المعالجة الجينيّة

د. مجد الجمالي

تقانة حيوية | نظري

وصولك لهالمحاضرة يعني أنك بطل.....

سنتعرَّف في هذه المحاضرة على المعالجة الجينيّة التي تشكِّل الآن أملاً جديداً لعلاج الكثير من الأمراض المستعصية، ومعظم الدراسات الحديثة تقوم عليها

فهرس المحاضرة:

• أنواع الأمراض الجينيَّة	5
• النواقل Vectors	9
• خصائص النواقل	11
• Making AAV Vectors	18
• Making Retroviral Vectors	20
• The Ideal Vector	21
• DMD	22
• SCID	25
• Cysyic Fibrosis	27
• معالجة جينيَّة غير تقليديَّة	30

المعالجة الجينيّة Gene Therapy (GT)

➤ تطوَّرت أنماط المعالجة بشكل كبير خلال القرن الماضي حتى وصلنا إلى ما يُسمَّى المعالجة الجينية Gene Therapy التي تُعتَبَر المعالجة الجديدة مجالاً concept جديداً نوعاً ما أو حتَّى ضرباً من ضروب الخيال العلمي، ونستطيع أن نستنتج من اسمها أن هدفها هو الجينوم والتعبير الجيني لهذه الجينات.

العديد من الأمراض أصلها جينيّ، وقد نتجت من وجود عيبٍ في بعض الجينات التي أدَّت لهذا المرض، ومن الأمثلة عليها:

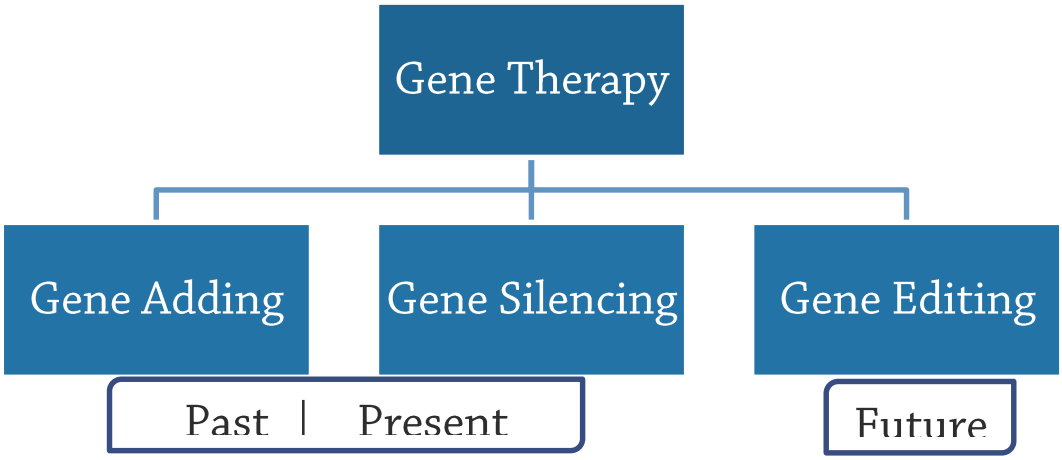
التليف الكيسي cystic Fibrosis هو مرض وراثي؛ ناجم عن خلل في الجينة المعبِّرة عن البروتينات المؤلِّفة لقنوات الكلور في الخليَّة.

الناعور: وهو خلل في الجين المعبِّرة عن العامل الثامن أو التاسع.

التلاسيميا: خلل في تكوين سلاسل الهيموغلوبين الصحيحة.

كل هذه الأمراض ناجمة عن خلل جيني.

ملاحظة: المواد المُستَخدَمة في المعالجة الجينية هي أدوية تملك ① حركية دوائية، ② وكل المواصفات المنطبقة على غيرها من الأدوية.



☺ نلاحظ من الشكل السابق أن المعالجة الجينيَّة بدأت بالـGene Adding منذ حوالي 40 سنة، وفي هذه العملية يتمُّ إضافة الجينة المرمِّزة للبروتين الناقص (المَعُوز) في الجسم، مثال: مريض الناعور (سواء كان من النمط A أو B) يكون لديه عوز في أحد عوامل التخثر (العالم الثامن بالنسبة لـA والتاسع بالنسبة لـB) ومنه نستنتج أنه في حال إضافة الجينة السليمة المرمِّزة لعامل التخثُّر الناقص إلى خلايا

الكبد[1]؛ فإننا بالتالي سنحصل على تعبير لها (أي سنحصل على العوامل المَعُوزة) وسيعالَج المرض، ويتمُّ الإدخال عن طريق بلازميد حاوي على الجينة الخلوية.

Episomes

كتعريف هي بُنى DNA حلقيَّة[2] أو extrachromosomal قد تتواجد ضمن سيتوبلاسما خلايا حقيقيَّات ومن الممكن إدخال الجين إليها لتستقرَّ بها لفترة معيَّنة وقد تدخل لنوى الخلايا وتتضاعف بها، ويتمُّ فقدانها بعد فترة عند تضاعف الخلايا.

- تطوَّرت بعدها تقنيَّات المعالجة، ووصلنا لما يُسمَّى **الإسكات الجيني** Gene Silencing **وفيه يتمُّ حجب ومنع جينات مَعيبَة من التعبير عن البروتينات المَعيبة المرمِّزة لها**، مثال: نحذف الجينات المسؤولة عن تكاثر الخلايا السرطانية وتقنيَّة Silencing RNA خيرُ مثالٍ عليها أيضاً.
- أما في وقتنا الحالي نطمح بالوصول لما يُسمَّى Gene Repairing or Editing **أي عملية الإصلاح أو التبديل الجيني، والتي بدأت تطبيقاتها بالظهور فعليَّاً في وقتنا الراهن وفيها يتمُّ إصلاح العيوب الجينية كالطفرات مثلاً**، وما يميزه عن الـGene Adding بأننا نُصلِح الخلل ويبقى الجين المُصحَّح حتى لو تكاثرت الخلايا، بينما في طريقة الإضافة البلازميد ليس من أصل الخلية وستفقده عند التكاثر.

> مثال: مريض الناعور عند معالجته بالـGene Adding:
> يتعافى من المرض لفترة معينة ثم يفقد البلازميد الحاوي على الجينة.
> أما عند معالجته بالـGene Editing:
> بعد إصلاح الجينات ضمن الكروموزوم تصبح الخلايا طبيعية وحتى لو انقسمت فلن نفقد قدرتها على تصنيع العامل الذي صححنا جينته.

وقد تطوَّرت الـ Gene Editing في وقتنا الحالي كثيراً وتمَّ استخدامها بمجالات عديدة كمحاولةٍ لعلاج الكثير من الأمراض الجينيَّة، ويتمُّ تعديل الجينات بتقنيّضات معقَّدة جداً ومنها تقنيَّة CRISPR.

---

[1] الكبد هو المسؤول عن اصطناع عوامل التخثر.

[2] الدكتور عرَّفها على أنَّها بلازميدات موجودة في حقيقيَّات النوى، تستقرُّ لفترة في النواة وثمَّ تتخرَّب، لأنَّها ليست جزءاً أساسيَّاً من كرموسوم الخلايا، لذلك تفقدها الخلايا عند تضاعفها (في حال تضاعفها مع الخليَّة فستضرُّ الخليَّة).

تُعدُّ الـ Gene Editing أكثر فائدة من الـ Gene Adding

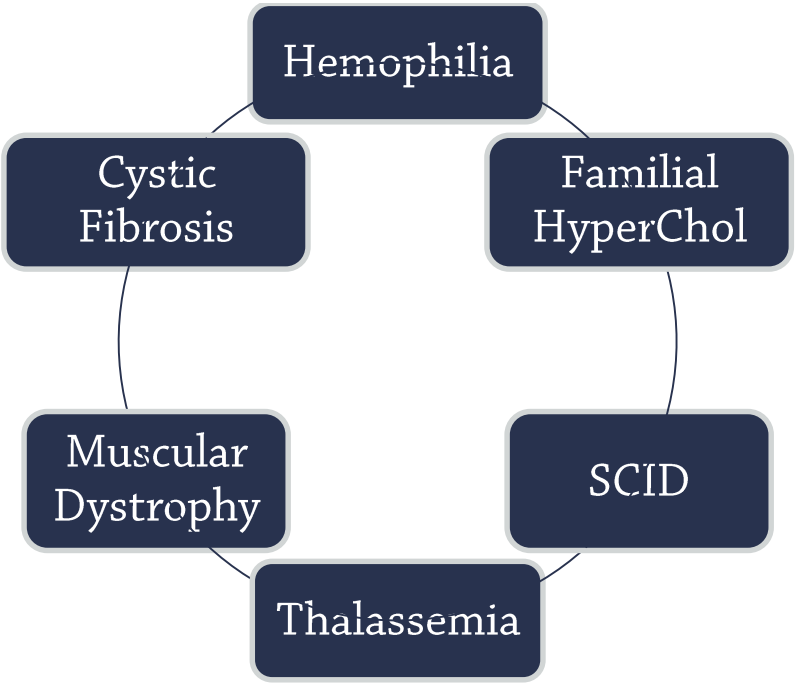
المعالجة الجينيّة قد توصلنا ربَّما لطريقة علاجيَّة نستطيع من خلالها تحويل مريض التلاسيميا لشخص طبيعي ♥_♥ لذلك قُلنا بأنَّها ضربٌ من الخيال العلمي.

أنواع الأمراض الجينية Genetic Diseases

- **Monogenic Disease**: أي الأمراض التي يكون سببها خلل بجينة (مورثة) واحدة.[3]
- **Multigenic Disease**: وهي الأكثر تعقيداً بكثير ويكون سببها عيب بأكثر من جينة.[4]
- **Multifactorial Disease**: وهي الأمراض التي سببها تآزر أكثر من سبب (جيني وراثي، بيئي) ليعطي المرض في النهاية، وعلاج هذه الأمراض صعب أيضاً.
كمرض السكري من النمط الثاني ← ينتج عن استعداد وراثي بالإضافة لتأثير المحيط والبيئة ونمط الغذاء والبدانة.☹

Monogenic Disorders

يلخص الشكل التالي بعض الأمراض الجينية من نمط Monogenic:



[3] وهي الأهم.

[4] يكون من الصعب تصحيح أكثر من جينة

Cystic Fibrosis: خلل في قنوات الكلور.

Muscular Dystrophy: وهو الحثل العضلي.

Thalassemia: خلل في سلاسل الغلوبين α أو β ويكون الخلل في الشرق الأوسط غالباً في السلاسل β.

ارتفاع الكوليسترول العائلي Familia HyperChol: خلل بمستقبلات LDL.

Hemophilia الناعور.

العوز المناعي المختلط الشديد Severe Combined Immune Deficiency (SCID): مرض خطير ناجم عن عوز بأنزيم ADA Adenosine Deaminase المسؤول عن تطوُّر الخلايا البائية والتائية فالمريض لا يملك أياً منهما.

توضيح: قد تكون الأمراض السابقة ناتجة عن خلل في أكثر من جين وليس فقط الجين الذي تحدثنا عنه، ولكن اخترنا النموذج الناتج عن خلل في جين واحد لسهولة العلاج.

يبين الجدول التالي بعض الأمراض الوراثية والخلل المسؤول عن حدوثها وبالإضافة للخلايا المستهدفة في حال اردنا علاج هذه الأمراض جينياً (مطلوب للحفظ من عدا تواتر Incidence حدوث الفرص)

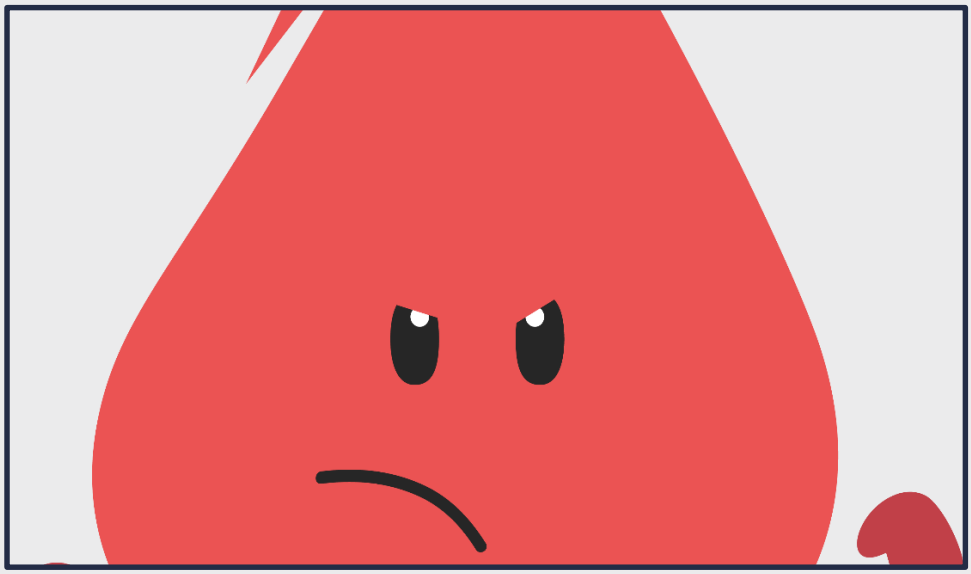
Disease	Defect	Incidence	Target Cells
Severe combined immunodeficiency (SCID)	Adenosine deaminase (ADA) in 25% of SCID patients	Rare	Bone-marrow cells or T lymphocytes
Hemophilia A B مرتبط بالصبغي x لهذا يصيب الذكور أكثر	➤ Factor VIIldeficiency ➤ Factor IX deficiency	➤1:10,000 males في سوريا يكون تواتر	➤Liver ➤ muscle ➤fibroblasts ➤ or bone marrow cells

		النمط A أعلى ➤1:30,000 males	
Familial hypercholesterolemia تواتره عالٍ في بلدنا	Deficiency of low-density lipoprotein (LDL) raeceptor	1:1 million	Liver
Cystic fibrosis	Faulty transport of salt in lung epithelium	1:3000 Caucasians	Airways in the lungs
Hemoglobinopathies Thalassemias يكثر عند اليهود بسبب التزاوج الكبير فيما بينهم	(Structural) defects in the α or β globin gene	1:600 in certain **ethnic** groups	
Gaucher's disease نادر في بلدنا	Defect in the enzyme glucocerebrosidase	1:450 in Ashkenazi Jews	➤Bone marrow cells ➤ macrophages
α_1 antitrypsin deficiency inherited emphysema	Lack of α_1 antitrypsin	1:3500	➤Lung. ➤or Liver cells
Duchenne muscular dystrophy مرتبط بالصبغي X	Lack of dystrophin	1:3000 males	Muscle cells

مرض Gaucher عبارة عن مرض وراثي ناجم عن عوز في أنزيم Glucocerebrosidase مما يؤدي إلى تراكم مادة Glucocerebroside ((من السفينغوليبيدات)) في خلايا معينة من الجسم بشكل رئيسي في الكريات البيضاء، وأيضاً يسبب تراكم الدسم في الخلايا العصبيَّة وتشكُّل fatty cells.

مرض α1 Antitrypsin Deficiency هو عبارة عن عوز في أنزيم α1 Antitrypsin ويؤدي في النهاية إلى إصابات رئوية.

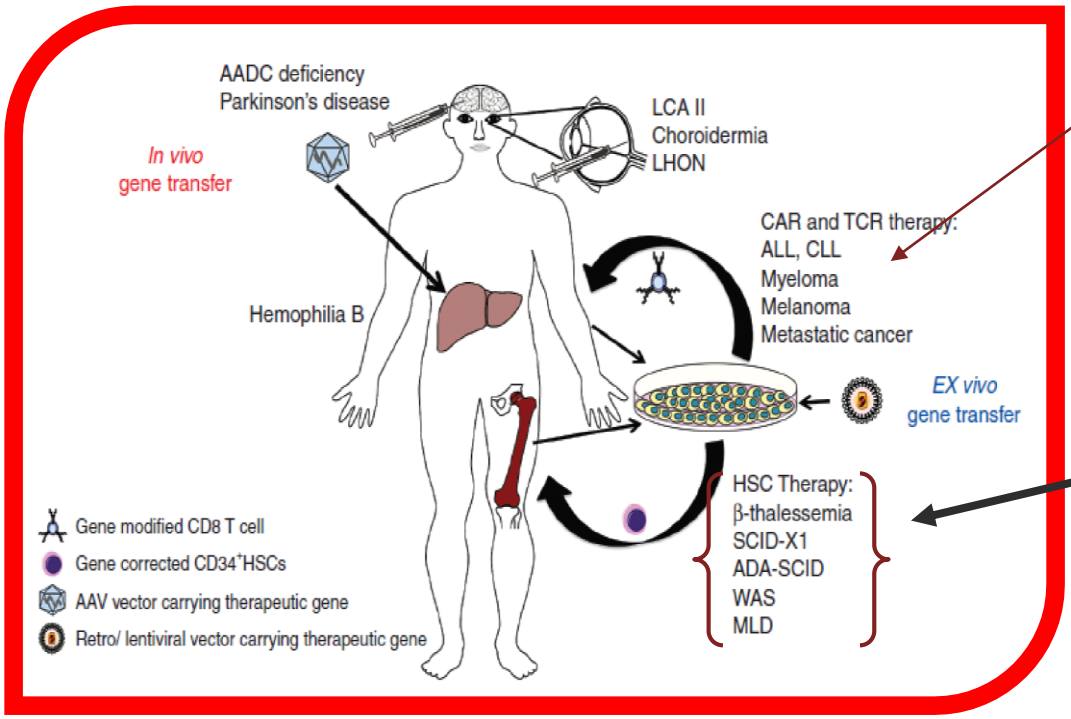
مرض Duchenne Muscular Distrophy نوعٌ من الحثل العضلي ناجم عن نقص في بروتين الـDystrophin الضروريّ لتقلُّص الخلايا العضليَّة.



نلاحظ من الجدول الخلايا المستهدَفة لأن معرفتها أمر هام جداً؛ وذلك لتحديد نوع المعالجة هي هل خارج خلوية Ex-Vivo أو داخل خلوية In-Vivo، فمثلاً عند مريض الناعور B تكون الخلايا المُستهدفة عنده هي خلايا الكبد والتي من الممكن استهدافها بفيروسات معيَّنة نوعيّة لخلايا الكبد، فالمُعالجة هنا In-Vivo ولا تحتاج لإخراج الخلايا إلى خارج الجسم.

معظم الأمراض الوراثية تُعالَج بطريقة in vivo

أما المعالجات خارج العضوية ← تؤخذ الخلايا من المريض ثم تُعدَّل جينياً في المخبر وتُعاد إليه مرة أخرى، مثل: علاج CAR وHSC والتلاسيميا والعديد من الأمراض.



ملاحظة: في المعالجة الجينية هناك جرعة معينة لا تقلُّ عن 500 ألف خلية لكل كغ.

مقارنة:

Ex-Vivo	• يتضمن إخراج الخلايا من المريض وتعديلها ثم إعادتها له.
In-Vitro	• تجارب تُجرَى على نسخ معيَّنة في الزجاج ولاااا تُعَاد إلى المريض.

☒ **نقطة هامة يجب الانتباه لها وهي تواتر المرض الجيني في المجتمع، فمثلاً الناعور انتشاره $1/10^4$ ولكن في سوريا نسبة تواتره أكثر وهناك بعض العوامل المؤثرة على التواتر مثل التغذية وزواج الأقارب.**

☒ **أحياناً لا تُعدَّل الخلايا المأخوذة بل نقوم بتكثيرها مثل NK القاتلة الطبيعية المُختّصَّة بقتل الخلايا السرطانية، لذلك يمكن أخذها وتكثيرها ومن ثم إعادتها للمريض.**

من المغالطات المنتشرة الآن هو الادعاء بعلاج المفاصل عن طريق أخذ خلايا من النسيج الشحمي وزرعها بالمفصل باعتبار وجود خلايا جذعية ضمن النسج الشحميَّة وهو أمر خاطئ تماماً، فالخلايا الجذعية ضمن النسيج الشحمي قليلة جداً ويجب تكثيرها بشكل كبير.

☒ **مريض سرطان (ليمفوما أو لوكيميا) يتلقَّى علاج كيميائي لكنه معنَّد على العلاج ويحتاج لرفع الجرعة، والجرعة العالية ستقتل الخلايا الجذعيَّة (المولدة لخلايا الدم) أي الخلايا الموجودة بنقيّ العظم، لذلك يُعطَى GCSF الذي يعمل على تحرير الخلايا الجذعية من نقي العظام إلى الدم ← يُسحَب دم من المريض ← تُستَخلَص هذه الخلايا الجذعية وتُحفَظ في حرارة $-197\ C^0$ ((درجة حرارة الآزوت السائل)) وتُعَاد باقي الخلايا إلى جسم المريض ← يُعطَى جرعة عالية جداً قد تصل إلى 5 أضعاف الجرعة**

التي كان يأخذها ← نُعيد له الخلايا الجذعية وهي وحدها تتجه لنقي العظام بعمليَّة homing (أي أنَّها تعرف وجهتها) وتبدأ بالعمل (بعد تعديل الخلل الجيني) ← تعطي خلايا دمويَّة طبيعيَّة.

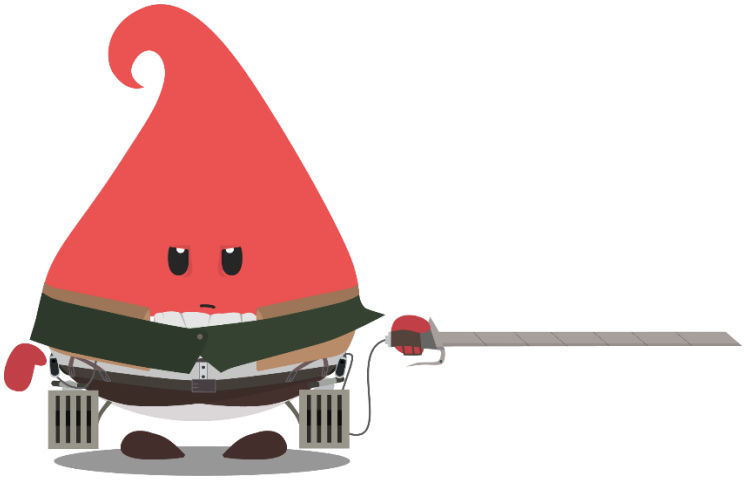
ينطبق هذا النمط من العلاج في سوريا بمشفى الأطفال ومشفى تشرين العسكري.

لأخذ العلم فقط: هذه الطريقة تمَّ المحاولة بها منذ العام 1959 في الولايات المتحدة الأمريكيَّة ووصلت إلينا منذ 9 سنوات ((شو متأخريييييين نحنا!!!!))

Ex-vivo أسهل بكثير من in-vivo لكن المشكلة أن العديد من الخلايا لا يمكن إخراجها من الجسم لاجراء التعديلات عليها.

إذاً ما يحدد الطريقة المتبعة للعلاج:

- نوع المرض وموقعه
- نوع الجين.

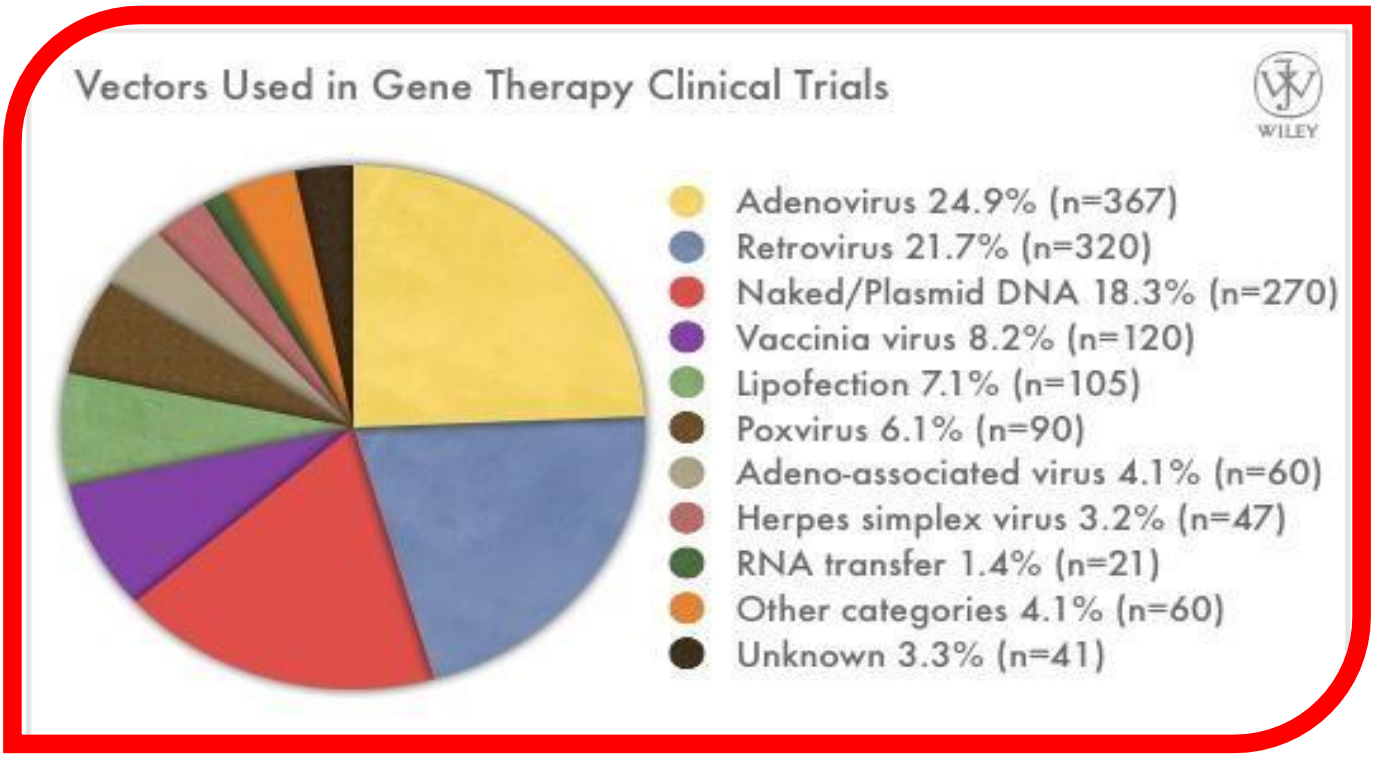


النواقل المستخدمة في المعالجة الجينية Vectors Used In Gene Therapy

تتكون الجينات من DNA ويتطلب نجاح إيصال الجينات إلى الخلية وسيلةً فعالة Efficient تمكِّن هذه الجينة من الدخول إلى الخلية والتعبير عن نفسها، وتُدعى هذه الوسيلة التي تُستَخدم في توصيل الـDNA أو الجينات **بالنواقل** Vectors.[5]

تقسم هذه النواقل إلى نواقل فيروسية ونواقل غير فيروسية (DNA عاري وليبوزومات).

[5] هذه النواقل تستخدم in-vivo وex-vivo.



- **الأشهر** هو Adenovirus.
- RNA transfer (بحثي ولم يُطبَّق سريرياً):
  يُدخَل الـRNA إلى الخلية يُترجَم ويعبِّر عن البروتين المطلوب.
- Lipofection: تعتمد على وضع الـDNA داخل ليبوزومات ترتبط بغشاء الخلية أو بالغشاء النووي حتى توصل الجين لداخل الخلية أو النواة.

الـ Adeno Viruses (الفيروسات الغدية) وهي **الأكثر** استخداماً (تحتل 25% من النواقل)

تأتي **بعدها** فيروسات النسخ العكسي Retro Viruses

ثم البلاسميدات (أي الـDNA العاري Naked/Plas mid DNA).

يُستَخدم الناقل Naked/ Plasmide DNA (الـDNA العاري) غالباً في مرض التليّف الكيسي Cystic Fibrosis، حيث تُستخدم هذه البلاسميدات بشكل حلالات هوائية، أي أنها تصل مباشرة للرئة (مكان الإصابة).

وردت الجداول التالية في السلايدات وهي تتحدَّث عن بعض خصائص النواقل وتحديداً الفيروسات الراجعة Vectors Based on RNA Viruses

مطلوب حفظ المستطيلات فقط وسنورد الشرح بعد كل جدول....وقد تحدَّث الدكتور أيضاً عن خصائص سنوردها كلَّها ضمن الشرح

	Vectors Based on RNA Viruses	
Features	**Retroviral**	**Lentiviral**
Maximum Insert size	7-7.5 kb	7-7.5 kb
Concentrations viral particles/ml	$>10^8$	$>10^8$
Route of gene delivery	Ex vivo	Ex/In vivo
Integration	Yes	Yes
Duration of expression in vivo	Shorter than theorized	Long
Stability	Good	Not tested
Ease of Preparation scale up	Pilot scale up up to 20-50 liters	Not known
Immunological problems	Few	Few
Pre-existing host immunity	Unlikely	Unlikely, except in AIDS patients
Safety problems	Insertional mutagenesis?	Insertional mutagenesis?

Maximum Insret Size

- ✓ أي حجم الجين التي من الممكن إدخاله لتلك النواقل وتُعدُّ من أهم مواصفات الناقل المُستخدم، فبعض الجينات صغيرة وبعضها كبيرة.
- ✓ مع العلم أن الجين المحمول على الناقل لا يحتوي الإنترونات (أي إكسونات فقط) بالتالي سيكون الاسم الدقيق له هو مُنتَسخ الجين.

لأنَّه على العكس تماماً؛ حتَّى أُطلِق تسمية ***الجين*** ← يجب وجود إنترونات وإكزونات.

نقوم بأخذ RNA الخاص بجين ما ونقوم بتفاعل Reverse Transcriptase ونحوِّله لـ cDNA تماماً كما فعلنا سابقاً بالمحاضرة 6 صفحة 18 (السطر10).

الفيروسات الراجعة قادرة على حمل تتالي من النكليوتيدات لا بأس به حوالي

(KB 7.5 – 7)

Concentration

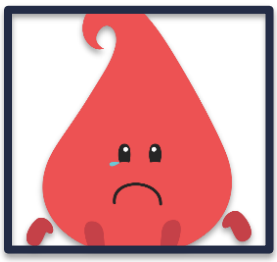
تركيز الفيروس الذي يمكن تحضيره يجب أن يكون كبير أي أكبر من 10^8، وقد تمَّ استخدام تراكيز علاجيَّة تصل لـ **10^{14} viral/kg**.

لذلك قبل البدء باستخدام أي فيروس علينا أن نعلم فيما إذا كنَّا نستطيع تحضير كميَّات كبيرة منه للوصول لجرعة فعَّالة effective dose

Route of gene delivery طريق دخول الجينات

Ex- vivo بالنسبة للفيروسات الراجعة Retroviral	Ex/In Vivo بالنسبة للفيروسات العدَسيَّة Lentviral

Integration أي الدَّمج



كلا الفيروسات الراجعة والعَدسيَّة (yes) أي كلاهما قادران على دمج الجين المطلوب نقلها للخليَّة مع DNA الخليَّة، لكن هناك جانب سلبي (مشاكل من حيث السلامة Safety Issues) فمن الممكن ان يدخل بمناطق حساسة بالـ DNA مما يؤدِّي لإحداث طفرات سرطانيَّة أو تفعيل oncogens أي جينات مُسرطِنَة أو حتَّى من الممكن أن يخرِّب بعض الجينات في حال دخل بمناطق عشوائيَّة.

♥ أما **الناحية الإيجابيَّة** فهي تكمنُ بأنني ربَّما أستطيعُ إدخال جينٍ ما ببعض الأماكن في الـ DNA وجعلِهَا جزءاً من الكروموسوم أي stable لا تُفقَد ولا تُخرَّب، وبنفس الوقت عند إدخالها بالكروموسوم سيتمُّ حمايتها من الـ degredation أي

التخرُّب مقارنةً ببقائها في السيتوبلاسما[6] حيث ستكون معرّضة للنكلياز.

Stability

Good للفيروسات الراجعة

Pre-existing host immunity

- Unlikely للفيروسات الراجعة.
- المقصود بها هو أن يكون الشخص المعالج قد أصيب بهذا الفيروس سابقاً[7]، وبالتالي عند إعطائه ستتعرف عليه جملة المناعة وتقوم بتدمير الخلايا التي دخل إليها الفيروس (وهذا مرفوض).

الجدول الثاني: نواقل معتمدة على الـDNA وفيروسات الـDNA:

لاحظ الجدول التالي:

Vectors Based on DNA and on DNA Viruses

Features	Adenoviruses	Adeno-associated viruses	Herpesviruses	Vaccinia virus	Naked DNA /Lipid DNA
Maximum Insert size	7.5 kb	4.5kb	~30kb	>25 kb	Unlimited size
Concentrations viral particles/ml	$>10^{10}$	$>10^{12}$	$>10^{8}$	10^{7}-10^{9}	No limitation
Route of gene delivery	Ex/In vivo	Ex/In vivo	Ex vivo	Ex/In vivo	Ex/In vivo
Integration	No	Yes/No	No	No	very poor
Duration of expression in vivo	Short	Long	Short/ Long in CNS?	Short	Short
Stability	Good	Good	Unknown	Good	Very good
Ease of Preparation scale up	Easy to scale up	Difficult to purify, difficult to scale up	Not yet tried	Vaccine production facilities exist	Easy to scale up
Immunological problems	Extensive	Not known	Not known	Extensive	None
Pre-existing host immunity	Yes	Yes	Yes	Diminishing as unvaccinated population grows	No
Safety	Inflammatory response, toxicity	Inflammatory response, toxicity	Neurovirulence? Insertional mutagenesis	Disseminated vaccinia in immunocompromised hosts	None?

[6] عند بقائها في السيتوبلاسما ستعطي DNA حلقي.

[7] أي أنّ جملة المناعة قد تعرّفت عليه سابقاً واعتبرته جسماً غريباً.

هام-Naked DNA/Lipid DNA

Maximum Insret Size	يُدخِل الجين إلى البلازميد مهما كان حجم تلك الجين. المشكلة في دخول الـ DNA بحدٍّ ذاته (الـ DNA يملك حجم كبير + شحنة) ومع ذلك فينجح بالدخول.
Route of gene delivery	Ex/In Vivo
Integration	Very poor
Stability قرأها الدكتور فقط	None

Adeno-associated Viruses (مهم جداً جداً)

Maximum Insret Size	حجمه صغير 4.5 Kb، ولكن استُخدِم لعلاج مرض الناعور B لأن منتسخ العامل التاسع صغير بينما الثامن كبير.
Route of gene delivery	Ex/In Vivo
Integration	Yes/No وهو عامل إيجابي يميّزه عن باقي الفيروسات.
Stability قرأها الدكتور فقط	Inflammatory response Toxicity

Adenoviruses (كمان مهم)

Maximum Insret Size	7.5 kb
Route of gene delivery	Ex/In Vivo
Integration	No
Stability قرأها الدكتور فقط	Inflammatory response Toxicity

Vaccina Virus

Maximum Insret Size	**أكبر** من 25 kb
Route of gene delivery	Ex/In Vivo
Integration	No
Stability	Dissemenated vaccine in immunocompromised hosts
قرأها الدكتور فقط	

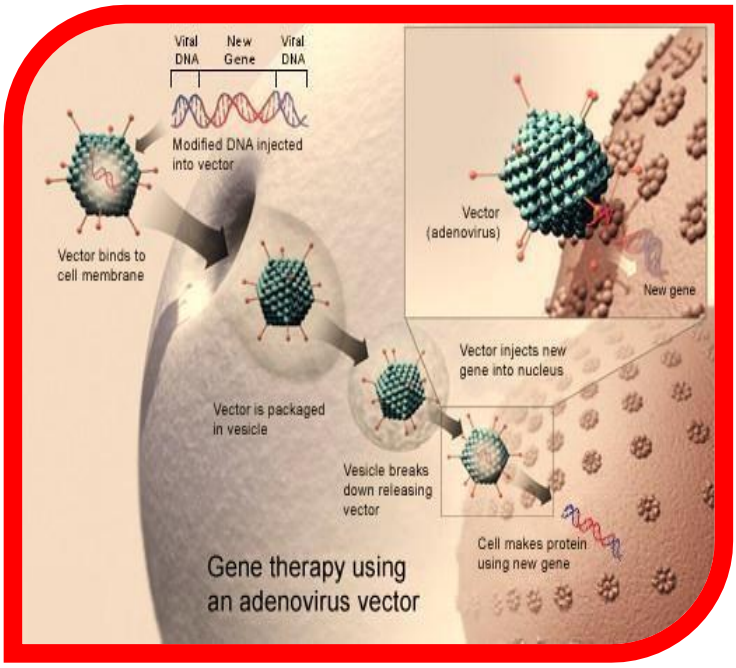
Herpesviruses

Maximum Insret Size	حجمه 30 kb ← يمكن حقن كميَّات كبيرة بداخلهِ
Route of gene delivery	Ex Vivo
Integration	No
Stability	Neurovirulence Insretional mutagenesis

الآن أصبحنا نعرف التتاليات تماماً وهذا مهم من أجل التحكُّم بمكان الـ Integration، وأصبح بالإمكان تلافي سلبيِّاتها بسبب ازدياد المعرفة حول الآليات التي تحصل من خلالها وأصبح بإمكاننا التحكم بها.

لا ننسى أيضاً أن لدينا عدد كبير من الـ junk DNA والذي يتضمَّن تسلسلات متكررة يمكن الاستفادة منها بإدخال جينات جديدة دون الخوف من حدوث سرطانات.

Adenovirus gene delivery

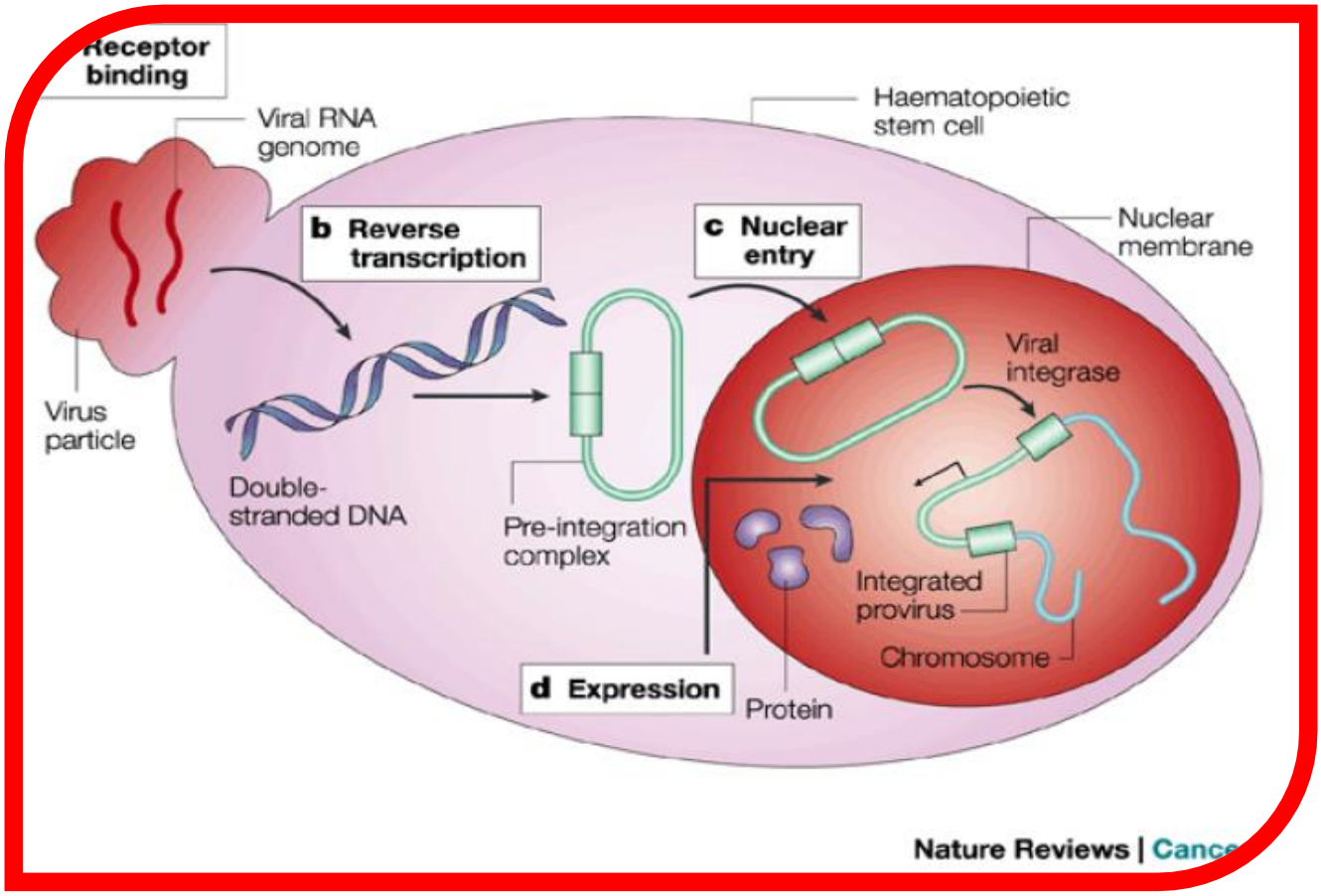


يتوضَّع الفيروس على الغشاء الخلوي

يحقن المادة الوراثية

يمكن إضافة تتالي DNAJ الفيروس لتشجيعه على الاندماج بمكان معيَّن من الكروموزوم وهو ما يُعرَف بـ(آلية التأشيب المتماثل Genetic recombination)، والتي تعتمد على تبادل تتاليات متماثلة نريد إدخالها مع تتاليات موجودة بجينوم الخلية الهدف.

Retroviral Vectors



يرتبط بالخليَّة ← يُدخِل الـRNA الفيروسي إلى الخلية بعد القيام بعمليَّة Reverse Transcription بواسطة أنزيم Transcritase ← نحصل على الـDNA بتأثير أنزيم النسخ العكسي ← الاندماج Integration بجينوم الخلية الهدف بتدخُّل أنزيم ***Integrase***.

شروط الفيروسات المُستَخدَمة

نقوم بإعداء الخلايا باستخدام فيروسات:

- لا تسبّب أمراض
- فاقدة القدرة تماماً على التضاعف داخل الخلية أو مُضعَف القدرة على التكاثر (لأن تكاثر الفيروس يؤدي إلى انفجار الخلية)

نلاحظ أنّ هذا يتعارض مع الجداول السابقة!!!! حيث يوجد تركيز معين من الفيروسات حتى نحصل على التأثير المطلوب (effective dose).

فكيف سنجعل الفايروس يفقد قدرته على التضاعف داخل العضوية ولكن مع الحصول على أعداد كبيرة منه والوصول إلى الجرعة المؤثرة؟؟؟

- قد يتبادر لأذهاننا أن نقوم بحذف الجينات المسؤولة عن التضاعف ومن ثم تحميله الجينة العلاجية واستخدامها وهذا أمر صحيح ومنطقي، ولكن المشكلة التي ستظهر لنا هي أننا طبعا لا نستخدم فيروس واحد كناقل للجينة المطلوبة.
- فكما ذكرنا أنه من صفات الناقل المثالي هو استخدامه بأعداد كبيرة، وبالعودة للجداول السابقة (صفحة 13 و 11) نجد أننا نستخدم أعداد هائلة جداً من هذه الفيروسات، فكيف لنا أن نحذف هذه الجينات من جميع هذه الفيروسات؟؟

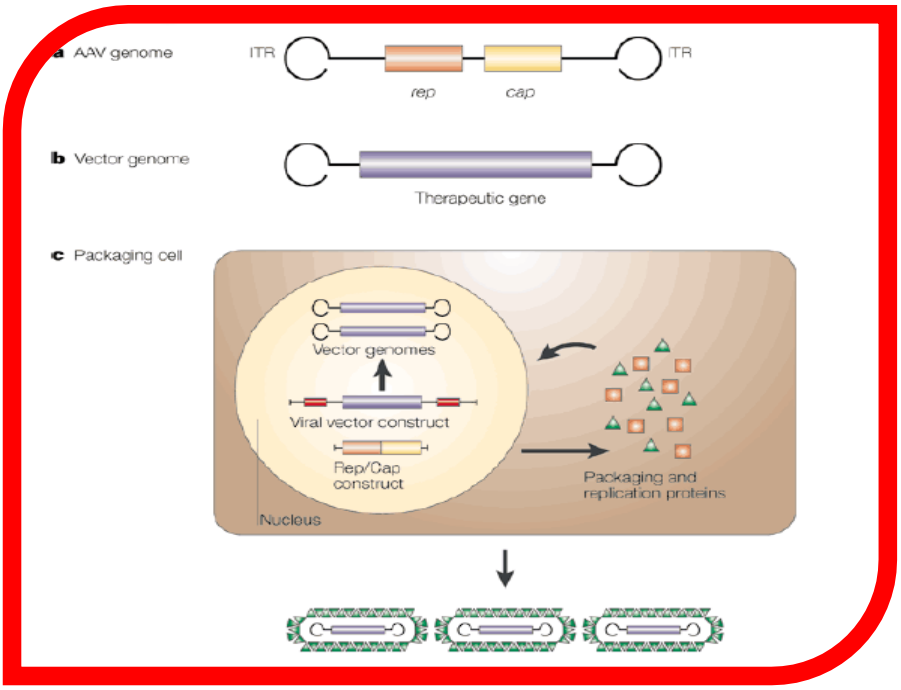
تابعو معنا الإجابة في الصفحات التالية

Making AAV Vectors صناعة نواقل من الفيروس AAV

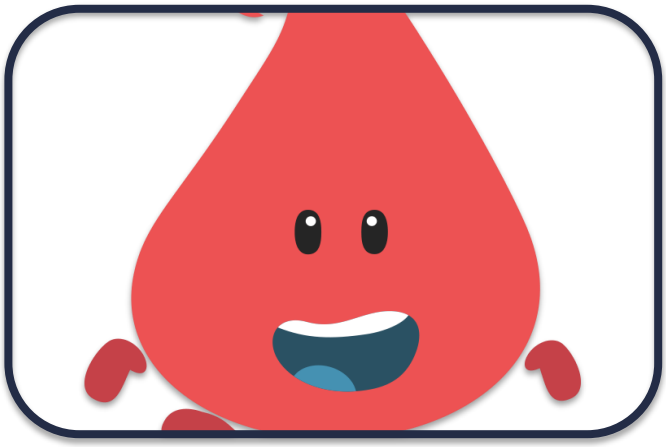
إن جينوم الفيروس الـAAV بشكل طبيعي يحتوي على جينتين هامتين وهما:

جينة Rep وهي الجينة التي تسمح بتضاعف الفيروس ضمن الخلية الهدف.

جينة Cap المسؤولة عن اصطناع بروتينات الكابسيد.



تُسمَّى الجين التي أريد حقنها بـ Construct أما رمز ITR فهو يعني inverted terminal repeats تساعده لدخول الخلايا



في حال استخدام هذا الفيروس بالعلاج الجيني واحتوائه على هذه الجينات فهو لن يكتفي بإيصال هذه الجينة المرغوبة فقط، بل سيتكاثر ضمن الخلية وقد يؤدي لحلّها وموتها.

بالإضافة إلى أنه سيؤدي لإعطاء نسخ عديدة جداً من الجينة العلاجية أي سيعطي في النهاية جرعة كبيرة جداً عكس هدفنا الرئيسي من المعالجة، فنحن نريد إيصال جرعة محددة من هذه الجينة.... شو الحل؟؟؟

بدايةً سنحذف جينة Cap وجينة Rep من الفيروس

نضيف بدلاً منها الجينة المرغوبة أي construct

نحصل على فيروسات مُعدَّلة جينياً تشتطيع الدخول للخلايا دون تضاعف

الحلّ السابق منطقي ولكن هنالك مشكلة جديدة

لا نستطيع تحضير ذلك الفيروس المُعدِّل وراثيا في المخبر لأنه لن يتكاثر أصلاً...

لذلك نقوم بتكثير الفايروس للوصول إلى الجرعة المؤثرة effective dose بحضنه مع خط خلوي مُعدّل وراثيًّا (قد يكون CHO) أي أن تكون جينَتَي الـ Rep والـ Cap جزءاً من جينوم الخلايا

أي أنَّ الخلايا أمَّنت الجينات الضروريَّة لتضاعف الفيروس

عند حضن الفيروس مع هذه الخلايا فإنه سيتضاعف نتيجة وجود الجينات السابقة والتعبير عنها ضمن الخلية

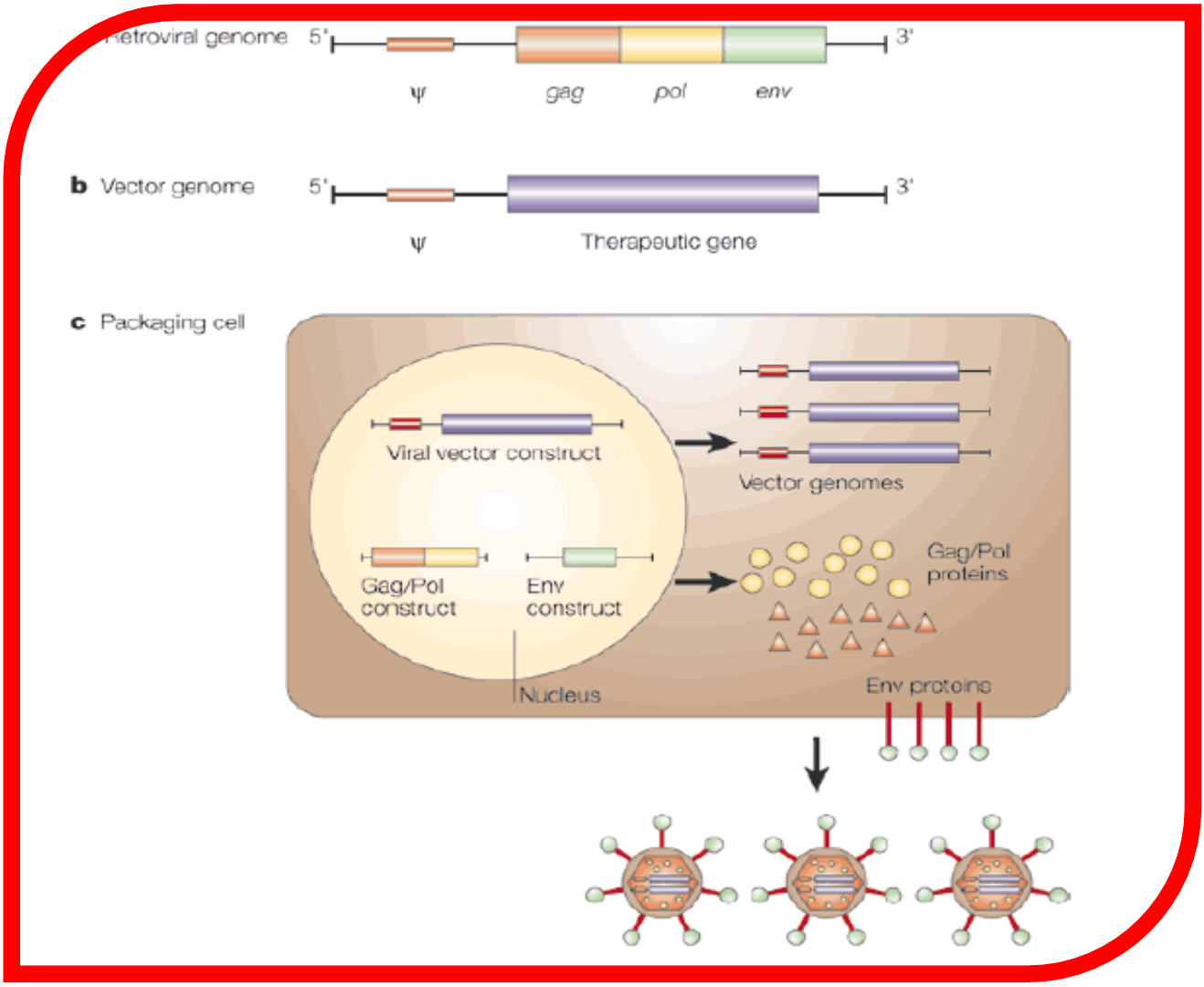
سيعطي أعداد كبيرة من الفيروسات الحاملة للجينة المرغوبة فقط دون أن تحمل Capg Rep.

ستتضاعف الجينة التي يحملها معه ويتشكل الكابسيد

وهكذا نكون حصلنا على عدد كبير جداً من الفيروسات الحاملة للجينة المرغوبة والغير ممرضة.

نقوم بحقن هذه الفيروسات وبواسطة طرائق مقايسة معينة يمكن تحديد عدد الخلايا الهدف التي أعدَتها الفيروسات المعدلة جينياً.

صناعة ناقل من فيروس رجعي Making Retroviral Vectors



تمتاز الفيروسات الراجعة بكبر حجمها، وهو كباقي الفيروسات لديه envelope.

الأمر ذاته بالنسبة للفيروسات الراجعة حيث تملك 3 جينات مهمة للتضاعف وإحداث الفوعة وهي (gag – pal – env)، حيث يتم حذفها واستخدام الجين المرغوب بدلاً منها وتحضن مع خلايا (خط خلوي) تملك هذه الجينات فيستخدمها الفيروس للتضاعف ونحصل على الفيروسات المطلوبة

أي يتمُّ العمل بنفس الطريقة السابقة تماماً

صفات الناقل المثالي The Ideal Vector

.1 High concentration of virus allowing many cells to be infected or transduced

استخدام فيروس يمكن تكثيره والحصول على تركيز هائل منه مما يسمح بتحضير عدد كبير منه.

يحوي الجسم عدد هائل جداً من الخلايا والخلية الواحدة يجب أن يتم إعداؤها بأكثر من فيروس حتى نصل للنتيجة المطلوبة.

.2 Ability to transduce dividing and non-dividing cells

القدرة على تنبيغ **Transduce** الخلايا المنقسمة (خلايا الجلد) والخلايا غير المنقسمة (الخلايا العصبية).

تذكرة: التنبيغ هو إدخال DNA غريب إلى داخل الخلايا باستخدام الفيروسات كناقل.

.3 Ability to integrate into a site-specific location in the host chromosome, or to be successfully maintained as stable episome

القدرة على دمج الجينة المراد نقلها في موقع محدد تماماً على كروموزوم الخلية المضيفة أو صياغة هذه الجينة على شكل episome ثابت (وهو مشابه للبلاسميدات يتمُّ إدخاله للخلايا وينقسم بمعزل عن انقسام الخلية).

.4 A transcriptional unit that can respond to manipulation of its regulatory elements

تشكيل وحدة انتساخ **transcriptional unit** للجينة المنقولة قادرة على الاستجابة للعديد من عناصرها التنظيمية (كالـ**Enhancer** والـ**Silencer** والـ**promoter**).

.5 Ability to target the desired type of cell

القدرة على استهداف الخلايا المرغوبة دون غيرها

عند علاج الناعور يفترض أن يقوم الفايروس بإعداء خلايا الكبد حصراً

لكن قد يصيب خلايا أخرى مثل خلايا العضلات (وهنا لا يكون له تأثير ضار) أو الخلايا الجنسية فينتقل بالوراثة وهذا مرفوض لأنه قد يذهب للخلايا الجنسيَّة مثلاً وبالتالي ستصبح الجين موروثة!!!

لحل هذه المشكلة يمكن استخدام أضداد تساعد الفيروسات على التوجُّه نحو النسيج المطلوب أو استخدام promoter نوعِي للنسيج المستهدف (فتكون عوامل الانتساخ لهذا الـPromoter ضمن النسيج الهدف فقط وبالتالي حتى لو اتجه الفيروس نحو نسيج آخر فلن يتم التعبير عنه).

وإذا رجعنا لمثالنا: في علاج الناعور يكون الـPromoter نوعي لنسيج الكبد فقط، فحتى لو تسرَّب جزء من الفيروسات المحقونة إلى البلازما فلن يعبر عنه.

تماماً مثل ما ساوينا بمعالجة الناعور

6. No components that elicit an immune response

عدم احتوائه على عناصر تؤدي إلى تفعيل جهاز المناعة.

Examples of conventional Gene Therapy
أمثلة عن المعالجة الجينية التقليدية

أولاً: حثل دوشين العضلي Duchenne muscular dystrophy (DMD)

X-linked recessive disorder; 1/3500 boys worldwide

مرض متعلق بالصبغي X نسبة انتشاره 1/3500 من الذكور.

About 30% of cases represent new mutations

30% من الحالات يكون سببها طفرة جديدة

Absence of dystrophin, a cell membrane protein (approximately 0.01 % of skeletal muscle protein).

سببه نقص في الديستروفين Dystrophin، وهو بروتين ضروري جداً في الغشاء الخلوي للعضلات الملساء والهيكلية وفي القلب (يشكّل 0.01% من بروتينات العضلات الهيكليّة).

- All muscles involved
- شامل لكلّ العضلات

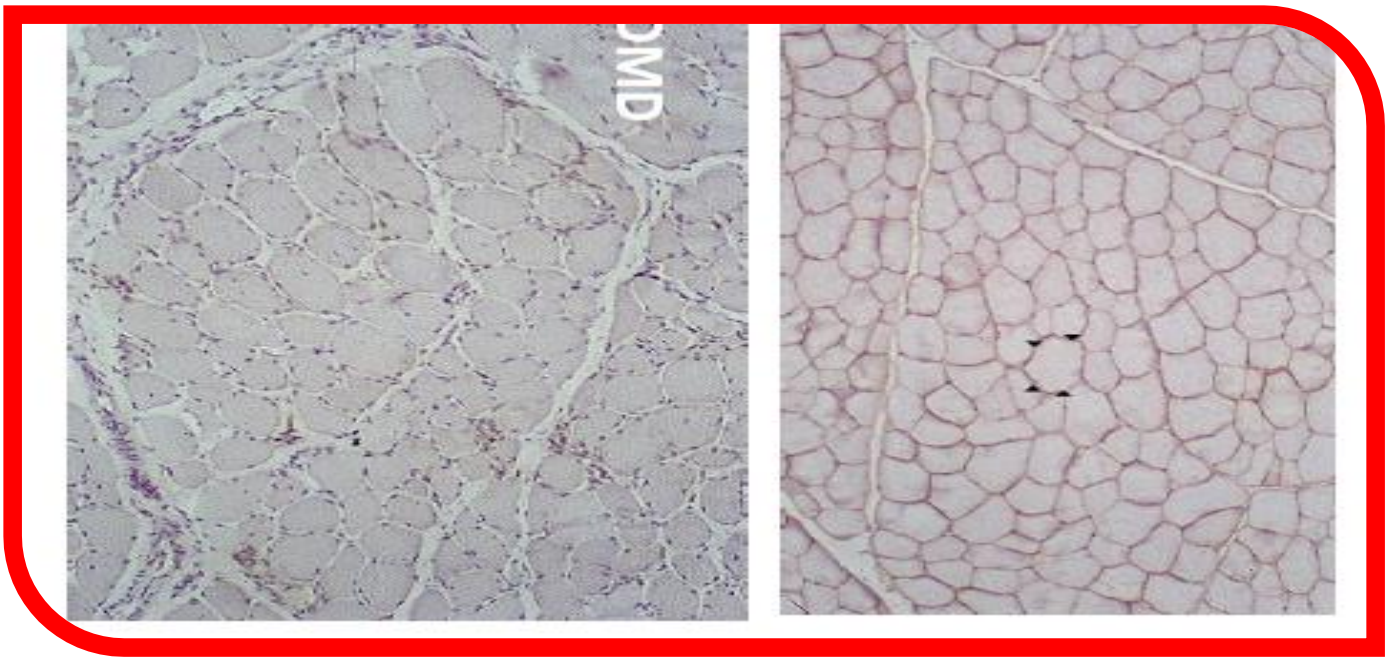
- Generalized weakness and muscle wasting affecting limb and trunk muscles first
- تبدأ الأعراض بضعف عضلي في الأطراف والجذع يتطور بعدها ليؤثر على العضلات الملساء والقلب

- Wheels at 12 y.o.
- يصبح المريض مُقعَداً بعمر الـ12

- Life threatening dysrhythmia or heart failure develops in about 10 %.
- يسبب فشل قلب عند 10% من الحالات

- Death at 10th-20th after pulmonary problems
- وغالباً تحصل الوفاة بعمر يتراوح بين 10-20 سنة بسبب مشاكل رئوية

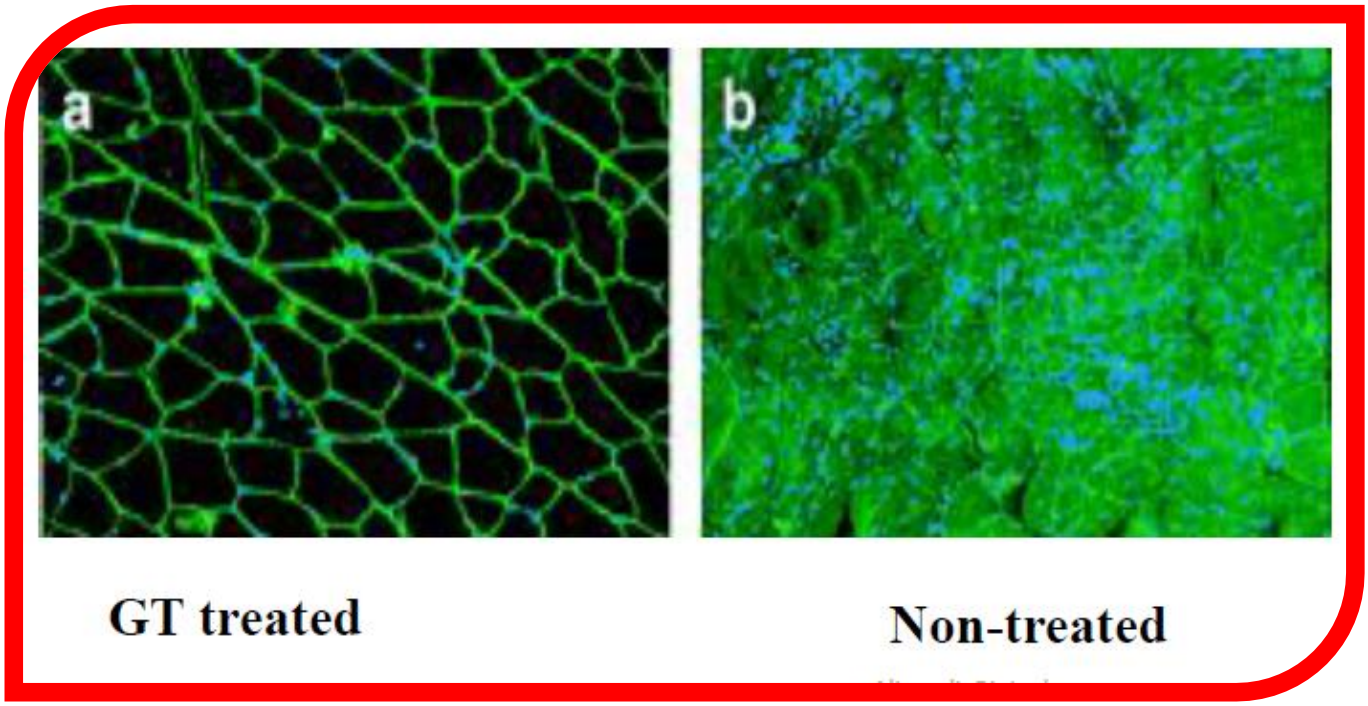
مقارنة بين نسيج عضلي سليم ونسيج عضلي مصاب.



حيث يحتاج المريض وسائل مساعدة حتى يتمكَّن من الحركة.

كما نوَّه الدكتور إلى وجود عدة أنواع لـ DMD كلٌّ منها بسبب جين معيَّن

توضح الصورة التالية الفرق بين النسيج المصاب والنسيج الذي خضع لمعالجة جينية، حيث تعود الخلايا إلى شكلها الطبيعي وتستعيد وظائفها.



نلاحظ كيف استعادت الخلايا شكلها الطبيعي إضافة أيضاً لوظيفتها

MDX mice with premature stop codon in exon 23; no dystrophin

هذه الجملة وردت في السلايدات مع الصورة السابقة ولم يتطرَّق لها الدكتور وسنشرحها:

MDX mice: هو نموذج لفأر مُصاب بمرض دوشين ويتمُّ دراسته كثيراً. لديه طفرة نقطيَّة في أحد إكسونات بروتين الـ dystrophin (تحديداً الإكسون 23) وينتج عنها premature stop codon أي كودون توقُّف سابق لأوانه ← بالمحصِّلة سيكون بروتين الـ dystrophin معطوباً.

ثانياً: Severe Combined Immunodoficiency (SCID)
Adenosine Deaminase Deficiency ((ADA-SCID))
and X-linked SCID

صور لأطفال يعانون من مرض SCID
ويطلق عليهم لقب **أطفال الفقاعة**:

ينتجُ المرض عن خلل في أنزيم أدينوزين دي أميناز Adenosine deaminase، **وهو ضروري لتنوُّع الخلايا المناعية (التائية والبائية) فيملك المصاب خلايا تائية وبائية غير نوعيَّة وضعيفة أو عاجزة تماماً مما يسبب مشاكل في المناعة الخلطية (الأضداد)** Humoral immunity **والمناعة أو الاستجابة الخلوية** cell mediated response.

Adenosine deaminase

بروتين سكري glycoprotein يعمل كهيدرولاز acts as a hydrolase ويحفِّز catalyzing عمليَّة إزالة الأمين deamination من الأدينوزين وتحويله للإينوزين.

ضروريٌّ جداً للقيام بـ Somatic recombination في الخلايا المناعيَّة، وهي عمليَّةٌ يتمُّ من خلالها إعادة ترتيب الجينات في الخلايا البائيَّة لإنتاج مستقبلات أو أضداد متنوِّعة كلٌّ منها نوعيّ لمستضد معيَّن....

الأسباب والأنواع

هنالك العديد من أنواع الـ SCID ومعظمها مرتبطٌ بالصبغي X.

Adenosine Deaminase Deficiency ((ADA-SCID)) 25% من الحالات تنتج عن طفرة في الكرموسوم 20 مما ينتج mutated ADA	Gamma-C receptor 5IL-7 cytokine وهو نمط مرتبط بالصبغي X ويُلاحظ عند الذكور أكثر لأن لديهم نسخة واحدة من X	70 other causes (not monogenic) 70 سبب آخر ليست وحيدة الجين (أي يجب وجود نسختين من الطفرة)

- الأطفال المصابون بهذا المرض يُعزلون عن العالم الخارجي، وذلك لحمايتهم من جميع العوامل الممرضة، ولكن حتى العزل أحياناً يكون غير كاف فكثير منهم يصاب بالسرطان.

العلاج

Successful gene therapy for T cells (ADA SCID) with retroviral MLV-ADA.

- أجريت لأول مرة معالجة هذا المرض في فرنسا على 23 طفل، وكانت معالجة جينية باستخدام فيروس راجع MLV مُحمَّل بجين الأنزيم ADA (ex-vivo) حيث تم إطراح الخلايا المولدة لخلايا الدم ومعالجتها جينياً (إعداؤها بالفيروس الحامل للجينة MLV-ADA).

<u>بدأت هذه الخلايا بتوليد خلايا سليمة ونجحت عند 19 طفل فقط، ولكن بعد فترة 3 سنوات تطورت لدى 7 أطفال من الـ19 طفل لوكيميا.</u>

وبعد 10 سنوات من النقاش وجد أن هذا الفايروس قد قام باندماج في موقع غير نوعِي مما أدى إلى حدوث اللوكيميا وانتهت بإيقاف المعالجة الجينية لعدة سنوات حتى تطورت المعرفة وأصبحنا على معرفة أكبر بالجينات.

- X-Linked SCID: successful gene therapy with HSCs modified ex. Vivo with MLV-IL-7 gene.

كما أُجريَت معالجة للنمط المرتبط بالـصبغي X عن طريق جين الانترلوكين 7 باسطة فيروس راجع MLV محمَّل بها وبنفس الطريقة (الدكتور لم يشرح هذه المعالجة).

ثالثاً: مرض التليف الكيسي Cystic Fibrosis

خلل في قنوات الكلور تصبح غير قادرة على إخراج شوارد الكلور من الخلية مما يؤدي إلى تراكمها[8]، مما يؤدي إلى:

احتباس الماء داخل الخلايا

↓

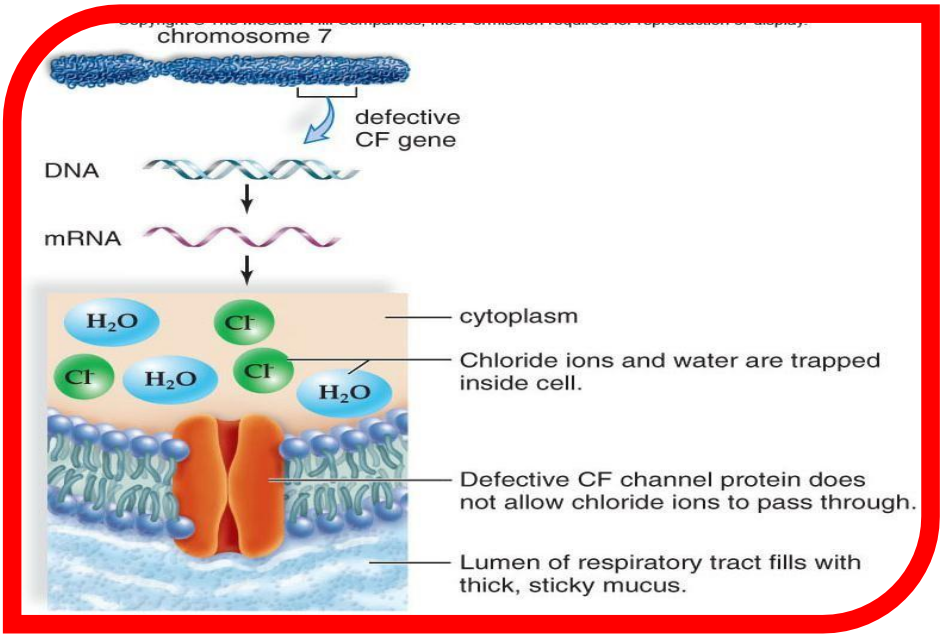
وذمات

↓

تخرُّب الخلايا الرئوية

↓

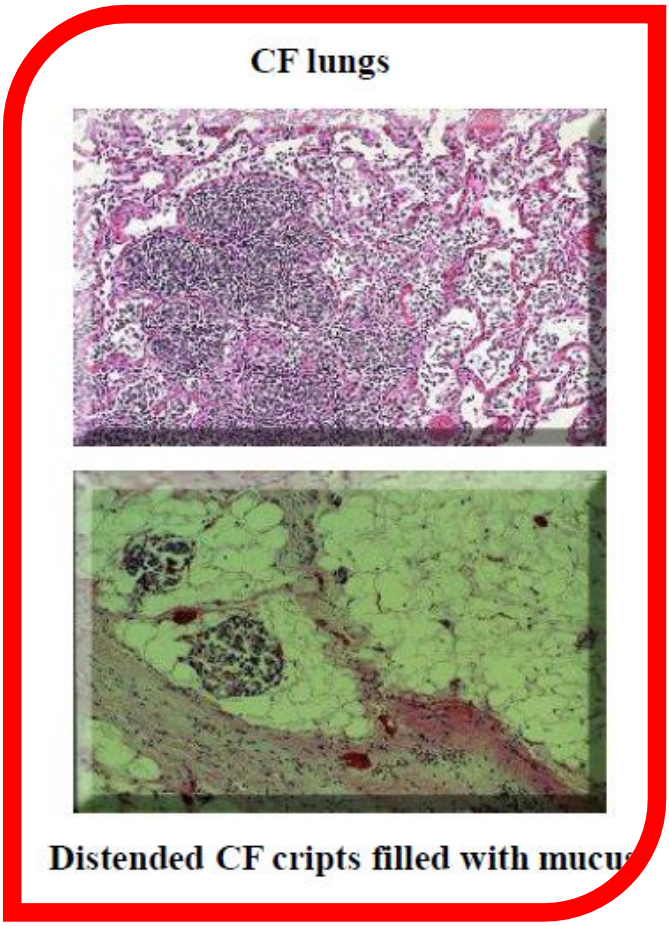
فقدان القدرة على التنفس

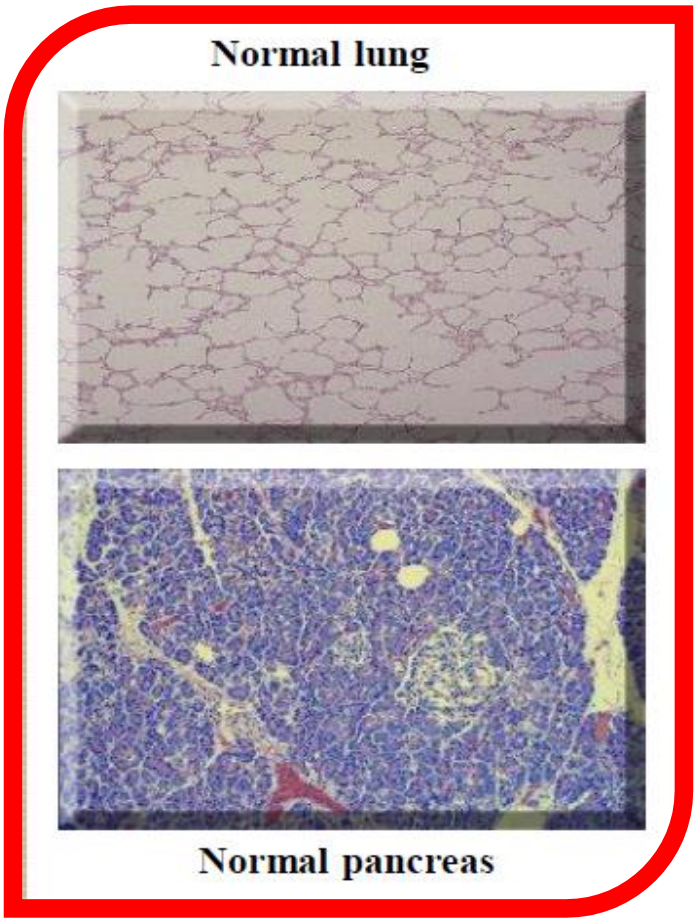


يتم إيصال الأوكسجين للطفل عبر أنابيب.

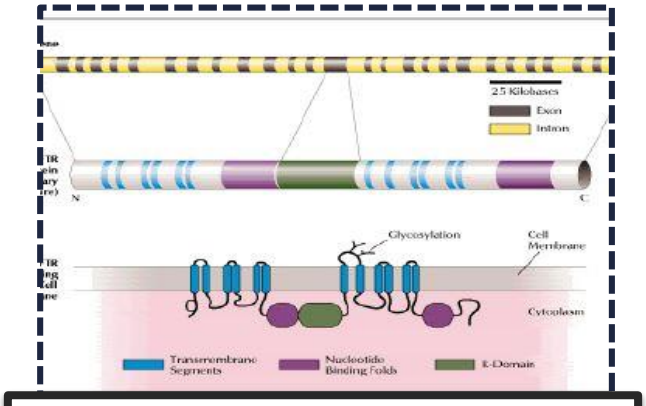
8 ومثل ما ذُكر بالحيوية السريرية: الصوديوم يتواجد مع الكلور وبالتالي سوف يتواجد الماء.

توضح هذه الصور النسيج السليم والنسيج المصاب





ولكن من جهة أخرى يمكن إعطاء الليبوزوم والنواقل الفيروسية Adeno viruses عن طريق بخاخ أو مستحضرات استنشاقية فتصل للرئة مباشرة.



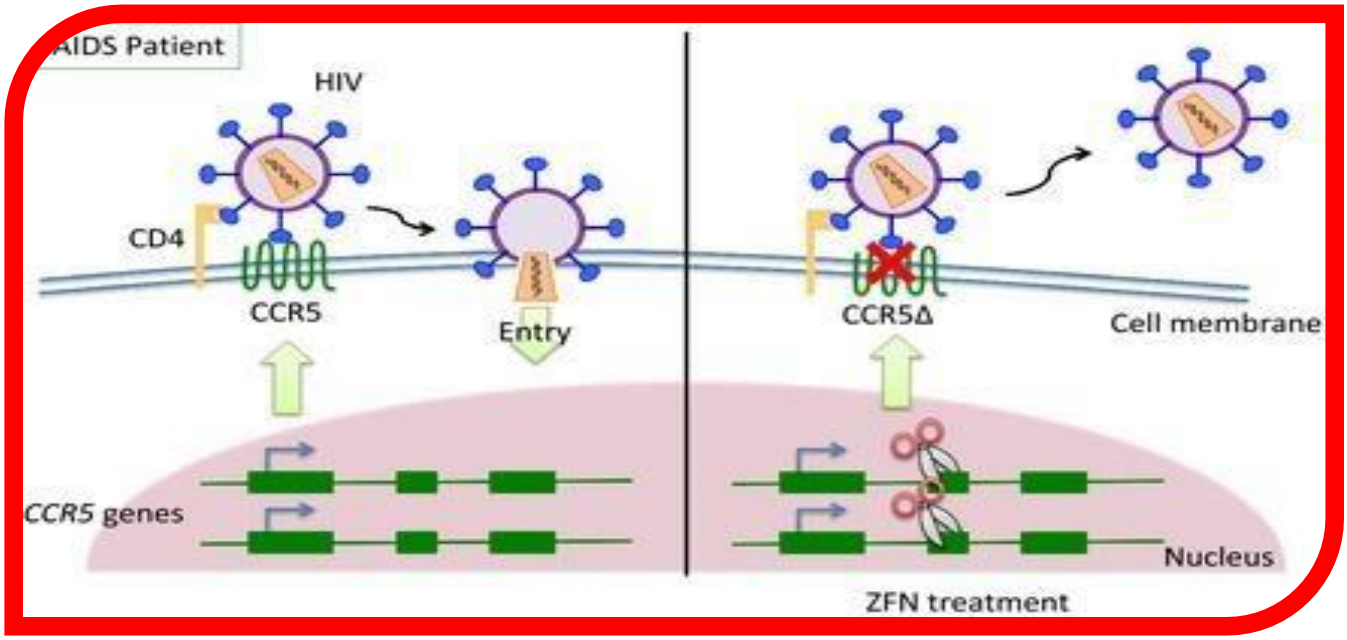
من سلبيات قنوات الكلور أنها بروتينات كبيرة الحجم (الجينة المعبرة عنها كبيرة) مما يصعّب المعالجة الجينية.

لكن من مساوئها أنها قصيرة الأمد.

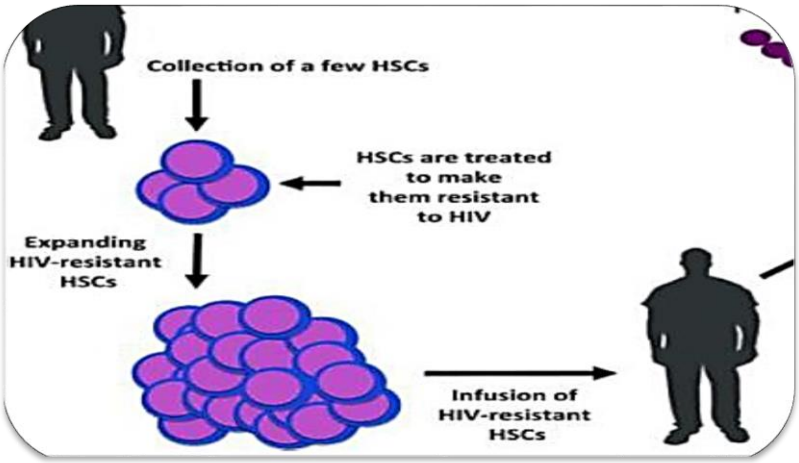
أمثلة عن المعالجة الجينية غير التقليدية
Examples Of Non- Conventional Gene Therapy

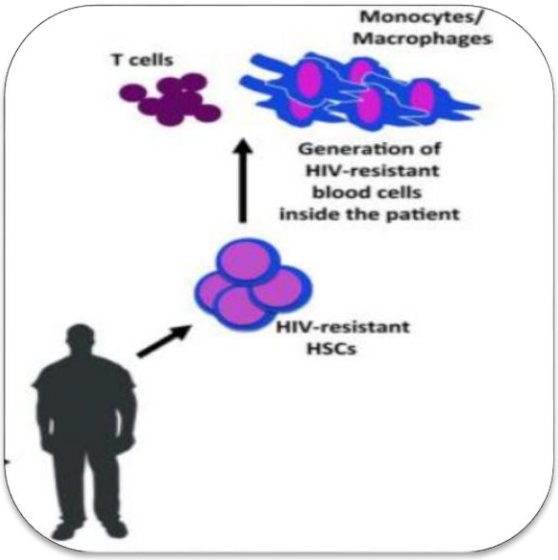
العلاج الجيني لمرضى الإيدز

بعد البحث والاستقصاء وُجِدَ أن فيروس HIV لديهم غير قادر على دخول الخلايا التائية، وذلك لأن HIV يحتاج إلى مستقبل يدعى CCR5 (ChemoCeptor Receptor) كي يدخل لهذه الخلايا، وعند هؤلاء الأشخاص لا يتمُّ التعبير عن هذا المستقبل.



- لذلك تم إجراء العديد من الدراسات على هذه المستقبل ووجد أنه ليس ذو أهمية كبيرة للخلايا المناعية حيث من الممكن أن تقوم مستقبلات أخرى بعمله في حال تخرُّبه (أي نستطيع الاستغناء عنه).





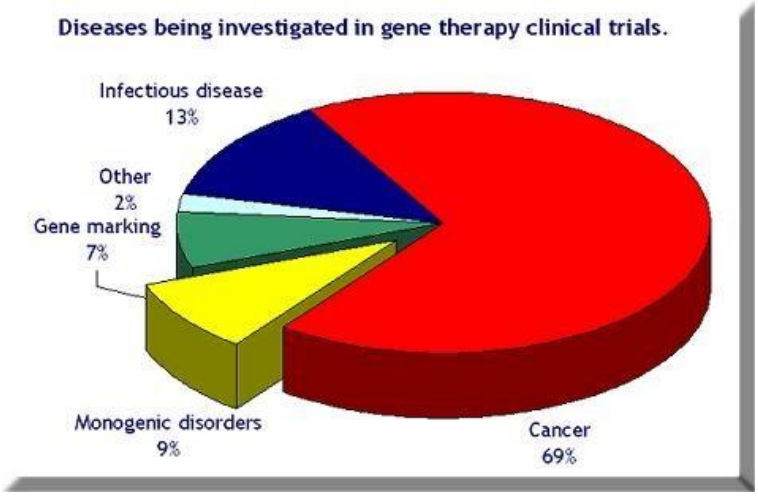
وهذا المستقبل بنفس الوقت مهم جداً لدخول الفيروس، لذلك تم العمل على عزل الخلايا الجذعية المولدة للدم Hemopoietic Stem Cells (HSC) من مرضى الايدز، ومن ثم حذف الجينة المسؤولة عن التعبير عن هذا المستقبل وإعادة هذه الخلايا إليهم.

ووافقت الFDA على هذه المعالجة ولازال المريض ناقل للمرض ولكن هذه المعالجة ستخفف من شدته.

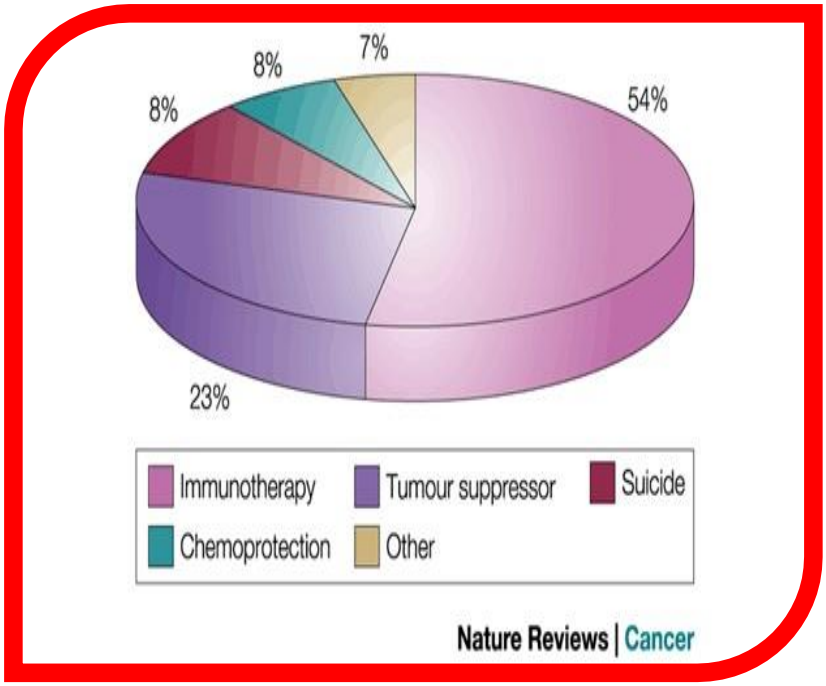
ثالثاً: Cancer Gene Therapy

- 9٪ من العلاجات الجينيَّة استهدفت monogenic diseases.
- 13٪ من العلاجات الجينيَّة استهدفت الأمراض الإنتانيَّة Infectious diseases.

ولكن ما يهمِّنا هو:



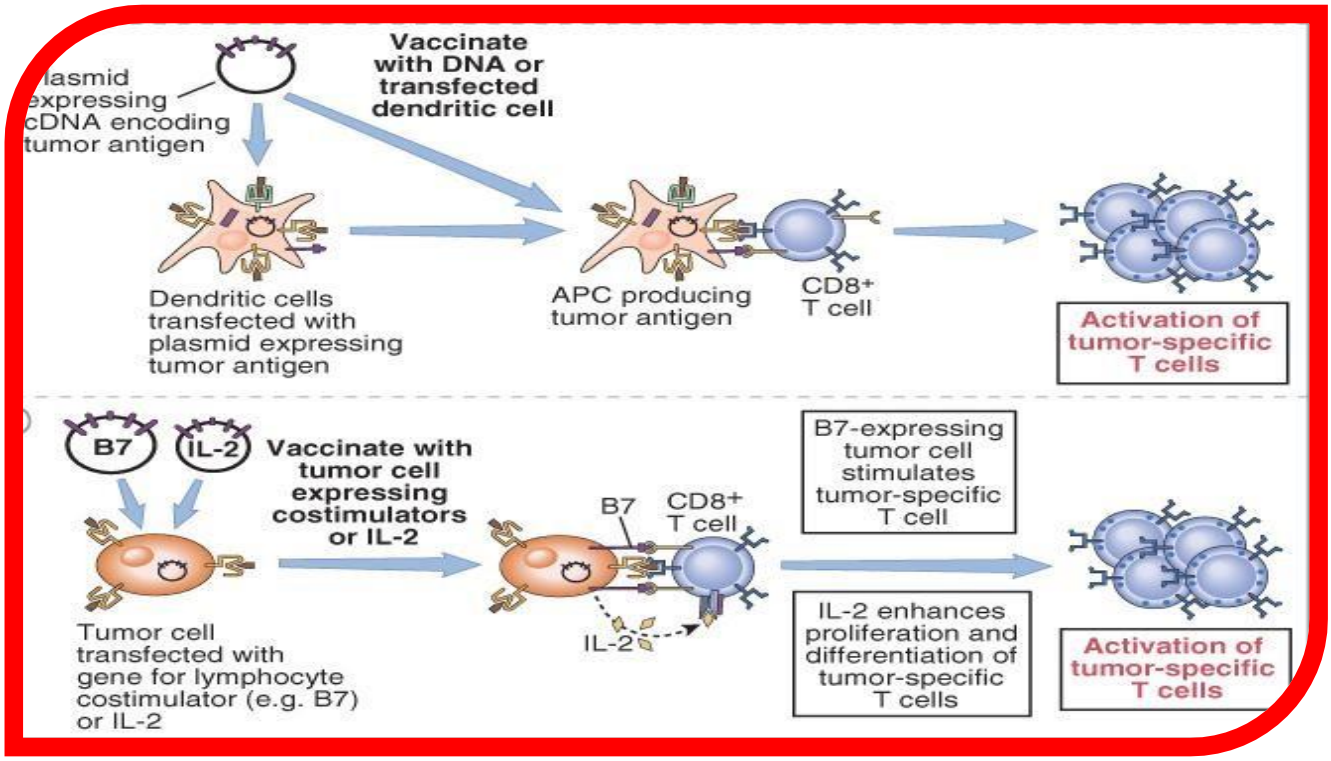
- 69-70٪ من تجارب المعالجة الجينية تكون لعلاج السرطان.
- 54٪ من طرق المعالجة الجينية تكون عن طريق جملة المناعة.



اللقاحات العلاجية للسرطان:

- الخلايا التائية يُقدَّم لها المستضد من قبل الخلايا المقدمة للمستضد الموجودة بالدم ← نأخذ هذه الخلايا من مريض سرطان ونقوم بمعالجة جينية لها.

نضيف لها جين تعبر عنه الخلايا السرطانية بكثرة ونعيدها للمريض Ex-vivo، فتبدأ هذه الخلايا بالتعبير عن البروتين الذي تُرمز له الجينة (نفسه الذي تعبر عنه الخلايا السرطانية) وتقدمه للخلايا التائية، مما يؤدي إلى تكاثر عملية تقديم المستضد ← تكاثر الخلايا التائية ← زيادة عمل جملة المناعة تجاه الخلايا السرطانية.



في بعض أنواع السرطان (مثل اللوكيميا) يتم أخذ الخلايا السرطانية وحقنها بجينات:

جين IL-2

- يحرض انقسام وتمايز الخلايا التائية الخاصة بالأورام enhances proliferation and differentiation of tumor specific T-cells.

جين B7

- وهو lymphocytes costimulatory أي يساعد على تحفيز الخلايا التائية الخاصة بالأورام.

ثم تعاد هذه الخلايا السرطانية للمريض وتبدأ بالتعبير عن جيناتها، ومنها الجينات التي تمَّ حقنها، فعندما تهاجمها الخلايا التائية تأخذ IL-2 وB7 فتصبح أكثر قوة ويُحرض على ازديادها.

المعالجة الجينية عن طريق تفعيل طليعة الدواء Genetic prodrug activation therapy (GPAT):

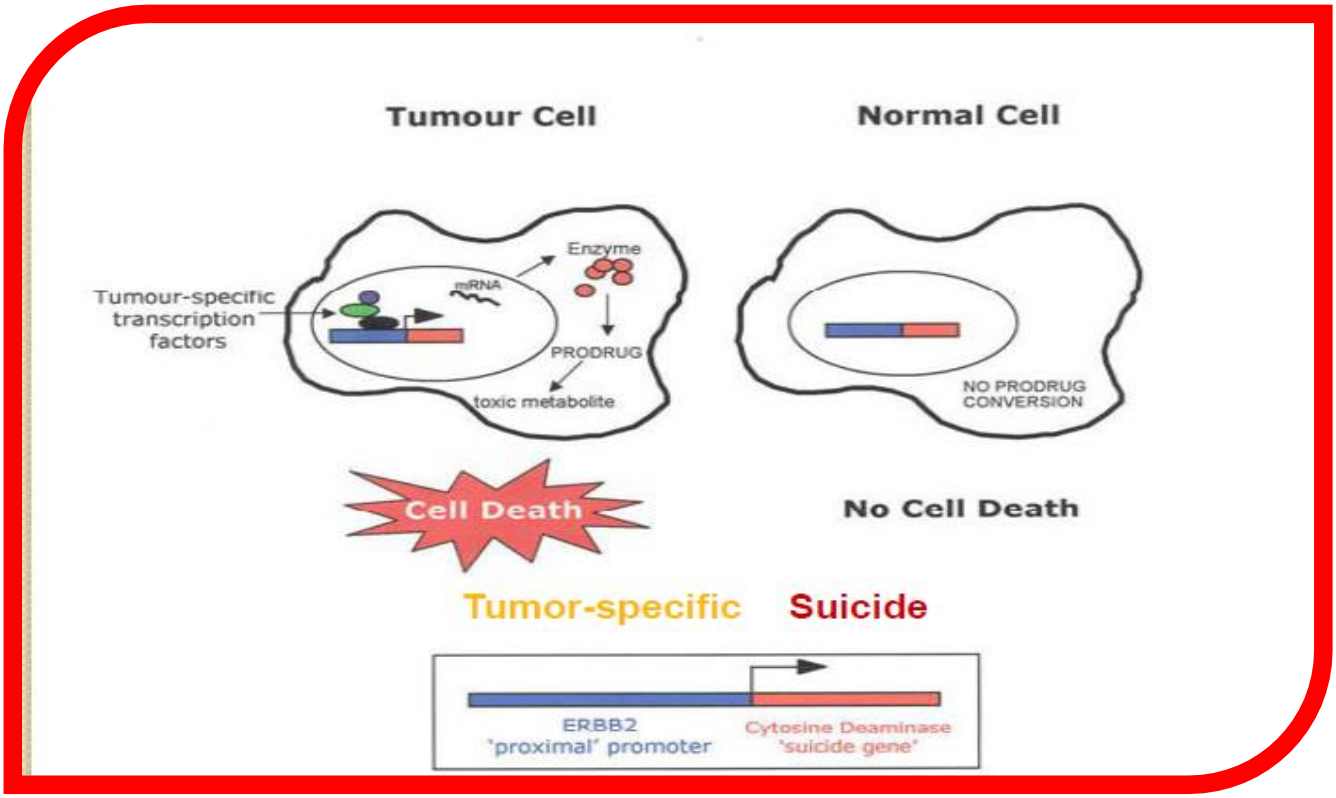
- **يتم إعطاء جين[9] معبر عن أنزيم يحول دواء معين من طليعة Pro-drug إلى دواء فعال.**

لكن هذا الجين قد يدخل إلى الخلايا الطبيعية بالإضافة إلى السرطانية، ولحل هذه المشكلة يتم إدخال الجينة إلى الخلايا السرطانية عن طريق Promoter لعوامل الانتساخ الخاصة بالورم (Tumor-specific transcription factors) فهي موجودة فقط في الخلايا السرطانية.

بالتالي حتى لو دخلت إلى خلايا سليمة لن يتم التعبير عنها ولن نحصل على الإنزيم إلا في الخلايا السرطانية.

9 تمّ تسمية الجين بـ suicide gene لأنها أحد أسباب قتل الخليَّة وطبعاً الجين موجود على ناقل Vector.

هناك العديد من الأدوية التي تعمل بهذه الآلية حيث يكون تأثيرها عند إعطائها بالشكل الفعال خفيف؛ أما عند إعطائها كطليعة واتباع الطريقة السابقة فنحصل على فعالية أقوى.



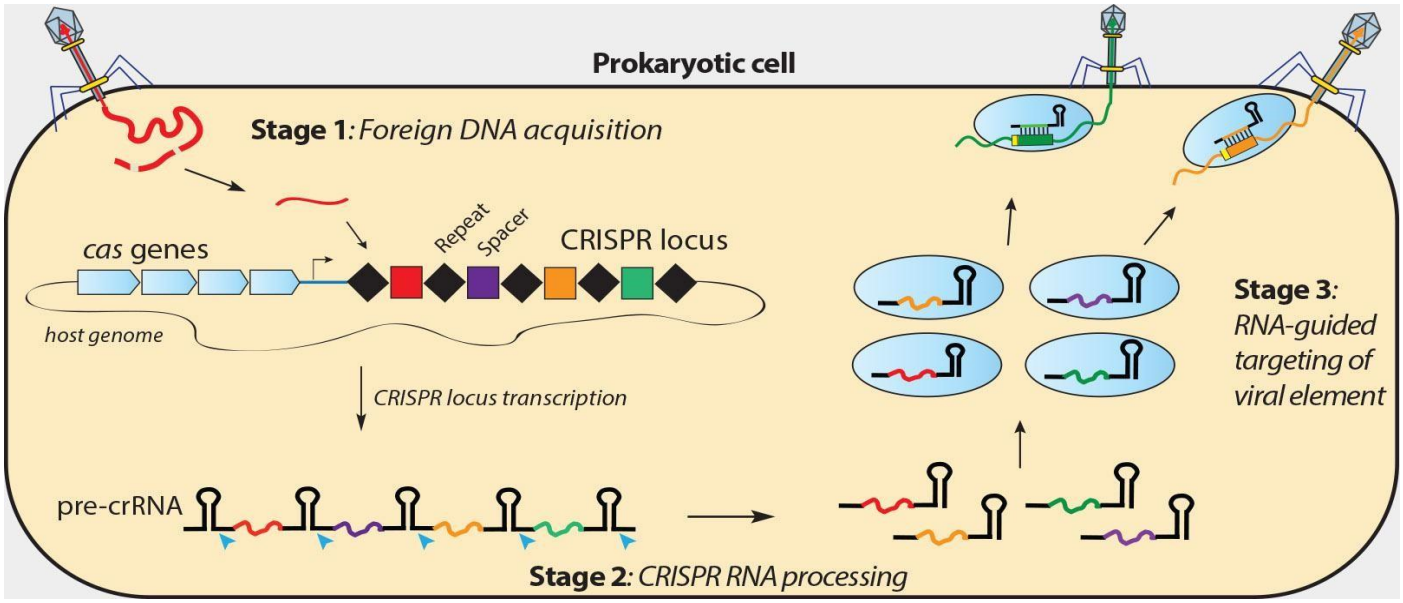
نلاحظ في الصورة كيف تمَّ إدخال جين Cytosine Deaminase التي تحوِّل بعض طلائع الأدوية السرطانيَّة إلى أدوية فعَّالة.

التعديل على الجينات Gene Editing

- وهي علاج المستقبل.
- بهذه الطريقة لا نُدخِل جينة جديدة ولا نقوم بحذف جينة موجودة معيبة، بل نقوم بإصلاحها ولكن وهذا يعتمد على نوع المرض، وهذه العمليَّة تعد Gene Editing.

الأمراض الوراثية الناتجة عن حذف بعض الجينات أي أن الجينة في الأساس غير موجودة هنا لا نستطيع استخدام هذه التقنية بل نلجأ لـGene Adding.

- أحد الآليات المستخدمة للتعديل على الجينات هي ما يسمى CRISPR Cas وهي في الحقيقة وسيلة طبيعية تقوم بها الجراثيم للدفاع عن نفسها ضد الفيروسات المتطفلة عليها (أكلات الجراثيم Bacterophage).



نلاحظ من الشكل السابق أن الجين الجرثومي يحتوي على جينتين رئيستين لهما الدور الرئيسي بهذه الألية:

Cas Gene	CRISPR locus
• تعبر عن بروتين يدعى Cas وهو من أنزيمات Nuclease والتي تقطع الـDNA الخاص بالفيروس.	• تحتوي على تتاليات من DNA فيروسي قد تعرَّضت له الخلية سابقاً.

وبذلك نجد أنه عند دخول هذا الفيروس مرة أخرى وإقحامه لجينومه داخل الخلية يتم التعبير عن:

- ✓ **بروتين** CAS.
- ✓ CRISPR Locus Gene.

مما يعطي Pre crRNA (CRISPR RNA) والذي يتم تقطيعه فيما بعد لينفصل لتتاليات عديدة، كل تتالي منها نوعي لجينوم فيروس محدد.

ترتبط بعدها هذه التتاليات مع أنزيم Cas ← **تشكل معقد** CRISPR Cas ← **يجول في سيتوبلاسما الخلية** ← **عندما تتعرف التتاليات النوعية التي يحملها المعقَّد على جينوم فيروس ما سترتبط معه** ← **مما يسمح لأنزيم** Cas **بأن تقطع الجينوم الفيروسي وتقوم بإبطال عمله.**

ولكن كيف استفدنا من هذه التقنية؟

لنقل أن لدينا جينة معينة ضمن خلية معينة نريد إصلاحها (مثلاً جين العامل التاسع)

↓

نقوم باصطناع RNA متمم تماماً لهذه الجينة يدعى (gRNA) Guide RNA (لأنه سيقود معقد CRISPR Cas) أو Leader RNA

↓

نُدخِله مع أنزيم Cas 9 لهذه الخلية.

↓

ترتبط gRNA مع Cas 9 عند دخول السيتوبلاسما

↓

ومن ثم يدخل المعقد CRISPR Cas إلى النواة

↓

يقوم المعقد بفك تحلزن طاقي الـDNA وإبعادهما عن بعضهما البعض لتسمح لـgRNA بالارتباط مع التتالي المتمم له من الجينوم (أي يرتبط مع الجينة المعيبة).

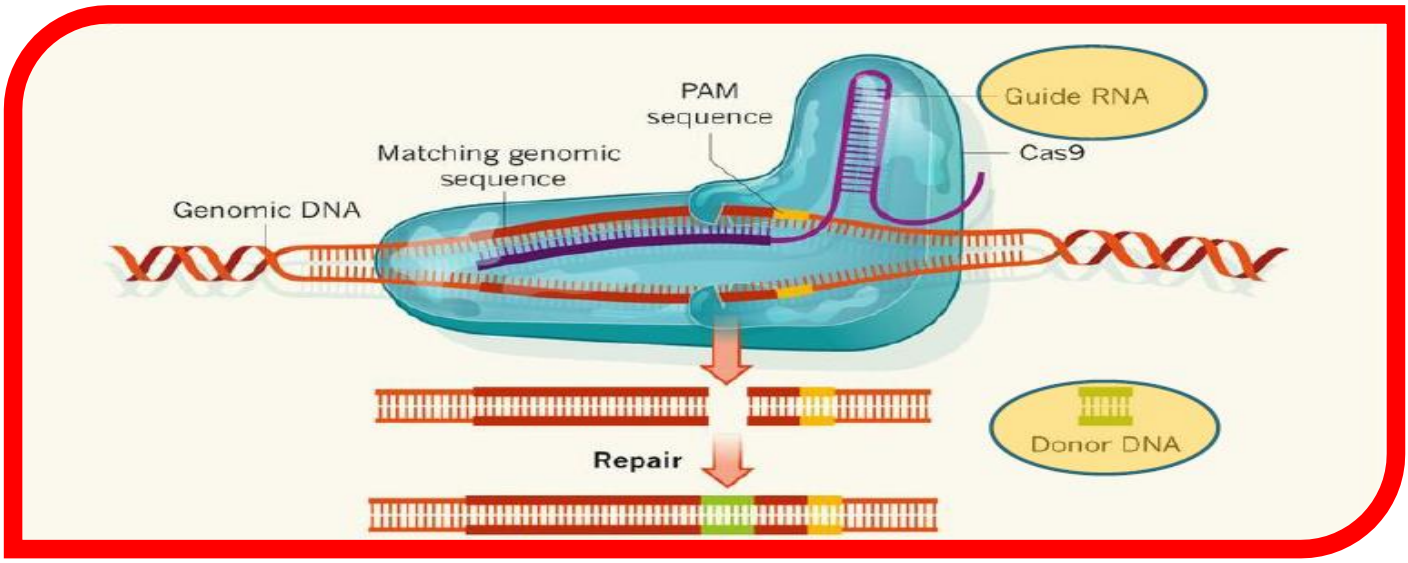
↓

يقوم بعدها أنزيم Cas بقطع هذا التتالي المعيب.

↓

في المرحلة التالية نقوم بإدخال تتالي DNA سليم (Donor DNA) بدل المعيب بتقنيه Homologous Recombination وبالتالي تم إصلاح هذه الجينة.

تدعى العملية السابقة CRISPR Cas9.

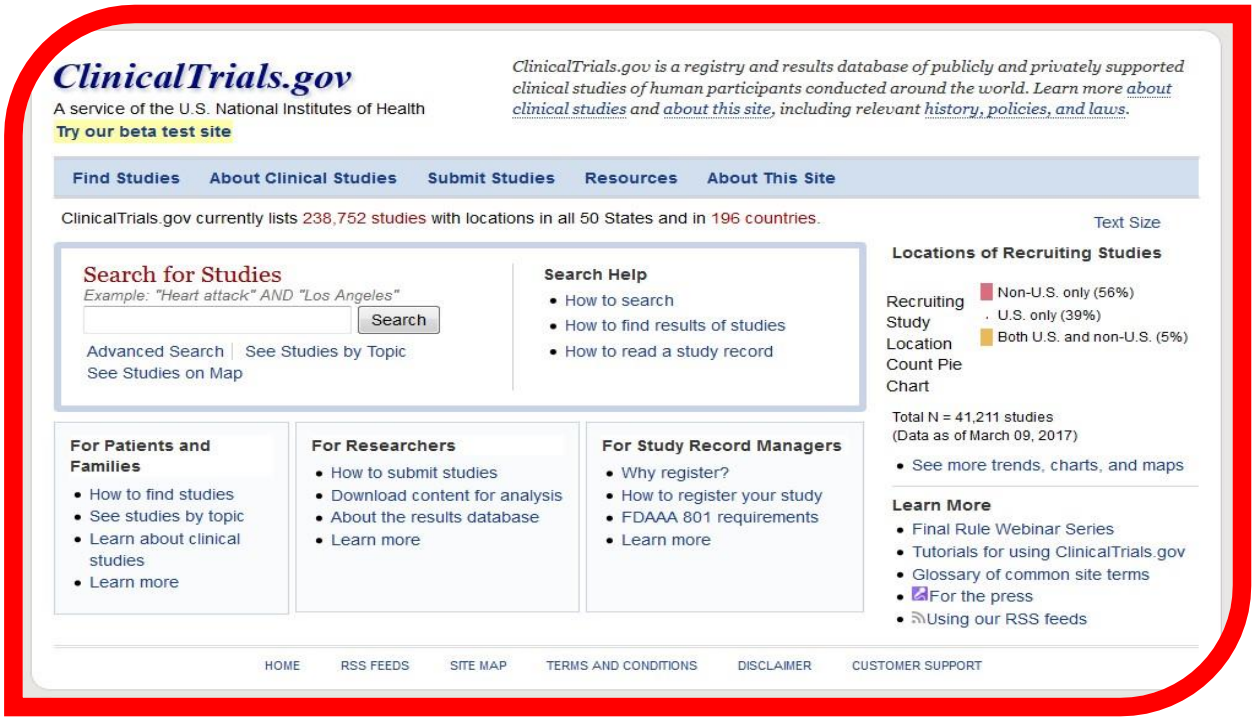


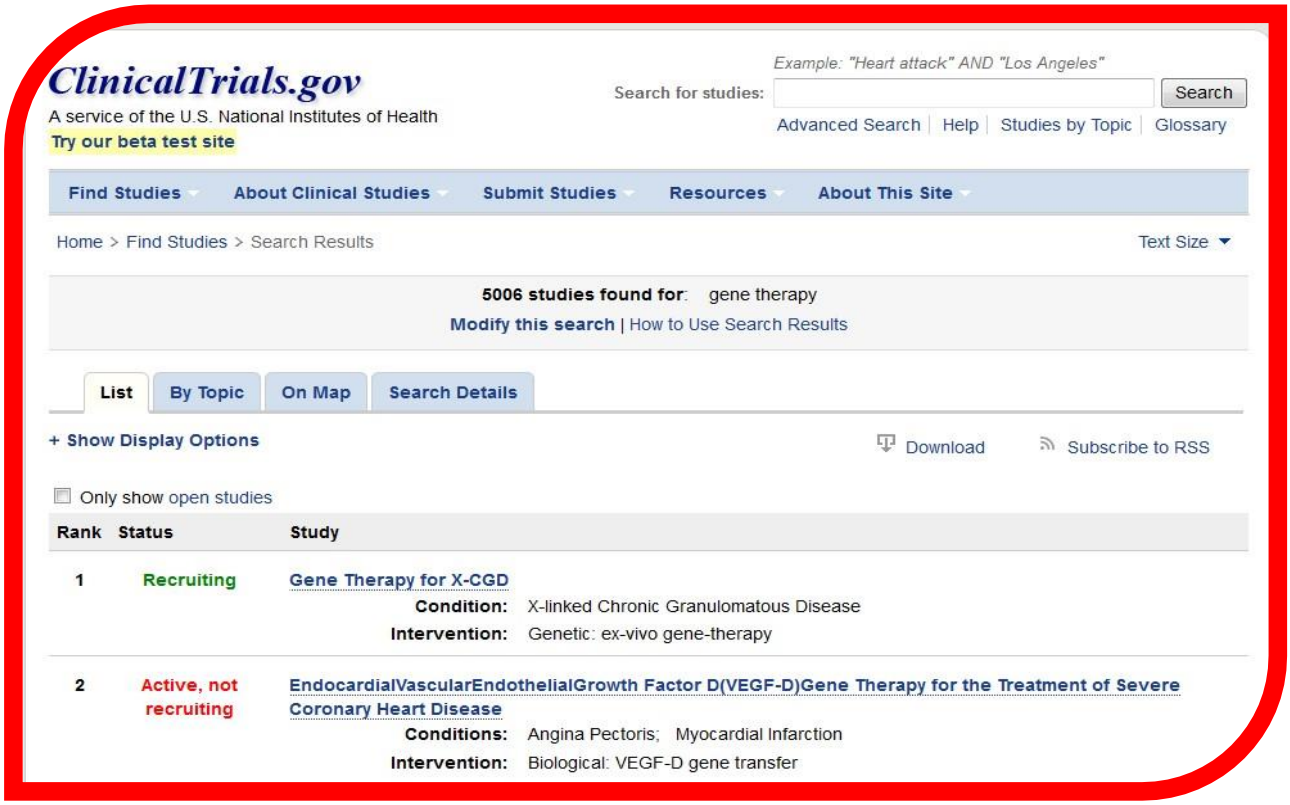
ويمثل الجدول بعض استراتيجيات المعالجة الجينية لبعض الإصابات الفيروسية من بينها HIV ولكن قد تمّ علاجه باستخدام تقنيّة Crisper Cas9 Mechanism حيث تمّ تخريب المستقبل CCR5 أي أننا هنا لم نستخدم Donor DNA وقمنا بالتخريب وليس الإصلاح

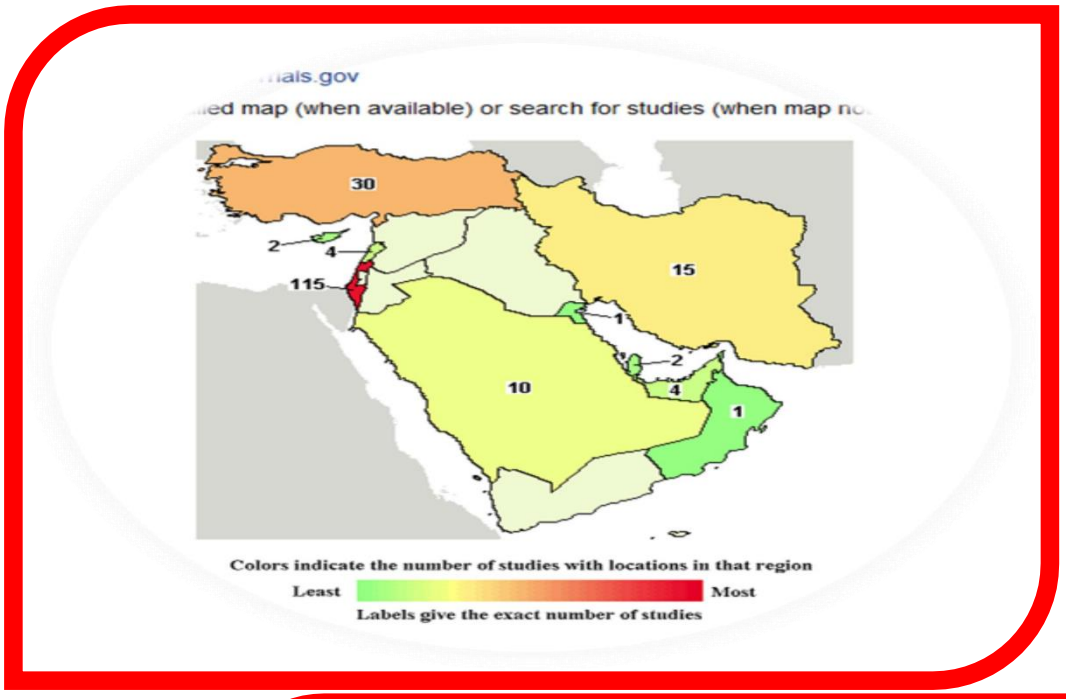
Table 1 Representative preclinical studies of gene editing for gene and cell therapy

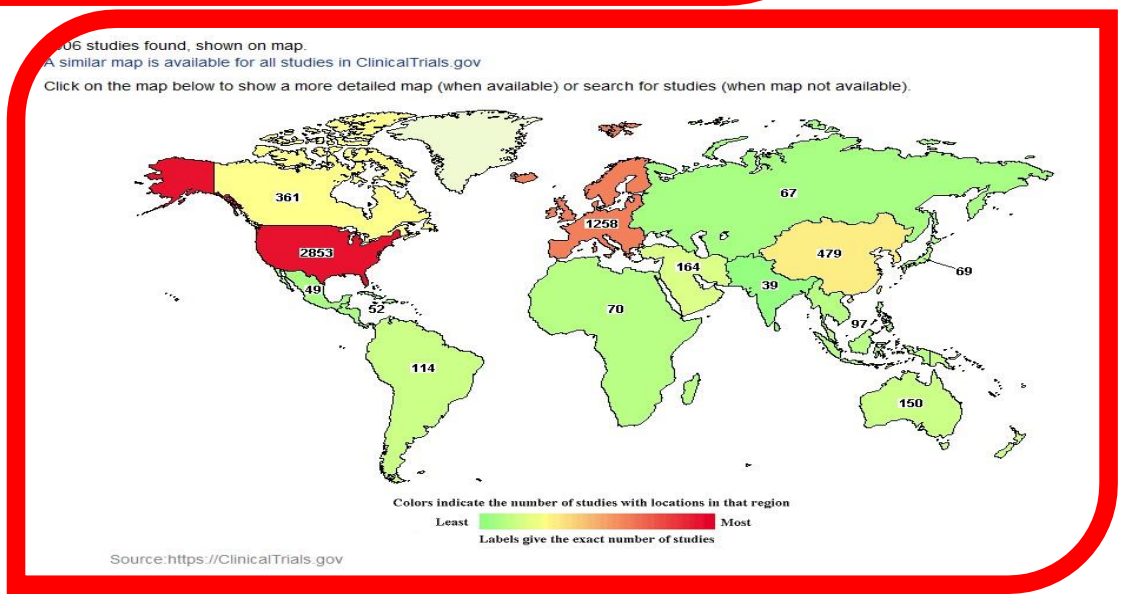
Target	Strategy
Viral infections	
HIV	Inactivating HIV receptors (CCR5, CXCR4)
	Knocking out essential host factors (LEDGF/p75)
	Excising viral genomes
	Targeted integration of antiviral factors
Hepatitis B virus	Inhibiting viral replication
Herpes simplex virus	Inhibiting viral replication
Human papilloma virus	Inactivating essential viral genes
T-cell immunotherapy	
	Knocking out endogenous T-cell receptors
	Knocking out self antigens
	Knocking out glucocorticoid receptor
	Knocking out checkpoint inhibitors
Hematologic disorders	
X-SCID	Gene correction in T cells and CD34+ HSCs
ADA-SCID	Gene modification in cell lines
RS-SCID	Gene correction in patient iPSCs
Sickle cell disease and β-thalessemia	Correction of β-globin mutations in iPSCs
	Correction of β-globin mutations in CD34+ HSCs
	Inactivation of the enhancer of BCL11A

تحدّث الدكتور عن ClinicalTrials موقع يجمع التجارب السريريَّة حبث يجمع قرابة 5006 تجربة عن GT....ويفيدنا في مشاريع التخرُّج









مثلاً لدينا 164 تجربة عن المعالجة الجينيَّة في منطقتنا، معظمهم في تركيا و4 منهم في لبنان لكنها ليست كلها تجارب عن المعالجة الجينيَّة فمنها تجارب حول زيادة التعبير عن دواء معيّن...10 في السعوديَّة...في إيران نلاحظ أن العدد 15 ولكن حقيقةً هنا تجربة أو 2 هي معالجة جينيَّة.....

على أمل أن نبدأ بهذه التجارب في بلدنا وننهضَ بها...وهي أحد مشاريع الدكتور الرائع مجد الجمالي ❤

تعديلات المحاضرات

قبل ما تسكرو المحاضرة في خطأ سقط سهواً في المحاضرة 11 صفحة 26 السطر 7

ورد أن التجفيف الثانوى للنخلص من الماء *غير* المرتبط....فقط احذفو كلمة ((غير))

بالنسبة للسلالات الموجودة بالمحاضرة 13 صفحة 15

وجب التنويه إلى أنه بالرغم من أن الدكتور لم يدقق على نوع السلالات الفأرية كما هو مكتوب في الحاشية إلا أنها وردت في الدورات.

بالنسبة لصورة الفئران في أسفل الصفحة شرحها الدكتور كمثال عن تجربة الاستجابة للهروب:

- ✓ Great يعبِّر عن السلالات التي تستجيب للخوف بسرعة وتهرب بسرعة.
- ✓ Adequate تستجيب للخوف ولكن بنسبة أقل من الأولى (أبطأ منها).
- ✓ Impaired سلالات معطوبة بطيئة جداً عند محاولة الهروب.
- ✓ Freezers سلالات لا تستطيع الحركة عند الخوف (تتجمَّد بمكانها عند الخوف).

Group	Characteristics	Name	Example (-Rx)
non-polar	hydrophobic	Ala, Val, Leu, Ile, Pro, Phe Trp, Met	CH_3, CH_3, $CH-CH_2$ Leu
polar	hydrophilic (non-charged)	Gly, Ser, Thr, Cys, Tyr, Asn Gln	OH, CH_3, CH Leu
acidic	negatively charged	Asp, Glu	O, O-, $C-CH_2$ Asp
basic	positively charged	Lys, Arg, His	NH_3^+ $-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2$ Lys

صورة توضح الحموض الأمينيَّة الحمضيّة والقلويَّة مع شحنتها، وكذلك الحموض القطبية وغير القطبيَّة

حفظها ضروري لأن السؤال بالامتحان سيكون على شكل بروتين مع ذكر أنواع الحموض الموجودة فيه وعلينا أن نختار هلامة الفصل المناسبة

The 20 amino acids and their abbreviations

Amino acid	3-letter abbreviation
Alanine	Ala
Arginine	Arg
Asparagine	Asn
Aspartic acid	Asp
Aspartic acid & Asparagine	Asx
Cysteine	Cys
Glutamine	Gln
Glutamic acid	Glu
Glutamine or Glutamic acid	Glx
Glycine	Gly
Histidine	His
Isoleucine	Ile
Leucine	Leu
Lysine	Lys
Methionine	Met
Phenylalanine	Phe
Proline	Pro
Serine	Ser
Threonine	Thr
Tryptophan	Trp
Tyrosine	Tyr
Valine	val

أضف ملاحظاتك :

لإرسال ملاحظاتكم :
goo.gl/forms/Hl8slZEmLSZvySq92

لتحميل محاضراتنا:
www.Rbcsteam.org/lectures

للاستفسار عن هذه المحاضرة على غروب الفريق على الفيس بوك:
RBCs Pharmacy 2019 www.facebook.com/groups/rbcs2019