وحدة ضمان الجودة
كلية الزراعة جامعة بنها
QAUFABU

قسم : الوراثة والهندسة الوراثية برنامج: التكنولوجيا الحيوية الزراعية (وراثة)

المادة : : تكنولوجيا الجينات
الفرقة الثالثة
الفصل الدراسي الثاني للعام الجامعي ٢٠١٣ /٢٠١٤ الزمن : ساعتان

السؤال الأول (٢٠ درجة) اجب عن نقطتين فقط :

(١)ما مفهوم التعبير الجيني (Gene Expression) وكيفية تركيب وتنظيم عمل الجينات في الكائنات الحية .

(٢)كيفية الحصول على فئران محورة وراثيا عن طريق تقنية استبدال الجينات المستهدفة (Gene Targeting)

(٣)خطوات تضاعف البلازميدات Plasmid Replication والطريقة الإنزيمية (طريقة سانجر) لمعرفة تتابع المادة الوراثية أو التسلسل النووي.

السؤال الثاني(٢٠ درجة) **اجب عن نقطتين فقط** :

(١) يمثل الاستنساخ Cloning ثورة علمية هائلة بدأت باستنساخ النعجة دوللى عام ١٩٩٧ واستمرت حتى محاولة استنساخ الإنسان) ناقش هذه العبارة مناقشة علمية تتضمن معنى الاستنساخ وانواعة وكيفية الاستفادة منة مع ذكر خطوات اجرائة والجانب الاخلاقى المتعلق بة

(٢) (للنواقل المستخدمة فى الهندسة الوراثية بعض المميزات وبعض المشاكل والعيوب) تناول هذه المعلومة تفصيليا فيما يتعلق بالبلازميد والبكتريوفاج والكوزميد .

(٣) قارن بالرسم فقط بين :

(P^{UC18} and P^{BR322} plasmid)–

(Semi-conservative –Dispersive of DNA Replication)

الاستقطاع الوراثي العام –-والاقتران البكتيري

.السؤال الثالث : (٢٠ درجة) اجب عن السؤال التالى:

(١) تعتبر الخلايا الجذعيه Stem cells نقطة تحول في المنظومة العلاجية للإنسان) تناول هذه العبارة من حيث : تعريفها – أنواعها – طرق الحصول عليها وتطبيقات استخدامها

(٢) يمثل التحول الوراثي Transformation ظاهرة هامة في مجال تكوين الاتحادات الوراثية الجديدة –ناقش هذه العبارة مع توضيح ميكانيكية هذا التحول الوراثي وأهمية استخدامه في مجال تكنولوجيا الجينات .

مع خالص الأمنيات
أ.د/محمد سراج الدين

قسم : الوراثة والهندسة الوراثية
برنامج: التكنولوجيا الحيوية الزراعية (وراثة)

المادة : تكنولوجيا الجينات
الفرقة الثالثة
الفصل الدراسي الثاني للعام الجامعي ٢٠١٣ /٢٠١٤ الزمن : ساعتان

نموذج إجابة استرشادي غير ملزم

<u>اجابة السؤال الاول</u> : (٢٠) درجة

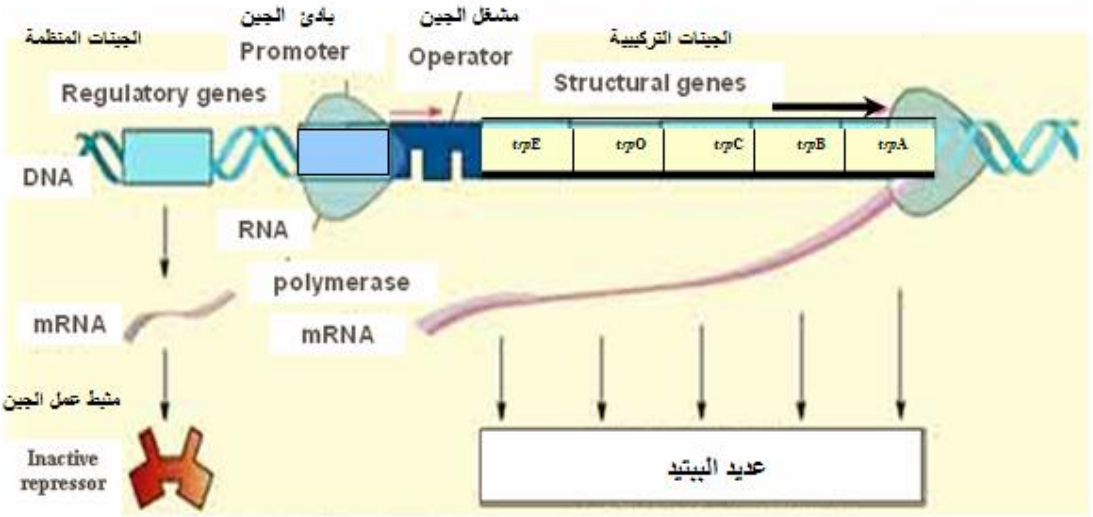
(١): <u>تنقسم الجينات من حيث الوظيفة إلى ثلاثة أنواع :</u>

(٢)<u>النوع الأول</u> :Regulator Genes الجينات المنظمة لعمل عديد من الجينات الأخرى والتي يطلق عليها اسم الجينات العاملة أو الفاعلة –

(٣) <u>النوع الثاني</u> : Operator Genes الجينات العاملة وهى التي تتحكم في فتح وغلق عدد كبير من الجينات المسماة بالجينات التركيبية –

(٤)<u>النوع الثالث</u> : Structure Genes الجينات التركيبية وهى المسئولة عن التركيب الخاص بالبروتينات أو ببروتين الإنزيم . ويوضح الرسم التالي كيفية تنظيم عمل الجينات .

على الطالب شرح هذه العملية بالتفصيل مع توضيح كيفية تنشيط الجينات باستخدام عوامل النسخ Transcription Factors التي ترتبط بجزئ من الجين يعرف بالمعزز أو المنشط Promoter ليتمكن باقي الحين من التعبير عن نفسه في بدء عمل نسخ ال mRNA المسئولة عن إنتاج الإنزيم والذي يقوم بإتمام التفاعل الحيوي وإظهار الصفة المحددة ----الخ .



(٢) **كيفية الحصول على فئران محورة و راثيا عن طريق تقنية استبدال الجينات المستهدفة** (Gene Targeting) : يتضح هذا المثال عن طريق فهم تقنية استبدال الجينات المستهدفة Gene Targeting حيث يتم فيها استحداث لطفرة واستبدالها بجين سليم او سوى داخل احدى الخلايا الجذعية المشتقة من الجنين Embryo derived stem cells من اجنة الفئران ثم ادخالها فى خلايا جنين الفار فتكون بذلك اجنة معطلة الجين المستهدف Knocked out فإذا أدى ذلك الى احداث تشوة فى مخ الفار كان ذلك دليل على مسئولية هذا ال جين عن تكوين المخ . وتتم هذة العملية بثلاث خطوات الاولى عزل جين من ا لخلايا الجذعية المشتقة من الجنين ويحور ذلك الجين لانتاج جين طافر يتم استبداله بجين سوى عن طريق ادخال جين مقاوم للنيوميسين ويسمى هذا بالواسم الموجب الذى يساعد فى التعرف على الخلايا التى تم الايلاج فيها ثم يضاف جين اخر يسمى الثياميدين كيناز ويعرف بالواسم السلبى وبعد تصميم الجين الطافر يتم تحميلة على ناقل مناسب مثل بلازميد القولون حيث يتم ادخال الناقل الى خلايا جنين الفار الجذعية فيقوم الناقل اما بنقل الجين الطافر بدلا من الجين السليم على كروموسوم من كروموسومات خلايا الفار الجنينية حيث يتم استبدال الجين الس وى بجين مشالبة او يتم الادخال اصلا فى الخلايا .....الخ

(٣) خطوات تضاعف البلازميدات Plasmid Replication والطريقة الإنزيمية (طريقة سانجر) لمعرفة تتابع المادة الوراثية او التسلسل النووي

يشمل تضاعف البلازميدات ثلاث خطوات أساسية وهى

مرحلة الابتداء Initiation ثم مرحلة الاستطالة Elongation ثم مرحلة الانتهاء Termination على الطالب شرح هذة المراحل تفصيليا

هناك طريقتان لتحديد تتابع المادة الوراثية DNA او لمعرفة التسلسل النووى:

الطريقة الاولى :طريقة التحطيم الكيميائى The Chemical Degradation Method وتعتمد على كسر ال DNA فى اماكن محددة بمواد كيميائية وليست انزيمية وتسمى طريقة ماكسيم –جلبرت

الطريقة الثانية :الطريقة الانزيمية او طريقة السلاسل الطرفية او طريقة سانجر Chain Termination Method وتعتمد على استخدام اربعة مجاميع من dideoxy termination (dda,ddc,ddg,ddt) وتعتمد على انتاج قطع من DNA تكون نهايتها عبارة

عن نيوكليتيدات خاصة تحتوى على سكر ريبوزى من نوع خاص وهو 2.3-Dideoxyribose حيث تشتمل ذرتى الكربون الثانية والثالثة على ذرة هيدروجين ناق صة لذرتى الاكسجين وبدلا من مجموعة OHعلى ذرة الكربون الثالثة والضرورية جدا ليستطيع انزيم DNA polymeraseمن العمل على اتحاد النيوكليتيدات وتكوين رابطة الاستر بين مجموعة ال OH بالسكر ومجموعة حمض الفوسفوريك فى النيوكليتيدة التالية لتتكون سلسلة DNA الفردية قبل اتحادها مع مثيلتها لبتكوين سلسلتي DNAالمزدوج الخيوط وتستخدم اربعة انواع من النيوكليتيدات للتعرف على تتابع ال DNA ويكمل الطالب الطريقة

<u>اجابة السؤال الثانى ☹(٢٠ درجة)</u>

(١) **<u>الاستنساخ</u>** يعنى الحصول على نسخة طبق الاصل من اصل المادة المستنسخ منها وهى ليست خلق تركيب وراثى جديد بل هى تكرار لنسخة أو أكثر من أصل موجود بالفعل وقسم العلماء الاستنساخ الى **<u>ثلاثة انواع :</u>**

<u>النوع الاول</u> عن طريق استخدام الهندسة الوراثية Recombinant DNA Technology وهناك طريقتان رئيسيتان للنسخ وهما :

النسخ عن طريق استخدام خلايا حية Cell –based DNA cloningاو النسخ باستخدام الخلايا الغير حية Cell-free DNA cloning وذلك باستخدام PCR

ويتم هذا النسخ **<u>بثلاثة وسائل الاولى</u>** باستخدام خلايا حية ويتم **<u>على اربع خطوات</u>** وهى بناء جزيئات ال DNA] المعاد توليفة <u>والخطوة الثانية</u> هى نقل القطعة المهجنة والموجودة داخل تالناقل الى خلية حية <u>والخطوة الثالثة</u> هى عزل سلالات المادة الوراثية والسماح لها بالتكاثر فى اطباق بترى <u>والخطوة الاخيرة</u> هى عزل المادة الوراثية المستنسخة

يتناول الطالب شرح هذا الجزء بالتفصيل

<u>النوع الثانى</u> : الاستنساخ التكاثري أو الجنسي Reproductive Cloning

وهو الحصول على كائن حى بنفس مواصفات المادة الوراثية النووية Nuclear DNA لكائن حى اخر والمثال لذلك هو إنتاج النعجة دوللى وذلك باستخدام خلية جسمية Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT) وعلى الطالب شرح كيف امكن انتاج النعجة دوللى عام ١٩٩٧

<u>النوع الثالث</u> : هو الاسشتنساج العلاجى Therapeutic Cloning

ويقصد بة استنساخ كائنات حية عن طريق الخلايا الجذعية القادرة على انتاج اى خلايا او اعضاء لكنها لاتؤدى الى تخليق كائن كامل والمحولات مستمرة لانجاح هذا التكنيك الاكثر تعقيدا

على الطالب الاستعانة بالرسم كلما امكن لتوضيح الاجابة

الجانب الاخلاقى يمثل اهمية قصوى فى هذا المجال حتى لاتتاعرض البشرية لمخاطر يصعب مجابهتها ويجب عدم التعامل مع الخاليا الجنسية فى هذا المجال وذلك للمحافظة على التنوع البيولوجى وعدم اختلاط الانساب .....الخ

وهناك تقسيمات اخرى للاستنساخ ومنها :

الاستنساخ الجزيئي DNA Cloning-

الاستنساخ الخلوي - Cord blood stem and cells cloning

والاستنساخ الحيواني Reproductive cloning

فوائد الإستنساخ

١ – يفيد الاستنساخ في المحافظة على السلالات النادرة سواء كانت نباتية او حيوانية ومعرضة لانقراض بسبب التلوث الصناعى وخوفا من ان تتحمل البشرية اثار الافتقار إلى التنوع البيولوجى Biodiversity الذي قد يعرض البشرية للمخاطر فيقوم الاستنساخ هنا بمهمة لا نجد بديل عنها وهو ما تقوم به الدول المتقدمة وهو ما يعرف بالبنوك الوراثية والتي يتم فيها جمع السلالات والأنواع النادرة وحفظها وإكثارها واستنساخها من اجل الحفاظ على معلوماتها الوراثية والتي تعتبر مصدر لمربى النبات والحيوان للاستفادة منها والآخذ منها في استحداث وتطوير نباتاته وحيواناته من خلال التقنيات الحديثة في التربية كالهندسة الوراثية ونقل الجينات .

٢– يفيد الاستنساخ في مجال البحث العلمى فمثلا انتاج فأر ليكون موديلا لفأر آخر يعانى من مرض وراثي محدد لإجراء تجارب علاجية وراثية لتحديد افضل سبل العلاج والتي يمكن تطبيقها على الإنسان يكون هنا للاستنساخ فائدة عظيمة لاختيار افضل وانسب الطرق الصالح للبشرية .

٣– اكثار الحيوانات المهندسة وراثيا لانتاج العقاقير بمعنى مضاعفة المصانع الحيوية عدديا لزيادة انتاج العقاقير .

٤– اكثار التراكيب الوراثية التي اثبتت كفاءتها في انتاج الغذاء للبشر .

مخاطر الاستنساخ على البشرية

فإنه سوف يؤثر سلبا بلا شكّ على النوع الإنسانيّ : لأنّ الاستنساخ البشريّ الكامل من خلية بشرية لا جنسية إنما يكون من خلية كاملة النضج ، و دخلت في مرحلة الشيخوخة ..و هذا بطبيعة الحال سيؤثر على النسخة التي ستنشأ عنها في المستقبل ؛ لأنها ستحمل كلّ الصفات الوراثية التي تتعلّق بها ، و منها : المرحلة العمرية ..وكما هو معلوم أنّ لكلّ خلية حيّة في جسم الإنسان عمرا محددا تولد ثم تموت ...

(٢) **<u>للنواقل المستخدمة</u>** فى الهندسة الوراثية بعض المميزات وبعض المشاكل والعيوب)

على الطالب تعريف النواقل وذكر الصفات الاساسية التى يجب ان تتوفر فى هذة النواقل وهى :

١- الثبات الوراثى Genetic stability

أى لا يحدث له تدهور أو إنعزال أو تغيير لجزئ DNA المتكون فى الحاله الفرديه أو عند تداخله مع الكروموسومات بعد نجاح عملية النقل.

٢- يحتوى على معلومات وراثية ثابتة Genetic markers حيث تسمح بسهولة ملاحظة الخلايا التى حدث لها تحول وراثى.

٣- **أن** يحتوى على موقع معروف أو مواقع معروفه لإنزيم من إنزيمات القطع لسهولة فتحه وتحميله بالجين المراد نقله.

٤- أن يكون كثير النسخ مما يسمح بسهولة عزله من الخلايا بكمية كافية.

٥- أن تكون له القدرة علی تنظيم تعبير الجين المتكون تحت تأثير الحافز Promotor .

<u>انواع النواقل وهى</u> :

البلازميد Plasmid – البكتريوفاجBacteriophage – الكوزميد Cosmid والنوع الاخير وهو الكر وموسومات الصناعية للخميرة YAC

ويذكر الطالب متى يستخدم أى نوع من هذة الانواع ومميزات استخدامها وبعض الصعوبات التى تواجة استخدام هذة النواقل وكيفية التغلب عليها

وعلى سبيل المثال فى حالة اسنخام الكوزميد **<u>نتعرض لثلاث مشاكل(صعوبات)</u>**

المشكلة الاولى ان هذا الناقل يحمل صفات اكثر من ناقل واثناء عملية الكلونة يمكن ان يحدث فقد للناقل بالانعزالات وتحل هذة المشكلة باستخدام فوسفات قلوى يمنع التحام الناقل مع ناقل غيرة

المشكلة الثانية :التزاحم نتيجة التحام اكثر من شظية داخل نفس الناقل فتؤدى الى عدم انتظام عملية الالتحام فى الجينوم الاصلى وتحل هذة المشكلة باختيار شظايا ذات حجم مناسب

المشكلة الثالثة :صعوبات فى عد اوحصر كميات كبيرة من النسخ البكتيرية والحل هو استخدام تكنيل Cloning Screening

على الطالب اللاستعانة بالرسم لتوضيح هذة النواقل

(٣)يوضح الطالب بالرسم فقط شامل كافة البيانات الفرق بين :

P^{BR322}, ^{PUC}

Semi –conservative , Dispersive of DNA Replication

الاستقطاع الوراثي العام --والاقتران البكتيري

اجابة السؤال الثالث (٢٠ درجة)

(١) **الخلايا الجذعية Stem cells** تعتبر نقطة تحول فى المنظومة العلاجية للانسان

على الطالب ان يعرف الخلايا الجذعية بانها خلايا غير متخصصة وغير مكتملة الانقسام ولاتشابة اى خلية متخصصة ولكنها قادرة على تكوين خلية بالغة بعد ان تنقسم عدة انقسامات فى ظروف مناسبة

اهميتها انها تستطيع تكوين اى نوع من الخلايا المتخصصة بعد ان تنمو وتتطور الى الخلايا المطلوبة

وهناك شكلان من الخلايا الجذعية وهما الخلايا الجذعية الجنينية embryonic stem cells ويتم الحصول عليها من الجزء الداخلى للبلاستوسايت والخلايا الجذعية البالغة Adult stem cellsوهى توجد فى الانسجة والتى تخصصت لها علما بان الخلايا الجذعية الجنينية تنتج انزيم االتيلوميريز Telomerase والذى يساعدها على الانقسام باستمرار وبشكل نهائى بينما الخلايا الجذعية البالغة لاتنتج هذا الانزيم الا بكميات قليلة او على فترات متباعدة مما يجعلها محد ودة العمر وفرق اخر بينهما وهو ان الخلايا الجذعية الجنينية يمكنها ان تتحول الى جميع انواع الانسجة الموجودة فى جسم الانسان على عكس البالغة التى لاتتمتع بهذة القدرة الكبيرة على التحول .وبالتالى فان الخلايا الجنينية افضل من البالغة.

طرق الحصول على الخلايا ال جذعية الجنينية مباشرة من كتلة الخلايا الداخلية للأجنة البشرية فى مرحلة البلاستوسايت أو تعزل من الأجنة المجهضة

تطبيقات واستخدامات الخلايا الجذعية فى

(١) العلاج الخلوى Cell Therapy – (٢) فى معرفة وتحديد الاسباب الاساسية ومواقع الخطأ التى تتسبب فى الامراض المميتة مثل السرطان وغيرة – (٣) تستخدم فى المجال الصيدلانى (٤) وفى فهم الاحداث المعقدة التى تتخلل عملية تكوين الانسان واخيرا التغلب على الرفض المناعى

(٢) يمثل التحول الوراثي Transformation ظاهرة هامة في مجال تكوين الاتحادات الوراثية الجديدة –.

١–يشرح الطالب مستعينا بالرسم معنى التحول الوراثى اى الانتقال المباشر للمادة الوراثية بين الخلايا مباشرة دون وسيط –يتناول هذا الشرح الخطوات التى يتم من خلالها اتمام هذة العملية الهامة فى الطبيعة وفى حالة اجرائها فى المعمل نظرا لقلة حدوثها فى الطبيعة يتكلم الطالب عن الخلايا المؤهلة لاتمام هذا التحول الوراثى وتحدث احيانا اخطاء اثناء هذا التحول يوضح الطالب كيف يتم اصلاحها – ثم يوضح الطالب أهمية دراسة هذة الظاهرة حيث انها تؤكد ان مادة ا لتوارث فى البكتريا هى ال DNA وتفيد فى التعرف على التبادل الوراثى بين الجين الذى يحمل الشظية والجين الموجود اصلا فى الكروسوم وفى عملية التزاوج والارتباط ....الخ

مع خالص الأمنيات

أ.د/ محمد سراج الدين

أستاذ الوراثة الجزيئية –كلية الزراعة–جامعة بنها