منهج النظري لمقرر مبادئ التقنية الحيوية

إعداد: د. فاتن ضاوي المحناء

دكتوراه في فلسفة علم الكيمياء الحيوية والاحياء الجزيئية
قسم التقنية الحيوية

النسخة الرابعة 2018

أهداف المقرر

- التعريف بمفهوم وأسس التقنية الحيوية.
- الإلمام بتطبيقات التقنية الحيوية والتعريف بالتقنيات المتعلقة بها.
- التدريب على بعض الوسائل المعملية الأساسية المستخدمة في زراعة الخلايا والأنسجة وتطويع الحمض النووي والتحوير الوراثي.
- تنمية القدرة على مناقشة الجوانب الإقتصادية والبيئية والإجتماعية والمستقبلية للتقنية الحيوية.

هدفي الشخصي

التعلم من المنهج المهارات الأساسية للتعلم والبحث العلمي وإعداد طالباتي المتميزات في الدراسة والحياة العملية كما يسعدني دائما مناقشة مدى صحة بعض المعلومات التي قد تصادفكم عبر وسائل التواصل الإجتماعية وتحفيز الطالبات على البحث عن صحة المعلومة والتثبت منها قبل تصديقها او نشرها.

قوانين عامه للطالبات

- الهدف من المادة تعليم اسس مادة التقنية الحيوية وتحفيز التعلم واستخدام وسائل التكنولوجيا في التعلم ونشر المعرفة والبحث عنها.
- في حالة وجود تساؤل عن المادة العلمية او مجال مقارب لها فهو محل ترحيب وتقدير وسوف ابذل جهدي لإيجاد الإجابة المناسبة وكلنا في رحلة تعلم وموجودين حتى نستفيد ونتعلم.
- يمكنكم مشاركة الأفكار العلمية او النقاشات فيما يتعلق بالمادة.

حتى تعم الفائدة يرجى إتباع مايلي:

- الإلتزام بالحضور عند وقت المحاضرة او قبل بدءها ، التأخير من علامات عدم احترام الأخرين وسوف يتم وضع قائمة تكتب فيها أسماء المتأخرات .
- عند تكرار التأخير بواقع مرتين أو اكثر خلال الفصل دون أسباب منطقية يتم الحسم درجة من درجات مشاركة الطالبة .
- كل طالبة تخصص حساب في موقع التواصل في تويتر للمشاركة في وسم (هشتاق) الفصل للمادة.
- في كل شعبة تكون الطالبات مجموعات بحيث تتكون كل مجموعة من 6-10 طالبات ومن ضمن المجوعات يتم ترشيح قائدة.
- كل قائدة ترسل بيانات مجموعتها **عبر الايميل** في جدول يتكون من الاسم-الرقم الاكاديمي-الايميل وتحديد القائدة من ضمن المجموعة و**رقم الشعبة.**
- التواصل متاح للطالبات عبر الحساب في تويتر او **الأيميل لتسليم الواجبات** او مباشرة بالمرور على المكتب رقم 2155. email:dr.faten.dhawi@gmail.com / Twitter: @dr_FD_Almutiri

	تخطيط المنهج
المحاضرة	الموضوع
1	مفهوم التقنية الحيوية وبعض تطبيقاتها
2	الجينوم و تناسخ المادة الوراثية، البروتينات
3	العوامل المطفرة والتفاعل مع البيئة و بيولوجيا السرطان
4	تركيب الجينات والتعبير الجيني واهمية الميكروستاليت في الفحص الجنائي
5	الزراعة النسيجية، الطرق والغرض منها
6	الخلايا الجذعية وانواعها وتطبيقاتها
7	الهندسة الوراثية وتطبيقاتها
8	الكميراز وطرق التعديل الجيني
9	الهندسة الأيضية وتطبيقات الهندسة التقنية الحديثة
10	المفاعلات الحيوية
11	اسبوع اختبار قصير
12	**اسبوع العروض التقديمية- مدة العرض دقيقة لكل طالبة**
13	**اسبوع العروض التقديمية- مدة العرض دقيقة لكل طالبة**

	مواضيع العروض التقديمية
1	الهندسة الوراثية في النبات
2	الهندسة الوراثية في الحيوان أو الانسان
3	استخدام التحرير الجيني في التعديل الوراثي
4	الزراعة النسيجية
5	الخلايا الجذعية
6	المفاعلات الحيوية
7	تطبيقات التقنية الحيوية الحديثة-امثلة والطريقة المستخدمة فيها
موضوع إضافي الزامي	**اشاعة انتشرت عبر وسائل التواصل و الرد عليها علميا**

	العرض يشمل
1	صفحة عنوان -اسماء المشاركات-استاذة المادة- رقم الشعبة
2	المفهوم العام
3	مقدمة تاريخية
4	الموضوع -الطرق المستخدمة او التطور في الموضوع
5	امثلة
6	مناقشة الأمثلة واهمية الموضوع
7	خاتمة الموضوع والمراجع المستخدمة

توزيع درجات المقرر

%80 على الاختبارات على النحو التالي:
%30 اختبار فصلي 1-
%30 اختبار فصلي2-
%20 اختبار نهائي

%10 على واجب العمل الجماعي (واجب واحد خلال الفصل)

%10 على العرض التقديمي (عمل جماعي)

المشاركة الفصلية واللامنهجية قد تضيف 5-3% تحسين للدرجات

القراءة المستمرة للمحاضرات والتدوين اثناء المحاضرة من أسباب التميز والامتياز A+

A+: 95-100
A: 94-90
B+: 85-89
B : 84-80
C+: 79-75
C: 74-70
D+: 65-69
D: 64-60

F: ☹

المحاضرة الأولى

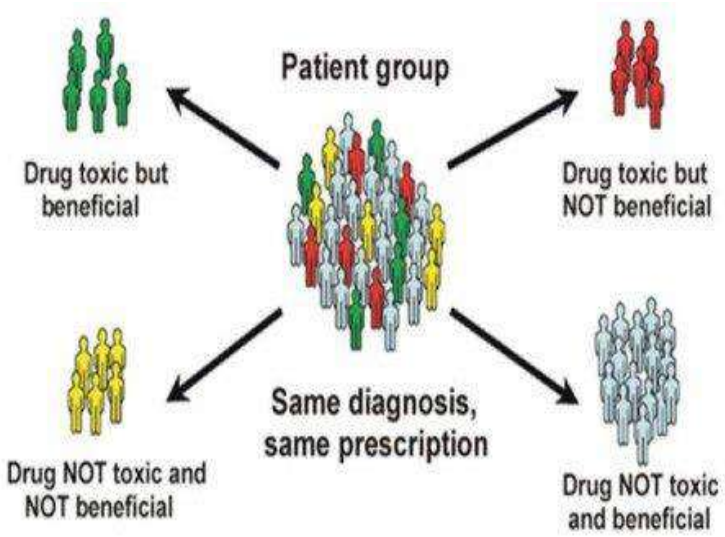
التقنية الحيوية او التكنولوجيا الحيوية
Biotechnology

هي ترجمة مصطلح Biotechnology وتعني استخدام تطبيقات التقنية الحديثة في معالجة الكائنات الحية.
وتعريفها هو: التعامل مع الكائنات الحية على المستوى الخلوى وتحت الخلوى من أجل تحقيق أقصى استفادة منها صناعيًا وزراعيًا وبالتالى اقتصاديًا وذلك عن طريق تحسين خواصها وصفاتها.
و هو العلم الذي يستخدم الكائنات الحية مع التقنية بغرض تحقيق أقصى استفادة منها على المستوى الصناعي والزراعي والصحي والاقتصادي. ويشمل الآن العلوم الحديثة الهندسة الوراثية او التعديل الجيني والفحص الوراثي واختبارات تشخيص الأمراض والعلاجات الدوائية وغيرها مما يحقق رفاهية الإنسان وسعادته والمحافظة على صحته.

بعض تطبيقات التقنية الحيوية

بالنسبة للمجال الطبي استخدام Gene therapy العلاج الجيني

- معالجة الأمراض الوراثية فى البشر باستخدام التكنولوجيا الحيوية فى نقل و تعديل الجينات.
- إمكانية زرع أعضاء جديدة باستخدام المحتوى الوراثي لخلية المريض بدلا من أن أنقل له عضو من متبرع أو من ميت.
- التعامل فى قضايا اثبات النسب و فى الحوادث و الجرائم بالطب الشرعى بوحدات DNA و كذلك فحوصات ما قبل الزواج لمعرفة احتمالية الإصابة بالأمراض فى الأجيال القادمة.
- بعد دراسة الفرد على المستوى الوراثي يتم تحديد العلاج الأنسب مع اقل قدر من المضاعفات حسب مجموعة الاستجابة.



تصنيف الاشخاص الذين يحملون نفس تشخيص المرض باختلاف الاستجابة	
Drug not toxic and beneficial	الدواء غير سام و مفيد
Drug toxic and not beneficial	الدواء سام وغير مفيد
Drug toxic but beneficial	الدواء سام ولكن مفيد
Drug not toxic but not beneficial	الدواء غير سام وغير مفيد

بعض تطبيقات التقنية الحيوية

استخدام الكائنات الدقيقة

تستخدم الكائنات الدقيقة (البكتريا و الفيروسات والخميرة والفطريات) على نطاق واسع فى مشروعات تكنولوجية حيوية مثال:

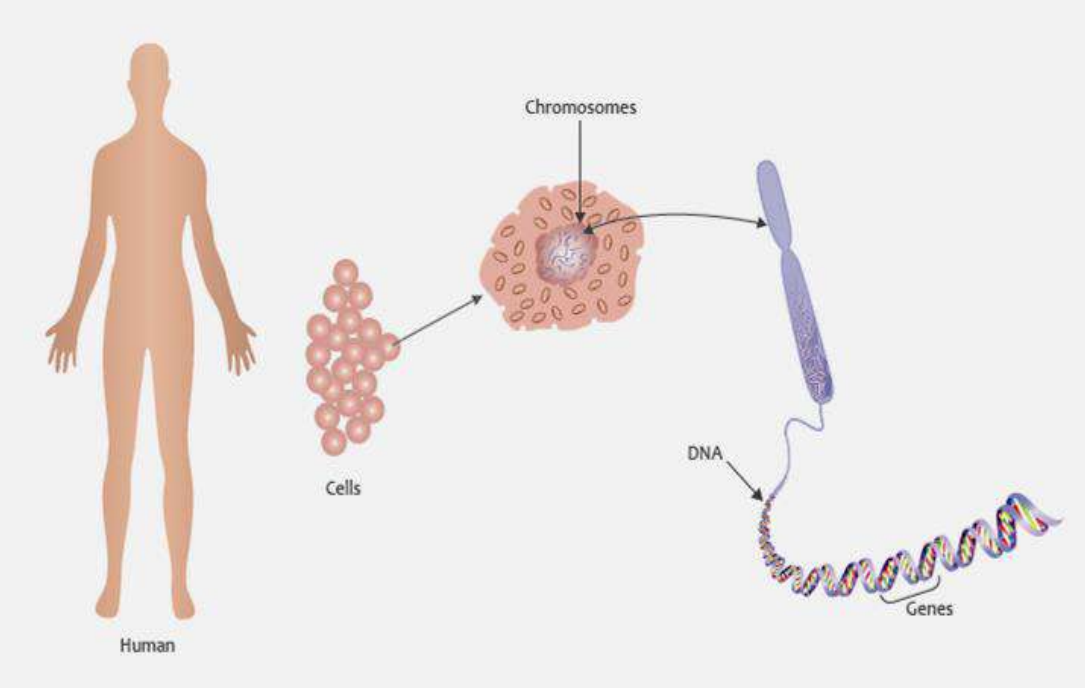
- استخدام الكائن الدقيق كناقل vector لبعض الجينات المرغوبة.
- إنتاج الانسولين البشرى human insulin .
- استخدام البكتريا كأسمدة الحيوية bio fertilizers بدلاً الاسمدة الكيماوية.
- استخدامها فى تنقية المياة أو التخلص من المخلفات العضوية (التدوير).
- تصنيع الزبادي والاجبان المختلفة ومنتجات الالبان.
- تصنيع المركبات الكيميائية كالمضادات الحيوية المستخدمة فى العقاقير.
- تصنيع البيرة والمشروبات.
- صنع الخميرة وصنع الخبز ومشتقاته.

بعض تطبيقات التقنية الحيوية

بالنسبة للنباتات

- إمكانية نقل جينات بعض الصفات المرغوبة (مثل تحمل درجة الحرارة و نقص المياه من نباتات صحراوية) إلى نباتات أخرى.
- التحكم فى أحجام و أشكال الثمار و النباتات بشكل عام (زيادة الحجم و تغيير اللون و الشكل حسب الرغبة).
- إمكانية رفع القيمة الغذائية لمحصول ما بإضافة بعد الصفات الوراثية من محاصيل أخرى .
- مضاعفة كميات المحاصيل الناتجة و إختزال الوقت اللازم للنمو وبالتالى المساعدة على القضاء على المجاعات و ارتفاع أسعار الغذاء.
- إنتاج الوقود الحيوى bio fuel مثل استخدام قش الأرز وبقايا الحصاد في المزراع والتي يتم حرقها أحيانا لإنتاج الوقود بدلا من حرقها.

ماهي الخلية وماهي مكوناتها؟



الخلية Cell

الوحدة الأساسية للمخلوقات الحية جميعها

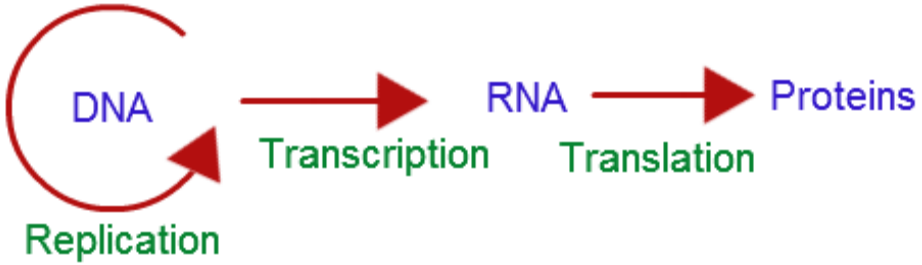
وتحتوي الخلية **على النواة Nucleuos**

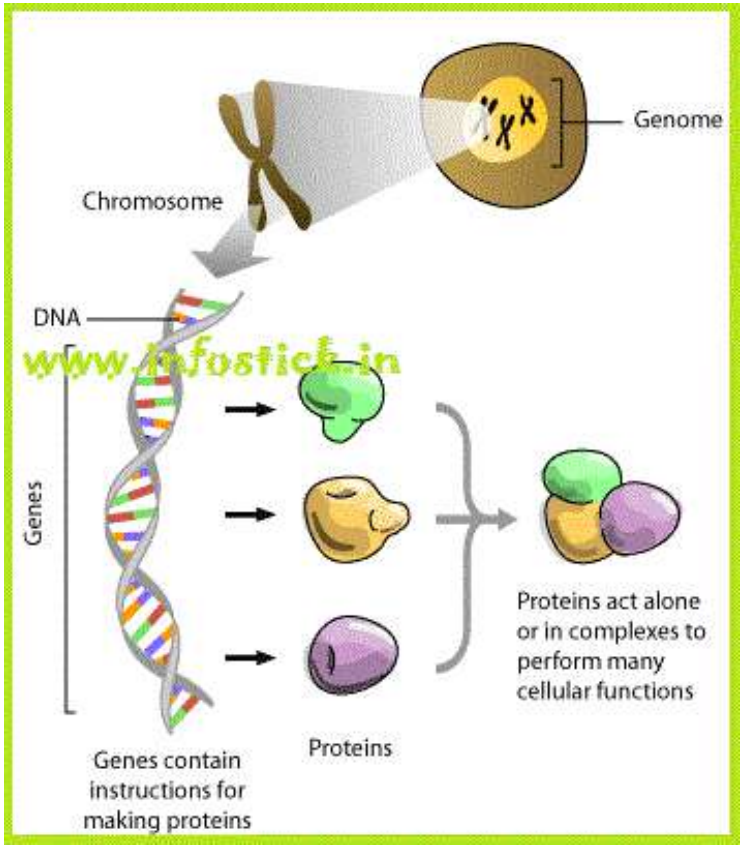
وتحوي **النواة** معظم الحمض النووي DNA الذي يخزن المعلومات في الخلية التي تستخدم في بناء البروتينات اللازمة لنموها، ووظيفتها وتكاثرها.

تحاط النواة بغشاء مزدوج يسمى الغلاف النووي، وهو مشابه للغشاء الخلوي إلا أن للغلاف النووي ثقوبًا تسمح للمواد الأكبر حجمًا بدخول النواة والخروج منها.

المبدأ الأساسي للأحياء الجزيئية

The central dogma of molecular biology



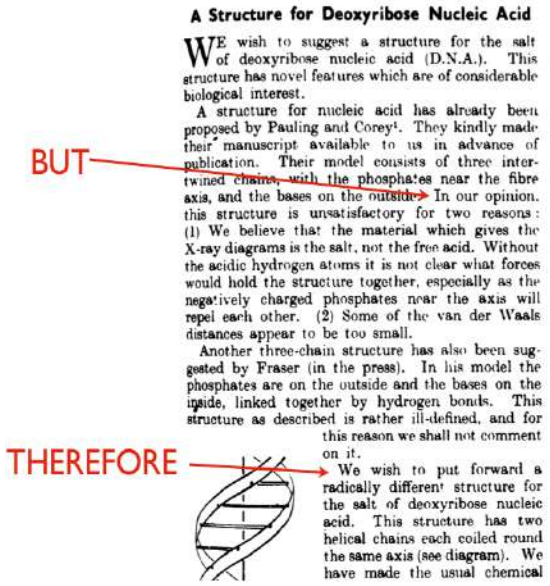


المبدأ الأساسي للأحياء الجزيئية هو ان الحمض النووي DNA ينسخ إلى RNA الحمض النووي الريبوزي

ومن ثم يترجم إلى البروتين Protein

والذي بدوره يعطي الصفات للكائن الحي.

من الذي اكتشف التركيب الجزيئي للحمض النووي؟



A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

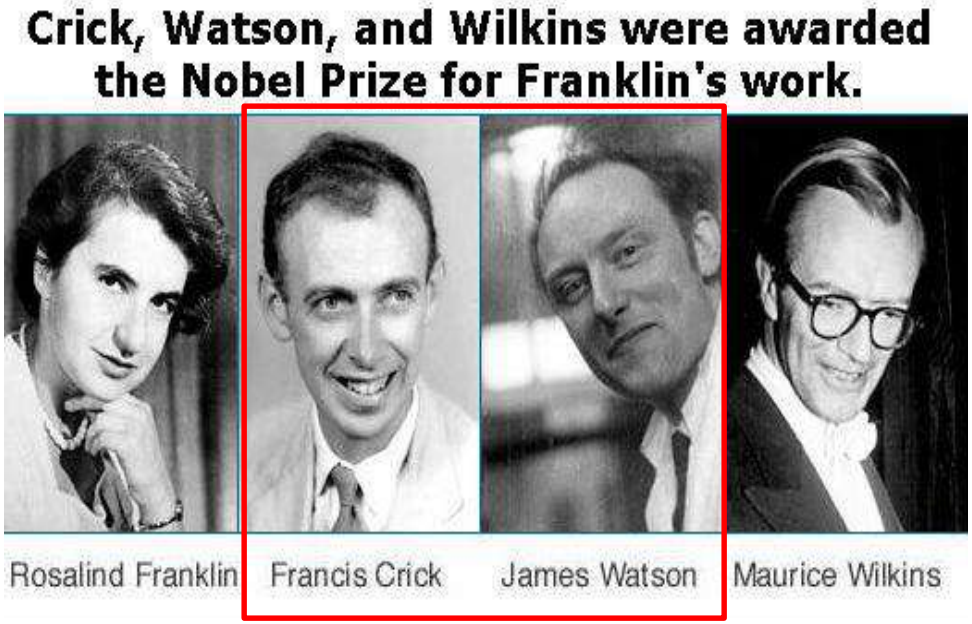
A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey[1]. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three intertwined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

Another three-chain structure has also been suggested by Fraser (in the press). In his model the phosphates are on the outside and the bases on the inside, linked together by hydrogen bonds. This structure as described is rather ill-defined, and for this reason we shall not comment on it.

We wish to put forward a radically different structure for the salt of deoxyribose nucleic acid. This structure has two helical chains each coiled round the same axis (see diagram). We have made the usual chemical

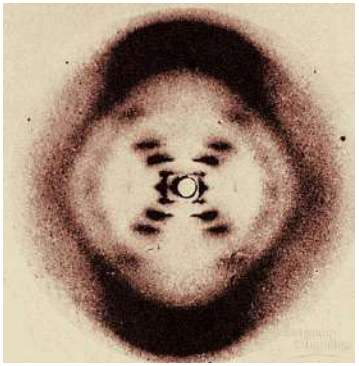
BUT

THEREFORE



http://thebenshi.com/wp-content/uploads/2014/07/watson-and-crick.png

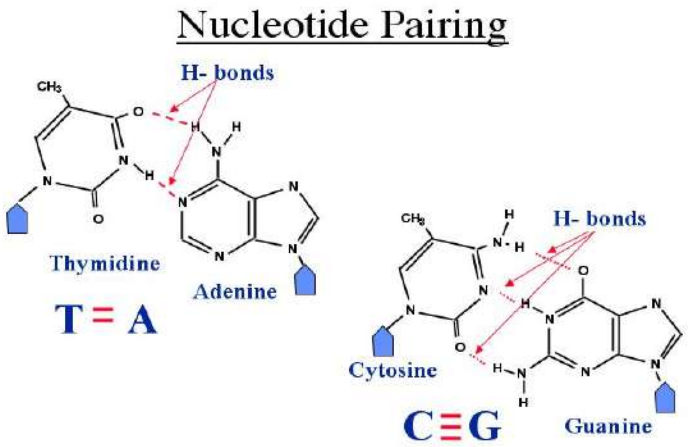
May 1, 1952
Picture serial number 51



http://alchetron.com/Rosalind-Franklin-813356-W

Genome – الجينوم او المادة الوراثية

http://www.ucl.ac.uk/~sjjgsca/NucleotidePairing.jpg



الحمض النووي DNA ببساطة عبارة عن:

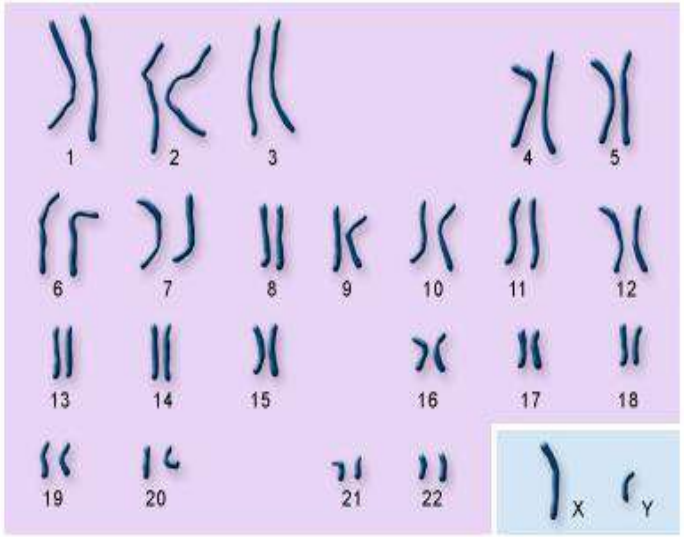
قاعدة + سكر خماسي+ فوسفات= النيكولوتيدة

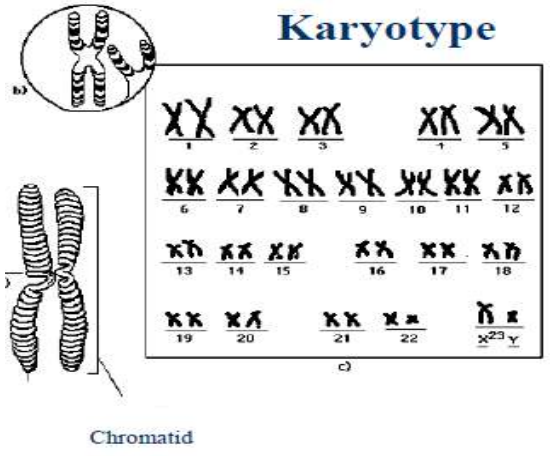
Base + Sugar + Phosphate = Nucleotide

قاعدة الاقتران للقواعد النيتروجينية في الحمض النووي

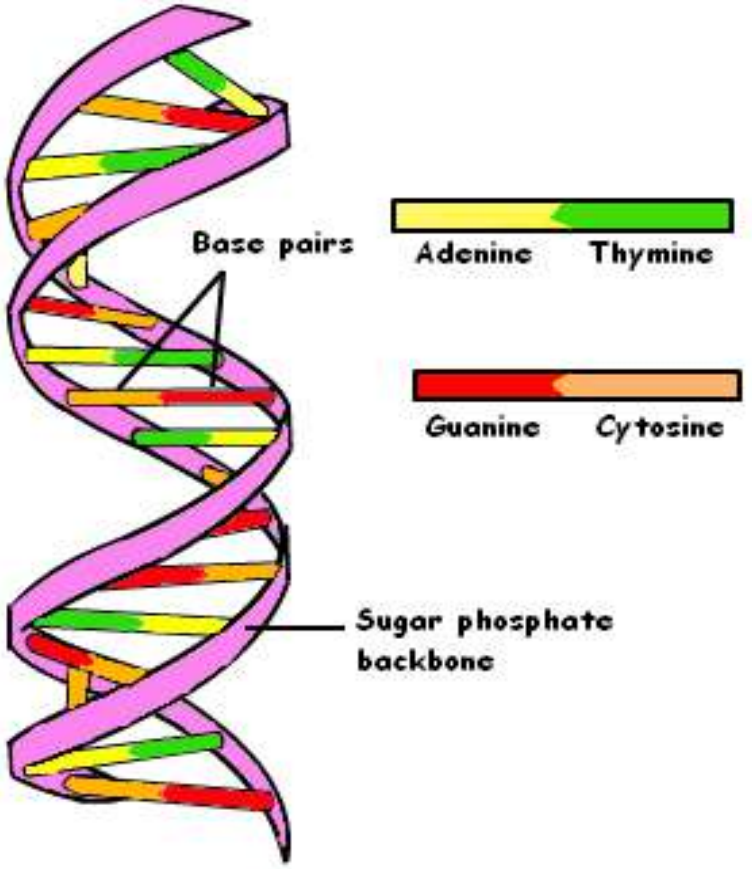
يتكون الجينوم الكامل للإنسان من 23 زوج من الكروموسومات منها 22 تحمل الصفات وتسمى جسدية autosomes

وكروموسوم واحد جنسي يحدد اذا كان الشخص ذكر او انثى ويسمى sex chromosomes





تركيب الحمض النووي الـ DNA



http://chemistry.tutorvista.com/biochemistry/nucleotides.html

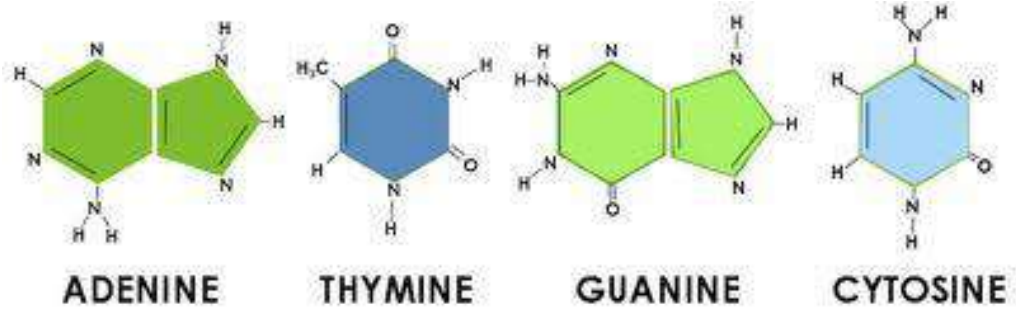
•يتكون الحمض النووي الريبوزي منقوص الأكسجين من سلسلتين متوازيتين تنتظمان على هيئة سلم ملتف لولبيا Double Helix.

• الوحدة الأساسية لبناء جزيئة DNA بالنيوكليوتيدة nucleotide، والتي تتكون من ثلاثة أجزاء وهي سكر خماسي ريبوز منقوص الأكسجين، مجموعة فوسفات، وقاعدة نيتروجينية.

• والقواعد النيتروجينية، إثنتان من البيورينات Purines وهما أدينين Adenine وتختصر A وغوانين Guanine وتختصر G.

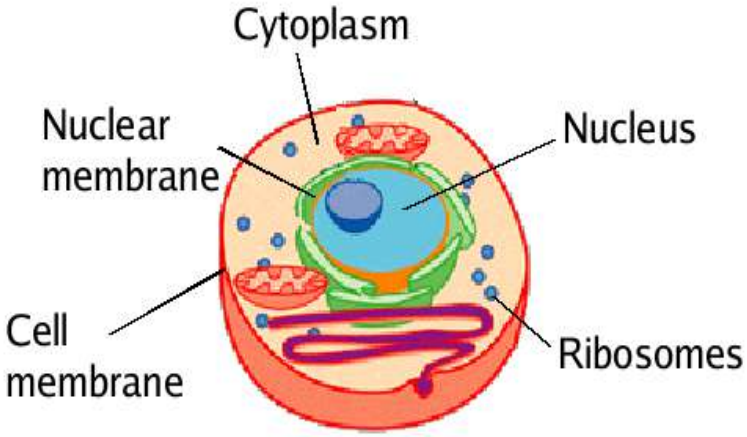
• وإثنتان من البايريميدينات Pyrimidines وهما الثايمين Thymine وتختصر T والسايتوسين Cytosine وتختصر C.

• و ترتبط جزيئات السكر مع مجموعة الفوسفات في الـ د ن ا برابطة فوسفاتية ثنائية الاستر، بينما ترتبط القواعد ببعضها برابطة هيدروجينية Hydrogen Bond.

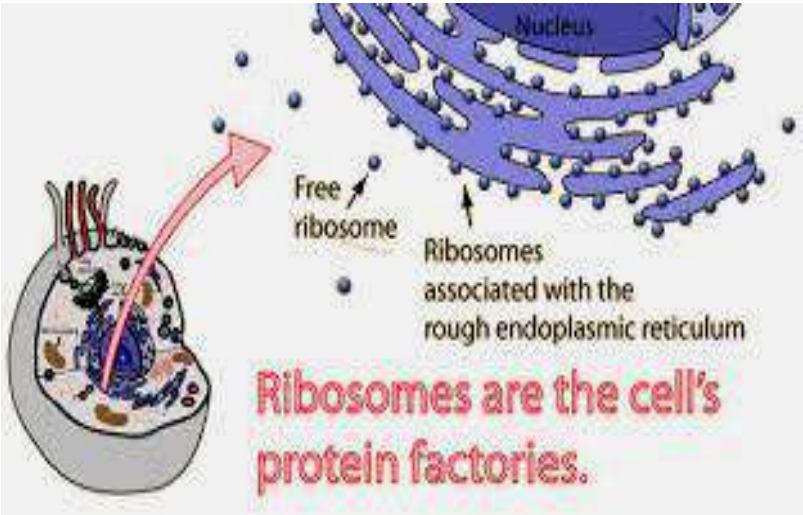


قاعدة الاقتران

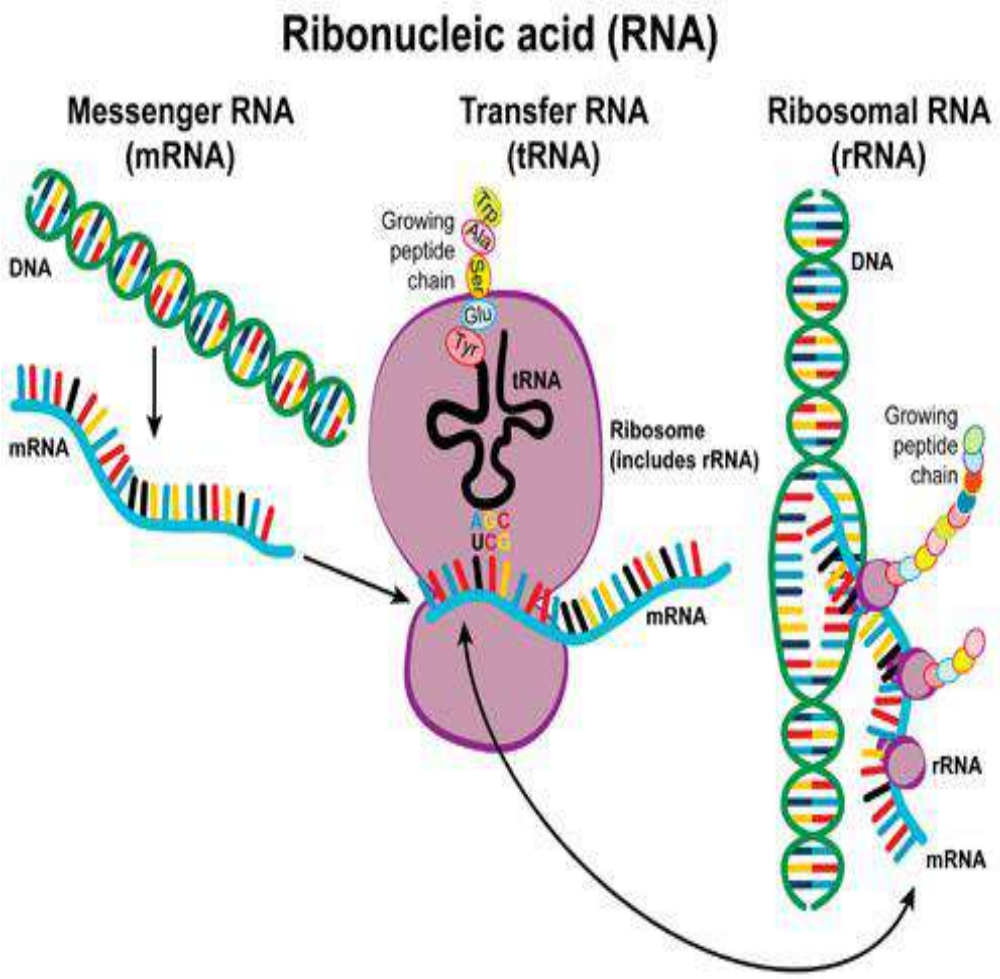
T = A C ≡ G



الرايبوسومات ribosomes العضيات التي تساعد الخلية على صنع البروتين، وتتكون من الحمض النووي والبروتين. ويتم إنتاج الرايبوسومات في النوية داخل النواة. وتوجد بعضها حرة في السيتوبلازم، في حين يرتبط بعضها الآخر مع عضيات أخرى تسمى **الشبكة الاندوبلازمية الخشنة**



والشبكة الإندوبلازمية الخشنة rough endoplasmic reticulum (RER) توجد بها بروزات. وهذه البروزات هي الرايبوسومات التي تنتج البروتين تمهيدًا لنقله إلى الخلايا الأخرى. وتوجد مناطق على الشبكة لا ترتبط بها رايبوسومات، تسمى الشبكة الإندوبلازمية الملساء او الناعمة **soft endoplasmic reticulum (SER)**. وعلى الرغم من عدم وجود رايبوسومات فيها إلا أنها تقوم بوظائف مهمة في الخلية، منها بناء النشويات والدهون. كما تعمل الشبكة الإندوبلازمية الملساء في الكبد على إزالة السموم الضارة من الجسم.



http://www.alyvea.com/biologystudyguides/transcription-translation.php

توجد ثلاث أنواع من الحمض النووي الـ ر ن ا RNA داخل الخلايا

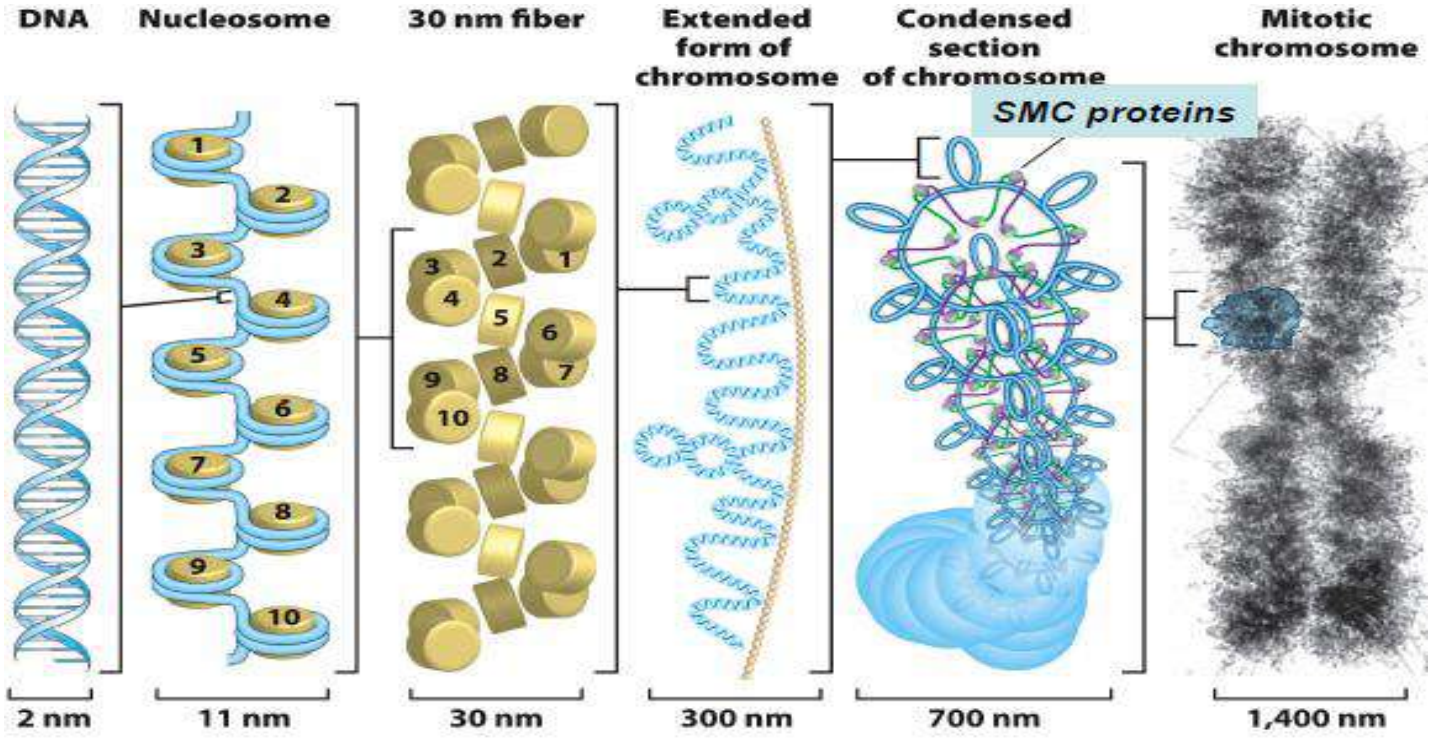
1) mRNA أو RNA الراسل ، ويقوم بنقل الشفرة الوراثية من المورثات في النواة إلى الرايبوسومات، ليتم تصنيع البروتينات المختلفة داخل السيتوبلازم.

2) tRNA أو RNA الناقل، ويقوم بنقل الاحماض الامينية في السيتوبلازم إلى الرايبوسومات لاستخدامها في عملية بناء البروتينات.

3) rRNA أو الرايبوسومي، يستخدم في إنتاج الرايبوسومات في النوية داخل نواة الخلية.

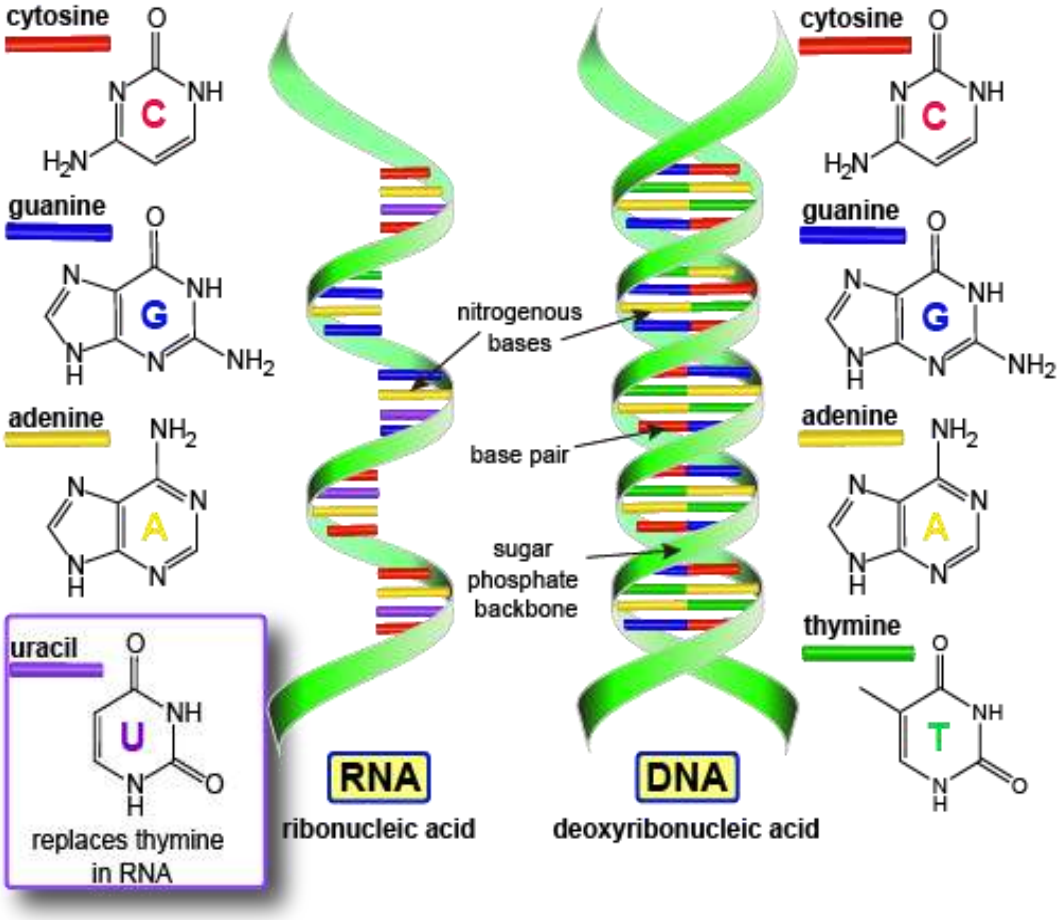
كيف يمكن لشريط الحمض النووي الذي يحمل ملايين المعلومات أن يتواجد في حيز صغير كالنواه؟

يقوم شريط الـ DNA بالالتفاف حول بروتينات الهستون بشكل متكرر مشكلا **النيوكليوسوم nucleosome**، مؤديًا إلى تكثيف المادة الوراثية مما يساعد على تخزينها في حيز صغير داخل أنوية الخلايا. وبالتالي تتكون المادة الوراثية عند تخزينها من 60 % بروتين الهستون، 35% حمض نووي ريبوزي منقوص الاكسجين DNA deoxyribonucleic acid و5% حمض نووي ريبوزي RNA ribonucleic acid.



https://www.studyblue.com/notes/note/n/b16-dna-chromatin/deck/13034568

الفرق بين DNA و RNA



DNA السكر الموجود في هيكل منزوع الاكسجين

يتكون من سلسلتين مزدوجتين من القواعد النيتروجينية

وله اربع قواعد نيتروجينية T ,G,C,A

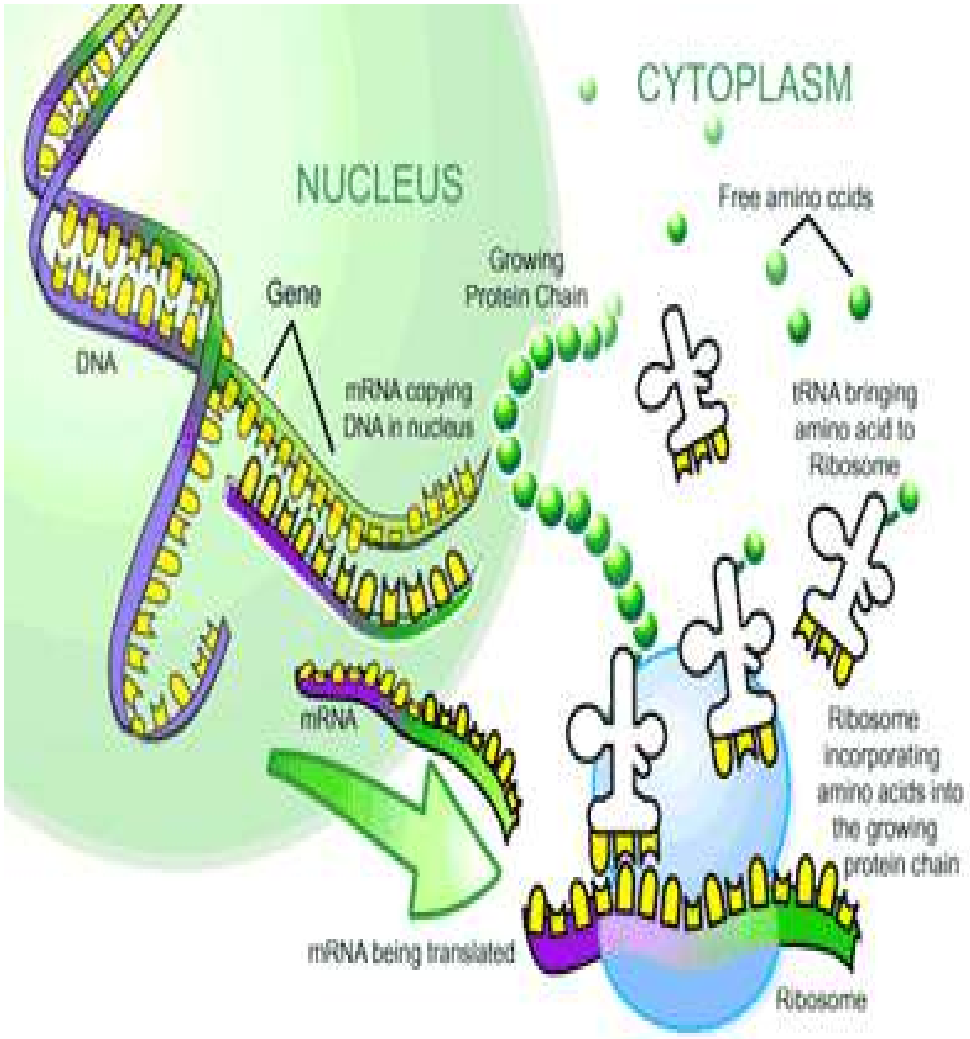
RNA سكر ريبوزي ، سلسلة واحدة تصطف عليها اربعة قواعد مشابهة لل DNA

ولكن يتم استبدال الثيامين باليوراسيل U,G,C,A

http://www.shmoop.com/dna/genetic-code.html

ماهو الأسهل في الأستخلاص المعملي DNA ام RNA
ولماذا؟ وماهو نوع الشحنة لكل منهما

ماهي علاقة المادة الوراثية بالصفات والوظائف في الكائن الحي؟



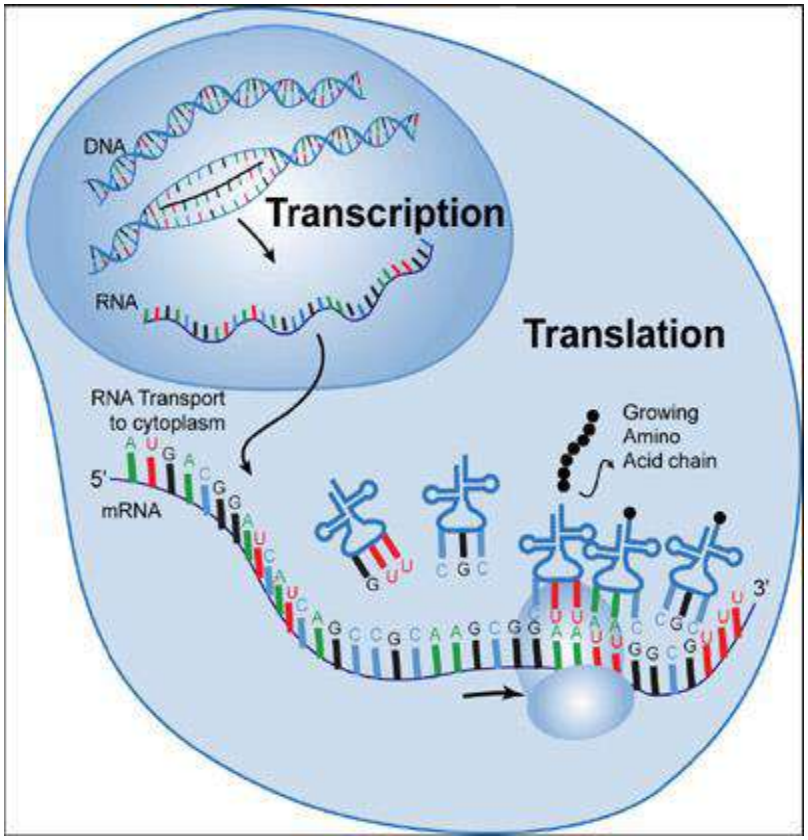
تبدأ عملية التعبير الجيني بنسخ الحمض النووي بوجود انزيمات عديدة اهمها البوليميريز DNA– polymerase

ينسخ المراسل mRNA المادة الوراثية كقالب والتي تنتهي عند الوصول الى نهاية الجين في DNA وتحتوي نهاية كل الجين على شفرة توقف

ثم ينتقل mRNA إلى سيتوبلازم الخلية حيث يتم ترجمته إلى البروتين المطلوب بمساعدة الريبوسومات الموجودة على الشبكة الأندوبلازمية الخشنة RER و كذلك الناقل tRNA

https://www.emaze.com/@AQZQIZL/Week-11-Protein-Synthesis-Nov-3-7.pptx

ماهي علاقة المادة الوراثية بالصفات والوظائف في الكائن الحي؟



http://www.tokresource.org/tok_classes/biobiobio/biomenu/transcription_translation/

الشيفرة الوراثية عبارة عن نظام من التعليمات الموجودة داخل الحمض النووي حيث يقوم الكود بإخبار الخلية كيف تُنتج البروتينات التي تتحكم بوظائفها الخلوية،
ثم تقوم الريبوسومات في السيتوبلازم بنقل هذه التعليمات من mRNAلإنتاج البروتين المطلوب.
mRNA وبالتعاون مع الريبوسومات و tRNA الناقل للأحمض الأمينية بترجمة المعلومات الوراثية إلى اكواد الأحماض الأمينية المختلفة.. كل **ثلاثة نيوكلوتيدات** (قواعد نيتروجينية) تعطي كود للحمض اميني.
تحتوي الشيفرة الوراثية على **61 الكودونات Codons**
وبما انه يوجد **20 حمض أميني** في الخلية فإن هناك **أحماض أمينية تشفّر بأكثر من كودون واحد.**
إن تسلسل هذه الكلمات داخل الشيفرة الوراثية هو الذي يحدد تسلسل الأحماض الأمينية داخل البروتين الناتج وبالتالي نوع البروتين المطلوب.
كل مرحلة من المراحل السابقة توجد بها انزيمات وبروتينات مساعدة وطاقة لكي تكتمل العملية.

DNA replication – 3D نسخ الحمض النووي

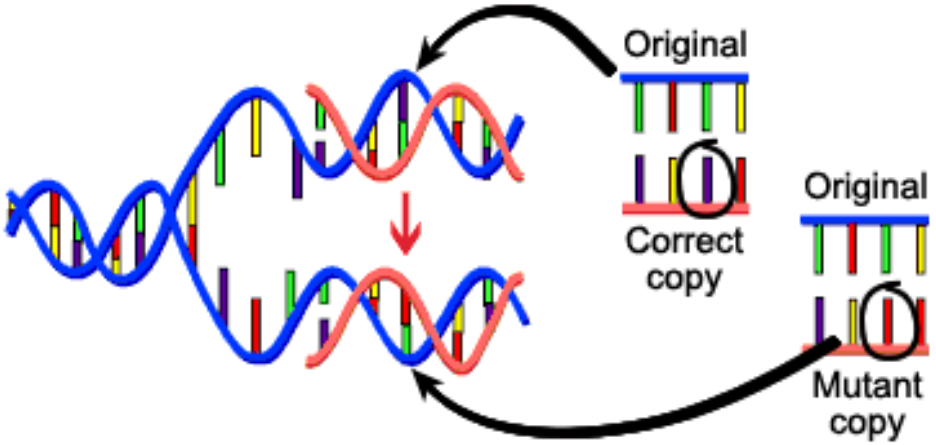
https://youtu.be/TNKWgcFPHqw

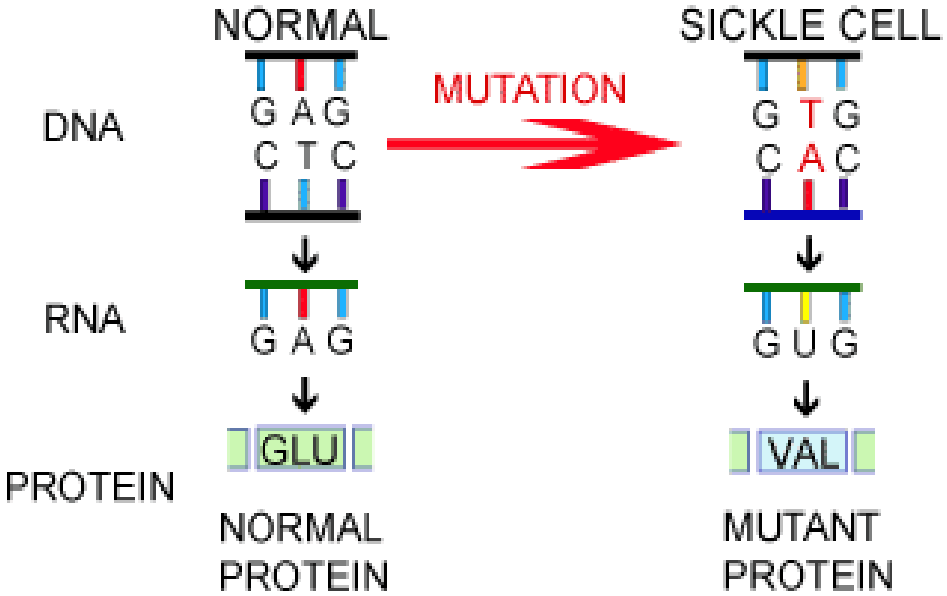
From DNA to protein – 3D من الحمض النووي إلى البروتين فيديو توضيحي

https://youtu.be/gG7uCskUOrA

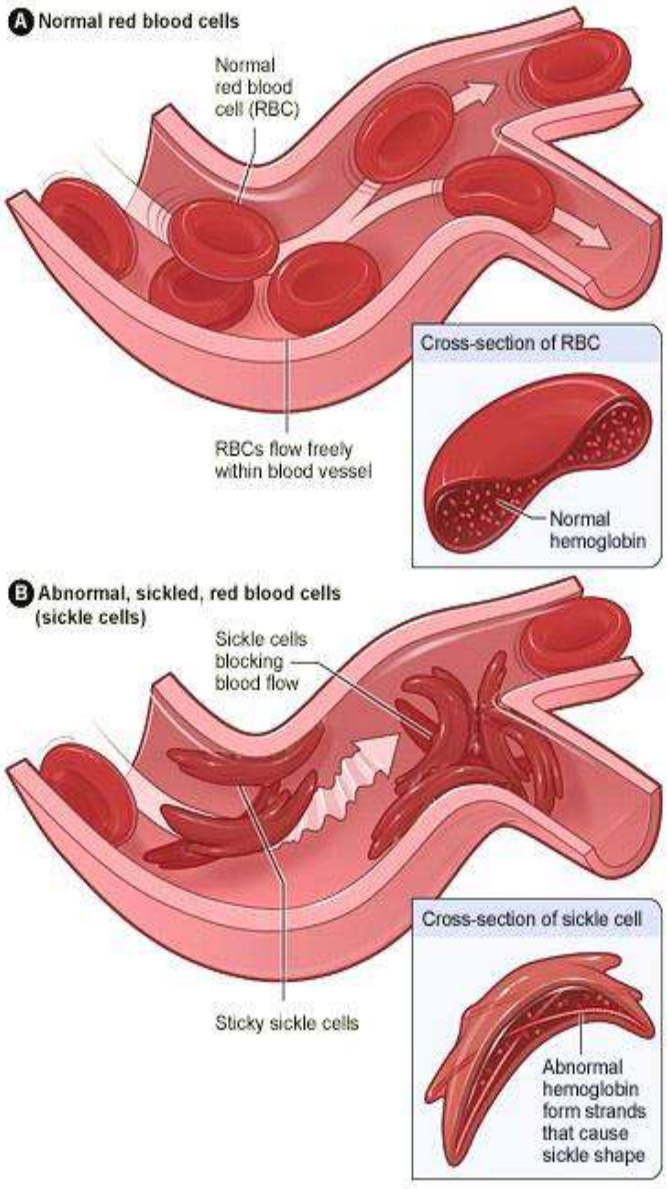
ماهي علاقة المادة الوراثية بالصفات والوظائف في الكائن الحي؟

- تتابع القواعد النيتروجينية في DNA يتم ترجمته بواسطة RNA ومن ثم يتم تخليق الاحماض الامينية والتي ترتيبط مع بعضها بروابط ببتيدية لتعطي بروتينات مختلفة مسؤولة عن التعبير الجيني مثل لون الشعر والعيون او الوظائف مثل الهرمونات الخاصة بالنمو او هضم الغذاء وانتاج الطاقة.
- أي خلل في احد القواعد النيرتوجينية يسبب طفرة mutation قد ينتج عنه إذ لم يتم اصلاحه احماض امينية مختلفة التسلسل وبالتالي بروتين مختلف مما يؤثر على التعبير الجيني! وقد يكون هذا التغير ممرض أو مميت للخلية وللكائن الحي بشكل عام.
- مثل مرض فقر الدم المنجلي Sickle cell anemia الذي ينتج عن تغير لنيوكلوتيد واحد مما يغير أحد الأحماض الأمينية وبالتالي يغير البروتين فيتغير دوره فتتشكل كرات دم غير قادرة على نقل الأوكسجين بشكل طبيعي فيتنج عنه مرض فقر الدم المنجلي.





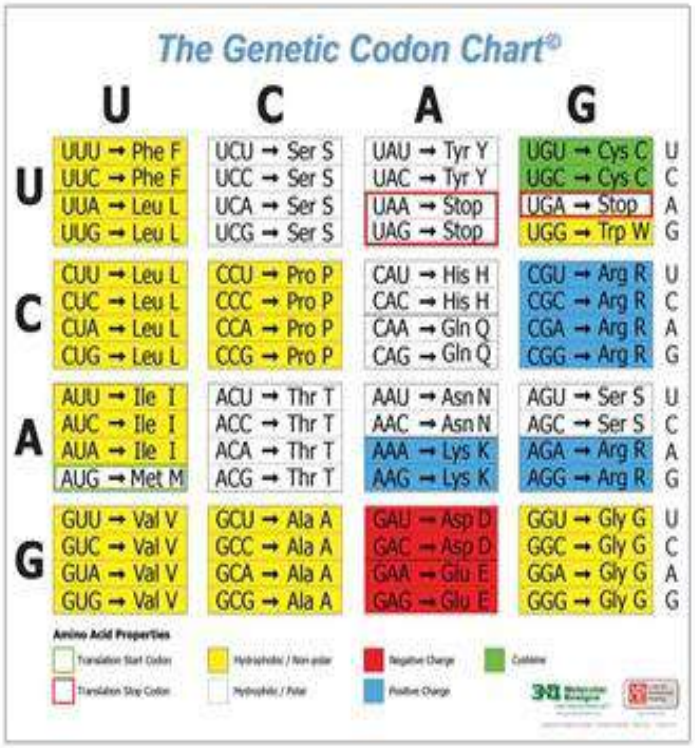
http://evolution.berkeley.edu/evolibrary/article/mutations_06



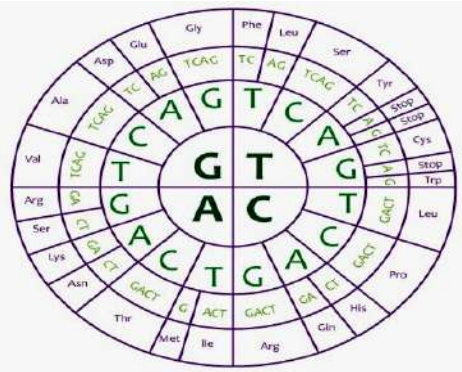
http://vector.childrenshospital.org/2012/08/there-is-a-cure-for-sickle-cell-disease-for-some/

شكل يوضح تغير في نيوكلوتيدة واحدة مما يؤدى إلى تغير الحمض الاميني من الجلوتاميك إلى الفالين لبروتين الهيموغلوبين في كريات الدم الحمراء فينتج عنه مرض فقر الدم المنجلي الذي يتغير فيه شكل كرات الدم وتصبح غير قادرة على نقل الأوكسجين وتمنع تدفق الدم بشكل طبيعي

علاقة القواعد النيتروجينية بالشفرات الوراثية وتكوين اكواد الاحماض الامينية المسؤولة عن البروتينات



http://www.3dmoleculardesigns.com/Education-Products/Genetic-Codon-Poster.htm



1-letter code	3-letter code	Amino acid	Possible codons
A	Ala	Alanine	GCA, GCC, GCG, GCT
B	Asx	Asparagine or Aspartic acid	AAC, AAT, GAC, GAT
C	Cys	Cysteine	TGC, TGT
D	Asp	Aspartic acid	GAC, GAT
E	Glu	Glutamic acid	GAA, GAG
F	Phe	Phenylalanine	TTC, TTT
G	Gly	Glycine	GGA, GGC, GGG, GGT
H	His	Histidine	CAC, CAT
I	Ile	Isoleucine	ATA, ATC, ATT
K	Lys	Lysine	AAA, AAG
L	Leu	Leucine	CTA, CTC, CTG, CTT, TTA, TTG
M	Met	Methionine	ATG
N	Asn	Asparagine	AAC, AAT
P	Pro	Proline	CCA, CCC, CCG, CCT
Q	Gln	Glutamine	CAA, CAG
R	Arg	Arginine	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CG
S	Ser	Serine	AGC, AGT, TCA, TCC, TCG, TCT
T	Thr	Threonine	ACA, ACC, ACG, ACT
V	Val	Valine	GTA, GTC, GTG, GTT
W	Trp	Tryptophan	TGG
X	X	Stop codon	TAA, TAG, TGA
Y	Tyr	Tyrosine	TAC, TAT
Z	Glx	Glutamine or Glutamic acid	CAA, CAG, GAA, GAG

Example: DNA:
T A C G G C T A G

DNA complementary:
ATGCCGATC

mRNA:
A U G C C G A U C

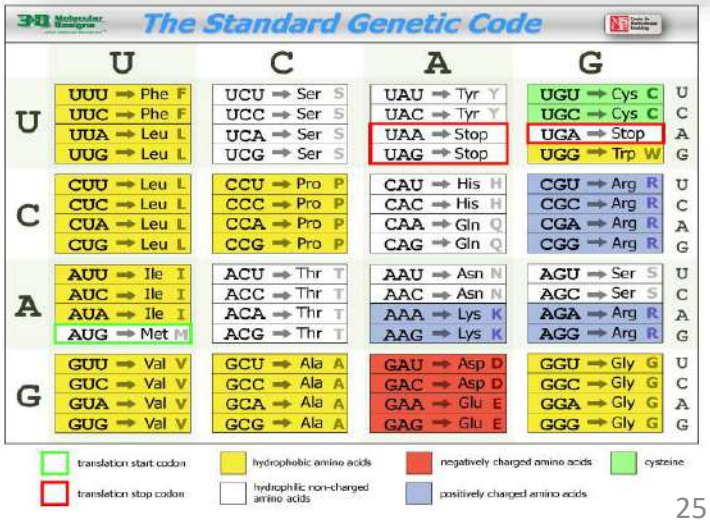
Codons:
AUG CCG AUC

Amino Acids:
Methionine Proline Isoleucine

Three letters code:
Met Pro Ile

One letter code :
M P I

1-letter code	3-letter code	Amino acid	Possible codons
A	Ala	Alanine	GCA, GCC, GCG, GCT
B	Asx	Asparagine or Aspartic acid	AAC, AAT, GAC, GAT
C	Cys	Cysteine	TGC, TGT
D	Asp	Aspartic acid	GAC, GAT
E	Glu	Glutamic acid	GAA, GAG
F	Phe	Phenylalanine	TTC, TTT
G	Gly	Glycine	GGA, GGC, GGG, GGT
H	His	Histidine	CAC, CAT
I	Ile	Isoleucine	ATA, ATC, ATT
K	Lys	Lysine	AAA, AAG
L	Leu	Leucine	CTA, CTC, CTG, CTT, TTA, TTG
M	Met	Methionine	ATG
N	Asn	Asparagine	AAC, AAT
P	Pro	Proline	CCA, CCC, CCG, CCT
Q	Gln	Glutamine	CAA, CAG
R	Arg	Arginine	AGA, AGG, CGA, CGC, CGG, CGT
S	Ser	Serine	AGC, AGT, TCA, TCC, TCG, TCT
T	Thr	Threonine	ACA, ACC, ACG, ACT
V	Val	Valine	GTA, GTC, GTG, GTT
W	Trp	Tryptophan	TGG
X	X	Stop codon	TAA, TAG, TGA
Y	Tyr	Tyrosine	TAC, TAT
Z	Glx	Glutamine or Glutamic acid	CAA, CAG, GAA, GAG



http://cbm.msoe.edu/scienceOlympiad/module2012/assets/dnaSequencingStructure6.jpg

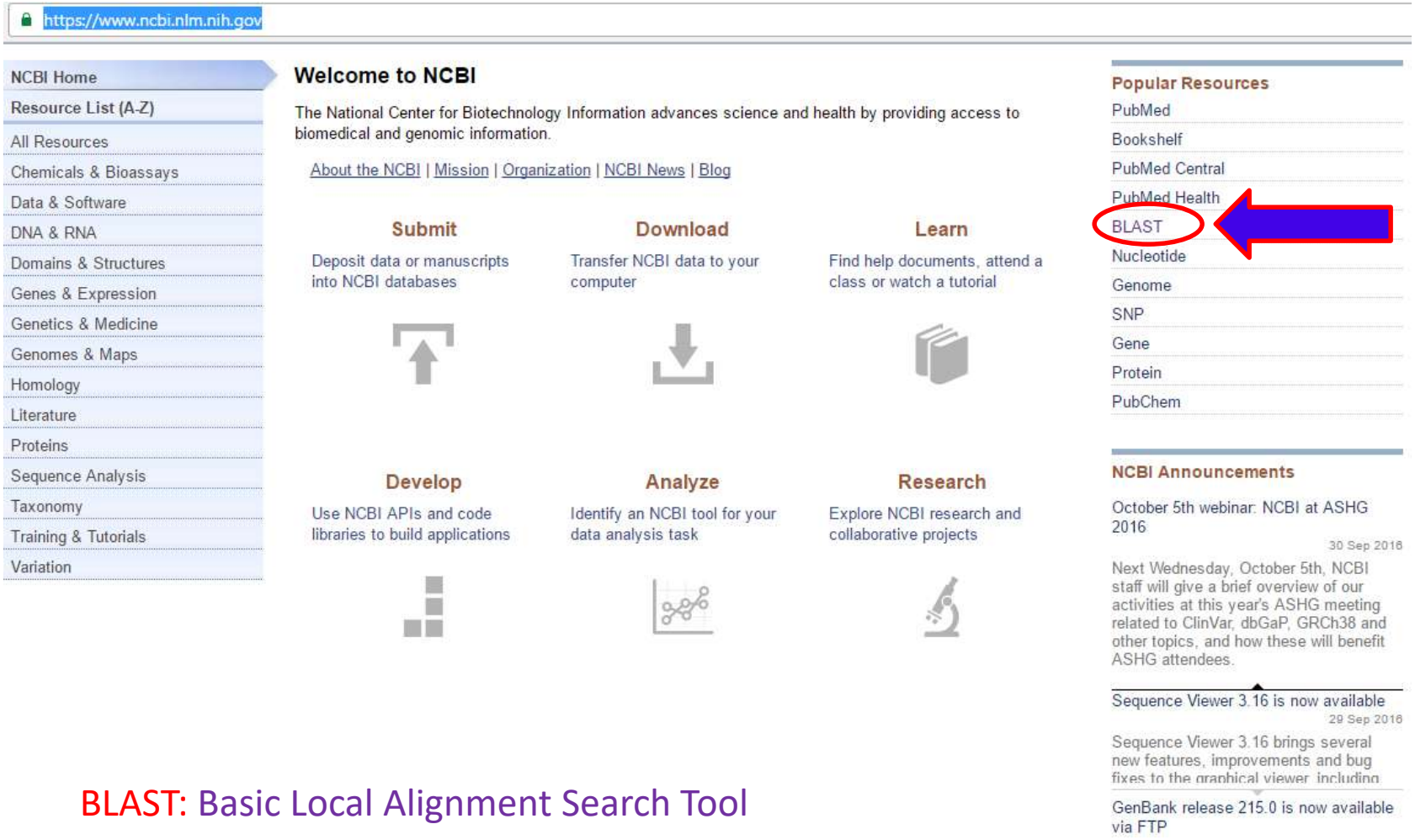
في احد المعامل البحثية تم فقدان الملصق الذي يدل على نوع العينة المأخوذة من المريض، وبعد دراسة التسلسل للقواعد النيوكليتيدية تم الحصول على تتابع DNA التالي.. المطلوب مساعدة الباحث في معرفة المرض المصاحب للعينة؟

هذه الفقرة نموذج للتدريب تم حلها

TGTGGCACAG ATGCTCGTGC CACCTCATTA CTTCCTGAAA
CCACCAGCTT ATCGCCCAACACAGACCGAA TGAATGTAGA
AAAGGCTGAA CTCTGTAATA AAAGCAAACA
GCCTGGCTTAGCAAAAAACC AACAGAGCAG TCTGGATGAA
AGTAAGGAAA TATGTAGTGC TGGAAAGACCCTGGGTGCCC
ATGAGCTGAA TGCCCATCAT CCATGCGAGA GGAAAGAACT
AGAGGATGAGCCACAGCACC CTGAGAGCCC CAGAGGTAAT
CCTCAGAACT GCCAGTCTGG AACCAAACTG

National Center for Biotechnology Information NCBI

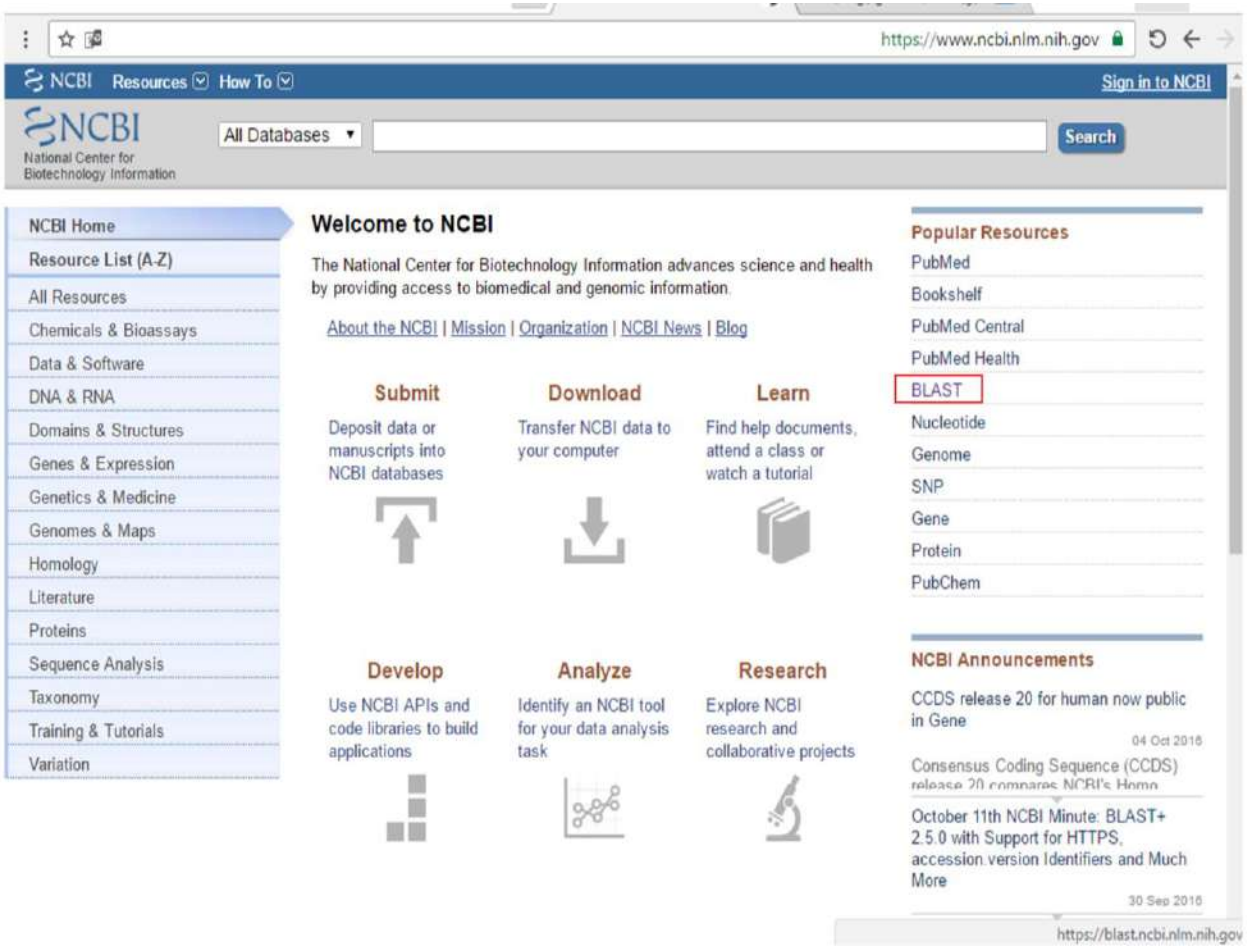
https://www.ncbi.nlm.nih.gov/



BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

Basic Local Alignment Search Tool

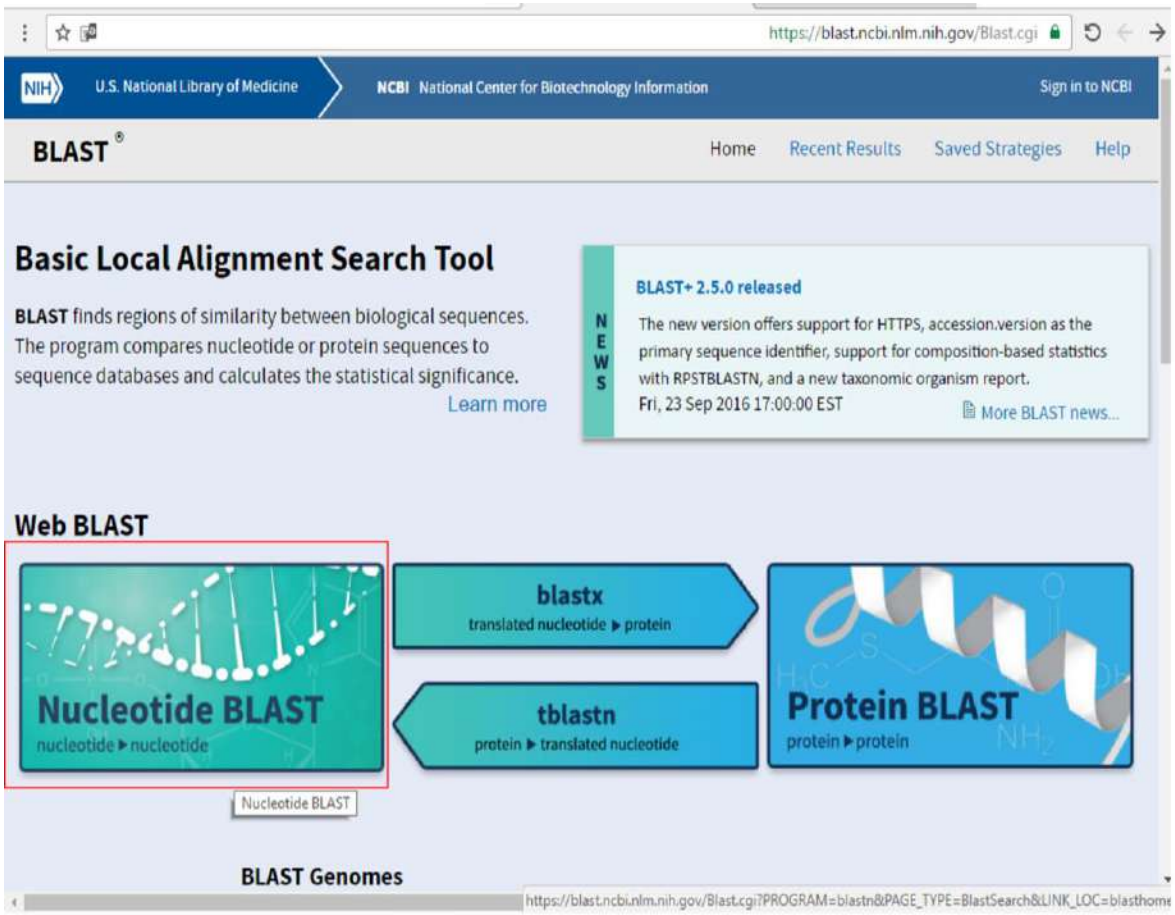
https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi



1- الدخول على الموقع الإلكتروني : https://www.ncbi.nlm.nih.gov/

وستكون هذه واجهة الموقع ←

2- الضغط على كلمة BLAST

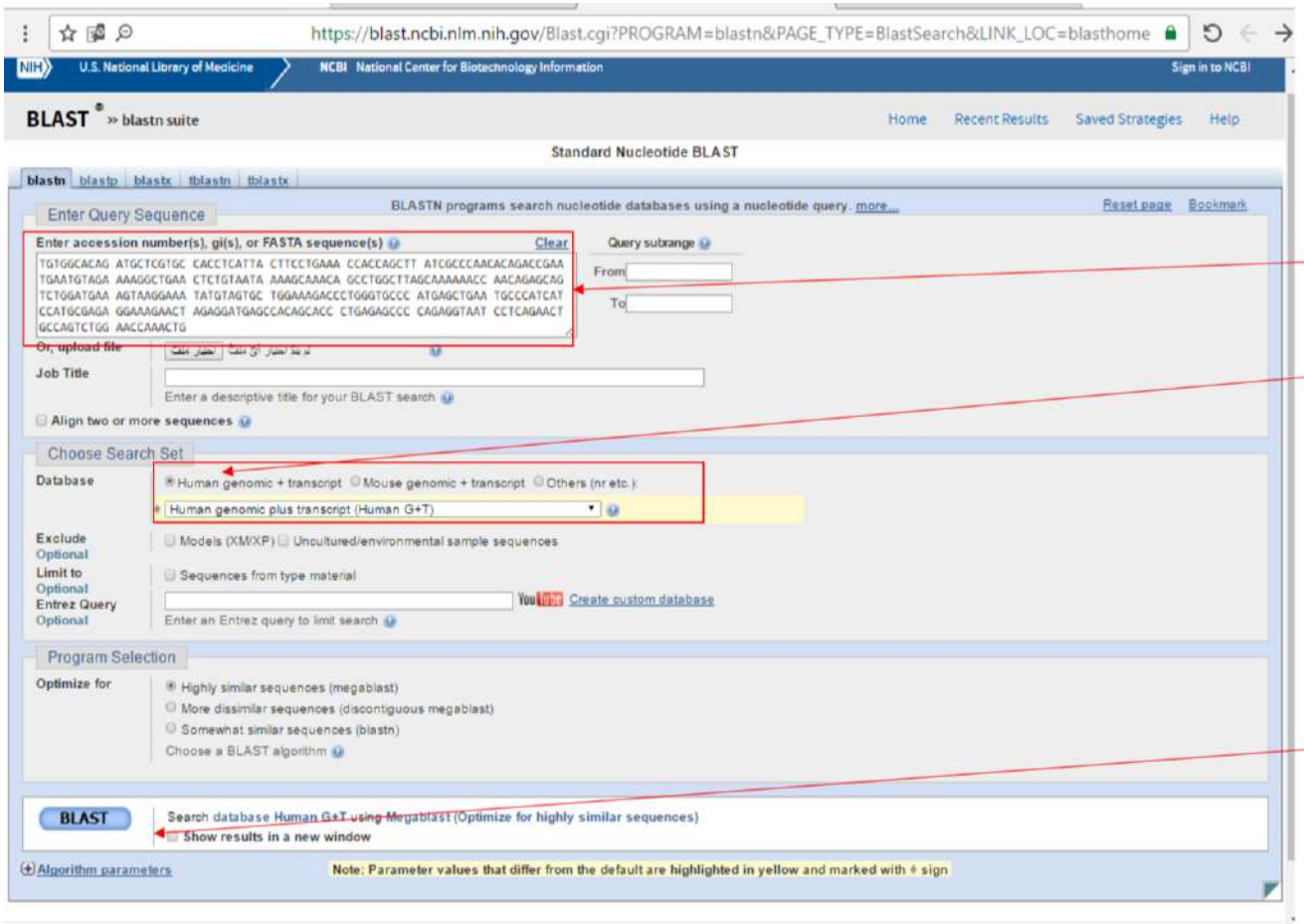


سننتقل إلى هذه الصفحة

بعد ذلك

3- الضغط على

Nucleotide BLAST



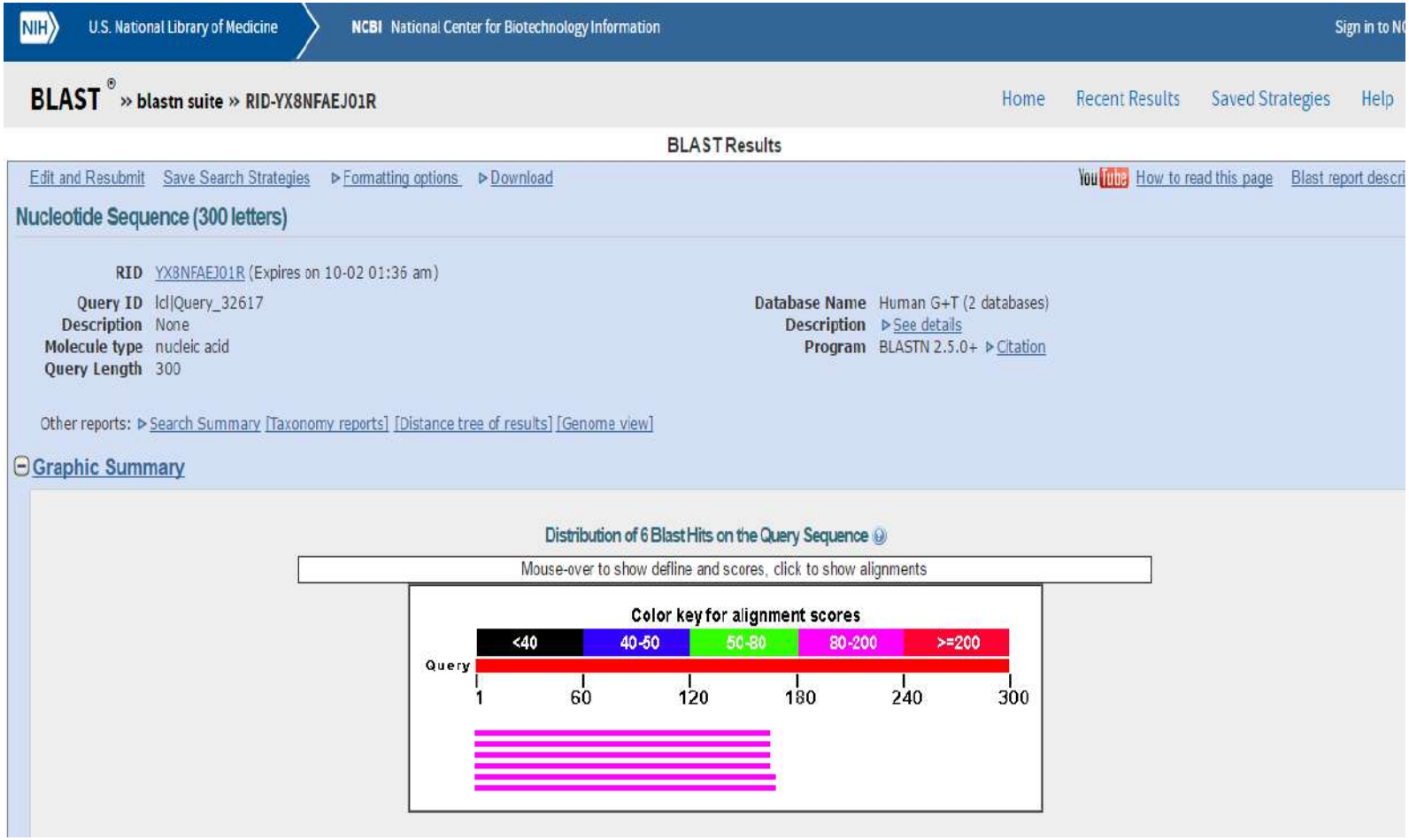
سننتقل إلى هذه الصفحة بعد ذلك

4- نكتب سلسة القواعد النيوكليتيدية

5- بما أننا نبحث عن مرض شخص بشري

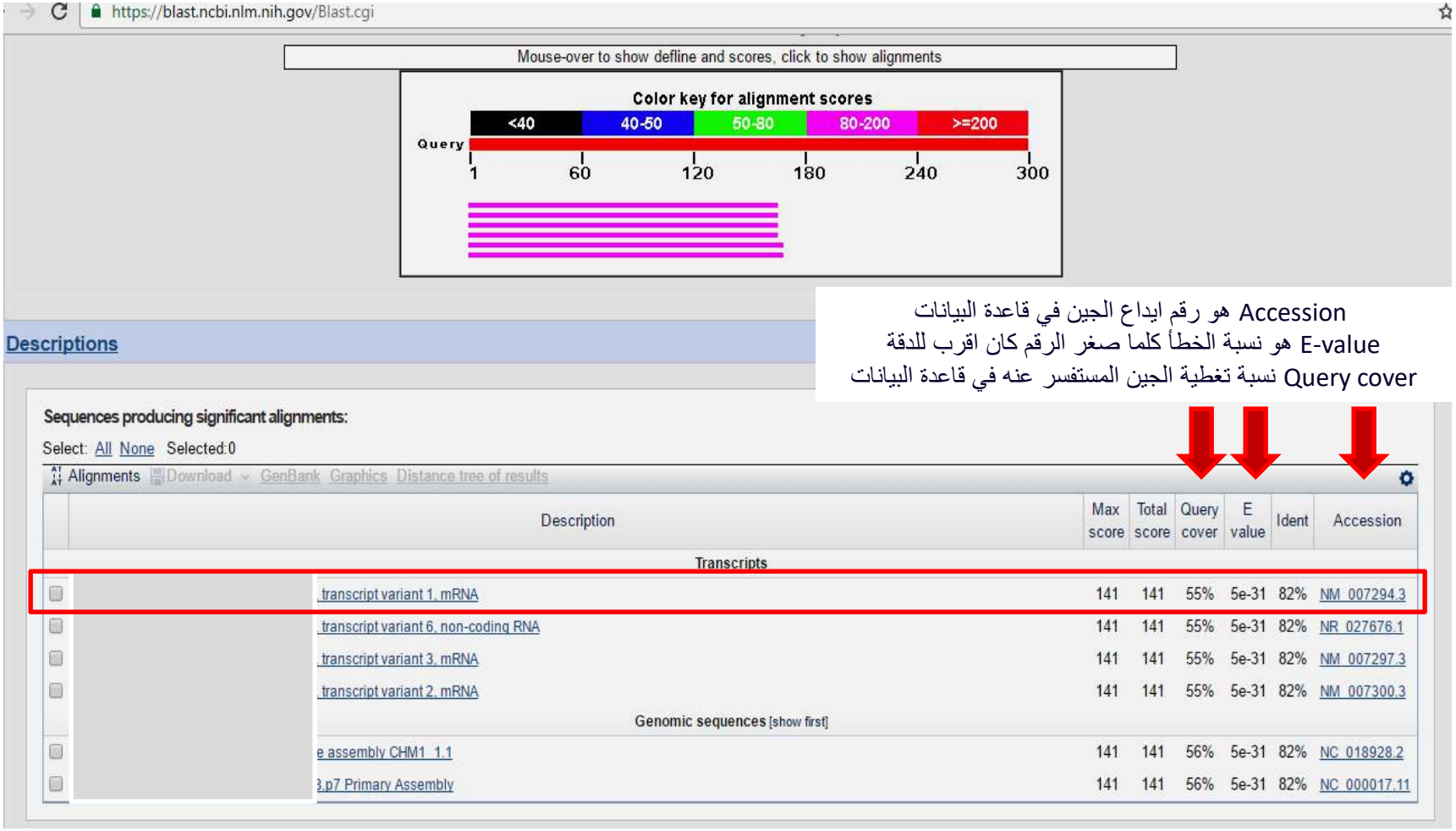
6- لإظهار النتائج في نافذة جديدة الضغط على كلمة BLAST

https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi

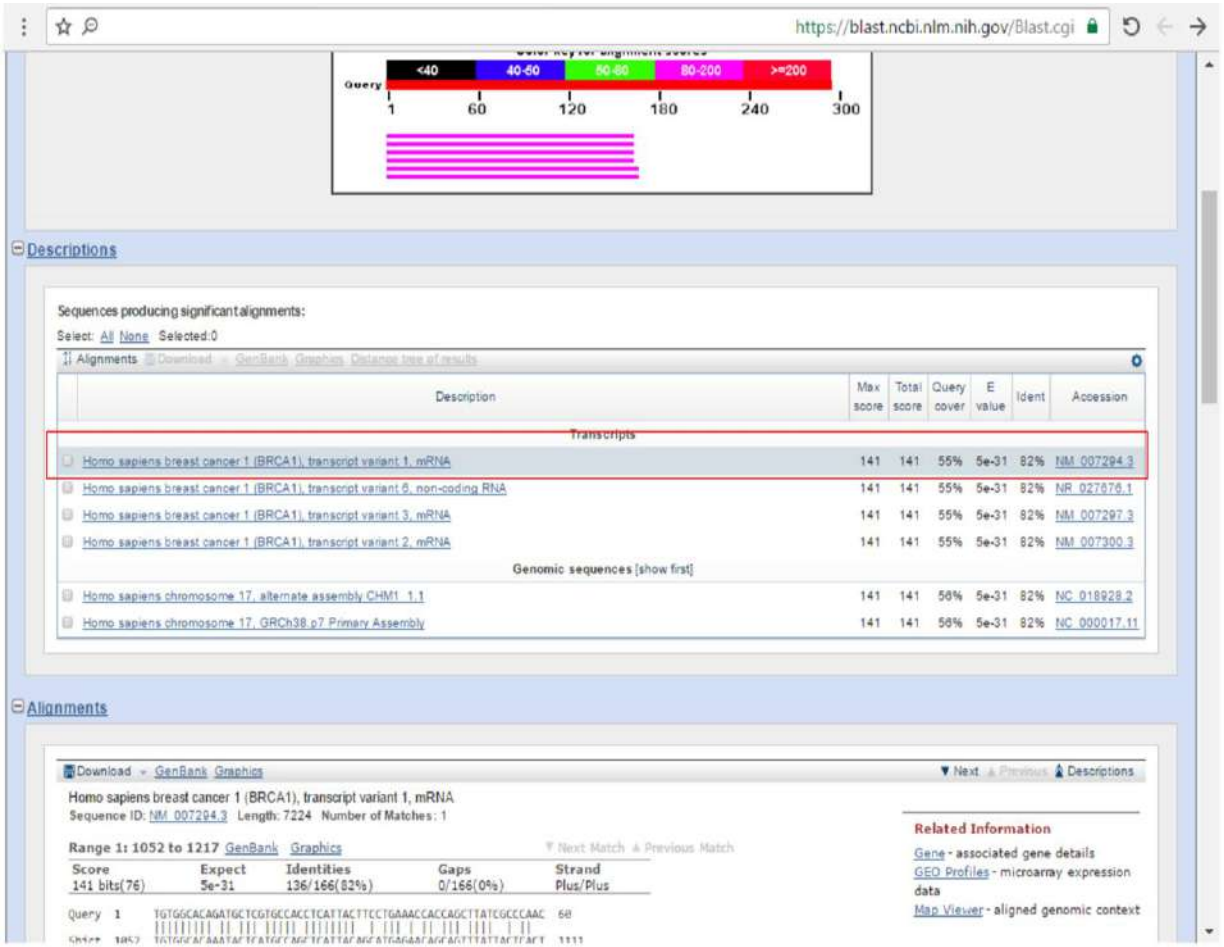


اللون الموجود يمثل طول المنطقة المشابهة للقاعدة البيانات في الموقع والتي تمت دراستها مسبقا.. الاتجاه لليسار يوضح ان المنطقة التي تم فحصها موجودة في أول الجين.

الحل: عينة المريض عبارة عن الجين المكتوب باللون الأزرق ويتم ترجمتها ووضع الحل...



Accession هو رقم ايداع الجين في قاعدة البيانات
E-value هو نسبة الخطأ كلما صغر الرقم كان اقرب للدقة
Query cover نسبة تغطية الجين المستفسر عنه في قاعدة البيانات



سيظهر لي الجين المسؤول
عن العينة التي ابحث عنها

فبالتالي سيكون

عينة المريض عبارة عن
الجين المسؤول عن
(سرطان الثدي)

في احد المعامل البحثية تم فقدان الملصق الذي يدل على نوع العينة المأخوذة من المريض، وبعد دراسة التسلسل للقواعد النيوكليتيدية تم الحصول على تتابع DNA التالي.. المطلوب مساعدة الباحث في معرفة المرض المصاحب للعينة؟

الفقرة التالية انسخي القطعة وابحثي كما تم شرحه.. يرسل الحل عبر الأيميل مع تصوير الشاشة في كل فقرة كما في المثال السابق

TTTAAATCATACCAATTGAACCGAGCCTTGTAGAAACACTATCACCTACGCATACCTCTGCTTCTTTTCA
TTAACCTGCTATCCTCTTTACAAATGGGATTCTTCACCCACTCCCTTCTTCTAGATTAGCAATGCCCTGT
TAAGTAAACGAACACGAAATTCAAAGGGAAACAGGAGCAATCATCATTACCAGCTGCCGTGTTAAGCATT
GCGAAAACGCTCACGATTCACAGAAAAATCCATGCTGTTCTTTGAAGGCATTCAAGCCTTAATAGCTAGC
TGGATGAATGTTTAACTTCTAGGCCAGGCACTACTCTGTCCCAACAATAAGCCCTGTACATTGGGAAAGG
TGCCGAGACATGAACTTTGGTCTTCTCTGCAATCCATCTGGAGCATTCACTGACAACATCGACTTTGAAG
TTGCACTGACCTGGCCAGCCCTGCCACTTACCAGGTTGGCTCTGTATGGCTAAGCGTTTTCTCCTAAAAT
CCCTTGAAAACTGTGAGAAGACCATAAGAAGATCATATCTTTAATTCTATTTCACAAGTCACACAATATT
CCAATCAAATACAGATGGTTGAGAAAAGTCATCCATCTTCCCTCCCCACCCTCCCACAGCCCCTCAACCA
CTGCCCTGAAACTTATATGCTGTTATCCGCAGCTCCATCTGGAGCATCACAGCTACTGTCAACCCTGACG
CTCTTTCTGAAAAAACACCGGATGGACATCAGAACTATTTCTTTAAGGATGTTACTGAGCCACACAGGAA
AACTTGCCTTATGATTTTGAATGCACGGATCTGATTTGACTAAACATGATAACTAGAGAATCACCCAATC
TACTCCCATTTTCAACTCTAAATCATCAGAGTGTCTCAAATCCAAAGCACACACAGACCAGCCTGGCCAA
CACGGTGAAACTCCACCCCTACTAAAAGTATAAAAATTATCCAGGTGTGGTGGCGGGCGCCTGTAATCCA
AGCTACTTGGGAGTCTGGAGGCAGGAGAATCCCTTGAACCTGGGAGATGGAGGTTGCAGTGAGCAGAGAT
CACACCACCGCACTCTAGCCTGGGCCACAAATCAACAACAACAACAACAACAAAAAACAAAGCGCACACA
GAGACTGAGGTCCTCTTTGGCATTGAGAAGATGGCTATGCAAGTCCCAACTAGCAAGTGCAAACTTCCCA
GCTTCACTTCTGCCAGTGTCCCTTCACCCCTTCTCAACCCCACTGGGAGGCAGGAGGGTGCTTGACAATA
ACAGCCTTGGCATCACTCTGCCAGGGTGTAATAGGAACTGTTACAATTCTGAGATTCTGTGTAAGCACTG
GCCTTTCTGCCTAGAATGCCTTCTCCTCTCTTTTTTAACTGCATGCTCCTATTTATCTTTCAAAGCCCGG
AAAAAATAACACTGCACACGGGAAATGCTCCCTTCCTACTGCAGTCATTTAGATGACTCTATGCCATTCC
ATTCATTTCTCTTTCCTACCACAGAAGTGCTTTGAGATTTTGGAGTCAGACTGCTTGAACTTGAATCCTG
GCCCTCTCATCAGAGACTTGACTTATTTTAGGCAAGTTATATAACCAATTTTACCTCAGTTCCTTACCCA
TAAAATGGGTCTAATGAGAGTACCTACCACACAGAATTTTGATGAAAACTGAATGAGATGAAGGCCTTTA
AGGCAGTGGTCCCCAACCCTGGGGACACAGACAGGTACCATTTTGTGGCCTGTTAGGAACTGGGCCACAC
AGCAGGAGGTGAGCAGTGGGTGAGTGAGATCAGCGTTATTTACAGCTGCTCCCCATTGCTCACCTTACTG
CCTGAGCTCCACCTCCTGTCAGATCAGCAGTGGCATTAAATTCTCATAGCAGCACAAACCCTGTCATGAA

المطلوب حل السؤال السابق ومساعدة الباحثين في تحديد المرض المصاحب لعينة DNA

- كل قائد مجموعة سوف تستلم عبر الأيميل الأسئلة وتناقش الحل مع مجموعتها.
- يتم تسليم الحل عبر الايميل من قائد كل مجموعة في ملف ورد أو بوربوينت عبر القائد وتقيم زميلاتها وتبلغ في حالة لم تشارك احد الطالبات في الحل في أو في فهم الخطوات
- ارجو من كل قائد مجموعة أن تضع رقم الشعبة في عنوان الايميل المرسل وتكتب الحل داخل الأيميل مع اسماء الطالبات المشاركات في الحل والرقم الاكاديمي للجميع.

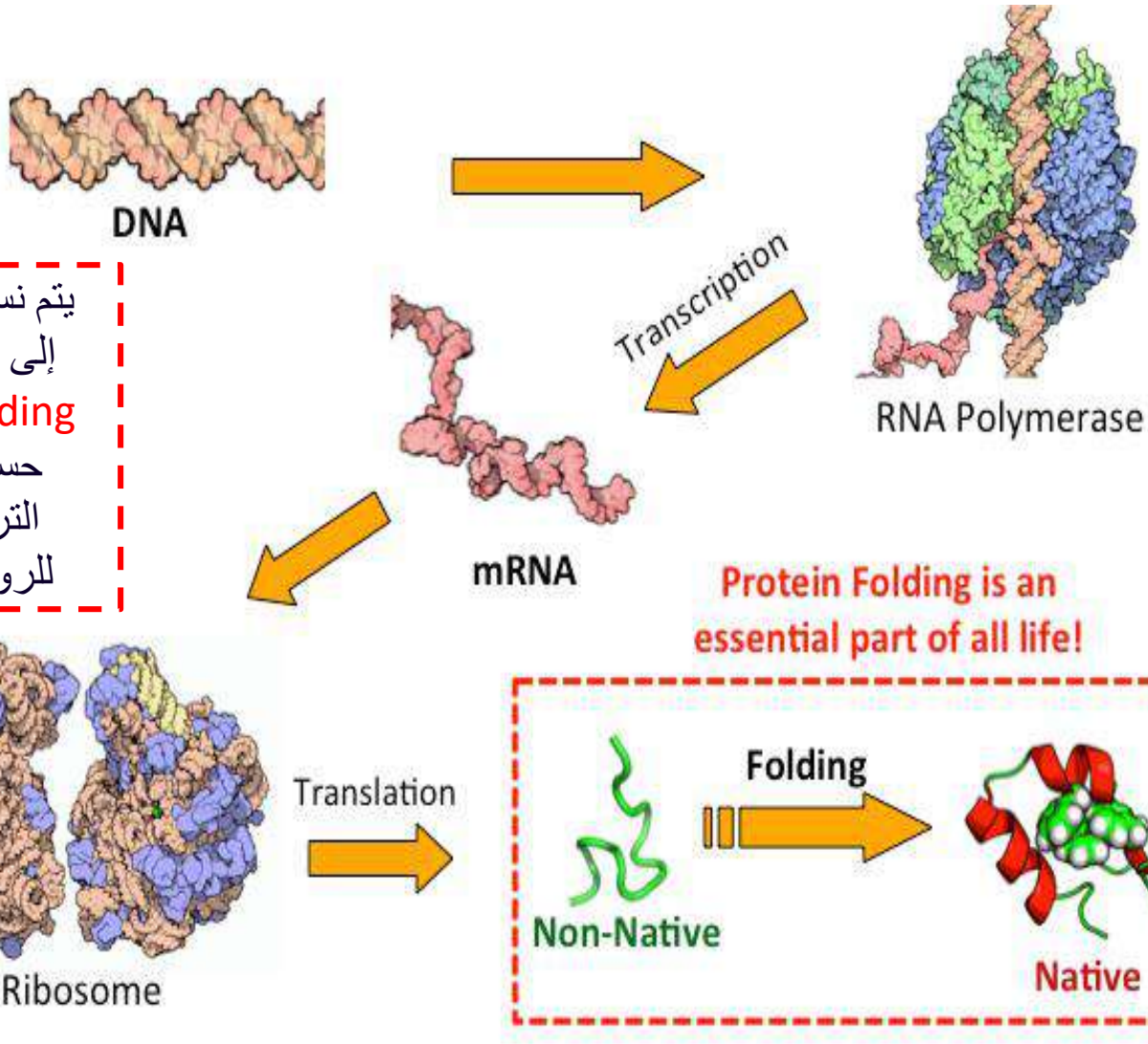
dr.faten.dhawi@gmail.com

السؤال يعادل 5 درجات إذا استوفى جميع البنود (كما في المثال السابق حل نموذجي)

1. اسم الجين
2. مسؤول عن اي مرض او له علاقة بأي مرض؟
3. ترجمة اسم الجين من الانجليزية إلى العربية
4. ارسال الخطوات مصورة

منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة الثانية

انزيم اران ايه بوليميريز يساعد
في النسخ Transcription



يتم نسخ DNA إلى RNA ثم يترجم إلى بروتين والذي يتم طيه او ثنيه Folding حتى يقوم بوظائف متعددة حسب درجة الطي يكون مستوى التركيب والوظيفة . عملية الطي للروتينات جزء أساسي من الحياة.

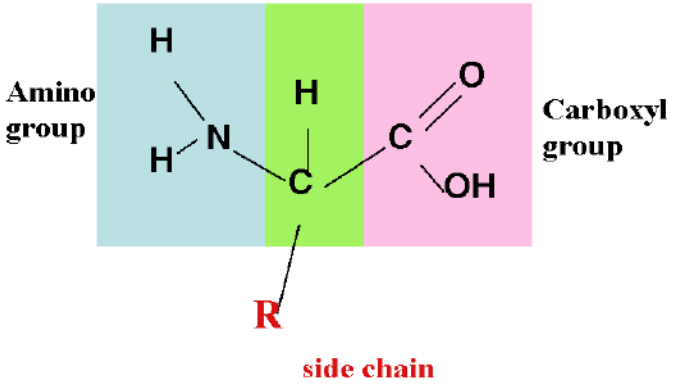
البروتينات Proteins

- البروتينات هي اداة التشغيل في كل اجزاء الجسم وتدخل في المهام التالية:
- الدعم البنائي لإعضاء الجسم. structural support
- التخزين. Storage
- نقل المواد الأخرى. transport of other substances
- التخاطب بين الخلايا وارسال الأشارات. intercellular signaling
- الحركة للخلايا. Movement
- الدفاع عن الجسم ضد الإجسام الغريبة defense against foreign substances
- البروتينات هي المكون الأساسي للأنزيمات والتي تقوم بتنظيم الأيض وتنشيط التفاعلات الكيميائية المطلوبة في الوقت المطلوب.
- لدى جسم الأنسان عشرات الآلاف من البروتينات لكل منها تركيب ووظيفة.

البروتينات Proteins

- البروتينات هي اكثر مركبات الجسم تعقيدا ولكل بروتين تركيب ثلاثي الإبعاد.
- يتركب كل بروتين من بوليمر (مركب عديد) وحدات بنائه الاساسية هي الإحماض الأمينية amino acids وعددها 20 حمض اميني.
- ترتبط الإحماض الامينية ببعضها بواسطة الروابط الببتيدية لتعطي الببتيدات العديدة ومن ثم تعطي الببتيدات العديدة polypeptide البوليمرات ومن ثم البروتينات المختلفة.
- ويتركيب البوليمر polymer من بولي ببتيد polypeptide .
- وتتركب البروتينات من بولي ببتيدات عديدة polypeptide تم طيها وتشكيلها لتقوم بوظائف عديدة.

البروتينات Proteins



الحمض الأميني يتكون من اربعة اجزاء اساسية:

1. كربون مركزي هو كربون الفا alpha carbon
2. مجموعة امين amino group
3. مجموعة كربوكسيل carboxyl group
4. كما يحتوي مجموعة R :

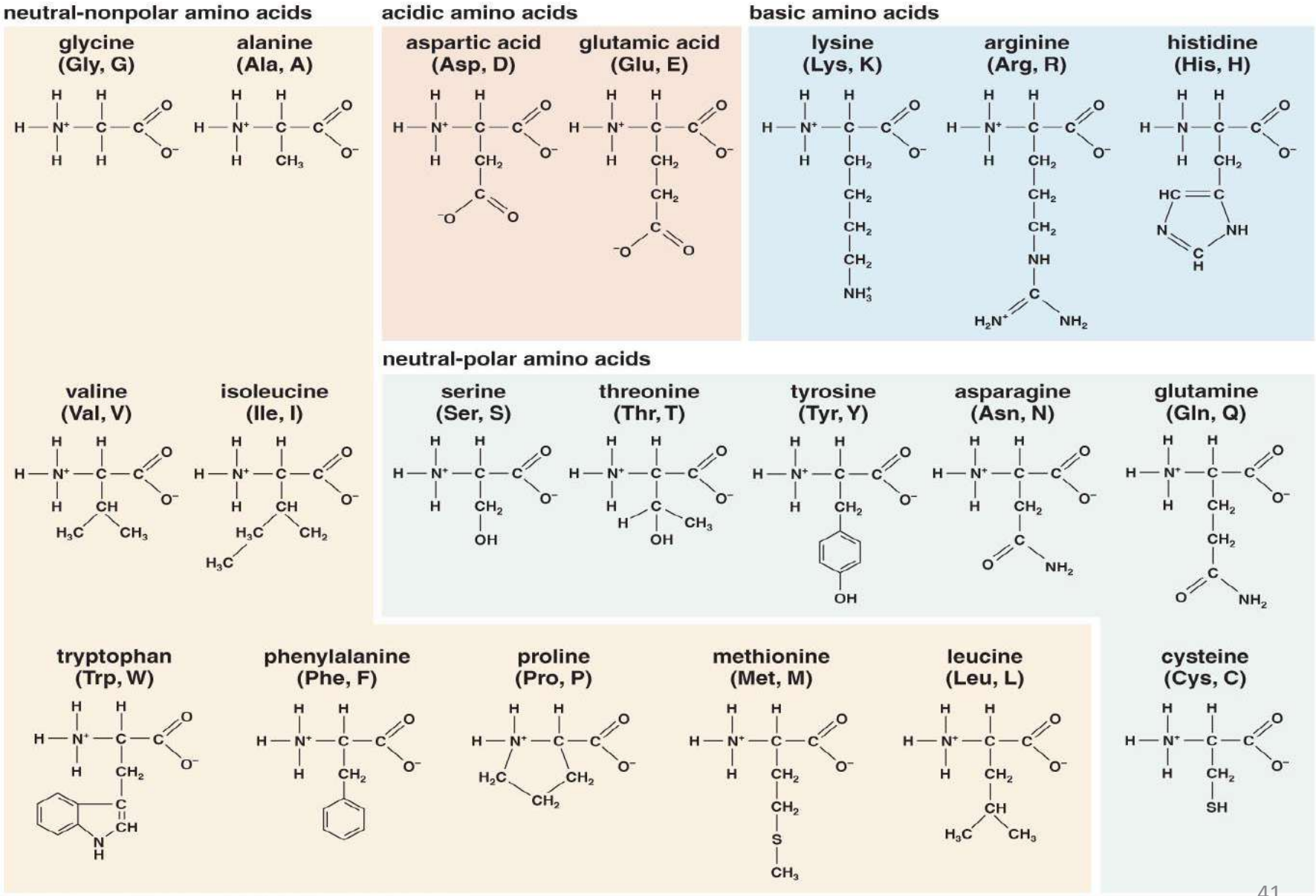
وهي المجموعة التي بتغيرها تعطي 20 الأحماض الأمينية المختلفة.

وقد تكون مجموعة R ذرة هيدروجين لتعطي ابسط الأحماض الأمينية الجلايسين. **Glycine**

ويعطي نوع مجموعة R التركيب الفيزيائي والخصائص الكيميائية للحمض الاميني ومن ثم البروتين والذي بدوره يعطي البروتين وظائفه المختلفة.

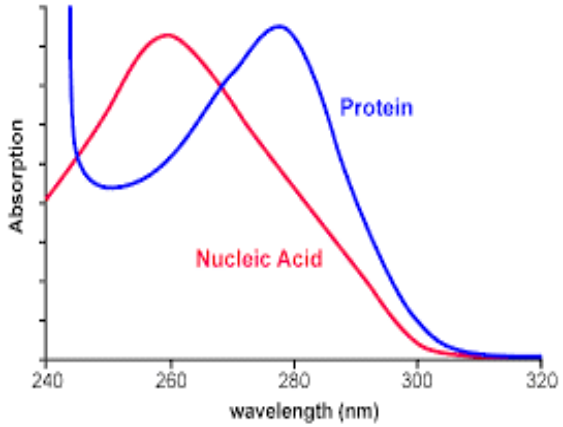
تنشأ الروابط الببتيدية بشكل رابطة تساهمية بين مجموعة الامين ومجموعة الكربوكسيل.

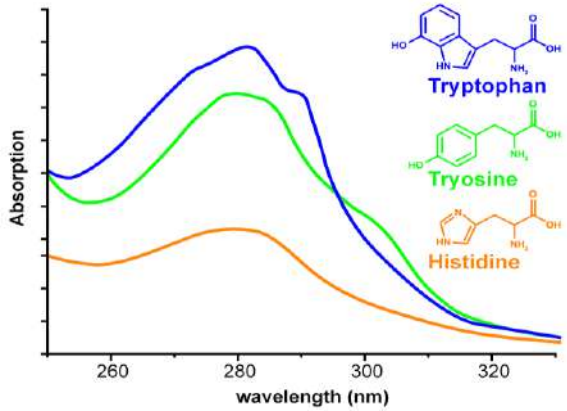
20 amino acids الاحماض الامينية العشرين



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

الطول الموجي لامتصاص البروتينات Proteins wavelength absorption



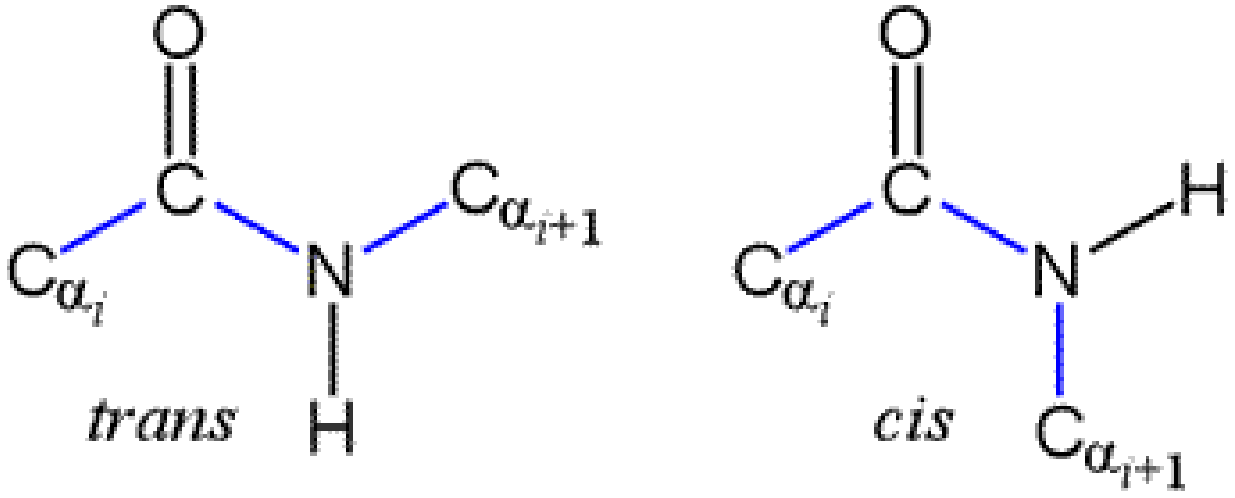


- يتم استخدام جهاز سبكتروفوتوميتر لقياس نسبة الحمض النووي او البروتينات
- يقاس الحمض النووي DNA دائما عند 260
- البروتينات التي تحتوي احماض امينية ذات الحلقة العطرية Aromatic amino acids مثل التيروزينTyrosine والتربتوفانTryptophan وكذلك الهستيدين histidine يتم امتصاصها عند 280 نانوميتر
- ماعدا الفينيل الانين Phenylalanine يتم امتصاصه عند 260 نانوميتر وهذا يشابه الطول الموجي للحمض النووي DNA
- مالفرق بين الحمض النووي والبروتينات عند الامتصاص لطول الموجي؟

الاشكال الفراغية للبروتينات

• الشكل الفراغي سيس Cis حيث توجد ذرتي الكربون في الوضع الفا α–carbon في نفس الاتجاه للروابط الببتيدية

•الشكل الفراغي ترانس Trans حيث توجد ذرتي الكربون في الوضع الفا α–carbon في اتجاهين متعاكسين من الروابط الببتيدية (معظم البروتينات تندرج تحت الروابط الببتيدية من النوع ترانس).



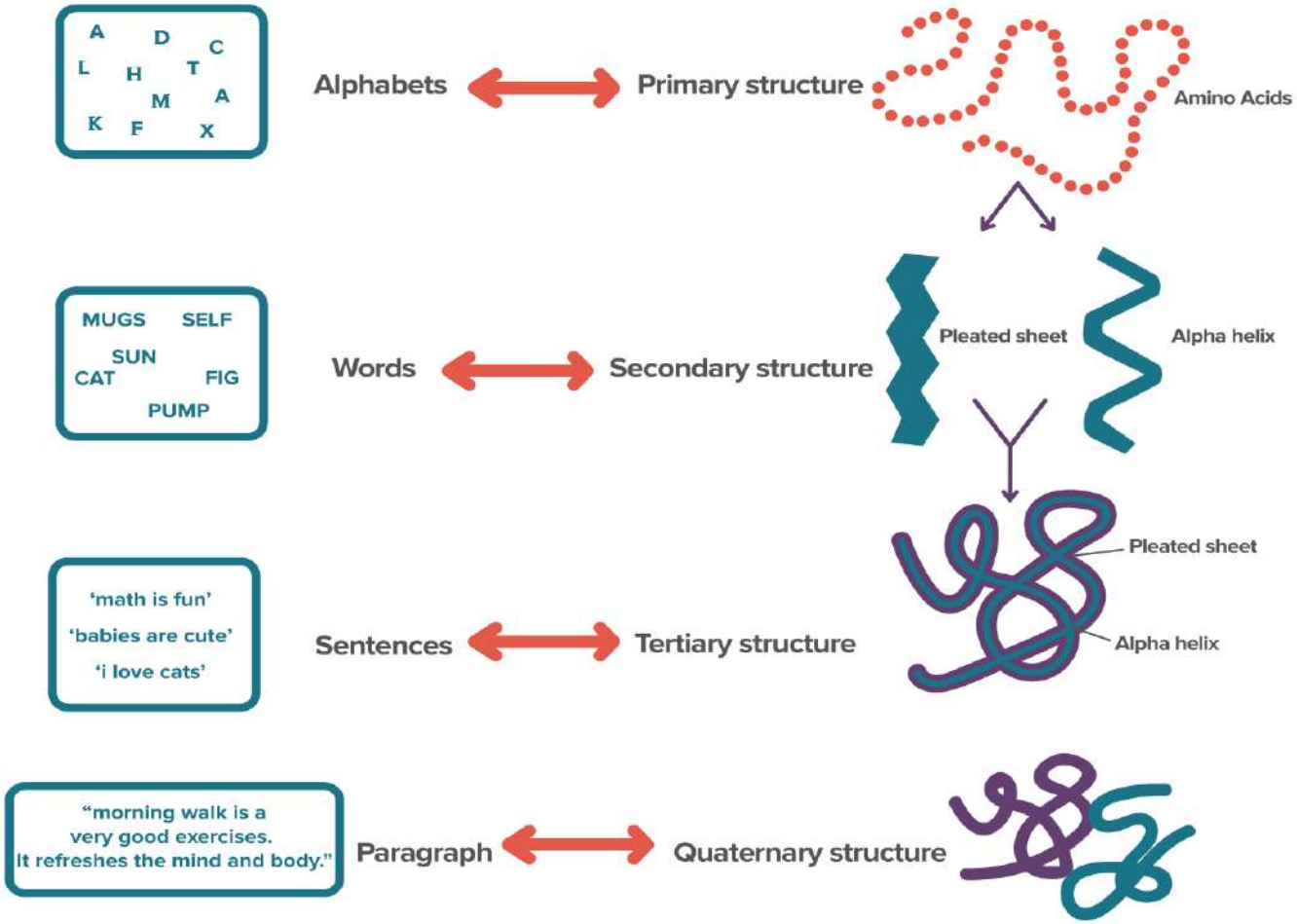
مستويات البروتينات Proteins levels

- يتم طي البروتينات وتشكيلها حتى اربع مستويات:

اولي، ثانوي، ثلاثي و رباعي

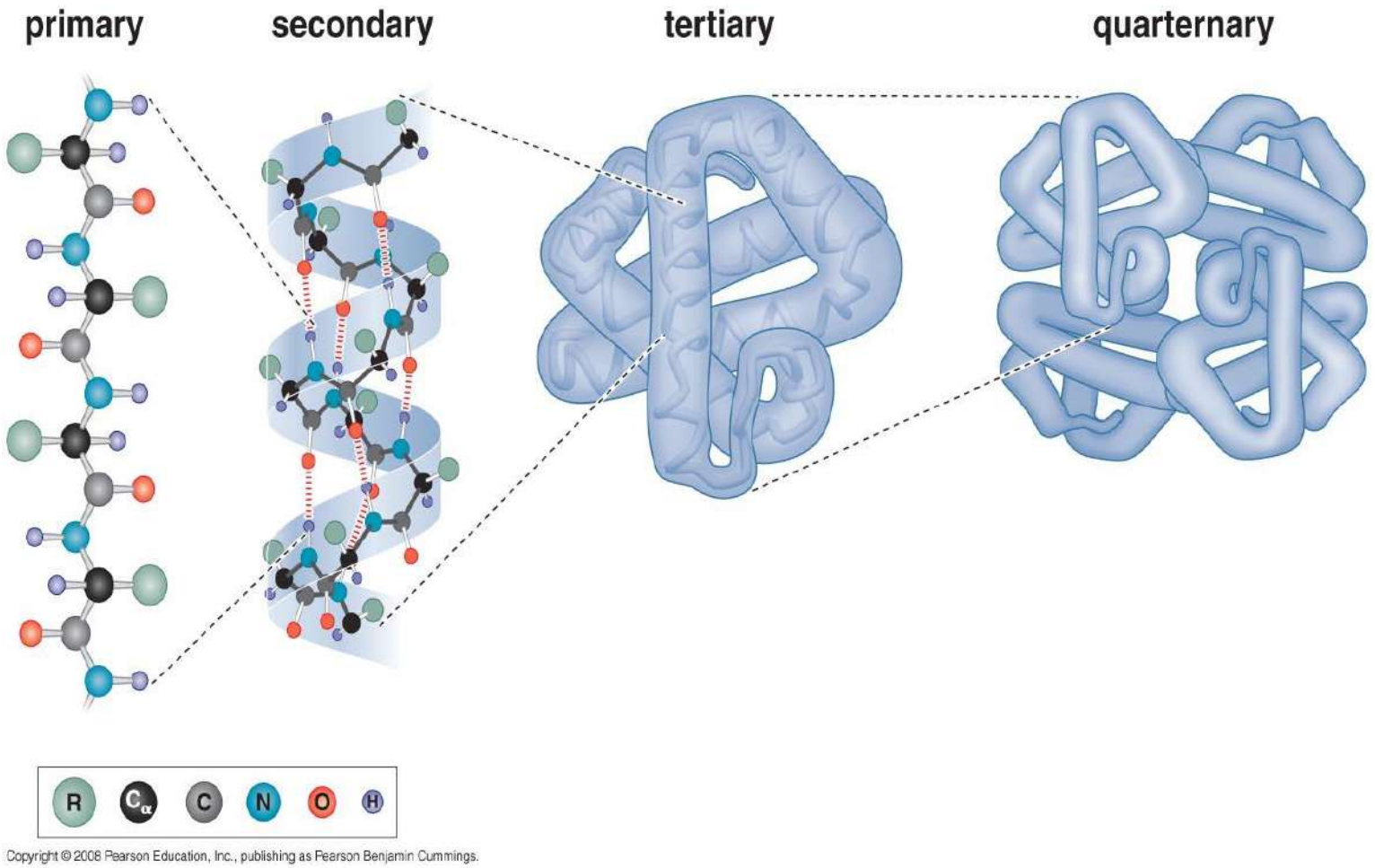
التركيب الأولي Primary Structure

- ترتبط الاحماض الامينية مع بعضها بروابط ببتيدية لتشكل الببتيدات العديدة polypeptide
- يتم تشكيل الببتيدات العديدة او البروتينات من الامينات على مجموعة الكربوكسيل
- ويتم تشكيل البروتينات على صورتين سيس Cis وترانس Trans


A D C
L H T
M A
K F X
Alphabets
Primary structure
Amino Acids
MUGS SELF
SUN
CAT FIG
PUMP
Words
Secondary structure
Pleated sheet
Alpha helix
'math is fun'
'babies are cute'
'i love cats'
Sentences
Tertiary structure
Pleated sheet
Alpha helix
"morning walk is a
very good exercises.
It refreshes the mind and body."
Paragraph
Quaternary structure

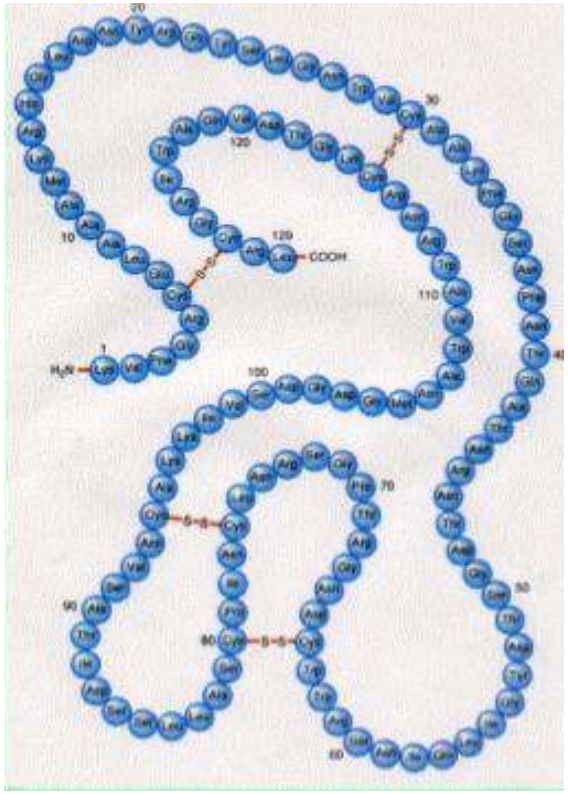
Folding levels of protein مستويات الطي في البروتينات

الأولي الثانوي الثلاثي الرباعي



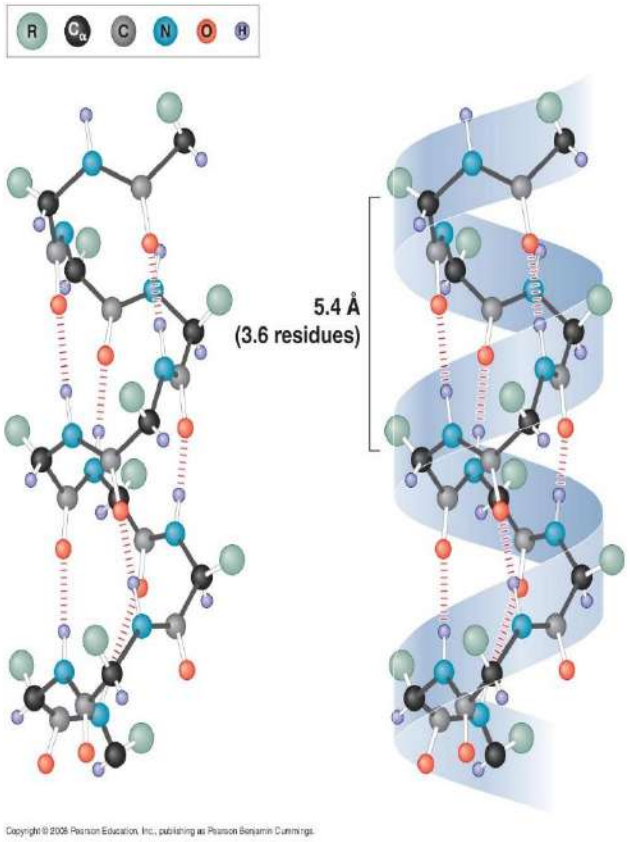
Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

البروتين الأولي



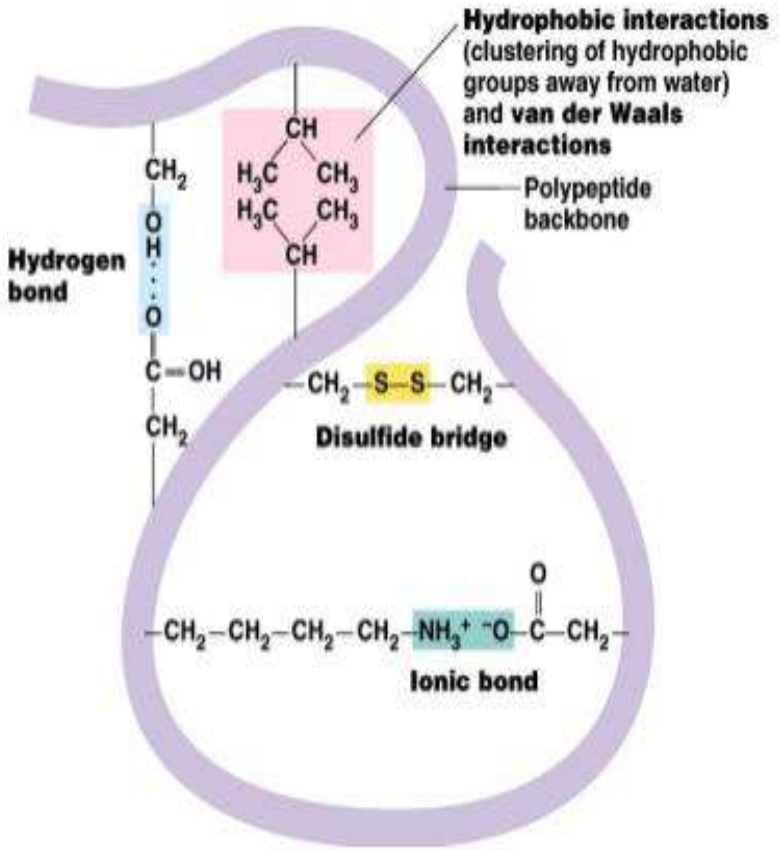
- تتابع الاحماض الامينية مرتبط مباشرة بتتابع القواعد النيوكلوتيدية
- تغير اي حمض اميني في التتابع يغير البروتين الاولي بالكامل
- السلاسل العديدة قد تتكون من 50 إلى 1000 حمض اميني
- المجاميع الفعالة R تساعد في تشكيل البروتين
- من امثلة البروتينيات الاولية: انزيم الهضم ليزوزايم Lysosyme
- والذي يتكون من 129 حمض اميني مرتبة بترتيب خاص

البروتين الثانوي



- يتكون من نوعين صفائح الفا وصفائح بيتا ...تنثني لتعطي شكل البروتين وبين الصفائح مسافة تفاعل قصيرة.
- بعض البروتينات قد تحمل النوعين من الصفائح الفا (α) وبيتا (β)
- المجاميع الفعالة R تساعد في تشكيل البروتين من خلال الروابط الهيدروجينية
- وتكون الروابط الهيدروجينية بين مجاميع الكروبوكسيل C=O والامين N–H
- وتقوم لروابط الهيدروجينية بتثبيت واستقرار الصفائح البروتينية

البروتين الثلاثي

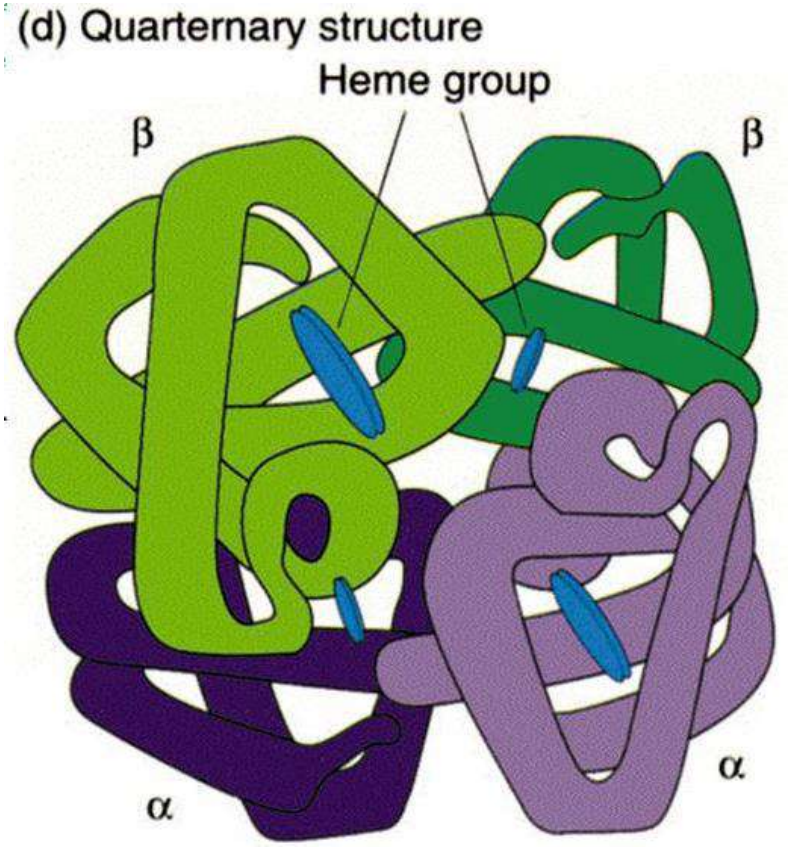


as Benjamin Cummings

Fig. 5.22

يحتوي على اربعة انواع من الروابط

- روابط هيدروجينية
- روابط ايونة
- تفاعل كاره للماء بين البروتينات الداخلية البعيدة عن السطح
- روابط تساهمية
- جسر من ثنائي الكبريت بين مجاميع السلفهيدريل SH في الحمض الاميني سيستين cysteine

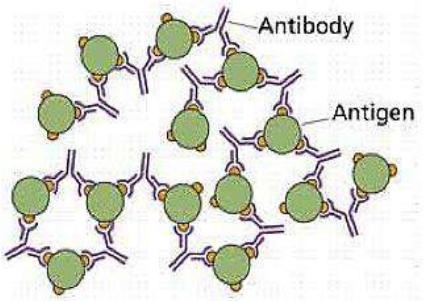


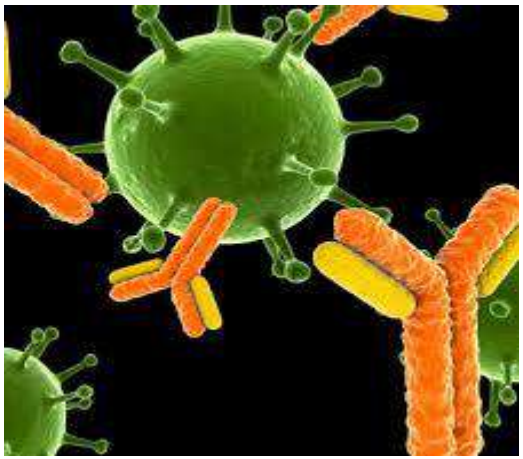
البروتين الرباعي

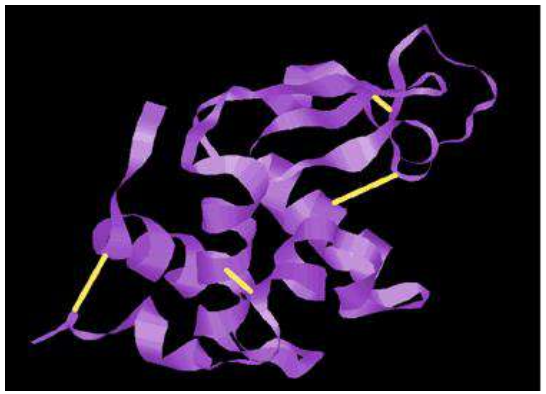
- حينما ترتبط اكثر من سلسلة من الببتيدات العديدة مع بعضها لتكون وحدات عديدة من النوع نفسه او مختلفة بشكل ثلاثي الابعاد
- قد يتكون البروتين الرباعي من بروتين عديد واحد او عدة سلاسل من البرتينات العديدة

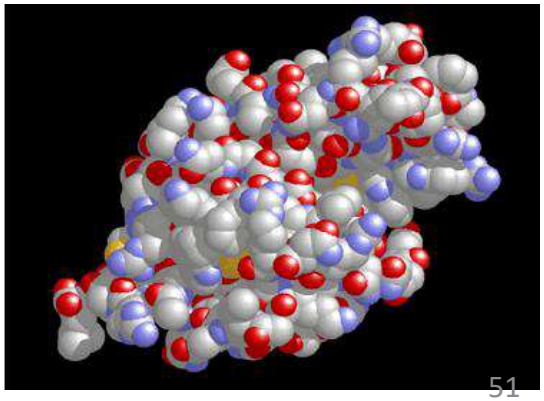
وظائف البروتينات واهميتها

- البروتينات تقوم بوظيفتها نتيجة طيها وثنيها بحيث تترتب الاحماض الامينية بطريقة فريدة من نوعها.
- هذي الطريقة الفريدة في الطي تمكن بعض المركبات بالتعرف على بعض البروتينات والارتباط بها.
- على سبيل المثال ترتبط الاجسام المضادة antibodies بالاجسام الغريبة التي تطابق موقع الارتباط بها.
- الانزيمات تتعرف وترتبط ببعض المواد وتسرع تفاعلها الكيميائي.
- الناقلات العصبية Neurotransmitters تنقل الإشارات للخلايا التي ترتبط بها في مواقع مطابقة.



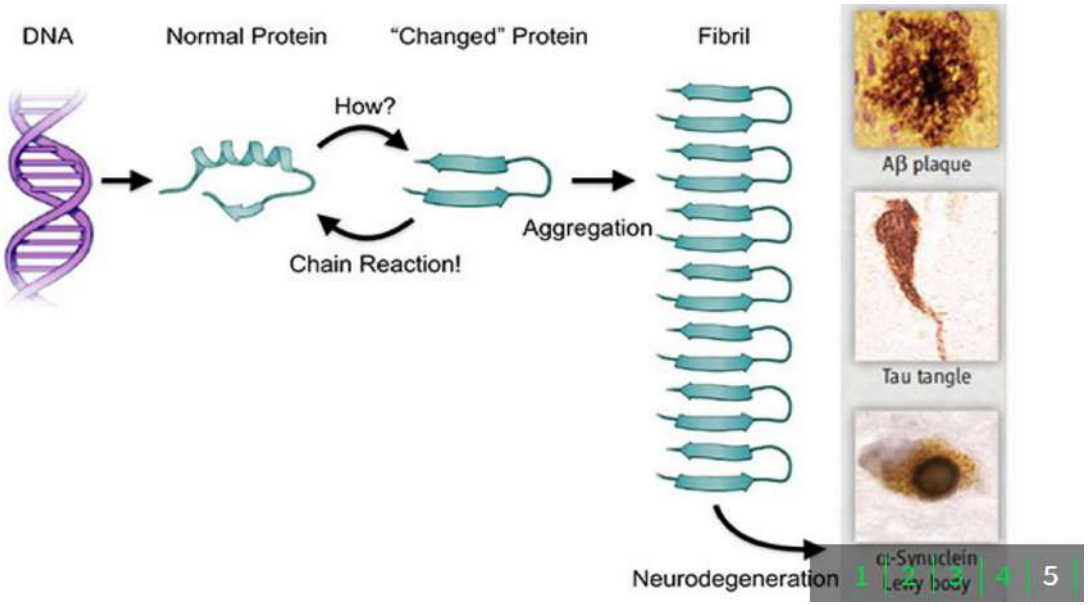




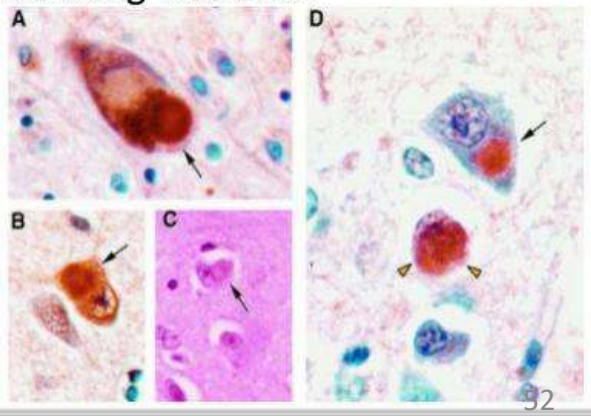


وظائف البروتينات واهميتها

احد النظريات التي تفسر سبب مرض باركنسون Parkinson او الشلل الرعاش، هو تغير شكل البروتينات في المخ مثل بروتين (aSyn)alpha–Synuclein ويسمى البروتين المتراكم اجسام ليوي Lewy bodies ليصبح على هيئة خيطية او ابرية ويتلاصق مع بعضه ثم يشكل الياف تتراكم في المخ مما يسبب ظهور المرض. وتخلو المناطق المتضررة في المخ عادة من هرمون الدوبامين وهو بروتين ضروري لسلامة وصحة المخ وتفاعله الطبيعي.

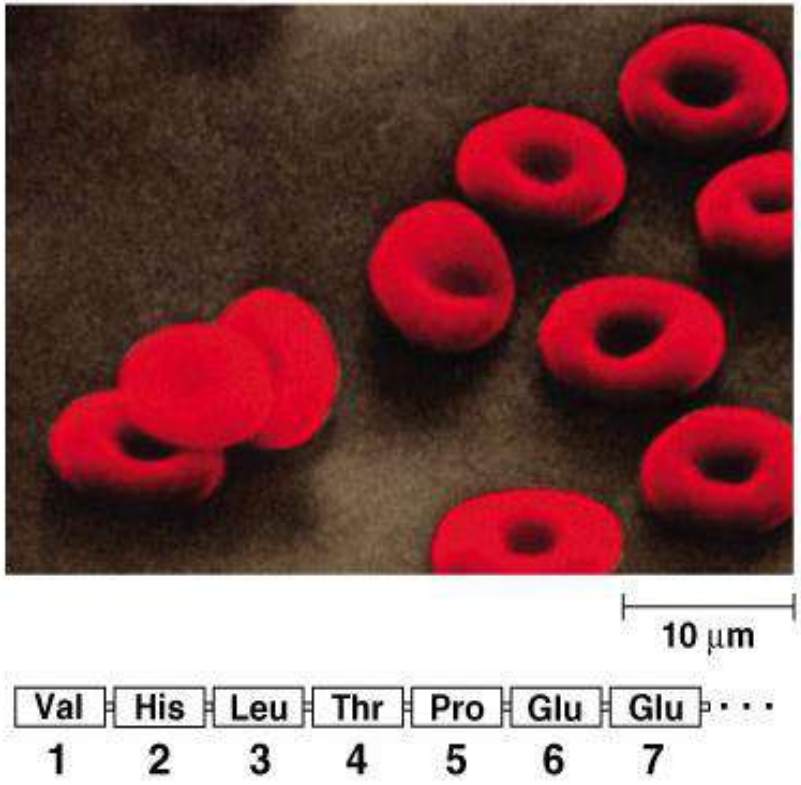


In most cases of Parkinson disease, protein deposits called Lewy bodies appear in dead or dying dopamine-producing neurons.

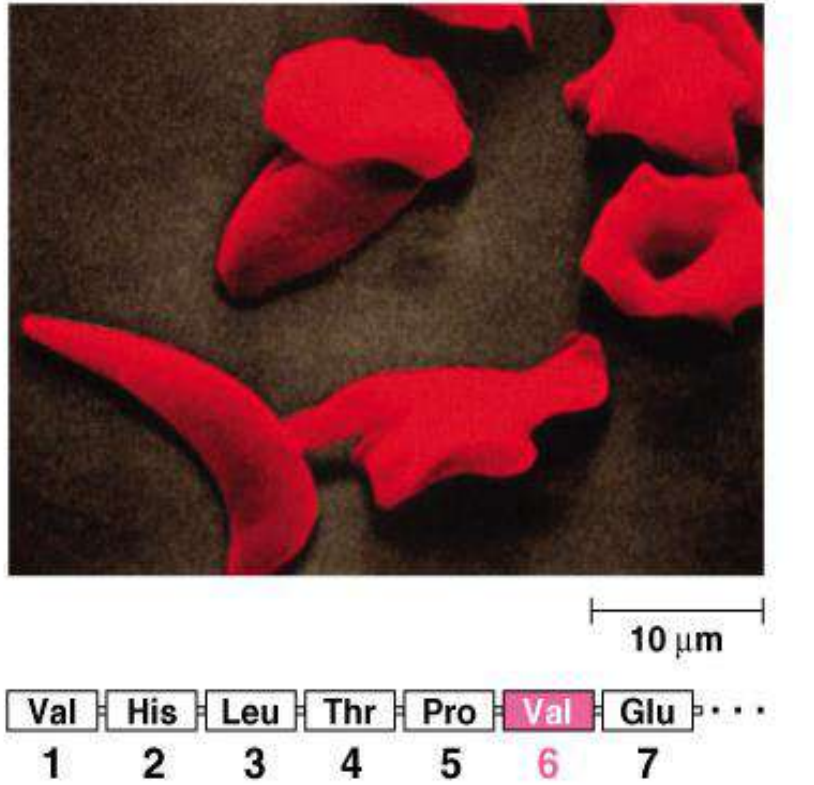


وظائف البروتينات واهميتها

- يتغير شكل كريات الدم الحمراء نتيجة تغير حمض اميني واحد في التركيب الأولي لبروتين الدم هيموجلوبين!



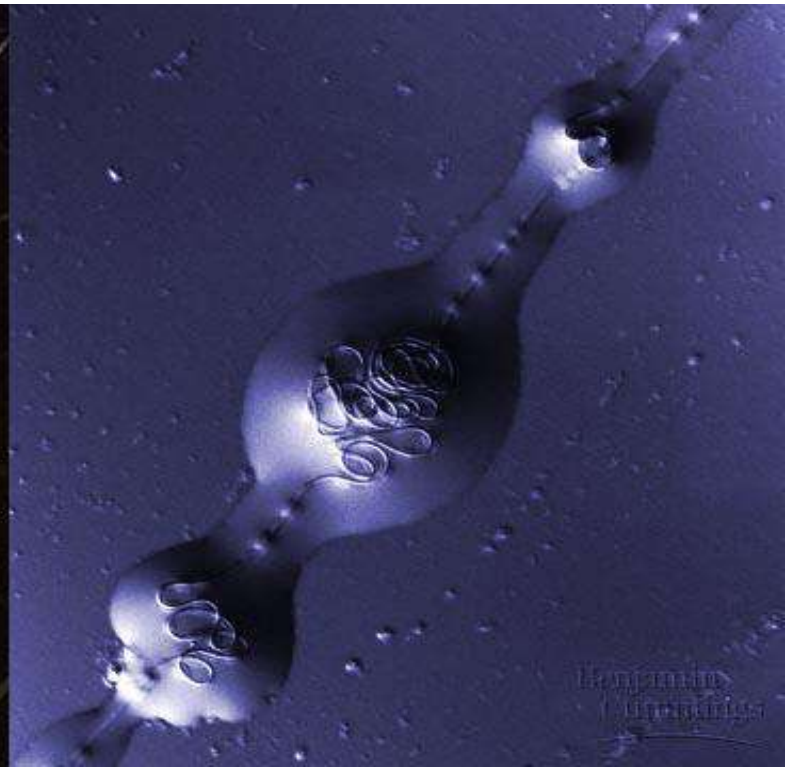
(a) Normal red blood cells and the primary structure of normal hemoglobin



(b) Sickled red blood cells and the primary structure of sickle-cell hemoglobin

وظائف البروتينات واهميتها

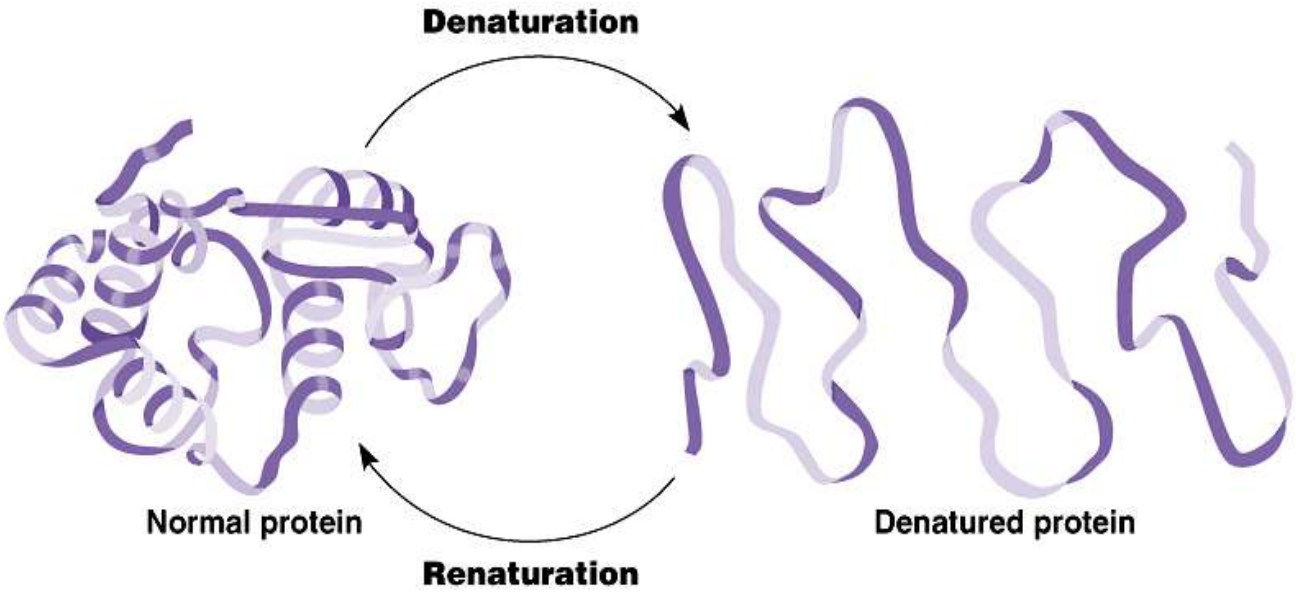
- صفائح بيتا البروتينية المكونة لخيوط العنكبوت تجعلها قوية جدا. نظرا لوجود العديد من الروابط الهيدروجينية والتي تجعل كل ليفه من خيوط العنكبوت اقوى من سلك الفولاذ.



- متى يتلف او يتفكك البروتين **denature** ؟

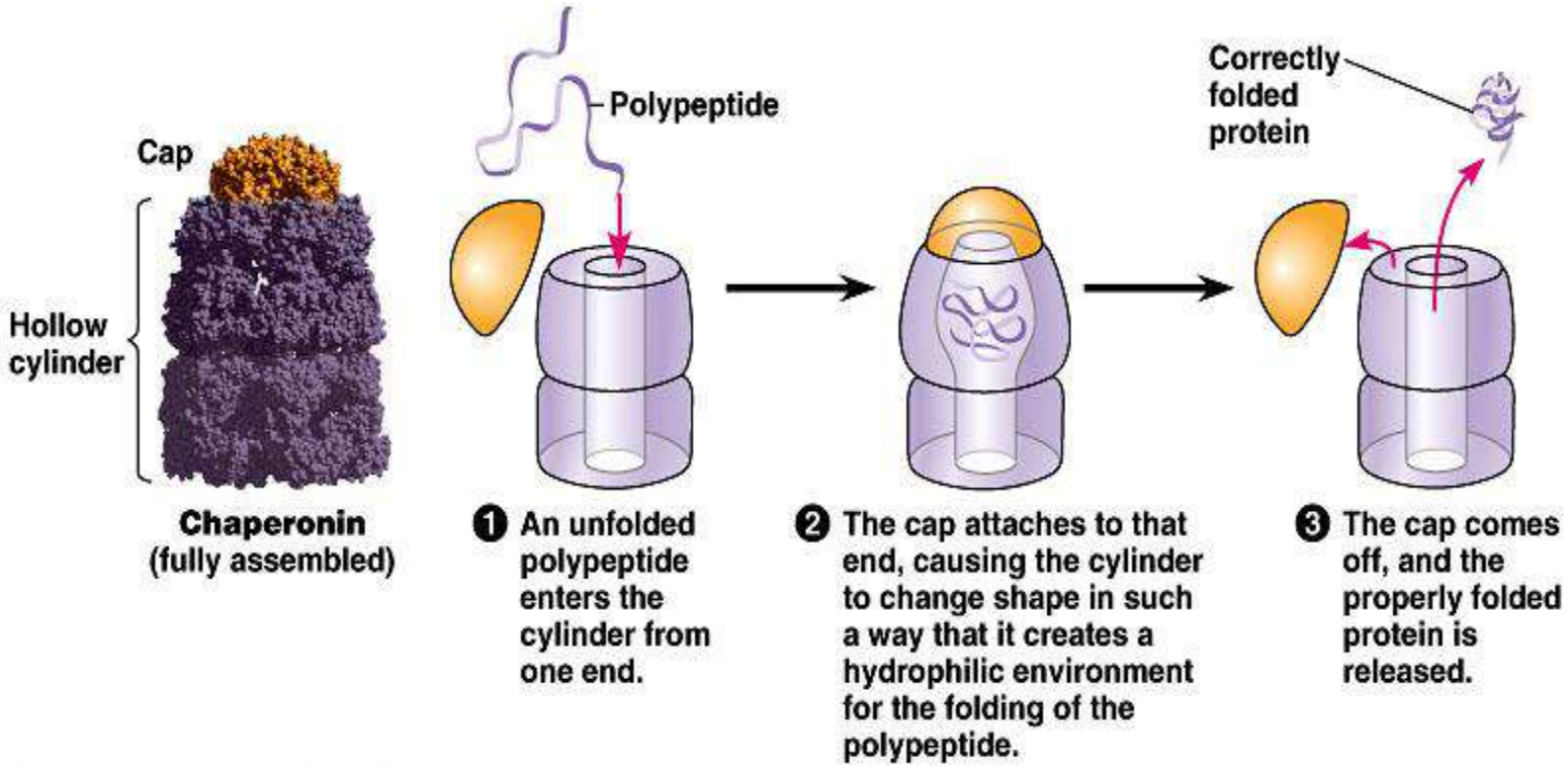
- التأثيرات الكيميائية والفيزيائية قد تغير من شكل البروتين بطريقة غير عكسية ويتلف ليفقد خواصه ووظيفته.
- مثل: تغير الرقم الهيدروجيني PH درجة الحموضة– تغير تركيز الأملاح–ارتفاع درجة الحرارة.
- ولأن هذة المؤثرات تتلف الروابط الهيدروجينة او رابط الكبريت الذي يعطي البروتين شكله قد يفقد وظيفته.
- في بعض الاحيان قد تستعيد بعض البروتينات شكلها بعد زوال المؤثر ولكن غالبا التأثير غير عكسي.

- **لماذا لابد من تخفيض درجة حرارة الجسم عند الحمى؟**

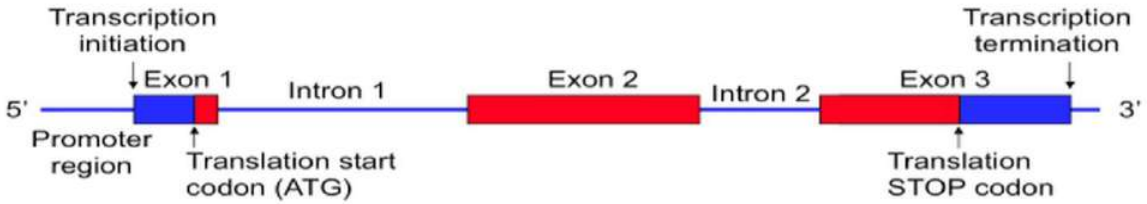


كيف يتم الحفاظ على ثني البروتينات وتشكيلها ؟

- بواسطة بروتينات الشابيرونين chaperonin والتي تعمل على ثني البتيدات العديدة وتتكون من جسم اسطواني وغطاء يتشكل بقوة ضاغطة عند دخول الببتيدات العديدة لتخرج منه بالشكل المناسب حسب وظيفتها.



منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة الثالثة



Gene structure تركيب الجين

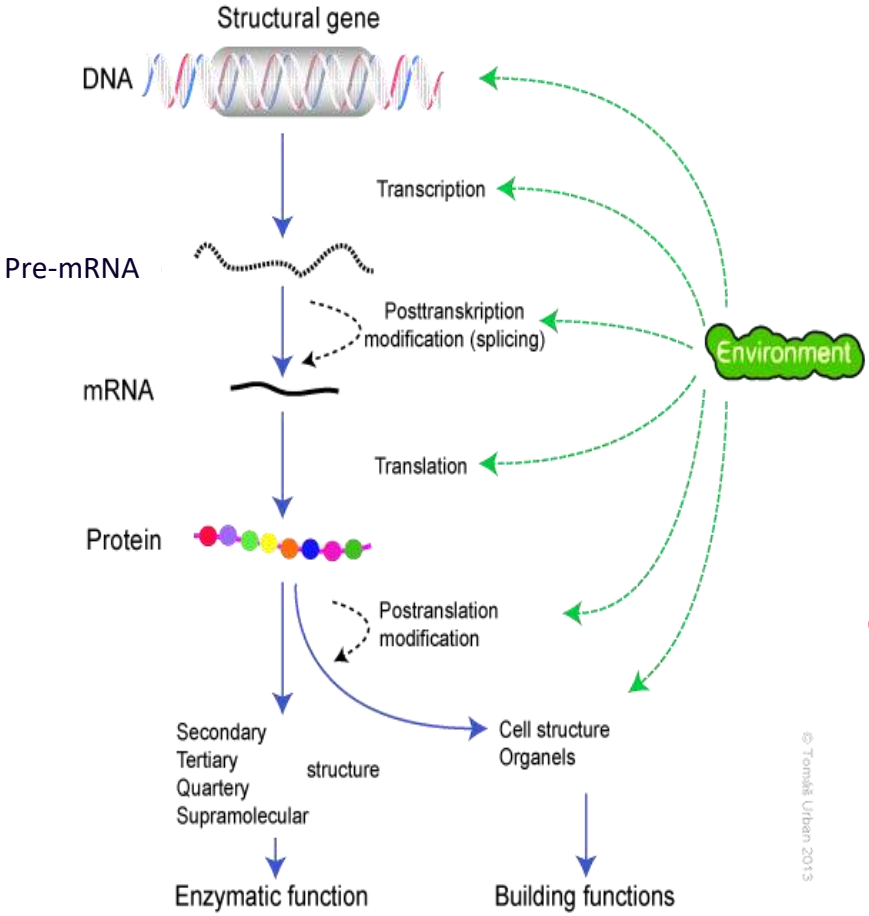
بروموتر promoter

اكسون exon

انترون intron

شفرة بداية للنسخ start codon

شفرة نهاية للنسخ stop codon



http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/print.php?page=307&typ=html

Gene expression التعبير الجيني

Gene structure تركيب الجين

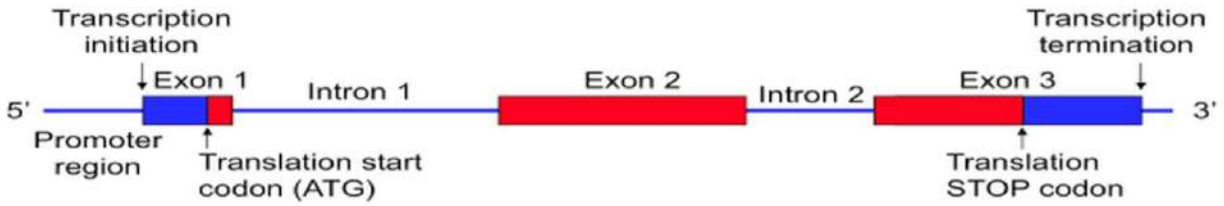
Promoter يوجد في بداية كل جين ويرتبط بالأنزيمات ليعمل كبادئة للجين.

Exon وهي منطقة قابلة للترجمة وتحمل معلومات الجين.

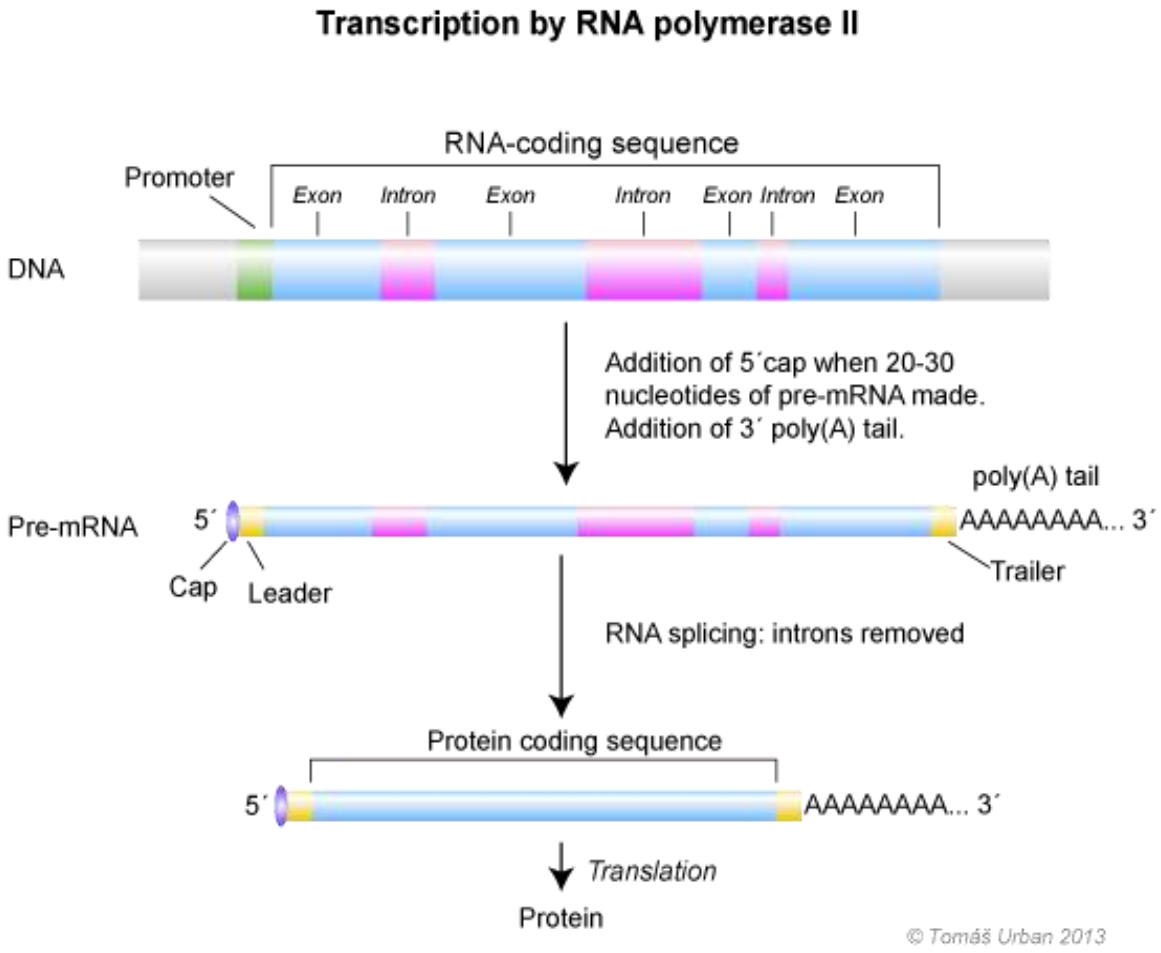
Intron وهي منطقة يتم إزالتها عند عملية النسخ لانها لاتحمل معلومات الجين.

Start codon يوجد بداية الجين ويعطي شفرة البداية او حيث تبدأ عملية نسخ الجين.

Stop codon يوجد في نهاية الجين ويعطي شفرة التوقف كأشارة لنهاية التعبير الجين.

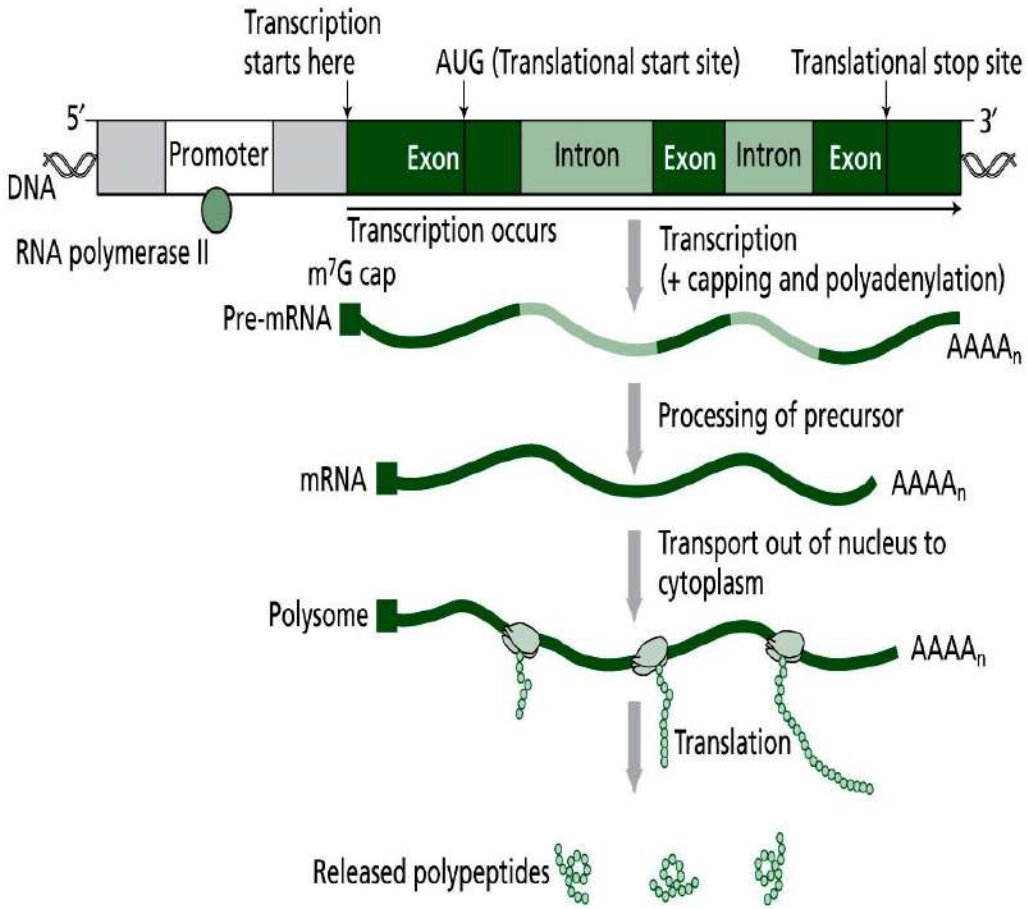


نسخ الحمض الجين من الحمض النووي إلى الحمض الريبوزي



http://web2.mendelu.cz/af_291_projekty2/vseo/files/26/1183.png

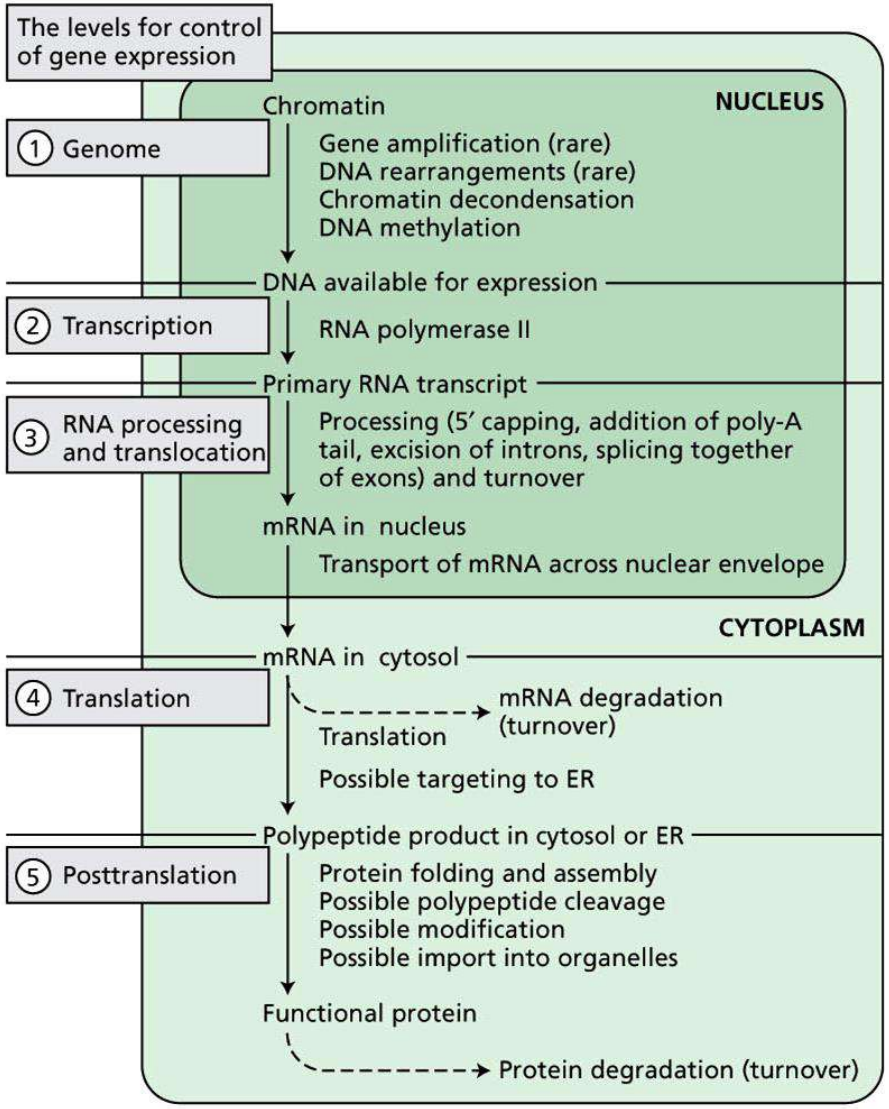
Gene expression in eukaryotes تنظيم التعبير الجيني في حقيقة النواة



PLANT PHYSIOLOGY, Fourth Edition, Figure 14.4 © 2006 Sinauer Associates, Inc.

اثناء مرحلة النسخ من الحمض النووي يتم تكوين mRNA
باستبعاد منطقة Intron الأنترون من الحمض النووي DNA
والتي لاتحمل جينات تعبيرية
واخذ منطقة exon فقط والمسئولة عن التعبير الجيني تسمى هذه العلمية Splicing
Pre–mRNA قبل التخلص من الانترونات
ثم يصبح mRNA التام بعد نقل منطقة exon الاكسونات

تنظيم التعبير الجيني في حقيقة النواة يتم في عدة مستويات



- التعبير الجيني يتم عبر عدة مستويات في الخلية تبدأ من النواة عبر إضافة مجموعة ميثيل Ch3 او عدمه في DNA مما يثبط من التعبير الجيني في حالة إضافتها او ينشط في حالة إزالتها.
- تليها مرحلة النسخ عبر mRNA وعملية القطع التبادلي والذي يحدد شكل الجين واضافة ذيل عديد الادنين او عدم اضافته والذي يحدد استقرار الحمض الريبوزي.
- وفي السيتوبلازم تحدث عملية الترجمة على الشبكة الاندوبلازمية الخشنة والتغيرات التي تحدث للبروتينات بعد عملية تمثيلها اما ان تنثني وتطوى بطريقة صحيحة فيتم التعبير الجيني او لايتم طيها فيفقد التعبير الجيني.

PLANT PHYSIOLOGY, Fourth Edition, **Figure 14.5** © 2006 Sinauer Associates, Inc.

طرق تنظيم التعبير الجيني في حقيقة النواة Gene expression in eukaryotes

يتم تنظيم التعبير الجيني عبر عدة طرق:

- Promoters البادئة

يرتبط بمنطقة بداية الجين ومنه يبدأ انزيم RNA polymerase النسخ

- Enhancers المنشط

يقوم بتنشيط النسخ للحمض النووي المرتبط بالجينات

- Silencers المثبط

يقوم بتثبيط النسخ للحمض النووي المرتبط بالجينات

اين توجد المناطق السابقة؟ في الاكسون ام الانترون؟

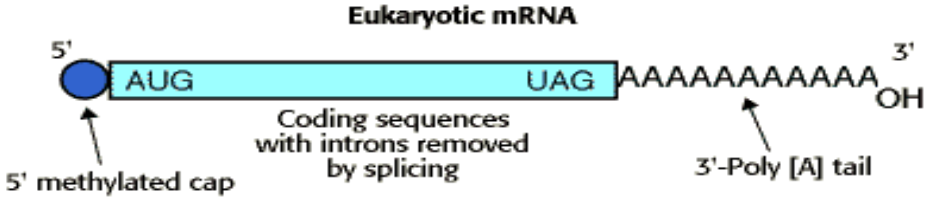
Translational and Post-translational Regulation
تنظيم التعبير الجيني في مرحلة الترجمة ومابعد الترجمة

- استقرار الحمض النووي الريبوزي mRNA stability

تحلل الحمض النووي الريبوزي

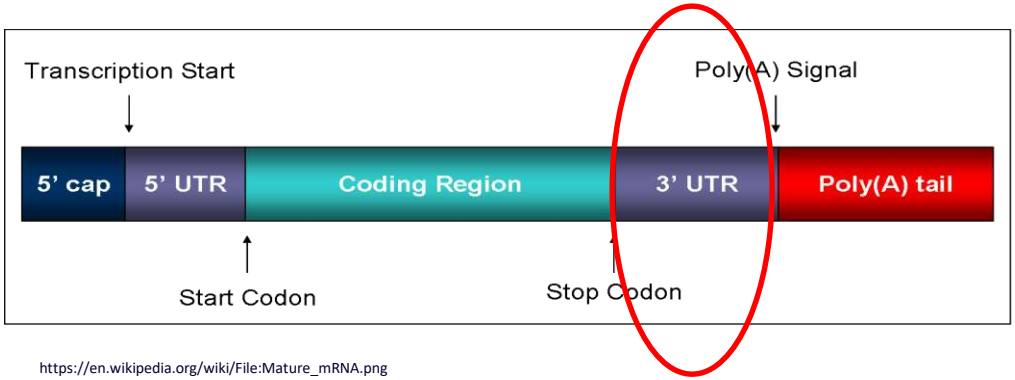
وتعتمد حياة وثبات الحمض النوووي الريبوزي على:

1. طول الذيل المرتبط في الحمض النووي الريبوزي بعد عملية النسخ
Length of poly(A) tail



http://www.biology.arizona.edu/molecular_bio/problem_sets/mol_genetics_of_eukaryotes/01t.html

2. التتابع الخاص بالمنطقة غير القابلة للنسخ في الطرف 3
Sequence of 3'-UTR



https://en.wikipedia.org/wiki/File:Mature_mRNA.png

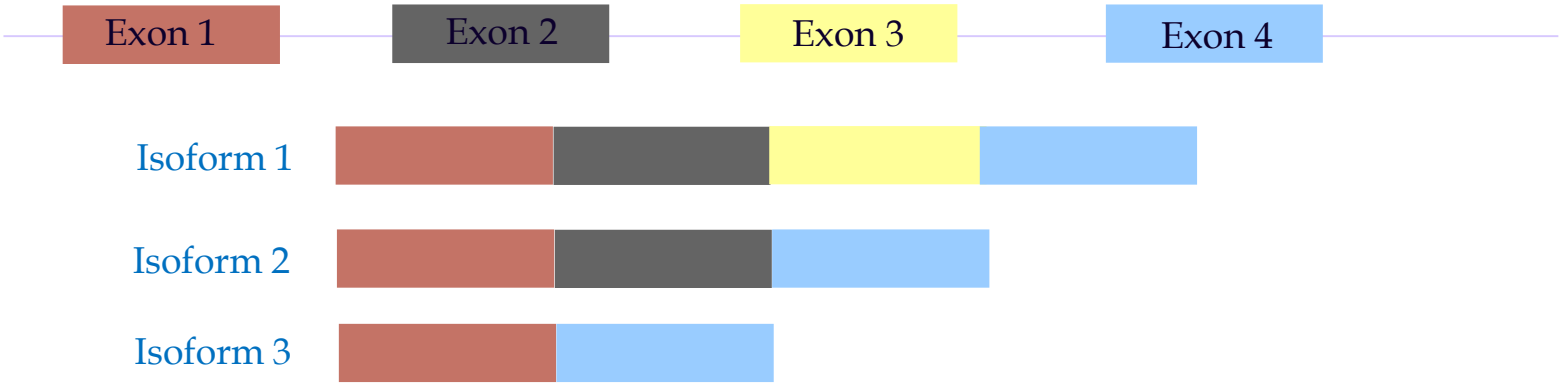
Gene expression at RNA تنظيم التعبير الجيني في مرحلة تكوين

Alternative splicing القطع التبادلي

القطع التبادلي للانترونات introns والاكسونات exons قد يعطي اشكال متنوعة isoforms من mRNA عند نسخ الحمض النووي DNA مما يؤثر على التعبير الجيني.

RNA stability استقرار الحمض الريبوزي

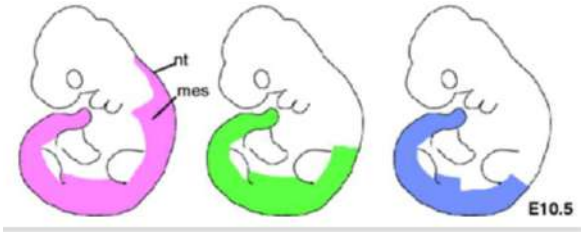
تتحكم الخلية في مدى ثبات واستقرار RNA بعد عملية النسخ من الحمض النووي DNA مما يؤثر بالتالي على الجينات المنسوخة والمترجمة لبروتين تؤثر على المظهر الجيني



Alternatively spliced mRNA showing 3 isoforms

Spatial and Temporal Regulation of Genes

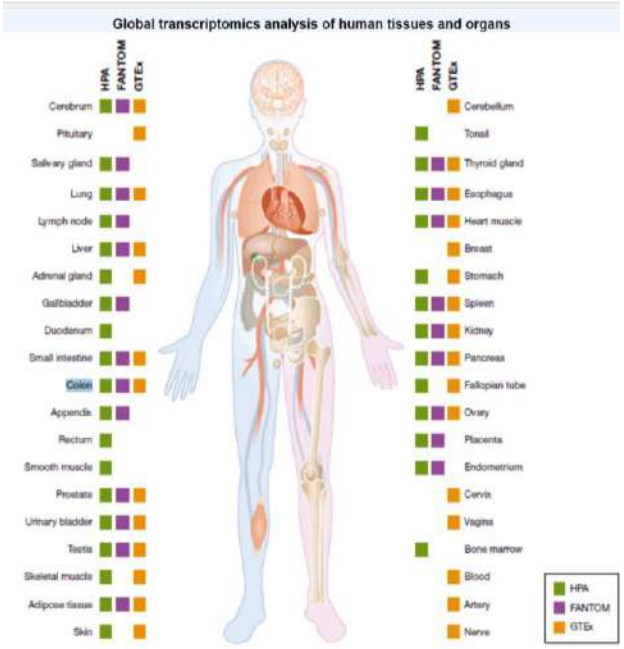
تنظيم التعبير الجيني المكاني والزماني



http://dev.biologists.org/content/132/13/2931

انواع مختلفة من الجينات يتم التعبير عنها في مراحل مختلفة من عمر الأنسان ومن امثلة ذلك الجينات الخاصة بالجلوبين الفا وبيتا حيث تنشط في مراحل مختلفة من عمر الأنسان.

كذلك يختلف تعبي الجينات حسب موقع التعبيرفي الجسم بمعنى آخر يتمايز التعبير الجيني في الانسجة المختلفة حسب الوظيفة.



http://www.gene-quantification.de/mrna.html

تأملي التغيرات التي تطرأ على البشر من مرحلة الجنين وحتى البلوغ؟ كل مرحلة تملك نفس الحمض النووي DNA

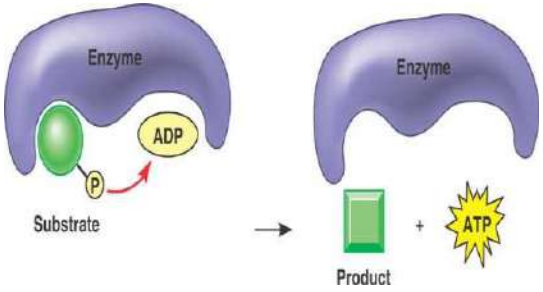
ولكن التعبير الجيني يختلف حسب العمر؟

كل أعضاء الجسم تحمل نفس الحمض النووي كذلك ولكن كل عضو يملك شكل ونسيج مختلف وكذلك وظيفة مختلفة!

سبحان الله

Translational and Post-translational Regulation

تنظيم التعبير الجيني في مرحلة الترجمة ومابعد الترجمة

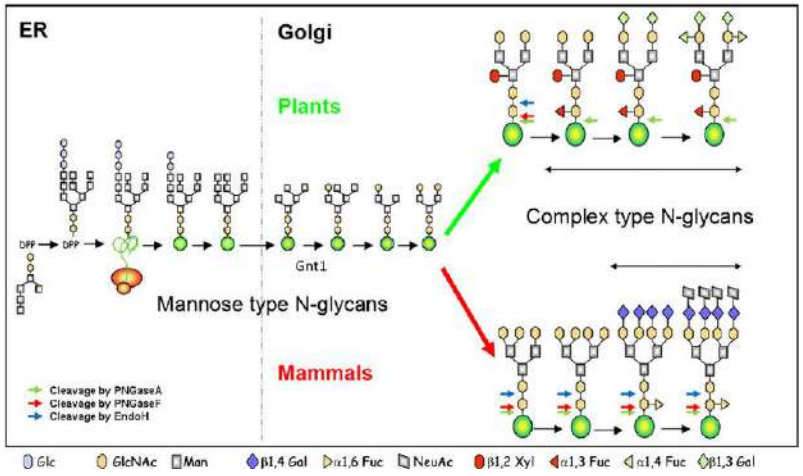


http://bio1151.nicerweb.com/Locked/media/ch09/phosphorylation.html

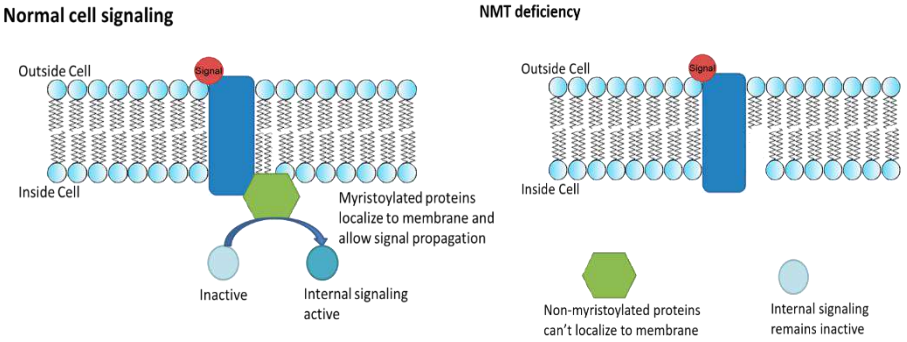
- التغيرات التي تحدث بعد عملية الترجمة Post-translational modifications

1. تضاف مجموعة فسفور للبروتينات Phosphorylation
2. تضاف مجموعة سكر للبروتينات Glycosylation
3. تضاف مجموعة دهون للبروتينات Myristoylation

كل إضافة تعطي البروتين وظيفة مختلفة حسب الغرض منه



http://clemonslab.caltech.edu/n-linked-glycosylation.html



http://www.pacylex.com/about/

لماذا تكون اناث قطط الكاليكو ملونة بينما الذكور لون واحد فقط؟ ماهو التغيير الذي يحدث وعلى أي مستوى؟

في قطط الكاليكو الالوان فقط في الاناث كظاهرة مميزة

Activation and Inactivation of Whole Chromosomes by Dosage Compensation

تنشيط او تثبيط كامل الكروموسوم للتعويض عن اختلاف جرعة الجين بين الجنسين

الكائنات الحية التي يتحدد فها الجنس باختلاف الكروموسومات مثل الانسان وبعض الحيوانات XX/XY أو في الديدان XX/X0

تكون فيها بعض الجينات مرتبطه بكرومسوم X في كلا الجنسين (الذكر والانثى)

الخيار الذي قد يكون فيه الكروموسوم X غير نشط هو نتيجة عشوائية

في قطط الكاليكو Calico cats لون الفراء المبرقش mosaic باللونين البرتقال والاسود هو نتيجة لعشوائية نشاط منطقة في الكروموسومات X تدعي X inactivation center (XIC) والمسؤولة عن الجين XIST (X inactive specific transcript) والذي يقوم بتطويع عوامل اخرى تقوم بتثبيط الحمض النووي باضافة مجموعة ميثيل methylation او تغيير كثافة الكروماتين condense chromatin

Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

تغير التعبير الجيني على المستوى الجزيئي مع تغير البيئة
epigenetic factors

- الارتباط بمجموعة ميثيل Methylation

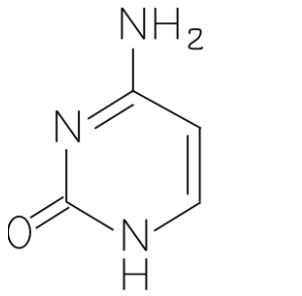
ارتباط مجموعة الميثيل (CH_3) بقاعدة السيتوسين يسبب تثبيط التعبير الجيني

- الطباعة على منطقة الجين Imprinting

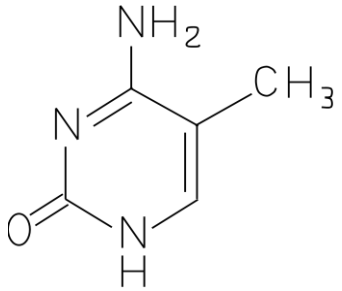
ويحدث فيها نوع خاص من الارتباط مع مجموعة الميثيل عند تكوين الجاميتات gametogenesis. الحيوان المنوي والبويضة مما يؤدي إلى حدوث تغير او تثبيط لبعض الجينات.

فقد تكون الجينات المثبطة والمرتبطة بالميثيل مصدرها البويضة الأم فيظهر التعبير الجيني من ناحية الأب اقوى.

وقد تكون الجينات المثبطة والمرتبطة بالميثيل في النسخة الموجودة على الحيوان المنوي فيظهر التعبير الجيني من الأم أقوى!



cytosine



5-methylcytosine

2005 VisiScience Corporation. All rights reserved.

امثلة تثبيط الجينات عبر الارتباط بمجموعة الميثيل Gene Silencing by DNA Methylation

الطباعة Imprinting

يوجد منطقة تسمى H19على كرموسوم 11 (chr 11)

مسئولة عن التعبير لعامل هرمون انسولين النمو IGF2 (insulin growth factor) و كذلك مسئولة عن انتاج منطقة غير قابلة للترجمة untranslated RNA في الانسان

ويتم التعبير الجيني له في حالة الأم والاب عند وجود نسختين في الخلية العادية قبل الاخصاب.. عند تكوين الخلية المخصبة النسخة الناتجة تعتمد في التعبير على التثبيط لإحدى النسخ الموروثة من الاب او الام حيث قد يحدث ارتباط بمجموعة الميثيل لمنطقة H19 في نسخة الام ويمنعها من التعبير مما يعطي فرصة لتعبير IGF2 في الاب او العكس قد يحدث ارتباط بالميثيل لمنطقة H19 في نسخة الاب وينتج التعبير فقط من الام

ligers (male lion X female tiger) اللايجرز نتاج زواج ذكر الاسد مع انثى النمر

tigons (male tiger X female lion) التايجونز نتاج زواج ذكر النمر مع انثى الأسد

اللايجرز دائما اكبر حجما من التايجونز؟ لماذا ؟ حسب قاعدة الطباعة Imprintingعند تكوين الجاميتات

فإن ذكر الأسد ينتج كمية مضاعفة من IGF2 بينما لاتستطيع انثى الأسد ذلك

Male lions produce lots of IGF2 whereas females do not.

http://www.ligers.org/why-ligers-are-bigger-than-tigons.html

Ligers and Tigons

- In the zoos lions sometimes are breed with tigers and it's called a liger or tigon.

Liger

Tigon

The difference of a liger and a tigon

Reinvented by Baby_Sushi_Cakes for iFunny :)

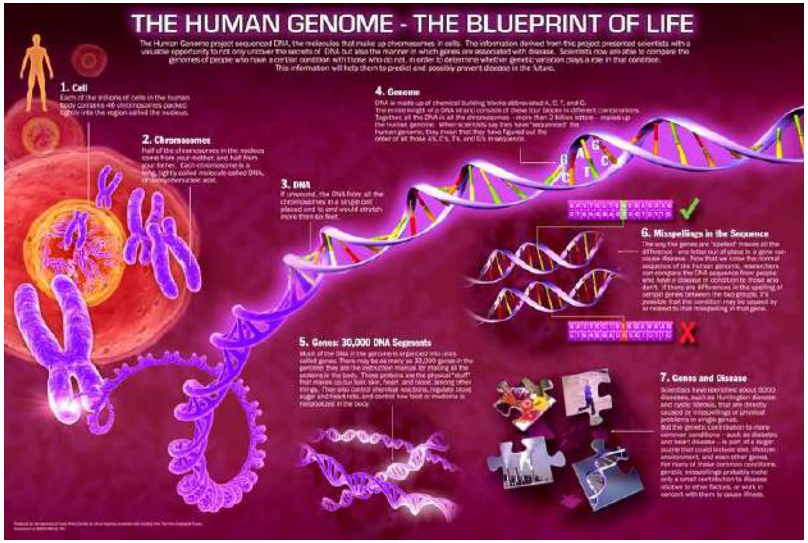
منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة الرابعة

حقائق عن الجينوم البشري

- حجم الحمض النووي للنسخة المفردة للأنسان لـ 23 كروموسوم تحتوي أكثر من 3 مليون قاعدة نيكولوتيدية بمعنى ان النسخة المزدوجة في الأنسان الكامل عبارة عن 46 كروموسوم تحتوي 6 ملايين قاعدة نيكولوتيدية
- 99- 97% من الحمض النووي متشابه في الأنسان ويشارك فقط 1-3% من الحمض النووي في صناعة البروتين او التعبير الجيني للانسان مما يجعلنا مختلفين!

بينما بقية الحمض النووي يخزن المعلومات ويساهم في التنظيم ولايحتوي جينات معبرة.

- عدد الجينات البشرية genes 25.000-20.000
- في عام 2007 اكتمل مشروع الجينوم البشري باستخدام 21 فرد تم اختيارهم عشوائيا من جميع الاعراق،اليابان- افريقيا- الصين-امريكا-اوروبا



العوامل البيئية المؤثرة على الجينات Epigenetic

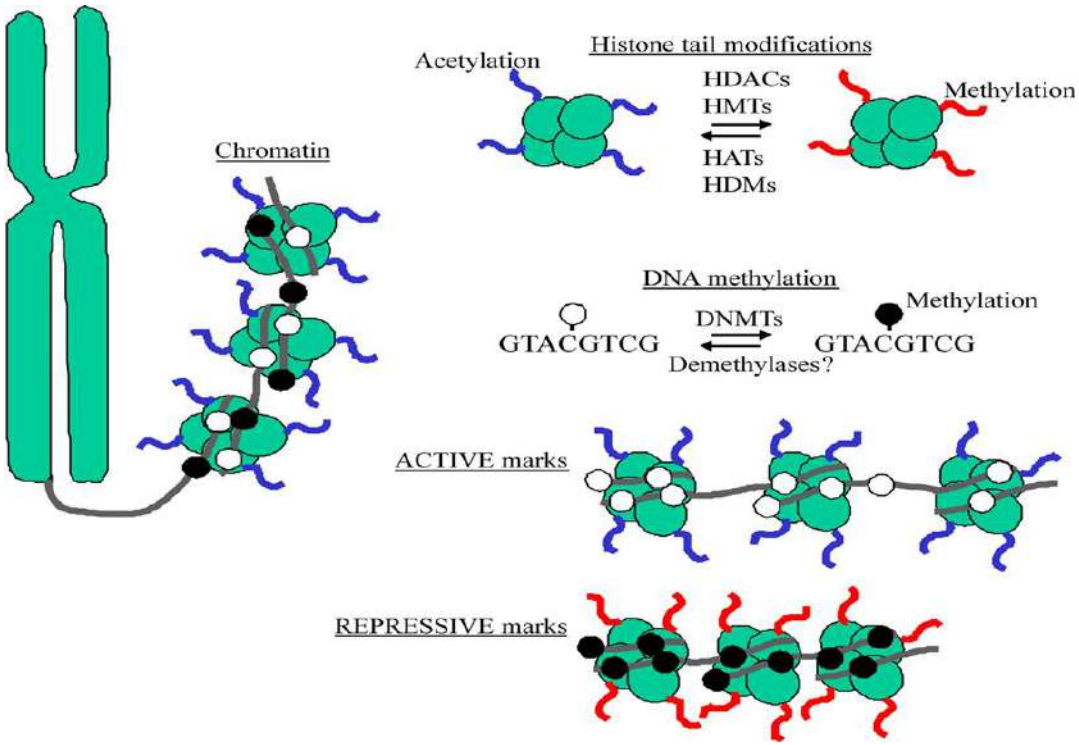
Epigentic

- تفاعل الجينات مع الظروف البيئية المحيطة بالكائن الحي مما يؤثر على المظهر الجيني Phenotype
- التغيير في الأنقسام الخلوي الميتوزي (الجسدي) او الميوزي (عند تكوين الأخصاب) مما يؤدي إلى تغييرات في التعبير الجيني Gene expression قابلة للتوريث بدون حدوث أي تغيير في الحمض النووي مثل

ارتباط مجموعة الميثيل بالهستونات يسبب تثبيط للجين Histone metylation

ارتباط مجموعة الاستيل بالهستونات يسبب تنشيط الجين Histon acetylation

ارتباط الميثيل في الحمض النووي مباشرة يسبب تثبيط للجين DNA methyaltion

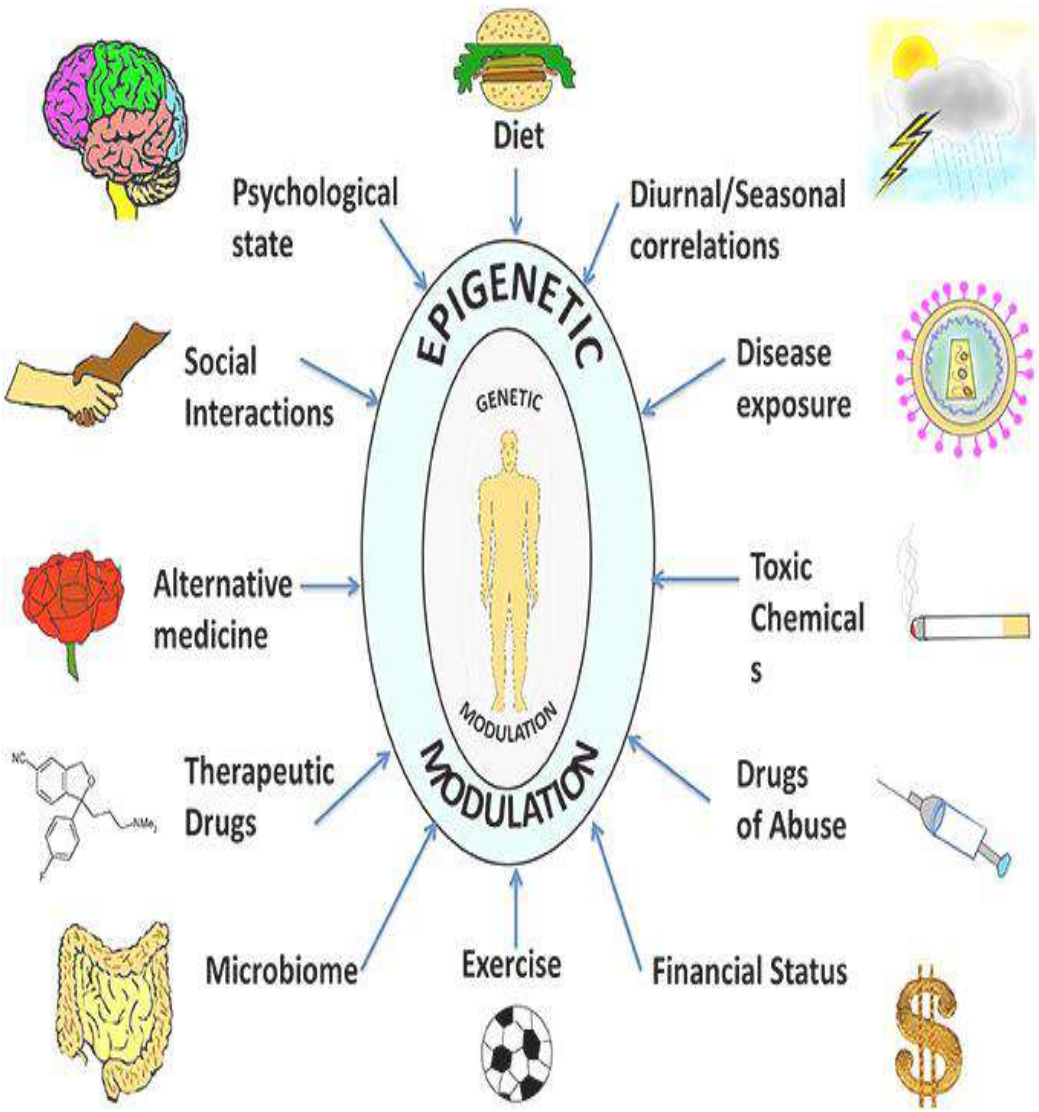


http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fpsyt.2011.00016/full

Gene expression modifications factors عوامل تغير التعبير الجيني

1. التفاعل مع عوامل النسخ transcription من البروتينات التي تتفاعل مع الحمض النووي DNA Protein–DNA interactions (transcription factors)
2. تنظيم الكروموسومات Chromosome organization
3. التفاعل مع عوامل البيئة من الضوء والحرارة Environmental (heat and light)
4. التفاعل مع العوامل الحيوية مثل التغيير الهرموني biological factors (hormones)
5. التغيير في التنظيم الجيني الزمني temporal regulation ويقصد به زمن التعبير او العمر والتغيير المكاني Spatial والمقصود به مكان التعبير
6. مرحلة القطع التبادلي alternate splicing للانترون intron والاكسون exon عند تكوين mRNA
7. مرحلة الترجمة Translation من الاكواد للأحماض الامينية وتكوين البروتينات
8. مرحلة مابعد الترجمة والتغييرات التي تطرأ على البروتينات بعد تمام تكوينها Post–translational modifications

العوامل البيئية المؤثرة على الجينات Epigenetic



http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fcell.2014.00049/full

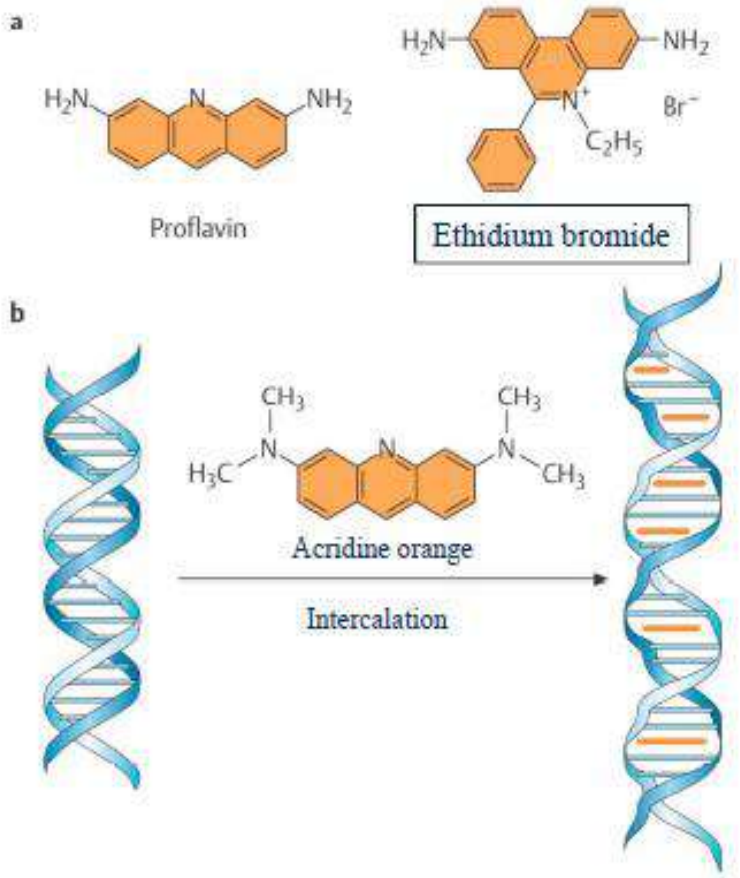
- التغذية
- التغيرات الجوية
- العدوى والأمراض
- السموم والمواد الكيميائية من التدخين وغيره
- المخدرات واساءة استخدام المسكنات
- الحالة المالية
- النشاط والرياضة
- الميكروبات الطبيعية في الجهاز الهضمي
- بعض الأدوية
- العلاج التكميلي او الطب البديل
- التفاعل والتواصل الأجتماعي
- **الحالة النفسية**

Mutations الطفرات

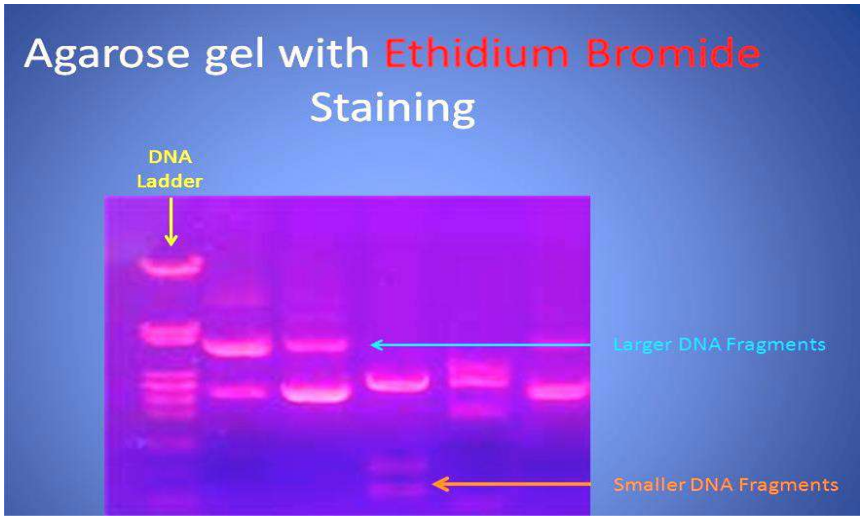
المطفرات

عوامل كيميائية

- مثل مادة البروفالفين Proflavin
- مادة الأثيديوم بروميد Ethidium bromide
- المواد الكيميائية في المعمل والتي تملك القدرة على التدخل في تركيب الحمض النووي وتسمى مطفرة mutagneic



© Georg Thieme Verlag · Janning/Knust: Genetik · 1. Aufl. 2004



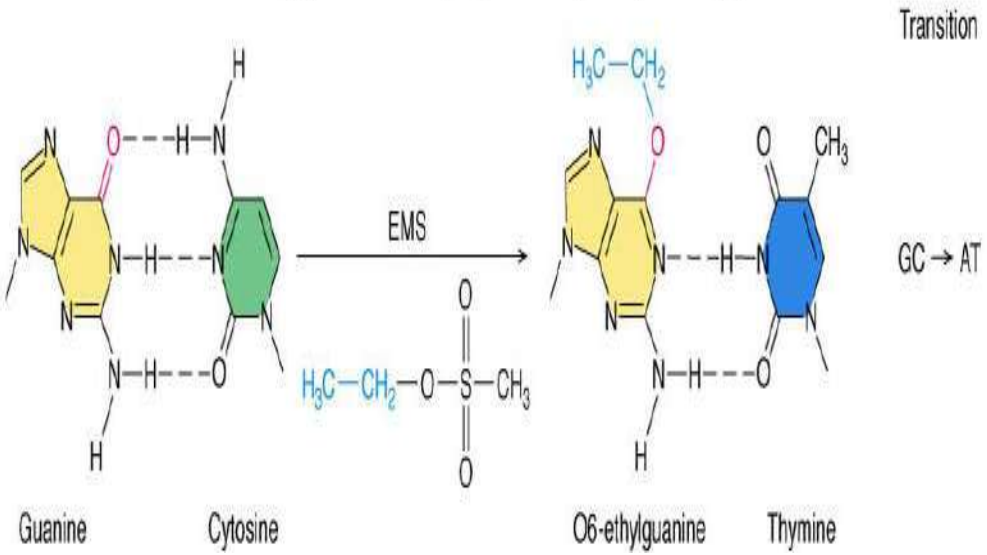
http://slideplayer.com/slide/7282337/

انواع الضرر او التلف الذي يصيب الحمض النووي DNA damage
عند التعرض للمواد مطفرة

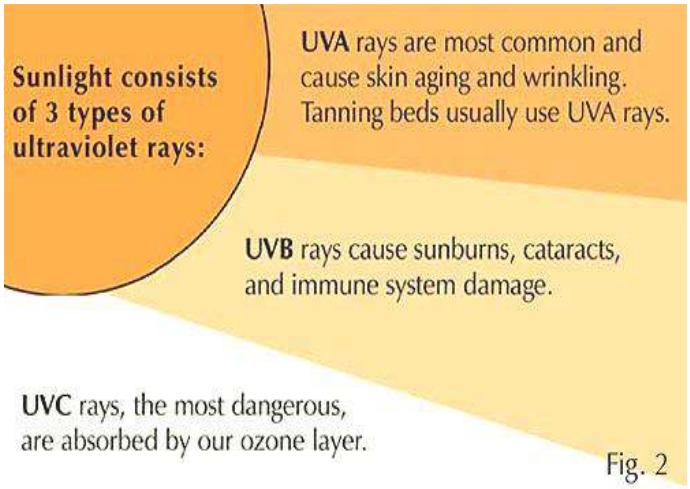
يتلف الحمض النووي عند تعرضه لمادة قلوية مثل ايثيلامين سولفانات Ethylmethane sulfonate (EMS) والتي تمنح مجموعة ايثيل عند ذرة الاوكسجين رقم 6 في القاعدة النيوكلوتيدية جوانين G ممايتسبب باقترانها الخطأ بالثيامين T عوضا عن السيتوسين C

وتتميز المواد المسرطنة بقدرتها على منح مجموعة ايثيل للجينات المسؤولة عن التحكم في الانقسام الخلوي مما يجعلها غير قابلة للتوقف وبذلك تصبح خلايا سرطانية.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Mutations الطفرات



المطفرات

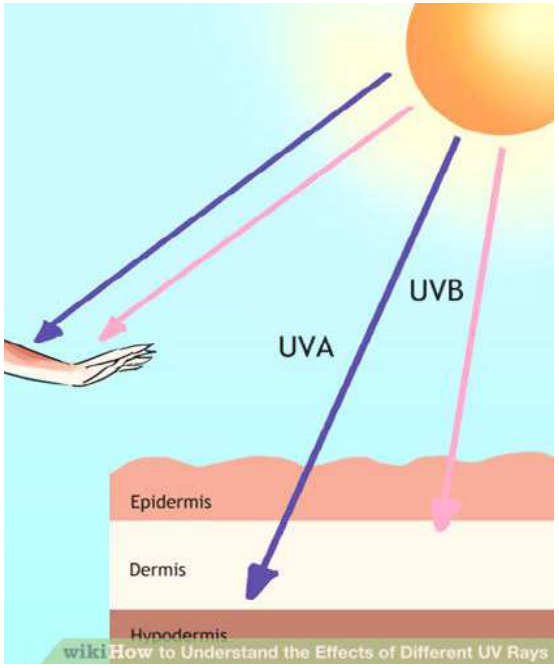
عوامل فيزيائية كالأشعة radiation

- اشعة اكس X–rays radiation
- اشعة جاما Y–radiation
- الأشعة الفوق بنفسجية Ultra Violet (UV) radiation
- عند التعرض البسيط لاشعة الشمس بوجود النوع UVB ينتج فيتامين D من مادة 7–dehydrocholesterol (7–DHC)
- الأشعة النووية nuclear radiation

ومن امثلتها حادثة تشيرنوبل سنة 1986

والتي تسببت بدمار شامل لجميع الكائنات الحية

على مسافة 1.4 مليون هكتار ومازالت رغم مرور اكثر من ربع قرن تعاني



انواع الضرر او التلف الذي يصيب الحمض النووي DNA damage
عند التعرض للمواد مطفرة

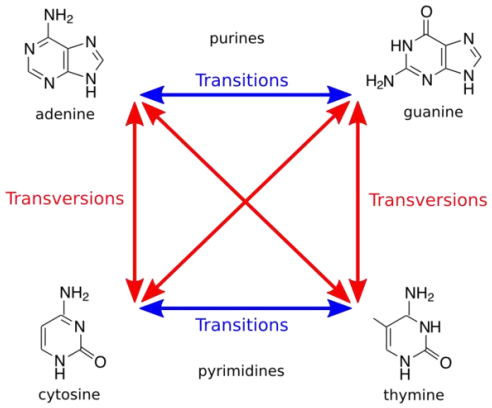
- **ان التعرض للاشعة الفوق بنفسجية Ultraviolet radiation يتسبب بـــ:**

بالتحام القواعد البيرميدينية ، الثيامين تحديدا في نفس السلسلة (T–T) يكون مايدعى بالثيامين دايمر Thymine–dimer مما يربك عملية الاقتران مع السلسة الاخرى في الحمض النووي ويتسبب بحدوث طفرة جينية.

- **بينما تتسبب اشعة جاما واشعة اكس بـــ:**

1. عملية تأين لذرات الماء وتكوين شقوق حرة radical ions تعمل على كسر السلسلة المزدوجة للحمض النووي double stranded breaks in DNA
2. التحلل التلقائي المائي Spontaneous hydrolysis و نزع مجموعة الامين deamination لقاعدة النيوكلوتيدية سيتوسين وتحولها إلى 5–methyl cytosine
3. وكذلك تتسبب بنزع البيورين من القاعدة النيوكلوتيدية جوانين depurination of guanine

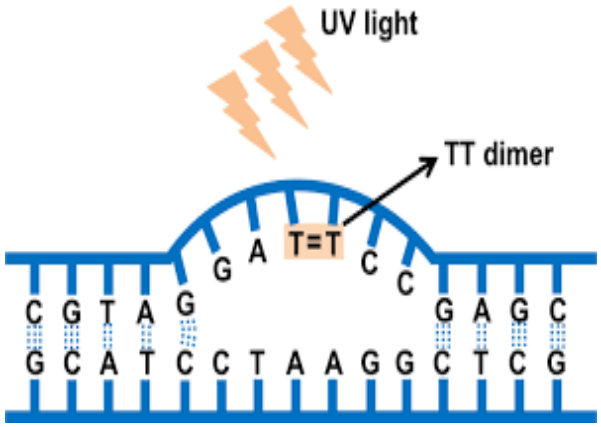
انواع الضرر او التلف الذي يصيب الحمض النووي DNA damage
عند التعرض للمواد مطفرة

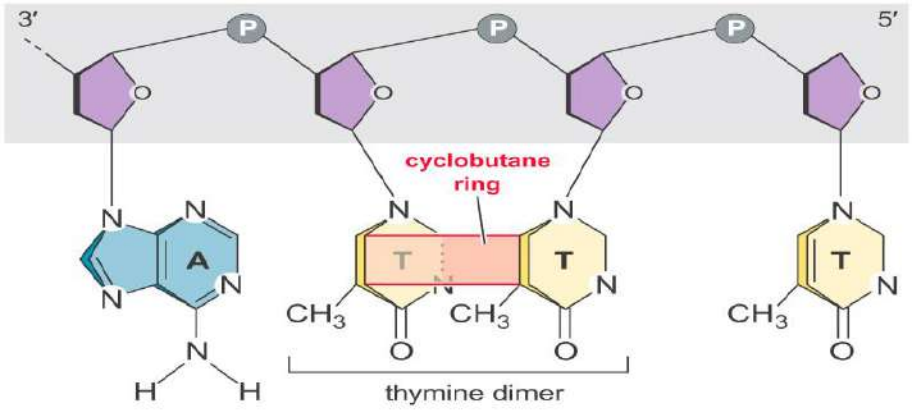


- Mismatches خطأ في النسخ لعدم تطبيق قاعدة الاقتران اثناء مرحلة تضاعف الحمض النووي
- ثايمين دايمر Thymine dimer (ارتباط قاعدتين ثايمين نتيجة التعرض للأشعة الفوق بنفسجية UV) مما يمنع عملية التضاعف.
- الكسر للخيط المزودج Double strand break

يتم عند التعرض للاشعاع وتكون الشقوق الحرة Free Radicals

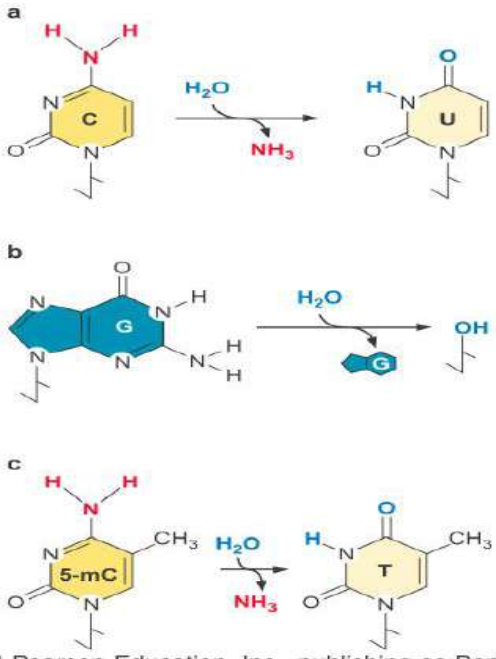
- التغيير في القواعد النتيروجينيه DNA alteration عند التعرض للمواد الكيمائية او الارتباط بمجموعة الامين مما يسبب تحول السيتوسين إلى يوراسيل.





Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Thymine−dimer



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

Spontaneous hydrolysis

أخطاء عملية النسخ للحمض النووي Types of DNA damage

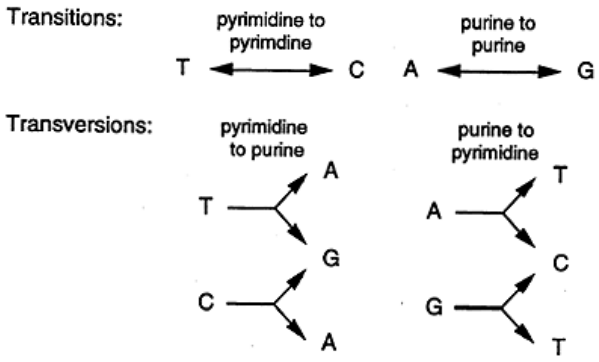
طفرات الحرف الواحد Point Mutations

Transitions التبديل او التحول بين افراد القاعدة الواحدة

او الانقلاب Transversions بين افراد القواعد المختلفة البيورينية إلى البيرميدينية

ادخال حرف اضافي في القواعدة النيوكلوتيدية Insertions

إزالة حرف او أحرف من القواعد النيوكلوتيدية Deletions



التغير في عدد تكرار احرف الميكروستيلايت Microsatellites

مثلا: في مرض هونتينغتون Huntington's disease

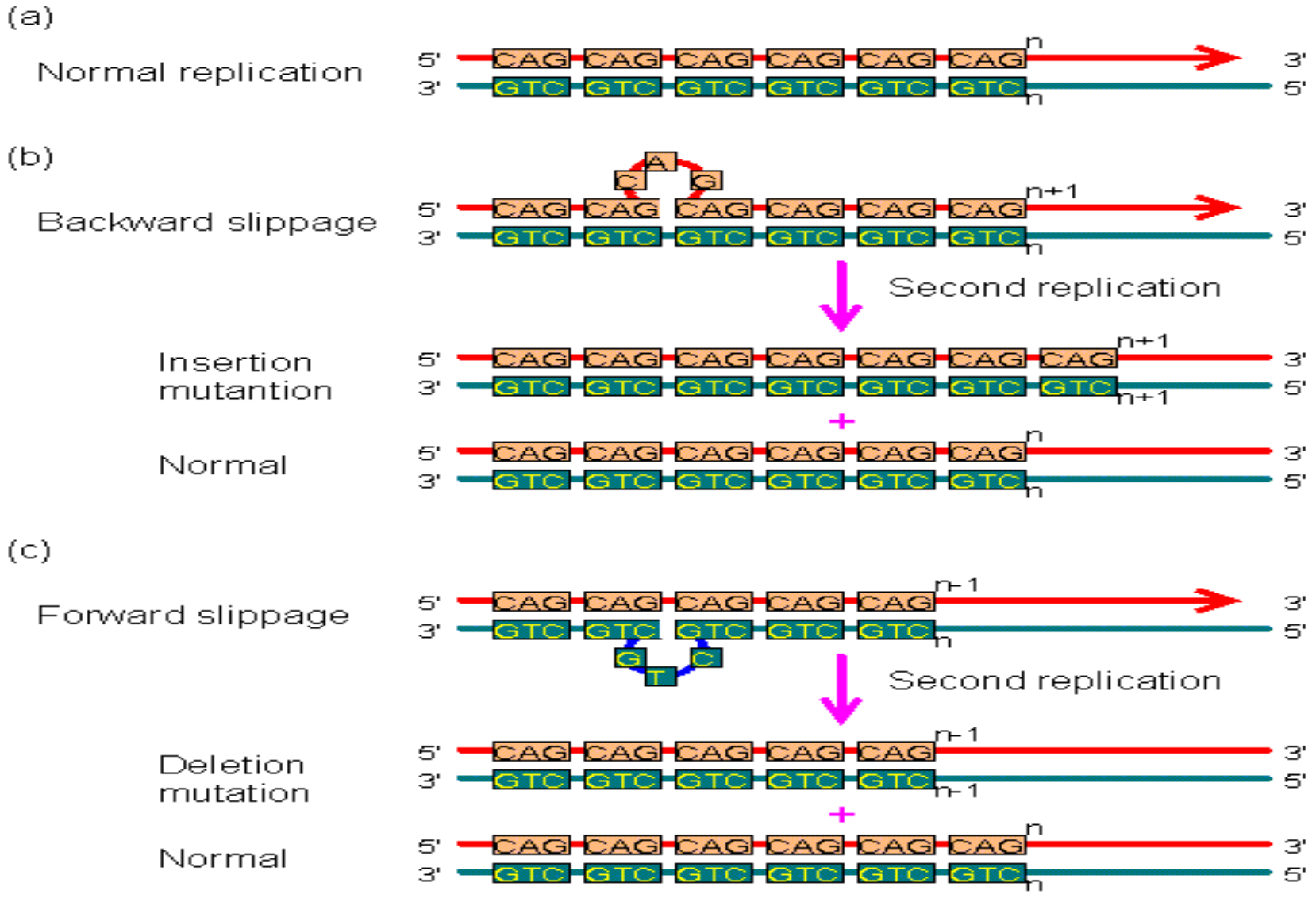
يزداد التكرار من 35 إلى 37

CAG (6–35 expand to >37)

في متلازمة كروموسوم اكس الهش Fragile X syndrome

يزداد التكرار من 53 إلى 230

CGG (6–53 expand to >230)



http://www.web-books.com/MoBio/Free/images/Ch7F3.gif

آليات إصلاح الحمض النووي DNA Repair

- يحدث مليون خطأ في كل خلية في اليوم الواحد ويقوم الحمض النووي بإصلاحها بطرق مختلفة
- عملية النسخ للحمض النووي للبكتريا *E. coli*, تتم لالف قاعدة في الثانية 1,000 nucleotides per second.
- بينما في الانسان تتم عملية نسخ الحمض النووي لخمسين قاعدة في الثاية الواحدة 50 nucleotides per second

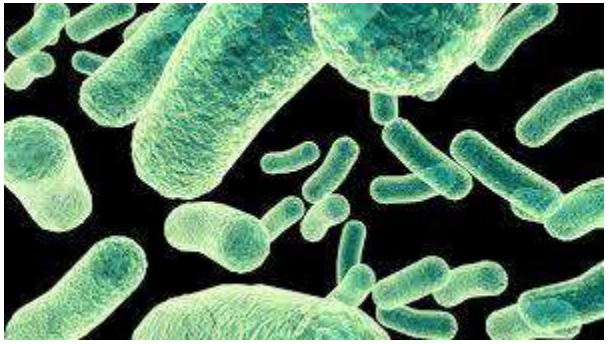
- ماهي آليات الإصلاح؟
- التعرف على مجموعة الميثيل المضافة بواسطة بروتينات MSH2 and MLH ويتم فك الشريط المزدوج بواسطة انزيم helicase وقطع الجزء المتضرر بواسطة انزيم القطع exonuclease واستبدال القاعدة بواسطة انزيم DNA polymerase بقاعدة صحيحة التحامها مع الشريط في المكان الصحيح بواسطة DNA ligase
- تقوم بروتينات PCNA (Proliferating cell nuclear antigen) بالمساهمة بعملية الاصلاح كذلك خلال مرحلة تضاعف الحمض النووي
- عدم القدرة على إصلاح الضرر قد يتسبب في حدوث سرطان إذا كانت الاخطاء في البروتينات المسؤولة عن الاصلاح مثل MSH2 and MLH

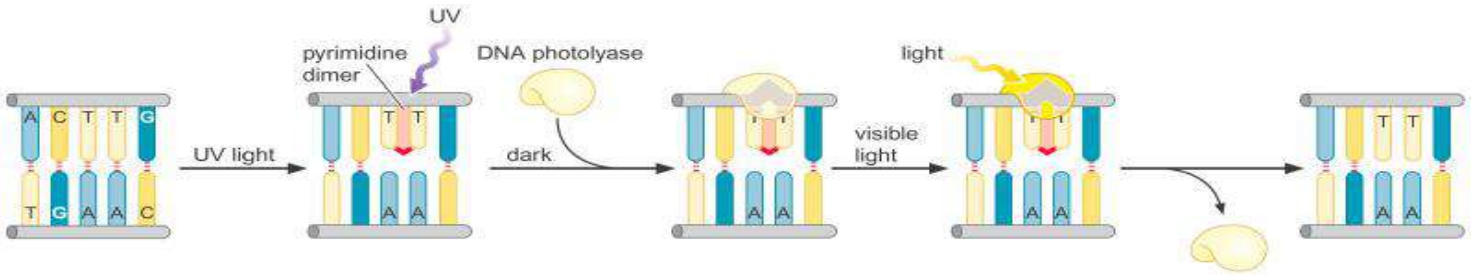
https://www.youtube.com/watch?v=p3MXIKWAi2w

آليات إصلاح الحمض النووي DNA Repair

- في البكتريا من الممكن ان ينعكس (Reversal of DNA damage) التأثير الضار للاشعة الفوق بنفسجية بالتفاعل مع الضوء العادي حيث ينشط انزيم فوتولايز DNA photolyase (photoreactivating enzyme) مما يكسر الرابط المتكونة بين قاعدتي البيرمدين pyrimidine dimer

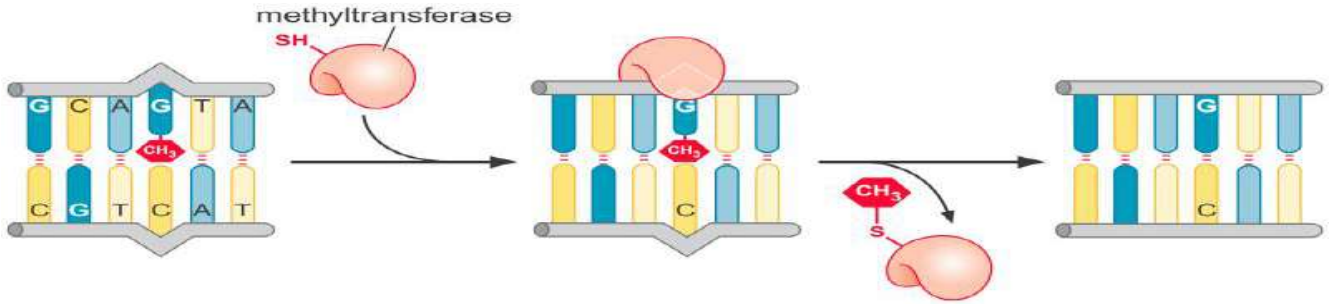
- لاتملك الثديات هذه الآلية فقط موجودة في الكائنات الدقيقة كالبكتريا. ولكن يوجد في الانسان الأنزيم الانتحاري O6-methylguanine methyl transferase (suicide enzyme) المسمى 6- ميثيلجوانين ميثيل ترانسفيريز والذي ينزع مجموعة الايثيل او الميثيل من قاعدة الجوانين ويعكس التأثير الضار.





DNA photolyase

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings



O6-methylguanine methyl transferase

Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

آليات إصلاح الحمض النووي DNA Repair

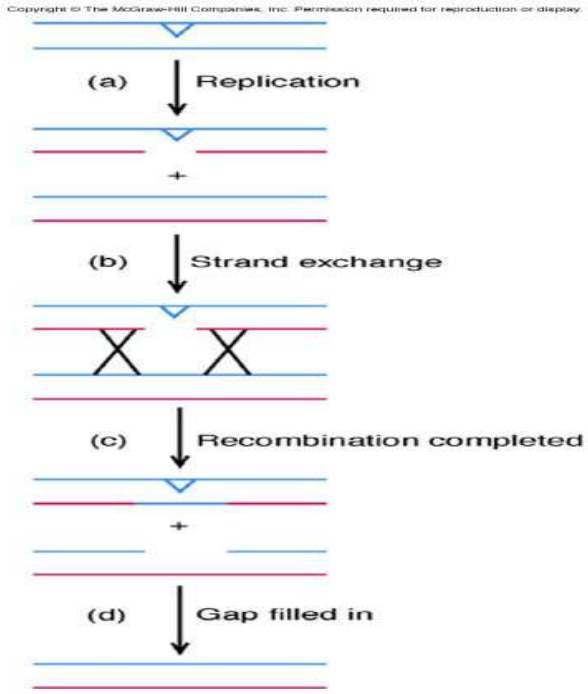
- احدى اليات الأصلاح نزع النيوكلوتيدة التالفة واصلاح الضرر بواسطة Nucleotide excision repair (NER) والذي ينقسم بدوره إلى global genomic NER و transcription coupled NER (GG–NER or GGR)
- الطفرة في الجين المسؤول عن الأصلاح NER تؤدي إلى خلل في آلية الأصلاح وظهور مرض الشيخوخة المبكرة في الأطفال والمسمى مرض كوكاين او Cockayne Syndrome (Growth failure, Premature aging)
- او ظهور مرض زيروديرما بيجمنتوزا Xeroderma pigmentosum (XP) والذي يعاني فيه المريض من حساسية شديدة للشمس وتصبغات جلدية وردة فعل عصبية

http://cockaynesyndrome.net/main/Default.aspx

آليات مقاومة الحمض النووي للخطأ DNA error tolerance

1. الإصلاح التكميلي Recombinational Repair
2. تخطي الخطأ Error-Prone Bypass
3. تمثيل او بناء بديل للمنطقة المتضررة Translesion synthesis (TLS)

في جميع الطرق الثلاث تتم مقاومة الضرر بأن يقوم انزيم تضاعف الحمض النووي DNA polymerase بتخطي المنطقة المتضررة تاركا فراغ يتم ملؤه لاحقا ببديل عن القاعدة المتضررة



منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة الخامسة

بيولوجيا السرطان!

السؤال ماهي اسباب السرطان؟

ينتج عن طفرة في احد الجينات المسؤولة عن آليات الإصلاح أوعن تنظيم الخلايا والتحكم في الانقسام الخلوي .

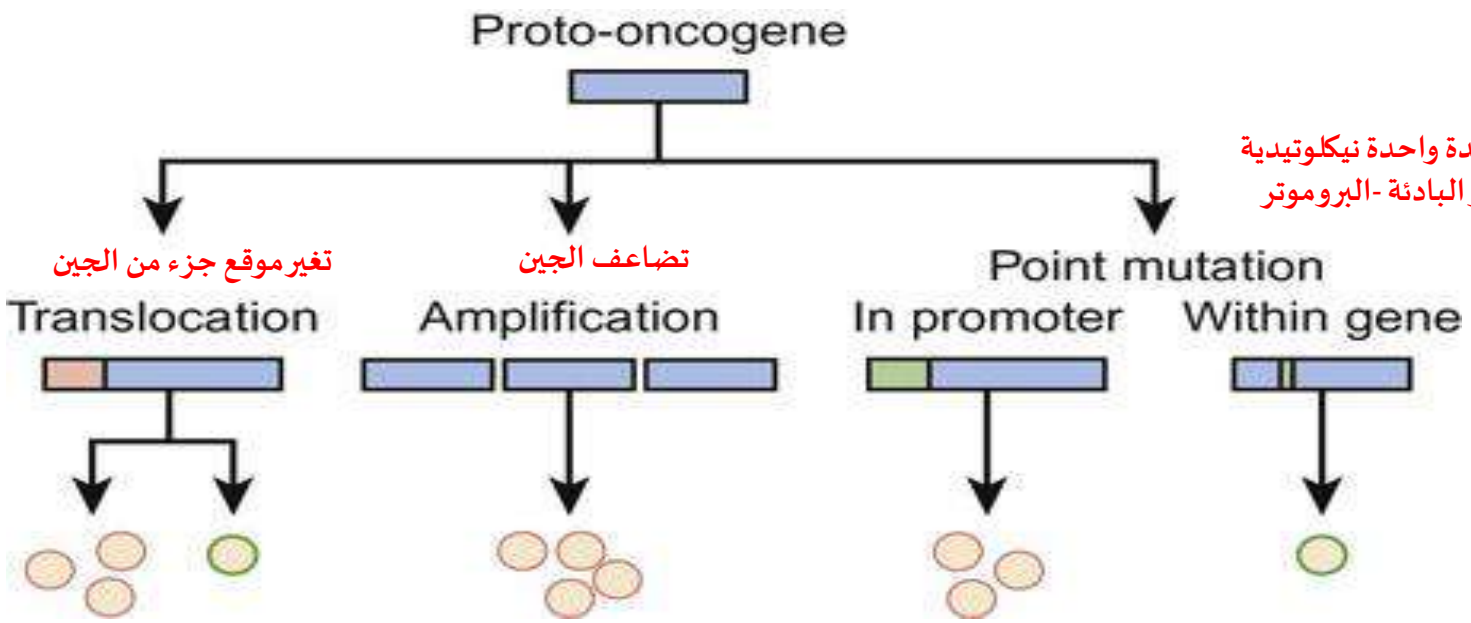
- الطفرات قد يكون سببها التعرض للأشعاع مثل أشعة أكس X-rays أو التعرض للمواد الكيميائية المطفرة
- بعض أنواع الفيروسات وتسبب 15-20% من انواع السرطان

الجينات الطبيعية تسمى اونكوجينات اوليه Proto-oncogenes أو اونكوجينات خلوية cellular oncogenes – c-onc

كما تسمى الجينات المثبطة للاورام tumor suppress genes وتقوم بمنع حدوث الأورام

اما الجينات المسببة للسرطان تسمى الاونكوجينات Oncogenes

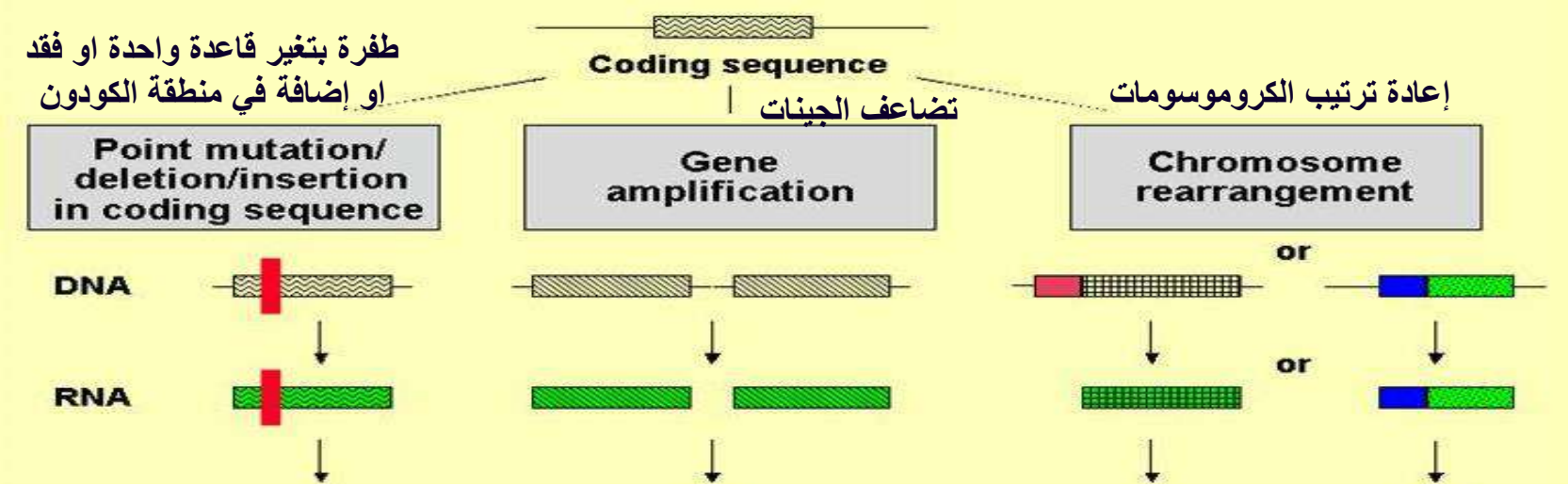
بروتوانكوجين- جين طبيعي وسليم



آلية تحول الجينات إلى مسرطنة

https://obgynkey.com/wp-content/uploads/2016/06/chp0022_f022-002-9780702063138.jpg

آلية تحول الجينات إلى مسرطنة

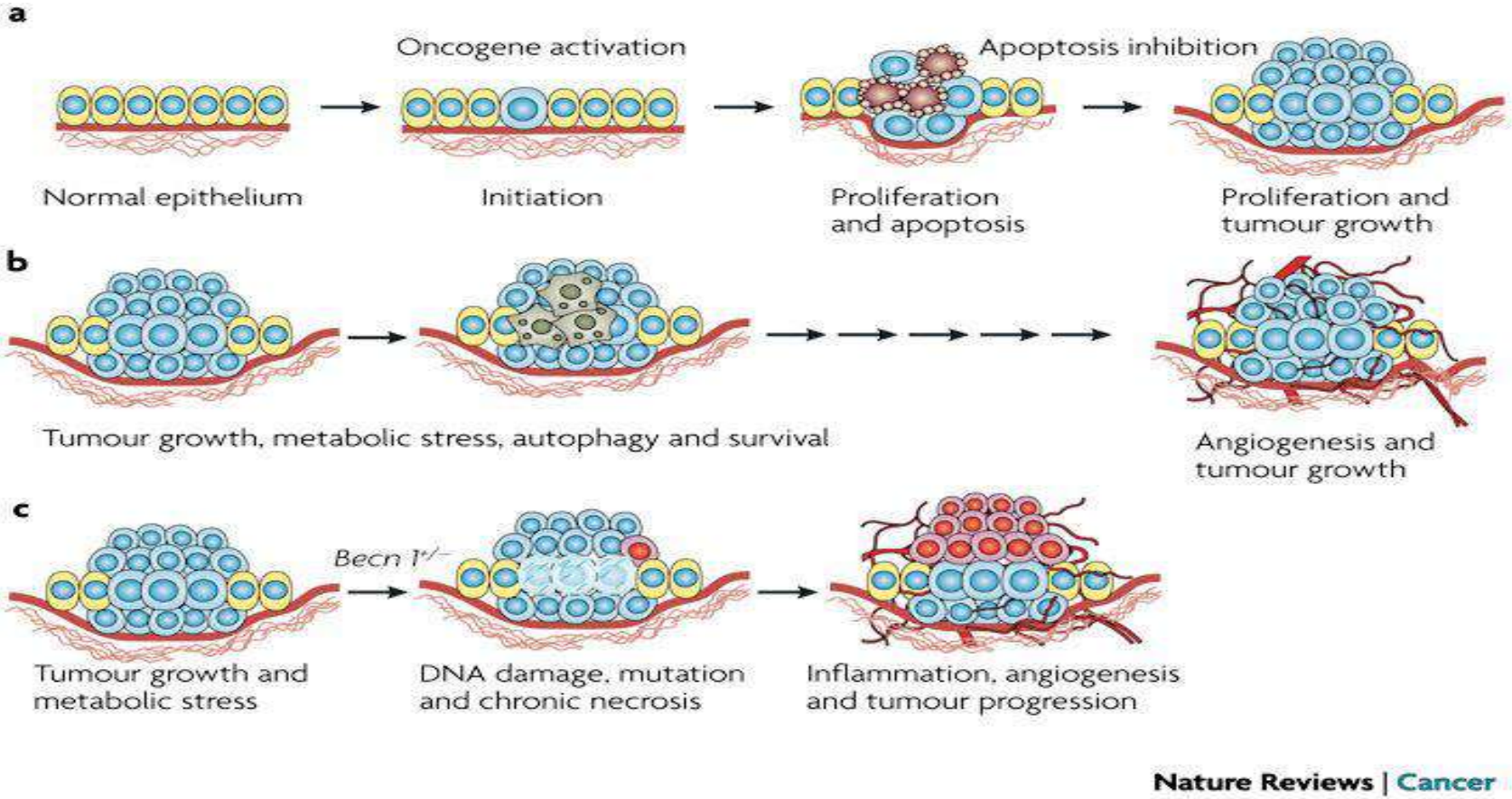


نشاط مفرط للبروتين
يفوق المعدل الطبيعي

إنتاج كميات ضخمة من
البروتين الطبيعي

إلتحام البرموتر او الجينات مما يؤدي
إلى انتاج كمية غير طبيعية من
البروتين أو انتاج نوع جديد من
البروتينات

http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Genetics_Of_Cancer2-Genes_files/image067.jpg

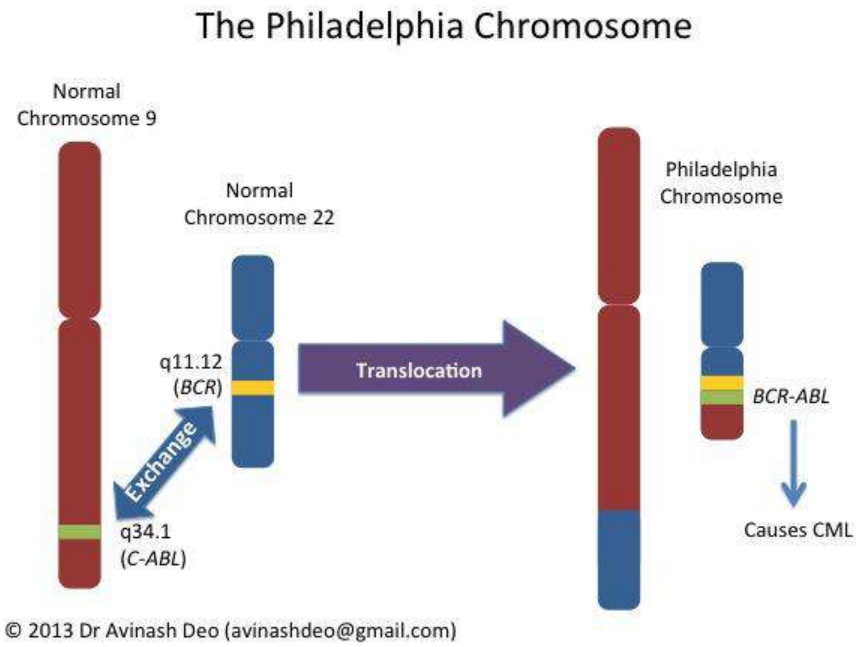


https://images.nature.com/full/nature-assets/nrc/journal/v7/n12/images/nrc2254-f2.jpg

الآلية الجزيئية لمرض السرطان Cancers Molecular Mechanism

- مرض سرطان الدم المزمن Chronic myelogenous leukemia يحدث نتيجة تبادل خاطيء بين الكروموسومين chr 9 و ch22 مما يتسبب بتكوين ظاهرة كروموسوم فيلادلفيا والذي تلتحم فيه قطعتين احدهما من جين *c-abl* (Abelson) مصدرها كرومسوم 9 والأخرى من جين *bcr* (breakpoint cluster region) مصدرها كرومسوم 22 ممايتسبب انقسام غير قابل للتحكم في خلايا الدم البيضاء
- فقط 1% من السرطانات وراثيةّ! بينما معظم انواع السرطان سببها طفرات متراكمة مع الزمن لم يتم إصلاحها والقليل 17.8% سببها بعض انواع الفيروسات مثل Human papillomaviruses (HPV) نوعين فقط من هذا الفيروس ارتبطا بالأصاب بالسرطان HPV18 و HPV16

سبب تكون كروموسوم فيلادلفيا والذي يحول خلايا الدم البيضاء إلى خلايا سرطانية ويسبب سرطان الدم
تبادل كروموسومي بين 9 و 22



http://allaboutcancer.in/wp-content/uploads/2014/06/Philedelphia-Chromosome-600px.jpg

- تأثير الناسيبو The Nocebo Effect هو التعريف المضاد لتأثير البلاسيبو placebo effect
- حيث ان النسيبو هو اخذ اعراض المرض والشعور به وقد تصل للوفاة! عندما يخبرنا أحدهم اننا مرضى بينما البلاسيبو هو الشفاء حينما يخبرنا أحدهم اننا نأخذ علاج شافي حتى ولو كانت اقراص سكر!
- قصة : تم تشخيص رجل بالسرطان مع توقع الوفاة بعد ثلاثة أشهر! توفي الرجل بعد ثلاثة اشهر رغم أن التشخيص خاطيء ولكن الفكرة أصابته بالمرض!
- في عدد من المقالات والكتب ومنها كتاب Spontaneous Healing, التشافي التلقائي بواسطة Dr. Andrew Weil

يتحدث كيف أن الاطباء عن غير قصد قد يعززون فكرة المرض لدى المريض بقولهم مرض مزمن او غير قابل للعلاج! مما يتسبب بإحباط المرضى و إضعاف قدرتهم على التشافي!

- قامت الممثلة المشهورة انجلينا جولي بعملية استئصال للثدي بعد الفحص الجيني والذي أظهر انها تحمل الجين BRCA1 وإحتمالية الإصابة بسرطان الثدي تصل لديها إلى 87% و كذلك استئصال المبايض لإحتمالية الأصابة بسرطان المبايض بنسبة 50%
- بعد الجراحة انخفضت نسبة الإصابة لديها إلى 5%- مما يعني وجود نسبة قائمة وإن كانت ضئيلة!
- **هل التعبير الجيني الموروث يظهر حتميا؟؟**

قدرة الجسم على التشافي الطبيعي تنخفض عند الأعتقاد بأننا مرضى أو أن المرض خطير!

تفاعل الجينات مع الطبيعة Epigenetic

- الأبحاث تشير إلى أن التعبير الجيني ماهو إلا نتيجة للتفاعل مع اسلوب الحياة والتغذية والعامل النفسي.
- كل جين لدينا من أصل 25 الف جين لديه 30 الف طريقة للتعبير.
- قد تصبح العوامل البيئية أقوى من قدرة الطفرة على أحداث التعبير الجيني حتى وإن كانت موروثة! فمن الممكن أن يرث الشخص تعبير جيني لمرض ما ولايحدث التعبير الجيني للمرض نتيجة العوامل البيئية الصحية التي تحيط بالشخص الحامل للجين مما يزيد من قدرة الأصلاح أو يثبط التعبير الجيني للطفرات السيئة!
- أقل من 2% من الأمراض ناتجة من جينات متطفرة موروثة. أقل من 5% من السرطانات موروثة.
- **قدرة الجسم على التشافي الطبيعي تنخفض عند الأعتقاد بأننا مرضى أو أن المرض خطير.**
- **عند الخوف أو القلق تزداد الهرمونات المرتبطة بالقلق مما يضعف المناعة وقدرة الجسم على أصلاح الطفرات**

آليات طبيعية لتثبيط السرطان في الجسم

حتى الان تم اكتشاف 100 نوع من جينات المسببة للسرطان Oncogenes والتي تعمل على الأنقسام الخلوي خارج السيطرة.

حينما تتراكم الطفرات دون إصلاح مع مرور الوقت والتقدم في العمر ويساهم في ذلك أسلوب الحياة والتعرض للمواد المطفرة دون وجود وسائل تغذية داعمة للمناعة او مضادات الأكسدة، تصبح الطفرات المتراكمة في الجينات خارج السيطرة وتنقسم الخلايا باستمرار وبشكل خارج عن المألوف مسببة حدوث الأورام السرطانية.

من الممكن أن يتم التعامل مع الطفرات او الخلايا المسرطنة بعدة آليات طبيعية موجودة في الجسم:

1. الجينات المثبطة للأورام Tumour suppressor genes حيث تكبح الأنقسام الخلوي غير المتحكم به وتكتشف أخطاء الحمض النووي وتحفز موت الخلايا المنظم بواسطة جين TP53. الخلل في الجين TP53 يتسبب في 50% من انواع السرطان
2. الجينات المسؤولة عن اصلاح الطفرات في الحمض النووي DNA repair genes ويوجد منها لايقل عن 179 جين متنوعة تتدخل في اليات اصلاح عديدة حسب نوع الطفرة والمرحلة التنظيمة

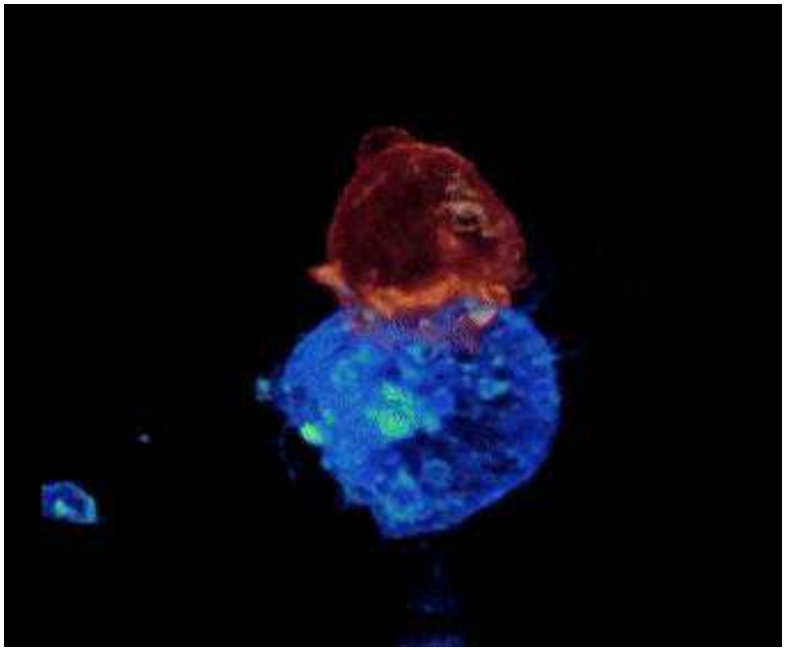
آليات طبيعية لتثبيط السرطان في الجسم

- يقوم جين p53 بالكشف عن اخطاء الحمض النووي ويسمى حارس الباب الأخير "Last Gatekeeper" والذي يقوم عند اكتشاف الخطأ بتنشيط p21 الذي يقوم بإيقاف انقسام الخلية التي تحمل حمض نووي متضرر بالتأثير على CDK/G1 المسؤولة عن دورة الخلية الطبيعية ومن ثم هناك خيارين:

1. إصلاح الحمض النووي بآليات الأصلاح إذا كان يحمل طفرات قابلة للإصلاح
2. ارسال الخلية التي تحمل حمض نووي غير قابل للإصلاح إلى عملية الموت المنظم Apoptosis

- عملية تنظيم موت الخلايا التالفة Apoptosis تعتبر احد الطرق التنظيمية للأنقسام حيث يعمل بروتين "executioner" على تحطيم الخلايا التالفة او التي تحمل حمض نووي بطفرات لايمكن إصلاحها ..اي خلل ينتج طفرة في هذا البروتين"executioner" قد يمنع عملية الموت المنظم ويتسبب تكاثر الخلايا التي تحمل طفرات مما يتسبب في حدوث السرطان.

- الطفرات في جين p53 تتسبب في حدوث 50% من الاورام سرطانية.

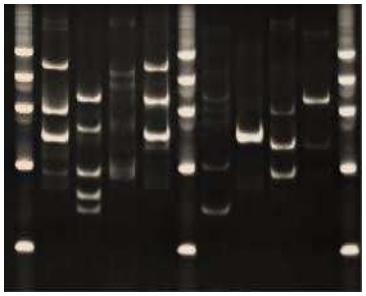


أحد الخلايا المناعية تقوم بمهاجمة الخلية السرطانية

منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة السادسة

أهمية الحمض النووي في البحث الجنائي

في عام 1984 لاحظ الدكتور Alec Jeffreys ان هناك قطع صغيرة من الحمض النووي تتكرر فيها احرف القواعد النيوكلوتيدية وتورث من الاباء للأبناء وتتميز بها العائلة الواحدة. تسمى التسلسل المتكررMicrosatellite DNA هذه القطعة طولها 2- 6 حرف فقط. وتتكرر عدة مرات في الحمض النووي من 5 إلى 40 مرة .. تتشابه بين الاقارب وفقط ومن الممكن ان تستخدم في التمييز بينهم وبين الافراد غير الاقارب مثل الباركود وتسمى البصمة الوراثية.



- فاز بجائزة بعدة جوائز

Bicentenary Medal (1987)
Colworth Medal (1987)
Albert Einstein World Award of Science (1996)
Lasker award(2005)
Royal Medal (2004)
Great Briton Award (2006)
Copley Medal (2014)

أهمية الحمض النووي في البحث الجنائي

- هذا الاكتشاف جعله يتجه إلى القطعة المميزة والأكثر انتشارا والمسماة minisatellites طولها 10–100 حرف وتتكرر عدة مرات من 7 إلى 80 مرة في الحمض النووي

- عمدت السلطات البريطانية إلى تبني هذا لاكتشاف لاستخدامه في تتبع المهاجرين الذين لايملكون اقارب في بريطانيا!

- ساهم اكتشافه في حل الجرائم الغامضة وبطريقة ذكية غير قابلة للشك!

قصة حقيقة!

- في عام 1986 وجدت جثة الفتاة Dawn Ashworth (15 سنة) مغتصبة ومقتولة في بريطانيا في مدينة Narbourough
- بعد اسبوع تم القبض على Richard Buckland الذي اعترف بارتكابه الجريمة

أهمية الحمض النووي في البحث الجنائي

Lynda Mann (left) and Dawn Ashworth, the 15-year-old victims of rapist

طريقة الجريمة كانت تشبه جريمة اخرى وقعت قبل ثلاث سنوات للفتاة Lynda Mann

ولكن لم يعترف نفس الشخص بارتكابه الجريمة الاخرى لذا لم تقفل القضية!

تم ارسال العينات إلى معمل الدكتور Jeffreys لإجراء فحص الحمض النووي باستخدام minisatlite

تم اعادة الفحص عدة مرات ولم يتطابق مع المتهم في الجريمة

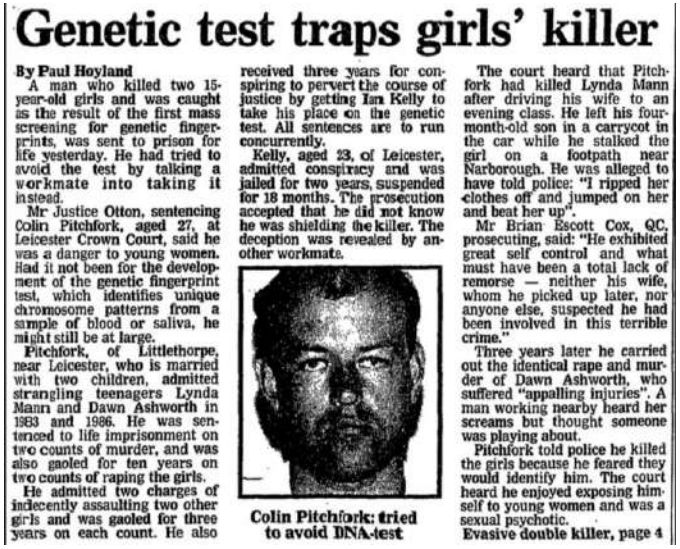
الحالية أو تلك السابقة التي حصلت قبل 3 سنوات رغم وجود

نفس الاثار في كلا الضحيتين!

تم فحص 5500 رجل في المدينة نفسها ولم يتم العثور على الجاني!

أهمية الحمض النووي في البحث الجنائي- قصة حقيقة

- Colin Pitchfork خباز المدينة و صديقة Ian Kelly
- تم قفل القضية بعد حلها بدون أدنى شك!



Genetic test traps girls' killer

By Paul Hoyland

A man who killed two 15-year-old girls and was caught as the result of the first mass screening for genetic fingerprints, was sent to prison for life yesterday. He had tried to avoid the test by talking a workmate into taking it instead.

Mr Justice Otton, sentencing Colin Pitchfork, aged 27, at Leicester Crown Court, said he was a danger to young women. Had it not been for the development of the genetic fingerprint test, which identifies unique chromosome patterns from a simple of blood or saliva, he might still be at large.

Pitchfork, of Littlethorpe, near Leicester, who is married with two children, admitted strangling teenagers Lynda Mann and Dawn Ashworth in 1983 and 1986. He was sentenced to life imprisonment on two counts of murder, and was also gaoled for ten years on two counts of raping the girls.

He admitted two charges of indecently assaulting two other girls and was gaoled for three years on each count. He also received three years for conspiring to pervert the course of justice by getting Ian Kelly to take his place on the genetic test. All sentences are to run concurrently.

Kelly, aged 23, of Leicester, admitted conspiracy and was jailed for two years, suspended for 18 months. The prosecution accepted that he did not know he was shielding the killer. The deception was revealed by another workmate.

Colin Pitchfork: tried to avoid DNA test

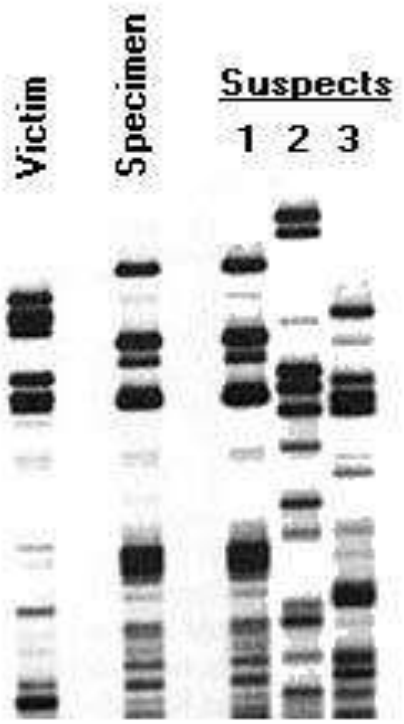
The court heard that Pitchfork had killed Lynda Mann after driving his wife to an evening class. He left his four-month-old son in a carrycot in the car while he stalked the girl on a footpath near Narborough. He was alleged to have told police: "I ripped her clothes off and jumped on her and beat her up".

Mr Brian Escott Cox, QC, prosecuting, said: "He exhibited great self control and what must have been a total lack of remorse — neither his wife, whom he picked up later, nor anyone else, suspected he had been involved in this terrible crime."

Three years later he carried out the identical rape and murder of Dawn Ashworth, who suffered "appalling injuries". A man working nearby heard her screams but thought someone was playing about.

Pitchfork told police he killed the girls because he feared they would identify him. The court heard he enjoyed exposing himself to young women and was a sexual psychotic.

Evasive double killer, page 4

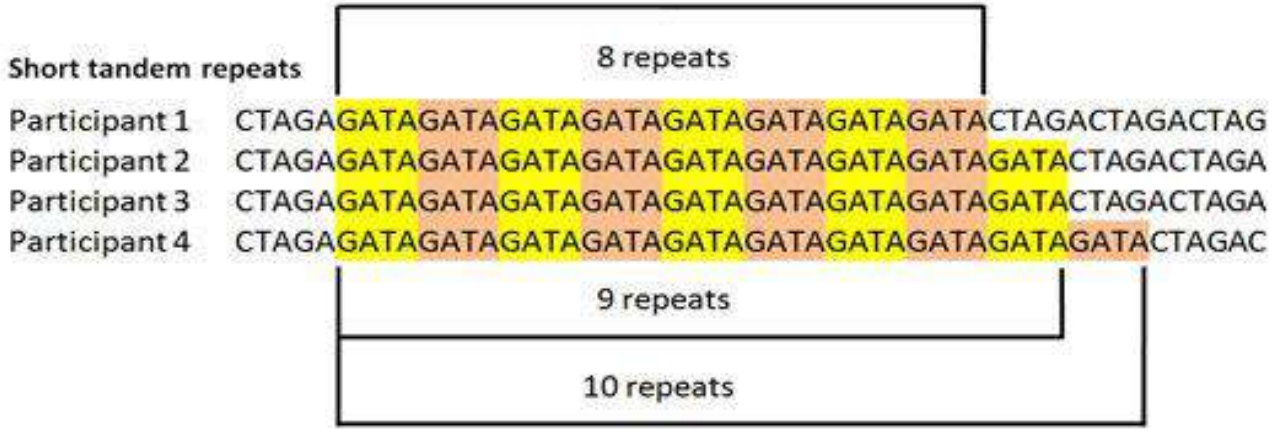


من هو الجاني من المتهمين suspects 1–3 والذي يطابق العينة specimen المأخوذة من الضحية victim

https://www.theguardian.com/uk-news/2016/jun/07/killer-dna-evidence-genetic-profiling-criminal-investigation

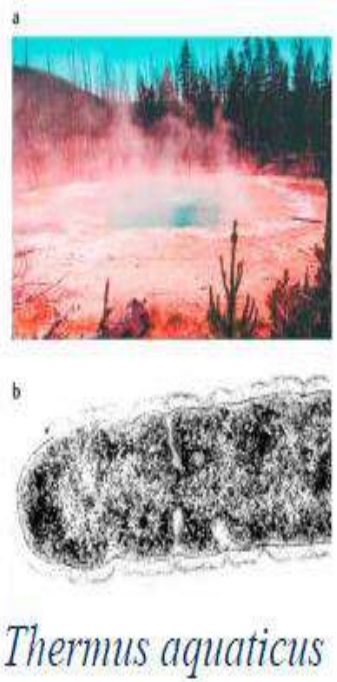
ماهو الفرق بين النوعين من التسلسل المتكرر
Repeated sequence

Microsatellite DNA Short Tandem Repeats (STR) Or (SSR)	Minisatellite DNA Variable Number of Tandem Repeats (VNTR)	الصفات
2 – 6 bp	10 – 100 bp	عدد القواعد النيوكلوتيدية Nucleotide number
5 – >40	7 – 80	تكرار الوحدة Repeat Unit
(CT)*5	(CTAGAAGCGC)*7	مثال Example



Polymerase Chain Reaction تفاعل البلمرة المتسلسل

- اكتشف Kary Mullis في سنة 1983 تفاعل البلمرة المتسلسل لمضاعفة الحمض النووي وحصل على اثرها جائزة نوبل في *1993*

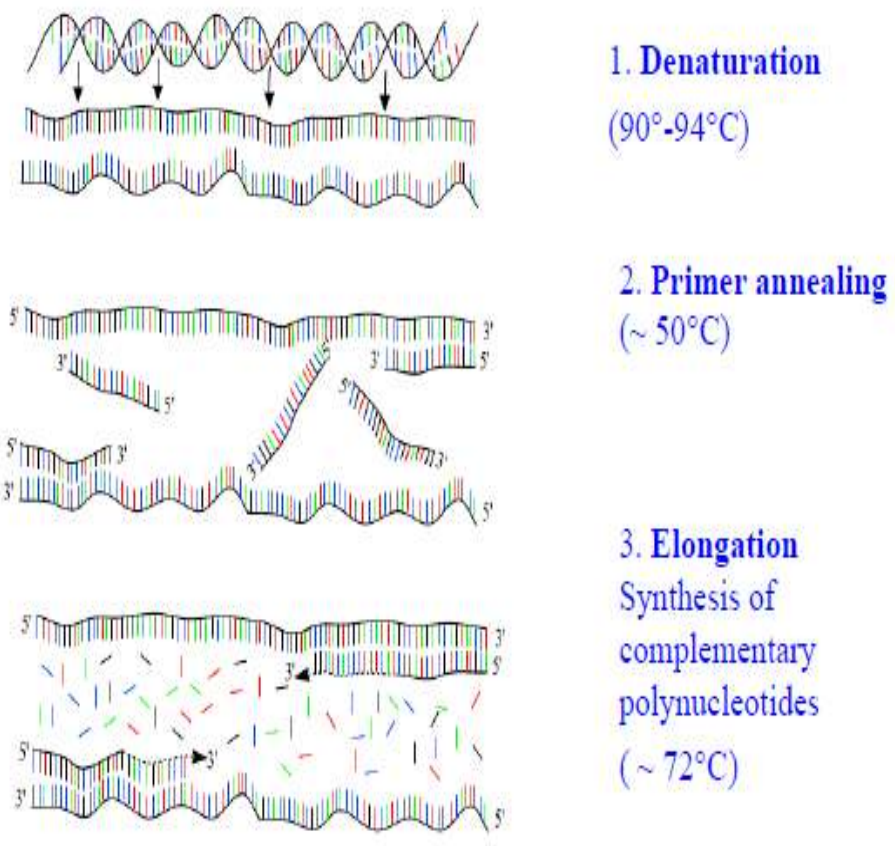


- من البكتريا *Thermus aquaticus* المقاومة للحرارة العالية والتي تعيش في الينابيع الحارة تم عزل انزيم يتحمل الحرارة Taq, DNA polymerase

مكونات تفاعل البلمرة المتسلسل في انبوبة التفاعل نضع:

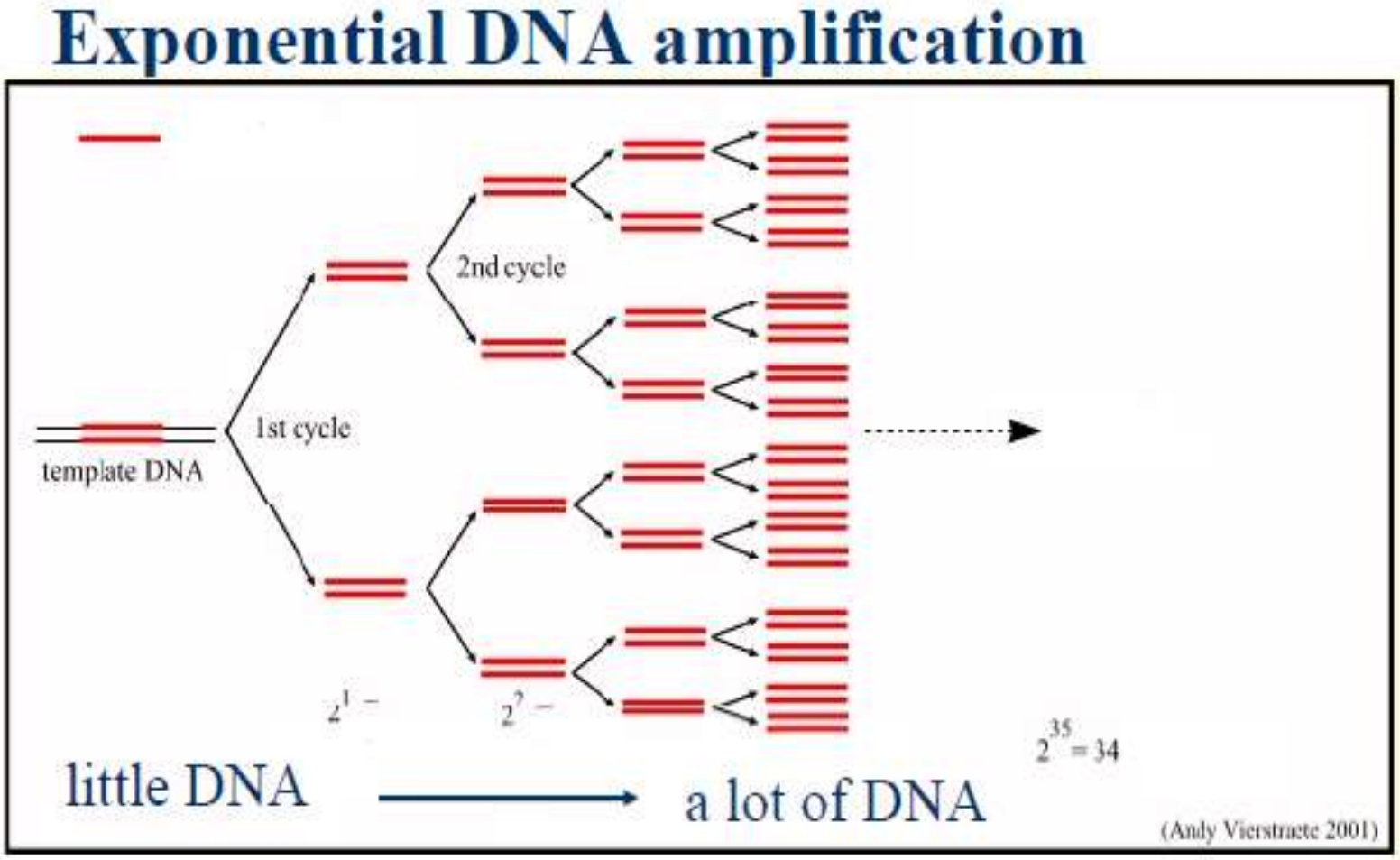
- عينة DNA الحمض النووي المطلوب مضاعفتها تكون القالب الاساسي
- برايمر لكلا خيطي الحمض النووي Primer وهو بادئه لقيادة سلسلة DNA
- Taq.DNA polymerase لمضاعفة الحمض النووي
- قواعد نيوكلوتيدية متعددة A,T,G,C

Polymerase Chain Reaction تفاعل البلمرة المتسلسل



- كسر الخيط المزدوج للحمض النووي للعينة المطلوب مضاعفتها عند درجة حرارة من 90-94 مئوية.
- التحام البرايمر مع كلا قالبي الحمض النووي واحد في كل اتجاه عند درجة حرارة من 50 مئوية تقريبا.
- استطالة السلسلة عند درجة حرارة 72 مئوية تقريبا وتكون قالبين من شريط الحمض النووي مزدوجين ويشابهان القالب الاصلي للعينة

يتم تضاعف الحمض النووي بكمية كبيرة (اسياً– exponential) تعادل عدد دورات التفاعل مرفوعة اس للرقم 2 لذلك نخرج بكمية كبيرة من الحمض النووي تدخل في تفاعلات كشف الأبوة او فحص الجينات او الكشف الجنائي.



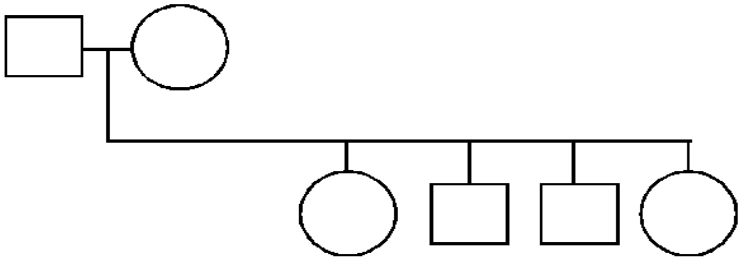
Video for PCR

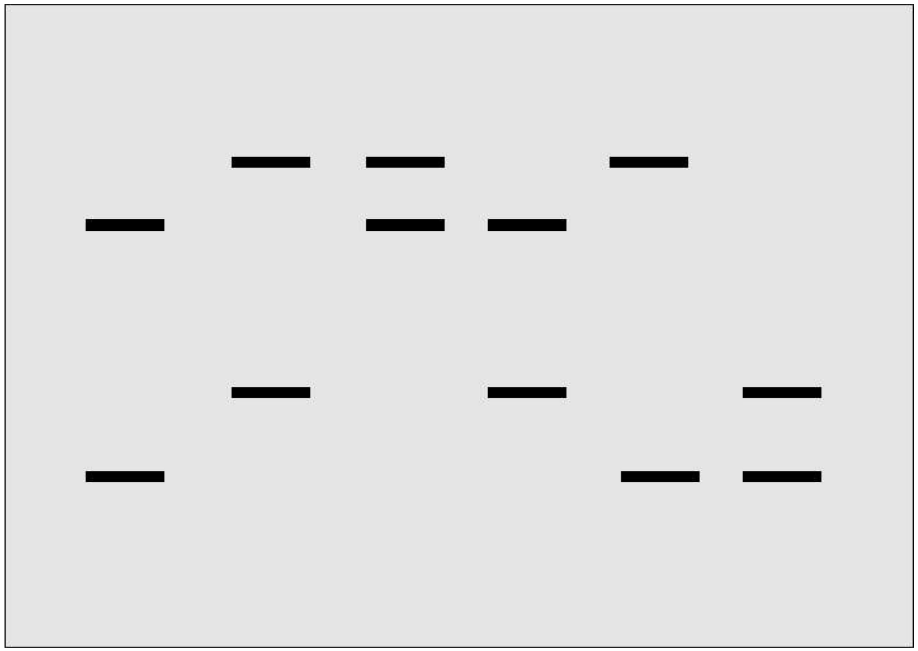
شرح طريقة عمل تفاعل البلمرة المتسلسل

https://www.youtube.com/watch?v=HMC7c2T8fVk

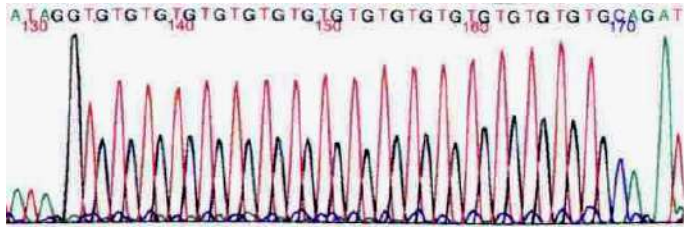
يورث التسلسل المتكرر من الحمض النووي عبر نفس العائلة بين الاقارب

Inheritance of microsatellite alleles



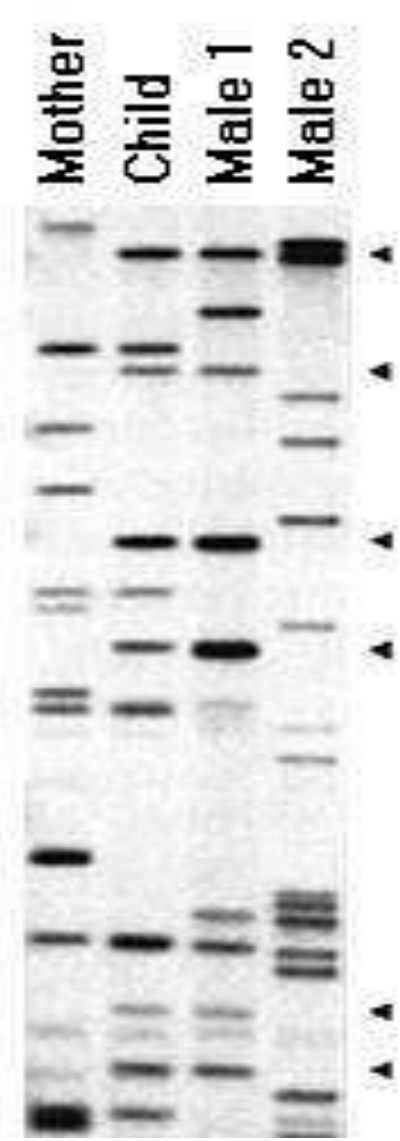


https://www.liverpool.ac.uk/~kempsj/fingerprint.html



Microsatellites المیکروستالایت

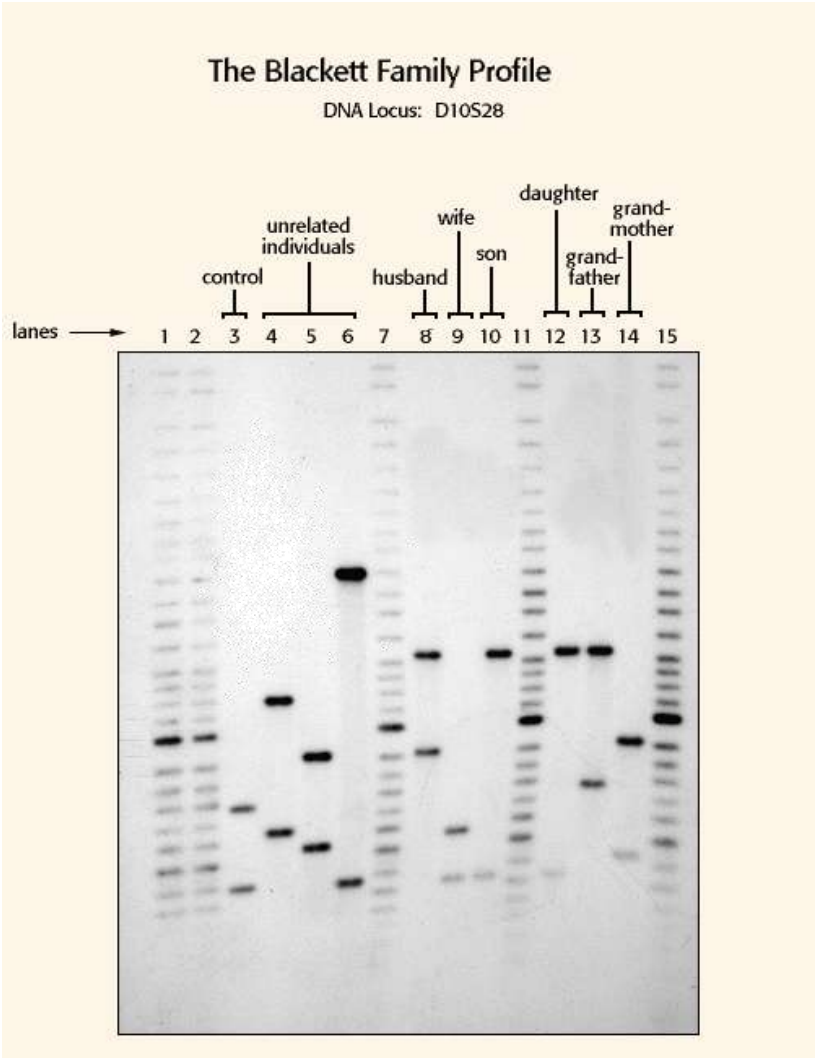
يورث التسلسل المتكرر من الحمض النووي عبر نفس العائلة بين الاقارب



من هو هو الوالد البيولوجي للطفل مع العلم انه تم استبعاد القطعة الموروثة من الام وترك الاخرى الموروثة من الاب لتسهيل الفحص. هل الوالد البيولوجي هو الذكر 1 ام 2 ؟

اختبار إثبات الأبوة بإستخدام الحمض النووي DNA

http://brtlabs.com/wp-content/uploads/2012/09/BRT-Laboratories-Paternity-DNA-Test-Results-Example.jpg



http://www.biology.arizona.edu/human_bio/activities/blackett/graphics/BB-D10S28b.gif

ماتمت دراسته في الوحدة السابقة

- تم التعرف على تركيب الحمض النووي ومعنى عملية النسخ و الترجمة
- خطوات النسخ والترجمة واهمية كل خطوة وعلاقتها بالتعبير الجيني
- مستويات التأثير في الخلية على التعبير الجيني (نواه-سيتوبلازم- الشبكة الاندوبلازمية)
- وسائل تنظيم التعبير الجيني على المستوى الجزيئي
- تفاعل البيئة او اسلوب الحياة مع الجينات وعلاقته بالتعبير الجيني

منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة السابعة

الزراعة النسيجية

Haberlandt

Carrel

- يقصد بزراعة الأنسجة استخدام جزء من النبات قد يكون البذرة أو جزء من البذر أو جزء من الساق أو جزء من الأوراق أو حبوب اللقاح علي بيئة مغذية غالباً ما تحتوي على العناصر الكبرى والصغرى ومصدر للسكريات . كما يمكن زراعة الأنسجة الحيوانية وكذلك البشرية.

- يرجع تاريخ اكتشاف الزراعة النسيجية لبداية القرن العشرين حيث بدء زراعة النسيج النباتي العالم Gottleib Haberlandt واقترح ان النبات الكامل ممكن انتاجه من خلية واحدة في المعمل.
- بينما بدء زراعة النسيج الحيواني العالم Alexis Carrel
- اكتشف White منظمات للنمو والفيتامينات
- (IAA) Indole-Acetic Acid
- (2,4-Dichlorophenoxyacetic acid) 2,4-D
- Naphthaleneacetic acid (NAA)

1957-58 Miller and Skoog

تم اكتشاف cytokinin السيتوكينين والذي يساهم في تعضي النسيج النباتي وظهور الجزء الخضري

تاريخ اكتشاف الزراعة النسيجية

1930كما قام Steward بزراعة النسيج النباتي من الجزر في نفس السنة 1958

Morel 1958-60 زرع انسجة نبات الأوركيد.

- ولم تصل الزراعة النسيجية لمرحلة متقدمة حتى تم اكتشاف البيئة الصناعية لزراعة النسيجية بواسطة العالمان موراشيجي وسكوج في عام (Murashige & Skoog, 1962)
- تقدمت الزراعة النسيجية اكثر بالتعديل الجيني بواسطة النواقل الجينية مثل الفيروسات والبكتريا او بواسطة المسدس الجيني.

انواع الزراعة النسيجية Tissue culture

- الزراعة النسيجية هي مصطلح يستخدم لتنمية الخلايا صناعيا في المعمل. ويتضمن تنمية الخلايا من النبات او الحيوان.
- الخلايا الناتجة من الزراعة النسيجية تكون مطابقة للاصل ولها نفس النوع الجيني (فيما عدا إذا تعرض لطفرة).

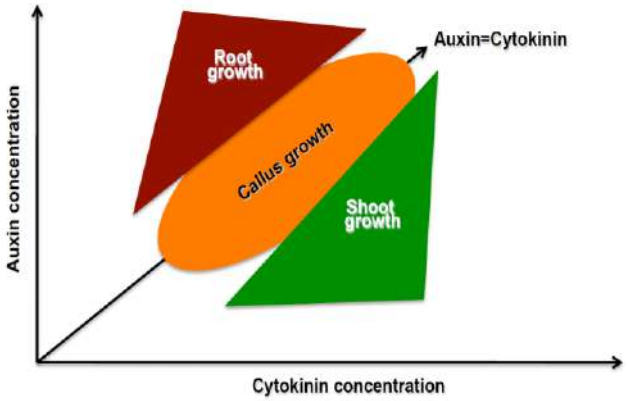
وتنقسم الزراعة النباتية إلى عدة انواع حسب الهدف منها:

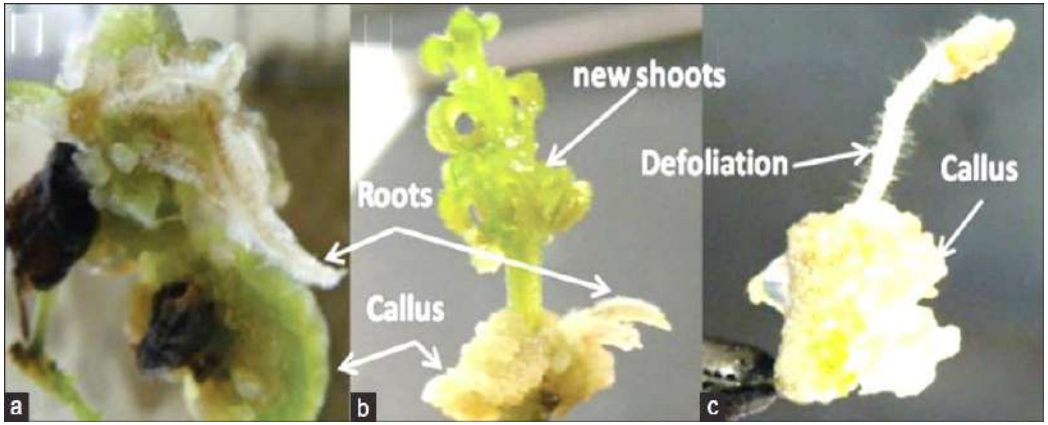
1. الزراعة النسيجية لانتاج النبات Tissue culture for plant production (PP)
2. الزراعة النسيجية لتربية النبات Tissue culture for plant breeding (PB)
3. الزراعة النسيجية بغرض الهندسة الوراثية Tissue culture for genetic engineering (GE)

Plant tissue culture- classical biotech التقنية الحيوية التقليدية في زراعة الأنسجة

يتم استخدام هرمونات نباتية في كل مرحلة حسب الحاجة

- في مرحلة التجذير يتم استخدام الاوكسينات فقط Auxins
- في مرحلة الكالوس وتكون الخلايا مزيج من الهرمونين الاوكسينات والسيتوكينيات
- في مرحلة تكوين الورق والساق يتم استخدام السيتوكينيات فقط Cytokinin's

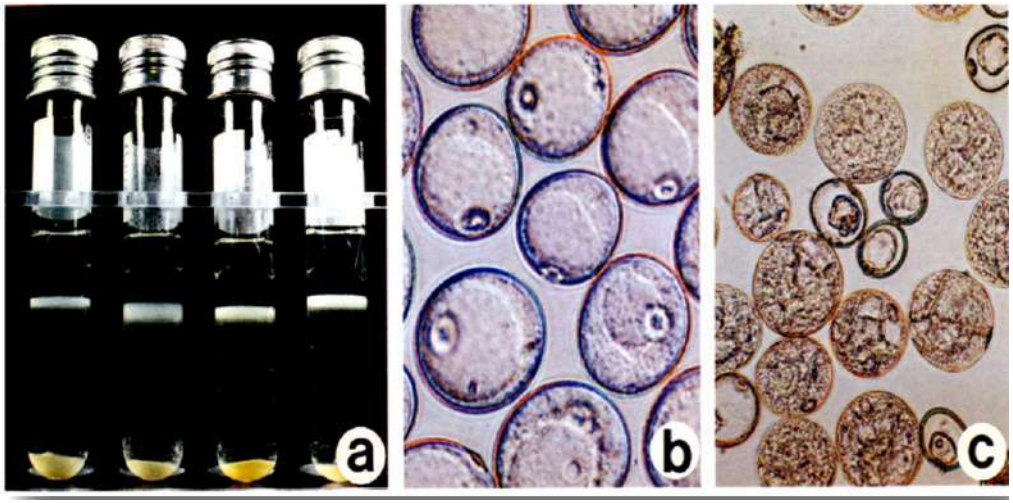




الزراعة النسيجية Tissue culture

ويتم فيها استخدام مواد نباتية خالية من الميكروبات ومعقمة من الممكن انتاج نبات كامل عن طريق زراعة جزء صغير من النبات في حاويات بلاستيك او علب زجاج معقمة وفي ظروف معقمة بالطرق التالية:

- من خلية واحدة يمكن انتاج نبات كامل.
- دمج البروتوبلاست وتقنيات الزراعة.
- انتاج النبات من الأوراق.
- انتاج النبات من حبوب اللقاح او الطلع
- انتاج النبات من الجنين (الجنين في البذور النباتية)
- انتاج النبات من الخلايا المرستيمية
- انتاج النباتات من معلق الخلايا أوالكالوس.



مالذي نحتاجه عند الزراعة النسيجية للنبات والحيوان؟

- النسيج المناسب Appropriate tissue فبعض الأنسجة افضل من غيرها.
- بيئة نمو مناسبة Suitable growth medium تحتوي على املاح معدنية ومواد لنمو الخلايا وقد تكون البيئة سائلة او نص صلبة.
- ظروف تعقيم Aseptic (sterile) conditions نظرا لأن البئية قد ينمو بها كائنات دقيقة اسرع نموا من النسيج النباتي او الحيواني وقد تسنزف المواد الغذائية في البيئة.
- منظمات نمو Growth regulators مثل الاوكسينات والسيتوكينيات auxins & cytokinins في النسيج النباتي . بينما تكون منظمات النمو في النسيج الحيواني مضافة في المصل او السيروم serum المستخلص من النسيج النباتي المطلوب زراعته .
- تكرار نقل النسيج Frequent subculturing بعد اتمام نموه إلى بيئة جديدة تفاديا لتراكم منتجات الايض الناتجة عن نمو النسيج في البيئة .

مراحل الزراعة النسيجية النباتية:

- المرحلة الأولى: إعداد الجزء المستخدم فى التكاثر وزراعته فى بيئة معقمة
- المرحلة الثانية: مرحلة التضاعف للخلايا المستزرعة
- المرحلة الثالثة: مرحلة التجذير
- المرحلة الرابعة: مرحلة الأقلمة والنقل للبيئة الخارجية

خطوات زراعة او اكثار الأنسجة الدقيقة micropropagating

الخطوة 1 Explanting

- يتم اختيار انسجة النبات المعدة للزراعة النسيجية explant من انسجة النبات الأم الصحيحة والنشطة وغالبا ماتكون من منطقة البرعم الطرفي apical bud.
- وتعتبر الأنسجة الصغيرة في العمر و الغضة اسهل وافضل من الأنسجة الخشبية والكبيرة في العمر.
- ثم يتم تعقيم الأنسجة سطحيا للتخلص من الميكروبات العالقة على السطح.
- يتم زراعة الأنسجة على البيئة المغذية لتحافظ على النسيج النباتي وتشجعه نمو الخلايا.
- توجد بعض متطلبات النمو الخاصة بكل نوع من النبات قد تضاف لبيئة النمو ويتم اختبارها ومعرفتها كل على حدة .

خطوات زراعة او اكثار الأنسجة الدقيقة micropropagating

Dividing shoots

الخطوة 2

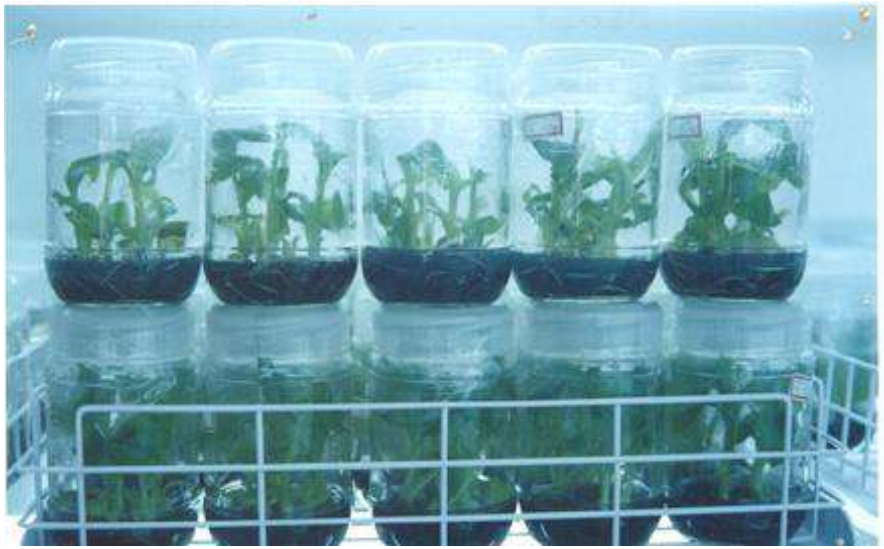
عند تضاعف الخلايا يتكون نسيج الكالوس callus مفكك فوق بيئة النمو.

يتكاثر الكالوس مع اختلاف تركيز السكر وهرموني الأكسين تحت تركيز منخفض او السيتوكينين auxin تحت تركيز مرتفع cytokinin ليسمح في هذة الفترة لنمو الجزء الخضري او الساق Shoot formation.

بينما يتكون الجزء الجذري root formation حينما يتم رفع هرمون الاكسين بينما و خفض تركيز السيتوكين.

الدف والاضاءة الجيدة مهمة لنمو الانسجة.

Warmth and good light are essential



زراعة او اكثار الأنسجة الدقيقة micropropagating

الخطوة 3

- حينما تصل النباتات لمرحلة التجذير يتم تقليل نسبة الرطوبة تدريجيا لإتاحة الفرصة لتقوية النبات واقلمته ووضعها في اصص مع تربة في البيت المحمي.
- تتميز النباتات المنتجة بطريقة الزراعة النسيجية بقدرتها السريعة على التضاعف بعدد كبير جدا من جزء صغير من النبات وبنفس المواصفات للنبات الأم ولذلك تنتج النباتات بكميات التجارية. وتستخدم هذة الطريقة في اكثار الأصناف النباتية الجديدة.
- الجزء المأخوذ من النبات لايسبب تلف النبات الأم ويمكن انتاج نباتات منه على مدار السنة

Tissue culture plants sold to a nursery & then potted up

ماهي مميزات زراعة او اكثار النباتات؟

- في النباتات المعرضة للفيروسات تتميز الزراعة النسيجية بأن إجزاء النبات تكون معقمة وخالية من الفيروسات
- من الممكن حفظ الأنسجة النباتية مجمدة وزراعتها باستمرار.
- من الممكن تصدير النباتات المزروعة نسيجيا لانها محفوظة في بيئة وذلك اسهل جدا من تصديرها وهي مزروعة في تربة.
- الزراعة النسيجية تسهل عملية انتخاب افضل الأنواع النباتية.
- الزراعة النسيجية تأتي مطابقة للنسيج الأم من حيث النوع والصفات بعكس البذور المزروعة والتي تأتي بصفات متنوعة.
- إكثار النباتات التي يصعب إكثارها بالطرق المعتادة وفي وقت قصير.
- تربية النباتات المرغوبة والحصول على طفرات جديدة جيدة المواصفات.
- استخدام الهندسة الوراثية بصورة أكثر سهولة.
- إنتاج المواد العطرية أوالطبية من انسجة النباتات بطريقة سريعة و اقتصادية في المعمل.

ماهي اهمية بيئة الزراعة النسيجية؟

- توفر الماء اللازم لحياة الخلية.
- توفر مصدر للبناء والطاقة كالكربوهيدرات وافضلها السكروز
- توفر العناصر المعدنية الضرورية للحياة وعددها 17.
- توفر الفيتامينات.
- توفر المركبات العضوية.
- توفر البيئة المناسبة لتبادل الغازات.
- توفر بيئة مناسبة لمخلفات الأيض الناتجة عن العمليات الحيوية.

ماهي محتويات بيئة الزراعة النسيجية؟

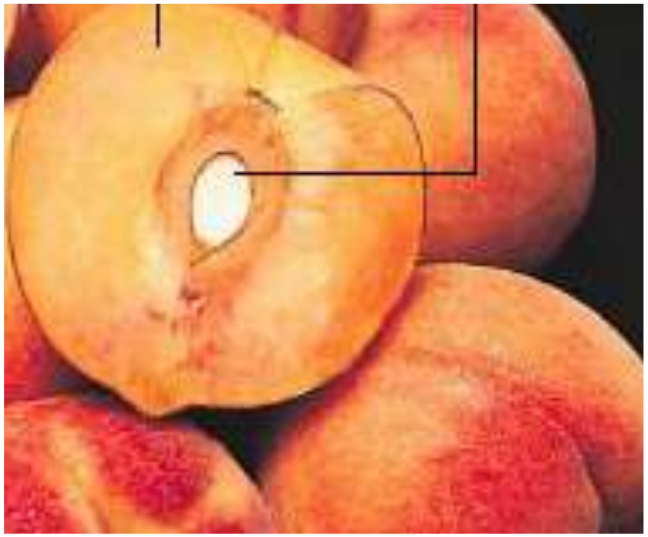
- فيتامينات (ثيامين-بيرودوكسين-حمض النيكوتين-بيوتين-حمض الأسكوربيك-اونوستيل).
- منظمات النمو مثل الاوكسينات والسيتوكينيات وحمض الجبريليك والابسيسك.
- عادة يكون الاس الهيدروجيني او درجة الحموضة pH 5.0-5.7 .
- ولابد ان تكون البيئة معقمة عند درجة 250 فهرهنيت تحت ضغط 15 ولمدة 15 دقيقة.

ماهو نمط التضاعف في الزراعة النسيجية؟

- عند المرحلة الأولى تكون الإضاءة اقل شدة من 100- 300 شمعة
- عند التجذير او المرحلة الثانية تكون شدة الأضاءة 1000-3000 شمعة

الزراعة الجنينة Embryo Culture

- تكمن اهميتها في تجاوز الكمون الذي يحدث في البذور.
- تجاوز عدم نضج البذور ونموها بالشكل المطلوب.
- زراعة الأصناف النباتية النادرة الناتجة عن التلقيح الذاتي او البذور العقيمة.
- الزراعة الجنينية اسرع في النمو بعكس الزراعة عن طريق البذور نفسها.



الزراعة النسيجية للنباتات احادية الكروموسوم Haploid Plant Production

- تؤخذ من اجنة بعض النباتات الناتجة عن تزواج بعض الاصناف النباتية.
- الزراعة النسيجية لحبوب اللقاح Anther culture: تؤخذ من حبوب اللقاح او من طلع النباتات الناضجة ولابد من معالجة الحبوب اولا بالحرارة او البرودة لتنشيطها وتحويل مسارها إلى المرحلة الجنينية بدون تلقيح .
- الزراعة النسيجية للبويضات Ovule culture من طلع النباتات الناضجة غير الملقحة ومناسبة لبعض النباتات مثل البصل والبطيخ.
- تتميز النباتات احادية الكروموسوم بإنها ضعيفة وعقيمة ولكن من الممكن مضاعفة الكروموسومات اما بالطفرات الطبيعية او المستحدثة بإستخدام المواد الكيميائية مثل الكولشسين Colchicine.

منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية

المحاضرة الثامنة

الزراعة النسيجية الحيوانية أو البشرية

1951 جاءت احد عاملات مزارع التبغ Henrietta Lacks لمستشفى جون هوبكنز. كانت تبلغ من العمر 30 ومصابة بسرطان الرحم. اخذ الدكتور المشرف عليها بدون علمها عينة من السرطان وارسلها لأحد الباحثين في المعمل لزراعتها والغريب انها نمت رغم فشل محاولاتهم السابقة لتنمية الأنسجة!

توفيت المريضة Henrietta Lacks ولكن بقية خلاياها كأول نسيج تم استزراعه لتبقى حية حتى وقتنا هذا وتمت تسميتها بإختصار اسمها HeLa cells ومازلت حية رغم مرور 66 عام!

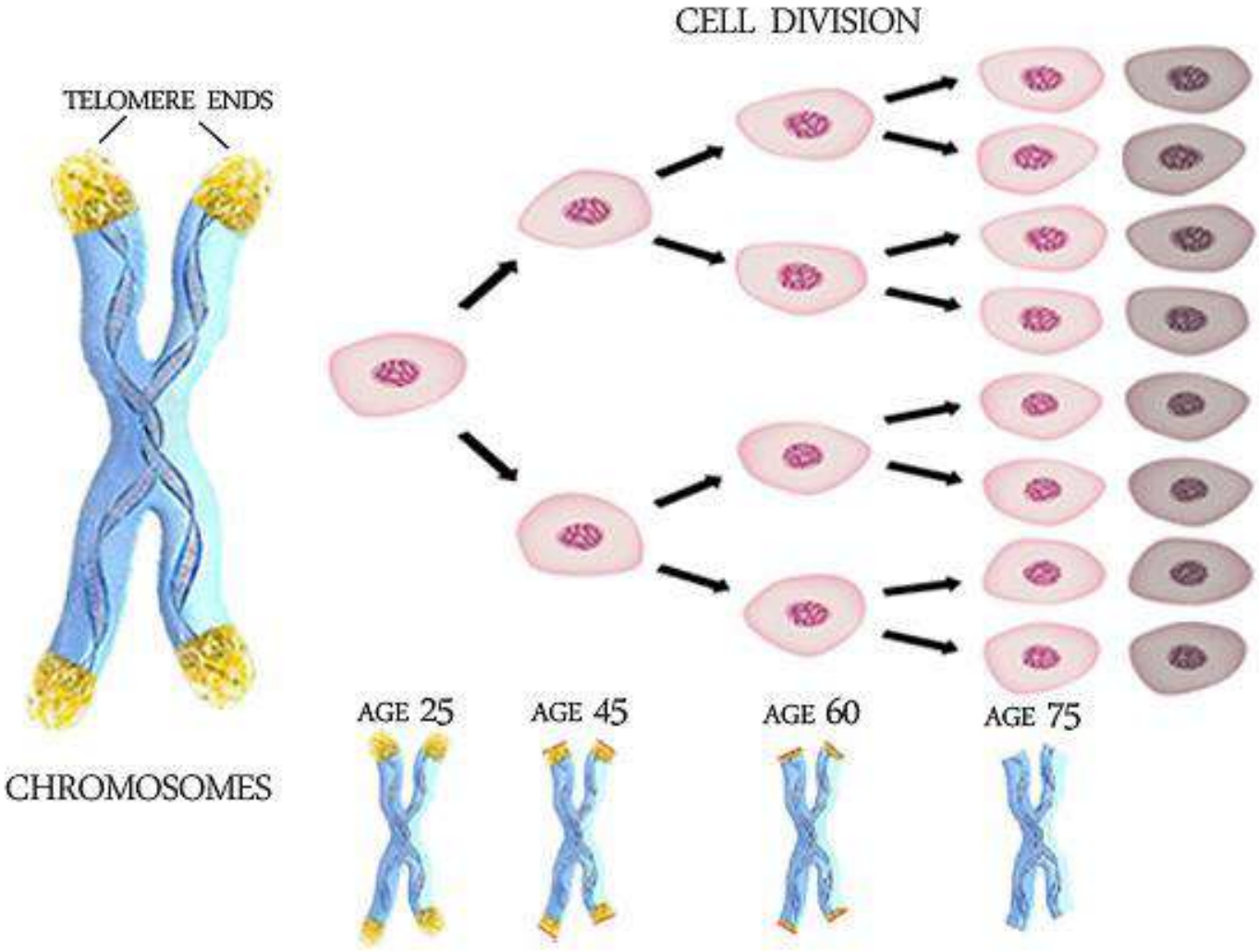
- تمت دراسة العديد من الأمراض وتصنيع ادوية لها بإستخدام خلايا Henrietta Lacks
- على مدار سنوات تمت استزراع خلاياها وبيعها وجني ملايين الدورلارات منها دون علم ابنائها الخمسة او زوجها!

THE MIRACLE OF 'HELA'

Tissue of a woman dead 25 years has strangely survived as a major tool in fight against cancer

ماهو سر بقاء انسجتها حية رغم وفاة العديد من الخلايا الأخرى!؟

Telomerase!


TELOMERE ENDS
CHROMOSOMES
CELL DIVISION
AGE 25
AGE 45
AGE 60
AGE 75

الزراعة النسيجية الحيوانية أو البشرية

تجري زراعة النسج الحيوانية أو البشرية في بيئة معقمة في مراحلها المختلفة، لأن الخلايا أوالنسيج التي تؤخذ من الجسم وتُعزل عن أعضائه تفقد مقاومتها المناعية وإمكانية دفاعها ضد التعفن أو مقاومة الميكروبات ولهذا يجب منع وصول الجراثيم والفيروسات والفطور وغيرها إلى وسط الزراعة.

لذا تجرى عملية استئصال عينات النسج المراد زراعتها بأدوات تشريح أو جراحة معقمة ودقيقة وقاطعة وفي مخابر صغيرة يُدخل إليها عن طريق ممر خاص لمنع التيارات الهوائية والتلوث. وتزوَّد حاضنة الزراعة، المعقمة بالأشعة فوق البنفسجية، بالهواء المرشح ويضع الباحثون الكمامات على وجوههم. ويجب أيضاً أن تكون التجهيزات والأدوات والأواني الزجاجية المستخدمة نظيفة ومعقمة جيداً.

- يتم استخدام خلايا حيوانية او بشرية مفككة بطريقة ميكانيكية.
- وتحتوي بيئة النمو على انزيمات محلله للبروتين مثل التربسين.
- عناصر و أملاح + احماض امينية + مصدر طاقة كربوني و عناصر نمو.
- اضافة المضادات الحيوية كما يضاف كاشف لوني لمعرفة درجة الأس الهيدروجيني

مزارع نسيجية أولية او ابتدائية

تؤخذ الخلايا مباشرة من الحيوانات وتوضع في بيئة غذائية
ممكن ان تكون هذه الخلايا من أي عضو (كلى , كبد , أو غيرها) تتكون من أنواع مختلفة من الخلايا
تكون لها القدرة المحدودة على النمو فلا تتجاوز انقساماتها الخلوية 5-10 مرات وذلك فإنها تدعم تكاثر مدى واسع من الفيروسات وإنتاج اللقاحات.

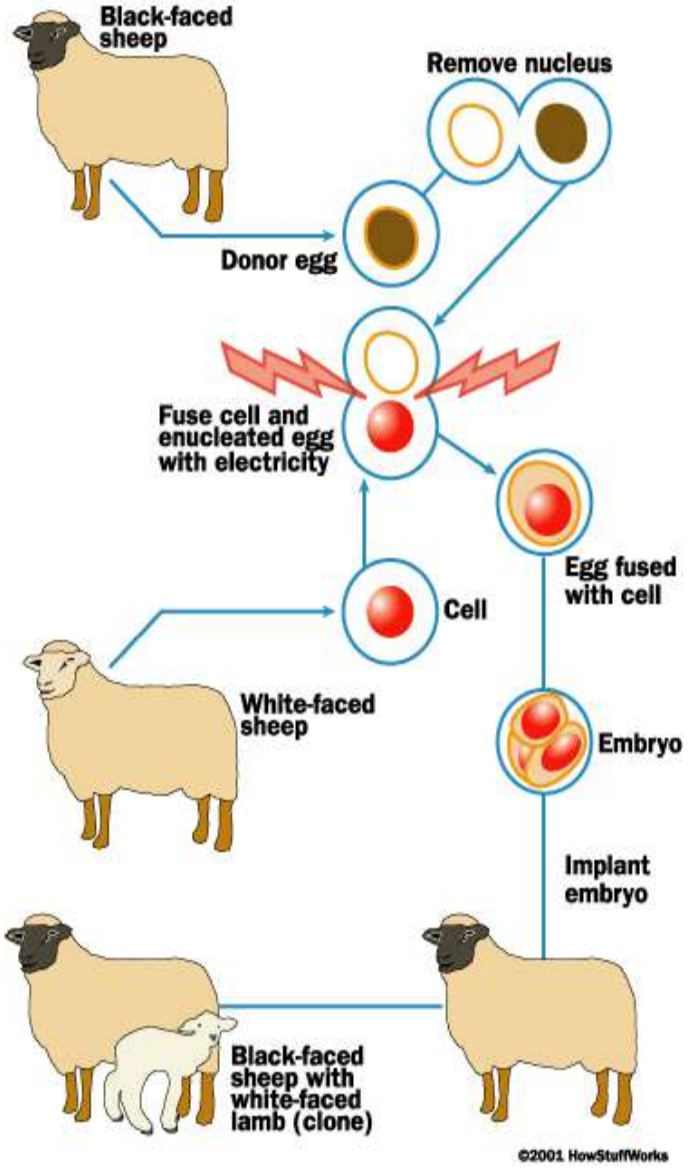
وتستخدم لهذا الغرض مزارع ابتدائية مشتقة من :
كلى القرود, الكلى الجنينية للإنسان , او من أجنة الفئران أو الدجاج

ومن أمثلتها:

مزارع كلى الأبقار لتنمية لقاح فيروس الطاعون البقري

المزارع النسيجية ثنائية الصبغة (ثنائية الكروموسومات)

تكون لها القدرة على أن تنقسم في المعمل لنحو 100 جيل قبل أن تموت
تحتفظ هذه الخلايا بأعداد الكروموسومات الزوجية كالأصل تماماً وتحتفظ بتكوينها الوراثي والفسيولوجي.
وتوزع هذه الخلايا في وسط نمو للحفاظ مضافاً إليها الجليسرول أو ثنائي ميثيل سلفوكسايد ومبردة بالتدريج ومخزنة
في عبوات صغيرة مثل النيتروجين السائل وتستخدم عبوة لعمل مزارع نسيجية تكفي لغرض التجربة



الاستنساخ

- اول حيوان مستنسخ او تم تعديله جينيا هي النعجة دوللي والتي ولدت 1996 وتم إعلان نجاح عملية الاستنساخ 1997 وتوفيت 2003
- تم استنساخ دوللي من خلية نعجة لها من العمر 6 سنوات عبر نقل نواة خلية جسدية من نعجة إلى خلية مخصبة. تم أخذ نواة من ضرع النعجة الأم التي استنسخت منها النعجة دولي بعد اعادة برمجتها لتعمل كخلية جنينية قادرة علي التكاثر.
- حيث تم نقل النواة من الخلية الجسدية إلى خلية بويضة مخصبة zygote تم ازالة نواتها ودمجها باستخدام الكهرباء.
- تم زرع هذه البويضة الحاملة لنواة جديدة برحم أم جديدة لاستكمال الحمل ثم انقسمت الى عدد من خلايا مكونة الجنين وعند الولادة كان الجنين طبق الأصل من النعجة المستنسخة.

ابحاث الأستنساخ العلاجي

- تم استنساخ العديد من الحيوانات بعد النعجة دولي
- مثل القطط– الخنازير–الفئران–الماعز–العجل–الارانب

العقبات في الإستنساخ سابقا

العملية لاتحمل كفاءة عالية وتحدث وفيات عديدة للكائن المستنسخ وإذا ولد يكون بعمر اكبر من المولود الطبيعي ينمو بسرعة اكبر في رحم الأم وغير طبيعي وقد يحدث به تشوهات

تسمى عملية الإستنساخ ب نقل نواة الخلايا الجسدية SCNT: Somatic Cell Nuclear Transfer

حيث يتم استنساخ الخلايا البشرية الجسدية للشخص البالغ لتوضع في خلية مخصبة بعد استبدال نواتها بنواة الخلية الجسدية والتي من الممكن ان تعطي جميع انواع الأنسجة الصحيحة والتي تنقل مرة أخرى للمريض للتغلب على رفض الجسم المناعي لأي جسم غريب

ومن الممكن ان تزرع الخلية معمليا لتتمايز إلى الأنسجة المختلفة حسب المطلوب

او تزرع في رحم ام حاضنة لتوفير بيئة مناسبة لنمو الجنين وتطوره وتغذيته وهناك يكمن الجدل الإخلاقي!!

ويعتبر زرع الخلية المستنسخة في رحم ام حاضنة جريمة وغير قانوني في كل انحاء العالم!

امثلة للأمكانيات العلاجية للخلايا الجذعية المأخوذة من الأنسان البالغ

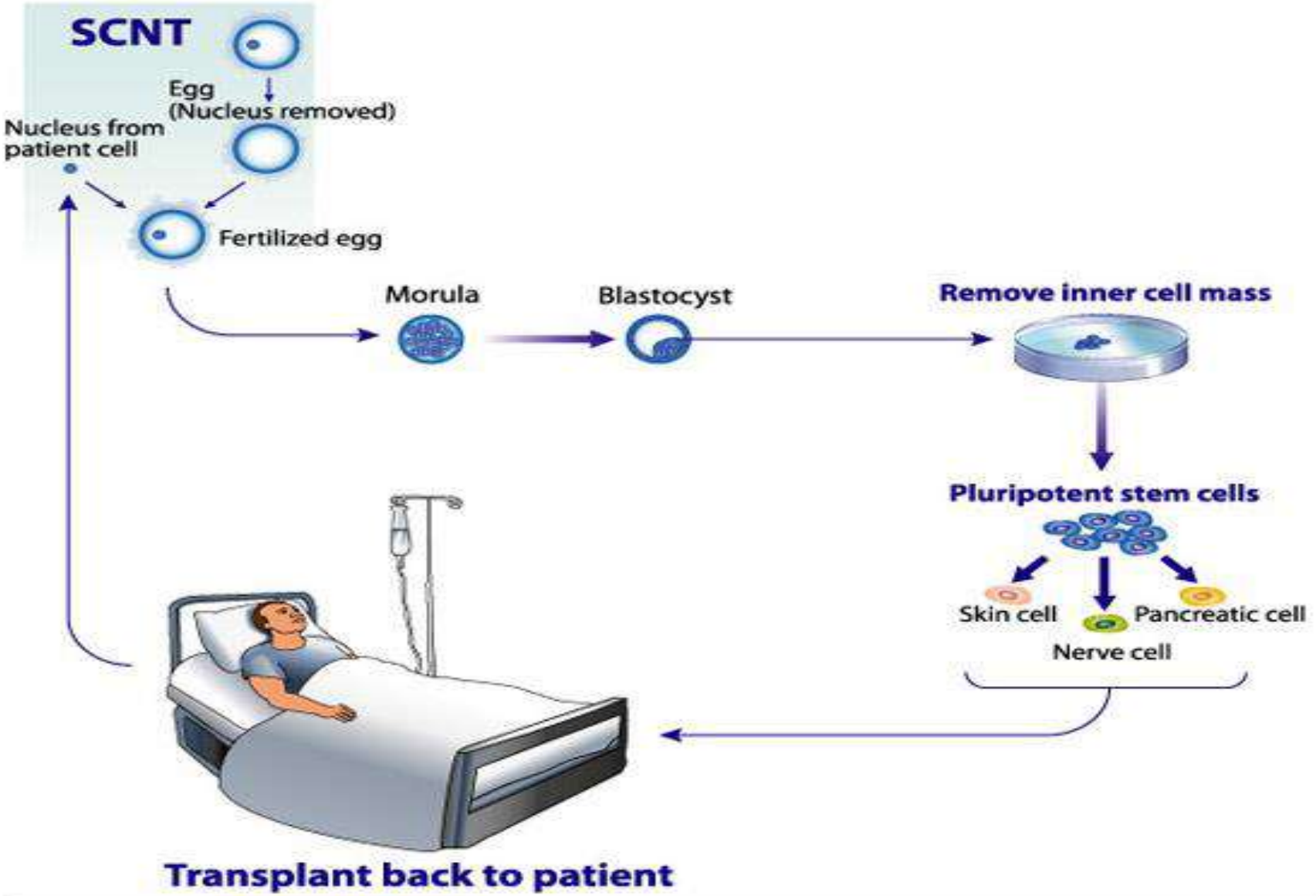


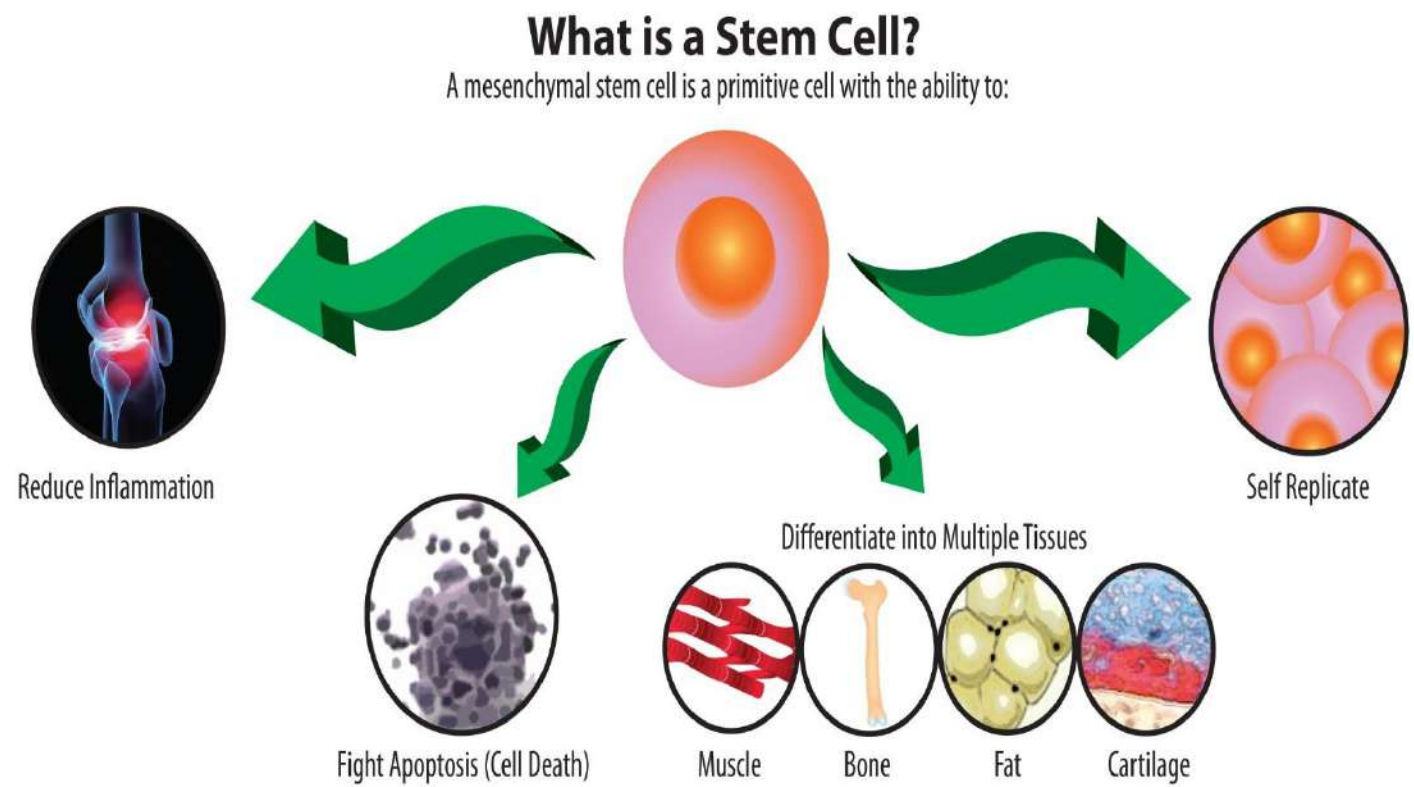
Illustration by Cell Imaging Core of the Center for Reproductive Sciences.

الخلية الجذعية Stem cells

هي خلايا لم تتمايز بعد undifferentiated إلى انواع الخلايا المختلفة في الجسم ولذلك من الممكن إعادة توجيهها لتعطي انواع أخرى من الخلايا وتحمل العديد من الأمكانيات بعد دراسات وابحاث عديدة بدأت سنة 1998

والخلايا الجذعية تتميز بكروموسومات نشطة لوجود انزيم telomerase النشط ليحمي اطراف الكروموسات من التآكل المسبب للشيخوخة!

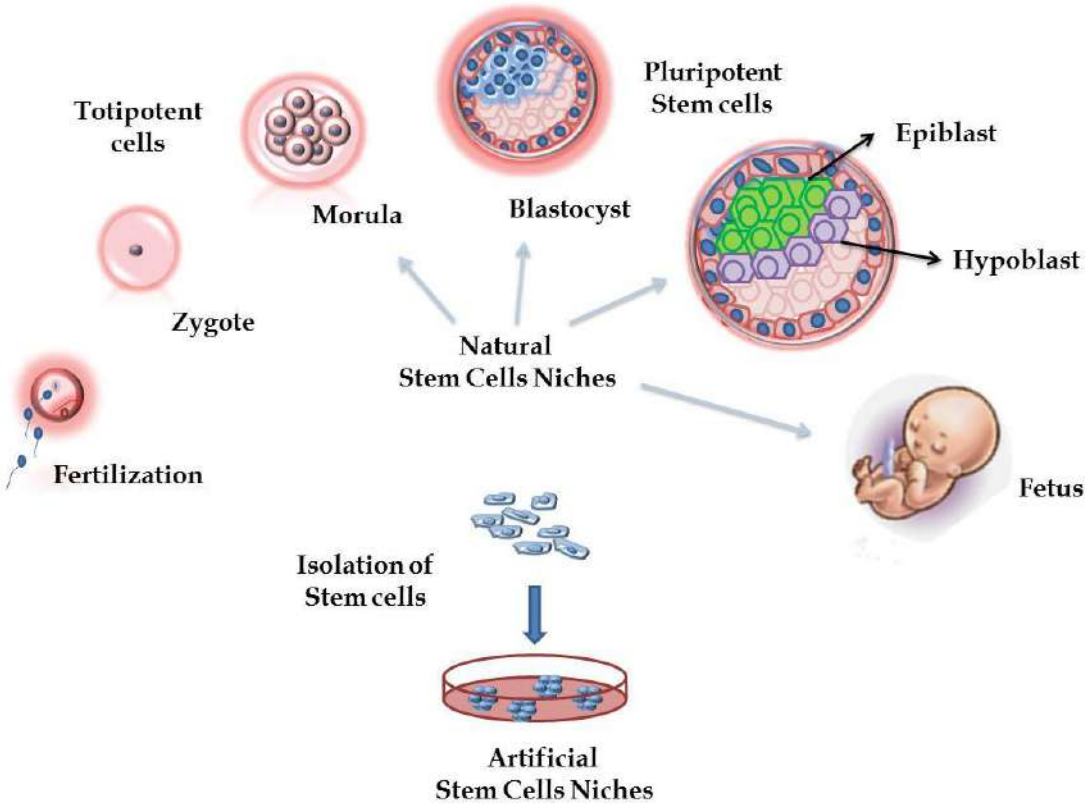
- نوع يستخدم في العلاج مباشرة
- الأستنساخ العلاجي لتعويض عضو او خلايا تالفة
- العلاج الجيني
- ابحاث مرض السرطان
- ابحاث عامة

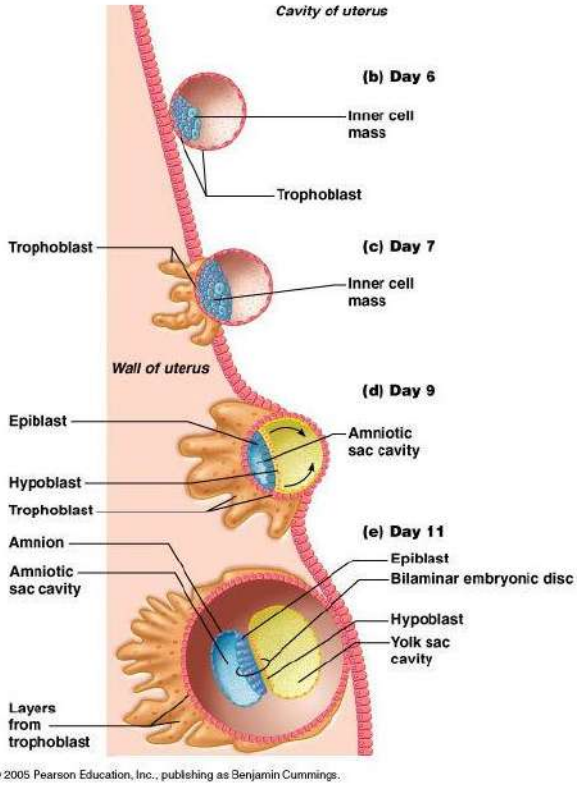


يوجد ثلاث انواع من الخلايا الجذعية

1. الخلايا الجنينية او الخلايا الاديمية الجذعية Embryonic stem (ES) cells and epiblast stem cells

تؤخذ من الخلايا الجنينية بعمر 5 ايام بعد عملية الأخصاب ويمكنها ان تتمايز لاي نوع من الخلايا الأخرى بينما epiblast stem cells توجد كذلك في الخلايا الجنيينة ولكن تتكون بعد 9 ايام وتؤخذ بعد زرع الخلايا الجنينية في رحم الام. ممكن اخذ الخلايا الجنينية الجذعية من الأجنة المجهضة او من الزيجوت بعد التلقيح.





2. الخلايا الجذعية النسيجية Tissue stem cells

من الممكن تحفيز الخلايا المستأصلة من نسيج الإنسان البالغ في الظروف المعملية لأنتاج نسيج كامل للنسيج الأصل فقط ويسمى ذلك وحيدة التمايز unipotent

عادة الخلايا المستخلصة من النسيج تكوين وحيدة النوع بمعنى تعطي نفس النسيج الذي اؤخذت منه ولكن في المعمل اصبح بالإمكان تعديل الجينات للخلايا الجذعية لتنتج انواع عديدة multipotent من الأنسجة وليس فقط النوع الأصل.

من الممكن اخذها من الجلد،نخاع العظام، المخ والعضلات والأعصاب كما يمكن أخذ الأنسجة من اسنان الأطفال او الحبل السري للطفل بعد الولادة.

3. الخلايا الجذعية المستحثة للتمايز Induced pluripotent stem (iPS) cells

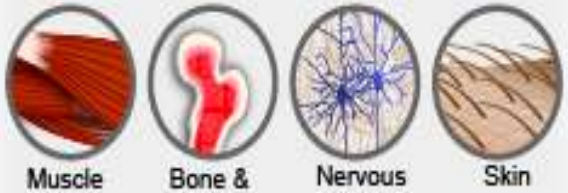
بعد سنوات من الأبحاث تمكن العلماء من تنشيط اي جزء من خلايا الإنسان البالغ عن طريق التعديل الجيني ليصبح مشابها للخلايا الجذعية وقادر على ان يعطي نسيج أخر مختلف عن النسيج الأصل وبدون الحاجة لأخذ النسيج من الاجنة والجدل الذي اثير حول اخلاقيات البحث.

ويسمى تحول خلية جذعية إلى خلية اخرى غير الأصل الذي اخذت منه بالمرونة او اللدونة Plasticity

Types of stem cells and where they come from:

Tissue stem cells

Tissue stem cells allow us to develop, grow, heal and replace worn out cells.

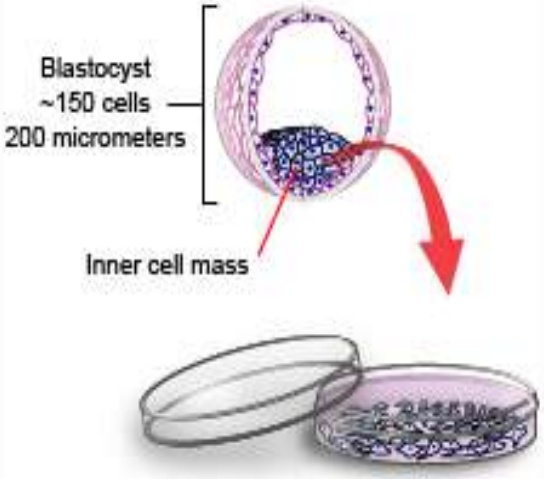


Most tissues have tissue stem cells.

They are important at all stages of life.

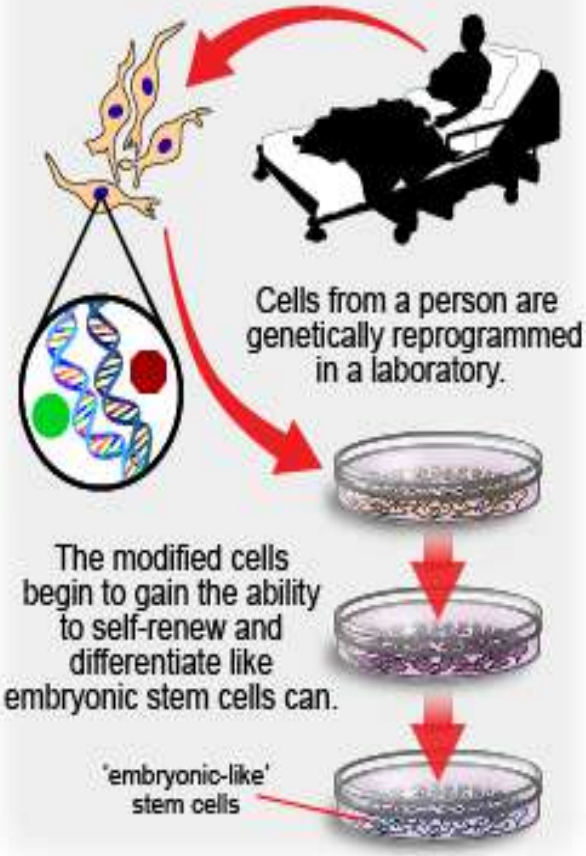
Embryonic stem cells

These cells are created from the inner cell mass of a blastocyst.



Cells are collected then grown on plates in a laboratory.

iPS cells (induced pluripotent stem cells)



آلية تنشيط تمايز الخلايا الجذعية

تتمايز الخلايا الجذعية إلى العديد من انواع الأنسجة وفقا للمحفزات من المواد الكيميائية الخارجية والداخلية

1. المحفزات الداخلية

تشمل الجينات والتي يتم تنشيطها لإستحثاث التعبير الجيني الخاص بالنسيج المراد الحصول عليه

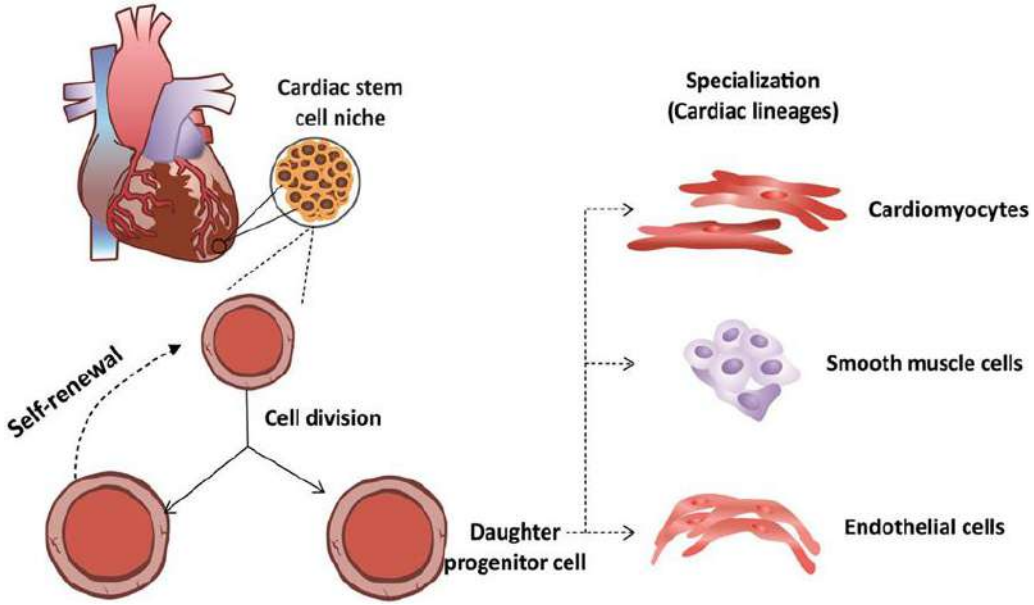
2. المحفزات الخارجية

بيئة النمو والتي تحتوي على هرمونات النمو – سيتوكينيات – تجاور الخلايا وتلاصقها يحفز نموها

امثلة للأمكانيات العلاجية للخلايا الجذعية المأخوذة من الأنسان البالغ

- الخلايا الجذعية المأخوذة من نخاع العظم من نوع Hematopoietic stem cells ممكن ان تعطي صفائح الدم و كريات الدم الحمراء والبيضاء. وكذلك ممكن ان تعطي خلايا القلب
- بينما الخلايا الجذعية المأخوذة من نخاع العظم من نوع Bone marrow stromal cells ممكن ان تعطي العظام والدهون وخلايا الأنسجة الضامة الليفية والغضاريف
- خلايا الدم ممكن ان تعطي اعصاب
- خلايا الكبد ممكن أن تنتج انسولين
- الإبحاث التقنية على الخلايا الجذعية
- اكتشاف الأدوية وتجربتها على الخلايا الجذعية بدل الإنسان او حيوانات التجارب

ابحاث الخلايا الجذعية الأساسية



- يتم التعرف على الأساس الجزيئي لوظائف الخلايا والأنسجة في الإنسان
- معرفة مستحثات النمو او التعبير الجيني وطرق تمايز الخلايا إلى الانسجة المختلفة
- دراسة تطور وعلاج السرطان عن طريق الخلايا الجذعية

التقنية الحيوية في الخلايا الجذعية

- اكتشاف الأدوية وتطويرها
- من الممكن تجربة الأدوية على الخلايا المتمايزة إلى اعضاء مختلفة قبل تجربتها على الإنسان مثل ادوية القلب على خلايا معملية للقلب مثلاً
- تم عمل خلايا نسيجية من السرطان لدراسة التأثير الدوائي عليه ومعرفة طرق تثبيت نموه معمليا قبل تجربته على الحيوان أو الإنسان

العلاجات التي يمكن تطويرها بإستخدام الخلايا الجذعية

باركنسون– الزهايمر–اصابات العمود الفقري–السكتة الدماغية–مرض السكر–الروماتيزم–امراض القلب..الخ

منهج النظري مبادئ التقنية الحيوية
المحاضرة التاسعة

الهندسة الوراثية Genetic engineering

هي عملية إضافة حمض نووي للكائن الحي من مصدر خارجي والغرض من ذلك إضافة صفة وراثية مرغوبة.

المبدأ الأول: يعتبر الحمض النووي DNA وصفة الحياة وتحمل الصفات الوراثية المختلفة على الجينات التي تتكون من الأحرف A,T,G,C ويوجد في كل كائن حي الاف الجينات، والتي تصنع الجينوم Genome الخاص بهذا الكائن. وعند معرفة التتابع الخاص بكل جين من الممكن قطع هذا الجين وإدخاله إلى كائن حي آخر لتظهر هذة الصفة فيه.

المبدأ الثاني: لماذا تعتبر البروتينات مهمة؟

كل خلية في جسم الكائن الحي تحتوي البروتينات والتي تدخل في تكوين العضيات الخلوية والاغشية وكذلك تدخل في عملية التنظيم الحيوي للخلايا، والتفاعلات في الخلية والأنزيمات. لذلك كل من نراه في الكائن الحي ماهو إلا ناتج مصنوع من بروتين او نتيجة تفاعل برتينات لها علاقة بالوظائف الحيوية المختلفة.

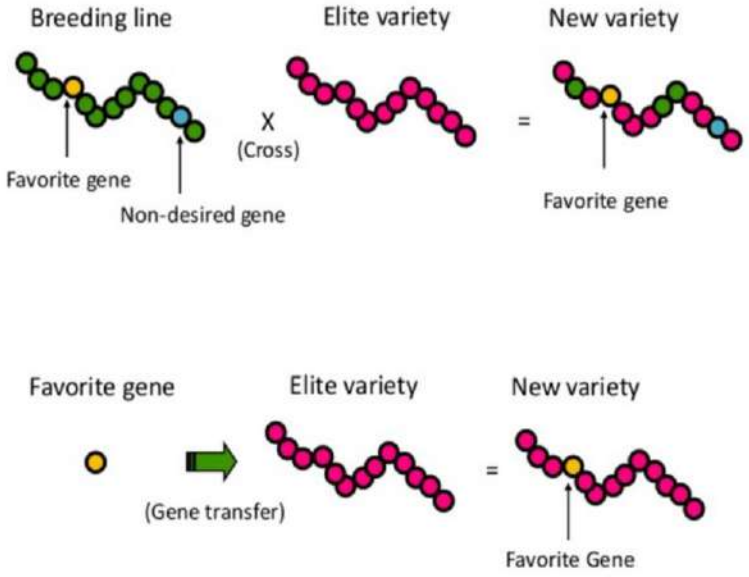
المبدأ الثالث: لماذا الحمض النووي وليس البروتين هو الأهم في الهندسة الوراثية؟

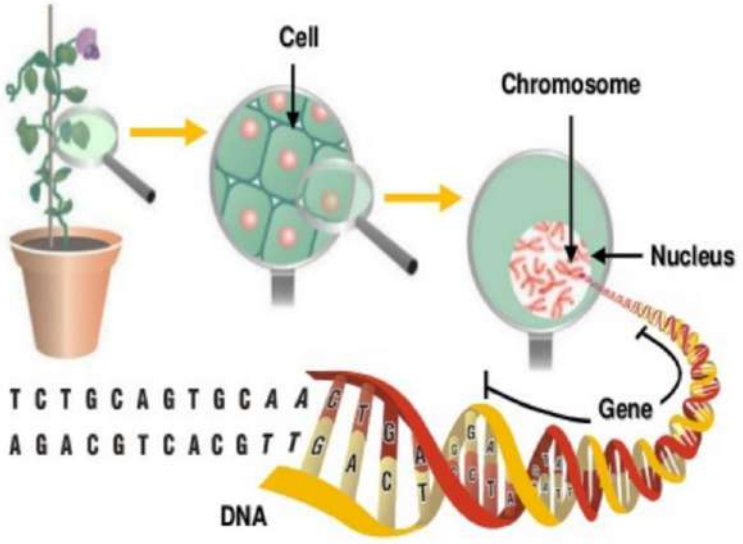
الحمض النووي DNA لغة كونية بين الكائنات الحية لانه يحتوي نفس الاحرف في جميع الكائنات الحية A,T,G,C لذلك فإن نقل القطعة من الحمض النووي للجين من كائن إلى آخر والذي يحوي صفة مرغوبة يجعل تلك الصفة تظهر في الكائن المستقبل نتيجة لتعبير هذا الجينّ.

كيف يحدث ذلك؟

كيف يتم التعديل الجيني او الهندسة الوراثية؟

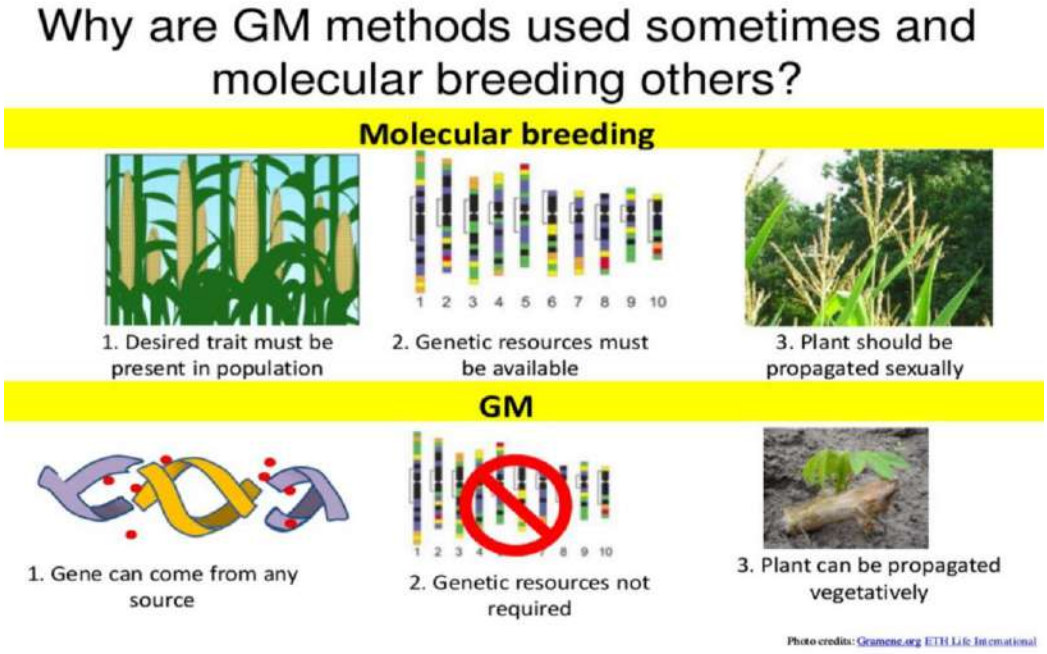
تعديل الصفات بالطريقة التقليدية عن طريق التزاوج او بالتهجين ينتج صفات متنوعة ولكن قد تفقد بعض الصفات الجيدة الموجودة في النوعين الأساسين والتي كانت موجودة قبل التهجين في الجيل الناتج (الهجين Hybrid) اوقد تكون هناك صفات غير مرغوبة تظهر مع تلك المطلوبة والتي تمت اضافتها بالتهجين ولايمكن ازالتها بالطرق التقليدية. وفي بعض الحالات لايتم الإخصاب لوجود عائق جيني Gene barrier كعدد الكروموسومات والاختلاف الجيني بين السلالات او الأنواع المختلفة. لذلك فإن الطرق الحديثة والتقنيات الحيوية سهلت هذه التحديات.





مالفرق بين التعديل بالتهجين او التربية الجزيئية Molecular breeding و التعديل الجيني Genetic modification

التعديل بالتربية الجزيئية او التهجين Molecular breeding	التعديل الجيني Genetic modification
لابد ان تكون الصفة موجودة في العشيرة حتى يتم انتقالها	يمكن ان تؤخذ الصفة المرغوبة من اي كائن حي وتوضع في الناتج
لابد ان تكون الصفة المطلوبة مشابهة وموجودة في فصيلة مقاربة	ليس ضروريا وجود الصفة في نفس الفصيلة او مقاربه لها
يتم تكاثر النباتين او اي كائن حي جنسيا للحصول على الصفة المطلوبة ينتج كائن حي يحمل 50% من المادة الوراثية من كلا الأبوين قد يكون الكائن الناتج عقيم	يمكن اكثار النبات الناتج خضريا او اي كائن حي معمليا ينتج كائن يحمل المادة الوراثية لأحد الأبوين بصورة اكبر من الأب الآخر.



التقنيات الجينية Gene technology

تنقسم التقنيات الجينية إلى ثلاث الأنواع:

التقنيات الجينية الحمراء Red gene technology

تطبيق التعديل الجيني في المجال الطبي لتطوير التشخيص او العلاج للأمراض. وكذلك تطبيقات صناعة الأدوية والعلاج.

التقنيات الجينية البيضاء White gene technology

تطبيق التعديل الجيني لتغيير صفات الكائنات الحية سواء للابحاث او تطوير الأنزيمات او انتاج المواد الكيميائية والتصنيعية في الكائنات الدقيقة والبيئة.

التقنيات الجينية الخضراء Green gene technology

التعديل الجيني للنباتات بشكل عام او للغرض البحثي. استخدام النباتات المعدلة لانتاج الوقود الحيوي او للتصنيع الدوائي او الكيميائي. او تعديل النباتات جينيا لتحسين صفاتها بغرض تغذية الانسان والحيوان.

ماهي النباتات المعدلة جينيا Transgenic Plant: هي النباتات التي تم إدخال جين او عدة جينات لها بواسطة الهندسة الوراثية، حيث يتم في التعديل الوراثيا تخطي عقبة الأختلاف الجيني بين السلالات المختلفة من النبات والتي تمنع التزاوج بالطريقة الطبيعية فيتم نقل الصفات المرغوبة بالتعديل الجيني دون الحاجة للتزاوج.

GMP Genetically Modified Plant وتشمل النباتات المعدلة فقط من فواكه وخضروات وانواع اخرى

GMO Genetically Modified Organism وتشمل جميع الكائنات الحية المعدلة جينيا بما في ذلك البكتريا والفيروسات والنياتات والحيوانات

الطرق المستخدمة لإنتاج النباتات المعدلة وراثيا

التعديل عن طريق الطفرات المستحدثة Mutation breeding

الطفرات المستحدثة عن طريق استخدام المواد المشعة النشطة Radio active radiation

مثل استخدام اشعاع جاما و اشعة النيترونات حيث تم إجراء اكثر من 20 الف تجربة في السنوات 1967 -1992

بهذة الطريقة تم إنتاج 400 نوع من نبات الإرز و 270 نوع الشعير وطرحها في الأسواق

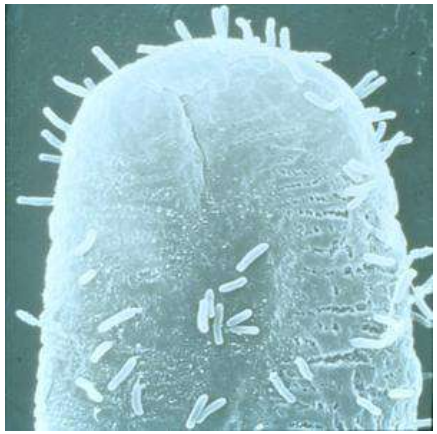
الطفرات المستحدثة باستخدام مواد كيميائية مطفرة Induced mutations via chemical mutagenics

مثل مادة ايثيل ميثيل سلفونات Ethyl–methyl–sulfonate (EMS) والكولشيسن وتعمل المواد الكيميائية والاشعاع على تدمير جزء من الحمض النووي للنباتات عشوائيا وبالتالي تنتج صفات جديدة وتفقد صفات أخرى وأحيانا تكون المنتجات النباتية . يوجد 1800 نوع من النباتات تم انتاجها باستخدام مواد كيمائية مطفرة.

مساويء التعديل الوراثي عن طريق الطفرات المستحدثة

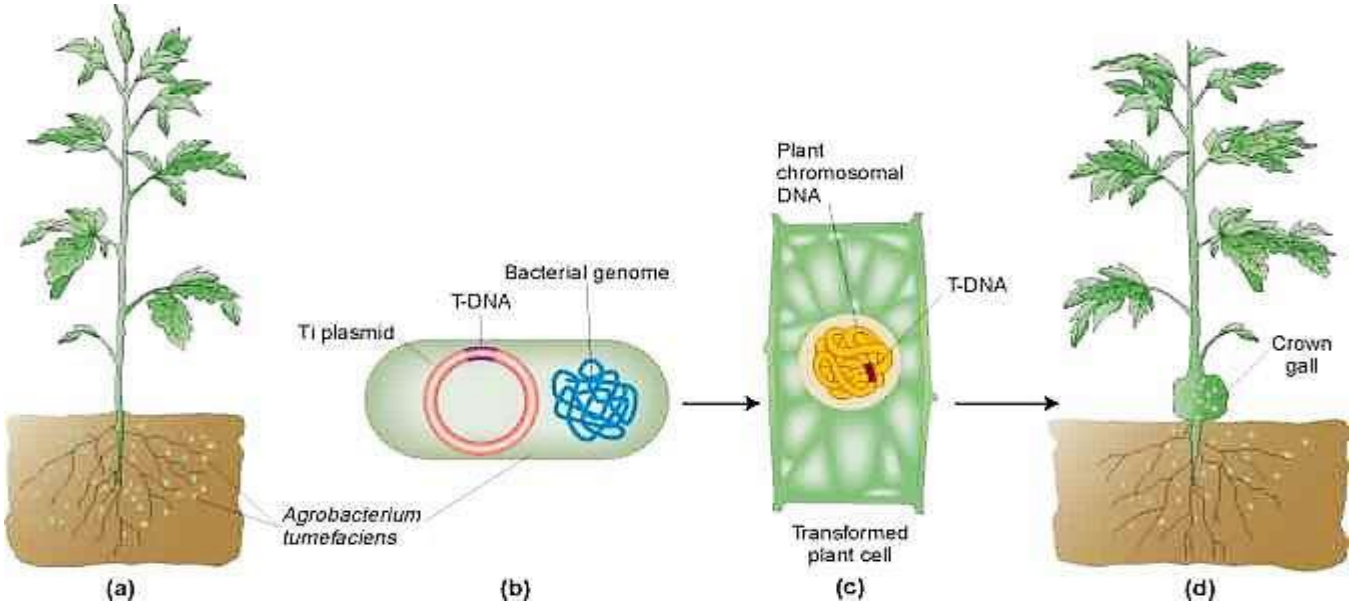
ان التغيير لايمكن التنبوء به حيث يتم تدمير جزء من الحمض النووي في مواقع مختلفة غير معروفة مسبقا وبالتالي لايميكن التنبوء بالناتج وموقع التغيير والصفات الناتجه عنه في الحمض النووي

التعديل الوراثي بإستخدام البكتريا كناقل للجينات



تستخدم بكتريا اجروياكتريم تومافاسينس *Agrobacterium tumefaciens* كناقل جيني تتميز هذه البكتريا بإنها تحمل جين Ti Tumer induced في مادتها الوراثية الطبيعية وتصيب النباتات مؤديه إلى تحفيز هرمون النمو مما يؤدي إلى تكون اورام في النباتات المصابة ويسمى المرض crown gall . حيث تحتوي البكتريا طبيعيا على حمض نووي خيطي واخر على شكل حلقة يسمى بلازميد والذي يحوي الجين الممرض للنبات.

وبالتالي ممكن أن يتم تعديل البلازميد البكتيري و وضع اي جين يحمل صفة مرغوبة به عوضا عن الجين الممرض ويتم إصابة النبات به ليتم نقل الجين ومن ثم تعبيره داخل النبات.



التعديل الوراثي من خلال الهندسة الجينية Genetic Engineering

مميزاتها:

يتم تعديل جينات النباتات مباشرة وإدخال جينات معلومة الموقع والتأثير في الحمض النووي

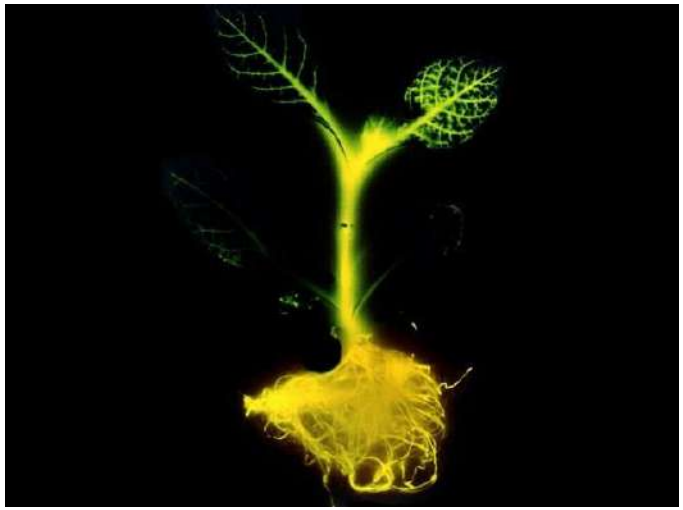
من السهل توصيف الجينات المدخلة ومعرفة الصفة الناتجة منها.

تعديل مباشر لإنتاج أنواع ممتازة من الصنف النباتي المرغوب.

من الممكن العمل على عدة جينات في النبات الواحد في التجربة الواحدة

مساوئها: تقنية باهظة التكاليف وتحتاج فريق من الخبراء للعمل

من امثلتها نبات التبغ المشع تم انتاجه في عام 1986 عن طريق اخذ الجين المشع من ذبابة النار firefly ووضعه في النبات! يأمل العلماء ان يستعيضوا عن الكهرباء بالنباتات المضيئة!



http://www.dailymail.co.uk/sciencetech/article-2321865/Glow-dark-plants-developed-replace-street-lamps.html

التعديل الوراثي من خلال المسدس الجيني– الجزيئات القاصفة Gene gun – bombardment particles

- يتم ايصال الجينات عن طريقة جزيئات تقذف بواسطة مسدس
- الجزيئات صغيرة الحجم مصنوعة من الذهب ومغطاة بالمادة الوراثية التي تحتوي الجينات يتم إطلاقها بسرعة عالية في الأجزاء المختلفة من خلايا النباتات.

مميزاتها:

- يتم التئام الجزء من الخلايا حيث دخلت الجزيئات بسرعة.
- هذه الطريقة من الممكن ان يتم فيها التعديل الجيني لأنواع مختارة من النباتات. مثل القمح والذرة

مساوئها:

الجينات التي يتم إدخالها عشوائية.

بعض الجينات لايتم إدخالها بالكامل.

التعبير الجيني الناتج غير مستقر في السلالة الناتجة باستخدام هذه

طريقة التعديل الوراثي بإستخدام البكتريا كناقل للجينات

- يقوم البلازميد بتحفيز انتاج الهرمونات النباتية والتي تحفز النمو غير الطبيعي للخلايا وتنتج بالتالي الأورام.
- يتم تعطيل هذا الجين الممرض بإزالته وإستبداله بجين يحمل صفات وراثية مرغوبة في النبات.

مميزاتها

1. يتم إدخال جين واحد فقط في هذه الطريقة .
2. وتتميز الجينات المدخلة بثبات التعبير عبر الأجيال.
3. معظم النباتات قابلة للتعديل بإستخدام هذة الطريقة. من امثلتها. البطاطس- الذرة –التبغ- الأرز- الشعير ...الخ

مساوئها: إدخال الجين عشوائي.

يتكون البلازميد المستخدم في التعديل الوراثي من:

منطقة نسخ للجين المدخل، نسخة انتخاب جيني خاصة بالنبات، نسخة انتخاب جيني خاصة بالبكتريا، وتحاط النسخ الجينية بحدود يمنى ويسرى تحدد اتجاه وموقع الجين المدخل.