المحاضرة الرابعة

الخلايا الحيوانية واهميتها في التقانات الحيوية، الخلايا السرطانية (Hela cell)، المبيدات الحيوية

يعتبر علم زراعة الأنسجة من المجالات الحديثة المهمة ، وهو مجال تطبيقي أحدث ثورة في مجال الزراعة، حيث يهتم بتنمية أجزاء صغيرة من الأنسجة النباتية والحيوانية على بيئات صناعية معروفة المكونات.

زراعة الخلايا الحيوانية Animal cells cultivation

منذ بداية القرن العشرين ازدادت اهمية زراعة الخلايا الحيوانية باعتبارها ادوات في الدراسات الخاصة بعلم الاجنة وعلم الاحياء المجهرية.

استخداماتها:

١. تستخدم المزارع الخلوية كمضائف بديلة لدراسة نماذج الاصابات الفيروسية.
٢. تستخدم الانماط الخلوية تجاريا في انتاج اللقاحات (ضد مرض شلل الاطفال، النكاف ، الحصبة الالمانية وغيرها) و الانترفيرونات و الهرمونات و الاجسام المضادة و الفيتامينات والستيرويدات وغيرها.
٣. تعتبر ادوات جيدة لاختبار كفاءة الادوية.
٤. تستخدم كموديلات لدراسة ايض المواد المختلفة.

وقد تطورت هذه الزراعة باستعمال تقنيات حديثة منها اندماج الخلايا ، نقل الكروموسومات ، وادخال البلازميدات .

<u>المشاكل الرئيسية التي تواجه هذه الزراعة تجاريا هي :</u>

- حساسية الخلايا العالية للشوائب الموجودة في الماء .
- كلفة الوسط الغذائي المستخدم .
- التلوث الذي تسببه الاحياء المجهرية النامية عليه .

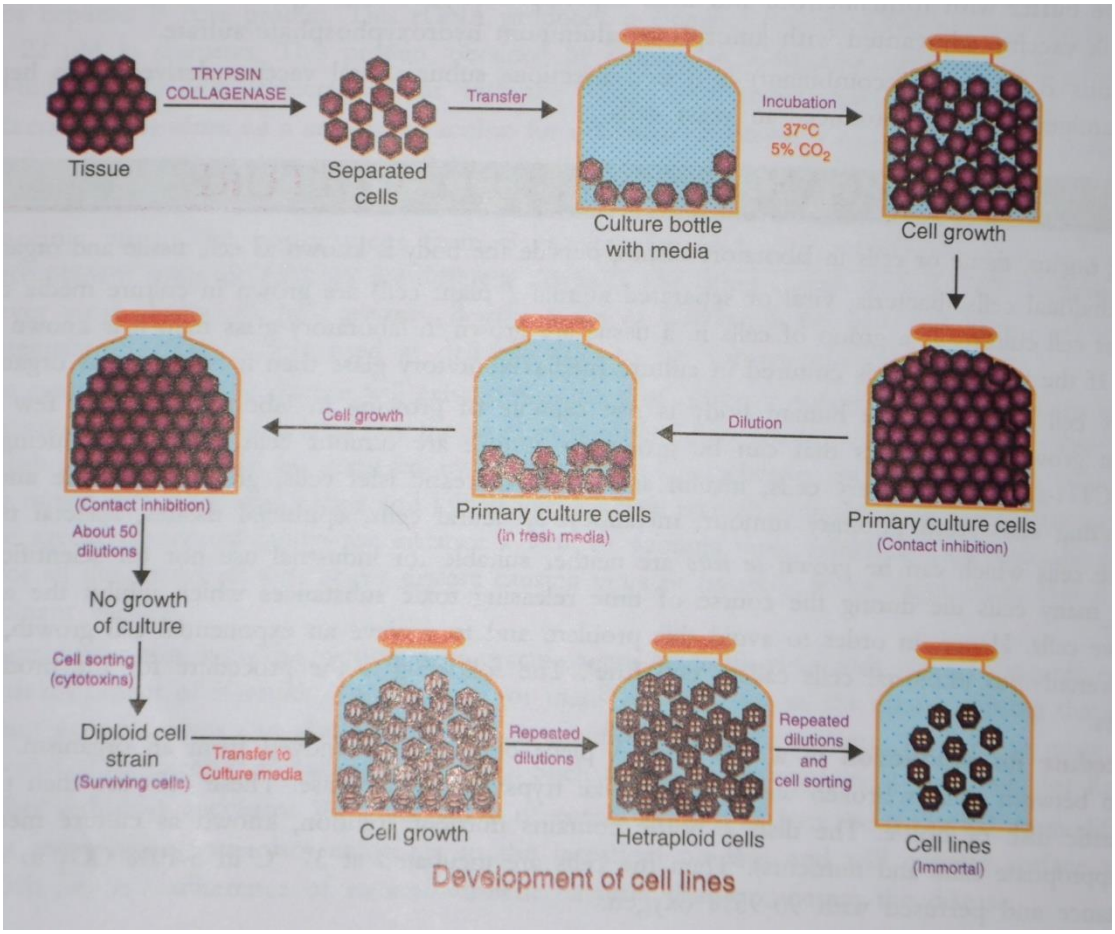
<u>نمط الخلية Cell line</u> .

عادة ما تكون الخلايا النامية خارج الجسم الحي *invitro* تكون غير ملائمة للاغراض الصناعية والبحثية، لان العديد من الخلايا تموت بمرور الوقت بسبب تحرر المواد السامة التي تثبط فعالية الخلايا الحية الاخرى فيما يسمى بالشيخوخة.

ولمنع حدوث هذه المشكلة ولغرض الحصول على نمو خلوي مستمر يتم تحويل الخلايا الى ما يعرف بـ immortal cells او cell line .ويتم ذلك كالاتي:

١. تؤخذ قطعة من النسيج الحيواني وتعامل بالانزيمات مثل trypsin او collagenase لفك ارتباط الخلايا.
٢. تنقل الخلايا الى وعاء مناسب يحتوي على الوسط الزرعي المغذي (حاوي على املاح ومغذيات).
٣. تحضن الخلايا بوجود CO_2 5-10% بدرجة ٣٧ درجة مئوية + O_2 90-95%.
٤. تنمو الخلايا مكونة ما يعرف بالمزرعة الخلوية الاولية primary cell culture (يحدث هنا تثبيط لنمو الخلايا بسبب التلامس contact inhibition).
٥. تنقل المزرعة الخلوية الاولية الى وسط جديد وتستمر بالنمو والانقسام. ويكون هذا النمو محدود، حتى تنمو الخلايا الحيوانية ويتوقف بعد حوالي ٥٠ انقسام خلوي بسبب نقص الغذاء او شيخوخة الخلايا.

٦. بعض الخلايا تستمر بالنمو وهذه يطلق عليها اسم (secondary cell culture)diploid cell strains ولكن بعد مدة من الزمن تفقد هذه الخلايا قابليتها على النمو ويبقى قسم قليل منها قادرا ومستمرا على النمو مكونة ما يدعى بـ heteroploid cells(tertiary cell culture) وهذه الخلايا تنمو بشكل غير محدود مع استمرار تزويدها بالوسط الغذائي ويطلق عليها نمط الخلية transformed cell (cell line) .



يتم الحصول على الخلايا الحيوانية اما من خلايا سرطانية Cancer cells او من خلايا طبيعية normal cells وتعد hela cell line (المشتقة من الخلايا السرطانية العنقية للانسان) من اشهر واقدم الانماط الخلوية.

خلايا هيلا Hela cell

في عام ١٩٥١ ، تم الكشف عن المريضة هنريتا لاكس في مستشفى جون هوبكنز في بالتيمور ، عن وجود ورم في بطنها ، حيث تم تشخيصها سرطان عنق الرحم (سرطان غدي لعنق الرحم ، وهو نوع من السرطان العدواني بشكل خاص). توفيت في نهاية المطاف بسبب سرطانها في وقت لاحق من ذلك العام عن عمر ٣١ عام وهي ام لخمسة اطفال وهي امريكية من اصول افريقية ، دون معرفة ما هي خلاياها التي ستساعد في قيام طفرة في عالم الأحياء ذلك الوقت و الى يومنا هذا. حيث وجد ان خلاياها التي اخذت للفحص في المختبرات لازالت مستمرة بالنمو دون توقف والى يومنا هذا ومن المعروف ان خلايا الانسان تتضاعف وتنمو لمايقارب ٥٠ مره ومن ثم تتوقف عن النمو بسبب الشيخوخة وبسبب بعض الانزيمات التي تساعد في ايقاف التضاعف، ولكن ماحصل مع خلايا

هيلا Hela cell والتي سميت بهذا الاسم نسبة لاول حرفين من الاسم الثنائي للمريضة **He**nrietta **La**cks، حيث استخدمت خلايا هيلا والتي سميت لاحقا بالخلايا الخالدة باختراع لقاح شلل الاطفال، أطفال الأنابيب، بحوث مرض الإيدز، الأدوية الكيميائية، بحوث مرض السرطان وآثار الإشعاع والمواد السامة ، ورسم خرائط الجينات بل وارسلت للفضاء الخارجي لمعرفة تأثير الجاذبية وغيرها على الخلايا البشرية والمساهمة في الاف البحوث العلمية.

هناك ثلاثة اختلافات رئيسية بين الخلايا الطبيعية وخلايا هيلا الخالدة:

١- **خلايا هيلا سرطانية:** يكون الفرق بين الخلايا الطبيعية وخلايا هيلا أكثر وضوحًا عندما تنظر إلى الكروموسومات (النمط النووي). تحتوي خلايا هيلا ، مثل العديد من الأورام ، على جينومات مليئة بالأخطاء ، مع نسخة واحدة أو أكثر من العديد من الكروموسومات: تحتوي الخلية الطبيعية على ٤٦ كروموسومًا بينما تحتوي خلايا هيلا على ٧٦ إلى ٨٠ من الكروموسومات الإجمالية، وبعضها متحور بشدة (٢٢- ٢٥) ، لكل خلية. ويرجع ذلك إلى فيروس الورم الحليمي البشري (HPV)، وهو سبب جميع سرطانات عنق الرحم تقريبًا.

٢- **تنمو خلايا هيلا بسرعة غير عادية**: حتى بالنظر إلى حالتها السرطانية. في الواقع فهي تنمو بسهولة وسرعة ، مما يضاعف عدد الخلايا في ٢٤ ساعة فقط ، مما يجعلها مثالية للاختبار على نطاق واسع. فهي تنمو بسرعة كبيرة بحيث يمكنها تجاوز الخلايا الأخرى. ويرتبط هذا بحقيقة أن هنريتا لاكس كانت تعاني من مرض الزهري مما يؤدي إلى نمو حاد في السرطان بسبب ضعف جهاز المناعة. وفي عام ٢٠١٣ ، تبين أن جينوم فيروس الورم الحليمي البشري المخفوق أدخل نفسه بالقرب من c-myc proto-oncogene في جينوم Henrietta، مما تسبب في التعبير التأسيسي والتكاثر السريع لخلايا هيلا في جسمها.

٣- **خلودية خلايا هيلا**: مما يعني أنها سوف تنقسم مرارًا وتكرارًا ... يمكن تفسير هذا الأداء من خلال التعبير عن التيلوميراز المفرط الذي يعيد بناء التيلوميرات بعد كل انقسام ، ويمنع الشيخوخة الخلوية، ويسمح بالانقسام الدائم للخلايا

دور الاحياء المجهرية في التقانات الحيوية

تستخدم الكائنات الدقيقة (خاصة البكتريا والفيروسات) على نطاق واسع في مشروعات التكنولوجيا حيوية على سبيل المثال:

- إنتاج البروتينات كالانسولين البشرى (human insulin)
- استخدام البكتريا في إنتاج الاسمدة الحيوية (bio fertilizers) بدلاً من استخدام الاسمدة الكيماوية.
- في تنقية المياه من الملوثات.
- التخلص من المخلفات العضوية.
- تصنيع المركبات الكيميائية المستخدمة في العقاقير.
- استخدام الكائن الدقيق كناقل لبعض الجينات التي تحمل الصفات المرغوبة.

المبيدات الحيوية وحماية البيئة

استخدمت المبيدات الكيميائية لأكثر من قرن في مكافحة الحشرات والمسببات المرضية المختلفة على المحاصيل الزراعية، وقد نجحت في الحد من الاضرار المتسببة عن الحشرات وغيرها ولكن بعد مدة من استخدامها ظهرت عدة مشاكل بسبب الاستخدام المفرط للمبيدات الكيميائية مثل الامراض السرطانية وغيرها على الانسان وهلاك العديد من الحيوانات والحشرات غير المستهدفة والنحل بالاضافة الى التلوث البيئي و تلوث المياه والتربة، وغيرها من المشاكل التي جعلت من الباحثين والمهتمين في المجال

الزراعي للتفكير في ايجاد حلول اخرى لمكافحة الامراض والحشرات كوسائل بديلة عن استخدام المبيدات الكيميائية ومن اهم الطرق التي استخدمت لاحقا هي المكافحة الحيوية Bio-control والتي استخدمت فيها كائنات حية مختلفة متطفلة او مفترسة للقضاء على المسببات المرضية والتي صنعت على شكل مبيدات الآفات الحيوية (Bio-pesticides) عوضًا عن استخدام المبيدات الحشرية الكيميائية ذات الأضرار الكبيرة. ويمكن تعريف المبيدات الحيوية على أنها "شكل من أشكال مبيدات الآفات يعتمد على كائنات دقيقة أو منتجات طبيعية. عموما استخدمت المبيدات الحيوية المصنعة من البكتيريا ولكن هناك عوامل مكافحة أخرى مثل الفطر، والفيروس والديدان الأسطوانية. كما ان الأعشاب الضارة والقوارض أيضا تمت السيطرة عليهم بالمكافحات الميكروبية. مثل استخدام البكتريا *Pseudomonas fluoresces* و *Bacillus subtilis* و *B. thermogenesis* و الفطر *Trichoderma viride* و *T. harzianum* و *Beauveria bassiana*.

من مميزاتها مقارنة بالمبيدات الكيميائية

- لا تترك مخلفات ضارة على البيئة ويمكن ان تتحلل في وقت اقصر. ولا تسبب أي أضرار للنباتات والمحاصيل، ولذلك نستطيع استخدامها في مناطق المسطحات المائية والمحميات الطبيعية.
- لا تؤثر على الكائنات الاخرى غير المستهدفة. كل نوع منها يصمم لاستهداف نوع معين من الحشرات فقط، ولا تستهدف أي حشرات أخرى بما في ذلك الحشرات المفيدة التي تقوم بدور هام في تلقيح النباتات والحفاظ على التوازن البيئي، بعكس المبيدات الحشرية الكيميائية والتي تستهدف جميع الحشرات بما فيها الضار والمفيد
- من الناحية الاقتصادية ربما تكون أرخص من المبيدات الكيميائية، حيث أنها تتكون من كائنات حية موجودة بشكل طبيعي في البيئة.
- في المدى الطويل ربما تكون أكثر فعالية من المبيدات الكيميائية.
- ممكن ان تعمل المبيدات الحيوية كمنظمات لنمو النبات ايضا وتحسن من مؤشرات النمو الخضري وكذلك تزيد من انتاجية النبات.
- بعض المبيدات الحيوية تزيد من مقاومة النبات للامراض الفطرية والبكتيرية المختلفة. أي انها تعمل كعامل محفز للمقاومة قبل الاصابة بدلا من استخدامها بعد الاصابة.

ومن سلبياتها

- نظراً لان كل نوع من المبيدات الحيوية يختص بنوع واحد فقط من الحشرات، فيتطلب الأمر من المزارعين شراء أكثر من نوع على مدار العام، في حين أنهم كانوا يشترون نوع واحد فقط من المبيدات الكيميائية على مدار العام.
- في أغلب الأحيان تكون فعاليتها بطيئة مما يجعلها غير مناسبة إذا كان تفشي الآفات سريع ومباشر على المحصول. وهذا يعني أنه في الحالات الحرجة من تفشي الحشرات لا يمكن إلا استخدام المبيدات الكيميائية التقليدية
- الكائنات الحية تتطور وتزداد مقاومتها للمكافحات الكيميائية والبيولوجية والفيزيائية، أو أي شكل آخر من أشكال السيطرة
- تتأثر بالعوامل البيئية والحيوية المختلفة.
- ان عمليات نقل وخط وتخزين المبيدات الحيوية تعتبر أكثر تعقيداً من المبيدات التقليدية، وهذا يتطلب الكثير من التدريبات. تأخذ المبيدات الحيوية وقتاً أكثر في العمل من المبيدات التقليدية.