**الجولة الثالثة: مع وسائل أخرى لنقل الدنا المرغوب من الواهب وإدخاله فى جينوم المضيف:**

حيث أصبحت هناك وسائل أخرى متعددة إضافة للبلازميد البكتيرى والفاجات نذكر منها:

١ـ تم تحويل خلايا الخميرة بنجاح لاستزراع جينات الكائنات مميزة النوى وذلك باستعمال البلازميد المسمى 2um الموجود فى كثير من سلالات الخميرة وذلك بعد إدماجه مع أحد البلازميدات البكتيرية.

٢ـ الكوزميدات Cosmids :

وهذه هجن ما بين بلازميدات وفاجات لنضا ، ويمكنها أن تحمل قطعاً من الدنا الغريب يصل طولها إلى ٤٠ ألف زق ومنها كروموزومات الخميرة الاصطناعية.

**كروموسومات الخميرة الاصطناعية (الياكات yeast artificial Chro (YACs) mosomes: وهذه الياكات قد تحمل بضع مئات الآلاف من الدنا الغريب)ـ**

٣ـ دمج البروتوبلاست Proto Plast Fusion (خاصة بالنبات):

حيث تستخدم بعض البوليمرات والأيونات لتزيد من نفاذية غشاء البلازما الخاص بالخلايا المختلفة النوع والمطلوب دمجها أو يحدث خلل فى تركيب الجدار ليزال وبالتالى بعد إزالة الجدر السميكة تصبح البروتوبلاست (المحتوى الموجود بالخلية ـ عارياً) ثم يتم اندماج كل خليتين معاً (كل خلية من نوع نبات غير الثانى).. ويتكون (هجين جسمى Somatic hybryids)؛ وإذا حدث اندماج للبروتوبلاست دون أن تندمج الأنوية، بمعنى اندماج السيتوبلازم فقط يتكون (سيبرد Cybrid)، واندماج البروتوبلاست بمساعدة الكيماويات ـ دمج كيماوى {Chemical indeced fusion} ويمكن أيضاً اندماج البروتوبلاست بمساعدة تيار كهربى مستمر وتُعرف هذه العملية بالدمج الكهربى (Electro fusion)، وفى كلا الحالتين يتكون هجين جسمى يحتوى جميع الصفات الموجودة فى النباتين (المعطى والمستقبل) بغض النظر

عن التوافق الجنسى بينهما، ويمكن من خلال هذه التقنية نقل أكثر من چين أو الصفات التى يتحكم فيها العديد من الچينات (Polygenic) ولا تتوافر هذه الخاصية مع أى وسائل نقل أخرى.

**٤ـ الحقن الدقيق واستخدام أشعة الليزر فى النقل الوراثى:**

**Microinjection and UV Laser microbeam - mediated transformation:**

هى طرق أكثر صلاحية فى حالة الحيوان أو الإنسان عندما يكون الهدف هو نقل چين لبويضة واحدة أو عدة بويضات على الأكثر، وهى تحتاج لمهارات خاصة، وفى حالة الحقن الدقيق (Microinjection) تستخدم أنبوبة شعيرية دقيقة لنقل البلازميدات إلى نواة الخلية. وفكرة استخدام شعاع الليزر فى النقل الوراثى مأخوذة من استخدام شعاع الليزر فى الجراحة حيث يستطيع شعاع الليزر عمل ثقوب فى جدار الخلايا ومن خلال هذه الثقوب تدخل البلازميدات أو الحقن الدقيق للچينات فى الخلايا.

ويُفسح الحقن الدقيق الطريق إلى تكنيك أكثر حذقًا، له ميزة واضحة واحدة، إنه يمكّن من أن يولج الچين فى موضع محدد بدقة، تحوي مضغة الفأر، وهي فى عمر ثلاثة أيام، خلايا تعرف بالخلايا الجذعية للمضغة، وإذا استخلصنا إحدى هذه الخلايا وحقنّاها بچين، كما اكتشف ذلك لأول مرة ماريو كابتشي عام ١٩٨٨، فإن الخلية ستصل أطراف هذا الچين بداخلها عند النقطة نفسها بالضبط التى يتمى إليها الچين، ليحل مكان نسخة الچين الموجودة من قبل، أخذ كابتشى من فأر مستنسل چينًا ورمياً اسمه إنت ـ ٢ (int-2) وأولجه فى خلية فأر بأن فتح مسام الخلية لزمن وجيز، فى مجال كهربائى، ثم راقب ما يحدث، الچين الجديد يعثر على الچين المغلوط ليحل محله. وتسمى هذه العملية «التوليف المتماثل» homologous recombination وهى تستغل حقيقة أن الميكانيزم الذى يصلح أمر دنا المعطوب كثيراً ما يستخدم الچين الإضافى على الكروموسوم النظير كقالب للطبع. ويُخطأ فى فهم الچين الجديد على أنه هذا القالب ويُصحح الچين الموجود من قبل حسب ذلك. وبعد

تعديل الخلية الجذعية هكذا، يمكن أن يعاد وضعها داخل مضغة لتنمو إلى فأر كيميرى ـ فأر تحوى بعض الخلايا فيه الجين الجديد.

يتيح التوليف المتماثل للمهندس الوراثى، لا أن يرمم الجينات فحسب وإنما أن يفعل أيضاً عكس ذلك، أى أن يعطب عن عمد جينات شغالة بأن يولج نسخاً مغلوطة مكانها، ونتيجة ذلك هى ما نسميه فأراً مضروباً ضربة قاضية، حيث ينشأ، وقد أُسكت جين واحد فيه، الأمر الذى يتيح الكشف عن الهدف الحقيقى لذلك الجين، ويدين اكتشاف ميكانيزمات الذاكرة ديناً كبيراً للفئران التى ضربت ضربة قاضية، كما تدين لها أيضاً مجالات أخرى من البيولوچيا الحديثة.

**٥ـ الثقب الكهربائى Electro Poration:**

حيث يتم دخول الدنا المراد نقله إلى الخلية من خلال نفاذية غشاء البلازما للبروتوبلاست التى تزداد نتيجة وجود البروتوبلاست فى مجال كهربى وبمعنى آخر يفتح ثقوباً فى أغشية الخلايا تمر منها الجينات المطلوب نقلها، ومن ذلك يتضح أن هذا النظام من أنظمة النقل الوراثى يتطلب :

(أ) مزارع بروتوبلاست. (ب) مصدر تيار كهربائى مستمر.

**٦ـ مسدس الجينات Gene gun:**

توظف هذه الطريقة سرعة اندفاع غاز الهيليوم والقادم من أسطوانة هيليوم من خلال صمام تحكم فى دفع جزيئات دقيقة جداً من الذهب أو التنجستين، ومُحمَّل فوق سطح هذه الجسيمات ـ (مُغطاة) بالدنا المراد نقله للخلية بمساعدة مادة غروية لاصقة تزيد من التصاق الدنا على جزيئات الذهب (الخاملة)، فيمر إلى السيتوبلازم من خلال جدر الخلايا وأغشيتها، وتُعرف هذه الجزيئات بالقذيفة الدقيقة Microprojectle وبمرور القذيفة خلال شبكة معدنية تتشعب إلى مجموعة من القذائف الدقيقة التى تصطدم بالنسيج النباتى وتخترق خلاياه.

**٧ـ النقل المباشر Direct gene transfer فى النبات:**

كانت هناك محاولات لنقل البلازميد (الدنا) إلى الخلية النباتية مباشرة دون

الحاجة إلى استخدام عائل حيوى مثل الأجروباكتريم أو الفيروس ولعل أول تجربة ناجحة على النقل المباشر إلى البروتوبلاست كانت فى عام ١٩٨٢م.

ويلزم لنجاح النقل المباشر أن تكون الخلية فى حالة البروتوبلاست [والبروتوبلاست كما سبق وأوضحنا هو : خلية تم نزع جدارها الخلوى]، وبالتالى نكون قد منعنا أول عائق يمنع وصول الدنا المطلوب إيلاجه إلى داخل الخلية النباتية، بعد إزالة الجدار الخلوى، ويتبقى الغشاء البلازمى ويتم معاملته بمواد خاصة تضاف إليه فى المعمل من «بوليميرات وأيونات فتزيد من نفاذية غشاء البلازما وتحدث ثقوب أو خلل فى تركيبه وبالتالى يزداد معدل مرور الدنا المولج من هذا العائق، مما يسمح بمرور الجزيئات كبيرة الحجم مثل البلازميدات (الدنا).

**٩ـ الكروموسوم البشرى الاصطناعى** Artificial human chromosome:

ففى عام ١٩٩٧م استطاع فريق من الباحثين الأمريكيين تصنيع كروموسوم بشرى اصطناعى ـ بأن أخذوا بعضاً من دنا كرات دم بشرى بيضاء، ثم قاموا بتصنيع تيلوميرين بربط آلاف من وحدات دناوية.. (تم تصنيعها آلياً) كما صنعوا أيضاً بنفس الطريقة سنترومير ا. غلفوا هذه المكونات الثلاثة باللبيدات حتى يمكن تمريرها من غشاء الخلية، ثم أولجوها فى خلية سرطانية بشرية (تم تربيتها فى مستنبت بالمعمل) فإذا بالخلية تقوم أوتوماتيكياً بتجميع هذه المكونات فى صورة كروموسوم اصطناعى، ثم وجدوا أن هذا الكروموزوم الاصطناعى يورَّث، عند انقسام الخلية، إلى الخلايا الجديدة، تماماً مثل غيره من كروموزومات الخلية. وكان الكروموزوم الاصطناعى يورث وكان فعالاً. ويعتبر الباحثون الكروموسوم البشرى الاصطناعى فتحاً جديداً فى مجال علاج البشر بالجينات، ففيه يمكن أن يُنقل الجين الذى يحتاجه المريض إلى خلايا دمه، دون اللجوء إلى الفيروسات التى قد تولج مادتها الوراثية فى غير المكان الصحيح إضافة إلى العديد من المخاوف المحتملة.