الفهـــــرس

■ تمهيد.....XV

■ مقدمـــة Introduction.....1

■ إستراتيجيات العمل فى بحوث الهندسة الوراثية.....25

I- إستخلاص الـــ DNA من مصادره Extraction of DNA....27

أ) عزل وتنقية الـــ DNA من الخلايا حقيقية النواة 27

ب) عزل وتنقية البلازميد

Extraction and purification of plasmids.....29

II-تقطيع الـــ DNA للحصول على الجين المرغوب

Cutting DNA for gene isolation.....31

أ)- طرق قطع الـــ DNA غير المتخصصة

Non-specific cutting of DNA..... 32

ب)- طرق قطع الـــ DNA المتخصصة

Specific cutting of DNA.....34

• إنزيمات القطع المقيد Restriction enzymes.....35

i- إنزيمات قطع مقيد تعطى أطراف ´5 بارزة لزجة

Restriction enzymes producing 5´- sticky ends..37

ii- انزيمات قطع مقيد تعطى اطراف ´3 بارزة لزجة

Restriction enzymes producing 3´-sticky –ends.. 40

iii- إنزيمات قطع مقيد تعطى أطراف مستوية

Restriction enzymes producing blunt ends.....40

III-فصل قطع الـ DNA بالهجرة الكهربائية
44....Separation of DNA fragments by electrophoresis

IV-التعرف على الجين المطلوب وعزله
52.....Identification and isolation of the gene
أ-التعرف علي موقع الجين علي الجيل بالجس
52..... Locating the gene on the gel by probing

1-طريقة الإسقاط الجنوبى (= الطبع الجنوبى)
54.....Southern blotting technique

2-التصوير بالإشعاع الذاتي Autoradiography.....58

ب-عزل الجين Isolation of the gene.....60

1- الإزاحة الميكانيكية Mechanical elution.....62

2- طريقة الإزاحة الكهربائية Electroelution.....62

ج-تخليق الجين صناعياً
Artificial synthesis of the gene.....64

د-تخليق الجين من البروتين
65.....Synthesis of the gene from its polypeptide chain

هـ-تخليق الجين من الـ mRNA
(تقنية الـ DNA المكمل cDNA Technology).....66

3- تخليق الجين عن طريق مضاعفته بتفاعل الـ PCR
Polymerase chain reaction (PCR).....73

VI- حوامل الجينات Gene Vectors (Gene carriers).....76

1)- البلازميدات Palsmids.....80

VII- ربط جزيئات الـ DNA لإنتاج جزيئات DNA معاد توليفها Joining DNA molecules for the production of recombinant DNA.....85

- إنزيمات الـ DNA- Ligases.....85

أ)- ربط قطع الـ DNA ذات الأطراف اللزجة
Joining DNA molecules with sticky ends.....89

ب- ربط قطع الـ DNA ذات الأطراف المستوية.....90
Joining blunt-ended DNA molecules

VIII- إدخال الـ DNA المعاد توليفه(rDNA) إلى خلية مناسبة (= التحويل الوراثى Transformation).....90

- إستعمال الخميرة فى تجارب التحويل الوراثى (Transformation).94

IX- إنتخاب الخلايا التى إكتسبت البلازميد المعاد توليفه
Selection of transformants.....96

■ الهندسة الوراثية فى النباتات Genetic Engineering of Plants..107

◄ طرق إدخال الجينات إلى الخلايا النباتية أو الحيوانية.....112
أولا : الطرق التي لا تعتمد علي حوامل جينية.....112

1- طريقة الـ Polyethylene glycol (PEG) 112

2- طريقة الإمتصاص على دقائق راسب فوسفات الكالسيوم
Calcium phosphate precipitation method 112

3- طريقة الحقن الدقيق Microinjection 114

4- طريقة التعبئة داخل حويصلات دهنية Liposomes 116

5- طريقة التثقيب الكهربائى Electroporation 118

6- طريقة إطلاق الدقائق Microprojectile bombardment
(= Particle gun = Biolestic gun) 118

ثانيا : الطرق التى تعتمد على حامل جينى بيولوجى
Biological gene carrier 124

- استعمال البكتيريا *Agrobacterium tumefaciens*
في هندسة النباتات وراثياً 126

- الـ Ti-plasmid 138

- العلاقة المرضية بين البكتيريا *A. tumefaciens*
وأحداث نشوء المرض فى النبات
Host-bacteria interaction and pathogenesis 142

- قصة تسخير البكتيريا *A.tumefaciens* لنقل الجينات 152

- كيفية إستعمال الـ Ti-plasmid لإنتاج نباتات نقل جينى
(Transgenic plants) 154

- الطرق العملية لاستعمال البكتيريا *A.tumefaciens*
فى نقل الجينات 158

■ زراعة الخلايا والأنسجة Cell and Tissue Culture 163

■ تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال مقاومة أمراض النبات
Applications of Biotechnology to Controlling Plant Diseases 185

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة للإصابات الفيرسية
Transgenic plants resistant to virus infections 185

■ تطبيقات التقنية الحيوية في مجال مبيدات الآفات
Application of Biotechnology in Pesticides 196

◄ إنتاج نباتات نقل جينى تصنع مبيداتها الحشرية بنفسها
Transgenic Plants Producing Their Own Insecticides 196

- إنتاج نباتات تصنع بروتين الـ "بي – تي" (Bt-protein) 196

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة للحشرات عن طريق إنتاجها
لبروتينات خضرية من البكتيريا *Bacillus* spp 209

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة للحشرات عن طريق إنتاجها
لمثبطات إنزيمات تحليل البروتين (Protease inhibitors) 210

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة للحشرات عن طريق إنتاجها
لمثبط إنزيم الألفا أميليز (α-amylase inhibitor) 211

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة للحشرات عن طريق إنتاجها
للبكتينات (Lectins)..... 211

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة للحشرات عن طريق إنتاجها
لإنزيم Cholestrol oxidase 212

- إنتاج نباتات نقل جينى مقاومة لمبيدات الحشائش
Herbicide-resistant transgenic plants 212

- إنتاج نباتات فول الصويا نقل جينى متحملة لمبيدات الحشائش
Herbicide- tolerant transgenic soybean 224

■ تطبيقات التقنية الحيوية في مجال تحسين تثبيت
النيتروجين الجوي Applications of Biotechnology
to Improving Nitrogen Fixation 226

■ تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال تحسين الخضر
Applications of Biotechnology to Improving
Vegetable Plants..... 234

- إنتاج نباتات طماطم نقل جينى ذات ثمارمدة حفظها طويلة
Transgenic tomato plants
having fruits with extended shelf life..... 234

- خفض إنتاج إنزيم الـ Polygalacturonase 240

- خفض الإنتاج الطبيعى لهرمون الـ Ethylene..... 251

- إنتاج نباتات خس وطماطم نقل جينى حلوة المزاق
Production of transgenic lettuce and tomato
with sweet flavour..... 252

- إنتاج نباتات طماطم نقل جيني ذات كفاءة مرتفعة لامتصاص الفوسفات
Highly efficient phosphate-absorping transgenic plants.. 252

■ تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال المحاصيل
Applications of Biotechnology to Improving Crop Plants. 255

• إنتاج نباتات قمح نقل جينى ذات قيمة غذائية محسنة
Nutritionally improved transgenic wheat plants..... 255

- إنتاج نباتات قمح نقل جيني ذات نشا معدل
(Modified starch) 256

- إنتاج قمح نقل جيني ذات بروتين معدل
(Modified protein)..... 257

إنتاج نباتات قمح نقل جيني تخلق إنزيم الـ Phytase..... 259

إنتاج نباتات قمح نقل جينى تخلق العقاقير و الأجسام المضادة..... 261

إنتاج نباتات أرز نقل جيني متحملة للملوحة
Production of salt tolerant transgenic rice p... 262

إنتاج نبات أرز نقل جينى غنى بفيتامين A
(الأرز الذهبى Golden rice)..... 270

إنتاج نباتات كانولا نقل جينى مرتفعة فى محتواها من
الـ Oleic acid والـ Lauric acid
(High laurate and high oleate transgenic can... 272 .....

■ تطبيقات التقنية الحيوية في مجال تحسين نباتات الزينة
Applications of Biotechnology for Improving
Ornamintal Plants 275

■ تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال تحسين الأسماك
Applications of Biotechnology to Improving Fish... 281

- إنتاج اسماك سالمون فائقة الحجم Super salmon..... 281
- إنتاج سمك كراكي شمالي نقل جيني فائق الحجم
(Super northern pike)..... 288
- إنتاج أسماك سالمون نقل جينى تتحمل البرودة
Cold-tolerant transgenic salmon..... 288
- إنتاج أسماك زينة تضيء فى الظلام (Fluorecent fish)..... 290

■ تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال تحسين الدواجن
Applications of Biotechnology to Improving Poultry.. 292

• المشكلة التى تواجه الهندسة الوراثية فى الدواجن..... 295
• الأتجاهات الحديثة فى هندسة الدواجن وراثيا..... 297
• مخاطر التحويرات الوراثية فى الدواجن 302

■ تطبيقات التكنولوجيا الحيوية في مجال الإنتاج الحيواني والألبان.
Applications of Biotechnology to Improving
Animal and Milk Products..... 303

- استنساخ الأغنام وإنتاج النعجة "دوللي"
Sheep cloning and the production of "Dolly"..... 304

- استنساخ الحصان وإنتاج المهر "بروميتيا"
Cloning of horses and the production of Prometea..... 328

- إنتاج أغنام تخلق البروتين البشري α-1-antitrypsin
وتفرزه في ألبانها 333

- إنتاج البقرة "روزي" (Rosie) التي تخلق البروتين البشري
Alpha - Lactalbumin وتفرزه في ألبانها 333

- إنتاج أبقار تعطي ألباناً ذات نسبة بروتين مرتفعة
(Protein-rich milk) 334

التكنولوجيا الحيوية والأمان الحيوي وتشريعاتها التنظيمية
Biotechnology, Biosafety & Regulatory Policy..... 336

• مقدمـــة..... 336
• التكنولوجيا الحيوية فى ظل التجارة الدولية الحرة 338
• اتفاقيات الأمان الحيوي الدولية
International Biosafety Agreement 344

التأثير المترتبة على توقيع اتفاقية الجات (GATT) الدولية
The implications of world trade agreement (GA..... 346

1.1 الاتفاق على القيود الفنية للتجارة الدولية :
Agreement on Technical Barriers to
International Trade (TBT)..... 347

1.2 الاتفاق على تطبيق احتياجات الصحة وصحة النباتات
Agreement on Application of Sanitary and
Phytosanitary Measures (SPS) 348

1.3 حقوق الملكية الفكرية والمرتبطة بالتجارة
Trade-Related Intellectual Property (TRIPs)...349

II – التزامات بروتوكول الأمان الحيوي
The commitment to the biosafety protocol..... 351

1.2 المطالبة باتفاق معرفة مسبقة
Advance Informed Agreement (AIA) 352

2.2 تحديد المسئوليات وتوقيع التعويضات
Liability and compensation 352

3.2 كتابة البيانات على المنتجات الغذائية الناشئة عن التحول الوراثي
Labelling of Foods Drived from GMOs (GMF)...353

4.2 ضغوط مفروضة من قبل شركات البيوتكنولوجي متعددة
الجنسيات (الدولية) Pressure from Multinational
Biotechnology Companies 355

5.2. ضغوط تفرضها العلاقات الثنائية المرتبطة بدعم أجنبي
Pressure from Foreign Aid Agencies 355

■ المراجع References 357

تمهيد Preface

لا يجانبنا الصواب إذا قلنا أن علم التكنولوجيا الحيوية (Biotechnol بصورته الحالية التي غلبت عليها الهندسة الوراثية (Genetic Engineeri هو أكثر العلوم التكنولوجية نمواً وتطوراً في ر الحالي . ولكونه علماً تطبيقيا (Applied science) يهدف إلي وتطوير واستعمال تقنيات بيولوجية وجزيئية متعددة لإحداث تغييرات ية مرغوبة في الكائنات الحية فلا يجوز نفي صفة العلم عنه كما يفعل يتصورن خطأ أنه مجموعة من التقنيات الجامدة المضمونة النتائج إذ يخرجه فوراً من نطاق اهتمامات الجامعة ويدخله ضمن مناهج وم دون الجامعي كالمعاهد الفنية (Polytechnics). وعلينا إذن أن ق بين التقنيات الحيوية (Biotechniques) وعلم التقنيات الحيوية (Biotechnol) ... فالتقنيات الحيوية هي مجموعة من التقنيات يمثل منها عدد من الخطوات المتتالية المحددة التي إذا اتبعها زيد أو عبيد بأي منهما إلي نفس النتيجة ، أما الـ Biotechnology فهو ذلك متجدد المتطور الذي يستعمل المنهج العلمي(Scientific method) و نظرية فرضية (Hypothesis) بطرق البيولوجيا الجزيئية (Molecular بهدف إيجاد أو تطوير أو استعمال هذه وكغيره من العلوم يستعمل علم التكنولوجيا الحيوية ذات التقنيات وجدها في إيجاد المزيد منها أو تطوير إحداها ... هذا والتكنولوجيا هي الناتج الطبيعي للنشاط البحثي في العلوم الزراعية والتي انتقلت وجدها للتطبيق في المجالات الأخرى الطبية والصناعية والبيئية. فكلية حة أو كما توصف في بعض دول أوروبا بجامعة الزراعة