

إنتاج كائنات محورة وراثياً

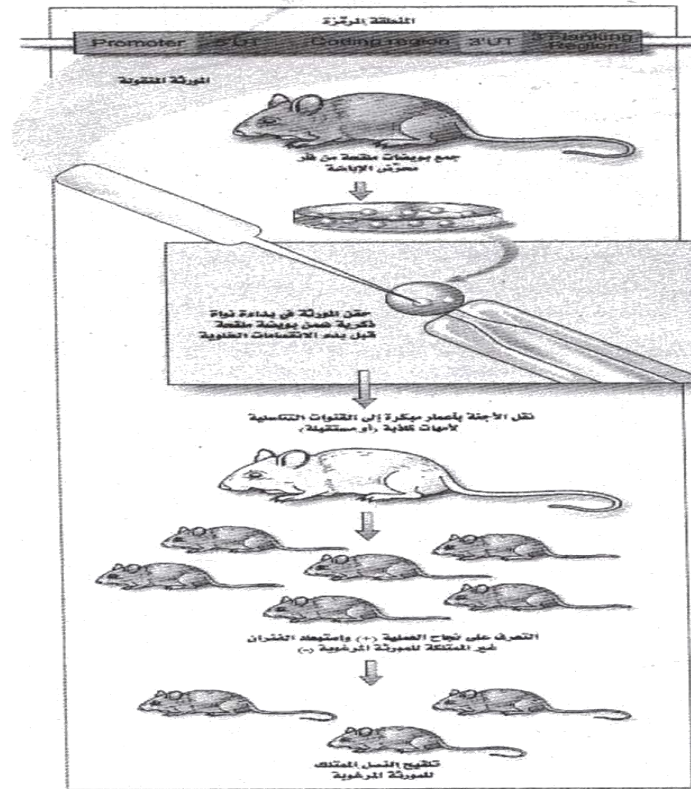
تحسين العروق الحيوانية

- ▶ استخدم المربون منذ قرون عدة التربية الاصطفائية لانتقاء أفضل الحيوانات للتزاوج وإنتاج الأجيال القادمة، بحيث تملك القوة العضلية وكفاءة استخدام الغذاء ومقاومة الأمراض وغيرها.
- ▶ التربية الاصطفائية: دمج مئات الآلاف من المورثات من الآباء المنتقاة.
- ▶ تقنية DNA المأشوب: تسمح بتربية حيوانات المستقبل بدقة بالغة. إذ يمكن إدخال مورثة أو أكثر معا ضمن بويضات مخصبة لإنتاج كائنات جديدة دون المساس ببقية المورثات التي تمتلكها، فينشأ عن ذلك حيوانات محورة وراثياً تمتلك صفة مرغوبة .
- ▶ يتوقع أن تتطور هذه التقنية خلال العقد الحالي والتالي بشكل كبير. فيؤدي ذلك إلى تحقيق نجاحات كبيرة في تحسين الثروة الحيوانية الزراعية ومنتجاتها.

طرائق تكوين الحيوانات المحورة وراثياً

- ▶ **الحيوان المحور وراثياً** Transgenic animal هو الحيوان الذي تم تعديل مجينه (جينومه) بإدخال DNA غريبة عنه فيه، وذلك باستخدام الدنا المأشوب بقصد تحسين صفة (أو أكثر) من الصفات الهامة ونقلها إلى نسله.
- ▶ **طرائق لنقل المورثات وتكوين حيوانات محورة وراثياً**
- ▶ **-الزرق الدقيق للدنا DNA microinjection** استخدم الزرق بنجاح عند الفئران والجرذان والخنازير والأسماك والطيور
- ▶ تعتمد على فصل المورثة المرغوبة، بأخذها من حيوان معين وحقنها مباشرة في طليعة نواة بويضة مخصبة.
- ▶ اندماج الدنا المنقول هو عملية عشوائية وقد لا يكون ذلك في مكان مناسب من الصبغيات. فلا يسمح بإظهار التعبير الوراثي المناسب للمورثة المنقولة بشكل جيد.

وبعد ذلك تنقل البويضات الملقحة المعاملة إلى أمهات كاذبة (مستقبلات) أعدت إعداداً مناسباً لاستكمال المراحل الجنينية في أرحامها



الزرق الدقيق للـ DNA

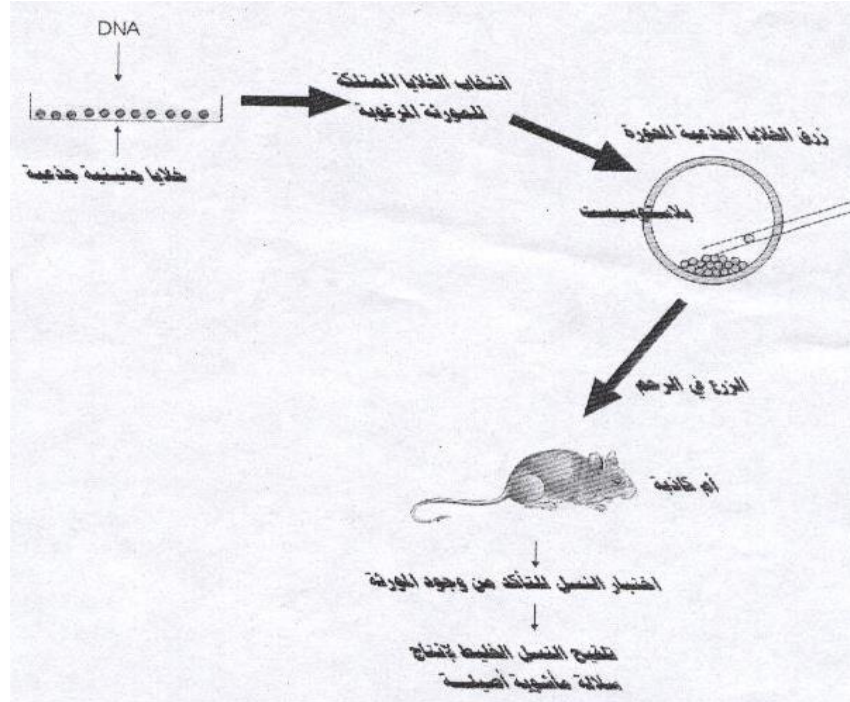
نتائج عدد من الزرق الدقيق المذكور حيث يتضح منها أن كفاءتها ليست مرتفعة ولكن تتحسن على الدوام

النوع	عدد الأجنة التي تحملت الزرق ونقلت	عدد المواليد (%)	عدد المهندسين وراثياً (%)	% المهندسة وراثياً أجنة منقولة
الفأر	12314	1847 (14,9)	320 (17,3)	2,6
الأرنب	1907	218 (11,4)	(12,8)28	1,5
البقر	11206	193 (1,7)	(3,6)7	0,69
الضأن	5242	556 (10,6)	(8,3)46	0,88
الماعز	203	29 (14,3)	(6,9)2	0,99
الخنزير	19797	(9,9)1920	(9,2)176	0,91
الجرذ	1403	(25,0)353	(17,6)62	4,4

كفاءة الزرق الدقيق في بدئات الأنوية

٢- استخدام الخلايا الجذعية

الحصول على خلايا جذعية من الجنين في عمر مبكر فتنقل إليها المورثة المرغوبة ،وهي خارج الجسم ،ومن ثم تنقل إلى جنين في مرحلة الكيسة الأريمية Blastocyst مما يؤدي إلى إنتاج حيوان خميري.



٣- استخدام الفيروسات القهقرية

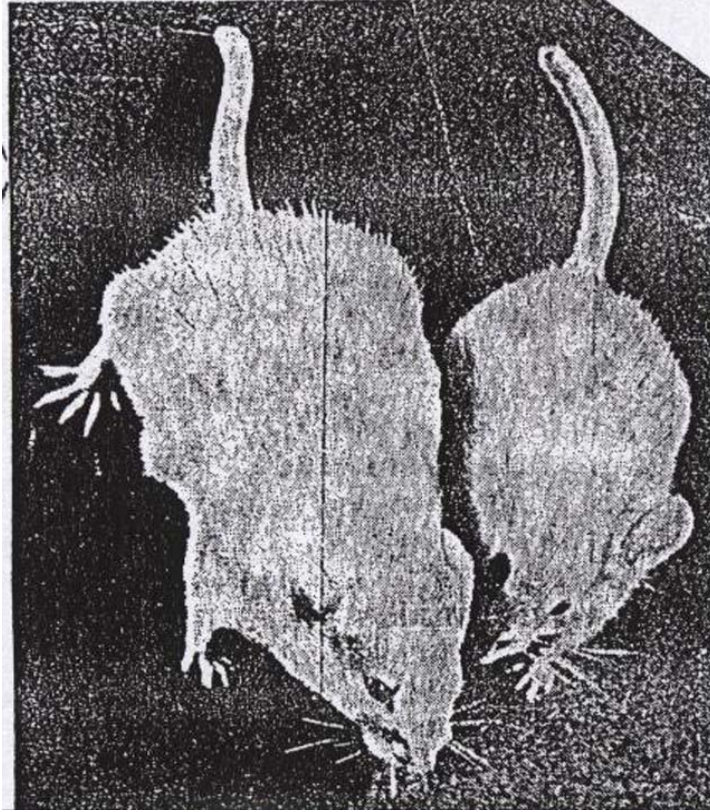
- ▶ تستخدم هذه الطريقة لتحسين فرص التعبير الوراثي للمورثة المنقولة ،
فتنتقل هذه عبر فيروس أوبلازميدة بكتيرية،
- ▶ الكائنات الناتجة عن هذه الطريقة هي خميرية أيضاً ،أي أن المورثة
المنقولة ليست موجودة في كافة الخلايا ولتكون ناجعة ، يجب أن
يستطيع الفيروس اختراق بعض الخلايا التناسلية الممثلة للمورثات وأن
أي من هذه الطرق لم تؤدي ،حتى الآن إلى معدلات نجاح مرتفعة .

أمثلة عن استخدام التحوير الوراثي في الحيوانات:

- ▶ -إنتاج فئران محورة وراثياً: نقطة الانعطاف الهامة في مشكلة التحول عند الثدييات عبارة عن إدماج مورث غريب لهرمون النمو للجرذ في طليعة نواة pronucleus البويضة المخصبة للفأر ، الذي قاد إلى تغيرات دراماتيكية في عمليات النمو عند الفأر . في عام /١٩٨٢/ استعمل ب. بالمبر ومساعدوه البلازميد المعاد صياغته PMGH الذي أدمجت فيه شظية DNA للفأر التي تحوي المشجع (البروموتور) لمورث ميتالوتيونين - ١ المتحد مع المورث التركيبي لهرمون النمو للجرذ

► بعد كلونة هذه البلازميدات تعرضت لعملية القطع وتم إفراز الشظية التي تحوي مشجع ميتالوتيونين المتحد مع مورث هرمون النمو للجرذ بتركيب /٢٥٣/ زوج من القواعد إذ تم إدخال (٦٠٠) نسخة من الشظايا بالنقطة الدقيقة في طليعة النواة للبيضة المخصبة (١٧٠) من هذه البويض غرست في رحم الفئران الحاضنة (المستقبلة) من تلك البويض المخصبة تطورت (٢١) حالة فقط من ضمنها في (٧) فئران تغلغت الشظايا في كروموسوم الفأر في حين ستة من هذه الفئران أظهرت الضخامة،

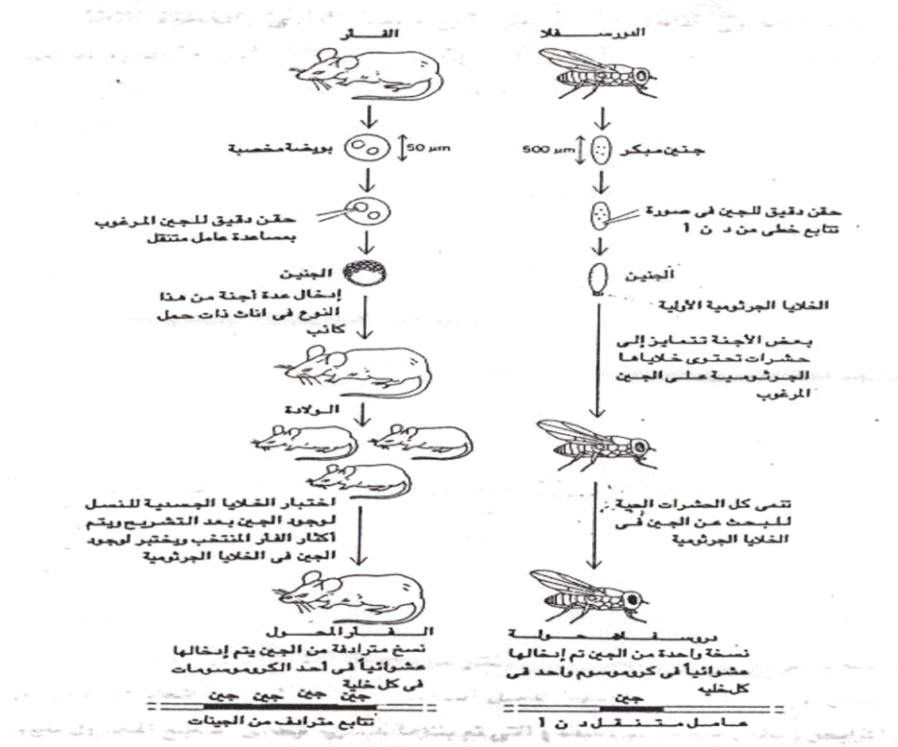
► إن عملية التحول هذه تسمح ببحث التأثيرات البيولوجية لهرمون النمو كمسرع لنمو الحيوان وكذلك لتحسين عروق الحيوانات الزراعية وكنموذج للعلاج الجيني للأمراض الوراثية



الهندسة الوراثية للفئران عند إدماج مورث هرمون النمو للجرذان في البويضة المخصبة للفأر

► تم تغيير لون الفراء عند حقن بيضة فأر بمائتي نسخة من DNA الخطي ، فسينتهي بها الأمر إلى تكوين فأر محتويّاً على مجاميع مترادفة من نسخ الجين المحقونة والتي تدخل في موقع عشوائي على أحد الكروموسومات .

► يطلق على الحيوانات التي تم تغييرها وراثياً بصفة دائمة بهذه الطريقة **بالحيوانات المحولة Transgenic** وهذا الفأر سيورث الجينات التي اكتسبها لنسله وهذه الطريقة تلقي بعض الضوء على كيفية تنظيم الجينات في الثدييات وكذلك عن كيفية تحول بعض الجينات إلى جينات مسرطنة نشطة مسببة للسرطان



حقن الجين في بويضة الفأر يؤدي إلى تغيير في لون الفراء، في حين أن حقن الجين في جنين الحشرة يسبب تغيير في لون العين

- ▶ قام فاغنير وآخرون في عام ١٩٨١/ بدمج مورث بيتا β غلوبين الأرنب مع مورث الثميدين كيناز لفيروس الهربس في البويضة المخصبة للفأر فالبويضات التي تعرضت للحقن تم استنباتها في وسط مغذي حتى مرحلة الكيسة الأريمية وبعد ذلك تم غرسها في رحم الأم فقد تم الحصول على (٤٦) فأر من الأجنة المعاد غرسها من ضمنها خمسة فئران حوت في كرياتها الحمراء هيمو غلوبين الأرنب
- ▶ قام روسكوني و شافنير في عام ١٩٨٦/ بإجراء تجارب على الحقن المجهرى لمورث بيتا β غلوبين الأرنب في مركب البلازميد المعاد صياغته في البويضات المخصبة للضفدع.

٢- إنتاج حشرات محورة من الدروسوفيلا :

- ▶ إدخال نسخة واحدة من الجين عشوائياً في جينوم الحشرة . ويتم أولاً إدخال الشظية المحتوية على الجين بين التتابعات الطرفية لأحد العناصر المتنقلة النوعية في الدروسوفيلا والتي تسمى العنصر (P) فيحدث الإدخال في كروموسومات الدروسوفيلا في وجود الأنزيم Transposase المسؤول عن هذا النشاط لتكوين حشرة متحورة بعد ذلك فإنه يتم حقن شظية DNA المحورة في جنين مبكر للحشرة ويحقن معها بلازميد مستقل محتويًا على الجين الذي يشفر الأنزيم Transposase ، وغالباً ما يحدث إدخال للجين المحقون في جينوم الحشرة في صورة نسخة وحيدة
- ▶ قام روبين وآخرون في عام ١٩٨٢/ بربط الشظية التي تحوي المورث الطبيعي ry^{+} الذي يتحكم بلون العيون الحمراء عند الدروسوفيلا بالعنصر الانتقالي P- ثم تم إدخالها في البلازميد Pry1

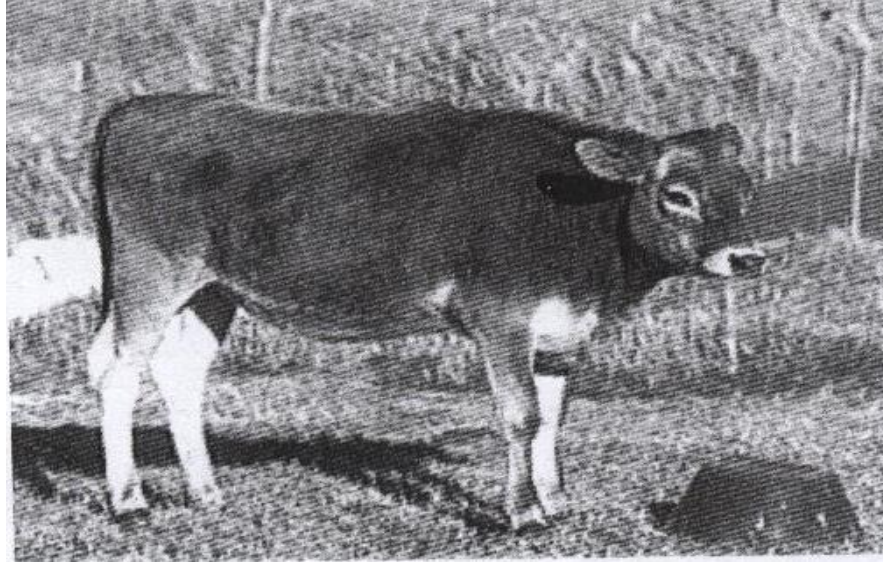
► بعد ذلك حقنت نسخ البلازميد P_{ry1} التي تحوي مورث $ry+$ (لون العيون الحمراء) في أجنة يرقات الدروسوفيلا المتجانسة بالمورث المتنحي ry . لوحظ أن (٢٠-٥٠ %) من الأفراد المتطورة من هذه اليرقات ظهر عليها علامات التحور (ذات عيون حمراء) وفي الجيل الثاني المورث الغريب $ry+$ تورث كمورث كروموسومي سائد ثابت إذ أن DNA لمورث $ry+$ اندمج في DNA خلايا المستقبل بشكل طبيعي

٣- إنتاج أسماك محورة وراثياً :

- ▶ تحسين معدلات نمو الأسماك وتجري عملية نقل المورثات في المراحل الجنينية المبكرة في عدة أنواع مثل الترويت والسلمون والكارب والسلور وأدى إلى زيادة وزنية بلغت ثلاثة أضعاف الوزن الطبيعي
- ▶ استخدمت طريقة أخرى لزيادة النمو في الأسماك دون أن تتضمن تحويلاً وراثياً فيها واعتمدت على استعمالات البلازميدات من الخمائر، الممثلة لمورثة هرمون النمو من الترويت المسمى قوس قزح، **Rainbow Trout** وقد أطعمت الأسماك غذاءً محتويًا على إضافات من تلك الخمائر، فأدت التغذية اليومية لها إلى زيادة نمو الأسماك العادية وهذه الطريقة عملية واقتصادية.

٤- إنتاج أبقار محورة وراثياً

- ▶ إنتاج عجلة مستنسخة وأطلقوا عليها اسم (Annie) من عرق الجيرسي Jersey وتمتلك خلاياها دفاعاً حيويّاً ضد مرض التهاب الضرع متمثلاً في بروتين يدعى Lysostaphin ، وهذه العجلة وهي الأولى من حيث كونها محورة وراثياً بواسطة مورثة لإنتاج البروتين المذكور الذي يشكل دفاعاً وراثياً ضمن الخلايا ، بدلاً من الصادات (المضادات الحيوية) التي لا تفيد سوى في نحو 15 % من الإصابات بالبكتريا Stapylococcus Aureus.
- ▶ نقلت المورثة المذكورة من سلالة من ذات النوع البكتيري ولكنها غير ضارة وتدعى S. simulans .



العجلة المستنسخة والمحورة وراثيا

- ▶ تمكن الباحثون في شباط عام 2003 من إنتاج أبقار تنتج مستويات مرتفعة من ألبيتا κ -casein والكابا كازئين في الحليب.
- ▶ أوضح الباحثون أن مستوى البروتين الكلي ازداد بين 13 و 20 % في حليب بقرتين أظهرتا آثار التحوير الوراثي بوضوح وأن محتوى الكازئين الكلي في حليبهما ازداد بين 17 و 35 % بالمقارنة مع الأبقار غير المحورة وراثياً وقد بلغت الزيادة في البيتا كازئين في هاتين البقرتين 8 - 20 % بينما بلغت الضعف في الكابا كازئين .
- ▶ يستخدم هرمون النمو البقري المأشوب (RBST) Recombinant bovin somatotropin في الولايات المتحدة لتحسين إنتاج اللحم والحليب من الماشية ، و إنتاجها من الحليب يزداد بنحو 10-25 %، إضافة إلى زيادة نسبة التوائم في مواليدها.

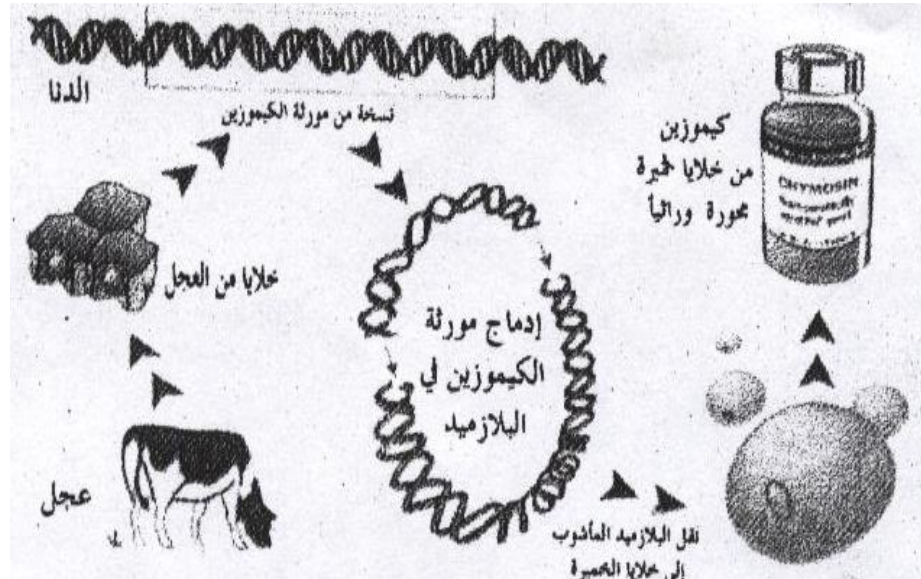
٥- إنتاج أغنام محورة وراثياً:

- ▶ تم نقل مورثة تصنيع السيستين Cystein بقصد تحسين إنتاجها من الصوف كما تم تحويل مستويات هرمون النمو وراثياً في الأغنام والخنازير والفئران وأدى ذلك إلى زيادة ملحوظة في معدلات النمو فيها
- ▶ اكتشاف آلية لإحكام الرقابة على تأثير المورثة، وذلك بتعديل مستويات عنصر الزنك في الغذاء والحصول بالتالي على زيادة في معدلات النمو عند الأغنام والخنازير دون ظهور شذوذ ملحوظ في الحيوانات

٦- إنتاج خنازير محورة وراثياً:

- ▶ يستخدم هرمون النمو (PST) Porcine somatotropin لتكوين أنسجة عضلية طرية وإنقاص نسبة الدهن كما أنتجت خنازير محورة وراثياً بحيث تظهر أثر مورثة بقرية خاصة ببروتين الحليب. فازداد محتوى البروتين بمعدل 50 % في حليبها كما ازداد نمو مواليدها التي رضعت هذا الحليب بمعدل 10 %.
- ▶ **إنتاج أنزيم الكيموزين:** كما يتم تصنيع أنزيمات (خمائر) محوره وراثياً، منها أنزيم الكيموزين chymosin لإستخدامه بدلاً من أنزيم الرينيت (Rennet .) وتم تصنيعية حسب المراحل التالية :

١. عزل الدنا المشفرة للكيمازين من خلايا العجل .
٢. إدخال نسخة من هذا الدنا في بلازميدات لإدخاله ضمن خلايا الخميرة .
٣. حضان خلايا الخميرة في وعاء تخمير ،وبالتالي تصنيع كيمازين مطابق للبروتين الحيواني من خلايا الخميرة .
٤. نظرًا لكون الكيمازين من بروتين واحد (بدلاً من خليط عدة بروتينات (فإنه أنقى من الريبيت التي تصنع من معدة العجل .



السعي لإنقاذ أنزيم اللاكتوز في الحليب:

- ▶ يعاني عدد كبير من الناس من مشكلة تدعى عدم تحمل اللاكتوز (سكر الحليب) **Lactos intolerance** ويسبب اللاكتوز غير المهضوم في المعى آلاماً بطنية ودواراً وإسهالاً قد يؤدي إلى حالة تجفاف شديد .
- ▶ تمكن **Bernard Jost** وزملاؤه في فرنسا من الحصول على حيوانات محورة وراثياً تنتج حليباً محتوياً على نسبة منخفضة من اللاكتوز ، وقد تمكنوا من إنتاج فئران تظهر أنزيم اللاكتاز في غددها الثديية ، وهو ينتج عادة في الأمعاء فحسب ، مما يؤدي إلى إنقاص سكر الحليب إلى ما بين (50 - 85 %) من المعدل الطبيعي دون إحداث أي تغيير في المكونات الأخرى .

صعوبات التحويل الوراثي للحيوان

❖ انخفاض كفاءة التحويل الوراثي لحيوانات المزرعة

تمكن الباحثون عام 2000 من إنتاج قرد محور وراثياً وذلك بنقل مورثة تنتج بروتيناً مشعاً من نوع من الأسماك (jelly fish) إليه ، فامتلك القرد المذكور وأسموه (Andi) الصفة المذكورة وقد تطلب إنتاجه إجراء التحويل المذكور في 220 بويضة مخصبة فلم يتطور منها إلى أجنة سوى 126 نقل أربعون منها إلى أمهات مستقبلية فلم يحدث سوى خمس حالات حمل ، نتج عنها ثلاث ولادات حية ولكن واحد من المواليد فقط امتلك المورثة المشار لها.

❖ **ارتفاع تكاليف إنتاج ورعاية الأبقار المحورة وراثياً**، إلى جانب طول فترة الجيل فيها، وقلة أعداد مواليدها خلال حياتها العاملة، فقد تم إنتاج تسعة عجول وعجلات محورة وراثياً بحيث تمتلك مورثة البروتين ألفالاكتوالبومين a-lactoalbumin وذلك بغية إنتاج حليب صالح لتغذية الأطفال الرضع. فقد قام العاملون في إحدى شركات التقانة الحيوية في الولايات المتحدة الأمريكية بفحص (20981) جنين بقري ، وحقنوا (11507) أجنه منها بالمورثة البشرية، وقد عاش (478) جنيناً من هذا العدد لنقلها إلى أرحام أمهات كاذبة . وقد ولد (91) عجلاً وعجلة ، وأمتلك تسعة منها فقط المورثة المذكورة.

► تؤدي الطرائق المتبعة في التحويل الوراثي في الحيوان إلى معدلات فقد أو تشوه مرتفعة في الأجنة .

فوائد الحيوانات المحورة وراثياً.

- ▶ ١-الأبحاث الطبية لتحديد وظائف عوامل في طرز معقدة وذلك عبر الإظهار الفائق أو المتدني لمورثة محورة معينة منقولة إلى كائنات أخرى .
- ▶ ٢-دراسة وراثة التطور لدى الثدييات
- ▶ ٣-دراسة الوراثة الجزيئية .
- ▶ ٤-صناعة العقاقير الصيدلانية بقصد تطوير بروتينات وعقاقير ولقاحات جديدة مفيدة ورخيصة الثمن في كل من النبات والحيوان

- ▶ ٥- في صناعات التقانات الحيوانية لإنتاج بروتينات معينة ولزيادة قدرة الحيوان على مقاومة الطفيليات والأمراض.
- ▶ ٦- تكوين حيوانات بشكل خاص لاستخدامها للحصول على أعضاء يمكن استخدامها بنقلها من الحيوان (كالخنزير مثلاً) إلى الإنسان المحتاج لها ، ويبدو أن لهذه التقنية (التطعيم) مستقبل واعد .

شكراً لإصغائكم