الفصل الرابع عشر

تطبيقـــات تكنولـوجيـــا الجـــين
Applications of Gene Technology

لقد أدت تكنولوجيا د ن أ المعاد صـــياغته Recombinant DNA وكلونـــة الجين Gene Cloning إلى إنطلاق عصر جديد سمى بحـــق عـــصر الهندســـة الوراثية وتكنولوجيا الجين.

فقد توالى استخدام هذة التقنيات فى إنتاج الادوية والفاكسينات والكيماويات الصناعية و الأغذية المعدلة وراثيا.

كما تقوم تكنولوجيا الجين بدور كبير فى مجال تشخيص وعلاج الأمراض الوراثية البشرية وتقليل تلوث البيئة وتحسين الانتاج النبـــاتى والحيـــوانى كمـــا ونوعا.

إنتاج بروتينات معدلة وراثيا:
Production of Recombinant Proteins:

سبق الاشارة إلى أهمية تكنولوجيا الجين فى انتاج بروتينات معدلة وراثيا ذات قيمة إقتصادية كبيرة مما ادى إلى نشأة مجال جديد مـــن االبيوتكنولـــوجى أطلق عليه هندسة البروتينات Protein Engineering.

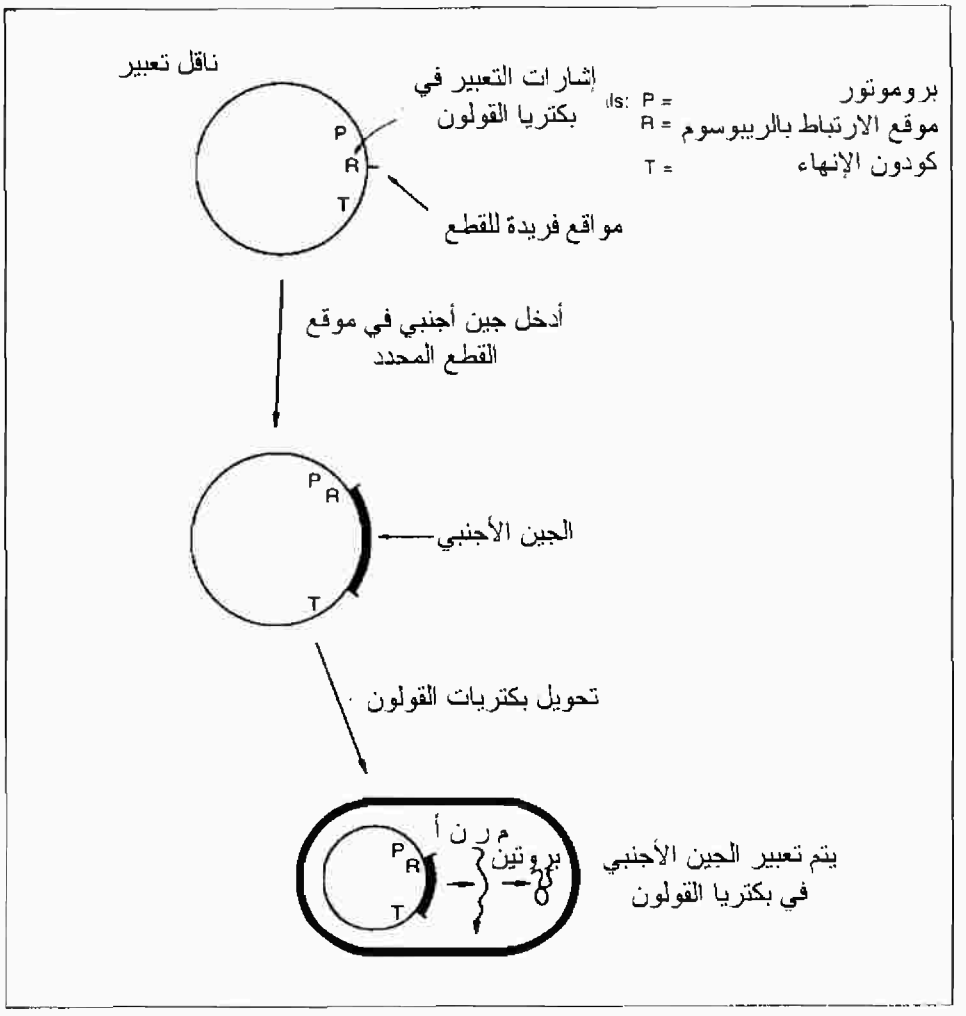
الا انه قبل ان نتطرق إلى إستعراض بعض الامثلة من البروتينات التى تم إنتاجها بتكنولوجيا الجين فإنه من المفيد ان نفرق بين نوعين من الناقلات و هما: ناقلات الكلونة Cloning Vectors و هذة سبق شرحها بالتفصيل ، وناقلات التعبير Expression Vectors والتى يجب أن تحتوى على بعض التتابعات التى تمكنها من إجراء عمليتى نسخ وترجمة الجين المكلون إلى البروتين المرغوب.

وتشمل هذة التتابعات :

(١) تتابع المستبدئ Promoter والذى يكون تتابعه قبلى للجين المطلوب upstream.

(٢) تتابع الانهاء Terminator والذى يحدد النقطة التى تنتهى عندها عملية نسخ الجين.

(٣) تتابع الارتباط بالريبوسوم Ribosome Binding Site و هو عبارة عن تتابع نيوكليوتيدى قصير يتعرف عليه الريبوسوم كنقطة ارتباط بجزئ م ر ن أ. ويقع كودون البدء (AUG) دائما على بعد نيوكلتيدات قليلة بعد هذا الموقع Downstream (الشكل ١٤-١).



الشكل (١٤-١): إستخدام ناقل تعبير للحصول على تعبير جين أجنبى
فى خلية بكتريا القولون

أولاً: الانسولين المعدل وراثيا Recombinant Insulin:

ينتج الانسولين الطبيعى من مجموعة خلايا β فى جزر لانجيرهانز فى البنكرياس البشرى وهو يتحكم فى مستوى الجلوكوز فى الدم. ويؤدى نقص

الانسولين إلى الاصابة بمرض السكرى Diabetes Mellitus والذى قد تؤدى تعقيداته إلى الموت إذالم يتم علاجه.

ومن حسن الحظ أنه توجد بعض أنواع مرض السكرى التى يمكن تقليل مضاعفاتهابالعلاج المستمر بالحقن بالانسولين لتعويض النقص فى انتاجه فى خلايا الفرد المصاب.

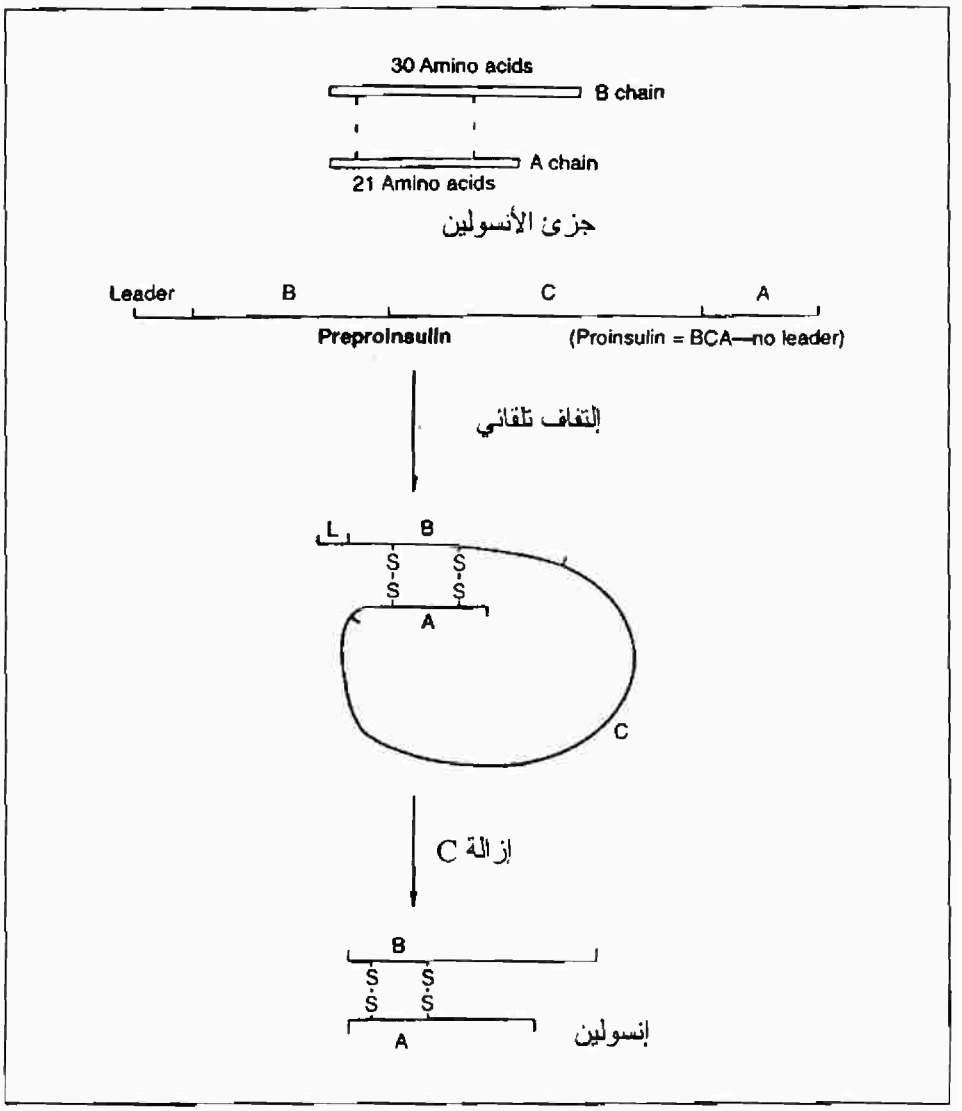
وقد كان مصدر الانسولين فى الماضى هو عن طريق إستخلاصه من بنكرياس الخنازير والابقار. وعلى الرغم من أن هذا الانسولين الحيوانى أعطى نتائج مقبولة ، إلا أنه قد تنشأ بعض المشاكل الصحية من إستعماله لعلاج مرض البول السكرى فى الانسان. إذ أنه نتيجة للاختلاف البسيط بين البروتينات الحيوانية و البشرية قد يؤدى إلى ظهور بعض الاعراض الجانبية مثل الحساسية Allergy.

والمشكلة الثانية تكمن فى صعوبة تنقية الانسولين الحيوانى وإمكان وجود ملوثات خطرة يصعب التخلص منها.

ويعتبر بروتين الانسولين مثالى لانتاجه بتقنية د ن أ المعاد صياغته فى خلايا بكتيريا القولون. إذ أن الانسولين البشرى لايحدث له أى تعديل Modifications بعد الترجمة (اى لا يضاف إليه اى مجموعات إضافية مثل سلاسل الأوليجو السكريه .....الخ).

كما أن جزئ الانسولين صغير الحجم ويشتمل على سلسلتين ببتيدتين الاولى مكونة من ٢١ حامض أمينى (السلسلة A) والاخرى مكونة من ٣٠ حامض أمينى (السلسلةB) (الشكل١٤-٢) و يتم بناء هاتين السلسلتين كبادئ

أنسولين يسمى Preproinsulin والذى يحتوى على سلسلتى A و B مرتبطتين بسلسلة ثالثة (C) و يسبقهم تتابع قائد Leader Sequence.



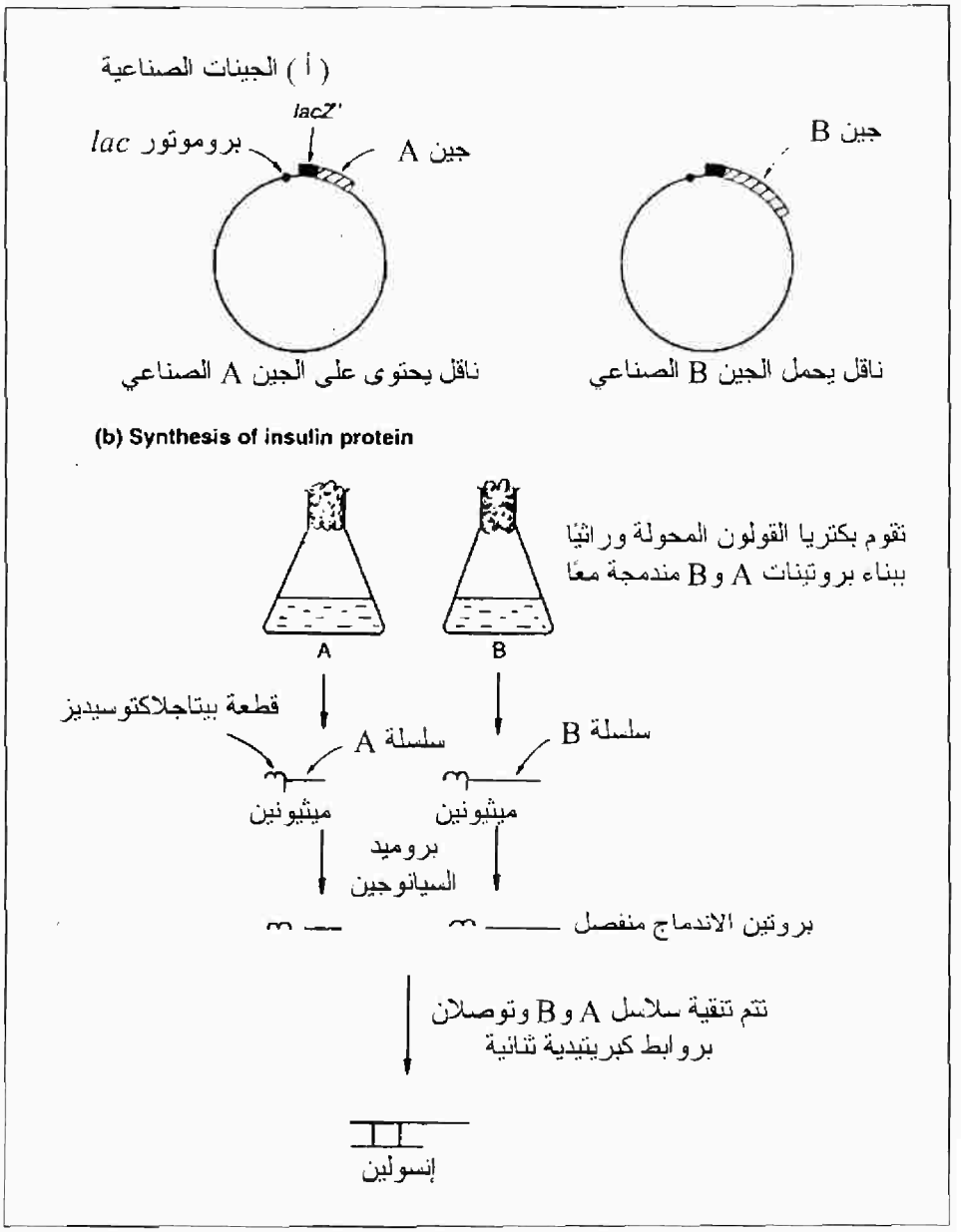
الشكل (١٤-٢): تركيب جزئ الإنسولين وملخص لبنائه بعملية التجهيز من جزئ الإنسولين القبلى البعدى Preproinsulin

وتتم إزالة التتابع القائد وحذف السلسلة C بعد النسخ ، وتبقى سلسلتى A وB مرتبطتين ببعضها برابطتين كبريتيدين Disulfide Bonds.

وقد أمكن بناء جين انسولين صناعى وترجمته إلى بروتين الانسولين الفعال. حيث أمكن تكوين بلازميدين معاد صياغتهما أحدهما يحتوى على الجين الصناعى الخاص بالسلسلة A والاخر يحتوى على جين السلسلة B. وفى كل حالة تم وصل الجين الصناعى بجين Lacz فى ناقل تعبير Expression Vector من نوع PBR 322 (الشكل ١٤-٣) مما يجعل كل جين صناعى تحت تحكم بروموتور Lac القوى. ويتم ترجمة كل منهما كبروتين مندمج Fused Protein يتكون من الاحماض الامينية الاولى من إنزيم β.Galactosidase متبوعة بسلسلة A أو B (الشكل ١٤-٣ ب).

وقد صمم كل جين بحيث يكون الحامض الاميني الميثيونين يفصل بين β-Galac وسلسلة الانسولين مما يمكن معه إزالة جزء β-Galc و فصلها عن سلسلة الانسولين وذلك بالمعاملة بمادة Cyanogen Bromide (CBr) ويتم الارتباط بين سلسلة A وB برابطتين كبريتدتين تتم فى المعمل. وقد أمكن تطوير عملية إنتاج الا نسولين ببناء Synthesis جين Proinsulin بحيث يشمل سلسلة A وB معا وبالكامل.

ويتميز بادىء الهرمون الناتج Prohormone بأنه يلتف ذاتيا Spontaneous Folding ليأخذ التركيب الصحيح بالروابط الكبريتيديه. ويمكن التخلص من سلسلة C بسهولة بتحليلها إنزيميا.



الشكل (١٤-٣): بناء الإنسولين المعاد صياغته باستخدام جينات صناعية لكل من سلسلتى A و B

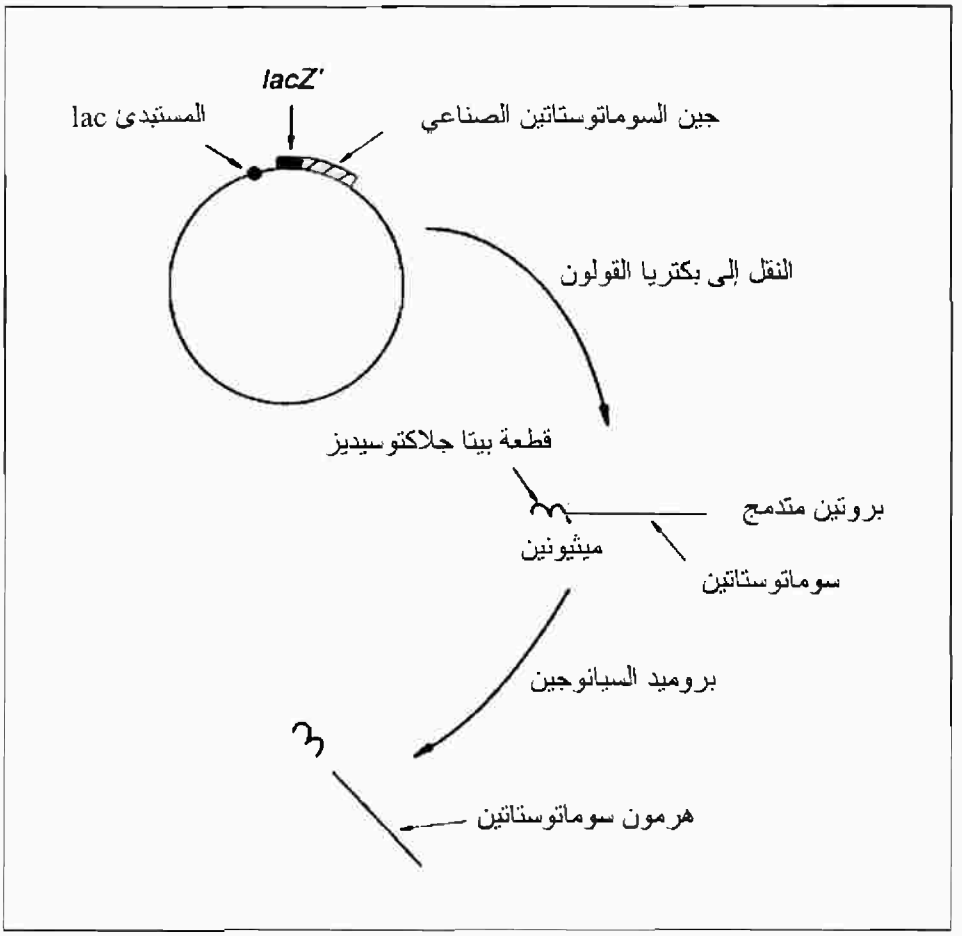
ثانيًا: إنتاج هرمون النمو البشرى فى خلايا بكتيريا القولون:

Synthesis of Growth Hormones in E.coli:

فى نفس الوقت تقريبا الذى إنتج فيه هرمون الأنسولين فى بكتيريا القولون ، كانت مجموعة أخرى من العلماء تعمل فى مشروع لانتاج هرمونى النمو البشرى سوماتوستاتين Somatostatin وسوماتوتروفين Somatotrophin.

ويعمل هذان الهرمونان بصورة مشتركة للتحكم فى عمليات النمو فى جسم الانسان ويؤدى نقصها إلى إختلال فى نمو العظام Acromegaly والتقزم. وقد كان هرمون سوماتوستاتين أول بروتين بشرى يتم تكوينه فى بكتيريا القولون (الا أن هرمون الانسولين كان أول هرمون بشرى يصرح به على نطاق تجارى بعد موافقة هيئة الغذاء والدواء الامريكية US Food and (FDA) Drug Administration ونظرا لانه يتكون من سلسلة قصيرة من ١٤ حامض أمينى فقط. فقد كان من السهل بناء جين صناعى لهذا الهرمون. واستخدمت فى إنتاج هذا الهرمون نفس الاستراتيجية التى سبق وضعها فى إنتاج الانسولين المعاد صياغته بحيث أدخل الجين الصناعى فى ناقل التعبير LacZ (الشكل ١٤-٤) وبناء بروتين مندمج Fusion Protein والقطع بمادة بروميد السيانوجين (CBr).

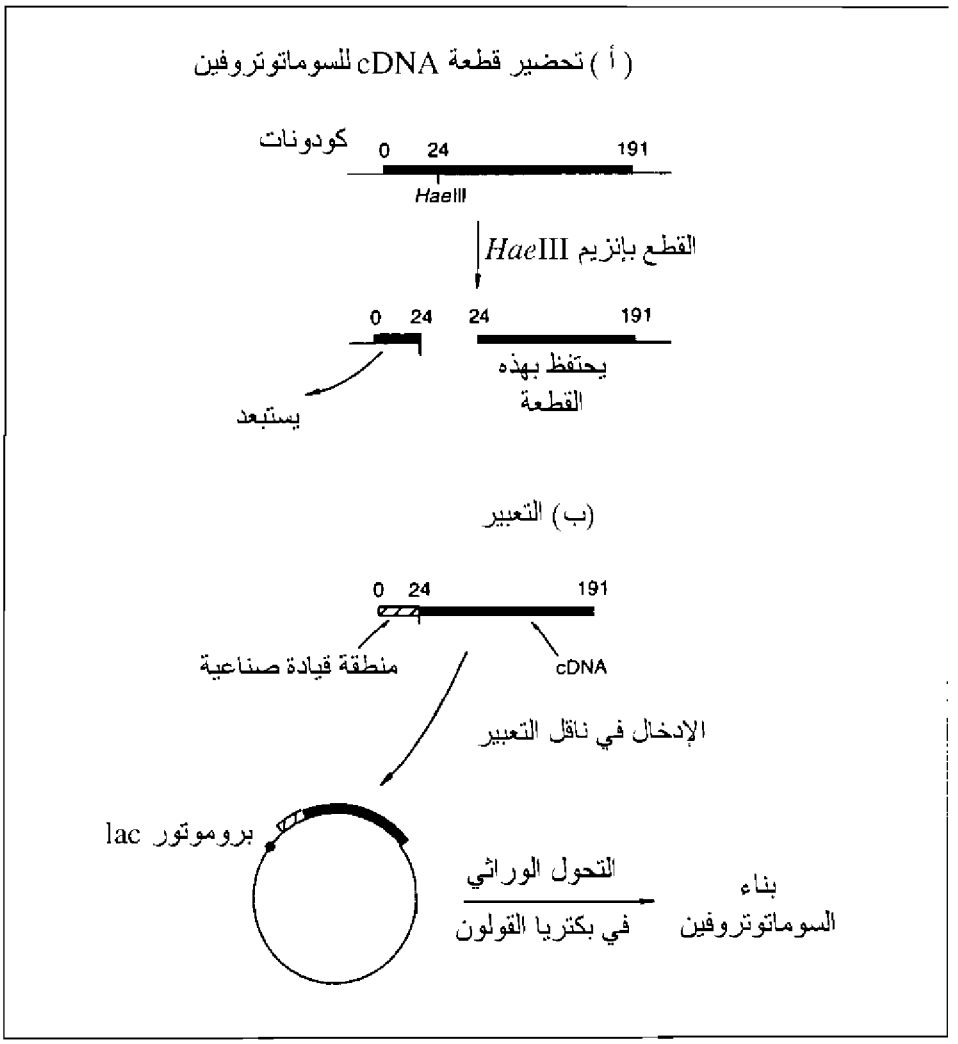
ومن جهة أخرى ونظرا لان هرمون السوماتوتروفين مكون من سلسلة طويلة نسبيا (١٩١ حامض أمينى) مكافئة تقريبا لحوالى ٦٠٠ زوج من القواعد النتروجينية ، فقد كان لابد من إستخدام إستراتيجية مختلفة نظرا لانه كان من الصعب فى ذلك الوقت (أواخر السبعنيات) بناء هذا الجين صناعيا بالكامل.



الشكل (١٤-٤): إنتاج هرمون السوماتوستاتين المعاد صياغته

ولذلك تم الاعتماد على cDNA من م ر ن أ المستخلص من الغدة النخامية التى تنتج هذا الهرمون فى جسم الا نسان. و تم قطع cDNA الناتج بانزيم القطع المحدد Hae III إلى قطعتين (الشكل١٤-٥) وكانت القطعة الاطول تحتوى على الكودونات من ٢٤ إلى ١٩١ وإستخدمت هذة القطعة لتكون البلازميد المعدل فى حين إستبدلت القطعة الصغرى بجزئ د ن أ صناعى الذى

إشتمل على نقطة بداية جين السوماتوتروفين ، و إحتوى على الاشارات الصحيحة اللازمة لعملية الترجمة فى بكتيريا القولون (الشكل١٤-٥) وتم لحام هذا الجين المعدل فى ناقل تعبير يحمل البرموتور Lac.

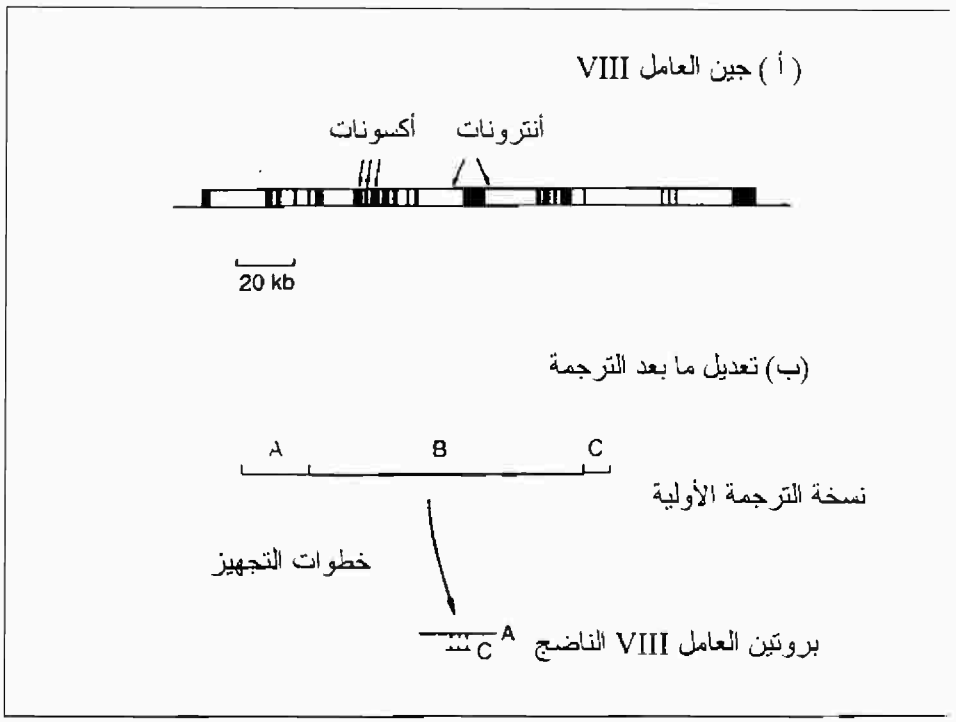


الشكل (١٤-٥): إنتاج هرمون السوماتوتروفين المعاد صياغته

ثالثًا: إنتاج عامل التجلط Recombinant Factor VIII:

يلعب عامل التجلط Factor VIII دورا رئيسيا فى عملية تجلط الدم. ويؤدى عدم قدرة الجسم على بناء هذا العامل (نتيجة لغياب النسخة السائدة من هذا الجين الموجود على كروموسوم الجنس X) إلى صعوبة وقف نزف الدم عند التعرض لجرح قطعى نتيجة عدم قدرة الجسم على تكوين جلطة لوقف النزيف وخاصه فى الأفراد المصابين بمرض النازف Haemophilia (هيموفيليا). ويتميز هذا الجين بأنه يتكون من ١٨٦ك قاعدة و يحتوى على ٢٦إكسون و٢٥إنترون كما أن م ر ن أ يشفر لسلسلة طويلة مكونة من ٢٣٥١ حامض أمينى (الشكل١٤-٦) كما أن بروتين العامل VIII يتم تعديله بصورة معقدة بعد الترجمة Post-Translational Processing بحيث يعطى فى النهاية بروتين ثنائى الجزئ Dimeric مكونا من تحت وحدة كبيرة مشتقة من المنطقة القبلية Upstream لمتعددة الببتيد الاولية وتحت وحدة صغيرة من المنطقة اللاحقة Downstream (الشكل ب) ثنائى الجزئ Dimeric. وتحتوى تحت الوحدتين على ١٧ رابطة كبريتيدية Disulphide Bonds وعدد من السلاسل الجليكوسيدية Glycosylated القصيرة.

ومن الواضح أن مثل هذا البروتين المعقد الكبير الحجم لايمكن للجهاز الوراثى لبكتيريا القولون أن يقوم بإنتاجه لافتقاره إلى كثير من العناصر المسئولة عن إنتاج مثل هذا البروتين لذلك كان لابد من إستخدام مزارع خلايا ثديية للقيام بهذة العملية.



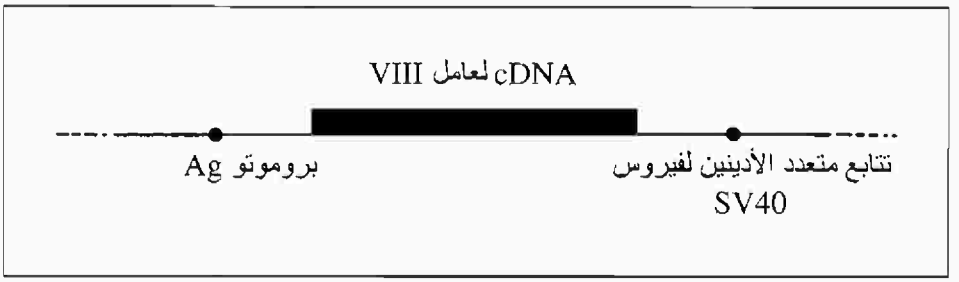
الشكل (١٤-٦): عامل التجلط VIII وناتج ترجمته (البروتين)

وقبل أن نتطرق إلى عملية بناء هذا البروتين المعدل وراثيا فى الخلايا الثديية تجدر الإشارة إلى الاسباب التى إقتضت ضرورة إنتاج هذا البروتين بطرق تكنولوجيا الجين إذ أنه حتى وقت قريب كانت الطريقة الوحيدة لعلاج الهيموفيليا هى الحقن ببروتين عامل التجلط VIII النقى والمستخلص من الدماء البشرية لافراد متبرعين و تعد عملية تنقية هذا البروتين عملية معقدة والعلاج مكلف جدا.

والأخطر من ذلك أنه بالرغم من دقة عمليات التنقية فإنها كانت قاصرة عن التخلص من الفيروسات المرضية التى قد تكون موجودة فى دم المتبرع . إذ

تبين أن فيروسات إلتهاب الكبد الوبائى Hepatitis و فيروس HIV المسئول عن الايدز (AIDS) يمكن أن تمر مع البروتين المستخلص وبالتالى حدثت بالفعل إصابات بهذة الامراض الخطيرة للافراد المعالجين بالحقن ببروتين عامل التجلط المستخلص بهذة الطريقة. لهذا فإن عامل التجلط المعدل والمنتج بتكنولوجيا الجين يكون خالى من هذة الملوثات الخطيرة مما يعد إنجازا مهما فى مجال البيوتكنولوجى.

وفى المحاولات الاولى لإنتاج هذا البروتين المعدل وراثيا باستخدام خلايا الثدييات ، تمت كلونة جزئ cDNA بأكمله فى مزرعة من خلايا الهامستر Hamster Cells إلا أن الكميات المنتجة من البروتين كانت ضئيلة جدا وغير مشجعة وقد يرجع ذلك إلى أن العمليات ما بعد الترجمة Post-Translational ، على الرغم من إنها تحدث بطريقة صحيحة فى خلايا الهامستر ، إلا أنها لاتقدر على تحويل كل النتائج الاولية إلى الصورة النشطة مما يؤدى إلى انخفاض حاد فى كمية الناتج النهائى. وللتغلب على هذة المشكلة ، إستخدمت قطعتين منفصلتين من cDNA تشفر إحداهما لتحت الوحدة الكبيرة من سلسلة متعددة الببتيد والثانية تشفر لتحت الوحدة الصغيرة وتم إلتحام Ligation كل من قطعتى cDNA فى ناقل تعبيرى Expression Vector بحيث تكون تحت تأثير Downstream بروموتورقوى وتسبق Upstream إشارة من متعدد الادينين Poly A من فيروس SV 40 (الشكل١٤-٧) وتم إدخال البلازميد إلى مزرعة من خلايا الهامستر حيث أنتجت كميات توازى ١٠ أضعاف الكمية المنتجة من الخلايا التى إحتوت على cDNA الكامل الطول كما أن بروتين عامل التجلط الناتج كان فعالا ولا يختلف فى ذلك عن البروتين فى صورته الاصلية.



الشكل (١٤-٧): إشارات التعبير المستخدمة فى إنتاج العامل VIII المعاد صياغته. يتكون البروموتور من هجين صناعى من تتابعات جين بيتا اكتين للدجاج وبيتا جلوبين للأرنب وتستخدم إشارة متعدد الأدينين Poly A الخاصة بفيروس SV40 (وهى مهمة للتجهيز الصحيح لجزئ م ر ن أ قبل الترجمة إلى بروتين)

إنتاج بروتينات بشرية معدلة أخرى:

Synthesis of Other Recombinant Human Proteins:

توالت عمليات إنتاج بروتينات معدلة بتكنولوجيا الجين ويبين الجدول(١٤-١) بعض الامثلة لهذة البروتينات.

الجدول (١٤-١) ، بعض البروتينات البشرية التى أنتجت من جينات مكلونة فى البكتيريا أو فى خلايا مميزة النواة أو بواسطة Molecular Pharming

البروتين	الغرض من إستخدامه فى العلاج
الانسولين	مرض البول السكرى
السوماتوستاتين	إختلا ل النمو
السوماتوتروفين	إختلا ل النمو
عامل التجلط VIII	هيموفيليا
عامل التجلط IX	مرض Christmas
الفا انترفيرون	اللوكيميا وأنواع أخرى من السرطان
بيتا انترفيرون	السرطان والايدز
جاما انترفيرون	السرطان و الروماتويد
انترليوكين	السرطان و إختلا ل المناعة
عامل نمو Epidermal	القرحة ulcer
منشط البلازمونيجين النسيجى (tpA) Tissue Plasmonigen Activator	الذبحة الصدرية heart attack
سوبر أوكسيد ديسمبوتيز (SOD)	التخلص من التلف الناتج من الشوارد المؤكسدة فى عملية زرع الكلية.
البيومين السيرم	يستخدم كإضافات للبلازما Plasma Supplement
ريلاكسين Relaxin	يستخدم فى المساعدة على الولادة To aid Child birth
إنزيم ديوكسى ريبونيوكليز	لعلاج مرض التليف الحويصلى Cystic Fibrosis

إنتاج فاكسينات بتكنولوجيا الجين Recombinant Vaccines:

تتلخص عملية التحصين Vaccination ضد مرض معين فى حقن الدم بتحضير من الانتجن Antigen الذى يؤدى إلى تحفيز الجهازالمناعى للجسم لبناء

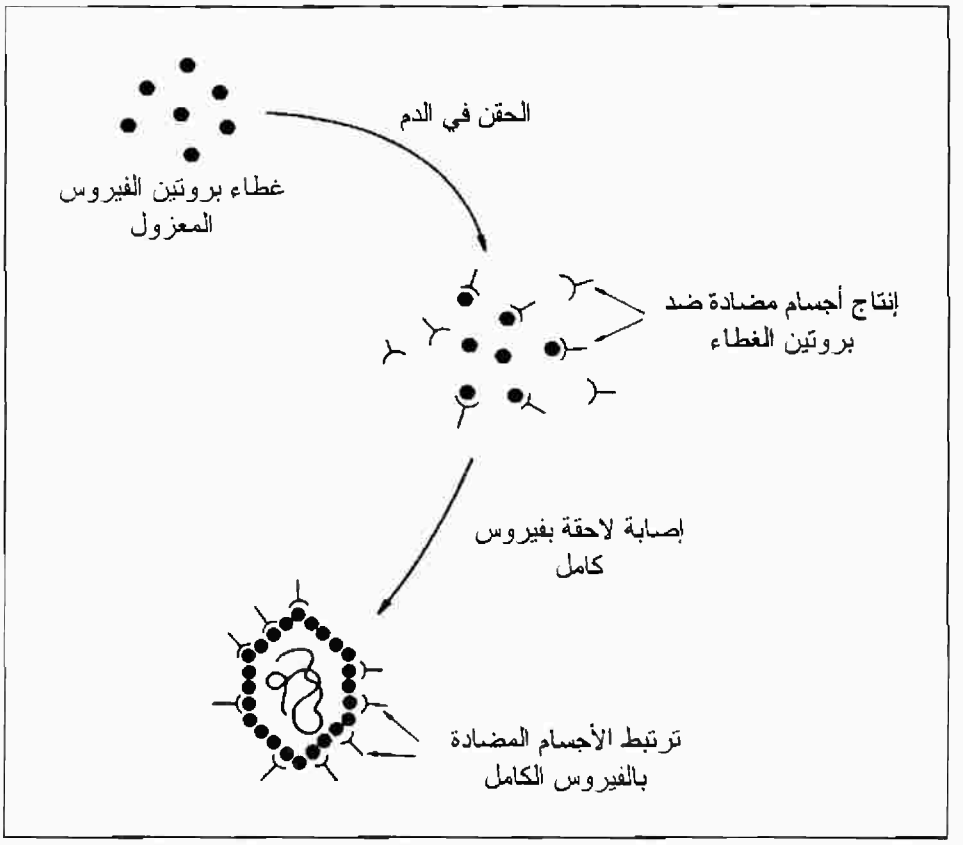
أجسام مضادة Antibodies لحماية الجسم من الاصابة. وقد جرت العادة حتى وقت قريب على إستخدام صورة غير نشطة أ و ميتة من الميكروب المعدى فى تحضير الفاكسين(الطعوم).

فمثلا الطعوم ضد الفيروس كانت تتكون من وحدات فيروس تم إيقاف نشاطها Attenuated بمعاملات حرارية أو عمليات مماثلة إلا أنه نشأت مشكلتين من إستخدام هذة الطعوم :

١- لابد من أن تكون عملية إيقاف النشاط فعالة بنسبة ١٠٠% وإلا فإن وجود حبيبة فيروس واحدة حية فى الطعم المستخدم ستؤدى إلى الاصابة. وقد كانت هذه مشكله فى طعوم الحمى القلاعية فى الابقار.

٢- لابد من الحصول على كميات كبيرة من حبيبات الفيروس لانتاج الطعم وهذه يتم الحصول عليها عادة من مزارع الانسجة. إلا أن بعض الفيروسا ت وخاصة فيروس إلتهاب الكبد B لاتنمو فى مزارع الانسجة.

وللتغلب على هذة المشاكل إستخدمت تقنية كلونة الجين وخاصة بعد إكتشاف أن تحفيز الجهاز المناعى فى ا لجسم لانتاج أجسام مضادة يعتمد أساسا على انتجينات موجودة فى بروتينات غطاء الفيروس Coat Proteins (الشكل ١٤-٨).



الشكل (١٤-٨): الفكرة الأساسية لتفسير إستخدام تحضير من الغطاء البروتيني للفيروس لإستخدامه كطعم Vaccine

ولذلك يتم تحديد الجين المشفر لهذا البروتين ويكلون فى ناقل تعبير مناسب لانتاج بروتينات معدلة وراثيا تستخدم كطعوم. و تمتاز تلك الطعوم بعدم وجود الفيروس الحى كما يمكن إنتاجها بكميات كبيرة.

وقد أمكن الحصول بهذة التقنية على طعم ضد إلتهاب الكبد B و ذلك بكلونته فى ناقل للتعبير 2µm وإدخاله إلى خلايا فطرالخميرة. وقد أمكن

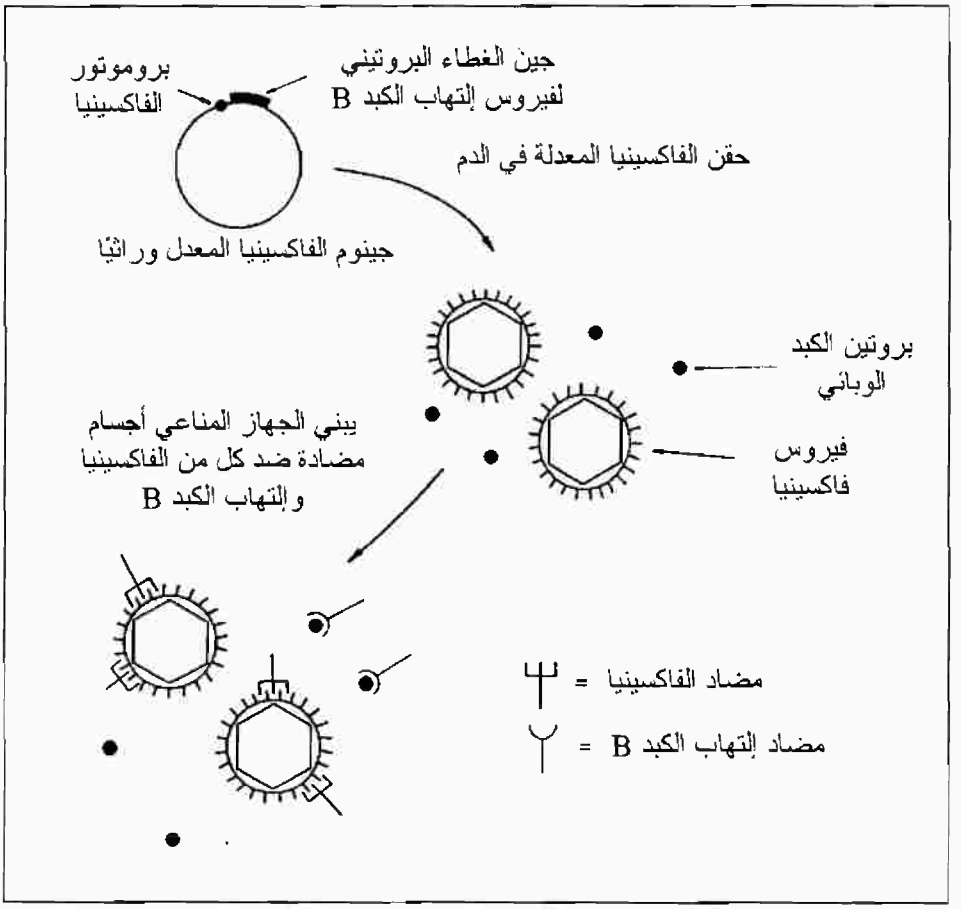
الحصول على كميات كبيرة نسبيا من هذا البروتين المعدل وأثبت فعاليته عند حقن القردة به. وقد تمت الموافقة على إستخدام هذا الفاكسين كطعم في الانسان.

إستنباط فاكسينات حية معدلة وراثيا:

Live Recombinant Vaccines:

يرجع إستخدام فيروس فاكسينيا Vaccinia كطعم ضد فيروس مرض الجدرى Smallpox إلى عام ١٧٩٦ حين إكتشف Edward Jenner لاول مرة أن هذا الفيروس ، غير الضار بالانسان ، يمكنه تحفيز الجهاز المناعى ضد فيروس مرض الجدرى الخطير. وقدإشتق إسم فاكسين من كلمة فاكسينيا. وقد أدى إستخدام هذة التقنية إلى التخلص تماما من مرض الجدرى على المستوى العالمى فى عام ١٩٨٠. وقد تطور إستخدام فيروس الفاكسينيا مؤخرا بحيث يمكن إستعماله كطعم حى ضد أمراض أخرى. فإذا تم الحاق جين بروتينات الغطاء لفيروس إلتهاب الكبد الوبائى B فى جينوم الفاكسينيا تحت تحكم بروموتور الفاكسينيا مما يؤدي إلى تعبيرالجين (الشكل ١٤-٩). وبعد الحقن فى الدم سيؤدى تكاثر الفيروس المعدل وراثيا إلى إنتاج حبيبات فاكسينيا جديدة بالإضافه إلى إنتاج كميات كبيره من انتجن إلتهاب الكبد B. وسيؤدى ذلك إلى إكتساب المناعة ضد الجدرى وإلتهاب الكبد الوبائى B معا. وتوجد إمكانات كثيرة لهذة التقنية، إذ يمكن إستخدام جينوم الفاكسينيا الحية لكلونة عدد من الجينات المسئولة عن إكتساب المناعة ضد عدد من الامراض بحيث أظهرت نتائج هذة التجارب فعالية كبيرة فى الحيوانات المعملية. وعلى سبيل المثال، فإن مثل هذة التجارب أثبتت إحتمال الحصول على طعوم واسعة المدى Broad Spectrum عندما تبين أن فيروس فاكسينيا المعدل وراثيا و الذى يتم فيه

تعبيرعدد من الجينات لبروتينات انتجينات مختلفة مثل فيروس الانفلونزا وإلتهاب الكبد B.



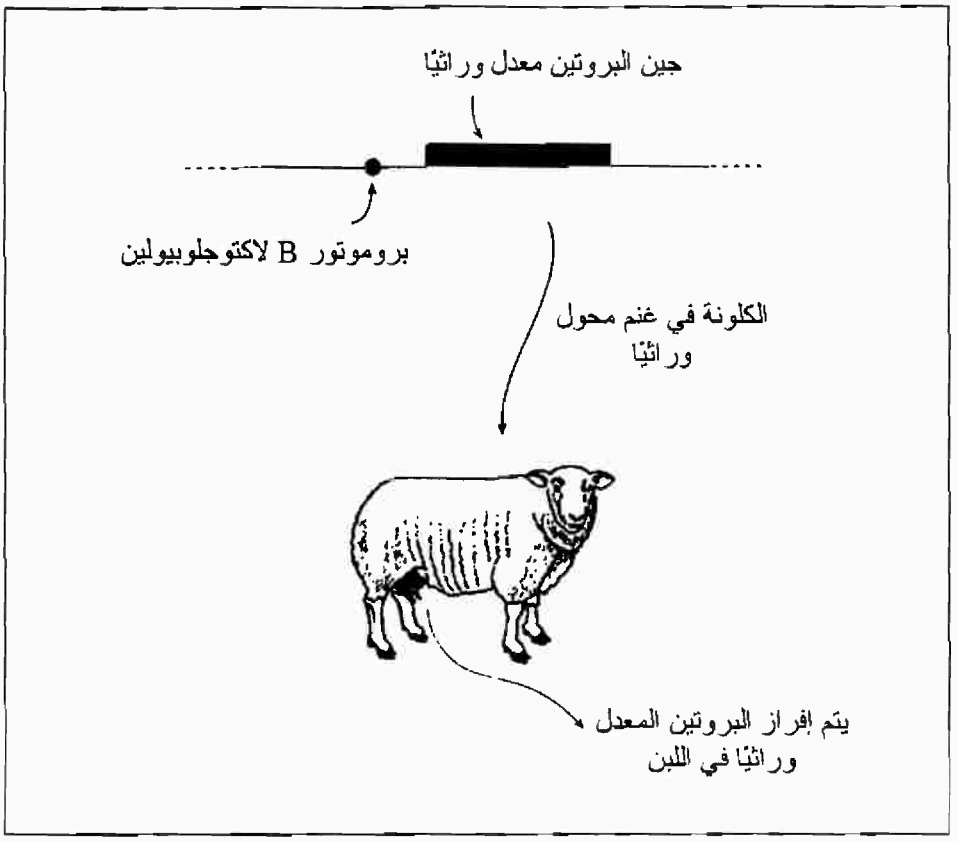
الشكل (١٤-٩): الفكرة الأساسية لتفسيرإمكان إستخدام فيروس الفاكسينيا المعاد صياغته

والهيربس Herpes Simplex قد أعطى مناعة ضد كل من هذه الامراض مجتمعه فىالقرود. إلا أن هناك تخوف من أن إطلاق مثل هذة الفاكسينيا المعدلة وراثيًا فى البيئة من خلال برنامج تطعيم ، خشية أى مخاطر على سلامة البيئة.

إنتاج بروتينات معدلة وراثيا فى الحيوانات الحية:

Recombinant Protein From Live Animals:

أمكن مؤخرا إستخدام الحيوانات الحية مثل الابقار والخنازير والاغنام كمفاعلات بيولوجية Bioreactors لانتاج بروتينات مهندسة وراثيا. وفى هذه التقنية يتم كلونة جين البروتين المرغوب تحت تحكم البروموتور الخاص بجين B-Lactoglobulin ويتم إدخال ناقل التعبير هذا إلى الحيوان المحول وراثيا Transgenic Animal والذى يتم إنتاجه بالحقن المجهرى Microinjection للخلية البيضية المخصبه ويؤدى وجود الجين المرغوب تحت تحكم هذا البروموتور إلى أن يصبح إنتاج البروتين المرغوب قاصرا على أنسجة الضرع فقط بحيث يفرز هذا البروتين مع اللبن (الشكل ١٤-١٠). ويمكن إستخلاص وتنقية البروتين المرغوب من اللبن بسهولة نسبية. وقد أمكن بهذة التقنية إنتاج بروتين عامل التجلط VIII فيما يسمى Molecular Pharming حيث تم الحاق cDNA الخاص بهذا الجين بأكمله تحت تحكم البرموتور اعلاه فى الخنزير. وقد أدى ذلك إلى بناء هذا البروتين فى خلايا الضرع وإفرازه فى اللبن. وقد تبين أن البروتين الناتج له نفس خواص ونفس فاعلية البروتين الطبيعى لعامل التجلط VIII.



الشكل (١٤-١٠): إنتاج بروتين معاد صياغته فى لبن الأغنام المحولة وراثيا

إنتاج بروتينات معدلة وراثيا فى النبات:

Recombinant Proteins From Plants:

كما يحدث فى الحيوان فإنه يمكن إستخدام النبات كمفاعل بيولوجى لانتاج بروتينات مرغوبة خاصة وأنه ثبت أن معظم البروتينات الحيوانية التى يتم إنتاجها فى خلايا النبات يحدث لها نفس التعديلات لما بعد الترجمة Post-Translational Modifications. ويمكن زراعة النباتات بكثافه عاليه فى الحقل مما يعطى محصولا جيدا من البروتين المعدل وإمكان التخزين لبعض

الاجزاء النباتية المحتوية على هذا البروتين مثل الدرنات أو فى الفاكهة التى تكون عادة غنية فى البروتين. و بصرف النظر عن الطريقة التى يمكن أن يتم فيها إنتاج البروتين المعدل فى النبات ، فإن النبات يوفر تقنية رخيصة و غير معقدة للانتاج الكبير Mass Production من البروتينات المعدلة وراثيا. وقد تم إنتاج بروتينات مختلفة على نطاق تجريبى مثل بعض المنتجات الصيدلانية كالانترليكون والاجسام المضادة كما تجرى بعض التجارب لانتاج فاكسينات فى النبات (مثل الفاكسين ضد الملاريا) مما يعدخطوه كبيره لإستنباط برنامج تطعيم رخيص وفعال.

وقد إستخدم نبات الدخان Tobacco بالفعل لانتاج أجسام مضادة. وتتلخص الطريقة فى إدخال كلون للجين الخاص بالسلسلة الخفيفة فى أحد النباتات ، فى حين ادخل كلون الجين الخاص بالسلسلة الثقيلة فى نبات آخر. وأمكن بالفعل الحصول على كميات لابأس بها من السلسلتين كل فى النبات المعدل وراثيا. ثم تم التهجين بين النباتين وعند حصاد نباتات الجيل الاول الناتجة وجدت كميات معقولة من الاجسام المضادة كاملة حيث حدثت داخل نباتات الجيل الاول عملية تعديل كاملة بحيث أصبح تركيب الاجسام المضادة مشابه للبروتين الاصلى وبنفس الفاعلية.

تحديد الجينات المسئولة عن الامراض البشرية:

Identification of Genes Responsible for Human Diseases:

لاشك أن الامراض الوراثية كانت وستظل موجودة فى العشائر البشرية إلا أنها إكتسبت أهمية أكبر فى السنين الاخيرة وذلك لان برامج التطعيم وإستخدام المضادات الحيوية وتحسين النواحى المعيشية و الصحية قد أدت إلى

إنخفاض فى معدلات الاصابة بالامراض المعدية مثل الجدرى والسل والكوليرا والتى كانت السبب الرئيسى فى الوفاة فى أوائل القرن العشرين.

ونتيجة لذلك أصبحت نسب أعلى من أفراد العشيرة تموت من أمـــراض ذات مكون وراثى وخاصة الامراض التى تظهر أعراضها فى عمر متأخر من حياة الفرد نتيجة لارتفاع متوسط الاعمار.

وترجع أهمية التعرف على الجينات المسئولة عن الامراض الوراثية إلى ما يأتى:

١- قد يعطى تحديد أو تعريف الجين مؤشـــرا عـــن الاســـاس البيوكيمـــاوى للمرض مما يساعد على تصميم إستراتيجيه العلاج.

٢- إن تحديد الطفرة الموجودة فى جين معيب Defective يمكن أن يـــستخدم لاستنباط برنامج للمسح Scanning والمتابعة حتى يمكن التعـــرف علـــى وجود الجين فى الافراد الحاملة Cariers أو تلك التى لم يظهر بها المرض بعد. و يمكن تقديم إستشارة طبية وراثية Genetic Counselling لحـــاملى الطفرة لتوعيتهم بفرص توريث المرض لاطفالهم.

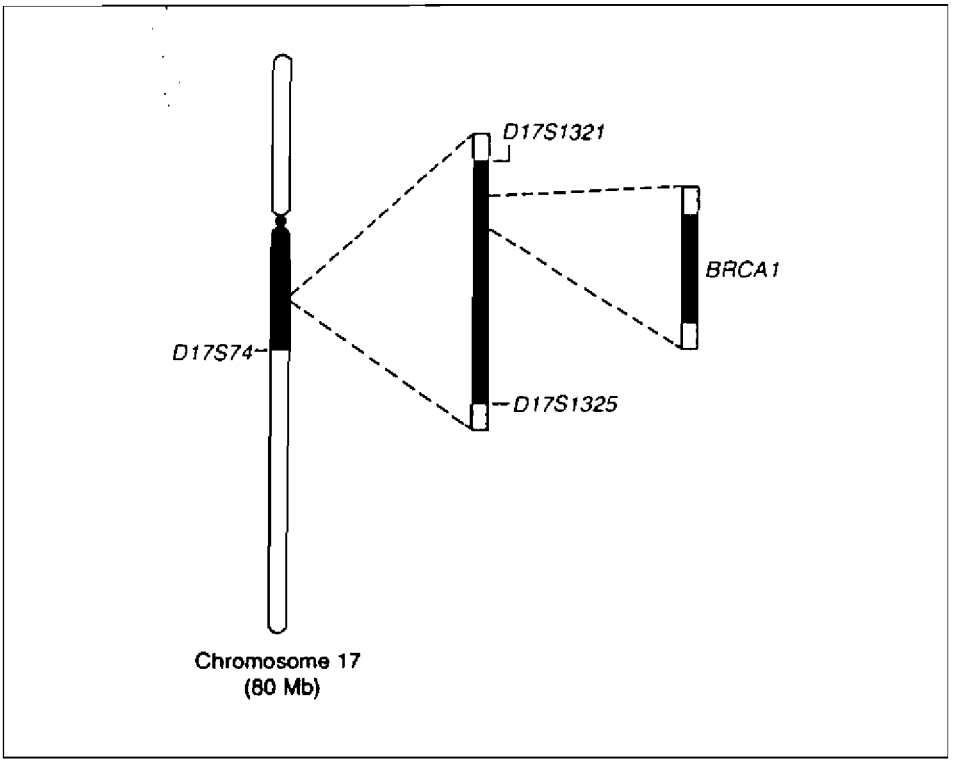
كما أن التعرف المبكر على الطفرة فى الافراد التى لم يظهر فيها المرض بعد تسمح بإتخاذ إحتياطيات لتقليل مخاطر تقدم المرض فى الجسم.

٣- يعتبر تعريف أو تشخيص الجين أحد المتطلبـــات المبدئيـــة Prerequisite للعلاج بالجينات كما سيأتى بعد.

ولكى يتم تحديد الجين المسئول عن مرض ما فإنه يمكن بالنسبة للعـــشائر البشرية اللجوء إلى تحليلات شجرة النسب Pedigree Analysis والتى يتم فيهـــا

دراسة توريث الجين المرغوب فى عائلات تتميز بمعدلات إصابة عالية بالمرض المطلوب دراسته. ويفضل الحصول على عينات د ن أ مأخوذة من ثلاثة أجيال على الأقل من كل عائلة وكلما زاد عدد أفرد العائلة كلما كان ذلك أفضل. وتتم دراسة الارتباط بين ظهور أو غياب المرض وبين وجود أو عدم وجود كشافات د ن أ DNA Markers فى تحليل شجرة النسب. و يمكن توضيح ذلك بإستعراض الخطوات التى اتخذت للتعرف على أحد الجينات المسئولة عن سرطان الثدى. و قد بدأت التجارب المبشرة فى عام ١٩٩٠عندما تبين أنه فى عائلات تتميز بارتفاع نسبة الاصابة بسرطان الثدى وجود عدد من الاناث المصابة ظهر فى تحليلات عينات د ن أ الخاصة بهن ظهور الكشاف RFLP (D17S74) والذى كان قد سبق تحديد موقعه على الذراع الطويل للكروموسوم رقم ١٧ (الشكل١٤-١١). مما يشير إلى أن الجين المراد تحديد موقعه (BRCA1) لابد أن يقع فى مكان ما على الذراع الطويل للكروموسوم ١٧. وكانت تلك بداية مبشرة إلا أنها لم تكن كافية لتحديد الموقع الدقيق لهذا الجين إذ تبين أن اكثر من ١٠٠٠ جين آخر تقع فى تلك المنطقة نفسها والتى تمتد حوالى ٢٠ مليون قاعدة على كروموسوم ١٧. وقد إستدعى ذلك القيام بتجارب إرتباط أخرى لتحديد موقع الجين BRCA1 بدقة اكثر٠ وقد تم ذلك بدراسة المنطقة التى تحتوى على BRCA1 والبحث عن وجود كشافات (STS) فيها والتى تفيد فى التحديد الدقيق لرسم خريطة هذا الجين. وقد أدى إستخدام هذه الكشافات إلى خفض المسافة التى يقع فيها الجين من ٢٠مليون قاعدة إلى ٦٠٠الف قاعدة فقط وتسمى عملية تحديد مكان الجين بهذة الطريقة الكلونة الموضعية Positional Cloning (الشكل ١٤-١١) ولكى يتم تحديدالجين بدقة

اكثر كان لابد من التعرف على جين BRCA1 من بين ٦٠ جين الموجودة فـــى المنطقة المكونة من ٦٠٠الف قاعدة.



الشكل (١٤-١١) : الخريطة الوراثية الفيزيائية لجين سرطان الثدى. تم وضع الجين مبدئيا فى قطعة طولها ميجا قاعدة على الكروموسوم رقم ١٧ وأدت تجارب الرسم الإضافى للخريطة إلى تضيق هذه المسافة إلى منطقة طولها ٦٠٠كيلو قاعدة محاطة بموقعين سبق تعريفها على الخريطة وهما D17S1321 وD17S1325 وتم فى النهاية تحديد جين BRCA1 على الكروموسوم ١٧ وذلك بعد دراسة تحليلات تتابعات التعبير

ويمكن إستخدام واحدة أو أكثر مـــن التقنيـــات التاليـــة للوصـــول إلـــى هذا الهدف:

١- إستخدام cDNA (RT-PCR) المتحصل عليه من إستخلاص mRNA من أنسجة مختلفة وإجراء تجارب Hybridization Probing. فقد تبين مثلا أن جين BRCA1 يمكن أن يتهجن مع د ن أ من نسيج الثدى و أيضا مع RNA من المبيض و قد وجد إرتباط بين الاصابة بسرطان المبيض وسرطان الثدى.

٢- تحليلات Southern باستخدام د ن أ مستخلص من أنواع مختلفة Species (وتسمى Zooblots) على اعتبار أن أى جين هام فى الانسان ممكن أن يكون له مثيل متطابق معه نسبيا فى الثدييات الآخرى بحيث يمكن التعرف عليه بالكشف بالتهجين Hybridization Probing باستخدام الواسمات المناسبة.

٣- يمكن مقارنة تحليلات التتابعات النيوكلتيديه فى افراد سليمه وافراد مصابة لمعرفة إذا كان الجين فى الافراد المصابة يحتوى على طفرات قد توضح سبب حدوث المرض فيهم.

٤- للتحقق من هوية للجين المحتمل Candidate Gene ، قد يتم إجراء تجارب إسكات تعبير الجين Gene Silincing (امابحذفه) Gene Knockout فى الفئران أو القضاء عليه Gene Knockdown (siRNA) كما سبق، ومتابعة ظهور أعراض مرضية على الفأر مشابهة لما يحدث للمرضى البشريين للحكم على إذا ما كان هذا الجين هو بالفعل الجين المطلوب.

و قد أدى إستخدام هذة التحليلات على المنطقة المحتوية على جين سرطان الثدى إلى تحديد جين بطول ١٠٠ك قاعدة مكون من ٢٢إكسون و يشفر لبروتين بطول ١٨٦٣ حامض أمينى والذى يعد جين محتمل قوى للجين BRCA1. وقد وجدت نسخ من هذا الجين بالفعل فى أنسجة الثدى والمبيض

ووجدت متشابهات له فى الفئران والجرذان والارانب والاغنام والخنازير (Zooblots).

وقد تبين وجود عدد من الطفرات (مثل طفرات تحريك الاطار Frame Shift وطفرات عديمة المعنى None Sense) فى العائلات الحساسة للاصابة مما يؤدى إلى إنتاج بروتينات غير فعالة مما يسبب الاصابة بالسرطان. وقد أجمعت هذة النتائج على أن هذا الجين BRCA1 هو المسؤل عن سرطان الثدى.

العلاج بالجينات Gene Therapy:

تهدف عملية العلاج بالجينات إلى محاولة التوصل إلى الشفاء من مرض وراثى بإعطاء المريض نسخة سليمة من الجين المعيب. وقد إتسعت طرق العلاج بالجينات لتشمل محاولات لعلاج أى مرض عن طريق إدخال جين مكلون للمريض و توجد طريقتين أساسيتين للعلاج بالجينات:

الأولى : علاج الخلايا الجرثومية (التناسلية) Germline Therapy.

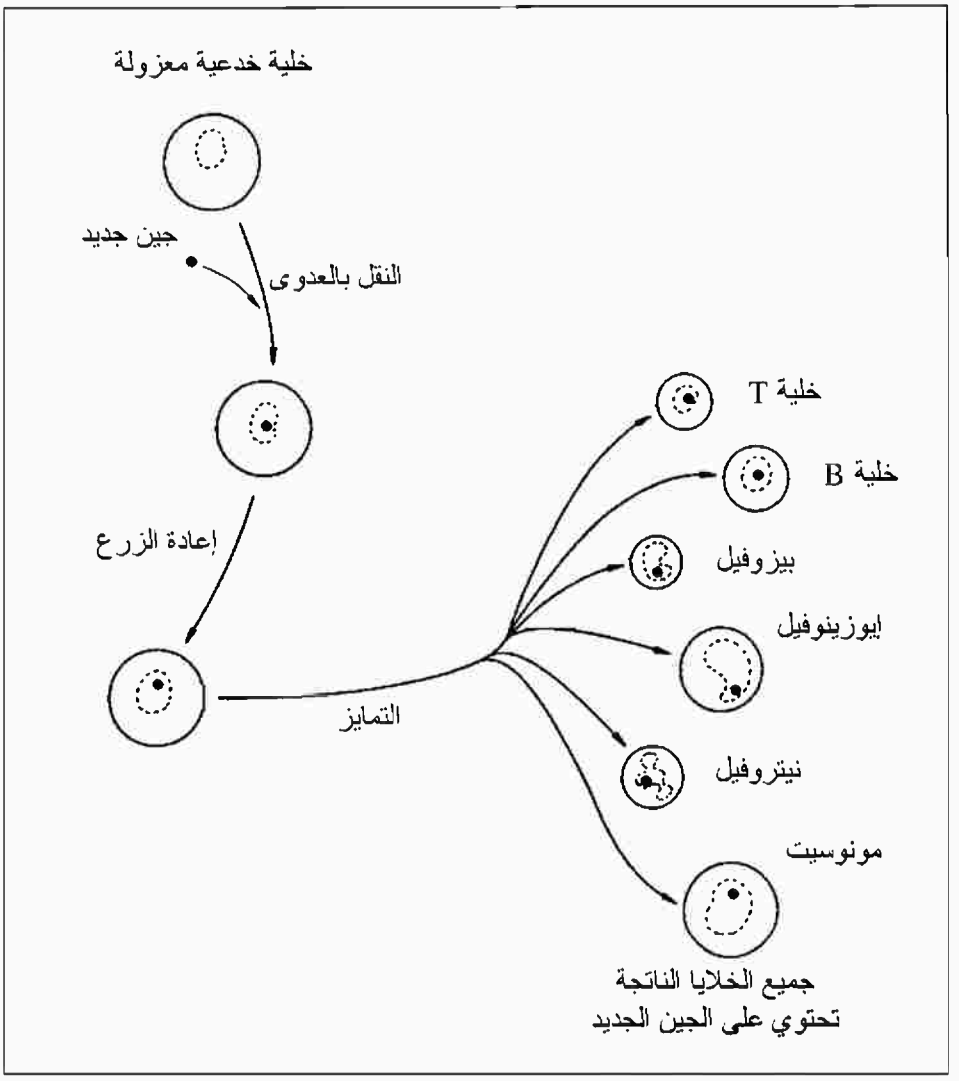
والثانية: علاج الخلايا الجسدية Somatic Cell Therapy.

وفى العلاج الجرثومى Germline يتم إدخال نسخة من الجين السليم فى الخلية البيضية المخصبة بعملية الحقن المجهرى Microinjection ثم إعادة زرعها Reimplanted فى رحم الام. و إذا نجحت العملية فإن الجين سيتم تعبيره فى جميع الخلايا الناتجة عن إنقسام هذه الخلية الاولى والتى يتكون فيها فى النهاية جسم الفرد. ويعيب هذه الطريقة أنها تنطوى على جانب لا اخلاقى Immoral حيث لم تؤخذ موافقة Consent الفرد الناتج بهذة الطريقة على هذا الاجراء كما أنه قد يتسع إستخدام هذه الطريقة ليشمل جينات اخرى غير علاج

الأمراض الوراثية مثل محاولة تجميع جينات سوبرمان فى شخص واحد أو تجميع صفات معينة مثل الذكاء الحاد أو التفوق الرياضى فى عشيرة بشرية معينة مما يعد نوعا من التفرقة العنصرية غير المرغوبة. لذلك فقد تم تحريم إستخدام هذة التقنية فى قانون حماية الجينيوم البشرى الذى أقرته الامم المتحدة فى أوائل التسعينات من القرن الماضى.

من جهة أخرى ينطوى العلاج بالجينات للخلايا الجسدية على إستخدام الخلايا الجسدية ، حيث يتم أخذ عينة من النسيج الجسدى للفرد ويتم إدخال الجين المرغوب إلى هذه الخلايا معمليا ثم يعاد زرعها فى الجسم. وقد أعطت هذه الطريقة أمالا كبيرة خاصة فى علاج أمراض الدم الوراثية مثل الهيموفيليا والثاليثميا. إذ يتم إدخال الجين فى الخلايا الجذعية Stem Cells من نخاع العظام والتى يؤدى إنقسامها إلى إنتاج جميع أنواع خلايا الدم المتخصصة.

وتتلخص الطريقة فى تحضير مستخلص من خلايا نخاع العظام يحتوى على عده بلايين من الخلايا و التى يتم إدخال الجين المكلون فيها بناقل تعبير من نوع ريتروفيروس Retrovirus-Based Vector ثم يعاد زرعها فى نخاع العظام. ويؤدى التكاثر والتمايز Differentiation فى هذة الخلايا إلى اكتساب جميع خلايا الدم الناضجه لهذا الجين المرغوب (الشكل١٤-١٢) كما تبشر هذه الطريقة فى علاج أمراض الرئة مثل التليف الحويصلى Cystic Fibrosis بإدخال الجين المكلون فى ادينوفيروس Adenovirus أو فى حبيبات الليبوسوم Liposomes بحيث تستخدم "بخاخة" Inhaler لتوصيلها إلى الخلايا الطلائية فى الرئة، إلا أن التعبير الجينى يكون قصير الامد ولا يزيد تأثيره عن أسابيع قليلة.



الشكل (١٤-١٢): يؤدى تمايز الخلايا الجذعية Stem Cells المحولة وراثيا إلى تعبير الجين الجديد فى جميع أنواع خلايا الدم الناضجة

ومن جهة أخرى أمكن إستخدام العلاج بالجينات فى عام ١٩٩٠ فى علاج فتاة كانت تعانى من مرض نقص المناعة الشديد Severe Combined

Immunodificieny Syndrome (SCID) وينتج عن الاصابة بهذا المرض أن تتوقف وظائف الجهاز المناعى ويموت المصاب عند تعرضه لاى عدوى ولو بسيطة لانعدام قدرته على المقاومة. و قد تبين أن أحد الطفرات الرئيسية التى تسبب SCID تحدث فى الجين المشفر لانزيم أدينوسين دى أمينيز Adenosine Deaminase (ADA). وكانت أول خطوة فى العلاج الجينى لهذة الحالة هى فصل خلايا الدم البيضاء من نوع Tمن المريض و التى تقوم بدور رئيسى فى الجهاز المناعى. و تخلط هذا الخلايا مع ريتووفيروس معدل وراثيا ويحمل النسخة الصحيحة من جين ADA. و ينقل الفيروس هذة النسخة الفعالة إلى جينوم الخلايا و تتم تنمية خلايا T المعدلة وراثيا فى المعمل للتأكد من أن الجين المنقول يتم تعبيره. ثم يتم حقن المريض بحوالى بليون خلية Tالمعدلة. و بعدهذا العلاج إستمر مستوى بروتين ADA الطبيعى فى الطفلة فى حوالى ٢٥-٣٠% من خلايا T وهى تعيش الأن حياة طبيعية.

العلاج الجينى للسرطان:

تنشأ معظم الاورام السرطانية نتيجة لحدوث طفرات تؤدى إما إلى تنشيط لبعض الجينات المسرطنة الاولية Protooncogenes مما يؤدى إلى تكوين الأورام أو وقف نشاط Inactivation لأحد الجينات المثبطة للسرطان Tumer Suppressor Genes والتى يؤدى نشاطها الطبيعى عادة إلى كبت تكوين الأورام السرطانية. ويمكن اللجوء إلى تقنية إدخال Antisense RNA مضاد المعنى بحيث يكون مكملا لتتابعات الجين المسرطن فيوقف نشاطه المسرطن (وقد إستحدثت مؤخرا تقنية أكثر فاعلية فى وقف نشاط الجين المستهدف وهى تقنية siRNA كما سبق شرحه) وفى حالة خدوث طفرة تؤدى إلى إيقاف نشاط الجين المثبط للسرطان فإن العلاج الجينى فى هذة الحالة ينطوى على إدخال نسخة

صحيحة ونشطة من هذا الجين. إلا أن العقبة الرئيسية فى هذة الحالات تكمن فى صعوبة التوصل إلى الطريقة التى تضمن وصول الجين المكلون إلى الخلايا السرطانية والقضاء عليها دون غيرها من الخلايا الطبيعية. ومن الطرق الفعالة لعلاج أنواع كثيرة من السرطان إدخال جين يدمر الخلايا السرطانية إنتقائيا Selectively.

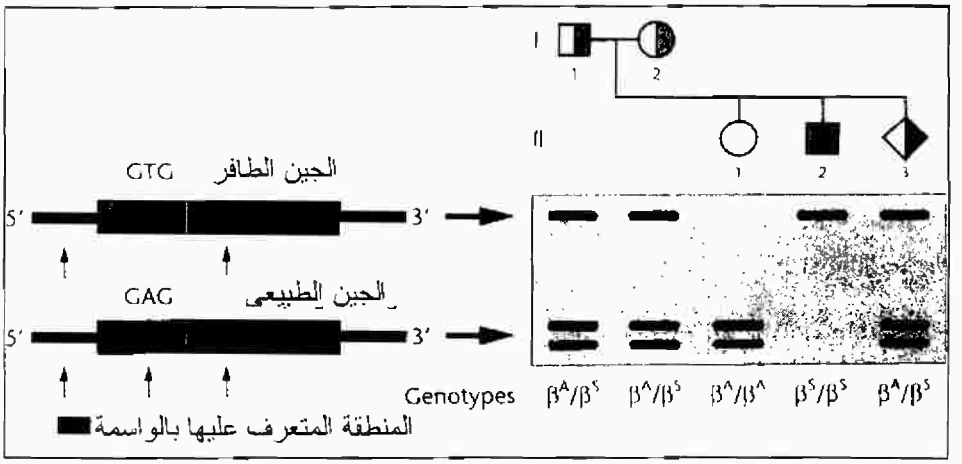
وتوجد كثير من الجينات التى تشفر لبروتينات سامة ولاشك أن إدخال إحداهما بنجاح إلى الخلايا السرطانية سيؤدى إلى موتها وشفاء المريض. ولابد من التأكد من أن الجين المكلون الذى يشفر لهذا البروتين السام سيتجه فقط إلى الخلايا السرطانية بحيث لايقتل الخلايا السليمة مما يتطلب إستنباط نظم دقيقة لتوصيل هذة الجينات أو التوصل إلى وسيلة للتحقق من أن هذا الجين سيتم تعبيره فى الخلايا السرطانية فقط. ويمكن أن يتم ذلك بوضعه تحت تحكم برموتور متخصص ينشط فقط فى هذا النوع من الخلايا Tissue-Specific ومن الطرق المقترحة الأخرى إستخدام العلاج الجينى عن طريق رفع قدرة الجهاز المناعى فى قتل الخلايا السرطانية وربما يتم ذلك بكلونة جين يسبب بناء انتجينات قوية على سطح الخلايا السرطانية مما يسمح بزيادة فاعلية خلايا الجهاز المناعى فى التعرف عليها وقتلها.

تشخيص ومسح العيوب الوراثية:

Diagnosis and Screening Of Genetic Disorders:

يتم تشخيص معظم الأمراض الوراثية قبل الولادة Prenatally. ومن أكثر الطرق إستخداما طريقتى البذل للسائل الأمنيوتى Amniocentesis أو أخذ عينة قسطرة Villus Sampling (CVS). فى الطريقة الأولى يتم سحب السائل

الأمينوتى بسرنجة ويتم تحليل الخلايا للكشف عن حدوث خلل كروموسومى أو طفرة الجين الواحد. وفى طريقة (CVS) يتم إدخال أنبوب الأسطره أو البذل فى الرحم و تؤخذ عينة صغيرة من نسيج مشيمه الجنين. و تجرى إختبارات سيتووراثية Cytogenetic وبيوكيماوية ود ن أ المعاد صياغته على عينة النسيج. وقد أثبتت تحليلات د ن أ المعاد صياغته حساسية كبيرة ودرجة عالية من الدقة فى إكتشاف العيوب الوراثية. وقد أمكن تشخيص مرض الأنيميا المنجلية قبل الولادة بهذه الطرق، ومعروف أن هذا المرض ينتج عن طفرة متنحية تؤدى إلى إستبدال حامض أمينى واحد فى بروتين ß-Globin نتيجة طفرة إستبدال لقاعدة واحدة والتى تؤدى إلى غياب موقع القطع الانزيمى القطع المحدد Mst II و Cvn1 مما يؤدى إلى تغير فى طراز RFLP لشظايا القطع المحددة. وتستخدم الإختلافات فى طراز RFLP لتشخيص مرض الانيميا المنجلية قبل الولادة ولتحديد الطرز الوراثية للأباء والأفراد الآخرين فى العائلة اللذين قد يكونوا بتركيب وراثى خليط (حاملين للطفرة Carriers) لهذه الحالة (الشكل ١٤-١٣).



الشكل (١٤-١٣): تشخيص مرض الأنيميا المنجلية بطريقة Southern تمثل الأسهم القصيرة مواقع القطع المحددة فى جين الجلوبين الطافر (βs). أدت طفرة فى نيوكلتيدة واحدة إلى غياب موقع القطع لأحد الإنزيمات ، مما يؤدى إلى إنتاج شظية واحدة طويلة فى الجيل. ينتج الجين الطبيعى (βA) شظيتين قصيرتين مع إنزيم MstII. وفى شجرة النسب يوجد بالعائلة إبنة واحدة غير مصابة أصيلة (βAβA) (1-11) وإبن مصاب (11-2) وجنين غير مصاب (11-3) يمكن قراءة الطرز الوراثية من الجيل مباشرة كما هو مبين أسفل الشكل

إستخدام البصمة الوراثية فى الأمور الشرعية (القضائية):

Forensic Applications of DNA Fingerprints

أصبح إستخدام البصمة الوراثية الوراثية من الأمور الهامة التى يلجأ إليها القضاء لاتخاذها كدليل لبراءة أو إدانة المتهمون أمام المحاكم كما أنها تستخدم فى مجالات آخرى كثيرة مثل قضايا الهجرة والنزاع على الأبوة وغيرها. وتستخدم فى هذة الطريقة تقنية التهجين بالواسمات من نوع Microsatellites نظرا لدقتها. ويبين الشكل (١٤-١٤) بصمة د ن أ لقضية تم اخذ عينات دم من فردين أحدهما المتهم وعمل مطابقة بين طرز بصمات د ن أ مع تلك الناتجة من بقع دم وجدت فى مكان الجريمة.

الشكل (١٤-١٤): البصمة الوراثية الجزيئية DNA Fingerprinting فى قضية شرعية (قضائية). تتطابق بصمة د ن أ للمتهم (المشتبه به) رقم (٢) (S2) مع تلك الناتجة من عينة الدم المأخوذة من موقع الجريمة (E)

إستخدام تكنولوجيا الجين فى الزراعة:

Gene Cloning and DNA Analysis in Agriculture

إستخدم تكنولوجيا الجين فى النبات:

لاشك أن الطرق التقليدية لتربية النبات على مدى القرنين الماضيين قد ادت إلى إستنباط أصناف نباتية عالية المحصول وتتميز بصفات جودة عالية ومقاومة للأمراض والحشرات. إلا أن معظم برامج التربية التقليدية تعتمد بشكل كبير على عنصر الصدفة فى الحصول على إتحادات جديدة فى النسل أو الهجن الناتجة من التلقيح بين الأباء. كما أن إستنباط صنف جديد يستغرق عادة وقتا طويلا قد يصل إلى اكثر من عشر سنوات. وفضلا عن ذلك فإن مربى النبات عادة ما يشكو من وجود تلازم عكسى بين صفات جودة المحصول فى نبات ما وبين كمية هذا المحصول.

ولذلك تقدم تكنولوجيا الجين إسلوبا متطورا فى تربية النبات حيث يمكن من خلالها إحداث تغيرات موجهة و محددة فى الطرز الوراثية للنبات بدلا من الإعتماد على الصدفة. كما أنها تتميز بإختصار كبير فى الوقت والمجهود يصل إلى نصف الوقت الذى تتطلبه طرق التربية التقليدية.

وتستخدم إستراتيجتين رئيستين لتكنولوجيا الجين فى النبات:

١- إضافة الجين Gene Addition حيث تستخدم كلونة الجين لتغيير بعض الصفات النباتيه بإدخال جين أو جينات جديدة مسؤله عن تحسين هذه الصفات.

٢- طرح (حذف) الجين Gene Subtraction: ويؤدى إستخدام تكنولوجيا الجين فيها إلى إيقاف نشاط جين أو أكثر داخل النبات.

أولا: إضافه الجين:

إنتاج نباتات مقاومة للحشرات:

أدت المخاوف الناجمة عن التوسع فى إستخدام المبيدات الكيماوية إلى إتجاه العلماء إلى تبنى إستراتيجية إستنباط أصناف من نباتات المحاصيل الحقلية كالذرة والقطن وغيرها ذات مقاومة ذاتية للحشرات بإدخال جين يشفر لبروتين سام بحيث تؤدى تغذية الحشرة عليه إلى هلاكها دون أن يؤثر ذلك على النبات نفسه. ومن أهم الجينات التى إستخدمت فى هذا المجال جين δ Endotoxin الموجود فى جينوم بكتيريا *Bacillus thuringiensis* والذى يطلق عليه Bt جين.

وقد وجد أن البروتين الذى يشفر له هذا الجين تصل درجة سميته إلى ٨٠ ألف ضعف سمية المبيدات الكيماوية كما أنه يتميز بأنه إنتقائى Selective بمعنى

وجود سلالات بكتيرية مختلفة يتخصص كل منها فى بروتينات فعالة ضد يرقات مجموعات معينة من الحشرا ت (الجدول ١٤-٢).

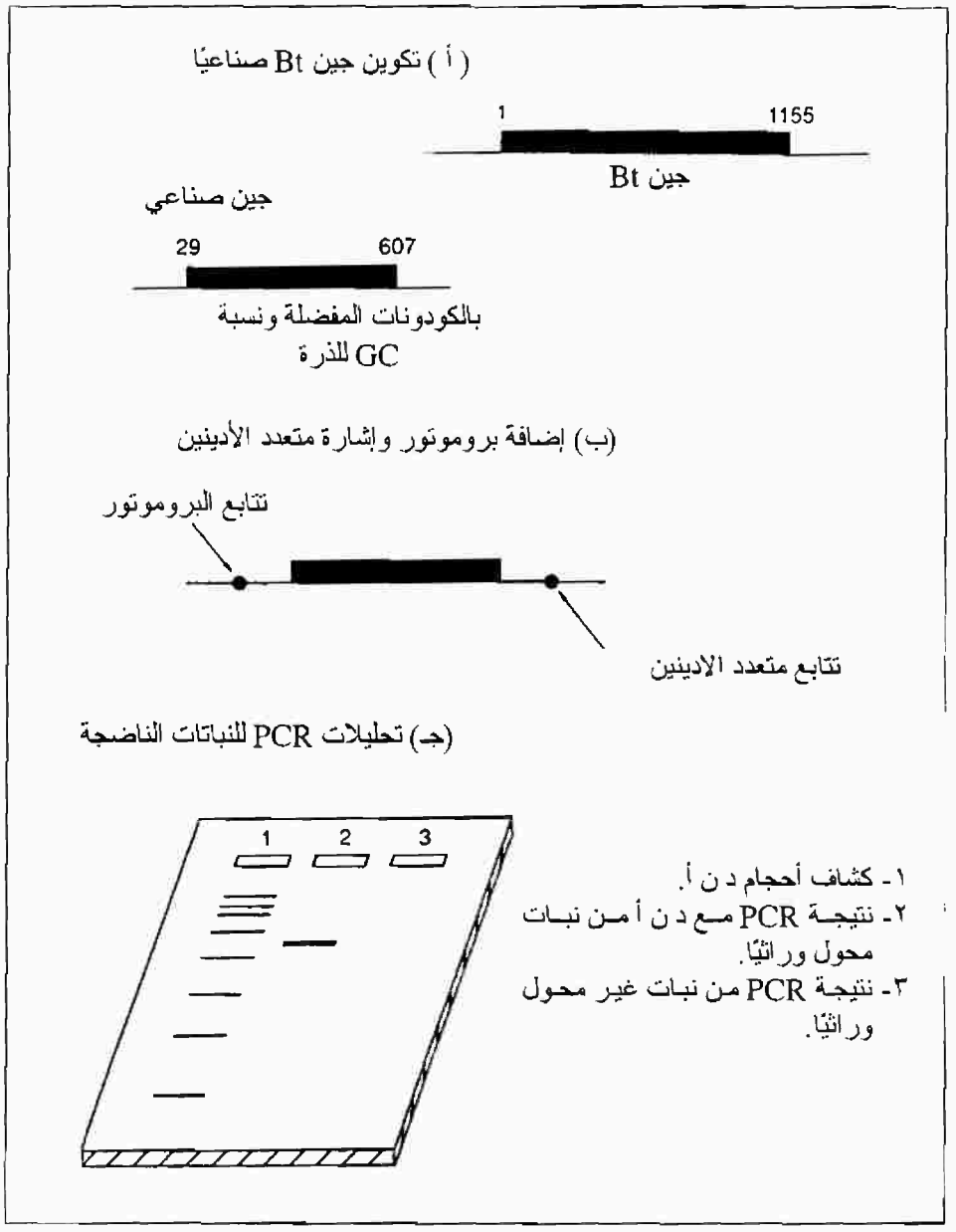
الجدول (١٤- ٢) التخصص النوعى للبروتينات المنتجة من سلالات بكتيريا Bt فى مقاومة لبعض أنواع الحشرات المختلفة:

السلالة	الحشرات المتأثرة
Cry I	يرقات حرشفية الأجنحة Lepidoptera
Cry II	يرقات حرشفية وثنائية الأجنحة Lepidoptera and Diptera
Cry III	يرقات حرشفية الأجنحة Lepidoptera
Cry VI	ثنائيه الأجنحة Diptera
Cry V	دودة النيماتودا Nematode
Cry VI	دودة النيماتودا Nematode

وقد أجريت محاولات ناجحة لإنتاج سموم Bt بكميات إقتصادية لإستخدامها عن طريق الرش كمبيدات حيوية Bioinsecticides فى محاولة لإستخدامها كمبيدات صديقة للبيئة (المثال المبيد AGRIN) إلا أنه نظرا لأنها تتحلل بسرعة Biodegradable مما يعنى ضرورة تكرار رشها على فترات متقاربة مما يزيد فى تكلفه المكافحة. لذلك إتجهت الدراسات إلى إستخدام تكنولوجيا الجين وهندسة البروتينات لتعديل تركيب البروتين السام لجعله أكثر ثباتا كما إهتمت الدراسات بنقل الجين إلى النبات بحيث يقوم النبات نفسه ببناء هذا البرتين السام. إستخدمت تقنية تكنولوجيا الجين فى نبات الذرة الشامية لمقاومة حشرة ثاقبات الذرة الأوربية European Corn Borer وقد إستخدمت السلالة Cry IA(b) المنتجة للبروتين السام والتى تحتوى على ١١٥٥ حامض

امينى والتى تقع منطقة النشاط السمى فيها فى القطعة الواقعة بين الأحماض الأمينية رقم ٢٩ الى ٧٠٦.

وقد تم تعديل تركيب الجين ليكون أكثر فاعلية حيث تم بناء سلسلة من النيوكليتدات صناعيا تشمل الكودونات من ٢٩ إلى ٦٠٧ حيث تبين أنها كافية لإعطاء التعبير الكامل للسمية. كما روعى إستبدال الكودونات الموجودة فى الجين الأصلى بتلك المفضل إستخدامها فى نبات الذرة (Codon Bias) وتمت زيادة نسبة GC إلى٦٥ % بدلا من 38 % وأختير المستبدئ Prmoter القوى CaMV لقيادة التعبير الجينى. ويتم إدخال الجين المكلون فى أجنة نبات الذرة بقاذفة الجينات Microprojectile. وتمت تنمية هذة الأجنة إلى النبات الكامل وأجرى التحقق من حدوث التحول الوراثى بنجاح بتحليلات PCR (الشكل ١٤-١٥) وتأكد نجاح إنتاج البروتين السام بتحليلات النقل الغربى western blotting كما نجحت تجارب إختبار التأكد من أن نبات الذرة المحول وراثيا يستطيع بالفعل مقاومة ثاقبات الذرة: وقد أمكن إنتاج نباتات محاصيل أخرى محولة وراثيا بإدخال هذا الجين لمقاومة الحشرات ذاتيا ومنها القطن والأرز والبطاطس والطماطم وغيرها. كما لم يقتصر الأمر على إستخدام جين Bt لهذا الغرض بل إستخدمت بروتينات سامة أخرى من مصادر نباتية مثل مثبطات إنزيم البروتينيز Proteinase Inhibitors.



الشكل (١٤-١٥): الخطوات الرئيسية فى الطريقة المستخدمة للحصول على نباتات ذرة شامية مهندسة وراثيا يحدث فيها تعبير جين صناعى للبروتين السام δ-(βt).

وقد أتسعت دائرة إستخدام تكنولوجيا الجين لإكساب نباتات المحاصيل المختلفة صفات جديدة لتحسين الجودة أو المحصول كما فى الجدول (١٤-٣).

الجدول (١٥-٢) بعض الأمثلة لإستخدام كلونة الجينات لإضافة جينات فى النبات

الجين	المصدر	الصفات الجديدة
إندوتوكسين δ	*B.thuringiensis*	المقاومة للحشرات
مثبطات البروتينيز	نباتcowpea	المقاومة للحشرات
كيتنيز	الأرز	مقاومة الفطريات
جلوكاينيز	البرسيم الحجازى	مقاومة الفطريات
البروتين المثبط للريبوسوم	الشعير	مقاومة الفطريات
أورنوثيين كربوميثيل ترانسفيريز	*Pseudomonas Syringae*	مقاومة البكتيريا
إنزيم بلمره رن أ و هيليكيز	فيروس إلتفاف ورقه البطاطس	مقاومة الفيروس
ر ن أ التابع Satellite RNA	فيروسات متنوعة	مقاومة الفيروس
بروتين غطاء الفيروس	فيروسات متنوعة	مقاومة الفيروس
2′-5′ Oligoadenylate Synthetase	الفأر	مقاومة الفيروس
Acetolactate Synthase	نبات الدخان(التبغ)	مقاومة الحشائش
Phosphinothericin Acetyl transferase	أنواع بكتيريا ستربتوميسيس Streptomysis	مقاومة الحشائش
DNA adenine methylase	بكتيريا القولون	العقم الذكرى فى النبات
البروتين الغنى فى حامض الميثونين	الفول البرازيلىBrazil nuts	زيادة محتوى الكبريت
Aminocyclopropane Carpoxylic Acid Deaminase	أنواع مختلفة	تعديل نضج الثمار
Taumatin	*Thaumatococcus danelli*	زيادة الحلاوة

Acyl Carrier Protein Thioesterase	*Umbellularia californica*	تعديل محتوى النبات من الزيوت و الدهون
Delta-12desaturase	فول الصويا	تعديل محتوى النبات من الزيوت و الدهون
HVA-1	الشعير	تحمل الإجهاد البيئى
Cpy /SacB	الخميره	الجفاف فى القمح
MtLD	بكتيريا	تحمل الجفاف
HAL-I	الخميرة	تحمل الجفاف والملوحة (فىالطماطم و القمح)
d a p A	بكتيريا	زيادة محتوى حامض الليسين فى فول الصويا

ثانيًا: الطرح الجينى Gene Subtraction:

إن المقصود هنا ليس حذف الجين أو إزالته ولكن إيقاف نشاطه فى خلايا النبات الحى. ويعد إستخدام تقنية م ر ن أ مضاد المعنى Antisense Technology من أكثر التقنيات نجاحا والتى أدت إلى إنتاج نباتات محولة وراثيا تستخدم حاليا على نطاق تجارى.

إستخدام ر ن أ مضاد المعنى لتنظيم التعبير الجينى:

Antisense RNA and Regulation of Gene Expression:

تعتمد هذة الطريقة على بناء جزيئات من ر ن أ متكاملة فى التتابع مع ر ن أ المراسل mRNA الناتج من نسخ جين معين . ويطلق على هذا الأخير اسم ر ن أ ذو المعنى Sense RNA نظرا لأنه يحمل الكودونات التى تتم قراءتها أثناء عملية الترجمة لإنتاج بروتين فعال يحتوى على تتابع نوعى من الأحماض الأمينية . ومن جهة أخرى يطلق على النسخة المكملة من ر ن أ (مضاد

المعنى) Anti Sense نظرًا لأن تتابع النيوكلتيدات بها يكون معكوس بالنسبة للتتابع الموجود على النسخة الأصلية مما يترتب عليه عدم إمكان قراءة كودونات شفرية صحيحة وذات معنى بل تقرأ على أنها كودونات انهاء الترجمة فى أى اطار قراءة من الاطارات الثلاثة لها.

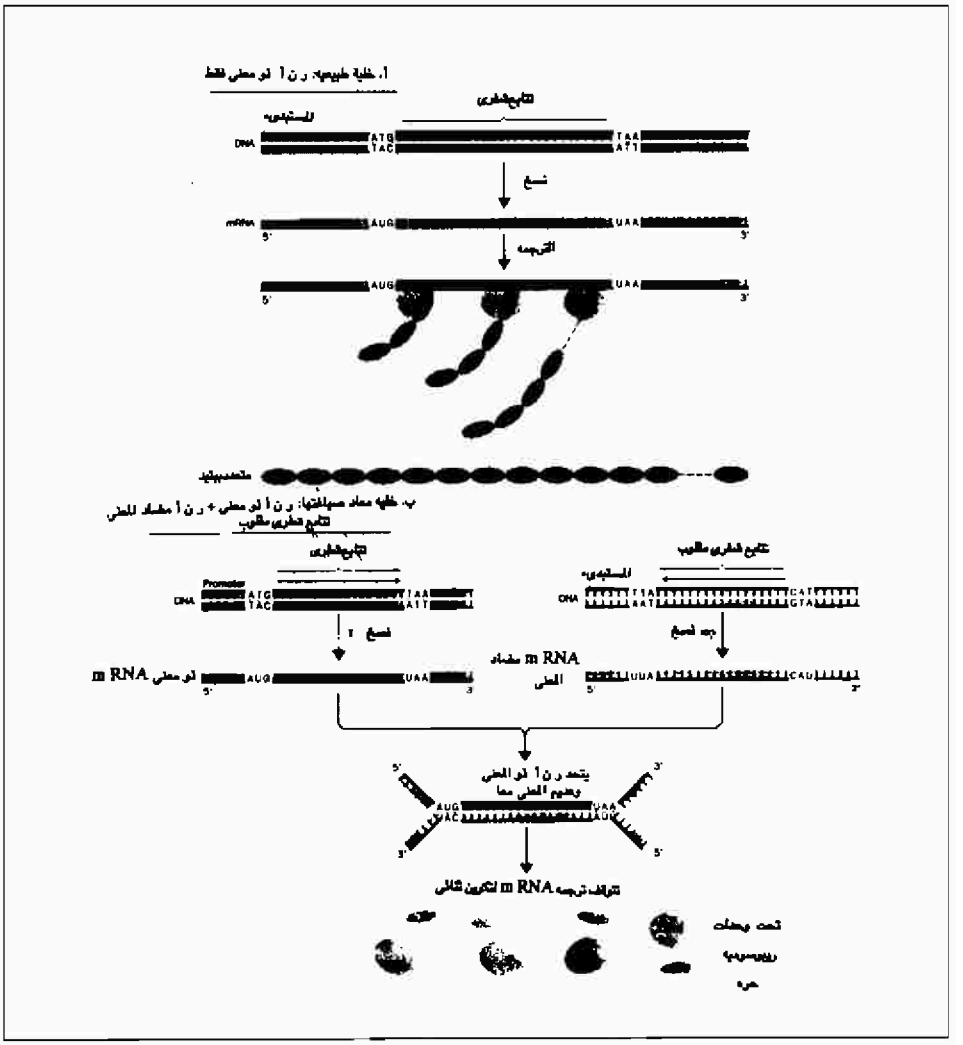
يؤدى وجود ر ن أ مضاد المعنى مع ر ن أ المراسل الطبيعى لنفس الجين فى سيتوسول الخلية إلى حدوث تجاذب نوعى بينهما بحيث ينتج جزئ مزدوج هجين من "م ر ن أ". وبديهى أنه لايمكن ترجمة مثل هذا الجزئ المزدوج مما يعنى عدم الحصول على الناتج النهائى لتعبير هذا الجين (البروتين) وبالتالى يكون بمقدورنا تحديد وظيفة هذا الجين.

وتتلخص طريقة إنتاج ر ن أ مضاد المعنى لجين ما فى الخلية فى الآتى:

١- كلونة الجين المطلوب دراسته.
٢- فصل التتابع الشفرى للجين عن منطقة البروموتور الخاص به بإستخدام انزيمات القطع المحددة المناسبة.
٣- إعادة إتحاد التتابع الشفرى للجين مع نفس البروموتور و ٠لكن فى إتجاه معكوس التتابع.
٤- إعادة إدخال هذا التتابع المعكوس المتحد بالبروموتور ؛ أى الجين المضاد المعنى ، إلى الخلية المضيفة بإحدى طرق التحول الوراثى.

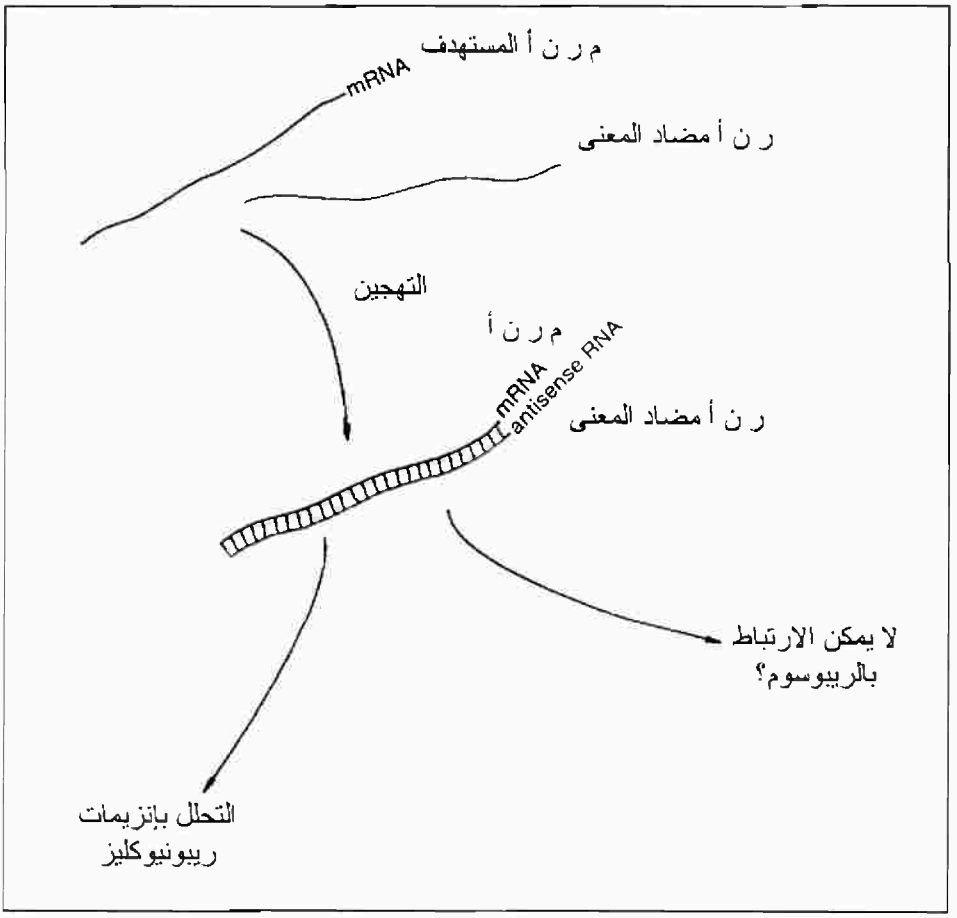
ويبين الشكل (١٤-١٦) خطوات هذة العملية ونتائجها وتكون المحصلة النهائية لهذة العملية هى أن الجين المعكوس التتابع سيتم نسخة إلى نسخ من ر ن أ مضاد المعنى و هذه بدورها عند اصطدامها بالنسخ الطبيعية ل ر ن أ

المراسل لنفس الجين (ذوالمعنى) تتزاوج معها مكونة جـزئ ر ن أ مـزدوج لا يمكن ترجمته مما يؤدى إلى توقف إنتاج البروتين الذى يشفر له هذا الجين.



الشكل (١٤-١٦): رسم تخطيطى لإستخدام تقنية ر ن أ مضاد المعنى لإيقاف التعبير الجينى:
(إلى أعلى): خلية طبيعية يتم بها إنتاج سلسلة متعدد الببتيد بعمليتى النسخ والترجمة. (إلى أسفل): خلية محتوية على جين مضاد المعنى مع الجين الطبيعى مما يؤدى إلى تكوين جزىء مزدوج من م ر ن أ لا يمكن ترجمته وبذلك لاينتج بروتين لهذا الجين

ويتلخص تفسير ميكانيكية ر ن أ مضاد المعنى فى وقف أو منع ترجمة mRNA إما إلى أن ر ن أ مزدوج السلسلة الناتج يحدث له تحلل سريع Rapid Degradation بواسطة إنزيمات ريبونيوكليزيز أو أن ر ن أ مضاد المعنى asRNA يمنع الريبوسومات من الارتباط مع م ر ن أ الفعال (الطبيعى) كما فى (الشكل ١٤-١٧).



الشكل (١٤-١٧): الميكانيكيات المقترحة لتثبيط تعبير الجين بواسطة ر ن أ مضاد المعنى Antisense RNA

وقد تم إستخدام ر ن أ مضاد المعنى فى إيقاف تعبير عـدد كبيـر مـن الجينات فى كل من غير مميزة النواة ومميزة النواة. وبالإضافة إلى إسـتخدامه فى إيقاف تعبير الجينات معروفة الوظيفة فإنه يمكن إستخدامه أيضا فى التعرف على وظيفة الجينات المجهولة الوظيفة.

إذ يمكن إستخدام ر ن أ مضاد المعنى فى إنتاج طفرات وظيفيـة بحيـث يعطى الشكل المظهرىالطافر للكائن الذى حدثت به هذه العملية معلومات هامـة عن وظيفة الجين فى الخلية المتأثرة. ولكى نضمن الحصول على إيقـاف تـام للتعبير الجينى فإنه إما أن يستخدم بروموتور قوى جدا لدفع عملية نسخ التتـابع الشفرى المعكوس أو أن يتم إدخال عدد كبير من نسخ ر ن أ مضاد المعنى إلى الخلية المضيفة. وقد تم مؤخرا تطوير هذه التقنيه بحيث أقتصر طـول شـظية asRNA على عدد محدود من التتابع النيوكلتيدى المكمل لمنطقة محفوظـة فـى ر ن أ الطبيعى لا تزيد عن ٢٥-٣٠ نيوكلتيدة إلاأنها تؤدى إلى نفس النتيجة.

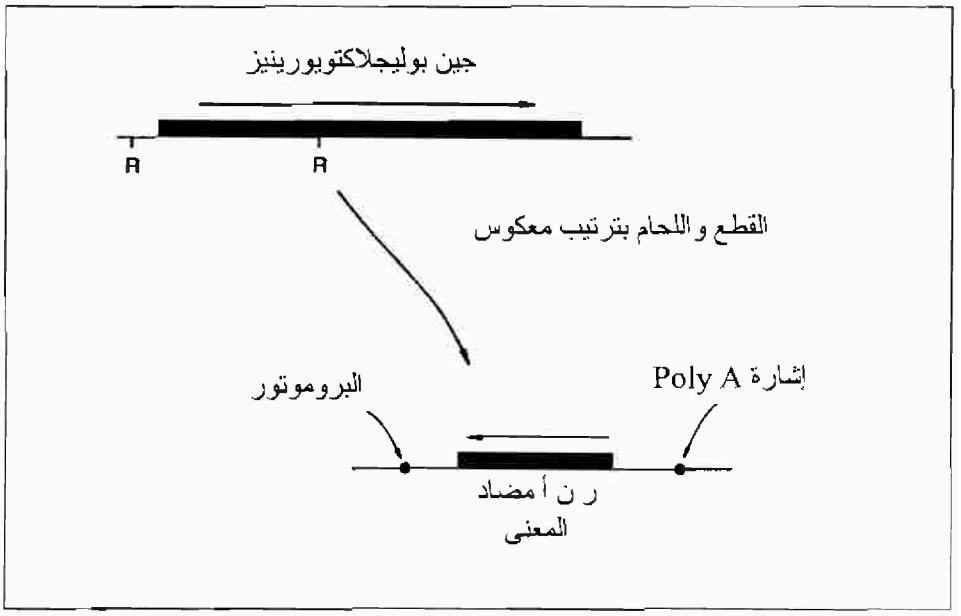
إستخدام asRNA لإنتاج ثمار طماطم طويلة العمر:

asRNA and The Engineering of Fruit Ripening in Tomato:

من المعروف أن ثمار الطماطم بعد النضج تكون قصيرة العمـر وقابلـة للتلف والعطب بعد ايام قليلة من قطفها وقد تبين أن أحد أسباب ذلك يرجع إلـى نشاط إنزيم Polygalacturonase الذى يقوم بتحليل حامض Polygalactouronic من جدر خلايا الثمرة مما يؤدى إلى خفض صلابتها بالتدريج وينتهـى الأمـر بتلف أو عطب ثمار الطماطم وعدم صلاحيتها للاستخدام الآدمى.

ومن هنا نشأت فكرة وقف تعبير الجين المسؤل عن هذا الإنزيم بتقنيـة asRNA مما يؤدى إلى إطالة عمر الثمار قبل فسادها.

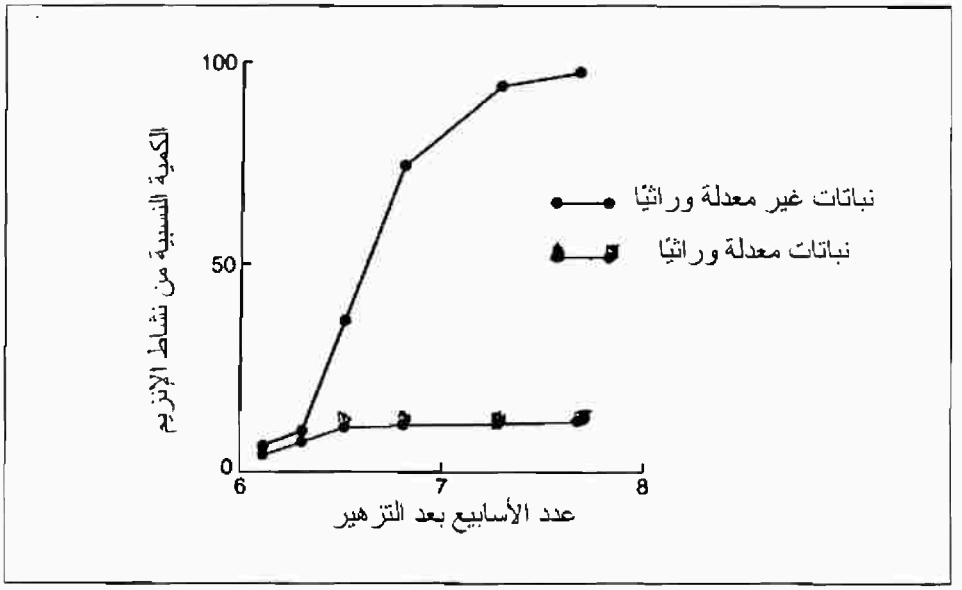
ويبين الشكل (١٤-١٨) تكـــوين جـــين Antisense Polygalactourinase حيث تم الحصول على شظية قطع محددة بطول ٧٣٠ قاعدة من النهاية '5 للجين الطبيعى للجلاكتويورينيز والذى يمثل حوالى نصف التتابع الشفرى الكامل.



الشكل (١٤-١٨): تكوين ر ن أ مضاد المعنى للجين المشفر لإنزيم بوليجلا كتويورينيز Polygalactourinase فى الطماطم (R = موقع قطع محدد)

وتم عكس إتجاه هذة الشظية ووضعها مع برموتور CaMV عند بداية تتابع الشظية كما تم إضافة ذيل Poly A فى النهاية '3 لهذة الشظية و تمـــت عمليـــة التحول الوراثى بواسطة ناقل الكلونة pBIN19T١. وقد تم بالفعل بطرق الوراثة الجزيئية التحقق من دخول الجين وإنتاج نسخ asRNA. تم تقدير مستوى إنـــزيم Polygalacturinase فى ثمار النبات المحولة ومقارنته بتلك الموجودة فى ثمـــار النباتات غير المحولة (الطبيعية) حيث تبين أن مستوى بناءالإنزيم كان منخفضا

جدا فى النباتات المحولة وراثيا (الشكل١٤-١٩) والأهم من ذلك أن ثمار الطماطم المحولة وراثيا أمكن تخزينها لمدد طويلة قبل فسادها مما يدل على أن asRNA لم يوقف تماما تعبير جين Polyglacturinase إلا أنه أحدث خفض مؤثر فى التعبير الجينى مما أدى إلى تأخير فساد الثمار لفترة أطول.



الشكل (١٤-١٩): إختلاف نشاط إنزيم بوليجلا كتويورينيز بين ثمار الطماطم العادية وتلك التى يتم فيها تعبير م ر ن أ مضاد المعنى لنفس الجين

وكان أول صنف تجارى يتم تسويقه تجاريا بهذة التقنية هو الصنف Flavor Savor.

ويبين الجدول (١٤-٤) بعض الأمثلة لإستخدام asRNA فى تعديل بعض الصفات فى النبات.

الجدول (١٤-٤) بعض الأمثلة لإستخدام asRNA فى النبات

الجين المستهدف	الصفة المعدلة
polygalacturinase	تأخير فساد الثمار فى الطماطم
Aminocyclopropane carboxylic acid synthase	تعديل نضج الثمار فى الطماطم
Polyphenol oxidase	منع تشوه اللون discoloration فى الثمار والخضروات
Starch synthase	خفض محتوى النشا فى الخضروات
Delta-12 desaturase	زيادة نسبة حامض الأوليبيك فى فول الصويا
Chalcone synthase	تعديل ألوان الأزهار فى نباتات الزينه

الأمان الحيوى والكائنات المعدلة وراثيا Biosafety and GMO:

لاشك أن الكائنات المعدلة وراثيا سواء كانت نبات أو حيوان أو كائنات دقيقة قد ساهمت بشكل كبير فى تقديم كثير من الحلول غيرالتقليدية لمشاكل كثيرة سواء بالنسبة للامن الغذائى أو إنتاج مستحضرات دوائية أكثر فاعلية أو الحصول على لقاحات رخيصة وآمنة لعدد من الأمراض المعدية أو فى مقاومة الأفات الزراعية وغيرها. إلا أن البعض يرى أن إستخدام مثل هذه الكائنات المعدلة وراثيا ينطوى على بعض المخاطر. فمثلا فى حالة الطماطم المعدلة وراثيا Flavar Savor يستخدم ناقل تعبير محتوى على نسخة من المضاد الحيوى كاناميسين Kan^R كجين كشاف Marker Gene لمتابعة نجاح عملية التحول الوراثى Transformation وهذا المضاد الحيوى ذو مصدر بكتيرى ويشفر لإنزيم نيومايسين فوسفوترانسفيريز Neomycin Phosphotransferase ويوجد هذا الجين والإنزيم الناتج فى جميع خلايا النبات المعدل وراثيا. و قد برزت المخاوف من أن هذا الإنزيم قد يكون ضارا للانسان وعلى الرغم من أن هذه

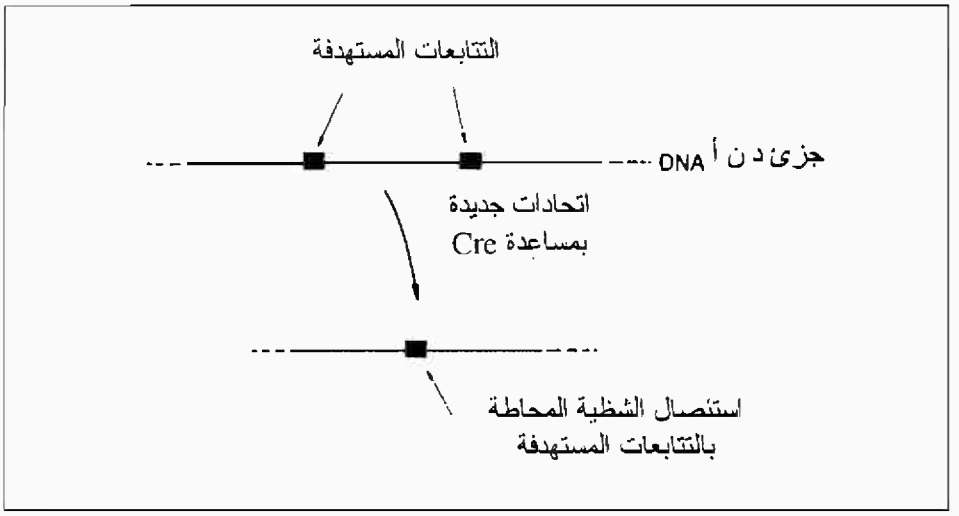
المخاوف لم يعد لها ما يبررها بعد أن ثبت عدم صحتها بتجارب عديدة على نماذج حيوانية إلا أنه مازالت هناك قضيتين متعلقتين بالأمان الحيوى بالنسبة للأغذية المعدلة وراثيا وهما:

١- هل من الممكن لجين KanR الموجود فى هذة الأغذية أن ينتقل إلى البكتيريا الموجودة فى الجهاز الهضمى للانسان ويحولها إلى بكتيريا مقاومة للكاناميسين وغيره من المضادات الحيوية؟

٢- هل يمكن لجين KanR أن ينتقل إلى كائنات أخرى فى البيئة مما يؤدى إلى الإخلال بالنظام البيئىEcosystem؟

وحتى الآن مازال النقاش محتدما بين مؤيد ومعارض ، إلا أنه لو أخذنا فى الإعتبار أن عمليات الهضم ستؤدى إلى تحطيم و هدم كامل لجميع جينات Kan^R فى الغذاء المعدل وراثيا قبل أن تصل إلى الفلورا البكتيرية فى القناة الهضمية وأنه حتى لو لم يحدث هدم للجين فإن فرصة إنتقاله لبكتيريا ضئيلة جدا. إلا أن مستوى الخطورة لا يمكن أن يصل إلى الصفر بمعنى أنه لا يوجد معدل لإنعدام الخطوره تماما There is no zero risk factor وبالمثل وعلى الرغم من أن نتائج التجارب أفترضت أن زراعة النباتات المعدلة وراثيا سيكون لها تأثير ضئيل جدا على البيئة نظرا لأن جينات Kan^R شائعة بالفعل فى النظم البيئية الطبيعية إلا أن إمكان حدوث بعض الإختلالات المستقبلية غير المنظورة لايمكن إنكارها. وقد أدت هذة المخاوف من إستخدام Kan^R وغيره من المضادات الحيوية إلى استنباط طرق للتخلص من هذه الجينات م د ن أ النبات بعد التحقق من نجاح عملية التحول الوراثى.

ويستخدم فى إحدى التقنيات إنزيم مصدره بكتريوفاج p1 ويسمى Cre والذى يؤدى نشاطه إلى إستئصال شظية د ن أ المحاطه من طرفيها بتتابع تابع التعرف Recognition Sequence مكون من ٣٤ قاعدة (الشكل ١٤-٢٠) وفى هذة الحالة يتم إدخال نوعين من ناقلات التعبير إلى خلايا النبات بحيث يكون الأول محتويا على الجين المرغوب و معه الجين الكشاف Kan^R محاطا بتتابع التعرف Cre بينما يحتوى الناقل Vector الثانى على جين Cre. وبعد التحول الوراثى، سيؤدى تعبير جين Cre إلى إستئصال جين Kan^R من د ن أ النبات المحول.



الشكل (١٤-٢٠): إستئصال د ن أ بواسطة إنزيم Cre ريكومبينيز Recombinase

المخاطر المحتملة على البيئة:

هناك أيضا مخاوف من تأثير إستخدام GMO على البيئة وقد برزت هذه المخاوف بصفة خاصة عند إنتاج نباتات معدلة وراثيا ومقاومة للفيروس إذ أنه فى مثل هذه الحالة تستخدم الجينات المشفرة للغطاء البروتينى للفيروس

الممرض. ولا يؤدى تعبير هذه الجينات إلى ظهور أعراض مرضية ولكنه يعطى النبات بعض الحماية من الإصابة بالفيروس الحى.

وهناك مخاوف من أن النبات الذى يبنى بروتين غطاء فيروسى ممرض ربما يهاجم نوع اخر من الفيروس والذى قد يؤدى تكاثره إلى إنتاج نسل هجينى يحتوى على جنيوم الفيروس المعدى معباً فى الغطاء البروتينى الذى يبنيه النبات. وقد يكون النسل الهجينى محتويا على صفات خطرة وغير متوقعة. فمثلا من الممكن لبروتين الغطاء الجديد أن يوسع مدى العوائل Host Range للفيروس الثانى مما يمكنه من إصابة نباتات جديدة كانت مقاومة أصلا للمرض الناتج.

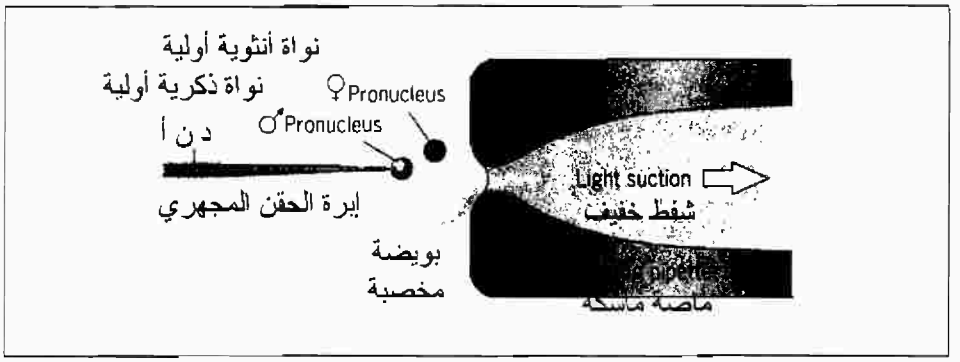
كما أن هناك مخاوف حول ما إذا كان الجين المكلون فى النبات المحول يمكنه الهروب "Escape" والإنتقال إلى نباتات برية وإذا حدث ذلك فما هى حجم المخاطر المحتملة على النظام البيئى من جراء ذلك.

وهناك الكثيرمن البحوث التى تجرى حاليا لإعطاء إجابات كافية لمثل هذه الأسئلة وغيرها سواء بالنسبة لحماية البيئه تحت إشراف وكاله حماية البيئة Environanental Protection Agency (EPA) أو بالنسبة للأغذية المعدلة وراثيا تحت إشراف هيئة الغذاء و الدواء Food and Drug Administration (FDA).

الحيوانات المعدلة وراثيا Transgenic Animals:

تستخدم تقنية الحقن المجهرى Microinjection كطريقة أساسية فى نقل الجينات المرغوبة إلى نواة الخلية البيضية الاولية للزيجوت (الشكل ١٤-٢١). وقد أجريت تجارب كثيرة على التحول الوراثى فى الفأر بإعتباره حيوان معملى

متميز حيث يستخدم كأداة لدراسة التعبير الجينى فى الثدييات و لإختبار مختلف ناقلات الكلونة و التعبير والطرق المحتملة لإستخدامها فى الإنسان.



الشكل (١٤-٢١): إنتاج حيوانات محولة وراثيا بالحقن المجهرى لجزئ د ن أ فى بويضات مخصبة

وقد تمت دراسة المئات من الجينات البشرية والتى تم نقلها إلى الفأر حيث تبين فى معظم الحالات أن الجينات المنقولة Transgenes أظهرت طرز طبيعية للتوريث مما يدل على أنه قد تم إيلاجها فى جينوم العائل.

ومن التجارب الرائدة فى هذا الشأن دراسة تأثير كلونة جين هرمون النمو البشرى على زيادة نمو الفأر المحول وراثيا (الشكل١٤-٢٢) وقد شجعت هذة النتائج مربى الحيوان على محاولة إدخال هرمون النمو إلى حيوانات المزرعة بغرض زيادة إنتاج اللحم فيها.

الشكل (١٤-٢٢): أر محول وراثيا (إلى اليسار) يحمل الجين الكيميرى لهرمون النمو البشرى حيث يبلغ حجمه ضعف حجم فأر المقارنة غيرالمحول وراثيا (إلى اليمين)

وقد تم إنتاج خنازير معدلة وراثيا بجين هرمون النمو على أمل أن زيادة مستوى هرمون النمو قد يؤدى إلى تحسين صفات اللحم وزيادة معدل النمو. كما تمت نفس المحاولات فى الأسماك والدواجن لنفس الغرض. وقد أظهرت نتائج الخنازير المعدلة وراثيا أنه لم تطرأ زيادة فى معدل النمو عند التغذية على العليقة القياسية ، إلا أنها إرتفعت عند التغذية على عليقة غنية فى البروتين. إلا أن الخنازير الناتجة تميزت بتحسن صفات اللحم ، نظرا لأن هرمون النمو يفضل بناء البروتينات بدلا من الدهون. ومن جهة أخرى ظهرت أثار جانبية غير مرغوبة فى هذه الحيوانات نتيجة لزيادة هرمون النمو إذ كانت الإناث

عقيمة كما أن الخنازير المعدلة من الجنسين تميزت بضعف العضلات وعدم القدرة على الحركة لثقل وزنها و تعرضها للأمراض.

وعلى الرغم من أن العلماء ما زالوا يحاولون التغلب على المشاكل الناجمة عن زيادة هرمون النمو فى الحيوانات المزرعية إلا أنه لم يثبت حتى الآن أن مثل هذه الطريقة قد تكون غير فعالة فى زيادة إنتاج اللحم. وتجرى حاليا اختبارات على حيوانات معدلة وراثيا لمقاومة الأمراض الفيروسية ومن هذه الأمراض مرض الدواجن Avian Leukosis Virus (ALV) والذى يسبب خسائر كبيرة فى مزارع الدواجن.

وكما سبق القول فقد إستخدمت الحيوانات المعدلة وراثيا كالأغنام والأبقار لإنتاج بعض البروتينات المرغوبة وإفرازها فى اللبن.

تكنولوجيا الجين والأخلاقيات Gene Technology and Ethics:

أدى التقدم الهائل الذى نتج عن إستخدام تكنولوجيا الجين سواء فى مجال المسح الوراثى والإستشاره الوراثية أو الإختبارات الخاصة بالكشف عن العيوب الوراثية وكذلك إمكان إستخدام تكنولوجيا الجين فى العلاج بالجينات إلى ظهور بعض القضايا الهامة المتعلقة بالأخلاقيات Ethics ووضع خطوط فاصلة بين ما هو جائز أخلاقيا وما هو مرفوض تماما.

الإختبارات الوراثية والأخلاقيات Genetic Testing and Ethics:

تشتمل الإختبارات الوراثية على نوعين من الإختبارات: التشخيص ما قبل الولادة Prenatal Diagnosis والمسح Screening للأفراد الحاملة الخليطة لطفرة متنحية Genetic Carriers. كما يمكن للأختبارات الوراثية التنبؤ بإحتمال ظهور

مرض وراثى Risk of Disease وبالتالى تحديد الأفراد التى تبدو طبيعية حاليا ولكن الإحتمال عالى فى أن يصاب بمرض وراثى فى المستقبل. ونظرا للتقدم التكنولوجى المستمر خاصة فى مجال تقنية DNA Microarray فإنه يمكن إختبار ٥٠-١٠٠ مرض فى وقت واحد والتى تشمل أمراضا كثيرة التى قد لا تعرف إلا بعد مرور سنوات كثيرة. وسوف يؤثر هذا التقدم بدرجة كبيرة على صحتنا وطرز التكاثر والرعاية الطبية. ومن جهة أخرى فإن إستخدام هذة التقنيات ستؤدى إلى ظهور قضايا قانونية وإجتماعية وأخلاقية من الصعب حلها.

فمثلا ما الذى يجب أن يعرفه الفرد قبل أن يقرر الموافقة على إجراء إختبار أو فحص وراثى؟ وكيف يمكننا حماية سرية المعلومات الناتجة عن هذه الإختبارات؟ وكيف يمكننا تعريف و منع التفرقة الوراثية Genetic Discrimination؟

وبالنسبة للتفرقة الوراثية، فهل يحق إتخاذ نتائج الإختبار الوراثى ضد الأفراد التى تبين أن إحتمال الخطورة المستقبلية لظهور مرض ما فيها مرتفع سواء فى مجال الوظائف أو التامين على الحياة؟

ومن المعروف أن الأنيميا المنجلية فى الأفراد الحاملة الخليطة تؤدى إلى مقاومة الملاريا فى هؤلاء الأفراد وقد يكون ذلك صحيحا فى بعض الأمراض الوراثية الآخرى.

فكيف نحمى مثل هذة المزايا للطفرات فى الوقت الذى نحاول فيه التخلص من الجوانب المدمرة لها؟

لذلك يجب أن تتم مدوالات و مناقشات واسعة يشارك فيها الجمهور العادى مع العلماء المتخصصين للوصول إلى صيغة أخلاقية مقبولة من الجميع.

وقد إنبثقت لجنة من لجان مشروع الجينوم البشرى مهتمة بهذا الشأن وتسمى لجنة Ethical, Legal and Social Implications (ELSI) مهمتها تحديدالقضايا المتعلقة بالإختبارات الوراثية.

وتختص هذة اللجنة بإصدار التوصيات لتقديمها إلى صانعى القرار ورجال القانون حفاظا على مزايا الإختبارات الوراثية مع التقليل أو إستبعاد المخاطر المحتملة وفضلا عن ذلك فقد تشكلت مجموعات آخرى مكونة من العلماء والمتخصصين فى مجال الرعاية الصحية والقانونيين والمهتمين بأخلاقيات المهنة والمستهلكين لمناقشة هذة القضايا وتكوين رأى عام حولها.

القضايا الأخلاقية و العلاج بالجينات:

Ehical Issues in Gene Therapy:

لاشك أن العلاج بالجينات ينطوى على قضايا أخلاقية كثيرة ويعد مصدرا لمناقشات حامية ولذلك فإن العلاج بالجينات قد أقتصر حاليا على إستخدام الخلايا الجسدية Somatic Cells كهدف للنقل الجينى. وتوجد ضوابط أخلاقية صارمة لإستخدام العلاج الجينى بحيث يسبق العلاج سلسلة من التجارب والمراجعات على مستويات متعددة ويتم إخبار المريض وتوعيته مسبقا بما يمكن أن ينتج عن العلاج سواء سلبا أو إيجابا.

وقد وضعت ضوابط جديدة لضمان حماية أكثر للمريض. ويتم التنسيق مع الوكالات الحكومية المنظمة لتجارب العلاج بالجينات. ويطلق على نقل الجينات إلى الخلايا الجسدية إسم علاج الخلايا الجسدية بالجينات Somatic Gene Therapy. وفى هذا النوع من العلاج تكون النتائج المترتبة عليه قاصرة على الشخص المعالج فقط وبموافقة صريحة منه بعد إبلاغه بأبعاد هذا العلاج وتوعيته بكافة الإحتمالات الناتجة عن هذا العلاج.

وهناك نوعين آخرين من العلاج بالجينات لم تتم الموافقة عليهما نظرًا لأنها تنطوى على قضايا أخلاقية هامة.

ويسمى النوع الأول علاج الخلايا الجرثومية (التناسلية) Germ–Line Therapy حيث تكون الخلايا التناسلية (الحيوانات المنوية أو البويضة) هدفا للنقل الجينى وفى هذة الحالة فإن د ن أ المصحح للخطأ الوراثى سيصل إلى جميع خلايا الفرد (النسل) الناتج من الجاميطات المعدلة وراثيا بما فى ذلك الخلايا الجرثومية. ومعنى ذلك أن أفراد آخرين فى الأجيال القادمة يمكن أن تتأثر بهذا العلاج بدون سابق موافقتهم فهل يعد هذا عملا أخلاقيا؟ هل نملك الحق لإتخاذ هذا القرار للأجيال المقبلة؟ و لذلك فقد تم تحريم مثل هذة البحوث.

ويطلق على النوع الثانى العلاج الجينى التحفيزى (التحسينى) Enhancement Gene Therapy وهو ينطوى على مشاكل وقضايا أخلاقية أخطر من سابقيه. وفى هذا النوع يمكن رفع إمكانات الفرد بالنسبة لصفات معينة مرغوبة ويعارض هذا الإتجاه قطاعات كبيرة من المجتمع. فمثلا لو أن هذه الجينات أمكن تحديدها وكلونتها فهل يمكن إستخدامها لزيادة طول الفرد أو زيادة القدرات الرياضية أو زيادة القدرات العقلية (الذكاء)؟ لذلك فقد تم وقف أى

بحوث فى هذا الشأن إلى أن يتم مناقشة القضايا الأخلاقية المرتبطة بنتائجها المحتملة.

التاثيرالسلبى لتكنولوجيا الجين على الدول النامية:

إن التأثيرالمحتمل لتطبيقات تكنولوجيا الجين على الدول النامية محل جدل واسع النطاق.

وتوجد ثلاث مخاوف رئيسية محتملة من هذا التطبيقات:

١- قلة التمويل للمشاريع البحثية عالية التكلفة والخاصة بتكنولوجيا الجين بالنسبة للمناطق الإستوائية الهامة فى الدول النامية والتى ليس لها قيمة تسويقية تذكرفى الدول المتقدمة. ويعتبر محصول نبات الكسافا أحد هذة الأمثلة حيث يعتبر ثالث أهم محصول يزرع فى المناطق الإستوائية ، ويعد الغذاء الرئيسى لأكثر من ٥٠٠ مليون نسمة وخاصة فى المناطق الريفية الفقيرة فى إفريقيا الإستوائية ، إلا أنه يعد من المحاصيل "اليتيمة" نظرا لأن نصيب المشاريع البحثية التى تجرى عليه من التمويل الدولى ضئيلة جدا.

٢- هناك مخاوف من أن بعض المنتجات التى تنتج فى الدول النامية ستخضع لمشاريع تطبيقات تكنولوجيا الجين فى الدول المتقدمة بحيث تستطيع الدول المتقدمة إنتاجها مما يؤدى إلى حرمان الدول النامية ذات الإقتصاد الضعيف من مصدر أساسى للدخل الناتج عن تصدير هذه المنتجات ومثال ذلك إنتاج حامض اللوريك Lauric Acid فى نبات الكانولا المعدل وراثيا والذى يزرع فى أمريكا الشمالية. بينما كان هذا الحامض يستورد أساسا

من دول جنوب شرق اسيا حيث يستخرج من بذور النخيل وزيت جـوز الهند.

٣- مشكلة حقوق الملكيـة الفكريـة Intellectual Property Rights وتمثـل خطورة كبيرة على الدول النامية خاصة وأن الشركات العملاقة المنتجـة للتقاوىالمعدلة وراثيا تقوم بتسجيل كثير من هذة المحاصيل مما يؤدى إلى ما يشبه الإحتكارفى تسويق هذه المحاصيل لحـساب هـذه الـشركات ، مما يؤثر سلبيا على المزارع فى الدول النامية نتيجة إرتفاع أسعار مثـل هذه التقاوى بحيث تزيد تكلفة المنتجات الزراعية.