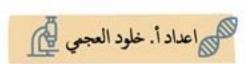


أدوات تقني الجينات

للصف الثاني عشر









الهندسة الجينية











الهندسة الجينية

أي اجراء يتضمن

تغيير المعلومات الجينية

في كائن حي

عن طريق ادخال جين

من کائن حي آخر

يسمى الكائن الحي كائنا حيا معدلا

جينيا (GMO).







DNA

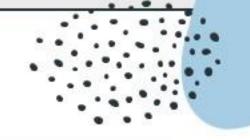
يتم تكوينه اصطناعيا بربط قطع من DNA من كائنين حيين من النوع نفسه أو نوعين مختلفين

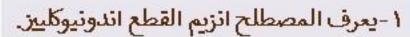
> ما هي الأدوات التي سيحتاجها تقنى الجينات للقيام بعمله؟

هو موضوع درس اليوم بإنن الله



معاییر النجاح کم @





٢- يصف عمل انزيمات القطع تندونيوكليين

٣- يشرح دور انزيم ترانسكربيتيز العكسي وDNA بوليميريز في الهندسة الجينية.

٤- يعرف مصطلح البلازميد .

٥- يشرح أدوار انزيمات القطع اندونيوكليز و DNA لايجيز في انتاج البلازميد معاد التركيب .

٦- يشرح دور البلازميدات في الهندسة الجينية.

 ٧- يصف كيف يمكن استخدام العلامات الجينية التي تشفر للانزيمات المنتجة للمواد المتوهجة لتحديد الكائنات الحية جينيا.

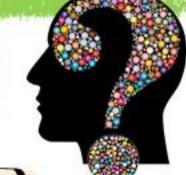
٨- يعرف مصطلح محفز.

٩- يصف دور المحفزات في الهندسة الجينية.





الأدوات التي يحتاجها تقني الجينات



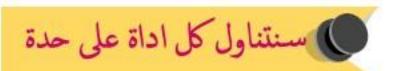
انزيمات القطع انزيم ترانسكريبتيز العكسي

بناء DNA الاصطناعي

العلامات الجينية

المحفزات

هل سمعت بها من قبل ؟









انزيمات القطع



6

5

4

3

2

D

مسمى هذه الاتزيمات

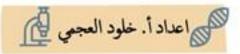
الية عملها

توضيح الوظيفة

وظيفتها

توقيت الاثتاج

مصدرها





انزيمات القطع



0

مصدرها

البكتيريا

توقيت الاتتاج

عندما تهاجمها

فيروسات آكلة البكتيريا

تستجيب عن طريق

انتاج هذه الانزيمات.

الية عملها

تقطيع العمود الفقري

(سكر-فوسفات)

في داخل جزيء DNA

4

توضيح الوظيفة

تقطيع

DNA الفيروسي

الي

أجزاء أصغر

لتحطيمه

تحد من العدوى الفيروسية .

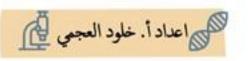
وظيفتها

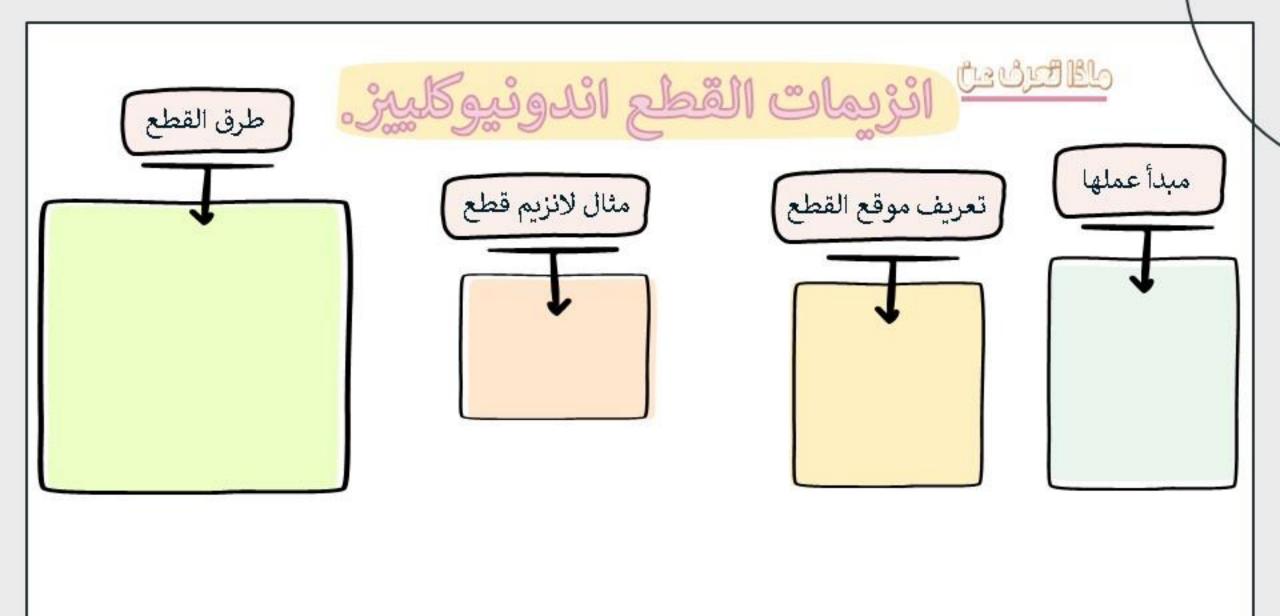
في أماكن محددة وليس في نهايتيه.

مسمى هذه الاثريمات

انزيمات القطع

اندونيوكلييز.





طلالعرفين انزيمات القطع اندونيوكلييز.

طرق القطع

هناك طريقتين للقطع:-بطريقة مستقيمة عبر العمود الفقري سكر-فوسفات لتكوبن نهایات مستقیمة.

بطريقة متعرجة لتكوين نهايات لاصقة تاركا أجزاء قصيرة من قواعد غير مزدوجة مثال لانزيم قطع

انزيم القطع المسمى BamHI.

طريقة عمله:

DNA پقطع DNA

عند التتابع GGATCC على الشريط 5 الى 3.

والتتابع المكمل CCTAGG على التتابع 3 الى 5.

تعريف موقع القطع

تتابع محدد من اربع الى ست قواعد.

للعديد من موقع القطع

يكون التتابع نفسه عندما يقرأ من كلا الاتجاهين.

مبدأ عملها

استهداف كل انزيم قطع لموقع قطع.

de المالي 🖇 تتابعات متناظرة .

م كن عند هذه النهايات اللاصقة كالك 🎖 تكوين روابط هيدروجينية عن طريق تتابع القواعد المكملة على أجزاء أخرى من DNA المقطوع..

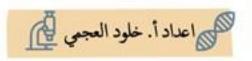




الشكل ٣-١ إنزيم القطع BamHl يقطع DNA بشكل متعرج لبنتج قطع ذات نهابات لاصقة. لاحظ أن النهابات اللاصقة مكملة لتنابع القواعد CTAG، و GATC.

مصدر الإنزيم	موقع القطع عبر DNA	موقع القطع	إنزيم القطع
الأشريكية القولونية	-G AATTC-	5'-G AATTC-3'	EcoRI
Escherichia coli	-CTTAA G-	3'-CTTAA G-5'	
باسیلوس أمیلولیکوهاسینز	-G GATOC-	5'-G GATCC-3'	BamHI
Bacilius amyfoliquefaciens	-CCTAG G-	3'-CCTAG G-5'	
هیموفیلوس اِنفلوتزا	-A AGCTT-	5"-A AGCTT-3"	HndIII
Haemophilus influenzae	-TTCGA A-	3"-TTCGA A-5"	
هیموفیلوس ایجیبتیوس	-GG CC-	5'-GG CC-3'	HaeIII
Haemophilus aegyptius	-CC GG-	3'-CC GG-5'	

الجدول ٣-١ أربعة أنواع من إنزيهات القطع إندونيو كليبز، ومواقع القطع لها، والبكتيريا التي اكتشفت فيها الأول مرة.





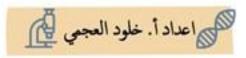
و يتكون مزيج من أجزاء مختلفة الطول.

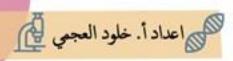


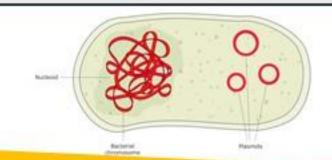
تكوين نسخ عديدة من جزيء DNA المستهدف باستخدام تفاعل البوليميريز المتسلسل (PCR).







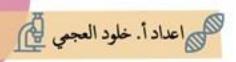


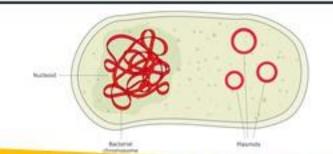




ما طرق البكتيريا لحماية DNA الخاص بها؟











هناك عدة طرق للحماية منها:



في اعتقادك س ج كيف يتم تسمية انزيمات القطع ؟





في اعتقادك ...س ج كيف تسمى الانزيمات المختلفة من المصدر نفسه؟







في اعتقادك س ج كيف يتم تسمية انزيمات القطع ؟



= VII

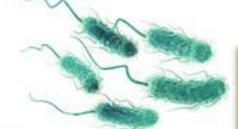
تسمى باختصارات تشير الى مصدرها.



في اعتقادك .. س ج كيف تسمى الانزيمات المختلفة من المصدر نفسه؟

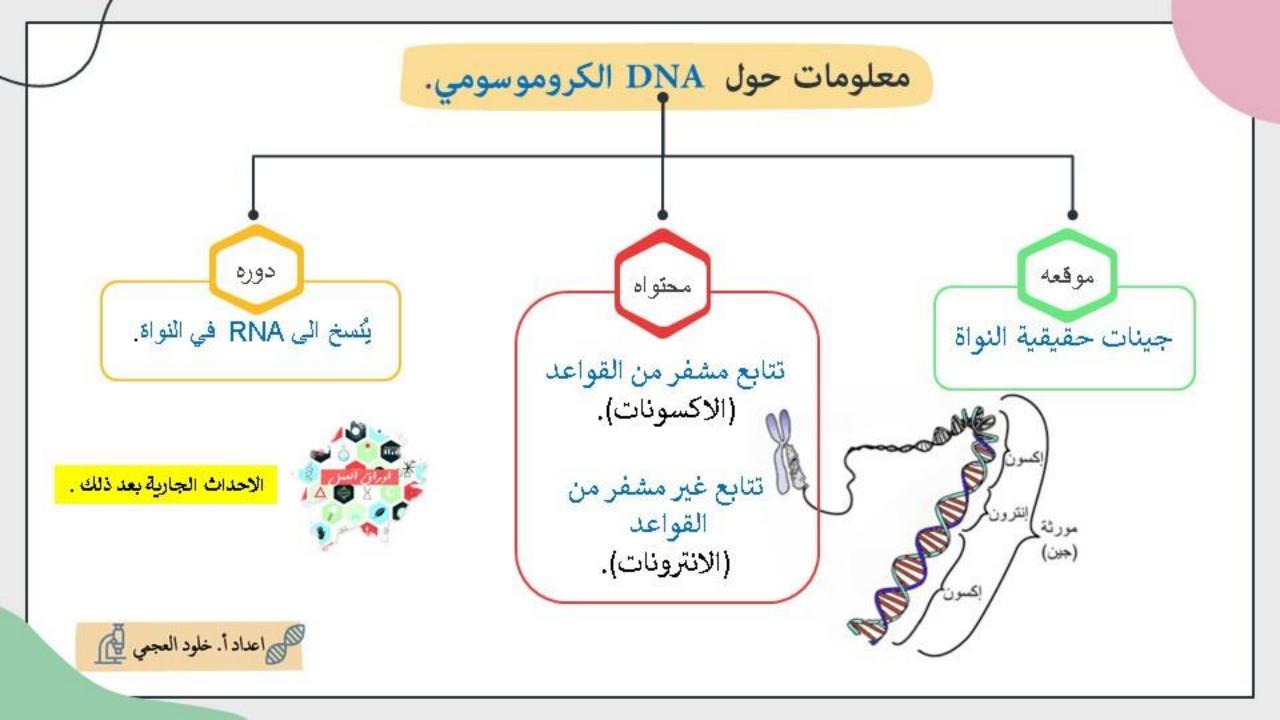
بإضافة ارقام رومانية للتمييز بينها.

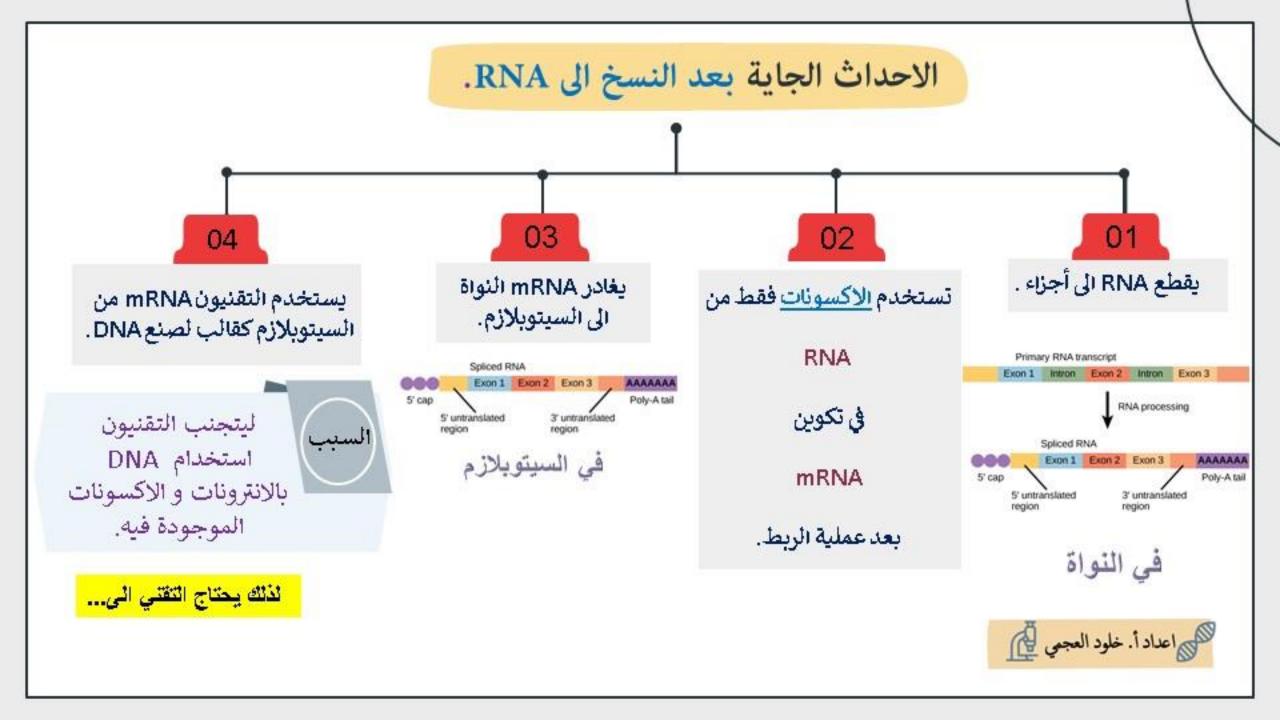


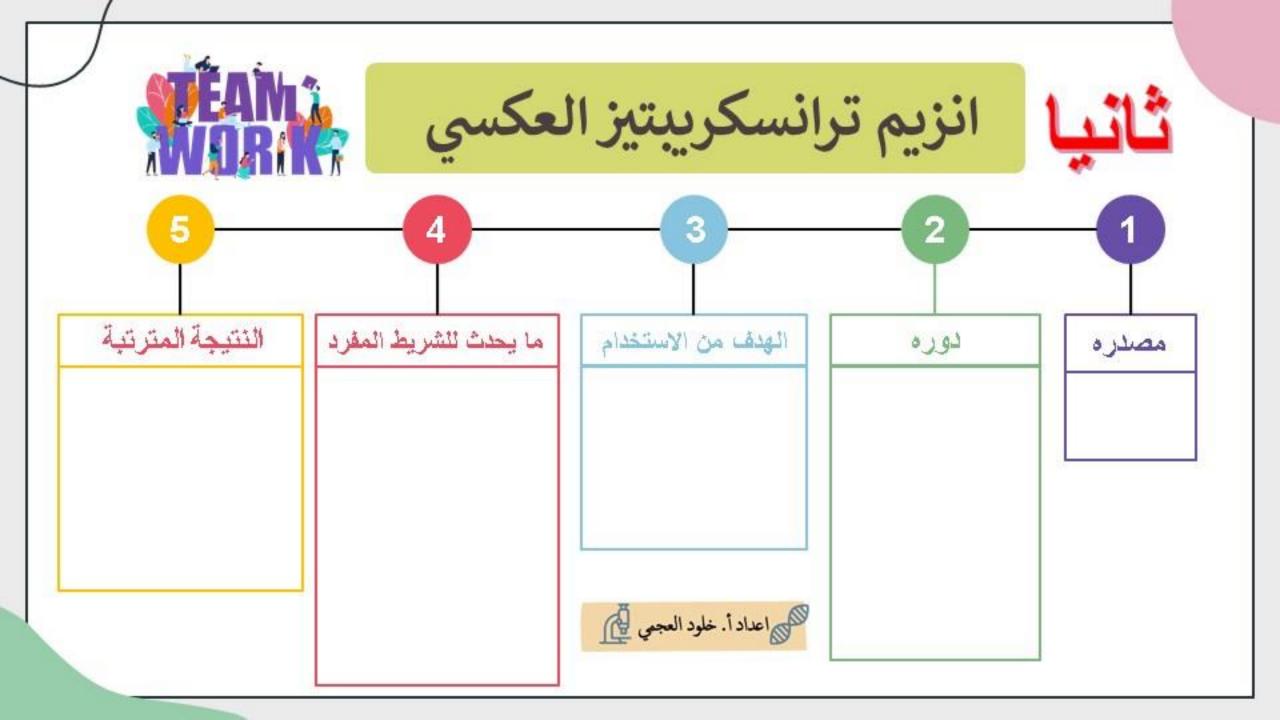


EcoRl تأتي من الاشريكية القولونية Escherichia coli (سلالة RY13) وكانت الأولى التي حددت من مصدرها.











انزيم ترانسكريبتيز العكسي



5

4

3

2

1

النتيجة المترتبة

تكوين DNAمكمل مزدوج الشريط يعرف ب (cDNA) ما يحدث للشريط المفرد

يُستخدم انزيم

DNAبوليميريز

<u>لبناء</u> عديد نيوكليوتيد <mark>مكمل</mark>

لشريط DNA المفرد.

الهدف من الاستخدام

تكوين

شريط DNA <u>المفرد</u>.

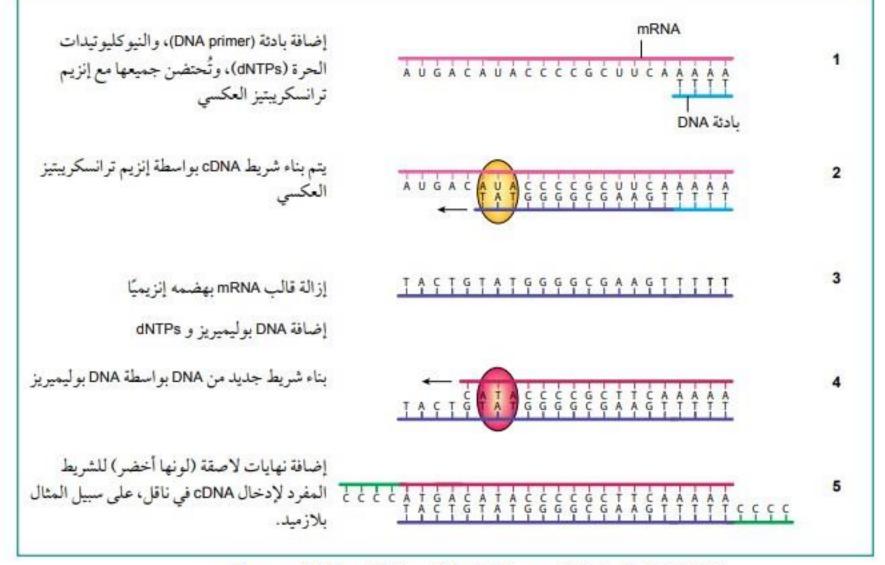
اعداد أ. خلود العجمي 📆

دوره

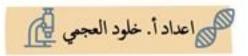
يستخدم

شريط المفرد mRNA المفرد + نيوكليوتيدات DNA الحرة. مصدره

فيروسات RNA



الشكل ٣-٣ النسخ العكسي من mRNA لتكوين dNTPs .cDNA هي ديوكسي نيوكليوتيد ثلاثية الفوسفات، مثل، dATP ،dTTP ،dGTP،dCTP.





تمكن العلماء من بناء:

الجينومات الكاملة

باستخدام نيوكليوتيدات DNA مباشرة .

تابع معنا لمعرفة خطوات البناء.

الجينات

باستخدام الشيفرة الجينية









وجود تسلسل لاحماض أمينية.



تحويل ذلك التسلسل الى تتابع الشيفرة الجينية المحفوظة في الحاسوب.



03

خطوات البناء هي:

تكوين قطع /أجزاء DNA القصيرة من تلك الشيفرة.



ربط القطع القصير لـ DNA لتكوين سلسلة طويلة من النيوكليوتيدات.

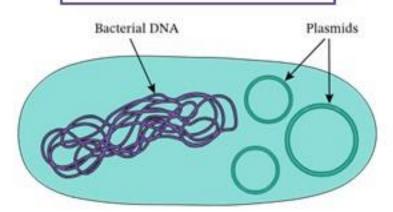


ادخال النيوكليوتيدات في بلازميدات لتستخدم في الهندسة الجينية.

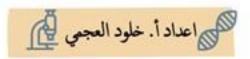


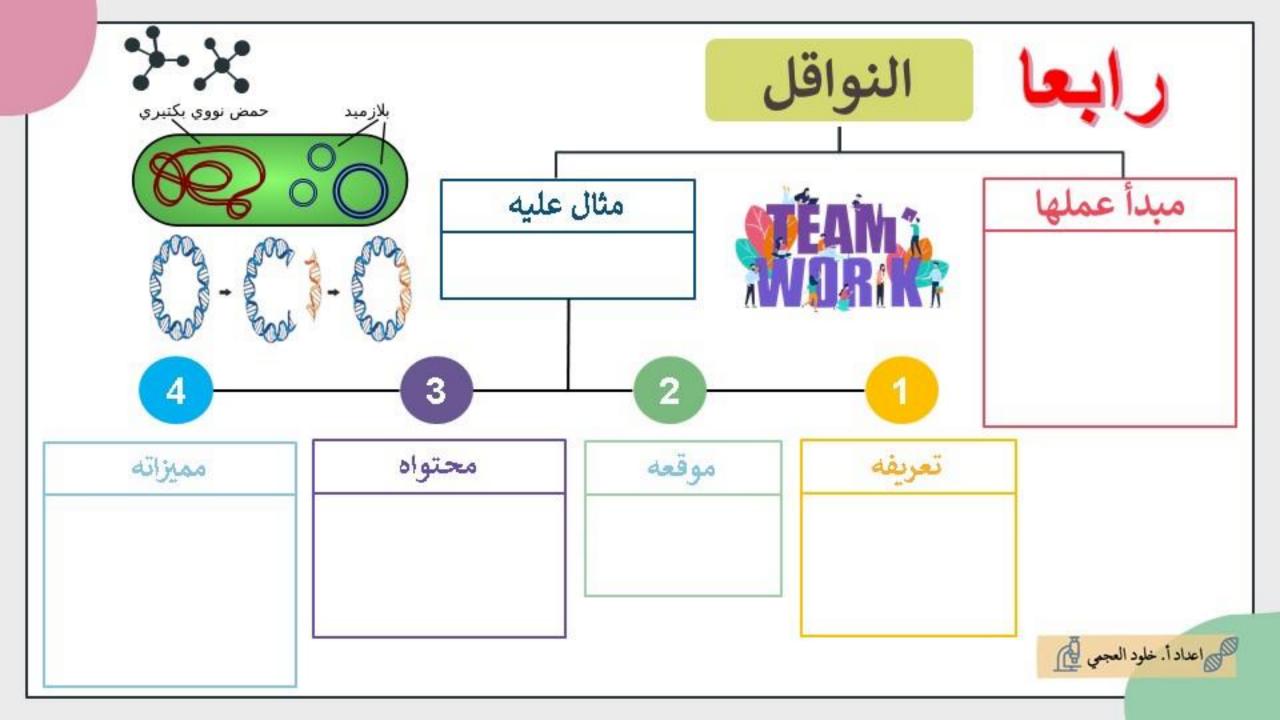


تكوين جينومات بكتيريا صناعية تحوي مليون زوج من القواعد.



تكوين جينات جديدة تستخدم على سبيل المثال في تكوين اللقاحات







النواقل

رابعا



مثال عليه

البلازميد



مبدأ عملها

وضع الجزء المرغوب فيه من DNA الذي يحتوي على جين واحد أو أكثر داخل خلية مضيفة.

4

2

موقعه

توجد طبيعيا في البكتيريا. تعريفه

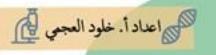
قطع حلقية صغيرة من اشرطة مزدوجة.DNA

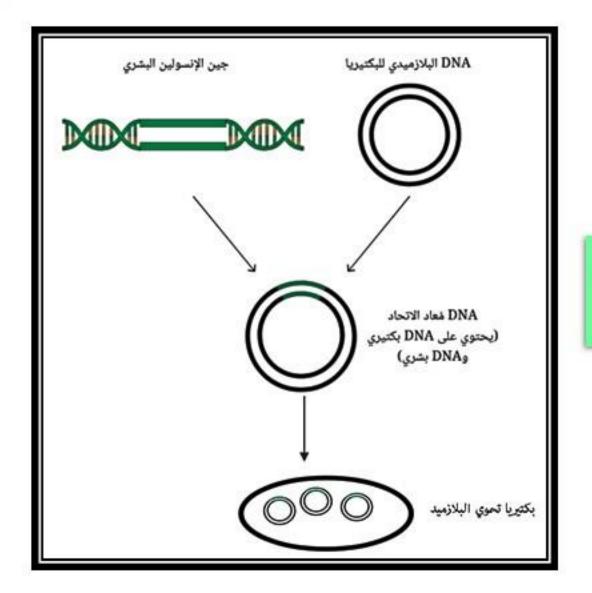
مميزاته

يمكن تبادله بين بكتيريا من النوع نفسه أو حتى بين بكتيريا من أنواع أخرى .

محتواه

يحتوي غالبا على جينات مقاومة للمضادات الحيوية.

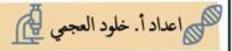


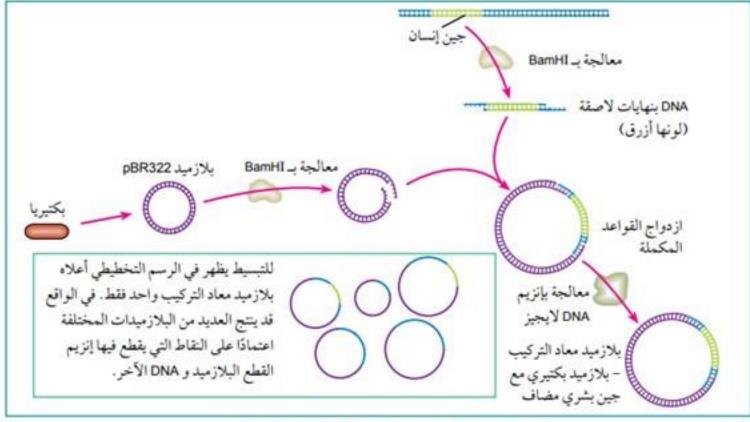


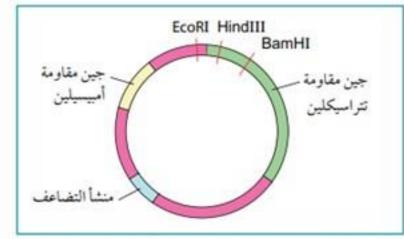


اذا ادخل مهندس جيني قطعة من DNA في بلازميد

> يمكن استخدام هذا البلازميد لنقل DNA الى خلية البكتيريا.







الشكل ٣-٣ البلازميدات قطع حلقية من أشرطة DNA مزدوجة، يرسم عادة كها هو موضح هنا. يبدو في الرسم البلازميد pBR322 الذي يستخدم في إنتاج إنسولين الإنسان بواسطة البكتيريا المعدلة جينيًا (GM). ويظهر كذلك جين مقاوم للمضاد الحيوي تتراسيكلين Tetracycline وأخر للمضاد الحيوي أمبيسيلين Ampicillin.

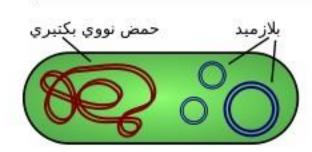
الشكل ٣-٤ إدخال جين إنسان في البلازميد البكتيري pBR322.

تابع معنا

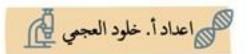
الخطوات المتبعة للحصول على البلازميدات:

03 ثم تدوير الجهاز بسرعة كبيرة .

ثم وضع البكتيريا في 02 جماز الطرد المركزي.



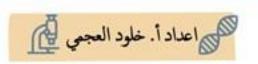
معالجة البكتيريا بالأنزيمات لتفكيك جدرانها الخلوية.

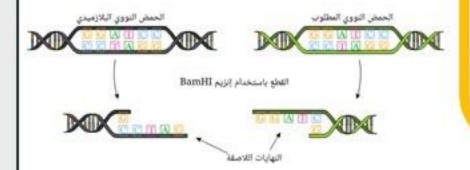


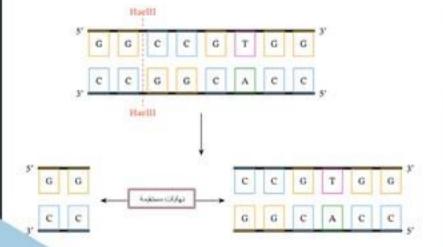
النتيجة النهائية :-

فصل البلازميدات الحلقية الكبيرة نسبيا عن البلازميدات الأصغر بكثير.









عند استخدام انزيم قطع لفتح DNA البلازميد الحلقي فانه

يُستخدم أيضا نفس الانزيم لقطع الجين.



ليكون النهايات اللاصقة لـ DNA الحلقي و الجين مكملة لبعضها



عند استخدام انزيم قطع يعطي نهايات مستقيمة سنحتاج

الى نهايات لاصقة تربط بكل من الجين و DNA البلازميد.



تابع معنا

الخطوات المتبعة بعد الحصول على البلازميد و الجين المطلوب.

اعداد أ. خلود العجمي 🚇

يسمى البلازميد في هذه الحالة بالبلازميد <mark>معاد التركيب.</mark> تتكون حلقة مغلقة من اشرطة DNA المزدوجة المحتوية على الجين الجديد.

يتم جعل البكتيريا تمتص البلازميدات بوضعهما معا أولا في محلول يوجد به تركيز عالي من ايونات الكالسيوم.

يبرد المزيج ويعرض لصدمة حرارية لزيادة احتمالية عبور البلازميد عبر غشاء سطح خلية البكتيريا.

تمزج

البلازميدات المفتوحة وأجزاء DNA التي تحوي الجين المطلوب معا.

يتم ربط

بعض النهايات اللاصقة على البلازميدات مع النهايات اللاصقة على DNA.

يتم الربط بوجود انزيم DNA لايجيز الذي يربط سكر –فوسفات في DNA والبلازميد، عن طريق تحفيز تكوين روابط فوسفات ثنائية الاستر.



كفاءة امتصاص البلازميد تختلف من بكتيريا لأخرى:





العديد من البلازميدات المفتوحة تعود الى وضعها الطبيعي (حلقة مغلقة) من دون DNA.

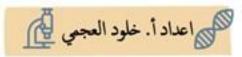


يمكن تعديل البلازميدات البكتيرية لانتاج نواقل جديدة ، كما يمكن انتاج بلازميدات اصطناعية .



نسبة صغيرة من البكتيريا (1%) تمتص البلازميدات عبر غشاء سطح الخلية.

نسبة كبيرة من البكتيريا تمتص البلازميدات المغلقة من دون جين مدمج بها أو لا تمتص أي بلازميد على الاطلاق.



الخطوات المتبعة بعد امتصاص البكتيريا للبلازميد

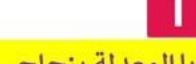


3

تنقسم البكتيريا بالانشطار الثنائي.

- 🔵 حيث تحوي كل خلية ناتجة على عدة نسخ من البلازميد.
 - یعرف انتاج عدة نسخ من البلازمید معاد الترکیب
 ب (الاستنساخ الجني) .
- یعتبر الاستنساخ الجینی احدی الطرق لانتاج عدة نسخ من الجین.
- ستخدم الاستنساخ الجيني في الهندسة الجينية أو الأبحاث
 - عند نسخ البلازميد يتم نسخ الجين الجديد ويستخدم
 mRNA في الترجمة لتكوين بروتين يسمى بروتين معاد التركب.

2 ينسخ DNA بوليميريز في البكتيريا البلازميدات.



يتم تحديد البكتيريا المعدلة بنجاح.

- مدف استخداها في تكوين البروتين
 المشفر من الجين .
- سابقا:- يتم التحديد عن طريق نشر
 البكتيريا على صفائح آجار تحوي كل منها
 على مضاد حيوي (لكن تم التراجع عن
 الاهتام بهذه التقنية).
- حاليا: _ تستخدم العلامات الجينية كطريقة بسيطة في التحديد.



مثال على النواقل (بلازميد انتاج الانسولين) اعداد أ. خلود العجمي 💆 كيفية العلاج من هذا المرض: أحد مسببات مرض السكري: سابقا ملخص الائتاج Pancreas Insulin

sladiff slas DNA (as

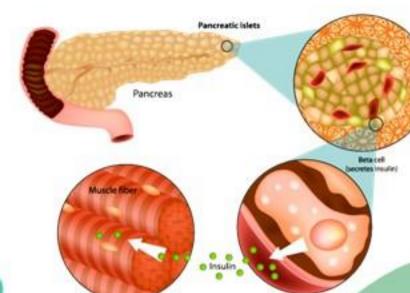


مثال على النواقل (بلازميد انتاج الانسولين)

أحد مسببات مرض السكرى:

عدم قدرة البنكرياس

على انتاج الانسولين.



كيفية العلاج من هذا المرض:

سابقا

يتم المعالجة بالانسولين المستخلص

من بنكرياس الخنازير أو الماشية.

nsulin

يتم المعالجة بتوفير الانسولين المعدل وراثنا /جينيا.

ملخص الائتاج

ادخال جين انسولين الانسان في خلية بكتيرية . استخدام الخلية في انتاج الانسولين.





هذه التقنية تم تجريبها بعدة طرائق مختلفة في سبعينيات القرن الماضي، لتحصد النجاح في ثمانيات القرن نفسه.

ليصبح انسولين الانسان معاد التركيب متوافرا بدا من العام 1938.



الصورة ٣-٣ إنسولين أسبارت Aspart insulin، نوع من الإنسولين معاد التركيب يصنع بواسطة الخميرة المعدلة جينيًّا ويباع تحت العلامة التجارية @ NovoLog وغيرها. غالبا ما يؤخذ فقط قبل تناول الطعام ويكون له التأثير الأقصى بعد نحو ساعتين ويستمر لمدة أربع ساعات.



واجه العلماء مشكلات في <u>تحديد موقع الجين الذي يشفر</u> لأنسولين الانسان و عزله عن باقي DNA في خلية الانسان.

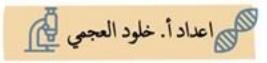
ما خطوات انتاج هذا الجين

كيف حلت هذه المشكلات

ما التطور الذي احدث في انتاج الانسولين حالبا

واجه العلماء مشكلات

ما الذي يميز هذه الخلايا



ما بِمبِرَ الانسولبِن معاد التركبِب

واجه العلماء مشكلات في تحديد موقع الجين الذي يشفر لأنسولين الانسان وعزله عن باقي DNA في خلية الانسان.

كيف حلت هذه المشكلات

بدلا من قطع الجين من الكروموسوم المرتبط به ، استخلص العلماء به mRNA . لانسولين من خلايا بيتا البنكرياسية .

ما الذي يميز هذه الخلايا

هذه الخلايا هي الوحيدة التي تعبر عن جين الانسولين وتحتوي على كمية كبيرة من mRNA للانسولين.

استخدام mRNA كقالب للنسخ العكسي لتكوين شريط DNA مفرد . استخدام جزيئات DNA المفرد كقالب لانزيم DNA بوليميريز لتكوين DNA المزدوج .

المزدوج . ادخال جينات الانسولين في بلازميدات لتعديل بكتيربوم الاشربكية

القولونية .

ما خطوات انتاج هذا الجين

ما التطور الذي احدث في انتاج الانسولين حاليا

تصنيع انسولين معاد التركيب في خلايا خميرة معدلة وراثيا او في خلايا حيوانية بدل من الخلايا البكتيرية.

واجه العلماء مشكلات

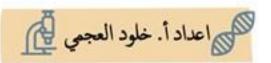
هو احتواء الخلايا حقيقية النواة على جهاز جولجي الذي يمكنه تجميع و ثني سلسلتي عديد الببتيد الانسولين بكل صحيح.

ما بِمبِرَ الانسولين معاد التركيب

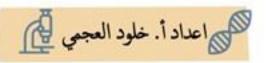
متوافر ومتاح لتلبية الطلب المتزايد .

لا يعتمد الحصول عليه على عوامل كتوافر البنكرياس الحيواني .

عتبر انسولين بري بدلا من انسولين من نوع آخر الذي لا يكون مطابقا كليا .



عمل مهندسو الجينات على <u>تغيير</u> تتابع نيوكلوتيدات جين الانسولين .



الهدف من ذلك

لها خصائص مختلفة رغم انها مماثلة للانسولين.

المميز لها

لتكوين جزيئات بتسلسل أحماض امينية مختلفة قليلا.

مثال على ذلك

- يعمل بعضه بشكل أسرع ويكون من المفيد تناوله قبل الوجبة مباشرة.
- يعمل بعضه بشكل اسرع لفترة (24-8) ساعة ويكون مفيد في الحفاظ على تركيز انسولين الدم قريبا من الثبات بحيث لا ينقص كثيرا.

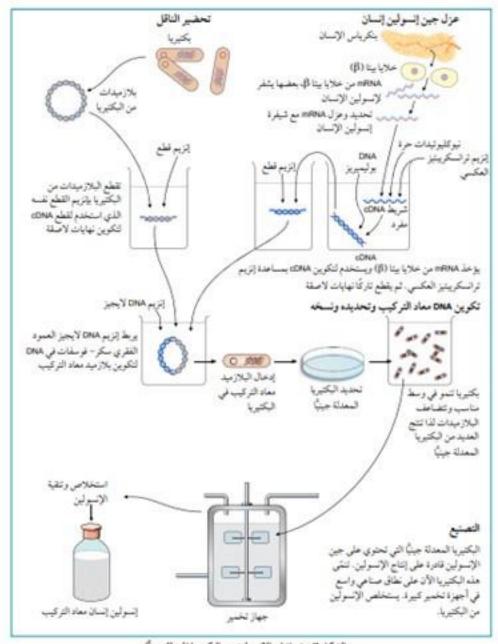




يتناول كثيرا من مرضى السكري كلا هذين النوعين من الانسولين معا التركيب في الوقت نفسه .

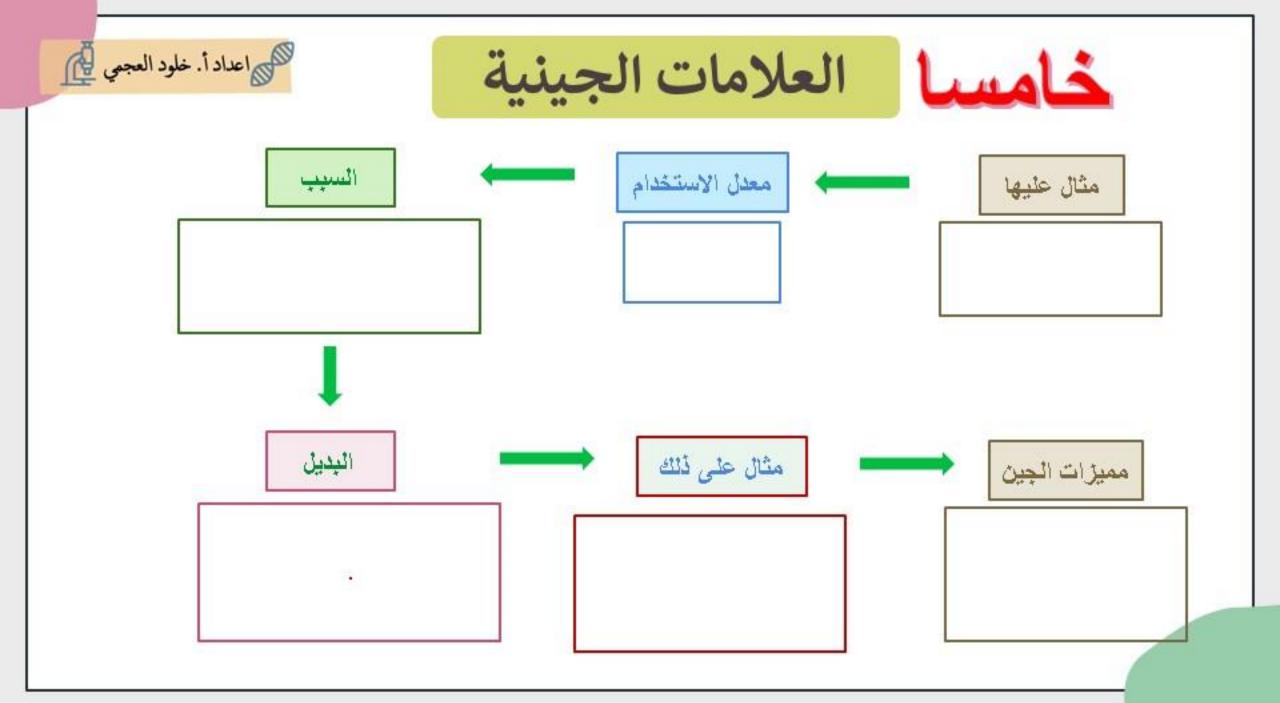








الشكل ٣- ٥ إنتاج الإنسولين من البكتيريا للعدلة جيئًا.





العلامات الجينية



السيب

خطر البكتيريا المقاومة للمضادات الحيونة. معدل الاستخدام

منخفض

مثال عليها

الجينات المقاومة للمضادات الحيوية .

1

البديل

الاستعاضة باستخدام

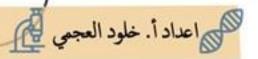
الجينات التي تشفر للأنزيمات

المنتجة للمواد المتوهجة.

مثال على ذلك

الانزيمات التي تم الحصول عليها من قنديل البحر تضع بروتينا يعرف(GFP). مميزات الجين

يتوهج باللون الأخضر في الضوء فوق البنفسجي.



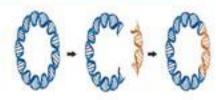
مبدأ فكرة العلامات الجينية.

العي تتوهج باللون الأخضر هي البكتيريا المعدلة جينيا.

العي لا تتوهج باللون الأخضرهي البكتيريا الطبيعية.

تحدد البكتيريا الممتصة للبلازميد والجين بتسليط الضوء فوق البنفسجي عليها.

يُدخل جين الانزيم في البلازميد.

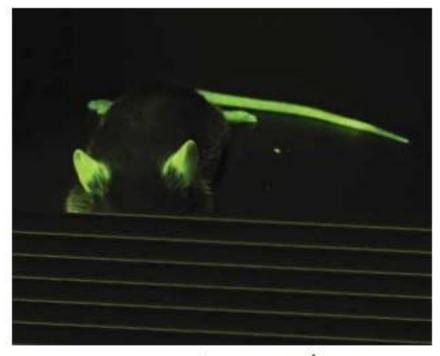




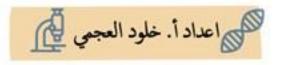
يمكن استخدام العلامة الجينية الواحدة في العديد من الكائنات الحية .



الصورة ٣- ٤ نبات الندية، نبات آكل الحشرات يستخدم شعيرات لاصقة لاصطياد الحشرات. إلى اليسار ورقة من نبات الندية معدل جينيًا يعبّر عن جين إنزيم GUS. وضعت الورقة في محلول من مادة عديمة اللون وإنزيم GUS، وحوَّل الإنزيم لونها إلى هذا اللون الأزرق الداكن، ما يشير إلى أن النبات جرى تعديله جينيًا بنجاح. إلى اليمين ورقة ندية عادية.



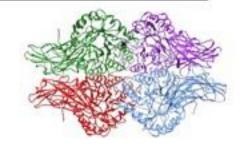
الصورة ٣-٣ فأر معدل جينيًا يعبّر عن جين بروتين متوهج.

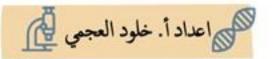




مثال لعلامة جينية

انزيم بيتا جلوكورونيديز.





العلامات الجينية

مبدأ عمل هذه العلامة الجينية

عند احتضان أي خلية جينا يحتوي على الانزيم مع بعض المواد المتفاعلة عديمة اللون أو غير متوهجة

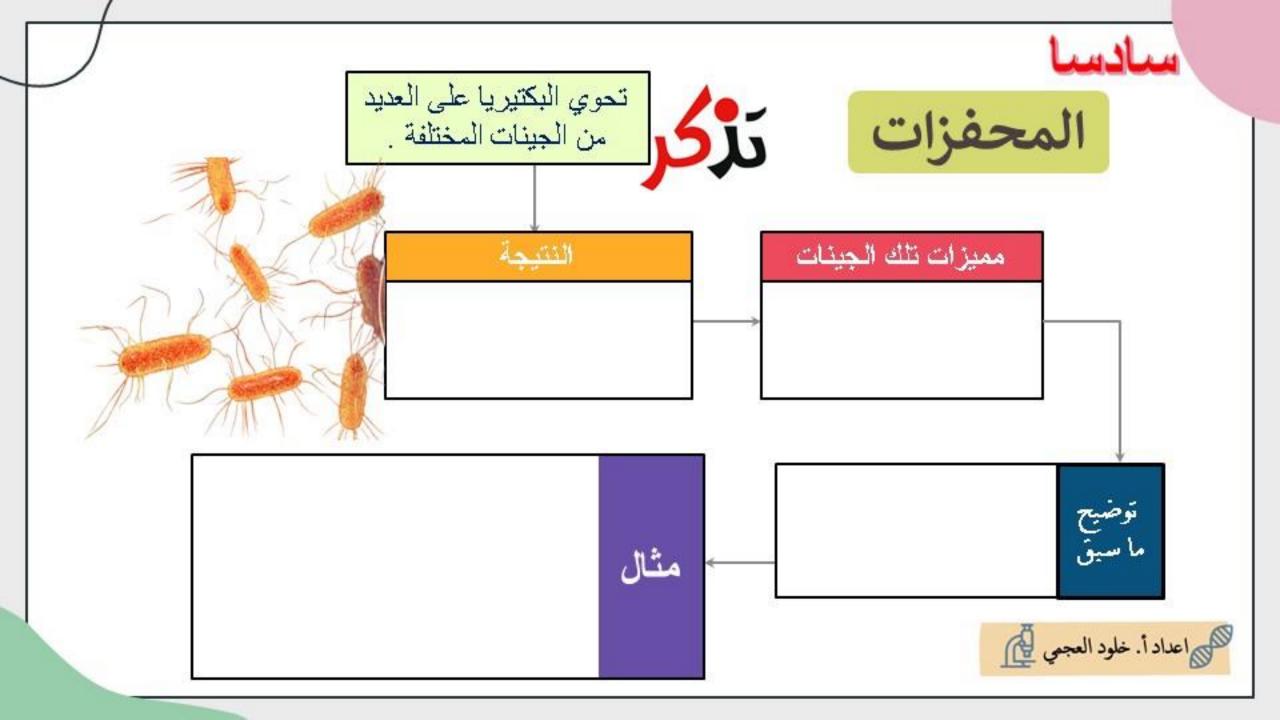
يمكن لهذا الانزيم ان يحولها الى نواتج ملونة أو

متوهجة.

فائدة هذه العلامة الجينية

يفيد بشكل خاص في الكشف عن نشاط الجينات التي يتم إدخالها في النباتات مثل نبات الندية.





سادسا

المحفزات

تحوي البكتيريا على العديد من الجينات المختلفة .

النتيحة

تصنع العديد من البروتينات المختلفة.

مثال

مميزات تلك الجينات

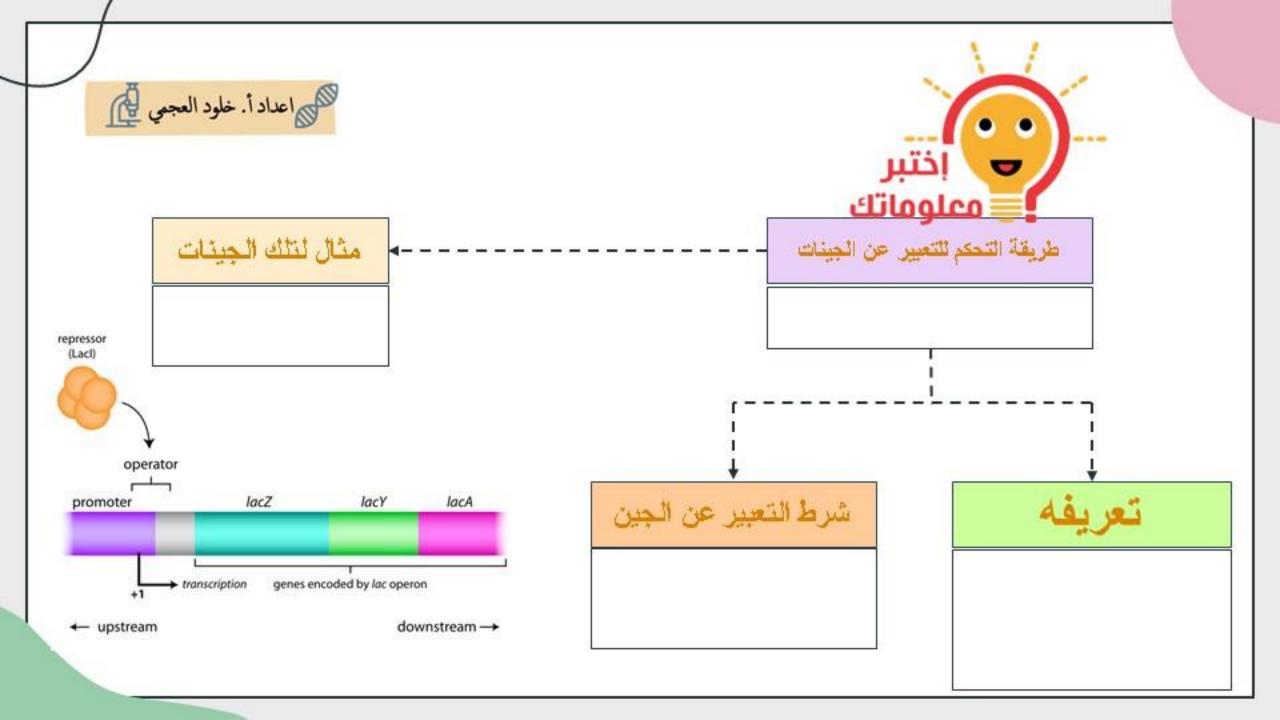
لا يتم تشغيل كل الجينات معا .

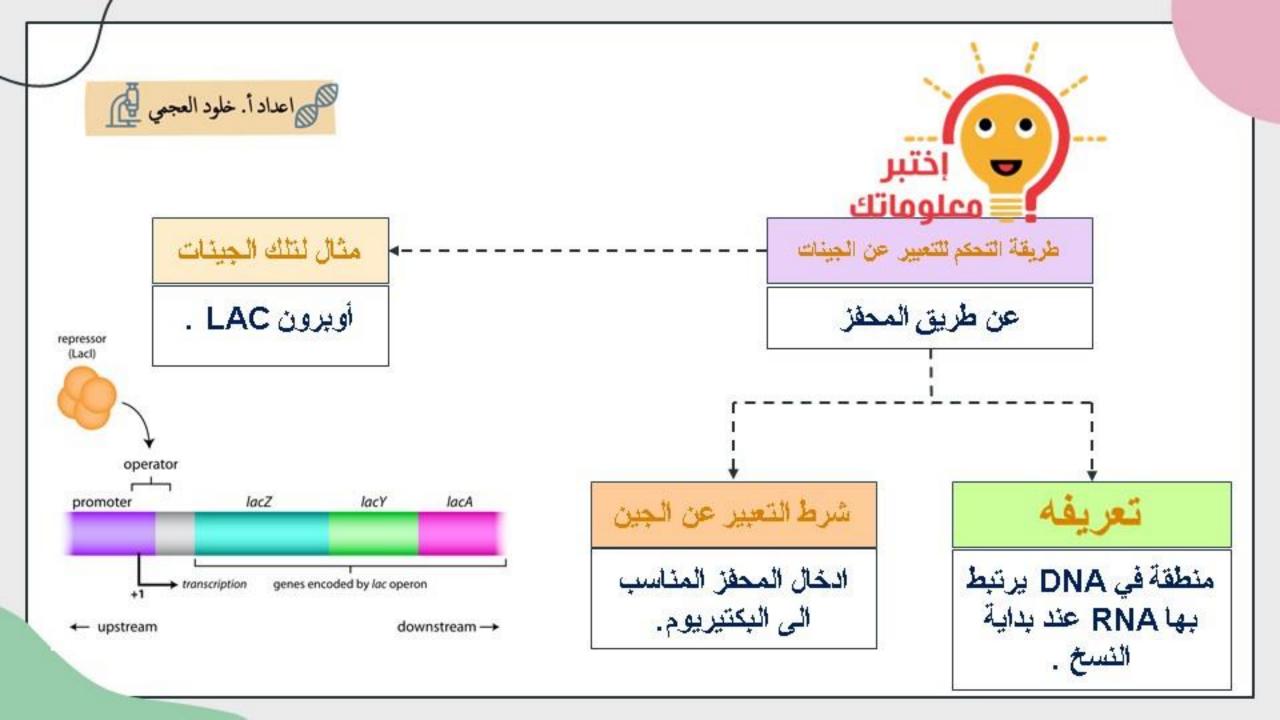
تصنع البكتيريا فقط البروتينات المطلوبة في الطروف التي تنمو فها.

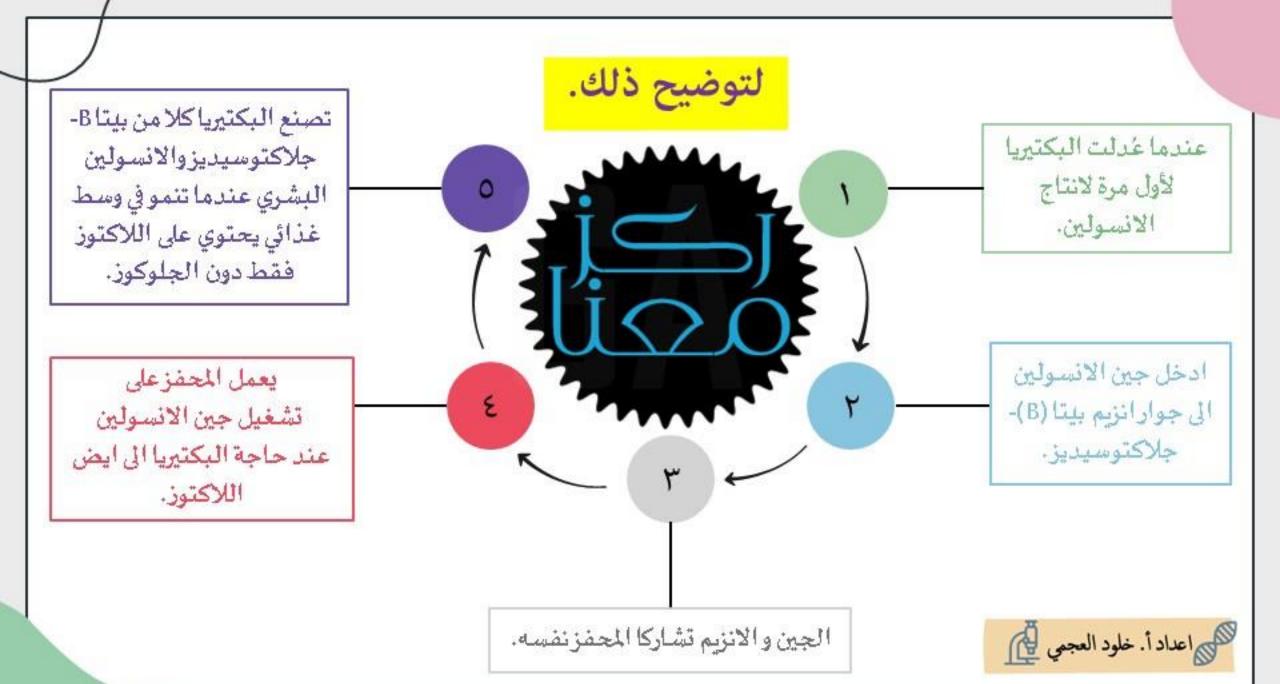
توضیح ما سبق

تصنع البكتيريا (اشيرشيا كولاي) انزيم بيتا جلاكتوسيديز (B) فقط عندما تنمو في وسط يحتوي على لاكتوز ولا يتوفر فيه الجلوكوز.



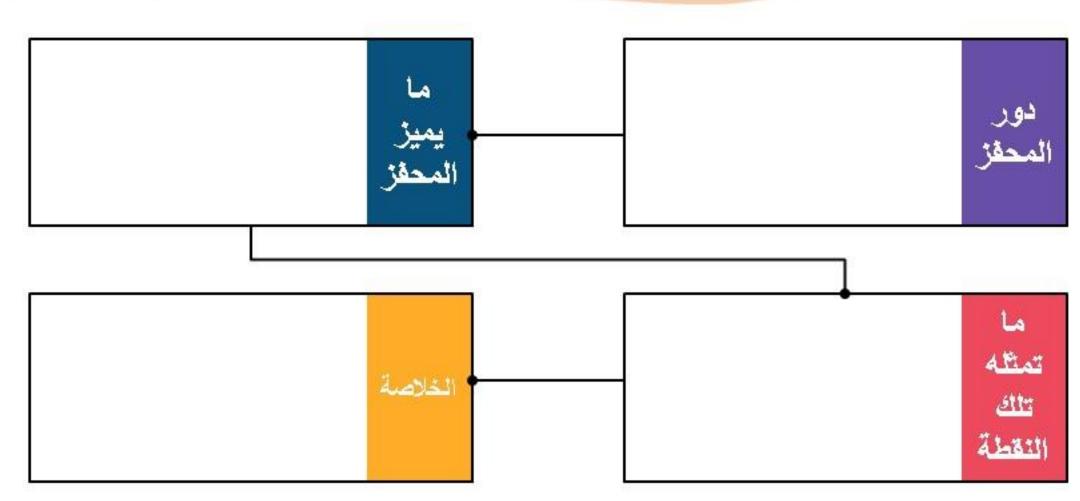


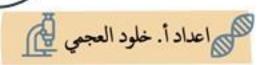






المحفز و انزيم RNA بوليميريز .





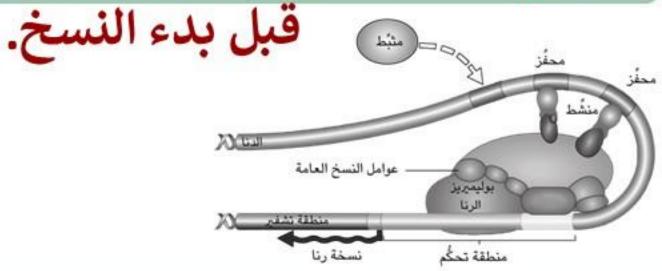
المحفز و انزيم RNA بوليميريز .

يسمح بارتباط انزيم RNA بوليميريز ما ان تتابع النيوكليتويدي فيه مع DNA . دور يميز تحوي على نقطة بدء النسخ. التأكيد أيا من شربطي DNA هو المحقق المحقز الشريط القالب. أن المحفز يتحكم في التعبير عن أول نيوكليوتيد من تمثله الخلاصة الجين ويتأكد من وجود مستوى عال الجين يتم نسخه. فتلك من التعبير الجيني .

النقطة



البروتينات المعروفة باسم عوامل النسخ في خلايا حقيقية النواة ضرورية للارتباط بمنطقة المحفز أو RNA البوليميريز

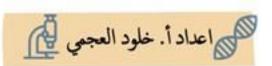


















https://www.youtube.com/watch?v=QFfUFyUvP-w

محزك بحث Google متوفر باللغة: English

https://www.youtube.com/watch?v=yil5fY1DvPM

محزك بحث Google متوفر باللغة: English

Google



https://www.youtube.com/watch?v=d-gUPSVX25U



https://www.youtube.com/watch?v=10YWggmAEsQ



