الكلية	الزراعة
القسم	المحاصيل الحقلية
المادة باللغة الانجليزية	Plant Genetics
المادة باللغة العربية	وراثة نبات
المرحلة الدراسية	الثالثة
اسم التدريسي	م . د . فاضل حسين مخلف
عنوان المحاضرة باللغة الانجليزية	Genetics Engineering
عنوان المحاضرة باللغة العربية	الهندسة الوراثية
رقم المحاضرة	7
المصادر والمراجع	كتاب علم الوراثة ا . د. فؤاد رزاق البركي
	كتاب اساسيات علم الوراثة ا . د. مها علي فهمي
	كتاب اسس تربية ووراثة المحاصيل الحقلية الدكتور حميد جلوب علي

محتوى المحاضرة

الهندسة الوراثية Genetics Engineering :

وهي مجموعة من التقانات المستعملة في معالجة وتغيير التركيب الوراثي للكائن الحي بهدف انتاج صفات مرغوب فيها او استبعاد اخرى غير مرغوب فيها وعندها يصبح الكائن الحي الذي تغير تركيبه الوراثي كائنا معدلا وراثيا . وبالرغم من حداثة الموضوع الا انه تطور بشكل سريع وكثرت مسمياته فقد أطلق عليه اسم (تقنية المورث) وأحيانا يعرف باسم (إعادة التوليف الوراثي). وعلى ضوء هذا التعريف فان مفهوم الهندسة الوراثية يشمل كل الطرق التي من شأنها تغيير البنى الوراثية للكائن الحي مثل طرق تربية الحيوانات والنباتات Animal & Plant Breeding، والطرق التقليدية الأخرى مثل أحداث الطفرات الوراثية والتزاوجات في الاحياء المجهرية فضلا عن تقنية الهندسة الوراثية الحديثة التي تعرف بتقنية الدنا المعاد توليفه Recombinant DNA Technology التي تعتمد على تكوين بنى وراثية جديدة عن طريق ربط مواد وراثية في أنابيب اختبار (خارج الخلايا *In vitro*). وقد أمكن باستخدام تقنية الهندسة الوراثية فصل

وإعادة ترتيب قطع من حوامض نووية من أصول مختلفة وإدخالها الى احياء أخرى وبصورة خاصة البكتريا اي بالإمكان اخذ جينات من النباتات والحيوانات او اي كائن اخر وتربط الى نواقل كلونة مناسبة ثم تدخل الى خلايا مستلمة ويمكن ان تصبح هذه القطع بمرور الزمن قطعة من البناء الوراثي للخلية ويمكن ان تنمى و يطلق عليها Clone وبذلك يتم الحصول على صفات جديدة لاتوجد في النوع او الجنس العائدة له(اختراق حاجز النوع).

أهم المفردات المتعلقة بالهندسة الوراثية :

Genetic engineering, gene manipulation, gene Cloning, recombinant DNA technology, genetic modification, new genetics, molecular agriculture, DNA ligase, restriction enzyme, plasmid, Extrachromosomal element, replicon,

وغيرها .

الاستنسال Cloning

كلمة نسخة او نسيلة (Clone): هي كائن او مجموعة من الكائنات الحية نتجت من مخلوق واحد عن طريق تكاثر لا جنسي **(asexual or nonsexual)** وهي مجموعة من المخلوقات الحية المتطابقة جينيا اي مادتها الوراثية متطابقة نتجت من خلية واحدة.
وتعد التوائم المتماثلة Identical twins . التي نشأت من بيضة مخصبة واحدة افراد نسيلة واحدة، بينما التوائم غير المتماثلة non-Identical twins التي نشأت من بيضتين مخصبتين مختلفتين لا تشكل افراد نسيلة واحدة ولا يطلق عليها Clone. واصل كلمة كلون Clone مشتقة من اليونانية في بداية القرن الماضي (Greek **klon 'twig'**) وتعني فرع شجرة. **و طبقت كلمة clone على الخلايا** ايضا لذا توصف مجموعة الخلايا الناشئة من خلية واحدة بكلمة نسيلة (a clone)
وبناء على هذا الرأي يمكن تعريف الاستنسال بانه عملية انتاج نسخ مطابقة ورثيا للخلية او المخلوق الاصلي. وعادة يكون اعضاء النسيلة متطابقين في خصائصهم المتوارثة اي في جيناتهم باستثناء اي اختلافات تحدث نتيجة الطفرة.
يمكن ان تتم عمليات الاستنسال على المستوى الجزيئي عن طريق غرس جزيئات الدنا في ناقل كلونة مناسب ليتم ادخالها الى كائن اخر لا يحتوي اصلا عل مثل هذه الجزيئات بحيث تستطيع التكاثر بصورة مستمرة في المضيف الجديد والحصول على كميات كبيرة من الجين المرغوب.

استنسال (استنساخ) ألجين Gene Cloning

وهي عملية تكوين اتحادات وراثية جديدة عن طريق غرس جزيئاتDNA (منتجة خارج الخلايا بأي طريقة مناسبة) في بلازميد او فيروس او أي ناقل كلونة Cloning Vector مناسب ليتسنى إدخالها الى اى كائن لايحتوي اصلا مثل هذه الجزيئات بحيث يمكنها التكاثر المستمر في المضيف الجديد. يؤكد هذا التعريف على نقطتين مهمتين:

- امكانية ادخال قطعة DNA غريبة الى كائن لايحتويها اصلا (تجاوز حاجز النوع).
- امكانية اكثار الجين المكلون في المضيف الجديد والحصول على ملايين النسخ.

الخطوات الأساسية لكلونة الجين

- عزل و تنقية جزيئة DNA المرغوب كلونتها والتي تسمى الدنا الغريبة Foreign DNA او الدنا المسافر Passenger DNA او الدنا الهدف Target DNA.
- توفر ناقل كلونة Cloning Vector مناسب والحصول عليه بصورة نقية ليتم ربط قطعة الـDNA الغريبة بهذا الناقل. وتقسم نواقل الكلونة المستخدمة لكلونة البكتريا الى اربعة انواع هي: البلازميدات Plasmids و النواقل المشتقة من العاثي لامدا phage Lambda و العاثيات ذات خيط DNA المفرد و الكوزميدات Cosmids.
- يجب توفير وسيلة مناسبة لتقطيع جزيئة الـ DNA الغريبة للحصول على قطعة DNA صغيرة قابلة للكلونة وتحتوي على الجين المرغوب وكذلك لقطع ناقل الكلونة مرة واحدة لجعله مناسبا لقطعة الدنا الغريبة. تستخدم انزيمات التقييد Restriction enzymes لهذا الغرض.
- يجب توفير وسيلة مناسبة لربط قطع الدنا الغريبة مع ناقل الكلونة لتكوين الجزيئة الهجينة Recombinant molecule. عملية الربط بواسط الانزيم الرابط DNA Ligase .
- يجب توفر وسيلة مناسبة لمراقبة عمليات تقطيع وربط جزيئات الدنا وذلك لانه من الضروري معرفة فيما اذا كان انزيم التقييد المستعمل قادرا على تقطيع جزيئة الدنا ام لا قبل الاستمرار بتجربة الكلونة. تتم مراقبة عملية القطع والربط باستخدام الترحيل الكهربائي Gel Electrophoresis في هلام الاكاروز Agrose Gel Electrophoresis او هلام البولي أكريلامايد Polyacrylamide Gel Electrophoresis حيث تضاف جزيئات الدنا الى طبقة رقيقة من الهلام وبعد امرار التيار الكهربائي ستتحرك قطع الدنا المختلفة الى مسافات تتناسب مع اوزنها الجزيئية مكونة حزما منفصلة على الهلام يمكن تحديد اعدادها واحجامها.
- يجب توفر وسيلة يمكن من خلالها ادخال الجزيئات الهجينة الناتجة عن عمليات الربط الى خلايا الكائن المضيف ويمكن لهذه الجزيئات ان تديم نفسها في المضيف وتتوارث بثبات في الأجيال المتعاقبة ومن اكثر الطرق المستخدمة هي طريقة التحول Transformation وطريقة التوصيل بالعاثي Transfection.
- بعد ادخال الجزيئات الهجينة الى خلايا المضيف يجب توفر طريقة ملائمة لانتقاء الخلايا المستقبلة للجزيئة الهجينة الحاملة للجين المرغوب وتمييزها عن الاعداد الهائلة من الخلايا المستقبلة للجزيئات الهجينة الاخرى.
- بعد الحصول على الخلايا الحاوية على الجين المكلون يمكن انمائها في وسط زرعي مناسب للحصول على اعداد هائلة منها. بمنعى اخر سوف يتم الحصول

على الجين المرغوب باعداد هائلة و الذي يوجد بشكل نسخة واحدة في الكائن الاصلي وعندها سيكون من السهولة عزل الجين المرغوب من هذه
الخلايا لاجراء الدراسات المختلفة عليه .

أستنسال (استنساخ) الخلايا Cell Cloning :

بقصد باستنساخ الخلايا إنتاج عدد كبير من الخلايا من خلية واحدة فأحيان يحتاج الباحثين لدراسة نوع من الخلايا لذا يتوجب عزل هذه الخلايا واستنباتها في المختبر، او دراسة تأثير جين معين على وظائف نوع من الخلايا، فيتطلب إدخال نسخة من ذلك الجين (الجين الغريب) في خلية وإكثارها ومقارنتها بخلايا لا تحتوي هذا الحين. تستعمل هذه الطريقة في أنتاج الأجسام المضادة.

استنسال (استنساخ) الأجنة Reproductive cloning

وتعرف هذه العملية ايضا باسم نقل نواة الخلية الجسمية Somatic cell nuclear transfer (SCNT)، وبشكل مبسط تتم العملية من خلال نقل نواة من خلايا الجسم غير الجنسية (أي غير التي توجود في المبيض_في الأنثى، او خلايا الخصية في الذكر) واشهر مثال على ذلك استنساخ النعجة دوللي حيث استنسخت من خلايا الثدي. اذ أخذت بويضة من المبيض وقام الباحثين بالتخلص من النواة الموجودة بداخل البويضة ثم قاموا بزرع النواة التي أخذوها من الخلية الجسمية الموجودة بالثدي داخل هذه البويضة ثم صعقت الخلية كهربائيا لكي تنشط عملية الانقسام. بعدها قاموا بغرزها داخل رحم نعجة وقد استمر الجنين بالنمو ليولد نعجة صغيرة كاملة.

الاستنساخ العلاجي Therapeutic Cloning :

ويقصد به استنساخ كائنات حية لأخذ خلايا جذعيه (Stem Cells) ولايسمح لهذه الخلايا الوصول الى كائن حي كامل. واهمية ذلك تنبع من قدرة هذه الخلايا في توليد اي خلايا أو اعضاء كالكلية او الكبد او الخلايا الدموية والتي يرجى استخدامنها في علاج الكثير من الامراض.

قطع وربط جزيئات الدنا Cutting & Joining DNA Molecules

١- قطع جزيئات الدنا Cutting DNA molecules

استعملت طريقة التقطيع الميكانيكي Mechanical shearing منذ فترة طويلة للحصول على قطع الدنا الصغيرة الا ان هذه الطريقة غير ملائمة لتجارب الكلونة لكونها عشوائية حتى جاء عام ١٩٧٠ حيث اكتشفت الانزيمات القاطعة التي تسمى انزيمات التقييد Restriction enzyme في البكتريا حيث وجد ان ظاهرة التقييد يقوم بها نوع من انزيمات Endonucleases والتي تتصف بقدرتها على قطع شريطي الدنا في موقع محدد ودقيق.

تقسم الأنزيمات الهاضمة للأحماض النووية Endonucleases الى قسمين:

١. الانزيمات القاطعة اوالهاضمة الخارجية Exonuclease والتي تزيل النيوكليوتيدات من طرفي الشريط (اي النيوكليوتيدات الطرفية).

٢. الانزيمات القاطعة الداخلية Endonucleases وهي التي تستطيع قطع أشرطة الحامض النووي في المناطق الوسطية وهي على انواع. تمتاز بعض الانزيمات من هذا النوع كونها تعمل عند وجود تسلسل محدد من النيوكليوتيدات هذا النوع يسمى Restriction Endonuclease او انزيمات التقييد Restriction Enzymes، ولها الدور الأساس في تطوير علم الهندسة الوراثية وهي تعمل على قطع خيطي حلزون الدنا عن طريق كسر الاواصر الفوسفاتية ثنائية الاستر وهي لاتقطع بصورة عشوائية.

تطبيقات الهندسة الوراثية في المجال الزراعي :

1- هندسة انواع المحاصيل الزراعية وراثيا كي تصبح مقاومة لمبيدات الاعشاب والحشرات والامراض .

2 – انتاج محاصيل في المختبرات (زراعة الانسجة) باستخدام بكتريا معدلة وراثيا لها القدرة على مضاعفة الانتاج وتكون ملائمة للظروف البيئية المحلية .

3 – انتاج نباتات يستفاد منها في انتاج مواد البلاستك الطبيعي ضمن سيقانها واوراقها .

4 – هندسة حشرات وراثيا لتهاجم افات زراعية اخرى تهاجم المحاصيل .