الحيوانات المحورة وراثياً

مند سنة 1975، وبعد اكتشاف بنية DNA ومكوناتها ، تمكن العلماء من استخلاص أجزاء من DNA خلايا مختلفة و زرعها داخل خلايا أخرى ، من أجل إكساب هده الأخيرة خاصيات جديدة لتحسين مردوديتها أو لإنتاج مواد مرغوب فيها ، فنشأت بدلك صناعة جديدة تعتمد على التغيير الوراثي للخلايا الحية عن طريق نقل مورثات ، تسمى التقنيات المعتمدة في هدا التغيير بالهندسة الوراثية.

الكائنات المحورة وراثيا سواء كانت نباتات أو حيوانات أو كائنات دقيقة؛ هي التي تحور لتحتوي على جينات داخل جينوماتها من أنواع مختلفة أو من مملكة أخرى وذلك من أجل ادخال أو حذف صفات خاصة في الكائن.

1- إنتاج الحيوانات المحورة (المعدلة) وراثيا

تتضمن التربية التقليدية للحيوانات تحويرات محددة بالمستودع الجيني(الوراثي) للنوع وذلك إلى أن ظهرت الهندسة الوراثية، فأعلن عن أول الحيوانات المحورة وراثياً عام 1980 (الفئران) ، لكن ظهور أول حيوان محور وراثياً من حيوانات المزرعة كان عام 1985 وتم الحصول فعلاً على أول أغنام وخنازير محورة وراثياً من خلال ادخال تتابعات من DNA، وهذا المورث الغريب من الممكن أن يؤخذ من الكائن المعطي أو يصنع في المخبر أو كلاهما وذلك لإضافة بعض الصفات المرغوبة الناقصة في الكائن أو تغيير بعض الصفات الغير مرغوبة أو حذفها. وتوالت التجارب في هذا المجال لتشمل الماشية والماعز والدجاج و ٣٥ نوعا من الأسماك ، وعلى الرغم من هذه التطورات إلا أن أهداف التحسين أو التحوير الوراثي modification Genetic باستخدام البيوتكنولوجيا الحديثة هي نفسها تقريبا الأهداف التي كنا نسعى لتحقيقها بطرق التربية التقليدية، فكلاهما يسعى إلى تحسين إنتاجية الحيوانات وكفاءة تحويل الغذاء، زيادة قدرة الحيوانات على مقاومة المرض، زيادة قدرة الحيوانات على التأقلم للظروف البيئية، تحسين أو تغيير خصائص المنتجات الحيوانية. إلا أن التحوير الوراثي باستخدام البيوتكنولوجيا الحديثة يتميز بخاصيتين جديدتين لا نستطيع تحقيقهما بالطرق القديمة :

- سرعة الحصول على الصفات المرغوبة.
- نقل صفات معينة (مورثات) بين أنواع لاتمت لبعضها بصلة قرابة، الأمر الذي يؤدى إلى تكوين الحيوانات العبر جينية.

1-1- خطوات إنتاج حيوانات معدلة وراثيا:

1- عزل الـ DNA (المورث المرغوب).

2- مصادر الخلايا والتبويض الفائق من الحيوانات الواهبة.

3- الإخصاب (في الكائن الحي أو في المخبر) وتجميع البويضات والأجنة.

4- إدخال الDNA في الأجنة.

5- نقل الأجنة المحورة إلى الحيوانات المتلقية.

6- الحمل والولادة.

7- تحليل المادة الوراثية للنسل الناتج للحكم على إتمام عملية التحوير الوراثي. وذلك عن طريق:

- عزل DNA.
- استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لو تطلب ذلك لإكثار مادة الوراثة بشكل يسمح بالتحليل.
- عمل بصمة وراثية Fingerprinting لتحليل الـ DNA.

8- التأكد من وجود الجين المنقول وعمل سلالة محورة عن طريق التزاوج بين أفراد محورة وراثياً وأخرى غير محورة، وذلك لمعرفة:

- هل عبر الجين المنقول عن نفسه في الخلايا.
- هل يتوارث الجين المنقول بطريقة مندلية.
- نسبة وجود الجين المنقول في الأجيال المندلية.

2- أهم طرق ادخال الـ DNA الهدف (المرغوب) في الجينوم.

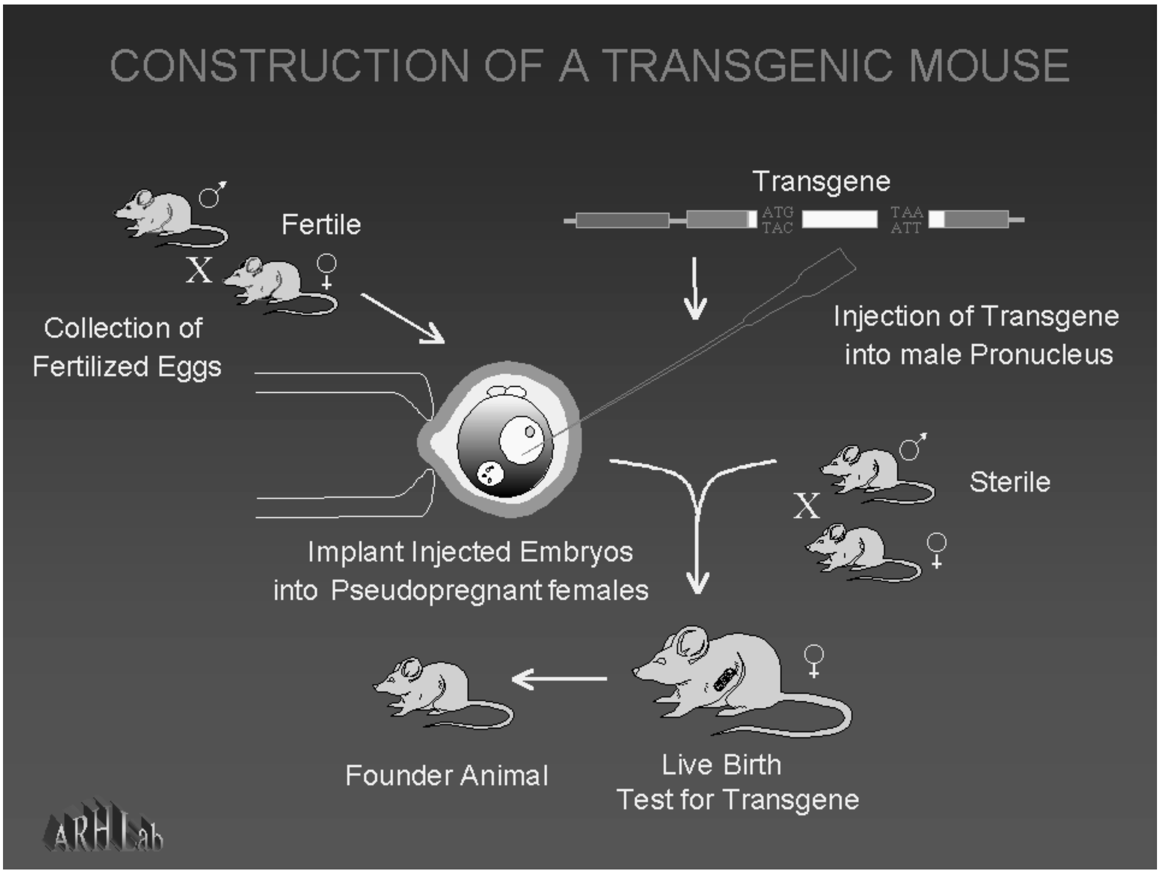
2-**1- حقن المورث(الحقن المجهري)** DNA microinjection : حيث يتم الحقن المجهري للجينات داخل النواة في الخلية الجينية أو الزيجوتية (قبل مرحلة الزيجوت أو في مرحلة الزيجوت).

- في ثمانينيات القرن الماضي، طُبقت هذه الطريقة لأول مرة على الأرانب والخنازير والأغنام، ثم على الماعز والأبقار.

- تمتاز هذه الطريقة بإمكانية تطبيقها بشكل واسع في حيوانات المزرعة بالرغم من أن كفاءتها قليلة حيث تبلغ نسبة نجاحها 1- 4%.

- يتمثل العيب الرئيسي لهذه الطريقة في اندماج بعض نسخ الجين الدخيل عشوائيًا في جينوم الكائن المُضيف، مما يُؤدي إلى تعطيل التعبير الجيني لكلٍ من الجين المُدخَل وجين الكائن المُضيف. تتطلب التجربة عددًا كبيرًا من الأجنة في مرحلة النواة الأولية.

- كما تستغرق وقت طويل وشديدة التكاليف خاصة بالنسبة لحيوانات المزرعة.



شكل () الحقن المجهري للنواة الأولية.

2-2- استخدام الفيروسات الإرتجاعية كنواقل Retroviral vectors:

الفيروسات الإرتجاعية (القهقرية): هي فيروسات RNA قادرة على توليد DNA من RNA باستخدام إنزيمات النسخ العكسي. وتستطيع هذه الفيروسات نسخ نفسها عند انقسام الخلية عن طريق الاندماج في DNA الخلية المضيفة.

- تستخدم هذه الفيروسات لإحداث عدوى مبكرة في طور الانقسام للأجنة. وبالتالي السماح بدمج جين غريب في جينوم الخلية المضيفة. ويمكنها حمل ما يصل إلى 7 أو 8 كيلوبايت من الجينات الغريبة، ولكن في الوقت نفسه، قد لا يكون هذا كافيًا للجينات الطويلة أو التراكيب التي تتطلب تسلسلات تنظيمية واسعة النطاق لعملية النسخ.

- ويتم في البداية التخلص من الجينات المرضية للفيروس. ثم ادخال الجين المرغوب ومفتاح تشغيله(المحفز) داخل الفيروس.

- تعتبر هذه الطريقة أكثر كفاءة من الطريقة الأولى بالنسبة لعدد الأجنة المحورة وراثياً.

- كما تؤدي إلى الموزاييك نتيجة اندماج المورث في مواقع عدة.

2-3- استخدام الخلايا الجذعية الأساسية Embryonic Stem Cells:

تتميز الخلايا الجذعية بخصائص متعددة، منها: 1. الخلايا غير المتمايزة، 2. القدرة على التطور إلى أي نوع من الخلايا (بما في ذلك الخلايا الجسدية والخلايا الجنسية)، مما يؤدي إلى إنتاج كائن حي كامل.

وتعتبر طريقة **الخلايا الجذعية الجنينية (Embryonic Stem Cells - ESCs)** من أقوى وأدق الطرق لنقل الجينات في الحيوانات المحورة وراثياً، خاصة في **الفئران**، حيث:

- من الممكن أن يحل جين يعمل بآخر لا يعمل أو العكس حيث تستخدم مع طريقة الاستهداف الجيني بمعنى ادخال الجين في موقع محدد.

- تنمو الخلايا الجذعية في المزرعة. ويمكن انتخاب الخلايا المحورة بسهولة.

- يمكن حقنها (الخلايا المحورة) في كتل خلايا البلاستوسيست.

- الأجيال الناتجة بها خاصية الشكل الكايميري الخليط.

وفيما يلي شرح خطوة بخطوة لهذه الطريقة:

2-3-1- الحصول على الخلايا الجذعية الجنينية:

- تُؤخذ الأجنة في مرحلة **الكيسة الأريمية (Blastocyst)** طور مبكر جداً بعد الإخصاب.

- تُستخرج منه **الكتلة الخلوية الداخلية(Inner Cell Mass)** ، وهي الخلايا التي تتطور طبيعياً لتكوين الجنين نفسه (وليس المشيمة).

- تُزرع هذه الخلايا في المختبر بوسط غذائي خاص يحافظ عليها في حالة **غير متمايزة (Undifferentiated)**، أي محتفظة بقدرتها على التحول إلى أي نوع من الخلايا.

2-3-2- التعديل الوراثي للخلايا الجذعية:

- ادخال الجين المرغوب (أو يُعطل جين معين) إلى الخلايا الجذعية باستخدام إحدى تقنيات التعديل:

التعديل العشوائي: مثل استخدام فيروسات ناقلة أو نقل الجينات بالكهرباء(Electroporation) .

أو التعديل الموجه :مثل استخدامCRISPR/Cas9 ، لإدخال الجين في موقع محدد بدقة.

- زرع الخلايا في وسط يحتوي على **مضاد حيوي** بحيث لا تنمو إلا الخلايا التي اندمج فيها الجين (علامة انتخابية مثل مقاومة النيوميسين).

- فحص الخلايا الناتجة للتأكد من وجود الجين في الموقع المطلوب وعدم وجود طفرات غير مرغوب فيها.

2-3-3- حقن الخلايا الجذعية المعدلة في أجنة مستقبلة:

- تُؤخذ أجنة طبيعية جديدة في مرحلة الكيسة الأريمية (عادة من سلالة فئران مختلفة اللون عن سلالة الخلايا الجذعية لتسهيل التمييز لاحقاً).

- تُحقن فيها حوالي **10- 15** خلية جذعية معدلة باستخدام ماصة دقيقة جداً تحت المجهر.

- تندمج الخلايا الجذعية المعدلة مع الكتلة الخلوية الداخلية للجنين المستقبل، وتشارك في تكوين أنسجة الجنين النامي.

2-3-4- نقل الأجنة المحقونة إلى أم بديلة:

- تُزرع الأجنة المحقونة في رحم **أم بديلة (foster mother)** تم تهيئتها هرمونياً لاستقبال الأجنة.

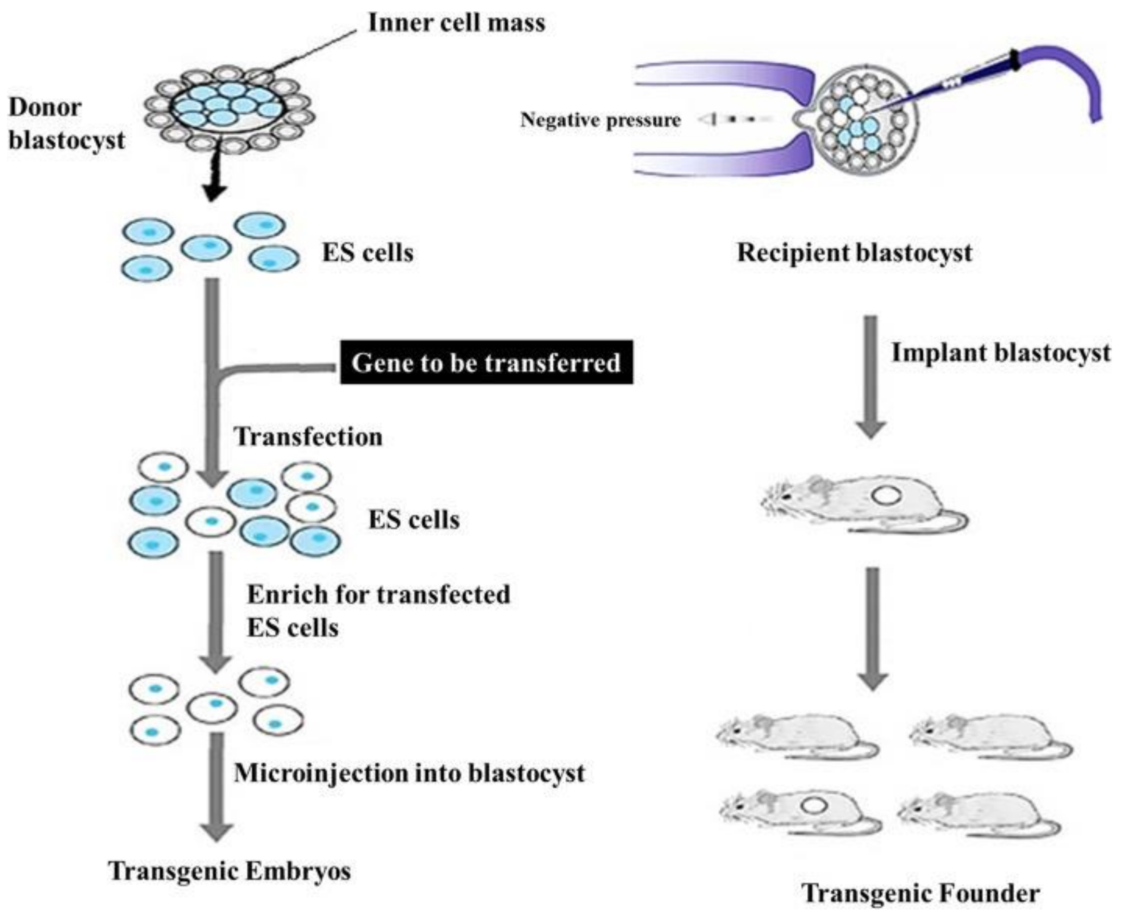
- تتطور الأجنة إلى فئران كيمرية (Chimeric mice) ، أي يتكون جسمها من خليط من خلايا المتبرع المعدلة وراثياً (ذات لون معين) وخلايا الجنين المستقبل (ذات لون آخر).

2-3-5- الحصول على حيوان محور بالكامل (غير كيمري):

- تُزاوج الفئران الكيمرية مع فئران طبيعية.

- إذا دخلت الخلايا الجذعية المعدلة إلى **الخلايا الجنسية (Germline)** للفأر الكيمري، فإن بعض النسل سيحمل الجين المعدل في جميع خلاياه (حيوان متماثل جينياً غير كيمري).

- يُفحص النسل لتحديد الأفراد التي ورثت الجين المحور، ويتم تزاوجها لتأسيس سلالة مستقرة.



شكل ( ). استخدام الخلايا الجذعية الجنينية في نقل الجينات

تطبيقات شائعة لهذه الطريقة:

- نماذج الفئران المعدلة لدراسة الأمراض البشرية (السرطان، السكري، أمراض المناعة).
- اختبار وظيفة الجينات من خلال تعطيلها (Knockout) أو إدخال نسخ بشرية.(Humanized mice)
- إنتاج حيوانات تفرز بروتينات بشرية علاجية في حليبها.

هذه الطريقة رغم صعوبتها وتكلفتها تبقى المعيار الذهبي للهندسة الوراثية الدقيقة في الفئران، وقد كانت أساساً للعديد من الاكتشافات الطبية الحيوية الحاصلة على جوائز نوبل.

الكائن الكايميري: كائن حي تتكون خلاياه من أصلين(أو أكثر) مختلفين وراثياً، نشأ كل منهما من كيسة أريمية مستقلة.

الكائن الفسيفسائي: كائن حي تتكون خلاياه من أصل وراثي واحد (بويضة ملقحة واحدة)، لكن حدث فيها طفرة أو تغيير جيني بعد الإخصاب، (أثناء انقسامات الجنين المبكرة) مما أدى إلى وجود خلايا تحمل تركيباً جينياً مختلفاً عن الخلايا الاخرى.

2-4- استخدام الأسبرم كناقل :

- يتم ارتباط المورث بالاسبرم بعد عملية التحضين له. ويمكن زيادة كفاءة عملية الارتباط عن طريق النفاذية الكهربائية. ثم تنقل للبويضات.

- حدثت محاولة في الفئران والخنازير ولم تتكرر على الرغم من أن العديد من الجينات نقل في الأسماك وقنفذ البحر والضفادع.

2-5 - الاستهداف الجيني:

- يتم اندماج الجين في موقع معين معروف اعتماداً على التتابعات المجاورة للجين المستهدف وذلك عن طريق ناقل مصمم بطريقة خاصة.
- يمكن للجين المنقول أن يعمل على : اعادة وظيفة الطفرة ، تعطيل وظيفة جين محدد وجعله غير نشط.

3- الصعوبات التي تعترض انتاج حيوانات المزرعة المعدلة وراثياً:

- الكفاءة قليلة جداً (أقل من 1%).
- لا يمكن رؤية النواة الأولية بالبويضة . ويستخدم الطرد المركزي للمساعدة ولكن يمكن أن يسبب تحطماً بها.
- طول فترة الجيل.

4- التطبيقات الواردة بالنسبة لإنتاج الحيوانات المعدلة وراثياً:

1- المفاعلات حيوية.
2- معالجة المكونات الموجودة داخل الحليب بالفعل.
3- زيادة الكفاءة الانتاجية لحيوانات المزرعة.
4- زيادة قدرة الحيوانات على مقاومة المرض .
5- استخدام الحيوانات كنماذج لدراسة الأمراض.
6- هندسة الانسجة ونقل الاعضاء الى الانسان.

4-1- المفاعلات الحيوية: Bioreactors

تعرف على انها حيوانات معدلة وراثياً من أجل إنتاج بروتينات تعمل كأدوية. وتوجد طريقتان لإنتاج هذه المفاعلات:

الطريقة الأكثر فعالية هي التي تعبر عن البروتين في الغدة اللبنية باستعمال المستبدئ Promoter من جين البروتين اللبني للتعبير المباشر.

المستبدئ (المحفز): هو تسلسل من النيوكليوتيدات موجود في DNA ، له دور رئيسي في ارتباط إنزيم بلمرة RNA (RNA polymerase) لبدء عملية النسخ الوراثي.

مثال: إنشاء مستبدئ B. lactoglobulin في الأغنام لاستخدامه في التعبير عن عدد من البروتينات البشرية ذات الاستخدامات الطبية (اضافة الجين البشري بالإضافة إلى المستبدئ)

لهذا فإن التعبير يوجه إلى الغدة اللبنية وغالباً الأغنام، الأبقار، الماعز، الخنزير. والبروتين البشري يفرز مباشرة في الحليب.

في الطريقة الثانية: البروتين العلاجي المرغوب طبياً ينتج في سوائل لبنية غير الدم (إلى هذه اللحظة تستخدم هذه الطريقة فقط في الخنازير لإنتاج الهيموغلوبين).

وقد كان هرمونا الأنسولين والنمو هما أول ما تم إنتاجه من البروتينات البشرية، بواسطة البكتيريا، في أوائل الثمانينيات من القرن العشرين. وتتميز البكتيريا بكفاءتها وسرعة نموها، بالإضافة إلى عشرات السنوات من الخبرة المكتسبة في مجال إنتاج الأدوية من النظم البكتيرية. إلا أن فشل النظم البكتيرية في تصنيع البروتينات البشرية بطريقة صحيحة أي مطابقة تماما للبروتين البشرى أدى إلى تطوير نظم الإنتاج الأخرى مثل خلايا الثدييات، وتم بالفعل الإنتاج التجاري لعدد من هذه البروتينات مثل الأريثروبيوتين، عوامل التجلط الثامن والتاسع وألبيومين مصل الدم البشرى ومنشط البلازمينوجين النسيجى. مما أدى إلى ظهور مايعرف بالصيدلية البيولوجية.

ويقصد بالصيدلية البيولوجية : إنتاج المركبات الدوائية بواسطة حيوانات المزرعة مثل الأبقار والأغنام والماعز. والعملية تتم بإدخال الجين البشري –الذى يشفر للبروتين المرغوب- فى جينوم الحيوان بحيث يتم التعبير عنه (تخليق البروتين) فى نسيج الضرع فقط ، ولذلك فانه لابد من إضافة قطعة من الـDNA تسمى المحفز أو المنظم إلى الجين البشرى، هذه القطعة تعتبر بمثابة المفتاح الذى يغلق أو يفتح عمليتى النسخ والترجمة بحيث يقتصرا على نسيج الضرع فقط، حتى يتم إفراز البروتين في الحليب. أي الحصول على المنتجات ذات الأهمية الطبية في الحليب .

وهناك عدد من الأسباب وراء استخدام الحيوانات في إنتاج الدواء أهمها:

١- يمكن بواسطتها إنتاج الدواء بكميات كبيرة وبتكاليف قليلة حسب التوقعات المستقبلية.

٢- يمكن عند زيادة الطلب على الدواء الإكثار من هذه الحيوانات بسهولة، وبالتالي مضاعفة الإنتاج.

٣- إنتاج هذه البروتينات الدوائية في خلايا الثدييات يعنى أنها في الصورة التركيبية المناسبة لجسم الإنسان. ولكن يجب قبل القيام بمثل هذه المشروعات التأكد تماما من أنه لا يوجد أمامنا أي بديل آخر يتمتع بنفس المميزات. ومن أهم المركبات البيولوجية ما يأتي:

4-1-1- عوامل الدم:

4-1-1-1- منشط البلازمينوجين النسيجي: إنتاج بروتينات غريبة في حليب الحيوانات العبر جينية بدأ في عام ١٩٨٧م حينما نشر علماء فى المعهد القومى للصحة فى الولايات المتحدة تقريرا عن إنتاج منشط البلازمينوجين النسيجى (TPA) في حليب الفئران ، وهو عبارة عن مذيب لجلطات الدم التي تسبب النوبات القلبية والدماغية.

4-1-1- 2- بروتينات تجلط الدم: عامل التجلط البشرى التاسع Factor IX : الذى يستخدم في علاج مرضى سيولة الدم أو الهيموفيليا Hemophilia B، وعامل التجلط البشرى الثامن Factor VII الذى يستخدم في علاج الهيموفيلياA ، ومن المعروف أن عوامل تجلط الدم (الثامن والتاسع) التي تستخدم لعلاج مرضى الهيموفيليا يتم استخلاصها من بلازما الدم، وتكون أسعارها مرتفعة لأن تركيزها في الدم محدود، بالإضافة إلى صعوبة استخلاصها وتنقيتها. وتتكلف الجرعة أو الحقنة الواحدة حاليا أكثر من ٩٠٠ دولار في تايوان أما إذا استخلصت من حليب الحيوانات العبر جينية فى المستقبل فيمكن أن تتكلف دولار واحدا .

4-1-2- هرمون النمو البشري:

في بداية عام ٢٠٠٢م تمكنت شركة للبيوتكنولوجيا بالأرجنتين من تطوير بقرتين يمكنهما إفراز هرمون النمو البشرى hGH في حليبهما. وكان الهرمون الذى تنتجه البقرة الواحدة يكفى لسد حاجة الأرجنتين كلها، حيث يوجد بها حوالى ألف طفل يحتاجون هذا العلاج. وتقدر احتياجات الأرجنتين من الهرمون تقدر بحوالى ٧ ملايين دولار، بينما الاحتياجات العالمية تبلغ واحد بليون دولار، و هذه الشركة هي الوحيدة على مستوى العالم حتى الآن (شباط ٢٠٠٤ تاريخ نشر الخبر) التي تنتج هذا الهرمون من الأبقار المعدلة وراثيا، إلا أن الهرمون ينتج بطرق بيوتكنولوجية أخرى في مناطق عدة من العالم.

4-1-3- الأنزيم المضاد للتربسين : (αl–antitrypsin)(AT) لمرضى الامفزيما Emphysema أو انتفاخ الرئة ، إذ يعانون من صعوبات شديدة في التنفس. وهذا المرض له أسباب وراثية، ويتم إفراز إنزيم AT بمعدل ٢جم/يوم في الأشخاص العاديين ووظيفته لحماية الرئتين من الإنزيمات المضادة للالتهابات، ولكن في المرضى وراثيا يفرز الكبد إنزيما معيبا يعرف بالصيغة Z من الإنزيم لا يستطيع حماية الرئتين،

وبالتالي يتعرض هؤلاء الأفراد للإصابة بالامفزيما في الثلاثينات أو الأربعينات من العمر. وبعض الأطفال المصابين بهذا العيب الوراثي يصابون بتليف الكبد بسبب تجمع الإنزيم المعيب فى الكبد.

وقد أمكن في السنوات الأخيرة تطوير أغنام عبر جينية تستطيع إنتاج إنزيم AT بوفرة، وبسعر رخيص حتى يكون متاحاً أمام المرضى الذين يحتاجون كميات كبيرة منه (حوالى 4 جم/الأسبوع أو ٢٠٠ جم/السنة) يتعاطونها بالاستنشاق بنفس الطريقة التي يتعاطى بها مرضى الربو علاجهم.

2-4- معالجة المكونات الموجودة داخل الحليب بالفعل.

أجريت كثير من التجارب التي تهدف إلى تغيير خصائص معينة في اللحم، الحليب، الصوف، البيض باستخدام تكنولوجيا نقل الجينات، ولكن تغيير تركيب الحليب ومكوناته كان أهم ما استحوذ على تفكير العلماء، وكانوا يسعون من وراء ذلك إلى تحقيق ثلاثة أهداف رئيسة:

4-2-1- زيادة نسبة المكون الأعلى قيمة في الحليب وهو البروتين، فمجرد زيادة قدرها ١٠ % في نسبة البروتين في الحليب تؤدى إلى زيادة أرباح صناعة الألبان في الولايات المتحدة وحدها بمقدار ٦٠ مليون دولار سنويا. وقد تمكن العلماء من تطوير أبقار عبر جينية تنتج كميات كبيرة نسبيا من نوعين من بروتين الحليب المعروف بالكازين (casein). و من المعروف أن الكازين هوالبروتين الرئيسي في الحليب، إذ يشكل 80% من بروتينات الحليب وهو الذى يعطى الحليب خواصه الغذائية والتصنيعية.

ويحتوى الحليب البقرى على أربعة أنواع من الكازين (**α_{S1}- , α_{S2}-, β- , k- casein**) تتجمع معا وتكون وحدات غروية كبيرة ، يتراوح حجمها بين ٢٠ - ٦٠٠ نانوميتر. وهي ذات أهمية كبيرة في صناعة الجبن؛ البيتا كازين (β) مهم في التحكم بمستوى الكالسيوم في الحليب، أما الكابا كازين(k-casein) فهو مهم في تحديد صفة التخثر أثناء صناعة الجبن.

جزيئات كازين الحليب البقري: α_{S1}- , α_{S2}-, β- and k- casein مشفرة بنسخة واحدة من المورثات (هذه المورثات تكون مرتبطة وعلى الصبغي 6). وقد سعى الباحثون إلى زيادة عدد النسخ من هذه المورثات فتبين أن محتوى الكازين الكلي ازداد بمقدار 17- 35 % في حليب بقرتين أظهرتا آثار التحوير الوراثي بوضوح بالمقارنة مع الأبقار غير المحورة وراثياً.

4-2-2- إنتاج حليب بقرى يماثل في خواصه الحليب البشرى لتحسين خواص الفورميولا Formula المحضرة صناعيا لتغذية الأطفال.

- اللاكتوفيرين: Lactoferrin بروتين يحتوى على حديد ويوجد في حليب الأم ويفيد في حماية الرضيع من العدوى بعدد كبير من الأمراض، ويقع ضمن مضادات الأكسدة. Antioxidants وقد

جذب هذا البروتين انتباه كثير من الباحثين نظرا لخواصه المناعية الفريدة ومقاومته للعدوى الفيروسية والميكروبية والفطرية. واللاكتوفيرين يقع ضمن أهم بروتينات الشرش، وهى بروتينات معقدة تتألف من مجموعة من الببتيدات الصغيرة، ويوجد بنسبة 0.5 – 1 % من بروتين الشرش المستخلص من اللبن البقري، بينما تبلغ نسبته في بروتين الشرش المستخلص من لبن الأمهات حوالى ١٥ % ، ويعتقد كثير من الباحثين أنه المسئول عن قدرة الأطفال الذين يرضعون من صدور أمهاتهم على مقاومة العدوى بمختلف أنواعها موازنة بأقرانهم الذين يرضعون الحليب المجهز صناعيا لتغذية الأطفال – الفورميولاFormula .

وفى عام ١٩٩٠ أنتجت الشركة الكندية GenPharm ثورا عبر جينى يحتوى على الجينات البشرية التى تشفر لبروتين اللاكتوفيرين. وعندما يتزاوج هذا الثور، فإنه سيمرر هذه الجينات إلى "بناته" وبعد أن يصلن إلى تمام النضج فالحمل ثم الولادة فإنهن سينتجن حليبا يحتوى على اللاكتوفيرين البشرى. وبالمثل، استطاع العالم Berkel وآخرون عام ٢٠٠٢م تكوين أبقار عبر جينية أنتجت أيضا اللاكتوفيرين فى حليبها.

- الليزوزيم (Lysozyme) : يوجد في الحليب البشري ويعادل ٣٠٠٠ ضعف الموجود في الحليب البقري، والليزوزيم عبارة عن بروتين مضاد للميكروبات يساعد في حماية الأطفال من الإصابة البكتيرية خلال الأيام الأولى بعد الولادة.

وتؤدى إضافة الجينات التي تشفر لليزوزيم واللاكتوفيرين البشريين إلى جينات الأبقار إلى تحسين الخواص التعقيمية أي المضادة للبكتيريا في الحليب المنتج، وبالتالي تقليل قدرته على نقل الأمراض. بالإضافة إلى أن زيادة تركيز هذين البروتينين في الحليب يؤدى إلى زيادة مقاومة الأبقار لعدوى التهاب الضرع Mastitis . ويعتقد العلماء الذين يقفون وراء هذه الأبحاث أن الحليب الناتج من قطعان الأبقار المعدلة وراثيا يمكن أن يوفر بديلا لحليب الأم والحليب الاصطناعي للأطفال الرضع , الذي كثيرا ما ينتقد باعتباره بديلا أقل درجة.

- ألفا لاكتالبيومين : α- lactalbumin استطاع العلماء أيضا (1999) ,تطوير أبقار عبر جينية تنتج هذا البروتين بكميات أكبر من المعتاد. ومن المعروف أن هذا البروتين يوجد في حليب الأم وفي الحليب البقري أيضاً ولكن بنسبة أقل . وإليه يعزى الفرق بين النوعين في تركيب الأحماض الأمينية، فالأول غنى بمحتواه من التربتوفان والسيستين والمثيونين موازنة بالثاني. والتربتوفان بوجه خاص هو الذى يعطى للاكتوفيرين هذه الأهمية لكثرة تواجده فيه (٥ جم/١٠٠جم بروتين). وهو مهم جدا للجسم لأنه يدخل في تركيب بعض النواقل أو المرسلات العصبية الهامة مثل السيروتونين Serotonin بالإضافة إلى أهميته في تخليق حمض النيكوتينيك (فيتامين B3) وهرمون الميلاتونين، لذلك فإنه لصنع تركيبة تجارية أو فورميولا للأطفال من الحليب البقري بحيث تكون مشابهة لتركيب حليب الأم فإنه يجب أن اضافة المزيد من الفالاكتالبيومين، ولا يتأتى ذلك الا بالحصول عليه من مصدر رخيص نسبيا، ألا وهو لبن الأبقار العبر جينية.

4-2-3- تخفيض نسبة سكر الحليب (اللاكتوز) لفتح مزيد من الأسواق أمام تجارة الألبان، إذ يقدر نسبة من يجدون صعوبة في هضم اللاكتوز(Lactose intolerance) بحوالى٧٠ %من سكان العالم، خصوصاً في آسيا. ويعود ذلك إلى نقص كبير في أنزيم اللاكتاز في أجهزتهم الهضمية . فقد تمكن جوست وزملائه في فرنسا من إنتاج حيوانات محورة وراثياً تنتج حليباً منخفض اللاكتوز كما تمكنوا من إنتاج فئران تظهر انزيم اللاكتاز في غددها الثديية مما إلى انقاص سكر الحليب إلى ما بين 50 - 85%عن المعدل الطبيعي دون احداث أي تغيير في المكونات الأخرى. وقد نمت صغر الفئران التي رضعت هذا الحليب نموا طبيعياً.

4-3- زيادة الكفاءة الانتاجية لحيوانات المزرعة:

4-3-1- زيادة سرعة النمو في الحيوانات: معظم أبحاث نقل الجينات في حيوانات المزرعة تركزت حول زيادة سرعة النمو، أولاها بسبب أهميتها من الناحية التجارية، وثانيها لأن هرمونات النمو استخدمت في تجارب سابقة مع الفئران.

لقد حاول العلماء نقل الجينات التي تشفر (تكود) لهرمون النمو بين حيوانات داخل النوع الواحد أو بين الأنواع المختلفة من الحيوانات على أمل أن يؤدى ذلك إلى زيادة سرعة نمو المواليد ووصولها بالتالي إلى الوزن المناسب للذبح أو التسويق في عمر مبكر نسبيا ومن المعروف أن هرمون النمو Growth hormone أو السوماتوتروبين Somatotropin من الهرمونات القوية التي تفرزها الغدة النخامية، وتؤثر في نمو الهيكل العظمى والعضلات في الحيوانات الصغيرة، كما أن له تأثيرا كبيرا في تمثيل الكربوهيدرات والدهون بالجسم.

أبدت بعض الحيوانات العبر جينية زيادةً في سرعة النمو، وزيادة في نسبة اللحم/الدهن، وزيادة في كفاءة تحويل الغذاء، ولكن كل ذلك لم يحدث بدون مقابل، بل إن المقابل كان باهظا، فقد أصيبت هذه الحيوانات (الخنازير) العبر جينية بأمراض لا حصر لها: قرحات في المعدة، أضرار لحقت بالكلى والكبد أمراض في المفاصل والأرجل، فقدان التوازن، زيادة القابلية للإصابة بالالتهاب الرئوي، ضعف الرؤية، مرض السكر، أمراض جلدية .

4-3-2- انتاج حيوانات ضخمة : في عام ١٩٩٧م نجح فريق من العلماء بجامعة جونز هوبكنز، من اكتشاف الجين المسئول عن تنظيم كتلة العضلات في الجسم أو مضاعفة العضلات Double muscling كما يسمونه، هذا الجين يشفر لبروتين يسمى مايوستاتين Myostatin. عندما قاموا بإبطال مفعول الجين الذى يكود للمايوستاتين فى الفئران حصلوا على فئران عبر جينية تبلغ مرتين إلى ثلاث مرات حجم الفئران العادية. وتجدر الإشارة إلى أنه يوجد نوعان من الماشية هما الماشية البلجيكية الزرقاء والبيدمونتيز Piedmontese & Blue Belgian تظهران نفس الصفة أي "العضلات المضاعفة" بسبب حدوث طفرة في الجين الذى يكود لبروتين المايوستاتين أدت إلى إبطال مفعوله. الأمر الذى يؤكد أن هذا

الجين يقوم بنفس الوظيفة البيولوجية – توقيف بناء العضلات- في كل من الفئران والماشية.. هذا الاكتشاف قد يفتح الطريق أمام تطوير حيوانات لإنتاج اللحم القليل الدسم.

4-3-3- إنتاج الصوف في الأغنام : حاول باحثون في استراليا ونيوزيلاندا زيادة إنتاج الصوف، من منظور تحسين استفادة الأغنام من الحمض الأميني سيستين Systein ،وهو من الأحماض الأمينية الأساسية بالنسبة للأغنام بمعنى أن أجسامها لا تستطيع تصنيعه داخليا بل لابد من أن تحصل عليه عن طريق الغذاء لأنه يدخل في تركيب الصوف، ولذلك فإنه يعتبر من العوامل المحددة لإنتاج الصوف.

فالكائنات الأولية مثل البكتيريا والخميرة تستطيع تصنيع السيستين من المواد الأولية، لذلك حاول العلماء نقل اثنين من الجينات من البكتيريا أو الخميرة إلى الأغنام لكي تستطيع تخليق هذا الحمض الأميني. وقد ظهر أول تقرير عن أغنام مزودة بجينات تخليق السيستين في عام ١٩٩٥م، ولسوء الحظ لم تستطع هذه الأغنام (٢٨ رأساً) تخليقه إلا بكميات ضئيلة ولعدة شهور فقط. وتجدر الإشارة إلى أن إدخال دورات تمثيلية معقدة من البكتيريا إلى الثدييات لا يمكن دون الإخلال بعمليات التمثيل الغذائي في الحيوان ككل.

4-4- زيادة قدرة الحيوانات على مقاومة المرض :

من خلال:

- نقل الجينات الخاصة بمقاومة المرض للحيوان.
- إزالة الجينات التي ربما تسبب إصابة الحيوان بالمرض.

أجريت محاولات لنقل جينات الأجسام المناعية Immunoglobulins إلى الخنازير والأغنام لكي تعطي الحيوانات مناعة ضد العدوى بالبكتيريا، ولكن هذه المحاولات باءت بالفشل .كذلك حاول الباحثون التوصل الى ابقار عبر جينية لها القدرة على مقاومة مرض التهاب الضرع ولكنهم لم ينجحوا حتى الآن إلا مع الفئران، حيث قاموا بنقل تركيبة جينية إلى الفئران مكنتها من إنتاج المضاد البكتيري Lysostaphin،وعلى أية حال يمكن اعتبار هذه التجربة بمثابة المقدمة التمهيدية لتكوين أبقار عبر جينية تتمتع بنفس الخاصية.

4-5- استخدام الحيوانات كنماذج لدراسة الأمراض:

مثل استخدام الفئران المخبرية Knockout mouse التي يتم اسكات مورثة ما او عدة مورثات فيها من أجل معرفة دور هذه المورثات وعادة تستخدم بكثرة لدراسة الأمراض عند الانسان الناجمة عن الفقدان الوظيفي لإحدى المورثات مثل مرض التكيس الوظيفي وبيتا تلاسيميا وأنماط مختلفة من السرطانات. يمكن لهذه الفئران أن تستخدم لتقصي الجوانب الفيزيولوجية للمرض ولتطوير واختبار الأدوية المناسبة. ولكن هناك بعض المشاكل التي تتعلق بالفرق بين تعريف مظاهر بعض الأمراض الوراثية في كل من الإنسان والحيوان .

6-4- هندسة الانسجة ونقل الاعضاء إلى الإنسان:

يستهدف انتاج حيوانات المزرعة المعدلة وراثياً لتزويدنا بالأعضاء لزراعتها داخل البشر المرضى اعتماداً على أن إدماج المورثات البشرية داخل جينوم الحيوان لاستخدام أعضائه في المرضى يقلل من الرفض. حيث تقوم هذه الحيوانات المحورة وراثياً بالتعبير عن البروتينات البشرية المسؤولة عن الرفض المناعي في أسطح خلايا أنسجتها وأعضائها بحيث تصبح هذه الأعضاء من الناحية العلمية ممكنة الاستخدام في البشر دون الخوف من رفضها . وقد أعلن في كانون الثاني 2002 عن استنساخ خنازير مولفة وراثياً تصلح لهذا الغرض. هناك العديد من المخاوف والقلق حول هذا الموضوع منها الطبي و الاجتماعي والاقتصادي وحتى الديني.

5- الإستنساخ Cloning

ما هو الاستنساخ **(Cloning)؟**

كلمة نسخة (Clone) تعني مجموعة من الخلايا أو المخلوقات الحية المتطابقة وراثياً (أي أن مادتها الوراثية متطابقة) نتجت من خلية واحدة أو مخلوق واحد عن طريق التكاثر اللاجنسي. ومن هذا يمكن تعريف الإستنساخ بأنه عملية إنتاج نسخ مطابقة وراثياً للخلية أو المخلوق الأصلي. وفي مجال التقنية الحيوية (Biotechnology)، يستعمل هذا المصطلح ليدل على عدة عمليات يقوم بها البيولوجيون في المخبر منها استنساخ الجنيات وهنا يتم انتاج جين (Gene) معين في صورة نقية وبكميات كبيرة، واستنساخ الخلايا وهنا يتم إنتاج خلايا كثيرة مطابقة للخلية الأصلية، وأخيراً استنساخ المخلوق الكامل، وفي هذه الحالة يتم إنتاج نسخ مطابقة للمخلوق الأصلي. والخلاصة هي أن الاستنساخ هو مضاعفة عدد الجنيات أو الخلايا أو المخلوقات الحية من كينونة أصلية واحدة.

في مجال التقنية الحيوية (Biotechnology) يتم منذ حوالي أكثر من ثلاثين سنة استخدام تقنية استنساخ الجينات والخلايا. هذه التقنيات استخدمت لإنتاج الأدوية واللقاحات لعلاج الأمراض مثل أمراض القلب والكلية وأمراض السكري والسرطانات المختلفة والتهاب الكبد وغيرها. كذلك هناك أبحاث جارية لاستنساخ أعضاء الجسم الإنساني وأنسجته .

- استنساخ الجين :

علمنا بأن الخلية تحتوي على الآلاف من الجينات المختلفة ممثلة بأعداد مختلفة في خليط معقد. فمثلاً بعض الجينات ممثلة بعدد قليل من النسخ وبعضها بعشرات النسخ وبعضها ربما يصل إلى آلاف النسخ. وللحصول على جين معين بصورة نقية وبأعداد كبير من النسخ، نقوم باستنساخ ذلك الجين. ويتم استنساخ الجين لعدة أغراض، منها تركيب الجين أي تسلسل النيوكليوتيدات في ذلك الجين، ودراسة وظيفته وربما استعمال الجين

لإنتاج بروتينات لاستعمالها كأدوية مثل الأنسولين وعامل التخثر الدموي ... إلخ. وهذه التقنية تعتبر اليوم من التقنيات السهلة والكثير من المخابر في جميع أنحاء العالم تستعملها في بحوثها.

الخطوات الأساسية في تقنية استنساخ الجينات :

1- يتم تحديد القطعة المراد نسخها ثم يضاف اليها انزيم قاطع محدد فيقوم هذا الأنزيم بقطع الـDNA في مكان محدد حسب التسلسل النووي. ثم يضاف نفس الأنزيم للناقل الذي يقطعه بنفس التسلسل النووي.

2- يتم إدخال قطعة الـ (DNA) المحتوية على الجين المراد استنساخه في قطعة (DNA) دائرية تسمى الناقل (Vector). وهذا الناقل يساعد على إدخال الجين داخل خلية بكتيرية.

3- داخل الخلية البكتيرية، تبدأ الناقلة في التضاعف، منتجة أعداد كبيرة من النسخ المطابقة لها ومتضمنة قطعة الـ (DNA) المحتوية على الجين الذي نقلته.

4- عندما تنقسم الخلية البكتيرية، تنتقل نسخ من الناقل المحتوي على الجين إلى الخلايا البكتيرية الجديدة ويتضاعف الجين من جديد.

5- بعد أن تتكاثر البكتيرية عدة مرات، يتم اختيار المستعمرة المحتوية على الجين المطلوب بواسطة عملية الغربلة(Screening). وبهذا نكون قد حصلنا على نسخة نقية من الجين المطلوب.

- استنساخ الخلايا

ماذا يقصد باستنساخ الخلايا؟

يقصد باستنساخ الخلايا، إنتاج عدد كبير من الخلايا من خلية واحدة.

فأحياناً يحتاج العلماء لدراسة نوع معين من الخلايا أو تأثير بعض الجينات في خلايا معينة. ولإنجاز هذا الهدف يتم عزل الخلية المراد دراستها واستنباتها في المخبر لتنقسم وتعطي عدد كبير من الخلايا المطابقة لها وراثياً، أي أنها تحمل نفس الصفات الوراثية. وفي بعض الأحيان يراد دراسة تأثير جين معين على وظائف نوع من الخلايا، فيتم إدخال نسخة من ذلك الجين (جين غريب) في خلية وإكثارها ومقارنتها بخلايا لا تحتوي على ذلك الجين.

- الاستنساخ بواسطة تقنية نقل النواة Nuclear Transfer Technology :

يعرف هذا النوع من الاستنساخ بانه انتاج لكائن حي له نفس المادة الوراثية للكائن الحي المنسوخ منه. ويعرف أيضا بالاستنساخ التكاثري أي استنساخ الكائنات الحية بالكامل.

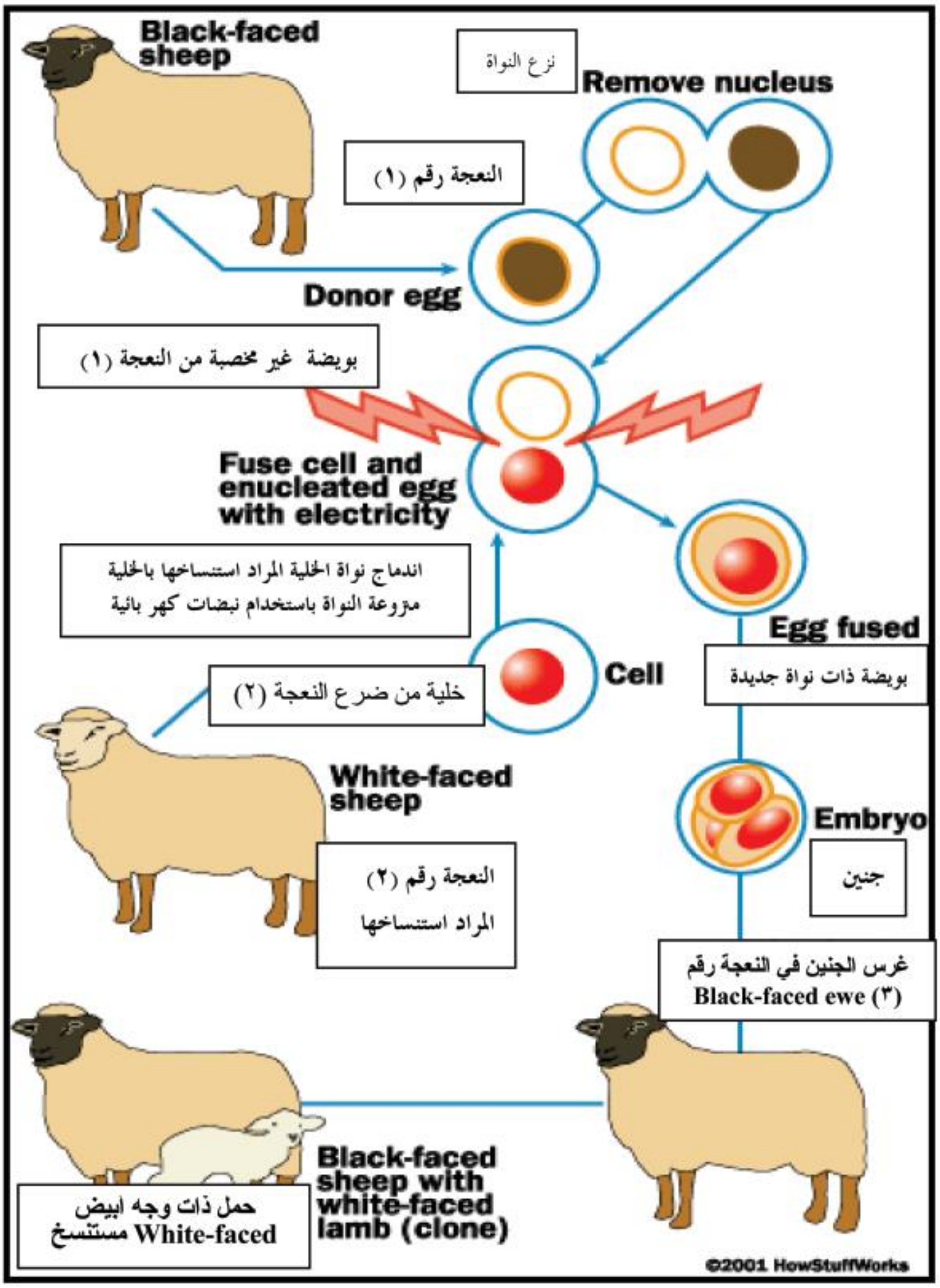
أول من نجح في استخدام هذه التقنية هو الدكتور إيان ويلموت (Ian Wilmut's) وفريقه البحثي بمختبر روزلين بالتعاون مع شركة(Therapeutics PPL) في سكوتلندا، حيث أنه في شهر شباط من عام (1997) أعلن فريق ويلموت عن ولادة دوللي (Dolly) وهي نعجة لها نفس التركيب الجيني (DNA) الذي تحمله أمها.

وبشكل مبسط نقلت نواة من خلية من خلايا الجسم غير الجنسية أي غير التي في مبيض الانثى اوفي خصية الذكر ، والخلية التي استعملت لاستنساخ دوللي من خلايا الضرع لنعجة أخرى ، ومن ثم أخذت أيضاً بويضة من المبيض وتخلص العلماء من نواة تلك البويضة ، ثم زرعوا النواة التي أخذوها من الضرع في داخل البويضة ، وتم صعق تلك البويضة بالكهرباء لكي ينشطوا عملية الانقسام ، وبعد ان بدأت هذه البويضة بالانقسام غرزوها داخل رحم نعجة حيث نما الجنين في الرحم ، فاصبح نعجة كاملة .

وكما هو معلوم فإنه لو تم إنتاج دوللي طبيعياً أي من أب وأم لكان نصف مادتها الجينية (DNA) من الأب والنصف الآخر من الأم. ولكن في حالة دوللي فالأمر يختلف، حيث أن مادتها الجينية (DNA) جاءت من الأم فقط وليس لها أي مادة جينية من طرف آخر ولهذا السبب تعتبر دوللي نسخة مطابقة لأمها .

وبهذا تعتبر دوللي بدون شك أشهر نعجة في التاريخ، والذي يميز دوللي أنها كانت أول مخلوق حي يستنسخ من خلية متخصصة (في حالة دوللي الخلية أخذت من ضرع نعجة أي أنها خلية ثديية متخصصة). قبل دوللي كان هناك عدد قليل جداً من العلماء يعتقد بأن عملية التخليق هي عملية عكسية. أي أن الخلية المتخصصة يمكن أن تصبح خلية مولدة من جديد وتنتج خلايا متخصصة جديدة. ولكن عندما تم الإعلان عن دوللي أصبحت هذه الفكرة حقيقة علمية.

تاريخياً، في السبعينات من القرن الماضي حاول بعض العلماء في جامعة كامبردج من عزل نواة من خلية متخصصة من ضفدع ووضعها داخل بويضة منزوعة النواة ولكن النتيجة كانت انقسام البويضة عدة انقسامات ولكنها لم تنمو إلى مرحلة الحيوان الكامل.



- الاستنساخ العلاجي:

ويقصد به استنساخ كائنات حية بأخذ خلايا جذعية ولا يسمح بالوصول الى تخليق كائن حي كامل . وتنبع أهمية هذه الخلايا من قدرتها على انتاج أي خلية او عضو كامل كالكلية والكبد .

و لا يتم فيه غرس الجنين (الخلايا المستنسخة) ضمن الرحم وانما تنمى الخلايا ضمن طبق الزراعة الخلوية في المخبر لأغراض علاجية.

6- مشاكل الهندسة الوراثية (صعوبات – مخاطر).

6-1- صعوبات التحوير الوراثي في الحيوانات الزراعية:

تعود لأسباب عديدة أهمها:

- انخفاض كفاءة التحوير الوراثي (نسبة النجاح حوالي 0,5%).
- ارتفاع تكاليف إنتاج ورعاية الأبقار المحورة وراثياً إلى جانب طول فترة الجيل فيها وقلة أعداد المواليد خلال حياتها الإنتاجية.

6-2- مخاطر الهندسة الوراثية:

6-2-1- عند تحسين إنتاجية حيوانات المزرعة، بطريقة نقل الجينات فإنه لابد أن يتبع ذلك تغيير في بعض النظم الفسيولوجية في الحيوان مما يؤثر في التوازن الدقيق في البيئة الداخلية للجسم الذي استقر خلال عقود طويلة من الانتخاب والتحسين، ولذلك فإن جينوم الحيوان بوضعه الحالي يحتوي على التوليفة المثلى من الجينات التي يصعب تغييرها أو تعديلها دون الإضرار بصحة الحيوان وحياته.

6-2-2- التأثيرات السلبية التي تخلفها الفيروسات، التي تستخدم في نقل المورث من كائن لآخر، عندما تكون هذه الفيروسات مسرطنة.

6-2-3- النتائج المجهولة للجين الجديد في حالة الخطأ في تحديد موقع الجين المراد استبداله . ويتساءل البعض عما يمكن ان يحدث لو أن العلماء توصلوا الى نتائج خاطئة أدت الى تشكيل مخلوق لا يمكن التخلص منه، أو أن جرثومة خطرة خرجت من المختبر وتكاثرت بسرعة وأدت إلى نشر وباء في العالم يمكن أن يقضي على البشرية كلها.

6-2-4- الأخطاء التي تنتج عن الهندسة الوراثية هي أخطاء غير عكوسة أي لا يمكن تصحيحها إذا ما حصلت.

7- إمكانيات الدول النامية في مجال الهندسة الوراثية والسلامة الحيوية:

7-1- تعمل منظمة الأغذية والزراعة التابعة للأمم المتحدة (FAO) منذ سنوات على حث دول العالم النامي على تكوين لجان وطنية للسلامة الحيوية.

7-2- وصكت المنظمة اسم السلامة الحيوية كمصطلح عربي مقابل للتسمية الانجليزية (Biosafety) وعرفته بأنه" تجنيب صحة الإنسان وسلامته , وصيانة البيئة وحمايتها , من المخاطر الناجمة عن الأبحاث المتعلقة بالكائنات المحورة وراثياً ، والتجارة في منتجاتها وكذلك من العوامل الملوثة".

7-3- هناك 100 دولة من الدول النامية بما فيها الدول العربية والأفريقية غير مهيأة لإدارة وتوجيه واستعمال التقنيات الحيوية الجديدة , معرضة بذلك العالم مفتوح لأخطار جدية في مجال السلامة الحيوية.

7-4- والسلامة الحيوية في البلدان النامية قد تكون أكثر أهمية منها في البلدان المتقدمة التي تستطيع أن تحمي نفسها عن طريق مؤسساتها الأكثر خبرة ومقدرة علمية , وفي السنوات الأخيرة أصبحت بعض الدول النامية مركزاً للتجارب الحقلية لبعض شركات التقنية الحيوية في البلدان المتقدمة . وهناك خطورة تفشي بعض حالات التلوث الجيني بدون اكتشافها أو معرفتها نظراً لنقص الخبرات والتقنيات ومعامل التحليل المختصة بذلك في الدول النامية .