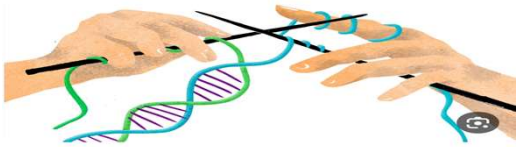
جامعة حماة
كلية الصيدلة
السنة الخامسة

تطبيقات التقانة الحيوية (3)

Applications of Biotechnology (3)



المحاضرة التامنه
الدكتورة ظلال محمد قطان

العلاج بالجينات Gene Therapy:

تهدف عملية العلاج بالجينات إلى محاولة التوصل إلى الشفاء من مرض وراثي بإعطاء المريض نسخة سليمة من الجين المعيب. وقد اتَسعت طرق العلاج بالجينات لتشمل محاولات لعلاج أي مرض عن طريق إدخال جين مُكَلوَن للمريض، وتوجد طريقتين أساسيتين للعلاج بالجينات:

الأولى: علاج الخلايا الجنسية (التناسلية) Germ line Therapy.

الثانية: علاج الخلايا الجسدية Somatic Cell Therapy.

أولاً: في العلاج التناسلي Germ line يتم إدخال نسخة من الجين السليم في الخلية البيضية المُخَصبة بعملية الحقن المجهري Microinjection ثم إعادة زرعها Reimplanted في رحم الأم.

وإذا نجحت العملية فإن الجين سيتم تعبيره في جميع الخلايا الناتجة عن انقسام هذه الخلية الأولى والتي يتكون منها في النهاية جسم الفرد.

مساوئ هذه التقنية هو:

1- الناحية الأخلاقية حيث تُطوى على جانب لا أخلاقي Immoral حيث لم تُؤخذ موافقة Consent الفرد الناتج بهذه الطريقة على هذا الإجراء.

2- كما أنه قد يتسع استخدام هذه الطريقة ليشمل جينات أخرى غير علاج الأمراض الوراثية مثل:

أ- محاولة تجميع جينات سوبرمان في شخص واحد.

ب- أو تجميع صفات معينة مثل الذكاء الحاد أو التفوق الرياضي في مجموعة بشرية معينة، مما يُعد نوع من التفرقة العنصرية غير المرغوبة.

لذلك تم تحريم استخدام هذه الطريقة في قانون حماية الجينوم البشري الذي أقرته الأمم المتحدة في أوائل التسعينات من القرن الماضي.

ثانياً: العلاج بالجينات للخلايا الجسدية Somatic Cells ينطوي على استخدام الخلايا الجسدية، حيث يتم أخذ عينة من النسيج الجسدي للفرد ويتم إدخال الجين المرغوب إلى هذه الخلايا مخبرياً ثم يُعاد زرعها في الجسم.

وقد أعطت هذه الطريقة أمالاً كبيرة خاصةً في علاج أمراض الدم الوراثية مثل الهيموفيليا والتلاثيميا. إذ يتم إدخال الجين في الخلايا الجذعية Stem Cells من نخاع العظام والتي يؤدي انقسامها إلى إنتاج جميع أنواع خلايا الدم المتخصصة.

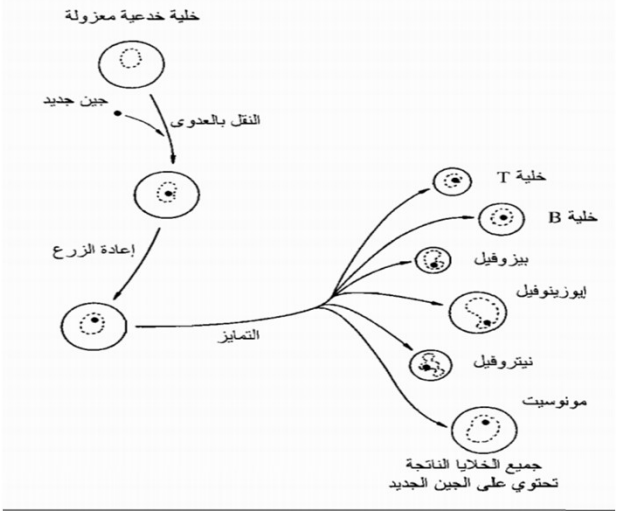
الطريقة:

- تحضير مُستخلص من خلايا نخاع العظم حاوي على بلايين من الخلايا.

- إدخال الجين المُكَلون فيها بناقل تعبير من نوع Retrovirus Based .

- إعادة زرعها في نخاع العظم.

يؤدي التكاثر والتمايز Differentiation في هذه الخلايا إلى اكتساب جميع خلايا الدم الناضجة لهذا الجين المرغوب، وتُبَشر هذه التقنية في علاج أمراض الرئة مثل التليف الحوصلي Cystic Fibrosis بإدخال الجين المُكَلوَن في أدينوفيروس Adenovirus أو في حُبيبات الليبوزوم Liposomes بحيث تُستخدم بخاخة Inhaler لتوصيلها إلى الخلايا الطلائية في الرئة، لكن التعبير الجيني قصير الأمد حيث تأثيره عدة أسابيع قليلة.



الشكل 43: يؤدي تمايز الخلايا الجذعية Stem Cell المحولة وراثياً إلى تعبير الجين الجديد في جميع أنواع خلايا الدم الناضجة.

من جهة أخرى: أمكن استخدام العلاج بالجينات عام 1990 في علاج فتاة كانت تُعاني من Severe Combined Immunodeficiency Syndrome (SCID) مرض نقص المناعة الشديد، ينتج عن الإصابة بهذا المرض بأن تتوقف وظائف الجهاز المناعي ويموت المُصاب عند تعرضه لأي عدوى ولو بسيطة لانعدام قدرته على المقاومة.

تَبيّن أن أحد الطفرات الرئيسية التي تُسبب (SCID) تحدث في الجين المُشفر لأنزيم أدينوزين دي أميناز Adenoine Deaminase (ADA). وكانت أول خطوة في العلاج الجيني لهذه الحالة:

1- فصل خلايا الدم البيضاء من نوع T من المريض والتي تقوم بدور أساسي في الجهاز المناعي.

2- خلط هذه الخلايا مع ريتروفيروس مُعَدّل وراثياً ويحمل النسخة الصحيحة من جين ADA.

3- ينقل الفيروس هذه النسخة العفالة إلى جينوم الخلايا.

4- تنمية خلايا T المُعدلة في المخبر للتأكد من أن الجين المنقول تم تعبيره.

5- حقن المريض بحوالي بليون خلية T المُعدلة.

بعد هذا العلاج استمر مستوى بروتين ADA الطبيعي في الطفلة في حوالي 25-30 % من خلايا T وهي تعيش الآن حياة طبيعية.

العلاج الجيني للسرطان:

تنشأ معظم الأورام السرطانية نتيجة لحدوث طفرات، تؤدي إمّا إلى تنشيط لبعض الجينات المُسرطنة الأولية Proto-oncogenes مما يؤدي إلى تكوين الأورام أو إيقاف نشاط Inactivation لأحد الجينات المثبطة للسرطان Tumor Suppressor Genes والتي تؤدي نشاطها الطبيعي عادةً إلى كَبت تكوين الأمراض السرطانية.

يمكن اللجوء إلى تقنية إدخال Antisense RNA مُضاد المعني بحيث يكون مُكملاً لتتابعات الجين المُسرطن فيوقف نشاطه المُسرطن.

وقد استحدثت مؤخراً تقنية أكثر فاعلية في وقف نشاط الجين المُستهدف وهي تقنية siRNA.

حيث في حال حدوث طفرة التي تؤدي إلى إيقاف نشاط الجين المثبط للسرطان، فإن العلاج الجيني في هذه الحالة ينطوي على إدخال نسخة صحيحة ونشطة من هذا الجين.

إلاَ أنّ العقبة الرئيسة في هذه الحالات تكمُن في صعوبة التوصل إلى الطريقة التي تضمن وصول الجين المُكلون إلى الخلايا السرطانية والقضاء عليها دون غيرها من الخلايا الطبيعية.

من الطرق الفعالة لعلاج أنواع كثيرة من السرطان هو إدخال جين يُدمر الخلايا السرطانية انتقائياً Selectively.

توجد الكثير من الجينات التي تُشفر لبروتينات سامة ولا شك أن إدخال إحداهما بنجاح إلى الخلايا السرطانية سيؤدي إلى موتها وشفاء المريض.

لا بد أيضاً من التأكد من أن الجين المُكلوَن الذي يُشفر لهذا البروتين السام سيتجه فقط إلى الخلايا السرطانية بحيث لا يقتل الخلايا السليمة مما يتطلب استنباط نظم دقيقة لتوصيل هذه الجينات أو التوصل إلى وسيلة للتحقق من أن هذا الجين سيتم تعبيره في الخلايا السرطانية فقط.

يمكن أن يتم ذلك بوضعه تحت تحكم بروموتور متخصص ينشط فقط في هذا النوع من الخلايا Tissue-Specific. من الطرق الأخرى المُقترحة استخدام العلاج الجيني عن طريق رفع قدرة الجهاز المناعي في قتل الخلايا السرطانية وربما يتم ذك بكلونة جين يسبب بناء أنتيجينات قوية على سطح الخلايا السرطانية، مما يسمح بزيادة فعالية خلايا الجهاز المناعي في التعرف عليها وقتلها.

<u>تشخيص ومسح العيوب الوراثية:</u>

<u>Diagnosis and Screening Of Genetic Disorders:</u>

يتم تشخيص معظم الأمراض الوراثية قبل الولادة Prenatally. ومن أكثر الطرق استخداماً طريقتي البذل للسائل الأمنيوسي Amniocentesis أو أخذ عينة قسطرة Villus Sampling (CVS).

<u>في الطريقة الأولى</u>، يتم سحب السائل الأمنيوسي بسيرنغ ويتم تحليل الخلايا للكشف عن حدوث خلل كروموزومي أو طفرة الجين الواحد.

<u>في الطريقة الثانية</u>، (CVS) يتم إدخال أنبوب القسطرة أو البذل في الرحم وتؤخذ عينة صغيرة من نسيج مشيمة الجنين. وتُجرى اختبارات سيتووراثية Cytogenetic وبيوكيماوية و DNA المُعاد صياغته على عينة النسيج.

وقد أثبتت تحليلات DNA المُعاد صياغته حساسية كبيرة ودرجة عالية من الدقة في اكتشاف العيوب الوراثية.

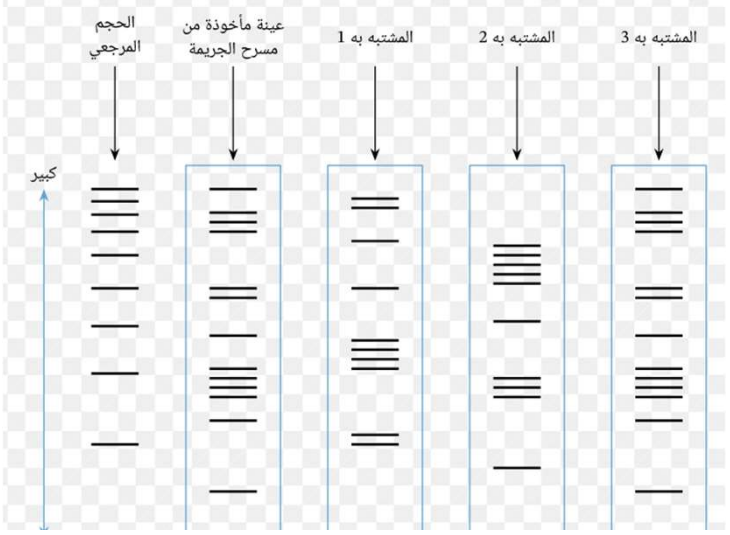
وقد أمكن تشخيص مرض الأنيميا المنجلية قبل الولادة بهذه الطرق، ومعروف أن هذا المرض ينتج عن طفرة متنحية تؤدي إلى استبدال حمض أميني واحد في بروتين β-Globin نتيجة طفرة استبدال لقاعدة واحدة والتي تؤدي إلى غياب موقع القطع الأنزيمي، القطع المحدد MstII وCvnI مما يؤدي إلى تغير في طراز RFLP لقطع القطع المحدد، وتستخدم الاختلافات في طراز RFLP لتشخيص مرض الأنيميا المنجلية قبل الولادة ولتحديد الطرز الوراثية للآباء والأفراد الآخرين في العائلة اللذين قد يكونوا بتركيب وراثي خليط (حامل للطفرة Carriers) لهذه الحالة.

استخدام البصمة الوراثية في الأمور الشرعية (القضائية):

Forensic Apolications of DNA Fingerprints:

أصبح استخدام البصمة الوراثية من الأمور الهامة الذي يلجأ إليها القضاء لاتخاذها كدليل لبراءة أو إدانة المتهمون أمام المحاكم، كما أنها تُستخدم في مجالات أخرى كثيرة مثل قضايا الهجرة والنزاع على الأبوة وغيرها..... وتستخدم في هذه الطريقة تقنية التهجين بالواسمات من نوع Microsatellites نظراً لدقتها.

يبين الشكل التالي بصمة DNA لقضية تم أخذ عينات دم من فردين أحدهما المتهم وعمل مطابقة بين طرز بصمات DNA مع تلك الناتجة من بقع دم وجدت في مكان الجريمة.



الشكل 44: يوضح بصمة وراثية بسيطة مأخوذة من مسرح الجريمة وثلاث أشخاص مشتبه بهم محتملين

15 الدكتورة ظلال محمد قطان الفصل الأول 2023-2024