جامعة دمشق
كلية الزراعة
قسم التقانات الحيوية

تنسيل مورثة عامل التخثر التاسع والتعبير عنها في خلايا الثدييات

Cloning and Expression of Coagulation Factor Nine Gene In Mammalian Cells

اسم الطالب: أسامة محمد علي النجار

اسم المشرف : أ.م.د. مجد الجمالي اسم المشرف المشارك : أ.د. هدى القواص

الملخص

هدَفْنا في هذا البحث إلى تنسيل مورثة العامل التاسع البشري وإنتاجه في منظومات تعبير جيني لحقيقيات النوى، مع الأخذ بعين الاعتبار التعديلات اللاحقة للترجمة التي تطرأ على العامل التاسع البشري في خلايا الكبد، والضرورية للقيام بوظيفته في تحريض تشكل الخثرات وإيقاف النزف ، إلا أن العديد من التحديات واجهتنا، بدءاً من الصعوبة الكبيرة في الحصول على عينات كبد بشرية ملائمة، وانتهاءً بظروف البنية التحتية في المختبرات والتي حالت دون تحقيق أهداف هذا البحث. إذ، وعلى الرغم من قيامنا بكافة الخطوات العملية المطلوبة، من عزل الرنا من عينات الخزعات الكبدية التي حصلنا عليها، واصطناع الدنا المتمم، وتضخيمه باستخدام بادئات نوعية لعامل التخثر التاسع البشري تم التأكد منها عبر وسائل المعلوماتية الحيوية، وتنسيله في البلازميد المناسب للتعبير، وتحوير خلايا الجراثيم به.

القسم النظر ى

مقدمة : يعد العلاج البيولوجي من أهم العلاجات الواعدة التي توصل إليها العلم الحديث، حيث تشكل الأدوية البيولوجية بديلاً لعلاج الأمراض الحيوية التي لم يتم علاجها بالأدوية الكيميائية ، صادقت منظمة الغذاء والدواء الأمريكية FDA مؤخرًا على طرح دواء جديد لعلاج المرضى المصابين بنزف الدم الوراثي، المعروف باسم "الهيموفيليا ب"، ويعرف الدواء الجديد باسم أيدلفيون Idelvion، ويحتوى على عامل التخثر التاسع فى صورة مؤشبة ، ويصلح لعلاج الأشخاص البالغين والأطفال المصابين بمرض "الهيموفيليا ب". يشكّل علاج الهيموفيليا إنجازاً ضخماً، يصيب هذا المرض رجلاً من أصل 30000 رجلاً (نادراً ما يصيب النساء) وتبلغ قيمة سوق بدائل عامل الدم 10 مليارات دولار.(Giancarlo Castaman and Davide Matino, 2019)

أهداف البحث :

1- عزل وتضخيم التسلسل النكليوتيدي الخاص بعامل التخثر التاسع البشري من عينة كبدية.

2- إجراء عملية تأشيب للمورثة ضمن بلاسميد يمكن من خلاله التعبير عن طريق خلايا بشرية مناسبة.

مبررات البحث :

1- وضع الخطوة الأولى في الوصول إلى علاج آمن و فعال لمرضى الناعور ب.

2- المساهمة بتصنيع علاج رخيص الثمن مقارنة بالمشابهات العالمية وفي متناول جميع المرضى.

النتائج و المناقشة

- الحصول على سبع عينات من الخزعات الكبدية
- عزل الرنا الكلي من عينات الخزعات الكبدية البشرية وتحويله إلى الدنا المتمم
- العمل على أمثلة شروط تضخيم الدنا المتمم النوعي للعامل التاسع بتفاعل البوليميراز التسلسلي
- حصلنا على عصابة ضعيفة في الرحلان الكهربائي لنواتج تضخيم الدنا المتمم ببادئات نوعية لعامل التخثر التاسع البشري بطول يقارب الوزن الجزيئي المتوقع
- حصلنا على جراثيم محورة بالبلازميد المأشوب
- لم نتمكن من الحصول على تسلسل نوعي للعامل التاسع مما يدل على تضخيم غير نوعي لهذا العامل أو إلى عدم موائمة العينات الكبدية كمصدر للخلايا المعبرة عن العامل التاسع البشري

المراجع

Castaman G, and Matino D. (2019) Hemophilia A and B: molecular and clinical similarities and differences. Hematologica Journal, 104 (9), 1702-1709.