

## الفصل الرابع عشر

### تطبيقات تكنولوجيا الجين Applications of Gene Technology

لقد أدت تكنولوجيا دن أ المعاد صياغته Recombinant DNA و كلونة الجين Gene Cloning إلى إنطلاق عصر جديد سمي بحق عصر الهندسة الوراثية وتكنولوجيا الجين.

فقد توالى استخدام هذه 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 النباتى والحيوانى كما ونوعا.

#### إنتاج بروتينات معدلة وراثيا:

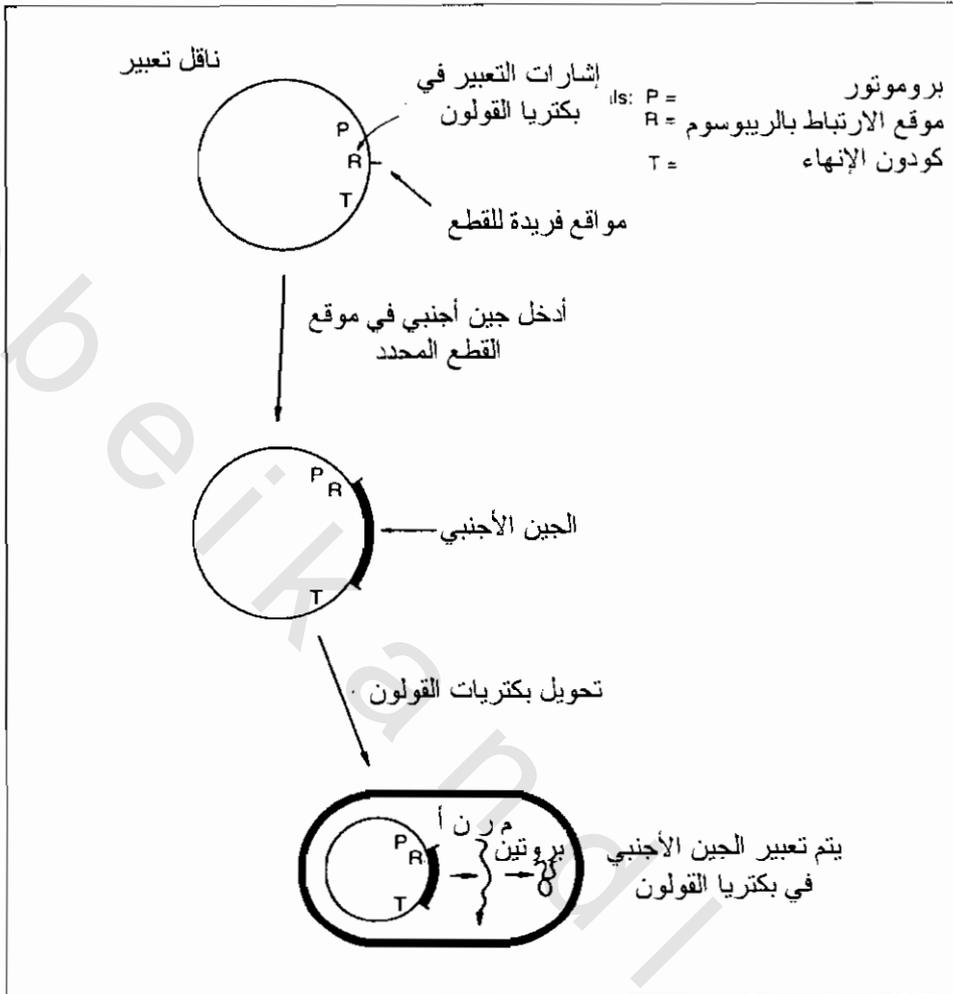
##### Production of Recombinant Proteins:

سبق الاشارة إلى أهمية تكنولوجيا الجين فى انتاج بروتينات معدلة وراثيا ذات قيمة إقتصادية كبيرة مما ادى إلى نشأة مجال جديد من البيوتكنولوجيا 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 وهما: ناقلات الكلونة Cloning Vectors وهذه سبق شرحها بالتفصيل ، وناقلات التعبير Expression Vectors التى يجب أن تحتوى على بعض التتابعات التى تمكنها من إجراء عمليتى نسخ وترجمة الجين المكون إلى البروتين المرغوب.

وتشمل هذه 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 وهو عبارة عن تتابع نيوكليوتيدى قصير يتعرف عليه الريبوسوم كنقطة ارتباط بجزئ م ر ن أ. ويقع كودون البدء (AUG) دائما على بعد نيوكليوتيدات قليلة بعد هذا الموقع Downstream (الشكل ١٤-١).



الشكل (١٤-١): استخدام ناقل تعبير للحصول على تعبير جين أجنبي في خلية بكتريا القولون

### أولاً: الانسولين المعدل وراثياً Recombinant Insulin:

يُنتج الانسولين الطبيعي من مجموعة خلايا  $\beta$  في جزر لانجيرهانز في البنكرياس البشري وهو يتحكم في مستوى الجلوكوز في الدم. ويؤدي نقص

الانسولين إلى الإصابة بمرض السكرى Diabetes Mellitus والذي قد تؤدي تعقيده إلى الموت إذالم يتم علاجه.

ومن حسن الحظ أنه توجد بعض أنواع مرض السكرى التي يمكن تقليل مضاعفاتها بالعلاج المستمر بالحقن بالانسولين لتعويض النقص في إنتاجه في خلايا الفرد المصاب.

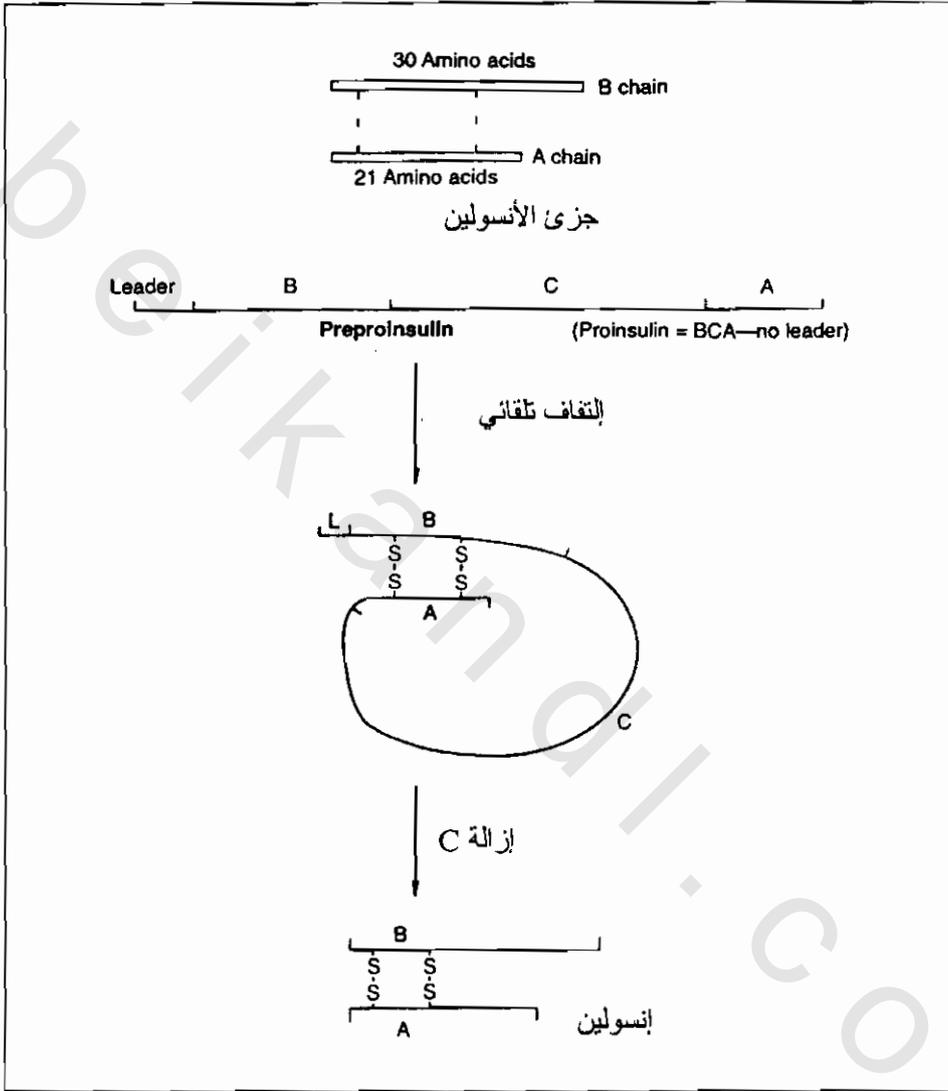
وقد كان مصدر الانسولين في الماضى هو عن طريق إستخلاصه من بنكرياس الخنازير والابقار. وعلى الرغم من أن هذا الانسولين الحيوانى أعطى نتائج مقبولة ، إلا أنه قد تنشأ بعض المشاكل الصحية من إستعماله لعلاج مرض البول السكرى في الانسان. إذ أنه نتيجة للاختلاف البسيط بين البروتينات الحيوانية و البشرية قد يؤدي إلى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

والمشكلة الثانية تكمن في صعوبة تنقية الانسولين الحيوانى وإمكان وجود ملوثات خطيرة يصعب التخلص منها.

ويعتبر بروتين الانسولين مثالى لإنتاجه بتقنية دن أ المعاد صياغته في خلايا بكتيريا القولون. إذ أن الانسولين البشرى لا يحدث له أى تعديل Modifications بعد الترجمة (اى لا يضاف إليه اى مجموعات إضافية مثل سلاسل الأوليجو السكرية.....الخ).

كما أن جزئ الانسولين صغير الحجم ويشتمل على سلسلتين ببتيدتين الاولى مكونة من ٢١ حامض أميني (السلسلة A) والاخري مكونة من ٣٠ حامض أميني (السلسلة B) (الشكل ١٤-٢) و يتم بناء هاتين السلسلتين كبادئ

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



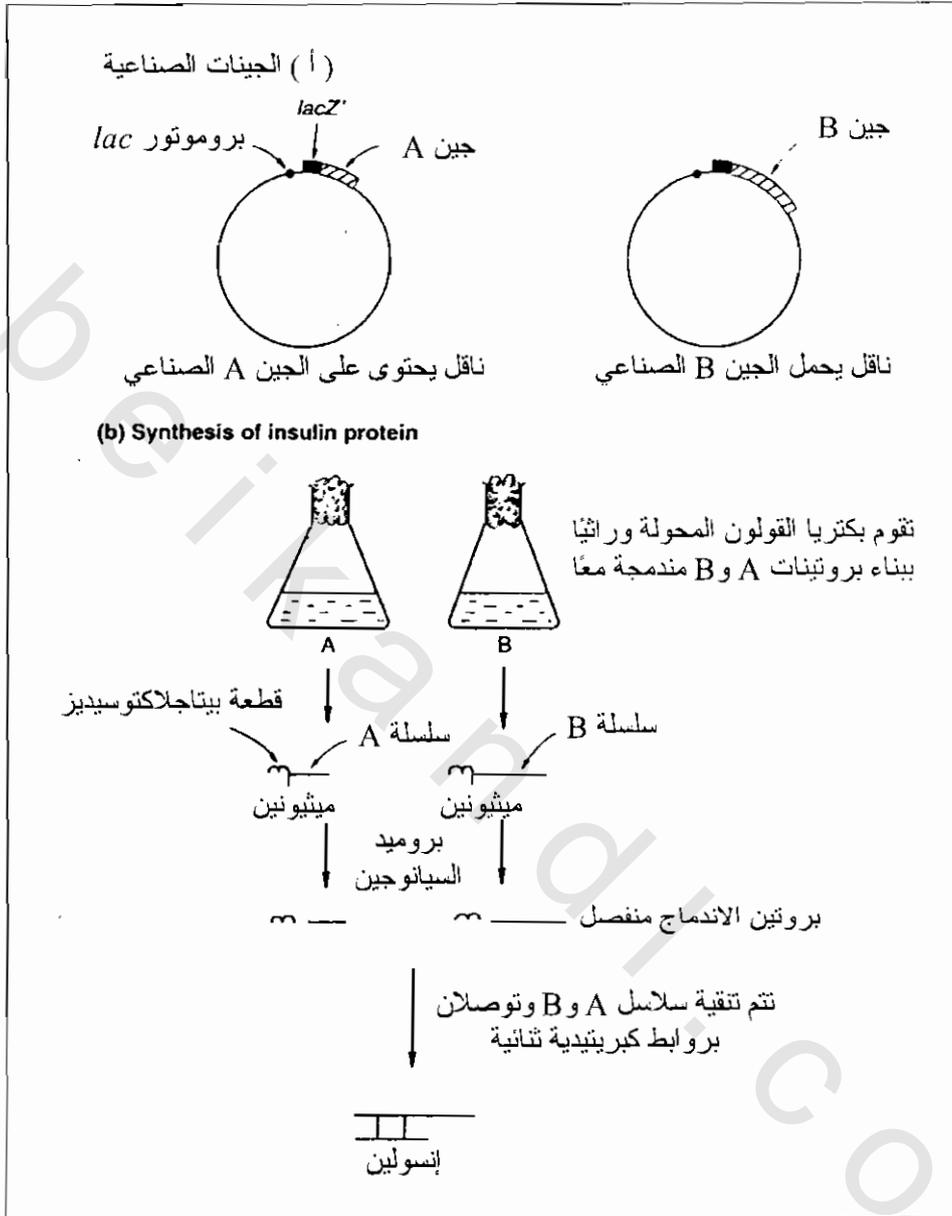
الشكل (١٤-٢): تركيب جزئ الأنسولين وملخص لبنائه بعملية التجهيز من جزئ الأنسولين القبلى البعدى Preproinsulin

وتتم إزالة التابع القائد وحذف السلسلة C بعد النسخ ، وتبقى سلسلتى A و B مرتبطين ببعضها برابطتين كبريتيدين Disulfide Bonds.

وقد أمكن بناء جين انسولين صناعى وترجمته إلى بروتين الانسولين الفعال. حيث أمكن تكوين بلازميد معاد صياغتهما أحدهما يحتوى على الجين الصناعى الخاص بالسلسلة A والآخر 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  $\beta$ -Galactosidase متبوعة بسلسلة A أو B ( الشكل ١٤-٣ ب).

وقد صمم كل جين بحيث يكون الحامض الاميني الميثيونين يفصل بين  $\beta$ -Galac وسلسلة الانسولين مما يمكن معه إزالة جزء  $\beta$ -Galac و فصلها عن سلسلة الانسولين وذلك بالمعاملة بمادة Cyanogen Bromide (CBR) ويتم الارتباط بين سلسلة A و B برابطتين كبريتيدتين تتم فى المعمل. وقد أمكن تطوير عملية إنتاج الانسولين ببناء Synthesis جين Proinsulin بحيث يشمل سلسلة A و B معا وبالكامل.

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



الشكل (١٤-٣): بناء الإنسولين المعاد صياغته باستخدام جينات صناعية

لكل من سلسلتى A و B

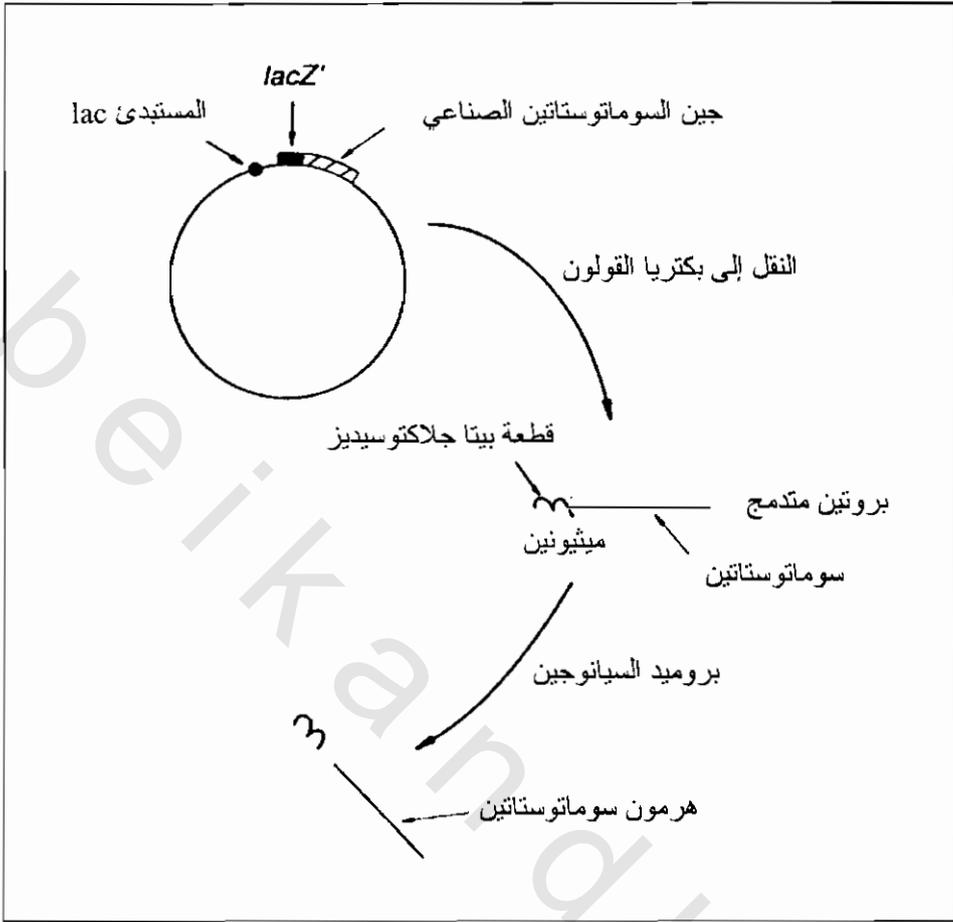
ثانياً: إنتاج هرمون النمو البشرى فى خلايا بكتيريا القولون:

### 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 لإنتاج 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 الأنسولين كان أول هرمون بشرى يصرح به على نطاق تجارى بعد موافقة هيئة الغذاء والدواء الأمريكية (FDA) US Food and 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 الأنسولين المعاد صياغته بحيث أدخل الجين الصناعى فى ناقل التعبير LacZ (الشكل ١٤-٤) وبناء بروتين مندمج Fusion Protein والقطع بمادة بروميد السيانوجين (CBr).

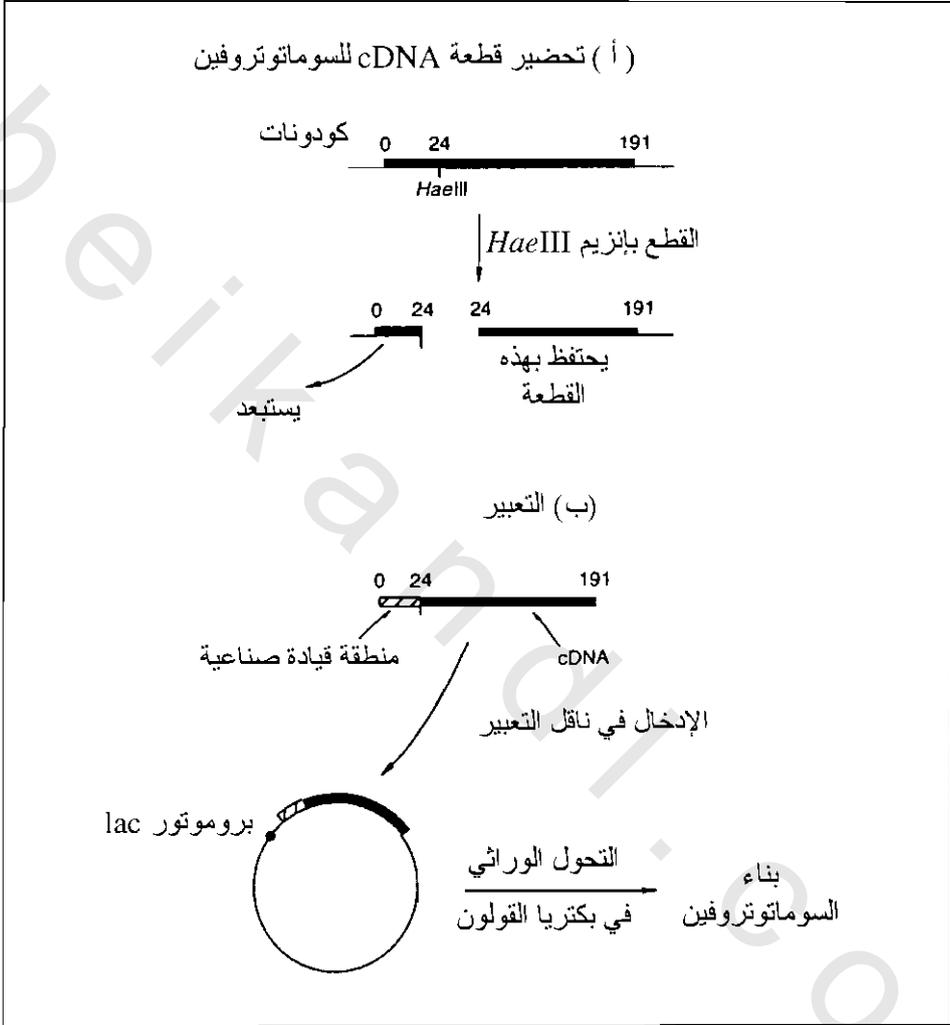
ومن جهة أخرى ونظرا لان هرمون السوماتوتروفين مكون من سلسلة طويلة نسبيا (١٩١ حامض أمينى) مكافئة تقريبا لحوالى ٦٠٠ زوج من القواعد النتروجينية ، فقد كان لابد من إستخدام إستراتيجية مختلفة نظرا لانه كان من الصعب فى ذلك الوقت (أواخر السبعينات) بناء هذا الجين صناعيا بالكامل.



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

ولذلك تم الاعتماد على cDNA من مرن أ المستخلص من الغدة النخامية التي تنتج هذا الهرمون في جسم الانسان. و تم قطع cDNA الناتج بانزيم القطع المحدد Hae III إلى قطعتين (الشكل ١٤-٥) وكانت القطعة الاطول تحتوى على الكودونات من ٢٤ إلى ١٩١ وإستخدمت هذه القطعة لتكون البلازميد المعدل في حين إستبدلت القطعة الصغرى بجزئ د ن أ صناعي الذي

إشتمل على نقطة بداية جين السوماتوتروفين ، و إحتوى على الاشارات الصحيحة اللازمة لعملية الترجمة فى بكتيريا القولون (الشكل ١٤-٥) وتم لحام هذا الجين المعدل فى ناقل تعبير يحمل البرموتور Lac.

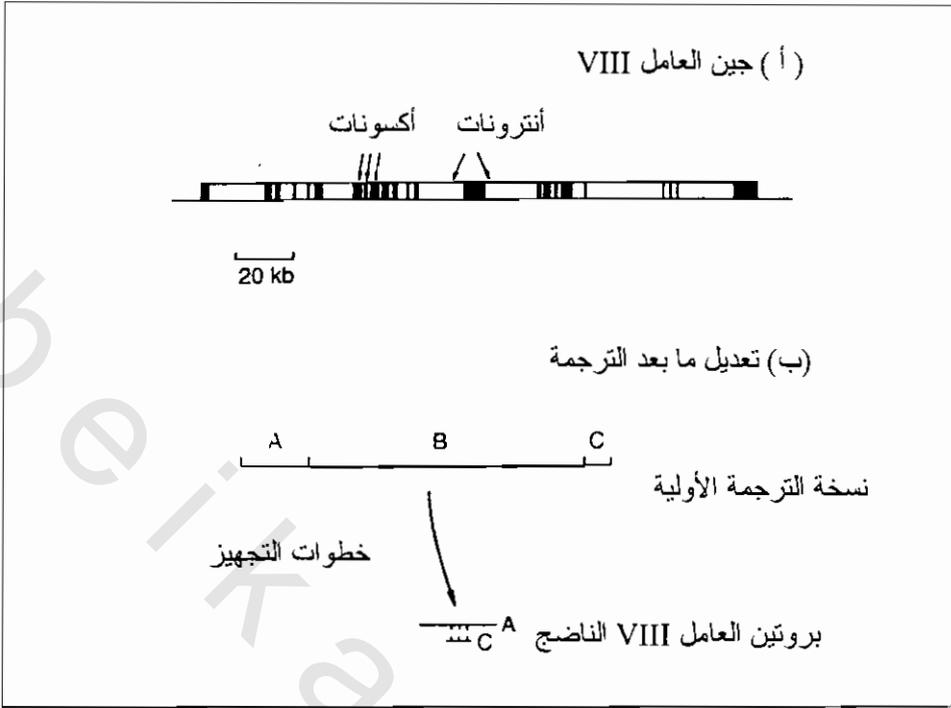


الشكل (١٤-٥): إنتاج هرمون السوماتوتروفين المعدل صياغته

### ثالثاً: إنتاج عامل التجلط VIII Recombinant Factor VIII

يلعب عامل التجلط Factor VIII دوراً رئيسياً في عملية تجلط الدم. ويؤدي 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 قطعي نتيجة عدم قدرة الجسم على تكوين جلطة لوقف النزيف وخاصة في الأفراد المصابين بمرض النازف Haemophilia (هيموفيليا). ويتميز هذا الجين بأنه يتكون من ١٨٦ كقاعدة و يحتوى على ٢٦ إكسون و ٢٥ إنترون كما أن م ر ن أ يشفر لسلسلة طويلة مكونة من ٢٣٥١ حامض أميني (الشكل ١٤-٦) 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 لا يمكن للجهاز الوراثى لبكتيريا القولون أن يقوم بإنتاجه لافتقاره إلى كثير من العناصر المسؤولة عن إنتاج مثل هذا البروتين لذلك كان لابد من إستخدام مزارع خلايا ثديية للقيام بهذه العملية.



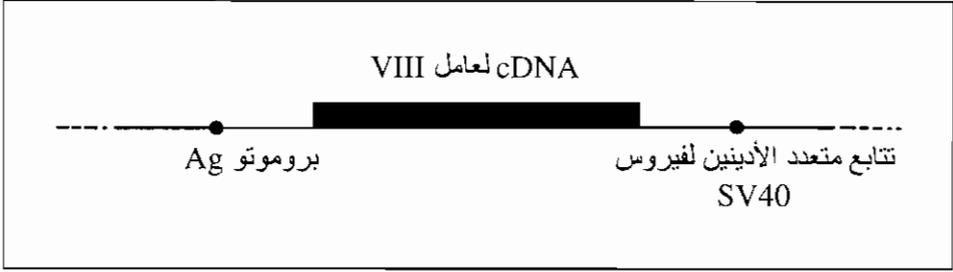
الشكل (١٤-٦): عامل التجلط VIII وناتج ترجمته (البروتين)

وقبل أن نتطرق إلى عملية بناء هذا البروتين المعدل وراثيا في الخلايا الثديية تجدر الإشارة إلى الأسباب التي إقتضت ضرورة إنتاج هذا البروتين بطرق تكنولوجيا الجين إذ أنه حتى وقت قريب كانت الطريقة الوحيدة لعلاج الهيموفيليا هي الحقن ببروتين عامل التجلط VIII النقي 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 التي قد تكون موجودة في دم المتبرع . إذ

تبين أن فيروسات التهاب الكبد الوبائي Hepatitis و فيروس HIV المسئول عن الإيدز (AIDS) يمكن أن تمر مع البروتين المستخلص وبالتالي حدثت بالفعل إصابات بهذه الأمراض الخطيرة للأفراد المعالجين بالحقن بروتين عامل التجلط المستخلص بهذه الطريقة. لهذا فإن عامل التجلط المعدل والمنسج بتكنولوجيا الجين يكون خالي من هذه الملوثات الخطيرة مما يعد إنجازا مهما في مجال البيوتكنولوجيا.

وفي المحاولات الأولى لإنتاج هذا البروتين المعدل وراثيا باستخدام خلايا الثدييات ، تمت كلونة جزيء cDNA بأكمله في 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 في خلايا الهامستر ، إلا أنها لا تقدر على تحويل كل النتائج الأولية إلى الصورة النشطة مما يؤدي إلى انخفاض حاد في كمية الناتج النهائي. وللتغلب على هذه 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 قطعتي cDNA في ناقل تعبيرى Expression Vector بحيث تكون تحت تأثير Downstream بروموتور قوى وتسبق Upstream إشارة من متعدد الأدينين Poly A من فيروس SV 40 ( الشكل ١٤-٧) وتم إدخال البلازميد إلى مزرعة من خلايا الهامستر حيث أنتجت كميات توازى ١٠ أضعاف الكمية المنتجة من الخلايا التي إحتوت على cDNA الكامل الطول كما أن بروتين عامل التجلط الناتج كان فعالا ولا يختلف في ذلك عن البروتين في صورته الأصلية.



الشكل (١٤-٧): إشارات التعبير المستخدمة في إنتاج العامل VIII المعاد صياغته. يتكون البروموتور من هجين صناعي من تتابعات جين بيتا اكتين للدجاج وبيتا جلوبيين للأرنب وتستخدم إشارة متعدد الأدينين Poly A الخاصة بفيروس SV40 (وهي مهمة للتجهيز الصحيح لجزء 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 وبيبين الجدول (١٤-١) بعض الامثلة لهذه البروتينات.

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

البروتين	الغرض من استخدامه في العلاج
الانسولين	مرض البول السكري
السوماتوستاتين	إختلال النمو
السوماتوتروفين	إختلال النمو
عامل التجلط VIII	هيموفيليا
عامل التجلط IX	مرض Christmas
الفا انترفيرون	اللوكيميا وأنواع أخرى من السرطان
بيتا انترفيرون	السرطان والايذز
جاما انترفيرون	السرطان و الروماتويد
انترليوكين	السرطان و إختلال المناعة
عامل نمو Epidermal	القرحة ulcer
منشط البلازمونيجين النسيجي (tpA) Tissue Plasmonigen Activator	الذبحة الصدرية heart attack
سوبر أوكسيد ديسموتيز (SOD)	التخلص من التلف الناتج من الشوارد المؤكسدة في عملية زرع الكلية.
البيومين السيرم	يستخدم كإضافات للبلازما Plasma Supplement
ريلاكسين Relaxin	يستخدم في المساعدة على الولادة To aid Child birth
إنزيم ديوكسي ريبونوكلييز	لعلاج مرض التليف الحويصلي Cystic Fibrosis

### إنتاج فاكسينات بتكنولوجيا الجين Recombinant Vaccines:

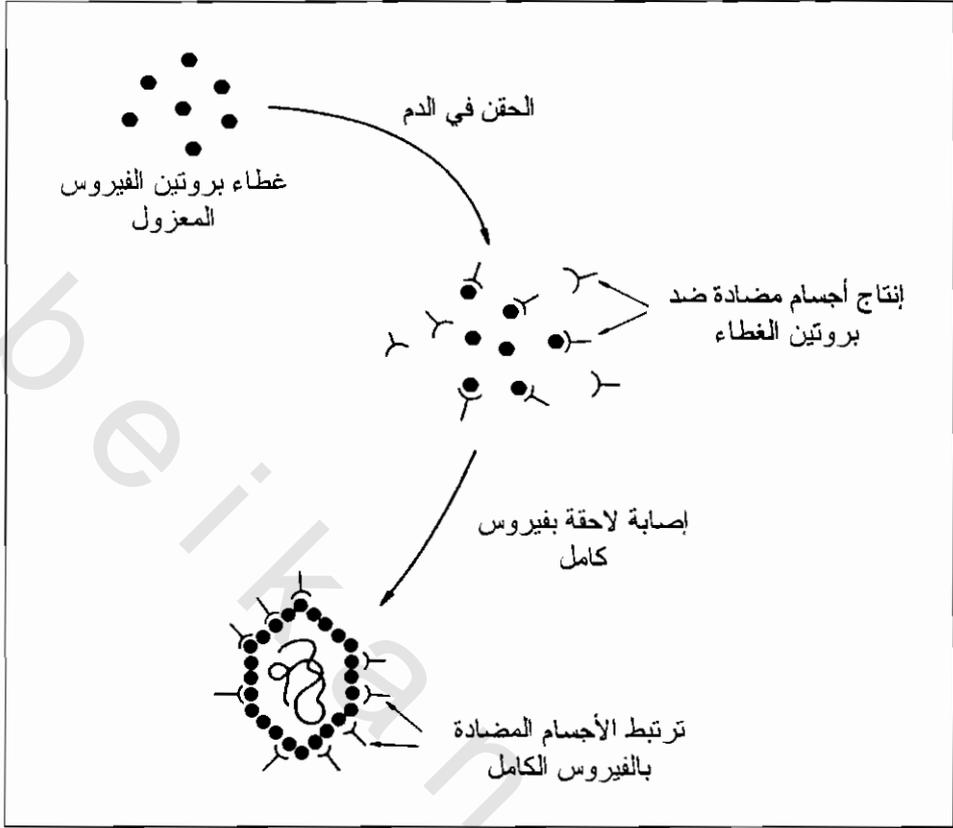
تتلخص عملية التحصين Vaccination ضد مرض معين في حقن الدم بتحضير من الانتجن Antigen الذى يؤدي إلى تحفيز الجهاز المناعى للجسم لبناء

أجسام مضادة Antibodies لحماية الجسم من الإصابة. وقد جرت العادة حتى وقت قريب على استخدام صورة غير نشطة أو مينة من الميكروب المعدي في 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 استخدام هذه الطعوم :

- ١- لا بد من أن تكون عملية إيقاف النشاط فعالة بنسبة ١٠٠% وإلا فإن وجود حبيبة فيروس واحدة حية في الطعم المستخدم ستؤدي إلى الإصابة. وقد كانت هذه مشكله في طعوم الحمى القلاعية في الإبقار.
- ٢- لا بد من الحصول على كميات كبيرة من حبيبات الفيروس لإنتاج الطعم وهذه يتم الحصول عليها عادة من مزارع الانسجة. إلا أن بعض الفيروسات وخاصة فيروس التهاب الكبد B لا تنمو في مزارع الانسجة.

وللتغلب على هذه المشاكل استخدمت تقنية كلونة الجين وخاصة بعد إكتشاف أن تحفيز الجهاز المناعي في الجسم لإنتاج أجسام مضادة يعتمد أساسا على انتجينات موجودة في بروتينات غطاء الفيروس Coat Proteins (الشكل ١٤-٨).



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

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

وقد أمكن الحصول بهذه التقنية على طعم ضد إلتهاب الكبد B و ذلك بكلونته في ناقل للتعبير  $2\mu\text{m}$  وإدخاله إلى خلايا فطر الخميرة. وقد أمكن

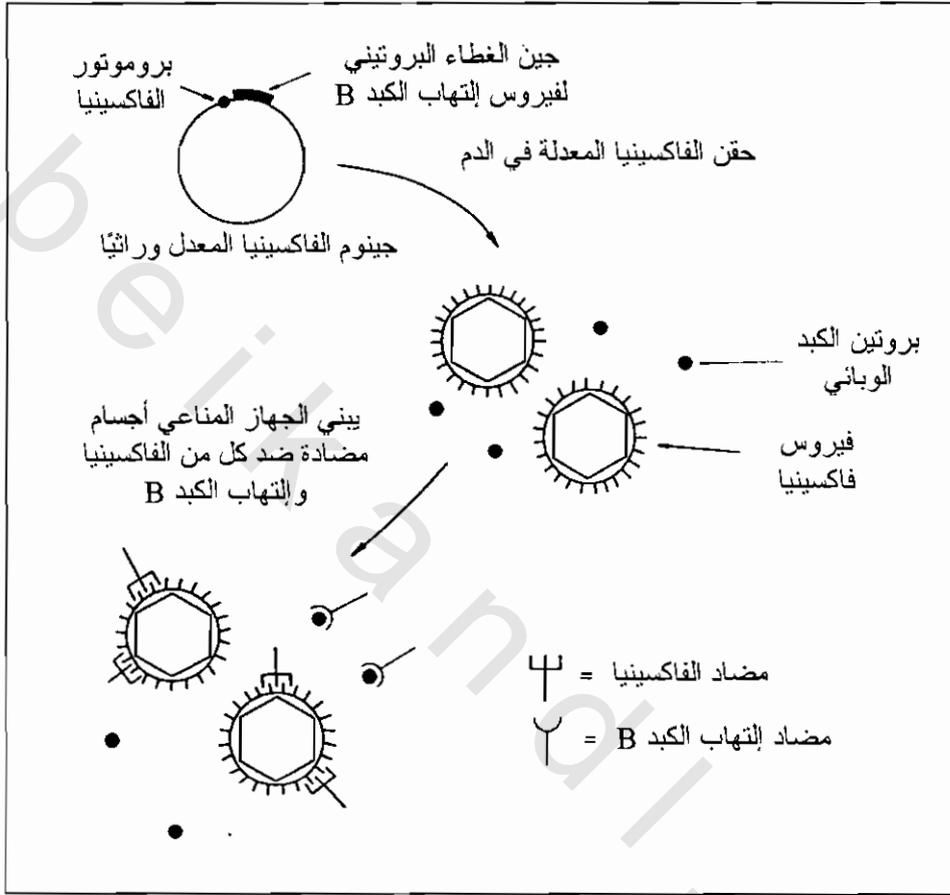
الحصول على كميات كبيرة نسبيا من هذا البروتين المعدل وأثبتت فعاليته عند حقن القردة به. وقد تمت الموافقة على إستخدام هذا الفاكسين كطعم فى الإنسان.

### إستنباط فاكسينات حية معدلة وراثيا:

#### Live Recombinant Vaccines:

يرجع إستخدام فيروس فاكسينيا Vaccinia كطعم ضد فيروس مرض الجدري Smallpox إلى عام ١٧٩٦ حين إكتشف Edward Jenner لأول مرة أن هذا الفيروس ، غير الضار بالإنسان ، يمكنه تحفيز الجهاز المناعى ضد فيروس مرض الجدري الخطير. وقد اشتق إسم فاكسين من كلمة فاكسينيا. وقد أدى إستخدام هذه التقنية إلى التخلص تماما من مرض الجدري 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 بروجين الفاكسينيا مما يؤدي إلى تعبير الجين (الشكل ١٤-٩). وبعد الحقن فى الدم سيؤدى تكاثر الفيروس المعدل وراثيا إلى إنتاج حبيبات فاكسينيا جديدة بالإضافة إلى إنتاج كميات كبيرة من انتجن إلتهاب الكبد B. وسيؤدى ذلك إلى إكتساب المناعة ضد الجدري وإلتهاب الكبد الوبائى B معا. وتوجد إمكانات كثيرة لهذه التقنية، إذ يمكن إستخدام جينوم الفاكسينيا الحية لكونة عدد من الجينات المسئولة عن إكتساب المناعة ضد عدد من الامراض بحيث أظهرت نتائج هذه التجارب فعالية كبيرة فى الحيوانات المعملية. وعلى سبيل المثال، فإن مثل هذه التجارب أثبتت إحتمال الحصول على طعوم واسعة المدى Broad Spectrum عندما تبين أن فيروس فاكسينيا المعدل وراثيا و الذى يتم فيه

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



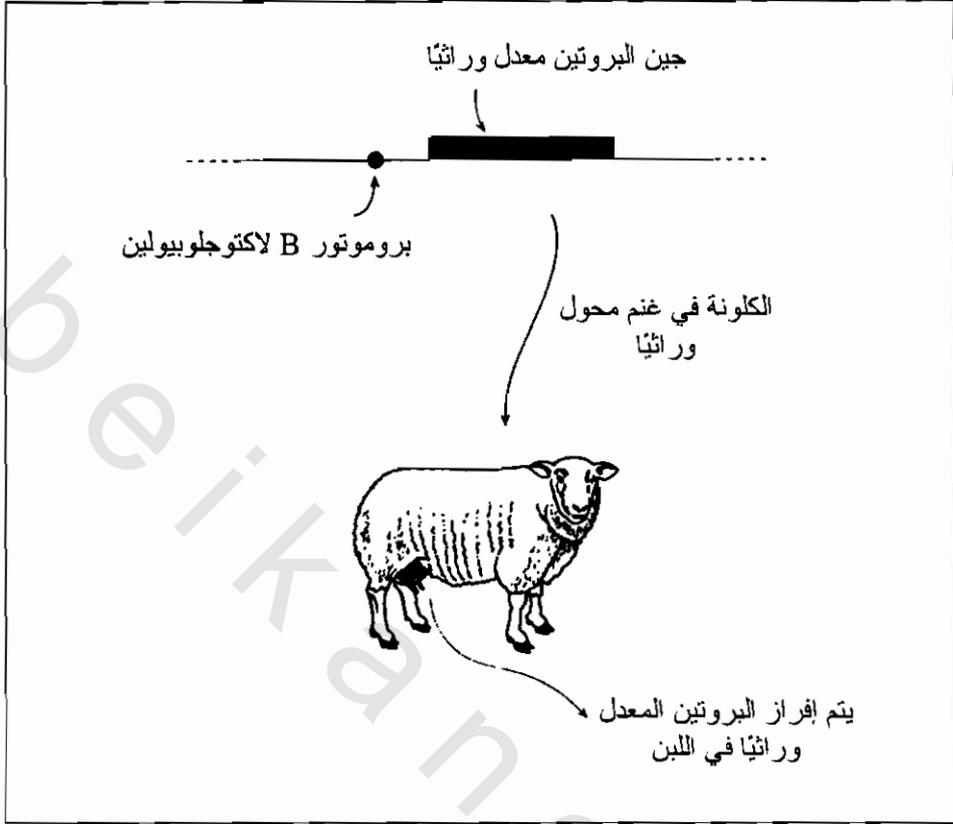
الشكل (٩-١٤): الفكرة الأساسية لتفسير إمكان استخدام فيروس الفاكسينيا المعدل صياغته

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

## إنتاج بروتينات معدلة وراثيا في الحيوانات الحية:

### Recombinant Protein From Live Animals:

أمكن مؤخرا إستخدام الحيوانات الحية مثل الابقار والخنازير والاعنام كمفاعلات بيولوجية Bioreactors لإنتاج 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 والذي يتم إنتاجه بالحقن المجهري 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 بهذه 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 (١٤-١): إنتاج بروتين معاد صياغته في لبن الأغنام المحولة وراثيًا

### إنتاج بروتينات معدلة وراثيًا في النبات:

#### Recombinant Proteins From Plants:

كما يحدث في الحيوان فإنه يمكن استخدام النبات كمفاعل بيولوجي لإنتاج بروتينات مرغوبة خاصة وأنه ثبت أن معظم البروتينات الحيوانية التي يتم إنتاجها في خلايا النبات يحدث لها نفس التعديلات لما بعد الترجمة Post-Translational Modifications. ويمكن زراعة النباتات بكثافة عالية في الحقل مما يعطى محصولاً جيداً 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 للإنتاج 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 لإنتاج فاكسينات فى النبات (مثل الفاكسين ضد الملاريا) مما يعد خطوه كبيره لإستنباط برنامج تطعيم رخيص وفعال.

وقد إستخدم نبات الدخان Tobacco بالفعل لإنتاج أجسام مضادة. وتتخلص 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 لأبأس 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 المسؤولة 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 النواحي المعيشية و الصحية قد أدت إلى

إنخفاض فى معدلات الإصابة بالأمراض المعدية مثل الجدري والسل والكوليرا والتي كانت السبب الرئيسى فى الوفاة فى أوائل القرن العشرين.

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

وترجع أهمية التعرف على الجينات المسؤولة عن الأمراض الوراثية إلى ما يأتى:

١- قد يعطى تحديد أو تعريف الجين مؤشرا عن الأساس البيوكيميائى للمرض مما يساعد على تصميم إستراتيجيه العلاج.

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

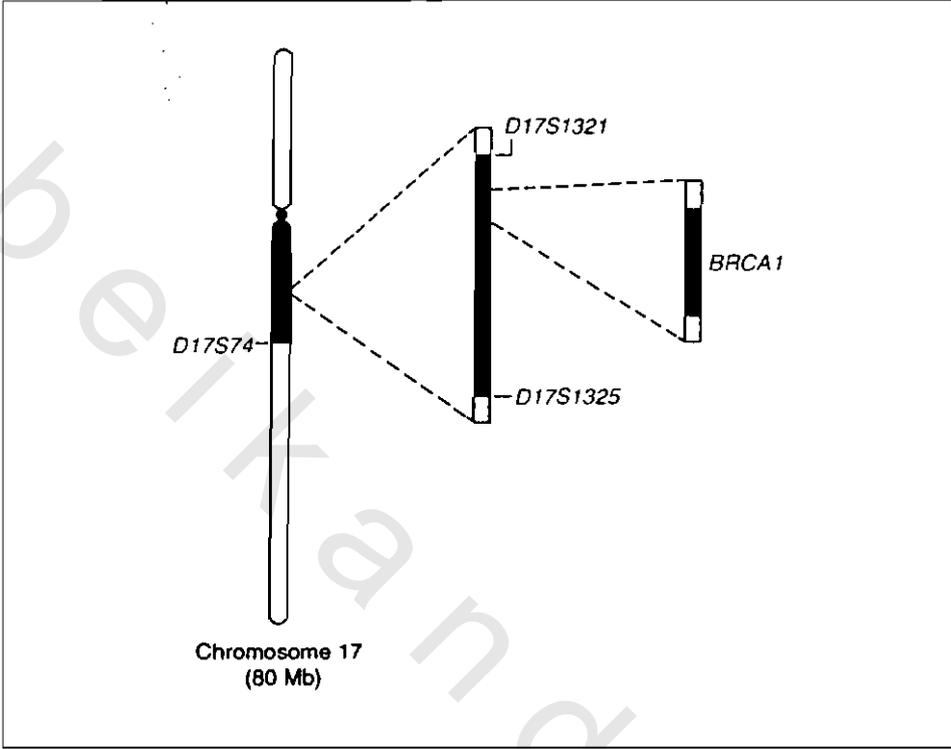
كما أن التعرف المبكر على الطفرة فى الافراد التى لم يظهر فيها المرض بعد تسمح بإتخاذ إحتياطات لتقليل مخاطر تقدم المرض فى الجسم.

٣- يعتبر تعريف أو تشخيص الجين أحد المتطلبات المبدئية Prerequisite للعلاج بالجينات كما سيأتى بعد.

ولكى يتم تحديد الجين المسئول عن مرض ما فإنه يمكن بالنسبة للعشائر البشرية اللجوء إلى تحليلات شجرة النسب Pedigree Analysis والتي يتم فيها

دراسة توريث الجين المرغوب في 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 أفراد العائلة كلما كان ذلك أفضل. وتتم دراسة الارتباط بين ظهور أو غياب المرض وبين وجود أو عدم وجود كشافات د ن أ DNA Markers في تحليل شجرة النسب. و يمكن توضيح ذلك بإستعراض الخطوات التي اتخذت للتعرف على أحد الجينات المسئولة عن سرطان الثدي. وقد بدأت التجارب المبشرة في عام ١٩٩٠ عندما تبين أنه في عائلات تتميز بارتفاع نسبة الإصابة بسرطان الثدي وجود عدد من الإناث المصابة ظهر في تحليلات عينات د ن أ الخاصة بهن ظهور الكشاف RFLP (D17S74) والذي كان قد سبق تحديد موقعه على الذراع الطويل للكروموسوم رقم ١٧ (الشكل ١٤-١١). مما يشير إلى أن الجين المراد تحديد موقعه (BRCA1) لابد أن يقع في مكان ما على الذراع الطويل للكروموسوم ١٧. وكانت تلك بداية مبشرة إلا أنها لم تكن كافية لتحديد الموقع الدقيق لهذا الجين إذ تبين أن أكثر من ١٠٠٠ جين آخر تقع في تلك المنطقة نفسها والتي تمتد حوالى ٢٠ مليون قاعدة على كروموسوم ١٧. وقد إستدعى ذلك القيام بتجارب إرتباط أخرى لتحديد موقع الجين BRCA1 بدقة أكثر. وقد تم ذلك بدراسة المنطقة التي تحتوى على BRCA1 والبحث عن وجود كشافات (STS) فيها والتي تفيد في التحديد الدقيق لرسم خريطة هذا الجين. وقد أدى إستخدام هذه الكشافات إلى خفض المسافة التي يقع فيها الجين من ٢٠ مليون قاعدة إلى ٦٠٠ الف قاعدة فقط وتسمى عملية تحديد مكان الجين بهذه الطريقة الكلونة الموضعية Positional Cloning (الشكل ١٤-١١) ولكي يتم تحديد الجين بدقة

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



الشكل (١٤-١١) : الخريطة الوراثية الفيزيائية لجين سرطان الثدي. تم وضع الجين مبدئياً في قطعة طولها ميجا قاعدة على الكروموسوم رقم ١٧ وأدت تجارب الرسم الإضافي للخريطة إلى تضيق هذه المسافة إلى منطقة طولها ٦٠٠ كيلو قاعدة محاطة بموقعين سبق تعريفها على الخريطة وهما D17S1325 و D17S1321 وتم في النهاية تحديد جين BRCA1 على الكروموسوم ١٧ وذلك بعد دراسة تحليلات لتتابعات التعبير

ويمكن استخدام واحدة أو أكثر من التقنيات التالية للوصول إلى هذا الهدف:

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

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 مثل متطابق معه نسبيا فى الثدييات الأخرى بحيث يمكن التعرف عليه بالكشف بالتهجين بالتهجين Hybridization Probing باستخدام الواسمات المناسبة.

٣- يمكن مقارنة تحليلات التتابعات النيوكليوتيدية فى أفراد سليمه و افراد 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 Silencing (امابحذفه) Gene Knockout فى الفئران أو القضاء عليه Gene Knockdown (siRNA) كما سبق، ومتابعة ظهور أعراض مرضية على الفأر مشابهة لما يحدث للمرضى البشرىين للحكم على إذا ما كان هذا الجين هو بالفعل الجين المطلوب.

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

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

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

### 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.

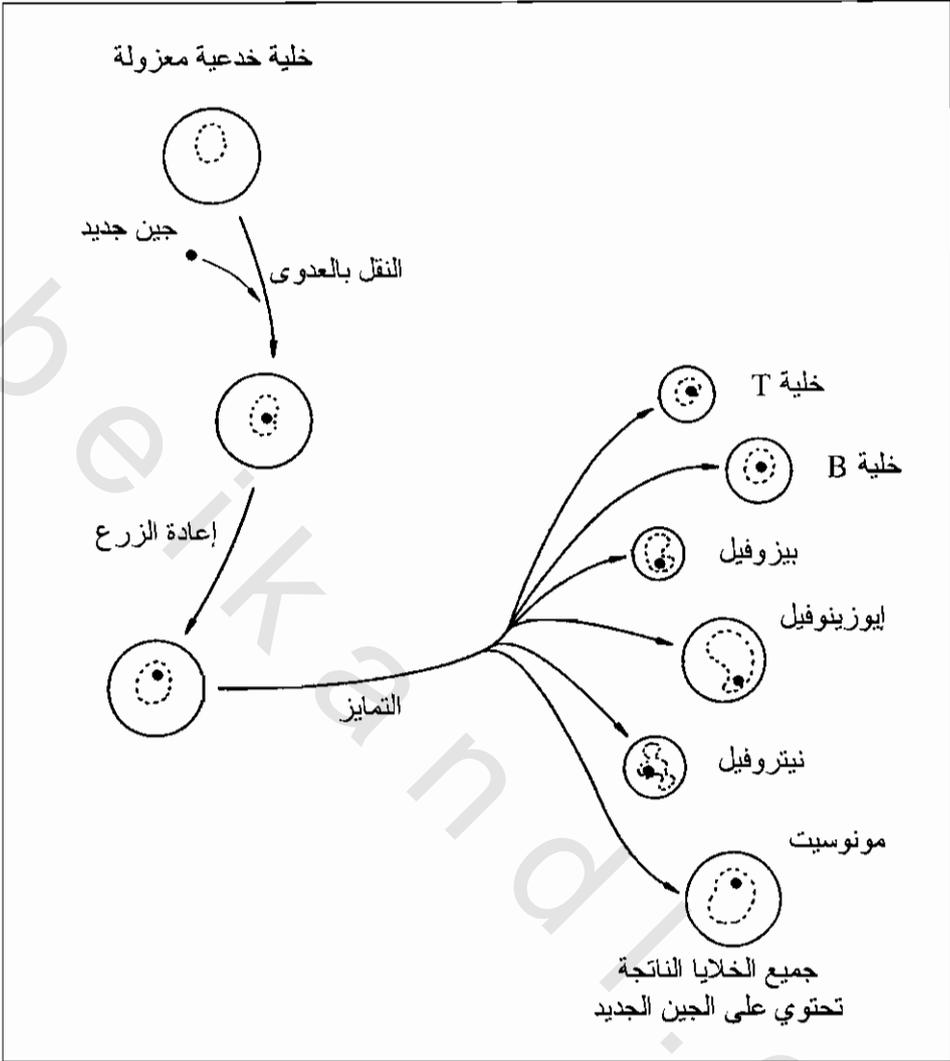
**والثانية:** علاج الخلايا الجسدية Somatic Cell Therapy.

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 والتي يتكون فيها فى النهاية جسم الفرد. ويعيب هذه الطريقة أنها تتطوى على جانب لا اخلاقى Immoral حيث لم تؤخذ موافقة Consent الفرد الناتج بهذه الطريقة على هذا الاجراء كما أنه قد يتسع إستخدام هذه الطريقة ليشمل جينات اخرى غير علاج

الأمراض الوراثية مثل محاولة تجميع جينات سوبرمان في شخص واحد أو تجميع صفات معينة مثل الذكاء الحاد أو التفوق الرياضى فى عشيرة بشرية معينة مما يعد نوعا من التفرة العنصرية غير المرغوبة. لذلك فقد تم تحريم إستخدام هذه التقنية فى قانون حماية الجينوم 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 والثاليميا. إذ يتم إدخال الجين فى الخلايا الجذعية Stem Cells من نخاع العظام والتى يودى إنقسامها إلى إنتاج جميع أنواع خلايا الدم المتخصصة.

وتتلخص الطريقة فى تحضير مستخلص من خلايا نخاع العظام يحتوى على عدة 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 هذه الخلايا إلى اكتساب جميع خلايا الدم الناضجة لهذا الجين المرغوب (الشكل ١٤-١٢) 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 تآثيره عن أسابيع قليلة.



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

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

Immunodeficiency Syndrome (SCID) وينتج عن الإصابة بهذا المرض أن تتوقف وظائف الجهاز المناعي ويموت المصاب عند تعرضه لآى 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 لهذه الحالة هى فصل خلايا الدم البيضاء من نوع T من المريض و التى تقوم بدور رئيسى فى الجهاز المناعى. و تخلط هذا الخلايا مع ريتوفيروس معدل وراثيا ويحمل النسخة الصحيحة من جين ADA. و ينقل الفيروس هذه 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 T المعدلة. و بعدها العلاج إستمر مستوى بروتين ADA الطبيعى فى الطفلة فى حوالى ٢٥-٣٠% من خلايا T وهى تعيش الآن حياة طبيعية.

### العلاج الجينى للسرطان:

تنشأ معظم الأورام 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 و التى 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 حدوث طفرة تؤدى إلى إيقاف نشاط الجين المثبط للسرطان فإن العلاج الجينى فى هذه الحالة ينطوى على إدخال نسخة

صحيحة ونشطة من هذا الجين. إلا أن العقبة الرئيسية في هذه الحالات تكمن في صعوبة التوصل إلى الطريقة التي 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 إنتقائياً .Selectively

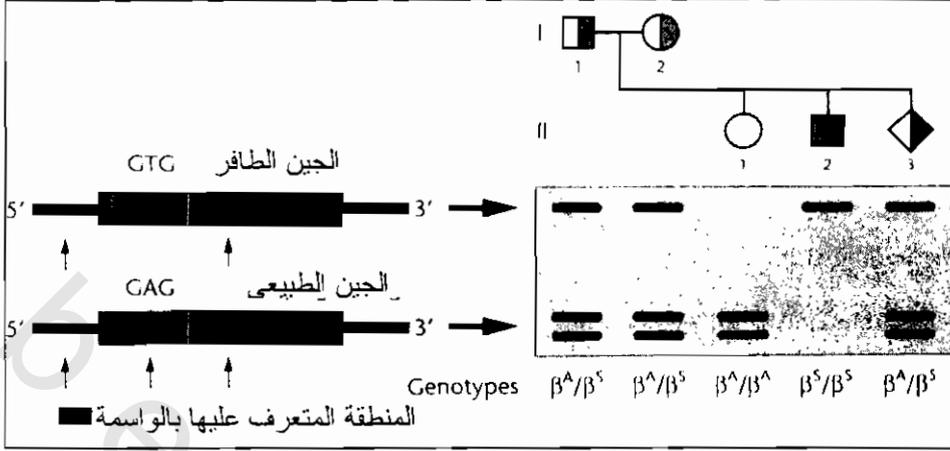
وتوجد كثير من الجينات التي تشفر لبروتينات سامة ولاشك أن إدخال إحدهما بنجاح إلى الخلايا السرطانية سيؤدي إلى موتها وشفاء المريض. ولا بد من التأكد من أن الجين المكلون الذي يشفر لهذا البروتين السام سيتجه فقط إلى الخلايا السرطانية بحيث لا يقتل الخلايا السليمة مما يتطلب إستتباط نظم دقيقة لتوصيل هذه الجينات أو التوصل إلى وسيلة للتحقق من أن هذا الجين سيتم تعبيره في الخلايا السرطانية فقط. ويمكن أن يتم ذلك بوضعه تحت تحكم بروجين متخصص ينشط فقط في هذا النوع من الخلايا Tissue-Specific ومن الطرق المقترحة الأخرى إستخدام العلاج الجيني عن طريق رفع قدرة الجهاز المناعي في قتل الخلايا السرطانية وربما يتم ذلك بكونه جين يسبب بناء أنتجينات قوية على سطح الخلايا السرطانية مما يسمح بزيادة فاعلية خلايا الجهاز المناعي في 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 طريقتي البذل للسائل الأمنيوتي Amniocentesis أو أخذ عينة قسطرة Villus Sampling (CVS). في الطريقة الأولى يتم سحب السائل

الأمينوتى بسرنية 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 سيتوراثية Cytogenetic وبيوكيماوية و دن 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  $\beta$ -Globin نتيجة طفرة إستبدال لقاعدة واحدة والتي تؤدى إلى غياب موقع القطع الانزيمى القطع المحدد Mst II و Cvn1 مما يؤدى إلى تغير فى طراز RFLP لشطايا 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).

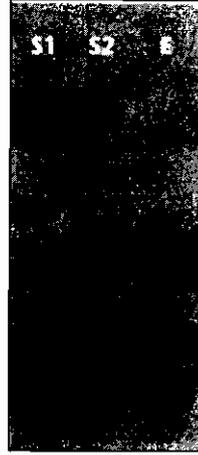


الشكل (١٤-١٣): تشخيص مرض الأنيميا المنجلية بطريقة Southern تمثل الأسهم القصيرة مواقع القطع المحددة في جين الجلوبين الطافر ( $\beta^S$ ). أدت طفرة في نيوكلييدة واحدة إلى غياب موقع القطع لأحد الإنزيمات ، مما يؤدي إلى إنتاج شظية واحدة طويلة في الجيل. ينتج الجين الطبيعي ( $\beta^A$ ) شظيتين قصيرتين مع إنزيم MstII. وفي شجرة النسب يوجد بالعائلة ابنة واحدة غير مصابة أصيلة (BA) (11-1) وابن مصاب (11-2) وبنين غير مصاب (11-3) يمكن قراءة الطرز الوراثية من الجيل مباشرة كما هو مبين أسفل الشكل

### إستخدام البصمة الوراثية في الأمور الشرعية (القضائية):

#### Forensic Applications of DNA Fingerprints

أصبح إستخدام البصمة الوراثية من الأمور الهامة التي يلجأ إليها القضاء لاتخاذها كدليل لبراءة أو إدانة المتهمون أمام المحاكم كما أنها تستخدم في مجالات أخرى كثيرة مثل قضايا الهجرة والنزاع على الأبوة وغيرها. وتستخدم في هذه 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 في 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 أدت 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 وقتاً طويلاً قد يصل إلى أكثر من عشر سنوات. وفضلاً 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 الإعتقاد على الصدفة. كما أنها تتميز بإختصار كبير فى الوقت والمجهود يصل إلى نصف الوقت الذى تتطلبه طرق التربية التقليدية.

وتستخدم إستراتيجيتين رئيسيتين لتكنولوجيا الجين فى النبات:

- ١- إضافة الجين Gene Addition حيث تستخدم كلونة الجين لتغيير بعض الصفات النباتية 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: إضافة 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 تؤدي تغذية الحشرة عليه إلى هلاكها دون أن يؤثر ذلك على النبات نفسه. ومن أهم الجينات التى إستخدمت فى هذا المجال جين  $\delta$  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 في بروتينات فعالة ضد يرقات مجموعات معينة من الحشرات (الجدول ١٤-٢).

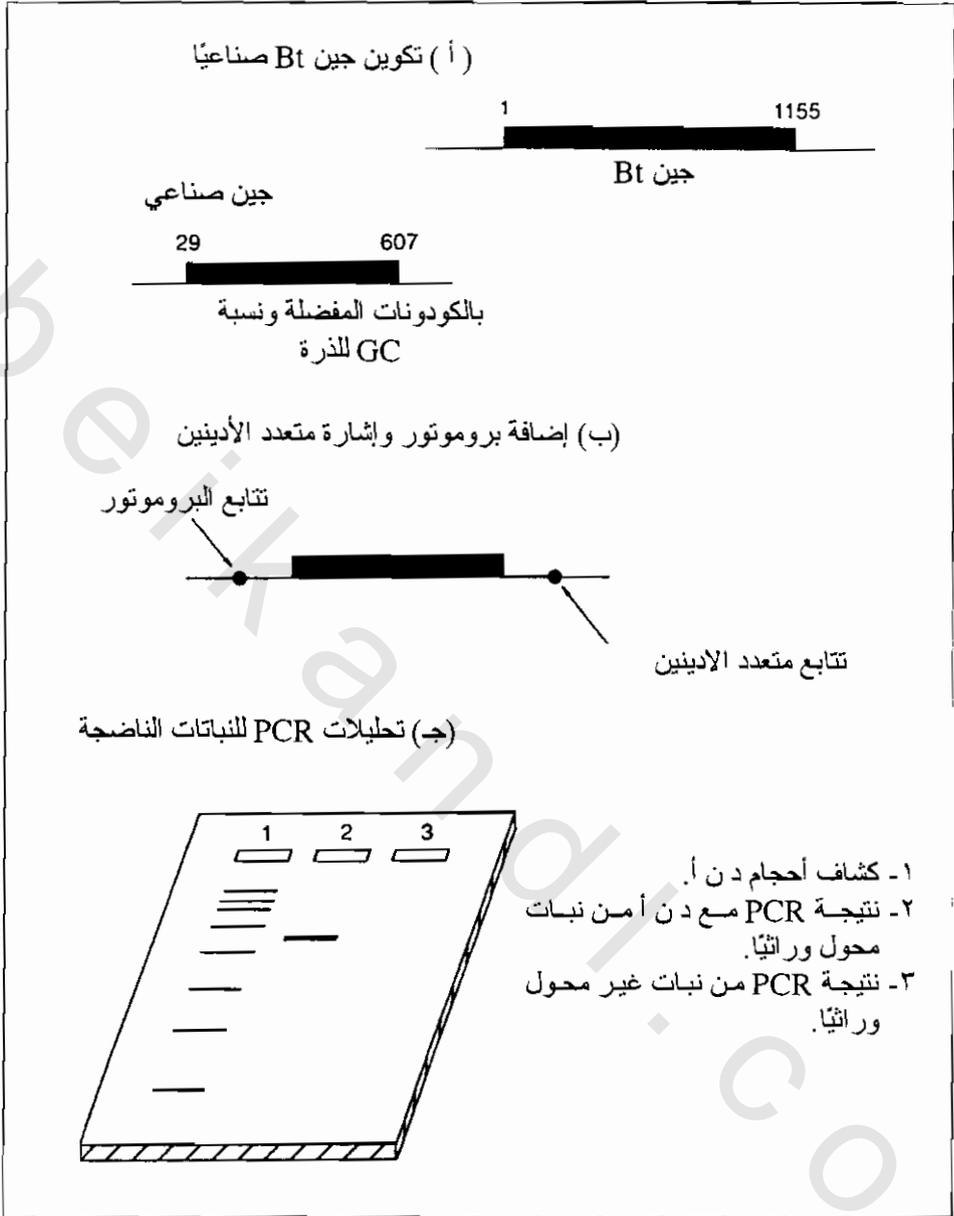
الجدول (١٤ - ٢) التخصص النوعي للبروتينات المنتجة من سلالات بكتيريا Bt في مقاومة لبعض أنواع الحشرات المختلفة:

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 الديدان Nematode
Cry VI	دودة الديدان 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 نظراً 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 ثباتاً كما إهتمت الدراسات بنقل الجين إلى النبات بحيث يقوم النبات نفسه ببناء هذا البروتين السام. إستخدمت تقنية تكنولوجيا الجين فى نبات الذرة الشامية لمقاومة حشرة ثاقبات الذرة الأوروبية European Corn Borer وقد إستخدمت السلالة Cry 1A(b) المنتجة للبروتين السام والتي تحتوى على ١١٥٥ حامض

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

وقد تم تعديل تركيب الجين ليكون أكثر فاعلية حيث تم بناء سلسلة من  
النيوكليوتيدات صناعيا تشمل الكودونات من ٢٩ إلى ٦٠٧ حيث تبين أنها كافية  
لإعطاء التعبير الكامل للسمية. كما روعى إستبدال الكودونات الموجودة فى  
الجين الأسمى بتلك المفضل إستخدامها فى نبات الذرة (Codon Bias) وتمت  
زيادة نسبة GC إلى ٦٥% بدلا من 38% وأختير المستبدئ Prmoter القوى  
CaMV لقيادة التعبير الجينى. ويتم إدخال الجين المكلون فى أجنة نبات الذرة  
بقاذفة الجينات Microprojectile. وتمت تنمية هذه 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 في الطريقة المستخدمة للحصول على نباتات ذرة شامية مهندسة وراثيًا يحدث فيها تعبير جين صناعي للبروتين السام δ-Bt)

وقد اتسعت دائرة استخدام 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

الصفات الجديدة	المصدر	الجين
المقاومة للحشرات	<i>B.thuringiensis</i>	إندوتوكسين δ
المقاومة للحشرات	نبات cowpea	مثبطات البروتينيز
مقاومة الفطريات	الأرز	كيتينيز
مقاومة الفطريات	البرسيم الحجازى	جلوكابنيز
مقاومة الفطريات	الشعير	البروتين المثبط للريبوسوم
مقاومة البكتيريا	<i>Pseudomonas Syringae</i>	أورنوئين كروميثيل ترانسفيريز
مقاومة الفيروس	فيروس إنثاق ورقه البطاطس	إنزيم بلمره رن أ و هيليكيز
مقاومة الفيروس	فيروسات متنوعة	رن أ التابع Satellite RNA
مقاومة الفيروس	فيروسات متنوعة	بروتين غطاء الفيروس
مقاومة الفيروس	الفأر	'5'-2 Oligoadenylate Synthetase
مقاومة الحشائش	نبات الدخان (التبغ)	Acetolactate Synthase
مقاومة الحشائش	أنواع بكتيريا ستربتومييسيس	Phosphinothericin Acetyl transferase
العقم الذكري فى النبات	Streptomysis	DNA adenine methylase
زيادة محتوى الكبريت	بكتيريا القولون	البروتين الغنى فى حامض الميثونين
تعديل نضج الثمار	أنواع مختلفة	Aminocyclopropane Carboxylic Acid Deaminase
زيادة الحلاوة	<i>Thaumatococcus danelli</i>	Taumatoin

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

### ثانياً: الطرح الجينى *Gene Subtraction*:

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

إستخدام م ر ن أ مضاد المعنى لتنظيم التعبير الجينى:

#### Antisense RNA and Regulation of Gene Expression:

تعتمد هذه الطريقة على بناء جزيئات من م ر ن أ متكاملة فى التتابع مع م ر ن أ المرسل mRNA الناتج من نسخ جين معين . ويطلق على هذا الأخير اسم م 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 م ر ن أ (مضاد

المعنى) Anti Sense نظراً لأن تتابع النيوكليوتيدات 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.

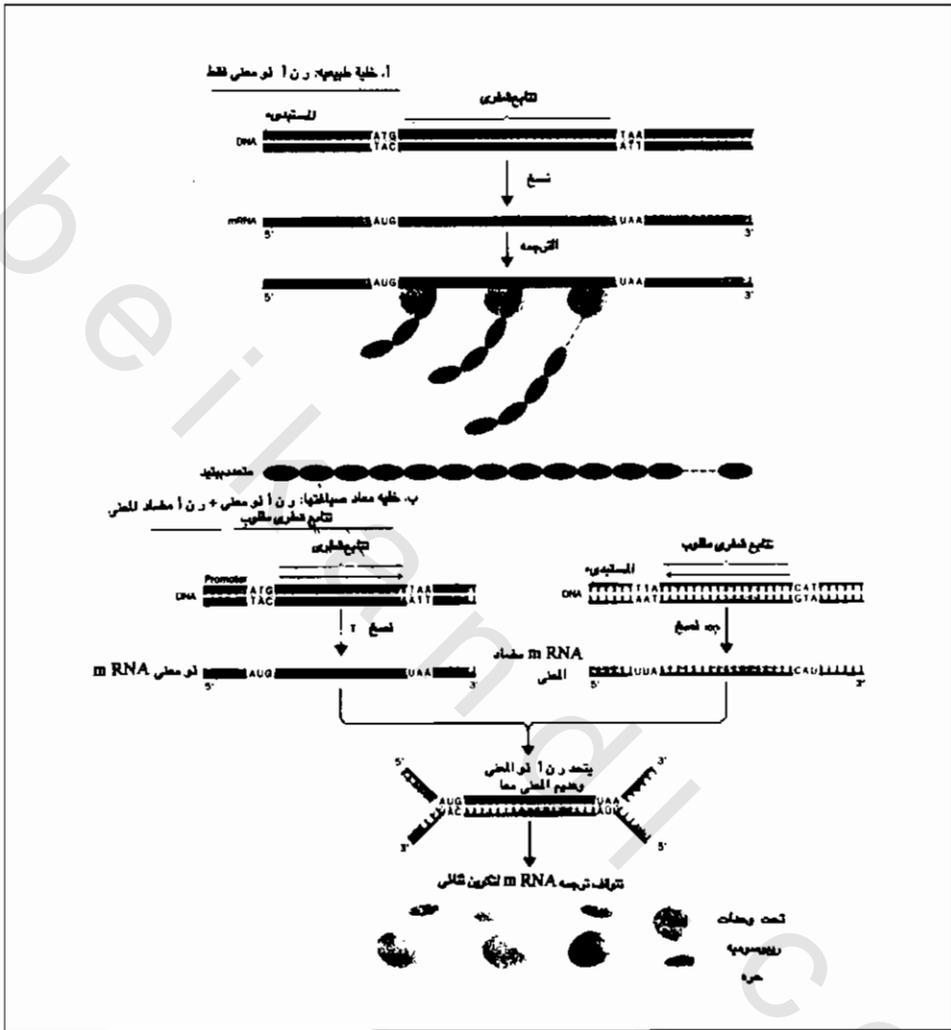
يؤدى وجود ر ن أ مضاد المعنى مع ر ن أ المراسل الطبيعى لنفس الجين فى سيتوسول الخلية إلى حدوث تجاذب نوعى بينهما بحيث ينتج جزئ مزدوج هجين من "م ر ن أ". وبديهي أنه لايمكن ترجمة مثل هذا الجزئ المزدوج مما يعنى عدم الحصول على الناتج النهائى لتعبير هذا الجين (البروتين) وبالتالي يكون بمقدورنا تحديد وظيفة هذا الجين.

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 ولكن فى إتجاه معكوس التتابع.
- ٤- إعادة إدخال هذا التتابع المعكوس المتحد بالبروموتور ؛ أى الجين المضاد المعنى ، إلى الخلية المضيفة بإحدى طرق التحول الوراثى.

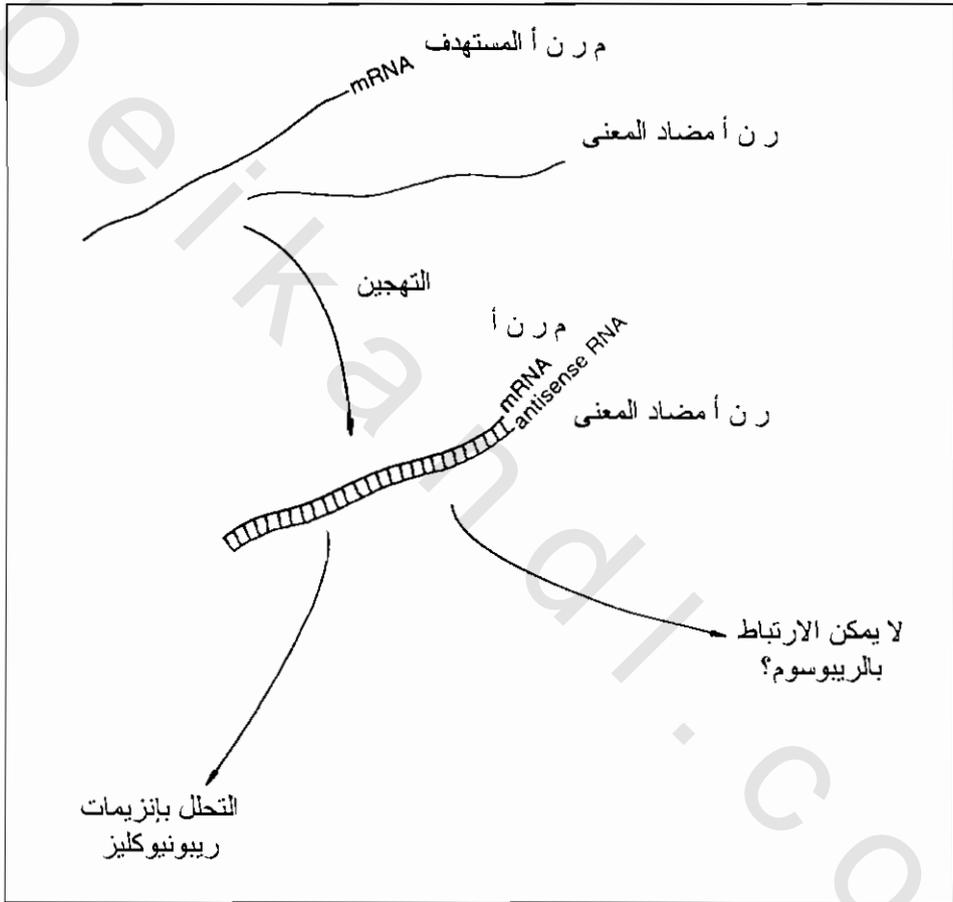
ويبين الشكل (١٤-١٦) خطوات هذه العملية ونتائجها وتكون المحصلة النهائية لهذه العملية هى أن الجين المعكوس التتابع سيتم نسخة إلى نسخ من ر ن أ مضاد المعنى و هذه بدورها عند اصطدامها بالنسخ الطبيعى ل ر ن أ

المراسل لنفس الجين (ذو المعنى) تتزاوج معها مكونة جزئ ر ن أ مزدوج لا يمكن ترجمته مما يؤدي إلى توقف إنتاج البروتين الذي يشفر له هذا الجين.



الشكل (١٤-١٦): رسم تخطيطي لإستخدام تقنية ر ن أ مضاد المعنى لإيقاف التعبير الجيني: (إلى أعلى): خلية طبيعية يتم بها إنتاج سلسلة متعدد الببتيد بعملية النسخ والترجمة. (إلى أسفل): خلية محتوية على جين مضاد المعنى مع الجين الطبيعي مما يؤدي إلى تكوين جزئ مزدوج من ر ن أ لا يمكن ترجمته وبذلك لا ينتج بروتين لهذا الجين

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



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

وقد تم استخدام ر ن أ مضاد المعنى فى إيقاف تعبير عدد كبير من الجينات فى كل من غير مميزة النواة ومميزة النواة. وبالإضافة إلى استخدامه فى إيقاف تعبير الجينات معروفة الوظيفة فإنه يمكن استخدامه أيضا فى التعرف على وظيفة الجينات المجهولة الوظيفة.

إذ يمكن استخدام ر ن أ مضاد المعنى فى إنتاج طفرات وظيفية بحيث يعطى الشكل المظهري الطافر للكائن الذى حدثت به هذه العملية معلومات هامة عن وظيفة الجين فى الخلية المتأثرة. ولكى نضمن الحصول على إيقاف تام للتعبير الجيني فإنه إما أن يستخدم بروموتور قوى جدا لدفع عملية نسخ المتتابع الشفري المعكوس أو أن يتم إدخال عدد كبير من نسخ ر ن أ مضاد المعنى إلى الخلية المضيفة. وقد تم مؤخرا تطوير هذه التقنية بحيث أقتصر طول شظية asRNA على عدد محدود من المتتابع النيوكليدي المكمل لمنطقة محفوظة فى ر ن أ الطبيعي لا تزيد عن ٢٥-٣٠ نيوكليدية إلا أنها تؤدي إلى نفس النتيجة.

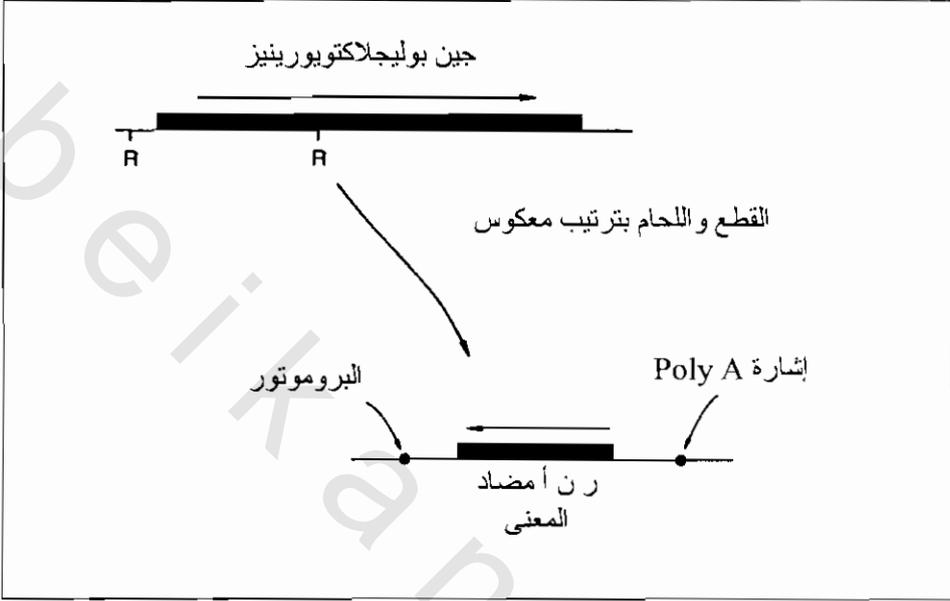
إستخدام asRNA لإنتاج ثمار طماطم طويلة العمر:

#### asRNA and The Engineering of Fruit Ripening in Tomato:

من المعروف أن ثمار الطماطم بعد النضج تكون قصيرة العمر وقابلة للتلف والعطب بعد ايام قليلة من قطفها وقد تبين أن أحد أسباب ذلك يرجع إلى نشاط إنزيم Polygalacturonase الذى يقوم بتحليل حامض Polygalactouronic من جدر خلايا الثمرة مما يؤدي إلى خفض صلابتها بالتدرج وينتهى الأمر بتلف أو عطب ثمار الطماطم وعدم صلاحيتها للاستخدام الأدمى.

ومن هنا نشأت فكرة وقف تعبير الجين المسؤول عن هذا الإنزيم بتقنية asRNA مما يؤدي إلى إطالة عمر الثمار قبل فسادها.

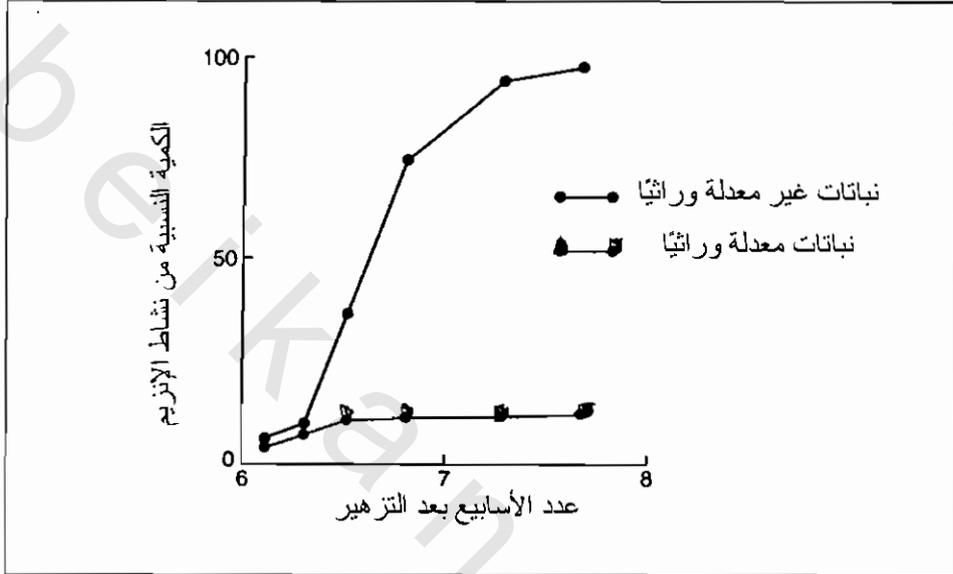
ويبين الشكل (١٤-١٨) تكوين جين Antisense Polygalactourinase حيث تم الحصول على شظية قطع محددة بطول ٧٣٠ قاعدة من النهاية 5' للجين الطبيعي للجلاكتيورينيز والذي يمثل حوالى نصف التتابع الشفرى الكامل.



الشكل (١٤-١٨): تكوين رن أمضاد المعنى للجين المشفر لإنزيم بوليغلاكتيورينيز Polygalactourinase فى الطماطم (R = موقع قطع محدد)

وتم عكس إتجاه هذه الشظية ووضعها مع برموتور CaMV عند بداية تتابع الشظية كما تم إضافة ذيل Poly A فى النهاية 3' لهذه الشظية و تمت عملية التحول الوراثى بواسطة ناقل الكلونة pBIN19T١. وقد تم بالفعل بطرق الوراثة الجزيئية التحقق من دخول الجين وإنتاج نسخ asRNA. تم تقدير مستوى إنزيم Polygalactourinase فى ثمار النبات المحولة ومقارنته بتلك الموجودة فى ثمار النباتات غير المحولة (الطبيعية) حيث تبين أن مستوى بناء الإنزيم كان منخفضا

جدا في النباتات المحولة وراثيا (الشكل ١٤-١٩) والأهم من ذلك أن ثمار الطماطم المحولة وراثيا يمكن تخزينها لمدد طويلة قبل فسادها مما يدل على أن asRNA لم يوقف تماما تعبير جين Polyglacturinase إلا أنه أحدث خفض مؤثر في التعبير الجيني مما أدى إلى تأخير فساد الثمار لفترة أطول.



الشكل (١٩-١٤): إختلاف نشاط إنزيم بوليغلاكتيوريناز بين ثمار الطماطم العادية وتلك التي يتم فيها تعبير م ر ن أمضاد المعنى لنفس الجين

وكان أول صنف تجارى يتم تسويقه تجاريا بهذه 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 في النبات

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

**الأمان الحيوى والكائنات المعدلة وراثيا Biosafety and GMO:**

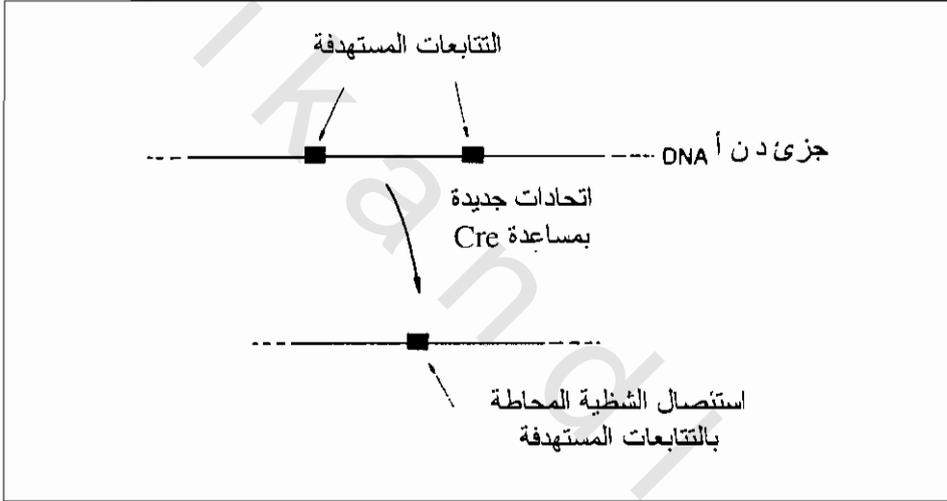
لاشك أن الكائنات المعدلة وراثيا سواء كانت نبات أو حيوان أو كائنات دقيقة قد ساهمت بشكل كبير فى تقديم كثير من الحلول غيرالتقليدية لمشاكل كثيرة سواء بالنسبة للامن الغذائى أو إنتاج مستحضرات دوائية أكثر فاعلية أو الحصول على لقاحات رخيصة وآمنة لعدد من الأمراض المعدية أو فى مقاومة الأفات الزراعية وغيرها. إلا 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<sup>R</sup> كجين كشف Marker Gene لمتابعة نجاح عملية التحول الوراثى Transformation وهذا المضاد الحيوى ذو مصدر بكتيرى ويشفر لإنزيم نيومايسين فوسفوترانسفيرير Neomycin Phosphotransferase ويوجد هذا الجين والإنزيم الناتج فى جميع خلايا النبات المعدل وراثيا. وقد برزت المخاوف من أن هذا الإنزيم قد يكون ضارا للإنسان 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 هذه 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 يؤدي إلى الإخلال بالنظام البيئى Ecosystem؟

وحتى الآن مازال النقاش محتدما بين مؤيد ومعارض ، إلا أنه لو أخذنا فى الإعتبار أن عمليات الهضم ستؤدي إلى تحطيم و هدم كامل لجميع جينات Kan<sup>R</sup> 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<sup>R</sup> شائعة بالفعل فى النظم البيئية الطبيعية إلا أن إمكان حدوث بعض الإختلالات المستقبلية غير المنظورة لايمكن إنكارها. وقد أدت هذه المخاوف من إستخدام Kan<sup>R</sup> وغيره من المضادات الحيوية إلى استتباط طرق للتخلص من هذه الجينات من أ نبات بعد التحقق من نجاح عملية التحول الوراثى.

ويستخدم فى إحدى التقنيات إنزيم مصدره بكتريوفاج p1 ويسمى Cre والذي يؤدي نشاطه إلى إستئصال شظية د ن أ المحاطه من طرفيها بتتابع تابع التعرف Recognition Sequence مكون من 34 قاعدة (الشكل ١٤-٢٠) وفى هذه الحالة يتم إدخال نوعين من ناقلات التعبير إلى خلايا النبات بحيث يكون الأول محتويا على الجين المرغوب و معه الجين الكشاف Kan<sup>R</sup> محاطا بتتابع التعرف Cre بينما يحتوى الناقل Vector الثانى على جين Cre. وبعد التحول الوراثى، سيؤدى تعبير جين Cre إلى إستئصال جين Kan<sup>R</sup> 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 استخدام 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 يؤدي 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 يؤدي تكاثره إلى إنتاج نسل هجينى يحتوى على جنيوم الفيروس المعدى معبأ فى الغطاء البروتينى الذى يبنيه النبات. وقد يكون النسل الهجينى محتويا على صفات خطيرة 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.

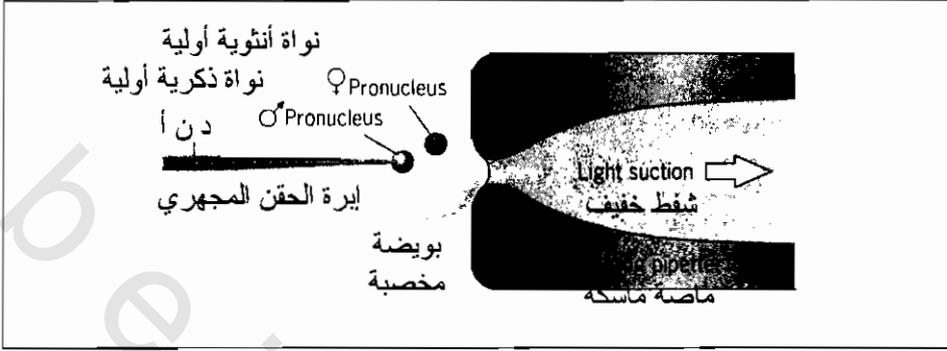
كما أن هناك مخاوف حول ما إذا كان الجين المكلون فى النبات المحول يمكنه الهروب "Escape" والانتقال إلى نباتات برية وإذا حدث ذلك فما هى حجم المخاطر المحتملة على النظام البيئى من جراء ذلك.

وهناك الكثير من البحوث التى تجرى حاليا لإعطاء إجابات كافية لمتل هذه الأسئلة وغيرها سواء بالنسبة لحماية البيئه تحت إشراف وكالة حماية البيئه Environmental Protection Agency (EPA) أو بالنسبة للأغذية المعدلة وراثيا تحت إشراف هيئة الغذاء و الدواء (FDA) Food and Drug Administration.

### 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 الجيني في الثدييات و لإختبار مختلف ناقلات الكلونة و التعبير والطرق المحتملة لإستخدامها فى الإنسان.



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

وقد تمت دراسة المئات من الجينات البشرية والتي 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 (الشكل ١٤-٢٢) وقد شجعت هذه النتائج مربي الحيوان على محاولة إدخال هرمون النمو إلى حيوانات المزرعة بغرض زيادة إنتاج اللحم فيها.



الشكل (١٤-٢٢): أر محول وراثيا (إلى اليسار) يحمل الجين الكيميري لهرمون النمو البشري 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 يؤدي إلى تحسين صفات اللحم وزيادة معدل النمو. كما تمت نفس المحاولات في الأسماك والدواجن لنفس الغرض. وقد أظهرت نتائج الخنازير المعدلة وراثيا أنه لم تطرأ زيادة في معدل النمو عند التغذية على العليقة القياسية، إلا أنها ارتفعت عند التغذية على عليقة غنية في البروتين. إلا أن الخنازير الناتجة تميزت بتحسين صفات اللحم، نظرا لأن هرمون النمو يفضل بناء البروتينات بدلا من الدهون. ومن جهة أخرى ظهرت آثار جانبية غير مرغوبة في 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 في الحيوانات المزرعية إلا أنه لم يثبت حتى الآن أن مثل هذه الطريقة قد تكون غير فعالة في زيادة إنتاج اللحم. وتجرى حاليا اختبارات على حيوانات معدلة وراثيا لمقاومة الأمراض الفيروسية ومن هذه الأمراض مرض الدواجن Avian Leukosis Virus (ALV) والذي يسبب خسائر كبيرة في مزارع الدواجن.

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

### **تكنولوجيا الجين والأخلاقيات Gene Technology and Ethics:**

أدى التقدم الهائل الذي نتج عن استخدام تكنولوجيا الجين سواء في مجال المسح الوراثي والإستشارة الوراثية أو الإختبارات الخاصة بالكشف عن العيوب الوراثية وكذلك إمكان استخدام تكنولوجيا الجين في 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 متحبة Genetic Carriers. كما يمكن للأختبارات الوراثية التنبؤ بإحتمال ظهور

مرض وراثي Risk of Disease وبالتالي تحديد الأفراد التي تبدو طبيعية حالياً ولكن الإحتمال عالى فى أن يصاب بمرض وراثي فى المستقبل. ونظراً للتقدم التكنولوجي المستمر خاصة فى مجال تقنية DNA Microarray فإنه يمكن إختبار ٥٠-١٠٠ مرض فى وقت واحد والتي تشمل أمراضا كثيرة التي قد لا تعرف إلا بعد مرور سنوات كثيرة. وسوف يؤثر هذا التقدم بدرجة كبيرة على صحتنا وطرز التكاثر والرعاية الطبية. ومن جهة أخرى فإن استخدام هذه 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 وراثي؟ 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 الوراثة ضد الأفراد التي 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 تؤدي إلى مقاومة الملاريا فى هؤلاء الأفراد وقد يكون ذلك صحيحا فى بعض الأمراض الوراثية الأخرى.

فكيف نحمل مثل هذه المزاي للطفرات فى الوقت الذى نحاول فيه التخلص من الجوانب المدمرة لها؟

لذلك يجب أن تتم مدونات 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 مهمة بهذا الشأن وتسمى لجنة (ELSI) Ethical, Legal and Social Implications مهمتها تحديد القضايا المتعلقة بالإختبارات الوراثية.

وتختص هذه 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 أخرى مكونة من العلماء والمتخصصين فى مجال الرعاية الصحية والقانونيين والمهتمين بأخلاقيات المهنة والمستهلكين لمناقشة هذه القضايا وتكوين رأى عام حولها.

### القضايا الأخلاقية و العلاج بالجينات:

#### Ethical 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 اسم علاج الخلايا الجسدية بالجينات Somatic Gene Therapy. وفي 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 نظراً لأنها تتطوى على قضايا أخلاقية هامة.

ويسمى النوع الأول علاج الخلايا الجرثومية (التناسلية) Germ-Line Therapy حيث تكون الخلايا التناسلية (الحيوانات المنوية أو البويضة) هدفاً للنقل الجيني وفي هذه الحالة فإن د ن أ المصحح للخطأ الوراثي سيصل إلى جميع خلايا الفرد (النسل) الناتج من الجاميطات المعدلة وراثياً بما في ذلك الخلايا الجرثومية. ومعنى ذلك أن أفراد آخرين في الأجيال القادمة يمكن أن تتأثر بهذا العلاج بدون سابق موافقتهم فهل يعد هذا عملاً أخلاقياً؟ هل نملك الحق لإتخاذ هذا القرار للأجيال المقبلة؟ و لذلك فقد تم تحريم مثل هذه البحوث.

ويطلق على النوع الثاني العلاج الجيني التحفيزي (التحسيني) Enhancement Gene Therapy وهو ينطوي على مشاكل وقضايا أخلاقية أخطر من سابقه. وفي هذا النوع يمكن رفع إمكانات الفرد بالنسبة لصفات معينة مرغوبة ويعارض هذا الإتجاه قطاعات كبيرة من المجتمع. فمثلاً 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 أي

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

### التأثير السلبي لتكنولوجيا الجين على الدول النامية:

إن التأثير المحتمل 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 في الدول النامية والتي ليس لها قيمة تسويقية تذكر في الدول المتقدمة. ويعتبر محصول نبات الكسافا أحد هذه الأمثلة حيث يعتبر ثالث أهم محصول يزرع في المناطق الإستوائية ، ويعد الغذاء الرئيسي لأكثر من ٥٠٠ مليون نسمة وخاصة في المناطق الريفية الفقيرة في إفريقيا الإستوائية ، إلا أنه يعد من المحاصيل "اليتيمة" نظرا لأن نصيب المشاريع البحثية التي تجرى عليه من التمويل الدولي ضئيلة جدا.

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

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

٣- مشكلة حقوق الملكية الفكرية Intellectual Property Rights وتمثل خطورة كبيرة على الدول النامية خاصة وأن الشركات العملاقة المنتجة للتقاوى المعدلة وراثيا تقوم بتسجيل كثير من هذه المحاصيل مما يؤدي إلى ما يشبه الإحتكار فى تسويق هذه المحاصيل لحساب هذه الشركات ، مما يؤثر سلبيا على المزارع فى الدول النامية نتيجة إرتفاع أسعار مثل هذه التقاوى بحيث تزيد تكلفة المنتجات الزراعية.