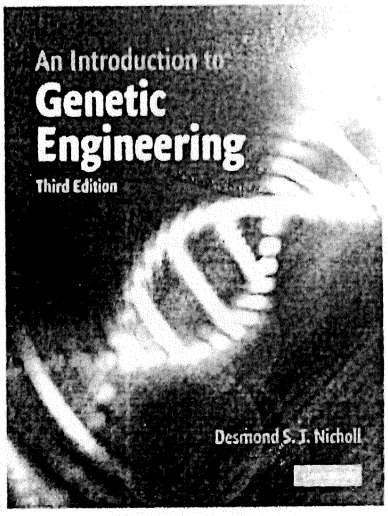
الجامعة السورية الخاصة
SYRIAN PRIVATE UNIVERSITY

كلية الصيدلة
Faculty of Pharmacy

السنة الثالثة

مقرر الهندسة الوراثية (الجينية)
الفصل الدراسي الأول
٢٠١٧-٢٠١٨
د. شادي سكرية
الفصل الأول

What Is Genetic Engineering?
ما هي الهندسة الجينية



Genetic engineering is a set of technologies used to change the genetic makeup of cells, including the transfer of genes within and across species boundaries to produce improved or novel organisms.

الهندسة الجينية هي مجموعة التقانات المستعملة في تعديل التركيب الجيني (الوراثي) للخلايا والتي تتضمن نقل الجينات بين الأفراد ضمن النوع الواحد أو بين الأنواع، بهدف إنتاج متعضيات محسنة أو متعضيات جديدة.

تختص الهندسة الجينية بالتعامل (منابلة) Manipulation مع المادة الوراثية (الجينية) genetic material باستعمال تقنيات خاصة يمكن من خلالها تعديل DNA.

تستعمل عدة طرائق several methods للتعامل manipulation مع الجين، يتضمن أغلبها إزالة removal وإدخال insertion مادة جينية ضمن متعضية.

مثلاً قطع DNA من مكان محدد بدقة بالغة من جينوم كائن معين ووصله مع قطع أخرى في مكان أخر ضمن جينوم كائن أخر.

- تستعمل أحياناً عدة مصطلحات لوصف الهندسة الجينية وذلك بحسب المراجع، معظم هذه المصطلحات تصف تقانات يمكن جمعها بمصطلح أوسع هو الهندسة الجينية.

Several terms may be used to describe the technologies involved in manipulating genes.

من هذه المصطلحات:

- المنابلة الجينية gene manipulation.
- التنسيل الجيني gene cloning.
- تقانة DNA المؤشب recombinant DNA technology.
- التعديل الجيني genetic modification.
- الوراثة الحديثة new genetics.

أهم ٦ تقنيات تختص بالهندسة الجينية:

١- قص أو قطع تسلسلات من DNA وإعادة ربطها مع تسلسلات أخرى مختلفة أو ما يعرف **بالتأشيب recombination**.

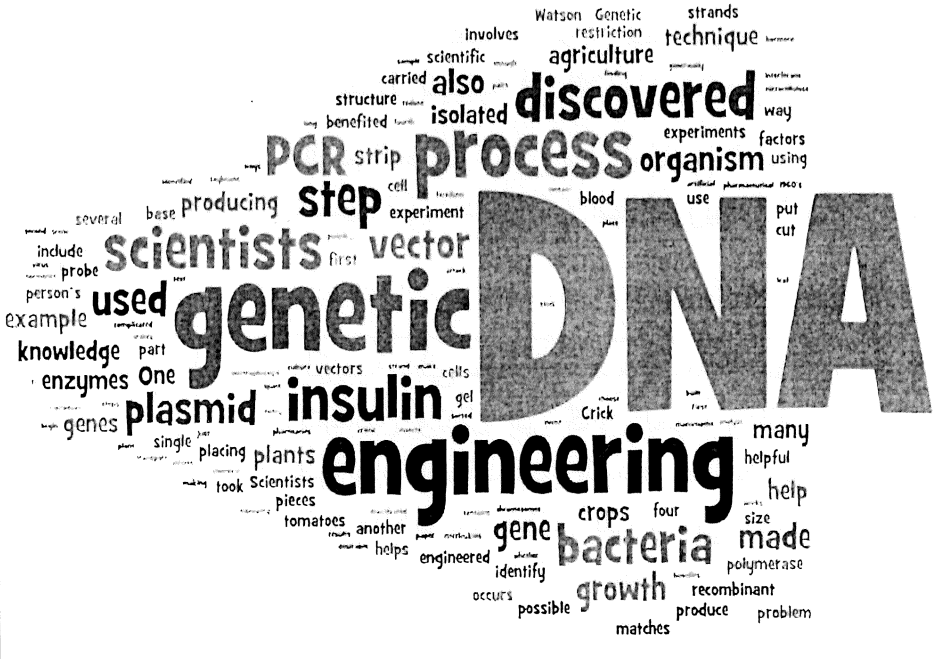
٢- فصل قطع من DNA بعضها عن بعض باستعمال **الرحلان الكهربائي Gel Electrophoresis**.

٣- معرفة التسلسل النكليوتيدات أي ترتيبها في قطعة محددة من DNA أو ما يعرف **بسلسلة DNA sequencing**.

٤- **تقنية تهجين الحمض النووي Nucleic acid hybridization**، والتي مكنتنا في معرفة أحجام القطع من الحمض النووي والكشف عن القطع المحددة من الحمض النووي في خليط معقد من القطع المتشابهة.

٥- **تنسيل DNA DNA cloning**، والتي تسمح بإنتاج نسخ عديدة ومتطابقة من تسلسل محدد من DNA.

٦- **تقنية تعديل DNA DNA modification** بخلق تغيرات في تسلسل DNA، والتي تسمح بإنتاج نسخة معدلة من جين ما ثم أعادته مرة أخرى إلى الخلية.



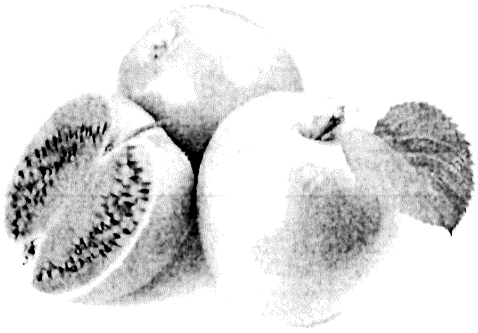
التطور التاريخي للهندسة الجينية

- حتى عام ١٩٧٠ كان إجراء الأبحاث على الحموض النووية من أصعب الأمور التي كانت تواجه علماء الوراثة والكيمياء الحيوية، حيث كانت معظم الأبحاث تجرى على البروتينات.
- و لكن مع تطور كلاً من البيولوجيا الجزيئية وعلم الوراثة ومع تطور التقانة واكتشاف الأدوات الجزيئية التي تمكننا من التعامل مع الحموض النووية بدأت تتغير المعطيات بشكل كامل، حيث بدأنا نفهم وظيفة الجينات وآلية عملها وبدأت تتوفر طرق التعامل معها مما سهل بشكل كبير فحص DNA حتى أصبح اليوم من التعامل مع DNA روتيني جداً **وأصبحت الهندسة الجينية من أكثر فروع البيولوجيا تطوراً**.
- لقد أصبح من السهل صنع نسخ عديدة من أي جين، كما أمكن معرفة تسلسل الأحماض النووية بسرعة كبيرة جداً. كما استطاع العلماء بعد اكتشاف **الجينات الموجودة في على الكروموسومات من تغييرها و تعديلها بشكل الذي يريدون** وليس هذا فحسب بل استطاعوا أن يعيدوا هذه الجينات المعدلة إلى الخلية وغرزها في الكروموسوم الذي يريدون.
- كما أمكن **إنتاج كميات كبيرة من البروتينات كالهرمونات و اللقاحات المختلفة** والتي كانت تنتج في السابق من الحيوانات والتي كانت تحفوها المخاطر من انتقال العدوى إلى الإنسان.

- كما أن هذه الثورة العلمية فتحت المجال أمام الكثيرين من محبي هذا العلم في اختراع واكتشاف **طرق جديدة وحديثة في التعامل وحفظ وتغيير المادة الجينية في الإنسان والحيوان والنبات.**
- لقد غير هذا العلم الحديث الكثير من المفاهيم الطبية مما دفع الكثير من الكليات الطبية إلى تعديل مقرراتها لتزويد طلابها بالمزيد منه.

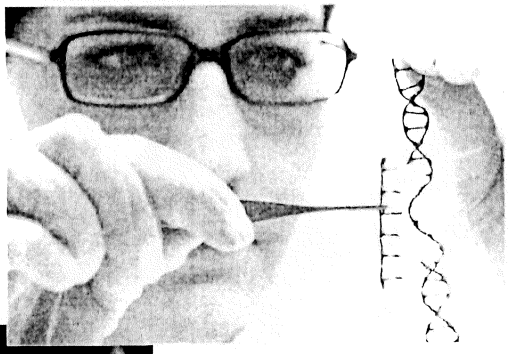
تقوم الهندسة الجينية على محاولة جمع صفة (صفات) مفيدة تؤخذ من كائن (كائنات) وتنقل إلى كائن آخر، وذلك بعزل الجينات المسؤولة عنها وإضافتها للكائن الجديد مما يكسبه وظائف جديدة لم يسبق له أن امتلكها سابقاً (أي القدرة على إعادة برمجة الكائن بمعلومات وراثية مأخوذة من كائن آخر).

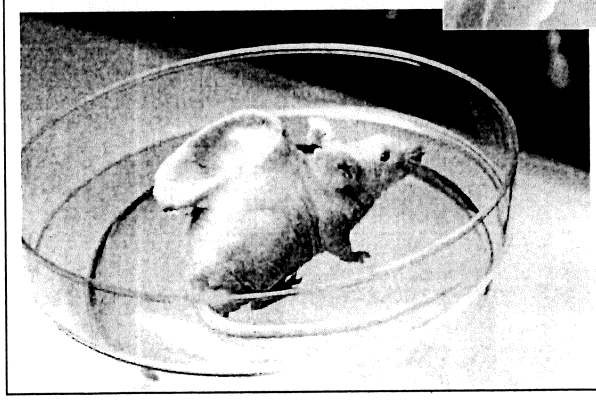
- التحكم بالجينات بطريقة تسمح **بظهور صفات جديدة مفضلة** في كائن لم يكن يمتلكها (إضافة صفة)؛ أو أنها **تزيل صفات** غير مرغوبة كانت موجودة لدى الكائن (مرض وراثي)؛ أو تسمح بالاستفادة منها في إنتاج مواد أو توفير خدمات محدّدة.



تعديل الجينات بما فيه الفائدة للبشر.

فأر معدل جينياً (مهندس جينياً) يحمل صيوان أذن بشرية على ظهره.

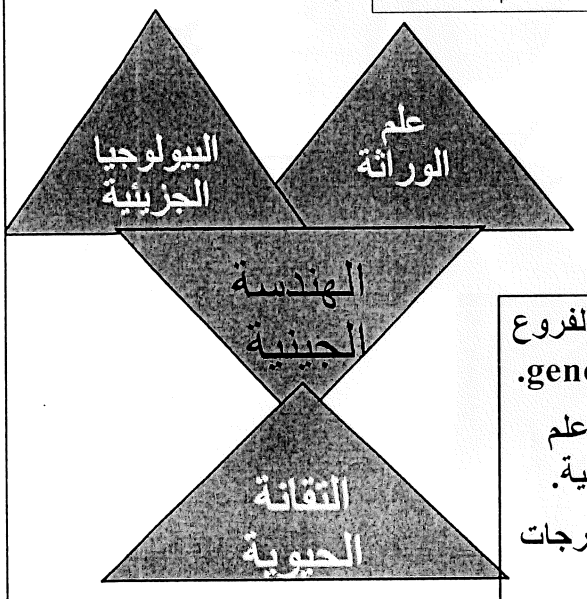




هناك **مجالات عديدة للمناولة الجينية** genetic manipulation:

- **البحوث الأساسية** في بنية structure ووظيفة function الجينات.
- **إنتاج بروتينات** مفيدة useful proteins بطرق جديدة novel methods (أدوية ولقاحات).
- **خلق نباتات وحيوانات محورة جينياً** transgenic.
- **التشخيص الطبي** Medical diagnosis والمعالجة treatment (**المعالجة الجينية**).
- **تحليل الجينوم** Genome analysis **وسلسلة** sequencing DNA.

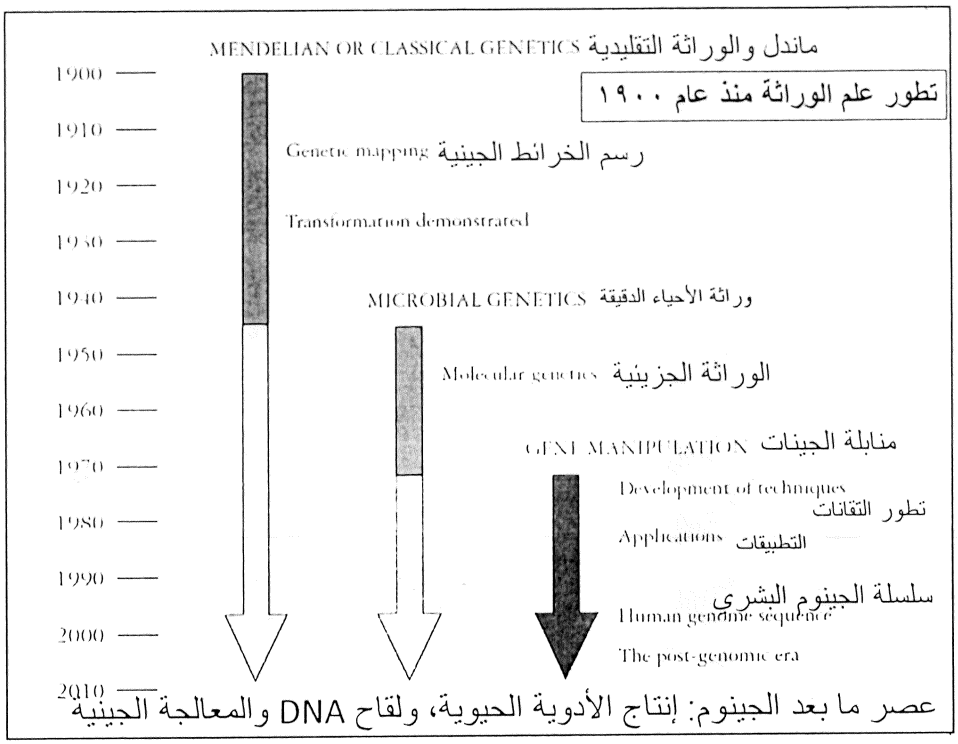
موقع الهندسة الجينية من العلوم الأخرى



تعد الهندسة الجينية إحدى الفروع التطبيقية لعلم الوراثة genetics.

ويمكن القول بأنها تجمع علم الوراثة بالبيولوجيا الجزئية.

وتعد التقانة الحيوية من مخرجات الهندسة الجينية.



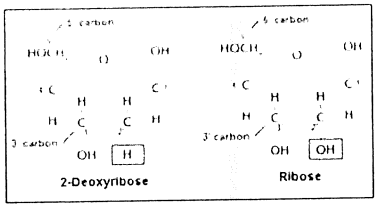
تذكرة ببعض المفاهيم الرئيسية في البيولوجيا الجزيئية:

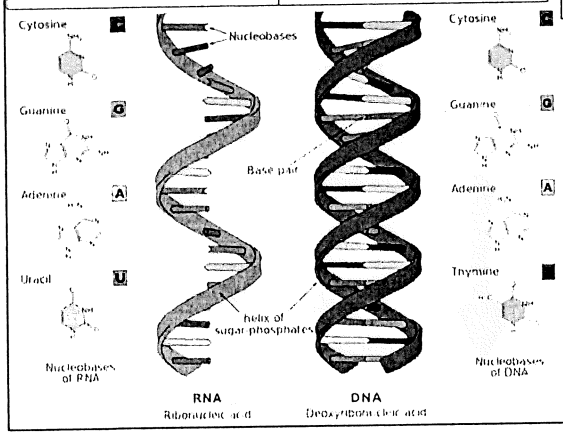
- بنية DNA
- بنية البروتينات
- بنية الجين المرمزة للبروتين
- آلية التعبير الجيني: الانتساخ والترجمة

الحموض النووية والبروتينات

الحموض النووية: DNA & RNA

DNA	RNA
Has the sugar deoxyribose	Has the sugar ribose
Has the base thymine (T)	Has the base uracil (U)
Is double-stranded	Is usually single-stranded
Forms a double helix	Does not form a double helix





هي عبارة عن بوليمرات للنكليوتيدات أو ما يعرف بالبولينكليوتيد.

يصطنع البولينكليوتيد بربط نكليوتيدين متجاورين برابطة الفوسفورية ثنائية الإستر

عديدات الببتيد Polypeptides والبروتينات

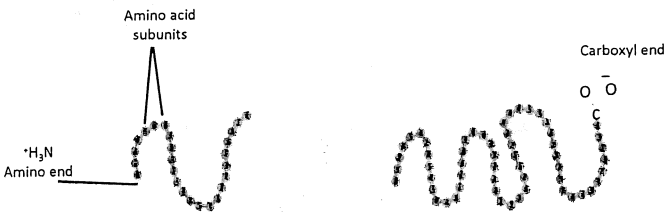
هي عبارة عن بوليميرات تتألف من المونوميرات: ٢٠ حمضاً أمينياً

عديدات الببتيد (بوليببتيدات) Polypeptides: بوليميرات الحموض الأمينية.

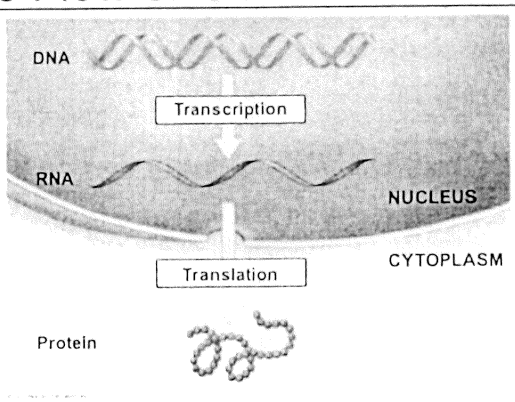
البروتين protein: يتألف من سلسلة واحدة أو أكثر من عديدات الببتيد.

تتشكل عديدات الببتيد من ارتباط الحموض الأمينية مع بعضها بروابط ببتيدية.

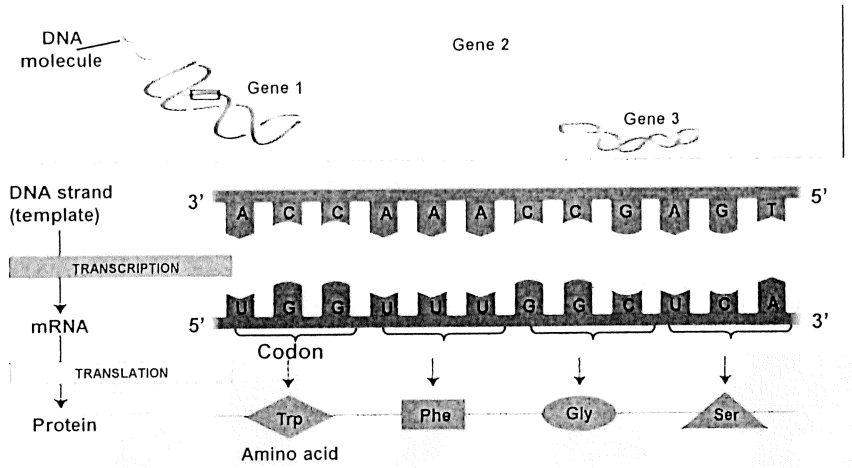
في إحدى النهايات يوجد حمض أميني بزمرة أمينية حرة النهاية الأمينية (**النهاية N**) وفي النهاية الثانية زمرة كربوكسيلية حرة (**النهاية C**).



The Flow of Genetic Information



تضم عملية **التعبير الجيني Gene expression**، وهي العملية التي يوجه فيها DNA اصطناع البروتينات، مستوين يعرفان بـ **الانتساخ والترجمة.**



- أثناء الترجمة، تتم قراءة الكودونات بالاتجاه `5←3` (نزلاً) على طول الرسيل.
- يحدد كل كودون واحداً من الحموض الامينية العشرين التي سوف يتم إضافتها إلى الموضع المناسب على طول السلسلة البولي ببيتيدية polypeptide.

الكودون الموجود في RNA الرسيل إما أن يترجم إلى حمض أميني أو يستخدم كإشارة توقف للترجمة = كودون توقف (الانتهاء).

تقرأ الكودونات في مجموعات من ثلاثة نكليوتيدات كلمات ثلاثية الأحرف.

الكود الجيني تقريباً شامل لكل العالم الحي حيث تتشارك كافة المتعضيات الحية بالكود الجيني من ابسطها وهي البكتيريا إلى أكثر النباتات والحيوانات تعقيداً.

Second mRNA base

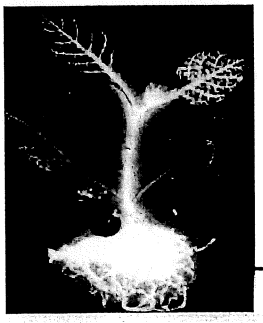
First mRNA base (5′ end)	U	C	A	G	Third mRNA base (3′ end)
U	UUU Phe	UCU Ser	UAU Tyr	UGU Cys	U
	UUC Phe	UCC Ser	UAC Tyr	UGC Cys	C
	UUA Leu	UCA Ser	UAA Stop	UGA Stop	A
	UUG Leu	UCG Ser	UAG Stop	UGG Trp	G
C	CUU Leu	CCU Pro	CAU His	CGU Arg	U
	CUC Leu	CCC Pro	CAC His	CGC Arg	C
	CUA Leu	CCA Pro	CAA Gln	CGA Arg	A
	CUG Leu	CCG Pro	CAG Gln	CGG Arg	G
A	AUU Ile	ACU Thr	AAU Asn	AGU Ser	U
	AUC Ile	ACC Thr	AAC Asn	AGC Ser	C
	AUA Ile	ACA Thr	AAA Lys	AGA Arg	A
	AUG Met or start	ACG Thr	AAG Lys	AGG Arg	G
G	GUU Val	GCU Ala	GAU Asp	GGU Gly	U
	GUC Val	GCC Ala	GAC Asp	GGC Gly	C
	GUA Val	GCA Ala	GAA Glu	GGA Gly	A
	GUG Val	GCG Ala	GAG Glu	GGG Gly	G

Evolution of the Genetic Code
تطور الكود الجيني

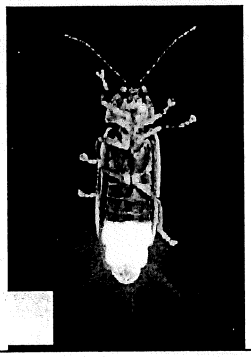
هذا ما سمح لنا ببرمجة البكتيريا لجعلها تصنع بعض البروتينات البشرية بعد إدخال الجين البشرية المرمزة للبروتين المطلوب ضمنها.

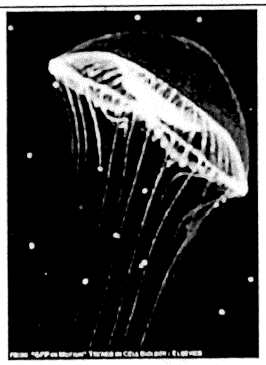
- في التجارب المخبرية

يمكن للجينات أن تنتسخ وأن تترجم بعد أن يتم نقلها من نوع حي إلى آخر حتى بين حيوان ونبات



The firefly is one of a number of bioluminescent insects capable of producing a chemically created, cold light.





Transferring Gene encoding Green fluorescent protein (GFP) from jellyfish Aequorea victoria to mice

نقل الجين المرمزة للبروتين المتألق الأخضر من قنديل البحر إلى الفأران.

تقانات في الهندسة الجينية
Techniques in genetic engineering

١- تحضير الحموض النووية
Nucleic acid preparation

تتطلب جميع الدراسات في مجال الهندسة الجينية والتطبيقات الطبية الروتينية الحصول على عينة من **الحموض النووية DNAوRNA**.

الكميات المطلوبة من هذه المواد البيولوجية للقيام بالدراسة صغيرة جداً لا تتجاوز **بضعة ميكروغرامات.**

يمكن استفراد DNA من أي نمط خلوي يحوي على نواة، لكن في كثير من الأحيان **يتم اللجوء إلى الدم كمصدر لـ DNA لدى الإنسان**، في حين يتطلب تحضير mRNA اللجوء إلى نمط خلوي معين (النمط الخلوي الذي يعبر عنه).

خطوات التحضير:

- **حل الخلايا:** دارئة حل Lysis Buffer مناسبة والحصول على محلول يحوي مزيج من الحموض النووية والبروتينات واللبيدات.
- التخلص من البروتينات والمواد العضوية الأخرى: **الاستخلاص الفينولي.**
- ترسيب DNA: بوساطة الكحول (**الترسيب الكحولي**).
- غسل DNA بالكحول ٧٠%.
- إعادة حل DNA بالماء أو بدارئة ملحية.

طريقة تحضير DNA من الدم:

تفجير كريات الدم الحمر بهدف التخلص منها والبيض بهدف الحصول على النوى.

حل النوى بدارئة تحوي مزيج من **منظف Detergent** (سولفات ديدوسيل الصوديوم **SDS**) ومن بروتيناز **عالية الفعالية كالبروتياز K**. تؤدي المعالجة بهذا المزيج إلى **تحطيم الأغشية النووية وتخريب البروتينات الرابطة لـDNA** وبالتالي تحرر DNA النووي.

الاستخلاص الفينولي

للتخلص من البروتينات والمواد العضوية الأخرى (اللبيدات) ضمن الخلاصة الخلوية الحاوية على الحموض النووية، يتم استعمال **محلات عضوية** حيث تنحل الحموض النووية في المحاليل المائية في حين تنحل البروتينات واللبيدات في المُحلات العضوية التي لا تحل الحموض النووية.

عادة ما يستعمل **الفينول**.