جامعة حماة
كلية الطب البشري

مقرر البيولوجيا الجزيئية
د. ظلال قطان

الرحلان الكهربائي للـ DNA على هلام من الأكاروز

إن التطبيقات العلمية والتكنولوجية المستخدمة في دراسة الـ DNA تتم من خلال العديد من التقنيات من بينها تقنية الرحلان الكهربائي للـ DNA على هلام من الأكاروز. وهي واحدة من التقنيات الأكثر شيوعا واستخداما لأنه يمكن من خلالها فصل جزيئات الـ DNA و الجزيئات الأخرى حسب الحجم و هذا شرط أساسي في التطبيقات المختلفة و خاصة من أجل تحديد أطوال قطع الـ DNA المقطعة من قبل الأنزيمات و بالتالي تحديد المورثة أو الطابع الوراثي.

إن انتقال جزيئات الـ DNA عبر الرحلان الكهربائي هي عملية بسيطة ولا تعترضها صعوبات تذكر ويمكن استخدامها بسهولة في العمليات التطبيقية في الجامعة كما في المدارس الثانوية لتعريف الطلاب بالتقنيات الأساسية المستخدمة في البيولوجية الجزيئية، جنبا" إلى جنب مع مختلف البرامج المعلوماتية (برامج معالجة النصوص، جداول البيانات، معالجة الصور .....) وتحليل النصوص التي يمكن أن تؤدي إلى تطورات هامة تساعد على فهم أفضل للفائدة العلمية كما العملية من استخدام التقنيات المتعلقة بمعالجة الـ DNA.

تحضير المواد:

1- نقوم بتجهيز حوض الرحلان وذلك بوضع الوسائد الجانبية والموانع المرافقة مع الحوض ليتم إغلاق الحامل بشكل محكم ومن ثم يتم وضع أداة تشبه المشط ذات أسنان، الغاية منها هو تشكيل آبار ضمن الهلام، وهذه الآبار سيتم فيها وضع الـDNA بداخلها لتنتقل عبر الهلام تحت تأثير الحلول الشاردي المتشكل نتيجة مرور التيار الكهربائي. إن أسنان المشط يجب أن تترك مسافة 1 مم بين قعر الحجرة المتشكلة و أسفل الهلام و أن تترك مسافة 1 سم من نهاية الحامل، بعد ذلك يتم التأكد من أن حامل الهلام ذات توضع أفقي .

2- نقوم بخلط المحلول الموقي TBE مع الأكاروز بنسبة 0,8 غ من الأكاروز لكل 100 مل من المحلول الواقي (إن النسبة المئوية للأكاروز تتوقف حجم جزيئات الـ DNA المراد فصلها).

3- نذيب الأكاروز في الميكروأوند ونراقبه جيدا لتجنب غليانه و خروجه خارج الحوجلة، ثم نخضه لمجانسة الخليط.

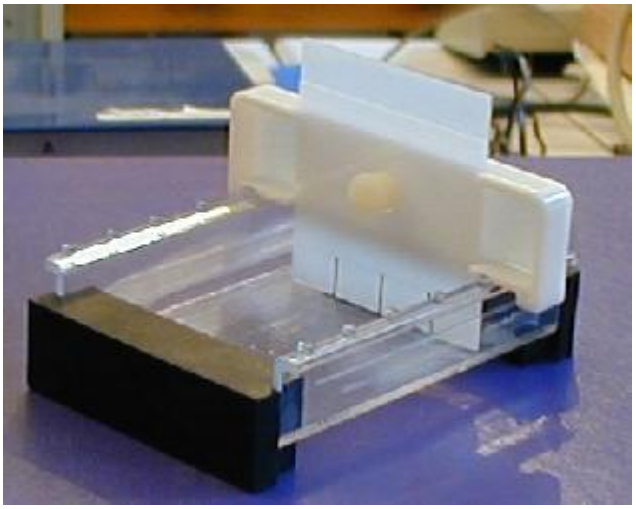
4- نتركه يبرد ببطء في درجة حرارة الغرفة أو وضع الحوجلة تحت صنبور للماء البارد مع الأخذ بعين الاعتبار بعدم تصلبه.

(هناك أنواع مختلفة من الأمشاط المستخدمة القابلة لتغيير أطوال أسنانها من أجل التحكم بارتفاعها وترك مسافة كافية في أسفل الهلام بحيث لا تثقب الهلام في الأسفل و يتسرب المحلول الذي يحتوي على الـ DNA في المحلول الواقي).

5- نصب الهلام بهدوء على الحامل بسماكة من 3 إلى 5 مم مع الانتباه إلى أن يحيط بأسنان المشط بشكل جيد و عدم تشكل الفقاعات.

6- نترك الهلام يبرد جيدا ثم ننزع المشط بهدوء بحيث نحافظ على الحجرات المتشكلة بشكلها المثالي وبالتالي يصبح الهلام جاهز للاستخدام (لحقن العينات بداخله).

ملاحظة : عينات الـ DNA يتم حفظها في درجة حرارة - 20 مئوية وذلك لتجنب هضمها من قبل أي أنزيم ولتبقى في حالة مجمدة.



الشكل48: الحامل مع المشط والموانع التي تغلق الحامل بشكل جيد

طريقة العمل:

بعد تحضير الهلام وتبريده نتبع الخطوات التالية:

1- نأخذ عينات الـ DNA التي سبق وتم مضاعفتها بواسطة تفاعلات التسلسل البوليميري و نضعها لمدة ثلاث دقائق في درجة حرارة من 60 إلى 65 درجة مئوية ثم يتم وضعها فوق قطع من الثلج لمدة 2 إلى 3 دقيقة وذلك لمنع حدوث ارتباط بين قطع الـ DNA و التي من الممكن أن تمتلك نهايات قابلة للارتباط.

2- من أجل ملء الحجرات المتشكلة ضمن الهلام نضع حوالي 5 ميكروليتر من المادة الملونة من اجل 10 إلى 15ميكروليتر من الـ DNA في أنابيب صغيرة جدا" خاصة للـ DNA تدعى الإيبوندروف (الكميات حسب تجارب الباحث العلمي تقريبا"50 ميكروغرام لكل عينة).

3- نقوم بملء الحجرات (الآبار) مع الانتباه الشديد لعدم تمزيق قاعدة الهلام بالنهايات الدقيقة للماصة.

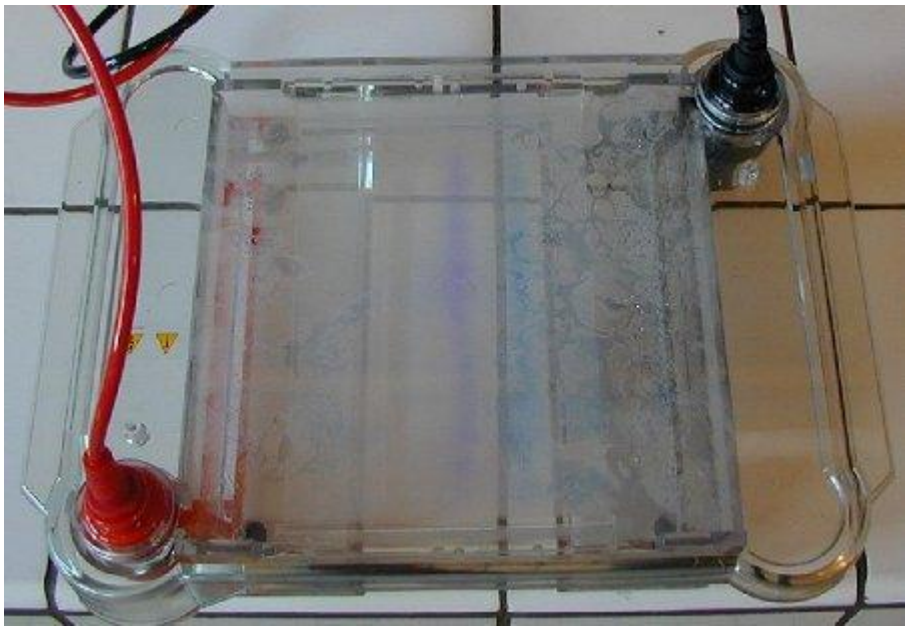
4- نضع في إحدى الحجرات بـ DNA شاهد يكون ذات أطوال موجية معروفة وبالتالي يسمح لنا بقياس طول أمواج الـ DNA الذي تم مضاعفته.

5- نضع الحامل مع الهلام الذي يحمل العينات في حوض الرحلان الكهربائي بحيث تكون الحجرات من جهة القطب السالب (الأسود).

6- نملأ حوض الرحلان الكهربائي بالمحلول الواقي TBE (يستخدم عدة مرات) و ذلك بصبه بهدوء وببطء حتى يتم غمر الهلام بشكل خفيف و ذلك لتجنب تسرب الـ DNA في المحلول الواقي.

7- نغلق الحوض و نقوم بوصل الأسلاك الكهربائية بحيث يكون السلك الأسود موصول إلى المهبط والأحمر إلى المصعد.

8- نصل التيار الكهربائي ونترك جزيئات الـ DNA تنتقل من المهبط باتجاه المصعد حتى نلاحظ أن المادة الملونة قد وصلت إلى نهاية الهلام تقريبا (حوالي 55 دقيقة تحت تيار كهربائي 100 فولت) من أجل هلام صغير من 8 سم في حوض صغير من الرحلان الكهربائي.



الشكل49: يوضح جهاز الرحلان الكهربائي و بداخله الهلام و جزيئات الـ DNA في طور الانتقال (لاحظ وجود خطين عريضين بلون أزرق وبنفسجي، الأول يحتوي على جزيئات الـ DNA والثاني على الملونات.

9- بعد ذلك نقطع التيار الكهربائي وننزع الأسلاك و نأخذ الهلام ونضعه ضمن غرفة صغيرة مظلمة ومجهزة بالأشعة فوق البنفسجية وبآلة تصوير موصولة إلى حاسوب و بداخله برنامج لمعالجة الصور.

ملاحظة: يجب الانتباه عند أخذ الهلام على الحامل لأنه ينزلق بسرعة كبيرة على الحامل و يتحطم.

الكشف عن عصابات (قطاعات) الحمض النووي ضمن الهلام

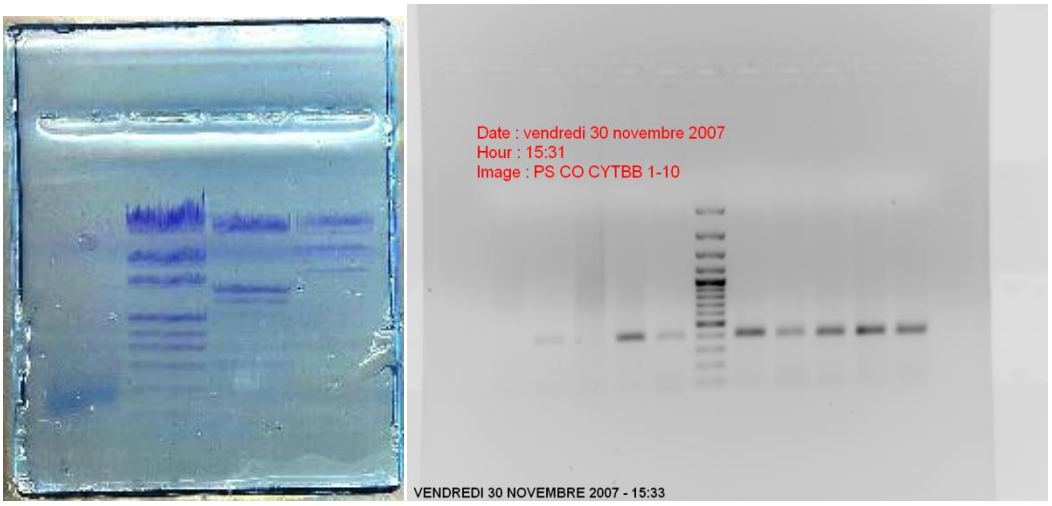
للكشف عن عصابات ال DNA نتبع الخطوات التالية:

1- يتم تغطيس الهلام بالملونات.

2- نتركه لمدة 1 ساعة أو ليلة كاملة ثم نقوم بإفراغ الملونات التي يمكن استخدامها عدة مرات، وبالتالي فان عصابات الـ DNA تظهر باللون الأزرق.

إن الهلام يكون ملون بشكل كبير في هذه المرحلة لذلك فانه من الضروري إزالة التلوين من خلفية الهلام من أجل تحسين نوعية الصورة فيما بعد لذلك نقوم بما يلي:

- غسل الهلام بالماء المعقم لعدة ساعات مع تغيير الماء من وقت لآخر .
- أخذ صورة للهلام مع عصابات الـ DNA بواسطة آلة تصوير رقمية أو بواسطة سكانر.



الشكل50: قطاعات الـ DNA

تنقية ال DNA من هلام الأكاروز

بعد الانتهاء من مرحلة الرحلان الكهربائي لا بد من تنقية جزيئات الـ DNA من مختلف المواد العالقة أثناء الرحلان الكهربائي، لذلك نقوم بقطع الهلام في أماكن تواجد عصابات الـ DNA و نحاول أن تكون هذه القطع على حافة الـ DNA حتى لا نأخذ كمية كبيرة من الهلام وبالتالي يصبح من الصعب تنقيته . نضع قطع الهلام المأخوذة في أنبوب صغير و نستخدم بروتوكول معين لإجراء التنقية (هنا سنتبع الخطوات المتعلقة ب Kit minilute (QIAGEN)

1- نضيف ثلاثة أحجام من المحلول الموقي QG إلى قطعة الأكاروز الحاوية على جزيئات الـ DNA فاذا كان لدينا 100ملغ من الأكاروز ، نضيف 300 ميكروليتر من المحلول الواقي.

2- نضع الأنابيب في أماكن مخصصة لها على صفيحة معدنية حارة بحيث تكون درجة الحرارة مثبتة على 60 درجة مئوية ونتركها لمدة عشرة دقائق. نخض الأنابيب بهدوء أثناء عملية التسخين عدة مرات بما يضمن ذوبان الأكاروز بشكل كامل. بعد ذلك نتركه يبرد قليلا حتى درجة الحرارة 4 مئوية.

3- نضيف 100 ميكروليتر من الايزوبروبانول و نخض الأنابيب بهدوء.

4- ننقل السائل إلى أنابيب جديدة مؤلفة من قسمين : 1- القسم الأول يسمى العمود وهو يحتوي على رشاحة لتصفية الـ DNA بالإضافة إلى الغطاء العلوي. 2- الأنبوب العادي الذي يوضع فيه العمود.

5- بعد أن تصبح العينات في العمود ننتظر لمدة دقيقة واحدة ثم نقوم بعملية التثفيل لمدة دقيقة واحدة و بسرعة 15000 دورة في الدقيقة.

6- نرمي السائل الناتج عن عملية التثفيل الموجود في الأنبوب و يبقى الـ DNA علق في العمود.

7- نضيف 300 ميكروليتر من المحلول الواقي QG ثم نثفل لمدة دقيقة واحدة بسرعة 15000 دورة في الدقيقة ونرمي الماء الناتج عن عملية التثفيل.

8- نضيف 750 ميكروليتر من المحلول الواقي PE (مضافا" إليه الكحول) و ننتظر لمدة خمس دقائق وبعدها نثفل لمدة دقيقة واحدة و نرمي السائل الناتج.

9- نثفل مرة أخرى بدون أي إضافة ولكن بوضع الأنابيب على الجانب المعاكس لما كانت عليه في المرة السابقة.

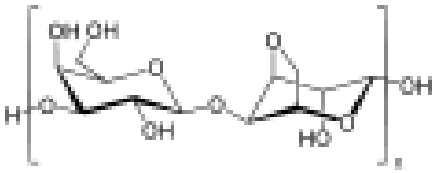
ملاحظة : في كل المراحل السابقة تبقى جزيئات الـ DNA متوضعة داخل العمود على نسيج الترشح.

10- نأخذ عمود الترشيح الذي يحوي على جزيئات الـ DNA ونضعه فوق أنبوب آخر ذات سعة 2 مل ونضيف إليه 50 ميكروليتر من المحلول الواقي EB الذي يقوم بحل جزيئات الـ DNA و ترسيبها في الأنبوب الجديد، ننتظر لمدة دقيقتين ثم نثفل لمدة دقيقة واحدة.

11- نضيف 30 ميكروليتر مرة أخرى من المحلول الواقي EB ونثفل لمدة دقيقة واحدة ونحتفظ بالـ DNA الناتج في أسفل الأنبوب في درجة حرارة - 20 مئوية.

إن الـ DNA الناتج سوف يستخدم فيما بعد لمعالجته و تحديد تسلسل النكليوتيدات في سلاسل ال DNA و ذلك باستخدام تقنية السلسلة (Séquençage) أو تحديد السلاسل.

الشكل60: الأنبوب المستخدم في تنقية الأكاروز



Agarose $C_{12}H_{18}O_9$

- الأكاروز وهو عبارة عن جزيء متعدد غير متفرع يتألف من الأغار-أغار المنقى، يستخدم في الرحلان الكهربائي للحموض النووية ويستخدم من أجل جزيئات الـ DNA التي تزيد عن 500 زوج من الأسس.

معلومات عملية

المحاليل :

محلـــــول الـــــواقي TBE (Tris borate EDTA) pH 8,3 Tris.HCl

[tris(hydroxyméthyl)aminométhane] 90 مل مول/لتر : 10,89غ

حمض البوريك : 90 مل مول /لتر : 5,56 غ

EDTA : 2 مـول/لتـر: 0,74 غ (ملـح ثنـائي الصـوديوم لحمـض الايتيلـين ثنـائي الآمـين تتـرا أسـيتيك) sel disodique de l'acide éthylène diamine tétraacétique

محلول موقي TE pH 7,6 (Tris EDTA)

من أجل 100 مل من الماء المعقم نضع :

12,1 غ (1 مول) [tris(hydroxyméthyl)aminométhane] TRIS Hcl

EDTA : 0,1 مـول/لتـر: 3,72 غ (ملـح ثنـائي الصـوديوم لحمـض الايتيلـين ثنـائي الآمـين تتـرا أسـيتيك) sel disodique de l'acide éthylène diamine tétraacétique

الملونات :

من أجل 10 مل من الماء المعقم نضع :

1- أزرق البروموفينول بمقدار 3 مل مول/لتر : 0,2 غ
2- سكاروز بمقدار 1,5مول /لتر : 0,01 غ
3- Tris. HCl بمقدار 10 مل مول :

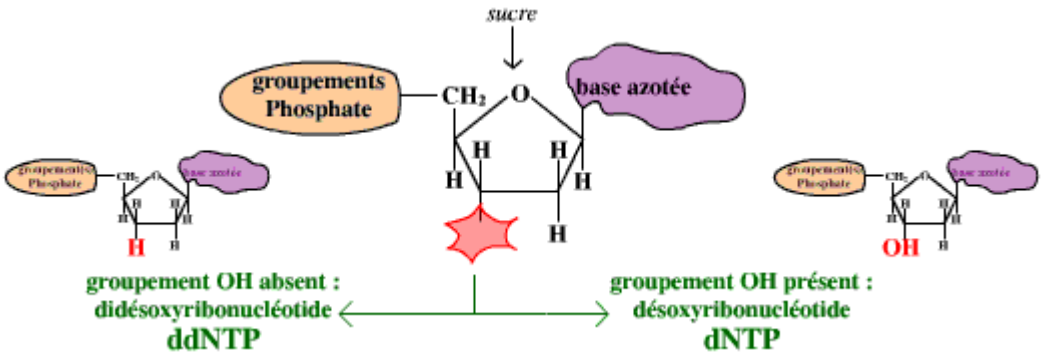
تحديد التسلسل النكليوتيدي للحموض النووية (سلسلة الحموض النووية)

مقدمة و مبادئ عامة:

إن تقنية سلسلة الحمض النووي (DNA) تعني تحديد تسلسل و تتابع النكليوتيدات المكونة لسلسلة الـDNA، وهي تمثل اليوم تقنية روتينية و مستخدمة بشكل واسع في مخابر علوم الحياة. تعتمد هذه التقنية على المعلومات والمعطيات التي تم اكتسابها منذ ثلاثين عاما و حتى الآن حول آليات تضاعف الـ DNA.

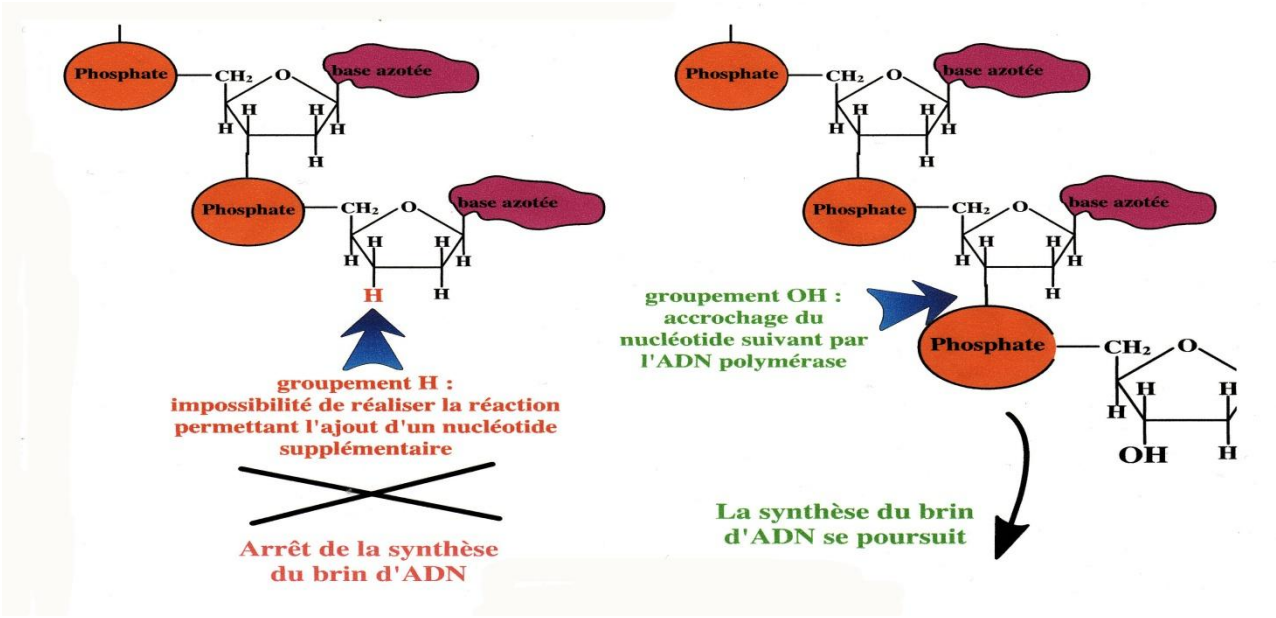
تستخدم تقنية سلسلة الحموض النووية أنزيمات خاصة هي أنزيمات تكثيف الـ DNA أو DNA Polymérase. هذه الأنزيمات تكون قادرة على اصطناع شريط متمم من الـDNA انطلاقا من سلسلة من الـDNA الأصلي (القالب أو السلسلة الفعالة)

تتم هذه التفاعلات بإضافة النكليوتيدات منقوصة الأكسجين dNTP و نستخدم من أجل عملية السلسلة نكليوتيدات مختلفة بشكل بسيط جدا و هي النكليوتيدات منقوصة الأكسجين ثنائيا ddNTP (أي أن كل نكليوتيد يكون منزوع الأكسجين في الموقعين 2' و 3' و ليس فقط في الموقع 2'). إن هذه النكليوتيدات تختلف عن النكليوتيدات السابقة من خلال غياب مجموعة هيدروكسيل محددة بدقة في الموقع 3'.



الشكل61: البنية الكيميائية للنكليوتيدات ddNTP و النكليوتيدات dNTP

في الواقع، حالما يتم استخدام واحد من النكليوتيدات ddNTP بدلا من النكليوتيدات dNTP من قبل أنزيم التكثيف فان هذا الأنزيم يصبح عاجزا عن إضافة نكليوتيد جديد إلى السلسلة التي يقوم ببنائها و بالتالي يتوقف اصطناع السلسلة عند مستوى النكليوتيد المنقوص الأكسجين ثنائيا ddNTP .

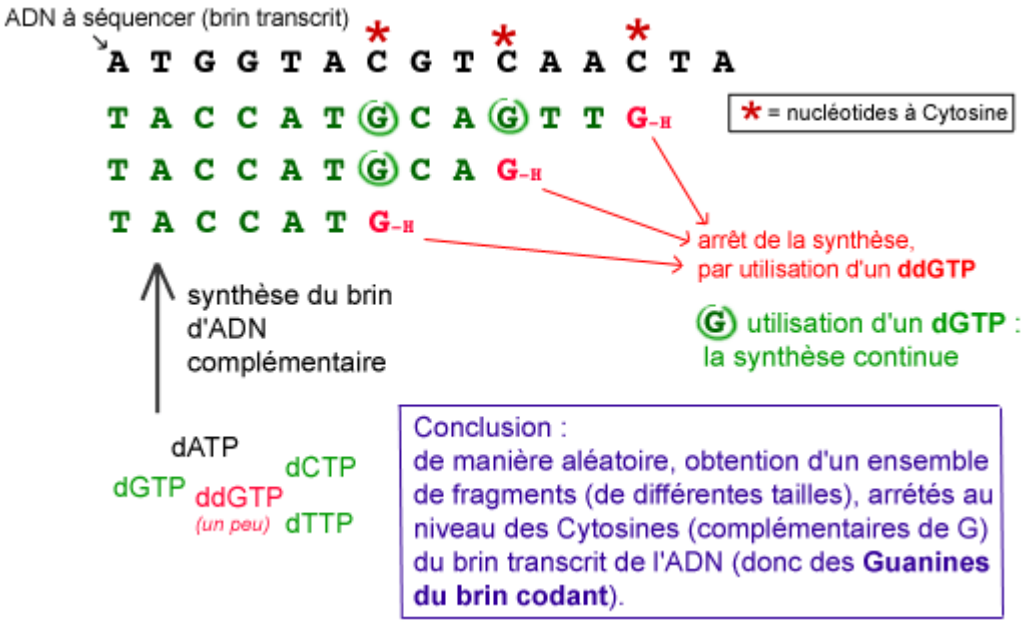


الشكل 62

إن تقنية تحديد التسلسل النكليوتيدي تقوم على المبادئ التالية :

يقوم أنزيم تكثيف الـ DNA باصطناع الشريط المتمم لشريط الـ DNA الذي نريد تحديد تسلسله النكليوتيدي.
يوجد في وسط التفاعل نكليوتيدات منقوصة الأكسجينdNTP بأعداد كبيرة وبالمقابل توجد كميات ضئيلة من النكليوتيدات منقوصة الأكسجين ثنائيا ddNTP (الأدنين، الغوانين، التايمين، السيتوزين).
في لحظة ما فان جزيء واحد من ddNTP سيضاف إلى السلسلة خلال إضافة نكليوتيدات إلى السلسلة الجديدة من قبل أنزيم التكثيف و بالتالي فان عملية الاصطناع تتوقف عند هذه النقطة.
على سبيل المثال: إذا كان لدينا في الوسط التفاعلي نسبة ضئيلة من ddNTP من الغوانين (ddGTP) سنحصل في نهاية التفاعل على مجموعة من سلاسل الـ DNA بأطوال مختلفة حسب المكان الذي سيتوضع فيه الـ ddGTP حيث يتوقف التفاعل في هذه النقطة. و هذا يتوافق مع قاعدة التزاوج بين الأسس أي في المكان الذي

يوجد فيه نكليوتيد السيتوزين على سلسلة الـ DNA القالب. نعيد نفس العملية في وسط يحتوي على الـ ddATP و الـ ddCTP و الـ ddTTP.



الشكل 63: كيفية تشكل السلاسل ذات الأطوال المختلفة عند استخدام النكليوتيدات ddNTP

يبقى قراءة السلسلة وهذا يتم عن طريق استخدام الرحلان الكهربائي حيث تنتقل قطع الـ DNA المتشكلة على هلام من الأكاروز ليتم فصلها حسب الحجم. إن كل خط من خطوط الانتقال الطولية المتشكلة على الهلام يحتوي عدة عصابات تختلف في بعدها عن مكان بدء الانتقال و بالتالي فان كل عصابة متشكلة توافق طول معين لقطع الـ DNA.

إن أنزيمات التكثيف غير قادرة على بدء اصطناع السلسلة المتممة أو الوالبة انطلاقا من لا شيء حيث يحتاج إلى قطعة صغيرة من الـ DNA ليبني عليها و هذه القطعة تسمى السلسلة البادئة و هي كما رأينا في تضاعف الـ DNA عبارة عن تسلسل نكليوتيدي قليل التعدد من 15 إلى 25 نكليوتيدة متممة لجزء معروف من بداية سلسلة الـ DNA التي نريد معرفة التسلسل النكليوتيدي فيها.

إن تفاعلات التسلسل باستخدام الـ ddNTP هي تفاعلات سريعة والنقطة الأطول هي قراءة النتائج . وهناك طريقتان تستخدمان في تحديد التسلسل النكليوتيدي :

1- تحديد التسلسل النكليوتيدي يدويا: و هي طريقة قديمة تتم خلال 2 إلى 4 ساعات على هلام من الأكريلاميد. فيما بعد يجب رؤية عصابات الـ DNA و من أجل ذلك يكون هناك عدة نكليوتيدات معلمة إما بإضافة جزيئات مفلورة على السلسلة البادئة المستخدمة أو من خلال استخدام نكليوتيدات موسومة بالأشعة. بعد ذلك نقوم بقراءة السلسلة بالنظر إلى الجزيئات المفلورة أو بعرض فيلم تصويري على الهلام حيث تظهر جزيئات الـ DNA على شكل عصابات عاتمة.

2- الطريقة المؤتمتة لتحديد التسلسل النكليوتيدي: إن الغالبية العظمى من السلاسل التي تم تحديدها و نشرها اليوم قد تم انجازها باستخدام جهاز تحديد التسلسل الأوتوماتيكي. إن هذا الجهاز قادر على انجاز تفاعلات التسلسل و قراءتها مباشرة. لذلك نقوم بوسم قطع الـ DNA بمعلمات مفلورة و بمجرد الانتهاء من تفاعلات التسلسل فان طول قطع الـDNA يتم تحديدها باستخدام التحليل الصبغي.

إن أجهزة السلسلة الأوتوماتيكية الحديثة تقدم عدة ميزات أهمها الأتمتة و استخدام الكاشفات اللونية بدلا من الرحلان الكهربائي و هذا يسمح بكسب الوقت و كذلك توفر الكثير من الناحية المادية حيث يتم استخدامها من أجل تحديد التسلسل النكليوتيدي عدد كبير جدا من المرات دون الحاجة إلى استبداله على عكس المواد المستخدمة في الطريقة القديمة التي تستخدم لمرة واحدة فقط. بالإضافة إلى ذلك فان هذه الأجهزة تستطيع قراءة عدة مئات وأحيانيا" عدة ألوف من النكليوتيدات بدقة عالية في حين أننا لا نستطيع أن نقرأ أكثر من 300 نكليوتيد بطريقة صحيحة باستخدام الطريقة القديمة.

من أهم عيوب هذه الأجهزة أنها ذات أسعار مرتفعة جدا و لا يمكن شراءها بسهولة مما يدفع مخابر و معاهد البحث إلى استخدام أجهزة مشتركة أو إرسال السلاسل لقراءتها في مخابر القطاع الخاص.

طريقة العمل:

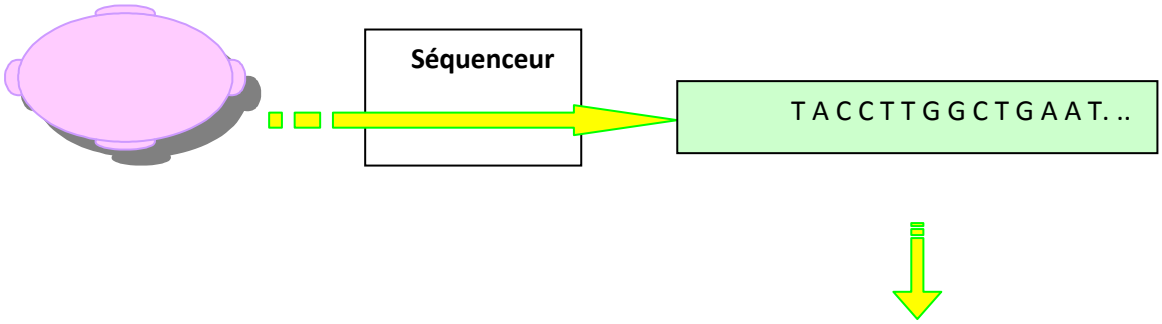
يمكن أن تقسم طريقة العمل لتحديد التسلسل النكليوتيدي إلى ثلاث مراحل :

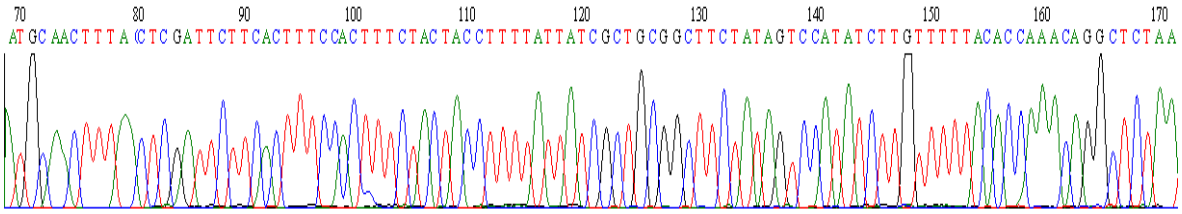
1- تفاعلات البلمرة وفيها يتم تحضير مزيج التفاعل بدقة عالية و من ثم وضعه في جهاز تفاعلات التسلسل البوليميري بعد برمجته حسب عدد الدورات و درجات الحرارة المطلوبة.

2- الترسيب

3- قراءة التسلسل النكليوتيدي:

يتم ذلك باستخدام أجهزة تحديد التسلسل النكليوتيدي ،تظهر النتائج على هذه الأجهزة بشكل أتوماتيكي على شكل منحنيات تسمح بقراءة النكليوتيدات. إن كل يمثل اكتشاف قطعة الـ DNA المفلورة التي تم الحصول عليها أثناء عملية السلسلة ، و كل قمة توافق اكتشاف ddNTP في موقعه على التسلسل يتم بعد ذلك التحقق من دقة كل سلسلة و ذلك بمقارنة كل قمة مع النكليوتيد الذي يقابلها.





الشكل64: آلية ظهور النتائج على جهاز تحديد التسلسل النكليوتيدي الأوتوماتيكي.

بعد الحصول على سلاسل ال DNA الكاملة للقطعة التي تمت مضاعفتها نقوم بمعالجة و تحليل هذه السلاسل حسب الهدف المرسوم والغاية المرجوة . يمكن استخدام هذه السلاسل في اتجاهات مختلفة سواء أكان في التصنيف أو دراسة التوزع الجغرافي للأنواع أو تحديد أسباب حدوث الأمراض الوراثية و كذلك تحسين الأنواع الخ....

الجزيئية التي يمكن استخدامها للكشف عن وتشخيص المرض والتعرف على المنتجات الطبية الجديدة الهامة التي تم إنتاجها ومن ثم سوف نتعرف على أمثلة عن المعالجة الجينية قبل أن نشرح عن الطب التجديدي أو المجدد regenerative medicine وننتهي بالحديث عن مشروع الجينوم البشري Human Genome Project ودوره في اكتشاف الجينات المسببة للأمراض.

أهمية البيولوجيا الجزيئية في الكشف عن وتشخيص الحالات المرضية لدى الإنسان:

مرت في عام 2003 الذكرى الخمسين لجائزة نوبل التي حاز عليها James Watson and Francis Crick لقيامهما بتوضيح بنية الـ DNA على شكل حلزون مضاعف السلسلة ومنذ ذلك الحين شهدت تقنيات البيولوجيا الجزيئية تقدماً هائلاً سمح للعلماء والأطباء باستخدامها للكشف عن الأمراض وإيجاد العلاج لها، ومن هذه التقنيات:

1-1- إيجاد نماذج عن الأمراض البشرية Models of human disease

لقد ساعدت الحيوانات كالفأر والجرذ والديدان والذباب على فهم الأمراض البشرية وذلك نظراً لوجود جينات مشتركة مع تلك الأحياء حفظت عبر التطور، وبالتالي يمكن للعلماء الآن أن يستخدموا العضويات كنماذج model organisms لدراسة الأمراض الجينية البشرية والتعرف على الجينات المسببة واختبار العلاج الجيني لمثل هذه الأمراض والمعالجة المعتمدة على الدواء drug-based therapeutic approaches لتحديد فعاليتها وأمانها في الدراسات ما قبل السريرية pre-clinical studies قبل استعمالها في الدراسات السريرية (على المرضى والأصحاء) لدى البشر.

إن استعمال نماذج من الحيوانات لدراسة الجينات البشرية أمر هام للغاية وذلك لعدم إمكانية التلاعب بالجينات البشرية لأغراض تجريبية، كما أنه من غير القانوني ولا الأخلاقي إجبار البشر على التزأو ج والإنجاب أو إزالة بعض الجينات منهم لدراسة آلية عملها ولكن هذه العمليات ممكنة وهي مستخدمة بكثرة في دراسة الجينات في النماذج الحيوانية مثل الفئران، والجرذان، والدجاج والخميرة والديدان والضفادع ونوع من السمك المنزلي المسمى zebrafish. إن العديد من الجنات تكون محفوظة عبر التطور من نوع إلى نوع وبالتالي يمكن التنبؤ عن آلية عمل جين في البشر عند فهم آلية عمله في نوع آخر.

تبين أن معظم الجينات التي تمت دراستها في النماذج الحيوانية تكون مشابهة للجينات البشرية **homologs** (أي ذات تسلسل متشابه وذلك اعتماداً على تقنية تسلسل الـDNA)، ولدراسة وظيفة جين معين تستخدم تقنية لإزالة الجين gene knockout التي تسمح بدراسة وظيفة الجين عن طريق دراسة التغيرات الناتجة عن غياب التعبير عن ذلك الجين، فعلى سبيل المثلا وجد العلماء أن الفئران تصبح سمينة عندما لا تحوي على جين يسمى *Ob* ويشفر هذا الجين هرمون يسمى leptin والذي ينتقل عبر الدم إلى الدماغ وبقوم بتنظيم الجوع وإن اكتشاف البروتين البشري المشابه the human homolo لهرمون الـ leptin فتح مجالات واسعة من الأبحاث عن فهم آليات استقلاب الدسم والحوادث الجينية التي يمكن أن تؤثر على اضطرابات الوزن، وإن بعض أمراض السمنة

في الطفولة تحدث نتيجة وجود طفرات في جين *Ob* وتتجه بعض الدراسات في المملكة المتحدة إلى معالجة الأطفال البدينين بهرمون الـ leptin وأعطت نتائج واعدة.

منذ القديم تم الوصول إلى الاكتشافات الهامة في المجالات المتعددة لعلم الأحياء التي تتضمن التشريح والفيزيولوجيا والكيمياء الحيوية وعلم الخلية وبيولوجيا التطور والوراثة والبيولوجيا الجزيئية في نماذج العضيات المختلفة وتم تأكيدها في الجنس البشري، فعلى سبيل المثال أثناء تكور المضغة developing embryos تموت بعض الخلايا لتفسح مجالاً لنموخلايا جديدة ولكن كيف يعرف الجسم أين يتم تطوير بعض الأعضاء وكيف يقرر أي الخلايا ستموت؟

لقد أدى استعمال الدودة من نوع *Caenorhabditis elegans* واختصاراً تسمى *C elegans* إلى الإجابة عن الكثير من مثل هذه الأمثلة الهامة. لقد مكنت الخراط المصنوعة لخلايا الـ *C elegans* (التي تحوي 50 959 خلية) العلماء من تتبع مصير الخلايا المختلفة في المرحلة الجنينية للدودة، وقد تبين أن 131 من هذه الخلايا تموت بعملية انتحارية تسمى الموت الخلوي المبرمج apoptosis (التي تدفع الخلية نفسها بنفسها للموت ولهذا تسمى عملية انتحارية cell suiside)، وأثناء تطور الجنين البشري تشكل خلايا جلدية طبقة من الجلد بين الأصابع webs ولكنها تختفي قبل الولادة نتيجة حدوث الموت الخلوي المبرمج فيها ولكن عملية الموت الخلوي المبرمج apoptosis هامة أيضاً في نواح أخرى فهي تلعب دوراً في أمراض التنكس العصبي neurodegenerative diseases مثل مرض ألزهايمر Alzheimer disease، ومرض Huntington disease ومرض amyotrophic lateral sclerosis وداء باركنسون Parkinson disease والتهاب المفاصل arthritis وبعض أنواع العقم infertility . إن استخدام نماذج الحيوانات model organisms يساعدنا على فهم الجينات المسئولة عن الأمراض وكيفية إبطاء عملها أو إيقاف تأثيرها التخريبي التنكسي.

إن أحد أهداف مشروع الجينوم البشري Human Genome Project هوتطوير فهمنا للتشابه والاختلاف الجيني بين البشر والعضويات الأخرى لا سيما أنواع الثدييات وقد تبين نتيجة هذا المشروع إضافة للدراسة جينية المقارنة comparative genomics أن هناك جينات كثيرة متماثلة لدى البشر والعضويات الأخرى فهناك مئات الجينات المتماثلة بين البشر والجراثيم مما يدعم نظرية التطور حيث تطورت الجينات من الجراثيم إلى العضويات الأرقى. فهل تصدق أن 50% من جينات البشر هي نفسها في ذباب الفواكه الذي نشاهده على الفواكه المشتراة من دكان البقالة، وقد يبدومن الصعب أن نصدق أننا نحتاج ضعف عدد الجينات الموجودة في ذباب الفواكه حتى ينتج الإنسان. إضافة لذلك هل تعلم أن النباتات مثل الرز تملك عدداً أكبر من الجينات مما هوفي الإنسان.

هناك 31% من الجينات المتماثلة بين الإنسان والديدان المدورة (الممسودات) roundworms وهناك 40% من الجينات المتماثلة بين الإنسان والخميرة التي تستخدم لتجعل عجين الخبز يتخمر وينتفخ ولصنع المشروبات الكحولية، ونتشارك بعدد أكبر من الجينات مع الفئران (حوالي 90% من الجينات متشابهة بالبنية والوظيفة).
إن العديد من الجينات التي تحدد مخطط الجسم البشري والأعضاء والنموكذلك الشيخوخة والموت تكون متماثلة في الإنسان وذبابة الفواكه، وحوالي 61% من الجينات الطافرة التي تسبب أمراضاً جينية في حوالي 289 مرض بشري موجودة في ذبابة الفواكه وتتضمن هذه المجموعة من الجينات أمراضاً مختلفة مثل سرطان البروستات والبنكرياس والتليف الكيسي cystic fibrosis واللوكيميا (ابيضاض الدم) والعديد من الأمراض الجينية الأخرى.
إن أمراض القلب هي مثال آخر عن الأمراض التي يحأو ل العلماء تصميم نماذج من حيوانات الدراسة model organisms لدراستها حيث يحأو ل العلماء مثلاً تطوير فأر لدراسة السكتة القلبية heart attack تفتقد للجينات الضرورية لاستقلاب الكولسترول حيث يكون من المتوقع أن ترتفع مستويات الكولسترول في دم هذه الفئران بشكل مشابه لمرضى التصلب العصيدي atherosclerosis (أي حدوث قسأو ة في الشرايين) وبالتالي يمكن اختبار الأدوية التي تعالج هذا المرض القلبي.
أخيراً لا زال العلماء في سباق لإيجاد علاج لمرض نقص المناعة المكتسب AIDS، وإن عمل نموذج حيواني مصاب بهذا المرض مهم جداً لهذا الغرض. يصيب فيروس HIV والفيروسات المشابهة له في البشر وثدييات أخرى مثل الشامبانزي chimpanzees وقرود الريزوس rhesus macaque monkeys ولكن مثل هذا الحيوانات غالية الثمن حيث يكلف كل حيوان حوالي الـ50000$ وتوافرها محدود جداً. يقوم العلماء حالياً بتطوير نموذج حيواني من القوارض rodents لمرض الإيدز ولكن هناك مشكلة في مثل هذا النموذج يحأو ل العلماء تخطيها ألا وهي أن المرض في القوارض قد يختلف عنه في البشر نظراً لأن الفيروس يصيب اللمفأو يات التائية T lymphocytes في البشر ويسبب تخربها في حين أن الفيروس HIV لا يتعرف على ولا يرتبط مع البروتينات المستقبلة في اللمفأو يات T في الفئران ولذلك يحأو ل العلماء أن ينتجوا نموذج من الفئران التي تعبر عن بروتينات خلايا T البشرية وبالتالي يمكن أن تخدع الفيروس ويتعرف على الخلايا T الفأرية ويخمجها.

2-1- الواسمات الحيوية للكشف عن الأمراض Biomarkers or disease detection

من الناحية النظرية يعد توفر الوسائل التشخيصية المناسبة وسيلة للكشف المبكر عن الأمراض في مراحلها المبكرة ففي بعض الأمراض ولا سيما مرض السرطان يعد الكشف المبكر عن المرض أساسياً لنجاح المعالجة وزيادة احتمال البقيا. إن إحدى طرق الكشف هي البحث عن **واسمات حيوية biomarkers** كمؤشرات على

حدوث المرض؛ إن الواسمات الحيوية في عبارة عن بروتينات ينتجها النسيج المريض أو هي بروتينات يزداد إنتاجها عندما يصيب المرض النسيج، وتتواجد هذ الواسمات الحيوية في البول أو الدم كمنتج من الخلية المريضة (الخلايا الميتة أو التي في طريقها للموت كالخلايا المتوتة بالـ apoptosis) من الأمثلة عن الواسمات الحيوية المستض النوعي للبروستات prostate-specific antigen (PSA) والذي يتحرر إلى الدوران الدموي عندما يحدث التهاب في غدة البروستات وترتفع تراكيز هذا البروتين في الدم عندما يحدث التهاب في البروستات أو سرطان. إضافة لذلك فإن الكشف عن الجينات بشكل مفرد أو كجينات يتم التعبير عنها معاً يعطي معلومات عن واسمات حيوية للأمراض وتعمل العديد من شركات التقانة الحيوية على البحث عن واسمات حيوية أفضل يمكن استعمالها للكشف المبكر ولتشخيص الأمراض.

1-3- الكشف عن الأمراض الجينية Detecting genetic diseases

لقد ثبت أن العديد من تقنيات البيولوجيا الجزيئية ذات قيمة عالية في الكشف عن العديد من الأمراض الجينية

اختبار الشذوذات الصبغية والجينات العطوبة Testing for chromosome abnormalities and defective genes

معظم الفحوصات الجينية كانت تجرى حتى الوقت الحالي تقريباً لتحديد جنس الجنين أو للكشف عن بعض الأمراض الجينية والعديد من هذا الاختبارات كانت تعتمد على التحري عن التغيرات الحاصلة في عدد الصبغيات، فإذا حدثت مشكلة أثناء تشكل النطفة أو البويضة فإن الجنين سيحوي على عدد غير طبيعي من الصبغيات ومن أكثر الأمثلة المعروفة عن ذلك مرض جيني يحدث فيه تغير في عدد الصبغيات يسمى متلازمة دأو ن Down syndrome والذي يحوي المريض به على ثلاث نسخ من الصبغي 21 (تثلث الصبغي 21، trisomy 21) وتظهر الأعراض على شكل تخلف عقلي وقصر القامة وملامح وجهية عريضة وقد أنتج العلماء مؤخراً نموذج من سلالة من الفئران الحأو ية على نسخة كاملة تقريباً من الصبغي البشري 21 وهي تظهر علامات متلازمة دأو ن وتمثل هذه الفئران نموذجاً واعداً لفهم الآليات الجينية لهذا المرض. إن الاختبار الجنيني لمتلازمة دأو ن هواختبار شائع للنساء الحوامل اللواتي يتجأو ز عمرهن الـ 40 عاماً نظراً لأن معدل حدوث هذا المرض يزداد مع عمر البويضات التي تنتجها المرأة.

لكن كيف يتم إجراء فحص إصابة الجنين بمتلازمة دأو ن؟ تستخدم عادة إحدى التقنيتين: إما أن يفحص السائل الأمنيوسي **amniocentesis** أو عن طريق الاعتيان الزغابي المشيمي **Chorionic villus sampling (CVS)**. تستخدم الطريقة الأو لى amniocentesis عندما يكون عمر الحمل 16 أسبوع حيث يتم إدخال إبرة في بطن الأم إلى السائل الأمنيوسي المحيط بالجنين لحمايته، ويحوي السائل الأمنيوسي على خلايا من الجنين

من جلده مثلاً وعندما يتم الحصول على العينة تزرع خلايا الجنين لعدة أيام لزيادة عدد الخلايا وتعالج الخلايا للحصول على الصبغيات التي توضع بعد الحصول عليها على صفيحة (شريحة) زجاجية، وتلون الصبغيات باستخدام ملونات ترتبط بالبروتينات المرتبطة بالـ DNA مما يعطي حزم متنأو بة غامقة وفاتحة على طول الصبغي ويكون من السهل ترتيب الصبغيات بشكل أزواج متقابلة وعد الصبغيات وتسمى هذه الطريقة النمط النووي **Karyotype** وهي الطريقة المستخدمة أيضاً لتحديد جنس الجنين عن طريق معرفة وجود الصبغيات الجنسية (X و Y).

من ناحية أخرى يمكن استخدام الاعتيان الزغابي المشيمي (CVS) للاختبارات الجنينية وأثناء هذه العملية يتم استعمال أنبوب مص للحصول على جزء صغير من طبقة الخلايا المسماة الزغابات المشيمية chorionic villi وهونسيج جنيني من المشيمة placenta ومن محاسن هذه الطريقة عن طريقة استخدام السائل الأمنيوسي أنها تعطي عدداً كافياً من الخلايا بحيث يمكن استعمال الخلايا مباشرة لإجراء الـ karyotyping ومن المحاسن الأخرى لهذه الطريقة أنه يمكن استخدامها في عمر أبكر من الحمل أي حوالي الأسابيع 8-10 من الحمل ولكن بما أن الجنين يكون أصغر فإن هناك أخطار مرتبطة بهذه الطريقة لإمكانية حدوث طرح للجنين miscarriage ولكن هذا الخطر غير موجود بطريقة السائل الأمنيوسي.

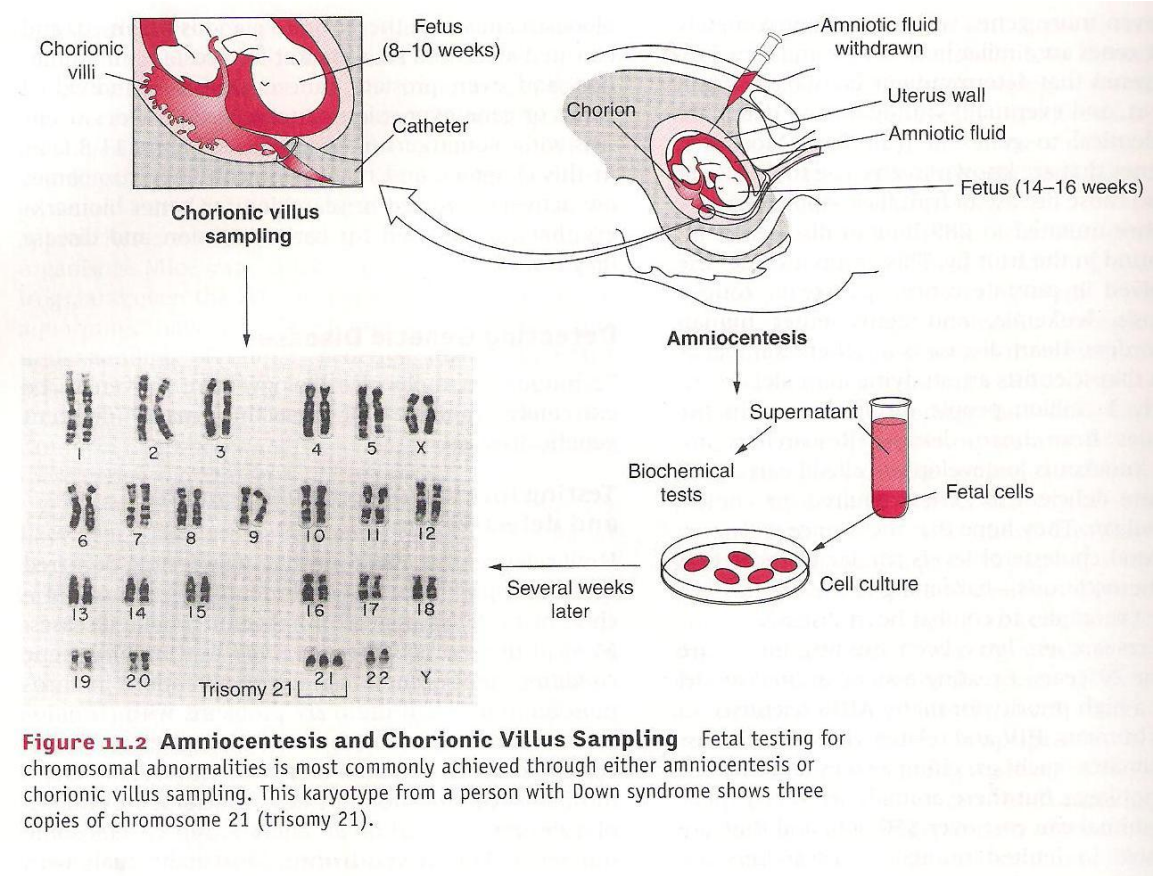


Figure 11.2 Amniocentesis and Chorionic Villus Sampling Fetal testing for chromosomal abnormalities is most commonly achieved through either amniocentesis or chorionic villus sampling. This karyotype from a person with Down syndrome shows three copies of chromosome 21 (trisomy 21).

يستخدم الـ karyotyping بسهولة عند البالغين للكشف عن الشذوذات الصبغية ويمكن بسهولة الحصول على عينة من الدم تعزل منها الكريات البيض التي تستخدم في النمط النووي. هناك طريقة حديثة نسبياً تستخدم في النمط النووي في الأجنة ولدى البالغين وهي التهجين في الموضع بطريقة الفلورة Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) وفيها تستخدم مسابير مفلورة (متألقة) تتهجن مع كل صبغي وكل من هذه المسابير يكون نوعياً لواسم (تسلسل) معين على الصبغي، وفي بعض الأحيان يمكن استخدام مسابير موسومة بمركبات تعطي تألقاً مختلفاً وتسمى هذه الطريقة (التنميط النووي الطيفي) **spectral karyotyping** .

إن طريقة الـ FISH مهمة جداً للكشف عن صبغيات مفقودة أو زائدة وهي من الناحية العملية أسهل من النمط النووي العادي فيم يخص الكشف عن الشذوذات الصبغية. تحدث العديد من الأمراض الجينية نتيجة شذوذات صبغية ناتجة عن حذف جزء من أحد الصبغيات أو حدوث إعادة توضع لجزء من صبغي إلى صبغي آخر نتيجة خلل أثناء تضاعف الصبغي وعلى سبيل المثال يحدث خلل عل مستوى الصبغيات في أحد أنواع اللوكيميا (سرطان ابيضاض الدم- نوع من السرطان في كريات الدم البيض) المسمى الابيضاض النقوي المزمن chronic myelogenous leukemia وفيه يتم تبادل DNA بين الصبغي بين الصبغي 9 والصبغي 22 حيث تتوضع جينات من الصبغي 9 على الصبغي 22 والعكس بالعكس ويتم الكشف عن هذا التبادل بتقنية الـ FISH باستخدام مسابير متألقة مختلفة لكل صبغي.

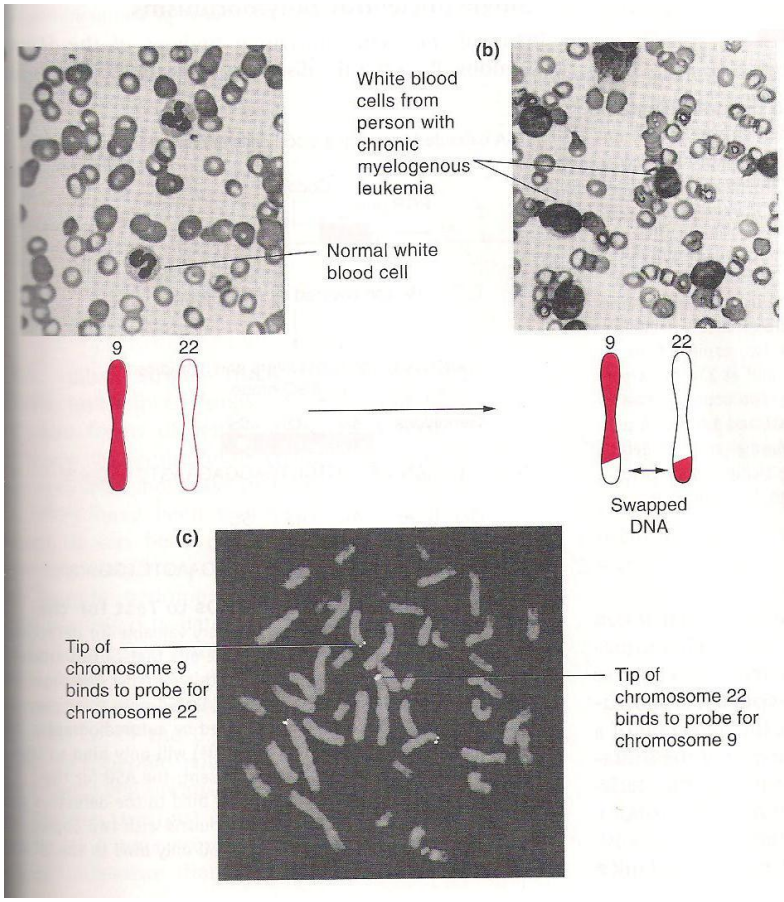


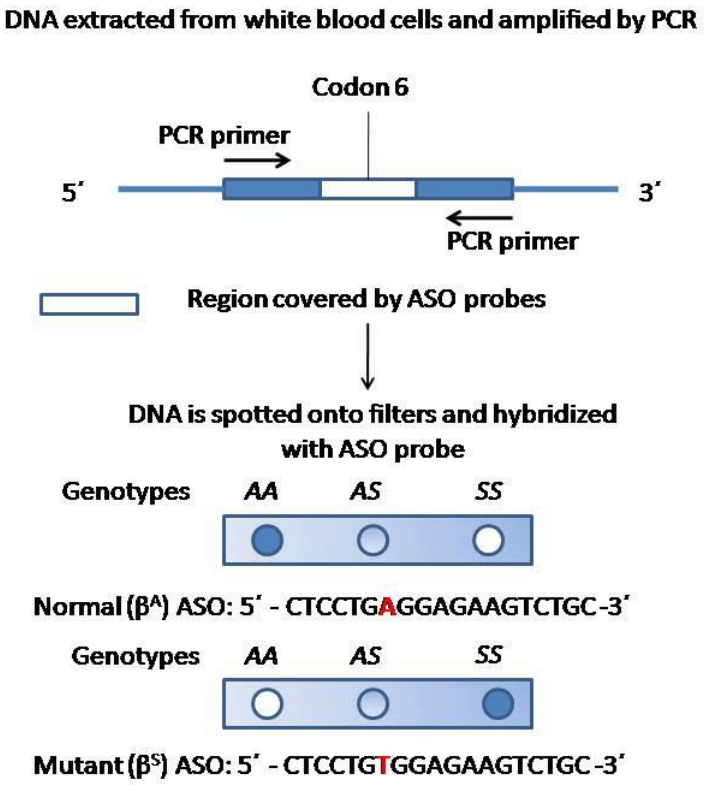
Figure 11.3 FISH Can Be Used to Detect Chromosome Defects Chronic myelogenous leukemia, a cancer of white blood cells created when genes on chromosome 9 and 22 are swapped, can be detected by using specific probes for each chromosome that fluoresce different colors.

تحدث معظم الأمراض الجينية نتيجة طفرات في جينات محددة بدلاً من حدوث شذوذات صبغية أو تبدلات بنيوية في الصبغيات ومع تطور التقنيات أصبح بالإمكان الكشف عن جينات مرضية معينة بمفردها في الأجنة والبالغين وتزداد إمكانية هذا الاستخدام مع الحصول على المعلومات من مشروع الجينوم البشري.

يمكن الكشف عن العديد من الأمراض الجينية في الأجنة (عينة من السائل الأمنيوسي) والبالغين (عينة من الدم) باستخدام تقنية **restriction fragment length polymorphism (RFLP) analysis** (وهي تلفظ rifflips). إن الفكرة الأساسية التي يعتمد عليها هذا التحليل هي أن التسلسلات الجينية العطوبة يتم قطعها بشكل مختلف بالأنزيمات التحظيرية restriction enzymes عن جيناتها المكملة الطبيعية وذلك لأن تغير النكليوتيدات في الجينات الطافرة يمكن أن يؤثر على مواقع قطع الأنزيمات التحظيرية منتجة قطعاً أقل أو أكثر، وتستخدم تقنية الـ RFLP في البصمة الوراثية أيضاً، فعلى سبيل المثال إذا أخذنا DNA من شخص طبيعي وشخص مصاب بفقر الدم المنجلي sickle cell disease وتم قطعها بنفس الأنزيمات التحظيرية يعطي كل منهما قطعاً ذات حجوم مختلفة عن الآخر لاختلاف طريقة قطع الجينات في كلا الـ DNA المستخدم ومن هنا جاءت التسمية **r**estriction **f**ragment **l**ength **p**olymorphisms أي قطع مختلفة الطول أو الأشكال (poly تعني العديد وmorphism تشير إلى شكل أو مظهر الشيء) تنتجها الأنزيمات التحظيرية.

يحدث الداء المنجلي عندما يحوي الشخص على نسختين طافرتين من جين الغلوبين β (β globin) وتعطي النسخ الطافرة من بروتين الـ β globin شكلاً غير طبيعي من الهيموغلوبين يؤثر على حجم وشكل الكرية الحمراء حيث يعطيها شكل المنجل.

من سيئات استخدام تحليل RFLP أنه يستخدم فقط للكشف عن الأخطاء الجينية التي تسبب فيها الطفرات تغيرات في المواقع التي تتعرف عليها الأنزيمات التحظيرية وتقطع فيها. لكن توجد هناك تقنية تسمى **allele-specific oligonucleotide (ASO) analysis** تسمح بالكشف عن تغير في نكليوتيد واحد في أي جين حتى لو لم تسبب الطفرة تغيراً في موقع (مواقع) القطع للأنزيمات التحظيرية ويتم في هذه التقنية استخلاص الـ DNA من عينة من كريات الدم البيضاء (المستخلصة من الدم) ويتم تضخيم الـDNA باستخدام تقنية الـ PCR(polymerase chain reaction) باستخدام برايمرات مقابلة لتسلسلات على جانبي الجين المسؤول عن المرض ويتم تلطيخ (عمل لطاخة blotting) للـ DNA المضخم (amplified DNA) على غشاء نايلون خاص ومن ثم تهجينه بشكل منفصل مع اثنين من عديدات النكليوتيد ASO التي تستخدم كمسابير وهي عبارة عن تسلسلات عديدة النكليوتيد طولها حوالي 20 نكليوتيد ويستخدم أحد تسلسلي الـ ASOs الذي يتهجن مع الجين الطبيعي ويستخدم تسلسل الـ ASO الآخر ليتهجن مع الجين الطافر ويظهر الشكل التالي مثالاً عن استعمال تحليل الـ ASO للكشف عن جين الداء المنجلي.



أصبحت التحاليل المعتمدة على استخدام الـ PCR شائعة الاستخدام كونها فعالة وقيمة بشكل أكبر من الطرق الأخرى في الكشف عن الجينات العطوبة، وبهذا أصبحت تقنيات الـ PCR وASO analysis وكذلك الـ FISH مستخدمة للكشف عن الخلايا المنجلية من خلايا جنينية بعمر 8-23 شهر يتم إنتاجها في المختبر بعملية الإخصاب في الزجاج in vitro fertilization وإن إجراء مثل هذا الاختبار الجيني قبل إجراء التعشيش.

4-1- Single nucleotide polymorphism

إن أحد أهم الاكتشافات من مشروع المجين البشري هو الكشف عن تغيرات خفية في الـ DNA تسمى single nucleotide polymorphisms (SNPs) وهي تلفظ snips وتمثل أحد أكثر الأشكال الشائعة للتغيرات الجينية بين البشر، ويمكن تعريفها على أنها تغيرات في نكليوتيد واحد في تسلسل الـ DNA تختلف بين شخص وآخر.

توجد الـ SNPs على كل الصبغيات البشرية ويقدر حدوثها بمعدل تغير SNP واحد كل 1000 إلى 3000 زوج أساس في الجينوم البشري وقد تم التعرف على أكثر من 1.4 مليون SNPs فإذا تم مقارنة قطعة DNA من أحد الصبغيات من شخصين مختلفين يكون حوالي 99.9% متماثلاً بين الشخصين في حين 80% تقريباً من نسبة الـ0.1% الباقية (المختلفة بينهما) تكون عبارة عن SNPs وإن معظم الـ SNPs لا تؤثر على الخلية كونها تحدث في مناطق غير مشفرة للبروتين (الانترونات) في الجينوم ولكن عندما يحدث الـ SNP في تسلسل جيني قد تسبب تغيراً في بنية البروتين مؤدية لحدوث مرض أو تؤثر على صفة بطرق مختلفة بما فيها زيادة القابلية لحدوث بعض الأمراض.

تمثل الـ SNPs تغيرات في تسلسلات الـ DNA التي تؤثر على استجابتنا للشدة والمرض وكان أو ل SNP مكتشف ذوعلاقة بمرض داء الدم المنجلي sickle-cell disease . نظراً لحدوث الـSNPs بكثرة عبر الجينوم لذلك يمكن استخدامها كواسمات جينية ذات قيمة في التعرف على الأمراض المرتبطة بالجينات، فبعض الـSNPs تستخدم للتنبؤ عن احتمال الإصابة بالأمراض المختلفة مثل السكتة والسكري والسرطان والأمراض القلبية والأمراض العاطفية وتلك المؤثرة على السلوك وغيرها من الأمراض ذات الأساس الجيني.

تمثل الـ SNPs أداة واعدة مما دفع العديد من الشركات الصيدلانية لصرف ملايين الدولارات في مشاركة ما يسمى HapMap project. تتجمع العديد من الـ SNPs على الصبغيات بشكل تجمعات تسمى haplotypes ومن هنا تستخدم السابقة Hap كاختصار لـhaplotype، ويمثل مشروع الـ HapMap مشروعاً عالمياً بين شركات ومؤسسات أكاديمية وأخرى خاصة يسعى للتعرف وتصنيف المواقع على الصبغيات chromosomal

(loci) locations للـ SNPs التي يتجاوز عددها 1.4 مليون SNP والتي تتخلل الـ3 بليون زوج أساس في الجينوم البشري بهدف فهم دور الـ SNPs في تشخيص الأمراض وعلاجها.

5-1- التعرف على مجموعة من الجينات المرضية باستخدام تحليل microarray analysis:

تعتبر تقنية microarray من التقنيات الجديدة نسبياً لدراسة الجينوم والتي ستخدم كثيراً في الكشف عن الأمراض الجينية.

إن الـ **DNA microarrays** والذي يسمى أيضاً **gene chips** هي عبارة عن صفائح زجاجية مجهرية توضع عليها جينات بشكل نقاط ويمكن لـmicroarray واحد أن يحوي آلاف الجينات ويمكن استخدامه للاستقصاء عن أنماط جينية معينة عند المريض يتم التعبير عنها في بعض الأمراض ويمكن استخدام المعلومات الناتجة عن الـ Microarray من المريض لتحديد خطورة تطور أمراض مختلفة اعتماداً على عدد الجينات الموجودة عند المريض الخاصة بتلك الأمراض.

على سبيل المثال تعتبر الـ microarrays الحاوية على جينات مرضية أو SNPs محددة ذات قيمة كبيرة في دراسة التعبير الجيني في المريض ويتطلب إجراء ذلك عملياً عزل الـ DNA أو RNA من عينة نسجية من المريض (دم المريض مثلاً أو حتى مسحة من خلايا باطن الخد). يتم وسم DNA المريض بألوان مفلورة (متألقة) ويتم تهجينها مع الـ chip ويتم التعرف على النقاط التي تهجن فيها DNA المريض مع الـchip نتيجة ظهور التألق ويمثل ارتباط DNA المريض مع الـ chip احتواء DNA المريض على طفرة أو SNP. تقوم بعض الشركات حالياً بتطوير chips يمكن استعمالها من قبل الأطباء تعطيهم إجابة سريعة عن بعض الجينات لدى المريض، ومن ناحية أخرى تستخدم الـ microarrays حالياً لدراسة الاختلافات الجينية لدى المرضى بأنواع مختلفة من السرطانات بحيث تستغل هذه الاختلافات لتطوير خطط علاجية تعتمد على الاختلافات في التعبير عن الجينات المسببة للسرطان.

يوضح ما سبق كيف تساعد التقانة الحيوية على تطوير أدوية جديدة للأمراض التي تظهر مع تقدم العمر مثل داء parkinsons وAlzheimer والأمراض القلبية والسرطان والسكتة والتهاب المفاصل. هناك الآن أكثر من 500,000 من الأمريكيين المعمرين فوق الـ 100 سنة وتلعب الجينات دوراً رئيسياً في طول عمر الإنسان المعمر وقد تم تقدير عدد هذه الجينات بـ1000 جين ويستعمل العلماء الآن تقنية الـ microarrays لمعرفة الجينات التي تؤثر على عمر الإنسان وتقترح نتائج الدراسات التي أجريت على الأنسباء المعمرين قي التسعينات من العمر أو فوق المئة عام أن هناك جين واحد على الأقل متوضع على الصبغي 4 (وغيره أيضاً) يلعب دوراً هاماً في تفسير طول عمر بعض الأشخاص مقارنة مع غيرهم.

تمثل تقنية **protein microarray** وسيلة أخرى لتشخيص بعض الأمراض وتستخدم بطريقة مشابهة لطريقة DNA microarray حيث تحوي الـ chips على مئات أو آلاف من الأضداد المتوضعة بشكل نقط على الـchip وعند تطبيق البروتينات المعزولة من دم المريض يمكن الكشف عن الأمراض نتيجة وجود بروتينات من العضويات المسببة للمرض.

تغطي الفقرة التالية كيف يمكن إنتاج مركب جديد يمكن استخدامه لعلاج الأمراض البشرية باستخدام أدوات التقانة الحيوية.