

## أولاً: مشاكل الهندسة الوراثية.

- أ- صعوبات التحويل الوراثي في الحيوانات الزراعية:  
تعود لأسباب عديدة أهمها:
  - انخفاض كفاءة التحويل الوراثي (نسبة النجاح حوالي ٥,٠%).
  - ارتفاع تكاليف إنتاج ورعاية الأبقار المحورة وراثياً إلى جانب طول فترة الجيل فيها وقلة أعداد المواليد خلال حياتها الإنتاجية.

### ب- مخاطر الهندسة الوراثية:

- ١- عند تحسين إنتاجية حيوانات المزرعة، بطريقة نقل الجينات فإنه لا بد أن يتبع ذلك تغيير في بعض النظم الفسيولوجية في الحيوان مما يؤثر في التوازن الدقيق في البيئة الداخلية للجسم الذي استقر خلال عقود طويلة من الانتخاب والتحسين، ولذلك فإن جينوم الحيوان بوضعه الحالي يحتوي على التوليفة المثلى من الجينات التي يصعب تغييرها أو تعديلها دون الإضرار بصحة الحيوان وحياته.
- ٢- التأثيرات السلبية التي تخلفها الفيروسات، التي تستخدم في نقل المورث من كائن لآخر، عندما تكون هذه الفيروسات مسرطنة.
- ٣- النتائج المجهولة للجين الجديد في حالة الخطأ في تحديد موقع الجين المراد استبداله . ويتساءل البعض عما يمكن ان يحدث لو ان العلماء توصلوا الى نتائج خاطئة ادت الى تشكيل مخلوق لا يمكن التخلص منه، او ان جرثومة خطيرة خرجت من المختبر وتكاثرت بسرعة وادت الى نشر وباء في العالم يمكن ان يقضي على البشرية كلها.
- ٤- الأخطاء التي تنتج عن الهندسة الوراثية هي أخطاء غير عكوسة أي لا يمكن تصحيحها إذا ما حصلت.

## ثانياً: الواسمات الوراثية (Genetic Markers)

منذ بداية الثمانينات بدء عمل دؤوب للتعرف على بعض الجينات بذاتها التي تؤثر على صفة كمية بدرجة كبيرة أو يكون موقعها لجينات على الكروموسوم تؤثر على هذه الصفة.

وقد حدث التقدم في هذا المجال بعد أن تيسر تحليل الـDNA بسرعة وبدقة وبدء عمل خرائط وراثية للأصناف المختلفة من الحيوانات.

المواقع الجينية التي تؤثر على صفة كمية يطلق عليها مواقع صفات كمية Quantitative Traits Loci (QTL). فإذا امكن التعرف على مثل هذه المواقع فإنه يمكن الانتخاب المباشر لها. أي بتحليل الـDNA للأفراد المرشحين كأباء وانتخاب من توجد به هذه الجينات.

وقد يكون موقع معين لا يؤثر على الصفة موضع الاهتمام ولكنه مرتبط بجينات تؤثر عليها ، ولهذا يمكن الانتخاب المباشر لمثل هذه الجينات أي انتخاب بمعاونة جينات واسمة تعطي علامة على وجود جينات أخرى لا يمكن التعرف عليها بصورة مباشرة.

### تعريف الواسمات الوراثية:

الواسمة هي جين يورث بطريقة مندلية بسيطة ويمكن أن يقوم بدور واسمة Marker لجينات أخرى تتحكم في صفات كمية (QTL) نظراً لوجودها جميعاً على نفس الكروموسوم. ولهذا لا تتوزع هذه الجينات مستقلة، وبذلك نتعرف على وجود جينات الصفة الكمية إذا تم معرفة موقع الواسمة. وهذه الواسمات ليست بالضرورة أن تكون جينات وظيفية ولكنها ممكن أن تكون مثلاً أي سلسلة من النيوكليوتيدات يمكن تتبعها في التكوين الوراثي للحيوان. وقد اكتشفت بعض التتابعات النيوكليوتيدية التي تتكرر في التركيب الوراثي للكائنات دون ان يكون لها وظيفة معينة معلومة، ويطلق عليها ميكروستالايت Microsatelite أي التتابع الصغرى.

### أنماط الواسمات الوراثية:

- 1- الواسمات المظهرية: Morphological Marker : وهي واسمة يمكن أن نراها على الحيوان مثل لون العيون ، وجود القرون.
- 2- الواسمات البيولوجية Biological Marker: وهو صور مختلفة من البروتينات تمثل انعكاس لتتابعات من النيوكليوتيدات مثل : شرش(مصل) الحليب، مجاميع الدم.
- 3- الواسمات الجزيئية Molecular Marker: يكون فيه التعامل مع جزيء الـDNA. وهو عبارة عن تسلسل من النيوكليوتيدات له شكلان:

- الشكل الأول Type I Marker : وهو عبارة عن مناطق من الجينوم تحمل شيفرة وراثية وهي الجينات. يكون تسلسل هذه الجينات محفوظ بين أنواع الثدييات أي يكون ترتيب النيوكليوتيدات ثابت لا يتغير. وإن تحديد مواقع الجينات في الانواع المختلفة يفيد في رسم الخرائط الوراثية.
- الشكل الثاني Type II Marker: وهي تسلسلات من النيوكليوتيدات مجهولة. وليس لهذه التسلسلات صفة الحفظ بين الانواع المختلفة إلا إذا كانت الأنواع قريبة جداً.

### وضع الخريطة الوراثية Gene Mapping

- في الأبقار:
- لوحظ لأول مرة في عام ١٩٩٠ وجود علاقة غير مباشرة بين الواسمات الوراثية ومعدلات النمو وصفات الذبيحة في أبقار الأنجس. كما لوحظ في عام ١٩٩٨ ولأول مرة أن موقع الميوستاتين (Myostatin Locus) مكون من سلسلة من الطفرات، ويوجد في العديد من سلالات الأبقار الاوربية، ويسبب ازدواج العضلات (Double muscling).
- أيضاً تم التأكد من أن QTL المؤثرة على صفات اللحم قريبة من جين ال Myostatin على الكروموسوم رقم ٢.
- وتم اكتشاف الواسمة الوراثية للتوقع لصفة اللحم المرمرى (واسمة الموقع الوراثي للهرمون المسؤول عن تمثيل وتطور الخلايا الدهنية).
- كما تم اكتشاف واسمة الاستعداد للإصابة بالتهاب الضرع على الكروموسوم رقم ٦.
- في الاغنام:
- تم وضع خريطة لموقع الصفة الكمية لإنتاج الحليب ؛ حيث تقع على الكروموسوم رقم ٦ وتشمل ١١ واسمة.
- موقع الصفة الكمية المسؤولة عن نمو العضلات وعمق الدهن يوجد على الكروموسومات ٢ و ١٨ في أغنام التكل.

### ثالثاً: الخريطة الوراثية ومشروع الجينوم.

أدى اكتشاف شكل وتركيب الDNA سنة ١٩٥٣ إلى ثورة في علوم الأحياء الجزيئية والهندسة الوراثية التي أسست بدورها لظهور عدد من علوم الوراثة الحديثة كعلم الجينوم (Genomics) وعلم المعلوماتية الحيوية (Bioinformatics).

ما هو الجينوم:

الجينوم هو مجموع جينات الكائن الحي، ويسمى الجهاز الوراثي للإنسان مثلاً بالجينوم البشري. ويحمله كل حيوان منوي وكل بويضة. وينتج عن التزاوج ضعف المحتوى الجيني.

يعتبر العلماء الجينوم المادة الخام لكتاب الحياة، حيث يحتوي على المعلومات الكاملة عن تركيب الكائن الحي وخصائصه التي تميزه عن باقي المخلوقات وعن أفراد مجموعته، بالإضافة لآلية النمو والتطور. وبدأ في الوقت الحالي اعتماد الخريطة الوراثية (مخطط كامل لجميع الجينات الموجودة داخل خلايا الكائن الحي) كوسيلة لمسح الجينات المحددة لكثير من الأمراض الحيوانية، بالإضافة لمعرفة العلاقات التطورية بين الأنواع. ويؤدي تفكيك الشفرة الوراثية الكاملة لأي كائن إلى معرفة تسلسل قواعد الحمض النووي وما يقابله من أحماض أمينية في سلسلة البروتين.

مجالات علم الجينوم:

١- علم الجينوم الهيكلي (Structural Genomics): يهتم بوصف الطبيعة الفيزيائية لكامل الجينوم وتحديد الخريطة التفصيلية لكل جين من حيث موقعه في السلسلة الوراثية وتركيبه وعلاقته بالجينات الأخرى في الجينوم.

٢- علم الجينوم الوظيفي (Functional Genomics): يهدف إلى فهم آليات عمل كل المورثات وكذلك تحديد الفروق في نشاط المورثات بين نسيج وآخر. والتعرف على آليات التفاعل المعقدة بين العوامل الوراثية والبيئة.

٣- علم الجينوم المقارن (Comparative Genomics): يدرس تركيب ووظائف الجينومات للكائنات الحية المختلفة بهدف فهم طبيعة التنوع بين الكائنات الحية وعلاقة المخزون الوراثي لها بقدرتها على التكيف مع بيئاتها المختلفة.

في نيسان ٢٠٠٣م تمكن العلماء من استكمال خريطة المورثات الكاملة للجنس البشري، وقد توافق ذلك مع الذكرى الخمسين لاكتشاف بنية الـDNA. وهو مشروع بحثي بدأ العمل به رسمياً في عام 1990 وكان من المخطط له أن يستغرق 15 عاماً، لكن التطورات التكنولوجية سرعت العمل به حتى انتهى قبل الموعد المحدد له بستين تقريباً. حيث أعلن عن الانتهاء منه بدقة %99,9 وقد تمثلت الأهداف المعلنة للمشروع فيما يلي:

- التعرف على المورثات التي يحتوي عليها الحمض النووي البشري.
- تحديد تتابعات القواعد الأزوتية التي تشفر للحمض النووي وعددها 3 مليارات زوج.
- تخزين هذه المعلومات على قواعد للبيانات.

• دراسة القضايا الأخلاقية والقانونية والاجتماعية التي قد تنتج عن المشروع.

ولا تكاد تمر سنة دون ان نسمع عن باحثين يعلنون اتمام الخارطة الوراثية لكائن حي معين. فهناك ٦٤٥٤ نوع من الكائنات الحية قد تم انجاز خرائطها الوراثية سواء بشكل كامل أو جزئي.

وتؤدي هذه التقنية إلى تطوير وتحسين السلالات من خلال:

• تطوير طرق الفحص والكشف عن الامراض: يمكن اجراء الفحوصات الاستقصائية عن طريق قراءة ومقارنة تسلسل الجينوم لعدد كبير من الافراد الذين لديهم القابلية للإصابة بمرض معين مع جماعات أخرى مقاومة لهذا المرض وبالتالي تحديد الاختلافات الوراثية بين المجموعتين ثم التعرف على المورثات المسببة للأمراض. وخصوصاً التي لا تظهر أعراضها إلا في مراحل متقدمة من العمر.

• دراسة النظم المناعية.

• تعريف الجينات المتعلقة بالإنتاجية .

## رابعاً: البصمة الوراثية.

هي النمط الوراثي المميز لكل فرد وتظهر على شكل تتابعات مميزة لقطع ال DNA في تقنية الترحيل الكهربائي .

تنقسم قطع ال DNA إلى نوعين من التسلسلات:

- ١- التسلسلات المحددة للشفرات (المورثات) وهي المسؤولة عن انتقال الصفات الوراثية
- ٢- التسلسلات غير المحددة للشفرات: وهي تختلف اختلافاً كبيراً بين النوع الواحد لأنها تحتوي على تسلسلات قصيرة متكررة ( $STR_S$ ) تكون سبباً لاختلاف الأفراد عن بعضها.

اكتشاف البصمة الوراثية:

أوضح العالم د. أليك جيفريز أن أجزاء من المادة الوراثية قد تتكرر عدة مرات وتعيد نفسها في تتابعات عشوائية غير مفهومة ، وهذه التتابعات مميزة لكل فرد ولا يمكن أن تتشابه بين اثنين إلا في حال التوائم المتماثلة فقط. لذلك نجد أن كل شخص يمتلك بصمة وراثية خاصة به.

الجدير بالذكر في تركيب ال DNA هو أن المورثات لا تمثل سوى ٥% من تركيبه فقط. أما البقية فتعتبر وراثياً غير فعالة وتعرف أحياناً بال DNA الخردة (Junk DNA).

إذاً تعتمد تقنية البصمة الوراثية على التباين المتواجد، ما بين الأفراد، في التسلسلات المتكررة لنيوكليوتيدات الـ DNA والتي توجد في مناطق مختلفة عليه.

هذه المناطق ذات المتكررات توجد في الغالب في السنتروميترات أو عند نهاية الكروموسومات. كما أنها توجد في مناطق أخرى على طول الكروموسوم.

## المكتبة الجينية Gene library

عرفنا أن الجينوم هو مجموع المحتوى الوراثي للخلية؛ الذي يتكون من العديد من الجينات. فالمكتبة الجينية (الوراثية) عبارة عن توليفة أو تجميع من مستعمرات بكتيرية تحتوي كل مستعمرة منها على جين معين من الجينوم الكلي للكائن نظرياً. بمعنى آخر انه يتم تقطيع الجينوم كله للكائن بواسطة الانزيمات. ثم يتم اخذ القطعة الناتجة ودمجها في البلازميد ليتم نقلها بعد ذلك للبكتيريا التي تنمو بدورها وتكون نسخ عديدة من الجينات.

وعند دراسة جين معين أو قطعة معينة من DNA وعزل المحتوى الوراثي الكامل Genomic DNA للكائن الحي وتقطيعه بواسطة إنزيمات القطع المحددة ثم أخذ كل قطع من DNA وعمل استنساخ لها بواسطة ناقل استنساخي Cloning vector ففي هذه الحالة نكون قد حصلنا علي ما يسمى بالمجموعات المكتبية للمحتوي الوراثي للفرد Genomic library وهي مجموعة من المستنسخات Clones التي تمثل الحامض النووي لحيوان أو مخلوق محدد. وتستخدم الـ Genomic library في عمليات عزل ودراسة أي جين.

### - مصادر الـ DNA :

- DNA الكروموسومي : الكروموسوم هو المصدر الاساسي للـ DNA والمعلومات الوراثية . فعندما نحتاج الى دراسة جين معين ولدينا بعض المعلومات حول تتابع الجين وموضعه يمكننا استخلاص DNA من خلال الخلية التي نريدها عن طريق انزيمات القطع لعزل الجين المطلوب. ويمكن استخدام الكروموسوم ككـل فقط في الخلايا الأولية أو بدائية النواة فقط . ولكن هناك مشكلة بسيطة عند العمل مع الخلايا حقيقية النواة لأنها تحتوي على مناطق لا يمكن ترجمتها الى بروتين تسمى Intron غير معلوم وظيفتها بالضبط ولكن يرجح انها تعمل كمنظم وللتحكم في تتابع DNA .

- يتكون تتابع DNA الكرموسوم في حقيقات النوواة من تتابعين هما :  
 ١- الإكسونات Exon: وهو الجزء من التتابع الذي يتم نسخه الى شريط mRNA الرسول ليتم ترجمته الى بروتين وهو يمثل الجزء الصغير من الكرموسوم وتمثل حوالى ٥%  
 ٢- الإنترونات Intron: وهو تتابع DNA الذى يتخلل الإكسونات.

وتكون الإنترونات الجزء الاكبر من الكرموسوم ويمثل حوالى ٩٥%. ولكن برغم ذلك لا يتم نسخه الى شريط RNA الرسول ليتم ترجمته الى بروتين لذلك ينبغي التخلص منه حتى يمكن الحصول على الجين

### عزل isolation الحمض النووي mRNA

معظم الكائنات حقيقة النوى يحتوي mRNA الخاص بها على نهاية عديدة الأدينين لذا استخدمت هذه الميزة لاستخلاص mRNA من باقي الاحماض النووية RNA مثل RNA الريبوسومي (r-RNA) و RNA الناقل (t-RNA).

ويوجد نوعان من المكتبات الجينية:

- المكتبة الجينية الناتجة من شريط DNA الجينومي: تتم من خلال عزل قطع من الحامض النووي من الجينوم. وتبدأ العملية باستخلاص الDNA من الكائن المراد بناء مكتبته الجينية. ثم يتم بعد ذلك إدخال هذه الجزيئات إلى البلازميد حيث تجري عملية تنسيلها (اكتثارها). وفي هذه الحالة فإن المكتبة الجينية تمثل عينة من جميع تتابعات الDNA في كائن ما.

- المكتبة الجينية لمكمل DNA (cDNA) : تتم عن طريق استخلاص mRNA من الخلايا المتخصصة في انتاج بروتين معين بكميات كبيرة وبالتالي تكون نسبة mRNA الذي يشفر لهذا البروتين عالية. ثم يتم انتاج نسخ من الDNA على قالب من الmRNA باستخدام أنزيم النسخ العكسي، والشريط المتكون من هذه العملية يسمى باسم DNA المكمل Complementary DNA ويكتب اختصاراً هكذا cDNA. ويتم تحويل جزيئات الDNA وحيدة السلسلة إلى جزيئات مزدوجة بفعل أنزيم بلمرة DNA. ثم اكتثاره.

إن جزيء cDNA يحتوي فقط على التتابعات الشفرية (الاكسونات) بدون الإنترونات. أي أن هذه المكتبة تحتوي فقط على تلك المناطق من الجينوم التي تم نسخها إلى mRNA لأن خلايا الأنسجة المختلفة تكون عادة متخصصة بإنتاج أنواع معينة من mRNA. لذلك تستخدم هذه الطريقة في حال استهداف مورث معين

ذي قوة تعبير عالية في خلايا معروفة كما هو الحال في عزل مورثات البومين البيض من خلايا قناة البيض أو مورثات الأنسولين من خلايا البنكرياس وغيرها.

عموماً في المكتبة الجينية نظرياً كل مستعمرة تحصل على جين معين من الجينوم كله تمثل كتاب في مكتبة تحمل العديد من الكتب مثله.. التي تكون في النهاية الجينوم كامل.