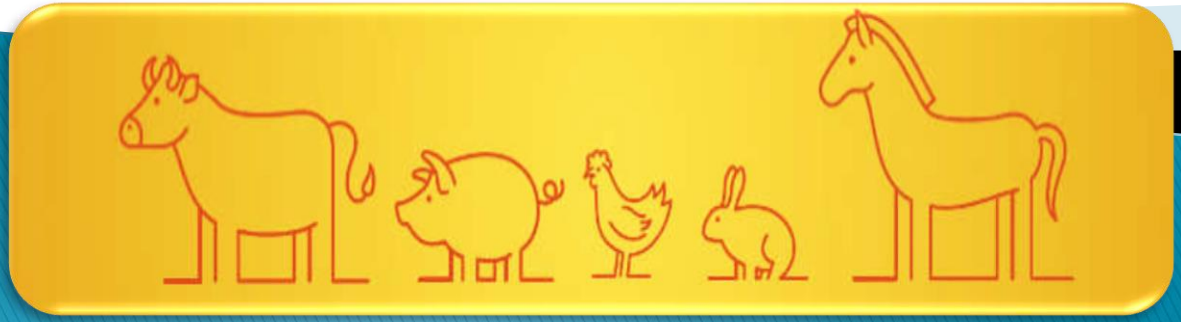
جامعة حماة
سورية
2014
UNIVERSITY OF HAMA
syria

كلية الزراعة

التحسين الوراثي للحيوانات الزراعية

المحاضرة العاشرة

د. عامر دباغ



2019 - 2018

تطبيقات في الهندسة الوراثية

الاستنساخ Cloning

الاستنساخ Cloning

- تكوين كائن حي يكون نسخة مطابقة تماماً من الناحية الوراثية والفيزيولوجية والشكلية لكائن حي آخر كفردي توأم البيضة الواحدة .

- توالد لاجنسي لا يحدث فيه إخصاب لبويضة الأنثى بنطفة الذكر, أي أن الكائن الحي المستنسخ لا أب له مثل(الإكثار الخضري).والاستنساخ شائع في النباتات .

- الاستنساخ الطبيعي هو التوالد اللاجنسي كما يتم في بدائيات النواة Prokaryotoes من وحيدات الخلية .

الفرق بين الاستنساخ النباتي والحيواني

- يعود لتعقيد جملة الخلايا الحيوانية , وشدة تخصصها وقد استدعى حدوث هذا المتخصص توفر أمور عدة أهمها
- كثرة جينات الفقاريات
- ضرورة تأثر هذه الجينات فيما بينها كي يتم إنجاز وظيفة بيولوجية معينة.
- اعتماد جين الفقاريات في تكوين المرحلة الأولى على مواد قد تم إدخالها أثناء مراحل نمو الخلية البيضية في مبيض الأم .

الأبحاث التي مهدت للاستنساخ

- قام دريش Driesch بإخصاب بيوض قنفذ البحر وتركها حتى انقسمت انقسامها الأول والثاني فأصبح الجنين مكوناً من أربع خلايا , وبطريقة الرج لهذا الجنين الفتي انفصلت الخلايا عن بعضها وشكلت كل واحدة منها فرداً سوياً
واستنتج دريش أن الخلايا الجنينية للانقسام الثاني (القسيم الأرومي- مرحلة الأريمة b lastomere) لم تفقد شيئاً من قدرتها التي لا تزال مساوية لقدرة البيضة المخصبة

- قام العالم سبيمانSpemann عام 1938 بتجربة على جنين الضفادع حيث قام بإخصاب بيضة الضفدع المذنب وقبيل انتهاء الانقسام الأول , أجبر النواتين الأبنتين على أن تبقيا في واحدة من الخليتين المتشكلتين , وبحيث تبقى الأخرى بدون نواة
- انتظر حتى إنتهاء الإنقسام الرابع في الخلية المنواة , بحيث أصبح حجم كل نواة أقل من قطر القناة بين النصفين , عندئذ فصل سبيمان النصفين عن بعضهما , حيث شكلت بعد انقضاء مدة (140) يوم كل نصف بيضة مخصبة جنيناً سوياً
- **نوى الجنين لا تفقد حتى مرحلة(16) خلية وأحياناً (32) أي شيء من قدرتها حيث تبقى مساوية لقدرة البيضة المخصبة**

أنواع الاستنساخ:

- عملية إنشاء صورة طبق الأصل للمادة التي يراد نسخها وقد يكون النسخ لقطعة من الـDNA أو نسخ كائن حي متكامل.

- يقسم الإستنساخ أو النسخ إلى ثلاثة أنواع :

1. نسخ أو إستنساخ القطع من الـ DNA عن طريق الهندسة الوراثية وبمايعرف بتهجين الـDNA.
2. الإستنساخ التكاثري أو الجنسي Reproductive Cloning .
3. الإستنساخ العلاجي Therapeutic Cloning.

النسخ بالهندسة الوراثية:

- وهناك طريقتان رئيستان للنسخ :
- 1- النسخ عن طريق استخدام الخلايا الحية cell- Based DNA Cloning .
- 2- النسخ عن طريق استخدام الخلايا غير الحية cell – free DNA Cloning .

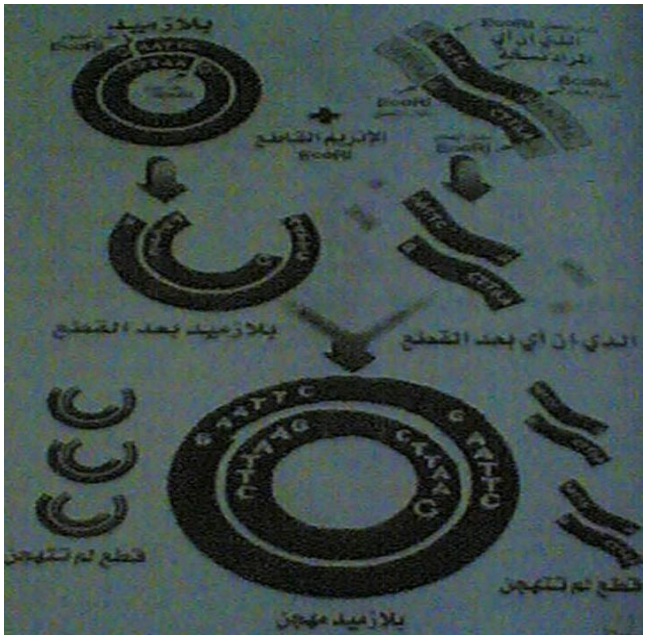
النسخ عن طريق استخدام الخلايا الحية:

- يعتمدعلىتصميم قطعة مهجنة من DNA المرادنسخها منDNAالناقل (vector) لديها القدرة على التكاثر, ويتم ذلك عن طريق استخدام
- الأنزيمات القاطعة .Resttriction Enzymes
- **وهذه الخطوات ببساطة كما يلي:**
- 1- يتم تحديد القطعة المراد نسخها ثم يضاف إليها أنزيم قاطع محدد فيقوم هذا الأنزيم بقطع الـDNA في مكان محدد حسب التسلسل النووي.
- 2- يضاف نفس الأنزيم للناقل والذي يقوم بقطعه بنفس التسلسل النووي

- تضاف القطع المراد نسخها بعد قطعها بالأنزيم القاطع إلى الناقل المقطع فتتداخل التسلسلات النووية بين الناقل **وبين قطع الـDNA المراد نسخها فينشأ من ذلك:**
- 1- قطعة مهجنة من الناقل وبداخله القطعة المراد نسخها وترتبط قطعة الـDNA البلازميد من أطرافها برابطة هيدروجينية ويضاف أنزيم لاصق (Ligase) لكي يحول الترابط بين قطعة الـDNA والناقل إلى رابطة قوية
- **2- نقل القطعة المهجنة والتي هي بداخل الناقل إلى خلية حية:**
- تستعمل البكتيريا خاصة (E.Coli) في عملية الزراعة وذلك لسهولة إدخال الناقل إليها وإلى سرعة انقسامها (تقريباً كل 20 دقيقة)إضافة إلى توفر طرق الاختيار الخاصة التي تعتمد على خاصة الحماية من المضادات الحيوية.

- اختيار المستعمرات البكتيرية التي تحتوي على الناقل والقطعة المهجنة والسماح لها بالتكاثر عن طريق أطباق الزراعة (Culture Plates) أو في محاليل سائلة.
- استخلاص القطع المهجنة واستخراج الـDNA منها بكميات كبيرة

الشكل الثانوي للايكولي الريبوسوم الصغير

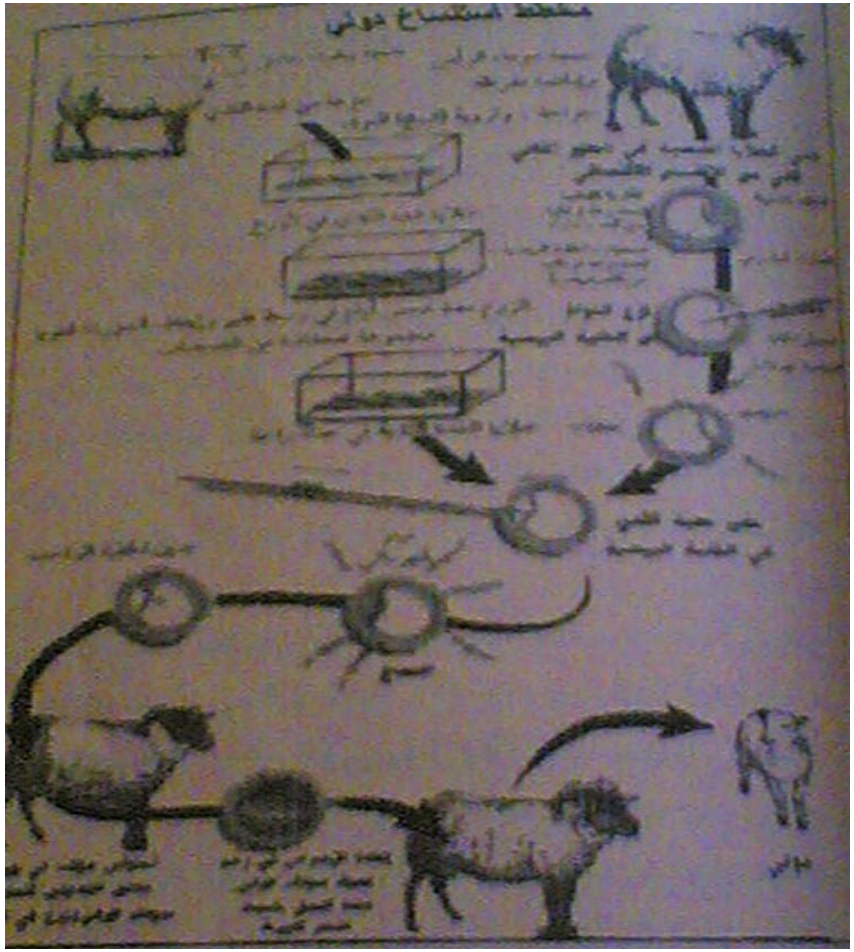


البلازميد المهجن

الاستنساخ التكاثري –استنساخ الكائنات الحية بالكامل.

- إنتاج لكائن حي له نفس المادة الوراثيةNuclear DNA للكائن الحي المنسوخ منه.
- قام الفريق العلمي بمختبر روزلين بعملية استنساخ جنسي في عملية استنساخ للنعجة دولي وتعرف هذه العملية أيضاً بنقل نواة الخلية الجسمية
- تم نقل نواة من خلية من خلايا الجسم غير الجنسية أي غير التي توجد في مبيض الأنثى أو في خصية الذكر والخلية التي استعملت لاستنساخ دولي من خلايا الثدي لنعجة أخرى ومن ثم أخذت أيضاً بويضة من المبيض

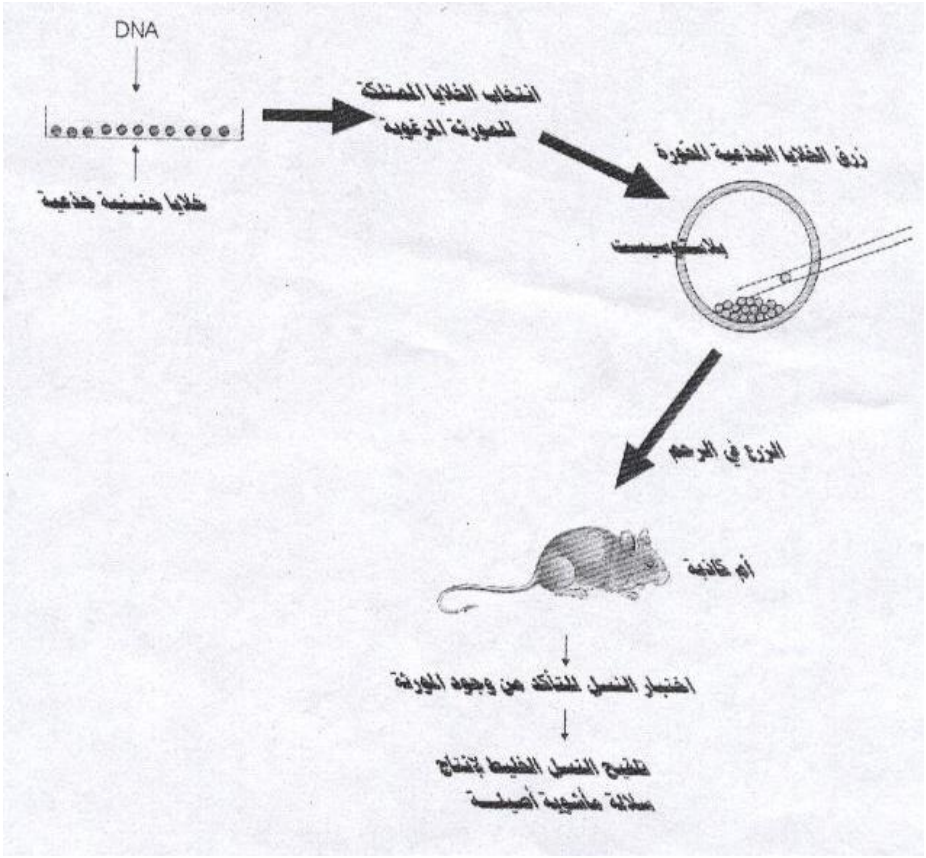
- قام العلماء بالتخلص من نواة تلك البويضة ثم قاموا بزرع النواة التي أخذوها من الثدي في داخل البويضة وتم صعق تلك البويضة بالكهرباء لكي ينشطوا عملية الانقسام
- عندما بدأت البويضة في الانقسام تم غرزها داخل الرحم حيث نما الجنين في الرحم فأصبح نعجة كاملة
- علمياً فإن دولي أوأي حيوان أو إنسان يستنسخ بهذه الطريقة ليس في الحقيقة نسخة مطابقة للأم أولأب التي أخذ ت منها النواة ,فهناك بعض من المادة الوراثية توجد خارج النواة وهي بالتحديد موجودة داخل البويضة التي أزيل منها النواة وهذه المادة الوراثية موجودة على جسيمات صغيرة تسمى بالميتوكوندريا (Mitochondrias) ومع أن Mitochondria مصنع هام للطاقة إلا أنه يكثر فيه الطفرات مع تقدم العمر وقد يكون لها علاقة بالهرم



استنساخ دوللي

الاستنساخ العلاجي:

- استنساخ كائنات حية لأخذ خلايا جذعية Stemcells ولا يسمح للوصول إلى تخليق كائن حي كامل .
- أهمية هذه الخلايا تنبع من قدرتها على إنتاج أي خلية أو عضو كامل كالكلية والكبد , والخلايا الدموية والتي يرجى من استخدامها علاج الكثير من الأمراض التي لا يوجد لها علاج شافي كما في الشكل



إكثار الخلايا الجذعية لاستخدامها في علاجالكثير من الأمراض التي لها علاج شافي

فوائد وتطبيقات الاستنساخ:

- 1- الحصول على نخبة من حيوانات المزرعة تمتلك خصائص وراثية إنتاجية متميزة(حليب- لحم- صوف- بيض .....)0
- 2- إنتاج بروتينات علاجية من خلال الهندسة الجنينية والتقانة الحيوية (نقل الجينات المسؤولة عن إنتاج بروتينات معينة مثل الأنسولين البشري والعامل الحال لخثرة الدم....)
- **3-** إنتاج سلالات من الأغنام والأبقار والأرانب والفئران تستخدم كمصانع لإنتاج بعض الهرمونات والبروتينات البشرية مثل البروتين الطبي YFG الحال للجلطات الدموية عند الإنسان.

- 4- معالجة الأمراض الوراثية وذلك بحقن نسخ من الجين السوي حقناً مجهرياً داخلالبيضة المخصبة

- 5- حل العديد من المعضلات التي تواجه الإنسان المرضية منها والعلاجية (دوائية – غذائية – بيئية – سرطانات)

- 6- يستخدم الاستنساخ في دراسة وظائف الجينات عامة ومشروع الجينوم البشري خاصة ويهدف هذا المشروع إلى تعيين مواضع الجينات على الصبغيات وتسلسل النكليوتيدات التي تؤلف الجينات التي تتأثر فيما بينها لإنتاج بروتيناً معيناً

العلاج الجيني:

- علاج الأمراض عن طريق استبدال الجين المعطوب بآخر سليم gene replacement أو إمداد خلايا المرض بعدد كاف من الجينات السليمة حيث تقوم الجينات بالعمل اللازم وتعويض المريض عن النقص في عمل جيناته المعطوبة .
- يمكن أن تكون هذه الأمراض الجينية المراد علاجها وراثية أو غير وراثية وتشكلت في الشخص بعد ولادته نتيجة طفرات ويقدر عدد الأمراض المعروفة والتي تسببها طفرات جينية ب(1500) مرض وتتراوح بين مرض السكري والربو والأزمة القلبية إلى السرطان

أساسيات العلاج الجيني

- 1-التعرف على الموقع الجيني المعطوب والذي يراد التعويض عنه بالإضافة أو بإحلال بديل له
- 2- ضرورة توفر الجين السليم المراد إعطاؤه للمريض .
- 3- ضرورة توفر آلية لإيصال الجين إلى الخلايا المستهدفة أضف إلى ذلك إمكانية الوصول إلى الخلايا المستهدفة .
- 4- ألا يتسبب هذا العلاج في أي ضرر للمريض كأن يتسبب في حصول طفرة جينية .
- 5- أن ينتج عنه تحسن في حالة المريض وأن يصل الجين السليم إلى عدد كاف من الخلايا المستهدفة وأن يستقر فيها ويعبر عن نفسه .

طرق إيصال الجين السليم إلى الخلايا المستهدفة

- أهم المشاكل التقنية التي تواجه العلاج الجيني وتعيق نجاحه:

1) كيفية إيصال الجين السليم إلى الخلايا المستهدفة
2) أن يصل بأعداد كافية وإلى عدد كاف من الخلايا المريضة
3) أن يكون الجين في حالة استقرار ولا يتحطم
4) له إمكانية التعبير عن نفسه كي ينتج بروتيناً ولتحقيق ذلك لا بد من وجود حامل لهذه الجينات يمكنه من تحقيق الأهداف المذكورة والناقل (Vehicle or Vector) الذي له الخاصية الطبيعية في دخول الخلايا هو الفيروس (Virus)

- تعتبر الفيروسات من أفضل الناقلات الحيوية والنوع المستخدم منها هو الفيروسات التراجعية Retroviruses بسبب خاصية الوصول إلى خلايا الجسم والانغراس في صبغيات الإنسان وتصبح جزءاً من جينات الشخص المعالج .
- الحمض النووي لهذه الفيروسات هو RNAبدلا من DNA وعندما تدخل هذه الفيروسات الخلية يتحول ال RNA إلى DNA وينغرس ال DNA في صبغيات الشخص المستقبل ويصبح جزءاً من تكوينه الطبيعي.

تمكن العلماء من إيصال الجبن السليم محمولاً على فيروس معطل

- عيوب هذه **الطريقة:**
- 1- **الفيروسات التراجعية** لا تدخل إلى نوع واحد من الخلايا بل تدخل إلى جميع أنواع الخلايا وهذا مما يقلل من كفاءة الانتقال.

- 2- **إمكانية أن يعمل الجين في خلايا مختلفة غير الخلايا المقصودة(المعطوبة)** وبذلك يؤدي إلى نتائج غير مرغوبة.

أنواع العلاج الجيني:

- **يقسم العلاج الجيني بناءاً على الخلايا المستهدفة إلى قسمين:**
- **النوع الأول :** العلاج للخلايا الجسمية Somatic geneإصلاح أي خلل جيني على مستوى جميع خلايا الجسم ماعدا الخلايا الجنسية وكذلك البيضة الملحقة .
- **النوع الثاني:** هو العلاج الجيني على مستوى الخلايا الجنسية الإنتاشية germline gene therapy حيث يتم علاج بيضة الأنثى أو الحيوان المنوي للذكر أو البيضة الملقحة في مراحل النمو الأولى وقبل أن تتمايز إلى خلايا متخصصة

تقسيم لأنواع العلاج الجيني يعتمد على

1. الطريقة التي يتم فيها إيصال الجين السليم إلى الخلايا المراد معالجتها فإذا دخل الجين إلى جسم المريض وإلى النسيج المستهدف علاجه فيسمى بالعلاج الجيني الحي أو الداخلي .

2. خارج الجسم ,كأن تسحب خلايا الدم أو النخاع مثلاً وتنمى في مزارع خلوية ويضاف إليها الجين السليم ومن ثم يعاد إدخال الخلايا المعالجة خارجياً إلى جسم المريض.

العلاج الجيني للأمراض غير الوراثية :

- السرطان الذي يعتبر في النهاية مرض مناعي حيث يفشل جهاز المناعة في التعرف على الخلية المحمولة أو السرطانية و القضاء عليها و من ثم تنمو وتنقسم هذه الخلية لتولد الورم السرطاني.
- إدخال جين مستضد التوافق النسيجي من شخص سليم إلى الخلايا السرطانية للمريض وبالتالي تنتج الخلايا السرطانية مستضد Antigen على سطحها يتعرف عليه بسهولة جهاز المناعة للمريض ويقضي على هذه الخلايا.
- إيقاف نشاط الجين المسبب للسرطان أو الجين المورم oncogeme وبالتالي إيقاف بروتين هذا الجين الذي يحول الخلية العادية إلى خلية سرطانية و تعرف هذه الاستراتيجية باسم Anise's technology أو تقنيات غير المعين

- طريقة أخرى لمكافحة الخلايا السرطانية هي حقنها بجين منشط للدواء المستخدم لعلاج الورم لأن الدواء يعطي في صورته غير النشطة ولا ينشط أو يعمل إلا في النسيج السرطاني الذي يحمل الجين المنشط للدواء و هذا يساعد على إعطاء جرعات من الدواء تقضي على الخلايا السرطانية و لا تسبب ضرراً للخلايا السليمة لأن الدواء لا ينشط فيها و لا يعمل
- ميزات هذه الطريقة أنه يتم أيضاً قتل الخلايا المجاورة للخلايا السرطانية فيما يعرف بتأثير المتفرج bystander effect

قضايا اجتماعية و أخلاقية ومحاذير العلاج الجيني

- حدوث تغير جيني للخلايا التناسلية للحيوان المنوي أو البيضة و من ثم انتقال هذا التغير إلى الأجيال القادمة ,وبالتالي فإن التغير الجيني سوف يعني تغيير النمط الجيني للإنسان إلى الأبد.
- إمكانية انغراس الجين الجديد في المكان الخاطئ أو في جين سليم فيسبب إيقافه و تعطيله عن العمل.
- ينغرس الجين المحمول في الجين المثبط للسرطان و يوقفه عن العمل و بذلك تنطلق الخلايا من عقالها و تنمو نمواً سرطانياً أو أن يسبب هذا الانغراس الخاطئ تنشيط طليعة الجين المورم الذي يكون على حالة غير نشطة و يحوله إلى جين مورم.

الهندسة الوراثية في الطب الشرعي والطب البشري

- الجينات التي تنقل الرسالة الوراثية من جيل لآخر,وتوجه نشاط كل خلية هي DNA
- بصمة الجينات هي اختلاف في التركيب الوراثي لمنطقة الأنترون وينفرد بها كل شخص تماماً وتورث للطفل بحصولها على نصف هذه الاختلافات من الأم وعلى النصف الآخر من الأب
- يوجد شخص واحد فقط من بين (300)مليون شخص يحمل نقس بصمة الجينات.

- بصمة الجينات تورث طبقا لقوانين مندل الوراثية.

تعيين بصمة الجينات

- يتطلب عينة صغيرة من الأنسجة التي يمكن استخلاص الحمض النووي الريبوزي المختزل DNA منها
- عينة من الدم في حالة إثبات بنوه
- - عينة من الحيوان المنوي في حالة إخصاب
- - قطعة جلد من تحت الأظافر أو شعيرات من الجلد بجذورها في حالة وفاة بعد مقاومة المعتدي.
- - دم أو سائل منوي مجمد أو جاف موجود على مسرح الجريمة .
- - عينة من اللعاب .

تتابع القواعد النتروجينية الأربع

- هي التي تكون المادة الوراثية في صورة كلمات وجمل تقوم بتخزين المعلومات الوراثية في لوح محفوظ مسؤول عن حياة الفرد,
- تمكن العالمان الأستراليان (ر ولند فان وماكسويل جونز) في عام 1997 من عزل المادة الوراثية من الأشياء التي تم لمسها مثل المفاتيح والتليفون والأكواب بعد استخلاص المادة الوراثة,
- استطاعت بصمة الجينات عمل تحويل سريع من البحث الأكاديمي إلى العلم التطبيقي الذي يستخدم حول العالم وخصوصاً في الحالات التي عجزت وسائل الطب الشرعي التقليدية أن تجد حلاًّ لها مثل: قضايا إثبات البنوة والاغتصاب وجرائم السطو والتعرف على ضحايا الكوارث.

- الهندسة الوراثية البشرية هي إحدى الفروع التطبيقية لعلم الوراثة ,وتعتبر ثورة تقنية جبارة تهدف إلى إضافة جينات جديدة تحمل إلى الكائن الحي صفات لم تكن موجودة من قبل ,لحين تجاوز التراكيب الو راثية الموجودة إلى تراكيب جينية أفضل بقصد إصلاح عيب أو خلل في المادة الو رائية أو تحسين الصفات العامة للأفراد عن طريق إعادة صياغة الخريطة .
- أعلن (هوكينج) بأن الجنس البشري وصفاته الوراثية ستزداد تعقيداً بسرعة كبيرة تفوق تخيلاتنا وقال إْن الهندسة الوراثية هي الجسر الذي يعبر عليه البشر للارتقاء والتطور في صفات الإنسان وهو أمر مطلوب حتى يستطيع الإنسان ملاحقة التقدم العلمي والتكنولوجي .

- حذر علماء من اسكتلندا من أن الإنسان القادم سيتسم بالبدانة والصلع بسبب الرفاهية المطلقة والتقدم العلمي الذي سيجعله لا يفعل شيئاً سوى تناول الطعام ومشاهدة التلفزيون , وهو ما سيجعله أشبه(بثمرة البطاطا).
- أشار العلماء إلى أن البشر يتجهون إلى الصلع والبدانة وأن يصبحوا كائنات ذات هياكل عظمية قصيرة أجسام هائلة ضخمة.
- طالب العلماء بتغير الإنسان لأسلوب معيشته الحالي والابتعاد عن النمط الاستهلاكي والاهتمام بالبيئة المحيطة به .
- ثورة الهندسة الوراثية البشرية تقدمت بحوثها وتطبيقاتها ولكن جزءا ًكبيراً من منجزات هذه الثورة ما زال بعيداً في مخيلات العلماء ومخابرهم فقط .

شكراً لإصغائكم