

الفصل الثاني: الهندسة الوراثية: مبادئها، تقنياتها ومجالات تطبيقها

تمهيد: منذ سنة 1975، وبعد اكتشاف بنية ADN ومكوناتها، تمكن العلماء من استخلاص أجزاء من ADN خلايا مختلفة وزرعها داخل خلايا أخرى؛ من أجل اكساب هذه الأخيرة خصائص جديدة لتحسين مردوديتها أو لإنتاج مواد مرغوب فيها، فنشأت بذلك صناعة جديدة تعتمد على التغيير الوراثي للخلايا الحية عن طريق نقل مورثات، تسمى التقنيات المعتمدة في هذا التغيير بالهندسة الوراثية.

فماهي مبادئ الهندسة الوراثية؟ ماهي تقنياتها؟ وماهي مجالات تطبيقها؟

1- مبادئ وتقنيات الهندسة الوراثية

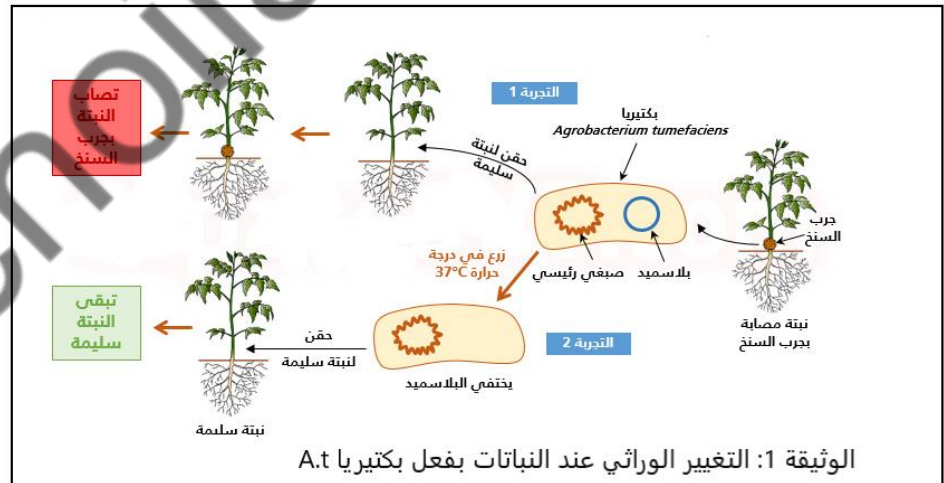
1. مفهوم التغيير الوراثي

أ- الكشف عن التغيير الوراثي عند النباتات: مرض جرب السنخ

يعتبر مرض جرب السنخ Galle du collet ورما سرطانيا يصيب النباتات على مستوى السنخ، و هي المنطقة ما بين الجذر و الساق. يتجلى هذا الورم، في تكاثر سريع و عشوائي لخلايا السنخ، كما أن هذا الورم يضم بكتيريات من نوع *Agrobacterium tumefaciens*.

قصد فهم سبب ظهور هذا المرض، قام العلماء بإجراء التجارب التالية:

- التجربة الأولى: تم عزل بكتيرية *Agrobacterium tumefaciens* من أحد الأورام، ثم تم حقنها لنبات سليم.
- التجربة الثانية: تم وضع بكتيرية *Agrobacterium tumefaciens* في وسط زرع تحت درجة حرارة 37°C، قصد إزالة البلاسميد منها (و هو أحد العناصر المتواجدة في سيتوبلازم البكتيريا)، ثم تم زرعها لنبات سليم.
- التجربة الثالثة: عند زرع خلايا ورمية في وسط افتقائي ملانم، يلاحظ تكاثر هذه الخلايا بشكل سريع. تمثل الوثيقة أسفله، ظروف و نتائج التجريبتين 1 و 2.



الوثيقة 1: التغيير الوراثي عند النباتات بفعل بكتيريا A.t

ماذا نستنتج من نتائج التجارب الثلاث؟

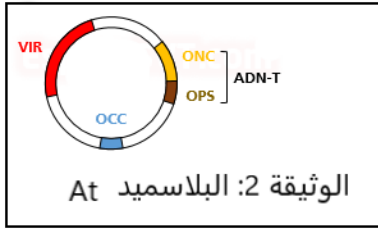
- نستنتج من التجربة (1) ان البكتيريا (At) هي المسؤولة عن ظهور مرض جرب السنخ.

- من خلال نتائج التجربة (2) نستنتج ان البلاسميد هو المسؤول عن ظهور جرب السنخ.

- من خلال نتائج التجربة (3) نستنتج ان خلايا السنخ اكتسبت صفة التكاثر السريع والعشوائي الذي يؤدي الى ظهور الورم السرطاني.

حدث تغيير وراثي على مستوى خلايا السنخ الناتج عن دمج مورثة جديدة في احد صبغيات الخلية النباتية وبالتالي اكتسبها لصفة التكاثر السريع والعشوائي (سرطان جرب السنخ).

قصد تحديد كيفية مساهمة البلاسميد في التغيير الوراثي لخلايا النبات، نقترح الوثيقة جانبه، و التي تمثل مكونات البلاسميد عند بكتيرية *Agrobacterium tumefaciens*.



- ONC : مورثة مسؤولة عن التكاثر الخلوي السرطاني.
- OPS : مورثة موجهة لتركيب الأوبين سانتيتاز (أنزيم يُركب الأوبينات).
- VIR : مورثة الحدة (مسؤولة عن نقل مورثات الورم إلى الخلية النباتية).
- OCC : مورثة مسؤولة عن هدم الأوبينات إلى كربون و أزوت.

الأوبينات: مواد ازوتية-كربونية ضرورية لتغذية البكتيريا من أجل نموها وتكاثرها (مصدر طاقة).

اقترح تعريفا للبلاسميد؟

البلاسميد هي جزيئة من ADN دائرية الشكل تحمل مورثات إضافية توجد عند بعض أنواع البكتيريا. (تستخدم كناقل بيولوجي في تقنيات الهندسة الوراثية)

ب- آلية التغيير الوراثي

تمثل الوثيقة اسفله الية تشكل جرب السنخ

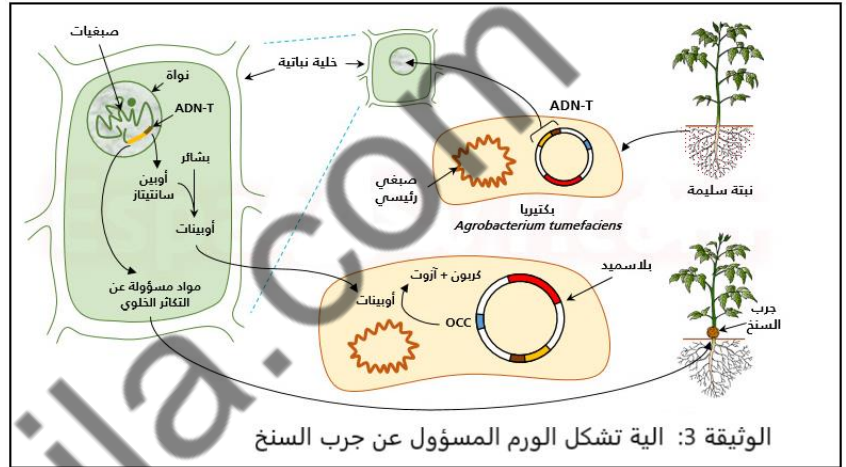
من خلال الوثيقة وضح (ي) كيفية تكون الورم المسؤول عن جرب السنخ عند النبات؟

- تسرب البكتيريا (At) الى سنخ النبتة عبر الجروح (نتيجة عن انخفاض درجة الحرارة).

- حقن البكتيريا لمورثة من البلاسميد (ADN-t) في نواة الخلية النباتية.

- دمج القطعة ADN-t ضمن احد صبغيات الخلية النباتية.

- بداية تعبير المورثات وتركيب الأوبين سنتيتاز المسؤول عن تركيب الأوبينات، تحرير الأوبينات خارج الخلية النباتية واستهلاكها من طرف البكتيريا من اجل نموها وتكاثرها.



الوثيقة 3: الية تشكل الورم المسؤول عن جرب السنخ

- تعبير المورثة ONC وتركيب الخلايا النباتية لمواد منشطة للتكاثر الخلوي من ما يسبب ورم الجرب في سنخ النبتة.

ج- خلاصة

يعتبر مرض جرب السنخ ورما ناتجا عن تغيير وراثي طبيعي لخلايا نباتية، سببه بكتيريا من نوع At حيث تقوم هذه الخلايا النباتية المغيرة وراثيا بإنتاج وإفراز مواد ضرورية لتغذية وتكاثر البكتيريا. هذا الانتقال الطبيعي للمورثات البكتيريا At الى خلايا نباتية أوحى بإستعمال نفس المبدأ (احداث تغيير وراثي عند خلايا معينة) لإنتاج مواد مرغوب فيها. فما هي مختلف التقنيات المستعملة في ذلك؟

2- تقنيات الهندسة الوراثية

2-1. الوسائل المستعملة

أ- البكتيريا:

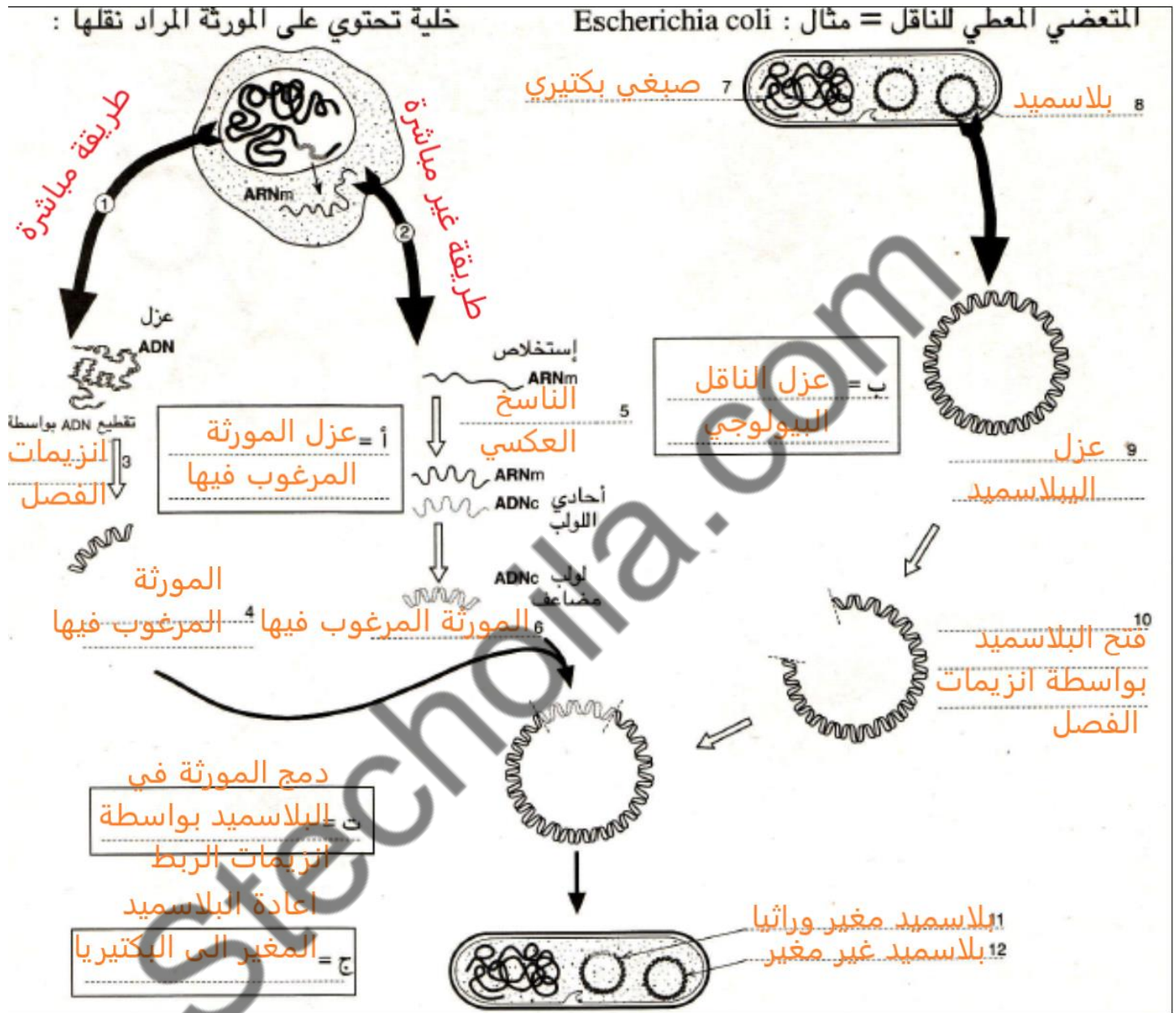
يتم الإعتماد على البكتيريا E. Coli في الهندسة الوراثية لعدة إعتبارات أهمها القدرة الكبيرة لهذا الكائن على التكاثر (تنقسم كل 20 دقيقة)، بالإضافة لتغفوره على صبغي واحد و عدة بلاسميدات يمكن استغلالها كناقلات للمورثات. كما أن سيتوبلازم هذه البكتيريا غني بجسيمات ريبية والعناصر الضرورية لتركيب البروتينات.

ب- أنزيمات القطع أو الفصل:

هي انزيمات نوعية قادرة على التعرف في مستوى جزيئة ADN على تسلسل دقيق من النيكليوتيدات (تسلسل palandramique مثل كلمة radar) وقطع الجزيئة على مستواها.

- لتحيض المورثة المنقولة بواسطة البلاسميد على التعبير داخل البكتيريا العائلة، يجب العمل على توضيبيها، و ذلك بتدخل نظام للمراقبة، يتمثل في إضافة مورثات في جانبي هذه المورثة المُدمجة.

2-2. مراحل عزل ونقل مورثة إلى خلية معينة

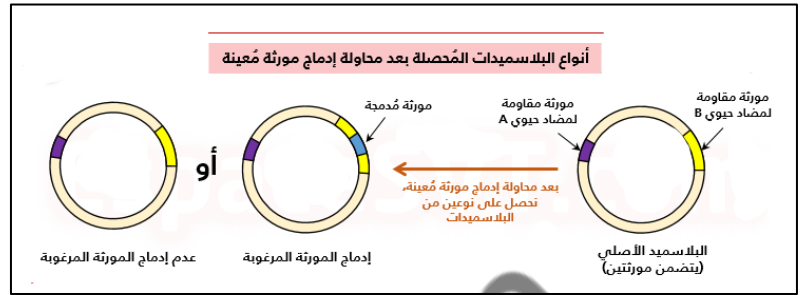


يتطلب نقل مورثة إلى بكتريا معينة المرور من المراحل التالية:

- عزل المورثة المرغوب فيها، وذلك بطريقتين:
- عزل ADN الخلية التي تحتوي على المورثة المراد نقلها، ثم يتم تقطيع جزيئة ADN بواسطة أنزيمات الفصل.
- استخلاص ARNm من الخلية التي تحتوي على المورثة المراد نقلها، وبواسطة الناسخ العكسي يتم تركيب ADNc الذي يكون حاملا للمورثة المرغوبة، ثم تصاف ل ADNc اطراف موحدة.
- عزل الناقل (البلاسميد) وقطعه بواسطة نفس أنزيمات الفصل المستعملة لعزل المورثة.
- إدماج المورثة في البلاسميد بواسطة انزيمات الربط.
- إعادة البلاسميد المغير وراثيا الى المتعضي الناقل (البكتريا).
- تلميم البكتريا بزرعها في وسط مقبوت للحصول على عدد كبير من الخلايا المتوفرة على المورثة المنقولة.
- رصد البكتريا المغيرة وراثيا باستعمال طرق مختلفة؛ كاستعمال مجسات مشعة والمضادات الحيوية
- تعبير المورثة وإنتاج المادة المرغوب فيها.

ملاحظات

بعد دمج البلاسميدات في البكتيريات العائلة، يتم زرعها في وسط ملائم بحيث تتكاثر مكونة مستعمرات على شكل لمامات، إنه التلميم . كل لمة تنتج عن تكاثر بكتيريا واحدة. عند محاولة دمج المورثة المرغوبة على مستوى البلاسميد، نحصل تجريبيا على نوعين من البلاسميدات : بلاسميدات أدمجت المورثة المرغوبة، وبلاسميدات لم تُدمج المورثة بفعل ارتباط الأطراف الموحدة قبل إدماجها. تمثل الوثيقة أسفله، رسما تخطيطيا للحالتين.



من خلال المعطيات أعلاه، يتبين لنا أن البكتيريات المحصل عليها لن تضم كلها المورثة المرغوبة لأننا سنحصل كذلك على بكتيريات تضم بلاسميد عادي (دون مورثة)، وكذلك، بكتيريات لا تضم اي بلاسميد، بينما فقط البكتيريات التي تضم البلاسميد جديد التركيب، هي التي تضم المورثة المرغوبة مما يجعل من الضروري رصدها.

تمثل الوثيقة أسفله، الأنواع الثلاثة للبكتيريات المحصل عليها.

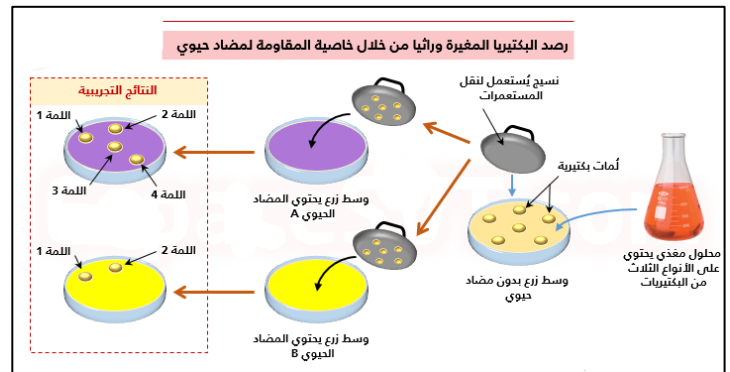


قصد رصد البكتيريات المغيرة وراثيا، يُعتمد على عدة تقنيات، من بينها استغلال خاصية مقاومة المضادات الحيوية بفعل مورثات تتموضع على مستوى البلاسميد.

رصد البكتيريا المغيرة وراثيا من خلال خاصية المقاومة لمضاد حيوي:

يضم البلاسميد المستعمل لدمج المورثة المرغوبة مورثتين إضافيتين، إحداهما مسؤولة عن مقاومة مضاد حيوي A، و الأخرى مسؤولة عن مقاومة مضاد حيوي B. كل بكتيريا تضم البلاسميد العادي، تكون مقاومة للمضادين الحيويين A و B.

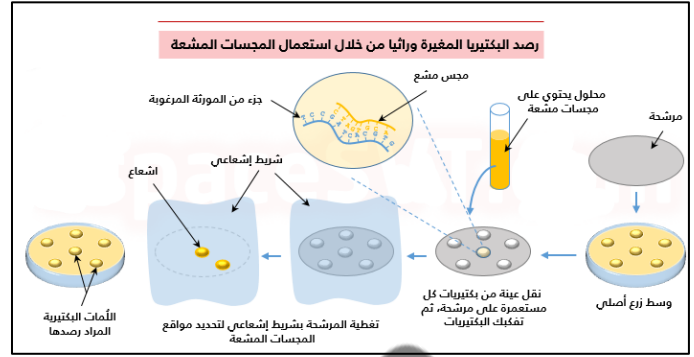
يتجلى مبدأ هذه التقنية في زرع البكتيريات في أوساط زرع تضم المضادات الحيوية، ثم تحليل النتائج المحصل عليها في كل وسط زرع لتحديد اللامات التي تحتوي على المورثة المرغوبة. توضح الوثيقة أسفله، ظروف و نتائج هذه التجارب.



يمكن كذلك رصد البكتيريات المغيرة وراثيا من خلال تقنية أخرى و هي استعمال المجسات المشعة.

رصد البكتيريا المغيرة وراثيا باستعمال المجسات المشعة:

تعتمد هذه التقنية على رصد المورثة المرغوبة، باستعمال **مجسات مشعة**، وهي عبارة عن قطع ADN أو ARNm مشعة و مكملة لمتتالية الـ ADN لجزء مميز من المورثة المستهدفة. يتم بعد ذلك تحديد تموضع الإشعاع باستعمال شريط إشعاعي. يدل الإشعاع في الشريط، على موقع تواجد المجسات المشعة، و بالتالي موقع تواجد البكتيريات الحاملة للمورثة المرغوبة. تمثل الوثيقة أسفله أهم مراحل هذا التقنية.



خلاصة: تعريف الهندسة الوراثية

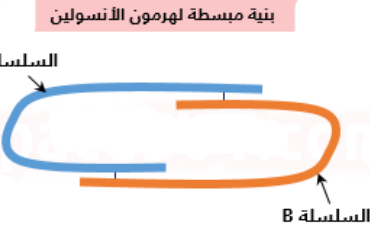
هي تقنية تسمح بنقل مورثة ذات اصل نباتي او حيواني الى خلايا أخرى من البكتيريا لحتها على تركيب مواد مرغوب فيها.

II- تطبيقات الهندسة الوراثية

1- في الميدان الطبي والصيدلي

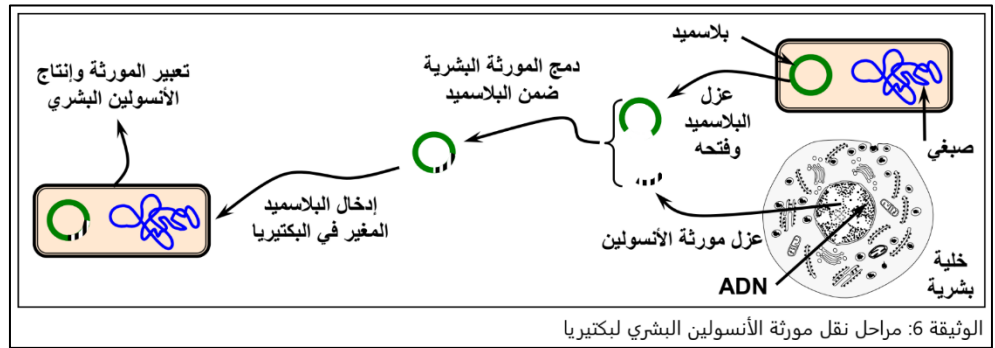
مثال: الإنتاج الصناعي لهرمون الأنسولين

الأنسولين هرمون مخفض لنسبة السكر في الدم، وهو عبارة عن عديد بيبتيدي مكون من سلسلتين A و B يتم انتاجه من طرف خلايا β لجزيرات Langerhans البنكرياسية. وكل نقص في هذا الهرمون يؤدي الى مرض السكري. الذي يعالج في هذه الحالة بحقن الشخص بالأنسولين الحواني، إلا أن استعماله في هذه الحالة يؤدي الى ظهور حالات أرجية، بحكم اختلاف التركيب الكيميائي بين أنسولين الحيوان والأنسولين البشري ومن هنا تظهر أهمية اللجوء الى الهندسة الوراثية لإنتاج أنسولين مطابق للأنسولين البشري باستعمال متعضيات مجهرية مثل خلايا الخميرة أو البكتيريا، وذلك عبر المراحل التالية:



عزل المورثتين المسؤولتين عن تركيب السلسلتين A و B ، المُشكلتين لهرمون الأنسولين البشري، بواسطة أنزيمات الفصل.

- بعد اختيار بلاسميد يسهل رصده، يتم دمج المورثة A في بلاسميد، و المورثة B في بلاسميد آخر، بواسطة أنزيمات الفصل (لقطع البلاسميد)، و أنزيمات الربط (لربطها بالمورثة).
- بعد دمج البلاسميدات في البكتيريات، يتم تلميم هذه الأخيرة، و رصد تلك المغيرة وراثيا، ثم توضع في مفاعلات حيوية اصطناعية (مخمرات) تسمح بتكاثر البكتيريات و انتاج السلسلتين A و B.
- تُركب السلسلتان A و B للحصول على هرمون الانسولين البشري.



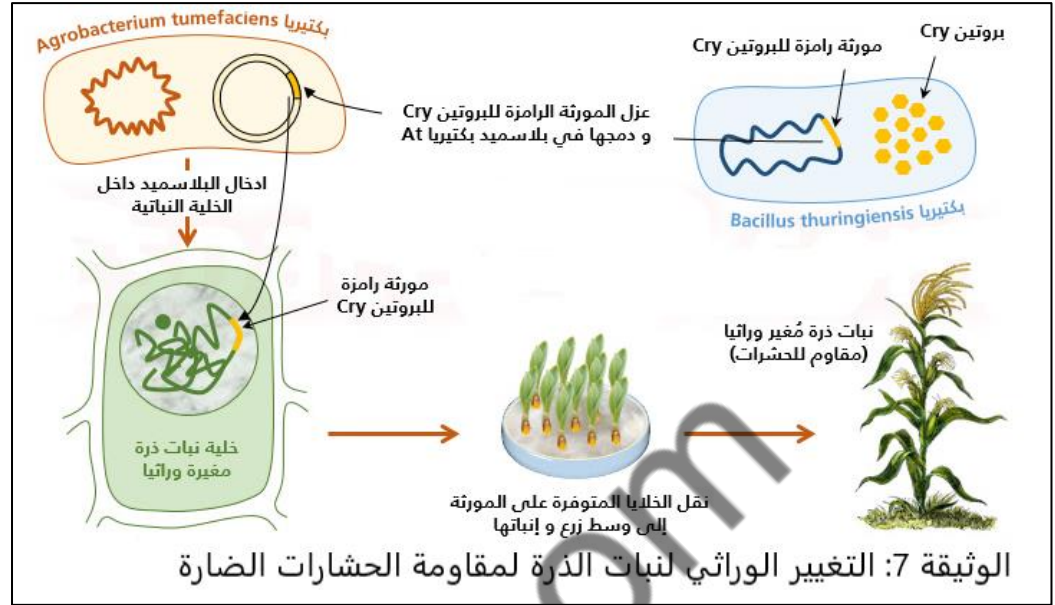
الوثيقة 6: مراحل نقل مورثة الأنسولين البشري لبكتيريا

2- في الميدان الزراعي

مثال: الإنتاج الصناعي لبروتينات سامة لمحاربة الحشرات الضارة

تعتبر أسروعات الفراشة النارية *Ostrinia nubilalis*، من الحشرات الضارة، و التي تلحق خسائر كبيرة في محاصيل الذرة. من أجل إنتاج نباتات ذرة مقاومة للأسروعات، تم اعتماد تقنيات الهندسة الوراثية، و ذلك باستغلال إحدى المورثات المتواجدة عند بكتيريا *Bacillus*

thuringiensis، و التي ترمز لبروتين يقضي على الأسروعات(البروتين Cry). هذه المورثة يتم إدماجها على مستوى الدخيرة الوراثية لنباتات الذرة، فتصبح قادرة على إنتاج البروتين Cry ، و بالتالي القضاء على الأسروعات. تمثل الوثيقة أسفله، أهم مراحل هذه العملية



Stechoila.com