الحموض النووية Nucleic Acids

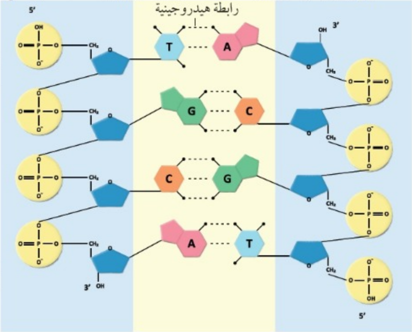
تحتوي نواة الخلية الحية على المادة الوراثية التي تحدد صفات الكائن الحي.

الحمض النووي الرايبوزي منقوص الأكسجين (DNA)

- ما أهمية الحمض النووي منقوص الأكسجين (DNA)؟
- يحمل المعلومات الوراثية اللازمة لبناء البروتين.
- مما يتركب الحمض النووي (DNA)؟

يتركب جزيء DNA من:

- سلسلتين لولبيتين من النيوكليوتيدات ترتبط معًا بروابط هيدروجينية. لاحظ الشكل الآتي والذي يوضح تركيب DNA



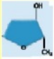
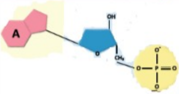
رابطة هيدروجينية
5'
3'
T
A
G
C
C
G
A
T
OH
CH₂
3'
5'

- تختلف نهايتا كل سلسلة من السلسلتين إحداهما عن الأخرى بحيث:

* تنتهي إحدى السلسلتين بمجموعة فوسفات مرتبطة بذرة كربون رقم (5) في جزيء السكر ويرمز لهذه النهاية (5').

* وتنتهي السلسة الأخرى بمجموعة هيدروكسيل مرتبطة بذرة الكربون رقم (3) من جزيء السكر ويرمز إلى هذه النهاية بالرمز (3').

- يتكون كل نيوكليوتيد من:

سكر رايبوزي منقوص الأكسجين		تربط مجموعة الفوسفات جزيء السكر بالآخر الذي يليه في السلسلة الواحدة من جزيء DNA
مجموعة فوسفات		
إحدى القواعد النيتروجينية الأربعة الآتية		
أدنين	A	ترتبط القاعدة النيتروجينية أدنين (A) بالقاعدة النيتروجينية الثايمين (T)برابطتين هيدروجينيتين
ثايمين	T	
غوانين	G	ترتبط القاعدة النيتروجينية غوانين (G) بالقاعدة النيتروجينية سايتوسين بثلاث روابط هيدروجينية
سايتوسين	C	
النيوكليوتيد		

أتحقق: اكتب تسلسل النيوكليوتيدات في سلسلة DNA المكملة للسلسلة الآتية (AACAGCTTG) ثم أصف تركيب جزيء DNA.

- (TTGTCGAAC)

- يتركب DNA من: سلسلتين لولبيتين من النيوكليوتيدات ترتبط معًا بروابط هيدروجينية، وكل نيوكليوتيد يتكون من سكر رايبوزي منقوص الأكسجين، ومجموعة فوسفات، وإحدى القواعد النيتروجينية الأربعة (أدنين A، ثايمين T، غوانين G، سايتوسين C)

نشاط

استخلاص DNA من خلايا باطن الخد

المواد والأدوات: ماء، ملح طعام NaCl، كؤوس زجاجية عددها 3، أنبوبا اختبار (سعة كلٍّ منهما 30 mL)، سائل غسيل الصحون، عصا زجاجية، حامل أنابيب، مخبار مُدرَّج (500 mL)، كحول إيثيلي مُبرَّد نسبة تركيزه% 96.

خطوات العمل:

1 **أجرِّب:** أحضِّر في إحدى الكؤوس الفارغة محلولًا بإضافة ملعقة صغيرة من سائل غسيل الصحون إلى 3 ملاعق صغيرة من الماء.
2 **أجرِّب:** أحضِّر في كأس ثانية محلولًا ملحيا بإضافة ملعقتين صغيرتين من ملح الطعام إلى 250 mL من الماء.
3 أتمضمض جيدا ب 10 mL من المحلول الملحي، ثم أضعها في الكأس الثالثة.
4 **أتنبَّأ** بمحتويات الكأس الثالثة، ثم أدوِّن إجابتي.
5 أنقل محتويات الكأس إلى أنبوب اختبار يحوي 5 mL من محلول سائل غسيل الصحون.
6 **أجرِّب:** أحرِّك الأنبوب نحو اليمين واليسار بلطف، ثم أضيف 5 mL من الكحول ببطء، مراعيا انسياب الكحول على الجدار الداخلي للأنبوب.
7 **ألاحِظ:** أترك الأنبوب على حامل الأنابيب دقائق معدودة، مُلاحِظًا الناتج الذي تكوَّن بين طبقتي الكحول ومحلول سائل غسيل الصحون، ثم أدوِّن ملاحظاتي.
8 **أجرِّب:** ألتقط الناتج باستخدام العصا الزجاجية، ثم أضعها في أنبوب اختبار.
9 **أتوقَّع** مُكوِّنات الناتج.

التحليل والاستنتاج:

1. أربط بين تركيب الغشاء البلازمي واستخدام محلول سائل غسيل الصحون.

- يتكون الغشاء البلازمي من طبقتين من الليبيدات المفسفرة والبروتينات، ومحلول غسيل الدهون يُزيل الدهون والبروتينات مما يفكك الغشاء البلازمي، فتنطلق الحموض النووية في الأنبوب.

2. أتوقَّع: ماذا يحدث إذا حرَّكْتُ الأنبوب حركة سريعة؟

- سينتج قطع DNA صغيرة يصعب التفافها على العصا الزجاجية والتقاطها.

3. أُفسِّر: ما مصدر جزيء DNA الموجود في الناتج؟

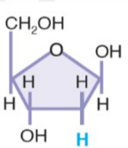
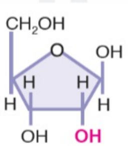
- خلايا باطن الخد.

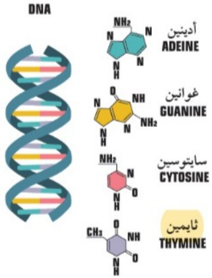
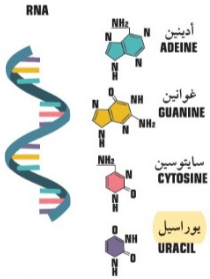
4. أتنبَّأ بنتيجة التجربة إذا استُخدِمت خلايا دم حمراء.

- لن يُستخرج DNA لأنها لا تحتوي نواة.

الحمض النووي الرايبوزي (RNA)

- لهذا الحمض دور مهم في عملية تصنيع البروتينات.
- البروتينات مواد كيميائية تتكون من حموض أمينية مرتبطة بروابط كيميائية تسمى روابط ببتيدية.
- الشكل الآتي يمثل مقارنة بين RNA وDNA حيث أن هناك اختلافات في عدة أوجه بينهما.

وجه المقارنة	DNA	RNA
تركيب السكر الرايبوزي في كل منهما	 CH₂OH O OH H H H H OH H	 CH₂OH O OH H H H H OH OH

	السُّكَّر الرايبوزي المنقوص الأكسجين	السُّكَّر الرايبوزي
القواعد النيتروجينية لكل منهما		

DNA
أدينين
ADEINE
غوانين
GUANINE
سايتوسين
CYTOSINE
ثايمين
THYMINE
NH₂
N
NH
O
CH₃
H

RNA
أدينين
ADEINE
غوانين
GUANINE
سايتوسين
CYTOSINE
يوراسيل
URACIL
NH₂
N
NH
O
H

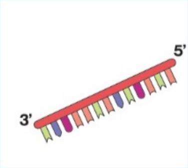
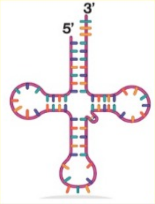
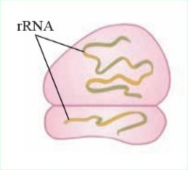
ملحوظة: الصيغ الكيميائية للاطّلاع فقط..

أتحقّق: أقارن بين تركيب DNA وتركيب RNA.

وجه المقارنة	DNA	RNA
السكر	رايبوزي منقوص الأكسجين	رايبوزي
القواعد النيتروجينية	أدينين، غوانين، سايتوسين، ثايمين.	أدينين، غوانين، سايتوسين، يوراسيل.

أنواع الحمض النووي الرايبوزي (RNA):

- هناك أنواع عدة للحمض النووي الرايبوزي (RNA) لكل منها دور مختلف في عملية تصنيع البروتين التي تحدث في السيتوسول وتحديدًا في الرايبوسومات.

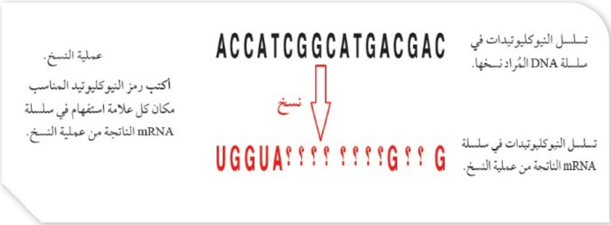
أنواع الحمض النووي الرايبوزي (RNA)		
الحمض النووي الرايبوزي الرسول (mRNA)	**الحمض النووي الرايبوزي الناقل (tRNA)**	**الحمض النووي الرايبوزي الرايبوسومي (rRNA)**
 	 	
ينقل التعليمات الوراثية التي تحدّد نوع الحموض الأمينية المكوّنة للبروتين المطلوب، وترتيبها من النواة إلى السيتوبلازم، عن طريق **نسخ** سلسلة DNA؛ ما يؤدي إلى إنتاج سلسلة mRNA مكمّلة لسلسلة DNA الأصلية.	**ينقل tRNA الحموض الأمينية** الموجودة في السيتوبلازم إلى الرايبوسوم، وفق تسلسل النيوكليوتيدات في جزيء mRNA؛ ما يؤدي إلى ارتباط الحموض الأمينية معًا لتصنيع البروتينات المطلوبة، في ما يعرف بعملية الترجمة.	يُصنع rRNA في النُّوَيَّة ليدخل في تكوين الوحدات البنائية التي يتألّف منها الرايبوسوم. تنتقل الوحدات البنائية إلى السيتوبلازم لتؤدي دورها في **ترجمة** التعليمات الوراثية وتصنيع البروتين

أتحقق: ما أنواع RNA؟

- الحمض النووي الرايبوزي الرسول (mRNA)

- الحمض النووي الرايبوزي الناقل (tRNA)

- الحمض النووي الرايبوزي الرايبوسومي (rRNA)



تسلسل النيوكليوتيدات في سلسلة DNA المُراد نسخها.

ACCATCGGCATGACGAC

نسخ

تسلسل النيوكليوتيدات في سلسلة mRNA الناتجة من عملية النسخ.

UGGUA؟؟؟؟ ؟؟؟؟G؟؟ G

عملية النسخ.

أكتب رمز النيوكليوتيد المناسب مكان كل علامة استفهام في سلسلة mRNA الناتجة من عملية النسخ.

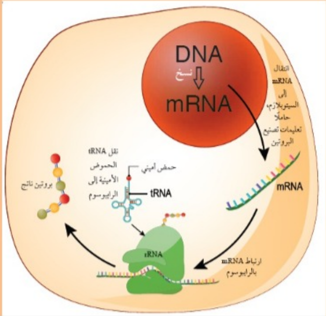
الجواب: UGGUAGCCGUACUGCU

يبيّن الشكل المجاور مراحل تصنيع البروتينات بصورة مختصرة.

سؤال: أحدّد الحموض النووية التي لها دور في تصنيع البروتين.

الجواب: - الحمض النووي الرايبوزي الرسول (mRNA)

- الحمض النووي الرايبوزي الناقل (tRNA)
- الحمض النووي الرايبوزي الرايبوسومي (rRNA)

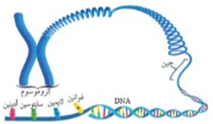

DNA
نسخ
mRNA
انتقال mRNA إلى السيتوبلازم، حاملًا تعليمات تصنيع البروتين
mRNA
ارتباط mRNA بالرايبوسوم
tRNA
حمض أميني
tRNA
نقل tRNA الحموض الأمينية إلى الرايبوسوم
بروتين ناتج

الجين

- الجين وحدة المعلومات الوراثية.

- الجين جزء من DNA يحتوي على تسلسل محدد من النيوكليوتيدات.
- تختلف الكروموسومات في ما بينها من حيث عدد الجينات، فقد يحمل بعضها آلاف الجينات، في حين يحمل البعض الآخر جينات يقل عددها عن ألف.
- للجينات أسماء خاصة يعبّر عنها برموز مختصرة مثل (CFTR).

لاحظ الشكل الآتي يمثل الجين في المادة الوراثي.


جين
كروموسوم
DNA
غوانين
ثايمين
سايتوسين
أدينين

الجين في المادة الوراثية.

أتحقق: ما المقصود بالجين؟

- الجين وحدة المعلومات الوراثية، وهو جزء من DNA يحتوي على تسلسل مُحدد من النيوكليوتيدات.

الشكل المجاور يمثل موقع جين (CFTR) على الكروموسوم رقم (7)

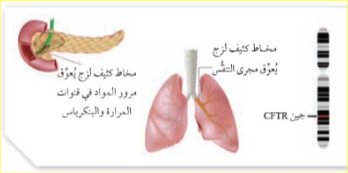
- الجين (CFTR) مسؤول عن تنظيم انتقال الأيونات (مثل أيونات الكلوريد) في الأغشية البلازمية للخلايا الطلائية المنتجة للمخاط، والعرق، والدموع، والإنزيمات الهاضمة.
- يساعد نقل أيونات الكلوريد على ضبط حركة الماء في الأنسجة.
- ويؤدي حدوث طفرة في هذا الجين إلى خلل في القنوات الناقلة لأيونات الكلوريد، ما يسبب الإصابة بمرض التلّف الكيسي.

* أيّ أجزاء الجسم يتأثر بحدوث طفرة في الجين (CFTR)؟

- البنكرياس والرئتين.

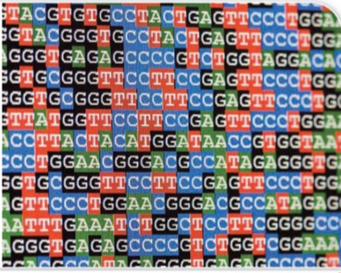
* ما أعراض التليّف الكيسي في كل من هذه الأجزاء؟

- مخاط كثيف لزج يُعوّق مرور المواد في قنوات المرارة والبنكرياس.
- مخاط كثيف لزج يُعوق مجرى التنفس.


مخاط كثيف لزج يُعوّق مرور المواد في قنوات المرارة والبنكرياس
مخاط كثيف لزج يُعوّق مجرى التنفُّس
جين CFTR

الجينيوم البشري

- يبيّن الجينيوم جميع التعليمات الوراثية اللازمة لبناء الجسم وأداء وظائفه.
- بدأ مشروع الجينيوم البشري عام 1990 بتضافر الجهود ومركز أبحاث عدة دول وانتهى المشروع عام 2003.
- استنتج العلماء تشابه تركيب DNA في الأشخاص بما نسبته 99.9% تقريبًا.
- احتواء الجينيوم البشري على ما يزيد على 3 مليارات من أزواج القواعد النيتروجينية.
- توصل العلماء إلى معرفة التسلسل الكامل للنيوكليوتيدات في الجينيوم البشري (لاحظ الشكل الآتي الذي يوضح النيوكليوتيدات في جزء من الجينيوم البشري)


TACGTGTGCCTACTGAGTTCCCTGG
GTACGGGTGCCTACTGAGTTCCCTGG
GGGTGAGAGCCCCGTCTGGTAGGACA
GTGCGGGTTCCTTCCGAGTTCCCTGG
GGTGCGGGTTCCTTCCGAGTTCCCTG
TTATGGTTCCTTCCGAGTTCCCTGGA
CCTTACTACATGGATAACCGTGGTAA
CCTGGAACGGGACGCCATAGAGGGTG
GTGCGGGTTCCTTCCGAGTTCCCTGG
GTTCCCTGGAACGGGACGCCATAGAG
ATTTGAAATCTGGCTCCTTCGGGGCC
GGGTGAGAGCCCCGTCTGGTCGGAAA

النيوكليوتيدات في جزء من الجينوم البشري.

أتحقق: ما المقصود بالجينيوم البشري؟

- جميع التعليمات الوراثية اللازمة لبناء الجسم وأداء وظائفه.

ابحث في مصادر المعرفة المناسبة عن دور مركز الحسين للسرطان في مجال العلاج الخلوي وفحوص الجينوم، ثم أناقش زملائي/زميلاتي في ما توصّلت إليه.

* العلاج الخلوي وزراعة الدم ونخاع العظم

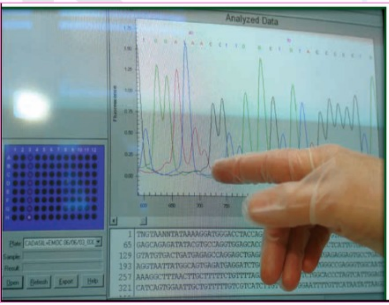
1- معالجة الخلايا الجذعيّة.
2- الحفظ بالنت ريبد والتخزين.
3- تخزين دم الحبل السرّي.

* الجينوم (علم الأمراض الوراثية الجزيئية)

1- تسلسل جينوم السرطان (NGS).
2- علم الوراثة الجزيئي للأورام.
3- الأمراض المعدية الجزيئيّة.
4- علم مناعة زراعة الخلايا والتوافق النسيجي.
5- الاستشارة الوراثيّة.

كيف حرص العلماء على تفعيل دور التكنولوجيا في تطوير مشروع الجينيوم البشري؟

- استخدموا صبغات خاصة في صبغ النيوكليوتيدات، ليسهل تتبعها.
- استخدموا أجهزة خاصة لقراءة تسلسل النيوكليوتيدات.
- استخدموا حواسيب لتجميع النتائج وتحليلها وصولًا إلى تعرّف تسلسل النيوكليوتيدات في DNA. (لاحظ الشكلين الآتيين يوضحان تفعيل التكنولوجيا في تطوير مشروع الجينيوم البشري)


Analyzed Data

شاشة حاسوب تعرض تحليلًا للبيانات التي يُتوصَّل بها إلى معرفة تسلسل النيوكليوتيدات في DNA.

جهاز قراءة تسلسل النيوكليوتيدات.

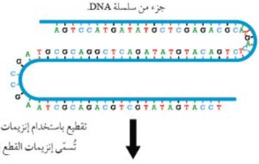
أتحقق: ما المواد والأدوات التي أسهمت في معرفة تسلسل النيوكليوتيدات في الجينيوم البشري؟

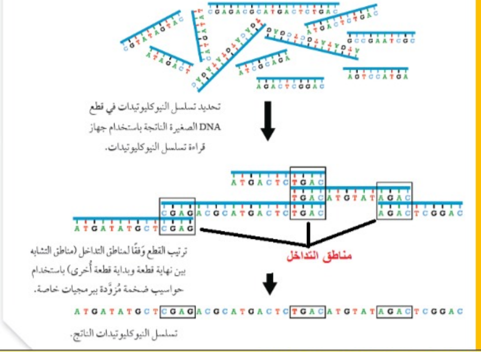
- **صبغات خاصة في صبغ النيوكليوتيدات، ليسهل تتبعها**، أجهزة خاصة لقراءة تسلسل النيوكليوتيدات، وحواسيب.

كيف تعرّف العلماء على تسلسل النيوكليوتيدات في الجينيوم البشري؟

- استخدم العلماء أكثر من طريقة لتعرّف تسلسل النيوكليوتيدات في الجينيوم البشري. (لاحظ الشكل الآتي الذي يوضح إحداها)

مُلخَّص لإحدى طرائق تحديد تسلسل النيوكليوتيدات في DNA.


جزء من سلسلة DNA.
A G T C C A T G A T A T G C T C G A G A C G C A
T G A C
A T G C G C A G G C T C A G A T A T G T A C A G T C T
G C C G
A A T C G C A G A C G T C G T A T A G T A C C T
تقطيع باستخدام إنزيمات قطع خاصة تُسمّى إنزيمات القطع المُحدَّد.



مناطق التداخل
ATGATATGCTCGAGACGCATGACTCTGACATGTATAGACTCGGAC

تحديد تسلسل النيوكليوتيدات في قطع DNA الصغيرة الناتجة باستخدام جهاز قراءة تسلسل النيوكليوتيدات.

ترتيب القطع وَفقًا لمناطق التداخل (مناطق التشابه بين نهاية قطعة وبداية قطعة أُخرى) باستخدام حواسيب ضخمة مُزوَّدة ببرمجيات خاصة.

تسلسل النيوكليوتيدات الناتج.

أدوّن تسلسل النيوكليوتيدات في مناطق التداخل.

- CGAG TGAC AGAC

JO | ACADE

أتحقق: أحلل: تمثّل الآتية نتائج تسلسل ثلاث قطع من DNA اعتمادًا على مناطق التداخل، ما تسلسل النيوكليوتيدات الصحيح في الجينوم؟

AGAGACCTAAG ATTTGC TGCGCAGA

															C	G	T	T	T	A
									A	G	A	C	G	C	G	T			
	G	A	A	T	C	C	A	G	A	G	A								
									منطقة تداخل					منطقة تداخل					
تسلسل النيوكليوتيدات الصحيح في الجينوم	G	A	A	T	C	C	A	G	A	G	A	C	G	C	G	T	T	T	A

هندسة الجينات

- كيف نشأت فكرة هندسة الجينات؟

- بعد أن تأكد العلماء أن مادة الوراثة DNA هي المسؤول الرئيس عن الصفات الوراثية للكائن الحي، قادهم ذلك إلى التفكير في إمكانية نقل جين من كائن حي لآخر، واستمرار الجين في أداء وظيفته، ما يمكّن الكائن الحي الآخر من تكوين بروتينات جديدة لم يكن قد كوّنها قبل عملية النقل، ومن هنا نشأت فكرة هندسة الجينات.

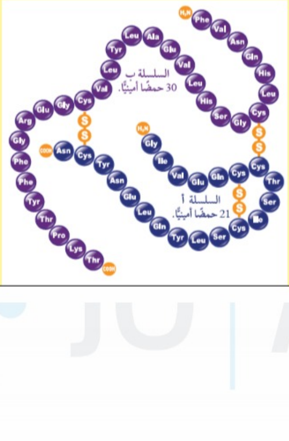
- ماذا يطلق على الكائن الحي الذي نُقل إليه الجين؟

- الكائن الحي المُعدّل جينيًا.

- ماذا يطلق على DNA الذي تغيّر تركيبه؟

- DNA معاد التركيب.

* ومن تطبيقات هندسة الجينات تعديل البكتيريا المعروفة باسم *Escherichia coli* جينيًا لتكتسب صفة تكوين هرمون الإنسولين البشري الذي يتألّف من سلسلتين من الحموض الأمينية، أنظر الشكل الآتي، ويعد أول هرمون أنتج اعتمادًا على هندسة الجينات.

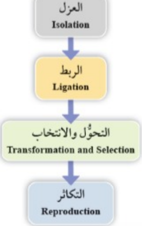
الشكل المجاور يمثل هرمون الإنسولين **- أحدد** عدد الحموض الأمينية في سلسلتي عديد الببتيد في هرمون الإنسولين. - السلسلة (أ) 21 حمض أميني، والسلسلة (ب) 30 حمض أميني	 السلسلة ب 30 حمضًا أمينيًا. السلسلة أ 21 حمضًا أمينيًا. H₂N Phe Val Asn Gln His Leu Cys Gly Ser His Leu Val Glu Ala Leu Tyr Leu Val Cys Gly Glu Arg Gly Phe Phe Tyr Thr Pro Lys Thr COOH H₂N Gly Ile Val Glu Gln Cys Cys Thr Ser Ile Cys Ser Leu Tyr Gln Leu Glu Asn Tyr Cys Asn COOH S S S S S S

أتحقق: كيف يتأكد العلماء أنّ الجين المنقول من كائن حي إلى آخر مستمر في أداء وظيفته؟

- ستمكن الكائن الحي الذي نُقل إليه الجين من تكوين بروتينات جديدة لم يسبق أن كونها قبل عملية النقل.

خطوات هندسة الجينات:

خطوات هندسة الجينات


العزل
Isolation
الربط
Ligation
التحوُّل والانتخاب
Transformation and Selection
التكاثر
Reproduction

أولًا: العزل Isolation

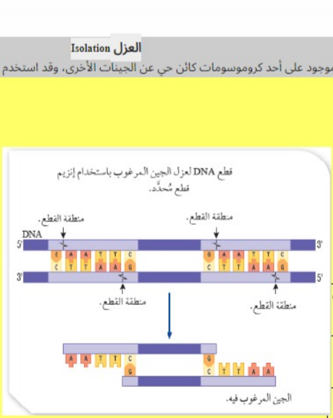
العزل Isolation

تتمثّل هذه الخطوة بعزل الجين المرغوب الموجود على أحد كروموسومات كائن حي عن الجينات الأخرى، وقد استخدم العلماء ثلاث طرق للعزل هي:

1- إنزيمات القطع المُحدّد:

تسمى الإنزيمات التي تقطع الحمض النووي الرايبوزي المنقوص الأكسجين في مناطق محددة للحصول على الجين المطلوب إنزيمات القطع المُحدّد، وهي عدة أنواع. (لاحظ الشكل المجاور)

ابحث في مصادر المعرفة المناسبة عن أمثلة على إنزيمات القطع المحدد، ثم أعدُّ عرضا تقديميا عن ذلك باستخدام برنامج power point، ثم أعرضه أمام زملائي/ زميلاتي في الصف.


قطع DNA لعزل الجين المرغوب باستخدام إنزيم قطع مُحدّد.
منطقة القطع.
منطقة القطع.
DNA
5'
3'
3'
5'
G
A
A
T
T
C
C
T
T
A
A
G
منطقة القطع.
منطقة القطع.
الجين المرغوب فيه.

اسم الإنزيم	البكتيريا التي يستخرج منها	منطقة التعرف
Hind III	*Haemophilus influenzae Rd*	AAGCTT
Sma I	*Serratia marcescens*	CCCGGG

2- تصنيع سلسلة عديد النيوكليوتيدات:

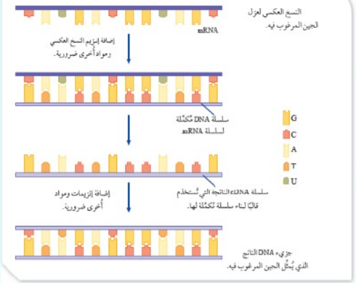
يمكن تصنيع سلسلة عديد النيوكليوتيد المسؤولة عن تصنيع بروتين معيّن باستخدام أدوات خاصة إذا كان تسلسل الحموض الأمينية في هذا البروتين معلومًا.

3- النسخ العكسي Reverse Transcriptase :

- عملية تتضمَّن إنتاج نسخة DNA مكمّلة لسلسلة حمض نووي رايبوزي mRNA باستخدام إنزيم النسخ العكسي.
- يطلق على سلسلة DNA الناتجة اسم سلسلة DNA المكمَّلة (.Complementary DNA (cDNA).
- يستخدم في هذه العملية حمض نووي رايبوزي mRNA من خلايا نشيطة في تصنيع بروتين معيَّن. فمثلا، يستخلص mRNA من خلايا بيتا في جزر لانجرهانز في البنكرياس، وهي الخلايا المسؤولة عن تصنيع الإنسولين البشري، أنظر الشكل المجاور الذي يبيِّن طريقة النسخ العكسي.

أتحقق: أصف طريقة النسخ العكسي لعزل الجين المرغوب فيه.

- إنتاج نسخة DNA مُكملة لسلسلة حمض نووي الريبوزي mRNA باستخدام إنزيم النسخ العكسي ومواد أخرى ضرورية. ويُطلَق على سلسلة DNA الناتجة اسم سلسلة DNA المكملة (cDNA) .


النسخ العكسي لعزل الجين المرغوب فيه.
mRNA
إضافة إنزيم النسخ العكسي ومواد أخرى ضرورية.
سلسلة DNA مُكمّلة لسلسلة mRNA
G
C
A
T
U
سلسلة cDNA الناتجة التي تُستخدم قالبًا لبناء سلسلة تُكمّلة لها.
إضافة إنزيمات ومواد أخرى ضرورية.
جزيء DNA الناتج الذي يُمثّل الجين المرغوب فيه.

- **أقارن** بين تسلسل النيوكليوتيدات في

mRNA، وتسلسلها في سلسلة DNA المكمِّلة لنسخة القالب.

- تسلسل النيوكليوتيدات في mRNA هو نفس التسلسل في DNA، باستثناء أنه مكان نيوكليوتيد الثايمين في DNA يوجد نيوكليوتيد اليوراسيل في mRNA.

أتحقق: ما طرائق عزل الجين المسؤول عن صفة مرغوبة؟

- إنزيمات القطع المحدد، تصنيع سلسلة عديد النيوكليوتيد، النسخ العكسي.

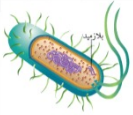
أفكّر: أيُّ الخلايا يمكن استخدامها في استخراج الجين المسؤول عن تكوين الهرمون المانع لإدرار البول، والميوسين؟

- الهرمون المانع لإدرار البول: خلايا من تحت المهاد.
- الميوسين: خلايا عضلية.

ثانيًا: الربط Ligation

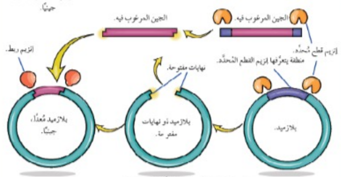
ثانيًا: الربط Ligation

- يستخدم في هذه الخطوة إنزيم الربط DNA Ligase لربط الجين المعزول بناقل جينات ينقل الجين المعزول إلى الخلية الحية المستهدفة من التعديل الجيني مثل البكتيريا.
- من النواقل المستخدمة في هندسة الجينات DNA حلقي يسمى البلازميد، أنظر الشكل (أ).
- لتعرُّف خطوات إنتاج البلازميد المعدَّل جينيًا، أنظر الشكل (ب).



الشكل (أ): البلازميد في البكتيريا.

الشكل (ب): تعديل البلازميد جينيًا.


الجين المرغوب فيه.
الجين المرغوب فيه.
إنزيم قطع مُحدَّد.
منطقة يتعرَّفها إنزيم القطع المُحدَّد.
نهايات مفتوحة.
إنزيم ربط.
بلازميد.
بلازميد ذو نهايات مفتوحة.
بلازميد مُعدَّل جينيًا.

يُفتَح البلازميد في منطقة التعرُّف باستخدام نفس إنزيم قطع DNA المُحدَّد الذي استُخدِم في عزل الجين المرغوب فيه؛ لكي تتطابق النهايات المفتوحة في هذه المنطقة من البلازميد مع نهايات الجين المرغوب الناتج من عملية القطع.

يضاف إنزيم الربط DNA Ligase لربط النهايات المفتوحة في البلازميد ونهايات الجين المرغوب فيه.

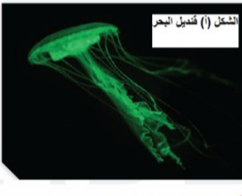
أتحقق: ما وظيفة إنزيم الربط في هندسة الجينات؟

- يُستخدم إنزيم الربط DNA Ligase لربط الجين المعزول بناقل جينات .

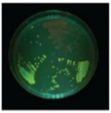
ثالثًا: التحول والانتخاب Transformation and Selection

ثالثًا: التحول والانتخاب Transformation and Selection

- يعدُّ إدخال البلازميد المعدَّل جينيا في الخلية البكتيرية المستهدفة من التعديل الجيني عملية تحوُّل؛ إذ تتحوَّل الخلايا البكتيرية التي يدخلها البلازميد إلى خلايا معدَّلة جينيًا، ولكنَّ البلازميد لا يدخل الخلايا البكتيرية جميعها.
- يطلق على عملية تعرُّف الخلايا التي دخلها البلازميد اسم الانتخاب، ويستخدم العلماء لذلك طرائق عدَّة، منها: إضافة جين آخر يسمى الجين العلامة، ومن أمثلته جين Green Fluorescent Protein (GFP) الموجود في نوع من قناديل البحر يعرف باسم *Aequorea victoria* ، انظر الشكل (أ).
- يمكن انتخاب الخلايا التي استقبلت البلازميد المعدَّل جينيًا الذي يحوي GFP بتعريضها للأشعة فوق البنفسجية، وهو ما يؤدي إلى توهُّج هذه الخلايا باللون الأخضر؛ ما يدل على دخول البلازميد فيها، أنظر الشكل (ب).



الشكل (أ) قنديل البحر



الشكل (ب): طبق بتري يحوي بكتيريا مُعدَّلة جينيًا.

أتحقق: ما الفرق بين التحوّل والانتخاب؟

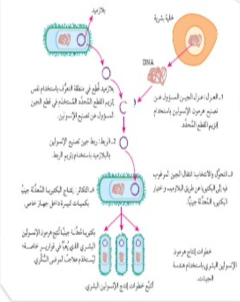
- التحول: إدخال البلازميد المُعدل جينيا في الخلية البكتيرية المُستهدفة من التعديل الجيني.
- الانتخاب: التعرف على الخلايا التي دخلها البلازميد المُعدل جينيا.

رابعًا: التكاثر Reproduction

رابعًا: التكاثر Reproduction

- تحفّز الخلايا المعدَّلة جينيًّا إلى الانقسام؛ لكي تزداد أعدادها، وتبدأ إنتاج البروتين الذي تعذَّر عليها إنتاجه قبل عملية التعديل الجيني.
- بعد ذلك يستخلص هذا البروتين الذي تستخدم بعض أنواعه علاجًا للأفراد غير القادرين على إنتاجه.
- انظر الشكل المجاور الذي يبيِّن خطوات هندسة الجينات لإنتاج هرمون الإنسولين البشري.
- انظر الجدول أدناه الذي يحوي أمثلة على مواد أنتجت باستخدام البكتيريا المعدَّلة جينيًّا. (مواد علاجية أنتجت باستخدام هندسة الجينات)

المادة المنتجة	عامل التخثُّر الثامن Factor VIII	الإريثروبوتين Erythropoietin	هرمون النمو Growth Hormone
دواعي الاستخدام	علاج نوع من أنواع مرض نزف الدم	علاج الأنيميا.	علاج القزمة.



خلية بشرية
بلازميد
DNA
1. العزل: عزل الجين المسؤول عن تصنيع هرمون الإنسولين باستخدام إنزيم القطع المُحدَّد.
بلازميد قُطع في منطقة التعرُّف باستخدام نفس إنزيم القطع المُحدَّد المُستخدَم في قطع الجين المسؤول عن تصنيع الإنسولين.
2. الربط: ربط جين تصنيع الإنسولين بالبلازميد باستخدام إنزيم الربط.
3. التحوُّل والانتخاب: انتقال الجين المرغوب فيه إلى البكتيريا عن طريق البلازميد و اختيار البكتيريا المُعدَّلة جينيًّا.
4. التكاثر: إنتاج البكتيريا المُعدَّلة جينيًّا بكميات كبيرة داخل جهاز خاص.
بكتيريا مُعدَّلة جينيًّا تُنتج هرمون الإنسولين البشري الذي يُعبَّأ في قوارير خاصة لِيُستخدَم علاجًا لمرضى السُّكري.
خطوات إنتاج هرمون الإنسولين البشري باستخدام هندسة الجينات.

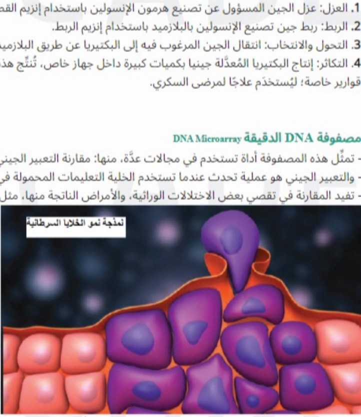
أتّبع خطوات إنتاج الإنسولين البشري.

* **أتتبّع** خطوات إنتاج الإنسولين البشري.

1. العزل: عزل الجين المسؤول عن تصنيع هرمون الإنسولين باستخدام إنزيم القطع المُحدَّد.
2. الربط: ربط جين تصنيع الإنسولين بالبلازميد باستخدام إنزيم الربط.
3. التحول والانتخاب: انتقال الجين المرغوب فيه إلى البكتيريا عن طريق البلازميد، واختيار البكتيريا المُعدَّلة جينيًّا.
4. التكاثر: إنتاج البكتيريا المُعدَّلة جينيا بكميات كبيرة داخل جهاز خاص، تُنتِّج هذه البكتيريا هرمون الإنسولين البشري، الذي يُعبَّأ في قوارير خاصة؛ ليُستخدَم علاجًا لمرضى السكري.

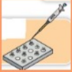
مصفوفة DNA الدقيقة DNA Microarray

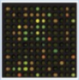
- تمثِّل هذه المصفوفة أداة تستخدم في مجالات عدَّة، منها: مقارنة التعبير الجيني في الخلايا.
- والتعبير الجيني هو عملية تحدث عندما تستخدم الخلية التعليمات المحمولة في جزيء DNA لتصنيع بروتينات معيَّنة، وينقل هذه التعليمات جزيء mRNA.
- تفيد المقارنة في تقصي بعض الاختلالات الوراثية، والأمراض الناتجة منها، مثل بعض أنواع السرطان التي تعزى إلى أسباب وراثية، أنظر الشكل الاتي.


نمذجة نمو الخلايا السرطانية

- تستخدم في هذه التكنولوجيا رقاقات خاصة من السيليكون أو الزجاج، تحوي ثقوبًا كثيرةً يصل عددها إلى عشرات الالاف، ويلتصق داخل كل ثقب منها سلاسل أحادية قصيرة من DNA مكمّلة لجزء من جين محدَّد.

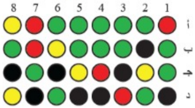
ونظرًا إلى وجود عدد كبير من الثقوب في الشريحة الواحدة؛ فإنه يمكن الكشف عن التعبير الجيني لعدد كبير من الجينات في الوقت نفسه.

	خطوات استخدام مصفوفة DNA الدقيقة في مقارنة التعبير الجيني للخلايا	
1	استخلاص mRNA من العيِّنة الضابطة، ومن عيِّنة الفحص.	
2	نسخ عكسي ل mRNA من العيِّنة الضابطة باستخدام نيوكليوتيدات مصبوغة بمادة مشعَّة خضراء.	نسخ عكسي ل mRNA من عينة الفحص باستخدام نيوكليوتيدات مصبوغة بمادة مشعَّة حمراء
3	(cDNA) للعيِّنة الضابطة.	(cDNA) لعيِّنة الفحص.
4	خلط العينتين.	
5	وضع العينتين على طرف الشريحة 	
6	حفظ الشريحة في ظروف مخبرية خاصة تسمح بحدوث ارتباط بين عيِّنة cDNA المضافة إلى الشريحة والجزء المكمِّل لتسلسل النيوكليوتيدات على cDNA الموجود في الشريحة.	

	غسل للتخلُّص من المواد غير المرتبطة
7	استخدام جهازي الليزر والحاسوب في قراءة النتائج. 

أتحقق: يمثّل الشكل بعض نتائج مصفوفة DNA الدقيقة. أحدّد أرقام الثقوب التي تدل على إصابة صاحب العيّنة بورم سرطاني.

اللون في الحفرة	دلالة النتيجة
أخضر	تعبير جيني في الخلايا الطبيعية فقط
أحمر	تعبير جيني في الخلايا السرطانية فقط.
أصفر	تعبير جيني في كلتا الخليتين بالتساوي
أسود	عدم التعبير الجيني في أيٍّ من العيّنتين



	1	2	3	4	5	6	7	8
أ	🔴	🟢	🟢	🟢	🟢	🟢	🔴	🟡
ب	🟢	⚫	🟢	🟢	🟢	🟡	🔴	🟢
ج	🟢	🟡	⚫	🔴	🟡	⚫	🟢	⚫
د	⚫	🟢	🔴	⚫	⚫	🟢	⚫	🟡

-(أ) 1.7 - (ب) 7 - (ج) 4 - (د) 3

أتحقق: أتتبّع خطوات استخدام مصفوفة DNA الدقيقة في تقصي الأمراض الناتجة من الاختلالات الوراثية.

1. استخلاص mRNA من عينة الفحص، ومن العينة الضابطة.
2. نسخ عكسي ل mRNA من العينة الضابطة باستخدام نيوكليوتيدات مصبوغة بمادة مُشِّعَّة خضراء، وعينة الفحص باستخدام نيوكليوتيدات مصبوغة بمادة مُشِّعَّة حمراء. ثم خلط العينتين.
3. حفظ الشريحة في ظروف مخبرية خاصة تسمح بحدوث ارتباط بين عينة cDNA المضافة إلى الشريحة والجزء المُكمل لتسلسل النيوكليوتيدات على cDNA الموجود في الشريحة، ثم غسل للتخلص من المواد غير المرتبطة.
4. استخدام جهازي الليزر والحاسوب في قراءة النتائج.

أفكر: أظهرت بعض نتائج فحص مصفوفة DNA الدقيقة لأحد المرضى لوّنا أحمر فاتحًا في بعض ثقوب أداة الفحص. وبعد مدّة من الزمن، أعيد الفحص للمريض نفسه، فظهر اللون أكثر دكنة في الثقوب نفسها. ما دلالة ذلك؟

- بسبب اختلاف التعبير الجيني، كلما كان التعبير الجيني أكثر كان اللون أكثر دكنة.