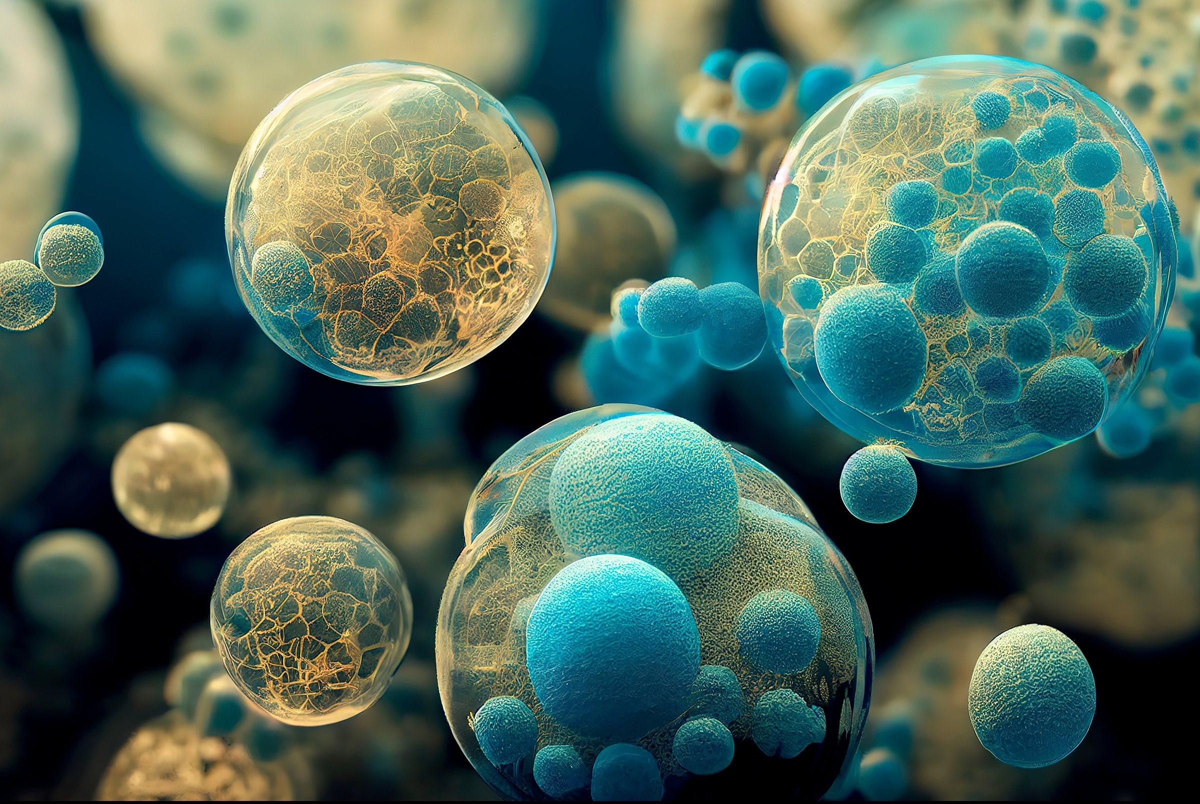
الأكاديمية العربية الدولية

الأكاديمية العربية الدولية
Arab International Academy

الأكاديمية العربية الدولية

المقررات الجامعية

www.aiacademy.info | care@aiacademy.info



مقدمة قصيرة جدًّا

عايشة ديفان وجانيس إيه رويدز

علم الأحياء الجزيئي

ترجمة سارة طه علام

علم الأحياء الجزيئي

مقدمة قصيرة جدًّا

تأليف
عايشة ديفان وجانيس إيه رويدز

ترجمة
سارة طه علام

مراجعة
شيماء طه الريدي

هنداوي

علم الأحياء الجزيئي

عايشة ديفان وجانيس إيه رويدز

Molecular Biology

Aysha Divan and Janice Royds

الناشر مؤسسة هنداوي
المشهرة برقم ١٠٥٨٥٩٧٠ بتاريخ ٢٦ / ١ / ٢٠١٧

يورك هاوس، شييت ستريت، وندسور، SL4 1DD، المملكة المتحدة
تليفون: ٨٣٢٥٢٢ ١٧٥٣ (٠) ٤٤ +
البريد الإلكتروني: hindawi@hindawi.org
الموقع الإلكتروني: https://www.hindawi.org

إنَّ مؤسسة هنداوي غير مسئولة عن آراء المؤلف وأفكاره، وإنما يعبِّر الكتاب عن آراء مؤلفه.

تصميم الغلاف: ولاء الشاهد

الترقيم الدولي: ٩٧٨ ١ ٥٢٧٣ ٢٩٨٦ ٧

صدر الكتاب الأصلي باللغة الإنجليزية عام ٢٠١٦.
صدرت هذه الترجمة عن مؤسسة هنداوي عام ٢٠٢٢.

جميع حقوق النشر الخاصة بتصميم هذا الكتاب وتصميم الغلاف محفوظة لمؤسسة هنداوي.
جميع حقوق النشر الخاصة بالترجمة العربية لنص هذا الكتاب محفوظة لمؤسسة هنداوي.
جميع حقوق النشر الخاصة بنص العمل الأصلي محفوظة لدار نشر جامعة أكسفورد.

Copyright © Aysha Divan & Janice Royds 2016. *Molecular Biology* was originally published in English in 2016. This translation is published by arrangement with Oxford University Press.

المحتويات

مقدمة	٧
اختصارات علمية شائعة	٩
١- المراحل الأولى	١١
٢- الحمض النووي	٢٣
٣- الحمض النووي الريبي	٤٣
٤- البروتينات	٥٥
٥- التفاعلات الجزيئية	٧١
٦- الهندسة الوراثية	٨٧
٧- علم الأحياء الجزيئي في الطب السريري	١٠١
٨- الطب الشرعي وعلم الأحياء الجزيئي	١١٧
٩- التحدِّيات المستقبلية	١٣١
قراءات إضافية	١٤٣
المراجع	١٤٧
مصادر الصور	١٤٩

مقدمة

يقدم هذا الكتاب عرضًا موجزًا لعلم الأحياء على المستوى الجزيئي. والهدف منه هو تقديم معلوماتٍ وشرح يمكِّنان القارئ من الاستمتاع بالنتائج المصيرية التي ترتَّبت على ظهور علم الأحياء الجزيئي الجديد نسبيًّا وتقييمها.

نبدأ رحلتنا من عمل تشارلز داروين المُلْهِم الذي أعطانا القوة الدافعة للبحث عن المادة الوراثية، وصولًا إلى التكنولوجيا الحديثة التي مكَّنتنا من اكتشاف أحد ملوك أسرة بلانتاجينت الملَكية في موقفٍ للسيارات، وزوَّدتنا بأدلةٍ جنائية دامغة لا تقبل الشك، وساعدَتْنا على تطوير أهدافٍ علاجية للمُستحضرات الدوائية الجديدة. سنستكشف معًا العمل الذي قاد كلًّا من جيمس واطسون وفرانسيس كريك إلى إثبات أن الحمض النووي الريبي المنقوص الأكسجين (دي إن إيه) هو ما يحمل شفرة الحياة. وسنتناول عمل أليك جيفريز الذي قدَّم أدواتٍ جنائية جديدة من «الحمض النووي غير المشفر»، الذي سُمي كذلك لأنه بدا في بداية الأمر بلا وظيفة.

تُطبق أدوات علم الأحياء الجزيئي لمواجهة التحدِّيات العالمية، بما في ذلك تعزيز استدامة الإمدادات الغذائية وتحسين الصحة والرفاهية. سنُقدم لكم أحدث التقنيات المتطورة التي تعمل على تغيير علوم الحياة، بدءًا من التقنيات العالية الإنتاجية التي تسمح بتحليل الحمض النووي الريبي، أو البروتينات، في مدةٍ زمنية قصيرة، وصولًا إلى علم الأحياء التخليقي والتحرير الجيني. وهو ما يفتح الباب أمام بداية حقبةٍ من الطب الأكثر دقة، مما يُتيح إعادة تصميم النُّظم البيولوجية الطبيعية الحالية للأغراض الطبية والزراعية وغيرها من الأغراض المفيدة، وتسريع وتيرة البحث والاكتشاف.

وعلى الرغم من أن هذه التقنيات المتقدمة تعود بفوائد عديدة على الناس، فهي تُثير مخاوف أيضًا بشأن مخاطرها على صحة الإنسان، والتلوث البيئي، وسوء الاستخدام المتعمَّد. لذا، يلعب الحوار بين العلماء وعامة الناس، والتشريعات والتكنولوجيا المحسَّنة دورًا مُهمًّا في مواجهة هذه المخاوف.

اختصارات علمية شائعة

A: أدينين

C: سيتوسين

CDK: الكيناز المعتمد على السايكلين

cDNA: الحمض النووي المكمل

DNA: حمض الديوكسي ريبونيوكليك

G: جوانين

GMO: كائن حي معدل وراثيًّا

GWAS: دراسات الترابط الجينومي

HER2: مستقبل عامل النمو البشري

HR: إعادة التركيب المتماثل

IgG: الجلوبولين المناعي

IHC: الكيمياء الهيستولوجية المناعية

LINE: العنصر النووي الطويل المنتشر

miRNA: الحمض النووي الريبي الميكروي

mRNA: الحمض النووي الريبي المرسال

mtDNA: الحمض النووي للميتوكوندريا

NHEJ: دمج النهايات غير المتماثل

PCR: تفاعل البوليمراز المتسلسل

PI: نقطة التساوي الكهربي

PTM: تعديلات ما بعد الترجمة

qPCR: تفاعل البوليمراز المتسلسل الكمي

qRT-PCR: تفاعل البوليمراز المتسلسل الكمي ذي النسخ العكسي

RNA: الحمض النووي الريبي

SINE: العنصر النووي القصير المنتشر

siRNA: الحمض النووي الريبي المتداخل القصير

SNP: تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة

STR: التكرارات المترادفة القصيرة

T: ثايمين

TF: عامل النسخ

TL: طول التيلومير

U: يوراسيل

الفصل الأول

المراحل الأولى

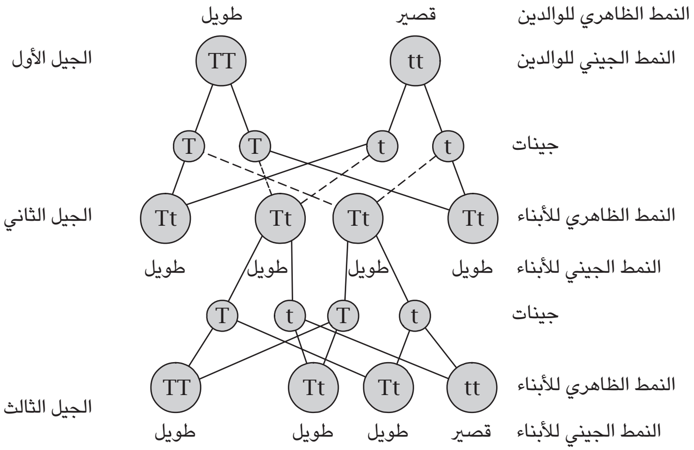
علم الأحياء الجزيئي أو البيولوجيا الجزيئية هو قصة جزيئات الحياة وعلاقاتها، وكيفية التحكم في هذه التفاعلات. ارتكز التاريخ المبكِّر لعلم الأحياء الجزيئي إلى حدٍّ كبير على البحث عن طبيعة الجزيئات التي تنظم الحياة، وقبل كل شيءٍ على هوية المادة الوراثية. وثمة فكرتان رئيستان على وجه الخصوص هما ما كانا بمثابة مصدر الإلهام لبداية رحلة البحث في الطبيعة الجزيئية للعوامل القابلة للانتقال وراثيًّا، التي تُوفر استمرارية الحياة.

في البداية، قدَّم كلٌّ من تشارلز داروين وألفريد راسل والاس في منتصف القرن التاسع عشر حُجَجهما الداعمة لنظرية التطوُّر عن طريق الانتقاء الطبيعي. وقدَّم داروين أمثلةً كثيرة استمدَّها من تجاربه التي أجراها وهو يُبحر حول العالم على متن السفينة «إتش إم إس بيجل». ولعلَّ أحد أبرز هذه الأمثلة الثلاثة عشر نوعٌ من العصافير التي اكتشفَها داروين، ولا تُوجَد إلا على جُزر جالاباجوس. بعد وصول نوعٍ واحد من العصافير إلى هذه الجزر المنعزلة قبل ما يقرب من مليونَين ونصف مليون عام، تطور هذا النوع إلى ثلاثة عشر نوعًا جديدًا عن طريق الانتقاء الطبيعي. فقد اختلفت مصادر الغذاء على كل جزيرةٍ وعدَّلت العصافير حجم مناقيرها وشكلها وفقًا لذلك، فصارت إما حادَّة ومُدببة لالتقاط الحشرات، وإما قصيرة وقوية لالتقاط البذور وثمار الجوز. وكانت الجزر بعيدةً بعضها عن بعض بما يكفي، ما حال دون حدوث تزاوُج بين الأنواع المختلفة؛ لذا، وبمرور الوقت، طوَّرت كل جزيرةٍ أنواعًا خاصة بها من العصافير. أدرك داروين أن توارُث الصفات المميزة كان ضروريًّا لإعمال الانتقاء الطبيعي، بحيث ينتُج عنه مثل هذه التكيُّفات. ولإحداث التشعُّب التطوُّري للعصافير، لا بد أن يكون الآباء قادِرين على نقل سماتٍ وراثية مُستقرة إلى نسلِهم. وتعَدُّ القدرة على نقل السمات إلى الأجيال اللاحقة أحد أحجار الزاوية في علم الأحياء الجزيئي الحديث، ولكنها في ذلك الوقت كانت تتعارَض مع الأفكار المعاصِرة القائلة بأن النسل كان

مَزيجًا من سمات الوالدَين فحسب، وأن الوراثة تنطوي على مزيجٍ من الصفات الوراثية. ولو كان هذا صحيحًا، لأُعيقت عملية التطوُّر، إن لم تستحِل تمامًا. فقد كان المزج حينها سيَعني أن السمات الأفضل أيًّا كانت، ستختفي عبر الأجيال اللاحِقة بفعل التخفيف.

قام الراهب والعالِم جريجور مندل، الذي أسفر عمله عن ظهور الفكرة الرئيسة الثانية التي أدَّت إلى ظهور علم الأحياء الجزيئي، بحلِّ لُغز آلية الوراثة الذي حيَّر داروين. فقد اكتشف مندل أثناء عمله في حديقته التجريبية في دير سانت توماس في برنو — الموجود في جمهورية التشيك حاليًّا — الانفصال بين السمات الوراثية التي أدَّت إلى ميلاد عِلم الوراثة. أراد مندل دراسة كيفية انتقال السمات الوراثية بين الأجيال، واختار العمل على نبات البازلاء نموذجًا لدراسته. فدرس انتقال العديد من الخصائص، بما في ذلك حجم النبات (من حيث القصر أو الطول) من خلال نقل حبوب اللقاح إما بشكلٍ طبيعي أو يدوي. فدائمًا ما كانت النباتات الطويلة التي زُرِعَت لعدة أجيال مُتتالية تُنتج نباتاتٍ طويلة أيضًا، وبالمثل كانت النباتات القصيرة سلالات نقية دائمًا. اكتشف مندل أن تهجين نبات طويل نقي السلالة مع آخر قصير نقي لم يُنتج مزيجًا من خصائصهما، بل كانت السلالة الناتجة كلها طويلة. ولذلك، فلا بد أن الطول صفة سائدة تغلِب على الصفة القصيرة المتنحِّية. غير أن تهجين هاتَين السلالتَين الجديدتَين من النباتات الطويلة معًا نتج عنه مزيجٌ من النباتات القصيرة والطويلة. لم تظهر صفة القِصَر إلا عندما اجتمع عاملان مُتنحِّيان في الفرد الواحد. وقد أوضح مندل ملاحظاته تلك من خلال افتراض العوامل المستقرة، إذ رمز للطول بـ T، وللقِصَر بـ t، حيث T هي الصفة السائدة على t في الشكل. وتُورَّث هذه العوامل وتنتقل عبر الأجيال (انظر شكل ١-١). لم يكن مندل يعرف أي شيء عن الحمض النووي، ولكنه استنتج من عمله وجود عاملٍ وراثي أسماه «عنصرًا»، وأن هذا العنصر حتمًا يلعب دورًا في الوراثة. وقد صاغ فيلهلم يوهانسن لأول مرة استخدام كلمة «جين» في عام ١٩٠٩ لوصف هذه الوحدات الوراثية. ومنذ ذلك الحين، تُعرَف العوامل الوراثية المسئولة عن صفةٍ بعينها بالنمط الجيني، بينما يعرف الشكل الخارجي للصفة بالنمط الظاهري.

توصل مندل إلى حل للمعضلة التي واجهت داروين بإثباته أن المادة الوراثية لا تمتزج عند انتقالها للأجيال اللاحِقة. وكان هذا الاكتشاف اكتشافًا ذا أهميةٍ عظيمة. فقد أكد هذا الاكتشاف أن المعلومات الخاصة بصفةٍ بعينها دائمًا ما تكون موجودة في الفرد حتى لو لم تظهر ماديًّا في جيلٍ بعينه. ولكن ماذا كانت طبيعة عوامل أو عناصر مندل؟ كان لا بدَّ من الانتظار حتى عام ١٩٠٢ للتوصُّل إلى إجابة لهذا السؤال، عندما أعاد كلٌّ من تيودور



شكل ١-١: نمط مندل للوراثة. أول تهجين لنبات البازلاء الطويلة (TT) مع نبات البازلاء القصيرة (tt) نتج عنه جيل ثانٍ من نباتات البازلاء كانت جميعها طويلة (Tt). بينما نتج عن التهجين الثاني باستخدام البازلّاء (Tt) هذه، بازلاء طويلة (TT, Tt) وبازلاء قصيرة (tt).

بوفيري ووالتر ساتون، كلٌّ على حِدة، اكتشاف عمل مندل. ففي أثناء عمله على دراسة تطور قنافذ البحر، عرَّف عالم الأحياء الألماني بوفيري الكروموسومات باعتبارها أدوات النقل الوراثية التي تُماثِل في سلوكها سلوك «عوامل» مندل. وعلى الرغم من أن أول من صاغ مصطلح «كروموسوم» لأول مرةٍ كان هاينريش فالداير في عام ١٨٨٨ — والذي اشتُقَّ من الكلمة اليونانية التي تعني «الجسم الملون»؛ نظرًا لأنه يمتص الصبغات بسهولةٍ ويتلطَّخ بشدة — فقد كان بوفيري أول من أدرك أهمية الكروموسومات. فقد اكتشف أن الخلايا الجسدية تحتوي على مجموعتَين من هذه الكروموسومات، بينما تحتوي الخلايا الجنسية على مجموعةٍ واحدة. احتوت نواة الحيوان المنوي الذَّكَري والبويضة الأنثوية على كمياتٍ متكافئة من المادة القابلة للانتقال وراثيًّا. وبما أن كلًّا منهما يحتوي على نصف عدد الكروموسومات الجسدية، فقد استنتج أن الكروموسومات هي التي تحتوي على هذه المادة الوراثية. وأشار إلى أن الكروموسومات لم تكن متشابهة؛ نظرًا لضرورة وجود مجموعة كاملة منها من أجل حدوث عملية التكاثر.

في غضون الوقت الذي اكتشف فيه بوفيري الكروموسومات تقريبًا، صار واضحًا أن قوانين مندل لا تنطبق فقط على البازلاء، بل على جميع الكائنات الحية، بما فيها البشر.

وقدَّمَت أشجار نسب العائلات المصابة بأمراضٍ وراثية أول دليلٍ على الجينات البشرية. وتشمل الأمثلة أمراضًا مثل مرض هنتنجتون، والبَرَص (المهق)، والحثل العضلي الدوشيني، وعمى الألوان، والهيموفيليا، على سبيل المثال لا الحصر.

اكتشاف الحمض النووي

من اللافت للنظر أن كلًّا من داروين ومندل قد أدركا حتمية وجود مادةٍ وراثية تُعزز ملاحظاتهما، ولكنهما كانا يجهلان طبيعتها. ولكن بعد وقتٍ قصير، تحديدًا في عام ١٨٩٦، اكتشف يوهان فريدريش ميشر الحمض النووي (حمض الديوكسي ريبونيوكليك) بمحض الصدفة. كان ميشر مُهتمًّا بدراسة البروتينات؛ إذ بدا له أنها جزيئات الحياة الواضحة التي تقوم بوظائف الخلية. كان يفصل البروتينات من خلايا الدم البيضاء التي أُزيلت من الضمَّادات المشبَّعة بالصديد عندما وجد مادة، على عكس البروتين، تُقاوم الانفصال بواسطة الإنزيمات الهاضمة للبروتين — إنزيمات البروتياز — وكانت أيضًا تحتوي على نسبةٍ عالية جدًّا من عنصر الفوسفات. ولكن في الواقع، ظن ميشر أنه كان جُزَيء تخزين الفوسفات ولم يكن لدَيه أدنى فكرة عن أهميته. ونظرًا لأنه كان واضحًا أنه ليس بروتينًا، وعُثِر عليه في نواة الخلية، فقد أطلق عليه النيوكلين. في أوائل القرن العشرين، عُزِلَ نوعَان من «النيوكلين»، يُعرفان في الوقت الحاضر بالحمض النووي الريبي المنقوص الأكسجين (ويعرف اختصارًا بالحمض النووي، أو DNA) والحمض النووي الريبي (ويعرف اختصارًا بـ RNA)، ولكن في البداية لم تكن الاختلافات بينهما واضحة. وقد سُمِّيا وفقًا لمصدرهما؛ إذ أُطلِق على الحمض النووي الريبي اسم «نيوكلين الخميرة»، وأُطلِق على الحمض النووي اسم «حمض البنكرياس النووي».

في ذلك الوقت، لم يكن النيوكلين يُعتبر مرشحًا مناسبًا كي يكون المادة الوراثية محلَّ البحث، وتم تجاهُله، إلى حدٍّ كبير، عدة عقود. ولكون البروتينات أكثر تعقيدًا، اعتُبِر أنها هي التي تحمل الشفرة الجينية. بعد مرور ما يقرب من تسعين عامًا على اكتشاف ميشر، نجح جيمس واطسون وفرانسيس كريك في عام ١٩٥٣ أخيرًا في حَسْم هوية المادة، وتوصَّلا إلى أنها الحمض النووي مع اكتشافهما لِبنيتِه اللولبية المزدوجة.

على الرغم من أن اكتشاف ميشر للحمض النووي كان الأساس لسلسلة الأدلة التي أدَّت إلى اكتشاف واطسون وكريك الخطير، وإدراك سيدني برينر لأهميته الجوهرية، فقد هُمِّشَ الحمض النووي إلى حدٍّ كبير لسنواتٍ عديدة. فلم يتمَّ تحليله للكشف عن

مكوناته الكيميائية حتى عام ١٩١٩، ولا سيما على يد العالم فيبوس ليفين. اكتشف ليفين أن الحمض النووي يتكوَّن من وحدات تُسمى النوكليوتيدات، وأن كل نوكليوتيد يتكون من ثلاثة مكونات: مجموعة الفوسفات، وسكر ريبوز منقوص خماسي الكربون (ديوكسي ريبوز)، وقاعدة نيتروجين واحدة. تنقسِم قواعد النيتروجين هذه إلى نوعَين: البيورينات والبيريميدينات. البيورينات هي الأدينين (A) والجوانين (G)، أما البيريميدينات فهي السيتوسين (C) والثايمين (T). يرتبط كل نوكليوتيد بما يليه من خلال مجموعة فوسفات؛ ومن ثمَّ يتكون جُزَيء الحمض النووي من سلسلة من النوكليوتيدات يتكون عمودها الفقري من السكر والفوسفات. ويكون جزيءُ الحمض النووي ملفوفًا بإحكامٍ ومغلفًا داخل الكروموسومات. وتختلف الكروموسومات في الحجم من أكبر كروموسوم بشري، والمعروف باسم الكروموسوم ١ ذي الحمض النووي الذي يصل طوله إلى ٨٫٥ سنتيمترات إلى أصغر كروموسوم بشري، وهو كروموسوم ٢١ الذي يبلغ طول حمضه النووي نحو ١٫٥ سنتيمتر.

على الرغم من أن اكتشاف واطسون وكريك في عام ١٩٥٣ قد أشاد به البعض مثل برينر باعتباره البداية لعلم الأحياء الجزيئي، فإن البحث المنهجي عن الأساس الجزيئي للحياة قد بدأ جدِّيًّا في الثلاثينيات، مع ظهور تقنيات جديدة للتحليل والفصل. ويُنسَب أول استخدام لمصطلح «علم الأحياء الجزيئي» إلى وارن ويفر، الذي كان آنذاك مديرًا لقسم العلوم الطبيعية في مؤسسة روكفلر، والذي قدم المصطلح لأول مرة في عام ١٩٣٨. كان علماء الكيمياء الحيوية يسعون إلى فهم كيمياء الوظائف البيولوجية؛ لذا مهَّدوا الطريق لاكتشاف تقنيات الفصل لعزل الجزيئات المعنية. كذلك طُوِّرت طرق لإحداث اضطرابٍ خفيفٍ في الخلايا بغرَض تحرير العُضيات مثل النُّوي والميتوكوندريا. وعلى أثر ذلك أمكن بعد ذلك فصل المكونات الجزيئية لهذه العضيات باستخدام تقنياتٍ تستفيد من الفروق في شحنة الجزيئات أو حجمها. عُزِلَت مُركبات جديدة وتم تحديد تركيبتها ووظيفتها. وجاء في مقدمة الجزيئات البيولوجية التي خضعت للدراسة، البوليمرات الثلاثة الرئيسة للحياة: الحمض النووي، والحمض النووي الريبي، والبروتين. ولكن كيف تنتقِل المعلومات الجينية فيما بينها؟ كان لا بد من انتظار الإجابة حتى ستينيات القرن الماضي.

جاءت الخطوة المهمة التالية نحو حلِّ اللُّغز في الأربعينيات من خلال العمل البحثي لكلٍّ من أوزوالد أفيري وكولين ماكليود وماكلين مكارثي بمعهد روكفلر بنيويورك. فقد بَيَّنوا أن الحمض النووي، وليس البروتين، هو الذي يمكن أن ينقل عوامل الضراوة في

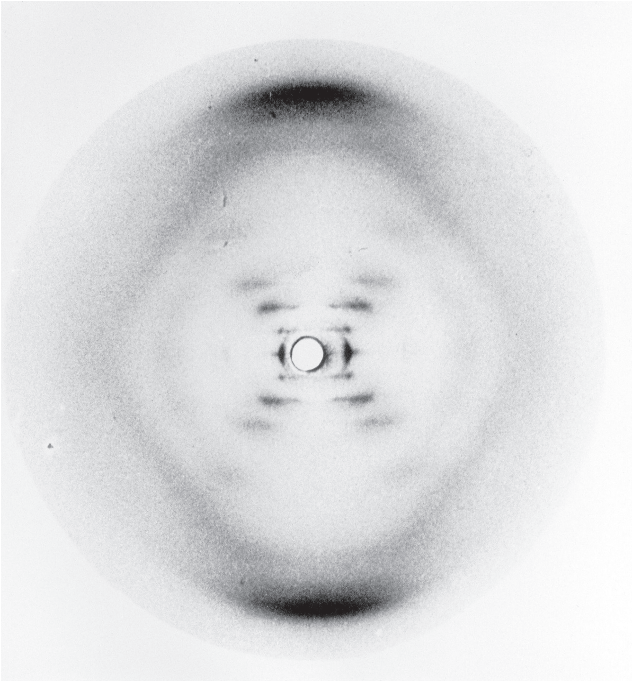
البكتيريا، وهذا ما دفعهم إلى اقتراح الحمض النووي باعتباره الجزيء القابل للانتقال وراثيًّا. غير أنه في ذلك الوقت كان المجتمع العلمي على وجه العموم لا يزال بحاجةٍ إلى الإقناع. فقد كان البعض مُترددًا في التخلي عن فكرة أن البروتينات فقط هي التي تمتاز بالتعقيد الكافي لحمل الشفرة الوراثية. في عام ١٩٥٢، أظهر ألفريد هيرشي ومارثا تشيس — اللذان كانا يعملان على دراسة الفيروسات التي تُعرَف باسم العاثيات، والتي تهاجم البكتيريا — أن الحمض النووي للفيروس هو الوحيد الذي يدخل إلى البكتيريا ويُشَفَّر للحصول على سلالة فيروسية جديدة. وخَلُصا إلى أن الشفرة الوراثية كانت في الحمض النووي وليس البروتين. وصار الميل لاعتبار الحمض النووي هو الجزيء الناقل للمعلومات الجينية في ازدياد. فالحمض النووي، في النهاية، يكمُن في نواة الخلية، والنواة هي وجه المساهمة الأساسي للحيوانات المنوية الذكرية في البويضة المخصَّبة.

ولكن ظلَّت هناك بعض الشكوك القوية حول قدرة الحمض النووي على حمل المعلومات الجينية. فلم يتسنَّ لأحدٍ أن يفهم كيف يمكن للحمض النووي أن يُوفر الوظائف اللازمة لدقَّة التكاثُر، والتعقيد الكافي لتشفير البروتينات. وفي عام ١٩٥٠، قدَّم إروين تشارجاف — عالم الكيمياء الحيوية النمساوي الذي انتقل إلى الولايات المتحدة في عام ١٩٣٥ هربًا من السياسات النازية في ألمانيا — دليلًا من شأنه أن يكون حاسمًا. وجد تشارجاف أنه بغضِّ النظر عن المصدر، فإن جُزيء الحمض النووي يحتوي دائمًا على كميةٍ من الأدينين مساوية للثايمين، وأيضًا كمية من السيتوسين مساوية دائمًا للجوانين. تنص قاعدة تشارجاف على أن البيورينات (A+G) — وهي القواعد الأكبر للحمض النووي — تُوجَد بنسبة ١:١ مع القواعد الأصغر التي تُسمَّى البيريميدينات (C+T)، بغض النظر عن نوع الكائن الحي. غير أن الكميات النسبية من الأدينين والسيتوسين والجوانين والثايمين تتباين بين الأفراد وبين الأنواع المختلفة، وهو الأمر الذي سيكون بالضرورة السمةَ المميزة للمادة الجينية. وقد مثَّلت قواعد تشارجاف الأساس الذي بَنى عليه كلٌّ من واطسون وكريك نموذجهما للحمض النووي المزدوج القاعدة، بالرغم من أن تشارجاف نفسَه لم يكن يُدرك أهمية النتائج التي توصَّل إليها.

من الحمض النووي إلى المبدأ الأساسي لعلم الأحياء الجزيئي

أصبح المشهد مُهيَّأً في ذلك الوقت لكَشْف بنية الحمض النووي ولإظهارِ كيفية تأديته جميع الوظائف المتوقَّعة من المادة الجينية. في عام ١٩٥١، بدأ جيمس واطسون وفرانسيس

كريك العمل على بنية الحمض النووي. بحلول هذا الوقت، كانت هناك أدلةٌ قوية على أن الحمض النووي هو المادة القابلة للانتقال وراثيًّا، ولكن بدون فَهْم بِنيته، لم يتمكن العلماء من التأكُّد مِن الكيفية التي يعمل بها فعليًّا. يجب أن يكون للمادة القابلة للوراثة عدة خصائص؛ أولها، التكرار الصحيح في الانقسام الخلوي؛ والقدرة على الاحتفاظ بشفرة صُنع البروتينات؛ والاستقرار، بحيث تنتقل الأوامر البيولوجية بدقَّة من جيلٍ إلى آخر. لذلك يجب أن تُوفِّر بنية الحمض النووي تفسيرًا لهذه الوظائف المعروفة، مع وضع جميع البيانات الكيميائية المعروفة في ذلك الوقت في الاعتبار. وقد أظهر التصوير بالأشعة السينية للصورة ٥١ الشهيرة لروزاليند فرانكلين نمطَ حيودٍ على شكل حرف X، مُتسقًا مع تركيبٍ حلزوني لجزيء الحمض النووي (انظر شكل ١-٢).

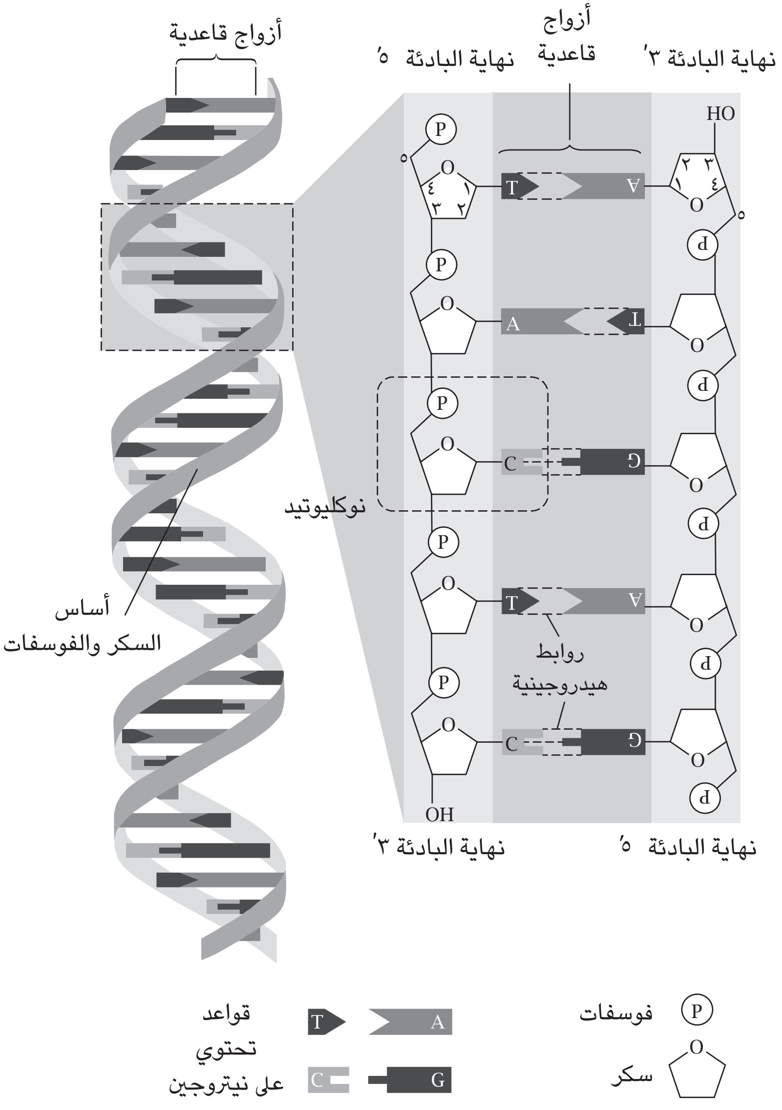


شكل ١-٢: الصورة ٥١ تظهر نمط حيود الأشعة السينية للحمض النووي المزدوج الشريط والذي يُشير إلى طبيعته اللولبية.

كان التساوي الدائم بين نِسَب الأدينين إلى الثايمين ونِسَب السيتوسين إلى الجوانين، التي وضعها تشارجاف، لُغزًا في البداية، ولكن استخدام هذه المعلومات في بناء نموذجهما مهَّد الطريق لتفسير واطسون وكريك لبنية الحمض النووي حيث يلتف شريطان بعضهما حول بعض لتكوين شكلٍ لولبي مُزدوج. وضع نموذج واطسون وكريك القواعد داخل اللولب المزدوج للحمض النووي، بينما وضع مجموعات السكر والفوسفات خارجه؛ ويتَّصِل شريطا الحمض النووي بروابط هيدروجينية ضعيفة بين القواعد التي تقترن في أزواجٍ وفقًا لقواعد تشارجاف. يُعَد شريطا جزيء الحمض النووي مُتكامِلَين في التسلسل؛ أي إن القاعدة A دائمًا ما تقترن بالقاعدة T، والقاعدة C تقترن بالقاعدة G. والشريطان في اللولب المزدوج للحمض النووي مُتضادَّا التوازي؛ أي يمتدَّان في اتجاهَين مُتعاكسَين. فيمتد أحد الشريطين في اتجاه البادئة ٥′ إلى البادئة ٣′ (تشير العلامة «′» إلى مصطلح «البادئة»)، بينما يمتد الثاني في اتجاه البادئة ٣′ إلى البادئة ٥′. يشير مصطلح البادئة إلى ذرَّات الكربون في سكر البنتوز، والمُرقمة من واحد إلى خمسة. وقد نشر واطسون وكريك بنيتهما للحمض النووي في عام ١٩٥٣ (انظر شكل ١-٣).

بمجرد فَهم البنية اللولبية المزدوجة القواعد للحمض النووي، أصبح واضحًا أنه مصدر المادة الوراثية؛ وذلك من خلال حمله الشفرة الجينية وحفاظه عليها. يجب أن تكون المادة الوراثية أيضًا قادرةً على التكرار الصحيح في كل مرة تنقسِم فيها الخلية. وجزيء الحمض النووي مثالي لذلك. فهو ينسخ نفسه من خلال فصل شريطَيْه مَتبوعًا بنَسْخ كل منهما بالضبط عن طريق اقتران القواعد، لإنتاج جزيئَين متطابقَين من الحمض النووي.

تركزت الجهود بعد ذلك على الكيفية التي تُترجَم بها التعليمات التي يحملها الحمض النووي إلى مجموعة الأحماض الأمينية العشرين المختلفة التي تتكوَّن منها البروتينات. اقترح الفيزيائي الروسي المولِد جورج جاموف أن المعلومات التي تحملها القواعد الأربع للحمض النووي (A, T, C, G) يجب أن تُقرأ كمجموعةٍ ثلاثية من النوكليوتيدات تُسمَّى الكودونات. يتألف كل كودون من ثلاثة نوكليوتيدات، ويصنع شفرة حمض أميني واحد، أو يصنع إشارة «بدء» أو «توقُّف». تُعرَف هذه المعلومات التي تُحدد التركيب الكيميائي الحيوي للكائن الحي، ب «الشفرة الجينية». ويعني التشفير القائم على ثلاثة نوكليوتيدات أن هناك ٦٤ مجموعة محتملة تتكوَّن كل واحدةٍ منها من ثلاثة أحرف. ولكن لا يُوجَد سوى عشرين حمضًا أمينيًّا مُتَّفقٍ عليهم عالميًّا. لذا تُوصَف الشفرة الجينية بأنها متكررة؛ إذ يمكن تشفير بعض الأحماض الأمينية بأكثر من كودون واحد.

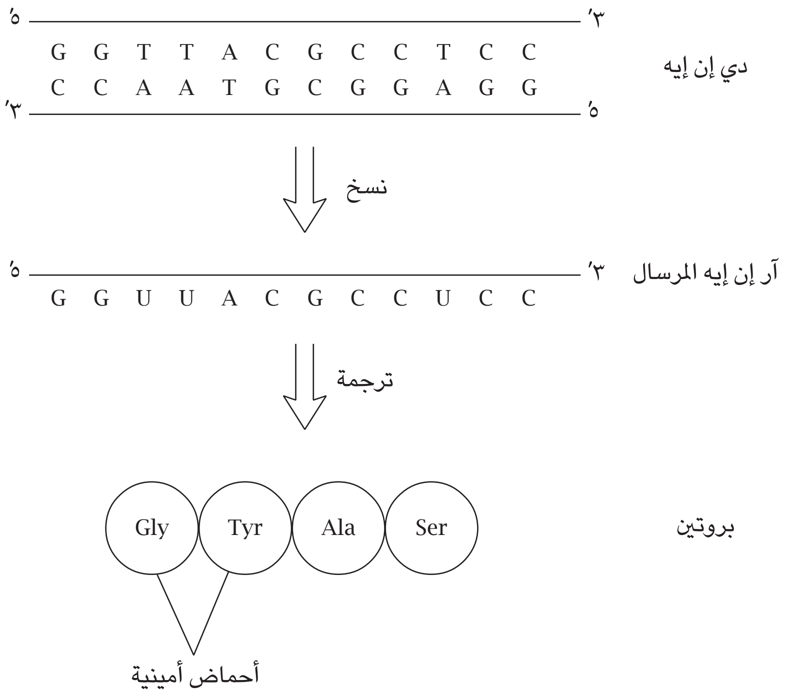


شكل ١-٣: الشكل اللولبي المزدوَج للحمض النووي ذي الأساس من السكر والفوسفات المثبت في لولب مزدوج عن طريق اقتران القواعد. مبين في الشكل مواضع ذرات الكربون الخمس على أول جزيئين من سكر الديوكسي ريبوز.

في أوائل الستينيات حدَّد كلٌّ من سيدني برينر وفرانسوا جيكوب وماثيو ميسيلسون آلية التعبير الجيني التي يُحوِّل بموجبها الحمض النووي معلوماته إلى بروتينات. واقترحوا وجود رابط أو مرسال من الحمض النووي الريبي، بين الحمض النووي المنقوص الأكسجين للنواة وآلية تخليق البروتين في السيتوبلازم. وقد أثبتوا وجود الحمض النووي الريبي المرسال من خلال دراسة فيروس يصيب نوعًا من أنواع البكتيريا. يَصنع الفيروس حمضًا نوويًّا ريبيًّا من جينومه الذي يرتبط بمصانع تخليق البروتين لدى الكائن المضيف لإنتاج البروتين الفيروسي. يجب أن يكون الحمض النووي الريبي «الوسيط» هو الجزيء الذي يحمل الشفرة من الحمض النووي إلى موقع تخليق البروتين.

اقترح فرانسيس كريك في عام ١٩٥٨ أن المعلومات تتدفق في اتجاه واحد فقط: من الحمض النووي إلى الحمض النووي الريبي ثم إلى البروتين. وقد سُمي هذا «المبدأ الأساسي لعلم الأحياء الجزيئي» ويصف كيفية نسخ الحمض النووي إلى آر إن إيه، الذي يعمل بعد ذلك كرسولٍ يحمل المعلومات المراد ترجمَتُها إلى بروتينات. ومن ثم، يتحرك تدفق المعلومات من الحمض النووي إلى الحمض النووي الريبي ثم إلى البروتينات، ولا يمكن أبدًا أن تنتقل المعلومات مرةً أخرى من البروتين إلى الحمض النووي. يمكن نَسْخ الحمض النووي إلى المزيد من الحمض النووي (النَّسْخ المتماثل) أو إلى الحمض النووي الريبي (النسخ)، ولكن المعلومات الموجودة في الحمض النووي الريبي المرسال فقط هي ما يمكن ترجمتها إلى بروتين (انظر شكل ١-٤). عندما اكتشف سيدني برينر في عام ١٩٦١ الحمض النووي الريبي المرسال، صار «المبدأ الأساسي لعلم الأحياء الجزيئي» الذي وضعه كريك، الذي ينصُّ على انتقال المعلومات في اتجاهٍ واحد فقط من الحمض النووي إلى الآر إن إيه المرسال ثم إلى البروتين مبدأً قطعيًّا مُتفقًا عليه. غير أن كريك لم يستبعد تدفق المعلومات من الحمض النووي الريبي إلى الحمض النووي، ولكنه استبعد فقط تدفقها من البروتين إلى الحمض النووي.

على الرغم من أن علم الأحياء الجزيئي لم يكن قد ظهر بعد في عام ١٩٥٣ مع اكتشاف واطسون وكريك لبنية الحمض النووي، فإن توضيح ماهيته زوَّد اختصاصيِّي علم الأحياء الجزيئي بالأدوات والتقنيات التي دفعت العلم إلى الأمام. فكل المعلومات المطلوبة لتكوين إنسانٍ موجودة في خلية واحدة. وتقوم الجزيئات المكونة لهذه البويضة المخصَّبة بتنظيم النمو، وتحافظ على الحياة، وتسمح بالتكاثر، وفي النهاية تُنفذ عملية فناء الفرد. علم الأحياء الجزيئي هو علم دراسة الطريقة التي تعمل بها الجزيئات لتنظيم الحياة. ومن اللافت



شكل ١-٤: التعبير الجيني: يُنْسَخ الحمض النووي إلى الحمض النووي الريبي أولًا. وبعد ذلك يترجم الحمض النووي الريبي إلى بروتين.

للنظر أن الجزيئات والمبادئ نفسها تكمُن في لُب كلِّ علوم الحياة؛ وهذا لأنها تتحكم في الآلية الأساسية لعمل الخلايا. يُعنى مجال البيولوجيا الجزيئية بالجزيئات الكبيرة؛ مثل الأحماض النووية والبروتينات والكربوهيدرات والدهون وعلاقاتها المتداخِلة الضرورية للحياة نفسها. وقد أتمَمْنا في هذا الفصل الجزء الأول من رحلتنا في علم الأحياء الجزيئي، فتناولنا تطور الأفكار والتقنيات التي أدَّت إلى الاكتشاف المحوري لبنية الحمض النووي. مهَّد هذا الاكتشاف الرائد الطريق لنقلةٍ نوعية في مجال علم الأحياء الجزيئي.

الفصل الثاني

الحمض النووي

بعد اكتشاف بنية الحمض النووي (الحمض النووي)، كانت نقطة التحول الأخرى المهمة في علم الأحياء الجزيئي هي نشر التسلسل الكامل للجينوم البشري في عام ٢٠٠٣. والجينوم هو الحمض النووي الكامل الذي تَحويه الكروموسومات الستة والأربعين الموجودة في نواة كل خليةٍ جسدية من خلايا الجسم البشري. كان مشروع الجينوم البشري، الذي أُطْلِقَ في عام ١٩٩٠، بمثابة مشروع تعاونٍ دولي شمل عشرين دولة، وقد يُصنَّف واحدًا من أكبر التجارب البيولوجية التي أُجرِيَت. كان الهدف من المشروع هو تحديد الترتيب الدقيق لقواعد الأدينين، والثايمين، والجوانين والسيتوسين (A وT وG وC) المُكَوِّنَة للجينوم الكامل عن طريق التسلسُل. وقد تولى المركز الوطني لأبحاث الجينوم البشري في الولايات المتحدة تنسيق المشروع، وترأَّسه جيمس واطسون، الذي شارك في اكتشاف بِنية الحمض النووي. قبل انطلاق المشروع، كان المتاح هو خريطة مُنخفضة الدقة للكروموسومات البشرية تُحدد مَوضع جيناتٍ مُعيَّنة على هذه الكروموسومات. غير أن هذه المعلومات كانت منقوصة وغير دقيقة تمامًا. وكانت عملية التسلسل بأكملها تستغرق وقتًا طويلًا ومُكلفة للغاية، ولكنها مكَّنت العلماء من وضع خريطةٍ مُفصَّلة ودقيقة لموقع الجينات على الكروموسومات البشرية. فقد حدَّدت العديد من الجينات التي لم تخضع للدراسة من قبل، وقدَّمَت مصدرًا أساسيًّا لإجراء المزيد من الأبحاث. تزامن نشر التسلسل الكامل مع الذكرى الخمسين لاكتشاف واطسون وكريك البنية اللولبية للحمض النووي وسط احتفاءٍ كبير. وبعد فترةٍ وجيزة، أُطْلِقَ المزيد من المشروعات البحثية في جميع أنحاء العالم لتحديد الوظائف الفعلية لهذه الجينات ولمناطق أُخرى من الجينوم.

مُكونات الجينوم البشري

يتكون الجينوم البشري الكامل من أكثر من ثلاثة مليارات قاعدة ويحتوي على ما يقرب من ٢٠ ألف جين مسئول عن تشفير البروتينات. هذا أقلُّ بكثير من التقديرات السابقة التي تراوحت بين ٨٠ و١٤٠ ألف جين، وهو ما أذهل المجتمع العلمي عندما اكْتُشِفَ من خلال تسلسل الجينوم البشري. ومن المُثير للدهشة أيضًا اكتشاف أن جينومات كائنات أبسطَ بكثيرٍ جرى الحصول على تسلسلها في نفس الوقت، تحتوي على عددٍ أكبر من جينات تشفير البروتين مقارنة بالبشر. على سبيل المثال، يحتوي نبات الخردل (تحديدًا نبات رشاد أُذن الفأر)، الذي استُخدِم نموذجًا لدراسة علم الوراثة النباتية، على جينوم يبلُغ حجمه ١٢٥ مليون قاعدة، ولكنه يحتوي على عدد جينات تشفير البروتين نفسه التي يحتوي عليها جينوم الإنسان. وقد بات واضحًا الآن أن حجم الجينوم لا يتوافق مع عدد جينات تشفير البروتين، وأن هذه الجينات لا تُحدِّد مدى تعقيد الكائن الحي.

يمكن اعتبار جينات تشفير البروتين «وحدات نسخ». تتكون هذه الجينات من تسلسُلات تُسمَّى الإكسونات — وهي المسئولة عن تشفير الأحماض الأمينية — يفصلها تسلسلات غير مُشفرة تُسمَّى الإنترونات. يرتبط بهذه التسلسُلات تسلسُلات أخرى إضافية تُسمَّى المحفِّزات والمعزِّزات، تتحكَّم في التعبير عن هذا الجين. يمكن أن يكون تشفير الجينات لبروتينات مُعيَّنة عبارة عن نسخةٍ واحدة، بحيث لا تظهر سوى مرة واحدة فقط في الجينوم، أو يمكن تمثيلها عدة مرات (جينات ذات نُسَخ متعددة). ثمة تعقيد إضافي يتمثل في أن الجينات يمكن أن تُوجَد كعائلات، بحيث يكون كل جين في العائلة مسئولًا عن تشفير بروتينات متشابهة ولكن غير متطابقة. يمكن أن تختلف العائلات الجينية في الحجم؛ إذ تتراوح بين مائتين وعدة مئات، ويمكن أن تكون محصورةً في كروموسومٍ واحد، أو موزعة على عدد من الكروموسومات المختلفة. ونظرًا لوجود نُسختَين من كل كروموسوم في نواة كل خلية، مجموعة (٢٣ جينًا) مأخوذة من الأم وأخرى (٢٣ جينًا) مأخوذة من الأب، فإن هناك نُسختَين أو أليلَين من كل جين. يُستثنى من ذلك زوج الكروموسوم XY في الذكور. فنظرًا لأن الرجال لديهم كروموسوم X واحد فقط، فهذا يعني أن لديهم نُسخة واحدة فقط من الجينات الموجودة على الكروموسوم X.

بعض مناطق الجينوم البشري مسئولة عن تشفير جزيئات الحمض النووي الريبي العاجزة عن إنتاج البروتينات. ويُشارك عدد من جزيئات الحمض النووي الريبي هذه في آلية تخليق البروتين، ولكن بات واضحًا الآن أن العديد منها يلعب دورًا في التحكم في

التعبير الجيني. وعلى الرغم من أهمية البروتينات، فإن أقل من ١٫٥ في المائة من الجينوم يتكون من تسلسُلات الإكسون. وتُشير تقديرات حديثة إلى أن حوالي ٨٠ في المائة من الجينوم يُنسَخ أو يدخل في وظائف تنظيمية، بينما يتكون الجزء الباقي في الأساس من تسلسُلات متكررة.

أحد أشكال الحمض النووي المتكرر، الحمض النووي التابع، وهو عبارة عن تسلسُل قصير يتكرر عدة آلاف من المرات بالترادف، وعادة ما يتركز في المنطقة الوسطى من الكروموسومات (السنتروميرات). لم تُكتشَف وظيفة هذه التسلسلات بعد، ولكن قد يكون أحد الأدوار التي تَلعبها إتاحةَ الفصل الصحيح للكروموسومات أثناء عملية انقسام الخلية. النوع الثاني من الحمض النووي المتكرر هو تسلسُل التيلومير. وهي عبارة عن تكرارات ترادُفية لتسلسلٍ سُداسي النوكليوتيد TTAGGG الموجود في نهايات الكروموسومات الخطية. ويتمثل دورها في منع تقصير الكروموسومات أثناء تكرار الحمض النووي، ويرتبِط فقدان التيلومير بالشيخوخة ومرض السرطان.

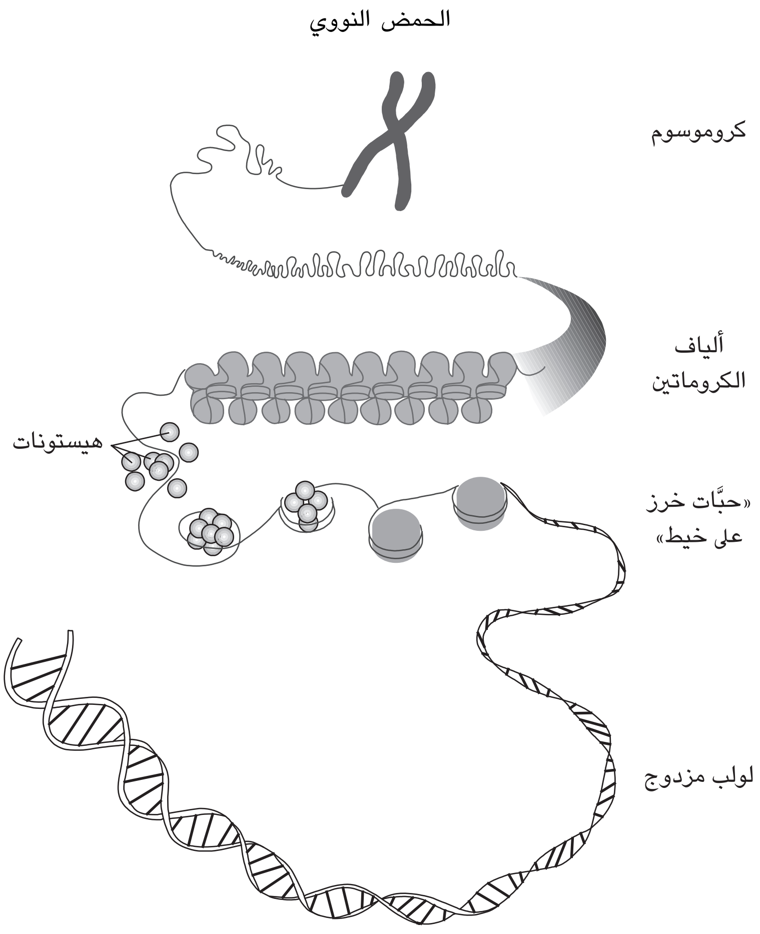
يمكن أيضًا العثور على التسلسلات المتكررة موزعةً أو منتشرة عبر جميع أنحاء الجينوم. فهذه التكرارات تمتلك القدرة على التحرك عبر الجينوم ويُشار إليها بالحمض النووي القافز أو القابل للنقل. أما التسلسُلات الأكثر وفرة، فهي العناصر النووية الطويلة المنتشرة (LINEs)، والعناصر النووية القصيرة المنتشرة (SINEs). يمكن للعناصر القافزة القفز من موقعٍ إلى آخر، أو يُمكنها صنع نسخةٍ تنتقل إلى موقع جديد، تاركةً الأصل وراءها. كما أنها قادرة على الانتقال إلى مواقع مختلفة من خلال الاندماج مع تكرارات التسلسل نفسه في موقع آخر في الجينوم، مصطحبة معها التسلسلات المتداخلة. يمكن أن تكون هذه الحركات ضارةً في بعض الأحيان؛ إذ يمكن أن تتعطل التسلسلات الجينية مُسبِّبةً الإصابة بالأمراض. على سبيل المثال، من أسباب مرض الحثل العضلي الدوشيني ولوج العنصر النووي الطويل ١ (LINE 1) داخل جين الديستروفين. فهذا بدَوره يؤدي إلى فقدان بروتين الديستروفين العضلي الذي يؤدي وظائفه كاملة، ويؤدي إلى ضعف العضلات المتقدِّم الذي لُوحِظ في هؤلاء المرضى. والغالبية العظمى من التسلسُلات القابلة للنقل لم تعُد قادرة على التنقُّل وتُعتبَر «صامتة». غير أن هذه الحركات ساهمت، على مدار الزمن التطوري، في تنظيم الجينوم وتطوره، من خلال خلق جيناتٍ جديدة أو معدَّلة تؤدي إلى إنتاج بروتينات ذات وظائف جديدة. ومن الأمثلة الجيدة على ذلك تكوين العائلات الجينية.

تنظيم الجينوم البشري

يختلف الطول الإجمالي للحمض النووي في كل خلية حسب نوع الكائن الحي، ولكن يمكن أن يصل طوله إلى عدة أمتار. على سبيل المثال، يبلغ طول جزيء الحمض النووي في كل خليةٍ بشرية نحو مترَين. لا بد من تغليف هذا الجزيء الخطي بحيث يمكن أن يتناسب مع حجم نواة الخلية التي يقلُّ قُطرها بنحو مليون مرة (٦ ميكرون). ولتحقيق ذلك، يُغَلَّف الحمض النووي على عدة مستويات. في المستوى الأول، يرتبط الحمض النووي الخطي ببروتينات تُسمَّى الهيستونات لتكوين بُنًى تُسمَّى النيوكليوسومات (الجسيمات النووية). يتكوَّن كل نيوكليوسوم من ١٤٦ زوجًا من قواعد الحمض النووي ملفوفة حول ثمانية جزيئات من بروتين الهيستون، ويفصل بين كل نيوكليوسوم والآخر رابط حمض نووي قصير. تظهر هذه النيوكليوسومات على هيئة بنيةٍ تُشبه «حبَّات خرز على خيط». تُطوى هذه السلسلة من النيوكليوسومات لتُنتِج نوعًا من الألياف، ينضغِط بعد ذلك مُتحولًا إلى مجموعةٍ من الحلقات الكبيرة. ثم تلتفُّ هذه الحلقات لتُنتِج الكروموسوم. ويُطلَق على هذه البنية البالغة التنظيم المؤلَّفة من الحمض النووي والبروتين، التي تُشكِّل الكروموسومات حقيقية النواة، الكروماتين (انظر شكل ٢-١).

وتغليف الكروماتين ليس مُوحَّدًا عبر الكروموسومات. فبعض المناطق تكون أقل انضغاطًا من غيرها. يرتبط الكروماتين السائب، الذي يُطلَق عليه الكروماتين الحقيقي، بمناطق الحمض النووي التي تتضاعف، أو بالجينات التي تُنْسَخ. بينما تسمح البنية الأكثر انفتاحًا للإنزيمات المشاركة في هذه العمليات بالوصول إلى مناطق الكروموسومات. على العكس من ذلك، يرتبط الكروماتين المضغوط، الذي يُسمَّى الكروماتين المغاير، بمناطق الحمض النووي التي لا تتضاعف أو غير النشطة النسخ.

لا يُغَلَّف كل الحمض النووي داخل النواة. ففي البشر، تُوجَد كمية صغيرة منه أيضًا في الميتوكوندريا، وتعرف باسم الحمض النووي للميتوكوندريا. والميتوكوندريا هي عبارة عن بُنًى داخل الخلايا تُحوِّل الطاقة المختزنة في الطعام إلى شكلٍ يمكن للخلايا استخدامه كطاقةٍ لتنفيذ عملياتها. يتكوَّن الحمض النووي للميتوكوندريا من نحو ١٦٥٠٠ زوج قاعدي، وهو مسئول عن تشفير ٣٧ جينًا تدخل نواتجها البروتينية في إنتاج الطاقة. يُستخدَم الحمض النووي للميتوكوندريا في تتبُّع النَّسَب؛ نظرًا لأنه ينتقل من الأم إلى الأبناء؛ إذ يتشارك الأقارب من نفس سلالة الأم الحمض النووي للميتوكوندريا نفسه.



شكل ٢-١: يُغَلَّف الحمض النووي مع بروتينات الهيستون لتشكيل البنية المضغوطة للكروماتين.

كذلك يُستخدَم الحمض النووي للميتوكوندريا كأداةٍ لتحديد البصمة الوراثية في علم الطب الشرعي.

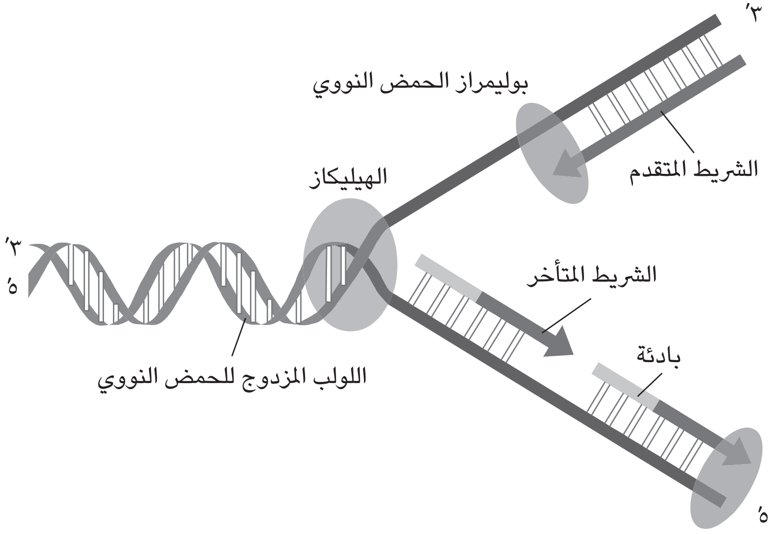
تناسُخ الحمض النووي

من أهم خواص الحمض النووي قُدرته على صنع نسخةٍ دقيقة من نفسه. وهذا أمر ضروري؛ لأن الخلايا تموت أثناء عملية التآكُل الطبيعي للأنسجة من كثرة الاستخدام؛

ومن ثم تحتاج إلى تجديد. تتجدَّد الخلايا من خلال دورة الانقسام الخلوي، التي تقوم خلالها الخلية بنسخ حمضها النووي لتُنتج نسختَين متطابقتَين تنفصلان بعد ذلك إلى خليتَين بنويَّتَين.

أثناء عملية التناسُخ أو التضاعف، يتحلَّل أولًا اللولب المزدوج للحمض النووي من النيوكليوسومات، وينفصل الشريطان فتنكشِف القواعد غير المتزاوجة. تجري عملية الحل هذه بواسطة بروتين يُسمَّى الهيليكاز وتحدُث في مواقع تُسمَّى منشأ التناسُخ. بعد ذلك، يعمل كل شريطٍ مكشوف كقالبٍ لتخليق الحمض النووي الجديد. يُنفَّذ هذا التفاعُل بواسطة مجموعةٍ من الإنزيمات تُسمَّى بإنزيمات بلمرة الحمض النووي (البوليمراز). لبدء عملية التخليق، يتطلَّب بوليمراز الحمض النووي بادئة قصيرة من الحمض النووي الريبي تتكوَّن من نحو عشرة نوكليوتيدات. تُضاف النوكليوتيدات الحرة إلى نهاية هذه البادئة المناظِرة للشريط المكشوف، الذي يعمل كقالب، عن طريق التزاوُج القاعدي التكميلي. يمكن لبوليمراز الحمض النووي أن يمدَّ سلسلة النوكليوتيد في اتجاهٍ واحد فقط، من البادئة ٥′ إلى ٣′، وهكذا يُصنَّع شريطا الحمض النووي المُتضادَّا التوازي على نحوٍ مختلف قليلًا. يُخَلَّق الشريط الأول، وهو الشريط المتقدِّم، على هيئة قطعةٍ متصلة من الحمض النووي باستخدام بادئة واحدة من الحمض النووي الريبي. بينما يَستخدِم الشريط الثاني، وهو الشريط المتأخر، عدةَ بادئاتٍ من الحمض النووي الريبي ويُخَلَّق على هيئة قِطَع قصيرة تُسمَّى بقطع أوكازاكي نِسبةً إلى مُكتشِفها، العالم الياباني ريجي أوكازاكي (انظر شكل ٢-٢). بمجرد اكتمال التناسُخ، تُزال بادئات الحمض النووي الريبي، وتمتلئ الفجوات ببوليمراز الحمض النووي، وتلتحِم أي قطع صغيرة معًا بواسطة إنزيم ليجاز الحمض النووي (إنزيم ربط الحمض النووي). بعد ذلك، يُضْغَط الحمض النووي ويلتفُّ مرة أخرى مُشكِّلًا البنيةَ اللولبية المزدوجة للحمض النووي.

في نهاية عملية التناسُخ، يحتوي كل جزيءٍ من الحمض النووي على شريطٍ واحد من الحمض النووي يعمل كقالبٍ وآخر حديث التخليق. وتعرف هذه العملية بالتناسُخ شبه المحافظ؛ إذ يُحْفَظ نصف جزيء الحمض النووي الأصلي المزدوج الشريط في كل جزيءٍ من الجزيئين البنويين. وفي نهاية العملية عند انقسام الخلايا إلى خلِيَّتَين، تحصل كل خليةٍ جديدة على نسخةٍ طبق الأصل من الحمض النووي الموجود في الخلية الأصلية.



شكل ٢-٢: يُخَلَّق الحمض النووي بواسطة إنزيم البوليمراز، بحيث يكون الشريط الأول هو الشريط المتقدم (متصلًا)، والثاني هو المتأخِّر (غير متصل).

الطفرات وآليات التصحيح

يُعَدُّ تناسخ الحمض النووي عملية دقيقة للغاية بهامش خطأ يحدث كل ١٠ آلاف إلى مليون قاعدة في الحمض النووي البشري. ويرجع هذا الهامش المنخفض إلى قيام إنزيمات بلمرة الحمض النووي بوظيفة التصحيح. فإذا أدخل نوكليوتيد غير صحيح أثناء عملية تخليق الحمض النووي، يكتشف البوليمراز الخطأ ويزيل القاعدة غير الصحيحة. بعد الإزالة، يعيد البوليمراز إدخال القاعدة الصحيحة وتستمر عملية التناسُخ. ويتم إصلاح أي أخطاءٍ لم تُصحَّح أثناء عملية التصحيح بواسطة آلية بديلة تُصْلِح عدم التطابق.

في بعض الحالات، تفشل آليات التصحيح والإصلاح في تصحيح الأخطاء. فتُصبح هذه الطفرات دائمةً بعد دورة الانقسام الخلوي التالية؛ إذ لا تعود يُتعرَّف عليها على أنها أخطاء؛ ومن ثم تُنشَر في كل مرةٍ يُنْسَخ فيها الحمض النووي. للطفرات أنواع عديدة، منها الطفرات النقطية، والتي يُستبدَل فيها نوكليوتيد واحد بآخر، وطفرات الإدراج أو الحذف، وفيها يُضاف أو يحذف نوكليوتيد واحد أو أكثر. وفي بعض الأحيان، تكون الطفرات

صامتة؛ حيث لا يحدُث تغيير في النمط الظاهري. غير أن الطفرات يمكن أن تكون مُسبِّبةً للمرض، إذا ما فَقَدَ البروتين وظيفته الطبيعية، أو اكتسب وظائف جديدةً ولكنها مُسببة للأمراض (أي وظائف ضارة). وفي كلتا الحالتَين، تتعطَّل العمليات الخلوية التي يقوم فيها البروتين بوظائفه.

ينجم مرض فَقْر الدم المِنجَلي عن طفرةٍ نقطيةٍ تحدث في التشفير الجيني لبروتين بيتا جلوبين المُكوِّن للهيموجلوبين، وهو الجزيء الحامل للأكسجين الموجود في خلايا الدم الحمراء. تؤدي الطفرة إلى استبدال حمض الفالين الأميني الكاره للماء، بحمض الجلوتاميك، وهو من الأحماض الأمينية المحبة للماء، في الموضع السادس من البيتا جلوبين. وينتُج عن ذلك بروتين ذو تركيب مُغاير يؤدي إلى تجمُّع الهيموجلوبين، مما يؤدي إلى تشويه خليةِ الدم الحمراء مُتَّخِذةً شكل مِنْجَل. لا تتدفَّق خلايا الدم الحمراء المِنْجَلية الشكل بسهولةٍ عبر مجرى الدم، ويمكن أن تسدَّ الأوعية الدموية، وهو ما يؤدي إلى تلَف الأنسجة أو الأعضاء.

يمكن أن تمنَح بعض الطفرات الكائنَ الحي ميزةً، كما لُوحِظ في مثال فقر الدم المِنجَلي. فالأفراد الذين لديهم أليل خلية مِنجلية مُتحولة واحدة بدلًا من أليلَين مُتحوِّرَين يكونون حامِلين للمرض دون أن تظهر عليهم أعراض المرض بالحدة نفسها. ويكون هؤلاء الأفراد الحاملون للمرض مُقاوِمين لتأثيرات الملاريا؛ ومن ثم فإن أليلات الخلايا المنجلية تكون أكثر شيوعًا لدى الأفراد الذين يعيشون في المناطق التي يرتفع فيها مُعدَّل الإصابة بالملاريا من العالم.

تعدُّد الأشكال

يتطابق تسلسُل الحمض النووي بين البشر بنسبة ٩٩٫٥ في المائة، أما النسبة المتبقية البالغة ٠٫٥ في المائة فهي التي تُوفر التنوُّع الذي نراه بين الأفراد. والطفرات هي إحدى الطرق التي ينشأ بها هذا التبايُن الجيني، مما يخلق أشكالًا بديلة من الحمض النووي تُسمى تعدُّد الأشكال. وأكثر أنواع هذا التعدُّد شيوعًا «تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة». في مثل هذه المواقع، تختلف جينومات الأفراد بنوكليوتيد واحد. ولكي يُصنَّف التبايُن على أنه تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة، لا بد أن يحدُث في أكثر من واحدٍ في المائة من السكَّان. وقد عُثِرَ على تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة لأول مرةٍ في عام ١٩٧٨ في مجموعة جينات البيتا جلوبين ومنذ ذلك الحين، تم تحديد ما يقرب من ١٠ ملايين أخرى. يمكن

لأشكال النوكليوتيدات المفردة أن تنشأ في مناطق الحمض النووي المشفرة أو غير المشفرة، ومعظمها ليس له تأثير على الصحة أو النمو. غير أن تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة يمكن أن يرتبط باضطراباتٍ مُعينة، يمكن استخدامها كواسمات لتحديد مناطق الجينوم التي يُوجَد فيها الجين أو الجينات المسببة لمرضٍ ما. في دراسات الترابط على النطاق الجينومي، تُقَارَن التسلسلات الجينومية لمجموعة كبيرة من الأشخاص المصابين بمرضٍ ما مع مجموعة كبيرة ثانية غير مصابة بالمرض. إذا عُثِرَ على مجموعة بعينها من تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة تتكرَّر بوتيرةٍ أكبر لدى الأشخاص المصابين بالمرض، فيُقال إنها مُرتبطة بالمرض. ويمكن بعد ذلك إجراء المزيد من التحليل لتلك المنطقة بالذات لتحديد التغير الجيني المرتبط بظهور المرض بدقة. وقد نُشِرت إحدى النجاحات المبكرة لدراسات الترابط على النطاق الجينومي في عام ٢٠٠٥. حدَّد المؤلفون تَبايُنًا في جين عامل إتش المكمل، وهو ما يمثل عامل خطورة في الإصابة بمرض الضمور البُقَعي المرتبط بالتقدُّم في العمر، وهو مرض يؤدي إلى ضعف البصر والعمى لدى كبار السن. منذ ذلك الحين، استُخدِمَت دراسات الترابط على النطاق الجينومي لتحديد التبايُنات الجينية التي تُساهِم في العديد من الأمراض بما في ذلك السرطانات ومرض ألزهايمر والسُّكَّري وأمراض القلب. يحتفظ المعهد الوطني لأبحاث الجينوم البشري والمعهد الأوروبي للمعلوماتية الحيوية بقوائم بيانات دراسات الترابُط على النطاق الجينومي المنشورة والمتاحة مَجَّانًا والتي يمكن استخدامها للبحث عن تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة المرتبطة بالأمراض أو السِّمات الشائعة.

كيف ندرُس الحمض النووي؟

لم يكن التقدُّم في أبحاث الحمض النووي مُمكنًا إلا نتيجةً لتطور تقنيات الحمض النووي في الخمسين عامًا الماضية، بما في ذلك استنساخ الجينات، وتفاعُل البوليمراز المتسلسِل، وطُرُق التسلسُل.

استنساخ الجينات

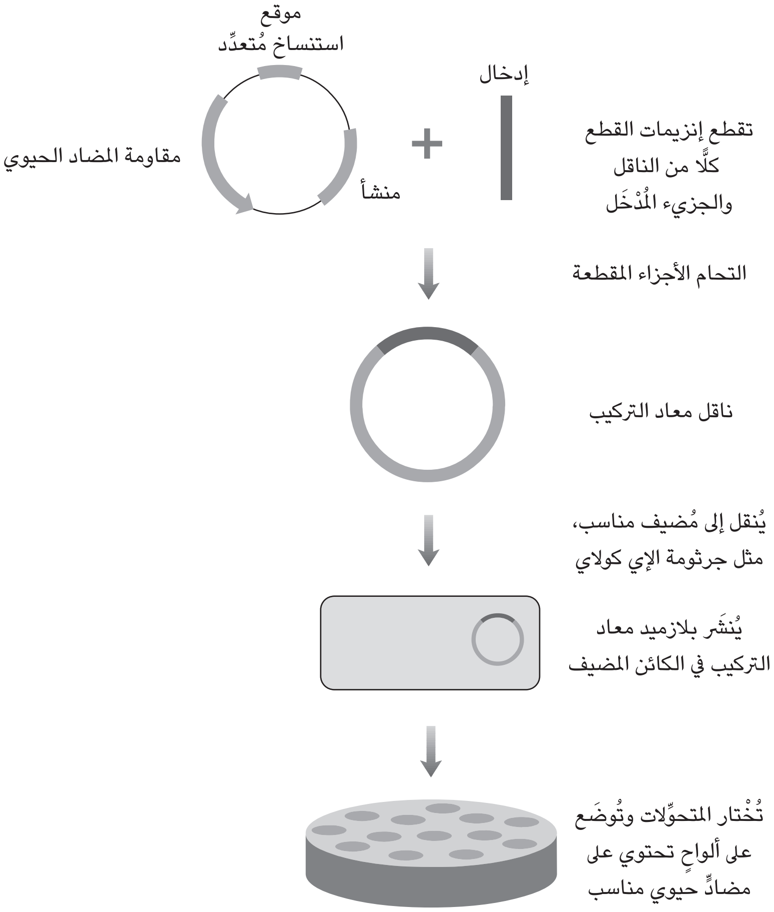
يُشير استنساخ الجينات إلى مجموعةٍ من التقنيات تُمكِّننا من عمل نُسَخ متطابقة عديدة من مناطق من الحمض النووي. ولا ينبغي الخلط بين هذا وبين عملية استنساخ كائنٍ حيٍّ

بالكامل، مثل استنساخ النعجة دوللي. ففي العملية الأخيرة، والمعروفة باسم الاستنساخ التناسُلي، تَنتُج نسخة طبق الأصل من كائنٍ حي كامل، له الحمض النووي نفسه الخاص بالحيوان الأصلي. أما في عملية استنساخ الجينات، فتُنْسَخ مناطق أصغر من الحمض النووي لتحليلها في المختبَر أو من أجل تطبيقاتٍ أخرى. تُتيح لنا هذه التقنيات عزل تسلسُلات الحمض النووي محل الاهتمام وإنتاجها بكمياتٍ كبيرة بحيث يمكن دراسة وظيفتها. كما أنها تُمكِّننا من معالجة التسلسُلات لإنتاج جزيئات ذات وظائف جديدة لاستخدامها في الطب والزراعة، وهو ما سنتناوله في الفصلَين السادس والتاسع.

الخطوة الأولى في تجارب استنساخ الجينات هي تخليق الحمض النووي المؤتلِف أو المُعاد التركيب. ويتضمَّن ذلك إدخال جزءٍ من الحمض النووي المعنِي في جزيءٍ ذاتي التناسُخ أو التضاعف يُسمَّى ناقلًا. ومن الجزيئات المستخدَمة على نطاقٍ واسع في هذا الإطار جزيء البلازميد البكتيري. هذا الجزيء عبارة عن جزيء حمضٍ نوويٍّ دائري مُزدوج الشريط، مُنفصِل ماديًّا عن الحمض النووي الصِّبغي. وهو قادرٌ على التكاثُر الذاتي لأنه يحمل منشأ تناسُخه.

لإدخال جزء الحمض النووي في الناقل، يُقْطَع كلاهما أولًا بواسطة إنزيماتٍ خاصة تُسمَّى إنزيمات القطع. تخلُق هذه الإنزيمات شقوقًا في تسلسلاتٍ بعينها في الحمض النووي بطريقةٍ تُمكِّن الجزيئات المقطوعة بالإنزيم نفسِه من الالتحام معًا باستخدام إنزيم ليجاز الحمض النووي (انظر شكل ٢-٣). لم يكن تكوين جزيئات الحمض النووي المُعاد التركيب مُتاحًا إلا بعد اكتشاف هذين الإنزيمين: ليجاز الحمض النووي، الذي اكتُشِف في عام ١٩٦٧؛ وإنزيمات القطع التي اكتُشِفت في عام ١٩٧٠. فقد تَمكَّن العلماء في تلك الفترة من قطع جزيئات الحمض النووي في مواضع مُحدَّدة وإعادة تجميع الأجزاء الناتجة في تركيباتٍ مختلفة. ولتسهيل تخليق الحمض النووي المعاد التركيب، تُصَمَّم النواقل بحيث تحمل موقع استنساخٍ مُتعدِّد. تحتوي هذه المنطقة على العديد من مواقع التعرُّف على إنزيمات القطع الموجودة على مقربةٍ شديدة بعضها من بعض. توفر مواقع الاستنساخ المتعدِّد المرونة في تجارب الاستنساخ من خلال توسيع نطاق اختيار إنزيمات القطع التي يمكن للباحثين استخدامها.

بمجرد تخليق الحمض النووي المعاد التركيب، يُنقَل إلى خليةٍ مضيفة حيث تتم عملية التناسُخ لصنع العديد من النُّسَخ المتطابقة أو المستنسَخات. وتُسمَّى الخلية التي تحمل الحمض النووي بالخلية المتحولة. يمكن أن تكون الخلايا المضيفة خلايا بكتيرية،



شكل ٢-٣: خطوات تجربة استنساخ الجينات. يرتبط الحمض النووي (الجزيء المُدخَل) بالناقل، ويتحوَّل إلى خليةٍ مضيفة ويُوضَع على مادة الأجار.

أو خلايا خميرة، أو خلايا حيوانية أو نباتية. وبصورةٍ عامة، يُؤخَذ الحمض النووي المراد استنساخُه، والذي يُطلَق عليه الحمض النووي المستهدَف أو الحمض النووي المَصدَر، من نوعٍ مختلف عن نوع الكائن المضيف؛ ومن ثم يؤدي إدخال الحمض النووي المصدَر في الكائن المضيف إلى إنتاج كائنٍ حيٍّ مُعدَّلٍ وراثيًّا.

تُدخَل جزيئات الحمض النووي المعاد التركيب في الكائن المضيف عادةً عن طريق معالجة الخلايا بالمواد الكيميائية ثم تعريضها لصدمةٍ حراريةٍ قصيرةٍ أو تيارٍ كهربي. تجعل هذه العملية الخلايا مَساميةً وتُسهِّل امتصاص الحمض النووي المعاد التركيب. ولتحديد الخلايا التي تحوَّلت، لا بدَّ من وجود نظام انتقاء. ويتحقَّق ذلك من خلال تصميم نواقلَ لحمل الجينات الواسِمة، وعادةً ما يُوجَد جين مقاوم للمضادَّات الحيوية يكون الكائن المضيف حسَّاسًا تجاهه. عند وَضْع الخلايا على ألواح الأجار التي تحتوي على المضاد الحيوي، تنمو الخلايا التي امتصَّت الناقل، بينما تموت الخلايا التي لم تمتصَّه. ومع نمو الخلايا المتحوِّلة وانقسامها، تظهر مُستعمراتٌ من الخلايا المستنسَخة على هذه الألواح.

تتطلَّب تجارب الاستنساخ تخطيطًا دقيقًا كي تنجح. وأحد العوامل المهمَّة لتحقيق ذلك اختيار ناقلٍ مناسِب ثم مطابقته مع نظامٍ مُضيف كي يقوم بوظيفته فيه. يمكن شراء النواقِل تجاريًّا، ويتوفر عددٌ كبير منها مُشتَق من مصادر بكتيرية أو فيروسية أو من الخميرة. تُصمَّم جميع النواقل بحيث تحمل ثلاث سماتٍ أساسية: موقع استنساخ مُتعدِّد يمكن إدخال جزء الحمض النووي فيه؛ ومنشأ تناسُخٍ لإتمام عملية النسخ داخل الخلية المضيفة، وجينًا وَاسِمًا لاختيار مُستنسَخ من الحمض النووي المعاد التركيب. بالنسبة لتجارب تحديد تسلسُل الجينوم البشري بأكمله، تُستخدَم نواقل تُسمَّى «الكروموسومات الاصطناعية البكتيرية»؛ لأنها تسمح باستنساخ أجزاءٍ كبيرةٍ من الحمض النووي ويمكن نشرها في الخلايا البكتيرية المضيفة. وكثيرًا ما تُستخدَم النواقل الفيروسية إذا كانت الخلية المضيفة خليةً ثديية؛ إذ يمكن إدخالها بسهولةٍ أكبر في هذه الخلايا.

الفصل الكهربي

كثيرًا ما يَستلزِم الأمر في تجارب الحمض النووي تحديدَ أجزاءٍ مُعينةٍ من الحمض النووي من مزيجٍ من أجزاءٍ عديدة. على سبيل المثال، في العديد من تجارب الاستنساخ، عند قَطْع الحمض النووي باستخدام إنزيمات القطع، تنشأ سلسلةٌ من أجزاءٍ أصغر حجمًا. يمكن فصلُ هذه الأجزاء على أساس الحجم من خلال تقنية طُوِّرت في السبعينيات تُعرف باسم الفصل الكهربي للهلام. يُوضَع مزيج الحمض النووي على هلامٍ مصنوعٍ من الأجاروز أو البولي أكريلاميد. ونظرًا لأن المواد الهلامية تكون مَسامِية، فعند تعريضِها للتيار الكهربي،

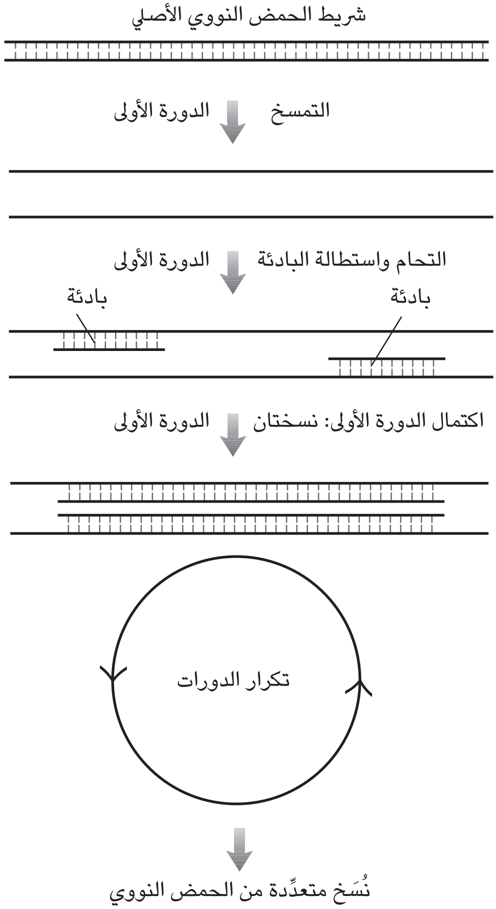
يتحرك الحمض النووي عبر الهلام، مع ملاحظة أن الجزيئات الأصغر تتحرك بسرعةٍ أكبر من الجزيئات الأكبر. بعد ذلك يُصبَغ الهلام بأصباغٍ خاصة لإظهار الحمض النووي. تظهر أجزاء الحمض النووي على هيئة حُزَم تكشف عن أماكن الأحجام المختلفة. في عام ١٩٧٥، أوضح إدوين ساذرن أنه من الممكن نَقْل، أو تلطيخ، أجزاء الحمض النووي من مادةٍ هلامية على غشاء. يمكن بعد ذلك تحديد مَوضع جزء مُعيَّن من الحمض النووي محل الدراسة عن طريق إضافة مِسبار إلى الغشاء. وهذه المسابير عبارة عن تسلسُلات قصيرة مُصمَّمة لتكون مكملةً لتسلسلات الحمض النووي قيد الدراسة، وعند وضعها على الغشاء، ترتبط بهدفها أو تُهجِّنه. عندما يُرفَق وَسْم كيميائي أو مُشع أو فلوري بالمسبار، يُكتَشَف الهدف المهجن الذي يظهر على شكل حُزمةٍ حادةٍ عند تعرُّضه لظروفٍ معينة. أحدثت هذه التقنية التي أُطلِق عليها لطخة ساذرن، نسبةً إلى مخترعها إدوين ساذرن، ثورةً في كيفية دراسة الحمض النووي. فحتى ذلك الوقت، كان الحمض النووي الجينومي، الذي فكَّكَتْه إنزيمات القطع وفُصِل بواسطة الفصل الكهربي للهلام، يُنتِج لطخةً من الحُزَم. غالبًا ما كان يصعُب تمييز أجزاء مُعينة من هذه اللطخة. ولكن مع اكتشاف لطخة ساذرن، أصبح من الممكن تحديد جينٍ بعينِه داخل جينوم كامل، وهو ما سهَّل اكتشاف العيوب الجينية مثل مرض فقر الدم المِنجَلي. في الوقت الراهن، حلَّت تقنيات أكثر سرعةً وحساسية، مثل تفاعل البوليمراز المتسلسل وتحديد التسلسُل، محل تقنية لطخة ساذرن إلى حدٍّ كبير. غير أن تقنية الفصل الكهربي للهلام ما زالت تُستخدَم بانتظامٍ في مُختبَرَات علم الأحياء الجزيئي.

تفاعُل البوليمراز المتسلسل

تفاعل البوليمراز المتسلسل هو تقنية معملية قوية للغاية تَستخدِم العملية الطبيعية لتناسُخ الحمض النووي. تسمح هذه التقنية بتضخيم مناطق من الحمض النووي لإنتاج كمياتٍ كبيرة من كميات صغيرة فحسْب من الحمض النووي. طوَّر هذه الطريقة كاري موليس في ثمانينيات القرن العشرين، وحصل عنها على جائزة نوبل في عام ١٩٩٣. يُستخدَم تفاعل البوليمراز المتسلسل في العديد من مجالات العلوم، وفي تجارب استنساخ الحمض النووي، وإثبات الأبوَّة أو أي علاقات بيولوجية أخرى، وتشخيص الأمراض الوراثية والمُعدِية، وفي دراسات الطب الشرعي.

سَهُل الاستخدام الواسع لهذه التقنية من خلال اكتشاف إنزيم بوليمراز المستحرة المائية بوليمراز الثابت حراريًّا. عُزل بوليمراز الحمض النووي هذا في البداية من بكتيريا المستحرة المائية الموجودة في الينابيع الحرارية الأرضية الساخنة. فبإمكان هذه البكتيريا تحمُّل درجات الحرارة المرتفعة المطلوبة لفصل خيوط الحمض النووي في المختبر؛ ومن ثم استخدمها موليس في تفاعل البوليمراز المتسلسِل. وكان المُستخدَم قبل ذلك بوليمرازًا مُتغيرًا حراريًّا. ولكن نظرًا لأن تفاعل البوليمراز المتسلسل يتطلَّب دوراتٍ متكررة من التسخين والتبريد، تعطَّلَ نشاط هذا البوليمراز؛ ومن ثم صار لزامًا بعد كل خطوةٍ تسخينٍ على حرارة مرتفعة، إيقافُ التفاعل لإضافة إنزيم جديد. أدى إدخال إنزيم بوليمراز المستحرة المائية إلى جعل عملية البوليمراز المتسلسِل عمليةً آلية تُستخدَم فيها آلات التدوير الحراري. يمكن في الوقت الحالي إتمام هذه العملية في غضون ساعاتٍ قليلةٍ مُقارنة بالتفاعُلات الشاقَّة والمتقطعة التي كانت تُجرى في الغلَّايات في البدايات.

لإجراء تفاعل البوليمراز المتسلسل، يُضاف الحمض النووي المراد تضخيمه (القالب) إلى أنبوب، بالإضافة إلى بوليمراز الحمض النووي، والنوكليوتيدات، والبادئات، والكواشف الكيميائية التي توفر الظروف المثلى لحدوث التفاعل. يمكن أن يكون القالب عبارةً عن حمضٍ نوويٍّ جينومي مُستخرَج من البشر أو الميكروبات أو النباتات. لتحديد المنطقة المراد تضخيمها، تُصمَّم البادئات بحيث تُطوِّق التسلسل المعنِي من كل الجوانب. تُنفَّذ عملية التضخيم من خلال جولاتٍ متتاليةٍ من التمسُّخ والالتحام والتمديد، علمًا بأن كل خطوةٍ تُنفَّذ عند درجة حرارةٍ مختلفةٍ (انظر شكل ٢-٤). أثناء التمسُّخ، ينفصل (ينحل) شريطا الحمض النووي المزدوجان عادةً عن طريق التسخين إلى درجة حرارة ٩٤ درجة مئوية. تُخفض درجة الحرارة بعد ذلك إلى حوالي ٥٥ درجة مئوية، وعندها تلتحم البادئات بمناطقها المكمِّلة على الشرائط المقابلة للحمض النووي الأحادي الشريط. في الخطوة الثالثة، ترفع درجة الحرارة عادة إلى ٧٢ درجة مئوية، وهو ما يُمكِّن بوليمراز الحمض النووي من تمديد أو إطالة البادئات عن طريق إضافة نوكليوتيدات مُكملة إلى القالب. في نهاية هذه الخطوات الثلاث، تُصْنَع نسخة طبق الأصل من الحمض النووي الأصلي. ثم تبدأ الدورة مرةً أخرى باستخدام كلٍّ من الحمض النووي الأصلي والحمض النووي المخلَّق حديثًا كقالب، وتتكرَّر هذه الدورة من ثلاثين إلى أربعين مرة. في نهاية كل دورة، يزداد عدد نُسَخ قالب الحمض النووي باطِّراد. فيُنتِج جزيء الحمض النووي نُسختَين، ثُم أربعًا، ثُم ثمانيًا، وهكذا بحيث تُصنَع مليارات النسخ من الحمض النووي الأصلي بعد ثلاثين أو أربعين دورة.



شكل ٢-٤: تفاعل البوليمراز المتسلسل. تتحقَّق عملية تضخيم التسلسُل المستهدَف من خلال دوراتٍ متتاليةٍ من التمسُّخ والالتحام والاستطالة.

طُوِّرَ في الوقت الراهن العديد من الأشكال المختلفة من تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسِل التقليدية. أحد هذه الأشكال تفاعل البوليمراز المتسلسل ذي النَّسْخ العكسي الذي يُستخدَم فيه الحمض النووي الريبي كمادةٍ بادئة. يُحَوَّل الحمض النووي الريبي أولًا إلى حمض نووي (سي دي إن إيه) باستخدام إنزيم يُسمى إنزيم النسخ العكسي. بعد ذلك، يُضخَّم جزيء الحمض النووي المكمل باستخدام دورات التمسخ والالتحام

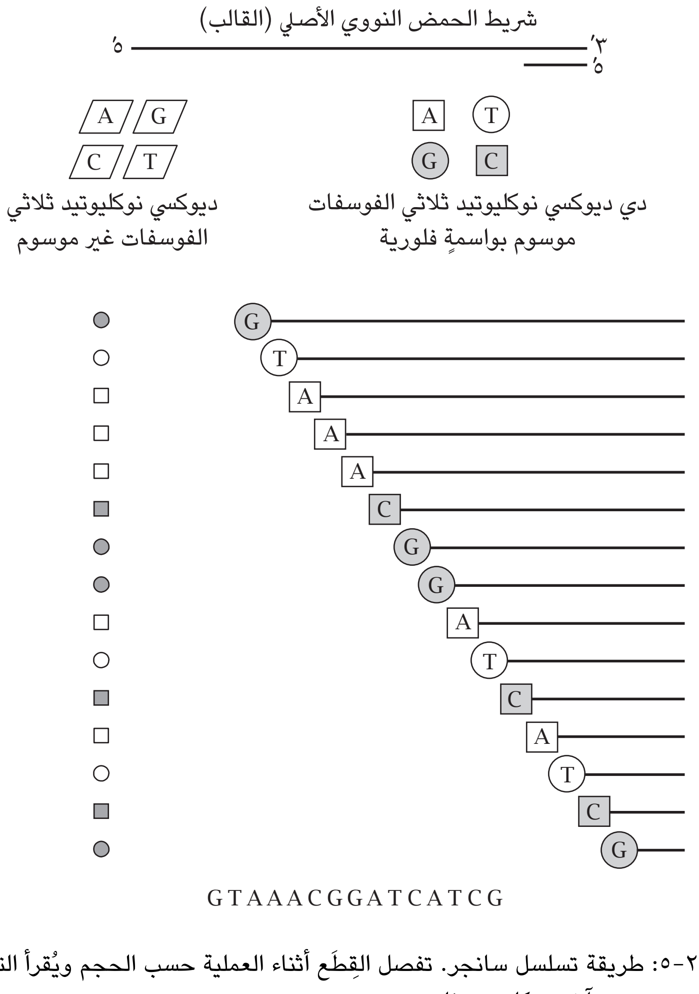
والتمديد، كما هو الحال في تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل التقليدية. يكون الحمض النووي المكمِّل مُطابقًا لتسلسل الحمض النووي الذي يصنع منه الحمض النووي الريبي، ولكنه لا يحتوي على إنترونات أو عناصر جينومية أخرى مثل مناطق المحفز. وكثيرًا ما يُستخدَم الحمض النووي المكمل في تجارب استنساخ الجينات التي تتطلَّب إنتاج البروتين في خليةٍ مُضيفة. ثمة شكل آخر وهو تفاعل البوليمراز المتسلسل الكمي اللحظي الذي يتمُّ فيه تضخيم الحمض النووي أو الحمض النووي الريبي المستهدَف وقياس كميته في اللحظة نفسها. تُعتبَر هذه الطريقة مفيدةً على نحو خاص في الأبحاث، ولكنها تفيد أيضًا في تشخيص الأمراض الوراثية عن طريق تحديد تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة أو التغيُّرات الأخرى مثل التبايُنات في عدد نُسَخ الجينات.

تسلسل الحمض النووي

يُحدد تسلسُل الحمض النووي الترتيب الخطي الدقيق لقواعد النوكليوتيدات، الأدينين، والسيتوسين، والجوانين، والثايمين في جزءٍ من الحمض النووي. من الممكن تحديد تسلسل الجينات الفردية أو أجزاء من الجينوم أو الجينوم كاملًا. ويُعَد تحديد تسلسل المعلومات عنصرًا أساسيًّا في مساعدتنا على فَهْم بنية الجينوم الخاص بنا وكيفية عمله. وقد استُخدِم تسلسل الحمض النووي لوضع خرائط الجينوم لأشكال الحياة المختلفة، بما في ذلك البشر والحيوانات والميكروبات. ويمكن أن يُساعد أيضًا في تحديد الجينات المسئولة عن التسبُّب في أمراضٍ وراثية، مثل التليُّف الكيسي، وكذا الأمراض الأخرى التي يحدث فيها خللٌ وظيفيٌّ في الجينات مثل مرض السرطان والسُّكَّري. ومن خلال مقارنة جينومات الكائنات الحية المختلفة، يمكن أن يوفِّر التسلسُل أدلةً على الجينات المحفوظة بين الأنواع؛ ومن ثَم يُحتمَل أن تكون مهمةً وظيفيًّا. ويمكن أن يساعد أيضًا في فهرسة وتصنيف الأنواع المختلفة التي يمكن استخدامُها بعد ذلك، على سبيل المثال، لتحديد مُسبِّبات الأمراض أو تلوث الغذاء.

الطريقة الأولى المستخدَمة على نطاقٍ واسعٍ لتحديد تسلسُل الحمض النووي كانت طريقة «تسلسل سانجر» التي طوَّرها فريدريك سانجر في عام ١٩٧٧ وحصل عنها على جائزة نوبل في عام ١٩٨٠. في هذه الطريقة يُنسَخ الحمض النووي المراد تحديد تسلسله على نحوٍ متكرر بواسطة بوليمراز الحمض النووي عن طريق إدخال نوكليوتيدات مكملة في الشريط المنسوخ. غير أن النوكليوتيدات المضافة تُعدَّل كيميائيًّا بحيث تتوقف تفاعلات النَّسخ عند دمج النوكليوتيد المعدَّل في السلسلة المتنامِية. يحتوي هذا النوكليوتيد على

واسِمةٍ فلورية مُلحَقة به؛ ولذا تُنتج العملية مجموعةً من القطع تختلف في الحجم بواسطة نوكليوتيد واحدٍ ينتهي بِواسِمةٍ فلورية. تُفصَل هذه القطع حسب الحجم عن طريق الفصل الكهربي ويُقرأ التسلسل عن طريق تحديد آخِر نوكليوتيد فلوري باستخدام آلةٍ للتسلسُل الآلي. ومن هذه العملية يمكن إعادة تخليق تسلسُل الحمض النووي الأصلي (انظر شكل ٢-٥).



شكل ٢-٥: طريقة تسلسل سانجر. تفصل القِطَع أثناء العملية حسب الحجم ويُقرأ التسلسل عن طريق تحديد آخر نوكليوتيد فلوري.

على الرغم من أن طريقة تسلسل سانجر ما زالت مُستخدَمة، فإن التقنيات الحديثة التي تتطور بوتيرةٍ مُذهلة تحل محلها الآن على نحوٍ متزايد. ويُشار إلى هذه التقنيات مُجتمعةً باسم نُظُم تسلسُل الجيل التالي أو نُظُم التسلسُل العالي الإنتاجية، كونها تسمح بتسلسُل الحمض النووي بسرعةٍ أكبر وتكلفةٍ أقل. فقد استغرق مشروع الجينوم البشري، الذي استخدم طريقة تسلسل سانجر، عشرَ سنوات في عملية تحديد التسلسُل وتكلَّفَ ثلاثة مليارات دولار أمريكي. أما الآن وباستخدام التسلسل العالي الإنتاجية، فيمكن إتمام عملية تحديد تسلسُل الجينوم البشري بأكمله في غضون أيامٍ قليلة بتكلفة ثلاثة آلاف دولار أمريكي. وهذه التكاليف مُستمرة في الانخفاض، مما يجعل عملية تسلسل الجينوم الكامل أكثر عمليةً وقابليةً للتنفيذ.

أُنشئ تسلسل الجينوم البشري الذي نُشر في عام ٢٠٠٣ من الحمض النووي المجمَّع من عددٍ من المتبرعين لصُنع «مرجع» أو جينوم مركب. غير أن جينوم كل فرد يُعتبر فريدًا من نوعه؛ ولذلك أُطْلِقَ «مشروع الجينوم البشري الشخصي» في الولايات المتحدة الأمريكية في عام ٢٠٠٥، بهدف تحديد تسلسل جينومات مائة ألف متطوع في جميع أنحاء العالم وتحليلها. وبعد فترة وجيزة، تبِعته مشروعات مُماثِلة في كندا وكوريا، وفي المملكة المتحدة في عام ٢٠١٣. وقد خضع عدد من المشاهير لعملية تحديد التسلسل الجينومي، من بينهم جيمس واطسون وستيف جوبز، المؤسِّس المشارك لشركة «أبل». كان كل المطلوب من المتطوِّعين هو عينة بيولوجية يمكن منها استخلاص الحمض النووي وتحديد تسلسُله. ونظرًا لأن الهدف من مشروع الجينوم البشري الشخصي هو مساعدة العلماء على معرفة المزيد عن كيفية تفاعل الجينات مع البيئة على النحو الذي يؤدي إلى الإصابة بالأمراض، وكذلك جمع تفاصيل حول النمط الظاهري للفرد وصحته ونمط حياته. يمكن استخدام علم الجينوم البشري الشخصي لتحديد المتغيرات الجينية التي قد تزيد من خطر إصابة الفرد بأمراضٍ مُعينة. وقد يسمح هذا للأطباء بالتدخُّل سواء بالأدوية أو بالإجراءات التي تحدُّ من مخاطر الإصابة أو بتحفيز الأفراد على إجراء تغييرات في نمَط حياتهم. كانت عائلة هيدلي من أوائل المرضى الذين خضعوا للتشخيص عبر مشروع الجينوم البشري الشخصي في المملكة المتحدة في عام ٢٠١٥. كان السيد هيدلي، البالِغ من العمر ٥٧ عامًا، له تاريخ عائلي طويل مع مرض ارتفاع ضغط الدم الذي يؤدي إلى الفشل الكلوي. وقد تُوفي شقيقه ووالده وعمُّه بسبب الفشَل الكلوي، كما ظهر على ابنته البالِغة من العمر ٣٤ عامًا علامات مُبكرة للفشل الكلوي. وكشف تسلسل الجينوم أن مرض الكُلى النادر هذا ناجم

عن مُتغير جيني بعينِه يحمله كلٌّ من الأب والابنة، ولكن لا تحمله الحفيدة. ويعمل الأطباء الآن على علاج أفراد الأُسرة المصابين بالعقاقير المتاحة للسيطرة على المرض.

على الرغم من أن علم الجينوم البشري الشخصي يَعِدُ بتحسين صحة ورفاهية الأفراد، فهو يواجه تحديات كبيرة، بما في ذلك عملية تخزين وتفسير الكميات الهائلة من البيانات التي تُنشأ. ولما كان أحد أهداف مشروع الجينوم البشري الشخصي هو إتاحة الوصول إلى بيانات التسلسل بشكل مفتوح من خلال قواعد البيانات، فهذا أيضًا يُثير مشكلات تتعلق بالخصوصية وكيفية استخدام الآخرين لهذه المعلومات.

المعلوماتية الحيوية

بالتوازي مع ذلك تطوَّرت أنظمة حاسوبية لتخزين وتحليل الكميات الهائلة من البيانات. وأصبح هذا الفرع من علم الأحياء، المعروف باسم المعلوماتية الحيوية، مجالَ بحثٍ تعاونيًّا مُهمًّا للغاية لاختصاصيِّي علم الأحياء الجزيئي يعتمد على خبرة علماء الكمبيوتر والرياضيات والإحصائيين. وتُودَع تسلسلات الحمض النووي باستمرار في قواعد بيانات متاحة مجانًا للجمهور. وأشهر قواعد بيانات تسلسل الحمض النووي هي «جينبانك» بالمركز الوطني لمعلومات التكنولوجيا الحيوية، وقاعدة بيانات تسلسل النوكليوتيدات الخاصَّة بمُختبَر علم الأحياء الجزيئي الأوروبي، التي يتولَّى المعهد الأوروبي للمعلوماتية الحيوية صيانتها والحفاظ عليها. كان توفير بيانات التسلسل مجانًا هو أحد أهداف مشروع الجينوم البشري، واستمر منذ ذلك الحين في تسهيل البحوث من خلال مشاركة المعلومات. تُوجَد أيضًا قواعد بيانات بيولوجية أخرى تخزن فيها تسلسلات البروتين والبيانات المستقاة من الدراسات التي تتضمَّن الحمض النووي الريبي. من خلال اختيار برنامج كمبيوتر مناسِب، يُمكِّن العلماء من استخدام البيانات للبحث عن الجينات، وتحديد وظيفتها، واستخدام نماذج ثلاثية الأبعاد لبنية البروتين.

الفصل الثالث

الحمض النووي الريبي

اكتُشِف الحمض النووي الريبي (آر إن إيه) في أوائل القرن العشرين، لكن الفرق بين الحمض النووي الريبي والحمض النووي الريبي المنقوص الأكسجين، لم يكن واضحًا في ذلك الوقت. لكن بحلول منتصف القرن العشرين، بات واضحًا أن الحمض النووي الريبي يختلف اختلافًا واضحًا عن الحمض النووي في كلٍّ من التركيب والوظيفة. وكانت أولى جزيئات الحمض النووي الريبي التي اكتشفت هي تلك التي تدخل في تخليق البروتين، والحمض النووي الريبي المرسال، والحمض النووي الناقل، والحمض النووي الريبوسومي. في السنوات الأخيرة، حُدِّد عددٌ كبير من جزيئات الحمض النووي الريبي الإضافية. وهذه الجزيئات هي عبارة عن جزيئاتٍ غير مُشَفرة من الحمض النووي الريبي لا تدخل في تخليق البروتين، ولكن تدخل في تنظيم التعبير الجيني. وقد تيسَّرت هذه الاكتشافات من خلال المشروعات الدولية الواسعة النطاق، مثل مشروع موسوعة عناصر الحمض النووي الذي أُطْلِق في عام ٢٠٠٣، ويهدف إلى توصيف وظائف المكونات غير المُشَفرة للبروتين في الجينوم، إن وُجِدَت هذه الوظائف. ومع الاكتشاف السريع لجزيئاتٍ جديدةٍ غير مُشَفرةٍ من الحمض النووي الريبي، أصبح واضحًا الآن أن عالَم الحمض النووي الريبي أثرى بكثيرٍ مما توقَّعْنا في البداية.

الحمض النووي الريبي، على غرار الحمض النووي، هو سلسلةٌ تتكوَّن من نوكليوتيدات متكررة يرتبط فيها كل نوكليوتيد بالنوكليوتيد الذي يليه من خلال رابطةٍ كيميائية. غير أن بِنية الحمض النووي الريبي تختلف عن بنية الحمض النووي بثلاث طُرق جوهرية. أولًا: السكر في الحمض النووي الريبي عبارة عن ريبوز، في حين أنه في الحمض النووي هو عبارة عن ديوكسي ريبوز. ثانيًا: في الحمض النووي الريبي، تتكوَّن قواعد النوكليوتيدات من أدينين، وجوانين، وسيتوسين ويوراسيل بدلًا من أدينين، وجوانين،

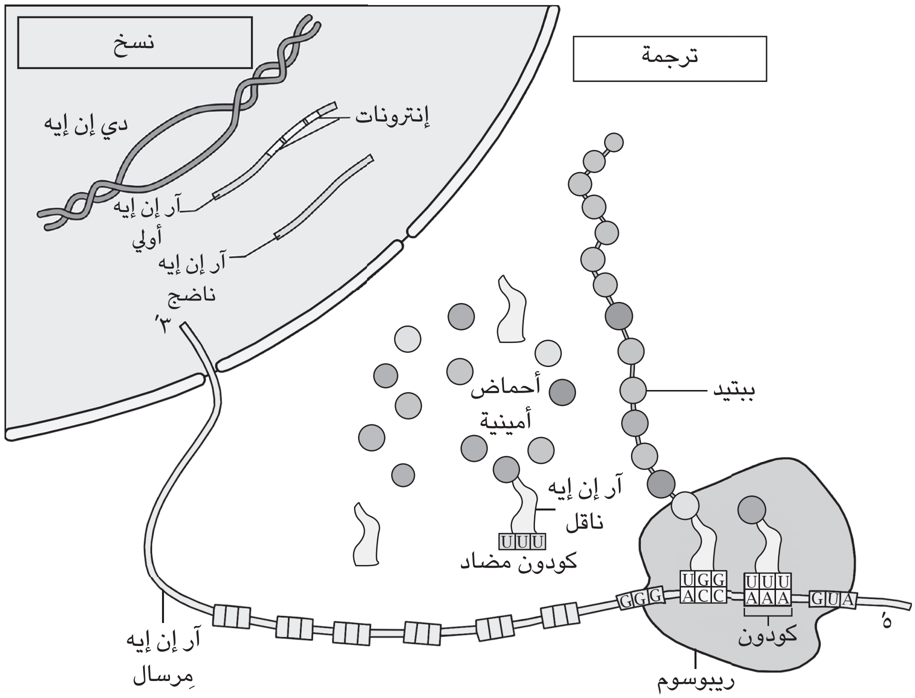
وسيتوسين، وثايمين. ويتَّسم كلٌّ من اليوراسيل والثايمين بخصائص تزاوُج قاعدي مماثِلة؛ ومِن ثَم يحدث تزاوُج قاعدي بين اليوراسيل والأدينين. ثالثًا: الحمض النووي الريبي هو جزيء أُحادي الشريط على عكس الحمض النووي الثنائي الشريط. فالحمض النووي الريبي ليس لولبيَّ الشكل، ولكن يمكن أن يُطوى ليتَّخِذ شكل دبوس شعر أو بِنية حلقة جذعية، وهذا عن طريق تزاوُج القواعد بين المناطق المكملة داخل جُزيء الحمض النووي الريبي نفسه. ويمكن أن تُطْوى هذه البُنى الثانوية الثنائية الأبعاد لتكوين بُنًى ثلاثية الأبعاد. جُزيء الحمض النووي الريبي قادر على التفاعل ليس فقط مع نفسه، ولكن أيضًا مع جزيئات الحمض النووي الريبي الأخرى، ومع جزيئات الحمض النووي والبروتينات. وهذه التفاعلات، إلى جانب المجموعة المتنوعة من التشكيلات التي يمكن أن تتَّخِذها جزيئات الحمض النووي الريبي، تُمَكِّنها من تنفيذ مجموعةٍ كبيرةٍ من الوظائف.

دور الحمض النووي الريبي في تخليق البروتين

تصنع البروتينات في الخلية عن طريق عمليةٍ من خطوتَين، وهما النَّسْخ والترجمة. أثناء النسخ، يُنسَخ أولًا الترميز الجيني للبروتين المراد إنتاجه إلى حمض نووي ريبي مِرسال، يُترجَم لاحقًا إلى بروتين واحد أو أكثر.

النسخ

في عملية النسخ، يُصنَّع الحمض النووي الريبي المِرسال في نواة الخلية بواسطة إنزيم بوليمراز الحمض النووي الريبي ٢، باستخدام شريطٍ واحد من اللولب المزدوج للحمض النووي كقالب. يُسمَّى هذا القالب بالشريط غير المُشَفِّر. ويكون تسلسُله مُكملًا للشفرة بحيث يحمل الحمض النووي الريبي المرسال المنسوخ منه تسلسُلَ التشفير، وهو ما يُمكِّنه من توجيه عملية تخليق البروتين. يبدأ النسخ عندما يتجمع عدد من البروتينات بترتيبٍ محدد في موقعٍ معين على الحمض النووي الذي يُعرَف بالمحفز. يقع المحفز عادةً على بُعد ٢٥ إلى ٣٥ زوجًا من القواعد في اتجاهٍ صاعد من موقع بدء النسخ؛ أي النقطة التي سيبدأ منها تخليق الحمض النووي الريبي المرسال. وأفضل تسلسُلات المحفز تحديدًا في حقيقيات النواة هو «صندوق تاتا» (TATA) الذي يتم التعرُّف عليه بواسطة بروتين يُسمَّى «عامل النسخ IID» (TFIID). بمجرد ارتباط عامل النسخ TFIID، يتَّحد أيضًا إنزيم بوليمراز الحمض النووي الريبي ٢ والبروتينات الأخرى، ويبدأ تخليق نُسَخ الحمض



شكل ٣-١: خطوتا تخليق البروتين: عملية النسخ في النواة، والترجمة في الريبوسومات الموجودة في السيتوبلازم.

النووي الريبي المرسال. يتحرك بوليمراز الحمض النووي الريبي ٢ عبر قالب الحمض النووي، مما يضيف قواعد تكميلية لتمديد شريط الحمض النووي الريبي. وتنتهي عملية النسخ عندما يُقابل إنزيم بوليمراز الحمض النووي الريبي ٢ كودون توقف (TAA أو TAG أو TGA) في نهاية وحدة النسخ.

تُنتِج عملية النسخ نسخةً أولية من الحمض النووي الريبي المرسال، تُعدَّل لتشكيل حمضٍ نوويٍّ ريبي ناضج قبل ترجمته إلى تسلسل بروتين. تُغطَّى النسخة الناتجة بقبعةٍ عند النهاية ٥′ عن طريق إضافة نوكليوتيد جوانين معدل، بينما يُضاف ذيل بولي أدينين يتكوَّن من حوالي ٢٥٠ نوكليوتيد أدينين عند النهاية ٣′. تمنع القُبعةُ والذيلُ الحمضَ النووي الريبي المرسال من التفكك ويسمحان له بالمرور من النواة إلى السيتوبلازم، حيث تتمُّ عملية الترجمة (انظر شكل ٣-١).

على غرار الحمض النووي، تحتوي نسخة الحمض النووي الريبي المِرسال على تسلسُلات من الإنترونات والإكسونات. قبل مرور الحمض النووي الريبي المرسال إلى السيتوبلازم، تُزال الإنترونات المتداخِلة وترتبط إكسونات التشفير المتجاورة معًا مرةً أخرى. تُنَفَّذ هذه العمليات بواسطة فئة من فئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة تعرف باسم الحمض النووي الريبي الصغير (snRNA). وتنتُج عن هذه التعديلات نُسخة ناضجة مكوَّنة من إكسونات، وقبعة ٥′، وذيل ٣′. وتحتوي هذه النسخة الناضجة أيضًا على تسلسُلاتٍ في نهاية النسخة تسبق القبعة والذيل تُسمَّى بالمناطق غير المترجمة أو تسلسلات المناطق غير المترجمة. تحتوي تسلسلات المناطق غير المترجمة هذه على معلوماتٍ تنظيمية، مثل عدد المرات التي ستُترجَم فيها النسخة إلى بروتين ومدة بقائه في الخلية قبل أن يتحلل.

الترجمة

تتم عملية ترجمة الحمض النووي المرسال إلى بروتين في سيتوبلازم الخلية على الريبوسومات. والريبوسومات هي بُنًى خلوية تتكون بالأساس من الحمض النووي الريبي الريبوسومي والبروتينات. في الريبوسومات، تُفَك شفرة الحمض النووي الريبي المرسال لإنتاج بروتين مُعين وفقًا للقواعد التي تُحددها الشفرة الجينية. تُجْلَب الأحماض الأمينية الصحيحة إلى الحمض النووي الريبي المرسال في الريبوسومات من خلال جزيئات تُسمَّى الحمض النووي الريبي الناقل. تحتوي هذه الجزيئات على تسلسلٍ ثلاثي النوكليوتيدات مُكمل للكودون الموجود على الحمض النووي الريبي المرسال وتحمل الحمض الأميني الذي يتوافق مع هذا التسلسل. في بداية الترجمة، يرتبط الحمض النووي الريبي الناقل بالحمض النووي الريبي المرسال عند كودون البدء AUG. ويتبع ذلك ارتباط حمضٍ نووي ريبي ناقلٍ ثانٍ مُطابق لكودون الحمض النووي الريبي المرسال المجاور. يرتبط الحمضان الأمينيَّان المتجاوران والمرتبطان بالحمض النووي الريبي الناقل معًا من خلال رابطة كيميائية تُسمَّى الرابطة الببتيدية. بمجرد تشكُّل الرابطة الببتيدية، ينفصل الحمض النووي الريبي الناقل الأول تاركًا وراءه حمضه الأميني. وبعد ذلك، يتحرك الريبوسوم كودونًا واحدًا عبر الحمض النووي الريبي المرسال، ويرتبط حمض نووي ريبي ناقِل ثالث. وبهذه الطريقة، ترتبط جزيئات الحمض النووي الريبي الناقلة، بالتتابُع، بالحمض النووي الريبي المرسال، بينما ينتقل الريبوسوم من كودونٍ إلى آخر. وفي كل مرةٍ يرتبط

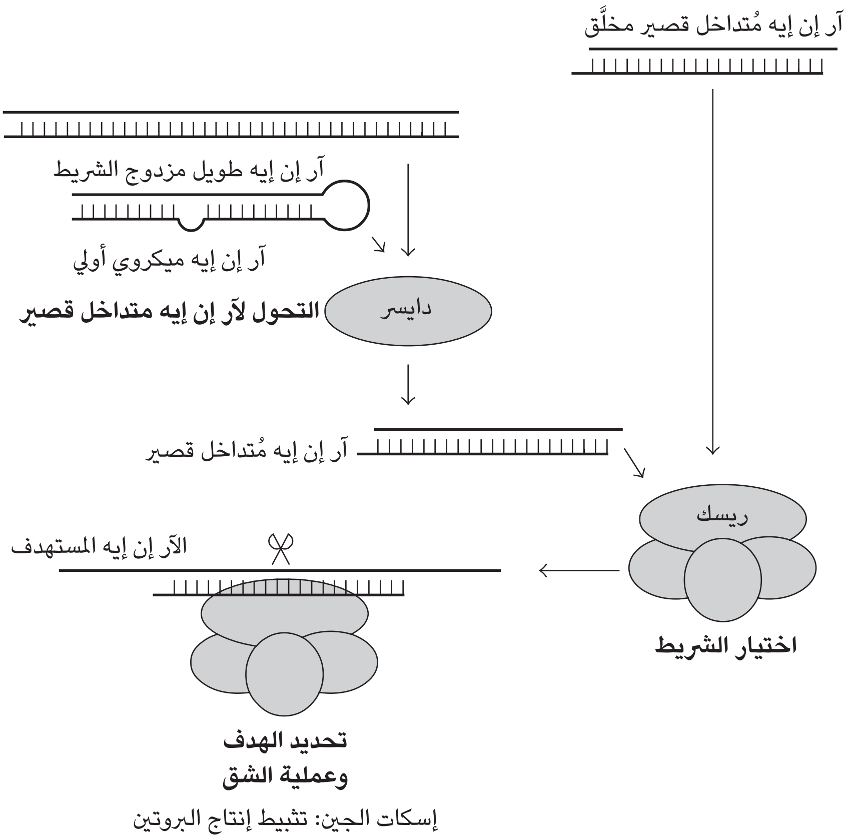
جُزيء من جُزيئات الحمض النووي الريبي الناقل، يُنْقَل الحمض الأميني المرتبط به إلى سلسلة الأحماض الأمينية المتنامية. وبذلك، يترجم تسلسل الحمض النووي الريبي المرسال إلى سلسلة من الأحماض الأمينية المتصلة بروابط ببتيدية لإنتاج سلسلةٍ عديدة الببتيد. تنتهي عملية الترجمة عندما يُواجه الريبوسوم كودون توقف (UAA أو UAG أو UGA). عند هذه النقطة، يُحرِّر الريبوسوم سلسلة عديد الببتيد النهائية. بعد إتمام عملية الترجمة، تُطوى السلسلة وغالبًا ما تُعدَّل عن طريق إضافة السُّكَّر أو جزيئات أخرى لإنتاج بروتينات تعمل بكامل طاقتها.

جزيئات الحمض النووي الريبي المُنَظِّمَة

في العقدين الماضيين، صار واضحًا أن جزيئات الحمض النووي الريبي تؤدي وظائف أكثر بكثير من مجرد العمل كمِرسال بين الحمض النووي والبروتين، وتشكيل المكونات البنيوية للريبوسومات، ونقل الأحماض الأمينية إلى الريبوسومات. فنحن نعلم الآن أن الحمض النووي الريبي يمكن أن يؤثر على العديد من العمليات الخلوية الطبيعية والمرضية من خلال تنظيم التعبير الجيني. ويُعَد تداخُل الحمض النووي الريبي، والذي يُشار إليه اختصارًا بـ RNAi، إحدى الطرق الرئيسية التي يُنظَّم من خلالها التعبير الجيني. في هذه العملية، يرتبط جزيء حمض نووي ريبي قصير ثنائي الشريط ومُكمل في التسلسُل بتسلسُل حمضٍ نووي ريبي مِرسال مُعين، ويمنعه من إنتاج البروتين. وهكذا يتم «إسكات» الجين المعني.

اكتشف الباحثان أندرو فاير وكريج ميللو تداخُل الحمض النووي الريبي بشكلٍ غير مُتوقَّع أثناء محاولتهما التلاعُب في التعبير الجيني لجيناتٍ مُعينة في دودة الربداء الرشيقة الخيطية. ووجدا أن حَقْن حمض نووي ريبي ثنائي الشريط في الدودة الخيطية قد ثبَّط التعبير عن الجين المستهدف على نحوٍ أكثر فاعلية من إضافة حمضٍ نووي ريبي ثُنائي فحسب. ومنذ نَشْر اكتشاف فاير وميللو في عام ١٩٩٨، دُرِسَ تداخُل الحمض النووي الريبي على نطاقٍ واسع في العديد من الكائنات الحية، كان من ضمنها ذبابة الفاكهة والخميرة والنباتات والبشر. وقد اكتُشفت ثلاث فئات من جزيئات تداخُل الحمض النووي الريبي حتى الآن، ومن بينها جزيئات الحمض النووي الريبي الميكروي التي تُعتبر أحد المنظِّمات الرئيسة للتعبير الجيني في البشر.

الحمض النووي الريبي الميكروي



شكل ٣-٢: مسار تداخُل الحمض النووي الريبي. يعمل الحمض النووي الريبي المتداخل القصير على إسكات التعبير الجيني عن طريق الارتباط بالحمض النووي الريبي المرسال المستهدَف ومنع إنتاج البروتين.

تُنسَخ جزيئات الحمض النووي الريبي الميكروي من عدة مواقع مختلفة في الجينوم البشري. وتُنتَج على شكل جزيئات طويلة من الحمض النووي الريبي تُطوى بحيث تتَّخِذ بِنيةَ حلقةِ دبوس شعر. يُؤدِّي وجود الحمض النووي الريبي الثنائي الشريط داخل الخلية إلى تنشيط آلية تداخل الحمض النووي الريبي التي تؤدي بدورها في النهاية إلى

إسكات الجينات. وقد تم تحديد نحو ألف جين مشفِّر للحمض النووي الريبي الميكروي في البشر، وهي تُنظِّم مجموعة كاملة من العمليات البيولوجية المختلفة في جميع مراحل التطور البشري، بداية من مرحلة الجنين إلى مرحلة البلوغ. ويرتبط الخلل الوظيفي فيها بمجموعة من الأمراض، من ضمنها السرطانات وأمراض القلب والاضطرابات المناعية التي سنتطرق لأمثلة منها في الفصل الخامس والسابع والتاسع.

يُعَد إسكات الجينات من خلال مسار تداخل الحمض النووي الريبي عملية مركبة. فوجود جزيئات الحمض النووي الريبي المزدوجة الشريط في الخلية يؤدي إلى تنشيط إنزيمٍ يُعرَف باسم دايسر. يقوم إنزيم دايسر بتقطيع الشرائط الطويلة إلى أجزاءٍ أقصر يبلغ طولها حوالي ٢٢ نوكليوتيدًا، لإنتاج جزيء حمضٍ نووي مُتداخِل قصير. بعد ذلك يُحَمَّل أحد شريطي الحمض النووي الريبي المتداخل القصير على مُركب مُتعدد البروتينات يُسمَّى «ريسك» (مركب إسكات مستحث بالحمض النووي الريبي). أما الشريط الثاني فيتم التخلص منه. يُوجِّه مُركب ريسك الشريط المحمَّل كي يرتبط بالحمض النووي الريبي المِرسال المكمِّل. وبمجرد ارتباطهما، يشقُّ إنزيم الأرجونوت — أحد مكونات مركب ريسك — جُزيء الحمض النووي الريبي المرسال أو يمنع حدوث الترجمة. ويؤدي هذا إلى إسكات التعبير عن الجين وعدم إنتاج البروتين الذي شفَّرَه ذلك الحمض النووي الريبي المرسال (انظر شكل ٣-٢).

استخدام تداخل الحمض النووي الريبي في البحث والعلاج

في الوقت الراهن، يُستغَل مسار تداخل الحمض النووي الريبي، الذي يحدث بشكل طبيعي، على نطاق واسع في المختبرات لدراسة وظيفة الجينات. من الممكن تصميم جزيئات حمض نووي ريبي مُتداخلة قصيرة من الحمض النووي الريبي اصطناعيًّا بتسلسُل مُكمل للجين قيد الدراسة. بعد ذلك، تُدخَل جزيئات الحمض النووي الريبي المزدوجَة الشريط في الخلية عن طريق تقنياتٍ خاصة لتثبيط التعبير عن هذا الجين مؤقتًا. ومن خلال دراسة تأثيرات النمط الظاهري لهذا الانخفاض الحادِّ في التعبير الجيني، يمكن تحديد وظيفة هذا الجين.

تتَّسِم جزيئات الحمض النووي الريبي المتداخلة القصيرة المخلَّقة أيضًا بإمكانية استخدامها في علاج الأمراض. فإذا تسبب ناتج جيني مُعين في أحد الأمراض أو عزَّزه، يمكن تصميم حمض نووي ريبي مُتداخل قصير ضدَّ هذا الجين لإسكات تعبيره. وهذا من شأنه منع إنتاج البروتين المسبِّب للمرض. على سبيل المثال، فرْط كوليسترول الدم العائلي

هو اضطراب وراثي يتميز بمستوياتٍ عالية من الكوليسترول وزيادة خطر الإصابة بأمراض القلب التاجية. تُوجَد إحدى الطفرات المسئولة عن هذه الحالة في الجين PCSK9 المسئول عن تشفير إنزيم يرفع مستوى البروتين الدُّهني المنخفض الكثافة، وهو نوع ضارٌّ من الكوليسترول. وتثبيط إنتاج جين PCSK9 باستخدام الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير من شأنه تقليل البروتين الدهني المنخفض الكثافة، ما يجعل بالإمكان استخدامه لعلاج اضطراب فرط كوليسترول الدم العائلي. وقد أثبت هذا النهج فعاليته في التجارب السريرية المبكرة.

كذلك تتم تجربة العلاج بالحمض النووي الريبي المتداخِل القصير على عددٍ من الأمراض الأخرى، من ضمنها السرطانات وأمراض الكبد والالتهابات الفيروسية. وأحد التحدِّيات الرئيسة التي تُواجه استخدام تداخُل الحمض النووي الريبي كعلاج هو توجيه الحمض النووي الريبي المتداخل القصير إلى خلايا بعينها تتطلَّب إسكات الجينات. فإذا أُطْلِقَت الإنزيمات مباشرةً في مجرى الدم، فإنها تؤدي إلى تفكيك جزيئات الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير. وبالإضافة إلى ذلك، لا يمكن للجزيئات المرور عبر غشاء الخلية الكارهة للماء ودخول الخلية؛ نظرًا لكونها جزيئاتٍ سالبة الشحنة. ومن المشاكل الأخرى المحتملة أنَّ جزيئات الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير يمكن أن تُحفِّز الاستجابة المناعية للجسم ويمكن أن تُحدِث تأثيرات خارج نطاق المكان المستهدف عن طريق إسكات جزيئات أخرى من الحمض النووي الريبي غير تلك التي صُمِّمت خصِّيصى لاستهدافها. وقد تضمَّنت بعض التجارب السريرية الأولى حقْن جزيئات الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير مباشرةً في العين لعلاج فقدان البصر في الضمور البُقعي المرتبط بتقدُّم العمر والوذمة البُقعية السُّكَّرية. غير أن الحقْن المباشر غير ممكن لجميع الحالات، ويُولي العلماء حاليًّا اهتمامًا كبيرًا لتصميم جزيئات حاملة يمكنها نقل الحمض النووي الريبي المتداخل القصير عبر مجرى الدم إلى الخلية المريضة. وأحد هذه الجزيئات الحاملة هو الجسيمات النانوية الدهنية. وهذه الجسيمات هي جزيئات صغيرة جدًّا يتراوح حجمها بين ٧٠ و٨٠ نانومترًا، يُغَلَّف فيها الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير. وبذلك يمكن نقل جُزيئات الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير عبر مجرى الدم مَحميَّةً من تأثير الإنزيمات المُفَكِّكَة، ويمكن أيضًا أن تمرَّ عبر غشاء الخلية الكارهة للماء إلى سيتوبلازم الخلية. تشترك بعض هذه الحاملات في حمل جزيئات الاستهداف بحيث تمتصُّ الخلية المريضة على وجه التحديد الحمض النووي الريبي المتداخل القصير الذي يستهدفها.

وقد اختبرت شركة «كالاندو» للأدوية هذه الاستراتيجية لأول مرةٍ عن طريق تغليف الجسيمات النانوية التي تحمل الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير ببروتين يُسمَّى الترانسفيرين. يرتبط الترانسفيرين ببروتين مُعيَّن يُعرَف بمُسْتَقبِل الترانسفيرين يُوجَد على سطح الخلايا. وبمجرد حدوث الارتباط، تدخل الجسيمات النانوية في السيتوبلازم الخلوي. وتُوجَد مستقبلات الترانسفيرين بكمياتٍ كبيرة على سطح الخلايا السرطانية مقارنة بالخلايا الطبيعية؛ ومن ثم فإن الخلايا السرطانية تُفضِّل امتصاص الجسيمات النانوية. يخضع هذا النهج للتجربة أيضًا لعلاج المرضى الذين يُعانون من أمراضٍ أُخرى مثل المصابين بفيروس التهاب الكبد بي.

جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة الطويلة

ثمة فئة أخرى من جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة التي اكتُشِفت مؤخرًا وهي جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة الطويلة (lncRNA). وهذه الجزيئات هي عبارة عن جزيئات من الحمض النووي الريبي تُنسَخ عادةً من مناطق الجينوم التي تقع بين وحدات النسخ. ولكن يمكن أيضًا نسخُها من داخل إكسونات أو إنترونات جينات تشفير البروتين. تتميز جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة الطويلة عن جزيئات الحمض النووي الريبي المرسال وجزيئات الحمض النووي الريبي القصير الأصغر بطولها. فطولها يبلُغ أكثر من ٢٠٠ نوكليوتيد، مقارنة بطول جزيئات الحمض النووي الريبي الأصغر التي يبلغ طولها من ٢١ إلى ٣٥ نوكليوتيدًا.

تمَّ تحديد ما يقرُب من ١٠ آلاف جزيء طويل غير مُشَفِّر من الحمض النووي الريبي لدى البشر حتى الآن من خلال مشروع «إنكود». ولم يتم توصيف وظائف غالبية هذه الجزيئات. ولكن من بين الجزيئات التي خضعت للدراسة، من الواضح أن جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة الطويلة تلعب دورًا في تنظيم التعبير عن جينات تشفير البروتين على مستوياتٍ عديدة. فيمكنها التحكم فيما إذا كان جينٌ بعينه سيُنسَخ أم لا، وفي عملية توصيل نُسَخ الحمض النووي الريبي المرسال، وفيما إذا كانت نُسخة الحمض النووي الريبي المرسال ستُترجَم إلى بروتين أم لا. لعبت جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة الطويلة دورًا أيضًا في تطور عدد من الأمراض، من بينها السرطانات والاضطرابات العصبية والأمراض المناعية وأمراض القلب والأوعية الدموية. وسنتناول

بعض المسارات التي تعمل فيها جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة الطويلة في الفصل الخامس.

الحمض النووي الريبي المحفِّز

هناك فئة أخرى من الحمض النووي الريبي، ألا وهي الرايبوزيم أو إنزيمات الحمض النووي الريبي التي اكتُشِفت لأول مرة في عام ١٩٨٢ في البكتيريا ثم في الكائنات الحقيقية النواة. تعمل جزيئات الحمض النووي الريبي هذه كإنزيمات تُحفز تفاعلات كيميائية حيوية مُحدَّدة بطريقةٍ مماثلة لإنزيمات البروتين. لذا فهي تُعرَف أيضًا باسم جزيئات الحمض النووي الريبي المحفز. تُحفز بعض إنزيمات الحمض النووي الريبي، مثل الحمض النووي الريبي الصغير النووي، توصيل نُسَخ الحمض النووي الريبي المرسال الأولية لقطع تسلسلات الإنترون المتداخلة وربط تسلسلات الإكسون المجاورة معًا. وبالمثل، يُعتبر الحمض النووي الريبي الريبوسومي — وهو مُكوِّن الحمض النووي الريبي الموجود في الريبوسومات — أيضًا من فئة الحمض النووي الريبي المحفز. فهو يحفز تكوين روابط الببتيد التي تربط الأحماض الأمينية معًا في سلسلةٍ عديدة الببتيد أثناء تخليق البروتين.

يمكن تخليق إنزيمات الحمض النووي الريبي اصطناعيًّا في المختبر للأغراض العلاجية. في هذه الحالة، يُصَمَّم إنزيم الحمض النووي الريبي ليرتبط بالحمض النووي الريبي المرسال المستهدَف ويَشقَّه، ما يؤدي إلى تثبيط التعبير عن هذا الجين. ومن ثم، فهو يستخدِم نهجًا علاجيًّا شبيهًا لنهج الحمض النووي الريبي المتداخِل القصير عن طريق إسكات التعبير عن الجينات المسببة للمرض أو المعزِّزة له. اختبرت إنزيمات الحمض النووي الريبي التي تستهدف جزيئات بعينها الحمض النووي الريبي في عددٍ من التجارب السريرية كعلاجٍ لأمراض سرطان الكُلى والثدي وبعض الالتهابات الفيروسية، بما في ذلك فيروس نقص المناعة البشرية وفيروس التهاب الكبد الوبائي سي. يتقيَّد العلاج القائم على إنزيمات الحمض النووي الريبي — شأنه في ذلك شأن العلاج بالحمض النووي الريبي المتداخِل القصير — بالتوصيل غير الفعَّال إلى الخلايا المستهدفة وبالتأثيرات التي تحدُث خارج نطاق المكان المستهدف، ويجري المزيد من العمل لتحسين فائدة هذه الجزيئات كأدواتٍ علاجية.

كيف ندرس الحمض النووي الريبي؟

هناك عدد من التقنيات المعملية المختلفة التي يُمكن استخدامها لدراسة جزيئات الحمض النووي الريبي. وكانت إحدى التقنيات الأولى التي طُوِّرَت هي لطخة نورثرن. تُشبه هذه الطريقة طريقة لطخة ساذرن، ولكن بدلًا من تحديد الحمض النووي، تُحدد جزيئات مُعينة الحمض النووي الريبي من خليطٍ من الجزيئات. في البداية، يُستخلَص الحمض النووي الريبي من خليةٍ معينة أو نوعٍ مُعين من الأنسجة. بعد ذلك تُفصل جزيئات الحمض النووي الريبي داخل العينة طبقًا للحجم باستخدام الفصل الكهربي، ثم تنقل إلى غشاءٍ تلتصق به المجموعة الكاملة لجزيئات الحمض النووي الريبي المستخلَصة. بعد ذلك، يُضاف إلى الغشاء مسبار موسوم، يكون تسلسُله مكملًا لتسلسل الحمض النووي الريبي قيد البحث. عند تعرُّض اللطخة لظروفٍ مُعينة، يُحدَّد جزيء الحمض النووي الريبي الذي هجَّنَهُ المسبار.

حل محل تقنية لطخة نورثرن في الوقت الحالي تقنيات أسرع وأكثر حساسية مثل تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل ذي النَّسْخ العكسي. في تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل ذي النسخ العكسي، يُستخرَج الحمض النووي الريبي المرسال من الخلايا أو الأنسجة، ويُحوَّل إلى حمضٍ نووي مكمل، ثم يُضخَّم لاحقًا. لتحديد كمية الجين (الحمض النووي الريبي المرسال) التي يتم التعبير عنها، يمكن استخدام تقنية مُلحقة تُعرَف باسم تفاعل البوليمراز المتسلسل الكمِّي أو اللحظي. وتُفيد هذه التقنية عند مقارنة التعبير الجيني بين أنواع الخلايا المختلفة أو في الخلايا في ظلِّ ظروفٍ فسيولوجية أو تجريبية مختلفة.

مصفوفات الحمض النووي الدقيقة

تُتيح تقنية لطخة نورثرن وتفاعل البوليمراز المتسلسل ذي النَّسخ العكسي قياسَ التعبير عن جينٍ واحد أو بضعة جينات في وقتٍ واحد. وعلى العكس من ذلك، تسمح تقنية مصفوفات الحمض النووي الدقيقة بقياس التعبير الجيني عَبْر الجينوم الكامل لكائنٍ حي في خطوةٍ واحدة. وتُفيد تقنية تحليل الجينوم على نطاقٍ ضخمٍ إلى حدٍّ كبير عند مقارنة مخططات تحليل التعبير الجيني بين عينتَين. على سبيل المثال، المقارنة بين الأنسجة السليمة والأنسجة المريضة؛ أو الخلايا التي تُحقَن بعقاقير والخلايا التي لا تتعرض لذلك، أو الخلايا المصابة بكائناتٍ مُمرِضة والخلايا غير المصابة. يمكن أن يُحدد هذا مجموعات

الجينات الفرعية التي يُعبَّر عنها بشكلٍ منقوص أو مُفرط في عينةٍ واحدةٍ مقارنة بالعينة الثانية التي تُقارَن بها. في هذه الطريقة، يستخرج الحمض النووي الريبي المرسال من كلتا العينتَين ويُحوَّل إلى حمضٍ نووي مُكمل باستخدام إنزيم النسخ العكسي. وللتمييز بين العينتَين، يُوسَم الحمض النووي المكمل لإحدى العينتين بواسمةٍ فلورية حمراء، ويُوسَم الثاني بواسمةٍ فلورية خضراء. تُدمَج العيِّنتان معًا ثم تضافان إلى مصفوفةٍ من مصفوفات الحمض النووي الدقيقة أو إلى رقاقة الحمض النووي. ورقاقة الحمض النووي هي عبارة عن تسلسُلات حمضٍ نوويٍّ تُمثل جيناتٍ مختلفةً مُثبتةً على دعامةٍ مصغَّرة، كشريحةٍ زجاجيةٍ على سبيل المثال. عند إضافة العينات المدمجة، يرتبط الحمض النووي المكمل بالتسلسُلات المكملة على المصفوفة. تُمْسَح المصفوفة ضوئيًّا بحثًا عن الفلورية وتُلتقَط لها صورٌ باستخدام مجهرٍ فلوري. تمثل شدة الضوء الفلوري لكل تسلسلٍ للحمض النووي عددَ جزيئات الحمض النووي المُكمل الموسومة المرتبطة بهذا التسلسُل؛ ومن ثم كمية الحمض النووي الريبي المرسال الموجودة في العينة الأصلية. ومن خلال تحليل هذه البيانات حاسوبيًّا، يمكن قياس الاختلافات النسبية في التعبير الجيني بين العينتين.

تسلسل الحمض النووي الريبي

يتَّجه تسلسل الحمض النووي الريبي، المعروف أيضًا باسم RNA-seq، بخُطًى سريعة نحو التحول ليُصبح الطريقة المعتمدة لتحديد جزيئات الحمض النووي الريبي وقياس مخططات تحليل التعبير الجيني. في هذه الطريقة، يُستخرج الحمض النووي الريبي كاملًا، ويُجَزَّأ، ويُحَوَّل إلى حمضٍ نووي مُكمل، ثم تُجرَى عملية تحديد التسلسُل باستخدام أساليب تسلسل الجيل التالي. بدلًا من استخراج الحمض النووي الريبي كُليًّا، والذي يشمل جميع جزيئات الحمض النووي الريبي المختلفة الموجودة في الخلية، يمكن أيضًا استخراج مجموعاتٍ مُحددة مثل الحمض النووي الريبي الميكروي أو جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرَة. تُعزَل هذه الجزيئات على أساس الاختلافات في الحجم وتُحَوَّل إلى حمضٍ نووي مُكمل قبل التسلسل. وقد استُخدِمت تقنية تسلسل الحمض النووي الريبي في عددٍ من المشروعات الواسعة النطاق. فقد استُخدِمَت لتحديد العناصر الوظيفية داخل الجينوم وفهرستها كجزءٍ من مشروع «إنكود»، وغيَّرت فَهمنا للجينوم وآلية عمله. واستُخدِمت كذلك كجزءٍ من مشروع «أطلس جينوم السرطان» لقياس الاختلافات في مخططات تحليل التعبير الجيني بين الخلايا السرطانية وغير السرطانية. وتمهد البيانات المُستمدَّة من هذه الدراسة الطريقَ لتطوير طرُقٍ جديدةٍ لتشخيص السرطان وعلاجه.

الفصل الرابع

البروتينات

تتطلب الوظائف البيولوجية البروتين، والتركيب البروتيني للخلية يُحدد سلوكها وهويتها. لذا، ليس من المستغرَب أن البروتينات هي أكثر الجزيئات وفرةً في الجسم باستثناء الماء. اشتُقَّت كلمة بروتين من الكلمة اليونانية proteios التي تعني الأول أو الأساسي؛ لأنه كان يُعتبَر الشكل الأساسي للتغذية للعواشب. يمكن لجينات تشفير البروتين في الجينوم البشري، التي يقدر عددها بنحو ٢٠ ألف جين، إنتاج أكثر من مليون بروتين مختلف، يُطلَق عليها مجتمعةً اسم «البروتيوم»، وذلك من خلال الوصل البديل، وبادئات الترجمة المتعدِّدة، والتعديلات اللاحقة للترجمة. وحجم البروتيوم، وليس الجينوم، هو الذي يُحدد مدى تعقيد الكائن الحي. ومن بين جميع أعضاء الجسم، وُجِد أن الخصيتَين تحتويان على أكبر عدد من البروتينات الفريدة.

تشكل البروتينات نصف الوزن الجاف للخلية، في حين يُشكل الحمض النووي ثلاثةً في المائة والحمض النووي الريبي ٢٠ في المائة فقط. لم تحظَ الصلة بين الحمض النووي والبروتين باهتمامٍ كبير حتى عام ١٩٤١، عندما أوضح كلٌّ من جورج بيدل وإدوارد تاتوم على نحوٍ قاطع لا لبس فيه أن الجينات تُوجِّه عملية تصنيع البروتينات، التي بدورها تتحكَّم في عملية التمثيل الغذائي. صنَع هذان الرائدان فطريات عفن خبز طافرة تطلَّبت إضافة حمض الأرجينين الأميني كي تنمو. فقَدَ كلٌّ فطرٍ طافر جينًا واحدًا وتبيَّن أن كل طافرٍ يفتقر إلى إنزيمٍ واحدٍ يدخل في تخليق الأرجينين. وأدَّى هذا إلى التوصُّل إلى فرضية «جين واحد إنزيم واحد».

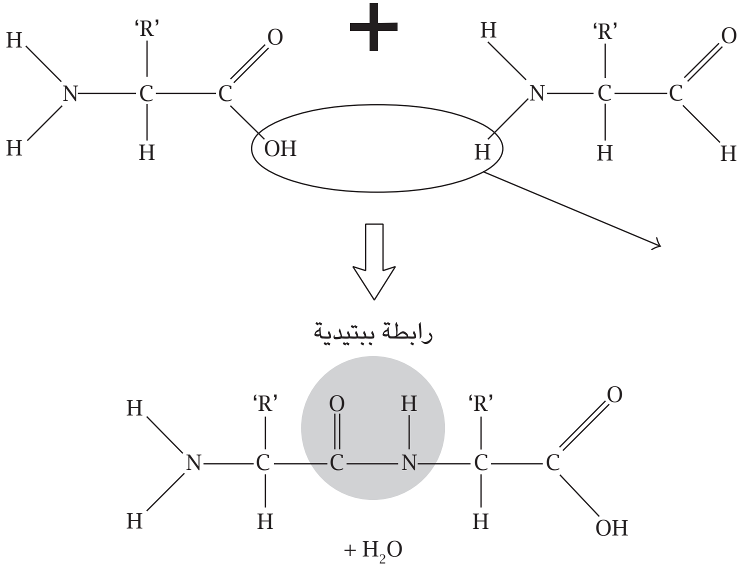
الإنزيمات هي بروتينات تُحفِّز مُعدل التفاعلات الكيميائية أو تُغيره، ومن خلال إظهار أن الجينات هي التي تتحكم في إنتاج الإنزيمات، كشف بيدل وتاتوم لأول مرةٍ كيف أن الجينات كانت تلعب دورًا رئيسًا في علم الأحياء الجزيئي.

يمكن للإنزيمات تسريع التفاعلات التي كانت ستستغرق وقتًا طويلًا جدًّا لتكتمل في درجة حرارة الجسم، ولكنها أيضًا تُبطئ بعض التفاعلات. كذلك تلعب البروتينات عددًا من الأدوار المهمة الأخرى. فهي تشارك في الحفاظ على شكل الخلية وتوفير الدعم البنيوي للأنسجة الضامَّة مثل الغضاريف والعظام. البروتينات المتخصِّصة مثل الأكتين والميوسين ضروريةٌ لتوفير الانقباض للحركة العضلية الهيكلية والقلبية. وتعمل البروتينات الأخرى ﻛ «رُسُل» لنقل الإشارات التي تعمل على تنظيم وتنسيق العمليات الخلوية المختلفة، مثل هرمون الإنسولين. تُوجَد فئة أخرى من البروتينات، ألا وهي الأجسام المضادة التي تُنْتَج كاستجابةٍ مناعية ضد العوامل الدخيلة مثل البكتيريا والفطريات والفيروسات.

تركيب البروتينات

تتكوَّن البروتينات من أحماضٍ أمينية. والأحماض الأمينية هي مركبات عضوية تتَّسِم بميزتَين أساسيتين؛ الأولى هي وجود مجموعة أمينية ($-NH_2$) في أحد طرفيها (الطرف N)، ومجموعة كربوكسيل ($-COOH$) في الطرف الآخر (الطرف C). بالإضافة إلى ذلك، تحمل الأحماض الأمينية سلاسل جانبية مختلفة تمنح كل حمض منها وظائفها الفردية الخاصة. يُطلَق على الأحماض الأمينية الاثنين والعشرين الموجودة في البروتينات الأحماض الأمينية المولِّدة للبروتين (وتتألف من عشرين نوعًا مُتَّفقًا عليه عالميًّا، واثنين من الأحماض الأمينية المُكتشَفة حديثًا)، ولكن توجد أحماض أمينية أخرى لا تعمل بالبروتين. ومن الأمثلة على ذلك حمض جاما أمينوبيوتريك (جابا)، وهو ناقل عصبي يُصَنَّع من الجلوتامات في الدماغ. تُوصف تسعة من الأحماض الأمينية المولِّدة للبروتين بأنها «أساسية» للبشر؛ إذ لا يمكن للجسم تصنيعها، وهو ما يُحتِّم الحصول عليها من خلال النظام الغذائي.

يُشكِّل ارتباط المجموعة الأمينية لحمضٍ أمينيٍّ ما بكربوكسيل حمضٍ أمينيٍّ آخر رابطةً كيميائية تربط الحمضين الأمينيين معًا. يكتمل تكوين هذه الرابطة الببتيدية عن طريق إزالة جزيء ماء؛ لذلك تُعرف كل وحدة فردية في الببتيد أو البروتين باسم بقايا الأحماض الأمينية (انظر شكل ٤-١). تُعرف السلاسل التي تقلُّ عن ٥٠ إلى ٧٠ من بقايا الأحماض الأمينية بالببتيدات أو عديدات الببتيد، بينما تُعرَف تلك التي تزيد عن ٥٠ إلى ٧٠ بالبروتينات، على الرغم من أن العديد من البروتينات يتكوَّن من أكثر من سلسلة عديدة الببتيد. في عام ١٩٤٩، وضع فريدريك سانجر تسلسل أول بروتين، وهو الإنسولين، وحاز عنه جائزة نُوبل في عام ١٩٥٨. وقد أظهر هذا بشكلٍ قاطع أن البروتينات تتكوَّن من سلاسل خطية، وليس من بُنًى مُتفرعة السلسلة كما في النشويات.



شكل ٤-١: تتكوَّن الرابطة الببتيدية بين حمضَين أمينيَّين عن طريق إزالة جزيء ماء.

البروتينات هي جزيئات كبيرة تتكوَّن من سلسلةٍ واحدة أو أكثر من الأحماض الأمينية مطوية في بُنًى ثلاثية الأبعاد شديدة الدقة. ولكل حمض أميني حجم مختلف ويحمل مجموعة جانبية مختلفة. وطبيعة المجموعات الجانبية المختلفة هي التي تُيسِّر عملية الطي الصحيح لسلسلة عديد الببتيد لتكوين بنية بروتينية ثلاثية فعَّالة. كان لينوس باولينج هو أول من طرح الرابطة الهيدروجينية — وهي القوة الجاذبة الضعيفة بين ذرة هيدروجين في جزيء وذرة قريبة سالبة الشحنة — كآليةٍ لتعزيز طي البروتين في بنيةٍ ثلاثية. تتمُّ عملية الطي أيضًا عن طريق التفاعلات الكارهة للماء، حسبما أوضح كلٌّ من والتر كاوزمان وكاج ليندرستروم-لانج لأول مرة. تتجمع سلاسل جانبية كارهة للماء على سلسلة الأحماض الأمينية معًا، وتُطمَر في قلب الجزيء، وبهذه الطريقة تتجنب ملامسة الماء. ينطوي الطي الصحيح للبروتين أيضًا على بروتينات خاصة تُسمَّى الشابيرونات الجزيئية التي تُحفِّز ثَنْيَ وطيَّ البروتين. وعلى ذلك تتكوَّن البروتينات من سلاسل عديدة الببتيد تعمل إما مُنفردة أو كوحداتٍ فرعية مُتعددة الببتيد. يحتوي العديد من البروتينات أيضًا على عوامل مساعدة مرتبطة مثل أيونات المعادن أو المجموعات العضوية مثل مجموعة

الهيم في الهيموجلوبين. وغالبًا ما تُشْتقُّ العوامل المساعدة العضوية من الفيتامينات، مثل فيتامين ب ٦ أو النياسين أو حمض الفوليك.

عندما لا تكون هناك حاجةٌ لوظيفةٍ بعينها من وظائف البروتين أو عندما تُرْهَق هذه الوظيفة، تُمَيَّز البروتينات كي تُدَمَّر وتُفَكَّك ويُعاد تدوير مكوناتها. وتتم عملية إعادة تدوير البروتين هذه بعنايةٍ بحيث لا يُحْتَفَظ بالبروتينات التالِفة أو تلك التي لها وظائف مطلوبة مؤقتًا فحَسْب، وذلك حتى لا تتداخَل مع عمل الخلية. يُقاس عمر البروتين بعمره النِّصفي، الذي يمكن أن يستمرَّ بضع ثوانٍ أو قد يصل إلى سنوات. ويمكن أن يؤدي عدم كفاءة أو عدم اكتمال دوران البروتين إلى تراكُمٍ غير طبيعيٍّ للمواد في الخلايا، والتي تُسبِّب مرض ألزهايمر على سبيل المثال.

كيف ندرس البروتينات؟

ما المعلومات التي نحتاج إليها لفَهم كيفية عمل البروتينات، وماذا يحدث عندما تتعطَّل وظيفتُها عند الإصابة بالمرض؟

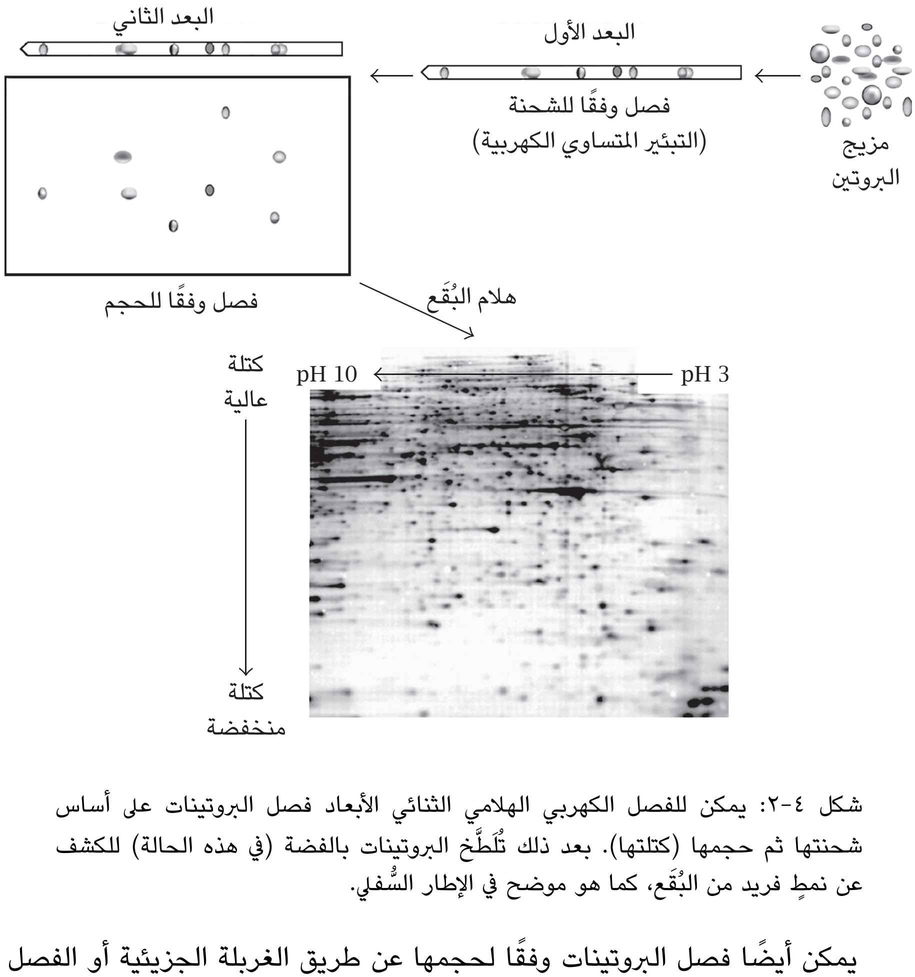
من المهم أولًا أن نكون قادرين على عزْل البروتين محل الاهتمام من «الحساء الخلوي» للجزيئات الكبيرة. والعنصر الحيوي لعملية التنقية هو إيجاد وسيلةٍ لتحديد البروتين محل الاهتمام خلال عملية العزل. ويمكن تحقيق ذلك على أساس الشحنة الإجمالية للبروتين، التي ترجع إلى نوع الأحماض الأمينية الموجودة على سطحه، أو حسب حجمه، وهو ما يعتمد على عدد الأحماض الأمينية التي يحتويها البروتين، أو مزيج من الطريقتَين.

التبئير المتساوي الكهربية والفصل الكهربي الأحادي والثنائي الأبعاد

تتفاوت الأحماض الأمينية في الشحنة التي تحملها عند الرقم الهيدروجيني الفسيولوجي أو معامل الحموضة (حوالي pH 7) وهذا بدوره يؤثر على الشحنة السطحية للبروتين. يمكن تغيير معامل الحموضة لبيئة العينة في المختبر بحيث تُوازِن الأحماض الأمينية السالبة الشحنة التأثير النهائي للأحماض الأمينية الموجبة الشحنة. ويُعرَف معامل الحموضة الذي لا تُوجَد فيه صافي شحنة على بروتينٍ ما بنقطة التساوي الكهربي (pI)، وهي سمة مميزة لتحديد البروتين.

تُفصَل البروتينات على أساس شحنتها السطحية عن طريق وضعها على مواد هلامية تم فيها تثبيت قيمة الرقم الهيدروجيني. وعادة ما تكون المادة الهلامية المستخدَمة هي

مادة الأكريلاميد التي تمتاز بحجمٍ مُوحَّد للمسام ويمكن التحكم فيه بسهولة. تتحرك البروتينات عبر الهلام تحت تأثير تيار كهربائي حتى تستقر عند النقطة التي يتطابق فيها الرقم الهيدروجيني مع نقطة التساوي الكهربي في الهلام. عند هذا المعامل، لا يُوجَد صافي شحنة للبروتين؛ ومن ثم تتوقَّف الهجرة. وينتُج عن ذلك مادة هلامية ببروتينات مُتجمِّعة، يتموضع كلٌّ منها وفقًا لنقطة تَساويه الكهربية.



شكل ٤-٢: يمكن للفصل الكهربي الهلامي الثنائي الأبعاد فصل البروتينات على أساس شحنتها ثم حجمها (كتلتها). بعد ذلك تُلَطَّخ البروتينات بالفضة (في هذه الحالة) للكشف عن نمطٍ فريد من البُقَع، كما هو موضح في الإطار السُّفلي.

يمكن أيضًا فصل البروتينات وفقًا لحجمها عن طريق الغربلة الجزيئية أو الفصل الكهربي. ولتطبيق ذلك، تُغَلَّف البروتينات في مادةٍ مطهرة بحيث يكون لكل منها شحنة

سطحية متطابقة. وهذا بدَوره يمكِّنها من الانفصال بناءً على أحجامها فحسب. ولتسريع عملية الفصل تُسحب البروتينات عبر مصفوفة الغربلة بواسطة تيار كهربائي. تتحرك البروتينات الأصغر حجمًا بشكلٍ أسرع وتجتاز الجزيئات الأكبر التي تتحرك أبطأ في الهلام. يمكن الجمع بين طريقتي الفصل هاتَين بناءً على المقاييس المختلفة للحجم والشحنة في طريقةٍ واحدة ثنائية الأبعاد تُعرَف باسم الفصل الكهربي الهلامي الثنائي الأبعاد. فتُفصَل البروتينات على أساس الشحنة أولًا، ويلي ذلك فصل إضافي تبعًا لحجم البروتين. ويمكن رؤية البروتينات في الهلام من خلال بُقَع خاصة (انظر شكل ٤-٢). يمكن تسجيل الحُزَم أو البُقَع أو إزالتها لإجراء المزيد من التحليلات، مثل قياس مطيافية الكتلة إذا لزم الأمر.

مطيافية الكتلة أو عملية وزن الجزيئات

تُميَّز البروتينات من خلال كتلتها أو حجمها، إلى جانب إجمالي أو صافي شحنتها الكهربية. وهذه هي نسبة الكتلة إلى الشحنة، والتي يمكن قياسها من خلال تقنية قياس مطيافية الكتلة. المبدأ الأساسي الذي تقوم عليه مطيافية الكتلة أن مقدار انحراف جسمٍ مُتحرك بفعل قوةٍ معينة يعتمد على كتلته. على سبيل المثال، إذا ضربَت كرة تنسٍ طاولة بلاستيكية فستنحرف عن مسارها بمسافةٍ أكبر بكثير من كرة التنس العادية تحت تأثير قوة الضربة نفسها. إذا وضعنا الحقول المغناطيسية محلَّ مضرب الكرة أو مضرب التنس في المثال السابق، نجد أن من الممكن استخدامها لتحريف مسار الجسيمات المشحونة كهربيًّا، المعروفة باسم الأيونات الجزيئية. يمكن استخدام هذه التقنية لتحديد عددٍ من البروتينات داخل مزيج يجمع كل البروتينات الموجودة في الخلية باستخدام كمياتٍ صغيرة فقط من مادة البدء. ويمكن استخدامها أيضًا لتحليل البروتينات المعزولة سابقًا. ولتقنية مطيافية الكتلة استخدامات عديدة؛ فهي تُستخدَم في الطب لاختبار الأدوية أو لفحص حديثي الولادة باستخدام السوائل أو الأنسجة البيولوجية، وللكشف عن التلوث البيئي مثل الملوثات في الأنهار، وتستخدمها الصناعات الدوائية عند اختبار خواص الأدوية الجديدة.

دراسة البروتيوم

استخدم مارك ويلكنز مصطلح «البروتيوم» لأول مرة في عام ١٩٩٤ للإشارة إلى جميع البروتينات التي تُعبر عنها خلية أو نسيج أو كائن حي في ظروفٍ محددة. بالنسبة

إلى الكائنات الحية البسيطة، مثل الفيروسات، يمكن استخلاص جميع البروتينات التي شفَّرتها جينوماتها من تسلسُلها، وهذه البروتينات هي ما تحتوي على البروتيوم الفيروسي. أما بالنسبة إلى الكائنات الحية الأكثر تعقيدًا، فيكون البروتيوم الكامل أكبر بكثيرٍ من الجينوم نتيجة للوصل البديل للجينات، ومواقع بدء وتوقف الترجمة المختلفة، والتعديلات اللاحِقة للترجمة. بالنسبة إلى هذه الكائنات، لا تُوجَد كل البروتينات التي يُشفِّرها الجينوم في أي نسيج في أي وقت؛ لذا عادةً ما يُدرَس بروتيوم جزئي. ما يهم هو تلك البروتينات التي يُعبر عنها في أنواعٍ مُعينة من الخلايا في ظروفٍ محددة.

عادة ما تُجرى دراسة البروتيومات عن طريق الفصل الكهربي الثنائي الأبعاد؛ لأن هذه التقنية يمكن أن تفصل ألفي ببتيد. يمكن تحديد الببتيدات باستخدام كتلتها ونقطة تساويها الكهربي كإحداثيات تُقارَن بالمعايير الموجودة في قواعد البيانات. وقد تم تحديد ببتيدات غير معروفة مؤخرًا باستخدام قياس مطيافية الكتلة إلى جانب تقنيةٍ حديثة تُعرف باسم البصمة الوراثية لكتلة الببتيد، مما أحدث ثورةً في دراسة البروتيومات. تمتاز هذه الطريقة بأنها لا تتطلَّب تحديد تسلسُلات الببتيدات، بل كتلتها فحسب. وقد نُشرت مؤخرًا مسودة لخريطة البروتيوم البشري باستخدام هذه الاستراتيجية (١). دمج واضعو هذه المسودة البيانات البروتيومية التي جمعوها من ثلاثين نسيجًا بشريًّا طبيعيًّا مختلفًا، وهو ما مكَّنهم من التعرُّف على البروتينات المشفرة بواسطة ١٧٢٩٤ جينًا، وهو ما يُقدَّر بنحو ٨٤ في المائة من الجينات المشفرة للبروتين في الجينوم البشري. تكمُن أهمية البروتيوم الطبيعي في أنه سيوفر الأساس للبحث في الطرُق التي تتغيَّر بها البروتينات مع الإصابة بالأمراض.

دراسة بِنية البروتين

تعتمد وظائف معظم البروتينات على البنية الثلاثية الأبعاد وإمكانية التفاعُل مع الجزيئات الكبيرة الأخرى أو العوامل المساعدة التي توفِّرها هذه البنية. ولدراسة هذا نحتاج إلى بعض وسائل التكبير التي تُتيح لنا تصوُّر بِنية البروتين على المستوى الذرِّي. وهذا يتطلَّب شكلًا من أشكال الإشعاع الكهرومغناطيسي بأطوالٍ موجية قصيرة بما يكفي لتمييز الذرات؛ لأن الطول الموجي للضوء المرئي طويل جدًّا. تتمتع الأشعة السينية بخصائص الإشعاع الكهرومغناطيسي بأطوال موجية تصل إلى ٠٫١ نانومتر، مما يجعلها مثاليةً لفحص البُنى الذرِّية. خرجت هذه التقنية إلى النور منذ نحو مائة عامٍ بفضل العالم الألماني ماكس

فون لاو مُكتشِف حيود الأشعة السينية للبلورات. عند تمرير الأشعة السينية عبر مجموعةٍ منتظمة من الذرَّات في بلورة، فإنها تتشتَّت، وتتداخَل الموجات الناتجة المختلفة بعضها مع بعض إما عن طريق الإضافة أو الإلغاء. الأمر هنا شبيه بعض الشيء بحركة الأمواج على بركة ماء عند سقوط حجرٍ فيها. يمكن استخدام نمط حيود الأشعة السينية الناتج لإعادة حساب ترتيب الذرات في الجزيئات الأصلية كما رأينا في حالة الحمض النووي.

يمكن أن تشكل البروتينات المنقَّاة بلورات؛ ومن ثم يكون لديها مجموعةٌ منتظمةٌ من الذرات التي يمكن أن تُشتِّت الأشعة السينية لتشكيل نمَط حيود. والوسيلة الأساسية للذرات لتشتيت موجات الأشعة السينية هي من خلال إلكتروناتها، مما يؤدي إلى تشكيل موجاتٍ ثانوية أو مُنعكسة. يمكن التقاط نمط حيود الأشعة السينية الذي يتمُّ من خلال ذرَّات البروتين على لوحٍ فوتوغرافي أو مُستشعِر صور، مثل جهاز اقتران شحنات يُوضَع خلف البلورة. بعد ذلك يُستخدَم النمط والشدة النسبية للبُقَع الموجودة على صورة الحيود لحساب ترتيب الذرَّات في البروتين الأصلي. ويلزم معالجة البيانات المعقَّدة لتحويل سلسلة أنماط الحيود أو التشتت الثنائية الأبعاد إلى صورةٍ ثلاثية الأبعاد للبروتين. كانت أُولى البُنى البروتينية التي اكتُشِفت هي الميوجلوبين والهيموجلوبين في عام ١٩٥٨. ويتجلَّى النجاح المستمر لهذه التقنية وأهميتها بالنسبة إلى علم الأحياء الجزيئي من خلال حقيقة أنه قد تم تحديد ما يقرب من ١٠٠ ألف بنية للجزيئات البيولوجية بهذه الطريقة، مُعظمها لبروتينات. كذلك يُستخدَم تصوير البلورات بالأشعة السينية في الصناعة؛ على سبيل المثال، في المستحضرات الدوائية لمراقبة تفاعلات البروتين الدوائي.

بمجرد تحديد بروتين أساسي في مرضٍ أو عدوى كهدفٍ مُحتمَل لدواءٍ ما، فلا بدَّ من معرفة كيفية عمله على المستوى الذري. تُتيح تقنية تصوير البلورات بالأشعة السينية «رؤية» البنية الثلاثية الأبعاد للبروتين؛ ومن ثَم توفير معلوماتٍ أساسية عن ترتيب الأحماض الأمينية في مواقعها النشطة، وهي المنطقة التي ترتبط فيها الجزيئات ثم تخضع لتفاعلٍ كيميائيٍّ ما. بعد تحديد الأحماض الأمينية في الموقع المستهدَف، يمكن تصميم الأدوية التي من شأنها أن تربط البروتين المعني وتُثبِّط نشاطه. وقد أدَّى علم الأحياء الجزيئي بالاشتراك مع تقنية تصوير البلورات بالأشعة السينية إلى اكتشاف علاجٍ جديد لالتهاب الكبد الوبائي سي، وهو فيروس يُصيب أكثر من ١٧٠ مليون شخصٍ في جميع أنحاء العالم. كان العلاج القياسي السابق لفيروس التهاب الكبد المُزمِن سي يتضمَّن حقن العامل المضاد للفيروسات ألفا إنترفيرون، وكانت له آثار جانبية كبيرة. أُجرِيَ

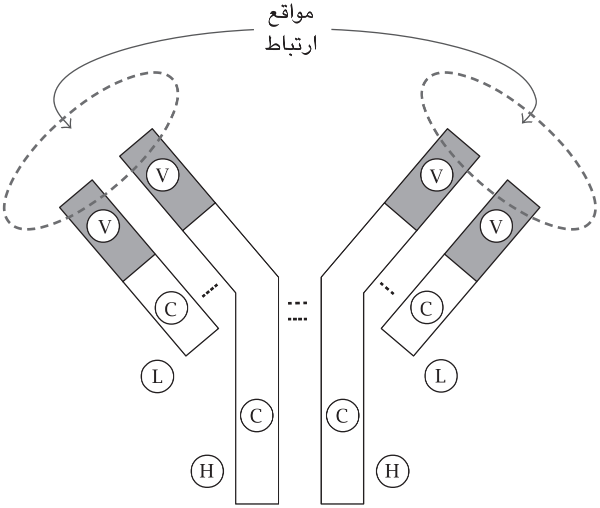
مسحٌ بالأشعة السينية لبنية الإنزيم الأساسي الذي يلعب دورًا في العدوى، وهو إنزيم بروتياز السيرين. بعد تحديد الأحماض الأمينية الرئيسية في الموقع النشط لهذا الإنزيم، صُمِّمت ببتيدات صغيرة يتناسب حجمها مع هذا الموقع وتُثبِّط البروتياز الفيروسي. يُعتبَر بروتياز السيرين هذا ضروريًّا لشقِّ أحد البروتينات الذي يُشفِّره الحمض النووي الريبي لجينوم التهاب الكبد الوبائي سي؛ ومن ثَم يحول تثبيطه دون تكاثُر الفيروس. يلعب بروتياز السيرين دورًا مزدوجًا؛ لأنه يُدمر أيضًا جزءًا من دفاعات الكائن المضيف المضادة للفيروسات. وَيُسوَّق حاليًّا الدواء الذي أصبح تصنيعه ممكنًا من خلال تحليل بُنى البروتين تحت اسم «تيلابريفير» (Telaprevir™).

يؤرشِف البنك العالمي لبيانات البروتينات ما يقرب من ١٠٠ ألف بنية بروتينية جُمِعت منذ عام ١٩٧١. وتُجرى الآن تجربة مركبات مُتعدِّدة البروتينات عن طريق بلورتها بشكلٍ مجزأ ثم ربط الأجزاء الفردية معًا مثل أُحجية الصور المقطوعة. في الوقت الحالي، تحل أجهزة الليزر المتخصِّصة محل شعاع الأشعة السينية. وتشمل البُنى المهمَّة، التي توصَّل العلماء لحلِّها حتى الآن، الخطاف الثلاثي لفيروس نقص المناعة البشرية الذي يَستخدِمه الفيروس لإصابة الخلية التي يُفضلها والارتباط بها من أجل التكاثُر. وتُشبه بنية هذا المركب البروتيني الموجود داخل غلاف الفيروس أرجُل مان الثلاث؛ الرمز الشهير لجزيرة مان.

لا يشكل العديد من البروتينات بلوراتٍ كبيرة ومستقرة؛ لذا فهي لا تُناسب هذه التقنية. وعلى الرغم من نجاح تقنية تصوير البلورات بالأشعة السينية، يُستخدَم الآن التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي كنهجٍ بديل ومُكمل لتوصيف البُنى الجزيئية. تَستغل تقنية التحليل الطيفي بالرنين المغناطيسي النووي الخواص المغناطيسية للنواة الذرية، التي تمتصُّ الإشعاع الكهرومغناطيسي وتُعيد إصداره وفقًا للبيئة الجزيئية المحلية التي تؤثر على نُوِيِّ الذرَّات. لا تُنتج التقنية صورة مباشرة ولكنها تعتمد على الحسابات لإنشاء نماذج ثُلاثية الأبعاد. يمكن تصوُّر هذه التقنية كنوعٍ من التصوير بالرنين المغناطيسي للجزيئات التي تُمكِّن العلماء من حساب بِنية جزيءٍ ما. ولا تُستخدَم فقط لتحديد البُنى الجزيئية، ولكن أيضًا لتحديد تفاعلاتها مع الجزيئات الأخرى، حتى وإن كانت ضعيفةً أو وقتية. وتتمثَّل إحدى فوائدها الأساسية في إمكانية تحديد البُنى باستخدام الجزيئات الموجودة في محلول، وهي ميزةٌ ذات أهميةٍ فسيولوجية أكبر.

الكشف عن البروتين بالوسائل المناعية

يُعرَف أحد الأجسام المضادة باسم الجلوبولين المناعي. تتميز الجلوبولينات المناعية بخصائص تمييز جُزيئي محددة للغاية وترتبط بطريقة «القفل والمفتاح» بمواقع أو مُحددات أنتيجينية بعينها على بروتين آخر يُعرَف باسم الأنتيجين أو المستضد. واعتُبِرَت هذه الدقة العالية أداةً قوية وأساسية للعديد من تقنيات الكشف في علم الأحياء الجزيئي.

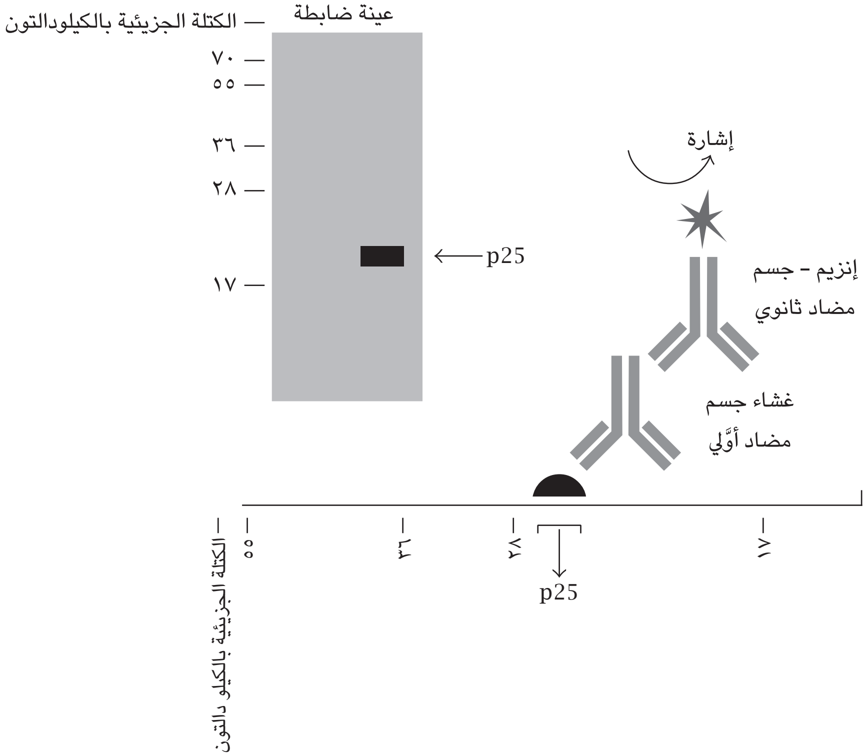


شكل ٤-٣: يتكوَّن جزيء الجلوبولين المناعي من سلسلتين ثقيلتَين (H) واثنتَين خفيفتَين (L) من عديدات الببتيد تُشكل هيكلًا على شكل حرف Y بطرف ثابت (C) وموقعَين مُتغيرَين لارتباط الأنتيجين (V).

يتكوَّن كل جزيء جلوبولين مناعي من أربع عديدات الببتيد، اثنتَين كبيرتَين تُسمَّيان بالسلاسل الثقيلة واثنتَين أصغر تُسمَّيان بالسلاسل الخفيفة. ترتبط هذه السلاسل تَساهميًّا في تكوين على شكل حرف Y. يتَّسِم طرفا الحرف Y بأنهما شديدا التغير، إذ يُشكلان مواقع ارتباطٍ لمجموعةٍ كبيرة من الأنتيجينات. أما ساق الحرف Y، على الجانب الآخر، فتكون ثابتة داخل نطاق الأنواع (انظر شكل ٤-٣). والجلوبولين المناعي هو عضو في فصيلةٍ عُليا من بروتينات الجلوبولين المناعي تدخُل في مجموعةٍ من الوظائف في الجهاز المناعي.

لطخة ويسترن

لطخة ويسترن هي تقنية مناعية تكشف عن البروتينات بعد فصل الهلام. أدخل هاري توبين من معهد فريدريش ميشر بسويسرا هذه التقنية في سبعينيات القرن الماضي، ومع توافر عشرات الآلاف من الأجسام المضادة الأولية تجاريًّا الآن، أصبحت واحدة من الدعائم الأساسية لعلم الأحياء الجزيئي. سُمِّيت التقنية «لطخة ويسترن» تماشيًا مع لطخات الحمض النووي التي تُعرَف باسم لطخة ساذرن التي اكتشفها إدوين ساذرن، ولطخات الحمض النووي الريبي التي أُطلِق عليها اسم لطخة نورثرن. ولكن لا تُوجَد لطخة إيسترن.



شكل ٤-٤: تستخدِم تقنية لطخة ويسترن مزيجًا من الفصل حسب الحجم، وتلطيخ الغشاء والسَّبر باستخدام أجسامٍ مضادة محدَّدة لتحديد بروتينٍ ما وسط مزيج من البروتينات.

فيما يتعلق بلطخة ويسترن، أو اللطخة المناعية البروتينية، تنقل البروتينات المنفصلة من هلام الأكريلاميد عن طريق تحريكها أو تلطيخها على غشاء كي تُصبح في متناول الأجسام المضادة المستخدَمة في عملية كشفٍ مُحدَّدة. ونظرًا لأن الغشاء لدَيه انجذاب شديد للارتباط بالبروتينات، فلا بد عندئذٍ من تثبيط أي قُدرة ارتباط زائدة قبل السَّبر بالأجسام المضادة المحددة أو الأولية التي هي نفسها عبارة عن بروتين. يرتبط الجسم المضاد الأوَّلي بأي بروتين موجود على اللطخة يحتوي على المحدد الأنتيجيني الخاص به. بعد ذلك يُكتَشَف الجسم المضاد الأوَّلي المرتبِط بواسطة جسمٍ مضاد ثانوي يتعرَّف على منطقة الجلوبولين المناعي الثابتة للجِسم المضاد الأولي ويرتبط بها. يأتي الجسم المضاد الثانوي موسومًا بإنزيم مثل البيروكسيداز أو الفوسفاتاز القلوي الذي يعمل بعد ذلك على مادةٍ كيميائية لتحويلها إلى مُنتجٍ نهائي مُلوَّن أو ذي تألقٍ كيميائي مما يُتيح التعرف على البروتين المطلوب وتحديد كميته (انظر شكل ٤-٤).

الكيمياء الهيستولوجية المناعية

شُبِّهت دراسة مُكونات البروتينات بعد نقع الأنسجة بتحديد قائمة الطعام بعد تحويل محتويات طبقك إلى حساء. فحينئذ سيُفقَد الكثير من المعلومات المهمة مثل مكان وجود البروتين في الخلية أو حتى في أي نوعٍ من الخلايا. وغالبًا ما تُشَخَّص الأمراض باستخدام أجزاءٍ رقيقة من النسيج وتحديد البروتينات المرتبطة بأنواع خلايا بعينها أو وظائف أو حالات مرضية مُعينة. وتُعد دراسة التعبير البروتيني في الخلايا الفردية للنسيج أيضًا أمرًا جوهريًّا لأبحاث الطب البيولوجي. في هذه التقنية تكون البروتينات الموجودة في النسيج أو العضو ثابتة أو مرتبطة تصالبيًّا للحفاظ على بِنيتها، وبعد ذلك تُطمَر العينة في وسطٍ ما مثل شمع البارافين. يسمح بقطع أجزاء من الأنسجة بسهولة. بعد ذلك، تُثبَّت أجزاء رقيقة من الأنسجة على شرائح مِجهر زجاجي وتُلطخ بحثًا عن بروتينات مُعينة. عادة ما يحتفظ بالخواص المناعية للبروتين في الأنسجة المثبتة ويمكن استخدامها مع أجسامٍ مضادة مُحدَّدة لتحديد بروتينٍ ما بطريقةٍ مماثلة لتقنية لطخة ويسترن. في تقنية الكيمياء الهيستولوجية المناعية، يمكن ربط الجسم المضاد الثانوي بفلوروفور يعمل على تضخيم الإشارة عند تنشيطها لتتوهَّج تحت المجهر. وكبديل، يمكن ربط الجسم المضاد الثانوي بإنزيمٍ ينتج مُنتجًا ملونًا في موقع البروتين محل الاهتمام، وهو ما يمكن رؤيته من خلال مجهرٍ ضوئي. وغالبًا ما يُطبَّق مُلوِّن مُباين لإبراز ملامح العينة مثل النواة وغشاء الخلية قبل الفحص والتخزين.

التكرار الجيني ونظائر البروتين

أدت الأخطاء في استنساخ الحمض النووي على مدى ملايين السنين إلى إنتاج نُسَخ مكررة من جينات موروثة معينة. يمكن أن تتطور هذه النسخ المكررة بعد ذلك على نحوٍ منفصل لإنتاج بروتينات أو نظائر مماثلة تعمل بشكلٍ مختلف. ويُعتبر التكرار الجيني آليةً مُهمة أخرى في تطور الكائنات الحية المعقَّدة تؤدي إلى تكوين نظائر البروتين أو الأشكال الإسوية. وخير مثال على ذلك إنزيم الإينولاز الذي ينشَط في عملية تَحلُّل الجلوكوز المنتجة للطاقة. يملك هذا الإنزيم ثلاثة نظائر في الفقاريات، ألا وهي ألفا وبيتا وجاما، والتي تَنتُج عن حدثي تكرار جيني. يُعبَّر عن الإينولاز بشكلٍ كبير في الأنسجة الجلايكولية مثل الدماغ والعضلات والكبد التي لكلٍّ منها احتياجات عالية من الطاقة. يحفز الإينولاز الخطوة قبل الأخيرة في تحلُّل الجلوكوز عن طريق تحويل ٢ فوسفوجليسرات إلى فوسفو-إينول حمض البيروفيك. يتم التعبير عن شكل ألفا على نطاقٍ واسع في الكبد، وهو الشكل الوحيد الموجود فيه. أما البيتا إينولاز فهو يخصُّ العضلات، ويخصُّ جاما إينولاز الخلايا العصبية وخلايا الغُدَد الصمَّاء العصبية. وبهذه الطريقة يمكن للأنسجة المختلفة التعبير عن أشكالٍ مختلفة من البروتين نفسه. نشأت نظائر الإينولاز من حدث تكرار جيني واحد في مرحلة مُبكرة من تطور الفقاريات متبوعًا بتكرارٍ ثانٍ أدى إلى ظهور نظائر بيتا وجاما منفصلة. وتُعتبَر بروتينات بيتا وجاما هي الأكثر ارتباطًا بين النظائر الثلاثة.

البروتينات المتعددة الوظائف أو «التقاسُم الجيني»

يُعتبر الإنسان أكثر الكائنات الحية تعقيدًا في الطبيعة، وينعكس ذلك في الحجم النسبي للبروتيوم البشري، الذي يفوق في تعقيده تعقيد حجم الذبابة ثلاث مرات. ويتجاوز عدد البروتينات في الكائنات الحية الأعقد عدد الجينات المُشَفِّرَة المعروفة بكثير. وتُعتبر حقيقة أن العديد من البروتينات يؤدِّي وظائف متعددة ولكن بطريقةٍ منظمةٍ هي إحدى الطرق التي ينشأ بها بروتيوم مُعقد دون زيادة عدد الجينات. وقد اكتسبت البروتينات التي أدَّت دورًا واحدًا لدى أسلافنا من الكائنات وظائفَ إضافيةً ومُتباينة في كثيرٍ من الأحيان من خلال التطور.

توصل كلٌّ من بياتيجورسكى وويستو في عام ١٩٨٧ إلى اكتشافٍ مذهل وهو أن البروتينات الشفافة في عدسة العين لدى الفقاريات، والمعروفة باسم الكريستالين، كانت في

الواقع نفس البروتينات مثل بعض الإنزيمات المحللة للجلوكوز في تكسير الجلوكوز لإنتاج الطاقة. في عيون البط، كان الكريستالين من نوع إبسيلون هو عبارة عن إنزيمٍ نازعٍ لهيدروجين اللاكتات، بينما تبين أن الكريستالين من نوع تاو في السلاحف هو إنزيم ألفا إينولاز الذي يُحلل السكر. تتراكم هذه الإنزيمات في العدسة وتصل إلى تركيزاتٍ عالية جدًّا حيث يبدو وجود دورٍ أيضي بعيد الاحتمال. ولكن من المحتمل أن يكون لها وظيفة بنيوية فقط. والموقع النشط للإنزيم المستخدَم في التحفيز ليس إلا جزءًا صغيرًا من البروتين، وهو ما يترك سعة فائضة لاكتساب وظيفةٍ ثانية.

وتُعد الإنزيمات التي لها أدوار أخرى بالإضافة إلى التحفيز من بين الأمثلة الأكثر شيوعًا لتقاسم هذا الجين. يدخل مسار تحلل السكر في تكسير السكريات مثل الجلوكوز لإطلاق الطاقة. وقد طور العديد من إنزيمات هذا المسار القديمةِ والمحفوظةِ بشدةٍ وظائف ثانوية أو وظائف «تقاسمية». وغالبًا ما تُغير البروتينات موقعها في الخلية لأداء «وظيفة ثانية». وهكذا يؤدي إنزيم الإينولاز في السيتوبلازم وظيفته التحفيزية لمسار تَحلُّل السكر، بينما تكون وظيفته بنيويةً في العدسة، ولكن عندما يكون موجودًا في الغشاء الخلوي، اتضح أن له دورًا في الاستجابات الداعمة للالتهابات.

قد لا يكون الحجم المحدود للجينوم هو الضغط التطوُّري الوحيد الذي يدفع البروتينات للتقاسم الجيني. يمكن أن يكون للجمع بين وظيفتَين في بروتينٍ واحدٍ ميزة تنسيق أنشطة متعدِّدة في الخلية، مما يمكِّنها من الاستجابة بسرعةٍ للتغيرات البيئية دون الحاجة إلى عمليات نسخ وترجمة طويلة. وقد وصف اختصاصيُّو علم الأحياء الجزيئي المهتمون بالتصاق الخلية وتنظيم الهيكل الخلوي هذا الأمرَ لأول مرة عندما كانوا يدرسون بروتين البيتا-كاتينين. يتم التعبير عن البيتا-كاتينين على نطاق واسع على سطح الخلية وله دور في الحفاظ على شكل الخلية وسلامة النسيج الطلائي. تخيَّل دهشة العلماء عندما وجدوا أنه البروتين نفسه الذي كان يُدْرَس بسبب نشاطه النسخي داخل النواة. يعتبر الدور المزدوج لهذا البروتين مَنطقيًّا من الناحية البيولوجية؛ لأنه ينسق إشارات سطح الخلية مع الاستجابات النسخية. فبدلًا من مجرد تدمير البيتا-كاتينين الذي أُزيح من سطح الخلية، صار يُستخدَم كمنشطٍ لعملية النسخ. ويُعد هذا مثالًا رائعًا للتقاسُم الجيني البروتيني الذي يربط تغييرًا بنيويًّا على سطح الخلية بمسار الإشارات.

ويؤدِّي فقدان التصاق الخلية بخليةٍ أخرى إلى إطلاق البيتا-كاتينين حيث يُنْقَل إلى النواة ليقوم بدَوره الثاني كعامل نسخٍ ينشط مجموعة من الجينات اللازمة للتكاثر.

الأشكال الإسوية للبروتين التي تنتُج من جين واحد

الأشكال الإسوية للبروتين هي أشكال مختلفة من البروتين نفسه بالأساس، ويمكن أن تختلف في موقعها إما داخل الخلية أو بين أنواع الخلايا المختلفة. ويمكن معالجة الحمض النووي الريبي من جين واحد على نحوٍ مختلف لتشكيل العديد من المنتجات الجينية الشديدة الترابط أو الأشكال الإسوية للبروتين التي لها وظائف متنوعة. وتُعد عملية الوصل البديل للحمض النووي الريبي الأولي إحدى الوسائل التي يمكن من خلالها إنتاج بروتيناتٍ مختلفة من الجين نفسه. كذلك تنشأ الأشكال الإسوية للبروتين عن طريق استخدام إشارات بدءٍ وتوقفٍ بديلةٍ أثناء الترجمة لإنتاج عائلاتٍ من البروتينات مُتشابهة وظيفيًّا، ولكنها تختلف تنظيميًّا. وخير مثالٍ على ذلك هو الجين TP53. جين TP53 مسئول عن تشفير عائلة من البروتينات، ألا وهي البروتين الكامل FLp53، وأحد عشر شكلًا إسويًّا أقصر تنشأ باستخدام مواقع بدء بديلة وتوصيل بديل للإكسونات لإنتاج جزيئات من الحمض النووي الريبي المرسال (٢). لم تُحدَّد بعدُ الأهمية البيولوجية لجميع الأشكال الإسوية الاثني عشر، ولكن من المؤكد أنها تلعب دورًا في ترجمة إشارات الإجهاد إلى سلوكٍ للحفاظ على البقاء يعتمد على التوازن الداخلي.

تعديلات ما بعد الترجمة

كما يُوحي مصطلح تعديلات ما بعد الترجمة، فهو عملية أخرى يمكنها تعديل دور أحد البروتينات عن طريق إضافة مجموعات كيميائية إلى الأحماض الأمينية في سلسلة الببتيد بعد الترجمة. على سبيل المثال، تُعتبر إضافة مجموعات الفوسفات (الفسفرة) آلية شائعة لتفعيل أو تثبيط نشاط إنزيم بعينِه. وتشمل تعديلات ما بعد الترجمة الشائعة الأخرى إضافة مجموعات الأسيتيل (الأستلة)، أو الجلوكوز (الجلكزة أو الارتباط بالجليكوزيل)، أو مجموعات الميثيل (المَثْيَلَة). يمكن أيضًا إضافة بروتينات صغيرة مثل اليوبيكويتين (الارتباط باليوبيكويتين) الذي يمكن أن يغير وظيفة بروتينٍ ما. بعض الإضافات قابلة للعكس، مما يسهل التبديل بين الحالات النشطة وغير النشطة، والبعض الآخر لا رجعةَ فيه مثل وسم البروتين باليوبيكويتين لتدميره.

تسلط الأمراض الناجمة عن حدوث خللٍ في هذه التعديلات الضوء على أهمية تعديلات ما بعد الترجمة. يتَّسِم مرض ألزهايمر، على سبيل المثال، بالفشل في «إعادة تدوير

البروتينات البنيوية في الدماغ. فيتراكم البروتين الذي يُطوى بطريقة خاطئة في الخلايا العصبية، مما يضعف وظيفتها ويؤدي في النهاية إلى موت الخلايا وفقدان الخلايا العصبية. والمثال الآخر يحدث في مرض السكري. يؤدي ارتفاع مستويات الجلوكوز في الدم إلى عمليةٍ غير مرغوبةٍ من ارتباط البروتينات بالجليكوزيل أو الجلكزة. وعند تركيزات الجلوكوز المرتفعة المرتبطة بمرض السكري، يؤدي تفاعل كيميائي غير مرغوب فيه وغير قابل للعكس إلى ربط الجلوكوز ببقايا الأحماض الأمينية مثل اللايسينات المكشوفة على سطح البروتين. بعد ذلك، تتصرف البروتينات المرتبطة بالجليكوزيل بشكلٍ سيئ؛ إذ ترتبط تصالبيًّا بالنسيج البيني الموجود خارج الخلية. ويشكِّل هذا خطورةً على وجه الخصوص في الكُلى، حيث ينقص من وظيفتها ويمكن أن يؤدي إلى الفشل الكلوي.

البريونات

البريونات هي بروتيناتٌ تتطلَّب نقاشًا خاصًّا؛ لأنه عند تعرُّضها للطيِّ الخاطئ يمكن أن تُسبب أنواعًا من «العدوى» الإسفنجية المدمِّرة، مثل مرض جنون البقر.

اشتقَّ ستانلي بروسينر مصطلح «بريون» (prion) في عام ١٩٨٢ من كلمتَي «بروتين» (protein) و«عدوى» (Infection). والبريونات هي المسئولة عن هذه الأمراض المعدية المميتة التي تصيب الأنسجة العصبية ولا يمكن علاجها، مثل مرض كروتزفيلد-جيكوب ومتغيره الذي يعرف باسم مرض «جنون البقر». البريون، أو بروتين البريون، هو نسخة مطوية بشكل غير صحيح من بروتين طبيعي. عندما تحتك النسخة الطبيعية من البروتين بالبريون، يتسبب ذلك في اختلال طي البروتين الطبيعي، مما يحفز تفاعلًا متسلسلًا. يعتمد المرض على وجود البروتين الطبيعي في تكاثره. يُطْوى الشكل المرضي لبروتين البريون (PrP^{Sc}) مشكلًا تكتلًا لا يمكن لآليات دوران البروتين إزالتُه ويؤدي تراكمه إلى موت الخلايا. ويؤدي هذا إلى ظهور الشكل الإسفنجي المميز للأنسجة العصبية المصابة. في البشر، يكون البروتين الطبيعي (PrP^{C}) لـ ٢٠٩ من الأحماض الأمينية فقط مرتبطًا بالغشاء حيث يُعتقد أنه يؤدي وظيفةً في عملية التصاق الخلية والتواصل. تتكاثر البريونات عن طريق ربط البروتين الطبيعي (PrP^{C}) بنهايات لييفات البروتين الطبيعي (PrP^{Sc}) المتكتِّلة؛ ومن ثم تحويلها إلى الشكل المرضي. ونظرًا لأن تكاثُر البريون يتضمَّن تغييرات في تشكل البروتين فقط، دون المساس بتسلسُل الجينات أو تغييرها؛ فالبريونات، عمليًّا، ليست استثناءً للمبدأ الأساسي لعلم الأحياء الجزيئي الذي ينصُّ على انتقال المعلومات من الحمض النووي إلى الحمض الريبي ثم إلى البروتين.

الفصل الخامس

التفاعلات الجزيئية

كل خلية منوَّاة ثنائية الكروموسومات في الجسم — باستثناء الخلايا البائية والتائية الخاصة بالجهاز المناعي — لها نفس جينوم بويضتها الفردية المخصبة. أثناء التطور، تتحول هذه الخلية المفردة إلى كائنٍ حي معقد متعدد الخلايا يحتوي على خلايا وأنسجة مختلفة تؤدي كلٌّ منها وظائف متخصصة. وعلى الرغم من أن كل خليةٍ تحتوي على جينوم من البيانات، فهي تحتاج إلى تحديد المعلومات ذات الصلة من هذا المخطط الوراثي لإتمام وظيفتها المحددة. لا بد أن تُنْتَج البروتينات في المكان والزمان المناسبَين. وهذا يتطلَّب تنظيم التعبير الجيني إلى جانب عددٍ لا يُحصى من التفاعلات البيولوجية الجزيئية لتنسيق ذلك. فهذه التفاعلات تتطلَّب نشاطًا متزامنًا بين البروتينات، وجزيئات الحمض النووي الريبي، والحمض النووي، وعلم الأحياء الجزيئي تكمُن في صميم فَهْمنا لعمليات التحكُّم هذه.

التنظيم على مستوى الكروماتين

تنشط مجموعاتٌ فرعيةٌ فقط من الجينات في كل نوعٍ من أنواع الخلايا وفي كل مرحلةٍ من مراحل التطور. يحدد نمط التعبير الجيني سلوك الخلية وهُويتها، مثل ما إذا كانت خلية دم بيضاء أو حيوانًا منويًّا أو خليةً كبدية. يُنظم التعبير الجيني على مراحل عديدة، منها تنظيمه على مستوى النسخ. تحدث عملية تنظيم النسخ بشكل أساسي في مرحلة ما قبل البدء. ويتحقق ذلك مبدئيًّا على مستوى الكروماتين من خلال التحكم في الوصول إلى منطقة تشفير الحمض النووي الخاصة بآلية النسخ. يتكوَّن الكروماتين من الحمض النووي وبروتينات الهيستون التي لا تثبِّت الحمض النووي فحسب، بل تلعب دورًا أيضًا

في التحكُّم في النسخ. يؤدي انضغاط الكروماتين بواسطة الهيستونات إلى إسكات الجينات، ولكي يُنْسَخ الجين، لا بد من فكِّ بنية الكروموسوم الموجودة حوله للسماح بالوصول إلى عوامل النسخ (TF) والجزيئات المساعدة. وعوامل النسخ هي بروتينات ترتبط بتسلسُلات مُعينة على الحمض النووي لتعزيز أو منع نسخ الجينات القريبة. تتمثل إحدى الآليات الأساسية لإسكات الجينات، وبخاصة أثناء التطوُّر الجنيني، في إعادة تشكيل الكروماتين عن طريق مركبات بروتينية خاصة. وهذه المركبات مطلوبة لتعديل الهيستون الذي يؤدي إلى إسكات الكروماتين على المدى الطويل في الخلايا المتمايزة.

تحدث عملية إعادة تشكيل الكروماتين لتنظيم التعبير الجيني أيضًا بصفةٍ مؤقتة عن طريق إضافة مجموعات كيميائية مثل الميثيل والأسيتيل إلى بروتينات الهيستون، أو إزالتها منها كآلية ديناميكية للحفاظ على الجينات نشطةً أو صامتة. ويعرف ذلك بالشفرة الهيستونية. تعمل تعديلات الهيستون، مثل الأستلة بواسطة إنزيمات مُعينة، على فك انضغاط الكروماتين، مما يسمح لعوامل النسخ بالوصول إلى مواقع بدء النسخ؛ ومن ثم تحفيز نسخ الجينات. في المقابل، يؤدِّي نزع الأسيتيل — عبر إنزيماتٍ مُعينة أيضًا — إلى زيادة انضغاط الكروماتين ويسبب استقطاب البروتينات التي تثبط النسخ.

التنظيم على مستوى النسخ

تُعتبر السهولة التي يمكن من خلالها لبوليمراز الحمض النووي الريبي وعوامل النسخ الوصول إلى جينٍ بعينه عنصرًا واحدًا فقط في عملية تنظيم التعبير الجيني. يمكن أن تعمل عوامل النسخ كمنشطات أو مُثبطات وفقًا لطبيعة العوامل المساعدة التي تستقطبها إلى الحمض النووي. ويُوجد العديد من الآليات المختلفة للتحكم في نشاط عامل النسخ، منها التوطين داخل الخلايا. يجب أن تعمل عوامل النسخ داخل النواة بحيث يمكن الحفاظ عليها في شكل غير نشط عبر الاحتفاظ بها في السيتوبلازم. ويتحقَّق التنشيط السريع لها من خلال إطلاقها من المركب السيتوبلازمي المثبط مما يمكِّنها من دخول النواة ونسخ مخزونها الخاص من الجينات. وتُعد هذه وسيلة للتنشيط السريع للجينات المطلوبة بشكلٍ عاجل. والمثال على ذلك العامل النووي المعزز لسلسلة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة (NFkB) الذي يُحتفَظ به في مركب غير نشط في السيتوبلازم حتى يصير مطلوبًا لإحداث استجابة للإجهاد كالتي تثيرها العدوى. ينطوي تنشيط العامل النووي المعزز لسلسلة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة

على تحلل البروتين الخاص بمثبِّطه، وتحريره للدخول إلى النواة حيث يمكنه تنشيط نسخ الجينات ذات الصلة. في حالة العامل النووي المعزز لسلسلة كابا الخفيفة في الخلايا البائية النشطة، تكون هذه الجينات من النوع الداعم للالتهابات. ويُعبر البشر عن عامل نسخ واحد على الأقل لكل عشرة جينات. تتحكم عوامل النسخ في طريقة نسخ الجينات وكيفية استقطاب بوليمراز الحمض النووي الريبي. وتتحد عوامل النسخ مع البروتينات الوظيفية والتنظيمية الأخرى للتعبير عن مجموعةٍ معينة من البروتينات التي تتطلبها الخلية.

في المختبر، تُستخدم تقنيات مثل الترسيب المناعي للكروماتين (CHiP) لتحديد تسلسُلات الحمض النووي التي ترتبط بها عوامل النسخ. في تقنية الترسيب المناعي للكروماتين، يثبت الحمض النووي والبروتينات المرتبطة به (الكروماتين) أولًا لربط الحمض النووي والبروتينات المرتبطة معًا ربطًا تصالبيًّا. مع ارتباط الحمض النووي والبروتينات بشكلٍ ثابت، ينقسم الكروماتين إلى أجزاءٍ أصغر، إما ميكانيكيًّا أو باستخدام الإنزيمات الهاضمة. يمكن بعد ذلك ترسيب هذه الأجزاء الصغيرة مناعيًّا بشكلٍ انتقائيٍّ باستخدام أجسامٍ مضادةٍ خاصةٍ ببروتين ربط الحمض النووي محل الاهتمام. بعد ذلك، تُنقَّى أجزاء الكروماتين المترسبة وتُجرى عملية تسلسل الحمض النووي. وبهذه الطريقة، يمكن تحديد التسلسلات الجينومية التي يرتبط بها البروتين المعني.

التنظيم عن طريق التسلسلات المعززة

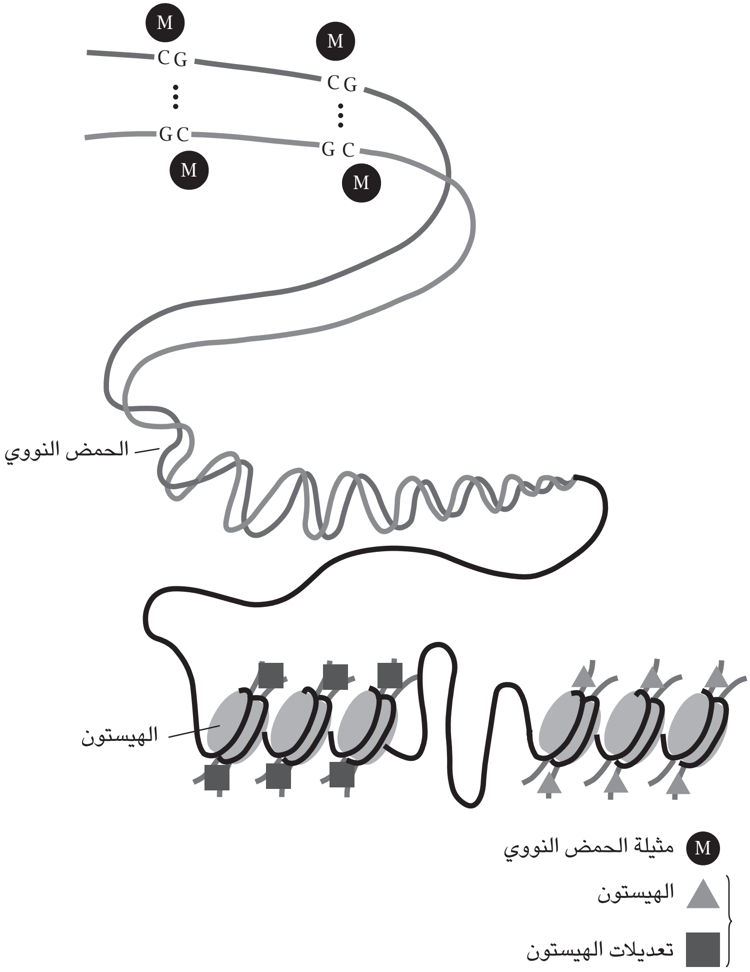
التسلسلات المعززة هي مناطق غير مشفرةٍ من الحمض النووي، يتراوح طولها بين ٢٠٠ إلى ١٠٠٠ زوج قاعدي وتُوجَد في منطقة المحفز. يمكن أن ترتبط جزيئات المعزز أو المثبط بالتسلسلات المعززة وتؤثر على قدرة عامل النسخ على تنشيط المحفز. قد يكون للمُحفز ما يصل إلى أربعة أو خمسة تسلسلات مُعززة تقع إما بالقُرب من المحفز أو حتى على مسافةٍ منه؛ نظرًا لأن «حلقات الحمض النووي» يمكن أن تجذبها بحيث تُصبح على مسافةٍ قريبةٍ منه. حتى عندما يرتبط بوليمراز الحمض النووي الريبي بمُحفز، يظل بحاجةٍ إلى مجموعةٍ أخرى من العوامل لتسمح له بالابتعاد عن مُرَكَّب المحفز والبَدْء في نسخ الحمض النووي الريبي بنجاح. ويُوجَد مستوًى آخر من التحكُّم في تحديد وقت إنهاء نسخ الحمض النووي الريبي.

التنظيم عن طريق التغيرات فوق الجينية

يتكوَّن الجينوم البشري من ٢٠ ألفًا من الجينات المُشَفِّرَة للبروتين، ولكن لا يتم التعبير إلا عن نصف هذه الجينات فقط بالنسبة لأي خليةٍ بعينها. بعض الجينات مطلوبة لدى كل خليةٍ تقريبًا لإدارة عمليات الترتيب والتنظيم، ولكن البعض الآخر مُخصَّصٌ لبناء السلالة الخلوية، مثل الهيموجلوبين في خلايا الدم الحمراء. يُوقَف العديد من الجينات أثناء عملية التمايز الخلوي، والآلية الرئيسة لذلك هي التخلق أو التغيرات فوق الجينية. اشتُقَّ مصطلح التخلُّق (epigenetics) من الكلمة اليونانية (-epi) التي تعني «على أو فوق»، للدلالة على مستوًى من التحكُّم يضاف إلى شفرة الحمض النووي أو يعمل فوقها. وتعدُّ هذه هي الآلية التي «تُوسَم» من خلالها الجينات للتعبير أو عدم التعبير عنها كجزءٍ من عملية انتقاء. يعمل التغير فوق الجيني على برمجة الخلية بحيث يمكنها انتقاء المعلومات الموجودة في الجينوم والمطلوبة لتخصُّصها الوظيفي. ويظلُّ التسلسل الأساسي للشفرة الجينية سليمًا ويمرَّر إلى الخلايا البنوية أثناء انقسام الخلية إلى جانب أي تغيرات فوق جينية متخصِّصة. والتعريف المُجمَع عليه للسمات فوق الجينية في اجتماع عام ٢٠٠٨ الذي عُقد في كولد سبرينج هاربور بالولايات المتحدة الأمريكية، ينصُّ على أنها «نمط ظاهري وراثي ثابت ناتج عن تغيرات في أحد الكروموسومات دون حدوث تغيرات في تسلسل الحمض النووي». ينطوي التخلُّق أو التغيُّر فوق الجيني على التغيير الكيميائي الذي يحدث في الحمض النووي بفعل الميثيل أو مجموعات جزيئية صغيرة أخرى للتأثير على قدرة آلية النسخ على الوصول إلى جينٍ بعينه (انظر شكل ٥-١).

يُحفَظ التسلسل الجينومي في جميع أنواع الخلايا، ولكن يمكن أن يختلف المشهد ما فوق الجينومي إلى حدٍّ كبير، مما يُسهم في التعبير الجيني المتميز المطلوب للوظائف البيولوجية.

تُبين حالة فأر الأجوطي بوضوحٍ حقيقة أن التغييرات في النمط الظاهري أو المظهر يمكن أن تحدُث بوسائل أخرى غير الجينات الوراثية للحمض النووي. فيمكن للفئران المتطابقة جينيًّا التي تحمل جينًا للسمنة ولون الفراء الأصفر (أجوطي) أن تكون إما سوداء — إذا كان غذاء أُمهاتها يشتمل على فيتامين ب الغني بحمض الفوليك — أو صفراء إذا كان النظام الغذائي للأُم يفتقر إلى حمض الفوليك. يعد حمض الفوليك مصدرًا أساسيًّا لمجموعات الميثيل المستخدَمة في مَثْيَلَة الحمض النووي. وغياب حمض الفوليك،



شكل ٥-١: الاختلافات ما فوق الجينية تتكوَّن من مثيلة الحمض النووي وتعديلات الهيستون.

وغياب المثيَلة بالتبعية، يمنع جين الأجوطي في الأجنة من التشبط؛ ومن ثَمَّ يكون للنسل فراء أصفر ويصبحون بَدِينين ويُصابون بالسكري، ويصيرون عرضةً لخطر الإصابة بالسرطان حتى لو اتَّبعوا نظامًا غذائيًّا عاديًّا. أما في وجود حمض الفوليك، والمثيَلة بالتبعية، فيمكن للأجنة الحاملة لجين الأجوطى إيقافه عن طريق تعديل الحمض النووي.

الحفاظ على العلامات فوق الجينية أثناء انقسام الخلية

ينتج تعديل الحمض النووي عن طريق المثيَلة عن تحويل السيتوسين إلى ٥-ميثيل سيتوسين، بواسطة إنزيمات تُعرَف بناقلات ميثيل الحمض النووي (DNMTs). ويُصنَّف هذا التعديل كتعديلٍ فوق جيني؛ لأنه لا يُغير الشفرة الجينية القابعة في تسلسل الحمض النووي الأصلي. وعادة ما تكون بقايا السيتوسين الميثيلي ملاصقةً مباشرة لنوكليوتيد الجوانين (CG)، وهو ما يؤدي إلى وجود اثنَين من بقايا السيتوسين الميثيلي يقبعان متقابلَين قُطريًّا على شريطي الحمض النووي المتقابلَين (انظر شكل ٥-١). أثناء الانقسام الخلوي، تؤدي الطبيعة شِبه المحافظة لعملية تضاعف الحمض النووي في البداية إلى ظهور الحمض النووي شِبه الميثيلي حيث يحتفظ الشريط الأصلي بعلامات المثيَلة بينما يكون الشريط المُخَلَّق حديثًا غير مُمثيَل. بعد تخليق الحمض النووي مباشرة، يتعرَّف أحد إنزيمات ناقل ميثيل الحمض النووي — المخصص للحفاظ على إشارات المثيَلة — على مواقع الـ CG (قواعد السيتوسين-الجوانين) شبه الممثيَلة هذه ويُمثيِل السيتوسين المدمج حديثًا. ويعمل هذا على المحافظة على نمط المثيَلة المتطابق للحمض النووي الأصلي. وبهذه الطريقة، يُحتفَظ بالعلامات فوق الجينية ونمط تنظيم الجينات الذي كان موجودًا في الخلية الأصلية كما هو في الخلايا البنوية وعبر جميع الانقسامات الخلوية المتعدِّدة اللاحقة.

تُحدد التغييرات الوراثية فوق الجينية ما إذا كانت معلومات وراثية بعينها ستتمُّ قراءتها أم لا، ومتى وكيف سيتمُّ ذلك. والوراثة ما فوق الجينية هي وسيلة لضمان انتقال العلامات فوق الجينية من الخلية الأصلية إلى الخلية البنوية، وربما من جيلٍ إلى آخر.

الانتقال الوراثي للعلامات فوق الجينية

لا تنتقل البصمات فوق الجينية إلى الخلايا الجسدية البنوية فحسب، بل يمكن أيضًا نقلها عبر الخط الجنسي إلى النسل. وكانت هذه مفاجأة للعلماء؛ لأن معظم مثيَلة الحمض النووي تُزال في الجنين وآليات توريث النمط فوق الجيني لم تُفْهَم بعد. ولكن بدأ العلماء في العقد الماضي في تسجيل أمثلةٍ توضح أن التعرُّض للعوامل البيئية لدى الآباء ينتقل إلى ذُريتهم من خلال حدوث تغييرات في مثْيَلة الحمض النووي.

في عام ٢٠٠٥، أُفِيدَ أن الرجال البريطانيين الذين بدءوا التدخين قبل سنِّ البلوغ كانوا أكثر عرضةً لخطر إنجاب أولاد يزيد وزنهم عن المتوسط. وبالمثل، ورَّث الرجال

السويديون الذين عانوا من المجاعة في طفولتهم أحفادهم خطرًا أقلَّ للإصابة بأمراض القلب أو السكري. السؤال الذي يطرح نفسه هو ما إذا كانت العوامل البيئية مثل الإهمال في التربية والرعاية، أو النظام الغذائي، أو الملوثات المحمولة جوًّا يمكن أن تؤثر على الأجيال اللاحِقة من خلال توليد تغييرات وراثية ولكنها فوق جينية في الحمض النووي للخط الجنسي. في البداية، بدا الدليل غير مباشر، ولكن دراسات أحدث قدَّمت دليلًا مباشرًا على انتقال التغيرات فوق الجينية التي تنطوي على المثيَلة الجينية وراثيًّا. وقد قدمت نماذج القوارض أدلةً ميكانيكية على ذلك. فقد أنجب الذكور الذين تغذَّوا على أطعمةٍ عالية الدهون ذُريةً من الإناث تحمل مثيَلةً متغيرة للحمض النووي في البنكرياس. كذلك أدَّت النظم الغذائية المنخفضة البروتين في ذكور الفئران إلى إنجاب ذُريةٍ ذات تعبيرٍ جيني مختلف في التمثيل الغذائي للكوليسترول في أكبادهم. وكان لدى الفئران في مرحلة ما قبل الإصابة بمرض السكري مثيَلةٌ متغيرة للحمض النووي للحيوانات المنوية، تسببت في زيادة خطر إصابة الجيلين التاليين من النسل بمرض السكري.

يأتي المزيد من الأدلة من دراسةٍ مذهلةٍ ولكنها مُثيرة للجدل نشرَها براين دياز وزملاؤه في عام ٢٠١٣ تُظهر أن الفئران التي ربطت بين الخوف ومادة الأسيتوفينون الكيميائية، نقلت هذه المعلومات إلى ذُريتها (١). يرتبط الأسيتوفينون بمستقبلٍ أنفيٍّ يشفره الجين المعروف باسم Olfr151. وأدى التعرض للرائحة المخيفة إلى تغيرات فوق جينية في هذا الجين في الحمض النووي لحيواناتها المنوية. وأدى ذلك بدوره إلى زيادة مستويات هذا المستقبل الأنفي بالذات وزيادة الحساسية للرائحة. وبهذه الطريقة ينتقل الخوف من رائحةٍ خطيرة محسوسة إلى الأجيال القادمة. من الممكن أن تكون هناك ظاهرة مماثِلة هي المسئولة عن نقل بعض المخاوف عبر الأجيال عند البشر. وعلى الرغم من أن الآلية الكامنة وراء وراثة الإشارات فوق الجينية غير مؤكدة، فإن أهمية التخلُّق في التطوُّر تبرُز من خلال حقيقة أن انخفاض حمض الفوليك في النظام الغذائي — وهو عنصر غذائي أساسي للمثيَلة — قد ارتبط بزيادة خطر ظهور عيوب خلقية في النسل.

كذلك وُجِد أن جزيئات الحمض النووي الريبي القصيرة التي ترتبط بالحمض النووي وتؤثر على التعبير الجيني؛ قد تورَّطت أيضًا في نَقْل التأثيرات البيئية إلى النسل. يتم التعبير عن ثمانيةٍ وعشرين من جزيئات الحمض النووي الميكروية هذه بشكلٍ مُتمايزٍ في الحيوانات المنوية للرجال المدخِّنين وغير المدخنين.

وجدت دراسة أسترالية قادها ميشيل لين أن ذكور الفئران البدينة يمكن أن تنقل مقاومة الإنسولين إلى الجيلين التاليين من خلال التعبير غير الطبيعي لجزيئات الحمض النووي الميكروية الموجودة في حيواناتهم المنوية.

التفاعلات الجينية مع البيئة

إن دور المعززات والتغيُّرات فوق الجينية في إحداث تغيُّراتٍ في التعبير الجيني، ومن ثم قابلية الإصابة بالاضطرابات، صار مقبولًا على نطاقٍ واسع، ولكن ما أصبح ذا أهميةٍ كبيرةٍ في الوقت الراهن وكذا مُثيرًا للجدل هو كيفية تفاعُلها مع البيئة. الجين الأول الذي يرتبط بالسلوك الاجتماعي هو شكل مختلف من الكروموسوم X لجين MAOA الذي يُنتج إنزيم أوكسيديز أحادي الأمين A. يُضعف هذا الإنزيم النواقل العصبية كالدوبامين والنوربينفرين والسيروتونين في الدماغ مما يؤثر على مستوياتها، ما يؤثر بدوره على حالاتنا المزاجية. وتُعَد مثبطات نشاط جين MAOA من العقاقير الشائعة الاستخدام في علاج الاكتئاب والقلق السريري. تُسبِّب الطفرات في جين MAOA مُتلازمة برونر التي تتَّسِم بالسلوك العنيف والاندفاعي. فنقص نشاط الإنزيم الطافر يؤدِّي إلى زيادةٍ في الناقلات العصبية الأحادية الأمين، مما يتسبب في السلوك الذي نراه في هذه المتلازمة. كذلك يمكن أن تُسبب مستويات التعبير عن النمط الشائع لهذا الجين أيضًا اختلافات سلوكية. يحتوي جين MAOA على نوعَين من التسلسُلات المعززة الواقعة عند منبع المحفِّز. يرتبط الشكل الأقصر بانخفاض التعبير عن الإنزيم، وقد أطلق عليه «الجين المحارب» لأنه يُعزِّز الصفات المرتبطة بالمقاتِلين الناجِحين. غير أن هذا الجين المتغير ذا التعبير المنخفض إذا اجتمع مع التعرُّض لسوء المعاملة أثناء الطفولة، قد يؤدِّي إلى زيادة خطر السلوك العدواني والمُعادي للمجتمع. وقد ربطت الدراسات بين مَثيَلة جين MAOA وانخفاض التعبير وبين الاعتماد على النيكوتين والكحول لدى النساء ولكن ليس لدى الرجال. ومن المثير للاهتمام أن المثيَلة فوق الجينية لهذا الجين منخفضةٌ جدًّا عند الرجال.

التخلُّق وتعطيل الكروموسوم X

لدى الإناث نُسختان من الكروموسوم X بينما يملك الذكور نسخةً واحدة فقط؛ لذا لتجنُّب النشاط المفرط للجينات المرتبطة بالكروموسوم X لدى الإناث، يُثبط نشاط نسخة واحدة. تدخل الإشارات فوق الجينية بمستوياتٍ عالية من مثيَلة الحمض النووي في إسكات نسخةٍ

واحدة من الكروموسوم X. يغلف كروموسوم X غير النشط في كروماتين مضغوط أو كروماتين مُغاير يحافظ على إسكات أغلب الحمض النووي من حيث النسخ. يُغطَّى هذا الكروموسوم بالحمض النووي الريبي الطويل غير المُشَفِّر المختص بتعطيل الكروموسوم X (يعرف اختصارًا باسم إكسيست، وهو نسخة مُحدَّدة غير نشطة من الكروموسوم X) — لا يعبر عنها إلا بكروموسوم X غير النشط — ما يؤدي إلى إسكات جيناته الأخرى. يمكن أن يحدث تعطيل مَعيب أو مشوه للكروموسوم X، وارتبط ذلك بأمراضٍ مختلفة، من ضمنها المناعة الذاتية والتوحُّد والسرطان. ويحدث ذلك من خلال عكس تعطيل نشاط X في الأمشاج الأنثوية بحيث تحتوي جميع خلايا البويضات على نسختَين من الكروموسوم X النشط. يكون تعطيل X عشوائيًّا في الثدييات المشيمية، ولكنه ينطبق دائمًا على الكروموسوم X المأخوذ من الأب في الجرابيات. ومن المثير للاهتمام أن الخلايا الجنينية المقدر لها أن تُصبح جزءًا من المشيمة يُعطَّل فيها جميعًا كروموسوم X المأخوذ من الأب.

ثمة مثال على تعطيل الكروموسوم X يشيع في قطط صدفة السلحفاة ذات الفراء المتعددة الألوان. تمتاز فراء قطط صدفة السلحفاة ببُقَع سوداء وأخرى بُنية فاتحة أو برتقالية مُشكِّلة نمطًا يُشبه صدفة السلحفاة. تظهر هذه الفراء الملوَّنة فقط عند الإناث؛ لأن جينات لون الفراء تقع على الكروموسوم X. ينتج عن التعطيل العشوائي لكروموسوم التشفير الأسود X أو لكروموسوم التشفير البُني الفاتح X التأثير الفسيفسائي المميز لِلَون الفراء الذي يُشبه صدفة السلحفاة. تحدث عملية التعطيل العشوائي للكروموسوم X، أو تعطيل الصبغي إكس، في وقتٍ مُبكر من التطوُّر الجنيني المعروف باسم مرحلة الأريمة. جميع خلايا الجلد التي تنحدِر من خليةٍ أريمية مُفردة أو قسيم أريمي ستُعبر عن نفس التعطيل للكروموسوم X. تتطور بعض هذه الخلايا إلى خلايا منتجة للصبغة أو خلايا ميلانينية تُهاجر إلى الجلد حيث تختلط لتُعطي مظهر الفراء المبقَّعة البُنية المميزة.

لذلك يمكن أن يعمل التخلُّق على التعبير الجيني دون التأثير على استقرار الشفرة الجينية عن طريق تعديل الحمض النووي، أو الهيستونات في الكروماتين، أو كروموسوم بأكمله.

التعبير الجيني وما وراءه

يجب أن يستجيب التعبير عن الجينات الفردية أيضًا للضغوط الداخلية والبيئية من أجل توفير البروتينات اللازمة للإشارات والمسارات الأيضيَّة؛ لكي تؤدِّيَ وظائفها. تخضع

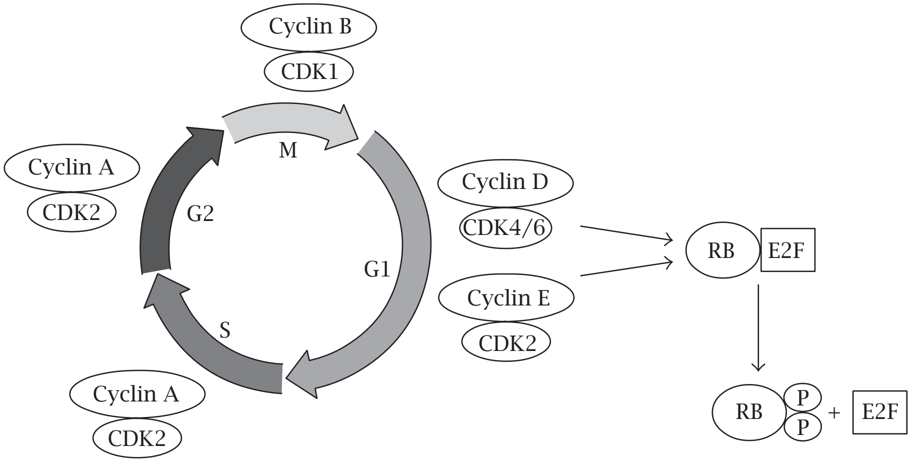
هذه الجينات لمجموعةٍ منظمةٍ بإحكامٍ من الضوابط التي يمكن أن تشمل مُنشطات ومثبطات النسخ، وجزيئات الحمض النووي الريبي الميكروية، وإعادة تشكيل الهيستون، والتعديلات فوق الجينية مثل مَثيَلة الحمض النووي.

التفاعلات الجزيئية التي تحافظ على رقم الخلية

إن التحكم في التعبير الجيني ليس مُهمًّا فقط لنمو الجنين، ولكن أيضًا لحفظه أو الحفاظ على توازُنه طوال الحياة. لنتأمل الجلد على سبيل المثال؛ على الرغم من موت نحو ٤٠ ألف خلية كل ساعة، فإننا نحتفظ بغطاء حماية سليم وأملس. تُعتبر العلاقة بين موت الخلايا وتجديدها مفتاحًا للحفاظ على العدد الصحيح للخلايا في الجسم، وهو ما يتطلَّب تنظيمًا مُنضبطًا زمنيًّا للتعبير الجيني، بالإضافة إلى عددٍ لا يُحصى من التفاعلات الجزيئية. ويُعدُّ فقدان التنظيم الجيني وما يترتَّب عليه من انهيارٍ للارتباط بين موت الخلية وعمليات دورة الخلية أيضًا مفتاحًا لعددٍ من الأمراض مثل مُتلازِمات المناعة الذاتية والسرطان.

انقسام الخلية

يُعَد التعبير عن البروتينات القائم على الوقت أمرًا مُهمًّا لمسارات القيادة التي يتطلَّب الأمر فيها أن تسير وظائفها بشكلٍ تسلسُلي، وخير مثالٍ على ذلك هو التحكُّم في انقسام الخلايا. في كل مرةٍ تنقسِم فيها الخلية ميتوزيًّا، لا بدَّ أن يتضاعَف الحمض النووي الجينومي تمامًا وبدقَّة تامةٍ ثم يُوزع بالتساوي بين الخليتَين البنويتَين. والفشل في تحقيق ذلك يؤدي إلى حدوث طفراتٍ يمكن، حال استمرار وجودها، أن تحمل خطر الإصابة بالسرطان، أو تؤدي إلى موت الخلايا إذا كانت قاتلة. ويُعد موت الخلايا وسيلةً مهمةً لكبح الورم ولكن يمكن أن يكون له آثار شيخوخة. ولذلك تُعتبر التفاعلات الجزيئية والتنظيم المطلوبَان لدورة الخلية المؤدية إلى انقسام الخلية، عمليتَين مُركبتين ومحكومتين بشدة. ودورة الخلية هي عمليةٌ أُحادية الاتجاه يتمُّ التحكُّم فيها عن طريق التعبير المتسلسل والتدريجي للبروتينات التنظيمية التي تُسمَّى السايكلينات. للحفاظ على الدقة الجينية، يُوجَد ترتيبٌ زمني مُعين للتعبير عن هذه البروتينات وبدء نشاطها. تتفاعل البروتينات الأساسية الأخرى، بما في ذلك تلك التي تُشكل حواجز عبور صارمة بين مراحل دورة الخلية (انظر شكل ٥-٢).



شكل ٥-٢: تنقسِم دورة الخلية إلى مراحل: طور النمو الأول (G1)، والتخليق (S)، وطور النمو الثاني (G2)، ومرحلة الانقسام الميتوزي (M). تُحفَّز الدورة من خلال إنزيمات الكيناز المعتمِد على السايكلين (CDKs)، وتنشط هذه الإنزيمات عن طريق الارتباط بالسايكلين المُعبَّر عنه تسلسليًّا.

تنقسم دورة الخلية إلى مراحل؛ المرحلة الأولى تُعرَف باسم Gap1 أو G1 أو طور النمو الأول، وهي مرحلة نمو تُحضَّر فيها الخلية لعملية تناسخ الحمض النووي. ينشئ النشاط خلال طور النمو الأول (G1) عمليةَ الانتقال من طور النمو الأول إلى مرحلة التخليق أو المرحلة S. في هذه المرحلة، تكون الخلية ملتزمةً بمُضاعفة الحمض النووي. بعد مرحلة التخليق، تدخل الخلية مرحلة نموٍّ ثانية أو G2، قبل الانقسام النهائي وإتمام الانقسام الميتوزي (M). لذا، يحدث النسخ المنظم لدورة الخلية على ثلاث مراحل رئيسة تتوافق مع نقاط الانتقال الرئيسة لدورة الخلية، وهي G1 إلى S وG2 إلى M وM إلى G1.

تتحكم البروتينات التنظيمية المُعبَّر عنها مؤقتًا، التي تُسمَّى السايكلينات، في التقدم المُحرَز خلال عملية انقسام الخلية عن طريق تنشيط إنزيمات تُسمَّى إنزيمات الكيناز المعتمِد على السايكلين. وقد أدى اكتشاف هذه الجزيئات المحورية إلى منح جائزة نوبل في الفسيولوجيا أو الطب لكلٍّ من بول نيرس وتيموثي هَنت في عام ٢٠٠١. تعمل إنزيمات الكيناز المعتمد على السايكلين التي يُنشطها السايكلين على البروتينات المستهدفة لتنسيق عمليات الانتقال خلال مراحل دورة الخلية.

أول نواتج هذه العملية هو السايكلين دي، ويُنتَج عادة استجابةً لمحفِّزات النمو. بعد ذلك يرتبط سايكلين دي بإنزيمات الكيناز المعتمد على السايكلين CDK4 and 6، مما يؤدي إلى تنشيطهما. يعمل المركب المُنشَّط على فسفرة بروتين الورم الأرومي الشبكي، الذي سُمِّي بهذا الاسم نظرًا لأن نقص هذا البروتين يُعزِّز تكوين أورام الشبكية الأرومية في العين. يُطلق بروتين الورم الأرومي الشبكي المفسفر عامل النسخ E2F الذي كان مرتبطًا به سابقًا. ينتقل عامل النسخ E2F الآن إلى النواة ويُنشِّط نسخ الجينات المشفرة للبروتينات الضرورية لانقسام الخلية، بما في ذلك السايكلينات الأخرى إيه وإي وبي وإنزيم بوليمراز الحمض النووي.

يؤدي الانتقال من طَور النمو الأول (G1) إلى مرحلة التخليق (S) إلى انقسام الخلية؛ ومن ثم فهو يشكل نقطة تقييدٍ محكومة بشدة. وانسحاب عوامل النمو، أو عدم كفاية النوكليوتيدات أو الطاقة لإتمام تناسُخ الحمض النووي، أو حتى وجود قالب دي إن إيه تالف، من شأنه أن يعرض العملية للخطر. لذا تُكْتَشَف المشكلات وتتوقَّف دورة الخلية بواسطة مُثبطات دورة الخلية قبل أن تُصبح الخلية ملتزمةً بمضاعفة الحمض النووي. تُوجَد عائلتان من مثبطات دورة الخلية، تعرف الأولى بعائلة بروتين إنزيمات الكيناز المعتمِد على السايكلين المتفاعل (cip) أو البروتين مثبط الكيناز (kip)؛ أما الثانية فتعرف بمثبط الكيناز 4 (INK4) أو إطار القراءة البديل (ARF). تعمل مُثبِّطات دورة الخلية على تعطيل نشاط إنزيمات الكيناز التي تُعزز الانتقال عبر المراحل؛ ومن ثم توقِف دورة الخلية. يرتبط بروتين INK4a أو p16 بـ إنزيم CDK4 مما يمنع فسفرة بروتين الورم الأرومي الشبكي، ويمنع بَدْء تكاثُر الخلايا. ويُعد تنظيم انقسام الخلايا مثالًا على التحكم الجزيئي الرائع. يمكن أيضًا إيقاف دورة الخلية مؤقتًا في مرحلة التخليق لإتاحة الوقت لإجراء إصلاحاتٍ على الحمض النووي قبل انقسام الخلية. وعواقب الانقسام الخلوي غير المنضبط كارثيةٌ للغاية لدرجة أن التطوُّر قد قدَّم ضوابط وتُوازناتٍ معقدةً للحفاظ على الدقة. وثمن الفشل في تحقيق ذلك هو الاستماتة أو الموت المبرمج للخلية الحية.

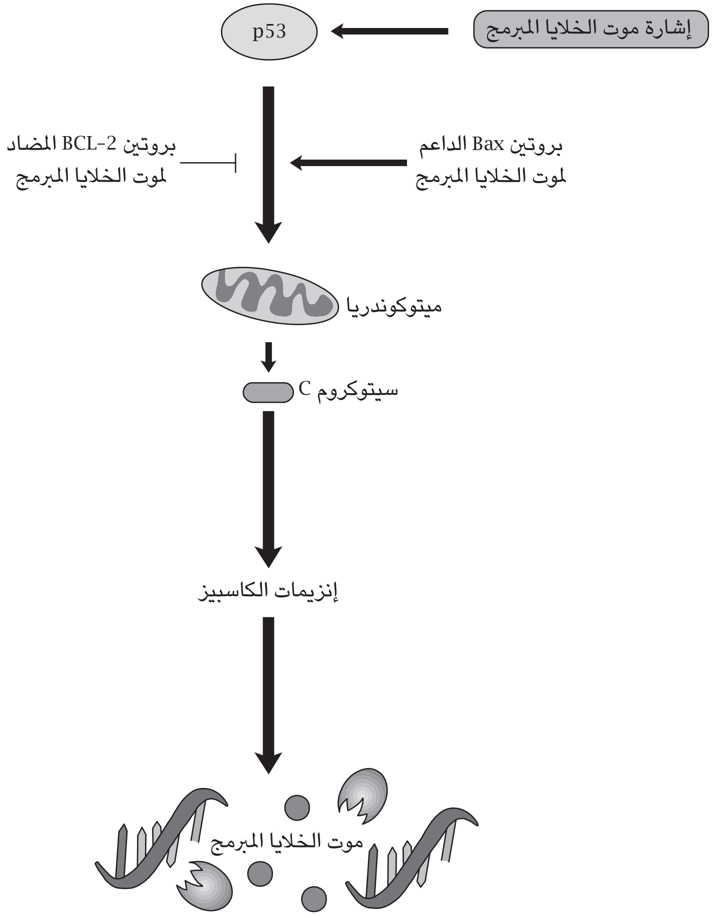
الموت المبرمج للخلايا وموت الخلايا

أُطلقت كلمة Apoptosis، وهي كلمة يونانية تعني سقوط أوراق الخريف، على الاستماتة أو الموت المبرمج للخلايا، وهذا على النقيض من الموت الصدمي للخلايا أو النخر. يؤدي

ضرب إبهامك بمطرقةٍ إلى حدوث نخر تتسرَّب فيه المحتويات الخلوية إلى سوائل الأنسجة المحيطة مما يؤدي إلى حدوث تفاعُل التهابي ضار ونابض. في المقابل، يموت ما بين خمسين إلى سبعين مليار خلية كل يوم لدى الشخص البالغ من خلال عملية الموت المبرمج للخلايا الجزيئية المحكومة. تنتج هذه الطريقة المبرمجة لموت الخلية أجزاءً خلوية مرتبطة بالغشاء تبتلعها الخلايا المحيطة بسرعة. ويمكن أن يؤدي فرط الموت المبرمج للخلايا إلى الشيخوخة المبكرة أو الضمور، في حين أن فك الاقتران بين مسار موت الخلايا المبرمج وبين إشارات التلَف الخلوي يدعم تكوين الأورام السرطانية.

نشر أندرو وايلي بالتعاون مع ألاستير كيري وجون كير من جامعة أبردين الورقة البحثية المبتكرة التي تصِف أهمية موت الخلايا المبرمج في عام ١٩٧٢ (٢). بعد ذلك مضى سيدني برينر وجون سالستون في تحديد الجينات المشاركة في العملية. يمكن أن يحدث موت الخلايا المبرمج عن طريق المستقبِلات الخارجية المُنَشَّطَة على غشاء البلازما أو من خلال مُستشعرات التوتر والإجهاد الداخلية، التي تتضمَّن بشكلٍ أساسي الجين p53. بغض النظر عن المحفز الأوَّلي، تتلاقى مسارات موت الخلايا المبرمج في الميتوكوندريا مما يتسبَّب في فقدان سلامة الغشاء وإطلاق السيتوكروم C، وهو وسيط قوي في عملية موت الخلايا المبرمج. ويؤدي هذا بدوره إلى تنشيط عائلة من إنزيمات البروتياز الموجودة داخل الخلايا تُعرَف باسم إنزيمات الكاسبيز التي تحلل العضيات الخلوية والكروماتين بسرعةٍ بطريقة تتجنَّب بها الاستجابات الالتهابية التي تظهر عادة بعد نخر الخلية.

تنشط إنزيمات الكاسبيز بفعل إنزيمها المولد غير النشط في صورة سلسلةٍ تعمل على تحطيم البروتينات في العضيات الخلوية والكروماتين بسرعة، بينما تعمل إنزيمات النوكلياز الداخلي على تكسير الحمض النووي، وينتهي ذلك بتدمير الخلية. تنظم أعضاء عائلة بروتينات سرطان الغدد الليمفاوية للخلايا البائية أو Bcl-2 مسار موت الخلايا المبرمج، بعضها عن طريق التثبيط، والبعض الآخر عن طريق التعزيز. ويُعتبَر بروتين Bcl-2 أول عضو في العائلة يتمُّ وصفه ويشتقُّ اسمه من ورم الغُدد الليمفاوية للخلايا البائية حيث وُجِد مُعبرًا عنه بشكل شاذ. ولكن في الأنسجة الطبيعية يُعزز بروتين Bcl-2 بقاء الخلايا السليمة عن طريق تثبيط موت الخلايا المبرمج. من ناحيةٍ أخرى، يعزز البروتين X المرتبط ببروتين Bcl-2 — أو Bax — موت الخلايا عن طريق الارتباط بـ Bcl-2 وتثبيطه. يرتبط بروتين Bax المُنَشَّط بغشاء الميتوكوندريا مما يجعل الغشاء راشحًا، وهو



شكل ٥-٣: يبدأ موت الخلايا المبرمج بسبب التوتر داخل الخلايا من خلال الإشارة التي تُطلِق السيتوكروم C من الميتوكوندريا وتُنشِّط سلسلة الكاسبيز مما يؤدي إلى تدمير الخلية.

ما يؤدي إلى إطلاق السيتوكروم C. ويتسبَّب هذا بدوره في بدء التسلسل الانتحاري الذي ينتج عنه موت الخلايا المبرمج (انظر شكل ٥-٣). والجين p53 هو المسئول عن تنشيط بروتين Bax الذي يُنفِّذ وظيفة هذا الجين، ألا وهي موت الخلايا المبرمج. ويؤدي التعبير غير المنظم عن بروتين Bcl-2 أو أي عضو آخر من أعضاء عائلة مُثبطات الموت إلى البقاء غير المبرَّر للخلية، وهي عملية شائعة في بعض أنواع السرطان.

يُعَد تنظيم التعبير الجيني أمرًا حيويًّا أثناء الحياة لتحديد الاستجابات لكلٍّ من الضغوط الداخلية والبيئة. تتضمن العمليات طبقاتٍ مُعقدة من التحكم، بدءًا من تعديل الحمض النووي والكروماتين، والتحكم في النسخ ومعالجة الحمض النووي الريبي، وصولًا إلى إنتاج البروتين وتنشيطه. والفشل في تنظيم التعبير الجيني له ثمن باهظ يؤدي إلى المرض والوفاة.

الفصل السادس

الهندسة الوراثية

كما رأينا، تُمكِّننا عمليات استنساخ الجينات من إنتاج كميات كبيرة من تسلسل الحمض النووي بحيث يمكن دراسة وظيفته. يمكن أيضًا تطبيق هذه التقنيات في الطب والزراعة لإنتاج البروتينات البيولوجية أو كائنات حية كاملة بسماتٍ جديدة أو معدلة وراثيًّا. ويأتي في صميم هذه التطبيقات القدرة على إنتاج البروتينات من جينات مُستنسخة في الخلايا المضيفة. وتُسمَّى هذه البروتينات بالبروتينات المُعادة التركيب؛ إذ تُنتَج من الحمض النووي المعاد التركيب.

من مزايا البروتينات المعادة التركيب إمكانية إنتاجها بكمياتٍ كبيرة جدًّا بتكلفة زهيدة نسبيًّا. ويمكن أيضًا استخلاصها من المضيف الذي استُنْسِخَت فيه بسهولة أكبر مقارنة بالمصادر الأصلية مثل سوائل الحيوانات أو الإنسان أو الأنسجة أو النباتات. على سبيل المثال، كان العامل الثامن، وهو بروتين تخثُّر الدم، الذي يُستخدَم في علاج مرضى الهيموفيليا، يُشتقُّ سابقًا من مصادر حيوانية أو بشرية. غير أن كِلا المصدرين يوفران كميات قليلة فقط، وعُرِفَ أن المرضى يصابون بفيروس نقص المناعة البشرية والتهاب الكبد الوبائي سي نتيجة الجزيئات الفيروسية الملوثة التي كانت تُستخلَص في الوقت نفسه. وبذلك يمكن للبروتينات المعادة التركيب أن تقضي أيضًا على خطر الإصابة بالأمراض المعدية. ثمة فائدة أخرى للبروتينات المعادة التركيب وهي إمكانية تعديل الجين، وهو ما يتم غالبًا من خلال أساليب استحداث الطفرات معمليًّا، لإنتاج بروتينات ذات وظائف مُحسَّنة أو جديدة.

يتم إنتاج البروتين المعاد التركيب عن طريق إدخال تشفير الحمض النووي لأحد البروتينات المعنية في ناقلٍ مُصمَّمٍ خِصيصى لذلك. تحمل نواقل التعبير هذه سماتٍ تُتيح استنساخ الجينات، وتحمل، بالإضافة إلى ذلك، تسلسلات مُحفزٍ ومُنهٍ من أجل عمليتي النسخ والترجمة في المضيف الغريب. وقد أصبحت عملية التنقية مُمكنةً عن طريق وسْم

البروتين بواسمةٍ لفصله عن جميع البروتينات الأخرى التي تُنْتَج في المضيف. ولكي يكون البروتين مُفيدًا، لا بد أن يعمل بكامل طاقته، وغالبًا ما يتطلب ذلك طيَّ البروتينات المُخلَّقة حديثًا بشكل صحيح، وإجراء تعديلات ما بعد الترجمة، مثل إضافة مجموعات السكر. قد يشكل هذا تحدِّيًا تقنيًّا، ولكن بالرغم من الصعوبات، فقد تم تصنيع عددٍ كبير من البروتينات المعادة التركيب.

المستحضرات الدوائية المعادة التركيب

يُعتبر البروتين العلاجي أحد الأنواع الأساسية للبروتينات المعادة التركيب، ويُسمى أيضًا بالمستحضرات الصيدلانية الحيوية أو المستحضرات الدوائية الحيوية. يُوجَد العديد من الأمراض التي تنشأ بسبب غياب بروتين معين أو إنتاج بروتين معيب. ويمكن معالجة هؤلاء المرضى بإعطائهم نسخةً سليمة من هذا البروتين.

كان أول بروتين معاد التركيب متوافر تجاريًّا يتم إنتاجه للاستخدام الطبي هو الإنسولين البشري لعلاج داء السكري. ينتج هذا المرض عن نقص هرمون الإنسولين البروتيني اللازم لاستخدام الجلوكوز في الجسم. ويؤدِّي نقص الإنسولين إلى تراكم الجلوكوز في الدم والبول، مما يُعطل وظائف خلوية عديدة، ويمكن أن يتسبَّب في النهاية في الوفاة. كان الإنسولين سابقًا يُنقَّى من بنكرياس الأبقار والخنازير. غير أنه لم يكن مُتاحًا إلا بكمياتٍ قليلة، وكانت عملية تنقية البروتين صعبة، وكانت استجابة الأجهزة المناعية لدى بعض المرضى عكسية. وللتغلُّب على هذه المشاكل، صمَّمت شركة «إيلي ليلي» بروتين الإنسولين البشري المعاد التركيب. عُزل الجين البشري، واستُنسِخَ في ناقلٍ وتم التعبير عنه في خلايا بكتيريا الإي كولاي أو الإشريكية القولونية. ووافقت إدارة الغذاء والدواء الأمريكية على الإنسولين المعاد التركيب للاستخدام السريري في عام ١٩٨٢.

ومنذ ذلك الحين، حصل أكثر من ٣٠٠ دواء معاد التركيب قائم على البروتين على تصريح كلٍّ من إدارة الأغذية والدواء الأمريكية ووكالة الأدوية الأوروبية، لعلاج مجموعةٍ متنوعة من الاضطرابات، من بينها الهيموفيليا والتهاب المفاصل والنوبات القلبية والسرطان، ويخضع عدد آخر منها للتجارب السريرية.

يمكن إنتاج البروتينات العلاجية في الخلايا البكتيرية، ولكن في أغلب الأحيان تُستخدَم خلايا الثدييات مثل خط خلايا مبيض الهامستر الصيني والخلايا الليفية البشرية؛ لأن هذه الخلايا المضيفة أقدر على إنتاج بروتينٍ بشريٍّ يعمل بكامل كفاءته. غير أن استخدام

خلايا الثدييات مُكلفٌ للغاية والبديل هو استخدام الحيوانات الحية أو النباتات. وهذا ما يُسمَّى بالزراعة الجزيئية وهي طريقةٌ مُبتكَرةٌ لإنتاج كمياتٍ كبيرةٍ من البروتين بتكلفةٍ زهيدةٍ نسبيًّا. وغالبًا ما تستخدم الأغنام أو الماعز أو الأبقار أو الأرانب في الزراعة الجزيئية الحيوانية. وكان أول بروتين علاجي أُنتِج في الحيوانات الحية هو أترين (ATryn) في حليب الماعز، وهو عقار يمنع تجلط الدم. وفي سبيل ذلك، ضُمِّم حمض نووي مُستنتسَخ يحمل التشفير الجيني لعامل تخثر الدم، مرتبطًا بتسلسُلٍ محفز. اختِيرَ تسلسل المحفز خصِّيصى لتوجيه إنتاج البروتين حيث تقتضي الحاجة؛ في حليب الماعز في حالة عقار أترين. يُحْقَن الحمض النووي المستنسَخ في بويضة مخصبة مأخوذة من أُنثى تزاوجت حديثًا، حيث يندمج في جينوم المضيف. بعد ذلك تُزرع البويضة المخصبة في قناة البيض لأنثى ماعز حاضنة، ويُعبِّر النسل الذي يولَد عن البروتين الموجود في حليبها. يُستخلَص البروتين من الحليب ويُحوَّل إلى منتجٍ دوائي، كأقراص على سبيل المثال.

أُفيدَ مؤخرًا أيضًا إنتاج أدوية لعلاج السرطان في بياض بيض الدجاج. وفي هذه الحالة يُجمَع بين التشفير الجيني لبروتين مُعين مُشتق من البشر مع تسلسلات من جينوم الدجاجة بحيث يُوجَّه إنتاج البروتين إلى بياض البيضة.

أما في الزراعة الجزيئية النباتية، فيُستخدم التبغ والأرز والذرة والبطاطس والجزر والطماطم لإنتاج البروتينات العلاجية. تُشبه هذه العملية عملية الزراعة الجزيئية الحيوانية حيث ينقل الجين المعني بالإضافة إلى تسلسلات مُحفز مُعينة إلى الخلايا النباتية باستخدام ناقل. يُختار المحفز لتوجيه الإنتاج إلى أجزاء معينة من النبات، سواء الأوراق أو البذور أو الفاكهة، حسب الرغبة. وتُعَد الزراعة الجزيئية مجالًا مُثيرًا للجدل في مجال استنساخ الجينات؛ لأنه يعتمد على إنتاج كائنات أو نباتات مُعدَّلة وراثيًّا، تحمل جينوماتها حمضًا نوويًّا من كائنٍ حي آخر غير ذي صِلة.

الأجسام المضادة وحيدة النسيلة

ثمة فئة أخرى من البروتينات التي يمكن تخليقها باستخدام تكنولوجيا الاستنساخ الجيني هي الأجسام المضادة العلاجية. والأجسام المضادة هي بروتينات يُنتجها الجسم استجابةً لعدوى فيروسية أو بكتيرية أو أي عدوى مرَضية أخرى. تُدافع الأجسام المضادة عن الجسم من خلال الارتباط ببروتينات معينة (الأنتيجينات أو المستضدات) موجودة على سطح المواد المسببة للأمراض وتستهدفها من أجل تدميرها. تُصمَّم الأجسام المضادة

العلاجية لتكون أحادية النسيلة؛ أي أنها مُصمَّمة بحيث تكون موجهة للارتباط بأنتيجين مُعين، وذلك لمنع تأثيراته الضارة. في السابق، كانت الأجسام المضادة وحيدة النسيلة تُخلَّق عن طريق دمج الخلايا المنتجة للأجسام المضادة؛ الخلايا الليمفاوية البائية من فأرٍ أو جرذ مُحصن ضد المرض مع خلايا ورم موجودة في فأر. وتنتج عن ذلك خلايا خالدة تُسمى الأورام الهجينة أفرزت الجسم المضاد المطلوب. غير أن الأجسام المضادة للقوارض لها استخدام محدود؛ لأنها ليست مُستقرة في البشر بشكلٍ خاص، ويمكن أن تؤدي إلى ردود فعلٍ تحسُّسية. وقد أصبح بالإمكان الآن تكوين أجسام مضادة متوافقة مع البشر باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية. ويتضمن ذلك استبدال مناطق تشفير الأجسام المضادة البشرية بأجزاء تشفير الحمض النووي الخاصة بالجسم المضاد للقوارض والتعبير عن الجسم المضاد في الخلايا المضيفة. كان أول جسمٍ مضاد أُحادي النسيلة من الفئران يُعتمد استخدامه هو «موروموناب» في عام ١٩٨٦ لعلاج رفض الزرع (زراعة الأعضاء) لدى المرضى. يعمل موروموناب عن طريق الارتباط بمركب كتلة التمايز (CD3) البروتيني المستقبِل الموجود على سطح نوع من الخلايا المناعية تُسمى الخلايا التائية. تدخل الخلايا التائية في تكوين استجابةٍ مناعية للتخلُّص من المواد الغريبة. وعندما يرتبط الموروموناب بالخلايا التائية، تُثبط الاستجابة المناعية ويُمنَع رفض الزرع.

يعتبر «بيفاسيزوماب» (Bevacizumab)، المعروف تجاريًّا باسم أفاستين (Avastin™)، مثالًا لأحد أوائل الأجسام المضادة الأحادية النسيلة المتوافقة مع البشر. يُستخدَم أفاستين لعلاج سرطانات القولون والمستقيم والثدي والرئة. صُمِّم الجسم المضاد ليرتبط بعامل النمو البطاني الوعائي للبروتين (VEGF). ويُعبَّر عن هذا البروتين في الخلايا السرطانية ويتسبب في تكوين أوعية دموية جديدة بحيث يمكن للورم أن يزداد حجمًا. ومن خلال الارتباط بعامل النمو البطاني الوعائي للبروتين، يمنع أفاستين نمو الأوعية الدموية ويحدُّ من زيادة حجم الورم. ويُعد العقار التجريبي «زيماب» (ZMapp) الذي طُوِّرَ لعلاج مرض فيروس الإيبولا، أيضًا جسمًا مضادًّا أحاديَّ النسيلة. يتألف العقار من مزيج من ثلاثة أجسام مضادة وحيدة النسيلة مصنوعة من جينات الإنسان والفأر، تُشفِّر البروتينات التي تستهدف فيروس الإيبولا وتعطل نشاطه. تُدخَل الجينات في نواقل وتُصَنَّع في نباتات التبغ المزروعة في مزارع داخلية مُغلقة شبيهة بالمصانع. تُعَد الأجسام المضادة الوحيدة النسيلة في طليعة العلاجات البيولوجية؛ لأنها شديدة الانتقائية ولا تميل إلى إحداث آثارٍ جانبية كبيرة.

لقاحات البروتين المعاد التركيب

اللقاحات هي مستحضرات بيولوجية تتكون عادة من شكلٍ ميتٍ أو معطل من كائن حي مُمرِض. عند حقن لقاح ضد مرضٍ بعينه، فإنه يحفز جهاز المناعة لإنتاج أجسامٍ مضادة ما يمنح الجسم حصانة ضد هذا المرض. تستخدم لقاحات الإنفلونزا وشلل الأطفال والكوليرا العوامل المُمرضة الميتة، بينما يكون العامل المرِض حيًّا في لقاحات الحصبة الألمانية والحصبة والسُّل، ولكن خصائصه المُعدية مُعطلة. من بدائل استخدام اللقاحات ذات العوامل المرضة الميتة أو المعطلة إنتاج لقاحاتٍ مُعادة التركيب. ويُتاح ذلك إذا أُنتِجت الأجسام المضادة كاستجابةٍ لمكونات مُعينة (أنتيجينات) من العامل المعدي، وإذا كانت الجينات التي تُشفر تلك المكونات معروفة. يمكن إدخال تسلسُلات التشفير هذه في ناقل تعبيرٍ جيني لإنتاج البروتين المعاد التركيب. ونظرًا لأن اللقاح يتكوَّن من الأنتيجين الذي يحفز الاستجابة المناعية وليس من العامل المرِض بالكامل، تقلُّ احتمالية إثارة ردود فعلٍ مُضادة. وقد اعتمد الآن عدد من اللقاحات المعادة التركيب للاستخدام. من هذه اللقاحات لقاح ضد فيروس الورم الحليمي البشري، وقد صُنع بالجمع بين البروتينات الفيروسية من سلالاتٍ مختلفة للحماية من الثآليل التناسُلية وسرطان عنق الرحم. يُوجَد لقاحٌ آخر وهو لقاح التهاب الكبد بي، الذي صُنِّع باستخدام بروتين موجود على سطح فيروس التهاب الكبد بي. عادة ما تكون الخلية المضيفة المستخدَمة في التصنيع خليةً ثديية، ولكن تُجرى تجارب أيضًا على التعبير الجيني في النباتات. وقد كان تخليق البروتين المعاد التركيب الذي يمنح حصانة ضد التهاب الكبد بي ناجحًا في الموز والبطاطس والتبغ والجزر. عندما يتناول الفرد هذه «اللقاحات القابلة للأكل»، يقوم الجهاز المناعي ببناء أجسامٍ مضادةٍ لمحاربة المرض كاللقاح التقليدي تمامًا. ولا يزال العلماء يعملون على إيجاد وسيلةٍ لزيادة فاعلية هذه اللقاحات. ويمكن أن تمثل هذه اللقاحات طريقة بسيطة ورخيصة لتنفيذ برامج التطعيم الشاملة، لا سيما في البلدان النامية، والتغلب على الاحتياج إلى الإبر والحُقَن المعقمة والتبريد.

نماذج للأمراض التي تُصيب الإنسان

يمكن إنشاء نموذج حيواني لبعض الأمراض البشرية لزيادة فَهم عمليات تطور المرض واختبار فاعلية علاجاتٍ جديدة. وعلى الرغم من إمكانية استخدام عددٍ من الكائنات الحية، فإن الفئران هي الأكثر شيوعًا نظرًا لكونها من الثدييات، ما يجعل جينوماتها

تُشبه جينومات البشر. وثمة مزايا إضافية لاستخدام الفئران، مثل قِصَر فترة الحمل إذ تبلغ نحو ثلاثة أسابيع، وكبر حجم فضلاتها نسبيًّا، وقصر عمرها إذ يبلغ نحو عامَين.

أُنشئ عدد ضخم من النماذج التي استُخدِمت فيها الفئران لأمراضٍ مختلفة، منها السرطانات وأمراض القلب والأوعية الدموية والسكري واضطرابات التنكُّس العصبي وإصابات النخاع الشوكي والإيدز والسمنة. تُنْشَأ هذه النماذج باستخدام تقنيات الهندسة الوراثية التي عادة ما يتم فيها تعطيل أو طرق جين موجود لدى فأر. في عملية التعطيل الجيني، يُزال الجين الوظيفي من الفأر لمحاكاة الحالات المرضية التي تنشأ نتيجةً لفقدان الجينات وظيفتَها. أما في نموذج الطرق الجيني، فيحلُّ محل جين الفأر جين بشري يحمل تغيرًا مُحددًا في النوكليوتيدات ويُستخدَم لمحاكاة الحالات المرضية التي يُنتج فيها الحمض النووي المتحوِّر بروتينًا مَعيبًا.

على الرغم من أن نماذج الفئران لا تُقدر بثمن بالنسبة للبحوث الطبية الحيوية، فهناك قيود على استخدامها. فبعض الأمراض مثل مرض ألزهايمر ومرض باركنسون والاضطرابات النفسية مثل الفصام لا يمكن استنساخها بشكلٍ كامل في الفئران. بالإضافة إلى ذلك، تُظهر بعض الأدوية نتائج جيدة على الفئران ولكنها تفشل بعد ذلك أو يكون لها آثار جانبية ضارة على البشر. ويجري حاليًّا البحث عن بديلٍ لاختبار العقاقير على الحيوانات في معهد هارفارد ويس بالولايات المتحدة الأمريكية باستخدام جهاز لنمذجة الأعضاء على رقاقة. تحتوي هذه الرقائق، التي تكون بحجم شريحة ذاكرة الكمبيوتر، على خلايا بشرية مُدمجة في بلاستيك وتُحاكي بنية ووظيفة الأعضاء المختلفة مثل الرئة والقلب والجلد والأمعاء. وتُظهر الدراسات الأولية إمكانية استخدام هذه الرقائق لدراسة العمليات المرضية البشرية واختبار الاستجابات للأدوية. وجارٍ العملُ على ربط رقائق الأعضاء المختلفة معًا لتطوير نموذجٍ لجسمٍ بشري كامل.

العلاج الجيني

يستهدف العلاج الجيني استعادة وظيفة جينٍ معيب عن طريق إدخال نسخةٍ صحيحة من هذا الجين. يمكن استخدام العلاج الجيني لعلاج الأمراض الوراثية التي تنشأ من اختلالاتٍ في جين واحد مثل التليُّف الكيسي، وكذلك الاضطرابات المتعددة الجينات الأكثر تعقيدًا مثل السرطان. تبدو العملية بسيطة نسبيًّا؛ إذ يُنقَل الجين المستنسَخ إلى خلايا المريض. بمجرد دخول الخلية، يُنتِج الجين البروتين المُشفر ويُصَحح الخلل. غير أن ثمة

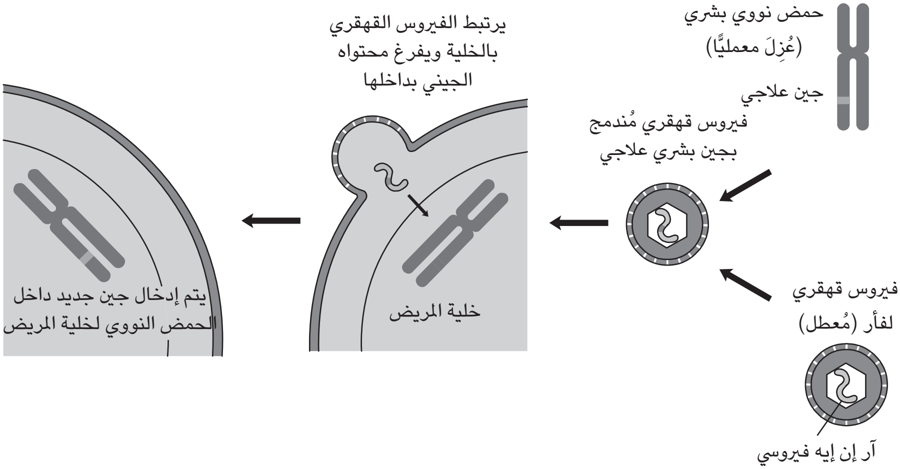
عقباتٍ كبيرةً لا بد من التغلب عليها حتى يكون العلاج الجيني فعَّالًا. أُولى هذه العقبات أن التركيب الجيني لا بد أن يُوَصَّل إلى الخلايا أو الأنسجة المريضة. وغالبًا ما يمكن أن يكون هذا صعبًا في حالة خلايا مثل خلايا الدماغ التي يصعب الوصول إليها مقارنةً بخلايا أُخرى مثل خلايا العين والجلد والعضلات. تمتلك خلايا الثدييات أيضًا آليات معقدة تطوَّرت لمنع دخول المواد غير المرغوب فيها مثل دخول أي حمض نووي غريب. العقبة الثانية تتمثل في احتمال أن يؤدي إدخال أي بنيةٍ جينية إلى تحفيز الاستجابة المناعية للمريض، التي يمكن أن تكون قاتلةً في بعض الحالات. ثمة عقبة أخرى تكمن في أنه بمجرد توصيل البنية الجينية، لا بد أن يستمر التعبير عن هذا الناتج الجيني ليكون فعَّالًا.

تتمثل إحدى طرق توصيل الجينات إلى الخلايا في استخدام فيروسات معدلة وراثيًّا صُمِّمَت بحيث يحذف معظم الجينوم الفيروسي، مما يزيل قدرات الفيروس الضارة. يُدخَل الجين العلاجي في هذه النواقل التي تنقل الجين بعد ذلك إلى خلايا المريض. يمكن تعديل الناقل الفيروسي بطريقةٍ تجعل امتصاص الخلية المستهدفة أكثر فاعلية، على سبيل المثال، عن طريق إضافة بروتينات سطحية تتعرَّف على الخلية المرغوبة.

بمجرد دخول الخلية، تندمج بعض النواقل الفيروسية مثل الفيروسات القهقرية أو الرجعية في جينوم المضيف (انظر شكل ٦-١). وتعتبر هذه ميزة؛ لأنها توفر تعبيرًا طويل الأمد عن الناتج الجيني. غير أنه يُشكل أيضًا خطرًا على السلامة؛ إذ لا يوجَد سوى القليل من التحكم في مكان إدخال الناقل الفيروسي في جينوم المريض. وإذا حدث الإدخال في جينٍ مشفر، فقد يؤدي ذلك إلى تعطيل وظيفة الجين. وإذا اندمج بالقُرب من مواقع بدء النسخ — حيث تُوجَد تسلسلات المحفزات والمعززات — يمكن أن يحدُث تعبير جيني غير مناسب. وقد لوحظ هذا في تجارب العلاج الجيني المبكِّرة خلال الفترة بين عامَي ٢٠٠١ و٢٠٠٢ التي أُجريت في فرنسا والولايات المتحدة الأمريكية والمملكة المتحدة لعلاج الأطفال المصابين بنقص المناعة المشترك الشديد المرتبط بالكروموسوم X باستخدام أحد نواقل الفيروسات القهقرية. فمِن بين المرضى العشرين الذين عولجوا، تم تصحيح نقص المناعة في ١٧ مريضًا، وهو أول دليل على أن العلاج الجيني يمكن أن يُعالِج مرضًا يُهدد الحياة. غير أن خمسة من هؤلاء المرضى أصيبوا بلوكيميا في الخلايا الليمفاوية التائية بعد الخضوع للعلاج بمدةٍ تراوحَت بين ثلاثة وعشرين وثمانية وستين شهرًا. وأُرْجِع هذا إلى اندماج الفيروس القهقري في موقع بدء النسخ لجينٍ مُسبب للسرطان مما أدى إلى تعزيز

التعبير الجيني لهذا الجين. ومنذ ذلك الحين، جرت دراسة نواقل فيروسية مُعدلة تُوجِّه الاندماج إلى مواقع آمنة محددة داخل الجينوم المضيف.

العلاج بنقل الجينات



شكل ٦-١: العلاج الجيني الفيروسي. يتم إدخال جين وظيفي في الفيروس، فتمتصُّه الخلية ويُدْمَج في جينوم المضيف.

ثمة فيروسات أخرى، مثل الفيروسات الغُدِّية، لا تدمج حمضها النووي في جينوم المضيف ولكن يُحْتَفَظ بها داخل الخلية ككيان منفصل. وعلى غرار دمج الفيروسات، صُمِّمَت ناقلات الفيروسات الغُدِّية لإزالة أجزاء من الجينوم الفيروسي بحيث لا تكون مُسببة للأمراض في الإنسان. غير أن ناقلات الفيروسات الغدِّية لا توفر تعبيرًا ثابتًا طويل المدى عن الجينات المتحوِّرة؛ ومن ثم فهي غير مناسبة لعلاج الاضطرابات التي تتطلَّب تعبيرًا طويل المدى. يمكن للفيروسات الغدِّية أيضًا أن تحفز نشاطًا مناعيًّا قويًّا لدى المضيف، خاصةً في المرضى المصابين بأمراض. وقد سُلِّطَ الضوء على هذا في حالة جيسي جيلسنجر في عام ١٩٩٩. في التجربة التي شارك فيها جيسي، أُعْطِيَ ١٨ مريضًا يعانون من نقص الأورنيثين ناقل الكرباموبل (OTC) — وهو اضطراب وراثي يؤدي إلى خلل وظيفي في الجهازين العصبي والهضمي — العلاج الجيني باستخدام ناقلات الفيروس

الغُدِّي. وتُوفي جيسي بسبب فشل في أعضاء مُتعدِّدة بعد أيام قليلة من العلاج بسبب الفيروس الغدِّي الذي أنتج لدَيه استجابةً مناعية شديدة.

ثمة بديل للفيروسات الغدية وهي الفيروسات المرتبطة بالغدِّية (AAVs). غالبًا ما تُستخدم هذه الفيروسات — التي لا علاقة لها بالفيروسات الغدية على الرغم من المُسمى — في تطبيقات العلاج الجيني لأنها غير مُعدِية، ولا تثير سوى استجابة مناعية محدودة للغاية، ويمكن تصميمها لتندمج مع جينوم المضيف، مما يوفر تعبيرًا جينيًّا طويل المدى. غير أن الفيروسات المرتبطة بالغدية لا يمكن أن تحمل إلا مُدخلًا جينيًّا صغيرًا؛ لذا يقتصر استخدامها على الجينات ذات الحجم الصغير.

وعلى الرغم من النتائج المبكرة المخيبة للآمال والوفيات المأساوية، فقد حقق العلاج الجيني بعض النجاحات ويبدو مُستقبله مبشرًا.

كان «جينديسين» (Gendicine) هو أول مُنتَج للعلاج الجيني يحصل على موافقة إدارة الغذاء والدواء الصينية لاستخدامه سريريًّا على البشر في عام ٢٠٠٣ لعلاج سرطان الخلايا الحرشفية في الرأس والرقبة (HNSCC). يتكون جينديسين من ناقل غُدِّي عديم التكاثر، وجين وظيفي مُثبِّط لجين الورم البشري p53 (TP53). يتحور جين TP53 في ٥٠ في المائة من جميع الأورام السرطانية. ويتمثل دور هذا الجين في منع تكاثُر الخلايا غير الطبيعي. وعندما يفقد وظيفته، تستمر الخلايا التالفة في التكاثر بشكلٍ غير ملائم وتظهر الأورام. من خلال توصيل جين TP53 وظيفي إلى الخلايا التي تفتقر إليه، يمكن القضاء على الخلايا المريضة من خلال بروتين جين p53 الذي يتسبَّب في موت الخلايا. وقد أفادت التجارب السريرية التي أجرتها شركة «شينزن سيبونو جين-تِك» بحدوث تحسُّن كبير في المرضى الذين عولجوا بجينديسين بعد شهرين فقط. ولم تتكرر هذه النتائج الأولية في تجارب سريرية أخرى، ولا تزال الصين حاليًّا هي الدولة الوحيدة التي تستخدم الجينديسين.

كان أول علاج جيني يُعتمَد للاستخدام السريري في أوروبا هو «جليبيرا» (Glybera)، وذلك في عام ٢٠١٢، لعلاج نقص إنزيم البروتين الدهني ليباز. يؤدي هذا الاضطراب الوراثي إلى ارتفاع مستويات الدهون في الدم مما يؤدي إلى آلام في البطن والتهاب البنكرياس الذي يهدد الحياة. يتكون جليبيرا من فيروس مرتبط بالغدية يحمل نسخة وظيفية من جين ليباز البروتين الدهني البشري. يحقن الفيروس في خلايا العضلات التي يحمل ناقل الفيروس المرتبط بالغدية انجذابًا خاصًّا نحوها. بمجرد دخول الخلايا، يُنتَج ليباز البروتين الدهني، مما يساعد على تكسير الدهون والحدِّ من التهاب البنكرياس.

يُوجَد نظام توصيل بديل للفيروسات، وهو تغليف الحمض النووي في الجسيمات الدهنية التي تمتصُّها الخلايا بعد ذلك. يُعد هذا أكثر أمانًا من استخدام الفيروسات؛ لأن الجسيمات الدهنية لا تندمج في جينوم المضيف ولا تُولِّد استجابة مناعية إلى حد كبير. غير أن امتصاص الخلايا للجسيمات الدهنية يمكن أن يكون أقل كفاءة، مما يؤدي إلى انخفاض التعبير الجيني. وقد وردت أنباء عن نجاح حديث للعلاج الجيني غير الفيروسي في علاج التليف الكيسي. ينتج هذا المرض الوراثي عن طفرات في الجين المنظم لموصلية الغشاء الليفي (CFTR). إن البروتين الذي يُشفره الجين CFTR مسئول عن التحكم في حركة الأملاح والماء داخل الخلايا وخارجها. وعند حدوث طفرة أو تحور، يُفقَد هذا التحكم ويؤدي إلى انسداد الرئتين والجهاز الهضمي على وجه الخصوص بالمخاط. وتكون النتيجة عدوى متكررة وخللًا وظيفيًّا في الأعضاء. وقد أظهرت المرحلة الأولى لإحدى التجارب السريرية تحسُّنًا طفيفًا في وظائف الرئة لدى المرضى الذين يتلقَّون جين CFTR المقترِن بجُسَيم دهني، بواسطة بخاخ. كانت المحاولات السابقة لتوصيل جين CFTR الوظيفي إلى الخلايا باستخدام طرق التوصيل الفيروسية غير فعَّالة إلى حدٍّ كبير بسبب ضعف امتصاص الخلايا له. يُوجَد حاليًّا أكثر من ألفَي منتَج من منتجات العلاج الجيني رهن التجارب السريرية، مُصمَّمة بالأساس لعلاج السرطان، ولكنها أيضًا موجهة لعلاج الاضطرابات الوراثية وأمراض القلب والأوعية الدموية.

الأطعمة المعدَّلة وراثيًّا

يمكن تطبيق تكنولوجيا الهندسة الوراثية على النباتات ليس فقط لتصنيع العقاقير العلاجية، ولكن أيضًا لتصميم نباتات ذات قيمةٍ غذائية أعلى، وطاردة لمبيدات الأعشاب الضارة ومقاوِمة للجفاف والعدوى. على مدى قرون، كان المزارعون يختارون النباتات وفقًا لسماتٍ مرغوب فيها — الأكثر مرونةً والأطول والأشهى مذاقًا — لإنتاج السلالات اللاحقة. في طرق الإنتاج التقليدية، يتَّحِد الحمض النووي الخاص بالوالدَين عشوائيًّا عند التهجين. ووفقًا لذلك، يكون مظهر السمة المختارة غير قابل للتنبُّؤ به. في المقابل، تسمح تقنيات الهندسة الوراثية بإجراء تغييراتٍ جينية مُستهدفة على الجينوم، مما يؤدي إلى إنتاج نباتاتٍ أكثر موثوقية بالسمات المرغوبة.

كان أول غذاء مُعدَّل وراثيًّا يُصرَّح به للاستهلاك الآدمي هو نوع من الطماطم يعرف باسم «فلافر سافر» في عام ١٩٩٤ من إنتاج شركة «كالجين». صُمِّمت الطماطم

بحيث يتأخَّر نضوجها؛ ومن ثم يطول الوقت الذي تستغرقه حتى الوصول لمرحلة الطراوة والفساد. وقد تحقق ذلك من خلال تعطيل التعبير الجيني للجين المُشَفِّر لإنزيم إندو-بولي جالاكتوروناز، المسئول عن تطرية الفاكهة. سُحِبَ هذا المنتج من الأسواق في عام ١٩٩٧ وسط مخاوف تتعلق بالسلامة العامة المتعلقة بالأطعمة المعدلة وراثيًّا. في الآونة الأخيرة، صمَّم علماء في المملكة المتحدة طماطم «أرجوانية» اللون. تُنتِج هذه الطماطم مستوياتٍ عالية من مادة كيميائية تُسمى الأنثوسيانين، وهي التي تُعطي الطماطم لونها الأرجواني. والأنثوسيانين هو أحد مُضادَّات الأكسدة الموجودة بشكلٍ طبيعي في الفواكه مثل التوت الأزرق والتوت الأسود. يُحَفَّز إنتاجه في الطماطم من خلال نقل الجينات من نبات زهرة الخطم إلى جينوم الطماطم. وقد أظهرت الدراسات أن الأنثوسيانين يمكن أن يُقلِّل من الإصابة بالسرطان ويُحسِّن وظائف وصحة القلب والأوعية الدموية. سيكون الهدف هو تطبيق نموذج الطماطم الأرجوانية على أكثر الأطعمة التي يُقبل عليها الناس وأرخصها مثل الكاتشب. ويخضع هذا المنتج حاليًّا للاختبار لمعرفة فوائده الصحية الإيجابية للبشر.

تشارك شركة «أكوا باونتي تكنولوجيز» في إنتاج السلمون المُصمَّم لكي ينمو أسرع ويصل إلى حجمه الكامل بشكلٍ أسرع. يُصمَّم هذا السلمون من خلال الجمع بين جينٍ مشفِّر لهرمون النمو من سمك السلمون الذي يعيش في المحيط الهادئ مع تسلسُلات مُحفزة من سمكةٍ تُشبه ثعبان البحر. يسمح هذا التعديل بإنتاج هرمون النمو داخل الأسماك على مدار السنة بدلًا من بضعة أشهر فقط. وبذلك تصل الأسماك إلى حجمها الكامل في نصف الوقت — ثمانية عشر شهرًا بدلًا من ثلاث سنوات — ويمكن تسويقها في وقتٍ أبكر. وقد اعتمدت إدارة الغذاء والدواء الأمريكية السلمون المعدل وراثيًّا الآن للاستهلاك الآدمي.

المحاصيل التي تتحمل مبيدات الأعشاب والمقاومة للحشرات

السببان الرئيسيان لفقدان المحاصيل هما الضرر الناتج عن الحشائش وذلك الناتج عن الحشرات. فالمحاصيل تُرَش بانتظام بمبيدات الأعشاب والمبيدات الحشرية لتقليل فقدها، ولكن هذه المبيدات غالبًا ما تكون غير انتقائية، مما يؤدي إلى إتلاف المحاصيل التي تُزْرَع، وفي بعض الحالات تُسبب ضررًا للإنسان وللكائنات الحية الأخرى في البيئة المحلية. وللتغلُّب على هذه المشكلات وتحسين الإنتاجية، صُمِّمت محاصيل تتحمَّل مبيدات الأعشاب أو تُقاوِم الحشرات أو تحمل كلتا السمتَين في آنٍ واحد داخل المحصول نفسه.

تُصمَّم المحاصيل التي تتحمَّل مبيدات الأعشاب بحيث يُقضَى على الأعشاب الضارة عند رش مبيدات أعشاب بعينِها في الحقل، بينما يظل المحصول سليمًا. والمحصول التجاري الأكثر شيوعًا الذي يتحمَّل مبيدات الأعشاب هو «راوند أب ريدي» الذي تُنتجه شركة «مونسانتو». تحمل محاصيل راوند أب ريدي جينًا يُشفِّر إنزيمًا يجعلها مقاومة لعمليات الرش الواسعة النطاق للجليفوسات القاتل للأعشاب الضارة.

لإنتاج محاصيل مقاومة للحشرات، يُنقَل الجين الذي يشفر بروتينًا سامًّا من بكتيريا العصوية التورنجية، المعروفة باسم Bt، إلى نبات المحصول. ينتج المحصول بروتين البكتيريا التورنجية السام لبعض الحشرات، ولكنه غير ضار بالثدييات الأخرى، بما في ذلك البشر والطيور والأسماك.

أُطْلِق مؤخرًا في المملكة المتحدة مشروع لإنتاج بطاطس مُعدَّلة وراثيًّا تحمل مجموعة أكبر من السمات. من المزمع أن يكون المحصول مقاومًا للفحة البطاطس المتأخرة وعدوى الديدان الخيطية في كيس البطاطس، وهي أمراض تسبب خسارة كبيرة في محاصيل البطاطس للمزارعين. كذلك ستحتوي على مستوياتٍ أقل بكثير من المواد الكيميائية الموجودة طبيعيًّا، مثل الأسباراجين والسكريات المختزلة. تُكوِّن هذه المواد الكيميائية مادة الأكريلاميد عند طهوها في درجات حرارة عالية. وقد تم ربط مادة الأكريلاميد الموجودة في الطعام بالسرطان؛ ومن ثم فإن تقليل الاستهلاك يمكن أن يُقلِّل من خطر تَكون السرطان. ستكون البطاطس أيضًا أقلَّ عرضةً للعطب؛ إذ سيعطل عمل الجين المشفر لإنزيم بوليفينول أوكسيديز. لإنتاج هذه «البطاطس الخارقة»، ستُضاف ثلاثة جينات تمنح مقاومة للفحة البطاطس المتأخرة، وجينان يمنحان مقاومةً للديدان الخيطية إلى جينوم البطاطس. بالإضافة إلى ذلك، ستُعطل ثلاثة جينات تنتج الأسباراجين والسكريات المختزلة والبوليفينول أوكسيديز. وعلى الرغم من أننا لا نزال على بُعد بضع سنوات من المحصول النهائي، فإنه حال نجاحه، يمكن أن يزيد إنتاج البطاطس ويمنع رش كمياتٍ كبيرة من مبيدات الآفات ومبيدات الفطريات على الأراضي الزراعية، وهو ما سيؤدي إلى إنتاج غذاء أكثر صحة.

المحاصيل ذات القيمة الغذائية المحسَّنة

تُشير التقديرات إلى أن ما يقرب من ٢٠٠ مليون شخص في جميع أنحاء العالم يعانون حاليًّا من نقص فيتامين أ. يؤثر نقص فيتامين أ على الحوامل والأطفال على وجه الخصوص

ويمكن أن يؤدي إلى العمى. ويمكن أن يُخفف تناول مكمِّلات فيتامين أ ضمن النظام الغذائي من آثار نقصانه. تتمثل إحدى أشكال المكملات الغذائية في استهلاك الأرز الذهبي، الذي سُمي بهذا الاسم بسبب لونه الشديد الصفرة. يُنتَج الأرز الذهبي عبر إدخال جينين في جينوم الأرز؛ أحدهما مُشتق من النرجس البري والآخر من أحد أنواع بكتيريا التربة. يُشفِّر هذان الجينان الإنزيمات التي تدخُل في إنتاج البيتا كاروتين، وهو مركب طليعي لإنتاج فيتامين أ. عند استهلاك البيتا كاروتين، يتحول إلى فيتامين أ في القناة الهضمية. وقد نُشرت تفاصيل كيفية تصميم السلالة وراثيًّا لأول مرة في دورية «ساينس» العلمية في عام ٢٠٠٠ واعتبر إنجازًا مُهمًّا في ذلك الوقت.

منذ ذلك الحين، أظهر عدد من الدراسات أن استهلاك الأرز الذهبي لا يقلُّ فائدةً عن مكملات فيتامين أ للأطفال، وأفضل من البيتا كاروتين الطبيعي الموجود في السبانخ. ولكن لم يوافَق بعدُ على طرح المنتج تجاريًّا.

مواجهة المخاوف المتعلقة بالأغذية المعدَّلة وراثيًّا

اعتُمد أول غذاء معدَّل وراثيًّا منذ أكثر من عشرين عامًا؛ ولكن لا تزال مجموعة كبيرة من الأغذية المعدلة وراثيًّا غير متوفرةٍ في الأسواق، ولا تزال محل نقاش عام على المستوى الدولي. يتمثل أحد المخاوف في الخطورة المحتملة لاستهلاك الأغذية المعدلة وراثيًّا على صحة الإنسان من خلال نقل الجينات المقاومة للمضادات الحيوية. تُستخدم هذه الجينات كواسِمات مُنتقاة أثناء عمليات الهندسة الوراثية ويمكن أن تنتقل إلى البشر من خلال استهلاك هذه الأطعمة. ثمة مصدر آخر للقلق هو تأثيرها على البيئة. فقد أدَّى الاستخدام المتزايد للمحاصيل التي تتحمل مبيدات الأعشاب إلى تطور «حشائش ضارة خارقة» مقاومة لمبيدات الأعشاب المستخدمة. وتظهر بعض الحشرات مقاومةً للمحاصيل المعدلة وراثيًّا لمقاومة الحشرات كما لوحِظ انخفاضٌ أو انعدام لمظاهر الحياة البرية الطبيعية. في الولايات المتحدة، يُعتبر نبات الصقلاب الموجود في الحقول مصدرًا غذائيًّا أساسيًّا للفراشات. وقد أدى استخدام المحاصيل المعدلة وراثيًّا إلى القضاء على الصقلاب؛ ومن ثم القضاء على مصدر غذاء الفراشات. وثمة مخاوف أيضًا بشأن تلوث المحاصيل غير المعدلة وراثيًّا عبر انتقال حبوب اللقاح من المحاصيل المعدلة وراثيًّا إليها؛ ومن ثم إنتاج سُلالةٍ مُعدلة وراثيًّا. وللحدِّ من المخاطر، يطبق حاليًّا عدد من التحسينات التكنولوجية. أحد هذه التحسينات هو استبدال واسِمات مشتقة من النباتات أكثر أمنًا بالجينات الواسمة

المقاومة للمضادات الحيوية. وثمة تحسين آخر يتمثَّل في استخدام تسلسلات المحفز التي تنشط تعبير البروتين فقط كاستجابةٍ لمحفزٍ مُعين مثل عامل كيميائي أو عامل إجهاد. لا تقصر هذه المحفزات المستحثة إنتاج البروتين على أجزاء مُعينة من النبات فحسب، بل تحد أيضًا من إنتاج البروتين مؤقتًا. يمكن أيضًا إدخال الجينات بشكل أدق في مواقع محددة من الجينوم باستخدام تقنيات معقدة ومتطورة للتحرير الجينومي، ما يترتب عليه التغلب على الدمج العشوائي الذي شوهد في التجارب السابقة. ولا بد أن تستمر الأبحاث المتزايدة والتحسينات الإضافية في تكنولوجيا الحمض النووي المعاد التركيب لتقليل المخاطر المحتملة للأغذية المعدلة وراثيًّا.

الفصل السابع

علم الأحياء الجزيئي في الطب السريري

يمكن أن تتسبَّب العوامل البيئية في تغيُّرات جينية وفوق جينية في الحمض النووي، وقد تؤدي عواقب ذلك إلى الإخلال بتنظيم العمليات الخلوية والمسارات التي تُسبب المرض. يمكن أن يكون التباين الجيني وراثيًّا إذا اكتُسب عبر الخط الجنسي، أو غير وراثي عندما تحدث تغييرات الحمض النووي في الخلايا الجسدية. بعض الطفرات يُحتفَظ بها في مجموعة من الأفراد إذا كانت تمنح ميزة حال وجودها مع جين من جينات النمط الشائع يعمل بكامل طاقته (مُتغاير الزيجوت). ولا تُسبب هذه الطفرات المرض إلا عندما تكون نسختا الجين مُتحورتَين (متماثلة الزيجوت). وغالبًا ما كان اختيار الطفرات الموروثة يرجع إلى الأدوار المفيدة التي لعبتها لدى أسلافنا؛ على سبيل المثال، قد يكون جين التليُّف الكيسي قد قلَّل من خطر الوفاة بسبب الكوليرا.

استفاد مجالان معاصران رئيسيان من مجالات البحث السريري استفادةً خاصة من التحسُّن الذي طرأ على معرفتنا بأساسهما الجزيئي، ألا وهما الشيخوخة والسرطان. فنحن الآن أقدَر على التنبؤ بمخاطر المرض، وتصميم أدويةٍ ذات فاعلية إكلينيكية أعلى من خلال استهداف مسارات جزيئية محددة.

الشيخوخة وعلم الأحياء الجزيئي

نحن نعيش في مجتمعٍ يتقدَّم في العمر، وإذا استمرت الاتجاهات الحالية، فسيكون خُمس سكان العالم فوق سنِّ الستين بحلول عام ٢٠٥٠. وسيؤدي ذلك إلى زيادة حادة في العبء الصحي الناجم عن الأمراض المزمنة الناتجة عن الشيخوخة، التي يطلق عليها «التسونامي الفضي». تَنتُج الشيخوخة الطبيعية جزئيًّا عن استنفاد الخلايا الجذعية، وهي

الخلايا الموجودة في معظم الأعضاء لتجديد الأنسجة التالفة. ومع تقدُّمنا في العمر، يتراكم الحمض النووي التالِف وهو ما يؤدي في النهاية إلى دخول الخلايا في حالة دائمة غير منقسمة تُسمَّى الشيخوخة. غير أن هذه الحيلة الوقائية لها جانبها السلبي لأنها تحدُّ من عمرنا. عندما يشيخ عدد كبير للغاية من الخلايا الجذعية، يتعرض الجسم لخطرٍ يتمثل في عدم قُدرته على تجديد الأنسجة البالية، وهو ما يتسبَّب بدوره في ظهور آثار الشيخوخة. ويتسبَّب ذلك في تأثير غير مباشر يتمثل في ضعف الاتصال بين الخلايا، والخلل الوظيفي في الميتوكوندريا، وفقدان توازن البروتين (الاستتباب البروتيني). تزداد المستويات المنخفضة من الالتهاب المزمن أيضًا مع تقدُّم العمر ويمكن أن تكون العامل المسبب للتغييرات المرتبطة بالعديد من الاضطرابات المرتبطة بالعمر.

الخرف

من المحتمَل أن تكون الشيخوخة أكثر ارتباطًا بالفقدان المُنْهِك لوظائف المخ واضطرابات الشخصية المرتبطة بهذا الفقدان، والتي سجلها لأول مرة الفلاسفة اليونانيون والرومانيون القدماء، من بينهم فيثاغورس. والخرَف هو مصطلح يُطلَق على فئة واسعة من أمراض الدماغ، بما في ذلك مرض باركنسون وألزهايمر. سُمِّي مرض ألزهايمر نسبة إلى الطبيب النفسي وعالم الأمراض الألماني ألويس ألزهايمر الذي وصف المرض في عام ١٩٠١. مرض ألزهايمر هو الشكل الأكثر شيوعًا للخرَف ولا يُوجَد علاج له حاليًّا. فهو يشمل ما يصل إلى ٧٠ في المائة من حالات الخرف وربما يُصيب ما لا يقل عن ٧ في المائة من السكان. قد يكون من الممكن منع الإصابة بالمرض أو تأخيره من خلال اختيارات نمط الحياة، ولكن إلى أن نفهم الطبيعة الجزيئية لهذا الاضطراب، لن تكون للنصيحة سوى قيمة محدودة. يتَّسِم داء ألزهايمر بوجود بروتينات غير مطوية في الدماغ تُقاوِم إعادة التدوير الإنزيمي الطبيعي. تأتي هذه الفئة من الاضطراب تحت اسم اعتلال البروتيوباثي. تتكوَّن الصفائح خارج الخلوية المقاوِمة للبروتياز المميزة لمرض ألزهايمر، والتي تُعطل وظائف الخلايا العصبية، من بروتين الأميلويد. وأدَّى هذا الاكتشاف إلى فرضية ارتباط الأميلويد بالخرف. يُشَفِّر أحد الجينات الموجودة على كروموسوم ٢١ بروتين طليعة الأميلويد (APP) ويُعاني الأفراد الذين لديهم نسخة إضافية من كروموسوم ٢١ (المرتبط بمتلازمة داون) من الإصابة بداء ألزهايمر مبكرًا. يدخل بروتين آخر يُسمَّى تاو في تحديد مدى احتمالية الإصابة بمرض ألزهايمر أيضًا. فحين يتحوَّر بروتين تاو بشكلٍ غير طبيعي، فإنه يشكل

تشابكات ليفية عصبية من ألياف بروتينية ملتوية داخل جسم الخلية العصبية، مما يؤدي إلى حدوث خللٍ وظيفي في الخلية وموتها.

وجدت دراسات الترابط الجينومي الحديثة الجينات التي تنطوي على خطر الإصابة بالخرف، وتقترح هذه الدراسات آلياتٍ لشرح الطبيعة الباثولوجية الجزيئية للمرض. يصيب مرض باركنسون ما يصل إلى ثلاثة من كل ألف شخص في العالم الغربي، من ضِمنهم مشاهير مثل الممثل مايكل جيه فوكس والملاكم الشهير محمد علي كلاي. قد يكمُن مفتاح فَهم مرض باركنسون في اكتشاف ارتباطه ببروتين جديد يُسمَّى تيجار يقتل الخلايا العصبية عندما يُفرِط في نشاطه. يتعايش ما بين سبعة إلى عشرة ملايين شخص حول العالم مع مرض باركنسون ولا تزال أسبابه غير معروفة. وقد يوقف الاستهداف العلاجي لبروتين تيجار تقدُّم هذا المرض المدمِّر.

أمراض الشيخوخة المبكرة

عُرِفَ الكثير عن الشيخوخة من البيولوجيا الجزيئية للاضطرابات الوراثية للشيخوخة المبكرة، التي تُسمَّى البروجيريا، أو الشيخوخة المبكرة عند الصغار. اشتُقَّت كلمة «بروجيريا» من اليونانية وتعني التقدُّم المبكر في العمر. تُعتبر البروجيريا حالة نادرة للغاية؛ لأن المصابين لا يعيشون طويلًا بما يكفي للتكاثُر؛ لذلك فإن كل حالة من البروجيريا ناتجة حتمًا عن طفرة جديدة. تظهر الأعراض في الطفولة المبكرة مصحوبةً بفشل في النمو وشيخوخة ملحوظة للجلد. يُصاب المريض بتصلب الشرايين وأمراض القلب والأوعية الدموية في مرحلة الطفولة. يتبع ذلك ظهور تجاعيد الوجه وتساقط الشعر، إلى جانب فقدان دهون الجسم والعضلات وتيبُّس المفاصل؛ أي جميع الأعراض التي عادة ما تظهر فقط في سِن الشيخوخة. والسبب في هذا هو شكلٌ مُتحوِّر من بروتين اللامين أ يُسمَّى البروجيرين. يُضعِف متحور اللامين أ بنية الغلاف النووي أو الصُّفيحة ومن ثم يُضعِف وظائفها، مثل إصلاح الحمض النووي التالف ووظيفة الكروماتين. قد يلعب البروجيرين دورًا في الشيخوخة الطبيعية للإنسان؛ إذ ينشط إنتاجه في الخلايا الشائخة. ترجع أيضًا اضطرابات الشيخوخة المتسارِعة الأخرى، مثل متلازمة فيرنر، أو جفاف الجلد الصباغي، أو متلازمة كوكاين إلى تضاؤل القدرة على إصلاح الحمض النووي.

المسارات المؤدية إلى الشيخوخة

أُحْرِز تقدُّم كبير في أبحاث الشيخوخة باستخدام الخميرة واللافقاريات، مما أدى إلى اكتشاف المزيد من «جينات الشيخوخة» ومساراتها. يمكن استنباط هذه النتائج وتطبيقها على البشر؛ وهذا لأن المسارات الخاصة بطول العمر محفوظة تطوريًّا بين الأنواع. تشترك المسارات الرئيسة المعروفة بتأثيرها على الشيخوخة في صفةٍ بعينها، ألا وهي استشعار العناصر الغذائية واستقلابها.

بدأت قصة الراباميسين في الستينيات بعيِّنة مأخوذةٍ من تربة «رابا نوي» (جزيرة الفصح) أثبتت أن لها نشاطًا قادرًا على قتل الخلايا. نُسِب هذا النشاط لاحقًا إلى جزيء صغير، وهو الراباميسين، تُنتجه بكتيريا التربة. تم تطوير الحقل من خلال تحديد مُسْتَهْدَف الراباميسين في الثدييات، الذي يعرف اختصارًا ب mTOR. يعمل مُسْتَهْدَف الراباميسين في الثدييات كمستشعرٍ جزيئي يدمج محفزات النمو مع المتوفر من المغذيات والأكسجين. تعمل الجزيئات الصغيرة مثل الراباميسين التي تُقلل من إشارات كيناز مُسْتَهْدَف الراباميسين في الثدييات بطريقةٍ مشابهةٍ للحمية الغذائية القاسية على إبطاء عملية الشيخوخة في الكائنات الحية مثل الخميرة والديدان. تظهر الوظائف الشاذة المرتبطة عادةً بالشيخوخة أيضًا في مجموعةٍ من الأمراض، وكان الراباميسين محور بحث مُكثف من قِبَل الأكاديميين وشركات الأدوية. استُخدِم الراباميسين ومُشتقاته (مثبطات مُسْتَهْدَف الراباميسين في الثدييات) في التجارب السريرية التي أُجرِيَت للحدِّ من الأمراض المرتبطة بالتقدُّم في العمر مثل مرض ألزهايمر والسكري من النوع الثاني والسمنة وبعض أنواع السرطان. غير أنه من غير المحتمَل أن تعتمد هذه الأدوية أو أي دواءٍ آخر لاستخدامها سريريًّا لزيادة العمر الطبيعي؛ لأن الشيخوخة عملية طبيعية وليست مرضًا. غير أن مسار كيناز مُسْتَهْدَف الراباميسين في الثدييات غير المنظم له دور في الأمراض المرتبطة بالشيخوخة وتُترجَم الأبحاث الحالية إلى تحسيناتٍ صحيةٍ وعلاجات جديدة تُخفف الأمراض المزمنة أو تمنعها بدلًا من أن يكون هدفها المباشر هو إطالة العمر. فمعظم الناس لا يرغبون في العيش طويلًا دون أن يُصاحِب ذلك تحسُّن في صحتهم.

التيلوميرات وأمراض الشيخوخة

أحد مسارات الشيخوخة الرئيسة الأخرى هو صيانة التيلومير أو القسيم الطرفي. تحتوي نهايات الكروموسومات الخطية على قبعات متخصِّصة، مماثلة للرءوس الواقية التي تُثبت

على أطراف أربطة الأحذية، تعمل على تثبيتها لمنع أي أضرار. تتكون قبعات الكروموسوم هذه من مركبٍ بروتيني يُسمى شيلتيرين يرتبط بتسلسلات الحمض النووي المتكررة (TTAGGG في البشر). تنتهي آلاف النُّسَخ من هذا التسلسل في شريطٍ واحد مُتدلٍّ يُثبت مرة أخرى في الكروموسوم حيث تعمل البروتينات على تثبيته في مكانه. يُشبه هذا إلى حد ما تثبيت نهاية خيط عند الرتق أو الحياكة. ويُعرف المركب بأكمله باسم التيلومير (telomere) من الكلمة اليونانية التي تعني «الجزء النهائي». تحول التيلوميرات دون التعرف على نهايات الكروموسومات كحمض نووي تالف، وهو ما يؤدي بدوره إلى استثارة آلية إصلاح كسر الشريط المزدوج التي من شأنها أن تؤدي إلى «التصاق» الكروموسومات بعضها ببعض أو إعادة ترتيبها بطريقة تؤدي إلى فقدان السلامة الجينومية.

تقصُر التيلوميرات مع كل انقسام خلوي، وهو شرٌّ لا بد منه ينتج عن فشل بوليمراز الحمض النووي في إكمال تكرار شريط مُتأخر. ويُعرف هذا باسم «مشكلة تضاعف النهايات»؛ وقد طُرحت باعتبارها الساعة البيولوجية التي تحسُب العمر الافتراضي منذ الولادة. في كل مرة تنقسِم فيها الخلية، تفقد كمية صغيرة من الحمض النووي من التيلوميرات الخاصة بها. في نهاية المطاف، تصل التيلوميرات إلى طولٍ حرج، مما يؤدي إلى الشيخوخة ويضع الخلية في حالة عدم تكرار. وهكذا تمنح التيلوميرات عمرًا محدودًا للخلية ما لم يكن من الممكن تعويض الحمض النووي التيلوميري بطريقةٍ أو بأخرى. ومن المثير للاهتمام أن امتداد التيلومير إلى المستويات التي لا تُرى إلا في حديثي الولادة يبدو ممكنًا تمامًا في الخلايا الجرثومية، ولكنه يحدُث على نطاق محدود في الخلايا الجذعية. والوسيلة الأكثر شيوعًا لإصلاح التيلومير هي إضافة تكرارات التيلومير إلى نهايات الكروموسومات بواسطة إنزيم التيلوميراز. وقد وُصِفَت آلية بديلة تُسمَّى الإطالة البديلة للتيلوميرات أو ALT لبعض أنواع الخلايا. يُعتبر تآكُل التيلومير سمة مميزة للشيخوخة، وربطت الدراسات بين قِصَر طول التيلومير (TL) وخطر الإصابة بأمراضٍ مختلفة مرتبطة بالتقدُّم في العمر، مثل أمراض القلب والأوعية الدموية والسكري من النوع الثاني والسرطان.

يتسارع فقدان التيلومير من خلال مُحدِّدات معروفة تسبب اعتلال الصحة، بما في ذلك الإجهاد المزمن والتدخين والإفراط في استهلاك الكحول والسمنة. وبالإضافة إلى هذه العوامل البيئية، تعمل الاختلافات الجينية الوراثية على تحديد طول التيلومير. وقد سَلطت دراسات الترابط الجينومي الضوء على ذلك بعدما كشفت عن وجود ارتباطات بين طول

التيلومير والاختلافات الموروثة في الجينات التي تلعب دورًا مباشرًا في صيانة التيلومير. وتشمل هذه الجينات تلك الجينات التي تشفر البروتين ومكونات الحمض النووي الريبي لإنزيم التيلوميراز، وهي TERT وTERC على التوالي، والجينات الأخرى المشاركة في صيانة التيلومير مثل CTC1. يعاني المرضى المصابون بـ CTC1 المُتحور من داء كوتس بلس الذي يصيب العين، وهي متلازمة نادرة مرتبطة بانخفاض متوسط العمر المتوقع وقصر التيلومير. وهو ما يدعم وجود دور سببي لبيولوجيا التيلومير في شيخوخة الإنسان.

في الدراسات السكانية، يجري تحديد طول التيلومير في خلايا الدم البيضاء (الكريات البيضاء) حيث يسهل الحصول عليها. يتنبأ نمط الحياة والاختلافات الجينية المرتبطة بقِصر تيلومير كريات الدم البيضاء (LTL) بتزايُد مخاطر الإصابة بتصلُّب الشرايين وقِصر العمر. تبدو العلاقة بين طول التيلومير والسرطان معقدة. قد يكون التيلومير القصير عاملَ خطورة لبعض أنواع السرطان، ولكن بالنسبة للورم الميلانيني، يبدو أن العكس هو الصحيح؛ إذ إن التيلومير الطويل هو ما يُشكل خطرًا. السبب وراء ذلك غير مؤكد، ولكن التيلومير الطويل قد يَعني زيادة تنظيم صيانة التيلومير، وهو عامل يمنع الشيخوخة الطبيعية في الخلايا الميلانينية، وهو ما يُعزز بدوره بقاء الخلايا ما قبل السرطانية.

السرطان

يُعَد فهم أسباب السرطان أمرًا بالغ الأهمية للوقاية منه وعلاجه. قبل زمن بعيد في أوائل القرن الثامن عشر، كانت الكُتَل والأورام الحميدة تُستأصَل جراحيًّا للحد من الوفيات الناجمة عن السرطان.

وفي وقتٍ لاحق من القرن نفسه، لاحظ بيرسيفال بوتس — وهو أول عالم يصف مادة مُسرطنة بيئية — وجود ارتباط بين سرطان كيس الصفن والتعرض للسخام. وأوصى بأن يرتدي الأولاد الذين يُنظفون المداخن ملابسَ واقية بدلًا من العمل عُراة. فقد كان عملهم عراة هو الممارسة المعتادة للحيلولة دون اتساخ ملابسهم التي لا يملكون سواها. ولكن في الأغلب أن السرطان وأصوله لم يُفهَما حتى ظهور علم الأحياء الجزيئي.

السرطان ليس مرضًا واحدًا، ولكنه مجموعة من الأمراض يُسببها النمو غير الطبيعي للخلايا التي لدَيها القدرة على الانتشار وبقاؤها. يتكوَّن الإنسان البالغ من $١٠^{١٤}$ خلايا، ويظل هذا الرقم ثابتًا نسبيًّا. ويتحقق ذلك من خلال توازن مُحكَم بين تكاثر الخلايا (التناسخ) وموتها. يمكن أن يزداد حجم الجسم بسبب زيادة حجم الخلايا، مثل الخلايا

الدهنية في السمنة أو خلايا العضلات بسبب التمرين (تضخُّم نمو العضلة)، ولكن نادرًا ما تستمر الزيادات في عدد الخلايا (فرط التنسُّج). إذا تجاوزت عملية ولادة الخلايا عملية موتها، فسينتج عن ذلك نموٌّ جديد، أو ما يُعرف باليونانية بالنيوبلازيا، أي الورم. والأورام (أي Tumors، وهي مُشتقة من اللاتينية هذه المرة) هي انتفاخات تتكوَّن من خلايا ورمية. يمكن أن تكون «الخلايا النامية الجديدة» أو الأورام «حميدة» إذا كان التكاثر المفرِط للخلايا موضعيًّا، أو خبيثًا إذا غَزَتِ البُنى المحيطة. سُمِّيت الأورام الخبيثة بال «سرطان» بسبب نتوءاتها المتشعبة المنتشرة، الشبيهة بشكل سرطان البحر. وتنتشر السرطانات الأشدُّ شراسة في الأعضاء المجاورة والبعيدة من خلال عملية تُعرَف باسم الانبثاث أو هجرة الخلايا السرطانية.

يمكن أن يصيب السرطان أي عضو أو نسيج يحتوي على خلايا منقسِمة ويتطور بسبب تكاثر الخلايا غير المنضبط. تخضع الخلية الطبيعية لمجموعة من الضوابط الجزيئية المعقدة التي تحدُّ من تكاثر الخلايا غير المناسب إما من خلال مرور الخلية بتوقف دورة الخلية أو بتحفيز موت الخلايا المبرمج. في الخلايا السرطانية، تتعطل هذه الضوابط مما يؤدي إلى تكاثرٍ مُطلَق. ولدعم هذا النمو الجامح، تكون هناك حاجة إلى طاقةٍ إضافية؛ ومن ثم تُعيد الخلايا السرطانية برمجة مساراتها الأيضية للحصول على هذه الطاقة. ونظرًا لأن الخلايا السرطانية ليست خلايا طبيعية، فلا بد أن يتعرَّف عليها جهاز مناعة الجسم على أنها كذلك ويدمرها. غير أن الخلايا السرطانية تتجنب التدمير من خلال تبنِّي استراتيجيات مختلفة، حتى إنها قد تتحكم في جهاز المناعة لمصلحتها الخاصة. السمة الأخرى المهمة التي تميز الخلايا السرطانية هي قدرتها على إنماء أوعيةٍ دمويةٍ جديدة، وهي عملية تُسمى تكوين الأوعية الدموية الجديدة. والعامل المحفز لتكوين الأوعية الدموية الجديدة هو الحرمان من الأكسجين أو نقص التأكسج، الذي ينشأ في مناطق الورم المتفشي على بُعد مسافةٍ قصيرة من أحد الأوعية الدموية. عادةً ما يؤدي نقص التأكسُج إلى موت الخلايا، ولكن استقطاب أوعيةٍ دموية جديدة يمكِّن الورَم من الاستمرار في الازدياد في الحجم.

في نهاية المطاف، تُهاجر بعض الخلايا من الورم الأساسي وتُكَوِّن أورامًا ثانوية في مواقع جديدة. على سبيل المثال، تفقد الخلايا السرطانية في الأنسجة الطلائية الاتصال بعضها ببعض وتكتسب خصائص مُهاجرة وغازية. ومن المراحل المبكرة في اكتساب نمط ظاهري غازٍ عملية التحوُّل الظهاري المتوسطي أو تحول الخلايا الطلائية إلى خلايا اللُّحْمة

المتوسطة (EMT). تشكل الخلايا الطلائية الجلد والأغشية ولهذا تمتاز بقطبية شديدة الدقة (في القمة والقاع) وتثبت في مكانها عن طريق روابط وثيقة مع الخلايا المجاورة. من ناحيةٍ أخرى، يكون ارتباط خلايا اللُّحمة المتوسطة فضفاضًا وتمتاز بالحركية والافتقار إلى الاستقطاب. يُعتبر التحوُّل من الخلايا الطلائية إلى خلايا اللُّحمية المتوسطة عملية طبيعية أثناء مراحل التطور الجنيني والتئام الجروح، ولكن في حالة الخلايا السرطانية، لا تخضع هذه العملية إلى التنظيم. يتضمن التحول الطلائي المتوسطي إعادة البرمجة النسخية التي تُفقَد فيها البروتينات البنيوية الطلائية وتُكتسَب بروتينات اللُّحْمة المتوسطة. وهذا هو ما يُسهِّل تفشي الورم إلى الأنسجة المحيطة.

السرطان مرض وراثي

السرطان مرض وراثي ولكنه في الغالب لا يُورَّث من الوالدين. فالخلايا الطبيعية تتطور لتُصبح خلايا سرطانية من خلال اكتساب طفراتٍ مُتتالية في الجينات المرتبطة بالسرطان. تُوجَد فئتان رئيستان من جينات السرطان، طلائع الجينات الورمية والجينات الكابتة للأورام. تشفِّر طلائع الجينات الورمية النواتج البروتينية التي تُعزز تكاثر الخلايا. غالبًا ما تكون هذه النواتج عوامل نموٍّ ومستقبلاتها تعمل ضمن مسارات الإشارات لتعزيز تكاثر الخلايا. يؤدي حدوث طفرة في إحدى طلائع الجينات الورمية إلى تحويلها إلى «جين ورمي»، وهو مصطلح صاغه كل من جورج تودارو وروبرت هوبنر لأول مرة في عام ١٩٦٩. إن تكاثر الخلايا غير المنظم في حدٍّ ذاته لا يؤدي إلى تكوين الورم؛ لأن الجينات الكابتة للورم تتصدَّى له عن طريق تحفيز شيخوخة الخلية أو موتها. وهذا يجعل السرطان احتمالًا نادرًا نسبيًّا ما لم تظهر طفرات في الجينات نفسها التي تشكل نظام كبت الورم. لذا فإن السرطان ينشأ عندما تحدُث طفرة وتُفلت من الضوابط الطبيعية وتسمح ببقاء الخلايا غير المنظمة وتكاثرها.

على مدى أكثر من قرنٍ من الزمان، اعتُمِدت الالتهابات الفيروسية والبكتيرية كعوامل خطورة للإصابة بالسرطان. ويُعزى ما لا يقلُّ عن ١٥ في المائة من السرطانات إلى العوامل المعدية، ومن الأمثلة على ذلك ارتباط فيروس الورم الحليمي البشري بسرطان عنق الرحم، وجرثومة المِعدة بسرطان المعدة، وكذلك ارتباط فيروس التهاب الكبد بي أو سي بسرطان الكبد. في بعض الأحيان تُدخَل الجينات الفيروسية في الجينوم البشري حيث يتم التعبير عنها باستمرار. يدمِّر العديد من هذه النواتج الجينية الفيروسية مسارات كبت

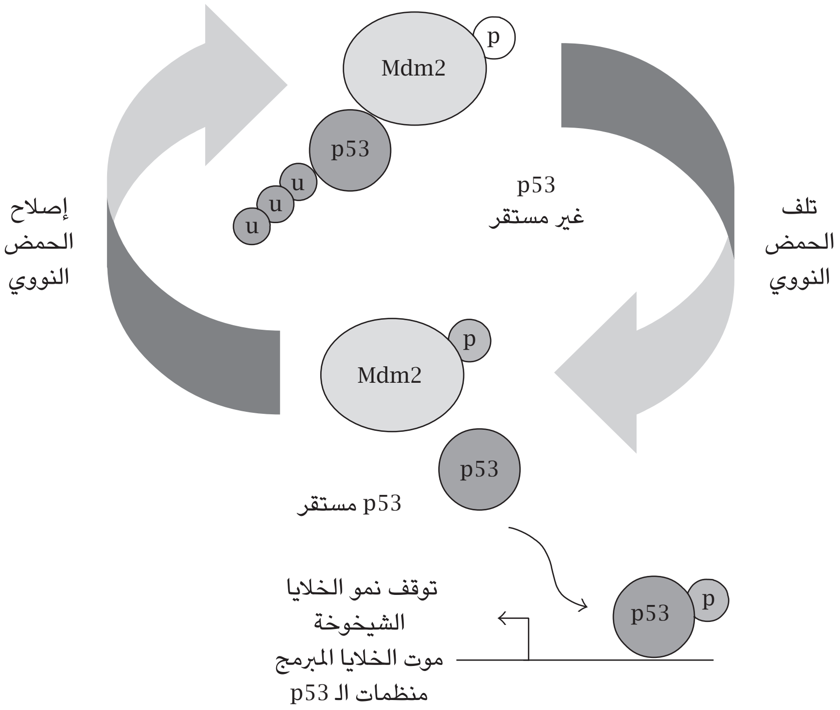
الورم الرئيسة، وبخاصة بروتين p53 وبروتين pRb؛ وهما صِماما الأمان القويَّان اللذان يتحكَّمان في الانتشار. وقد قادت دراسة بروتين مسرطن من أحد الفيروسات التي تصيب القرود (SV40) إلى اكتشاف الجين الرئيسي لكبح الورم TP53 الذي يشفر البروتين p53.

جين TP53: حارس الجينوم

يتفوق جين واحد على كل الجينات الأخرى في ارتباطه بقمع السرطان، وهو جين TP53. وقد أطلق عليه ديفيد لين في عام ١٩٩٢ لقب «حارس الجينوم»، وأطلقت عليه كارين فوسدن في عام ٢٠٠٠ لقب «نجم الموت»، بينما أطلق عليه رونالد دي بينهو في عام ٢٠٠٢ لقب «الشرطي الجيد/الشرطي السيئ». حاز هذا الجين في عام ١٩٩٣ لقب «جزيء العام» بتصويت العلماء، إذ صار معروفًا أن نصف إجمالي أنواع السرطانات تقريبًا التي تصيب الإنسان تحمل جين TP53 متحورًا، وفي كثير من السرطانات الأخرى، يكون البروتين p53 غير مُنظم.

تُنسَب إلى بروتين p53 وظائف عديدة، من ضمنها موت الخلايا المبرمج، والاستقرار الجينومي، وتثبيط عملية تكوين أوعية دموية جديدة. ينشط p53 استجابةً لإشارات الإجهاد المختلفة، مثل تعرض الخلايا لانخفاض المغذيات، وانخفاض الأكسجين، وتنشيط طلائع الجينات الورَمية. يعمل هذا البروتين بشكل أساسي في النواة كعامل نسخ يُنشط الجينات المطلوبة للقيام بالوظائف الاستتبابية. وُصِف البروتين p53 في السيتوبلازم أيضًا بأنه يلعب دورًا مباشرًا أكثر في تنشيط موت الخلايا المبرمج في الميتوكوندريا. وبوصفه محوِّلًا مباشرًا لاستجابة الإجهاد، يجب أن يكون p53 موجودًا دائمًا، حتى في الخلايا غير المجهدة. إن عملية نسخ p53 وترجمته ستكون طويلةً جدًّا بالنسبة لمدافع طليعي عن التوازن؛ لذا يُحْتَفَظ بـ p53 عند مستوياتٍ منخفضة من خلال عمليات التخليق والانحلال المستمرة، ويكون جاهزًا للتنشيط. يحدث التنشيط بسبب فقدان البروتين المثبط MDM2 الذي يُعزز تدمير p53 بطبيعة الحال. ويلعب p53 دورًا محوريًّا في القضاء على الخلايا التي اكتسبت طلائع جينات ورمية مُنشِّطة أو تلفًا جينوميًّا مُفرطًا. ومن ثم تسمح الطفرات في جين TP53 للخلايا السرطانية بالبقاء على قيد الحياة والانقسام أكثر عن طريق الهروب من عملية موت الخلايا (انظر شكل ٧-١).

لا يفتقر البروتين p53 المتحوِّر إلى وظائف مُثبط الورم للبروتين العادي أو بروتين النمط الشائع فحسب، بل إنه في كثيرٍ من الحالات يلعب أيضًا دور الجين الورَمي. في



شكل ٧-١: يتحكم البروتين المثبط MDM2 في مستويات الـ p53.

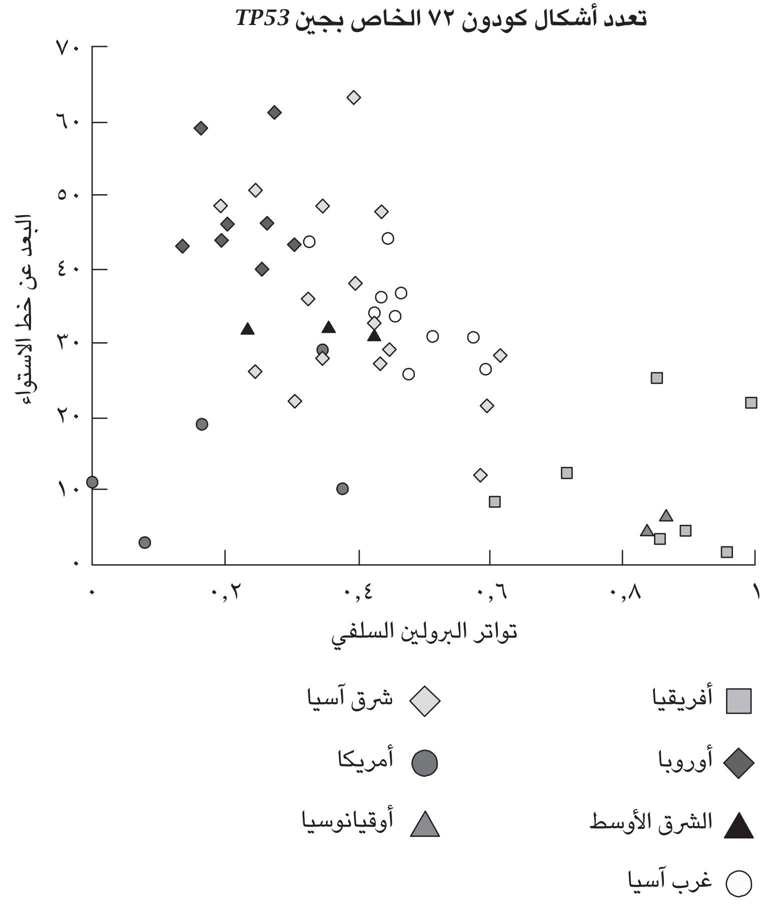
الواقع، صُنِّفَ p53 في البداية على أنه جين ورمي حتى اكتُشِفَ أن الخصائص المعززة للورم التي وُجِدت كانت ناتجة عن بروتين متحور. يمكن أن يكتسب p53 المتحور وظائف تزيد من استقراره، وتُبطل وظيفة بروتين من بروتينات النمط الشائع، وتُعزز نمو الورم بشكل فعال.

يمكن أن تؤثر الأشكال المتعددة التي تظهر بشكلٍ طبيعي في p53 على وظيفته. يشفِّر كودون ٧٢ في جين TP53 إما البرولين الأميني أو الأرجينين الأميني. ويؤثر هذا الاختلاف على بنية p53 ووظيفته؛ إذ ذُكِر أن الأرجينين عند كودون ٧٢ يكون أكثر كفاءةً في تحفيز موت الخلايا المبرمج من سلفه المتغير البرولين. في نصف الكرة الشمالي، لُوحِظت اختلافات جغرافية واضحة في تواتر ظهور البرولين والأرجينين. يُظهر مُتغير البرولين تدرُّجًا بين الشمال والجنوب، بمعدل تواتر ١٧ في المائة فقط في الاسكندناف

اللابيين، ولكنه يصل إلى ٦٣ في المائة في النيجيريين (انظر شكل ٧-٢). وفي أوروبا الغربية، يشيع وجود أليل الأرجينين أكثر بمعدلاتٍ تصل إلى ٨٣ في المائة. من ناحية أخرى، يشيع البرولين لدى الأمريكيين من أصلٍ أفريقي. وقد اقتُرِحَ أن هذه الاختلافات التي تعتمد على خطوط العرض تُعْزى إلى الانتقاء المرتبط بدرجة حرارة الشتاء أو الأشعة فوق البنفسجية. فيكون الجلد الشاحب ضروريًّا حيثما تكون الأشعة فوق البنفسجية السنوية مُنخفضة من أجل تصنيع فيتامين د وقد يكون مُتغيِّرُ الأرجينين — الأكثر ارتباطًا بموت الخلايا المبرمج — مَطلوبًا لإزالة الخلايا التي أتلفتها الأشعة فوق البنفسجية في الأفراد ذوي البشرة الشاحبة. وتشمل النظريات البديلة أن مُتغير الأرجينين أكثر كفاءةً في تحفيز السُّمرة، وأنه يساعد على الخصوبة عند القوقازيين أو يُعزِّز تحمُّل نظام غذائي غني بالدهون.

يمكن أيضًا أن تحدُث طفرات في الخط الجنسي في جين TP53، مما يؤدي إلى ظهور متلازِمة لي فراوميني التي سُميت نسبة إلى الطبيبين اللذين حدَّدا لأول مرة الرابط الوراثي بين مجموعة من الأورام التي تنشأ في الثدي والدماغ وخلايا الدم البيضاء (اللوكيميا). وبشكل عام، يحدث ٥ إلى ١٠ في المائة من السرطانات بسبب طفراتٍ وراثية أو طفرات في الخط الجنسي تنتقل من أحد الأبوَين إلى الأبناء. تشفر العديد من هذه الجينات إنزيمات إصلاح الحمض النووي مثل جين قابلية تكوين سرطان الثدي ١ المبكر أو BRCA1. أما طفرات الخط الجنسي في الإنزيمات التي تدخل في إصلاح القواعد غير المتطابقة في الحمض النووي فتقف وراء بعض أشكال سرطان القولون الوراثي.

إن الغالبية العُظمى من الطفرات السرطانية ليست وراثية، بل هي متفرقة تظهر فيها طفرات في الخلايا الجسدية. تنشأ الطفرات بسبب أخطاء غير مُصحَّحة في التناسُخ، وأيضًا بسبب التعرض إلى عوامل بيئية مثل المواد الكيميائية المسرطنة في دخان التبغ أو الأشعة فوق البنفسجية. إذا ظلَّت الطفرات دون تصحيح وإذا حدثت في الخلايا المنقسِمة، ينتقل الضرر إلى الخلايا البنوية. يؤدي الفشل في تصحيح الأخطاء في الحمض النووي إلى عدم الاستقرار داخل الجينوم، وتتراكم طفرات إضافية بمرور الوقت. وهو ما يزيد من فرص تطور الخلية المتحورة إلى سرطان. وهكذا فإن تطور السرطان مُعقد؛ إذ ينطوي على تفاعلات بين الجينات والبيئة. وبما أن حدوث الطفرات المتعددة أمر مطلوب في مسارات بيولوجية مختلفة، فعادة ما يستغرق المرض وقتًا كي يتطور؛ ولذا فهو عادة ما يرتبط بالأفراد الأكبر سنًّا.



شكل ٧-٢: التوزيع الجغرافي لمتغيرات أو تعدُّد أشكال كودون ٧٢ الخاص بجين TP53. عُثِرَ على السلف المتغير البرولين بالقُرب من خط الاستواء، بينما كانت نسخة الأرجينين أكثر شيوعًا بالقُرب من القطبَين.

التيلوميرات والخلايا السرطانية

تتمتع الخلايا البشرية الطبيعية بعُمرٍ محدود، وفي نهايته تتوقف عن الانقسام وتدخل في حالة شيخوخة تكرارية، وهي عملية تقمُّع في حدِّ ذاتها تُكوِّن الأورام. والسبب في ذلك

هو تآكُل التيلومير. يكتشف p53 التيلوميرات القصيرة المتآكِلة ويمنع حدوث المزيد من الانقسام الخلوي. في المقابل، يمكن أن تتمتع الخلايا السرطانية بالقدرة على الانقسام إلى الأبد كما يظهر في خطوط الخلايا الخالدة مثل «خلايا هيلا» المشتقَّة من الأورام البشرية. لذلك يجب أن تكتسب الخلايا السرطانية آلية صيانة مُستمرَّة للتيلومير، وتأتي هذه الآلية بالنسبة إلى معظم السرطانات على شكل إنزيم التيلوميراز الذي يُضيف تكرارات التيلومير إلى نهاية الكروموسومات. تُصبح بعض الأورام خالدةً في غياب إنزيم التيلوميراز، وتصلح عملية الإطالة البديلة، ALT، التيلوميرات الخاصة بها.

الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّر والسرطان

صار الدور المهم لجزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرة مُعترَفًا به كعامل أساسي في تكوين السرطان. ويُعد سرطان البروستاتا أحد الأسباب الرئيسة للسرطان لدى الرجال، وفيه يختل نظام ستة جزيئات من الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّر على الأقل، وبعضها يكون مُحَفَّزًا بهرمونات الذكورة أو الأندروجينات. تضع عمليات الانتقال الكروموسومي الخاصة بالسرطان عناصر استجابة هرمون الذكورة بجانب جينات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّر مما يؤدي إلى اضطراب تنظيمها. وينتج عن هذا سلسلة من الأحداث الخلوية التي تؤدي إلى التسرطن وتطور الورَم. تمثل جزيئات الحمض النووي الريبي غير المُشَفِّرة احتماليةً جذَّابة كواسِماتٍ للكشف عن سرطان البروستاتا وتصنيف درجات خطر الإصابة به، وقد تكون أيضًا أهدافًا علاجية ممتازة. وقد تُصبح العلاجات القائمة على الحمض النووي الريبي خيارًا واسع الانتشار لعلاج السرطان مُستقبلًا.

الخلايا الجذعية السرطانية

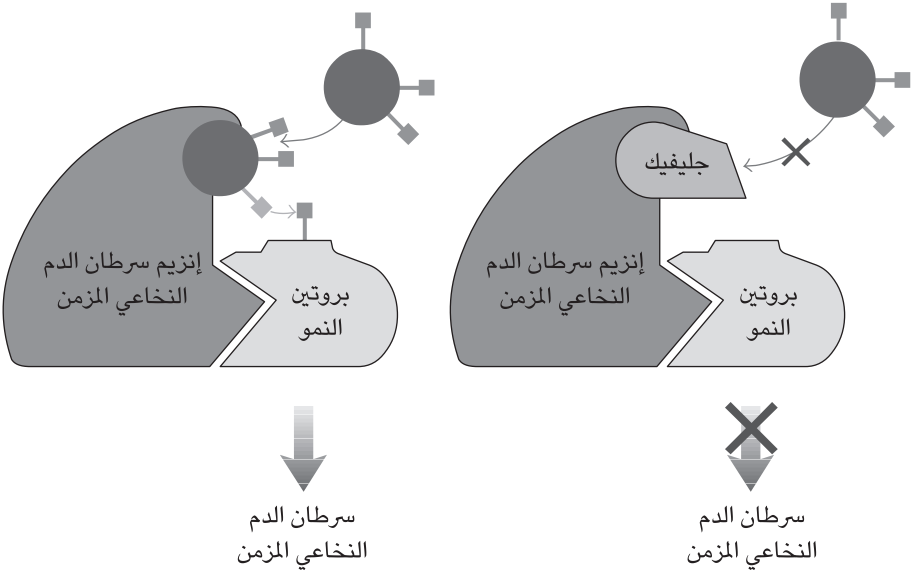
لا تتمتع كل الخلايا التي تتكوَّن منها كتلة الورم بالقُدرة على تجديده. فتُشير بعض الأدلة إلى أن عددًا قليلًا من الخلايا داخل كتلة الورم هي التي تحافظ على السرطانات، وتُعرَف هذه الخلايا بالخلايا الجذعية السرطانية (CSCs). مثل نظيراتها العادية، تقاوم الخلايا الجذعية السرطانية إلى حدٍّ ما العلاجات المضادة للتكاثُر. وفي كثيرٍ من الأحيان، يكمُن السبب وراء فشل علاجات السرطان الحالية في القضاء على المرض في أن الخلايا الجذعية

السرطانية تنجو من العلاجات الحالية التي تُدمِّر الحمض النووي؛ ومن ثم تُعيد تكوين الورم. حتى العلاجات الموجهة الحديثة قد تفشل في النهاية بسبب وجود الخلايا الجذعية السرطانية؛ ولذا لا بد أن تُصبح هذه الخلايا أهدافًا للعلاجات المستقبلية.

العقاقير الموجهة الجديدة

قدَّمت المشروعات الحديثة الواسعة النطاق المعنية بتسلسل الجينوم السرطاني قدرًا هائلًا من المعلومات حول التغيرات الجينية المرتبطة بالسرطان. ولكن لا بد أن تؤخَذ أهمية مجموعة الخلايا الجذعية السرطانية التي تُشكل أقليةً بعين الاعتبار عند تحليل هذه البيانات. وقد قدَّمت تقنية تحليل المصفوفات، التي تُقارن مخططات تعبير الخلايا السرطانية وغير السرطانية، بعض الأفكار المفيدة في هذا الشأن. وبما أننا لدَينا الآن فهم أفضل للمسارات الجزيئية للسرطان، فقد صِرنا في وضع أفضل يُمكِّننا من ابتكار العلاجات. حتى وقتٍ قريب، اقتصر علاج السرطان على الاستئصال الجراحي للأورام والعلاج الكيميائي والإشعاعي. وفي حين أن هذه العلاجات لا تزال قيد الاستخدام، فالنهج العلاجي الأحدث هو استهداف جزيئاتٍ مُعينة يقتصر وجودها على السرطان. ويُشكِّل هذا تحدِّيًا نظرًا لعدد المسارات البيولوجية المعنية وتعقيدها. غير أن الهدف هو تعطيل وظيفة البروتينات المسرطنة المعززة لنمو الورم أو إعادة تنشيط وظيفة كابتات الأورام.

من أوائل عقاقير العلاج الموجَّه التي تم تطويرها كان عقار «إيماتينيب» (Imatinib) أو «جليفيك» (Gleevec™)، وهو عقار مُصمَّم تُسوِّقه شركة «نوفارتس» لعلاج نوع من سرطان الدم يُسمى سرطان الدم النخاعي المزمن (CML). يبدأ سرطان الدم النخاعي المزمن كمرحلةٍ مزمنة طويلة، مع ارتفاع عدد خلايا الدم البيضاء بسبب انتقال كروموسوم بعينه يُعرف باسم كروموسوم فيلادلفيا (Ph). يُولِّد كروموسوم فيلادلفيا إنزيم الورم BCR–Abl. تصبح الـ BCR، أو منطقة التوقف العنقودي، على الكروموسوم ٢٢ مرتبطة بكيناز Abl من الكروموسوم 9q. يؤدي هذا إلى إزالة التحكم الطبيعي لتعبير Abl الذي أصبح عالقًا الآن في وضع «التشغيل». يُنشِّط إنزيم Abl المعبَّر عنه باستمرار، مسار انتشارٍ في خلايا +Ph لسرطان الدم النخاعي المزمن. ويُعَد عقار إيماتينيب نموذجًا لعلاجات السرطان الموجهة المصمَّمة بمساعدة نماذج التصوير البلوري لتُلائم الموقع النشط لهذا البروتين الاندماجي؛ ومن ثم تثبيط نشاط الإنزيم



شكل ٧-٣: جليفيك (Gleevec™) هو عقار مُصمَّم خصيصى لتثبيط بروتين النمو المتحور أو الكيناز الذي يتكوَّن بواسطة اندماج BCR وABL في خلايا سرطان الدم النخاعي المزمن.

المتحوِّر (انظر شكل ٧-٣). يمتاز العلاج بآثاره الجانبية الشديدة الانخفاض؛ وهذا لأنه يُصيب الخلايا السرطانية التي تؤوي الإنزيم المتحور على وجه التحديد دون أن يُصيب الخلايا الطبيعية. وهذا يمنح المرضى الراحة من حدة المرض ويُطيل فترة البقاء على قيد الحياة ولكنه لا يُعالج المرض مع الأسف؛ إذ إنه لا يقتل الخلايا الجذعية السرطانية. فتظل خلايا سرطان الدم +Ph حيةً، كما اكْتُشِف من خلال تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسِل للنسخ العكسي؛ ومن ثم يحتاج المريض إلى علاجٍ مُستمر. وفي نهاية المطاف تظهر طفرات إضافية في الخلايا الجذعية السرطانية تمنحها مقاومةً للأدوية، ويتحوَّل سرطان الدم النخاعي المزمن إلى مرحلةٍ قاتلة لا يمكن تمييزها عن سرطان الدم الحاد. وقد خضعت بعض هذه الطفرات الجديدة للدراسة وجُرِّبَت عقاقير مُصمَّمة جديدة.

الفصل الثامن

الطب الشرعي وعلم الأحياء الجزيئي

يتمثل التحدي الأساسي لعلم الأحياء الجزيئي في استخدام نتائج الأبحاث لتلبية متطلبات المجتمع الحديث. وللواسمات الجزيئية تأثير كبير، سواء على القاضي أو على المستشارين أو حتى على من في قاعة المحكمة. يلعب تحديد البصمة الوراثية دورًا في المساعدة على حل الجرائم، وفي حالات الإخفاق في تطبيق العدالة. وعلى الرغم من أن ٩٩٫٥ في المائة من تسلسل الحمض النووي البشري ثابت لدى جميع البشر، فهناك مناطق صغيرة من التبايُن خاصة بكل فرد وتمنح كل شخص بصمة وراثية فريدة. وتتزايد التطبيقات الخاصة بتحديد البصمة الوراثية وتُستخدَم الآن لتحديد الأغذية المغشوشة والملوثة.

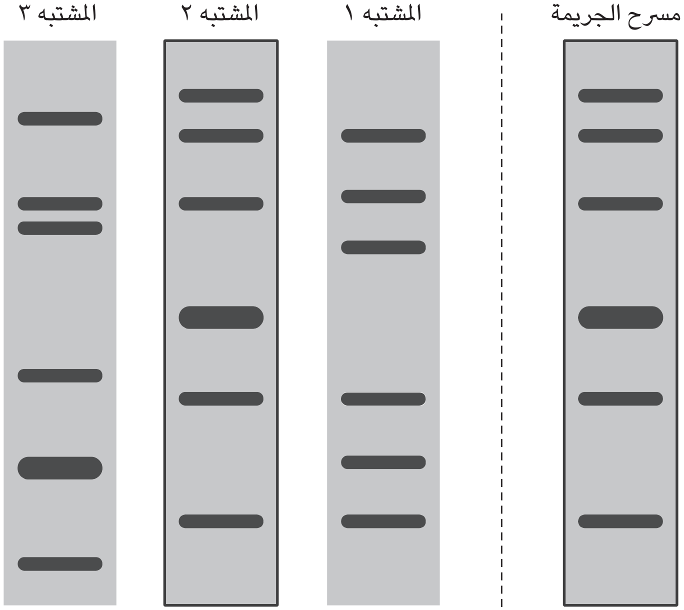
تحديد البصمة الوراثية باستخدام التسلسُل الفريد الموجود في جينوماتنا

في عام ١٩٧٧، طبق أليك جيفريز — الذي يحمل الآن لقب السير أليك جيفريز الحاصل على زمالة الجمعية الملكية — تقنيات علم الأحياء الجزيئي لتحليل التبايُن الوراثي في الجينات البشرية. كانت طريقة الاختيار في ذلك الوقت هي تعدُّد أشكال طول جزء الحصر (RFLP). وتضمن ذلك استخدام إنزيمات القطع ذات التسلسُل الخاص لقطع الحمض النووي إلى أجزاء أقصر. بعد ذلك تُفصل قِطَع الحمض النووي حسب الحجم على مادة هلامية قبل نقلها إلى غشاء. بمجرد إرفاقها بالغشاء، أو بلطخة ساذرن، يُفحَص الحمض النووي بواسطة تسلسُلٍ موسومٍ من الجين المعني. تؤدي طفرة فردية أو اختلاف واحد في قاعدة الجين إما إلى خلق موقع قطع على الحمض النووي أو تدميره، مما ينتج عنه جزء ذو طول أقصر أو أطول على التوالي. تهاجر القطع على الهلام بسرعات مختلفة؛ ومن ثم تظهر على شكل حُزَم ذات أحجام مختلفة على لطخة ساذرن. غير أن جيفريز وجد أن الحمض النووي البشري داخل الجينات لم يظهر الكثير من التبايُن؛ لذا اتجه

لاستخدام الحمض النووي من الجينات البينية. وقد أدى هذا العمل إلى تطوير تقنية البصمة الوراثية. في صباح أحد الأيام من عام ١٩٨٤، طور جيفريز لطخةً في غرفة مُظلمة في جامعة ليستر. كانت لطخة حمض نووي من مساعد أبحاثه وأفراد أسرته، وما رآه في كل عينةٍ من عينات الحمض النووي كان عبارة عن مصفوفة من الحزَم تُشبه إلى حدٍّ ما رمزًا شريطيًّا. اكتشف جيفريز أول مثال على «تابع صغير» بشري وأدرك على الفور أهمية اكتشافه. والتوابع الصغيرة هي تسلسُلات من الحمض النووي تتكوَّن من نحو ثلاثين زوجًا قاعديًّا تتكرر من عشرات إلى مئات المرات. وعدد هذه التكرارات المترادفة المتغيرة قابل للتوريث ومُتباين إلى حدٍّ استثنائي بين الأفراد. وهكذا توافر لدى جيفريز وفريقه في ذلك الوقت آلية لعرض أعدادٍ كبيرة من التوابع الصغيرة التي من شأنها أن توفر نمطًا فرديًّا للغاية أو بصمةً وراثية من الحمض النووي البشري. على سبيل المثال، تسمح بصمة الحمض النووي بإجراء مقارناتٍ سهلة بين الحمض النووي الموجود في مسرح الجريمة، والحمض النووي الخاص بالعديد من المشتبه بهم المحتمَلِين (انظر شكل ٨-١). ويمكن استخدام هذه البصمات الوراثية ليس فقط في الطب الشرعي، ولكن أيضًا في نزاعات الأبوة والهجرة، وهذا على سبيل المثال لا الحصر.

لفتت إمكانات هذه التكنولوجيا انتباه محامٍ كان يدافع عن صبيٍّ صغير في عام ١٩٨٥ معرض لخطر الترحيل؛ ومن ثم الانفصال عن عائلته المزعومة في بريطانيا. وكانت هذه فرصة لاستخدام تقنية البصمات الجزيئية بشكلٍ عملي. فقد أُخِذَت عينات من الحمض النووي من الصبي ووالدَيه وأفراد الأسرة الآخرين وحُلِّلَت. وأظهر نمط الحزم على الهلام أن الصبي هو الابن الحقيقي للوالدَين البريطانِيَّين؛ ومن ثم لم يتم ترحيله إلى أفريقيا. وبعد تلك الواقعة، أدَّت تقنية تحديد البصمة الوراثية إلى تغييرٍ في قوانين الهجرة.

يُوجَد نحو ١٠ ملايين موقع مختلف يمكن للناس أن يتباينوا فيه في تسلسل الحمض النووي الخاص بهم داخل القواعد الموجودة في حمضنا النووي المقدَّرة بثلاثة مليارات قاعدة. وقد عمل البروفيسور جيفريز وفريقه على تحسين تقنيتهم للاستفادة من عددٍ أكبر من هذه التباينات، مما يجعلها مناسبةً لقواعد البيانات. كان هذا يُطلَق عليه آنذاك «تقنية تحديد البصمة الوراثية» وكانت على وشك تغيير وجه علم الإجرام إلى الأبد. يُخْتار عدد قليل ولكن شديد التبايُن من التسلسلات أو التوابع الصغيرة لتحديد البصمة الوراثية. وينتج عن هذه التسلسلات إجراءٌ شديد الحساسية مناسِب للاستخدام مع كمياتٍ صغيرةٍ من سوائل الجسم، واختبر جيفريز ذلك في المختبر عن طريق وضع بُقَع من الدم على عدة



شكل ٨-١: تستخدم تقنية فحص البصمات الوراثية في علم الطب الشرعي لتحديد التطابقات بين الحمض النووي المأخوذ من مسرح الجريمة مع ذلك الخاص بالمشتبه به.

أسطح، ثم استعادتها وتحليلها. كانت تقنية تحديد البصمة الوراثية على وشك أن تختبر في المحكمة. فقد تعرضت فتاتان للاغتصاب والقتل، واحدة في عام ١٩٨٣ والأخرى في عام ١٩٨٦. فهل كان هذا من فعل قاتل مُتسلسل، أم كانت الجريمتان غير مرتبطتَين؟ ألقت الشرطة القبض على رجلٍ وحصلت منه على اعتراف بارتكاب جريمة القتل الثانية. بدت القضيتان متشابهتَين لدرجة أن الشرطة اعتقدت أن المشتبه به ارتكب كلتا الجريمتَين حتمًا. قام جيفريز بتحليل عينات الطب الشرعي لتحديد البصمة الوراثية وأثبت أن نفس الرجل قد اغتصب الفتاتين. غير أن المشتبه به، الذي من الواضح أنه أدلى باعترافٍ كاذب، لم يكن هو القاتل. كان على الشرطة الآن العثور على رجلهم المنشود، وبعدما حصلوا على نتيجة فحص البصمة الوراثية للمجرِم، شرعوا في اختبار عينات دم أُخذت من خمسة آلاف رجل في المنطقة. وبعدما عثروا على من طابقها، حكم على المشتبَه به بالسجن مدى الحياة.

من التوابع الصغيرة إلى قواعد بيانات التكرارات المترادفة القصيرة

أراد علماء الطب الشرعي في جميع أنحاء العالم إنشاء قواعد بياناتٍ للبصمات الوراثية للمساعَدة في التحقيقات. وكان هناك طلب على استخدام تقنية مبسطة وأكثر حساسية. وكان الجواب هو تضخيم المناطق المتغيرة باستخدام تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل. غير أن مسابير التوابع الصغيرة التي كانت مُستخدَمة حتى ذلك الوقت كانت طويلةً جدًّا بالنسبة إلى تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل؛ لذا استُخدِمت تسلسلات أقصر تعرف باسم التكرارات المترادفة القصيرة. كل وسم أو تابع صغير هو عبارة عن تكرار ترادُفي قصير (STR) يتكوَّن من زوجَين إلى خمسة أزواج قاعدية من تسلسل الحمض النووي. يمكن أن يشترك ما يصل إلى ٢٠ في المائة من السكان في تكرار ترادُفي قصير واحد، ولكن باستخدام دزينة أو نحو ذلك من الواسمات التعريفية في تحديد بصمةٍ وراثية، يكون هامش الخطأ ضئيلًا. تسجل البصمة الوراثية كأليلٍ واحد أو اثنين أو كاختلافات في كل خمسة عشر تكرارًا ترادُفيًّا قصيرًا على الأقل. ويُطلَق على قاعدة بيانات الحمض النووي في الولايات المتحدة اسم «كوديس» (CODIS/نظام فهرس الحمض النووي المدمج)، وتحتوي على أكثر من عشرة ملايين ونصف مليون عينة من البصمات الوراثية الجينومية لمجرمين معروفين مُدانين، ولأحماض نووية غير معروفة كانت موجودة في مسارح الجرائم المختلفة. يُبْحَث في قاعدة البيانات عن تطابق تامٍّ مع بصمة وراثية تُركت في مسرح إحدى الجرائم. وتشترط الولايات المتحدة ما لا يقل عن ثلاثة عشر تكرارًا ترادفيًّا قصيرًا مُتطابقة لتحديد هوية الجاني؛ لذا يُحلَّل ما لا يقل عن خمسة عشر تكرارًا ترادفيًّا قصيرًا للتأكد من أن ثلاثة عشر منها على الأقل ذات نفع. إذا اختلفت المادة الموجودة في مسرح الجريمة في أيٍّ من تلك الأماكن الثلاثة عشر، فلا يُعتبر التطابق كاملًا؛ ومن ثم لا يكون لدى الشرطة مُشتبه به. غير أن التطابقات شبه الوثيقة يمكن أن تُشير إلى الأقارب المقربين.

في منتصف الثمانينيات، اغتال قاتل متسلسل اسمه المستعار «جريم سليبر» (النائم القاتم) عشر نساء على الأقل في منطقة لوس أنجلوس. ونجح هذا القاتل في تفادي الاعتقال لما يقرُب من خمسة وعشرين عامًا، ولكنه قُبِض عليه أخيرًا نتيجة لوجود قاعدة بيانات للبصمات الوراثية. في البداية، لم يُعثَر على أي تطابُق في قاعدة بيانات كاليفورنيا، ولكن بعد ذلك بعامَين، جاءت عينة حمض نووي من السلاح الناري لأحد المجرمين مُتشابه تشابهًا ملحوظًا مع الحمض النووي الخاص بالنائم القاتم. كان التفسير الأرجح هو أنه يعود لأحد أفراد عائلة النائم القاتم. كان مُستخدم السلاح الناري أصغر من أن يكون

قد ارتكب جريمة قتلٍ في الثمانينيات؛ لذا تركَّزت الشكوك على قريبٍ يكبره، ربما والده. أُخِذت عينة من الحمض النووي الخاص بالأب تطابقت مع الحمض النووي المأخوذ من أدلة مسرح الجريمة التي جُمِعَت منذ فترةٍ طويلة. وأخيرًا، تم القبض على النائم القاتم.

تُستخدَم بيانات البصمات الوراثية من أجل فوائد قانونية وطبية لا حصر لها. فهي تُستخدَم لمجابهة مجال الاتِّجار بالبشر الموجود على مستوًى دولي ضخم. يمكن اختبار البصمة الوراثية للأطفال المشتبه في تعرضهم للاتِّجار ولمِّ شملهم مع والديهم. على سبيل المثال، استخدمت منظمة تعرف باسم «دي إن إيه-بروكيدز» (DNA-PROKIDS) ومقرها في إسبانيا، تقنية تحديد البصمات الوراثية لتحديد أكثر من سبعمائة ضحية تعرضت للاتِّجار، مما منع المزيد من ممارسات العبودية والتبنِّي غير القانوني.

الحمض النووي القديم والتحليل الميتوكوندري

تُعَد التكرارات المترادفة القصيرة مفيدة للغاية في تحليل الحمض النووي الرديء الجودة أو المتدهور الموجود في مسرح أي جريمة؛ إذ عادة ما تكون تسلسلاته القصيرة محفوظة. غير أن الحمض النووي في العينات التي لم تُحفظ على النحو الأمثل لا يبقى منه سوى كمياتٍ صغيرة جدًّا ويكون مُفككًا للغاية. ومن المحتمَل أيضًا أن يكون مليئًا بالتلوُّث والتلَف الكيميائي. وهذه المصادر للحمض النووي تكون مُتدنية للغاية بحيث لا يمكن الحصول منها على سجل بصمةٍ وراثية باستخدام التكرارات الترادُفية الجينومية القصيرة، وفي هذه الحالات يكون الحمض النووي للميتوكوندريا، كونه أكثر وفرة، أفيدَ من الحمض النووي في تحديد البصمة الوراثية. يُعتقَد أن الميتوكوندريا، وهي مراكز توليد الطاقة في الخلية الفقارية، تنحدِر من بكتيريا انتقلت إلى الخلايا منذ ملياري سنة. يشفِّر الجينوم المتواضع المتبقي للميتوكوندريا سبعة وثلاثين جينًا، ولكن يُوجَد العديد من النُّسَخ لكل خليةٍ مقارنة بالحمض النووي. وبناءً عليه تُوجَد المئات من جينومات الميتوكوندريا مقابل جينوم نووي واحد. يُورَث الحمض النووي للميتوكوندريا من خلال النسل الأنثوي فقط، وقد أُرْجِع الحمض النووي للميتوكوندريا الموجود في البشرية جمعاء إلى سلَف أنثوي مُشترَك، يُطلَق عليها اسم «حواء الميتوكوندريا»، التي عاشت (من بين نساء أخريات) في أفريقيا منذ حوالي ١٧٠ ألف سنة. ويعتبر تحديد البصمة الوراثية الخاص بالحمض النووي للميتوكوندريا هو الطريقة المُثلى لتحديد هويات الأشخاص المفقودين أو مجهولي الهوية إذا كان العثور على قريبٍ من ناحية الأم ممكنًا.

يمكن لاختصاصيِّي علم الأحياء الجزيئي تضخيم المناطق الشديدة التغير من الحمض النووي للميتوكوندريا من خلال تفاعُل البوليمراز المتسلسل للحصول على مادة كافية للتحليل. تُحدَّد تسلسلات نواتج الحمض النووي ويُبْحَث عن اختلافات النوكليوتيدات المفردة عن طريق مقارنتها بالحمض النووي المرجعي لأحد أقرباء الأم. ويُعَد وجود تناقُض بين اثنين أو أكثر من النوكليوتيدات سببًا كافيًا لاستبعاد التطابق. وقد استُخْدِم اختبار الحمض النووي للميتوكوندريا لاستبعاد احتمالية أن تكون المحتالة آنا أندرسون هي الأميرة أناستازيا أميرة عائلة رومانوف.

فتحت قوة الجمع بين تضخيم تفاعل البوليمراز المتسلسل مع تحديد البصمة الوراثية إمكانية استخدام الحمض النووي من بقايا الهياكل العظمية، وفي عام ١٩٨٩ استُخدِمَت تقنية التكرارات المترادِفة القصيرة هذه للعثور على مكان الطبيب السيئ السُّمعة جوزيف مينجيل. لطالما تمَّ البحث عن طبيب معسكر الأوشفيتز النازي لتحقيق العدالة لضحايا جرائم الحرب التي ارتكبها. كانت هناك مشاهدات عديدة مزعومة له، ولكن أفادت تقارير أُخرى إلى أنه تُوفي في البرازيل. قورنت البصمات الوراثية من رفات مينجيل المزعومة في مقبرةٍ برازيلية، مع تلك الخاصة بأقاربه الذين على قيد الحياة، وتأكَّدت هوية الجثة بأنها لطبيب الأوشفيتز السيئ السمعة.

تصدَّرت هذه التكنولوجيا عناوين الصحف عندما طُبِّقَت في حل قضية قتلٍ عمرها ثمانون عامًا، حيث عُثر على الضحية، التي لم يتسنَّ التعرُّف عليها في ذلك الوقت، في سيارة مُحترقة. قتل القاتل ألفريد روس الذي كان مصابًا بالذهان رجلًا مجهول الهوية ثم وضع الجثة في سيارة ثم أضرم فيها النار. أراد أقارب رجل اختفى في ذلك الوقت معرفة ما إذا كانت الضحية المجهولة هي سلَفهم. كانت كمية صغيرة من الأنسجة التي تعود إلى الضحية متاحةً لمقارنة الحمض النووي للميتوكوندريا مع الحمض النووي للعائلة لمعرفة ما إذا كان هناك تطابق. استبعدت النتائج الرجل المختفي، ولا تزال هوية ضحية جريمة السيارة المشتعلة دون حل.

تقنيات الجيل التالي من تحديد تسلسُلات الحمض النووي: عندما لا يكون تطابق الحمض النووي كافيًا

بغض النظر عن مدى قوة تقنية تحديد البصمة الوراثية، فهي لا يمكنها تزويدنا إلا بهويةٍ مطابقة. وسيكون من المفيد للغاية أن يكشف الحمض النووي المأخوذ من مسرح الجريمة أيضًا شيئًا عن المظهر الجسدي للشخص صاحب العينة.

أصبح من الممكن الآن للحمض النووي المأخوذ من مسرح الجريمة أو الحمض النووي القديم أن يكشف ما هو أكثر بكثيرٍ من تطابق النمط الجينوميٍ. فقد أتاح تحليل النمط الجينومي المستنِد إلى تقنية تحليل المصفوفات وتكنولوجيا دراسة الترابط الجينومي تحديد الواسِمات الجينية للسمات المعقدة، بما في ذلك شكل الشخص. وأدت التطورات الجديدة في علم الأحياء الجزيئي، مثل تحليل الإثراء الجينومي باستخدام التقاط الهجين وتقنيات الجيل التالي من تحديد تسلسُلات الحمض النووي، إلى تحسينٍ جذري في قُدرتنا على تحليل الحمض النووي القديم. يمكن الآن تحديد خصائص التصبُّغ من الحمض النووي القديم؛ إذ إن الجلد والشعر ولون العين من أسهل الخصائص التي يمكن التنبؤ بها. ويرجع هذا إلى العدد المحدود من الاختلافات الأساسية أو تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة المطلوبة لتفسير مُعظم التبايُن. حدد اختصاصيو علم الأحياء الجزيئي أيضًا الجينات والمسارات الجزيئية المرشَّحة التي تدعم هذه السمات. وقد تمَّ تحديد التسلسل الجيني الخاص بمستقبل الميلانوكورتين 1 (MC1R) ووُجِد أنه يحتوي على متغيرات نشاطٍ كاملة أو جزئية مرتبطة بالتصبُّغ الأغمق أو الأفتح لدى البشر على التوالي. ومن المثير للاهتمام أنه عُثِرَ على متغيرات MC1R كاملة وجزئية النشاط في الماموث البليستوسيني، وهو ما منحها لون شعر داكنًا وفاتحًا. وثبت أن بعض أفراد إنسان النياندرتال كان لديهم مُتغير غير نشِط إلى حدٍّ كبير من جين MC1R، وهو ما يؤدي إلى ظهور شعر أحمر وبشرة فاتحة كشكلٍ ممكن من أشكال التكيف مع الحياة في المناطق ذات الكثافات المنخفضة للأشعة فوق البنفسجية حيث تكون البشرة الفاتحة شرطًا ضروريًّا لتخليق فيتامين د. ولم يستنتج سوى القليل جدًّا، بخلاف التصبُّغ، عن مظهر شخصٍ ما من خلال تحديد تسلسُل جيناته.

الحمض النووي القديم والنياندرتال

اكتشفت بقايا إنسان النياندرتال في ألمانيا في القرن التاسع عشر، ولكنها كانت تُعتبر في ذلك الوقت ظاهرة تطورية غريبة لا علاقة لها بالإنسان العاقل (الهومو سابين). غير أن إنسان النياندرتال قد اختلط بالإنسان الحديث في أوروبا منذ ما يصل إلى ٣٠ ألف سنة، مما يجعل تزاوجهما احتمالًا مُثيرًا للاهتمام. جاءت المحاولات المبكرة لحل مسألة الحمض النووي لإنسان نياندرتال في الجينوم البشري بالسلب، ولكنها اقتصرت على استخدام الحمض النووي للميتوكوندريا بحجمه الجينومي المحدود. وكشف تسلسُل

الحمض النووي الجينومي الحديث أن غير الأفارقة المعاصِرين ينحدِرون من أفرادٍ قدامى كانوا نتاجًا للتزاوج بين البشر وإنسان النياندرتال. تُظهِر مقارنة بين الحمض النووي الجينومي من مجموعات إنسان النياندرتال وأشباه البشر القُدامى (الهومينين) مع الإنسان الحديث غير الأفريقي أن ميراثنا الصغير من الحمض النووي الخاص بإنسان النياندرتال يرجع إلى التزاوُج المحدود و«الحديث» من منظورٍ جيولوجي. لذلك في أواخر عصر البليستوسين، يبدو أن مستوياتٍ منخفضةً من التزاوُج حدثت بالفعل بين إنسان النياندرتال ومجموعات أشباه البشر الأخرى، بمن في ذلك الإنسان العاقل. لقد ورث الإنسان الحديث بالذات المعلومات الوراثية لإنسان النياندرتال التي تؤثر على الكيراتين على وجه الخصوص، وهو البروتين البنيوي الليفي الموجود في الشعر والجلد الذي ربما ساعدَنا على التكيُّف مع المناخ غير الأفريقي. وتشير النتائج إلى أن جزءًا من السبب وراء وجود نسبة منخفضة للغاية (١,٥ إلى ٢ في المائة فقط) من جينوم إنسان النياندرتال في الإنسان الحديث الآن هو أن أليلات النياندرتال، أو المتغيرات الجينية، تسببت في انخفاض الخصوبة عند الذكور عند انتقالها إلى السياق الوراثي البشري.

الحمض النووي للملك ريتشارد الثالث يُحدِّد رُفاته

في عام ٢٠١٢، عُثِرَ على بقايا هيكلٍ عظمي أسفل موقف للسيارات في ليسيسترشاير، بإنجلترا. ونتج عن تحليل الحمض النووي المقارن للميتوكوندريا المأخوذ من الهيكل العظمي والأقارب الأحياء للملك ريتشارد الثالث كما هو مُحدَّد في علم الأنساب تطابُقٌ تام. بالنسبة إلى الحمض النووي القديم المتدهور، قد يكون الحمض النووي للميتوكوندريا والجزء غير المعاد تركيبه من كروموسوم Y الغني بالتسلسلات المتكررة هما فقط المفيدَان. ونظرًا لأن هذه التسلسلات لا تخضع لإعادة التركيب، فهي تنتقِل بحذافيرها من الأب إلى الابن. بالنسبة إلى الهيكل العظمي الغامض، لم تتطابق تسلسلات الكروموسوم Y مع الأحفاد المعاصرين المفترَضين، مما يدل على وجود أبوَّةٍ زائفة حدثت في مكانٍ ما على طول النسل. غير أن الروابط الأمومية أكثر موثوقية لأسبابٍ واضحة، وفي هذا الصدد وُجِد تطابق جيد بين حفيدَين من أحفاد آن أوف يورك، أخت ريتشارد، والهيكل العظمي المجهول. بعد ذلك، كُتِبَ لون العين والشعر من الحمض النووي الجينومي لريتشارد باستخدام المسابير في فحص تعدُّد أشكال النوكليوتيدات المفردة ذات الصلة متبوعًا بفحص تفاعل البوليمراز المتسلسل المباشر وتحديد التسلسل للتحقُّق من صحة النتائج. وأظهر هذا

الفحص أن ريتشارد كان على الأرجح أزرق العينَين وأشقر في صباه، على الرغم من أن لون شعره قد صار داكنًا على الأرجح ببلوغه سِن الرشد ليتطابق مع اللون الموجود في صورته المقوَّسة الشهيرة. تشكل هذه الأدلة الجينية، بالإضافة إلى السمات الجسدية للهيكل العظمي والتأريخ الكربوني، دليلًا دامغًا على أن الهيكل العظمي ١ الذي عُثِرَ عليه في موقف للسيارات فوق موقع مباني الرهبان الفرانسيسكان في ليستر يعود إلى ملك إنجلترا ريتشارد الثالث، آخر ملك من أسرة بلانتاجينت الملكية.

معالجة الأوبئة والجوائح

على مرِّ التاريخ، نزل بالعالم الذي نعرفه كوارث كالكوليرا وغيرها من الأمراض أو الأوبئة المتفشِّية. وتُساعدنا أدوات وتقنيات علم الأحياء الجزيئي الحديثة الآن في فَهْم كيفية تطوُّر مُسببات الأمراض، ومن أين تأتي الأوبئة، وإذا كان يمكن فعل أي شيءٍ لإيقافها. مع تطور الحشرات والكائنات المضيفة معًا، تظهر سلالات من مُسببات الأمراض تكون أكثر ملاءمة للمضيف ومن ثم تكون أقل فتكًا. ويكون لهذا عواقب بالنسبة إلى موجات تفشي الكوليرا.

تُنتَج الكوليرا عن عدة سلالاتٍ مختلفة من بكتيريا تُسمَّى ضمَّة الكوليرا (Vibrio cholera) ولا تزال تسبب ما يتروح بين ٥٨ ألفًا إلى ١٣٠ ألف حالة وفاة سنويًّا في جميع أنحاء العالم. أراد الدكتور هندريك بوينار، الذي يعمل في جامعة ماكماستر، دراسة تطوُّر سلالات الكوليرا. يقول هندريك: «أفضل طريقةٍ لفعل ذلك هو التركيز على الماضي وفك شفرة مُسببات المرض القديمة ومقارنتها بنظيراتها الحديثة لمعرفة كيف تغيَّرت بمرور الزمن.» في حوالي عام ١٨٥٠ في فيلادلفيا، تُوفي رجل بالكوليرا. لم يكن هذا مفاجئًا؛ لأن العالم في ذلك الوقت كان في براثن موجة التفشِّي الثاني والحاد لوباء الكوليرا، لكن ما كان غير عاديٍّ في ذلك الوقت هو أن قطعةً من أمعائه المصابة حُفِظَت في الكحول. وبعد مرور ١٦٥ عامًا، استُخلِص الحمض النووي من هذا النسيج القديم، ولكن لسوء الحظ كان الحمض النووي مُتحللًا بشدة، ويحتوي على قِطَع يبلغ متوسط طولها ٣٥ زوجًا قاعديًّا فقط. ولكن تم تحديد التسلسل الإجمالي للحمض النووي وأظهرت النتائج أن الحمض النووي لا يعود فقط إلى بكتيريا ضمَّة الكوليرا والتسلسلات الجينومية البشرية كما هو مُتوقَّع، بل يعود أيضًا لبعض أنسجة الأبقار من استخدامٍ سابق لوعاء التخليل.

يُلقي هذا الضوء على المشكلات التي تُواجه العمل على عينات الحمض النووي القديمة. باستخدام تحليل مصفوفات الحمض النووي الذي يحمل أليجنوكليوتيدات مُكملة لجينوم الكوليرا، وكذلك الحمض النووي للميتوكوندريا البشرية، تم بعد ذلك تنقية تسلسلات الحمض النووي لضمَّة الكوليرا وتحديدها وتجميع النتائج. قورنت هذه التسلسلات مع تلك الموجودة في جينومات الكوليرا المعروفة من موجتَي تَفَشٍّ حديثتَين وقعتا في أوائل ومنتصف القرن العشرين، والمعروفتَين باسم الجائحتين السادسة والسابعة على التوالي. كان الوباء الثاني الذي حدث في القرن التاسع عشر سببه سلالة الكوليرا الكلاسيكية التي نشرت الوباء في العالم حتى الجائحة السادسة (١٨٩٩–١٩٢٣). ولكن هذه الكوليرا الكلاسيكية اختفت الآن من الأرض، وحلَّت محلها سلالة كوليرا الطور في الوباء الأخير أو السابع. إذن فقد تسببت سلالة الكوليرا نفسها لأكثر من ١٥٠ عامًا في موجاتٍ مُتكررةٍ من العدوى، ولكن حلَّت محلها سلالةٌ أقل تدميرًا ولكنها لا تزال فتَّاكة.

أصبح علم الأحياء الجزيئي في الوقت الراهن في صميم مكافحة وباء حديث ولكنه وباء فيروسي هذه المرة، وهو مرض الإيبولا. اكْتُشِف فيروس الإيبولا في عام ١٩٧٦ وهو جزء من مجموعة حالات الحُمَّى النزفية الفيروسية. يتكوَّن جينوم الفيروس من شريطٍ واحدٍ من الحمض النووي الريبي طوله ١٩ كيلو قاعدة، وهو مُغطًّى بالبروتين والدهون التي تُشكِّل الفيريون أو الجسيم الفيروسي. أحد هذه البروتينات هو بوليمراز الحمض النووي الريبي المعتمِد على الحمض النووي الريبي الفيروسي والمطلوب لنسخ جيناته السبعة. تُعَد الخلايا البلعمية والوحيدات والخلايا التغصُّنية التي عادة ما تصدُّ أي دخيلٍ جديد في الجسم؛ هي نفسها المواقع المفضلة لتكاثر الفيروس. بعد ذلك تنقل هذه الخلايا المصابةُ الفيروسَ في جميع أنحاء الجسم. يُغير الفيروس جهاز المناعة عن طريق تحفيز التعبير عن الجزيئات الداعمة للالتهابات مثل الإنترفيرون والإنترلوكينات ذات التأثير الضار على المريض. تتسبَّب هذه البروتينات الصغيرة أو السيتوكينات في جَعْل الأوعية الدموية راشحةً وتحفز تخثر الدم. يستهلك هذا التخثر المنتشِر داخل الأوعية الدموية جميع عوامل التخثر في الجسم مما يؤدي إلى نزيفٍ داخلي وفشل الأعضاء الرئيسية والموت.

يُعتقَد بوجود مخزون للفيروس في القرود والخفافيش، مما يشكل خطرًا لحدوث مزيدٍ من موجات التفشِّي إما بسبب تناول الإنسان لها أو بسبب التلوُّث الناتج عن بُراز هذه الحيوانات فحسْب. ويُعَد الاكتشاف المبكر للحالات الجديدة أمرًا حيويًّا لمنع التطور

السريع لمزيدٍ من الأوبئة مثل ذلك المتفشي في سيراليون. والاختبار التشخيصي الأساسي المعتمَد في الوقت الحاضر هو تفاعل البوليمراز المتسلسل للنسخ العكسي لجينوم الحمض النووي الريبي للفيروس، ولكن يتطلب هذا الفحص مستوًى عاليًا من احتياطات الأمن الحيوي التي عادة ما تكون متاحةً في المختبرات المتخصصة فقط. متاح أيضًا اختبار المقايسة الامتصاصية المناعية للإنزيم المرتبط أو الإلايزا (ELISA) — وهي طريقة اختبار تُستخدَم فيها الأجسام المضادة للكشف عن الغلاف البروتيني لفيروس الإيبولا — ولكن لن تكون نتيجة الاختبار إيجابيةً إلا إذا كان الحمل الفيروسي مُرتفعًا بما يكفي بحيث تظهر الأعراض على المريض.

رمز شريطي للأنواع

النوع هو مجموعة من الكائنات الحية قادرة على التزاوج وإنتاج ذُرية خصبة، ولكن في حالة عدم وجود تجربةٍ تكاثُرية، كيف يُمكِننا التأكد من تحديد النوع؟ توصل بول هيبرت، الذي يعمل في معهد التنوع البيولوجي في أونتاريو، إلى فكرة الترميز الشريطي (أو الباركود) للحمض النووي كوسيلةٍ للإجابة على هذا السؤال. يَستخدِم الترميز الشريطي للحمض النووي تسلسلًا للحمض النووي داخل منطقة جينٍ واحدة تُوجَد في مجموعة كبيرة من الكائنات الحية التي تُتيح المجال للتوحيد القياسي عبر الأنواع.

اكتشف اختصاصيُّو علم الأحياء الجزيئي أن جينوم الميتوكوندريا المكوَّن من ٣٧ جينًا يُوجَد فيه تسلسل ٦٤٨ نوكليوتيدًا وهو أداة قوية لتمييز الأنواع. يتبايَن هذا الرمز الشريطي للميتوكوندريا تبايُنًا محدودًا جدًّا داخل النوع الواحد ولكنه يتداخل قليلًا أو لا يتداخل على الإطلاق بين الأنواع. فهو لا يتباين في أكثر من موقعَين بين أي شخصَين من بني البشر، ولكنه ينطوي على تبايُن بيننا وبين الشمبانزي، أقرب أقربائنا، في ٦٠ موقعًا. يسمح لنا تسلسُل الرمز الشريطي بتحديد الأنواع غير المعروفة وتصنيف الأنواع الجديدة. على سبيل المثال، تمَّ الآن تحديد عشرة أنواع منفصلة من الفراش الأزرق من جنس إسترابتس؛ نظرًا لأن الرمز الشريطي يُتيح لنا التمييز بين الأنواع ذات الصلة الوثيقة. وقد أُنشِئت مكتبات يمكن استخدامها للمقارنة وإيجاد المراجع باستخدام قطعةٍ من الحمض النووي للميتوكوندريا من جين السيتوكروم أوكسيديز C. وقد اختِير هذا التسلسُل؛ لأنه يعمل بشكل أفضل من أي شيء آخر. فما سبب فاعليته؟ قد يرجع ذلك إلى أنه بعد انفصال نوعَين عن سلَفٍ مشترك، سرعان ما تتغير التسلسلات وتُصبح فريدةً من نوعها.

وهذا أمر منطقي؛ لأن الحمض النووي للميتوكوندريا يتحوَّر أسرع بعشر إلى ثلاثين مرة من الحمض النووي، ولكنه لا يفسِّر حقًّا سبب اختلاف الرموز الشريطية للحمض النووي بصورةٍ ملحوظة داخل النوع الواحد. ثمة تفسير إضافي وهو أنه بدلًا من أن يكون تسلسل الميتوكوندريا غير فاعل، فقد يكون في الواقع مُحركًا قويًّا في عملية الانتواع (نشوء أنواع جديدة). فالميتوكوندريا هي مركز توليد الطاقة في الخلية، وتُطلِق الطاقة من خلال «حرق» الطعام من خلال التنفُّس. لا تُوجَد كل المعلومات الجينية اللازمة لتصنيع الميتوكوندريا داخل الحمض النووي للميتوكوندريا؛ إذ تُوجَد بعض الجينات أيضًا داخل الجينوم النووي. ويعد إنزيم السيتوكروم أوكسيديز C الذي يُشتقُّ منه «الرمز الشريطي» جزءًا مِن مركب يُحفِّز الخطوة الأخيرة في عملية تنفس الخلية. تقوم الجينات النووية بتشفير العديد من الوحدات الفرعية التي تُشكل هذا المركب الإنزيمي. لذلك لا بد أن يعمل الجينومان، جينوم الميتوكوندريا والجينوم النووي، في تناغُم كي تُمرِّر الوحدات الفرعية للسيتوكروم أوكسيديز الإلكترونات إلى الأكسجين من أجل إنجاح عملية التنفس. وعقوبة الفشل في ذلك هي الموت.

عندما تتغير الظروف البيئية ويتاح مصدر غذاء جديد، يجب أن تختار الكائنات الحية إنزيمات جديدة للاستفادة من هذا المصدر. تُولَد جينات الميتوكوندريا، عن طريق تحورها السريع، التباين اللازم لهذا الاختيار. ولكن لا بد من انتقاء التحورات في الجينوم النووي كي يظل متناغمًا وظيفيًّا مع الحمض النووي للميتوكوندريا، والكائنات الحية التي يمكنها ضمان عمل جينومات الميتوكوندريا والجينومات النووية معًا، هي فقط من يمكنها البقاء. تأتي جينات الميتوكوندريا من الأم فقط، ولكنها إذا لم تعمل في السياق النووي للنسل الجديد، فسيحدث انخفاض خطير في الكفاءة، يُشار إليه باسم الانهيار الهجيني. وهكذا فالتغييرات في جينوم الميتوكوندريا، للسماح باستخدام مصدر غذاء جديد لتوليد الطاقة على سبيل المثال، تتطلَّب انتقاء التغييرات المناسبة في الجينوم النووي للحفاظ على الأداء الوظيفي. عندما يتزاوج هذا الفرد المتكيِّف بعد ذلك مع فرد من المجموعة الأصلية، يمكن أن يؤدي اختلال التوازُن بين الجينومين إلى نسل غير قابل للاستمرار. ويُشير هذا الفشل في التزاوج بنجاح إلى أن الفردَين ينتمِيان إلى نوعَين منفصلَين. ومن ثم فقد ينجح الرمز الشريطي للحمض النووي في تتبُّع الأنواع؛ لأنه مُرتبط ارتباطًا وثيقًا بنشوئها من الأساس.

استخدام الحمض النووي للميتوكوندريا في الأمن الحيوي

يشمل الأمن الحيوي، من بين جوانب أخرى، حماية الحدود من غزو الآفات الضارة غير المرغوب فيها، وهو ما يتطلَّب تحديدًا دقيقًا وسريعًا للأنواع الغريبة والغامضة مورفولوجيًّا. ولهذا الأمر أهميةٌ خاصة في تحديد مراحل الحياة غير الناضجة للافقاريات التي يمكن أن يكون لها تأثيرات عميقة على النظم البيئية أو على اقتصاد بلد يعتمد بقوة على الزراعة. يمكن أن توفر الرموز الشريطية للحمض النووي أداة قيمة لتحديد الأنواع في سياق الأمن الحيوي. في عام ١٩٩٩، وصل وافد جديد مُدمِّر إلى نيوزيلندا، وهي عثات التفاح المطلية. وعلى الرغم من أنها تشكل مصدر إزعاج بسيطًا في موطنها الأصلي في أستراليا، فقد كان من المتوقَّع أن يكون لها تأثيرٌ كبيرٌ على مجال زراعة الفاكهة في نيوزيلندا يصل إلى ٢٠٠ مليون دولار نيوزيلندي على مدار العشرين عامًا القادمة إذا لم يتم القضاء عليها. كان الترميز الشريطي للحمض النووي أداةً لا تُقدَّر بثمنٍ لتحديد الآفة وتَتبُّع مكانها أثناء تنفيذ برنامج إبادتها. كذلك تم التعرُّف على ذباب الفاكهة الذي تم اعتراضه على حدود نيوزيلندا باستخدام الترميز الشريطي للحمض النووي. اعتمدت الأساليب السابقة على الأنسجة الطازجة المناسبة للفحوصات المناعية أو القائمة على البروتين. وتتناسب الفحوصات القائمة على الحمض النووي، لا سيما عند الجمع بينه وبين تفاعُل البوليمراز المتسلسل لفحص الحساسية، أكثر مع قضايا الأمن الحيوي والسعي إلى الإبادة عند الضرورة.

كيف يُمكننا التعرُّف على الأطعمة المغشوشة؟

وصل عددٌ من الفضائح المتعلقة بغش الأنواع وبطاقات التسميات المضللة للمنتجات الغذائية إلى وسائل الإعلام. فقد أفادت دراسة أجرتها شركة «أوشيانا» في عام ٢٠١٢ بأن ثلث عينات المأكولات البحرية المأخوذة من ٦٧٣ موقعًا للبيع بالتجزئة عبر الولايات المتحدة الأمريكية كان من نوعٍ مختلف عن النوع المبيَّن للمستهلك. فبمجرد تقطيع السمكة يصعب تحديد نوعها. ومن ثم يمكن تمرير البدائل الرخيصة وبيعها باعتبارها من الأنواع الفاخرة أو الأنواع المهدَّدة بالانقراض بما يتجاوز الحصة المقررة. وسواء كانت بطاقات التسمية المضلِّلة مقصودة أو غير مقصودة، فقد تُشكل مخاطر صحية كبيرة على جمهور المستهلكين. في عام ٢٠٠٧، بِيعَ عدد من أسماك الينفوخيات السامَّة على

أنها أسماك الراهب مما تسبَّب للمستهلكين في إعياءٍ شديد. كذلك سمكة الإسكولار، وهي سمكة زيتية، مُرِّرَت على أنها سمكة تونة بيضاء. وسمك الإسكولار ليس من أنواع التونة، ولكنه نوع من أسماك ثعبان الماكريل التي تحتوي على سُمٍّ طبيعي. يمكن أن يُعاني من يفرطون في تناول هذا النوع من الأسماك من مشاكل حادة في الجهاز الهضمي. في الآونة الأخيرة، فُرضت غرامة على شركة للمأكولات البحرية مقرُّها في فلوريدا لاتهامها باستيراد سمك السلمون المرقَّط التشيلي وبيعه ببطاقات مُضلِّلة على أنه سمك السلمون الأغلى ثمنًا. تم تحليل مُستخلَصات بروتين سابقة لتحديد أنواع المأكولات البحرية ولكن هذا لم يكن مُرضِيًا تمامًا. توفر الرموز الشريطية للحمض النووي الآن وسيلةً قوية للتحقيق في غش المأكولات البحرية. وتتضمن قاعدة بيانات الرمز الشريطي للحياة الكندية (BOLD) رموز حمض نووي شريطية لأكثر من ثمانية آلاف نوعٍ من الأسماك، ويمكن استخدامها لتحديد النوع بسرعة.

كذلك استُخدِم تحليل البصمة الوراثية للكشف عن وجود لحوم الخيل في منتجات لحوم البقر في الفضيحة التي بدأت في المملكة المتحدة وأيرلندا وتطوَّرَت حتى شملت عموم أوروبا. حدث ذلك عندما أجرت هيئة سلامة الأغذية في أيرلندا اختباراتٍ على المنتجات التي تحمل علامة «١٠٠٪ لحم بقري». فاكتشفوا وجود لحم الخيل في الهامبرجر الأرخص ثمنًا وفي بعض الوجبات الجاهزة المجمَّدة، بما في ذلك لازانيا اللحم البقري ومعكرونة البولونيز. واستُخدِمت طريقة فحص البصمة الوراثية المستندة إلى تفاعل البوليمراز المتسلسل للتمييز بين لحم الخيل ولحم البقر. وأدت النتائج إلى سحب الملايين من منتجات هامبرجر اللحم البقري والوجبات الجاهزة وعبوات اللحم المفروم من محلات السوبر ماركت والمطاعم. ومنذ ذلك الحين، يعمل تجار التجزئة بكدٍّ لاستعادة ثقة المستهلِكين بإعادة تقييم مصادرهم وزيادة اختبار المكوِّنات.

الفصل التاسع

التحدِّيات المستقبلية

يوفِّر لنا التقدُّم في علم الأحياء الجزيئي فُرَصًا لمعالجة القضايا العالمية المزمِنة. وهناك مجالان من مجالات علم الأحياء الجزيئي سيكون لهما تأثير كبير على المجتمع في السنوات القادمة، وهما الأمراض غير المعدِية وعلم الأحياء التخليقي.

يُطبَّق «علم الأحياء الجزيئي» على بعضٍ من أخطر التحديات التي تُواجه صحتنا المستقبلية وطول عمرنا. تتمثل هذه التحديات في وباء السمنة، والطب الشخصي، وتأثير الأمراض الوراثية. يلعب كلٌّ من النظام الغذائي ونمط الحياة دورًا في ثُلثي الأمراض المرتبطة بالتقدُّم في العمر مثل مرض السكري والسرطان واضطرابات القلب والأوعية الدموية. تُشكل معدلات حالات المرض والعواقب الاقتصادية الخاصة بوباء السمنة مصدرَ قلقٍ كبيرًا لدى كبار السن من السكان، وفي الوقت الحالي تُمثل تكلفة علاج مرض السكري من النوع الثاني المرتبط بالسمنة أكثر من ١ في المائة من الناتج المحلي الإجمالي في جميع أنحاء العالم. ومن الأمور ذات الصِّلة أيضًا تأخُّر الإنجاب وزيادة التلقيح الصناعي، ومرة أخرى، تأتي «البيولوجيا الجزيئية» في طليعة التقنيات الجديدة في هذا المجال. كما رأينا سابقًا، السرطان ليس مرضًا واحدًا ولكن له مئات الأشكال المختلفة؛ إذ يعتمد على الموقع والخلية الأصلية التي ينشأ فيها، ولكن الأهم من ذلك أنه يعتمد على طيف التعديلات الجينومية التي تُعزِّز تكوينه. كل هذه العوامل تؤثر على الاستجابة العلاجية. لذا أصبح واضحًا بشكلٍ مُتزايد أن معظم السرطانات ستتطلب تشخيصًا على مستوًى جزيئي حتى يمكن تقديم خدمات الطب الشخصي. يُشير الطب الشخصي إلى تصميم العلاج الذي يُناسِب المريض، بناءً على التركيب الجزيئي الخاص لمرضه. وقد أحدثَت التقنيات الجينومية والبروتينية ثورةً في فَهْمنا لعمليات المرض، والآن نترجم هذه المعرفة إلى إطارٍ سريري للتشخيص والعلاج.

من بين المبادئ الأساسية لأخلاقيات مهنة الطب، يأتي مبدأ «لا ضرر ولا ضرار» في المقام الأول، وهو ما يُشير إلى نهجٍ شخصي في العلاج. حتى وقت قريب، كان الأفراد المصابون بالمرض نفسه يتلقَّون العلاج نفسه مع تبايُن نتائجه. فيستجيب البعض بشكلٍ جيد لهذه العلاجات، بينما لا يستجيب البعض الآخر، أو حتى قد يُعانون من آثارٍ جانبية خطيرة. في الطب الشخصي، يتمثل النهج المتَّبع في تحديد المؤشرات الحيوية: الحمض النووي أو الحمض النووي الريبي أو جزيئات البروتين الخاصة بمرضٍ معين أو مرحلة مَرَضية معينة. والطب الشخصي هو مجال بحث متطور بموارد هائلة مخصَّصة للبحث عن المؤشرات الحيوية التي يمكن قياسها بدقةٍ لتوجيه التشخيص والعلاج. ومن المجالات التي تُستخدَم فيها المؤشرات الحيوية حاليًّا في الطب السريري علاج السرطان. يمكن استخدام التقنيات الجزيئية العالية الإنتاجية مثل تقنيات الجيل التالي في تحديد تسلسل السرطان الذي يُعاني منه المريض لتحديد العيوب الجزيئية المحدَّدة التي يحملها. إن العثور على نقطة الضعف الجزيئية لسرطان المريض هي الخطوة الأولى في علاجه. ونتحدَّث هنا عن «إدمان» الورَم على عيبٍ جزيئي بعينه يعتمد عليه الورم من أجل بقائه. وهكذا يكون تثبيط هذا العيب أو إزالته هو مفتاح القضاء على هذا السرطان.

المؤشرات الحيوية للتنبُّؤ العلاجي في السرطان

من الأمثلة المعروفة لعلاج السرطان الشخصي استخدام الجسم المضاد الأحادي النسيلة المتوافق مع البشر تراستوزوماب، المعروف تجاريًّا باسم «هيرسيبتين» (Herceptin). يُستخدَم هذا العقار لعلاج مرضى سرطان الثدي الذين تُفرط أورامهم في التعبير عن الجين الورمي HER2. يُجرى اختبار HER2 على عينةٍ حية من نسيج سرطان الثدي لتحديد مدى مُلاءمة العلاج باستخدام عقار هيرسيبتين. HER2 هو مُستقبِل عامل النمو المعبَّر عنه بإفراطٍ في أنواع مُعينة من سرطان الثدي الذي يقف وراء انتشار الورم واستشراسه. ويُعتبر علامة حيوية مهمة للعلاج الموجَّه في ١٥ إلى ٣٠ في المائة من سرطان الثدي وأنواع أخرى من السرطانات. تدمن هذه الأورام على هذا المستقبل غير المنظم؛ ومن ثم يؤدي كبحُه باستخدام الهيرسيبتين إلى وقف انتشار الورم. فقط المرضى الذين يُعانون من أورام HER2 إيجابية سيستفيدون من هيرسيبتين لذلك من المهم أن يقتصر الدواء على هؤلاء المرضى.

التحدي الذي يُواجهنا مستقبلًا هو توصيف إدمان الجينات الورَمية الجديدة، وتوفير أهداف جزيئية مناسبة لتطوير الأدوية، وتوثيق الفائدة السريرية لكبحِها. ويعمل التقدُّم

الحثيث في تقنيات الجيل التالي لتحديد التسلسُلات من الجزيئات المشتقَّة من العينات الحية على تعزيز موجةٍ من التقنيات الجينومية والنسخية وفوق الجينية والبروتينية الجديدة لتوفير هذه المعلومات. غير أن ثمة تحذيرًا من أن بعض التغيرات التي يُفترَض أنها مُتعلقة بالورم قد تكون موجودة في الخلايا الطبيعية. ويتطلب ذلك تقنيات آلية قائمة على التسلسُل لإتاحة الحصول على التحليلات العالية الإنتاجية والمتعددة الأبعاد للخلايا الفردية.

أدَّت الرغبة في استخدام طرقٍ أقل اجتياحًا من عينة الأنسجة إلى انهماك الباحثين في دراسة المؤشرات الحيوية في الدم للكشف عن السرطان والأمراض الأخرى، كما أن الحمض النووي الريسبي الميكروي من المرشَّحين المحتمَلين الجدد. تتورط جزيئات الحمض النووي الريبي التنظيمية الصغيرة هذه في العديد من الأمراض، منها السرطان والاضطرابات العصبية وأمراض القلب والأوعية الدموية، من بين أمراضٍ أخرى. تنتشر هذه الجزيئات في سوائل الجسم في حالةٍ مستقرة مما يجعلها علامات حيوية قوية محتمَلة، ولكن التقنيات الجديدة مطلوبة لقياسها قياسًا دقيقًا. قد تكمن الإجابة في تفاعل البوليمراز المتسلسل الرقمي الذي كانت تكاليفه المرتفعة حتى وقتٍ قريب تعوق استخدامه. يُعَد تفاعل البوليمراز المتسلسل الرقمي أحد أشكال الطريقة التقليدية التي تُتيح قياس المتغيرات النادرة بدقةٍ في سياق بيئة من جزيئات النمط الشائع. كذلك تُتيح تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل الرقمي عدَّ خلايا الدم البيضاء التي تتسرَّب إلى الورم بدقةٍ بحيث يمكن تقسيم المرضى إلى مجموعاتٍ للعلاج باستخدام العلاجات المناعية الجديدة. هذه العلاجات عبارة عن عقاقير مُصمَّمة لمنع الخلايا السرطانية من الهروب من جهاز المناعة؛ ومن ثم السماح للمناعة الطبيعية بالقضاء عليها.

الحمض النووي للميتوكوندريا والأمراض الوراثية

ترتبط مجموعة كبيرة من الحالات المنهِكة والمميتة، والتي لا يمكن علاج أيٍّ منها، بطفراتٍ في الحمض النووي للميتوكوندريا. ونظرًا لأن الحمض النووي للميتوكوندريا موروث من الأم، فإذا كانت المرأة تحمل طفرةً في الحمض النووي في الميتوكوندريا الخاصة بها، فهي مُعرضة لخطر نقْل هذه الطفرة إلى أطفالها. يتحوَّر الحمض النووي للميتوكوندريا بمُعدل أعلى من الحمض النووي بسبب ارتفاع عدد جزيئات الحمض النووي وانخفاض الكفاءة في التحكُّم في أخطاء تكرار الحمض النووي. يمكن أن تُسبب الطفرات في الحمض النووي للميتوكوندريا كلًّا من الإجهاض والمرض فيما يصل إلى واحدٍ من كل ٢٠٠ مولود

حي في المملكة المتحدة. تتراوح أمراض الميتوكوندريا في شِدَّتها من المنهِكة إلى المميتة. ونظرًا لأن الميتوكوندريا تُوفر غالبية الطاقة في الخلية، تشعر الأنسجة التي تتطلَّب الطاقة مثل القلب والدماغ والعضلات الهيكلية بالطفرات الضارة بشكلٍ أكثر حدة. على سبيل المثال، ترجع بعض أشكال الحثل العضلي إلى طفرةٍ في الحمض النووي للميتوكوندريا. كذلك تُقرر المزيد من النساء الغربيات تأجيل الأمومة، وهو ما يمكن أن يؤدي إلى زيادة خطر الإصابة بالعقم، ويرجع ذلك جزئيًّا إلى الميتوكوندريا المسنَّة والمتحوِّلة. وقد يؤدي تصحيح عيوب الميتوكوندريا هذه إلى تقليل العقم وفشل التلقيح الصناعي.

يُوجَد أكثر من ١٠٠ ألف نسخة من الحمض النووي للميتوكوندريا في سيتوبلازم البويضة البشرية. بعد الإخصاب، تبقى ميتوكوندريا الأم فقط على قيد الحياة، بينما تُستهدَف الأعداد القليلة من ميتوكوندريا الأب في البويضة الملقَّحة من أجل تدميرها. وهكذا يكون كل الحمض النووي للميتوكوندريا لجميع أنواع الخلايا في الجنين الناتج مُشتقًّا من الأم. عادة لا تحمل كل الميتوكوندريا الخاصة بالأم أي طفرةٍ بعينها، وهي حالة تُعرَف باسم التنسُّج المغاير. والمرضى المصابون بمرض مُتعلق بالميتوكوندريا عادةً ما يكون لدَيهم مزيج من نمط الحمض النووي الشائع (العادي) للميتوكوندريا والحمض النووي المتحوِّر للميتوكوندريا، وتعتمد شدة المرض على نسبة الاثنين. والأهم من ذلك أن المستوى الفعلي للحمض النووي المتحور في التنسُّج المغاير للأم ليس وراثيًّا، ويمكن أن يكون النسل في حالةٍ أفضل أو أسوأ من الأم. يؤدي هذا أيضًا إلى عدم اليقين؛ إذ إن نسبة ميتوكوندريا النمط الشائع مقارنة بالميتوكوندريا المتحورة قد تتغير أثناء التطور. لا تزال هذه العملية غير مفهومة بشكلٍ جيد حاليًّا، ولكن أي زيادة في نسبة الحمض النووي المتحور تؤدي إلى ظهور المرض تدريجيًّا وهو عادةً ما يكون أكثر وضوحًا في الأنسجة غير المنقسمة مثل الدماغ والقلب مما يؤدي إلى الإصابة بالخلل المعرفي والاعتلال العضلي.

من أمثلة الأمراض المتعلقة بالميتوكوندريا متلازمة بيرسون، حيث يؤدي حذف ٥ كيلو قاعدة من الحمض النووي للميتوكوندريا إلى فقر الدم في مرحلة الطفولة. ويُصاب الأطفال الذين يبقَون على قيد الحياة حتى سنِّ المراهقة باعتلالٍ عضلي مع زيادة الحمض النووي المتحور في عضلاتهم. وقد وجد أكثر من ٧٠٠ طفرة في الحمض النووي للميتوكوندريا تؤدي إلى الاعتلال العضلي والتنكُّس العصبي ومرض السُّكَّري والسرطان والعقم. من الواضح أن التدخُّل للوقاية من هذه الأمراض المدمِّرة يُعَدُّ احتمالًا جذابًا وقد يوفر استبدال الميتوكوندريا (MR) باستخدام التلقيح الصناعي الثلاثي الاتجاهات الحل لهذه المعضلة.

في هذه التقنية تُقدِّم متبرعةٌ الحمضَ النووي للميتوكوندريا مع الحمض النووي الخاص بالأم والأب، مما يمنح الجنين ثلاثة آباء (انظر شكل ٩-١).

نقل النواة الأولية

الخطوة ١

يُستخدَم الحيوان المنوي والبويضة الخاصَّان بالوالدين المستهدفين لتكوين جنينٍ ذي ميتوكوندريا مَعيبة. يتم أيضًا تكوين جنين مانح بميتوكوندريا سليمة.

الخطوة ٢

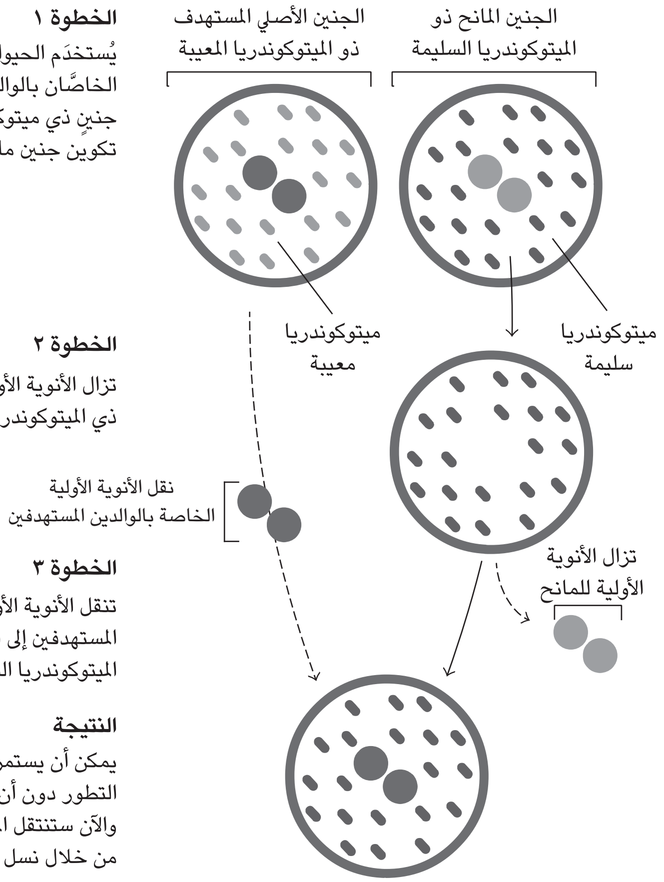
تزال الأنوية الأولية المانحة من الجنين ذي الميتوكوندريا السليمة.

الخطوة ٣

تنقل الأنوية الأولية الخاصة بالوالدين المستهدفين إلى الجنين المانح ذي الميتوكوندريا السليمة.

النتيجة

يمكن أن يستمر الجنين المعاد تكوينه في التطور دون أن يتأثر بأمراض الميتوكوندريا. والآن ستنتقل الميتوكوندريا السليمة من المانح من خلال نسل الأم عبر الأجيال القادمة.



شكل ٩-١: ينتقل الحمض النووي من بويضة الأم إلى خلية بويضة مانحة سليمة تفتقر إلى نواتها. يحتفظ بالحمض النووي الخاص بالأم في الكروموسومات في هيكلٍ يُسمى المغزل. لذا تُعرف هذه التقنية باسم «نقل المركب الكروموسومي المغزلي».

ثمة مخاوف بشأن هذه التقنية؛ لأننا ما زلنا نجهل العواقب المحتمَلة لجينوم الميتوكوندريا على النسل، إما بشكلٍ مباشر من خلال دوره في توفير الطاقة الخلوية، وإما بشكلٍ غير مباشر من خلال تخفيف أنشطة الجينوم النووي. وقد أظهر علم الأحياء الجزيئي أن جينوم الميتوكوندريا قد تطور ليكون مُتناغمًا مع نظيره النووي وأن آثار اختلال هذا التوازن قد تكون شديدة. فتشير الدراسات الحديثة في نماذج الفئران إلى أن استخدام الميتوكوندريا والجينومات النووية غير المتطابقة أثناء عملية استبدال الميتوكوندريا يمكن أن يحفز استجابةً مناعية أو يؤدي إلى تغيرات فسيولوجية وسلوكية في النسل. من المؤكد أن الميتوكوندريا لها وظائف تتجاوز عملية إنتاج الطاقة البسيطة، مما يُعزِّز المخاوف بشأن استبدال الميتوكوندريا.

قد يحتاج المانح والمتلقي إلى أن يكونا مُتطابقَين على غرار ما يحدث في عمليات نقل الدم لمنع انخفاض الكفاءة نتيجة للانهيار في تفاعلات الحمض النووي والحمض النووي للميتوكوندريا التي تطوَّرت بشكلٍ مُشترك. إن تأثيرات عدم التطابق في الحمض النووي للميتوكوندريا والحمض النووي وعتباته القابلة للاستمرار مطلوبة، وكذا قياسات الطفرات الموجودة في الحمض النووي للميتوكوندريا في الأم التي تنتقِل إلى النسل. مطلوب العمل لوصف هذه الظواهر وتقديم أدلةٍ من شأنها طمأنة الآباء المحتمَلين أنهم لا يُشكلون تهديدًا كافيًا لمنع تطبيق العلاج باستبدال الميتوكوندريا.

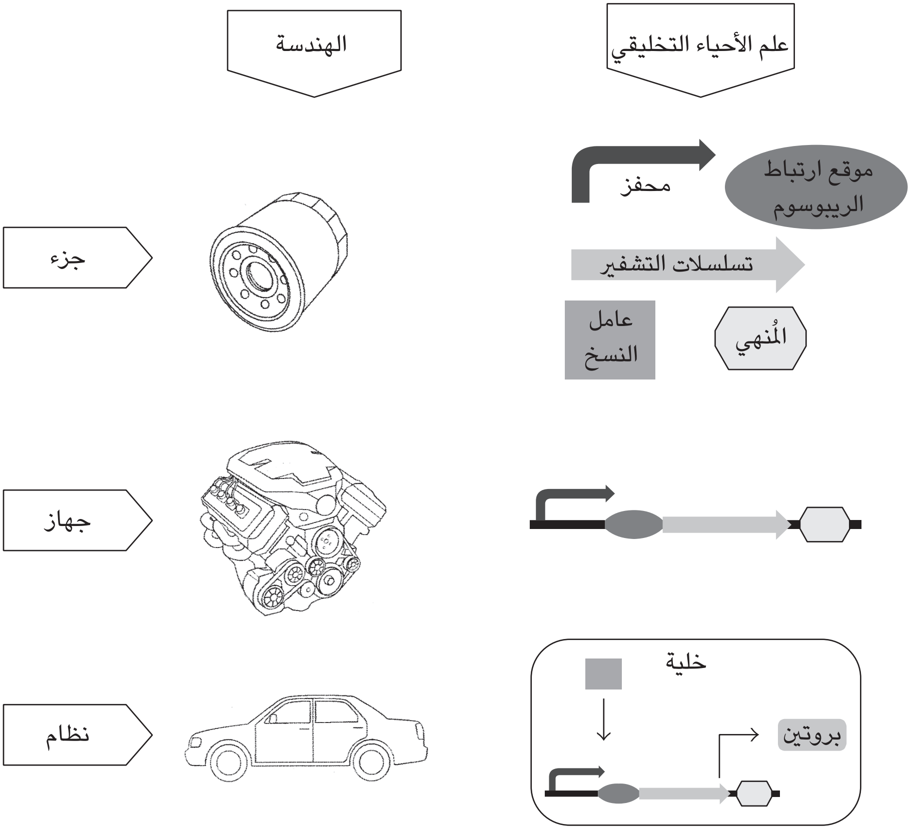
علم الأحياء التخليقي

يعد علم الأحياء التخليقي مجالًا بحثيًّا آخر مُثيرًا وآخِذًا في التطور. إنه يجمع بين تقنيات الهندسة الوراثية والمبادئ العملية للهندسة لتصميم وبناء أنظمةٍ بيولوجية جديدة أو كائنات حية ذات خصائص جديدة أو مُعززة. ونظرًا لأن الأنظمة الطبيعية لا يمكن التنبؤ بها إلى حدٍّ كبير، فالهدف من علم الأحياء التخليقي هو جعل هذه الأنظمة أكثر موثوقية؛ ومن ثم توسيع نطاق الوظائف الحيوية. وهذا بدوره يمكن استخدامه لتحسين صحة الإنسان ومعالجة القضايا البيئية والزراعية. في الهندسة، يُصمَّم أي نظام من أجهزةٍ تتكوَّن من أجزاء فردية. على سبيل المثال، السيارة (النظام) هي جهاز مُتعدد المكونات (بما في ذلك المحرك، والهيكل المعدني، وصندوق التروس)، وكل مُكون فيها يتشكَّل من أجزاء فردية (الإطارات، والمكابح، وقابض التعشيق، وما إلى ذلك). يُستخدَم نهج الأجزاء والأجهزة والأنظمة هذا أيضًا في علم الأحياء التخليقي. فالأجزاء، التي تُسمَّى

«الكتل البنائية الحيوية» وهي عبارة عن قِطَع من الحمض النووي، تُشفِّر وظيفة حيوية ما. من بين هذه الكتل البنائية تسلسلات تشفير الجينات، وتسلسلات المحفز والمُنهي، ومواقع ارتباط الريبوسوم. تُصَمَّم الأجهزة من مجموعةٍ من الأجزاء الحيوية، بينما يُنشأ النظام من الجمع بين الأجهزة (انظر شكل ٩-٢). تُصَمَّم الأنظمة لتنفيذ مهمة محددة؛ على سبيل المثال، يُستخدَم مُستشعِر حيوي (النظام) لتشخيص الأمراض، أو خلية (النظام) لتخليق بروتين مُعين. في علم الأحياء التخليقي، كما هو الحال في الهندسة، تتمثل نقطة البداية في تحديد مواصفات الجزء أو الجهاز أو النظام ثم تطوير تصميمٍ يُلبي هذه المتطلبات. وتتَّسِم هذه العملية بكونها دورية، وتتطلَّب جولاتٍ متكررة من النمذجة الحاسوبية التفصيلية والاختبار العملي ومع كل دورةٍ يُصقل المنتج ويُحَسَّن. يضمن هذا النهج أن تُصنع الأجهزة والأجزاء، بغض النظر عمن يقوم بتصنيعها، بناءً على مواصفاتٍ مُعينة. تُخَزَّن لَبِنات البناء المميزة أو القياسية في قواعد البيانات وهي متاحة مجانًا لاختصاصيِّي علم الأحياء التخليقي الآخرين.

كان من أقدم النجاحات التي تحقَّقت في مجال علم الأحياء التخليقي؛ إنتاجُ أرتيميسينين شبه مُخلق، وهو عقار مضاد للملاريا يُنتجه نبات الشيح الحَوْلي طبيعيًّا. استُخْدِم هذا النبات في الطب الصيني التقليدي لسنواتٍ عديدة وفي سبعينيات القرن الماضي، عرف العلماء الصينيون الأرتيميسينين على أنه المكوِّن المضاد للملاريا. والملاريا مرض يصيب ٣٠٠ مليون شخص كل عام وهو شائع بشكلٍ خاص في أفريقيا.

بعد ما يقرب من ٣٠ عامًا، اعترفت منظمة الصحة العالمية بالعقاقير القائمة على الأرتيميسينين كعلاجٍ فعَّال ضد المتصورة المنجلية وهي الطفيلي المسبب للملاريا. ونظرًا لأن الأرتيميسينين مُستخرَج من النباتات، يمكن أن تحدُث تقلُّبات في سعر الدواء وإمداداته على نطاقٍ واسع مع اختلاف إنتاجية محصول النبات نتيجة للتغيرات المناخية. ولضمان مصدرٍ معقول سعرًا وموثوق به، أُطلِقَ مشروع الأرتيميسينين شبه المخلَّق في عام ٢٠٠٤ بتمويلٍ من مؤسسة «بيل وميليندا جيتس». كان الهدف هو تصميم كائن حي دقيق لإنتاج مُركب أرتيميسينين طليعي على مستويات عالية يمكن بعد ذلك استخلاصه وتحويله إلى العقار الفعلي باستخدام العمليات الصناعية. ولتطبيق ذلك، أنشأ اختصاصيُّو علم الأحياء التخليقي مسارًا أيضيًّا يتضمن عددًا من الخطوات المتتابعة داخل خميرة الكائن المضيف لإنتاج المركب الطليعي. أنتج العقار المضاد للملاريا على نطاق واسع في عام ٢٠١٣،



شكل ٩-٢: على غرار الهندسة، يَستخدِم علم الأحياء التخليقي نهج الأجزاء والأجهزة والأنظمة. CDS = تسلسلات التشفير، RBS = موقع ارتباط الريبوسوم، T = المُنهي، TF = عامل النسخ.

وبعد عام، أصدرت شركة «سانوفي» لتصنيع الدواء أول دفعة من الأرتيميسينين شبه المخلق.

يُعد دمج مسارات كيميائية حيوية مُحددة أو مُعادٍ تشكيلها داخل الكائنات المضيفة أحد جوانب علم الأحياء التخليقي. والمجال الآخر الأكثر إثارة للجدل هو بناء خلايا جديدة تحمل حمضًا نوويًّا مُخلَّقًا بالكامل. ستُصَمَّم هذه الخلايا القليلة — التي شُكِّلت من لَبِنات بناء كيميائية وبيوكيميائية أساسية تحتوي على الحد الأدنى من الجينات — بحيث

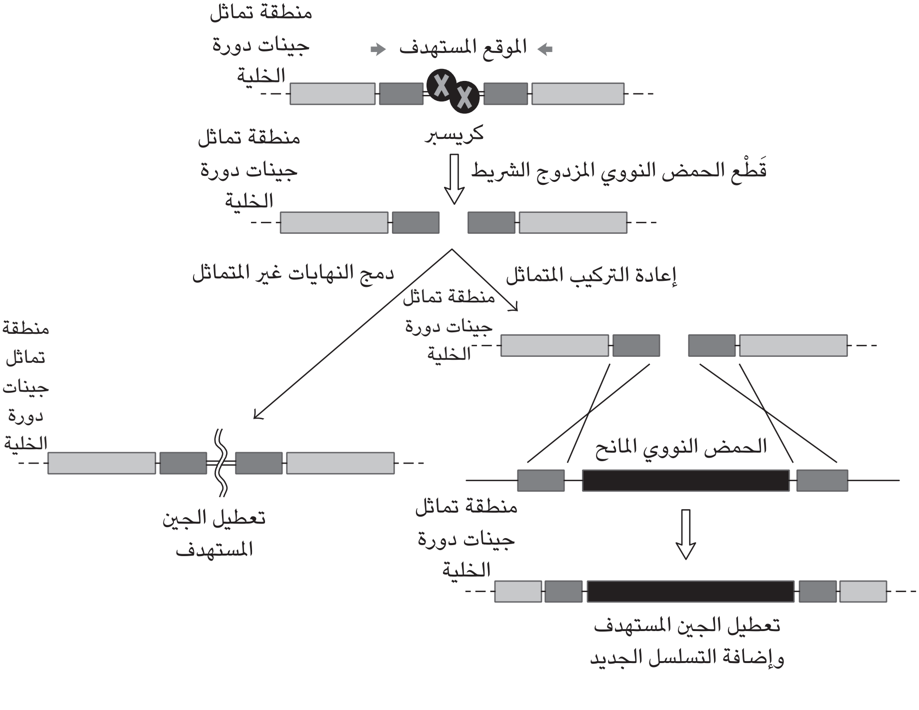
تعمل كمُضيفِين مُتخصِّصِين، أو هياكل، يقوم كلٌّ منها بوظيفةٍ محددة. تتمثل الميزة في أن الوظائف الحيوية لجميع الجينات المضافة ستكون معروفةً وسيمكن التغلُّب على عدم القدرة على التنبؤ بسلوك الخلايا الطبيعية، التي تُعد سمةً متأصلة لها. أنتج الباحثون في معهد جي كريج فنتر أول جينوم خلوي مُخلَّق كيميائيًّا، ونُشِر عملهم الرائد في عام ٢٠١٠. قام هؤلاء الباحثون بتجميع جينوم دائري كامل يحتوي على مليون زوج قاعدي، لبكتيريا المفطورة الفطرانية من قِطَع مخلَّقة من الحمض النووي. تم تجميع الجينوم في الخميرة ثم زُرع في خلية بكتيرية تخلو من الحمض النووي. يُشار إلى الخلية باسم «الخلية المخلَّقة»، على الرغم من أن الجينوم فقط هو ما يُصنع كيميائيًّا، وليس خلية المتلقي.

يتسم علم الأحياء التخليقي بالقدرة على تزويد المجتمع بأدويةٍ أكثر فاعلية، وأنواع من الوقود الحيوي الرخيص، ومحاصيل مُعاد تصميمها بحيث تكون أغنى بالعناصر الغذائية وذات إنتاجيةٍ مُعزَّزة. غير أن هذه التكنولوجيا المتقدِّمة تثير مخاوف أخلاقية واجتماعية بشأن المخاطر التي قد تشكلها على صحة الإنسان، والتلوث البيئي، وإساءة الاستخدام المتعمد، وهي مسائل قيد النظر بالتزامن.

التحرير الجينومي

تناولنا في الفصل السادس وصف العمليات التي يتم بموجبها إدخال بنية حمض نووي مُعاد التركيب في خلايا الثدييات لعددٍ من الأغراض، مثل إنتاج البروتين المعاد التركيب، وتوليد كائنات حية معدَّلة وراثيًّا، والعلاج الجيني. عادةً ما تتكامَل بُنى الحمض النووي هذه عشوائيًّا في الجينوم المضيف، مما يُسبب تأثيرات غير مرغوب فيها. غير أن ثمة تكنولوجيا جديدة — هي تكنولوجيا تحرير الجينوم — تعمل على تغيير هذا، مما يسمح للباحثين بتعطيل التسلسُلات الجينية أو إضافة تسلسُلاتٍ جديدة بدقة فائقة. تستخدم هذه التكنولوجيا النوكليازات الداخلية المصمَّمة اصطناعيًّا أو ما يُعرف ب «المقصات الجزيئية»؛ إذ إنها تُستدعى لإنشاء قَطْعٍ من الحمض النووي مزدوج الشريط (DSBs) في مواقع محددة داخل الجينوم. يعمل هذا على تنشيط آليات الإصلاح الطبيعية للخلايا، التي يُوجَد منها نوعان: إعادة التركيب المتماثل (HR) ودمج النهايات غير المتماثل (NHEJ). في إعادة التركيب المتماثل، يتم إصلاح التلَف باستخدام نسخة متطابقة أو متماثلة من الكروموسوم المقطوع كقالبٍ وهي في الأساس عملية إصلاح خالية من الأخطاء. في عملية

تحرير الجينوم، تُنقل النوكليازات الداخلية بشكلٍ مُشترَك مع تسلسل الحمض النووي المطلوب، الذي يَستخدِمه نظام إعادة التركيب المتماثل بعد ذلك كقالب؛ ومن ثم يتم إدخال التغيير المطلوب للتسلسل في موقع القَطع. في عملية دمج النهايات غير المتماثِل، ببساطة، يتم ربط نهايات الكروموسوم المقطوعة معًا دون استخدام قالب إصلاح. ولكنها عملية معرضة لحدوث أخطاء، وهو ما يؤدي في كثيرٍ من الأحيان إلى عمليات إدخال أو حذف صغيرة تُسمَّى «إنديل» (Indels)، في موقع القطع. في عملية تحرير الجينوم، يُستخدَم دمج النهايات غير المتماثل لتعطيل التعبير عن أحد الجينات؛ إذ غالبًا ما تتسبَّب عمليات الحذف والإدخال في فقدان التعبير عن البروتين أو الوظيفة (انظر شكل ٩-٣).



شكل ٩-٣: كسور الحمض النووي المزدوج الشريط (DSBs) التي تُنشأ باستخدام أدوات تحرير الجينوم، تحفز آليات إصلاح كسور الحمض النووي المزدوج الشريط داخل الخلية. اليسار: دمج نهايات غير متماثل، اليمين: إعادة تركيب مُتماثل في وجود قالبٍ مانح.

في السنوات العشر الماضية، صُمِّمت أربع فئات من نوكليازات تحرير الجينوم. من بين هذه النوكليازات، كريسبر-كاس ٩ (CRISPR-CAS9)، الذي يُحدِث ثورة في علم الأحياء الجزيئي ووصف بأنه أكبر مُغير لقواعد اللعبة ظهر في علم الأحياء منذ ظهور تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل. كريسبر هو اختصار للتكرارات العنقودية المتناظرة القصيرة المنتظِمة التباعُد، ويتكوَّن من شريط حمض نووي ريبي مُصمَّم للتوجُّه مباشرة إلى الحمض النووي المرتبط بإنزيم قطع الحمض النووي كاس ٩ (Cas9) الذي يستهدفه. تُصلِح عملية دمج النهايات غير المتماثل أو إعادة التركيب المتماثل كسورَ الحمض النووي الناتجة عن إنزيم Cas9 في المواقع المستهدفة. ونظرًا لأن أول عمل بحثي منشور في عام ٢٠١٢ يوضح إمكانية استخدام تقنية كريسبر-كاس ٩ لتحرير الجينومات، فقد اعتمدها الباحثون على نطاقٍ واسع، ما يَسَّر ذلك هو إمكانية تصميمه بسهولة وبتكلفة منخفضة مقارنة بنوكليازات تحرير الجينوم السابقة.

يمكن استخدام كريسبر في أي كائنٍ حي أو أي نوعٍ من الخلايا تقريبًا — الميكروبات، والنباتات، والحيوانات، والبشر — لقطع تسلسُلات الحمض النووي غير المرغوب فيها، أو إضافة امتدادٍ جديد من الحمض النووي داخل موقعٍ مُحدد. ويتمُّ تطبيقه في تحرير وتجميع مسارات التمثيل الغذائي المعقدة في علم الأحياء التخليقي، وفي تعطيل أو طرق الجينات لنمذجة الأمراض، وفي نقل سمات وراثية مُحددة في المحاصيل الزراعية والماشية. تمتاز تقنية تحرير الجينوم أيضًا بقُدرتها على تسريع علاج الأمراض الوراثية. وقد نُشِر أول استخدام لكريسبر في تصحيح مرضٍ وراثي في حيوان بالغ في عام ٢٠١٤. ينتج اضطراب فرط تيروزين الدم، وهو اضطراب وراثي في البشر، عن طفرةٍ نقطية في جين FAH. يشفر جين FAH إنزيمًا مسئولًا عن تكسير حمض التيروزين الأميني، وهو لبنة بناء لمعظم البروتينات. تؤدي الطفرة إلى غياب إنزيمٍ وظيفي يؤدِّي إلى تراكم النواتج السامَّة والتسبُّب في تلَف الكبد. وقد أوضح هاو يين وزملاؤه أن تقنية كريسبر-كاس ٩ يمكنها تصحيح طفرة FAH واستعادة إنتاج الإنزيم الوظيفي. نُفِّذَ هذا العمل في نموذج فأر للمرَض البشري، وأدى نجاحه إلى تقدُّم الباحثين خطوةً نحو استخدام العلاج بتحرير الجينوم في البشر. في الوقت الحالي، يدرس الباحثون تطبيق تقنية تحرير الجينوم على عددٍ من الأمراض الوراثية بما في ذلك الهيموفيليا بي، والتليُّف الكيسي، والحثل العضلي الدوشيني. كذلك تُدرَس كوسيلة محتمَلة لعلاج الأمراض الفيروسية، مثل فيروس نقص المناعة البشرية والتهاب الكبد بي، وذلك عن طريق إسكات العناصر الحرجة للجينوم

الفيروسي. غير أن هذه التكنولوجيا لا تزال في مهدِها، ولا يزال هناك الكثير الذي لا بدَّ من معرفته قبل أن نتمكَّن من استخدامها بأمانٍ وكفاءة في الطب السريري.

إن الإمكانات المستقبلية لتقنيات البيولوجيا الجزيئية هائلة، وإذا وجِّهَت بصورةٍ صحيحة، فستكون قادرة على تحسين الصحة وإفادة البيئة.

قراءات إضافية

كتب دراسية

Bruce Alberts and Alexander Johnson, *Molecular Biology of the Cell* (Garland Science, 2014).

Jocelyn E. Krebs, Benjamin Lewin, Elliott S. Goldstein, and Stephen T. Kilpatrick, *Lewin's Essential Genes* (Jones & Bartlett, 2013).

Lauren Pecorino, *Molecular Biology of Cancer: Mechanisms, Targets and Therapeutics* (Oxford University Press, 2012).

كتب للمطالعة

Sue Armstrong, *p53: The Gene that Cracked the Cancer Code* (Bloomsbury Sigma, 2014).

Nessa Carey, *The Epigenetics Revolution: How Modern Biology is Rewriting our Understanding of Genetics, Disease and Inheritance* (Icon Books, 2012).

John Parrington, *The Deeper Genome* (Oxford University Press, 2015).

James D. Watson, *The Double Helix* (Weidenfeld and Nicolson, 1968).

مقالات أكاديمية

D. Baltimore, 'Our genome unveiled', *Nature*, 409(6822) (2001), 814–16. This article discusses the landmark publication of the draft human genome sequence and what it means.

D. E. Cameron et al., 'A brief history of synthetic biology', *Nature Reviews Microbiology*, 12(5) (2014), 381–90. This timeline article charts the technological and cultural lifetime of synthetic biology, with an emphasis on key breakthroughs and future challenges.

L. Chin et al., 'Cancer genomics: from discovery science to personalized medicine', *Nature Medicine*, 17(3) (2011), 297–303. This article provides a perspective on some of the major obstacles to translating cancer genome discoveries to a clinical setting (bench to bedside).

J. R. Ecker et al., 'Genomics: ENCODE explained', *Nature*, 489(7414) (2012), 52–5. This article summarizes the findings from the landmark ENCODE project.

T. King et al., 'Identification of the remains of King Richard III', *Nature Communications*, 5 (2014), 5631.

H. Ledford, 'End of cancer-genome project prompts rethink', *Nature*, 517(7533) (2015), 128–9. In this news article, scientists debate whether the focus should shift from sequencing genomes to analysing function.

P. Sahu et al., 'Molecular farming: a biotechnological approach in agriculture for production of useful metabolites', *International Journal of Research in Biotechnology and Biochemistry*, 4(2) (2014), 23–30. This article summarizes the production of pharmaceutical drugs, including vaccines and therapeutic proteins in plants, and discusses associated issues.

مصادر إلكترونية

CRISPR: the good, the bad and the unknown. In this special issue *Nature* brings together research, reporting, and expert opinion on gene-editing and its implications (2015). Available at: “http://www.nature.com/news/crispr-1.17547”.

GM crops: promise and reality. In this special issue *Nature* explores the hopes, the fears, the reality, and the future of GM crops (2013). Available at: “http://www.nature.com/news/specials/gmcrops/index.html”.

Scitable by Nature Education. This is an educational resource covering lots of different life science topics from the *Nature* Publishing Group. Available at: “http://www.nature.com/scitable”.

المراجع

الفصل الرابع: البروتينات

(1) Marx, V. (2014). Proteomics: an atlas of expression. *Nature, 509:* 645–9.

(2) Khoury, M. P. & Bourdon, J. C. (2010). The isoforms of the p53 protein. *Cold Spring Harbour Perspectives in Biology*, 2(3): a000927.

الفصل الخامس: التفاعلات الجزيئية

(1) Dias, B. G. & Ressler, K. J. (2014). Parental olfactory experience influences behavior and neural structure in subsequent generations. *Nature Neuroscience*, 17(1): 89–96.

(2) Kerr, J. F. R., Wylie, A. H., and Currie, A. R. (1972). Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *British Journal of Cancer*, 26: 239–57.

مصادر الصور

(1–1) Mendel's pattern of inheritance

(1–2) Photo 51 showing the X-ray diffraction pattern of double stranded DNA (King's College London Archives/Science Photo Library)

(1–3) The DNA double helix

(1–4) Gene expression: DNA to RNA to protein

(2–1) DNA is packaged along with histone proteins

(2–2) DNA is synthesized by the enzyme DNA polymerase

(2–3) Steps in a gene cloning experiment

(2–4) The polymerase chain reaction

(2–5) The Sanger sequencing method

(3–1) The two steps of protein synthesis (Based on and adapted from *Biology*, Tenth Edition, by Sylvia Mader. Copyright McGraw-Hill Education (2009). Reproduced by permission)

(3–2) The RNAi pathway

(4–1) A peptide bond is formed between two amino acids

(4–2) Two-dimensional gel electrophoresis (p. 321 Fig: 14.1 Two-dimensional electrophoresis from *Tools and Techniques in Biomolecular Science*, edited by Divan & Royds (2013). By permission of Oxford University Press)

(4-3) An immunoglobulin molecule comprising two heavy and two light polypeptide chains

(4-4) Western blot technique (p. 202 Fig: 9.2a 'Western blot' from *Tools and Techniques in Biomolecular Science*, edited by Divan & Royds (2013). By permission of Oxford University Press)

(5-1) Epigenetic variations consist of DNA methylation and histone modifications

(5-2) Cell cycle divided into phases

(5-3) Apoptosis

(6-1) Retroviral gene therapy

(7-1) p53 levels are controlled by the inhibitor protein, MDM2 ('Mdm2 in DNA damage activation of the p53 tumor suppressor', taken from "http://www.umassmed.edu/cellbio/labs/jones/Research/regulation-p53/". By permission of Steve Jones)

(7-2) Geographical distribution of the TP53 codon 72 variants or SNPs (Lara Sucheston, David B. Witonsky, Darcie Hastings, Ozlem Yildiz, Vanessa J. Clark, Anna Di Rienzo, Kenan Onel, 'Natural selection and functional *genetic variation* in the p53 pathway', *Human Molecular Genetics* (OUP, 2011), vol. 20. By permission of Oxford University Press)

(7-3) Gleevec™

(8-1) DNA fingerprinting (Courtesy: National Human Genome Research Institute "http://www.genome.gov/")

(9-1) Nuclear DNA from the mother's egg is transferred to a healthy donor egg cell that lacks its nucleus ('Step by Step: how PNT works', taken from New Techniques to prevent mitochondrial disease: Pro-nuclear transfer (PNT)" http://mitochondria.hfea.gov.uk/mitochondria/what-is-mitochondrialdisease/new-techniques-to-preventmitochondrial-disease/pro-nuclear-transfer/" .Used with permission)

(9-2) Synthetic biology uses a parts, devices, and systems approach, similar to engineering (kokandr/Shutterstock)

(9-3) Double-stranded breaks and repair mechanisms (Figure 1 ‘Pathways for repair of DSBs induced by genome editing tools’, from ‘Genome Editing Technology from GeneCopoeia, Inc.’ “http://www.genecopoeia.com/resource/genome-editing-technology-fromgenecopoeia-inc/”. Used with permission)

هنداوي