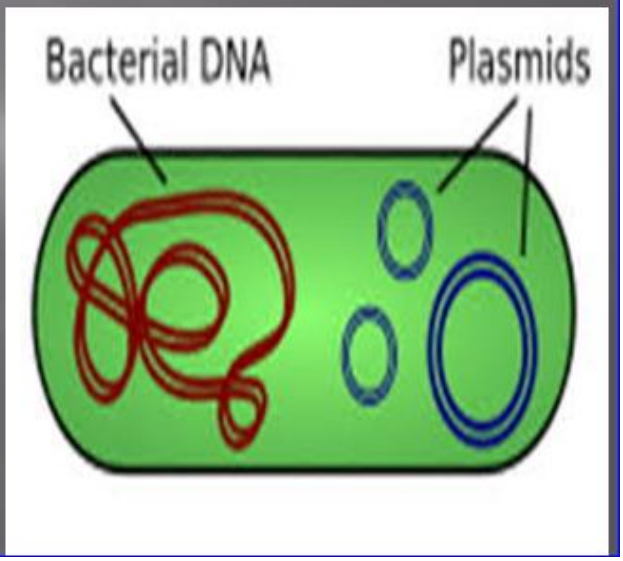
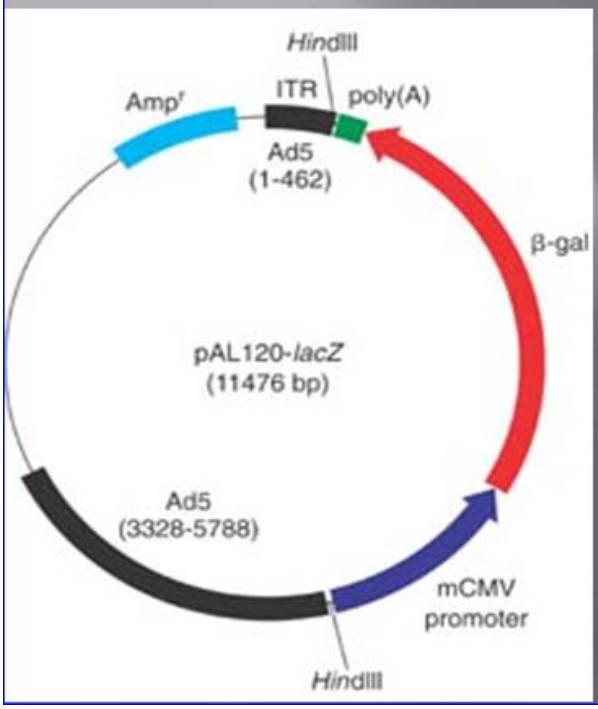
النقل الجينى النباتى

الية تكوين تراكيب جينية جديدة



المراحل الاساسيه والحيويه اللازمه للحصول على نبات محوّل وراثيا



1. عزل الجين ذو الفائدة الاقتصادية وتحميله على ناقل مناسب (Vector):
   - يجب أن يحتوي هذا الناقل (مثلا، بلازميد) على جينات أخرى غير الجين المراد نقله، تعرف بـ Marker gene ، مثل:
     - جين لمقاومة المضادات الحيوية: وذلك لسهولة التعرف وانتخاب الخلايا النباتية التي انتقل إليها الجين المراد.

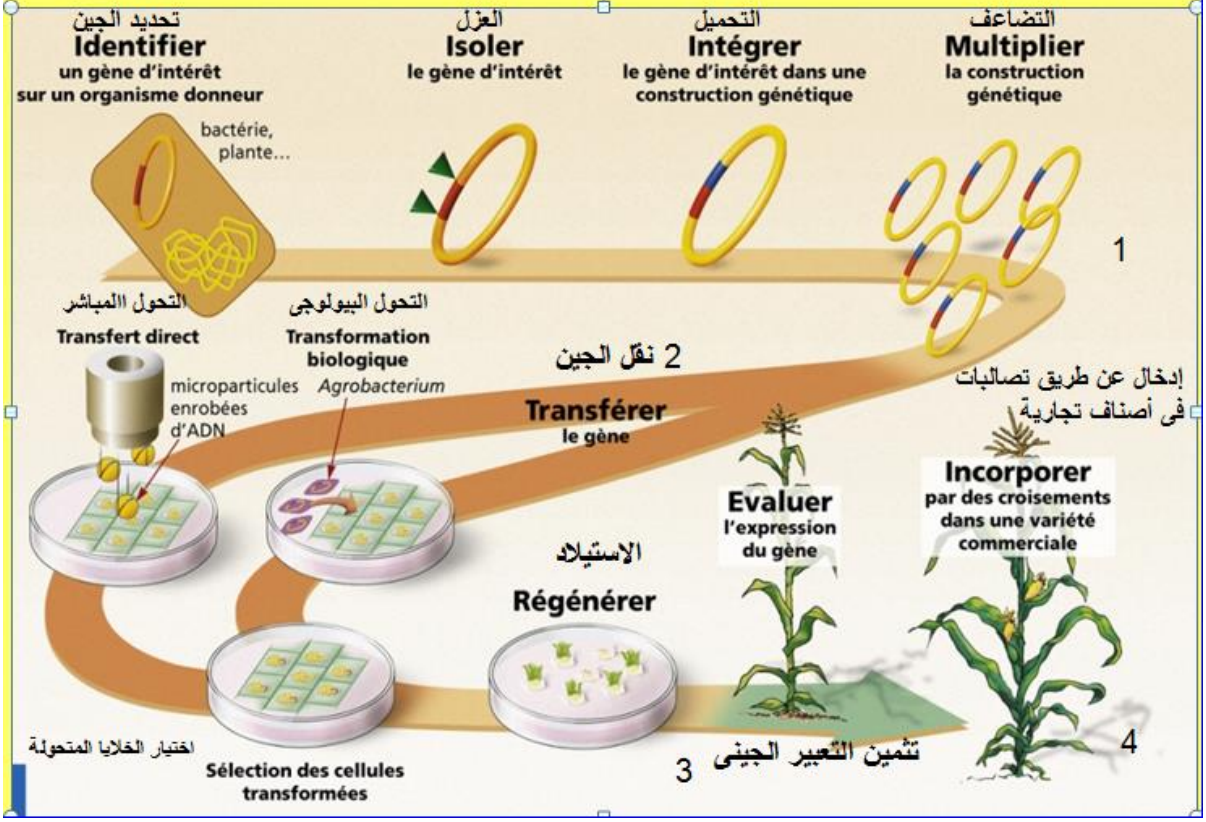
2. تقييم طريقة ناجعة لنقل البلازميد إلى الخلية النباتية وهي المرحلة الثانية اللازمة للحصول على نبات مهندس وراثيا
   - النقل باستخدام الأجروباكتيريم Agrobacterium
   - النقل باستخدام الثقب الكهربي electroporation
   - النقل باستخدام مسدس الجينات Gene Gun
   - النقل باستخدام دمج البروتوبلاست Protoplast fusion
   - النقل المباشر Direct gene transfer
   - النقل باستخدام الحقن الدقيق واستخدام أشعة الليزر Microinjection and Laser microbeam aided transformation

3. انتخاب الخلايا المتحولة وراثيا والتأكد من نقل الجين المطلوب إليها
   - ويتم ذلك باستخدام الجينات الكاشفة أو الدالة Marker gene ثم بعد ذلك التأكد بطرق البيولوجية الجزيئية من وجود الجين المطلوب وذلك باستخدام:
     - تفاعل البلمرة المتسلسل PCR .
     - باستخدام الكواشف المشعة والنقل و التهجين (Southern blotting).

4. استيلاد النبات الكامل (Plant regeneration) من الخلايا المتحولة وراثيا ومتابعة توريث الصفة في الأجيال التالية

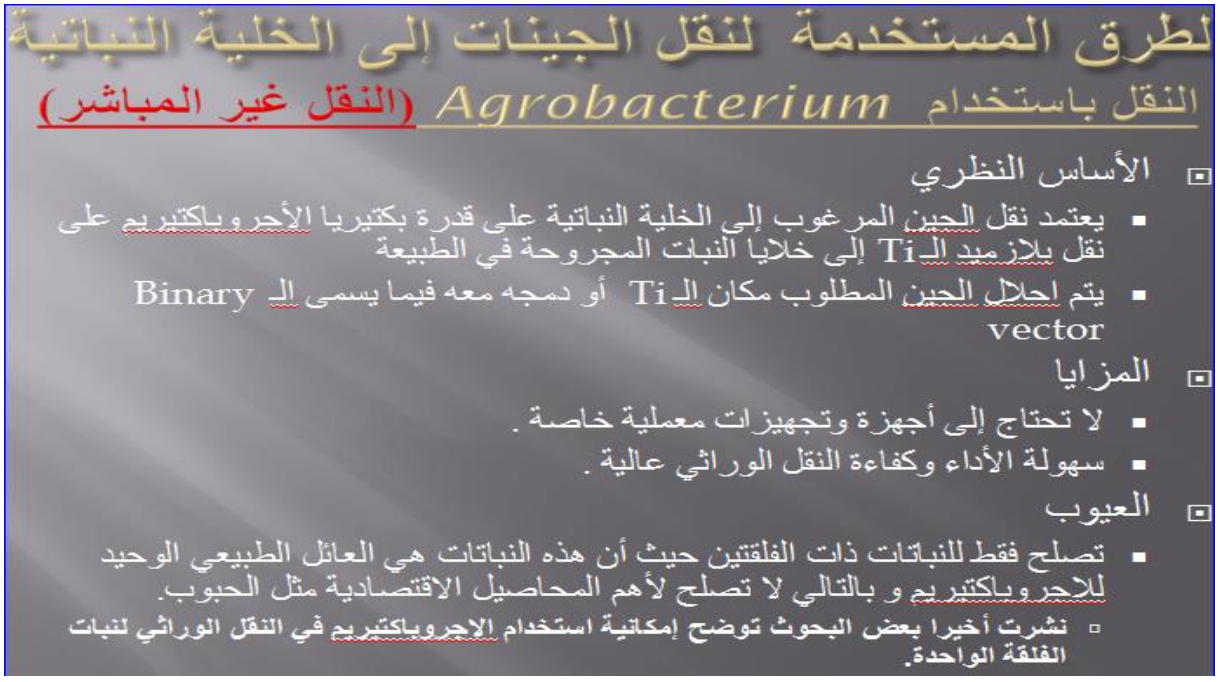
5. اختبار النباتات المهندسه وراثيا في حقول التجريب والتاكد من عدم ظهور صفات ضارة نتيجة لنقل الجين المطلوب والذي أدى إلى تغير في المادة الوراثية للنبات
   - دراسة الأمان الحيوي (Biosafety) لمنتجات الهندسة الوراثية
     - التأكد من أن الجينات الأخرى مثل (Marker genes) التي استخدمت أثناء النقل الوراثي لن تنتقل إلى الكائنات الحية الأخرى

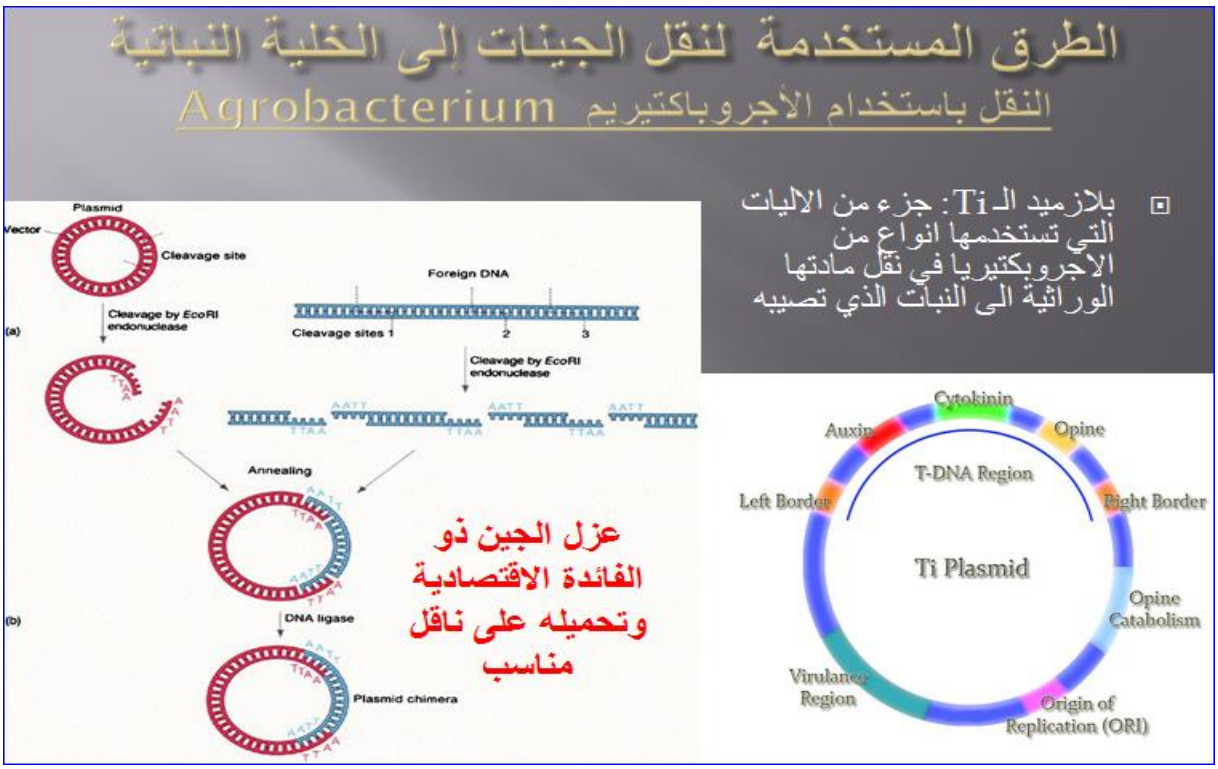
مراحل النقــل الوراثي

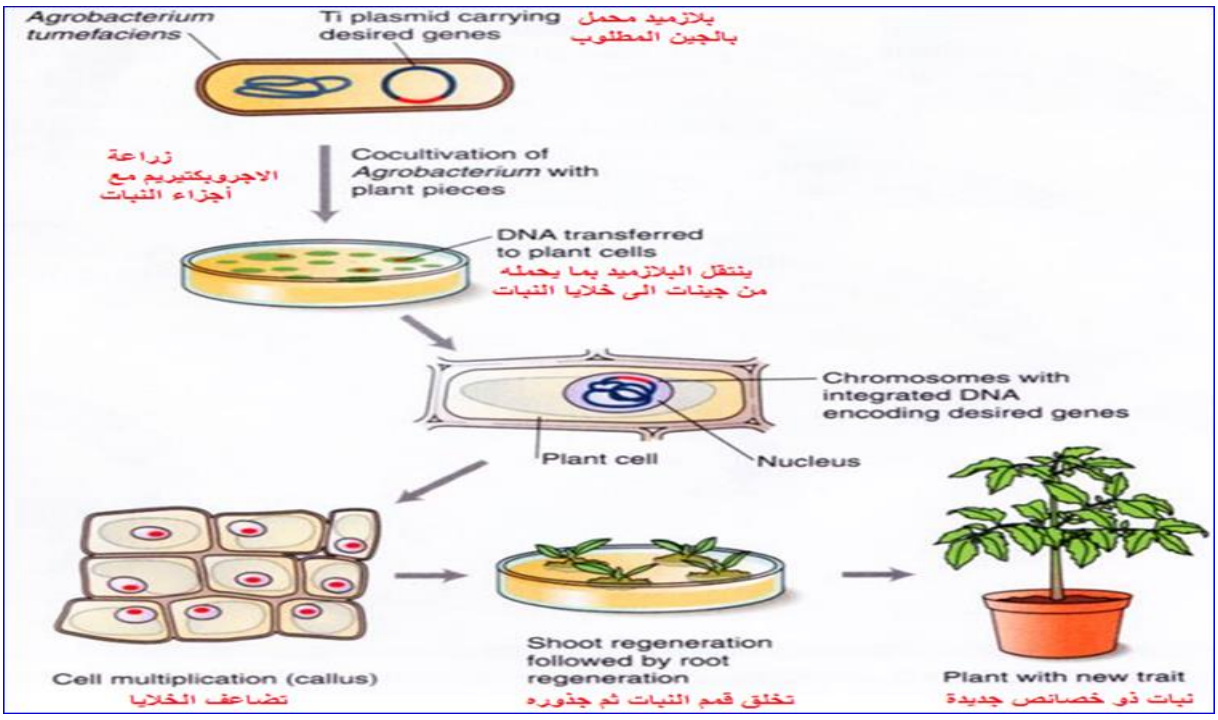


طرق النقل الوراثى:

- **النقل غير المباشر(البيولوجى)**
- **النقل المباشر**

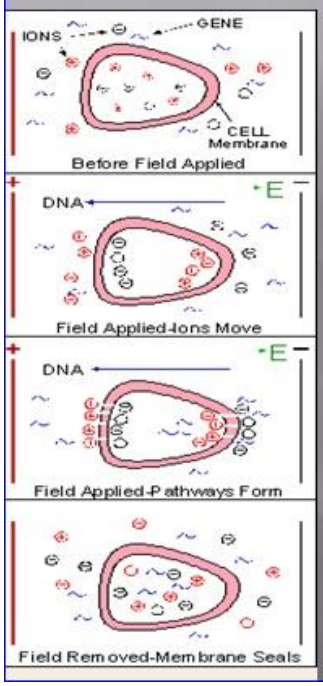






الطرق المستخدمة لنقل الجينات إلى الخلية النباتية (النقل المباشر)

النقل باستخدام الثقب الكهربي Electroporation



- الأساس النظري
  - زيادة نفاذية غشاء الخلية من خلال عمل ثقوب على الغشاء تسمح بدخول جزيئات كبيرة الحجم مثل الـ DNA
    - بوضع البروتوبلاست (خلايا جنين النبات التي لا تحتوي على جدار خلية) في مجال كهربي وعمل صدمات كهربة
- المزايا
  - تصلح لجميع النباتات.
  - لا تتطلب عامل بيولوجي وسيط.
  - كفاءة النقل الوراثي عالية.
  - سهلة وسريعة.
- العيوب
  - تحتاج لجهاز Electroporation
  - تستلزم وجود بروتوبلاست
    - **نشرت بعض البحوث توضح إمكانية استخدام نظام الثقب الكهربي في نقل الجينات إلى الخلايا الكاملة دون الحاجة إلى بروتوبلاست.**
  - بعض النباتات يصعب استيلادها من البروتوبلاست

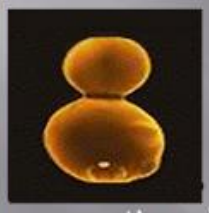
الطرق المستخدمة لنقل الجينات إلى الخلية النباتية

النقل باستخدام مسدس الجينات Gene Gun

- الأساس النظري
  - توظيف شدة اندفاع غاز خامل مثل الهيليوم في حجرة مفرغة الهواء في دفع جزيئات دقيقة جدا من معدن خامل مثل الذهب مغلفة بالبلازميد المطلوب في خرق جدر الخلايا ودخول الجين إلى داخل الخلايا
- المزايا
  - كل مزايا الثقب الكهربي
  - لا تتطلب وجود بروتوبلاست فهي تصلح لجميع الأنسجة و الخلايا
- العيوب
  - تتطلب جهاز Gen gun
  - قد تحتاج لبعض الوقت في البداية لتوفير الظروف الفيزيائية المثلى.

النقل باستخدام دمج البروتوبلاست Protoplast fusion

- الأساس النظري
  - استخدام بعض المؤثرات الكيميائية مثل البولي ايثلين جليكول أو الكهربية في دمج اثنان من البروتوبلاست من نباتين مختلفين والحصول على هجين جسمي Somatic hybrid بغض النظر عن التوافق الجنسي
- المزايا
  - لا تستلزم بالضرورة أجهزة معينة
  - تصلح لجميع النباتات .
  - لا تستلزم كيماويات وتجهيزات خاصة.



- العيوب
  - تحتاج إلى مزارع بروتوبلاست قابلة للاستيلاد والمعاملات في المعمل وهذا صعب في كثير من النباتات الهامة.
  - تنتقل معظم ال DNA من نبات لآخر بما يحتويه من صفات مرغوبة وغير مرغوبة.
  - لا يوجد جين كاشف لانتخاب الهجن الناتجة وبالتالي صعوبة الانتخاب.

النقل المباشر Direct gene transfer

- **الأساس النظري**
  - استخدام بعض الكيماويات التي تزيد من امتصاص البلازميد على سطح غشاء البلازما وكذلك التأثير على نفاذيته في نقل البلازميدات إلى البروتوبلاست
- **المزايا**
  - كل مزايا دمج البروتوبلاست
- **العيوب**
  - كفاءة النقل ضعيفة جدا .
  - الحاجة إلى مزارع البروتوبلاست.

النقل باستخدام الحقن الدقيق واستخدام اشعة الليزر

Microinjection and Laser microbeam

- **الأساس النظري**
  - استخدام ابر دقيقة في حقن الخلية بالجين، أو توظيف شعاع الليزر في عمل ثقوب في الخلايا تسمح بدخول الجين.
- **المزايا**
  - التحكم الكامل في عملية النقل الوراثي ودمج الجين في المادة الوراثية (النواة)
  - التحكم في كمية الـ DNA المنقولة.
- **العيوب**
  - نحتاج أجهزة خاصة.
  - نحتاج مهارات خاصة.
  - صعبة وكفاءة النقل ضعيفة جدا.