**قسم : الوراثة والهندسة الوراثية لائحة قديمة**

 **المادة: : تكنولوجيا الجين الفرقة الرابعة**

**الفصل الدراسي الأول للعام الجامعي 2016 / 2017 الزمن : ساعتان**

--------------------------------------------------------------------------------

**السؤال الأول (20 درجة) : اجب عن نقطتين فقط :**

1. **تعتبر تقنية إضافة الحين Gene Addition وتقنية الطرح الجيني Gene Subtraction من الطرق الحديثة لاستخدام تكنولوجيا الحين في الزراعة -وضح ذلك بالأمثلة مع الرسم .**
2. **عرف الاستنساخ – انواعة - وما الفرق بين الاستنساخ التكاثري والاستنساخ العلاجي .**
3. **خطوات إنتاج الـ DNA المعاد الاتحاد في بكتريا القولون .**

**السؤال الثاني (20 درجة ) : اجب عن نقطتين فقط :**

**(1): أهداف مشروع الجينوم البشرى– استخدامات الـDNA في مجال الطب الشرعي .**

**(2): عرف كيفية إنتاج الكائنات المعدلة وراثيا والمقصود بالأمان الحيوي.**

**(3): وضح تطبيقات تكنولوجيا الجينات في إنتاج الأنسولين .**

**السؤال الثالث : (20 درجة ) : اجب عن نقطتين فقط**

**(1): الخطوات الأساسية للتسلل النووي .**

**(2): التأثير السلبي لتكنولوجيا الجين على الدول النامية .**

**(3): منشأ وتطور الهندسة الوراثية وبعض انجازاتها.**

**مع خالص الأمنيات**

**أ.د/محمد سراج الدين**

**قسم : الوراثة والهندسة الوراثية لائحة قديمة**

 **المادة: : تكنولوجيا الجين الفرقة الرابعة**

**الفصل الدراسي الأول للعام الجامعي 2016 / 2017 الزمن : ساعتان**

نموذج إجابة استرشادي غير ملزم

**اجابة السؤال الاول (20 درجة ) :**

1. استراتيجية اضافة الجين : تستخدم كلونة الجين لتغيير بعض الصفات النباتية بادخال جين او جينات جديدة مسئولة عن تحسين هذة الصفة والمثال لذلك هو انتاج نباتات مقاومة للحشرات مثل نبات الذرة والقطن حيث يشفر لبروتين سام بحيث يؤدى تغذية الحشرة علية الى هلاكها دون ان يؤثر ذلك على النبات نفسة مثل استخدام الBt gene من بكتريا *Bacillus* *thuringiensis* يشرح الطالب المثال بالتفصيل .

استراتيجية الطرح الجينى : تؤدى الى إيقاف نشاط جين أو اكثر داخل النبات دون حذف الجين او ازالتة وذلك عن طريق استخدام تقنية mRNA مضاد المعنى وتتلخص فى اربع خطوات وهى كلونة الجين المطلوب دراستة – فصل التتابع الشفرى للجين عن منطقة البروموتر الخاص بة باستخدام انزيمات القطع المناسبة –اعادة اتحاد التتابع الشفرى للجين مع نفس البروموتور ولكن فى اتجاة معكوس للتتابع – والخطوة الاخيرة هى اعادة ادخال هذا التتابع المعكوس المتحد بالبروموتور اى الجين المضاد المعنى الى الخلية المضيفة باحدى طرق التحول الوراثى . ويوضح الطالب ذلك بالرسم .

(2): الاستنساخ يعنى الحصول على نسخة طبق الاصل من اصل المادة المستنسخ منها وهى ليست خلق تركيب وراثى جديد بل هى تكرار لنسخة أو أكثر من أصل موجود بالفعل

وقسم العلماء الاستنساخ الى ثلاثة انواع :

 النوع الاول عن طريق استخدام الهندسة الوراثية Recombinant DNA Technology

وهناك طريقتان رئيسيتان للنسخ وهما :

النسخ عن طريق استخدام خلايا حية Cell –based DNA cloning او النسخ باستخدام الخلايا الغير حية Cell-free DNA cloning وذلك باستخدام PCR

ويتم هذا النسخ بثلاثة وسائل الاولى باستخدام خلايا حية ويتم على اربع خطوات وهى بناء جزيئات الDNA] ِ المعاد توليفة والخطوة الثانية هى نقل القطغة المهجنة والموجودة داخل تالناقل الى خلية حية والخطوة الثالثة هى عزل سلالات المادة الوراثية والسماح لها بالتكاثر فى اطباق بترى والخطوة الاخيرة هى عزل المادة الوراثية المستنسخة

 يتناول الطالب شرح هذا الجزء بالتفصيل

النوع الثانى : الاستنساخ التكاثري أو الجنسي Reproductive Cloning

وهو الحصول على كائن حى بنفس مواصفات المادة الوراثية النووية Nuclear DNA لكائن حى اخر والمثال لذلك هو إنتاج النعجة دوللى وذلك باستخدام خلية جسمية Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT) وعلى الطالب شرح كيف امكن انتاج النعجة دوللى عام 1997

النوع الثالث : هو الاسشتنساج العلاجى Therapeutic Cloning

 ويقصد بة استنساخ كائنات حية عن طريق الخلايا الجذعية القادرة على انتاج اى خلايا او اعضاء لكنها لاتؤدى الى تخليق كائن كامل والمحولات مستمرة لانجاح هذا التكنيك الاكثر تعقيدا

**وهناك تقسيمات اخرى للاستنساخ ومنها:**

 الاستنساخ الجزيئي DNA Cloning-

الاستنساخ الخلوي Cord blood stem and cells cloning -

والاستنساخ الحيواني Reproductive cloning

(3): خطوات إنتاج الـ DNA المعاد الاتحاد في بكتريا القولون

 في عام 1973م إستطاع كل من العالمين الأمريكيين ”Herbert Boyer“ و ”Stanly Cohen“ إجراء تجربة عدة الأساس فيما عرف بالهندسة الوراثية ، وملخصها كالتالي:

1- إستخدام إنزيمات القطع لكسر شريط الـ DNA إلى قطع صغيرة.

2- إختيار الحامل أو الناقل ”Vector“ المناسب لنقل الجين إلى الخلية الجديدة (غالباً ما يكون الـ Plasmid).

3- فتح بلازميد الناقل بإستخدام إنزيمات القطع ”Restriction enzymes“.

4- خلط قطع الـ DNA المراد نقله مع DNA البلازميد.

5- لحم قطع الـ DNA المراد نقله مع DNA البلازميد بإستخدام إنزيمات اللحم ”Ligases“ لإنتاج DNA متزاوج Recombinant DNA.

6- السماح للناقل بإصابة مجموعة كبيرة من الخلايا المطلوب إدخال الـ DNA إليها (كالبكتيريا).

7- تنمى الخلايا في بيئة صناعية للكشف عن مدى نجاح التجربة.

**اجابة السؤال الثانى (20 درجة )**

**(1): أهداف مشروع الجينوم البشرى– استخدامات الـDNA في مجال الطب الشرعي .**

 مصطلح جينوم genome هو مصطلح جديد في علم الوراثة يجمع بين جزئي كلمتين إنجليزيتين هما gen وهي الأحرف الثلاثة الأولى لكلمة gene التي تعني باللغة العربية (المورث ( الجين ، والجزء الثاني هو الأحرف الثلاثة الأخيرة من كلمة chromosome وهي omeوهي تعني باللغة العربية الصبغيات ( الكروموزومات )، أما الدلالة العلمية لهذا المصطلح فهي للإنسان: الحقيبة الوراثية البشرية القابعة داخل نواة الخلية البشرية وهي التي تعطي جميع الصفات والخصائص الجسمية والنفسية.

بدأ تنفيذ مشروع الجينوم البشري عام 1990م وكان من المقرر أن ينتهي خلال خمسة عشر عامًا 2005م، لكن دعم المشروع ماليٌّا وتقنيٌّا سرّع في خطوات فك رموز المورثات وكذلك المشاركة الفعالة من عدة دول جعل له أثرًا كبيرًا في التنافس مما بشر باكتماله والانتهاء منه ونشره كأطلس وراثي للخصائص والصفات البشرية

**أهداف المشروع** :التعرف على المائة ألف مورث ( جين ) في الإنسان --. تحديد تسلسل الثلاثة بلايين صيغة كيميائية للكروموزومات - تخزين تلك المعلومات في قاعدة بيانات معلومات-- تطوير ذلك من خلال تحليل تلك المعلومات- تحويل تلك التقنيات إلى القطاع الخاص للاستفادة منها-- متابعة الإصدارات الأخلاقية والتنظيمية والاجتماعية للمشروع.

وأنه ثورة طبية إذ سوف يقضي على جميع الأمراض الوراثية وأنه سيتحكم في الحد من أي مرض ذي علاقة بالناحية الوراثية من حيث القابلية للإصابة بها مثل السرطان، قد يكون هو الخطوة الأولى لبوابة العلاج أو الحد من هذه الأمراض وليس صحيحًا أن معرفة مواقع الجينات للأمراض الوراثية سوف ينهي تلك الأمراض - مشروع الجينوم يعدّ خطوة ذات أهمية علمية كبيرة ولكنها الخطوة التي يجب أن تتبعها خطوات اخرى لاستكمال المنظومة الوراثية للإنسان

يمكن استخدام الـDNA فى مجال الطب الشرعى عن طريق عمل البصمة الوراثية

**البصمة الوراثية** : تتم عن طريق اخذ جزء من الـDNA فى مواقع متخصصة لتقدير مصدر هذا الحمض النووى .تحليل هذا الجزء القصير من الحامض النووى يعطى معلومات قلبلة عن وظائفة ولكنه يختلف من شخص الى اخر .ويمكن الاستعانة بتكنيك الـRFLP فى هذا المجال . كل خلية لكل فرد تحتوى على نسخة من الـDNA . الطريقة تتم عن طريق تجميع الخلايا من جلد الشخص المطلوب التعامل معة أو من شعره أو اى نسيج منه أو من خلايا الدم البيضاء . ازواج القواعد النتروجينية base pairs فى الـ DNA لكل فرد مختلفة عن غيرة من الأفراد ماعدا التوائم المتطابفة فقط . نحن لانحتاج الى معرفة تتابعات 3بليون base pairs للحامض النووى الخاص بكل فرد للتفرقة بينه وبين غيره من الافراد \_نحتاج حوالى من 20 الى 100 base pairs طولا حيث تتكرر على المواقع المختلفة على طول الكروموسوم وقد يصل هذا التكرار الى 9 مرات . هذة التتلبعات تسمى Short Tandem Repeat (STRs) or VNTRs .كل شخص يمتلك بعضا من هذة التتابعات والتى تورث له من الام والاب . ولايوجد شخص يمتلك STRs تتطابق مع الموجودة فى أب أخر . عدد هذة التكرارات في كل موقع على الكروموسوم بها اختلافات كبيرة جدا فى العشيرة تتراوح من 4 الى 40 . التميز لكل STRs لكل فرد يمدنا بالعلامات العلمية التي تحدد البصمة الوراثية الخاصة بالـDNA لكل فرد . 0000الخ

1. **(2) : عرف كيفية إنتاج الكائنات المعدلة وراثيا والمقصود بالأمان الحيوي**

يمكن إنتاج الكائنات المعدلة وراثيا عن طريق نقل الجينات المرغوبة لها من مصادر اخرى ولنأخذ مثال على ذلك في النباتات

**أهم تطبيقات البيوتكنولوجيا الحديثة فى النباتات** :

أ- تطبيقات تهدف الى تغيير الصفات أو الخصائص المحصولية .

ب- تغيير خصائص المنتجات النباتية .

جـ- إنتاج مركبات صيدلانية .

د- إنتاج فاكسينات نباتية .

أ- **الخصائص المحصولية Agronomic Traits  :**

تحسين الصفات أو الخصائص المحصولية يمكن أن تساعد على زيادة الإنتاج بعدة وسائل أهمها:

1- زيادة كمية الغذاء التى ينتجها النبات الواحد .

2- تقليل الفقد فى المحصول نتيجة الإصابة بالآفات والأمراض أو الحشائش .

3- التغلب على الظروف البيئية المناوئة لنمو النباتات .

والفوائد المتوقعة نتيجة تحسين الصفات المحصولية هى زيادة إنتاج المحاصيل، والحصول على إنتاج مستمر ومتجانس، تخفيض تكاليف الإنتاج ، والاستفادة من الأراضي غير الصالحة لزراعة المحاصيل العادية، بالإضافة إلى تقليل العمالة وتوفير الوقت .

**زيادة انتاجية النباتات Increasing Yields :**

تمكن العلماء من نقل جينات التمثيل الضوئى photosynthesis  من البطاطس إلى الأرز لزيادة كفاءته في إنتاج النشا النباتي. وقد أدت هذه العملية إلى زيادة المحصول بنسبة 30%.  علماء آخرون يحاولون تعديل الميتابولزم (التمثيل الغذائي) في النباتات عن طريق إبطال مفعول بعض الجينات لكي يتحول مسار بعض المغذيات nutrients من جزء إلى جزء آخر من أجزاء النبات. فمثلا النباتات الزيتية كالكانولا canola (الشلجم من عائلة اللفت) يزداد الإنتاج كلما زاد تركيز الأحماض الدهنية في البذور وليس في الأوراق . يستطيع العلماء أيضا، باستخدام البيوتكنولوجيا ، تطوير محاصيل أكثر قدرة على استخلاص العناصر الغذائية من التربة. مثال ذلك ما قام به العلماء المكسيكيون من تجارب أسفرت عن إنتاج نباتات عبر جينية لها القدرة على إفراز حمض الستريك citric acid من جذورها إلى التربة، فتزداد حموضة التربة قليلا ما يؤدى إلى انسياب أو تفكك المعادن المرتبطة بجزيئات التربة فيمتصها النبات بسهولة . النيتروجين أو الآزوت nitrogen هو العنصر السهل الممتنع ، فعلى الرغم من أنه يشكل أكبر نسبة من الهواء الجوى (80%)، إلا أن معظم الكائنات الحية بما فيها النباتات لا تستطيع الاستفادة منه فى صورته الغازية، وفى نفس الوقت لا تستطيع الاستغناء عنه، فهو إذن العنصر المحدد limiting factor لنمو هذه الكائنات. من هنا، يحاول الباحثون فى مختلف التخصصات معرفة أسرار العلاقة التكافلية التي تسمح لبكتيريا العقد الجذرية root nodules الموجودة في جذور النباتات البقولية كالفاصوليا والبازلاء من تثبيت النيتروجين الجوى وتحويله إلى أمونيا يستفيد منها النبات الذي يحتضن هذه البكتيريا في جذوره . وقد تعرف علماء النبات فى المجر وفى إنجلترا على الجين النباتى الذى يمكن النبات من تكوين علاقة تكافلية مع بكتيريا تثبيت النيتروجين الموجودة فى التربة.  وتعرف علماء الميكروبيولوجيا فى جامعة كوينزلاند فى استراليا على جينات البكتيريا التى تحفز النبات على تكوين العقد الجذرية وقد أدى التعاون بين علماء البيولوجيا في الاتحاد الأوربي والولايات المتحدة وكندا إلى فك شفرة الجينوم الخاص بإحدى سلالات بكتيريا تثبيت النيتروجين، وتمكن علماء كيمياء البروتينات من معرفة التركيب الدقيق للإنزيم البكتيري الذي يقوم بتحويل النيتروجين الجوى إلى صورة أخرى يمكن للنبات أن يمتصها ويستفيد منها .

**المقصود بالأمان الحيوي** ألا يؤدى انتقال الجينات المرغوبة الى النباتات المعدلة وراثيا الى حدوث اضرار سواء للانسان او للبيئة المحيطة بة ولا يؤدى ذلك الى انتاج تراكيب وراثية جديدة يصعب التجكم فيها مما يؤدى ذلك الى الاخلال بالتوازن البيولوجى الطبيعى فى الكون -----الخ

1. **: وضح تطبيقات تكنولوجيا الجينات في إنتاج الأنسولين .**

 **يعتبر إنتاج الأنسولين المعدل وراثيا وإنتاج هرموني النمو البشرى** انجازان غير مسبوقان لتطبيقات تكنولوجيا الجينات في المجال الحيوي .يشرح الطالب أهمية الانسولين الطبيعي للإنسان وكيف يخلق طبيعيا وانه هو الذي يتحكم في مستوى الجلوكوز في الدم ---الخ

 وقد **أمكن بناء جين انسولين صناعى** وترجمتة الى بروتين الانسولين الفعال وذلك عن طريق تكوين 2 بلازميدة معاد صياغتهما احدهما يحتوى على الجين الخاص بالسلسلة A والاخر يحتوى على جين السلسلة B ثم تم توصيل الجين الصناعى بجين Lacz فى البلازميد PBR322مما يجعل كل جين صناعى تحت تحكم بروموتر Lac القوى ويتم ترجمة كل منهما كبروتين مندمج يتكون من الاحماض الامينية الاولى من انزيم B.Galactosidase متبوعة بسلسلة Aأو B علما بان جزئ الانسولين يتكون من 51 حامض امينى ( 30+21) ----الخ

**اجابة السؤال الثالث (20 درجة )**

**(1): الخطوات الأساسية للتسلل النووي .**

يعتبر معرفة التسلسل النووي DNA Sequencing أو تحديد تتابع النيوكليتيدات داخل الجين عملية أساسية للتعرف على وظائف هذا الجين. تتابع النيوكليتيدات يفيد فى معرفة التركيب المتناهى الدقة للخرائط الوراثية **وبعرفة التسلسل النووى داخل الجين يمكن اختيار انزيمات القطع المحددة الواجب** استخدامها للحصول على الجين المطلوب. ,

 **هناك طريقتان اساسيتان** يمكن استخدامهما فى هذا المجال :

 طريقة العالم سانجر وهى طريقة انزيمية وتعرف أيضا بالتسلسل عن طريق داىديوكسى Dideoxy sequencing وتعتمد هذه الطريقة على استخدام اربعة مجاميع ddA, ddC, ddG and ddT وتركز هذه الطريقة على مفهوم ان شريط DNA يتكون فى الاساس من جزيئات من اليوكسى نيوكلوتيد ويختلف اليوكسى نيوكلتيد عن دى ديوكسى نيوكلوتيد بعدم وجود مجموعة هيدروكسيل فى النقطة الثالثة من حلقة السكر الخماسية الشكل .ويوجد على النقطة الثالثة من حلقة السكر الرايبوزى مجموعة هيدروكسيلية وهذة النقطةهى التى ترتيط فى النقطة الخامسة من الجزئ الذى يليها وهكذا يتم الترابط لتكون شريط طويل من DNA وتم تبديل الجزئ من OH الى H عن طريق اضافة دى ديوكسى نيوكلوتيد ddNTPsبدل من ديوكسى نيوكلوتيد dNTPSوذلك عن طريق نسخ الشريط مرة اخرى ويؤدى هذا الى توقف ترابط الجزيئات ويكون فى طرف كل جزئ نوع واحد من الاحماض النووية .

 على الطالب ذكر خطوات الطريقة بالتفصيل .

والطريقة الثانية تسمى طريقة مكسام ,والتر جلبرت Maxam,Walter-Gilbert او طريقة التحطيم الكيماوي وتبنى على فكرة كسر الDNA في أماكن محددة بمواد كيميائية وليست إنزيمية – على الطالب كتابة خطوات الطريقة تفصيليا .

**(2): التأثير السلبي لتكنولوجيا الجين على الدول النامية .**

**يتلخص ذلك فى ثلاث نقاط اساسية وهى –قلة التمويل للمشاريع البحثية عالية التكاليف والخاصة بتكنولوجيا الجين بالنسبة للمناطق الاستوائية الهامة فى الدول النامية – والمثال لذلك نبات الكسافا الذى يعتبر الغذاء الرئيسى لاكثر من 500 مليون نسمة لايلاقى اى اهمية من الدول المتقدمة 0 ثانيا هناك مخاوف من ان بعض المنتجات التى تنتج فى الدول النامية ستختفى فى مواجهة المنتجات المهندسة وراثيا والاكثر تسويقا واغراء للمستهلك مما يقضى على مصادر الدخل للدول النامية من منتجاتها المحلية التى كانت تصدرها من قبل مثال حامض اللوريك اسد الذي كان يصدر للدول الغنية من دول جنوب شرق اسيا والان يصنع بالهندسة الوراثية – ثالثا مشكلة حقوق الملكية الفكرية ----الخ**

**(3): منشأ وتطور الهندسة الوراثية وبعض انجازاتها.**

يذكر الطالب كيف نشأ علم الهندسة الوراثية ومراحل تطوره

**بعض تطبيقات الهندسة الوراثية :**

 **في مجال الطب:**

* **\* إنتاج الأنسولين البشري ”Humalin“ في عام 1982م و الذي كان ينتج من الأبقار و الخنازير مسبباً نوع من الحساسية لاختلاف بسيط في التركيب.**
* **\* إنتاج مركبات الإنترفيرون المستخدمة في معالجة مرضى السرطان.**
* **\*إنتاج هرمونات النمو البشري لمعالجة حالات الأقزمة الناتجة عن قلت إفرازها طبيعياً ممن الجسم.**
* **\* إنتاج عامل التجلط رقم 8 الهام لمرضى ”سيولة الدم“ و إنتاج ” إنزيم يوروكينيز“ المذيب لجلطات الدم.**
* **\* إنتاج بروتين غذائي بتنمية البكتيريا على نفايات المزارع و المصانع لتتغذى عليها.**
* **\* إنتاج الفيتامينات مثل ”B2 – B12 – C – D etc“.**
* **\* نقل جينات هرمونات النمو من سمك السلمون الرقط إلى عدد من أنواع الأسماك الأخرى.**

 **في مجال الزراعة**:

 **في عام 1982م تم إنتاج أول نبات مهجن جينياً، بتقنيات تعتمد على حذف أو إضافة مقاطع بهدف إعادة صياغة الشفرة الوراثية للخلية لإكسابها صفات لم تكن موجودة من قبل.**

**\* إنتاج أنواع جديدة من النباتات و البذور القادرة على مضاعفة الإنتاج، و تحمل الظروف البيئية (ملوحة – جفاف – صقيع).**

**\* تحسين صفات النبات لإكسابه مناعة ضد الأمراض و القدرة على مقاومة الآفات للحد من استخدام المبيدات و زيادة الإنتاج.**

**\* تحوير النبات لينتج البلاستيك في بلاستيداته الخضراء.**

**\* تعديل صفات الثمار لتحسين القيمة الغذائية، و تحمل ظروف النقل و التخزين.**

**\* إنتاج مركبات الطعم و النكهة و الأصباغ من الطحالب**

**\* ‘نتاج كائنات دقيقة يمكنها تنظيف بقع البترول، باستخدام تطبيقات إعادة إتحاد المادة الوراثية.**

* **من المحاصيل المعدلة وراثياً:**

**الذرة (40%) – فول الصويا (31%) – الكانولا (70%) – الكتان – القطن (40%) – البنجر – الباباي – الكوسة – الطماطم – البطاطس**

**المخاطر المحتملة لنطبيقات الهندسة الوراثية .**

 **عديد من المخاطر منها هدم العقد الاجنماعى – الإخلال بالتوازن البيولوجي- إمكان إنتاج مسخ بيولوجية مختلفة او ميكروبات قاتلة لايمكن السيطرة عليها باى مضاد حيوي معروف - زيادة تلوث البيئة – إنتاج إنسان مشوه – هدم القيم الجينية والاجتماعية المتوارثة وأخطار أخرى على الطالب ذكرها .**

 **مع خالص الأمنيات**

 **أ.د/ محمد سراج الدين عبد الصبور**

**أستاذ الوراثة كلية الزراعة جامعة بنها**