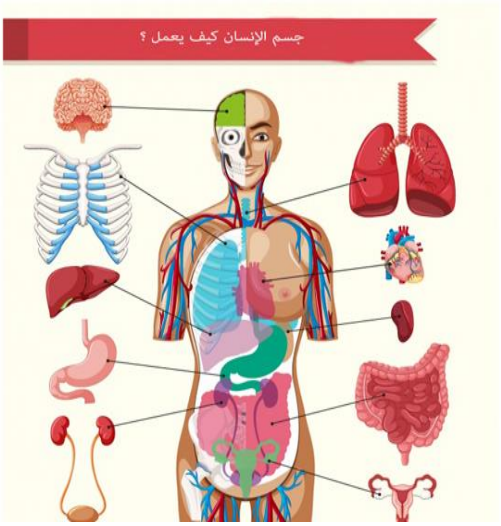
تكنولوجيـــا الحمض النووي

الفصل الدراسي الأول **الأحيـــــاء**

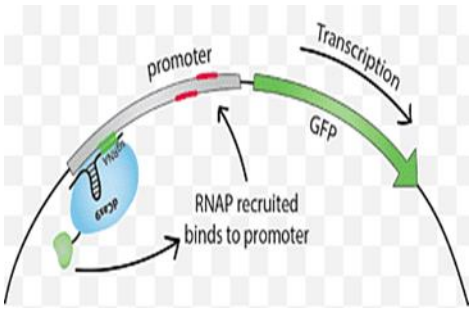
للعام الدراسي 2020 /2021



الصف الثاني عشر عام

المعلم / سامي أبو الغيط

هندسة الجينات



هي تكنولوجيا تنطوي على التحكم بالحمض النووي لكائن حي من خلال إضافة حمض نووي DNA لكائن آخر

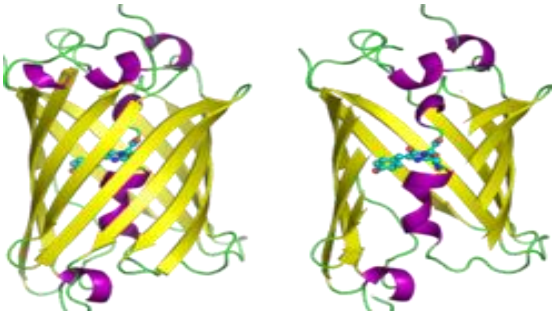
1- اكتشف العلماء تركيب DNA وحددوا المبدأ المركزي

2- نص المبدأ المركزي

المعلومات الوراثية تتدفق من الحمض النووي DNA إلى الحمض النووي الرايبوزي RNA ثم إلى البروتين

3 – البروتين الفلوري الأخضر green fluorescent protein (GFB)

هو نوعٌ من البروتينات الذي يُرسِلُ ضوءاً مخُضرًّا عندما نضيء عليه بالضوء الأزرق وفوق البنفسجي.



أ – أدخل العلماء جين خاص لبروتين الإضاءة الحيوية (البروتين الفلوري الأخضر) GFP في كائنات حية

ب -يبعث البروتين الفلوري ضوء أخضر عنند تعرضه للضوء البنفسجي

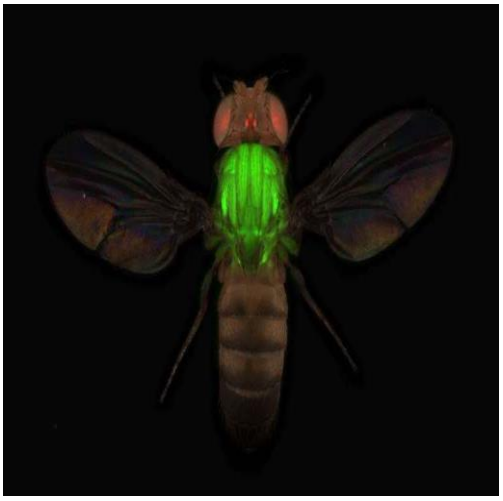
البروتين موجود في السمك الهلامي

الكائنات الحية التي تخضع للتعديل في DNA بهدف تصنيع البروتين الفلوري الأخضر GFP

أ – مثل يرقات البعوض

يتم التعرف عليها بسهولة بواسطة الأشعة فوق البنفسجية

- يتم لصق DNA البروتينات لفلورية الخضراء مع DNA الدخيل للتحقق من إدخاله في الكائن الحي المراد تعديله وراثياً



ب – تستخدم الكائنات الحية المعدلة وراثياً في

1 – دراسة تعبير جين معين

2 – دراسة العمليات الخلوية

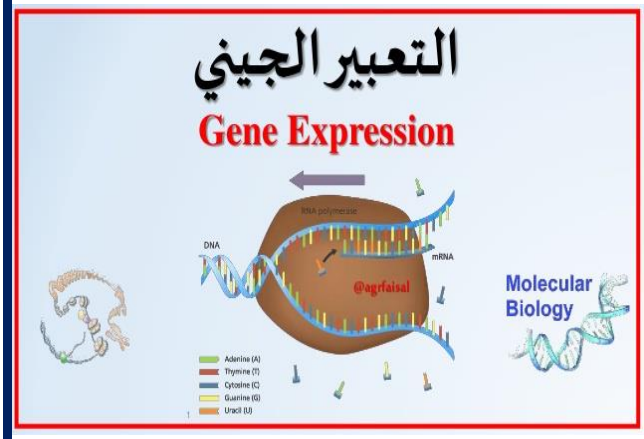
3 – دراسة تطور مرض معين

4 – انتقاء صفات وراثية مفيدة للبشر

أدوات الحمض النووي DNA

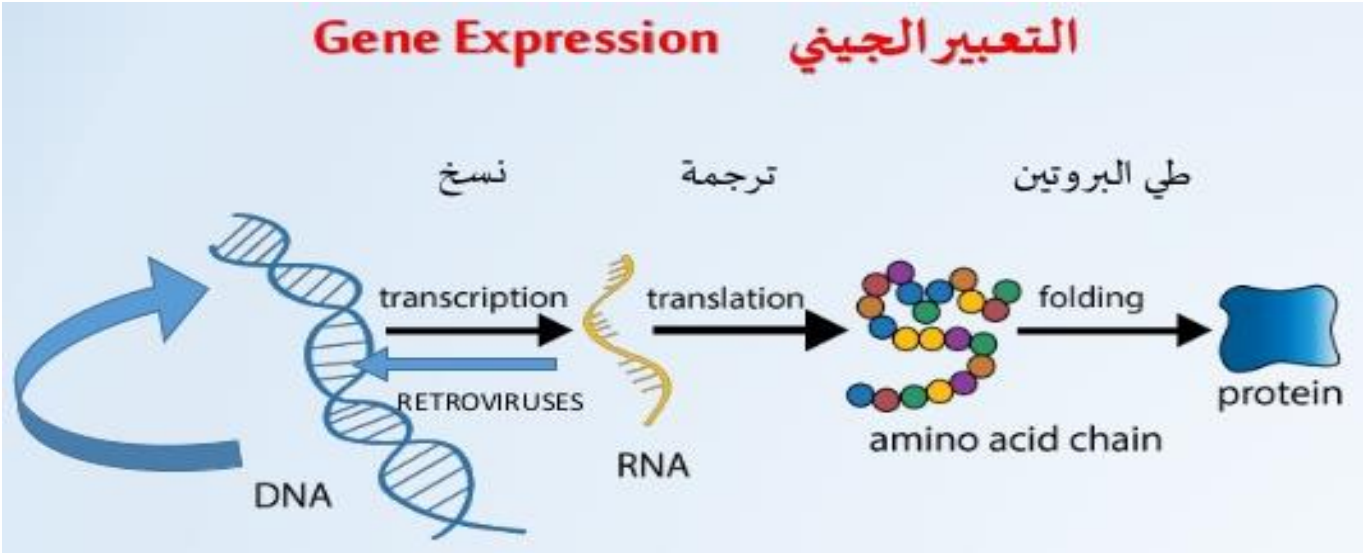
استخدامات هندسة الجينات

1 – زيادة أو تقليل تعبير جينات معينة في كائنات حية منتقاه



(**التعبير الجيني** :- هو العملية التي يتم من خلالها استخدام المعلومات الجينية لاصطناع منتجات جينية – قد تكون **بروتينات** – قد تكون أحد الأنواع العديدية من الأحماض النووية الريبوزية، **RNA**

2- تستخدم في مجال صحة الإنسان والزراعة



الجينوم :. هو مجموع الحمض النووي الموجود في نواة كل خلية

أ – يحتوي على ملايين من النيوكليوتيدات

ب – لدراسة جين معين يمكن استخدام أدوات DNA

ج – أدوات DNA المستخدمة في هندسة الجينات

1 – إنزيمات القطع　　2 – الرحلان الهلامي الكهربائي

3 – DNA معاد التركيب　　4 – ترتيب تسلسل DNA

5 – استنساخ الجينات　　6 – تفاعل البلمرة المتسلسل

أولاً :. إنزيمات القطع

هي بروتينات تتعرف على تسلسلات حمض نووي معينة ل DNA وتقطعه داخل التسلسل

اكتشفت الإنزيمات في البكتيريا وعددها كبير

- **تستخدم كأداة قوية لفصل الجينات أو قطع DNA لأحجام مختلفة من الجينوم**

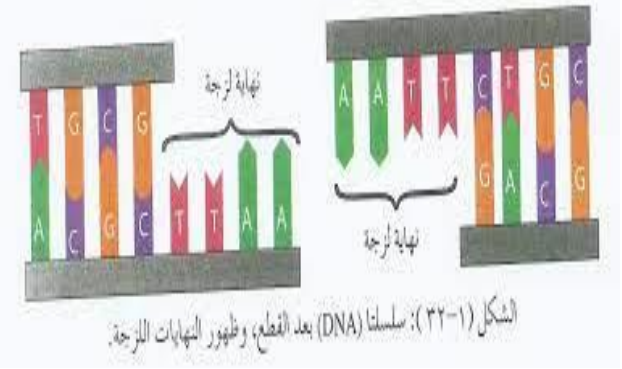
الإنزيم القاطع	المصدر	المقطع الذي يميزه القطع
BamH1	*Bacillus amyloliquefaciens H*	GGATCC
EcoR1	*Escherichia coli* RY13	GAATTC
Hae111	*Haemophilus aegyptius*	GGCC
Hind111	*Haemophilus influenzae* Rd	AAGCTT
Hpa1	*Haemophilus parainfluenzae*	GTTAAC
Hpa11	*Haemophilus parainfluenzae*	CCGG
Mbo1	*Moraxella bovis*	GATC
Not1	*Nocardia otitidis-caviarum*	GCGGCCGC
Sfi1	*Streptomyces fimbriatus*	GGCCNNNNNGGCC

أولاً :. EcoR1 إنزيم قطع اللولب المزدوج

1- يستخدم على نطاق واسع

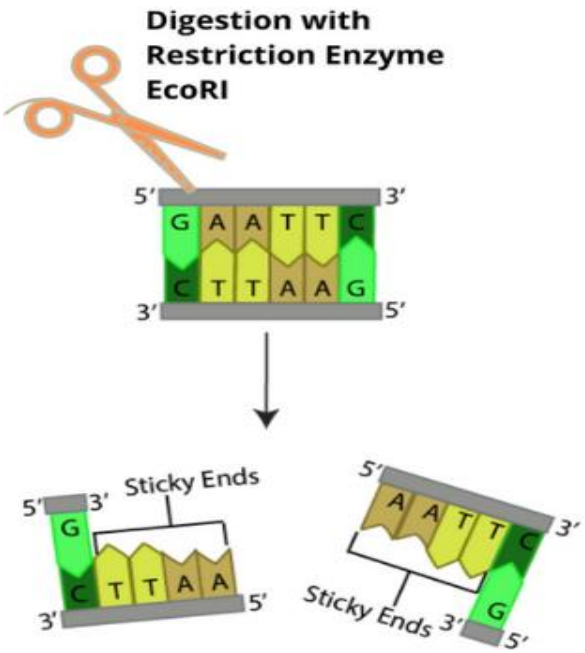
2- يقطع الإنزيم التتابع GAATTC بالتحديد

3- يحدد منطقة التعرف من خلال التتابعات AATT و على الطرف الأخر تكون TTAA



الشكل (١-٣٢): سلسلتا (DNA) بعد القطع وظهور النهايات اللزجة.

4- يقوم الإنزيم بتحديد مكان القطع بقص الشريط الأول من بين تتابع AATT و G ويفصل الروابط حتى يصل في الطرف الأخر من منطقة التعرف



5- الجزء الذي يقطعه إنزيم EcoR1

6- يسمى النهايات اللزجة

لأنها تحتوي على حمض نووي أحادي الشريط المُكمل

4 - تساعد النهايات اللزجة على دمج حمض نووي آخر له نهايات لزجه

5 – تسمى نهايات أجزاء الحمض النووي المقطعة لزجة نظراً لإحتوائها على الحمض النووي المقطع

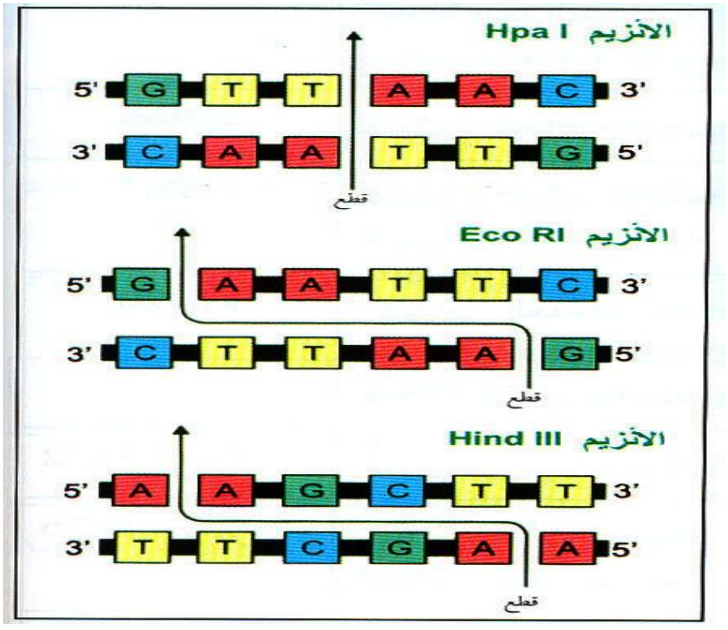
6 - أنواع النهايات في الحمض النووي

أ – لزجة صعبة في عملية الربط لابد من توافق القواعد النيتروجينية

ب – غير لزجة (مصمته) سهلة في عملية الربط

إنزيمات قطع لاتكون نهايات لزجة

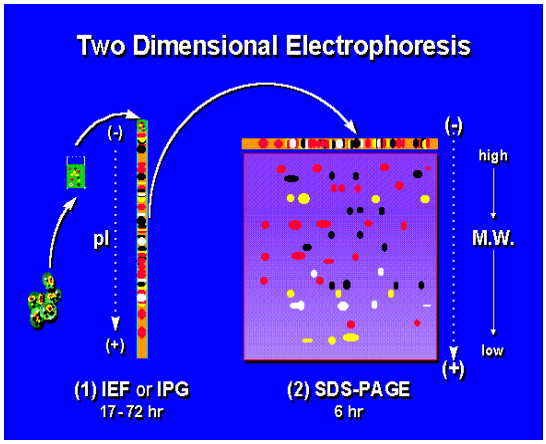
أ – مثل إنزيم Hpa 1 في الصورة يقطع الحمض النووي بشكل مصمت بدون نهايات لزجة



- لا يوجد شريط DNA أحادي
- يمكن أن يلتحم مع حمض نووي آخر ذو نهايات مصمته
-

الفصل الكهربائي الهلامي (الرحلان)

1- بعد استخدام إنزيمات القطع مثل Eco R1 وتقطيع DNA إلى أجزاء



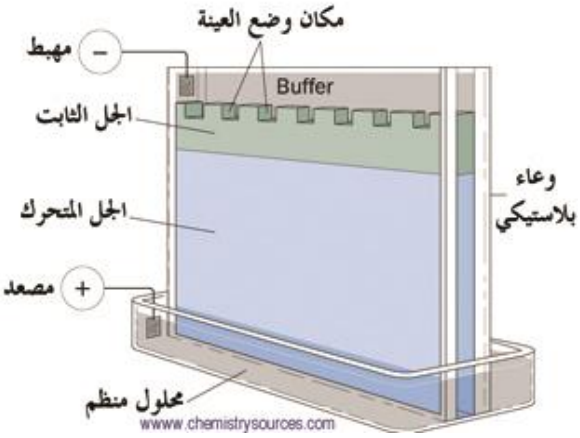
2- نبدأ في وضع قطع DNA في مادة هلامية ونمرر عليها تياراً كهربائياً

3- تبدأ الأجزاء المقطعة من الحمض DNA في الحركة في الهلام منتشرة حسب الحجم والكتلة من القطب السالب إلى القطب الموجب

(لأنها سالبة الشحنة تتنافر مع القطب السالب وتنجذب إلى القطب الموجب)

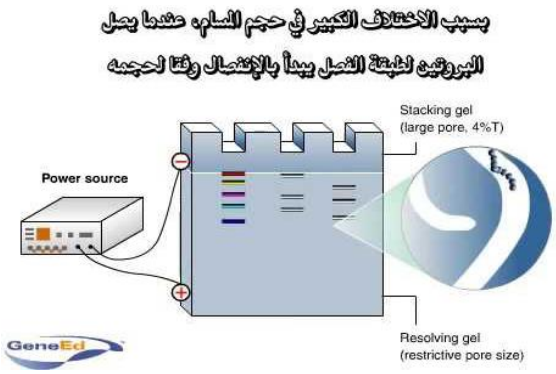
4- تترتب حسب الأحجام من الأقل حجماً إلى الأكبر حجماً

5- عند تشغيل التيار الكهربي تتحرك الأجزاء الصغيرة بسرعة أكبر من الأجزاء الكبيرة وينتج عن ذلك ترتيب ونمط



6- مقارنة هذا النمط الذي نشأ عن الفصل حسب الحجم بالنمط المعرف سابقاً

7 - يمكن إزالة أجزاء المادة الهلامية التي بها شريط DNA لإجراء المزيد من الدراسة



7- نمط الأجزاء :. يلتصق محلول تلوين بأجزاء الحمض النووي في الهلام مما يجعلها مرئية تحت الضوء البنفسجي

تكنولوجيا DNA مُعاد التركيب

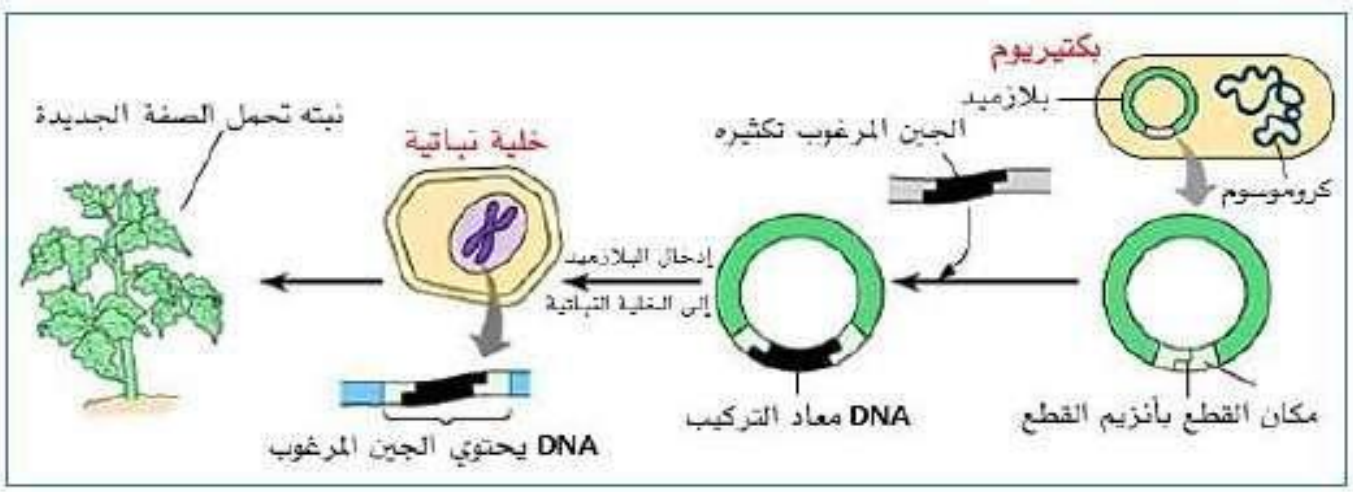
1 – بعد فصل أجزاء من DNA بجهاز الفصل الكهربي

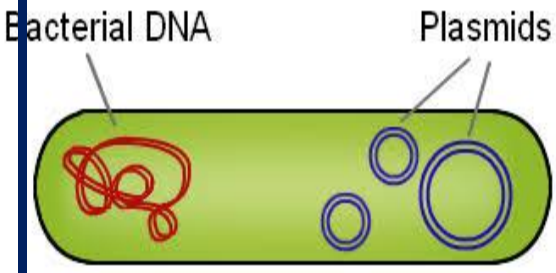
2 – يمكن دمج تلك الأجزاء مع حمض نووي جديد

الحمض النووي معـــــاد التركيب

هو دمج أجزاء من حمض نووي مع حمض نووي آخر

أو جـــــزء DNA المنشأ من دمج أجزاء من مع DNA من مصدر آخر





3 – يساعد في تطوير دراسة الحمض النووي
ودراسة جينات فردية

4 – المتجـــــة :.

ناقل يعمل على نقل الحمض النووي
معاد التركيب إلى خلية بكتيرية (الخلية المضيفة)

5 – أشهر المتجهـــــات أ – البلازميدات ب – الفيروسات

أ – البلازميدات :. هي جزئيات دائرية صغيرة من الحمض النووي ثنائي
الشرائط تتواجد طبيعياً في البكتيريا والخميرة

الأدوات المستخدمة لبناء جزئ DNA معاد التركيب

1- المتجه الناقل :.

2- الخلية المضيفة :.

هي خلية بكتيرية ينقل إليها DNA

معاد الاتحاد بواسطة المتجة الناقل

3 – إنزيم قطع مناسب لأجزاء DNA المراد الحصول عليها

4 – إنزيم ليغاز الحمض النووي Ligas

إنزيم يستخدم في ربط قطعة DNA مع المتجة الناقل

ويستخدم في إصلاح DNA ومضاعفتة

خـــطوات بناء DNA معاد التركيب (بلازميد معاد التركيب)

أ – تم عزل جزء من DNA من الإنسان ونفترض أنه يحتوي على جين الأنسولين

ب – تم عزل البلازميد من البكتيريا

ج – تم العمل على DNA للإنسان وبلازميد

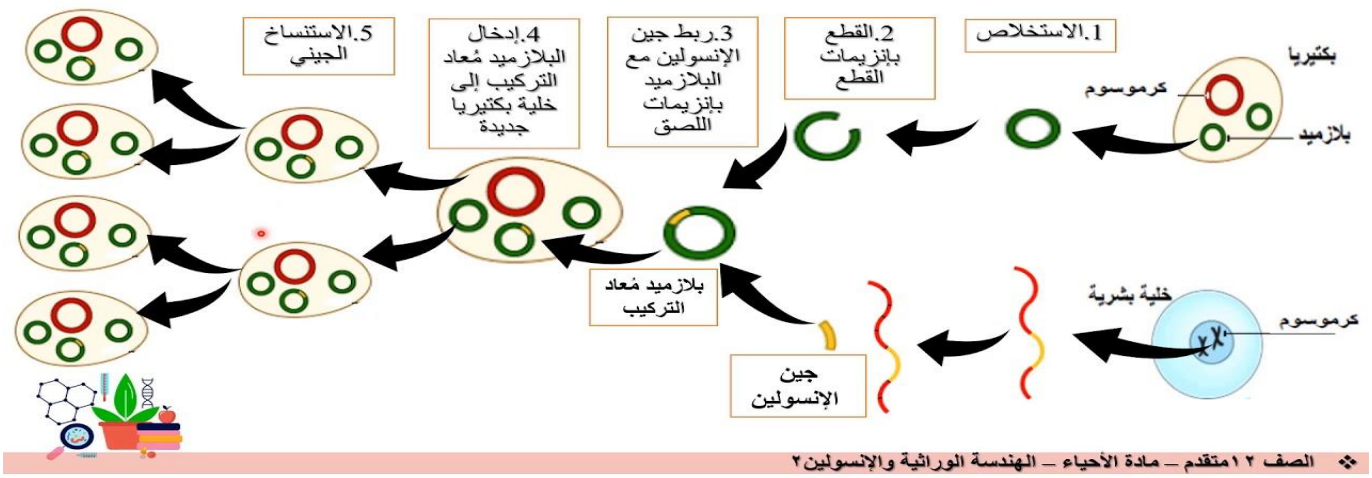
البكتيريا بنفس إنزيم القطع لتكوين أطراف لزجة (بفعل إنزيم القص)

والبلازميدله أطراف لزجة بنفس فعل إنزيم القص السابق

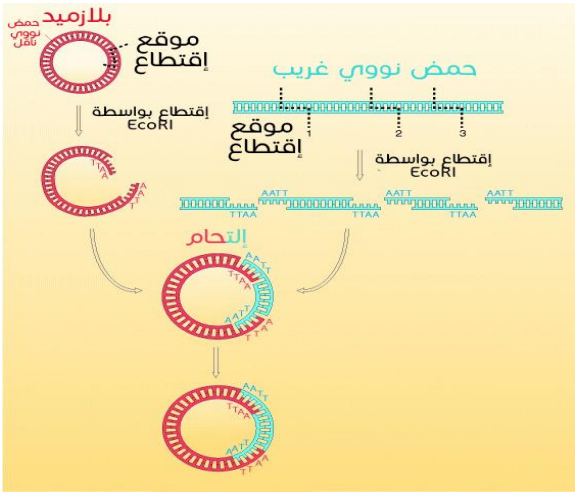
د – ثم تخفض درجة الحرارة ويستخدم إنزيم ربط مناسب من أجل دمج

الجين المرغوب مع البلازميد

❖ ثالثاً: خطوات إنتاج هورمون الإنسولين بالهندسة الوراثية



استنساخ الجينات



1- تم تجهيز بلازميد معاد التركيب

2- يتم ادخال بلازميد معاد التركيب إلى خلية مضيفة

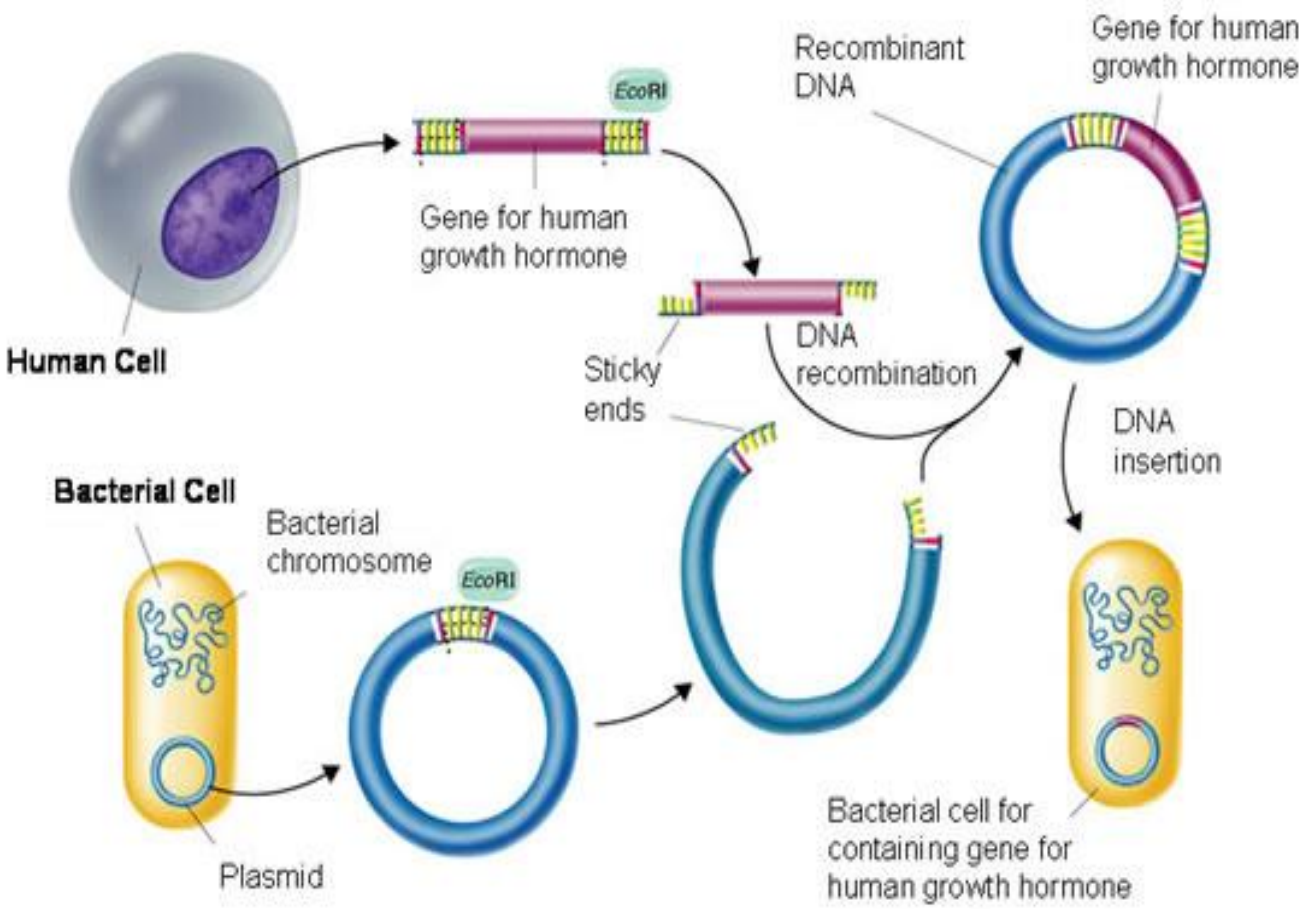
(عملية التحويل) تتكاثر الخلية المضيفة لانتاج كميات كبيرة منه أثناء استنساخها

3 – من أجل إدخال البلازميد للخلية المضيفة ينبغي التحكم

أ – نفاذية الغشاء الخلوي للخلية البكتيرية يتم ذلك عن طريق

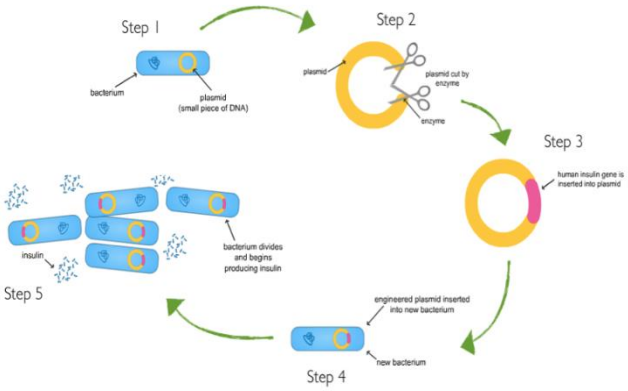
- استخدام نبضات كهربائية قصيرة
- درجة حرارة مرتفعة قليلاً

4 - تفقد الخلية البكتيرية نفاذيتها ليسمح الغشاء بدخول البلازميد معاد التركيب إلى الخلية البكتيرية



5 – تصنع البكتيريا المزيد من البلازميد معاد التركيب

6 – يتم إنتاج المزيد من البكتيريا التي تحتوي على بلازميد معاد التركيب



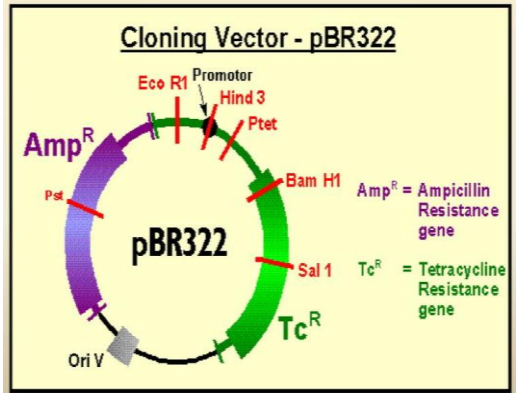
7 – يحتوي البلازميد على جين مقاوم للمضاد الحيوي مثل الأمبيسيلين (AMP) ويستخدم للتفرقة بين الخلايا التي امتصت البلازميد والتي لم تمتصة

أ – الخلايا التي عاشت هي التي بها بلازميد

ب – الخلايا التي ماتت لم تمتص البلازميد

علل :. يحتوي البلازميد على جين مقاوم للأمبسيلين للتمييز بين الخلايا التي امتصت البلازميد والتي لم تمتصه

مثال على أحد النواقل (بلازميد)



ترتيب وتسلسل DNA

أهمية معرفة تسلسل DNA للكائنات الحية ؟

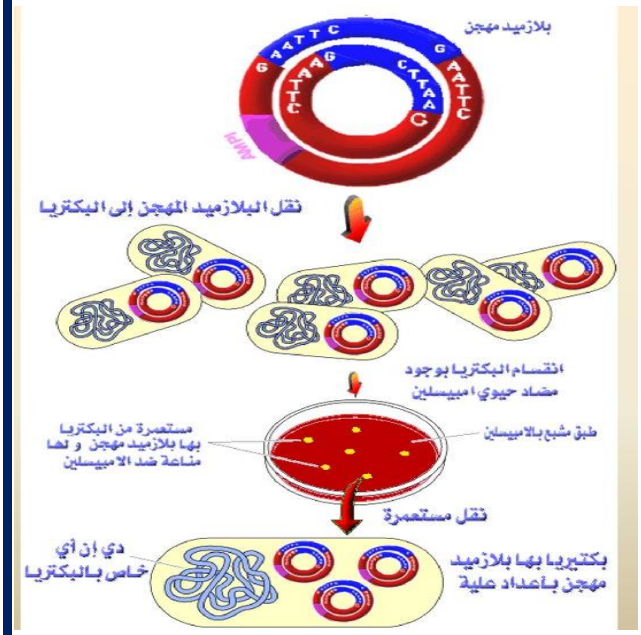
أ- يزود العلماء بمعلومات هامة للمزيد من الدراسات

ب- توقع وظيفة الجين

ت- مقارنة الجينات بتسلسلات مماثلة لكائنات حية أخرى

ث- تحديدالطفرات

ج- تحديد الأخطاء في تسلسل DNA

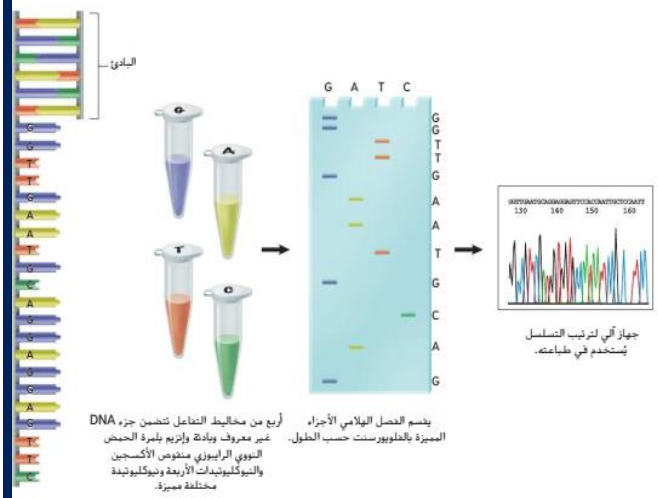


خطوات دراسة ترتيب تسلسل DNA

1 – قطع جزئيات DNA إلى أجزاء أصغر بإستخدام إنزيم قطع
لأن الجينيوم به 3.3 مليار زوج من النيوكليوتيدات (20 ألف جين)

2 - يخلط العلماء DNA غيرمعروف مع إنزيم بلمرة DNA (يكمل النيوكليوتيدات الأصلية) والنيوكليوتيدات الأربعة

3 – يتم تلوين كل نيوكليوتيد بلون مختلف من صبغة الفلورسنت
النيوكليوتيدات معدلة (تُستبدل H ب OH) فأصبحت معطوبة

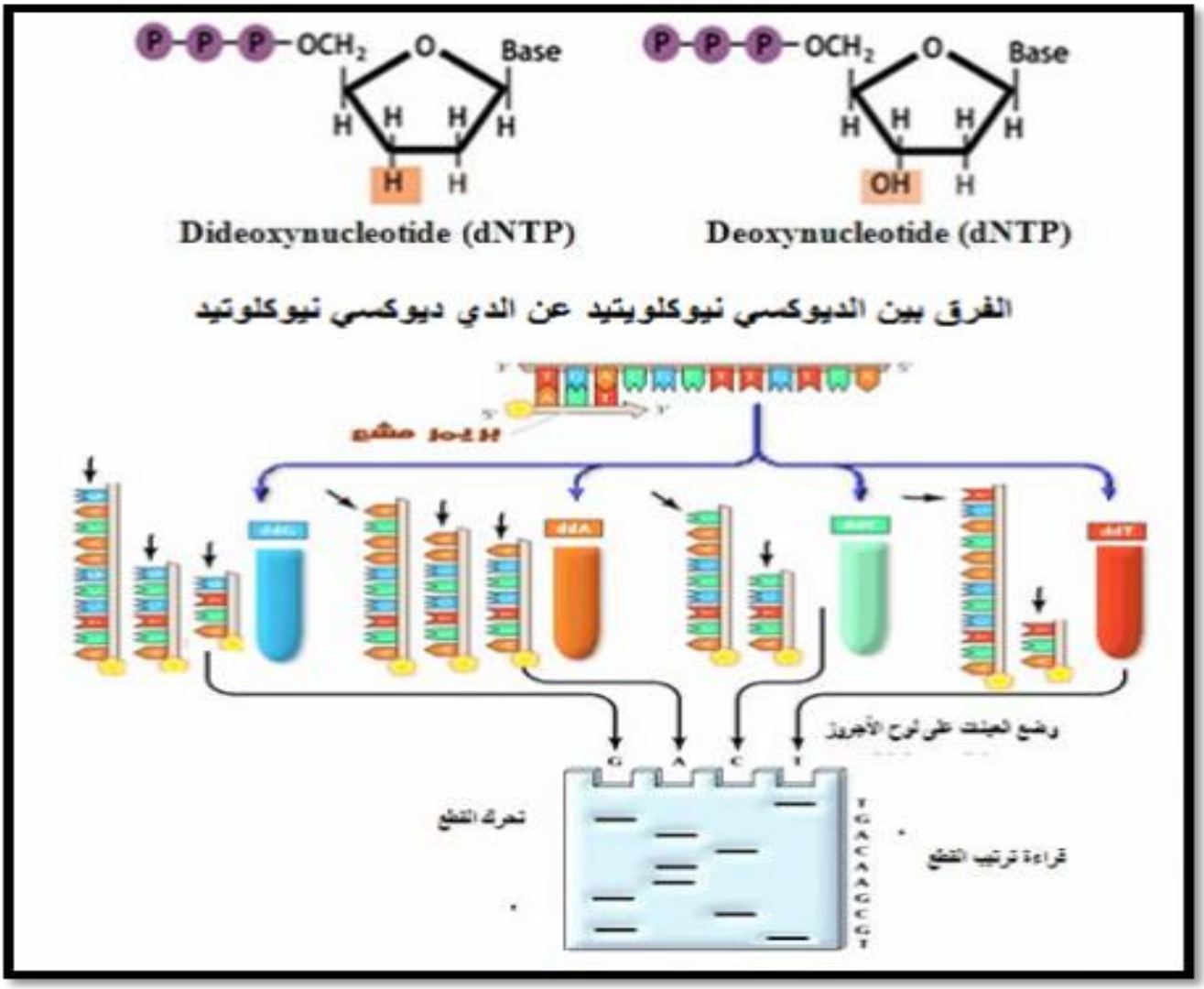


4 – كلما دُمج نيوكليوتيد معدل ملون بالفلورسنت توقف التفاعل ونتج عن ذلك أشرطةحمض نووي بأطوال مختلفة

5 – يكتمل التفاعل بإنفصال أجزاء DNA الملونة عن طريق الفصل الهلامي
وفي جهاز تلقائي يستكشف ترتيب تسلسل DNA

6 – تتعرض المادة الهلامية للتحليل باكتشاف لون كل نيوكليوتيد مميز
ومن خلال اللون المميز للنيوكليوتيد يحدد تسلسل قالب DNA الأصلي

7 - يحدد تسلسل DNA الأصلي من خلال ترتيب الأجزاء المميزة
بعد ذلك سنعرف الكودونات وسنعرف الأحماض الأمينية ثم نتعرف البروتين والصفة المتحكم فيها ونعرف وظيفة الجين



تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)

العالم كاري موليس مخترع هذ التفاعل 1993

1- تقنية تستعمل لإنتاج ملايين النسخ من منطقة محددة DNA

2- يتم ذلك خارج الخلية الحية بجهاز خاص

3- مجالات الإستفادة من نسخ DNA

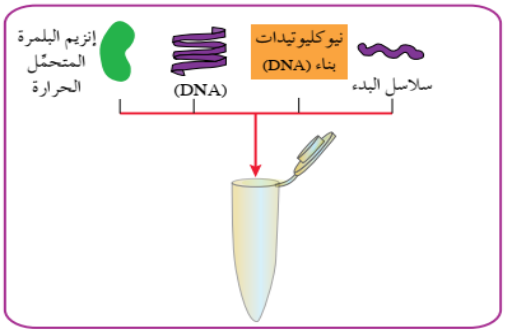
أ- استخدام جينات مرغوبة في التعديل الجيني ج – المختبرات

ب- فحص مسببات الأمراض الفيروسية والبكتيرية

ت- تشخيص الاختلالات الوراثية

ث- التعرف على بصمة DNA و – في الطب الشرعي تحديد المجرمين

ج- الكشف عن الأمراض المعدية مثل الإيدز



المواد والأدوات اللازمة لتفاعل إنزيم البلمرة

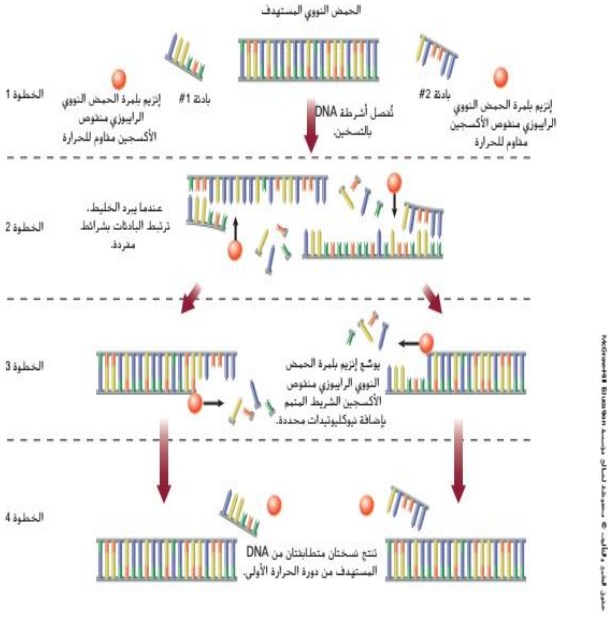
1- إنزيم بلمرة DNA مقاوم الحرارة

2- عينة DNA المراد نسخها

3- نيوكليوتيدات

سلاسل البدء (Primers) هي سلاسل DNA أحادية قصيرة

5 – جهاز تفاعل إنزيم البلمرة



خطوات تفاعل البلمرة المتسلسل

1 - يدمج جزئ DNA المستهدف مع نيوكليوتيدات DNA وإنزيم البلمرة وجزأي DNA أحادي الشريط القصيرين (بادئات)

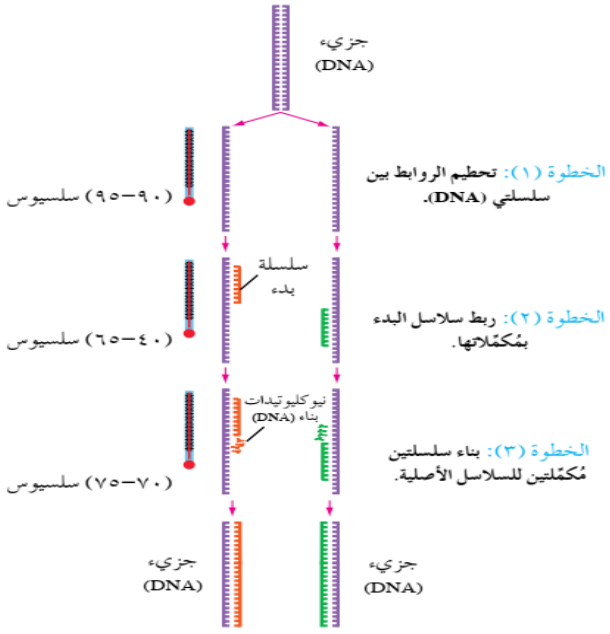
2 - عند التسخين تفصل الحرارة (90 سيليزي) شريطي DNA

3 – بعد التبريد حتى 60 سيليزي ترتبط البادئات بالشريط المفرد

يستخدم جهاز مبدل درجات الحرارة الألي لتدوير الأنبوب

4 – يعمل إنزيم بلمرة DNA على إضافة نيوكليوتيدات صحيحة بين البادئتين

5 - وتتكرر عملية التسخين والتبريد ودمج النيوكليوتيدات (20 حتى 40) مرة مما ينتج ملايين النسخ



الشكل (١–٣٩): دورة تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل.

الجدول 4–6	الهندسة الوراثية	
العملية / الأداة	الوظيفة	التطبيق
أنزيمات القطع مثال *EcoRI*	تُقطِّع سلاسل DNA إلى قطع.	يُستعمل لإنتاج قطع DNA بنهايات عريضة يمكنها أن ترتبط بقطع DNA أخرى.
الفصل الكهربائي الهلامي	يفصل قطع DNA حسب الحجم.	يُستعمل لدراسة قطع DNA حسب أحجامها.
نسخ الجين	يُنتج كميات كبيرة من جزيئات DNA هجينة متطابقة.	يُستعمل لإنتاج كميات كبيرة من DNA المعاد تركيبه لكي تُستعمل في المخلوقات المعدلة وراثيًّا.
تسلسل القواعد النيتروجينية (DNA)	تعرّف تسلسل القواعد في جزيء DNA الهجين، لدراسته بشكل مفصل.	يُستعمل لتعرف الأخطاء في تسلسل القواعد، تحديد وظيفة جين معين، المقارنة بين جينات ذات تسلسلات متشابهة من مخلوقات حية مختلفة.
تفاعل المبلمر المتسلسل (PCR)	إنتاج نسخ من مناطق محددة من DNA الذي يجري تحديد ترتيب قواعده.	يُستعمل لنسخ DNA من أجل أي بحث علمي مثل التحليل الجنائي، والاختبارات الطبية.

التقنيات الحيوية

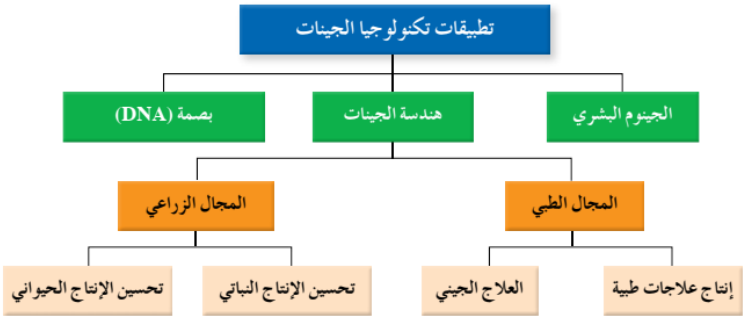
هي استخدام هندسة الجينات لإيجاد حلول لمشكلات بإنتاج كائنات حية تحمل جينات فردية من كائن حي آخر

الكائنات الحية المعدلة وراثياً :.

هي الكائنات التي أدخل إليها جين من كائن حي آخر مثل يرقات البعوض

تستخدم الحيوانات والنباتات والبكتيريا المعدلة وراثياً في أغراض البحث والطب والزراعة

فراولة معدلة وراثيا



الحيوانات المعدلة وراثيا	الفئران وذبابة الفاكهة ودودة الربداء الرشيقة (سى إليجانس)	دراسة الأمراض وتطوير وسائل معالجتها
	الماشية المعدلة وراثيا	تحسين إمدادات الغذاء وصحة الإنسان
	الماعز المعدل وراثيا	إفراز مضاد الثرومبين المستخدم لمنع تخثر الدم أثناء الجراحة
	الدجاج والديك الرومى	تتميز بمقاومة الأمراض
	الأسمـــاك	النمو بشكل سريع
	قد تصبح الحيوانات المعدلة وراثيا مصدر للأعضاء فى عمليات زراعة الأعضاء	
النباتات المعدلة وراثيا	الـذرة والقطـن والكـانولا وفـول الصويا	تقاوم مبيدات الأعشاب والمبيدات الحشرية
	القطن	يقاوم غزو الحشرات
	الفول السودانى وفول الصويا	لا تسبب حساسية لمستهلكيها
	البطاطا السكرية	تقاوم أحد أنواع الفيروسات
	الأرز	يحتوى نسب عالية من الحديد والفيتامينات تقضى على سوء التغذية
	محاصيل محتملة	الموز ينتج لقاحات للأمراض المعدية مثل التهاب الكبد الفيروسى B
		نباتات تنتج مواد بلاستيكية قابلة للتحلل الحيوى
البكتيريا المعدلة وراثيا	• تصنيع الأنسولين وهرمونات النمو ومواد تذيب تخثر الدم • يبطئ تكون بلورات الثلج على المحاصيل الزراعية لحمايتها من التلف الناتج عن الصقيع • تزيل بقع النفط وتحلل النفايات	

إجابات مراجعة القسم 2 تكنولوجيا DNA

1- اذكر كيفية إنتاج الحمض النووي معاد التركيب والتحكم به

الإجابة :.

أ- يُقسم DNA الجينومي باستخدام إنزيمات القطع

ب- تُفصل جزيئات DNA الرغوبة

ت- يتم ادخال الجزء في بلازميد باستخدام ليغاز DNA

ث- يتم إدخال البلازميد الذي يحمل الجزء المرغوب إلى خلية عائل ليتم إنتاج نسخ كثيرة

2-اشرح سبب احتواء بعض البلازميدات على جين مقاوم للمضاد الحيوي

الإجـــــابة

لتحديد خلايا البكتيريا التي تحوّلت بنجاح باستخدام البلازميد

---

3 – كيف يمكن أن تحسن هندسة الجينات صحة الإنسان ؟

الإجـــــابة :.

أ- عن طريق توفير الأدوية على نطاق واسع ب- تقليل استخدام المبيدات

---

4 – قابل