي لكروموسوم البلاستيدات الشكل الخارجي للبلاستيدات في الخلايا النباتية

الطفرات الوراثية Mutation:

يمكن تعريف الطفرة بأنها تغيير في تسلسل أو عدد النكليوتيدات في الحامض النووي DNA يؤدي إلى تكوين تسلسلات جديدة من النكليوتيدات فينتقل آثارها بصفات معينة إلى الأبناء. ان الطفرة يمكن أن تكون على مستوى الكروموسوم فيمكن ان يكون تغيير في عدد الكروموسومات أو تغيير في تركيب الكروموسوم الواحد أو حتى يمكن أن يكون التغيير من الصغر لحد تغيير نيوكليوتيدة واحدة. شاهد الانسان حدوث الطفرات الوراثية في الكثير من الكائنات الحية، واستفاد منها أحيانا دون معرفة حقيقتها أو أسبابها، نذكر على سبيل المثال ما لاحظته مزارع أمريكي عام ١٧٩١م كان قصر واعوجاج أرجل أحد الحملان وعدم استطاعة ذلك الحمل القفز عبر الاسيجة أو الركض بسرعة مما أدى إلى زيادة واضحة في وزن وصوف ذلك الحمل، دفعه ذلك إلى استخدام ذلك الحمل (عندما أصبح كبشا) لتوليد سلالة من الأغنام القصيرة الأرجل تمتاز بكثرة لحومها وغزارة صوفها. لكن ليست جميع الطفرات المكتشفة مفيدة للإنسان بل أن بعضها يسبب إنتاج حيوانات أو نباتات ذات أمراض وراثية مستعصية تسبب خسائر اقتصادية هامة مما يستوجب القضاء عليها لمنع انتقالها إلى الأجيال التالية. ولكن التقصي العلمي الحقيقي بالطفرات بدأ عندما أعلن العالم الهولندي "جو ديفريز" أحد مكتشفي نظرية مندل سنة ١٩٠١م أن ملاحظاته وتجاربه على النبات أثبتت حقيقة التطور (Evolution) من خلال تغيرات مفاجئة في وراثه الكائن الحي، أطلق عليها اسم الطفرة Mutation.

ويعود الفضل في وضع نظرية الطفرات إلى العالم Devries عام ١٩٠١، وبعد ذلك أجريت أبحاث عديدة حول الطفرات التلقائية في الكائنات الحية، ساهمت ذبابة الخل (Drosophila melanogater) بكونها مادة علمية ممتازة لهذه الدراسات إذ تم التعرف فيها على المئات من الأليلات الطبيعية والطارفة (أليلات لون العين، نوع الأجنحة، لون الجسم).

الأساس الجزيئي للطفرة The Molecular Basis Of Mutation:

تتحدد إمكانيات نمو وتمايز (Growth and differentiation) أي كائن حي بما يحتويه جينومه من الجينات، لذلك فإن أي تغيير أو طفرة (Mutation) في المادة الوراثية يظهر تأثيره على الكائن الحي، ذلك إن المحتوى الجيني للخلية يُترجم عادة إلى آلاف من البروتينات المختلفة والتي قد يؤدي أي تغيير فيها إلى آثار ضارة على الخلية والكائن الحي، ولهذا السبب تتميز المادة الوراثية بالثبات والاستقرار في الخلية الحية على مدى الأجيال، وهذا الثبات يضمن المحافظة على بقاء الكائنات ونموها. ولهذا فالخلية تعمل على جانبين مهمين لضمان ثبات والاستقرار المادة الوراثية في الخلية الحية على مدى الأجيال هما:

- ١- ان تكون النظم الأنزيمية الخاصة بتناسخ المادة الوراثية فيها دقيقة جداً.
- ٢- ان يكون بمقدور الخلية استنباط نظم دقيقة لإصلاح الأخطاء العارضة التي تحدث في جزيء المادة الوراثية اثناء حفظه أو تناسخه.

حيث ان المادة الوراثية عبارة عن مركب عضوي معقد قد يتعرض للتللف بطرق مختلفة مما يؤدي إلى فقدان أو إضافة قواعد، وإلى تحطم الهيكل الأساسية للمادة الوراثية، أو قد يحدث تغيير في الخواص الكيميائية للقواعد، ونظراً لأن قدرة الكائن على تحمل أو مقاومة المعدل الطبيعي للتللف في المادة الوراثية محدودة، فلا بد من وجود ميكانيكيات انزيمية تخصصية لإصلاح الأماكن التالفة في المادة الوراثية وهذه الميكانيكيات الانزيمية سنتطرق لها في محاضرات لاحقة.

طبيعة الطفرات:

ان الطفرات أو التغييرات في تتابعات القواعد التي تحدث في جزيء المادة الوراثية يمكن أن تحصل بصورة تلقائية أو بصورة مستحدثة بواسطة المطفرات (Mutagens) مثل الإشعاع والمواد الكيميائية. إذا كان التغيير على مستوى الجين فإنه قد يؤدي إلى تغيير صورته أي تحوله إلى حالة أخرى، وقد يكون هذا التغيير خطراً يؤدي إلى وقف عمل الجين من إداء عملية معينة كإنتاج إنزيم أو هرمون معين وبالتالي يكون الجين موقوف النشاط أو قد يؤدي هذا التغيير إلى تقليل أو زيادة إنتاج الجين وبالتالي يؤثر على نشاط الجين.

يمكن تقسيم الطفرات على أساس تأثيراتها المظهرية:

١. الطفرات الشكلية: طفرات تؤدي إلى تغيير اللون أو الشكل أو الحجم.
٢. الطفرات الفسيولوجية: تؤدي إلى تغييرات في الوظيفة كالتغييرات في معدل النمو للفرد أو في مقدرته على مقاومة ظروف بيئته غير الملائمة كالحرارة والمنبهات الكيميائية وغيرها.
٣. الطفرات الكيميائية: تؤثر على قابلية الكائن الحي على إنتاج مادة أفضية مثل سكر أو حامض أميني.
٤. الطفرات الشرطية: وهي الطفرات التي يظهر تأثيرها على الكائن الحي في حالة وضع الكائن تحت ظروف نمو معينة وليس غيرها، كما هو الحال في الطفرات الشرطية الحساسة للحرارة التي تؤثر على نمو الكائن في درجة حرارة معينة وليس غيرها.
٥. الطفرات المميتة: تسبب موت الكائن الحي الذي يحتويها في أي مرحلة من مراحل النمو.

ويمكن تقسيم الطفرات على اساس سبب حدوثها إلى:

أولاً: الطفرات التلقائية (Spontaneous mutation): تسمى أيضاً بالطفرات الذاتية. وهي الطفرات التي تحدث عند عدم تعرض الكائن لمادة مطفرة معروفة، تتضمن الطفرات التلقائية معظم التغيرات التي قد تحدث في تتابعات القواعد في جزيء المادة الوراثية، إذ نجد ان بعض الطفرات لها تأثير طفيف على الناتج النهائي للجين، والبعض الآخر قد تقضي على وظيفة الجين، ومن أسباب الطفرات التلقائية التي تحدث على مستوى DNA هي:

- ١- تعرض الكائن الحي للإشعاعات الموجودة في الطبيعة.
- ٢- تفاعلات بايولوجية تجري داخل الخلية.
- ٣- حصول تبدلات طبيعية في درجة الحرارة.

ثانياً: الطفرات المستحدثة (Induced mutation): تحدث هذه الطفرات نتيجة التعرض إلى بعض المواد الكيميائية أو الفيزيائية.

كما ويمكن تقسم الطفرات على اساس حجمها إلى نوعين:

١. الطفرات الكروموسومية Chromosome mutations :- يطلق عليها بالتغيرات الكبيرة Macrolesions أو التغيرات في عدد الكروموسومات.

٢. الطفرات الجينية Gene mutations :

ويطلق عليها بالتغيرات الصغيرة Microlesions أو الطفرات النقطية Point mutations والتي تشمل تغير في زوج نيوكليوتيدي واحد ويمكن ان تؤدي إلى تغير في عدد وتركيب الجينات ضمن الكروموسوم الواحد (تغيرات في تركيب الكروموسوم).

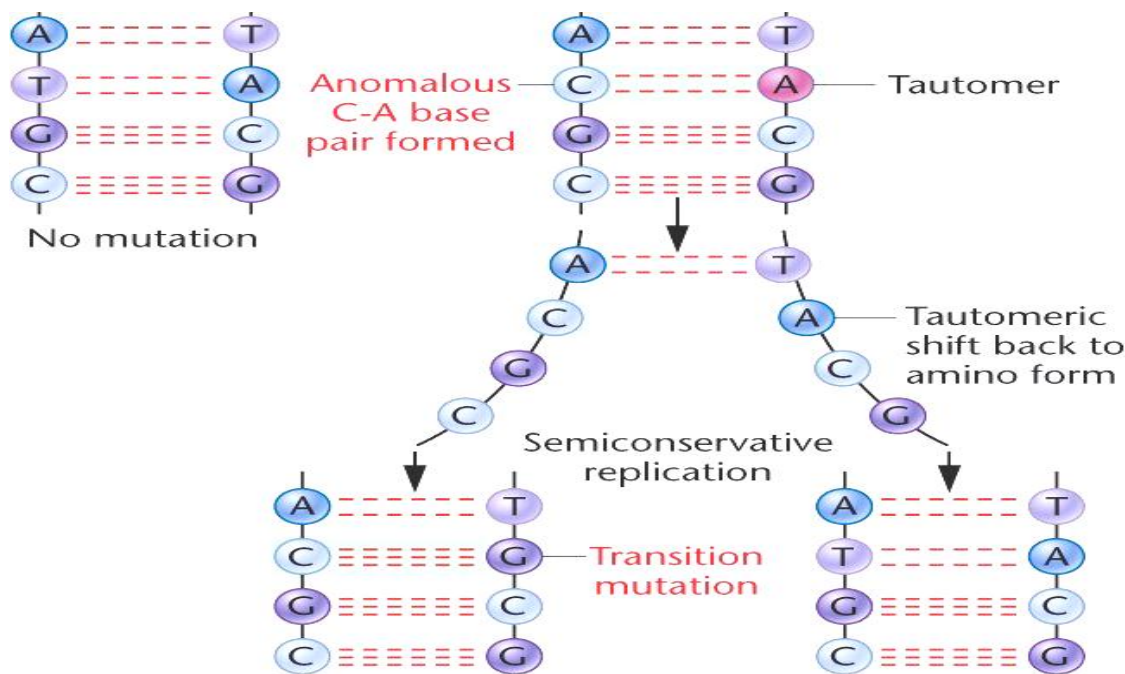
أنواع الطفرات الجينية:

أولاً:- طفرة استبدال قاعدة.

ثانياً:- طفرة إضافة أو فقد قاعدة واحدة او شفرة كاملة (طفرة تغير الإطار (Frame shift mutations)).

أولاً:- طفرة استبدال قاعد

ان الطفرات الناتجة من الأستبدال أو الأحلال ينتج عنها بشكل عام ما يعرف بطفرات تغير القاعدة الواحدة وهي من ابسط أنواع الطفرات كما في شكل ٤٥ التالي:-



شكل ٤٥: يوضح حدوث طفرن نتيجة وجود القواعد بصورة النظام المشابه tautomeric shifts

كان الإفتراض الذي وضعه واتسون وكريك بأن تركيب القواعد ليس ثابتاً بسبب تحرك ذرات الهيدروجين من وضع أو مكان إلى آخر في البيورينات أو البريميدينات، فنجد ان الثايمين والكوانين

References

1. Kary B. Mullis. 1990. The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. 262(4): 56-65.
2. Kenshi Hayashi, Kary B. Mullis, François Ferré, Richard A. Gibbs. 1994. The Polymerase Chain Reaction Birkhäuser Basel. P, 464.
3. Zahra M Alkhafaji and Hassan M Abu-Almaali. 2013. PCRing and Primer Design. University of Baghdad, Baghdad. P, 304.
4. Mahmood M. Refaat and Saad B. Aloutabi. 2008. Introduction to Biotechnology. The General Egyptian Association of International Books and Documents, Cairo. P, 312
5. Elsahookie, M.M., and Ayoob O. Alfalahi. 2008. Polyploidy and its relationship with plant breeding and adaptation. The Iraqi J. Agric. Sci. 39(6):49-71.
6. Elsahookie, M.M., and Ayoob O. Alfalahi. 2008. TILLING: Modern technique combines traditional mutagenesis and functional genomics. The Iraqi J. Agric. Sci. 40(1):1-25.