كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : وراثة جزيئية

المحاضرة : 7+8+9/نظري/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

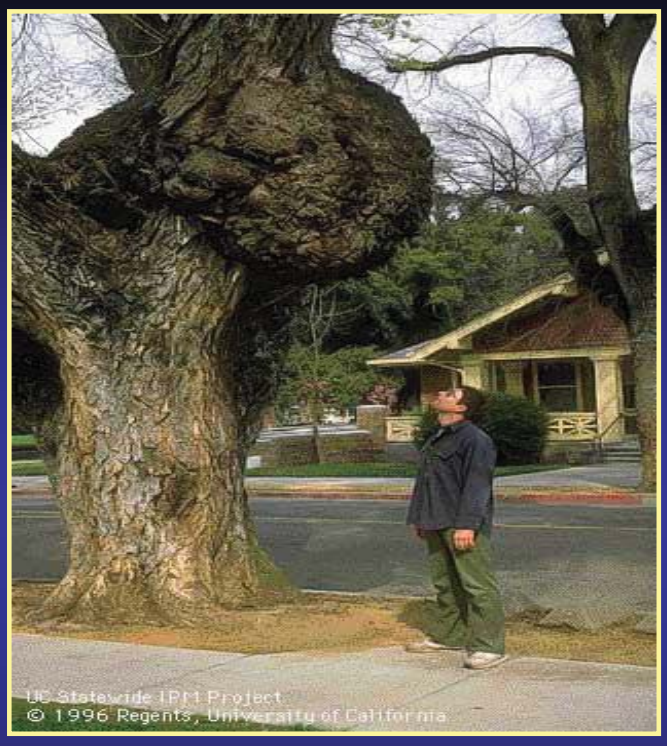
2026

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

الوراثة الجزيئية
Molecular Genetic

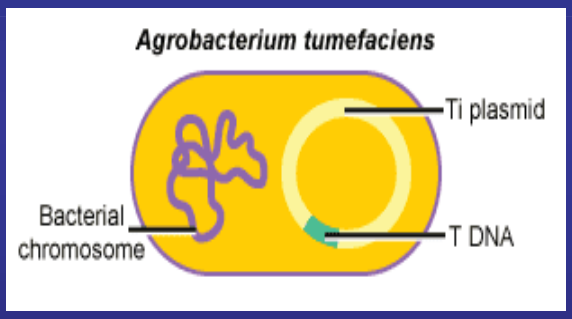
المحاضرة 7+8+9

النباتات المحورة وراثياً وطريقة إنتاجها
Transgenic plants



مرض التدرن التاجي
هو مثال عن التحوير الطبيعي

البكتريا المسببة
Agrobacterium tumefaciens



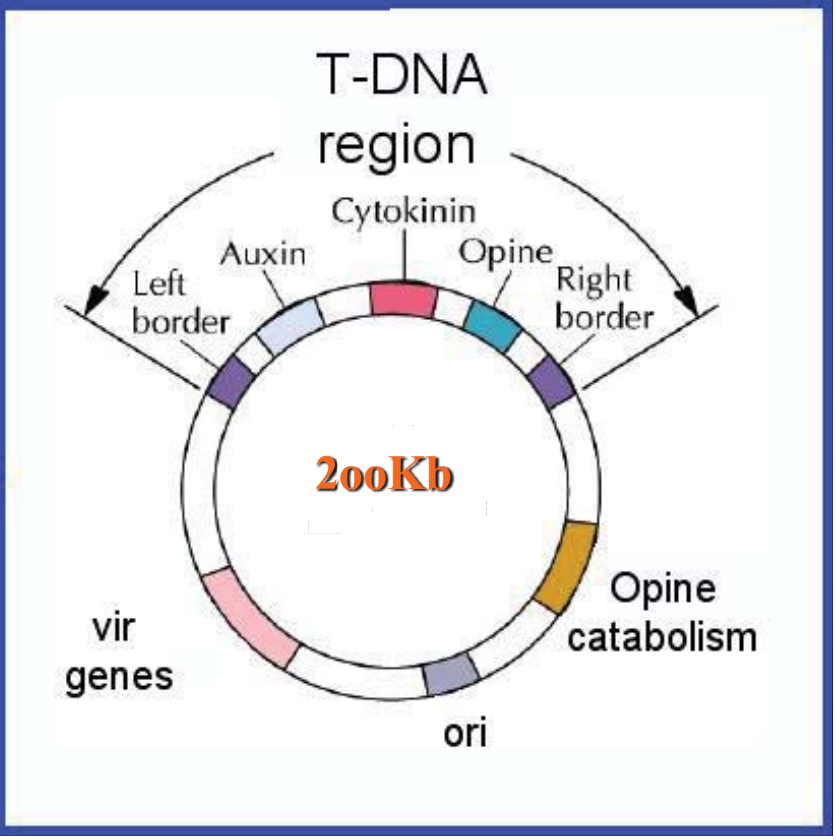
هي استراتيجية طفيلية : البكتريا تستخدم الاحماض الامينية التي تدعى الأوبينات كغذاء ينتجه النبات (البكتريا تدفع النبات لذلك)، كما تتضمن تحريض الأورام لمكاثرة عدد الخلايا التي تنتج الأوبينات.

Agrobacterium tumefaciens: الاجروباكتريوم

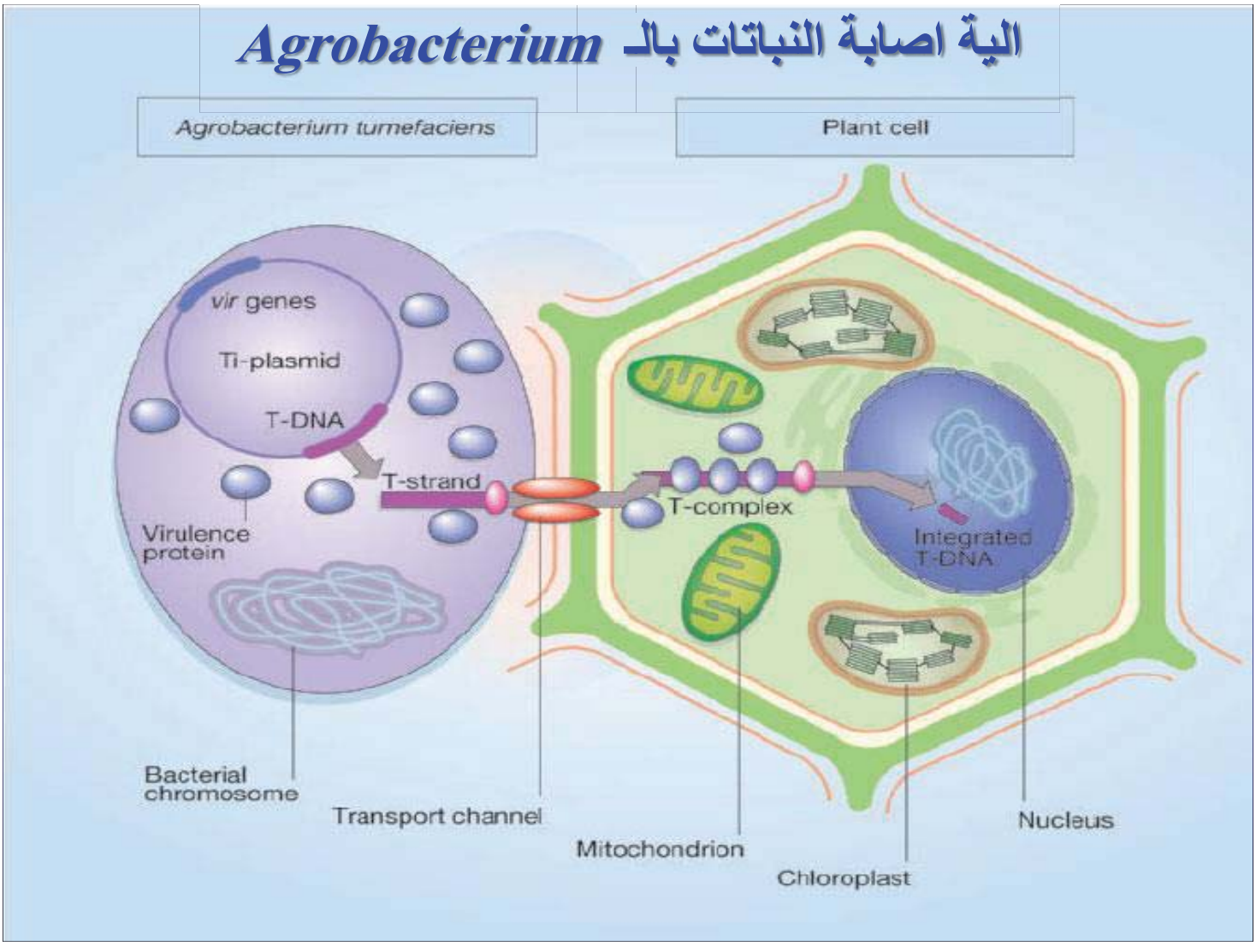
- Soil bacterium
- بكتريا تعيش في التربة
- Infects plants at wound sites
- تهاجم النباتات في مواقع الجروح
- Cause Crown Gall Disease
- تسبب التدرن التاجي
- Proliferation of plant cells (tumor-like)
- تتكاثر الخلايا النباتية مسببة ما يشبه الاورام

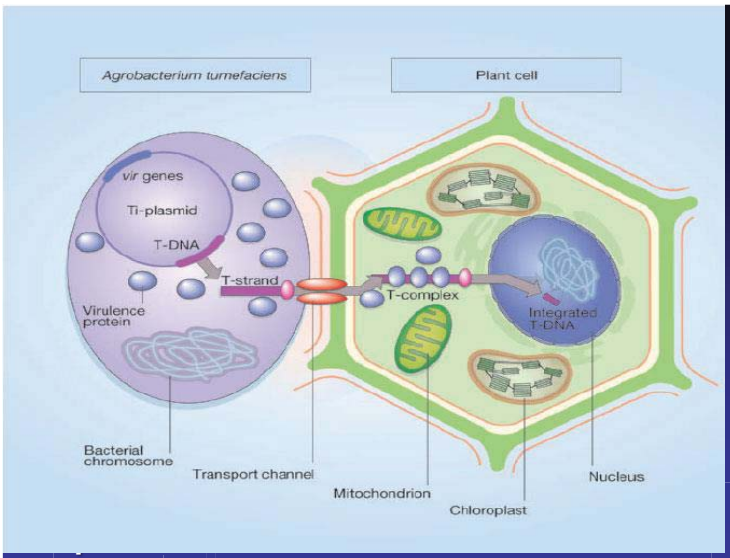
Ti Plasmid

- All DNA between L and R borders is transferred to plant as ssDNA
- T-DNA contains biosynthetic genes for opines and plant hormones: auxins and cytokinins



الية اصابة النباتات بالـ *Agrobacterium*

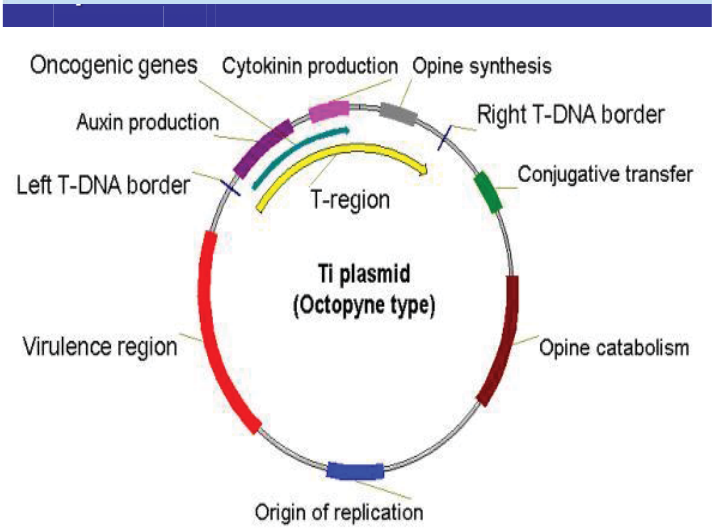


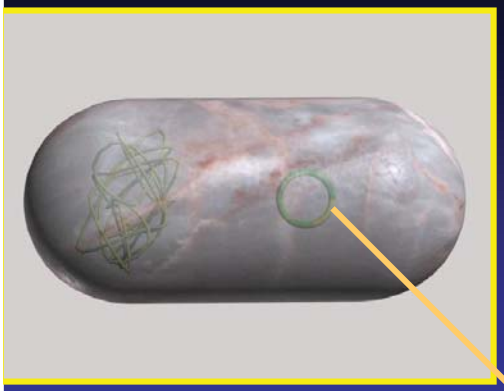


الاصابة بالاجروباكتريوم

مورثات Vir المختلفة:

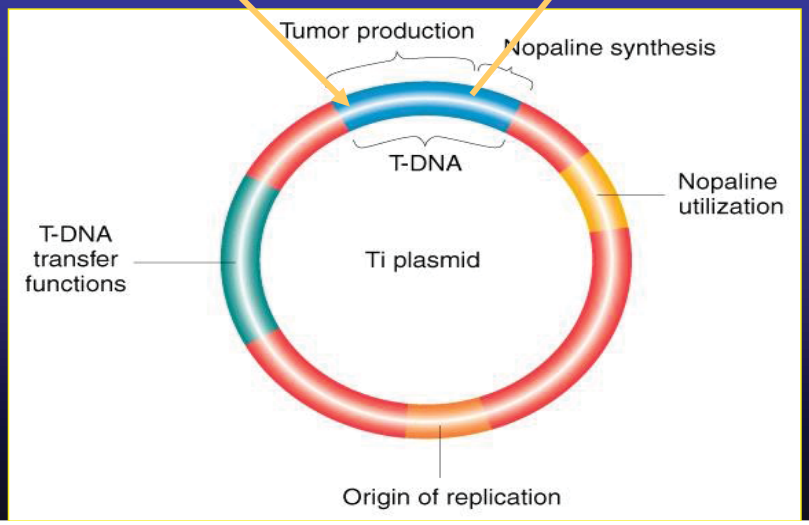
- تنسخ الـ T-DNA
- تربط بالـ T-DNA مركب يترأس السلسلة
- تضيف بروتينات على طول سلسلة الـ T-DNA ، قد تمثل الية حماية
- تفتح قناة في الغشاء البكتيري يمر من خلالها الـ T-DNA.





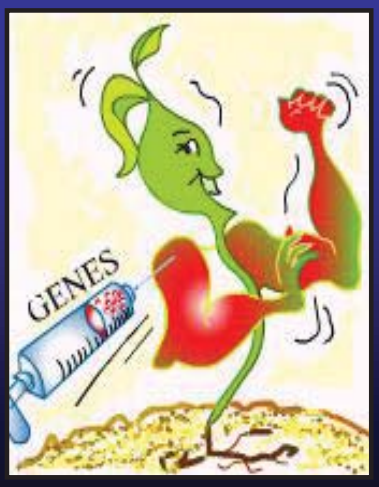
Agrobacterium

الاجروباكتريوم



النباتات المحورة وراثياً:

نباتات أضيفت لها مورثة من نباتات بعيدة عنها وراثياً باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية (صناعية) وليس عن طريق التهجين الطبيعي وتمكنت المورثات من التعبير عن ذاتها في النبات الجديد



الهندسة الوراثية:

مجموعة من التقنيات الحيوية التي تسمح بتحديد مورثة (أو مورثات) مسؤولة عن صفة مرغوبة في كائن ما و من ثم نقلها الى كائن اخر (مع تجاوز عقبات والحواجز الناتجة عن البعد الوراثي بين الانواع والاجناس) وجعلها تعبر عن ذاتها ضمن الكائن الجديد

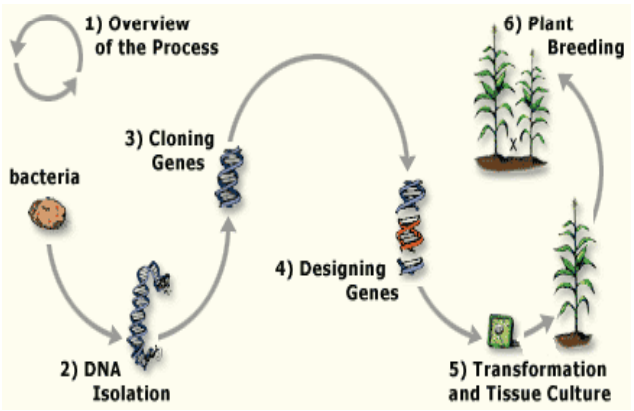
الهندسة الوراثية:

الفرق بين التهجين التقليدي والهندسة الوراثية (الطرق الحديثة)

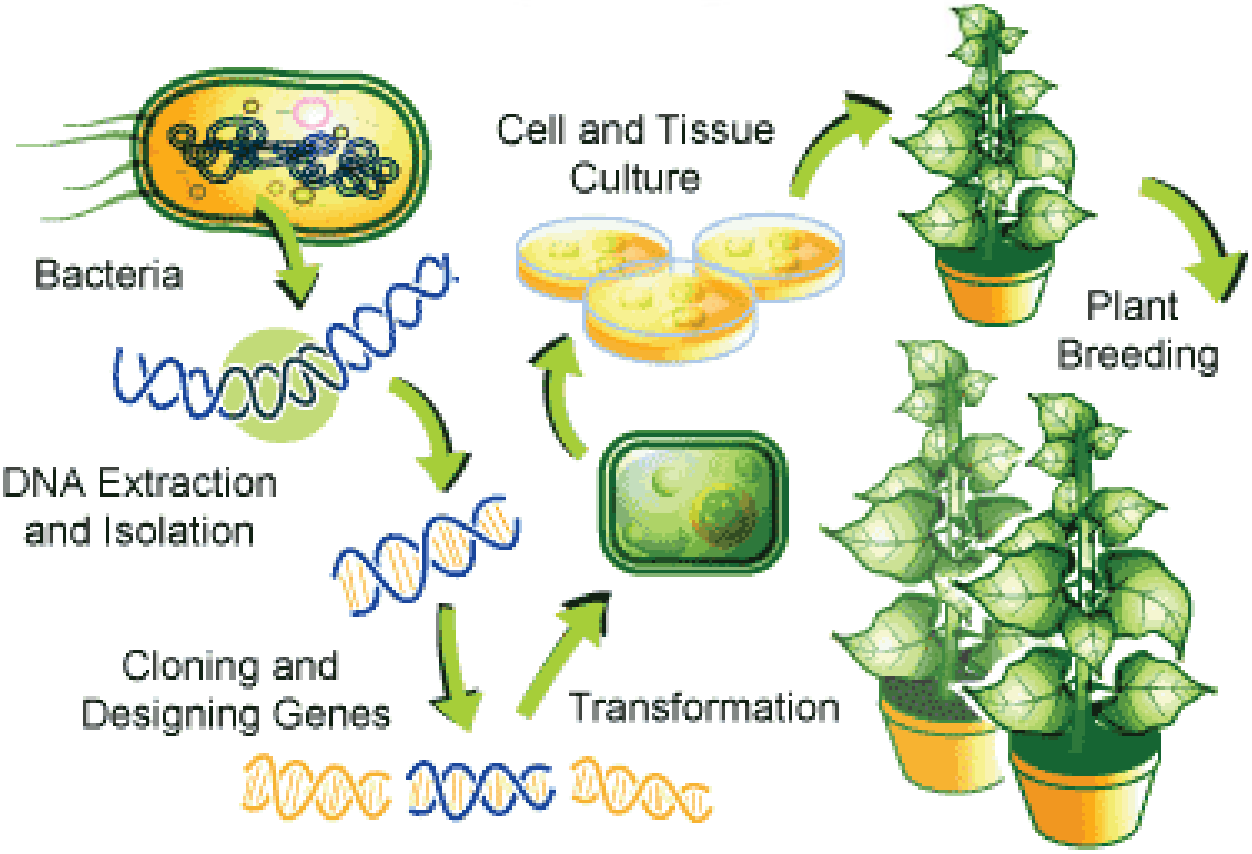
breeding_animation4.exe

إنتاج النباتات المحورة وراثياً:

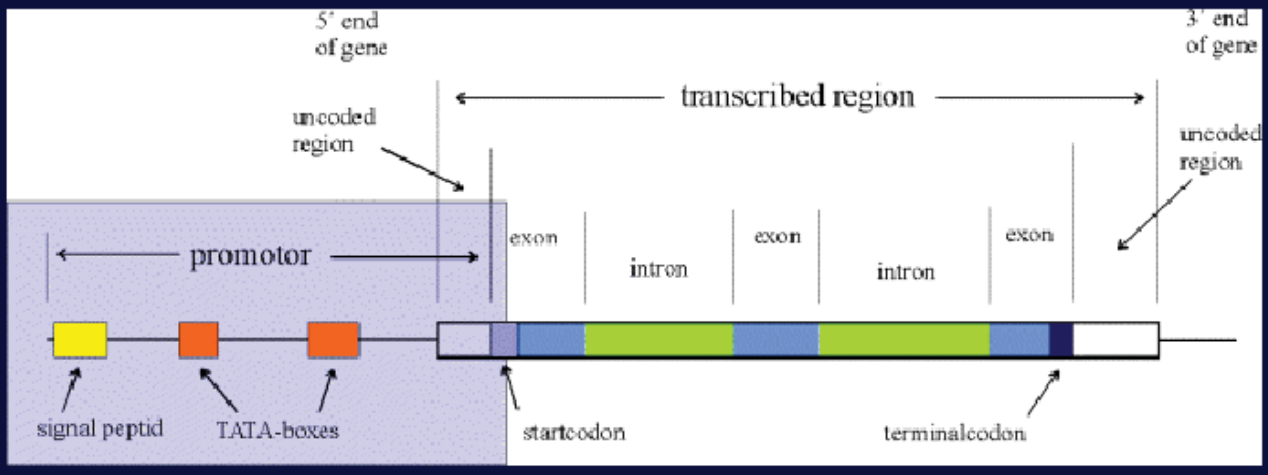
- تحديد المورثة المسؤولة عن الصفة المرغوبة.
- عزل المورثة المطلوبة والحصول عليها بشكل نقي من خلال عملية التنسيل أو كمورثة من مكتبة المورثات.
- تجهيز المورثة لعملية النقل. } تركيبة جاهزة للانتقال للمضيف
- تجهيز المورثة المؤشر لاضافتها } (خلية نباتية) من خلال التحوير
- اجراء عملية نقل التركيبة الجديدة الى نبات جديد (عملية التحوير الوراثي).
- انتخاب الخلايا أو الانسجة المحورة وراثياً .
- المكاثرة والحصول على النبات الكامل مع تعبير المورثة المنقولة إليه.



انتاج النباتات المحورة وراثياً
Transgenic plants

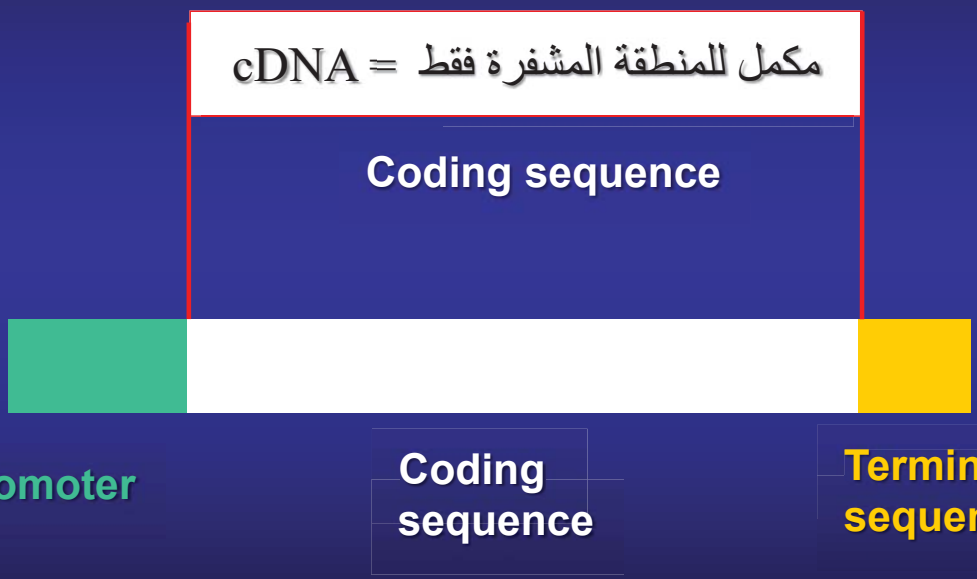


GENIO/scan: Gene Structure بنية المورثة:



- Splice site, exon and reading frame detection
- Detection of translation initiation and regulative region (rudimentary)

تجهيز المورثة لعملية النقل



تجهيز المورثات لعملية النقل:

إضافة قطع DNA لمراقبة تعبير المورثة

Add DNA segments to control gene expression

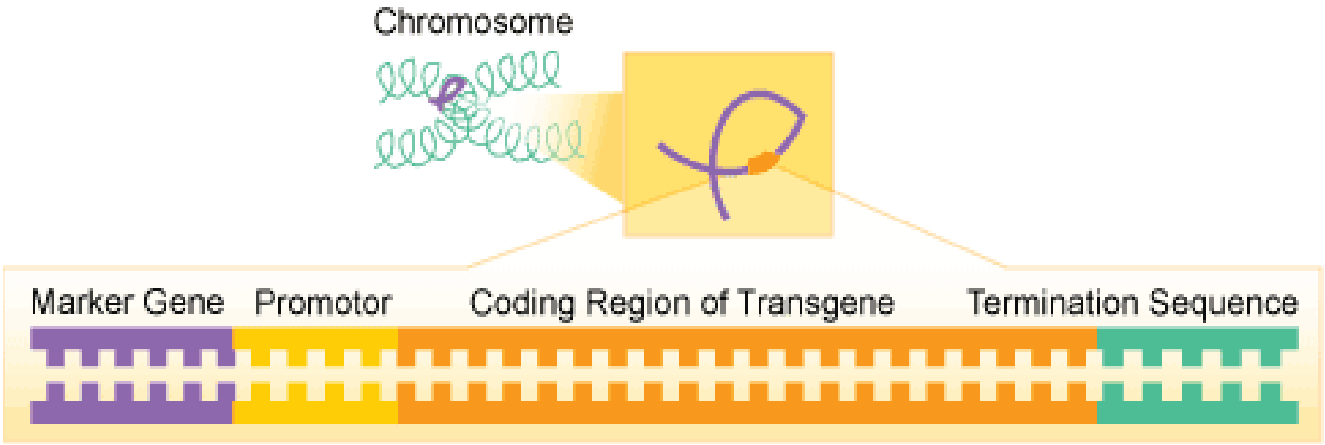
- **Promoter** initiates transcription; affects when, where, and how much gene product is produced.
- **Termination sequence** marks end of gene.

إضافة مورثة لاستخدامها كمؤشر: Add selectable markers

* بسبب انخفاض كفاءة تقنية نقل المورثات (التحوير) (معدل النجاح بحدود 5%) هناك حاجة لنظام يسمح بالتعرف على الخلايا التي استقبلت المورثة الجديدة.
* تستخدم المورثات المسؤولة عن مضادات حيوية، عن المقاومة للأعشاب، أو اية صفة يسهل التعرف عليها، كمؤشرات (مورثة مؤشر)

- Because gene transfer is an inefficient process (1 to 5% success rate), a system is needed to identify cells with the new genes.
- Typically, antibiotic or herbicide resistance genes are used as markers.

التركيبة الجديدة المكونة من المورثة المرغوبة والمورثة المؤشر بكامل مكوناتهما



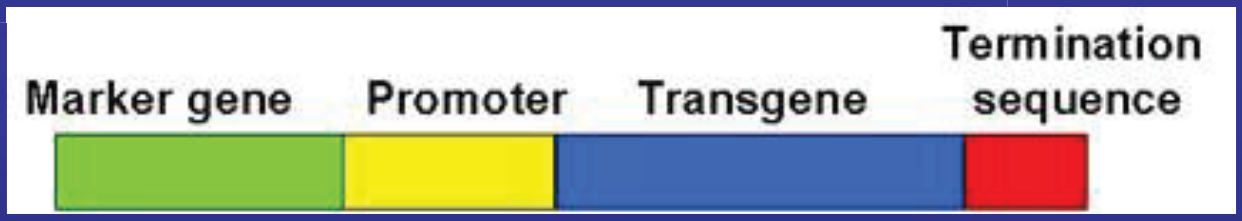
التركيبة الجديدة هي التي ستنقل إلى الخلية المضيفة بعملية التحوير

Transformation:

التحوير الوراثي:

تتضمن عملية التحوير الالية التي يتم من خلالها إدخال التركيبة الجديدة الممثلة بالمورثة المرغوبة والمورثة المؤشر وما يلزم لنشاطهما إلى الأنسجة (النبات)المراد تحويرها.

Introduce gene construct into plant cells



هل كل الأنسجة يمكن استخدامها بعملية التحوير؟؟؟

خصائص الأنسجة المراد استخدامها للتحوير الوراثي:

- يجب ان يكون له القدرة على التكاثر وانتاج نسيج غير متمايز (الكالوس) منه يتم تطور الانسجة والنمو للحصول على النبات الكامل.
- نوع النسيج يتعلق بالنوع النباتي، مثل أقراص الأوراق (ببعض الانواع)، البذور المنبتة، الاجنة غير الناضجة، والمرستيمات القمية.
- نبات الارابيدوبسس، تستخدم عملية رش البراعم بمحلول يحتوي اناقل مع المورثة المرغوبة.

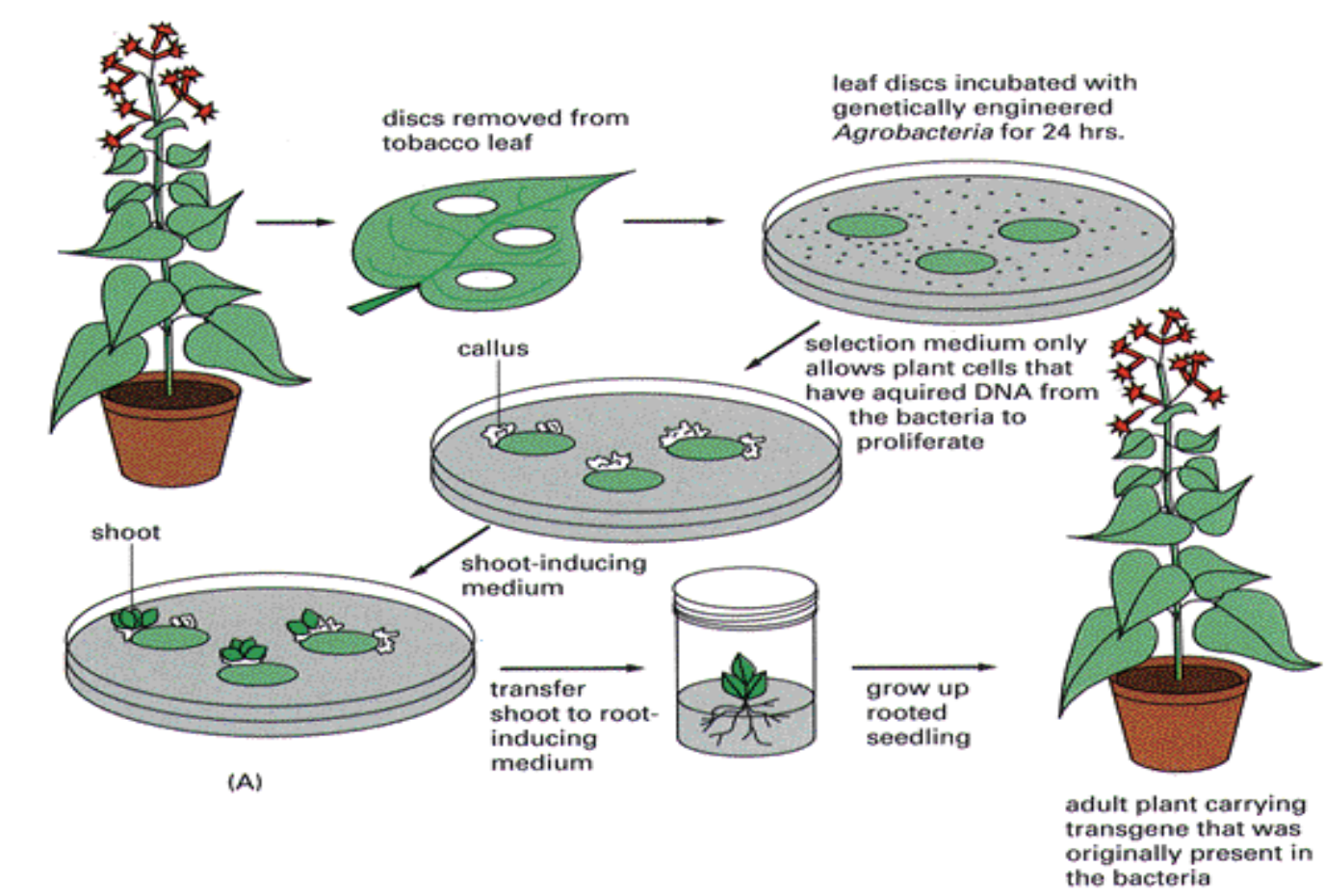
Plant tissues used for transformation:

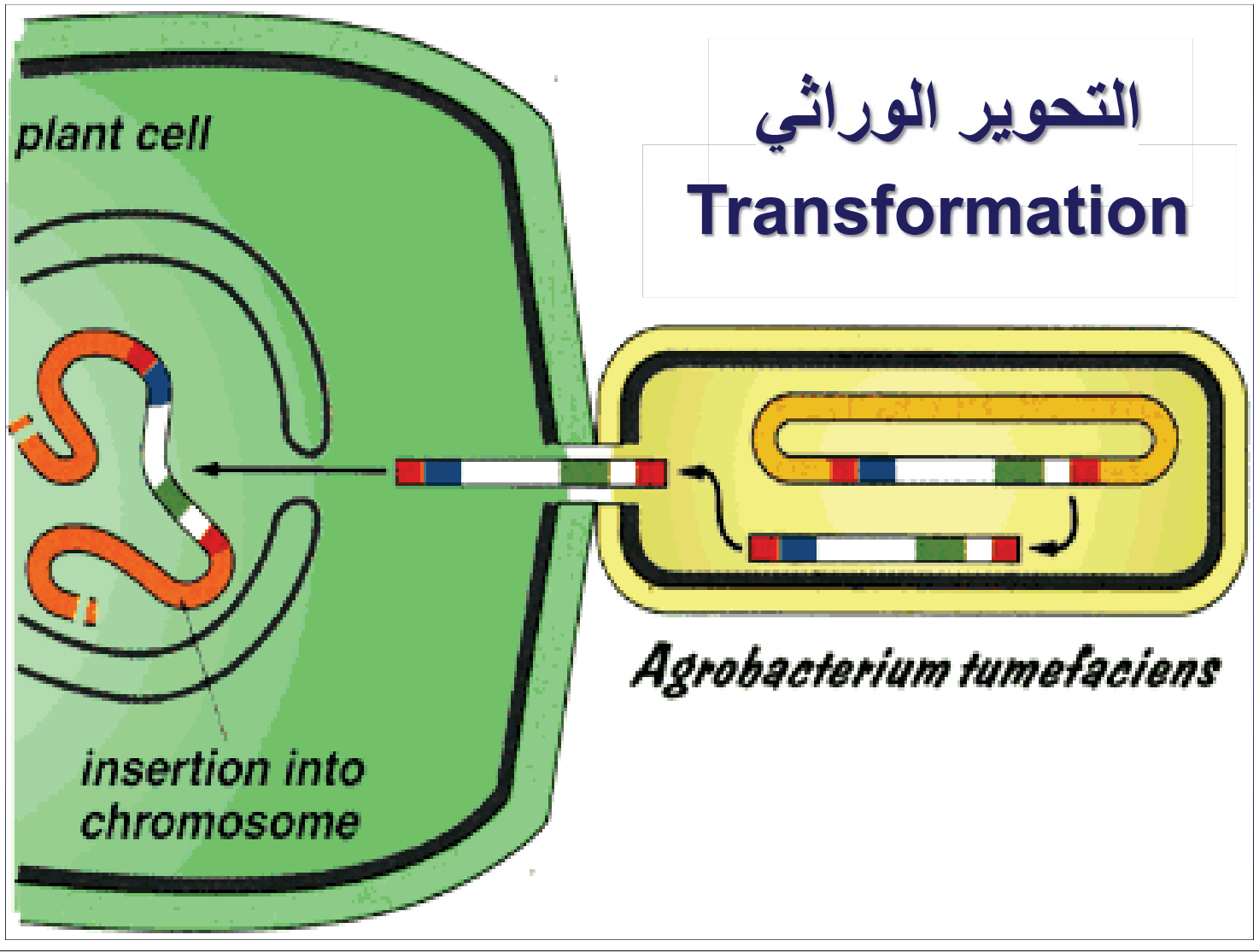
The choice of tissue depends on the species, but some common ones are immature embryos, leaf disks, and apical meristems.

The tissue must be capable of generating callus (undiffferentiated tissue), from which the complete plant can be produced.

Arabidodpsis buds can simply be sprayed with a solution of the transgene and vector.

اختيار وتجهيز الأنسجة للتحوير الوراثي



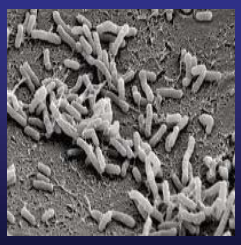


DNA Introduction : DNA إدخال (نقل) الـ

- Two major delivery methods
  - Gene Gun

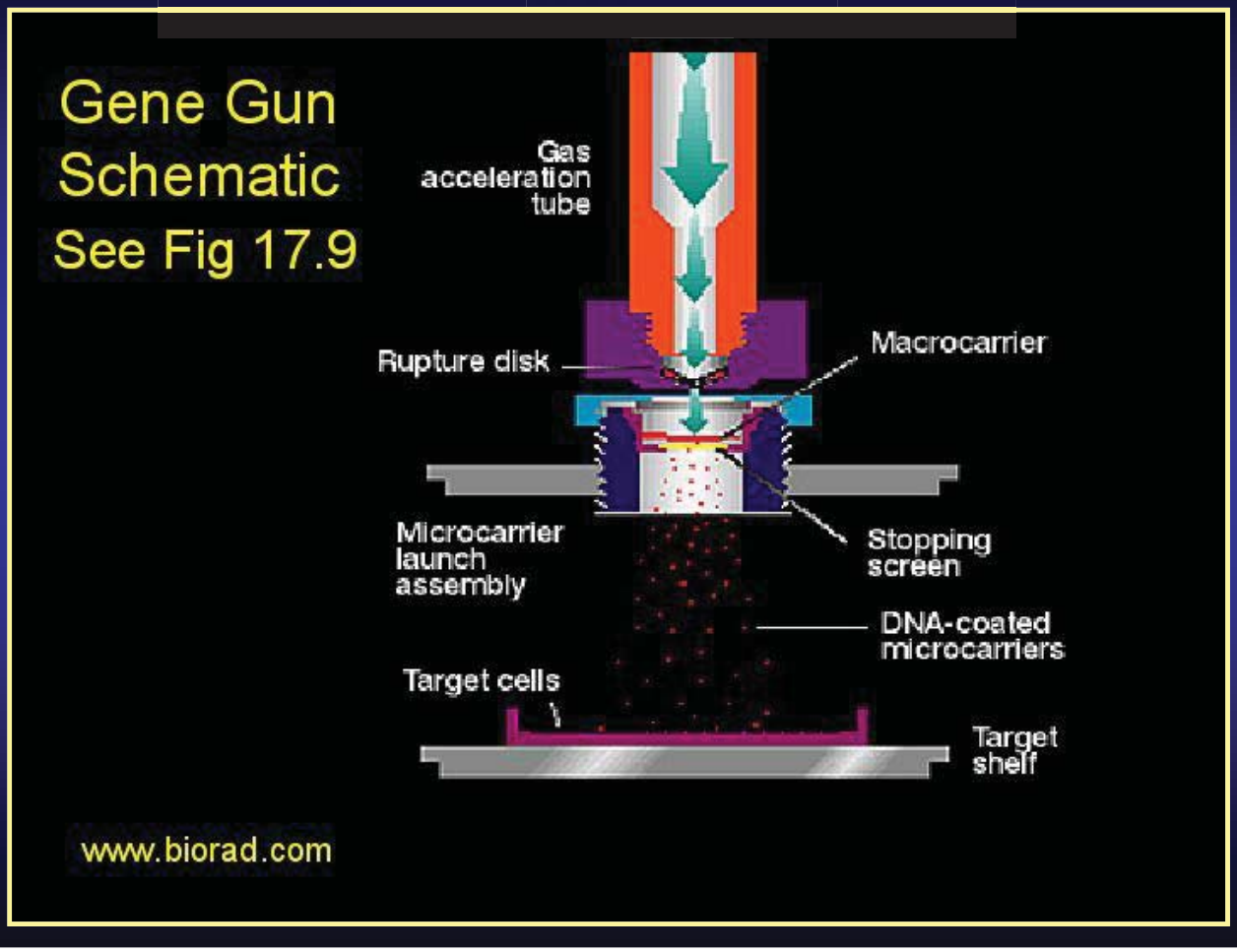
ـالمدفع المورثي

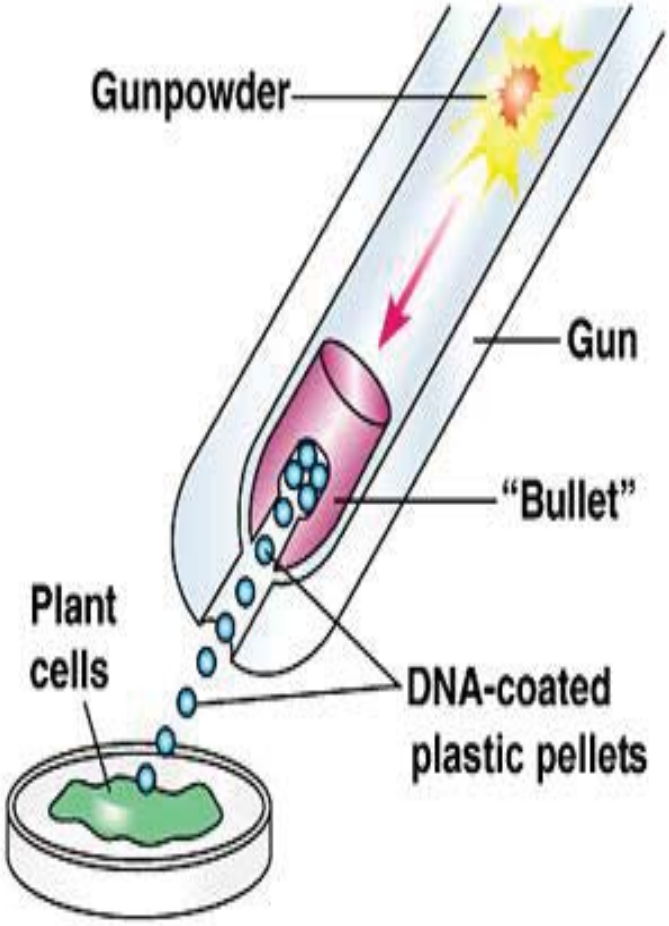
  - *Agrobacterium*



ـالبكتريا

Gene Gun المدفع المورثي

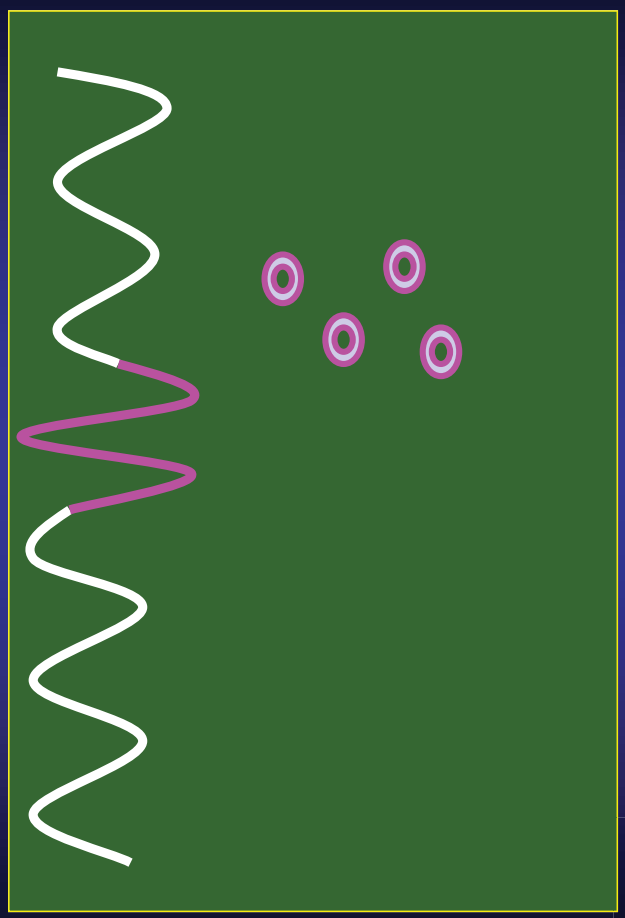


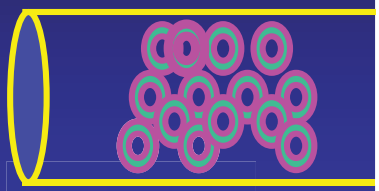


(a) (b)

Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

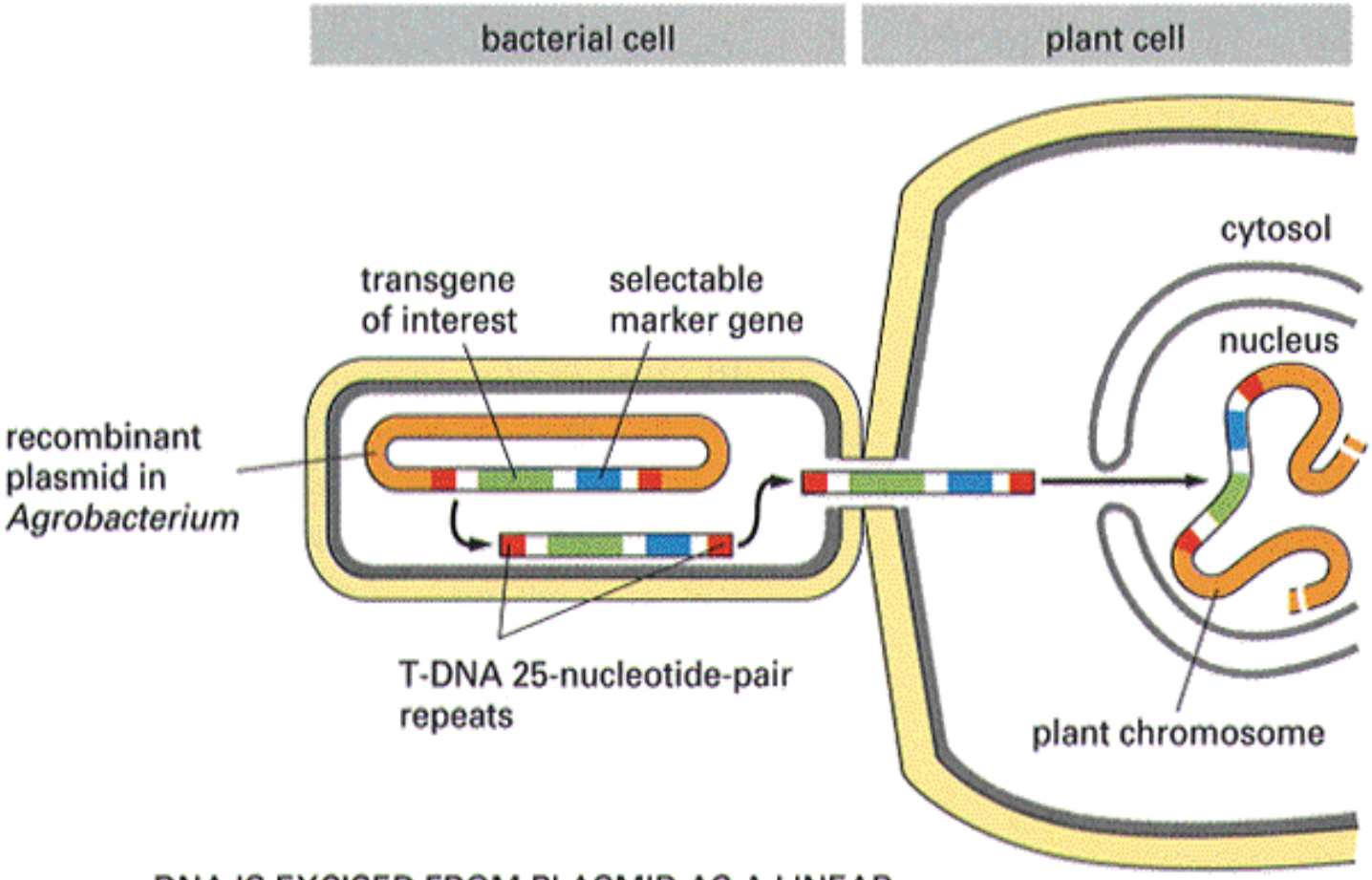
CLICK ON THIS SCREEN TO START



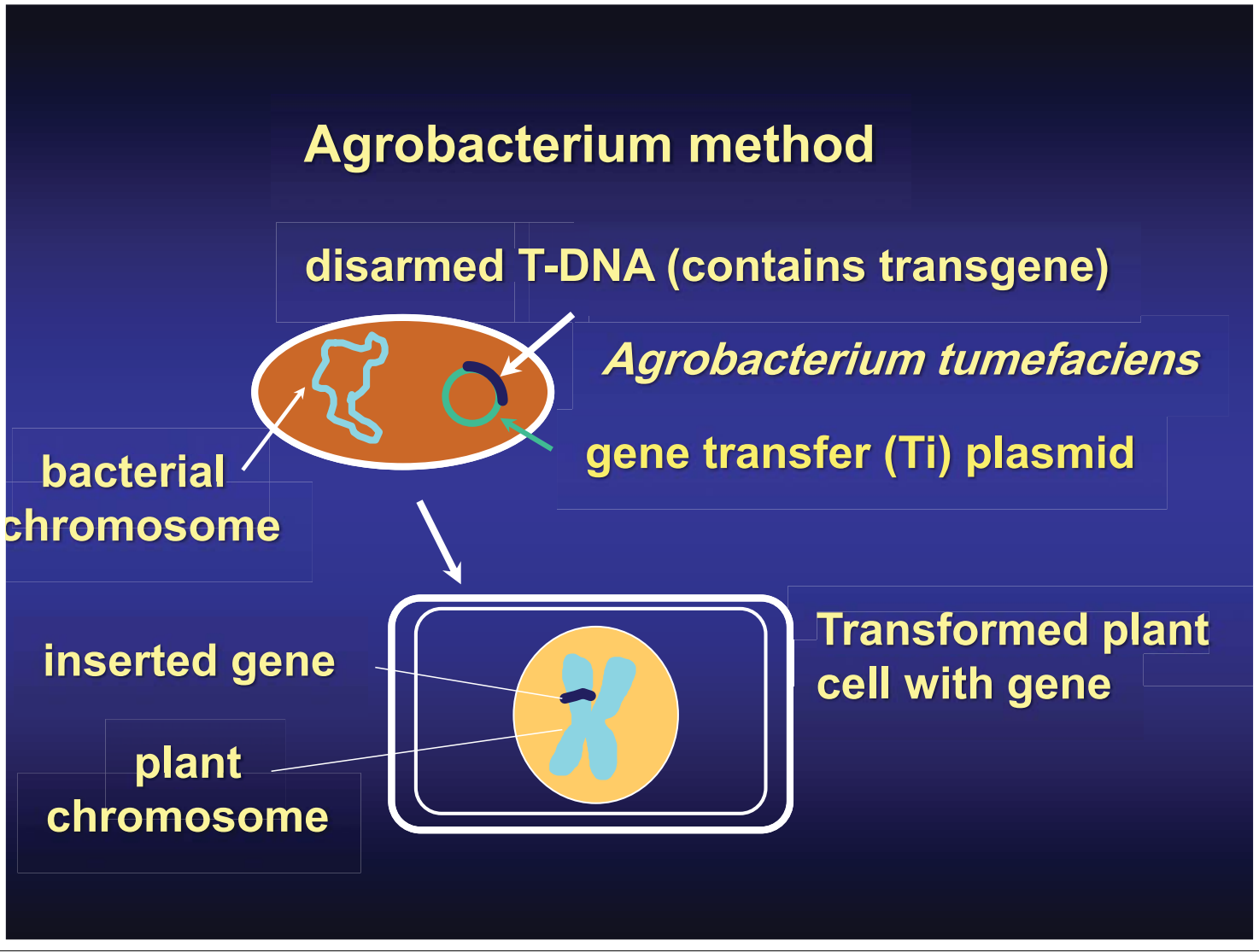


gene gun

plant cell



(B) DNA IS EXCISED FROM PLASMID AS A LINEAR MOLECULE AND IS TRANSFERRED DIRECTLY INTO THE PLANT CELL, WHERE IT BECOMES INTEGRATED INTO THE PLANT CHROMOSOME



Comparing *Agrobacterium* with bombardment

مقارنة بين التحوير بالبكتريا و التحوير بالمدفع المورثي

Agrobacterium is effective only on dicots;

bombardment is effective on all plant cells, monocots and dicots.

* البكتريا : كفاءة التحوير عالية في ثنائيات الفلقة
* المدفع المورثي: كفاءة متساوية في احاديات وثنائيات الفلقة

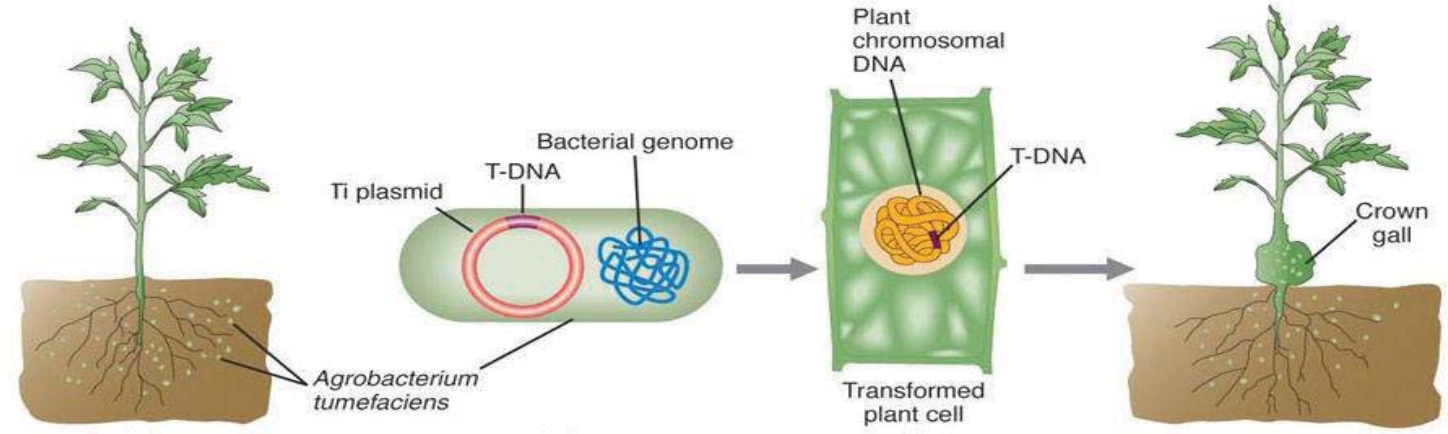
Agrobacterium takes about 3-5 months to complete;
bombardment takes longer, about 5-7 months.

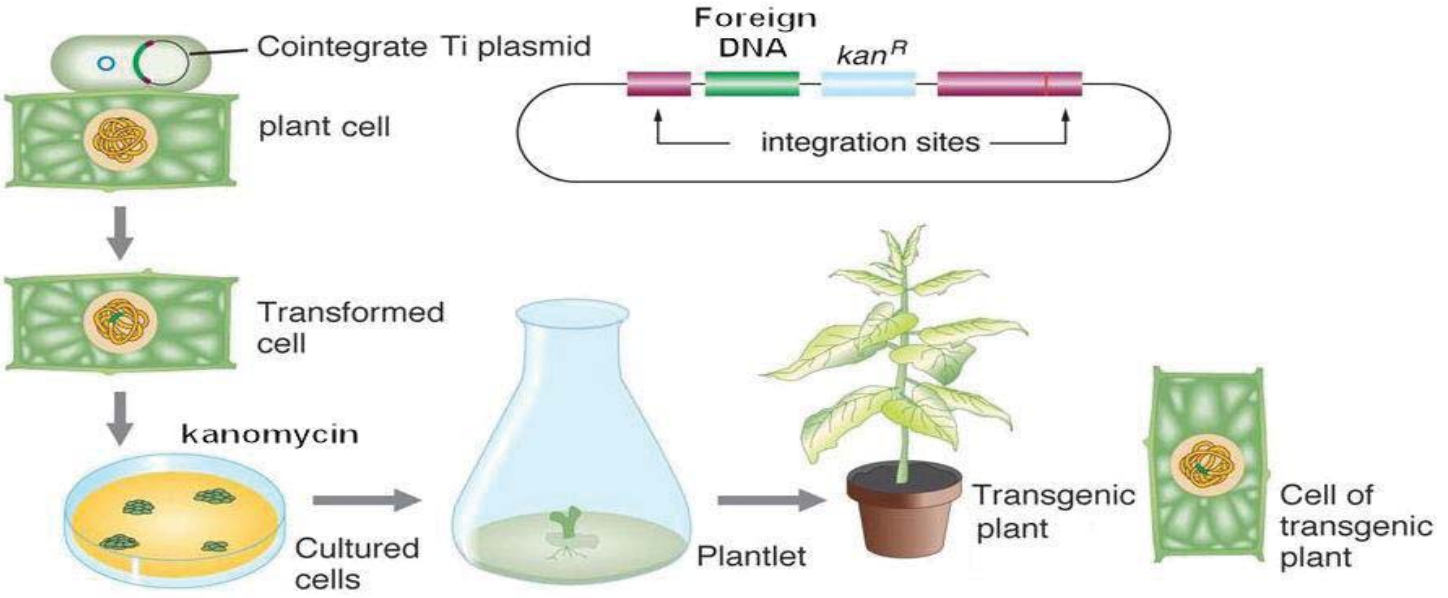
* البكتريا : 3-5 أشهر حتى الوصول للنبات المحور
* المدفع المورثي: 5-7 أشهر حتى الوصول للنبات المحور.

Agrobacterium places DNA only into the nucleus of a plant cell;

bombardment can place DNA into any of the three plant cell compartments that contain DNA: the nucleus, mitochondria, and chloroplasts.

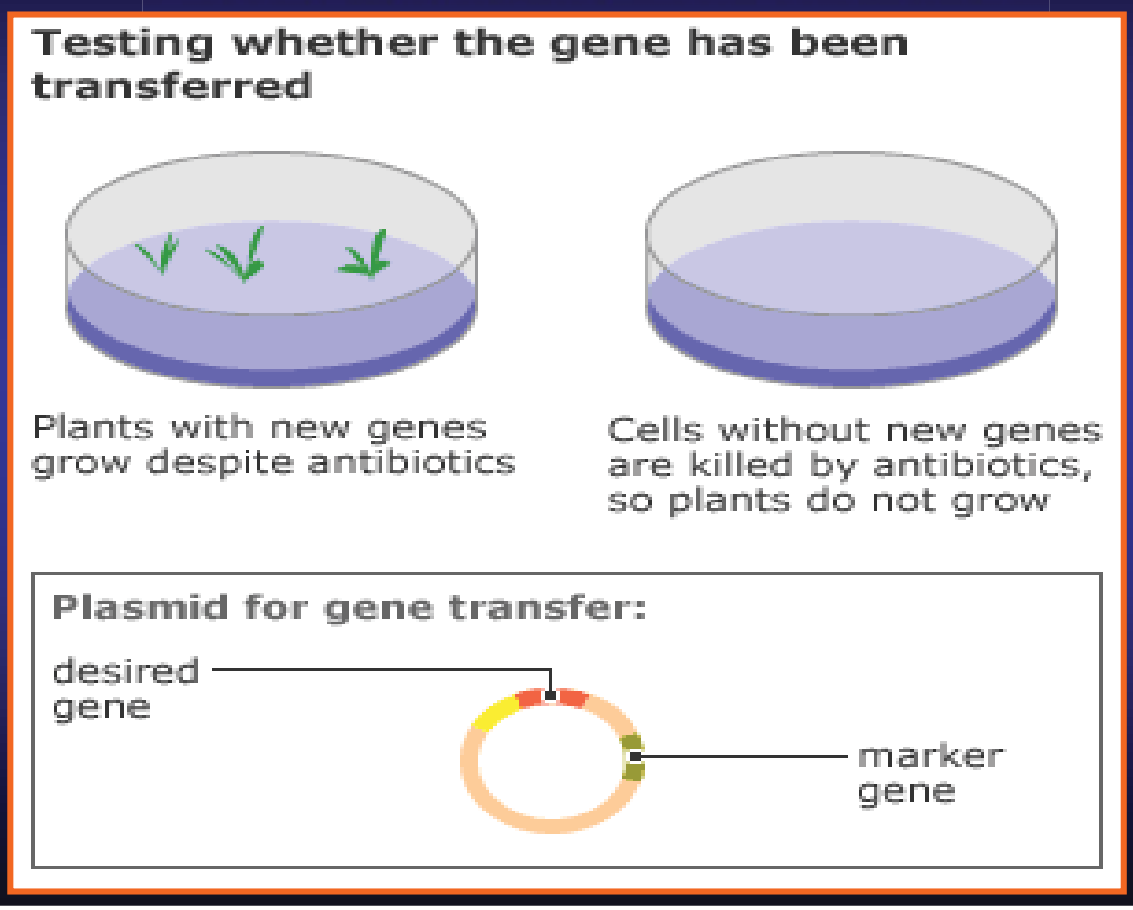
* البكتريا : تتوضع المورثة في النواة على الصبغي فقط.
* المدفع المورثي: يمكن للمورثة ان تتوضع في أي من المجينات الثلاث.





انتخاب النباتات المحورة وراثياً واختبارها

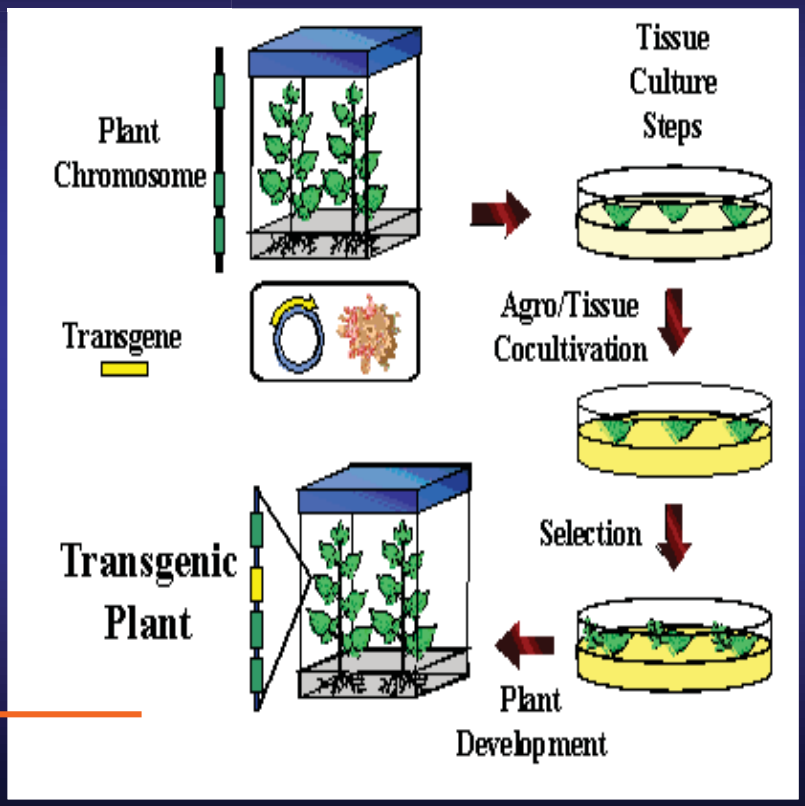
Select transformed cells or tissues



زراعة الأنسجة النباتية:

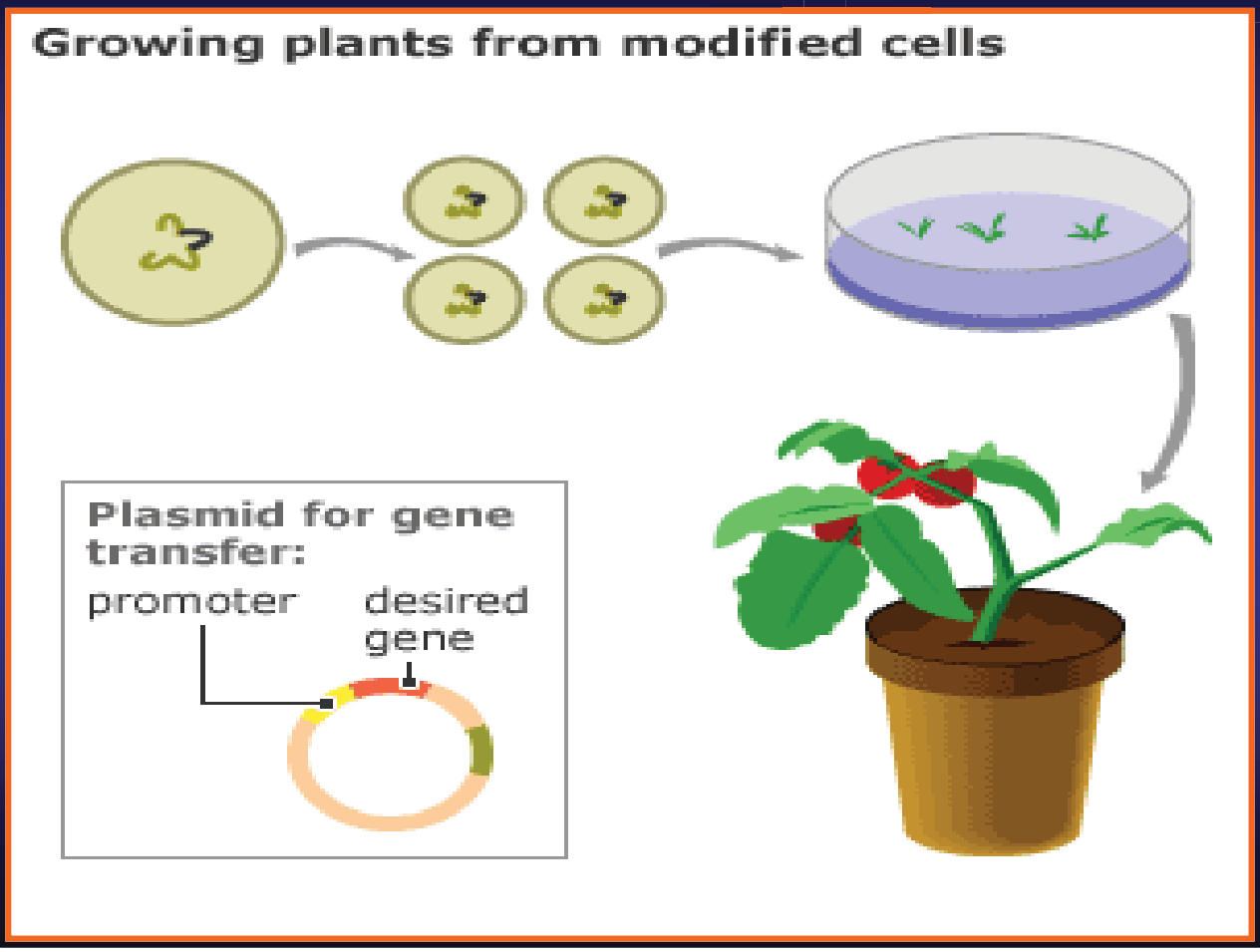
Culture plant tissue

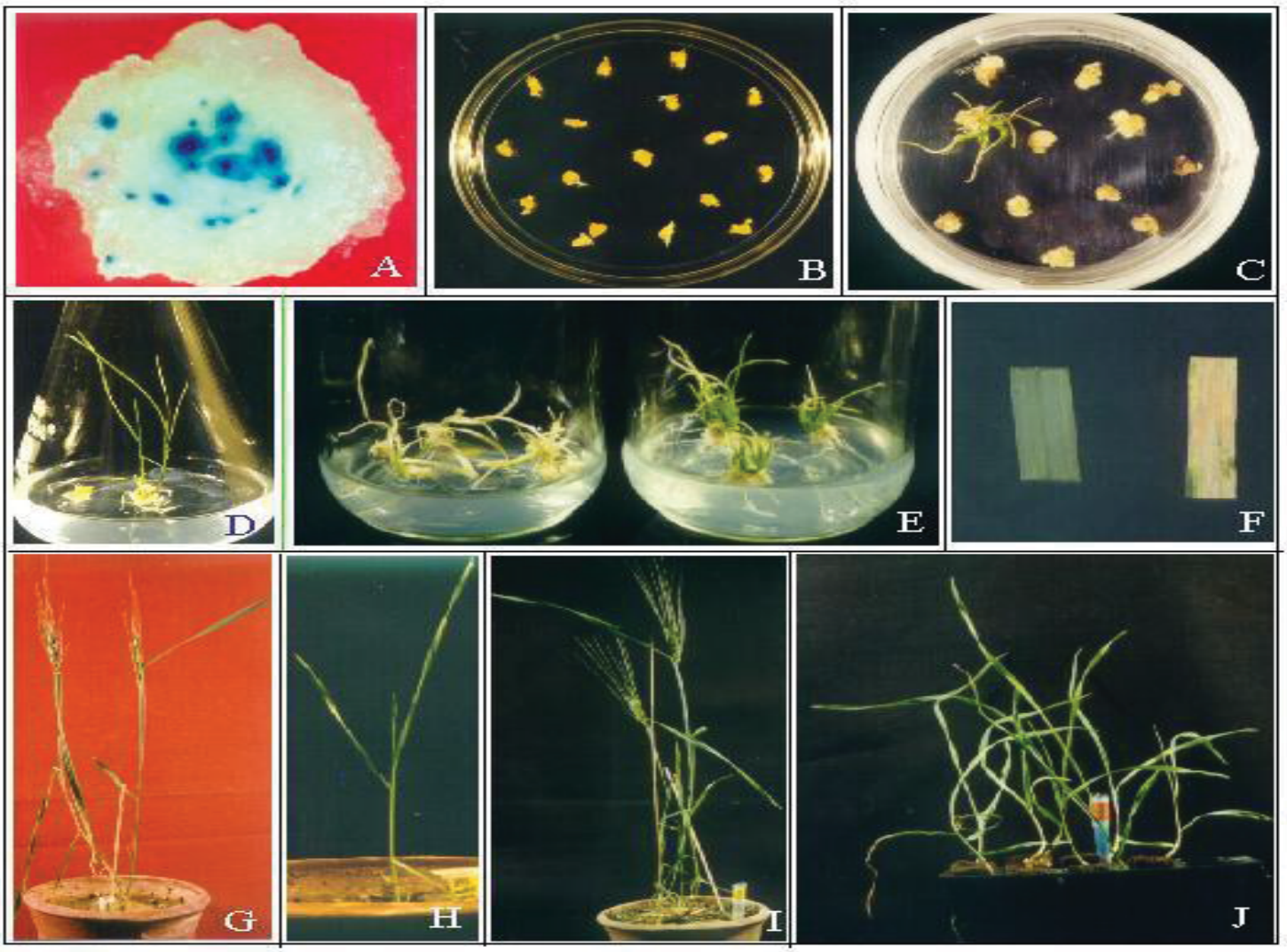
- Develop shoots
- Root the shoots



Regenerate whole plants

انتاج النباتات الكاملة:





الكشف عن النباتات المحوّرة وراثياً
Detection of genetically modified Plants

European corn borer (left) and cotton bollworm (right) are two pests controlled by Bt corn and cotton, respectively.

Source: USDA.

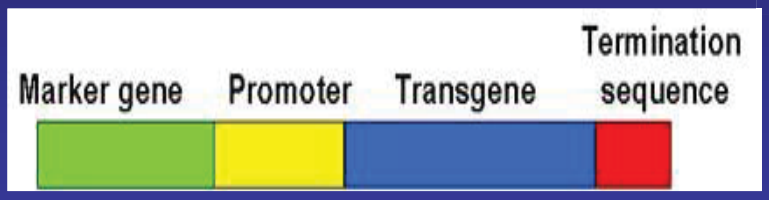
طرق الكشف عن نجاح عملية التحوير والحصول على نبات محور وراثياً:

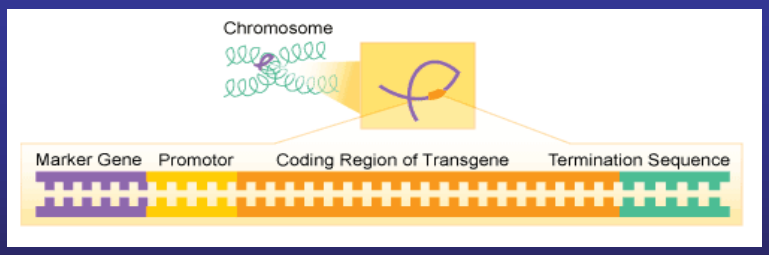
طرق فيزيائية: مهمتها التأكد من وجود المورثة.

طرق وظيفية: مهمتها التأكد من عمل و نشاط المورثة.

Identification of GMO by PCR

الكشف الفيزيائي عن المورثة من خلال تفاعل الـ PCR

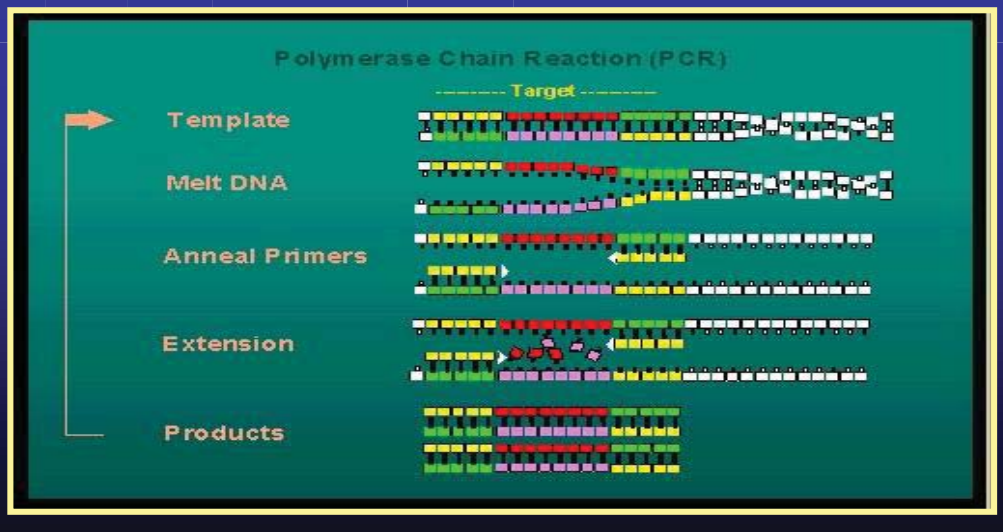




Confirmation by PCR Amplification

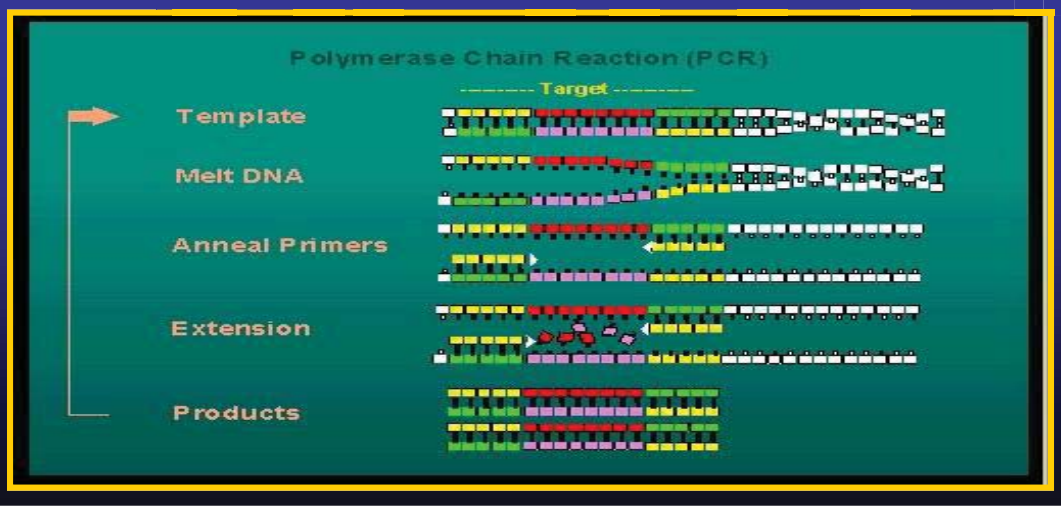
الطرق الفيزيائية:

التأكد من وجود المورثة كتركيب نيوكليوتيدي من خلال التفاعل التسلسلي للبوليميراز PCR.

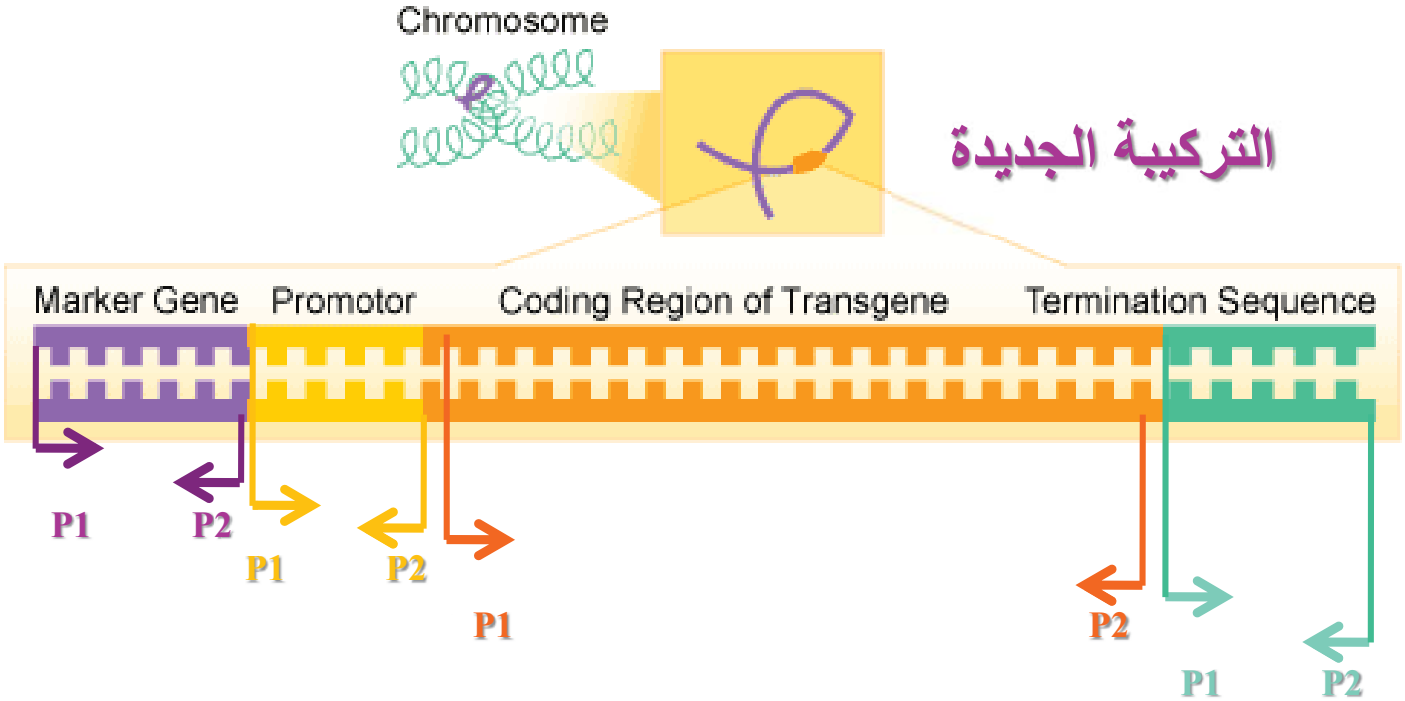


التفاعل التسلسلي للبوليميراز:

* هو أكثر الطرق استخداماً للكشف والتعرف على النباتات او الكائنات المحورة وراثياً.
* يتضمن الاختبار استخلاص الـ DNA ومكاثرة المورثة المضافة والتأكد منها.
* يستطيع الـ PCR الكشف عن وجود جزيئة واحدة (من الهدف) ضمن مزيج معقد من جزيئات الـ DNA.

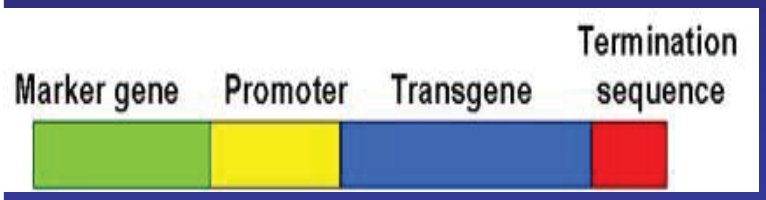


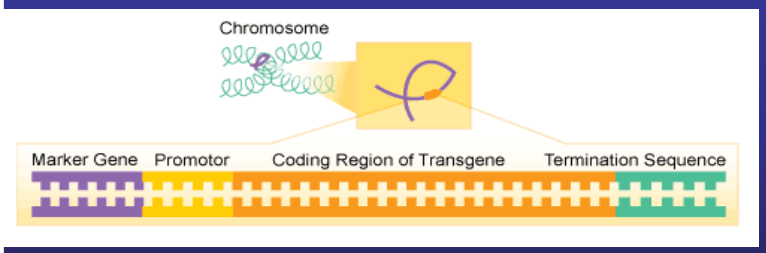
تصميم البادئات التي ستستخدم في التفاعل التسلسلي للبوليميراز PCR على ان تكون مكملة لمناطق معينة من التركيبة التي نقلت للنبات الجديد.

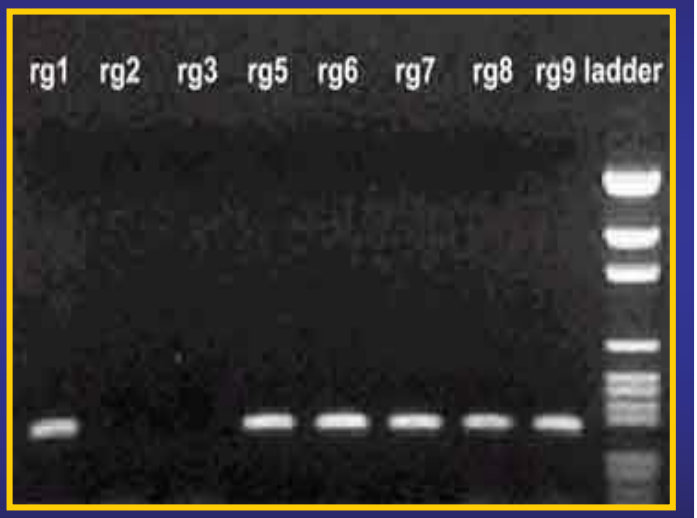


Identification of GMO by PCR

الكشف الفيزيائي عن المورثة من خلال تفاعل الـ PCR







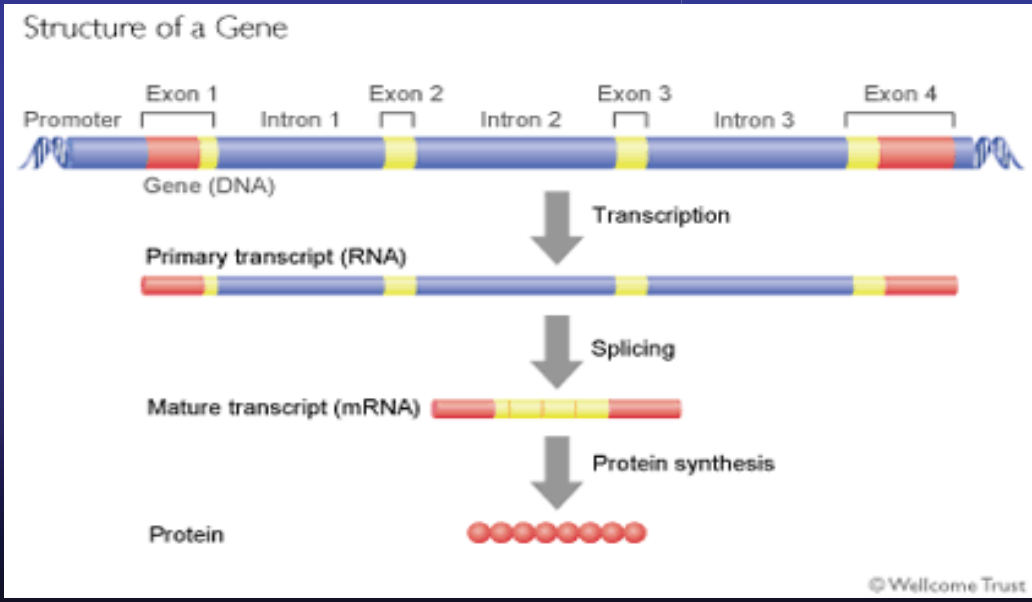
Confirmation by PCR Amplification

الكشف عن المورثة من خلال تعبيرها

Identification of GMO - Gene expression

الكشف عن المورثة من خلال تعبيرها Gene expression

- من خلال مظهر الصفة (بمرحلة مبكرة من خلال التلوين الكيميائي)
- من خلال الـ mRNA
- من خلال البروتين الناتج



أمثلة عن مورثات مؤشر
Selectable marker Reporters

مورثة GUS مسؤولة عن بروتين بيتا-غليكورونيديز (أنزيم) beta-glucuronidase يؤدي لتلون البكتريا بالأزرق عند نشاطه وذلك عندما تنمو على بيئة تحتوي X-gal وبوجود جزيئة محرضة IPTG.

مورثة في البكتريا مسؤولة عن انزيم الكلورامفينيكول استيلترانسفيريز الذي يمنح البكتريا المقاومة للمضاد الحيوي كلورامفينيكول.

- A common reporter in bacteria is the GUS (UidA) gene, which encodes the protein beta-glucuronidase. This enzyme causes bacteria expressing the gene to appear blue when grown on a medium that contains the substrate analog X-gal; an inducer molecule such as IPTG; is also needed under the native promoter.
- A selectable-marker reporter in bacteria is the Chloramphenicol, acetyltranserase (CAT) gene, which confers resistance to the antibiotic Chloramphenicol.

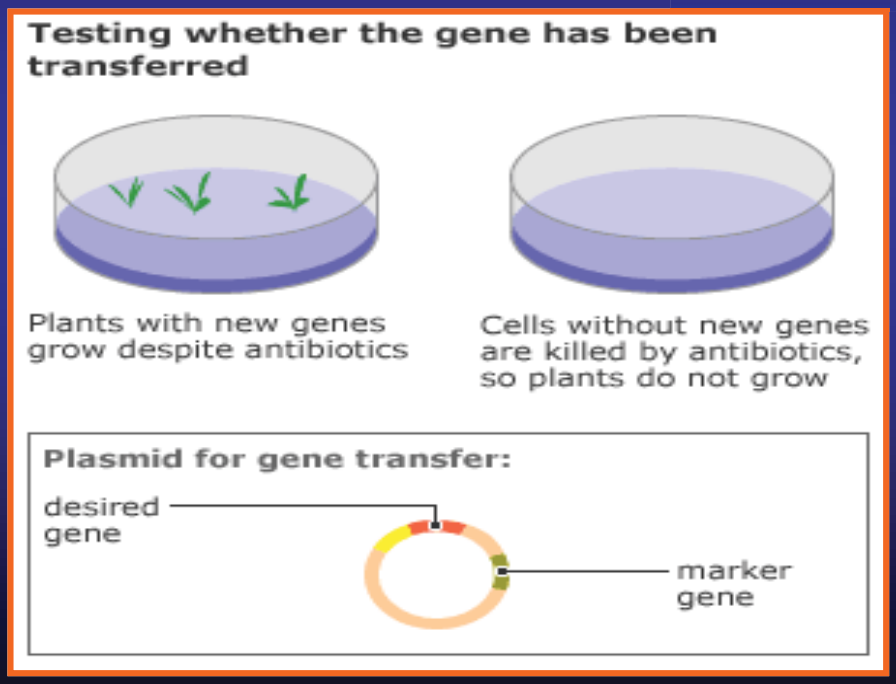
الكشف عن التعبير:

1- طرائق بسيطة تقنياً

التوصيف المظهري

Low-technological methods.
Phenotypic characterisation (herbicide bioassays).

Allows detection of the presence or absence of a specific trait. For traits as resistance or tolerance to herbicides .



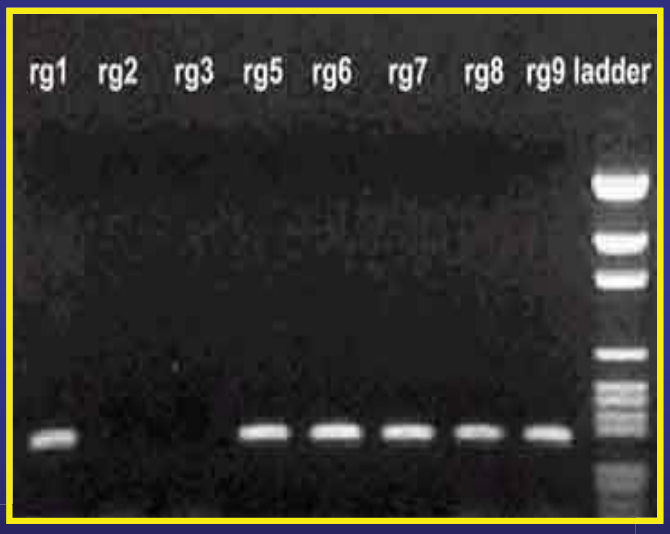
الكشف عن المورثة من خلال تعبيرها

تأكيد التحوير الوراثي من خلال تعبير المورثة الذي يتمثل بظهور اللون الأزرق بالأنسجة عند تلوينها بصبغات متخصصة.

Gene expression

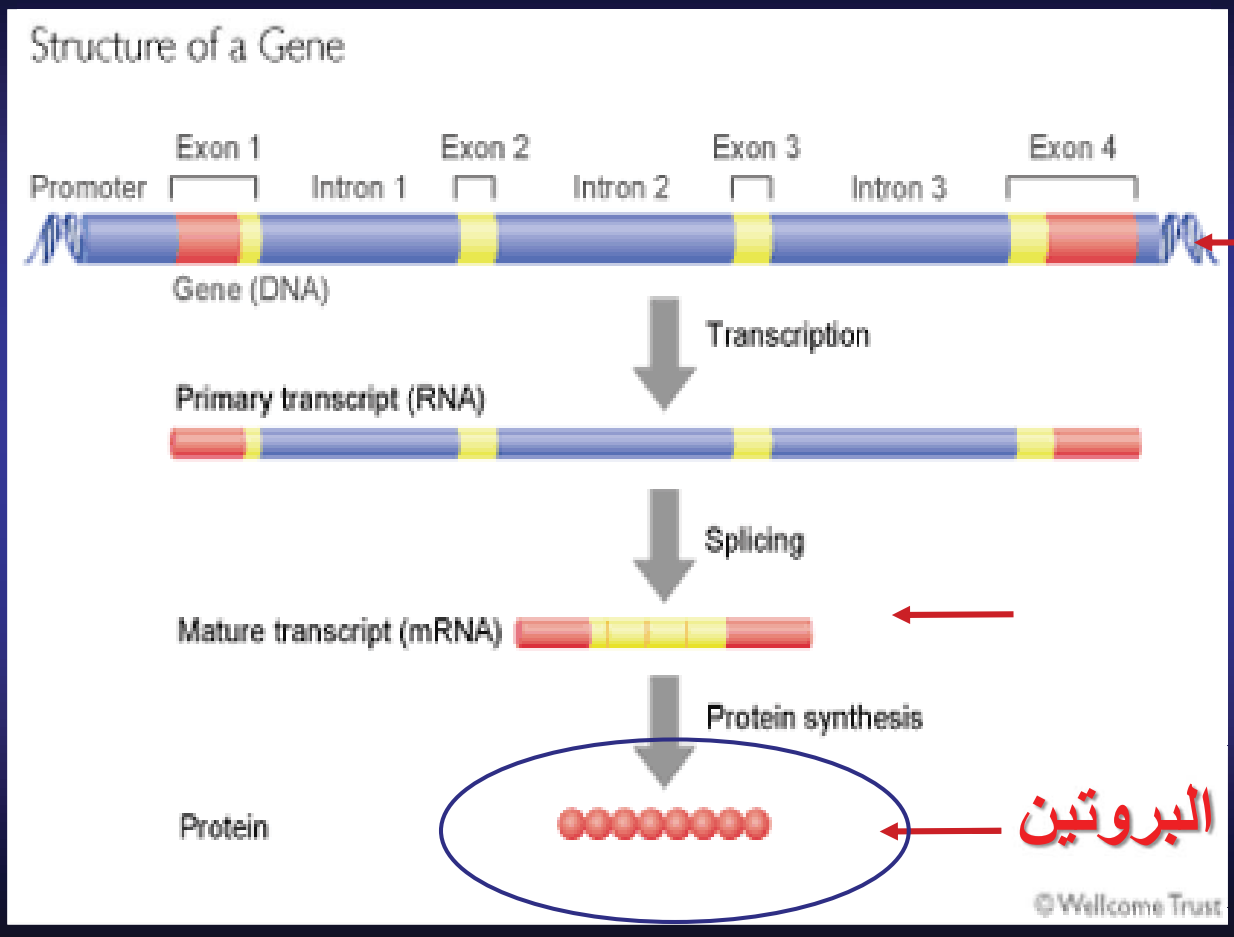
تأكيد التحوير الوراثي من خلال مقارنة الكشف عن المورثة بتفاعل الـ PCR ومن خلال تعبيرها ونشاطها

Gene expression



PCR Amplification

المستوى المستهدف بعملية الكشف عن التحوير



Protein methods.

2- الكشف عن طريق البروتينات

- For detection and quantification of new (foreign) proteins introduced through genetic modification of plants.

-للتعرف على/ وتحديد كمية البروتينات الجديدة المنتجة من خلال التحوير الوراثي للنبات.

- The crucial component of an immunoassay is an antibody with high specificity for the target molecule (antigen).

-العنصر الهام لتجارب المناعة هو وجود مضادات الاجسام النوعية الخاصة بالجزيئة الهدف (مولد المادة المضادة).

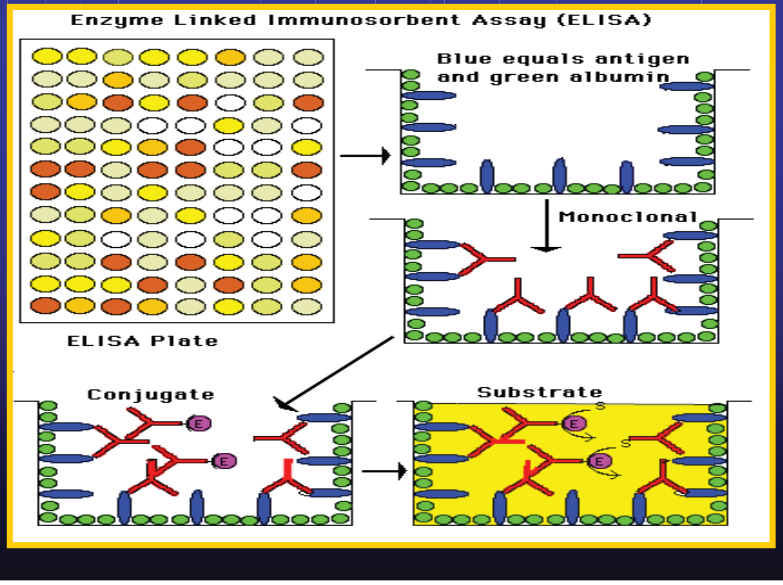
- Similar to herbicide bioassays, immunoassays require separate tests for each trait in question.

- تتطلب التجارب المناعية اختبارات منفصلة لكل صفة على حدا.

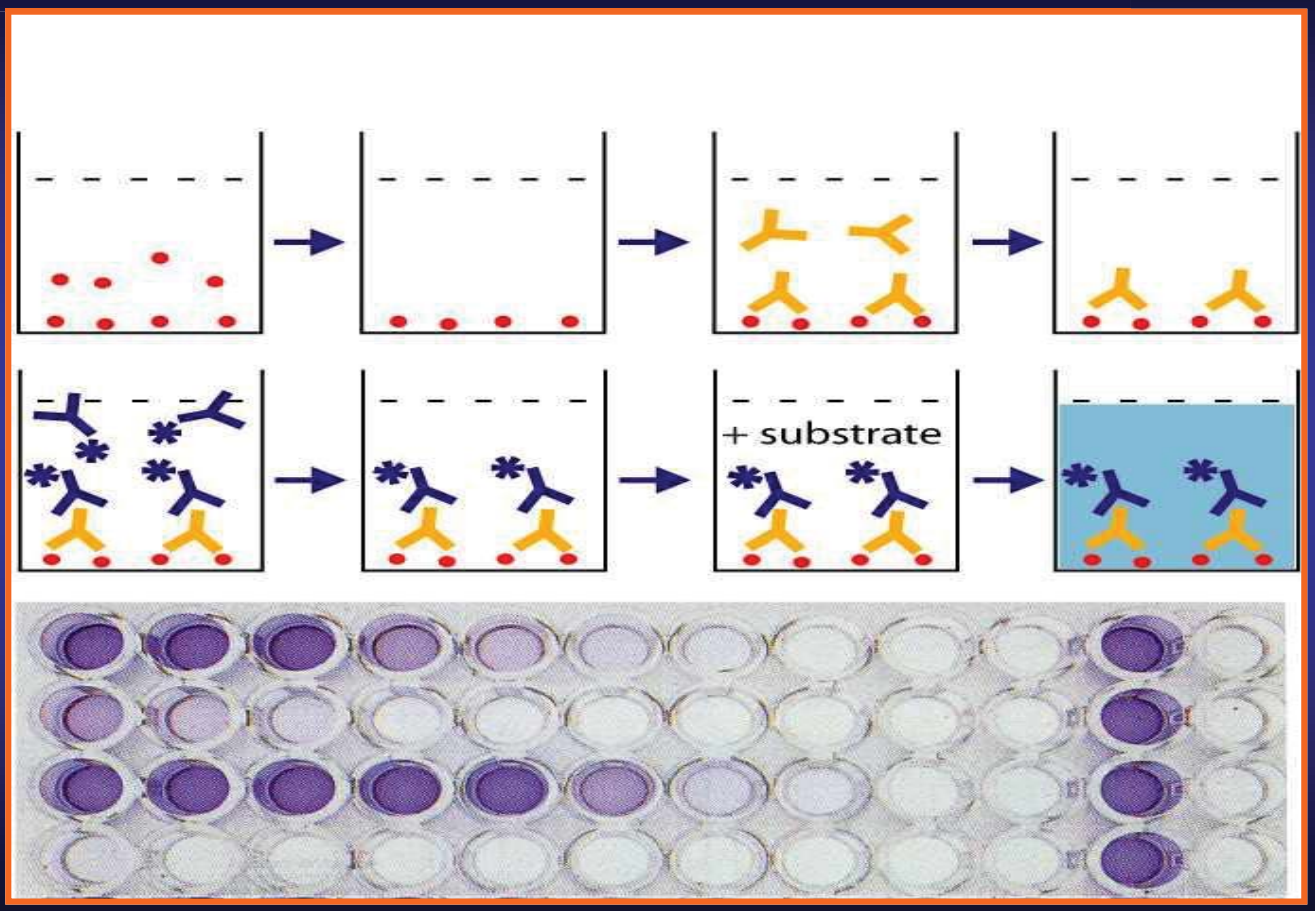
ELISA

(Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay) ELISA اختبار

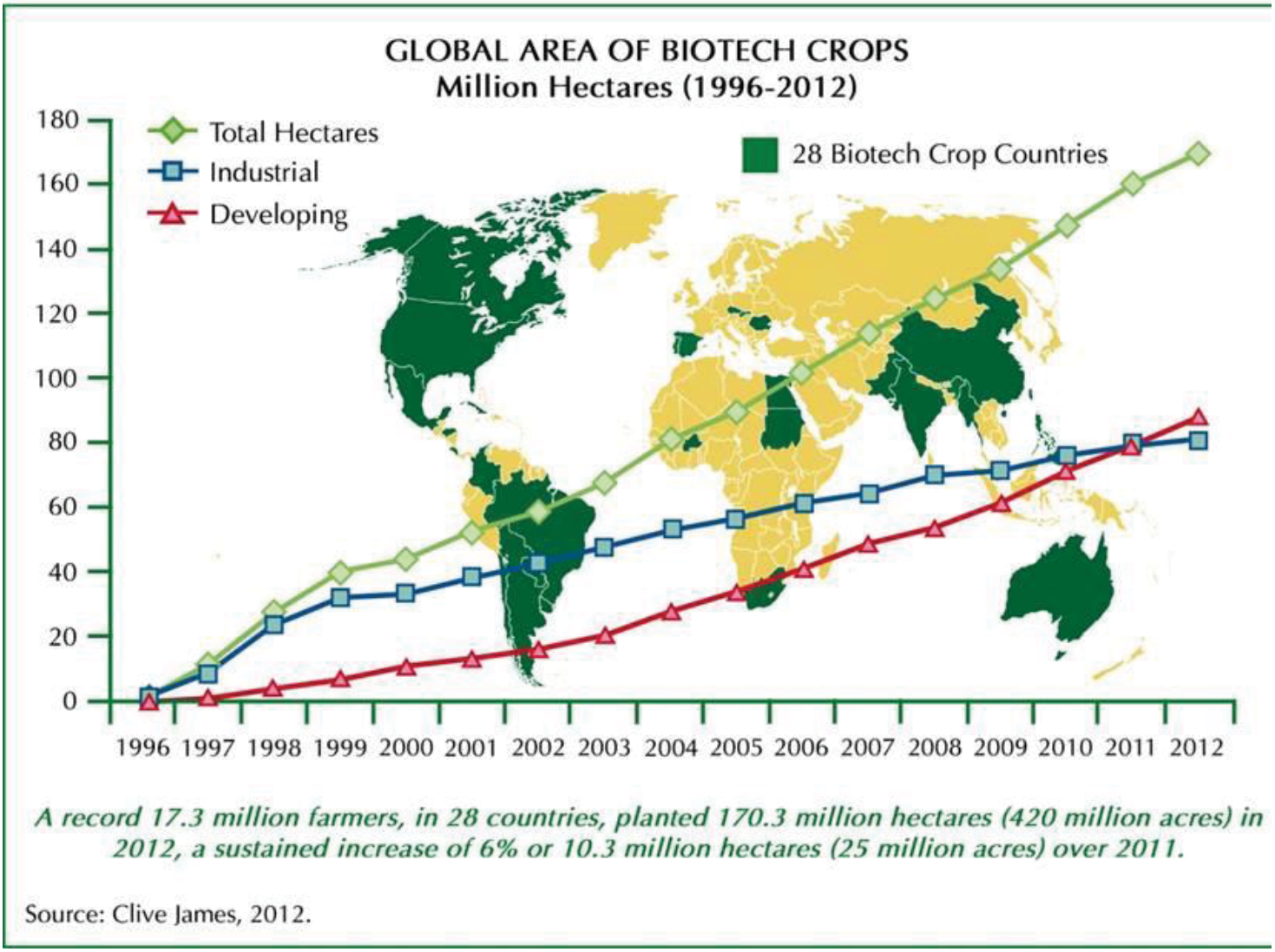
- يتم تفاعل مولد المضاد- الجسم المضاد على وسط صلب.
- يتفاعل مولد المضاد-الجسم المضاد لتكوين معقداً يمكن رؤيته بالعين من خلال اضافة جسم مضاد آخر مرتبط بانزيم .
- إضافة مادة متخصصة إلى هذا الانزيم، تسبب حصول تفاعل، ينتج لوناً معيناً يمكن رؤيته وتحديد شدته إما بشكل تقريبي (بالعين) أو بشكل دقيق (بالأجهزة).



ELISA (enzyme linked immunosorbent assay).

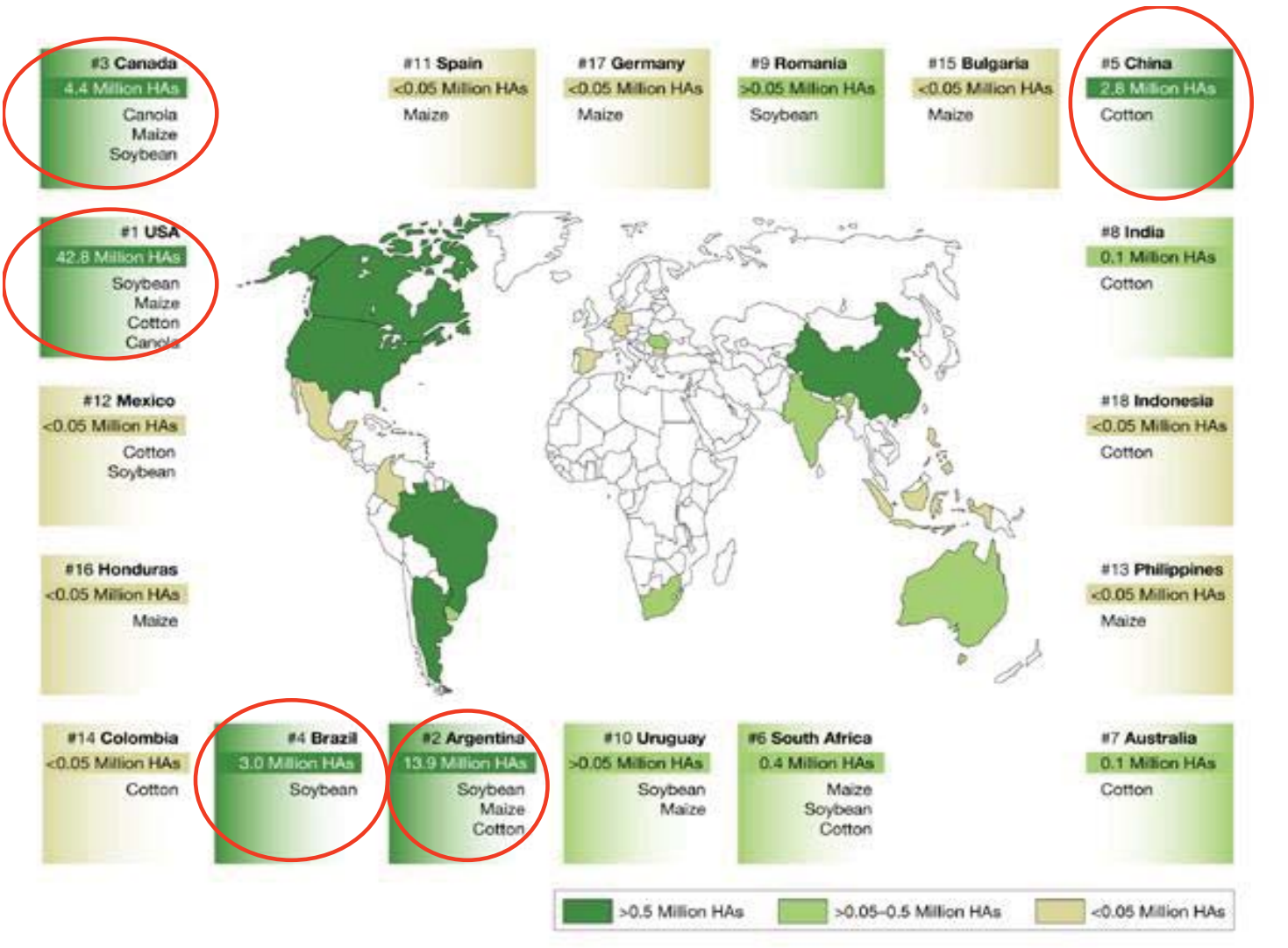


واقع النباتات المحوّرة وراثياً
Current Situation of Transgenic Plants



A record 17.3 million farmers, in 28 countries, planted 170.3 million hectares (420 million acres) in 2012, a sustained increase of 6% or 10.3 million hectares (25 million acres) over 2011.

Source: Clive James, 2012.



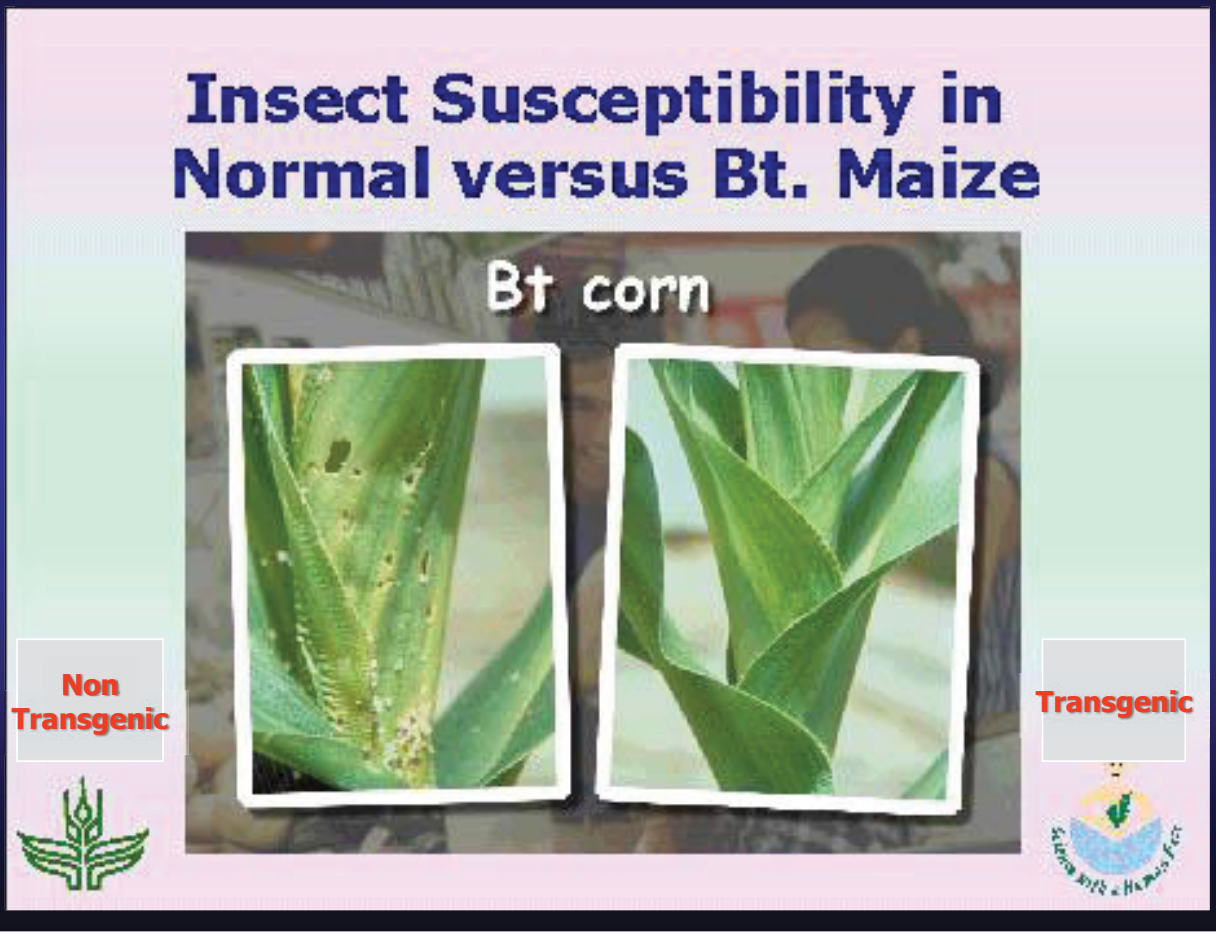
أهداف التحوير الوراثي:

- انتاج نباتات مقاومة للكائنات الممرضة.*
- انتاج نباتات متحملة للمبيدات.*
- انتاج نباتات متحملة للظروف البيئية غير المناسبة.*
- تحسين القيمة الغذائية للمحاصيل*

Objectives of Genetic Engineering:

To add pest resistance (BT corn, mosiac resistant yam)
To add herbicide resistance (roundup ready soybean)
To improve nutritional value (golden rice with vitamin A)
To make them grow in infertile areas (salt resistant tomato)

انتاج نباتات مقاومة للكائنات الممرضة



Bt Insect-Resistant Crops

Bt crops: a modified version of the bacterial Cry gene incorporated into the plant's own DNA, so that the plant's cellular machinery produces the toxin. When the insect chomps on a leaf or bores into a stem of a Bt-containing plant, it ingests the toxin and will die within few days.

Corn hybrid with a Bt gene and a hybrid susceptible to European corn borer

Source: USDA

Corn borer damage

lodging: weakened stalks fall over

Corn borers do an estimated $1.2 billion damage annually to U.S. cornfields, and destroy about 7% of the world's corn production

non-Bt Bt

mold & mycotoxins in damaged kernels

Insect resistant cotton – Bt toxin kills the cotton boll worm

Transgene = Bt protein

Savings from Bt technology

Pesticide use on cotton cut by 2 million pounds per year

$200 million savings to corn farmers from less insecticide spraying, plus average 9% yield increase

Potato farmers could avoid 3 million pounds of pesticide per year

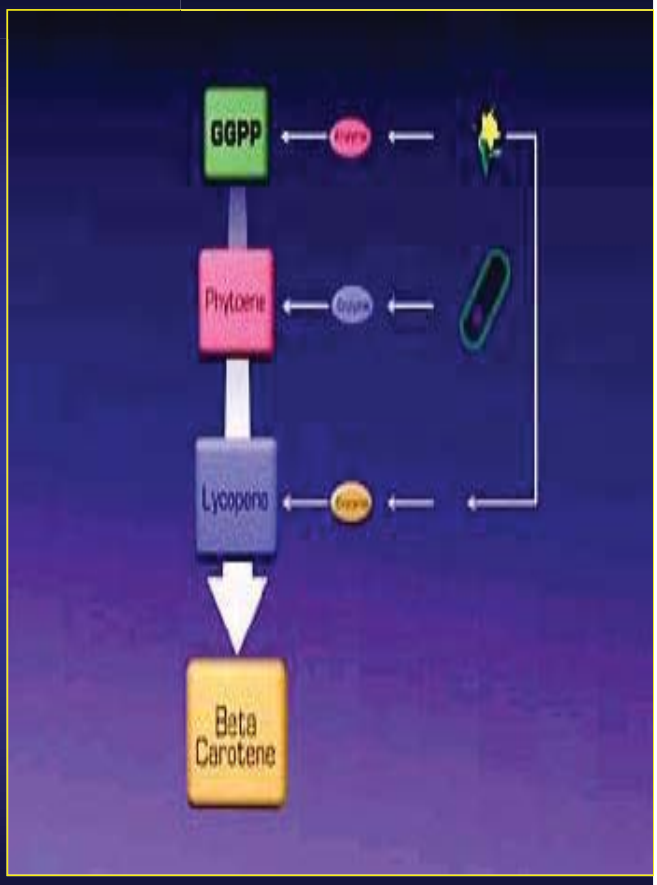
Golden Rice

Rice has been genetically engineered to produce beta-carotene, the precursor to vitamin A (a substance which the body can convert to Vitamin A).

Vitamin A deficiency (VAD) affects more than 200 million people worldwide and is responsible for an estimated 2.8 million cases of blindness in children under five years of age (FAO, 2000a). Most affected: children and pregnant women. It can cause partial or total blindness; less severe deficiencies weaken the immune system, increasing the risk of infections such as measles and malaria. Women with VAD are more likely to die during or after childbirth

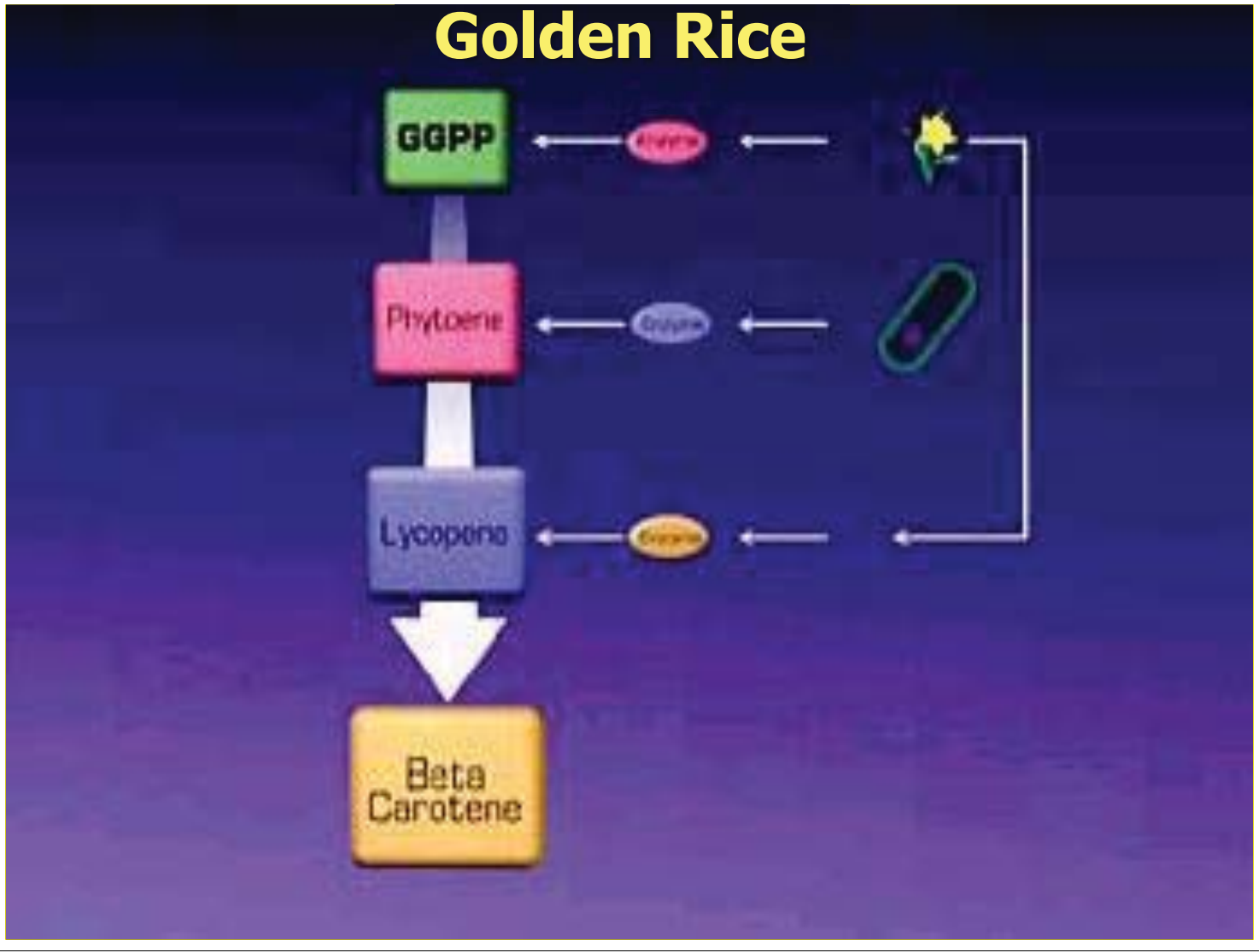
The owners of the patents who were involved in the development of Golden Rice have donated them for humanitarian purposes, which means that farmers in developing countries are permitted to grow and reproduce Golden Rice without paying technology fees

Golden Rice

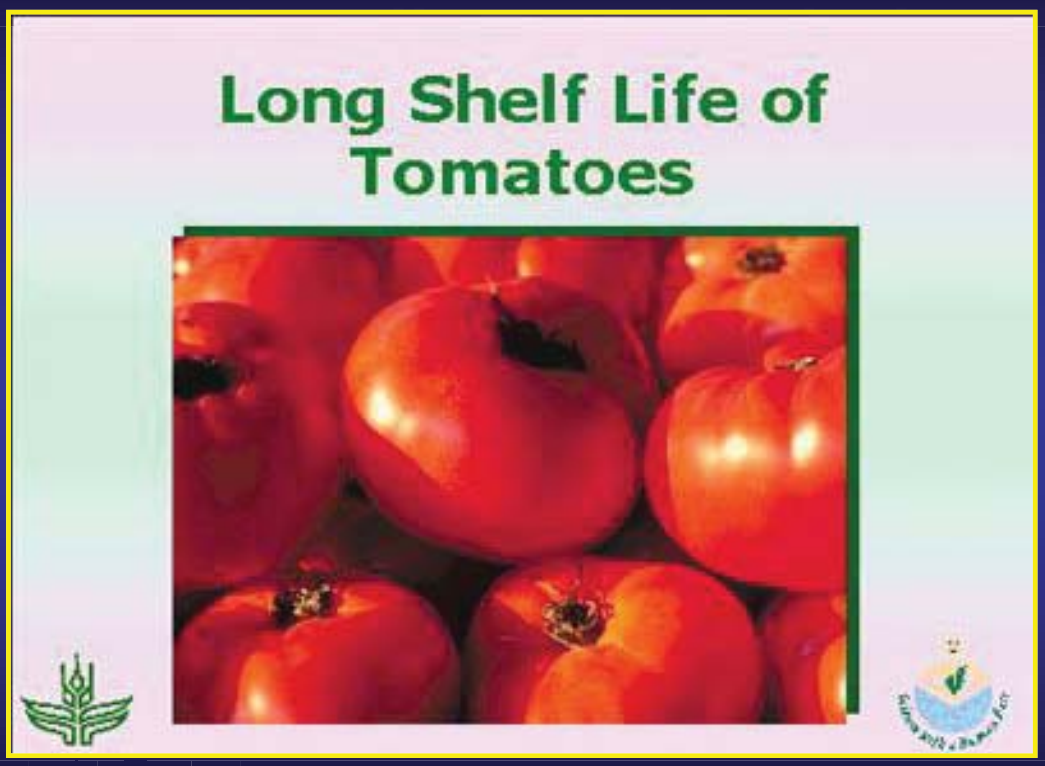


Golden Rice was developed by researchers at German and Swiss universities (Ye *et al.*, 2000).

Golden Rice



إطالة عمر ثمار البندورة بعد القطاف



On May 18, 1994, the Food and Drug Administration announced that the Flavr Savr, a new tomato developed through biotechnology, is as safe as tomatoes bred by conventional means

المقاومة للمبيدات

Herbicide Tolerance

التحوير للتحمل للمبيدات

Weed control is one of the farmer's biggest challenges in crop production.

Many herbicides control only certain types of weeds, and are approved for use only on certain crops at specific growth stages.

Herbicide tolerant crops resolve many of those problems because they include transgenes providing tolerance to the herbicides Roundup® (chemical name: glyphosate) or Liberty® (glufosinate). These herbicides are broad-spectrum.

Transgene = modified EPSP synthase or phosphinothricin-N-acetyltransferase

تمثل السيطرة على الاعشاب للمزارع أكبر التحديات عند انتاج المحاصيل.

تستطيع العديد من المبيدات القضاء على بعض الانواع العشبية الضارة لبعض المحاصيل وبمراحل محددة من حياة النبات.

تساهم المحاصيل المحورة وراثياً، لتصبح متحملة لمبيدات الاعشاب، بحل هذه المشكلة، لكون هذه النباتات تحتوي على مورثة منقولة إليها و تمنحها القدرة على تحمل المبيدات التابعة لـمبيدات Roundup®، (الاسم الكيميائي glyphosate) أو Liberty (glufosinate)، هذه المبيدات تقضي على طيف واسع من الاعشاب.

Herbicide Tolerance

Weed-infested soybean plot

Roundup Ready® soybeans after Roundup treatment

Source: Monsanto

المقاومة للمبيدات

Herbicide Tolerance

Weed-infested soybean plot

Roundup Ready® soybeans after Roundup treatment

Source: Monsanto

Final Test of the Transgenic

Round-Up Ready Corn

Before After

المقاومة للفيروسات

Papaya ringspot potyvirus (PRSV), a virus that causes severe damage to the papaya industry in a number of major producing countries

فيرس التبقع الدائري على البابايا، (PRSV)، يسبب خسائر هائلة لمنتجي البابايا، في العديد من الدول المنتجة له.

Transgene = virus coat protein

البابايا مصدر هام للعديد من الفيتامينات

Papaya is an important Source of vitamins in Tropical areas. Source: USDA

Non-transgenic plants ,are susceptible to papaya ringspot virus under field conditions.

Transgenic papaya Plants show resistance

(Photo courtesy of Dennis Gonsalves, Cornell Uni.

المقاومة للفطريات

عباد الشمس المحور وراثياً ليصبح مقاوم للبياض الدقيقي

Sunflower – white mold resistance

Transgene = oxalate oxidase from wheat

Source: Monsanto

التحمل للظروف غير المناسبة

مكتبة A to Z