الوراثة الجزيئية

(التعبير الجيني)

الأستاذ الدكتور

سعد بن حسين سعد القحطاني

أستاذ الوراثة الجزيئية

كلية العلوم – جامعة الملك سعود

١٤٤٠هـ/ ٢٠١٩م

ح سعد بن حسين سعد القحطاني ، ١٤٤٠هـ

فهرسة مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

القحطاني، سعد بن حسين سعد

الوراثة الجزيئية (التعبير الجيني). / سعد بن حسين سعد القحطاني.

- الرياض، ١٤٤٠

٣١٠ص؛ ١٧×٢٤سم

ردمك: ٠-٨٣٨٨-٠٢-٦٠٣-٩٧٨

١- الوراثة ٢- الجينات أ. العنوان

ديوي: ١, ٥٧٥ ٣٠٠٣/ ١٤٤٠

رقم الإيداع: ٣٠٠٣ / ١٤٤٠

ردمك: ٠-٨٣٨٨-٠٢-٦٠٣-٩٧٨

جميع حقوق النشر محفوظة. لا يسمح بإعادة نشر أي جزء من الكتاب بأي شكل وبأي وسيلة سواء كانت إلكترونية أو آلية بما في ذلك التصوير والتسجيل أو الإدخال في أي نظام حفظ معلومات أو استعادتها بدون الحصول على موافقة كتابية من المؤلف، للتواصل مع المؤلف: salkahtani@ksu.edu.sa

مطابع دار جامعة الملك سعود للنشر

المحتويات

الموضوع	الصفحة
المقدمة	١٥
الاختصارات	١٧
الفصل الأول **الأحماض النووية**	٢١
مقدمة	٢١
الحمض النووي الرايبوزي منزوع الأكسجين (الدنا)	٢٣
تركيب الدنا	٢٣
البناء الهندسي للدنا	٢٧
الحمض النووي الرايبوزي (رنا)	٣٠
الفصل الثاني **مقدمة عن التعبير الجيني**	٣١
الجين	٣١
التحكم في التعبير الجيني	٣٢
التعبير الجيني الأساسي	٣٢
التعبير الجيني المُحفز أو المُثبط	٣٢
معالجة الحمض النووي المرسال	٣٥
الخصائص العامة لعملية النسخ	٣٩

الموضوع	الصفحة
وظائف إنزيم البلمرة	٤٢
الحمض النووي الرايبوزي الناقل	٤٦
ظاهرة تذبذب (تأرجح) الرنا	٤٨
الأهمية الحيوية لظاهرة التذبذب	٥١
الفصل الثالث **التعبير الجيني في الفيروسات**	٥٣
الدورة المحللة	٥٦
الدورة المستذيبة	٥٨
تنظيم التعبير الجيني في الفيروسات التي تصيب البكتيريا (البكتيروفاج)	٦٠
أحداث النسخ المبكرة	٦١
الرنا كمادة وراثية للفيروسات	٦٥
الجينات الدالة	٦٦
الفصل الرابع **تنظيم التعبير الجيني في أوليات النواة**	٦٧
المستويات الرئيسية لتنظيم التعبير الجيني	٦٨
الجينات التركيبية	٧٠
الجينات المُنَظِمة	٧٠
المحفز	٧١
المشغل	٧٢

الموضوع	الصفحة
بدء عملية النسخ	٧٢
استطالة عملية النسخ	٧٣
إنهاء عملية النسخ	٧٣
الأوبيرون	٧٤
أوبيرون اللاكتوز	٧٤
تنظيم التعبير الجيني لأوبيرون اللاكتوز	٧٩
التحكم السالب عند غياب أو وجود سكر اللاكتوز	٨٠
التحكم الموجب لأوبيرون اللاكتوز	٨١
آلية الكبت الهدمي في أوبيرون اللاكتوز (تأثير الجلوكوز)	٨٢
أوبيرون التربتوفان	٨٥
تركيب أوبيرون التربتوفان	٨٦
تنظيم أوبيرون التربتوفان	٨٦
التنظيم عند توفر التربتوفان	٨٦
التنظيم عند غياب التربتوفان أو وجوده بتراكيز منخفضة	٨٧
الآلية الجزيئية لعملية الإبطاء	٨٨
التركيب الجزيئي لمنطقة القائد	٨٨
الفصل الخامس **تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النواة**	٩٥
التركيب العام لجينات حقيقيات النواة	٩٥

الموضوع	الصفحة
عناصر النسخ الثابتة أو التقارنية	٩٥
المحفزات	٩٦
صندوق تاتا	٩٦
صندوق كات	٩٧
القطعة الغنية بتتابعات الجوانين والسيتوسين	٩٧
المعززات	٩٨
خصائص المعززات	٩٨
المسكتات (المصمتات)	١٠١
العوازل	١٠٢
عناصر النسخ المتحركة أو العبورية	١٠٤
إنزيم بلمرة الرنا	١٠٤
عناصر النسخ الأساسية/العامة	١٠٤
المنشطات والمثبطات المساعدة	١٠٧
العوامل الوسيطة (الوسائط)	١٠٧
عوامل النسخ الخاصة	١٠٨
حقول الارتباط بالدنا	١١٠
إعادة تشكل الكروماتين ودوره في تنظيم التعبير الجيني لحقيقيات النواة	١١٤
الأستلة	١١٩
الميثلة	١٢٠

الموضوع	الصفحة
إبعاد أو نقل الجسم النووي	١٢٤
النسخ في الكائنات حقيقية النواة	١٢٦
الخطوات العامة لعملية النسخ في الكائنات حقيقية النواة	١٢٦
الفصل السادس **تنظيم التعبير الجيني بعد عملية النسخ**	١٣١
تحرير الرنا	١٣١
آليات تحرير الرنا	١٣٣
آليات الرنا المُتداخل أو (المُعترض)	١٣٤
أنواع الرنا المُتداخل	١٣٥
نشوء وتأثير الرنا المُتداخل	١٣٩
القص البديل	١٤٢
ثبات وتحلل الرنا المرسال	١٤٦
تحلل الرنا المرسال في حقيقيات النواة	١٤٨
ثبات وتحلل البروتين	١٥٠
الترجمة (تصنيع البروتين)	١٥٤
تحور سلسلة عديد الببتيد	١٥٦
آليات تحور البروتينات ومعالجتها	١٥٧
آلية الشبرونات	١٥٧
دور الإنزيمات في انثناء البروتينات	١٥٩

الموضوع	الصفحة
تحلل البروتينات	١٦٠
مسار الأبيكويتين – الجسم المحلل	١٦٠
خطوات وسم البروتين وتحلله	١٦٠
التحكم الهرموني في التعبير الجيني	١٦٤
الهرمونات الاسترويدية	١٦٥
الهرمونات الببتيدية	١٦٧
الفصل السابع **التوارث السيتوبلازمي**	١٧١
جينوم الميتوكوندريا	١٧٣
تضاعف دنا الميتوكوندريا	١٧٦
الشفرات الوراثية في دنا الميتوكوندريا	١٧٨
التعبير الجيني لجينوم الميتوكوندريا	١٧٩
أنواع الطفرات التي تحدث في دنا الميتوكوندريا	١٧٩
التأثير الأمومي	١٨١
الفصل الثامن **الوراثة اللاجينية**	١٨٥
مكونات الوراثة اللاجينية	١٨٧
الفصل التاسع **الوراثة المناعية**	١٩١
المناعة الذاتية (الطبيعية)	١٩١

الموضوع	الصفحة
خلايا المناعة الذاتية	١٩٢
المناعة المكتسبة	١٩٢
المناعة المكتسبة الطبيعية النشطة	١٩٣
المناعة المكتسبة الطبيعية غير النشطة	١٩٤
المناعة المكتسبة الصناعية النشطة	١٩٤
المناعة المكتسبة الصناعية غير النشطة	١٩٤
الخلايا اللمفاوية التائية (خلايا- ت)	١٩٥
الخلايا التائية القاتلة	١٩٥
الخلايا التائية المساعدة	١٩٦
الخلايا اللمفاوية البائية (خلايا- ب)	١٩٧
التركيب الجزيئي للجسم المضاد	١٩٨
الأساس الوراثي لتنوع الأجسام المضادة	٢٠٧
الفصل العاشر **تعدد الأشكال الوراثية**	٢١٣
أنواع تعدد الأشكال الوراثية في تتابعات الدنا	٢١٧
أنواع التغيرات المفردة	٢١٩
أهم استخدامات *SNP*	٢٢٤
الفصل الحادي عشر **العناصر الوراثية المتنقلة**	٢٢٧
الخصائص العامة للعناصر الوراثية المتنقلة	٢٢٨

الموضوع	الصفحة
أنواع العناصر الوراثية المتنقلة	٢٢٩
آليات انتقال (تحرك) العناصر الوراثية المتنقلة	٢٢٩
الانتقال البسيط أو المحافظ	٢٢٩
آلية القطع والاندماج للعناصر الوراثية التي تتحرك بالانتقال البسيط	٢٣٠
الانتقال التضاعفي	٢٣٣
الانتقال من خلال وسائط الرنا	٢٣٤
تأثيرات عملية تحرك العناصر الوراثية المتنقلة على الكائنات الحية	٢٣٨
العناصر الوراثية المتنقلة كوسائل تجريبية	٢٣٩
خلط الإكسونات	٢٤١
الفصل الثاني عشر **الخرائط الجينية**	٢٤٣
أهداف مشروع الجينوم البشري	٢٤٣
الهيئة الكروموسومية (طبعة النواة)	٢٤٤
أنواع الخرائط الجينية	٢٤٧
خرائط تتابع الدنا (النيوكليوتيدات)	٢٤٧
خرائط الوراثة الخلوية	٢٤٨
خرائط الارتباط الوراثي	٢٤٩
الخرائط الفيزيائية	٢٥٠

الموضوع	الصفحة
الفصل الثالث عشر **الأساس الوراثي للسرطان**	٢٦٧
مسببات مرض السرطان	٢٦٨
الجينات المحفزة للنمو مثل جين *Ras*	٢٧١
الجينات المثبطة لنمو الخلايا مثل جين P^{53}	٢٧٤
الجينات المسيطرة على الموت الخلوي المبرمج مثل جين *Bcl-2*	٢٧٥
جينات إصلاح الدنا مثل جين *PARP*	٢٧٦
الجينات المشاركة في تغذية الخلايا السرطانية	٢٧٨
الجينات المثبطة للأورام	٢٧٨
الجينات المعززة لانتشار الخلايا السرطانية	٢٧٩
العوامل المحفزة لتحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية	٢٨١
الفصل الرابع عشر **العلاج الجيني**	٢٨٥
طرق العلاج الجيني الفعّالة	٢٨٧
نقل الجين	٢٨٧
تصحيح الجين	٢٨٧
تحفيز الجين	٢٨٧
خطوات العلاج الجيني	٢٨٨
إيقاف عمل الجين التالف	٢٨٩

الموضوع	الصفحة
إدخال نسخة سليمة من الجين	٢٩٠
دور الناقل في العلاج الجيني	٢٩٠
أنواع النواقل الجينية	٢٩١
النواقل الفيروسية	٢٩١
النواقل غير الفيروسية	٢٩٢
الخصائص العامة للنواقل	٢٩٣
طرق نقل الجينات	٢٩٤
النقل خارج الجسم	٢٩٤
النقل داخل الجسم	٢٩٤
مرض نقص المناعة الحاد	٢٩٧
مرض التليف الكيسي	٢٩٨
مرض نقص إنزيم الأورنثين ترانس كاربامياليز	٢٩٩
تأثير موقع الجين على العلاج الجيني	٣٠٠
مخاطر ومعوقات العلاج بالجينات	٣٠٢
المراجع العربية	٣٠٣
المراجع الأجنبية	٣٠٤

المقدمة:

بسم الله، والحمد لله والصلاة والسلام على رسول الله، وبعد:

انطلاقاً من الإيمان العميق بقدرة لغتنا العربية على استيعاب كل فرع من فروع المعرفة، ونظراً لعدم وجود كتب أو مؤلفات باللغة العربية بحثت في مجال الوراثة الجزيئية وتحديداً التعبير الجيني، جاءت فكرة تأليف هذا الكتاب لخدمة الطالب والباحث العربي ولإثراء المكتبة العربية وليكون رافداً من روافد المعرفة ومعيناً لكل طالب علم يعتز باللغة العربية، لغة القرآن الكريم. إن طالب العلم الشغوف بعلم الأحياء عامة وعلم الخلية خاصة يتطرق خلال دراسته لحياة الخلية وتنظيم عملها والأحداث التي تمر بها منذ نشأتها حتى فنائها. وكما هو معروف أن حياة الخلايا تخضع لعملية تنظيم جيني محكم وتحت سيطرة عوامل مختلفة توجه عمل الجينات وتحدد تنظيم وظائفها الحيوية المختلفة. كما تتعرض الخلايا خلال فترة حياتها للعديد من العوامل والمؤثرات المختلفة التي تلعب دوراً مهماً في تغير نمط حياة الخلية من خلال تنشيط التعبير الجيني لجينات محددة وتثبيط جينات أخرى. اهتم العلماء والباحثون بدراسة التعبير الجيني والتغيرات الجزيئية التي تحدث على المستوى الجيني أثناء وبعد عملية النسخ، وكذلك عملية الترجمة والعمليات الجزيئية المنظمة لها.

يناقش هذا الكتاب أهم التفاصيل الوراثية على المستوى الجزيئي بأسلوب سهل وميسر، مع الأخذ بعين الاعتبار أهمية المصطلحات العلمية المستخدمة عالمياً والتي أُعطيت في هذا الكتاب اهتماماً خاصاً. إن تقديم الأساس العلمي السليم، وانتهاج الأسلوب والوسيلة الجيدة والمناسبة هو الهدف الأساسي لهذا الكتاب وذلك لضمان فهم أكثر وأعمق لعملية التعبير الجيني وما يتعلق بها، لذلك فقد

تضمن هذا الكتاب العديد من مواضيع الوراثة الجزيئية التي طرحت بشكل متسق ومتتالٍ يسهل على القارئ الانتقال من موضوع إلى آخر بيسر وسهولة. كما تمت الاستعانة بالعديد من الصور الملونة والرسومات والأشكال التوضيحية والجداول لتوضيح بعض الأفكار بطريقة فريدة. وأخيراً نسأل المولى سبحانه وتعالى أن ينفع بهذا الكتاب كل طالب علم.

والله ولي التوفيق

المؤلف

الاختصارات Abbreviations

7-mG	7-methylguanosine
AAV	Adeno-associated virus
ADE	Adenosine de-aminase deficiency
APAF	Apoptotic protease activation factor
AS	Angelman syndromes
Bcl-2	B cell lymphoma-2
Bp	Base pair
C	Constant region
cAMP	Cyclic adenosine 3,5, monophosphate
CAP	Catabolic gene activator protein
CDKs	Cyclic-dependent kinases
cDNA	Complementary DNA
CGRP	Calcitonin-gene related peptide
Nut R	Nutrilisation site (rightward)
Nut L	Nutrilisation site (leftward)
tRI	Terminator right ward
tL	Terminator left ward
PL/OL	Promoter and operator (rightward)
PR/OR	Promoter and operator (leftward)
cM	Centimorgan
CT	Composite transposons
DMTs	DNA methyltransferases
DNA	Deoxyribonucleic acid
dsRNA	Double strand RNA
FR	Flanking region
GREs	Gene response elements
GT	Gene therapy
HATs	Histone acetyl transferases
HDACs	Histone deacetylases

HIV	Human immunodeficiency virus
HMTs	Histone methyltransferases
HREs	Hormone response elements
HSP	Heat shock proteins
I	Inosine
Ig	Immunoglobulin
IS	Insertion sequences
Kb	Kilo base
mRNA	Messenger RNA
mtDNA	Mitochondrial DNA
NGS	Next-generation DNA sequencing
NPC	Nuclear pore complex
ORF	Open reading frame
Paq	Promoter anti q
P^{53}	Tumor suppressor protein
PARP	Poly(ADP-ribose) polymerase
PCR	Polymerase chain reaction
Pi	Promoter inducible
PIC	Pre-initiation complex
PL	Promoter leftward
PR	Promoter rightward
PRE	Promoter for repressor establishment
PRM	Promoter for repressor maintenance
PI	Promoter for integration
PR1	Secondary rightward promoter
Pol-II	Polymerase-II
Pre-RNAi	Pre-mature RNAi
PWS	Prader-Willi syndrome
Rac	Ras-related C3
RFLP	Restriction fragments length polymorphism
RISC	RNA induced silencing complex
RNA	Ribonucleic acid
RNAi	RNA interference

rRNA	Ribosomal RNA
SCID	Severe combined immunodeficiency
siRNAs	Small interfering RNAs
SNP	Single nucleotide polymorphism
SUMO	Small ubiquitin-like modifier
TBP	TATA-binding protein
TFII	Trans Factor II
TFIID	Trans factor-IID
tRNA	Transfer RNA
UTRs	Untranslated regions
V	Variable region
WES	Whole exome sequencing
λ	Lambda phage

الفصل الأول
الأحماض النووية Nucleic acids

مقدمة Introduction:

بدأ الاهتمام بعلم الوراثة Genetic منذ القدم، ونظرًا لأهمية هذا العلم مازال الكثير من الباحثين وعلماء الوراثة يبحثون في هذا المجال. ونتيجة للتقدم المتسارع في وسائل البحث العلمي والتكنولوجيا الحديثة في شتى المجالات ومنها مجال علم الأحياء الجزيئي والوراثة الجزيئية زادت وتراكمت المعارف بشكل كبير. ومع استمرار وتسارع وتيرة البحث العلمي نشأ وتطور علم الوراثة وأصبح علمًا مستقلاً بحد ذاته، بل تفرع إلى عدة فروع من أبرزها: علم الوراثة الجزيئية Molecular genetics، علم الوراثة الخلوية Cytogenetic، علم الوراثة الكمية Quantitative genetics، علم الوراثة الفسيولوجية Physiological genetics، علم الوراثة التكوينية Developmental genetics. يتناول علم الوراثة الجزيئية المادة الوراثية والتعبير الجيني Gene expression على المستوى الجزيئي، لذلك حظي هذا العلم باهتمام العلماء والباحثين والأطباء على حد سواء، لأنه يبحث في التفاصيل الدقيقة ويزودهم بتحليل وفهم عميق عن تركيب ووظيفة الجينات (المورثات) على المستوى الجزيئي وما تنتجه تلك الجينات من بروتينات، مما أفاد بشكل كبير في التطبيقات الوراثية والطبية على مدى واسع جدًا.

في عام ١٩٥٣م فُتح المجال لأبحاث الوراثة الجزيئية بشكل واسع بعد أن اكتشف العالمان جمس واتسون J. Watson وفرانسيس كريك F. Crick التركيب الجزيئي للحمض النووي الرايبوزي منزوع الأكسجين (الدنا)

Deoxyribonucleic acid (DNA). فقد كشفا أن الدنا عبارة عن شريط حلزوني مزدوج DNA double helix وتوقعا أن هذا الحمض لابد أن يحتوي على معلومات وراثية مشفرة (شفرات وراثية) Genetic codes. ساعد نموذج واتسون وكريك علماء الوراثة على التنبؤ بالطريقة التي يعمل بها هذا الجزيء كمادة وراثية، وبناء على ذلك توقع العالمان جاك Jack وجاكوب Jacob عام ١٩٦٢م الآلية الجزيئية لبناء البروتين، ثم تلا ذلك فك رموز الشفرة الوراثية. في وقت لاحق أُكتشف الحمض النووي الرايبوزي (الرنا) Ribonucleic acid (RNA) كمادة وراثية في الفيروس المسبب لمرض تبرقش أوراق التبغ Tobacco mosaic virus (TMV) على يد العالم سنجر Singer وفرانكي Franke. توالت الأبحاث حول الدنا وجرت عمليات دمج المادة الوراثية فيما يسمى بإعادة اتحاد الدنا وتكوين اتحادات جديدة DNA Recombination، ثم إجراء عمليات التنسيل Cloning حتى بدأ عصر الهندسة الوراثية Genetic engineering. وفي تطور جديد تم التعرف على التتابع النيوكليوتيدي للحمض النووي DNA sequencing (القحطاني، ٢٠١٢).

الأحماض النووية Nucleic acids:

الأحماض النووية عبارة عن مركبات عضوية ذات جزيئات كبيرة تتألف من وحدات تسمى بالنيوكليوتيدات Nucleotides. يوجد نوعان من الأحماض النووية هما: الحمض النووي الرايبوزي منزوع الأكسجين (الدنا): Deoxyribonucleic acid (DNA). والحمض النووي الرايبوزي (الرنا): Ribonucleic acid (RNA).

تعتبر الأحماض النووية من أهم المركبات العضوية الحيوية على الإطلاق وفيها يكمن سر الحياة، فهي المسؤولة والمسيطرة على الأنظمة الحيوية ومن أهمها

بناء البروتينات Proteins synthesis كالإنزيمات التي تلعب دورًا رئيسيًا في عمليات الأيض الخلوي والهرمونات المسؤولة عن تحفيز الخلايا للقيام بوظائفها الحيوية، وغير ذلك من الوظائف الحيوية المهمة (القحطاني، ٢٠١٢).

أولاً: الحمض النووي الرايبوزي منزوع الأكسجين (الدنا) Deoxyribonucleic acid (DNA):

يعتبر جزيء الدنا DNA أهم الجزيئات الحيوية، فهو يحمل المورثات Genes، كما ينتج جزيء الرنا RNA أثناء عملية حيوية مهمة تعرف بعملية نسخ الرنا RNA Transcription. هذا الجزيء المنسوخ أو الرنا يقوم بتنفيذ الأوامر التي تلقاها من جزيء الدنا لصنع البروتينات المطلوبة من خلال عملية حيوية أخرى تعرف بالترجمة Translation، لهذا يمكن إبراز أهمية الأحماض النووية بأنها المسؤولة عن استمرار تتابع جميع الأحداث الخلوية المهمة.

تتكون الأحماض النووية من تسلسل Sequence لعدد من النيوكليوتيدات Nucleotides التي ترتبط مع بعضها البعض بروابط فوسفواسترية ثنائية Phosphodiester bonds حيث تربط ذرة الكربون رقم ٥ في السكر الخماسي داخل النيوكليوتيدة مع ذرة الكربون رقم ٣ في السكر الخماسي للنيوكليوتيدة التالية.

تركيب الدنا DNA Structure:

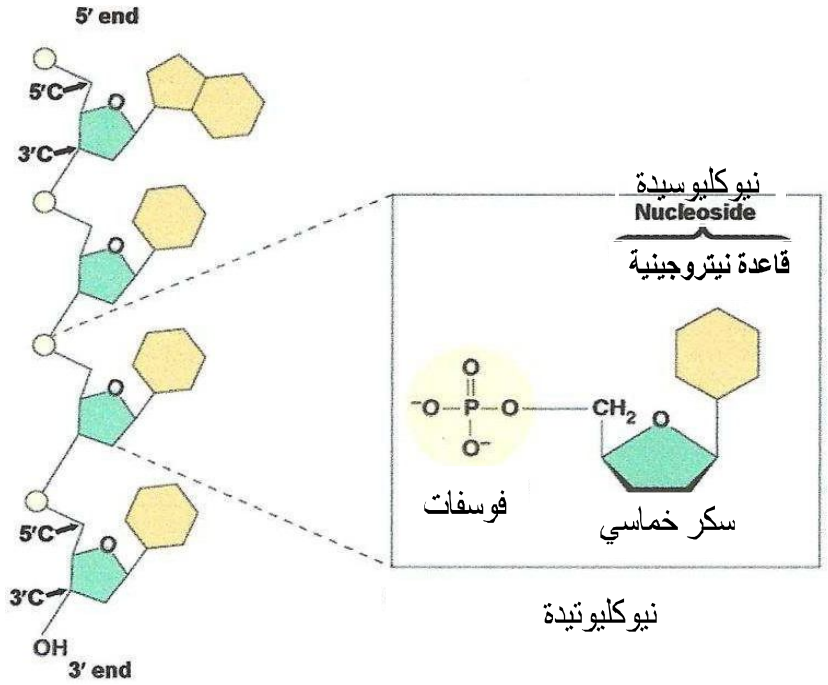
يتألف الدنا من عدد هائل من النيوكلويتيدات (شكل ١-١). وكل نيوكليوتيدة تتكون من ثلاثة أجزاء هي:

١. سكر خماسي Pentose sugar: عبارة عن سكر الرايبوز منزوع الأكسجين Deoxyribose (شكل ١-٢).

٢. مجموعة فوسفات Phosphate group (PO4): يستخدم جزيء الفوسفات

مجموعتين من مجموعاته الثلاث سالبة الشحنة، الأولى ترتبط بجزيء السكر السابق، والثانية ترتبط بجزيء السكر اللاحق، بينما تبقى المجموعة الثالثة حرة لتكسب الدنا شحنته السالبة. هذه الخاصية مفيدة أثناء فصل جزيئات الدنا على هلام الأجاروز Agarose وتسمى هذه العملية بالتفريد أو الرحلان الكهربائي للدنا DNA Electrophoresis.

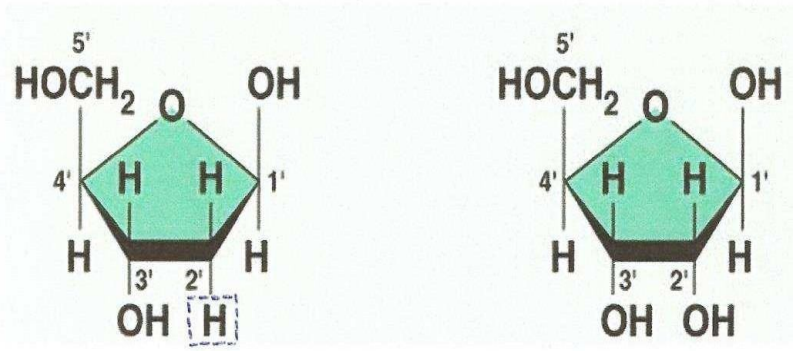
٣. قاعدة نيتروجينية Nitrogen base: يطلق على القاعدة النيتروجينية والسكر الخماسي اسم النيوكليوسيدة Nucleoside.



حمض نووي - أربع نيوكليوتيدات

(شكل ١-١): يوضح (يمين): مكونات النيوكليوتيدة والنيوكليوسيدة. (يسار): أربع نيوكليوتيدات في أحد شريطي الدنا

سكر خماسي



سكر الرايبوز الخماسي - الرنا　　سكر خماسي منزوع الأكسجين - الدنا

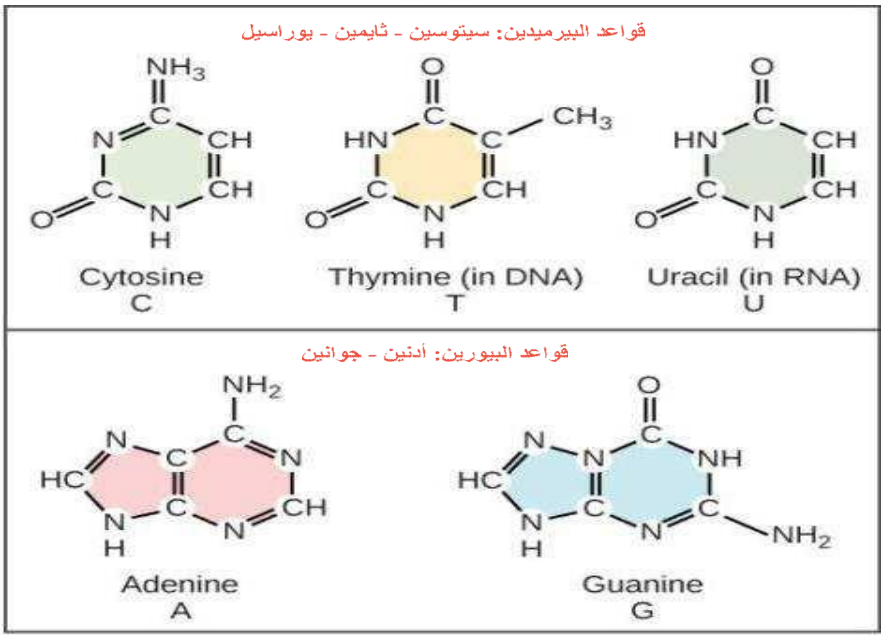
(شكل ١-٢): يوضح السكر الرايبوزي منزوع الأكسجين في الدنا والسكر الرايبوزي في الرنا

توجد مجموعتان من القواعد النيتروجينية في الأحماض النووية (الشكل ١-٣). هما:

أ- قواعد البيورين Purines bases ثنائية الحلقة وتشمل قاعدتي الأدنين Adenine (A) والجوانين Guanine (G).

ب- قواعد البيريميدين Pyrimidines bases أحادية الحلقة وتشمل ثلاث قواعد هي: الثايمين Thymine (T) والسيتوسين Cytosine (C) واليوراسيل Uracil (U).

يحتوي جزيء الدنا على أربع قواعد نيتروجينية هي: الأدنين Adenine (A) والثايمين Thymine (T) والسيتوسين Cytosine (C) والجوانين Guanine (G). وكذلك جزيء الرنا فيما عدا أن الثايمين يستبدل باليوراسيل، أي أن الدنا يتميز بقاعدة الثايمين والرنا يتميز بقاعدة اليوراسيل.



(شكل ١-٣): يوضح قواعد البيريميدين أحادية الحلقة وقواعد البيورين ثنائية الحلقة

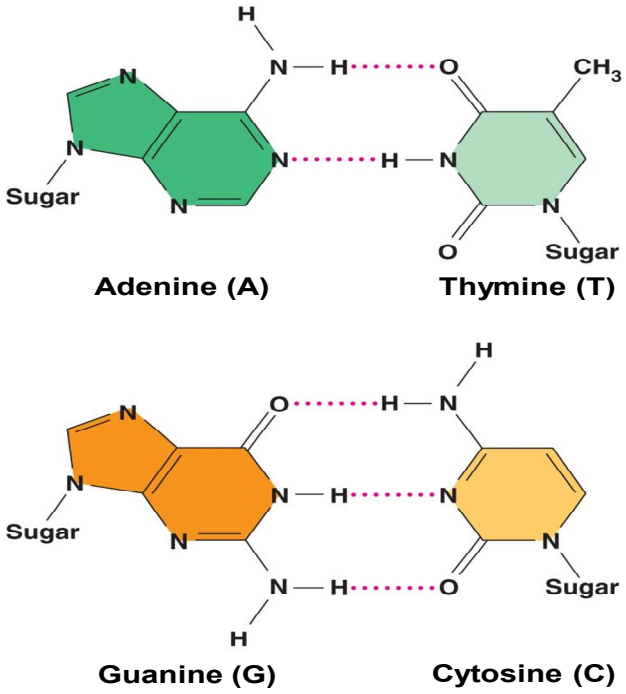
إن التركيب الأساسي للدنا يتكون من تسلسل أو تتابع عدد كبير من النيوكليوتيدات في شريطي (سلسلتي) الدنا DNA Strands. ترتبط السلسلتان مع بعضهما بروابط هيدروجينية تبعًا لقواعد شاراجاف (Charagaffs rules) كالتالي :

١. ترتبط قواعد الأدنين (A) مع قواعد الثايمين (T) برابطتين هيدروجينيتين على طول شريط الدنا (A = T).

٢. ترتبط قواعد السيتوسين (C) مع قواعد الجوانين (G) بثلاث روابط هيدروجينية على طول شريط الدنا (G ≡ C) (الشكل ١-٤).

٣. إن كمية الأدنين تساوي كمية الثايمين (A = T) وكمية الجوانين تساوي كمية السيتوسين (G = C).

٤. إن كمية الأدنين والجوانين تساوي كمية الثايمين والسيتوسين (A + G = T + C) أو (A + G / T + C ≈ 1). ليس شرطًا أن كمية الأدنين والثايمين تساوي كمية السيتوسين والجوانين وإنما تختلف باختلاف النوع.



(شكل ١-٤): يوضح كيفية الارتباط الكيميائي بين القواعد النيتروجينية في شريط الدنا ونوع تلك الروابط وعددها

البناء الهندسي للدنا DNA Structure:

يتكون الدنا من وحدات عديدة من النيوكليوتيدات التي تنتظم هندسيًا في سلسلتين تلتفان معًا بشكل حلزوني. لذلك فإن للدنا بنية إبتدائية مكونة من سلسلة واحدة ترتبط فيها الفوسفات مع السكر بالاتجاه (5'→3') وبالاتجاه المعاكس في السلسة الأخرى ترتبط الفوسفات مع السكر بالاتجاه (3'→5')

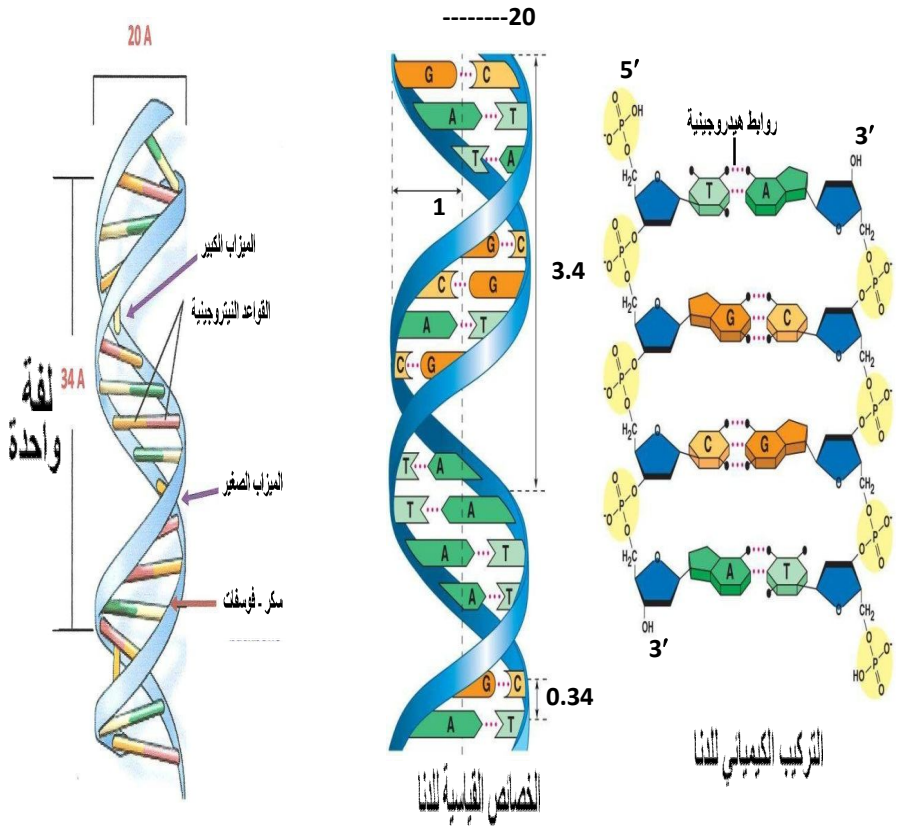
وبسبب هذا الاختلاف فإن الدنا يتصف بالقطبية (شكل ١-٥). تستخدم هذه البنية الابتدائية في عمليات نسخ Transcription الجين وعملية تضاعف الدنا DNA replication، حيث تستخدم السلسلة ذات الاتجاه (3'→5') كقالب أثناء عملية النسخ، بينما تعمل السلسلتان معًا كقالب أثناء عملية التضاعف.

تكون سلسلتا الدنا متوازيتين ولكنهما متعاكستان في الاتجاه. إذا عرف التتابع النيوكليوتيدي لإحدى السلسلتين عُرف التتابع النيوكليوتيدي للسلسلة الأخرى المتممة لها، لذلك تكون سلسلتي الدنا متممتين لبعضهما البعض Complementry. يدل هذا الترتيب الفريد والمحكم في جزيء الدنا دلالة قوية على تخصصيته الوراثية، فكل كائن حي ينفرد بترتيب نيكليوتيدي خاص. يلتف شريطا (سلسلتا) الدنا التفافاً حلزونياً يمينياً (بإتجاه عقارب الساعة) حول محور مركزي وهمي ليكونا ما يعرف بالدنا الحلزوني المزدوج DNA double helix. يشكل السكر والفوسفات دعامتي السلم بينما تشكل القواعد درج السلم (شكل ١-٥). حصل العالمان واتسون وكريك على جائزة نوبل عام ١٩٦٢م تقديرًا لهما على اكتشاف تركيب الدنا الذي فتح الباب على مصراعيه للدخول إلى علم جديد يعرف اليوم بعلم الوراثة الجزيئية.

استند واتسون وكريك على دليلين علميين مكناهما من استنباط التركيب الحلزوني المزدوج للدنا هما:

١. معرفتهما لقواعد شارجاف.
٢. تحليلهما لصور بلورات جزيء الدنا التي صورت بأشعة اكس X-rays من قبل ولكنز وفرانكلين Wilkins and Franklin حيث استنتجا منها أن الدنا لابد وأن يكون مزدوجاً وحلزوني الشكل، في تلك الصور لاحظا أن لجزيء الدنا تراكيب تتكرر بانتظام. كما عرفا بأن جزيء الدنا لولبي (حلزوني)، وأن المسافة بين الشريطين تبلغ ٣,٤ انجستروم (١ انجستروم A يساوي ١

نانومتر nm). كما عرفا أن الحلزون يلف دورة كاملة كل ٣٤ انجستروم، حيث تحتوي كل دورة على عشر نيوكليوتيدات للشريط الواحد، وأن سمك الحلزون يبلغ ٢٠ انجستورم، وهذا يعني ضرورة ارتباط قواعد البيريمدين أحادية الحلقة مع قواعد البيورين ثنائية الحلقة ليكون البعد بين الشريطين المتوازيين ثابتاً دائماً. عندما تلتف السلسلتان حلزونياً يتكون أخدودان، أحدهما أخدود صغيرMinor groove، والآخر أخدود كبير Major groove (شكل ١ – ٥). الجدير بالذكر أن طول جزيء الدنا يقاس بالعدد الزوجي للقواعد النيتروجينية Base pair (bp).



(شكل ١–٥): يوضح الشكل الهندسي للدنا وبعض الخصائص الأساسية لتركيب الحلزون المزدوج

ثانياً: الحمض النووي الرايبوزي (رنا) Ribonucleic acid (RNA):

ينسخ جزيء الرنا من جزيء الدنا من خلال عملية حيوية مهمة تعرف بعملية النسخ Transcription، لذا فإن جزيء الرنا يشبه إلى حد كبير جزيء الدنا الذي نسخ منه فهو جزيء عديد النيوكليوتيدات Polynucleotides.

توجد ثلاثة أنواع مختلفة من جزيء الرنا RNAs وهي:

١- الرنا المرسال Messenger RNA (mRNA):

الرنا المرسال حمض نووي رايبوزي يحمل الشفرة الوراثية من الدنا وهذه الشفرة تحدد تتابع الأحماض النووية في سلسلة عديد الببتيد Polypeptides على الرايبوسوم، حيث تترجم تلك الشفرة إلى بروتين، ولهذا يسمى الرنا المرسال بحامل الشفرة.

٢- الرنا الرايبوسومي Ribosomal RNA (rRNA):

يعتبر الرنا الرايبوسومي rRNA من الجزيئات القصيرة المتخصصة والمدعوم بالبروتين، ولذلك فإن وزنه الجزيئي يقدر بالآلاف. هذا الجزيء لا يترجم بل يدخل في تكوين الرايبوسومات وهي جسيمات صغيرة توجد في سيتوبلازم الخلية. يتكون هذا الجزيء القصير من عدد قليل من النيوكليوتيدات عند استنساخه مباشرة من جزيء الدنا، لكن قبل خروجه من النواة يخضع لعدة تحورات، حيث تتم تجزئته إلى ثلاث وحدات تصنف على حسب وزنها الترسيبي بوحدة سيفدبيرق Svedberg unit (S).

٣- الرنا الناقل Transfer RNA (tRNA):

الرنا الناقل tRNA عبارة عن جزيء قصير يقدر طوله بحوالي ٧٥ - ٩٠ نيوكليوتيدة ووزنه الجزيئي حوالي ٢٥ كيلو دالتون (ك د)، ويشكل حوالي ١٥٪ من كمية الرنا الموجودة في الخلية. الرنا الناقل غير مدعوم بالبروتين وهو جزيء متخصص جداً في نقل الأحماض الأمينية.

الفصل الثاني
مقدمة عن التعبير الجيني
Introduction of gene expression

الجين Gene:

يوجد للجين (المورث) أكثر من تعريف ومن أبرزها: أن الجين عبارة عن قطعة من الدنا DNA تُشفر لسلسلة ببتيدية واحدة. كما يُعرّف أيضًا بأنه عبارة عن تتابع من الحمض النووي الدنا ينسخ إلى تتابع من الحمض الرايبوزي الرنا RNA، الذي قد يظل كما هو مثل الرنا الناقل tRNA والرنا الرايبوسومي rRNA أو يترجم إلى سلسلة عديدة الببتيد كما في الرنا المرسال mRNA. من التعريفات الشائعة أيضًا أن الجين عبارة عن وحدة من المعلومات الوراثية التي تتحكم في طراز مظهري محدد Specific phenotype.

يشفر الجين لمنتج وظيفي Functional product يختص بصفة وراثية محددة، وهذا الجين يوجد على موقع كروموسومي محدد يتم تعيينه بواسطة تقنيات الخرائط الجينية Gene mapping. توجد المواقع الجينية بين الأجزاء الطرفية للكروموسومات التي يطلق عليها التيلوميرات Telomeres والتخصرات الأولية أو السنترروميرات Centromeres. يوجد على كل كروموسوم ما بين مئات إلى آلاف الجينات المختلفة (انظر الفصل ١٢).

يصف مبدأ المركزية Central dogma الخطوات الرئيسية للتعبير الجيني، حيث تبدأ العملية بنسخ الجين المستهدف Target gene بواسطة إنزيم بلمرة الرنا RNA polymerase-II لينتج الرنا المرسال الأولي Primary messenger RNA (mRNA) والذي يخضع بدوره لعدد من التحورات سوف يتم توضيحها لاحقًا.

التحكم في التعبير الجيني Control of gene expression:

يتم التحكم في التعبير الجيني غالبًا عن طريق توجيه مرحلة بداية عملية النسخ Initiation of transcription، التي سيتم توضيح تفاصيلها لاحقًا، إلا أنه من الضرورة هنا الإشارة إلى أن بدء Turn on عملية النسخ والتعبير الجيني أو إيقافها Turn off تقع تحت سيطرة جينات منظمة Regulatory genes تنتج بروتينات منظمة Regulatory proteins، حيث ترتبط البروتينات المنظمة بالدنا وتؤثر على عملية النسخ، إما بتحفيز عملية النسخ أو منعها، وهذا التأثير مرتبط بكيفية تفاعل البروتينات المنظمة من الدنا.

هناك نوعان رئيسيان من التعبير الجيني هما:

أ - التعبير الجيني الأساسي Constitutive expression:

تُعد بعض الجينات أساسية وضرورية لحياة الخلية وبقائها تحت ظروف فسيولوجية طبيعية، وبالتالي تكون هذه الجينات أساسية لحياة الخلية وفي حالة نشاط دائم، ويكون تعبيرها الجيني مستمر. تسمى هذه الجينات بالجينات الخدمية أو الأساسية Housekeeping genes، مثل جين الأكتين *Actin* وجين *Glyceraldehyde3-phosphate dehydrogenase* (*GAPDH*). يمكن استخدام مثل هذه الجينات كعينة ضابطة Control عند الكشف عن مستويات التعبير الجيني.

ب - التعبير الجيني المُحفز أو المُثبط Induction and repression:

يكون مستوى التعبير الجيني في بعض الجينات متذبذباً Fluctuate نتيجة الاستجابة للإشارات الخلوية الخارجية. تبدي بعض الجينات مستوى عالياً من التعبير الجيني بمجرد تنشيطها، ويطلق على هذا النوع Induced gene

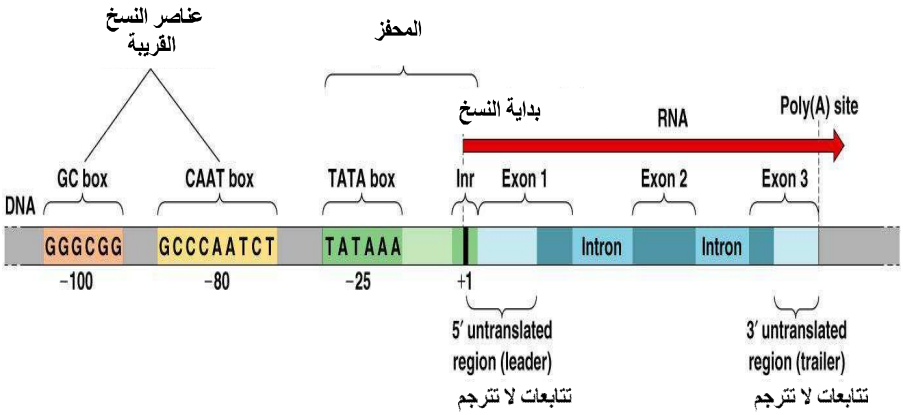
expression، وعلى عكس ذلك، تبدي بعض الجينات مستوى منخفضاً من التعبير الجيني Repressed gene expression. رغم أن كل خلايا الجسم تحتوي على كل الجينات، إلا أن هناك جينات معينة فقط تعمل دون غيرها من الجينات في خلايا أو أنسجة معينة، وهذا بالطبع يرجع إلى وجود عوامل منظمة خاصة بكل نسيج أو ما يسمى بالتخصصية النسيجية. الجدير بالذكر أن دقة وتوقيت عملية التعبير الجيني تلعب دورًا محوريًا في صحة وسلامة جسم الكائن الحي. فالتعبير الجيني في الوقت غير المناسب أو في المكان (النسيج) غير الصحيح وبكمية غير طبيعية سواء بالزيادة أو النقصان سيؤدي إلى اضطرابات حيوية مختلفة، قد تسبب الموت أحيانًا، حتى وإن كان الجين ذاته طبيعياً، بمعنى أن الجين قد يكون سليماً ولكن تعبيره الجيني أو البروتين الناتج غير طبيعي.

يحتوي الجينوم البشري على ثلاثة بلايين زوج قاعدي توجد في منطقة الكروماتين الحقيقي Euchromatic region. بالرغم من اكتمال الكشف عن ٩٥٪ من تسلسل الدنا، مازالت بعض الأجزاء من الجينوم في مناطق السنترروميرات والتيلوميرات التي تحتوي على تتابعات دنا عالية مجهولة التتابع ولم يتم الكشف عنها على الأقل بالتقنيات المتاحة حاليًا. لكن ما تم إنجازه حتى الآن يكفي كأساس للباحثين للكشف عن الجينات وفهم الجينوم البشري. إن المناطق الفعّالة أو المشفرة في جينوم الإنسان تشكل ما بين ٢-٨ ٪ فقط وتحتوي ما بين ٢٠-٢٥ ألف جين تشفر لكل البروتينات التي تتحكم في كل العمليات الحيوية داخل أجسامنا، كما تشفر لكل أنواع الرنا، بينما معظم الجينوم يمثل التتابعات غير المشفرة أو غير الفعّالة ويطلق عليه Junk DNA مثل: مناشئ التضاعف والتتابعات المنظمة لعملية النسخ مثل: المحفزات Promoters والمعززات Enhancers والمصمتات Silencers وغيرها الكثير (Ezkurdia *et al.*, 2014).

تختلف نسبة التتابعات غير الفعّالة بين الكائنات الحية ولم يتم تحديد أي وظيفة محددة لها حتى الآن، إلا أنه من المحتمل أنها تساهم بطريقة ما في تنظيم عملية التعبير الجيني، والمحافظة على شكل الحمض النووي، بالإضافة إلى أن معظم الطفرات تحدث في المناطق غير المشفرة. عندما يتم التعبير الجيني بطريقة صحيحة داخل النسيج الهدف بالكمية المطلوبة وفي الزمن الصحيح لا تظهر أي مشاكل صحية بعكس ما يحدث عند اختلال عملية التنظيم الجيني التي قد تتسبب في ظهور أمراض خطيرة (Shabalina and Spiridonov, 2004)

أثناء عملية النسخ التي تتم بواسطة إنزيم البلمرة يتم نسخ كل التتبعات داخل الجين سواء التتابعات المشفرة (إكسونات) Exons أو التتابعات غير المشفرة (انترونات) Introns. ولو نظرنا بدقة لتتابعات الإكسونات لوجدنا أنها تحتوي على بعض التتابعات غير المشفرة للأحماض الأمينية، وبالتالي فليس كل الإكسونات هي تتابعات مشفرة، ومن هنا ينشأ السؤال التالي: ما الفرق بين تتبعات الإكسونات والتتابعات المشفرة؟ للجواب على هذا السؤال لابد من توضيح أن الإكسونات هي تلك القطع أو التتابعات التي تلتصق مع بعضها البعض بعد عملية قص الإنترونات من الرنا الأولي Pre-mRNA، أما التتابعات المشفرة فهي ضمن تتابعات الإكسونات، ولكن قد توجد تتابعات داخل الإكسونات لا تترجم إلى أحماض أمينية، مثل هذه التتابعات تسمى التتابعات غير المشفرة أو غير المترجمة Untranslated regions (UTRs) وتوجد على يمين Upstream ويسار Downstream التتابعات المشفرة (الشكل ٢-١). الجدير بالذكر أن جينات الكائنات حقيقية النواة Eukaryotic genes تتضمن إكسونات وإنترونات في آن واحد بينما جينات بدائيات النواة Prokaryotic genes تحتوي على إكسونات فقط. من المعروف أن الإكسونات تحتوي على شفرات وراثية Genetic codes تترجم إلى أحماض أمينية وتعطي البروتين. تفصل الإكسونات في جينات

حقيقيات النواة بتتابعات الإنترونات والتي تعتبر نوعاً من Junk DNA. ولذلك يتم خلال معالجة الرنا المرسال mRNA التخلص من هذه الإنترونات.



(الشكل ٢-١): التركيب العام للجين في الكائنات حقيقية النواة

معالجة الحمض النووي المرسال mRNA:

تنتج جزيئات الرنا RNAs من عملية نسخ الدنا، حيث يتم في هذه العملية انتقال المعلومات الوراثية من الدنا إلى الرنا. تقوم مجموعة من إنزيمات النواة في حقيقيات النواة بمعالجة وتحوير الرنا المرسال غير الناضج Pre-mRNA قبل خروجه من النواة إلى السيتوبلازم كما يلي:

أ- حذف واستبعاد التتابعات النيوكليوتيدية غير الفعّالة (الإنترونات) التي تم نسخها ضمن تتابعات الجين في جزيء الدنا، أما التتابعات المشفرة (الإكسونات) فإنها ترتبط مع بعضها البعض من خلال عملية حيوية تعرف بعملية ربط الرنا RNA Splicing. هذه العملية مهمة وأكثر شيوعًا في الجينات التركيبية، لكنها تحدث أيضًا في الجينات التي تحدد أنواع الرنا المختلفة كالرنا المرسال والرنا الرايبوسومي والرنا الناقل. تتم عملية قص

وحذف الإنترونات بواسطة حوالي خمسة بروتينات نووية صغيرة Small nuclear ribonucleic proteins (snRNPs) تشكل معقد القص أو الجسم القاص Spliceosome (شكل ٢-٢). يستعمل الرنا المرسال الخالي من الإنترونات كقالب لعملية الترجمة.

ب - يضاف غطاء أو قلنسوة (قبعة) 5'-Cap عند الطرف 5' لشريط الرنا المرسال غير الناضج. هذا الغطاء عبارة عن مركب كيميائي يتألف من مجموعة جوانين محورة تسمى ٧- ميثيل جوانوزين 7-Methylguanosine (7-mG). يضاف هذا الغطاء بعد أن يصبح طول الرنا المرسال الأولي حوالي ٢٠-٣٠ نيوكليوتيدة. يؤدي هذا الغطاء دورًا مهمًا في العمليات التالية:

١. يحمي الرنا المرسال من الإنزيمات المحللة (الخارجية) Hydrolytic enzymes (Exonucleases).

٢. يسهل ارتباط الرايبوسوم بالطرف 5' للرنا المرسال الناضج لبدء عملية الترجمة.

٣. يزيد من كفاءة التعبير الجيني.

ج- تتم إضافة حوالي ١٥٠-٢٥٠ نيوكليوتيدة أدنين متتابعة (الذيل عديد الأدنين) Poly-A-tail للطرف 3' من جزيء الرنا المرسال غير الناضج بواسطة إنزيم بوليميريز عديد الأدنين Poly-A-polymerase. يلعب الذيل عديد الأدنين دورًا مهمًا في العمليات التالية:

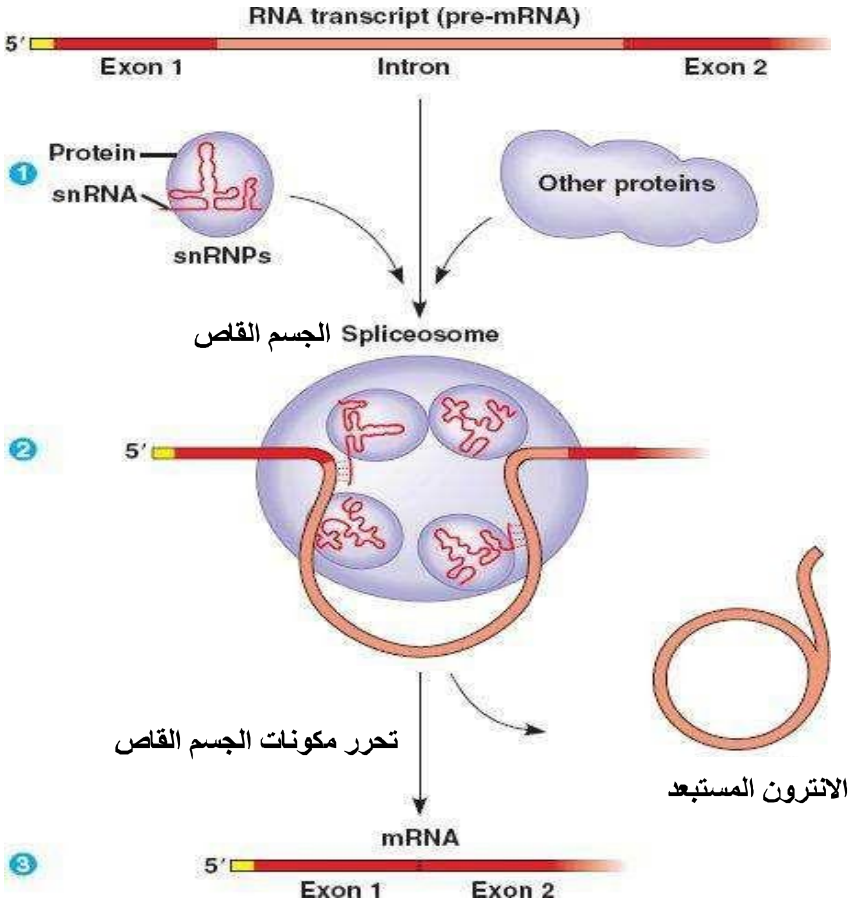
١. تحديد نهاية الرنا المرسال، فهذه التتابعات لا تحتوي على منطقة إنهاء عملية النسخ.

٢. يحمي الرنا المرسال من التحلل Degradation بفعل تأثير الإنزيمات المحللة الخارجية Exonucleases.

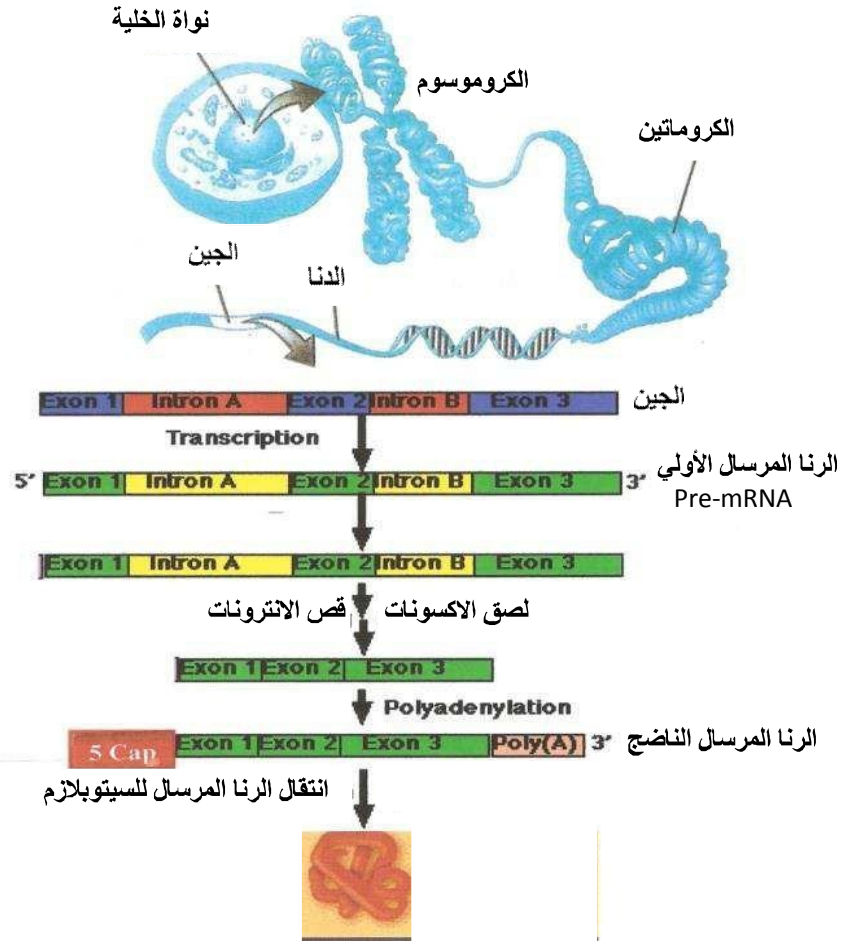
٣. يعمل على استقرار جزيئات الرنا المرسال الناضج وترجمته.

٤. يسهل عملية تصدير أو خروج Exporting الرنا المرسال من النواة إلى السيتوبلازم.

٥. يساهم في إنهاء عملية الترجمة.



(الشكل ٢-٢): خطوات تشكل معقد القص



(الشكل ٢-٣): التحورات التي تطرأ على الرنا المرسال الأولي وتحوله إلى رنا ناضج

يوضح (الشكل٢-٣). موجزاً للتحورات التي تطرأ على الرنا المرسال الأولي وتحوله إلى رنا ناضج. علمًا أن الذيل عديد الأدنين لا يضاف إلى كل أنواع الرنا المرسال مثل الرنا المرسال الذي يختص بتصنيع الهستونات، ولهذا فإضافته ليست قاعدة مطلقة لكل أنواع الرنا المرسال (القحطاني، ٢٠١٢).

تُحمل كل المعلومات الخاصة بصفة وراثية معينة داخل تتابع محدد على شريط الدنا، يعرف بالتركيب الوراثي أو الطراز الجيني Genotype، وهذا الطراز لا يمكن التعرف علية إلا بإجراء تجارب معينة للتحقق من طبيعة هذا الطراز الجيني فيما إذا كان طرازاً جينياً نقياً أم هجيناً، صفة سائدة أم متنحية كما فعل مندل في تجاربه على نبات البازلاء. إلا أن الطراز الجيني هو المسؤول بالدرجة الأولى عن الصفة الوراثية الظاهرة أو ما يعرف بالطراز المظهري Phenotype، والجسر الذي يربط ما بين الطرازين الجيني والمظهري هو الرنا المرسال.

الخصائص العامة لعملية النسخ:

١. يتم إنجاز عملية النسخ Transcription بواسطة إنزيمات بلمرة الرنا وبمساعدة عوامل نسخ مساعدة.

٢. يتم فصل شريطي الدنا قبل بدء عملية النسخ عند تتابع محدد في منطقة المحفز Promoter ثم يستمر الفصل تدريجيًا على طول المنطقة المراد نسخها (الجين المستهدف) وصولاً لتتابع محدد آخر وهو منطقة المنهي Terminator، ولا يتم نسخ منطقتي المحفز والمنهي.

٣. أثناء عملية النسخ يتم نسخ أحد شريطي الدنا فقط وهو الشريط القالب Template ذو الاتجاه 3'←5' وهو نفس اتجاه عملية تضاعف الدنا DNA Replication. الشريط القالب هو الشريط المحدد لتتابع الأحماض الأمينية أو البروتين الناتج، بينما الشريط الآخر غير المستنسخ فيسمى بالشريط غير المعني أو غير القالب 5'←3'. ينتج من نسخ شريط الدنا القالب جزيء أو شريط الرنا المرسال والمتمم للشريط القالب Complementary RNA strand. بما أن شريط الرنا المرسال متمم لشريط الدنا القالب فسيكون اتجاهه 5'←3' وهو نفس اتجاه شريط الدنا المقابل للشريط القالب.

٤. لإنزيمات بلمرة الرنا القدرة على بدء تصنيع الرنا دون الحاجة إلى بادئات الرنا RNA Primers، كما أن عملية النسخ لا تحتاج إلى إنزيم لاصق Ligase.

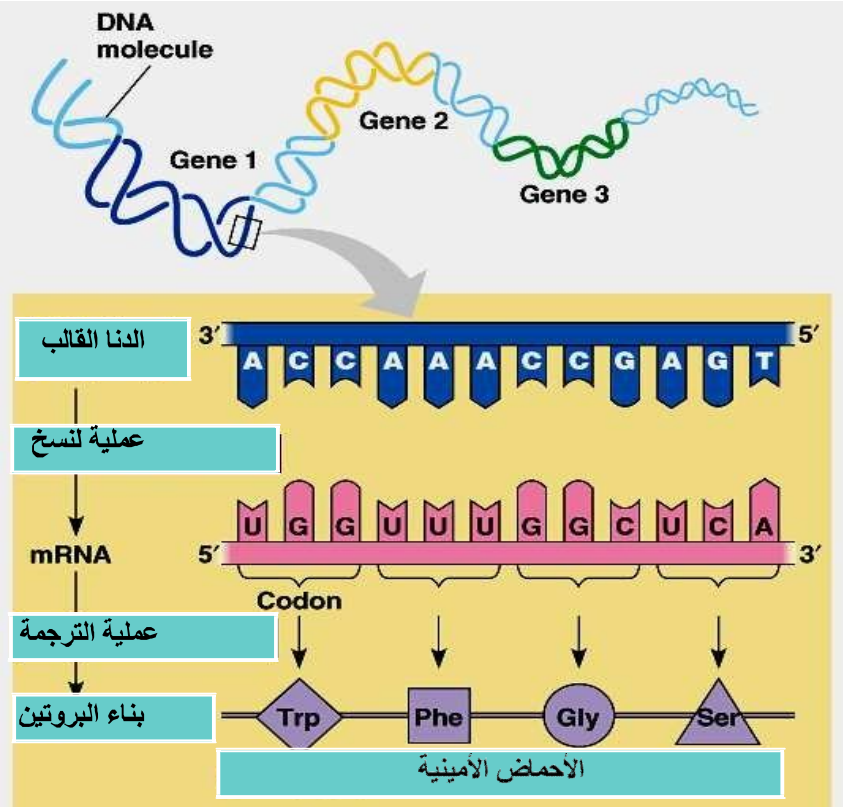
أثناء ترجمة شريط الرنا المتمم على الرايبوسوم يتم ربط الأحماض الأمينية حسب ترتيب الشفرات الوراثية الموجودة على الرنا المرسال فينتج عن ذلك سلسلة عديدة الببتيد (البروتين). البروتين الناتج قد يكون أحد البروتينات التركيبية أو الوظيفية مثل بروتينات الغشاء الخلوي أو الإنزيمات أو الهرمونات أو أحد المركبات الخلوية ... الخ. وهذا ما يقصد بالطراز المظهري الذي قد يكون ظاهرًا يمكن تمييزه بالعين المجردة كما في صفة لون الشعر أو صفة لون العين أو صفة الطول ونحو ذلك، وقد لا يمكن تمييز الطراز المظهري بالعين المجردة كما في الصفات الوراثية الداخلية أو التشريحية.

إن الأساس أو الآلية العامة لعمليتي النسخ والترجمة متشابهة عند الكائنات الحية بدائية النواة وحقيقية النواة، مع وجود بعض الاختلافات التي يمكن إيجازها كالتالي: لا يوجد للكائنات البدائية نواة محددة أو غلاف نووي يحيط بالمادة الوراثية كما في الكائنات حقيقية النواة، ولهذا نجد أن عمليتي النسخ والترجمة في بدائيات النواة تتم بشكل مترافق أو متزامن، مما يعني أن عملية الترجمة تبدأ بينما عملية النسخ مازالت مستمرة. أما في حقيقيات النواة فتبدأ عملية النسخ وتنتهي تمامًا في النواة ثم ينتقل الرنا المرسال للسيتوبلازم حيث توجد الرايبوسومات وهناك تحدث عملية الترجمة.

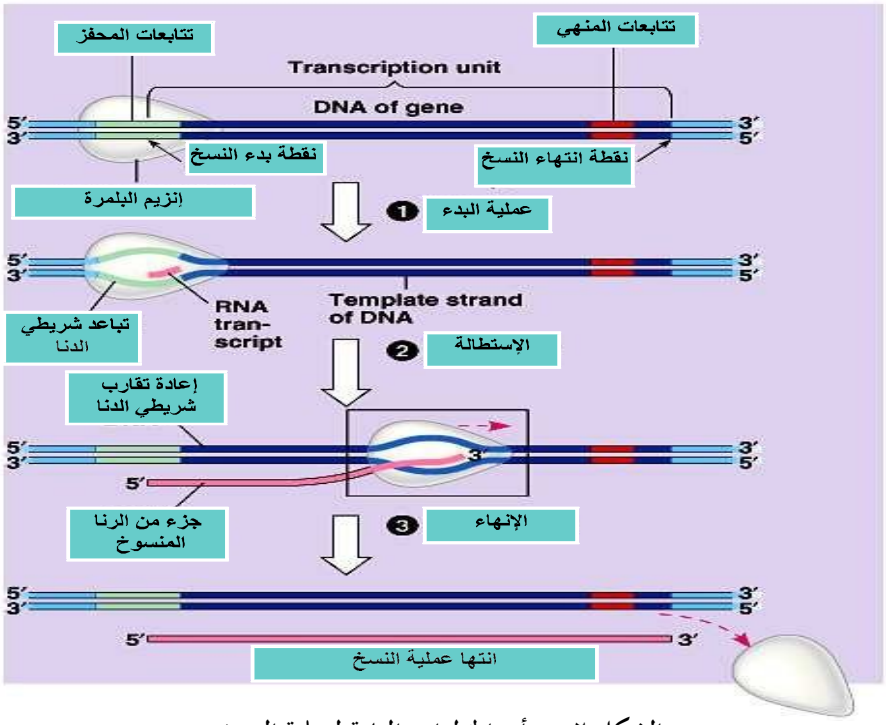
قبل الخوض في مراحل التعبير الجيني سوف نعرض وبشكل موجز بعض المفاهيم الأساسية عن الشفرة الوراثية وبناء البروتين.

تتكون الشفرة الوراثية Genetic code من تتابع ثلاث نيوكليوتيدات تنتقل من الدنا القالب للرنا المرسال، بالرجوع للجدول العام لترتيب الشفرات الوراثية،

نجد أن كل شفرة وراثية تشفر لحمض أميني محدد، كما أنه قد يوجد أكثر من شفرة وراثية للحمض الأميني الواحد. يوجد من بين تلك الشفرات ثلاث شفرات توقف Stop codons. يفهم مما سبق أن المعلومات الوراثية لبناء سلسلة عديدة الببتيد توجد على تتابعات الدنا (شكل ٢-٤)، لقد تم توضيح موضوع الشفرة الوراثية وبناء البروتين Genetic code and protein synthesis بالتفصيل في كتاب علم الخلية والوراثة (القحطاني، ٢٠١٢). أثناء عملية نسخ الجين من الدنا القالب وتكون الرنا المتمم تقرأ الشفرات الوراثية على الرنا في الإتجاه 3'→5'.



(الشكل ٢-٤): الشفرة الوراثية تتألف من ثلاث نيوكليوتيدات وتشفر لحمض أميني محدد



(الشكل ٢-٥ أ): الخطوات العامة لعملية النسخ

وظائف إنزيم البلمرة:

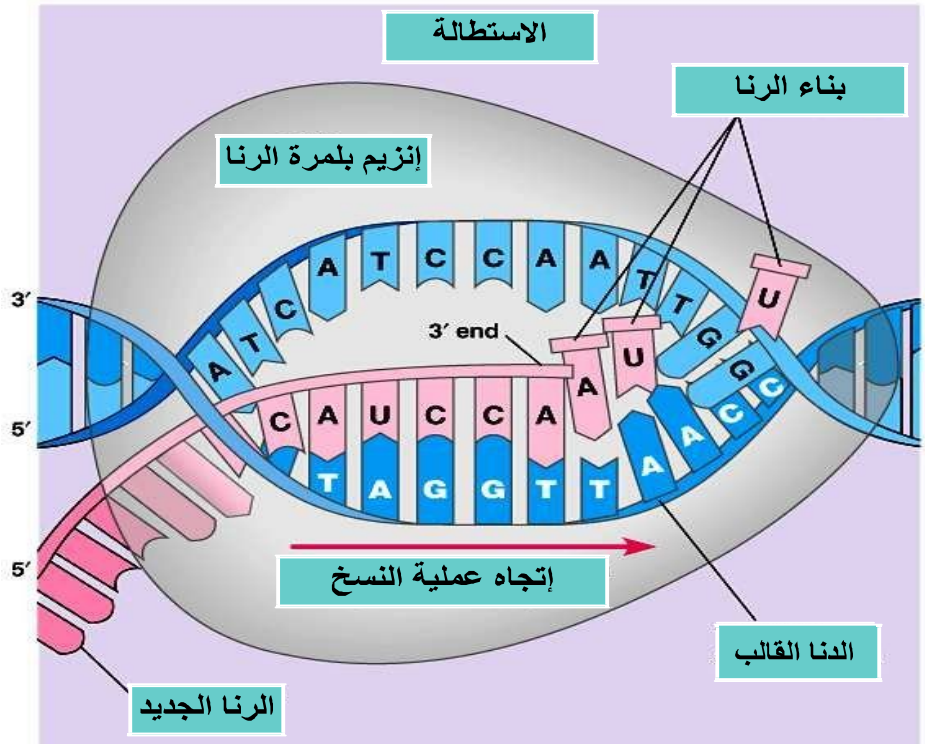
يقوم إنزيم البلمرة RNA polymerase بعدة وظائف من أهمها :

أ - تمييز تتابع محدد هو تتابع المحفز والارتباط به أو بتتابع معين داخل المحفز مثل صندوق تاتا TATA box.

ب - فك حلزنة شريطي الدنا بمشاركة إنزيمات أخرى.

ج - تصنيع شريط الرنا المتمم للشريط القالب بإضافة النيوكليوتيدات الجديدة عند النهاية 3' للسلسلة النامية (الجديدة) Growing strand.

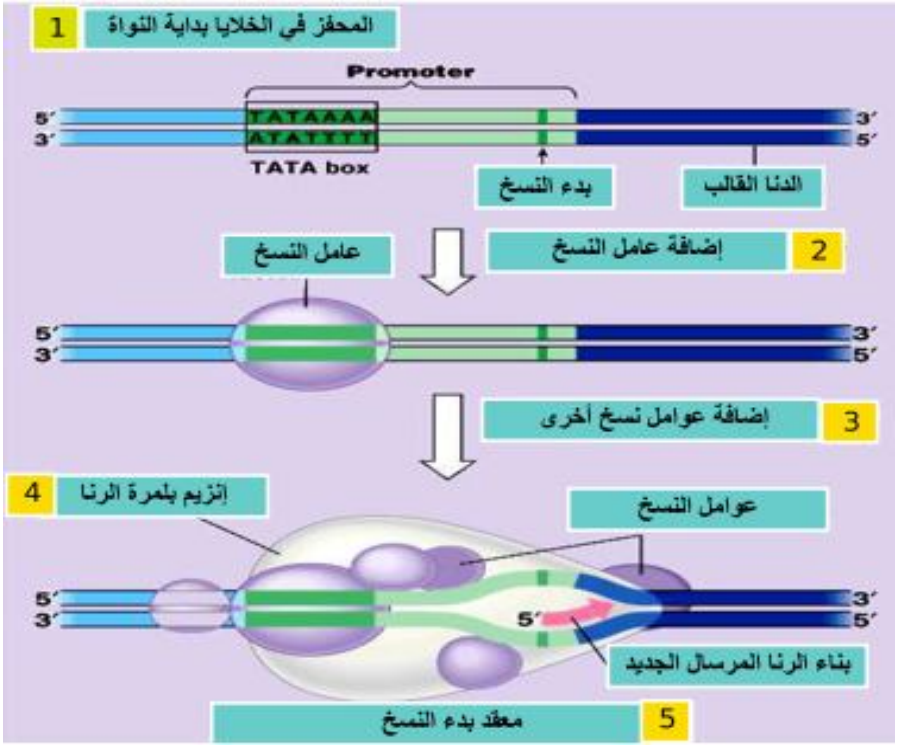
د - إيقاف عملية النسخ عند إنتهاء نسخ الجين المستهدف عند تتابعات المنهي Terminator (الشكل ٢-٥ أ، ب).



(الشكل ٢–٥ ب): تكون فقاعة النسخ وتحرك إنزيم البلمرة على طول الشريط القالب لإضافة النيوكليوتيدات الجديدة للنهاية '3 في الشريط النامي

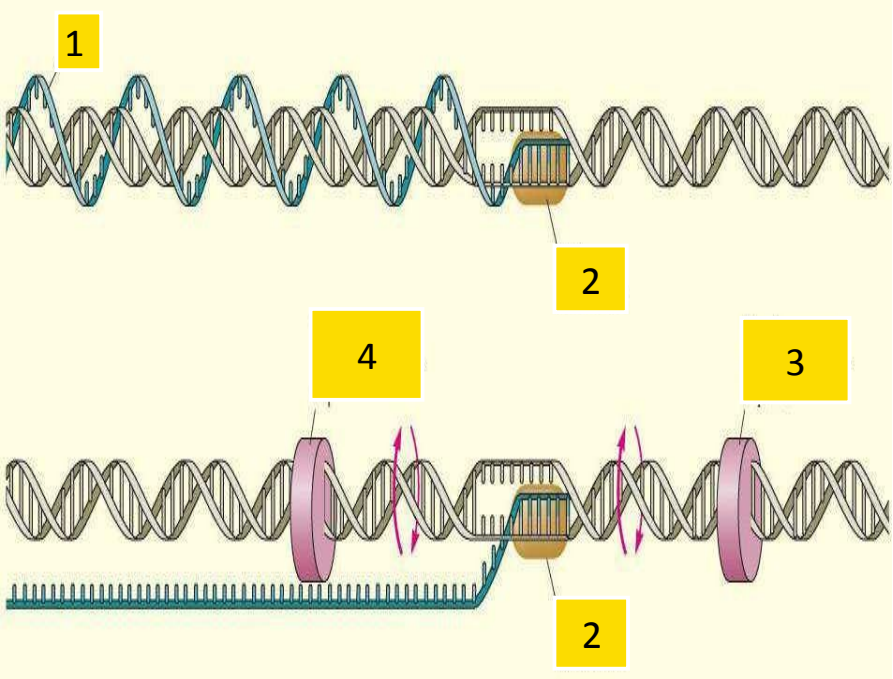
هناك تقريبًا ٣٠٪ من جينات الكائنات حقيقيات النواة تحتوي على منطقة أو تتابع محدد داخل منطقة المحفز يسمى بصندوق تاتا TATA box. تتعرف عوامل النسخ Transcription factors على هذا الصندوق ويرتبط به إنزيم الرنا المبلمر ومن ثم تبدأ عملية النسخ. ولكن في غياب هذا الصندوق كما في معظم الجينات يرتبط إنزيم الرنا المبلمر بتتابعات المحفز. بعد تباعد Unwinding شريطي الدنا يتكون ما يسمى بفقاعة النسخ Transcription bubble لتهيئة مكان أو حيز يُمَكّن إنزيم البلمرة وعوامل النسخ المكونة لمعقد بدء النسخ Pre-initiation complex

(PIC) من العمل بشكل طبيعي كما سيتضح لاحقًا. حال ارتباط إنزيم الرنا المبلمر بالمحفز في وجود عوامل النسخ الأخرى تبدأ عملية النسخ ، حيث يقوم إنزيم بلمرة الرنا بربط أول نيوكليوتيدة NTP والتي تكون إما أدنين ATP أو جوانين GTP ثم ترتبط بها النيوكليوتيدة الثانية من خلال تحفيز تكون روابط فوسفاتية ثنائية Phosphodiester bonds مع النيوكليوتيدات السابقة لها في الرنا المتمم. بالإضافة لعمل إنزيم البلمرة في فك حلزنة الدنا يقوم إنزيم آخر هو إنزيم توبوآيزوميريز Topoisomerases بتحفيز ارتخاء الالتفاف الشديد Supercoils للدنا أمام وخلف فقاعة النسخ (شكل ٢-٦).



(الشكل ٢-٦): تتعرف عوامل النسخ على منطقة المحفز خصوصًا صندوق تاتا وترتبط به ليتكون معقد بدء النسخ

بما أن الرنا المبلمر يتحرك على طول الدنا أثناء استطالة عملية النسخ فهو يقوم بفك التفاف شريطي الدنا Untwists بمعدل ١٠-٢٠ زوجاً قاعدياً في كل مرة. خلف فقاعة النسخ يعاود الدنا الالتفاف ولكن ليس خلف الفقاعة مباشرة حتى لا يلتف شريط الرنا المتمم حول محور شريط الدنا مما قد يمنع إعادة الالتفاف الطبيعي لشريط الدنا ويعيق عملية إتمام تكون رنا طبيعي، لكن التأثير الذي يمارسه إنزيم Topoisomerases خلف فقاعة النسخ يمنع تشابك الرنا مع الدنا (الشكل ٢-٧).

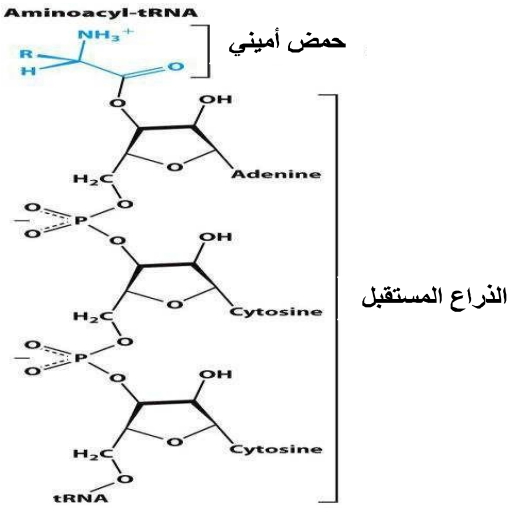


(الشكل ٢-٧): دور إنزيم توبوآيزوميريز Topoisomerases في فك حلزنة الدنا ومنع التفاف شريط الرنا المتمم حول محور شريط الدنا (١: الرنا – ٢: إنزيم بلمرة الرنا – ٣: إنزيم توبوآيزوميريز أمام إنزيم البلمرة – ٤: إنزيم توبوآيزوميريز خلف إنزيم البلمرة)

الحمض النووي الرايبوزي الناقل Transfer RNA (tRNA):

سبق توضيح دور الرنا الناقل tRNA أثناء تتبع مراحل بناء البروتين في كتاب علم الخلية والوراثة (سعد القحطاني ٢٠١٢). لكن من المهم توضيح ظاهرة مهمة في عملية التعبير الجيني وهي ظاهرة الرنا المتأرجح أو المتذبذب (الوبل) RNA wobbling. من المعروف أن الرنا الناقل يقوم بالتعرّف على الشفرات الوراثية (الكودون) Codons من خلال التوافق بين الشفرة الوراثية Genetic codon على الرنا المرسال mRNA والشفرة الضدية Anti-codon على الرنا الناقل tRNA ، ومن ثم ربط الأحماض الأمينية مع بعضها البعض لتنمو سلسلة عديد الببتيد، كما يلعب الرنا الرايبوسومي rRNA دورًا في ذلك. يحتوي جزيء الرنا الناقل على بعض الأذرع أو الثنيات Loops المهمة التي تتيح له الارتباط بالأحماض الأمينية بمساعدة إنزيم منشط Aminoacyl tRNA synthase حسب (الشكل ٢-٨) والمعادلة التالية:

Amino acid + tRNA +ATP +E → Aminoacyl –tRNA + AMP + 2Pi



(الشكل ٢-٨): ارتباط الحمض الأميني بالساق المستقبل

أهم خمس أذرع في الرنا الناقل هي:

١. **ذراع D-loop:** يقع هذا الذراع في الغالب مقابلاً لذراع بساي ψ-loop arm ويحتوي على قاعدة يوارسل محورة (يوريدين Uridine)، ارتبطت بها ذرتا هيدروجين (UH_2) Dihydrouridine.

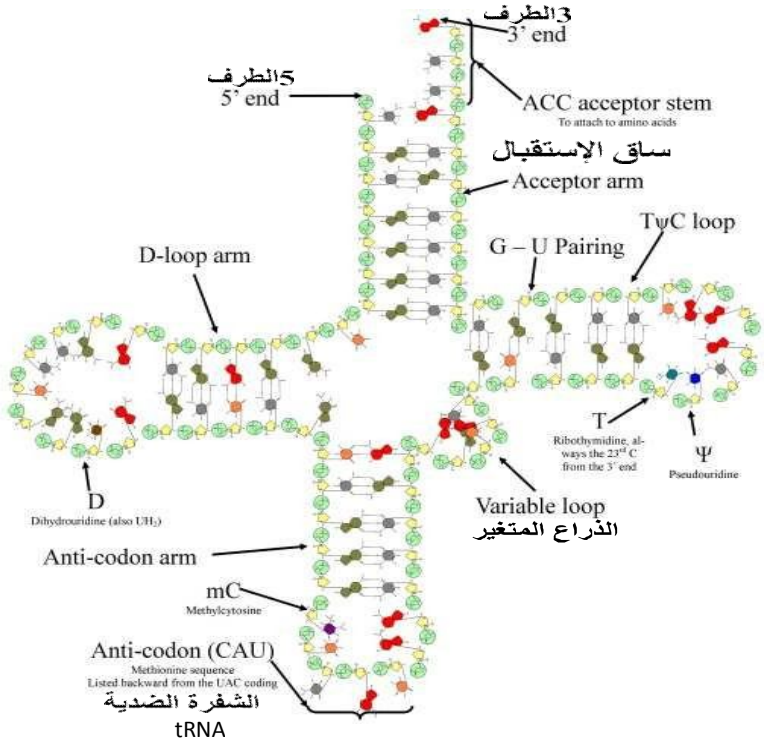
٢. **ذراع الشفرة الضدية Anti-codon loop arm:** يقع في الأسفل ويرتبط بالشفرة الوراثية في الرنا المرسال على الرايبوسوم.

٣. **الذراع المستقبل Acceptor arm:** يقع في الأعلى وينتهي بالتتابع CCA، حيث يرتبط الأدنين مع الحمض الأميني في الوقت المناسب لتتكون بينهما رابطة ببتيدية.

٤. **ذراع بساي ψ-loop arm:** يحتوي هذا الذراع أيضًا على قاعدة يوارسل محورة.

٥. **الذراع المتغير Variable loop arm:** هذا الذراع يوجد في بعض تتابعات الرنا الناقل، وهو يساهم في تغيير شكل الرنا الناقل وقد يتغير موقعه على جزيء الرنا الناقل.

يوضح (الشكل ٢-٩) الشكل الدقيق للرنا الناقل، حيث تحاول الجزيئات الحفاظ على أقل طاقة ممكنة. كما يلاحظ أن العروات تتجمع بإحكام في نهاية كل ذراع وهذه المجموعات تتيح المجال لتنافر الإلكترونات المشحونة وتدفع النيوكليوتيدات بعيدًا عن بعضها البعض حتى يتم الحصول على قدر يسير من الطاقة اللازمة لثباتها ودقة عملها.



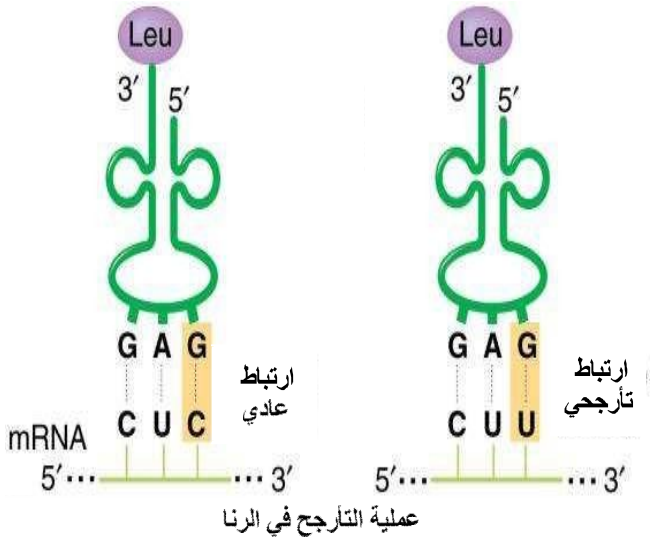
(الشكل ٢–٩): الشكل العام للرنا الناقل يبين أهم الثنيات

ظاهرة تذبذب (تأرجح) الرنا RNA wobbling:

تعني ظاهرة التذبذب أو التأرجح أن القاعدتين الأولى والثانية في أي كودون تتحد دائمًا مع القاعدتين المتممتين والمقابلتين لهما على الكودون المضاد حسب قواعد الارتباط المعروفة (A=U و G≡C)، إلا أن القاعدة التالية في الموقع الثالث تتحد مع القاعدة المقابلة في الكودون المضاد وفق ارتباط القواعد المتذبذب. بمعنى أن ارتباط النيوكليوتيدة الثالثة في الكودون المضاد على الرنا الناقل مع النيوكليوتيدة الثالثة في الشفرة الوراثية على الرنا المرسال لا يتفق مع قواعد واتسون وكريك. كما تعرف ظاهرة التذبذب بأنها تغير طفيف في الموقع الثالث

لقاعدة الجوانين في الكودون المضاد مما يسمح لها بالارتباط مع اليوراسيل بدلاً من الارتباط المتمم (الطبيعي) مع السيتوسين (الشكل ٢-١٠). من أبرز ارتباطات التذبذب الشائعة ما يلي :

١. ارتباط الجوانين مع اليوراسيل (G-U).
٢. ارتباط الأنوسين مع اليوراسيل (I-U).
٣. ارتباط الأنوسين مع الأدنين (I-A).
٤. ارتباط الأنوسين مع السيتوسين (I-C).



(الشكل ٢-١٠): أبرز أنواع ارتباطات التذبذب الشائعة

مركب الأنوسين Inosine أو الإندوسين Indosine ويسمى أحيانًا هيبوزانثين Hypoxanthine عبارة عن قاعدة بيورين محورة كقاعدة الجوانين التي نزع منها مجموعة الأمين. يشير (الجدول ٢-١) المرفق إلى بعض الاحتمالات المتوقعة لظاهرة التذبذب.

الجدول (٢-١): بعض الإحتمالات المتوقعة لظاهرة التذبذب

الشفرة الوراثية 5→3	الشفرة الضدية 3→5
U or C	G
G	C
U	A
A or G	U
A or U or C	I

عندما تتغير الأزواج المتذبذبة يتغير تركيب الرنا الناقل وبالتالي لا يتكون التركيب البروتيني الثانوي الفا α-helix الذي يتعرّف عليه إنزيم تنشيط الارتباط بالأحماض الأمينية. الجدير بالذكر أن بعض الشفرات الوراثية في دنا الميتوكوندريا mtDNA مثل الثدييات تختلف في تخصصيتها عن تلك الموجوده في الدنا النووي Nuclear DNA. يتبع ارتباط النيوكليوتيدتين الأولى والثانية قواعد واتسون وكريك ولكن النيوكليوتيدة الثالثة في الشفرة الضدية تتبع ظاهرة التذبذب. بناء على ذلك هناك ٣٢ رنا ناقلاً على الأقل مطلوباً للتعرف على الشفرات الوراثية في الرنا المرسال. وهنا ينشأ السؤال التالي: لماذا تحتاج الميتوكوندريا عدداً أقل من الرنا الناقل؟ للجواب على هذا السؤال لابد من التنويه إلى أن هناك اختلافاً بين الشفرات العالمية Universal codes (دنا النواة) والشفرات الوراثية في الميتوكوندريا. وبالتالي فإن الاختلافات في تذبذب الرنا تسمح بأن يتعرف الرنا الناقل في الميتوكوندريا على أكثر من شفرة مقارنة بالرنا الناقل الخاص بدنا النواة. على سبيل المثال نجد أن بعض أنواع الرنا الناقل في الميتوكوندريا تستطيع التعرف على شفرات مختلفة أكثر من أنواع الرنا الناقل الأخرى. وهذا يفسر سبب احتواء

الميتوكوندريا على عدد أقل من الرنا الناقل. في ميتوكوندريا الثدييات يوجد ٢٢ رنا ناقلاً بينما هناك ٣٢ رنا ناقلاً لفك الشفرة Decipher العالمية (الجدول ٢-٢).

الجدول (٢-٢): التغيرات في الشفرة الوراثية للميتوكوندريا مقارنة بالشفرة العالمية (دنا النواة)

التغيرات في الشفرة الوراثية للميتوكوندريا		
شفرة دنا الميتوكوندريا mDNA	الشفرة العالمية (دنا النواة) Universal code	الخاصية
٢٢	٣٢	عدد الرنا الناقل tRNA
تربتوفان Trp	تربتوفان Trp	UGG
تربتوفان Trp	شفرة توقف Stop codon	UGA
شفرة توقف Stop codon	آرجنين Arg	AGG
شفرة توقف Stop codon	آرجنين Arg	AGA
مثيونين Met	مثيونين Met	AUG
مثيونين Met	آيزوليوسين Ile	AUA

الأهمية الحيوية لظاهرة التذبذب:

يعتقد أن لظاهرة التذبذب أهمية حيوية يمكن إيجازها في النقاط التالية :

١. الحفاظ على تناسق وثبات الحمض النووي tRNA.

٢. تعتبر تحوراً أساسياً في التركيب الثانوي لـ tRNA مما ينعكس إيجابًا على فعالية الترجمة الصحيحة للشفرة الوراثية.

٣. تسمح بمجال تخصصية أوسع نظرًا لكمية tRNA المحدودة، حيث يستطيع tRNA واحد أن يميز أكثر من كودون واحد.

الفصل الثالث

التعبير الجيني في الفيروسات

Gene expression in viruses

الفيروسات كائنات لا خلوية تعيش معيشة تطفلية إجبارية داخل الخلايا الحية، بمعنى أنها لا تستطيع أن تتكاثر إلا داخل خلية العائل، حيث تعتمد بشكل كلي على آليات النسخ في خلية العائل، كما أنها لا تمتلك آلية أيضية فهي لا تحتوي على رايبوسومات ولا إنزيمات ولا عوامل أخرى تمكنها من تصنيع البروتينات المختلفة لتستطيع التكاثر وبناء البروتينات التي تحتاجها من أجل البقاء. لذلك فرضت علاقة التطفل الإجبارية العديد من التحديات التي تواجهها الفيروسات والخلايا التي تهاجمها تلك الفيروسات. من تلك التحديات المنافسة الشديدة على عمليات النسخ التي تتم داخل الخلية واستيلاء الفيروسات عليها وتوجيهها لصالحها، بدلاً من الهدف الأساسي الذي نسخت من أجله تلك الجينات، فبدلاً من أن تترجم جزيئات الرنا المرسال mRNA إلى بروتينات تعمل لصالح خلية العائلة وجهت بفعل الفيروسات لتعمل على ترجمة بروتينات تعمل لصالح الفيروسات (Karl-Klaus, 1996).

يتكون جينوم الفيروسات إما من شريط دنا مفرد أو مزدوج Double - or single-stranded DNA أو شريط رنا مفرد أو مزدوج Double - or single- stranded RNA، وبناء على ذلك صنفت الفيروسات إلى فيروسات الدنا أو فيروسات الرنا. تعمل خلية العائل بشكل طبيعي إلى أن تصاب بالفيروس الذي يحقن مادته الوراثية داخلها. بمجرد دخول المادة الوراثية للفيروس داخل خلية العائل تبدأ خلية العائل بتكرار المادة الوراثية للفيروس.

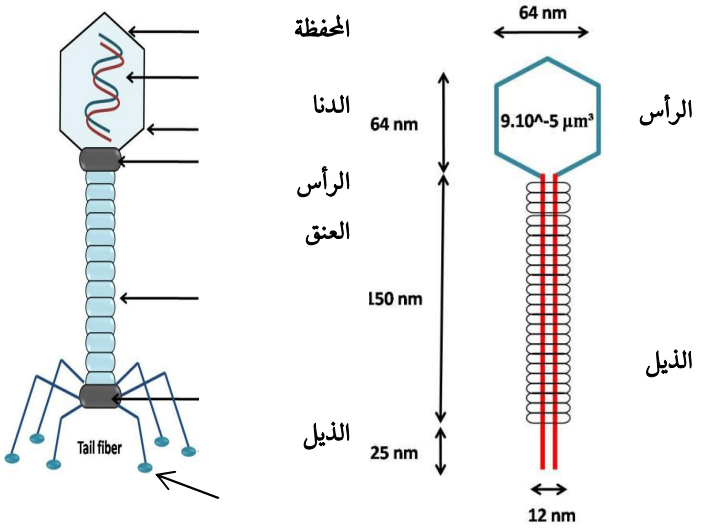
طورت الفيروسات التي تصيب خلايا الكائنات حقيقية النواة آليات متنوعة لضمان كفاءة عملية النسخ وتوجيهها للعمل على إنتاج البروتينات الفيروسية. هذه الآليات تسهل الترجمة الفعّالة والانتقائية لرنا الفيروس وقد تكون هذه الآليات متأصلة في بنية الحمض النووي الفيروسي نفسه، ويمكن أن تعمل على توظيف أو تعديل عوامل محددة داخل خلية العائل. كل هذه العمليات تتم على حساب خلية العائل وتخدم الفيروس. وبناء على ذلك تحاول الخلايا حقيقية النواة تطوير آليات مضادة للفيروسات تعمل قدر الإمكان على تعطيل صنع البروتين الفيروسي خلال مرحلة العدوى بالفيروس. في المقابل تعمل الفيروسات بآلياتها الخاصة المتعددة والمعقدة على تعطيل المسارات أو الآليات الخلوية المضادة للفيروسات، وبالتالي ضمان ترجمة البروتينات الفيروسية.

يعتبر التعبير الجيني وتنظيمه في الفيروسات عملية بالغة التعقيد، إلا أن هذا الموضوع سيعرض بشكل مبسط قدر الإمكان ليتمكن القارئ من استيعاب المفاهيم الأساسية للتعبير الجيني. يحتوي جينوم الفيروسات على جينات قليلة ومتقاربة مقارنة بجينوم بدائيات وحقيقيات النواة، كما أن جينات الفيروسات تحتوي على أكثر من إطار قراءة واحدة Open reading frames (ORFs) وبشكل متداخل في كثير من الأحيان، مما يتيح صنع أكثر من بروتين من رنا مرسال mRNA واحد. هذه الخاصية التي تمتاز بها جينات الفيروس يمكن أن تخدم أغراضاً مختلفة، مثل زيادة كفاءة الجينوم، توفير الموارد اللازمة لعملية النسخ، التحكم في كمية البروتين الناتج من خلال تنظيم عملية الترجمة. كما تستخدم الفيروسات أساليب مختلفة لخلخلة آليات الترجمة في خلية العائل وإنتاج بروتينات فيروسية محددة، كمنع إنهاء عملية النسخ وتثبيط عمل الرايبوسومات المبرمج في الأصل لفك شفرة ثلاث نيوكليوتيدات في كل مرة (Maria and Víctor, 2012).

يهاجم الفيروس خلية العائل ويصيبها حسب الخطوات التالية :

١. الارتباط (الالتصاق) بالسطح الخارجى لخلية العائل (المضيفة).
٢. إدخال (حقن) المادة الوراثية داخل خلية العائل.
٣. دمج المادة الوراثية للفيروس مع المادة الوراثية لخلية العائل.
٤. بناء (تضاعف) المادة الوراثية للفيروس.
٥. إطلاق الفيروسات الجديدة المتكونة داخل خلية العائل.

بمجرد دخول جينوم الفيروس داخل الخلية، تبدأ الخلية بتصنيع بروتينات الفيروس. حيث يستغل الفيروس إنزيمات خلية العائلة، رايبوسوماتها، الرنا الناقل tRNA، الأحماض الأمينية، الطاقة وغير ذلك من المقومات الضرورية التي يحتاجها الفيروس (الشكل ٣-١). الفاجات Phages نوع من الفيروسات التي تصيب البكتيريا ومنها على سبيل المثال فاج لمبدا λ Lambda phage، الذي يصيب بكتيريا *الإشيريشيا كولاي E. coli* ، يستطيع هذا النوع من الفاجات الدخول في الدورة المحللة Lytic cycle أو الدورة المستذيبة Lysogenic cycle. يحتوي دنا فاج لمبدا على ٤٥٠٠٠ زوج قاعدي، علماً أنه من الفاجات المعتدلة Temperate كما سيتضح ذلك لاحقًا (Oppenheim *et al*., 2005).



(شكل ٣-١): يوضح التركيب العام لفاج لمبدا

عندما يصيب هذا الفاج بكتيريا القولون فإنه يسلك مسارين أو دورتين مختلفتين، وقرار اختيار إحداهما يتضمن محولاً وراثياً Genetic switch متطوراً يحول مسار الفاج من دورة إلى أخرى.

الدورة المحللة Lytic cycle:

تكون جينات الفاج المسؤولة عن تكاثره نشطة، حيث يتضاعف دنا الفاج في هذه الدورة لينتج جسيمات النسل الجديد للفاج مع انحلال الخلايا البكتيرية وانطلاق الفاجات. تسمى الفيروسات التي تسلك الدورة المحللة بالفيروسات الخبيثة Virulent phages. تتضمن دورة التحلل (الشكل ٣-٢ و الشكل ٣-٣) عدة مراحل هى:

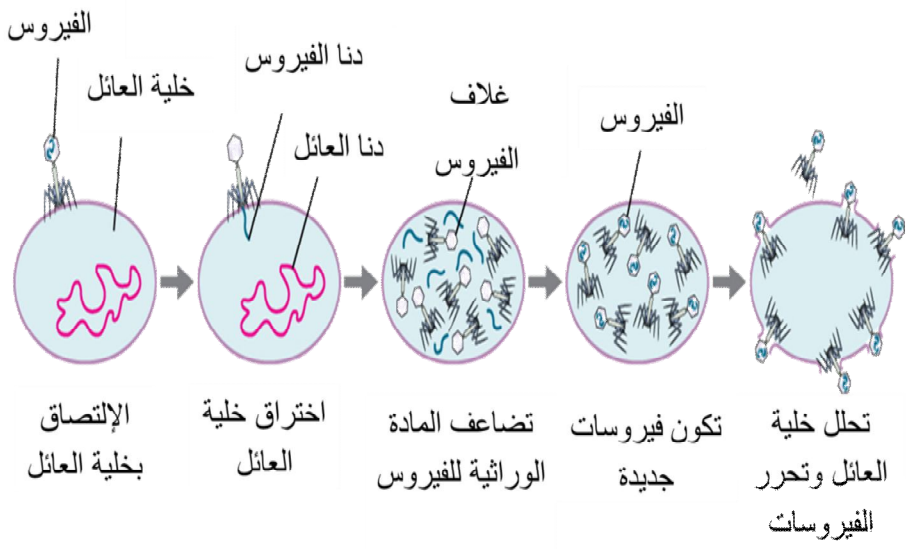
أ - **الاختراق**: أثناء هذه المرحلة يحقن الفاج مادته الوراثية داخل خلية العائل.

ب - **السيطرة**: يهيمن الفاج على آليات النسخ والترجمة، ويسيطر عليها ويستخدمها في صنع فاجات جديدة.

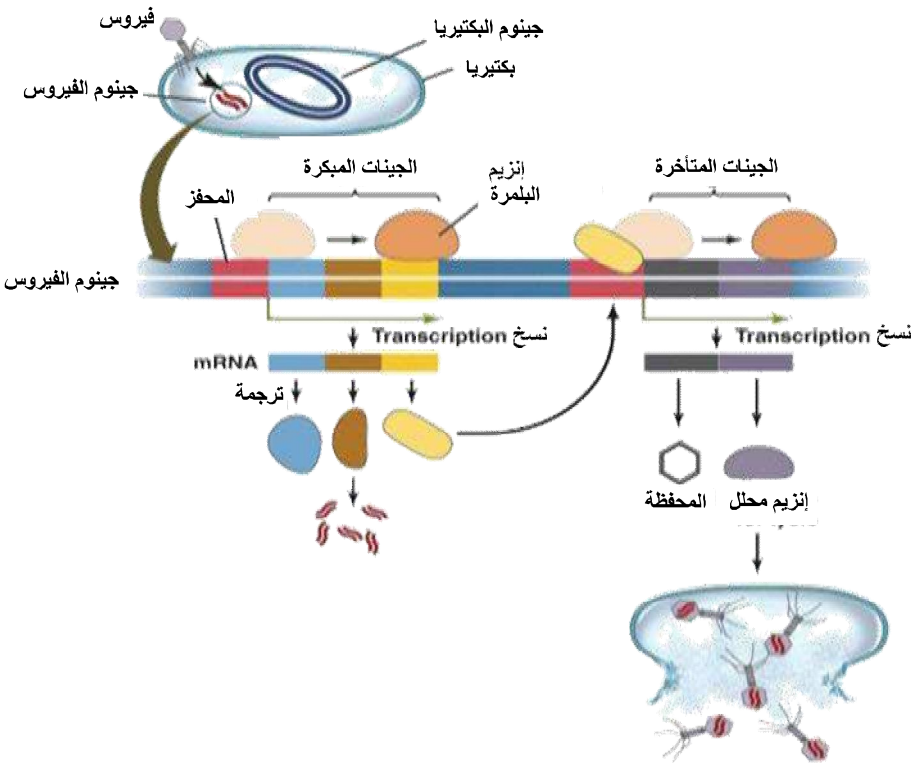
ج - **التحلل**: بعد بناء العديد من الفاجات الجديدة وتراكمها داخل خلية العائل يبدأ جدار وغشاء خلية العائل بالتحلل.

د - **الانفجار والتحرر**: بعد تحلل خلية العائل تنفجر وتتحرر الفاجات وتنتشر لتصيب خلايا جديدة.

تكاثر الفيروس بالطريقة المحللة يسبب انفجار الخلية وموتها وخروج الفاجات الجديدة وانتشارها (الشكل ٣-٢).



(الشكل ٣-٢): يوضح مراحل الدورة التحللية

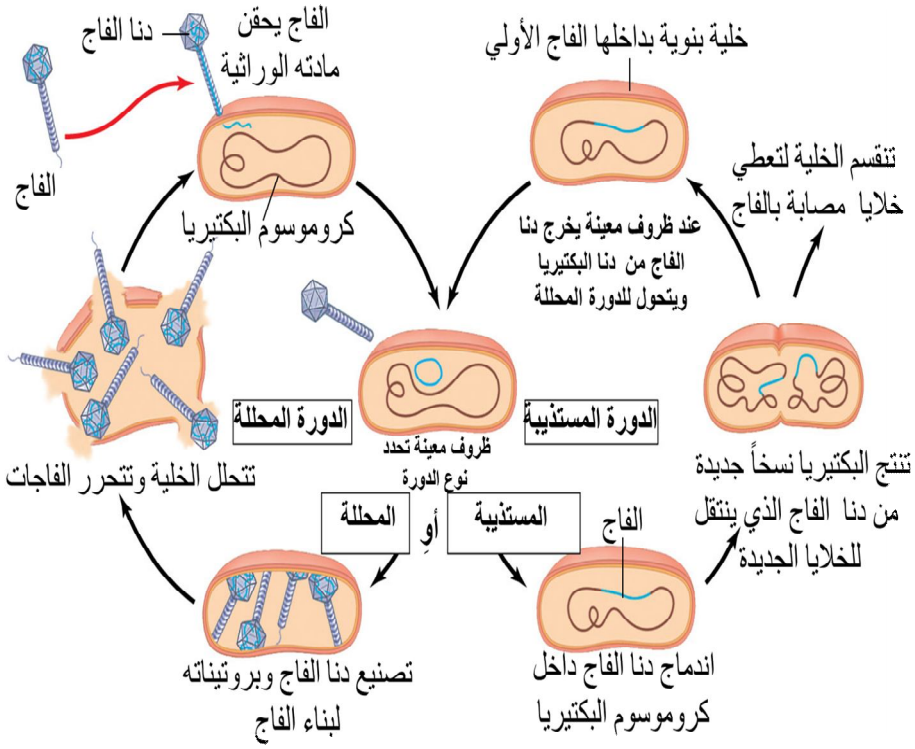


(الشكل ٣-٣): يوضح مراحل الدورة التحللية واستغلال الفيروس لجينات خلية العائل وتجنيد جيناتها لصالح عملياته الحيوية ومنها عملية التكاثر وفي النهاية القضاء على خلية العائل

الدورة المستذيبة Lysogenic cycle:

تكون جينات الفاج المسؤولة عن تكاثره غير نشطة. يتحد دنا الفيروس مع كروموسوم خلية العائل ويسمى في هذه الحالة بالفاج الأولي Prophage، حيث ينسخ دنا الفيروس وينتقل للخلايا الجديدة في كل مرة تنقسم خلية العائل. قد تحفز الإشارات البيئية المحيطة خروج جينوم الفيروس من كروموسوم خلية العائل ليسلك مسار الدورة المحللة Lytic cycle. الفيروسات التي تستخدم كلا الدورتين تسمى الفيروسات أو الفاجات المعتدلة Temperate phages (الشكل ٣-٤).

تعتمد الدورتان السابقتان على نوع الفيروس الذي قد يدمر خلية العائل أو يتحد مع مادتها الوراثية، كما يعتمد تأثير الفيروس على مدى نشاط الجينات المبكرة Early genes والبروتينات المنظِمة لكلا الدورتين وتنافسهما على الارتباط بدنا الفيروس، وبناء عليه تنشط بروتينات الجينات التحللية أو المستذيبة (Oppenheim *et al*., 2005).

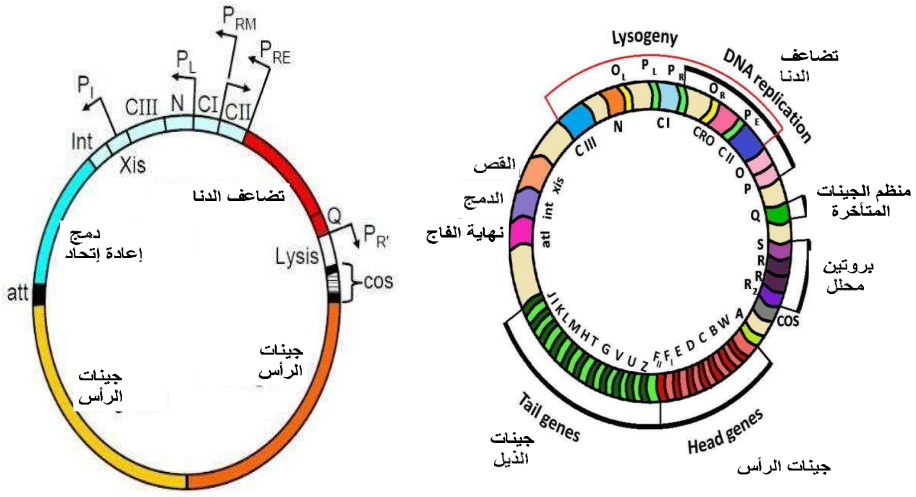


(الشكل ٣-٤): يوضح مراحل الدورة المستذيبة والدورة المحللة والتحول من دورة إلى أخرى

تنظيم التعبير الجيني في الفيروسات التي تصيب البكتيريا (البكتيروفاج) Gene regulation in bacteriophages:

تتطفل الفيروسات التي تصيب البكتيريا على الخلية البكتيرية ولا تحتاج إلى تشفير إنزيمات التكاثر والأنظمة الحيوية المتعلقة بهذه العملية، بل تستغل جينات الفيروس أنظمة خلية العائل وتوجهها حسب حاجتها وتتكاثر. يوضح (الشكل ٣-٥) الخريطة الجينية Genetic map لفاج لمبدا λ وهو من الفيروسات التي تصيب البكتيريا.

لكروموسوم فاج لمبدا λ الناضج شكل خطي Linear وله نهايتان متممتان Complementary (sticky) ends، بمجرد دخول دنا الفاج لخلية البكتيريا يستدير Circular، ولهذا يعرض جينوم الفاج بشكل مستدير. تتوزع الجينات على طول الجينوم على هيئة مجموعات (أوبيرونات) Operons. فجينات التضاعف التي تنشط أثناء الدورة المحللة Lytic cycle تظهر مجتمعة في الأوبيرون المبكر الأيمن Early right operon عند بداية الجزء الأيمن (عند موضع الساعة ١) كما في (الشكل ٣-٥)، بينما جينات الدورة المستذيبة التي تتحكم في قص جينات الفاج ودمجه مع كروموسوم خلية البكتيريا تظهر في أوبيرون آخر في الجزء الأيسر Early left operon (عند موضع الساعة ١٠-١٢). الجينات المسؤولة عن بقية تراكيب فاج لمبدا λ كالرأس والذيل تنشط فقط أثناء الدورة المحللة وتتجمع معًا في الأوبيرون المتأخر (عند موضع الساعة ٢ و ٧).



(الشكل ٣–٥): يوضح جينوم فاج لمبدا

أحداث النسخ المبكرة Early transcription events:

تُحدد أحداث النسخ المبكرة لجينات فاج لمبدا λ بعد دخوله لخلية البكتيريا، حيث يقع الخيار على إحدى الدورتين المحللة أو المستذيبة. قرار الاختيار يعتمد على أحداث معقدة يحددها التنافس بين منتج الجين المثبط *cI* gene–repressor ومنتج الجين المضاد له *Cro* gene anti-repressor. لو كان الجين المثبط هو السائد، فإن فاج لمبدا سيتبع مسار الدورة المستذيبة، بينما لو كان الجين المضاد للمثبط هو السائد فإن فاج لمبدا سيتبع مسار الدورة المحللة. عندما ينشط مسار الدورة المستذيبة يندمج كروموسوم فاج لمبدا مع كروموسوم خلية البكتيريا عند مناطق محددة ولا يتكاثر الفيروس. بالمقابل فإن جينات الدورة المحللة تظل مثبطة ولا يتضاعف الفيروس إلا مع تضاعف البكتيريا. أما عند نشاط جينات الدورة المحللة فسوف يتكاثر الفيروس وتتحلل البكتيريا ومن ثم تتحرر الفيروسات. عندما يتبع فاج لمبدا إحدى الدورتين سيتم التعبير عن جينات مختلفة بغض النظر عن نوع الدورة. أحيانًا تكون بعض مراحل نمو الفاج متشابهة، فعند بداية إصابة البكتيريا بالفاج

يتحول الكروموسوم من الشكل الخطي إلى الشكل الدائري من خلال تكامل ١٢ نيوكليوتيدة عند الأطراف الحرة وبمساعدة إنزيم الدنا اللاصق DNA Ligase. وبما أنه لا يوجد جزيئات مثبطة تمنع التعبير الجيني لجينات الدورة المحللة، فإن عملية نسخ الجينات تبدأ عند المحفزين الأيمن والأيسر P_L و P_R، حيث يوجد كل منهما على شريط مختلف، ولذلك يعملان بإتجاهين متعاكسين، أحدهما P_L يعمل بعكس اتجاه عقارب الساعة والآخر P_R يعمل باتجاه عقارب الساعة. أول جين ينسخ من محفز P_R هو جين *cro* الذي ينتج بروتين يؤدي دوراً مهماً في ضبط العوامل الوراثية وتوجيهها نحو مسار الدورة المحللة. أما أول جين ينسخ من محفز P_L فهو جين *N* الذي يؤدي عدة وظائف منها:

١. إنتاج بروتين مضاد لإنهاء النسخ Anti-terminator.
٢. السماح ببناء الرنا واستمرار تحركه ليتخطي عوامل إنهاء النسخ.
٣. تنشيط نسخ جين *cII* الذي بدوره يحفز نسخ الجينات التالية:
   أ - جين cI الذي ينشط الجين المثبط λ-Repressor.
   ب - جين *O* وجين *P* المنتجة لبروتينات تضاعف دنا الفاج.
   ج - جين *Q* الذي يساهم في تشغيل الجينات المحللة المتأخرة وبروتينات جزيئات الفاج. كما يعمل بروتين Q كمضاد لإنهاء النسخ، حيث يحفز استمرار النسخ حتى الوصول لجينات مسار الدورة المحللة.

بعد أحداث النسخ المبكرة في أي من الدورتين فإن قرار التحول لمسار الدورة المستذيبة يتطلب بروتينات cII وبروتينات cIII المنشطة لنسخ الجين *cI*، الذي يقع بين المحفزين PL و PR. ناتج الجين cI بالاشتراك مع ناتج الجين المثبط تمنع التعبير الجيني للجينات المهمة في عملية تضاعف كروموسوم الفاج وتجميع جزيئاته وتحلل الخلية.

يمكن إيجاز أحداث التعبير الجيني لفاج لمبدا λ بعد دخوله لخلية البكتيريا في (الشكل ٣-٦) و (الجدول ٣-١) لتحديد قرار اختيار إحدى الدورتين المحللة أو المستذيبة كما يلي :

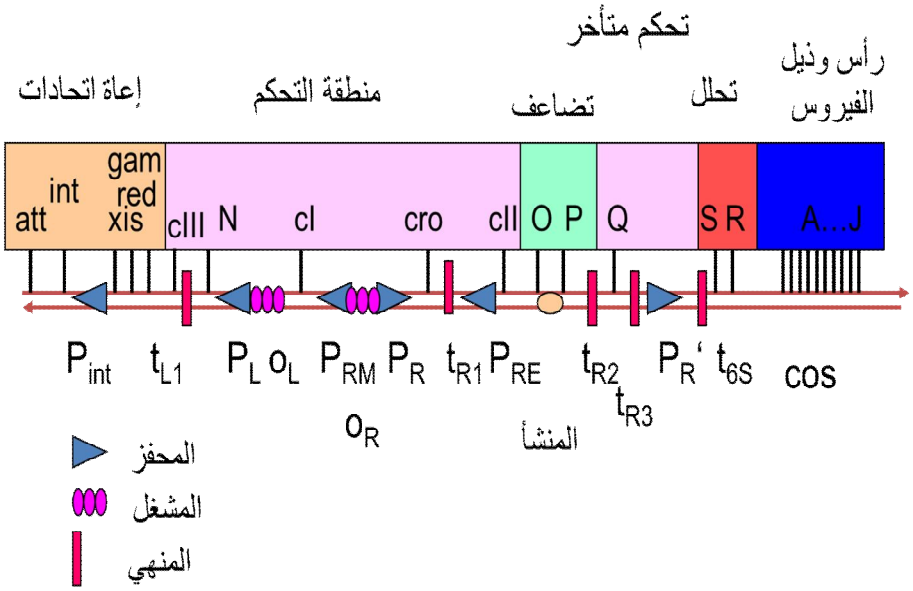
١. يبدأ نمو فيروس الفاج عندما يرتبط إنزيم الرنا المبلمر بالمحفزين PL و PR ويتم بناء الرنا المرسال من الجين *N* والجين *cro*.

٢. يعمل بروتين N عند مواقع الطرف 3′ ويحفز بناء الرنا للجينات الأخرى، بينما تسمح بروتينات O وP ببناء الدنا.

٣. تحدث عملية تنافس على إحدى الدورتين حسب وجود الجينات السائدة في أي من الدورتين. تنشط الدورة المستذيبة عند سيادة الجين المثبط، بينما تنشط الدورة المحللة عند سيادة الجين المضاد له *cro*.

٤. أ: بروتين cII يحفز بناء الرنا المرسال من الجين المثبط *cI*. وجود كمية كافية من البروتين المثبط cI ترتبط بالمشغلين الأيمن والأيسر OR و OL لتمنع بناء الرنا، وبالتالي يرتبط المثبط بالمشغل OR ليحفز بناء المزيد من جزيئات المثبط. إنزيم الدمج Integrase يحفز دمج دنا الفاج ويمهد لبدء الدورة المستذيبة.

ب: يحتل بروتين cro المشغلين OR و OL ليمنع بناء الرنا المرسال للجين المثبط، ولكنه يسمح بنسخ جين *Q*. يؤدي تراكم البروتين الناتج إلى تحفيز نسخ الجينات المتأخرة التي تشفر للبروتينات التركيبية التي يعبأ بداخلها دنا الفاج.



(الشكل ٣-٦): يوضح توزيع الجينات الوظيفية في جينوم الفاج

جدول (٣-١): يبين أبرز الجينات المشاركة في آلية اختيار نوع الدورة (محللة أو مستذيبة) وآلية التحول في فاج اللمبدا

الجين/المحفز/المشغل	الوظيفة
PR	محفز النسخ باتجاه اليمين
PL	محفز النسخ باتجاه اليسار
PRI	محفز ثانوي للنسخ باتجاه اليمين
PRE	محفز بدء تنشيط الجين الكابت
PRM	محفز الحفاظ على استمرار نشاط الجين الكابت
CI	جين كابت يشفر لبروتين كابت
CII	جين مشفر لبروتين منشط لبدء النسخ

الجين/المحفز/المشغل	الوظيفة
CIII	جين مشفر لبروتين يحافظ على ثبات واستقرار عناصر النسخ
OR	مشغل أيمن
OL	مشغل أيسر
Cro	جين مضاد لعمل الجين الكابت (كابت ثانوي)
Q و *N*	جين مشفر لبروتين مضاد لإنهاء النسخ
O و *P*	جينان مشفران لبروتينات مشاركة في تضاعف دنا الفاج لمبدا
من *J* إلى *U*	جينات مشفرة للبروتينات المكونة للذيل
من *A* إلى *Z*	جينات مشفرة للبروتينات المكونة للرأس
Att	جين يشفر لبروتين يهيئ مكان ارتباط دنا الفاج بكروموسوم البكتيريا
Int	جين يشفر لبروتين يساعد في عملية اندماج دنا الفاج بدنا البكتيريا
Xis	جين يشفر لإنزيم القطع

الرنا كمادة وراثية للفيروسات RNA as viral genetic material:

وجد أن مجموعة كبيرة من الفيروسات التي يكون الرنا مادتها الوراثية تصيب الحيوانات. فالفيروسات الرجعية Retroviruses تستخدم إنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase لنسخ وتحويل مادتها الوراثية الرنا إلى دنا، ومن أمثلتها: فيروس نقص المناعة المكتسبة Human immunodeficiency virus (HIV). فيروسات الدنا تشبه البلازميدات Plasmids والعناصر الوراثية المتنقلة Transposons، حيث إنها تنتقل وتندمج مع جينوم خلية العائل.

الجينات الدالة Reporter genes:

يمكن تتبع نشاط الجينات والتغيرات في معدل النسخ من خلال الجينات الدالة التي تستخدم لمراقبة نشاط عوامل النسخ كتتابعات المحفز في الأنسجة المختلفة أو المراحل المختلفة لتطور الفيروس. يعتمد اتحاد المادة الوراثية للفيروس بدنا خلية العائل على ارتباط بروتينات الجينات الدالة بمنطقة المحفز للجين المستهدف داخل خلية العائل، حيث تعمل الجينات الدالة على تنشيط المحفز وزيادة كفاءة أنظمة نقل الجينات وكفاءة إشارات بدء الترجمة وعملية استنساخ الفيروس Cloning. من أمثلة الجينات الدالة الجين المنتج لإنزيم اللوسيفيريز Luciferase (LUC) الذي يعمل على أكسدة اللوسيفيرين Oxidizes luciferin وإطلاق وميض.

يمكن للجينات الدالة الارتباط بتتابعات مختلفة لإنتاج بروتينات دالة فقط يمكنها الالتصاق أو الالتحام ببروتينات أخرى Fusion proteins. البروتينات اللاصقة عبارة عن بروتين موسوم Tagged ببروتين معروف، البروتينات المستهدفة توجد بكميات قليلة جدًا وغير كافية لقياس التعبير الجيني. من أمثلة البروتينات اللاصقة البروتين الفلورسنتي الأخضر Green fluorescent protein (GFP) والإبيتوب Epitope tagging (Allard, 2008).

الفصل الرابع
تنظيم التعبير الجيني في أوليات النواة
Gene regulation in prokaryotes

تعيش الكائنات الحية وتتكاثر في بيئة ثابتة أو مستقرة Stable، لذلك منح الخالق سبحانه وتعالى هذه الكائنات طرق ووسائل تستطيع بها أن تتأقلم مع التغيرات البيئية الجديدة المحيطة بها. من هذه الطرق تغيير النشاط أو التعبير الجيني إلى الحد الذي يمكن معه تصنيع النواتج الجينية المناسبة للظروف البيئية الجديدة، تعتبر البكتيريا حرة المعيشة مثل بكتيريا القولون *E. coli* أفضل مثال على ذلك، حيث يدل تنظيم التعبير الجيني على مستوى تباين التعبير الجيني تحت الظروف المختلفة. يحتوي دنا البكتيريا على آلاف الجينات المختلفة التي يتم تنظيم التعبير الجيني لبعضها ولا يتم للبعض الآخر. غالبًا الجينات التي لا يتم تنظيم تعبيرها الجيني لها مستويات تعبير ثابتة في كل الظروف وتسمى بالجينات البنائية Constitutive genes. هذه الجينات البنائية تتحكم في تحديد بروتينات أساسية لحياة الكائن الحي، وبالمقابل فإن معظم الجينات التي يتم تنظيم تعبيرها الجيني تتحكم في تحديد البروتينات التي تنتج في أوقات معينة وبكميات محددة. يتضح مما سبق أن الخلية تتفادى صرف الطاقة الخلوية في إنتاج بروتينات ليست بحاجتها.

تم تعريف الجين في الفصل الأول، أما مصطلح التعبير الجيني Gene expression فيعني العملية التي يتم بواسطتها تحويل المعلومات الوراثية الموجودة في الجين إلى جزيئات تحدد مميزات الخلايا كالشكل والوظيفة. كما قد يُعرّف التعبير الجيني بأنه قدرة الجين على تصنيع المنتج المسؤول عنه (البروتين). بالرغم من أن

المعلومات الوراثية الأساسية التي تحدد تكوين البروتينات المختلفة في الخلية تخزن في الدنا، إلا أن الدنا نفسه لا يساهم بطريقة مباشرة في تصنيع هذه البروتينات. فالمعلومات الوراثية المخزنة في تتابعات الدنا يتم نسخها إلى جزيئات الرنا المرسال التي تخضع بدورها لتحورات مهمة تمت الإشارة إليها مسبقًا ومن ثم تترجم إلى البروتين المطلوب في الزمان والمكان المناسبين.

تخضع عملية التعبير الجيني لتنظيم خاص يسمح لجينات معينة بالتعبير عن نفسها عند حاجة الخلية إلى بروتينات تلك الجينات، وعندما تنتهي حاجة الخلية لهذه البروتينات يتوقف التعبير الجيني لها. وقد تبدأ جينات أخرى في التعبير عن نفسها لإنتاج بروتينات أخرى وهكذا. ولتنظيم عملية نسخ الجينات لا بد من وجود عناصر وراثية مرتبطة بالجين المراد نسخه أو تنظيم تعبيره الجيني، وهذه العناصر تتفاعل مع الوسط المحيط بالجين (وخاصة في أوليات النواة) وبالتالي تسمح هذه العناصر بنسخ الجين من عدمه. يتم تنظيم التعبير الجيني من خلال أحداث خلوية مختلفة يمكن إيجازها في ثلاثة أحداث أو مستويات رئيسية.

المستويات الرئيسية لتنظيم التعبير الجيني

المستوى الأول: عملية النسخ Transcription:

تلعب طريقة ارتباط البروتينات المنظمة بالدنا دوراً مهماً في تحديد بدء عملية النسخ أو عدم بدئها، كما قد تُنشط البروتينات المنظمة عملية النسخ فتزيد معدلها أو تثبط عملية النسخ فتخفض معدلها. كما تؤدي تلك البروتينات المنظمة دورًا في تباطؤ أو إنهاء عملية النسخ. لذلك قسمت البروتينات المنظمة لعملية النسخ إلى نوعين:

أ - بروتينات منظمة كابحة (مثبطة) Repressors أو ما يسمى بالتنظيم الوراثي السالب Negative control.

ب - بروتينات منظمة منشطة Activators أو ما يسمى بالتنظيم الوراثي الموجب Positive control.

المستوى الثاني: عملية الترجمة Translation:

يؤدي ارتباط البروتينات المنظمة للترجمة بالرنا المرسال إلى كبح عملية الترجمة ومنع بدئها. كما قد تمنع ارتباط الكودون على الرنا المرسال بالكودون المضاد على الرنا الناقل وبالتالي تتوقف عملية الترجمة.

المستوى الثالث: معالجة البروتين Protein processing

تتعرض البروتينات بعد عملية الترجمة لبعض التغيرات التركيبية كارتباط بالبروتين بعض الجزيئات مما قد يؤثر على وظيفة ذلك البروتين. تختلف آليات تنظيم التعبير الجيني بين بدائيات النواة وحقيقيات النواة، فعملية تنظيم التعبير الجيني أكثر تعقيداً في حقيقيات النواة مقارنة ببدائيات النواة، وذلك يرجع للأسباب التالية:

١. وجود العضيات الخلوية في حقيقيات النواة والتي تعمل كبيئات مصغرة ومغلقة لها وظائف محددة، فلكل عضية خلوية ظروف ومتطلبات تفاعل خاصة تختلف عن متطلبات التفاعل لعضية أخرى مثل الإنزيمات التي تعمل في عضية ولا تعمل في أخرى أو درجة حموضة pH معينة أو وجود بعض العناصر الخاصة بعمل كل عضية، وهذا ما يسمى بتقسيم الخلايا Compartmentalization of cells الذي يضمن لكل عضية القيام بوظيفتها المحددة دون التداخل مع وظيفة عضية أخرى، مثل هذه الخصائص لا توجد في بدائيات النواة.

٢. وجود عمليات نسخ كثيفة Extensive transcript processing في حقيقيات النواة مقارنة ببدائيات النواة.

٣. يمكن تنظيم عمليات النسخ من مسافة بعيدة Regulation from distance في حقيقيات النواة بعكس ما يحدث في بدائيات النواة.

٤. وجود عوامل نسخ متخصصة في خلايا أو أنسجة محددة في حقيقيات النواة تجعل عملية التعبير الجيني تتم في تلك الخلايا أو الأنسجة فقط دون غيرها.

٥. حجم الجينوم الكبير Larger genome size في حقيقيات النواة يجعل عملية التعبير الجيني أعقد وأكثر منها في بدائيات النواة.

٦. يحتوي جينوم حقيقيات النواة على كروماتين متباين Heterochromatin يشكل حوالي ٩٠٪ من حجم الجينوم وكروماتين حقيقي أو منتشر Euchromatin تتوزع خلاله الجينات Scattered genes الفعّالة، بينما في الغالب لا يحتوي جينوم بدائيات النواة على إنترونات أو ما يسمى بـ Junk DNA.

قبل البدء في توضيح تنظيم التعبير الجيني في أوليات النواة لا بد من التطرق للتركيب العام لجينات أوليات وحقيقيات النواة. تصنف الجينات والبروتينات الناتجة عنها التي تتحكم في التعبير الجيني في أوليات النواة إلى مجموعتين هما: الجينات التركيبية والجينات المُنَظِمة:

الجينات التركيبية Structural genes:

يُعرّف الجين التركيبي بأنه تتابع من الحمض النووي الدنا يتحكم في تكوين بروتين معين، هذا البروتين ليس له دور في عملية تنظيم نسخ الدنا وإنتاج الرنا، مثل إنزيمات وبروتينات جدار الخلية وبروتينات الرايبوسومات.

الجينات المُنَظِمة Regulatory genes:

هي مجموعة أخرى من تتابعات الدنا تتحكم في تكوين بروتينات تعرف باسم البروتينات المُنظِمة والتي تساعد الخلية على التفاعل مع الوسط المحيط بها وبالتالي تقوم بتنظيم معدل نسخ الجينات التركيبية.

تم تحديد عنصرين رئيسيين من عناصر التحكم في جينات البكتيريا والفيروسات وكلا العنصرين يمثلان جزءاً من الكروموسوم أو الدنا يقعان بالقرب من الجين أو الجينات التي تنظمها. أحدهما يُعرف بالمحفز Promoter والآخر يُعرف بالمشغل Operator.

أولاً: المحفز Promoter:

المحفز عبارة عن تتابع دنا قصير ومحدد يرتبط به إنزيم الرنا المبلمر RNA polymerase لبدء عملية النسخ. من المعروف أن نسخ الدنا في البكتيريا وبناء الرنا يتم عن طريق إنزيم البلمرة، ولكي يستطيع هذا الإنزيم أن يقوم بوظيفته لا بد أن يرتبط به أولاً سلسلة من عديد الببتيد تسمى عامل سيجما (σ) Sigma factor. يقوم عامل سيجما بوظيفة محددة وهي التعرّف على مكان أو تتابع محدد من الدنا يسمى المحفز ثم يحث إنزيم البلمرة ليرتبط بهذا المحفز. عند غياب عامل سيجما يرتبط إنزيم البلمرة بتتابعات معينة ضمن منطقة المحفر لكن عملية النسخ لا تبدأ بنفس الكفاءة.

تتباين أنواع المحفزات بين الخلايا، كما تتباين فيما تحتويه من إنزيمات بلمرة. تحتوي بكتيريا القولون على حوالي ٣٠٠٠ جزيء من هذا الإنزيم. هذا الاختلاف بين تتابعات المحفزات وكمية إنزيمات البلمرة ينعكس على كفاءة ارتباط إنزيمات البلمرة بالدنا والذي بدوره ينعكس على عملية النسخ والتعبير الجيني بين الخلايا المختلفة أو بين الجينات المختلفة. كذلك يوجد عوامل سيجما متعددة ومختلفة والتي تلعب دوراً مهماً في تحديد مستوى التعبير الجينى في الكائنات بدائية النواة. الجدير بالذكر أنه عند الظروف البيئية غير المناسبة يزداد مستوى عامل سيجما مما يؤدي إلى توجيه بعض إنزيمات بلمرة الرنا لتمييز محفزات جينات معينة مثل جينات الصدمة الحرارية Heat shock genes والارتباط بها لإنتاج بروتينات محددة تعمل

على مساعدة تلك الخلايا على مقاومة تلك الظروف البيئية غير المناسبة أو التأقلم معها وتخطي مرحلة الخطر.

يقع تتابع المحفز على مسافة محددة وقريبة تقع على اليمين Upstream من نقطة بدء النسخ أو بداية الجينات التركيبية التي يتحكم هذا المحفز بتنظيم عملها. يرتبط إنزيم البلمرة ارتباطًا وثيقًا مع المحفز، كما يعمل إنزيم البلمرة على إذابة أو تكسير الروابط بين شريطي الدنا في هذا المكان مما يسمح بتباعدها وتكوين فقاعة النسخ وبالتالي يمكن لعملية النسخ أن تبدأ.

ثانيًا: المشغل Operator:

المشغل تتابع آخر من الدنا يرتبط به أحد البروتينات المُنَظِمة التي يتحكم في تصنيعها جينات مُنَظِمة. عادة يقع تتابع المشغل ملاصقًا لتتابع المحفز أو متداخلاً معه أحيانًا، كما يفصل المشغل ما بين المحفز من جهة وبداية الجينات التركيبية من جهة أخرى، ويعمل المحفز والمشغل معًا على تنظيم عملية نسخ الجينات التركيبة. يرتبط بالمشغل بروتينات كابتة Repressor proteins نتجت من جينات كابتة لغرض تنظيم عملية التعبير الجيني. يتم تنظيم عمل إنزيم البلمرة أحيانًا بواسطة جزيئات أخرى تسمى بالجزيئات الفاعلة Effector molecules مثل المنشطات Activators أو المثبطات Inhibitors. تنتج هذه الجزئيات من جينات خاصة بها وتلعب دوراً في تنظيم التعبير الجيني عند مستوى عملية النسخ من خلال تفاعلها من البروتينات المنظمة.

بدء عملية النسخ Initiation of transcription :

تبدأ عملية النسخ حال ارتباط إنزيم الرنا المبلمر بالمحفز، حيث يقوم إنزيم بلمرة الرنا بربط أول نيوكليوتيدة NTP ثم ترتبط بها النيوكليوتيدة الثانية من خلال تحفيز تكون روابط فوسفاتية ثنائية مع النيوكليوتيدات السابقة في الرنا المتمم.

استطالة عملية النسخ Elongation of transcription:

بعد بدء عملية النسخ بوقت قصير أي بعد بناء ما بين ٨-٩ نيوكليوتيدات في الرنا المرسال الجديد ينفصل عامل سيجما من إنزيم البلمرة ليكمل الإنزيم عملية النسخ وبسرعة (٣٠ - ٥٠ نيوكليوتيدة/ ثانية). يمكن أن يستعمل عامل سيجما لبدء عملية نسخ جديدة وهكذا.

إنهاء عملية النسخ Termination of transcription:

يستمر إنزيم بلمرة الرنا في بناء شريط الرنا المرسال النامي إلى أن يصل لتتابعات معينة هي تتابعات إنهاء عملية النسخ، حيث يتحرر أو ينفصل إنزيم بلمرة الرنا من الدنا القالب. هناك طريقتان للإنهاء: إحداهما تعتمد على عامل إنهاء مساعد وهي أقل شيوعًا، أما الطريقة الثانية وهي الأكثر شيوعًا فلا تعتمد على عامل إنهاء مساعد.

الأوبيرون Operon:

من أكثر نُظُم التعبير الجيني شيوعًا عند أوليات النواة نظام الأوبيرون Operon، وهذا النظام عبارة عن مجموعة من الجينات التركيبية والتنظيمية التي تعمل كوحدة واحدة لإنتاج إنزيمات تعمل ضمن عملية أيضية واحدة. أي أن تتابعات المحفز والمشغل والجينات التركيبية تعمل كمجموعة متكاملة.

يتألف الأوبيرون من ثلاثة تتابعات رئيسية هي:

١. تتابعات المحفز.

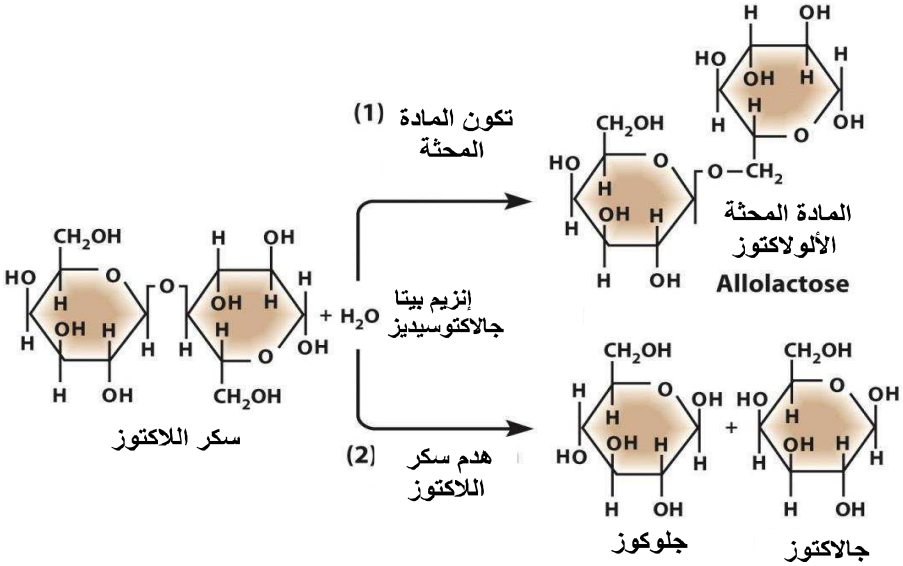
٢. تتابعات المشغل.

٣. تتابعات الجينات التركيبية.

سنعرض في هذا السياق مثالين على نظام الأوبيرون هما: أوبيرون اللاكتوز Lac operon وأوبيرون التربتوفان Trp operon.

أولاً: أوبيرون اللاكتوز Lac operon:

يعمل أوبيرون اللاكتوز على هدم Catabolism سكر اللاكتوز Lactose الثنائي وتحويله إلى سكرين أحاديين هما: سكر الجلوكوز Glucose وسكر الجالاكتوز Galactose (الشكل ٤-١). يتألف هذا الأوبيرون من تتابعات الدنا التي تشمل الجينات التركيبية والمشغل والمحفز المسؤولة عن تصنيع مجموعة من الإنزيمات اللازمة لهدم اللاكتوز وتحويله إلى جلوكوز وجالاكتوز.



(الشكل ٤-١): تحلل سكر اللاكتوز الثنائي بواسط إنزيم بيتا جلاكتوسيديز إلى سكرين أحاديين (الجلوكوز والجالاكتوز) مع تحويل كمية بسيطة إلى المادة المحثة الألولاكتوز

يمثل أوبيرون اللاكتوز أحد الأوبيرونات القابلة للاستحثاث Inducible operon. ويقصد بالأوبيرون القابل للاستحثاث الأوبيرون الذي تنشط فيه عملية نسخ الجينات التركيبية نتيجة لإضافة مادة يطلق عليها المادة المحثة Inducible (I)، هذا النوع من الأوبيرونات مرتبط عادة بتصنيع إنزيمات تتضمن عمليات هدم أيضي Catabolism. في حالة أوبيرون اللاكتوز، يتلامس مع تتابع المحفز جين مُنَظِم Inducible gene، بينما تتواجد الجينات المُنظمة للأوبيرونات الأخرى عادة على مسافة أبعد. كما تجدر الإشارة إلى أن للجين المنظم محفز خاص به Promoter inducible (Pi).

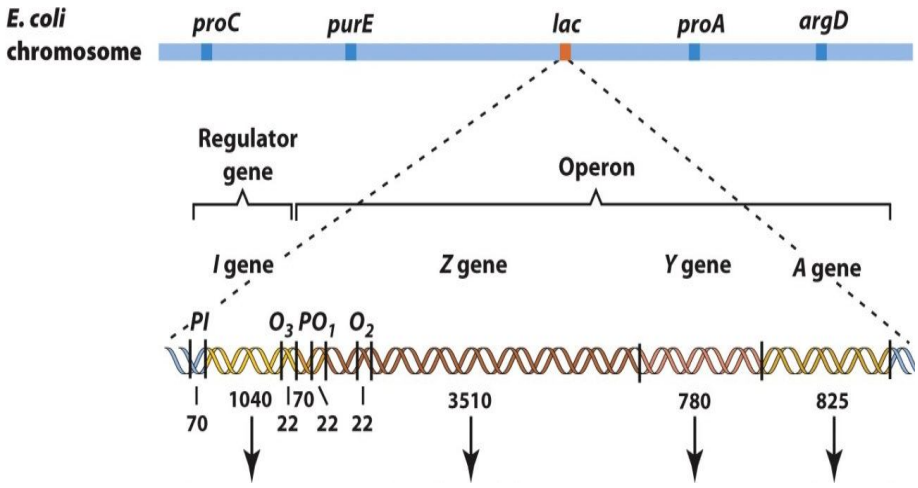
يتكون أوبيرون اللاكتوز (الشكل ٤-٢) من ثلاث جينات تركيبية وهي: Z – Y –A تشفر لثلاث إنزيمات كما يلي:

١. الجين Z: ينتج إنزيم بيتا جلاكتوسيديز β-galactosidase الذي يعمل على هدم اللاكتوز وتحويله إلى جلوكوز وجالاكتوز، مع تحويل كمية بسيطة إلى المادة المحثة الألولاكتوز Allolactose.

٢. الجين Y: ينتج إنزيم بيتا جلاكتوسيد بيرمييز β-galactoside permease وهو إنزيم غشائي ضروري للنقل الفعّال (ضخ) سكر اللاكتوز إلى سيتوبلازم الخلية البكتيرية.

٣. الجين A: ينتج إنزيم بيتا جلاكتوترانس أسيتيليز β-galactoside transacetylase . وظيفة هذا الإنزيم مازالت غير معروفة، إلا أن بعض الأدلة بينت أن له دوراً في أستلة Acetylation مشابهات اللاكتوز غير القابلة للأيض ومنع تراكم المواد السامة داخل البكتيريا.

تقوم هذه الإنزيمات في بكتيريا القولون بعملية هدم سكر اللاكتوز وتحويله إلى جلوكوز وجالاكتوز.



(الشكل ٤-٢): الشكل العام لأوبيرون اللاكتوز يبين الجينات التركيبية

يتكون إنزيم البلمرة في بكتيريا القولون من إنزيم مركزي Core enzyme بالإضافة إلى عامل سيجما (σ) الذي يضاف إلى الإنزيم المركزي عند بداية الارتباط بالمحفز فقط.

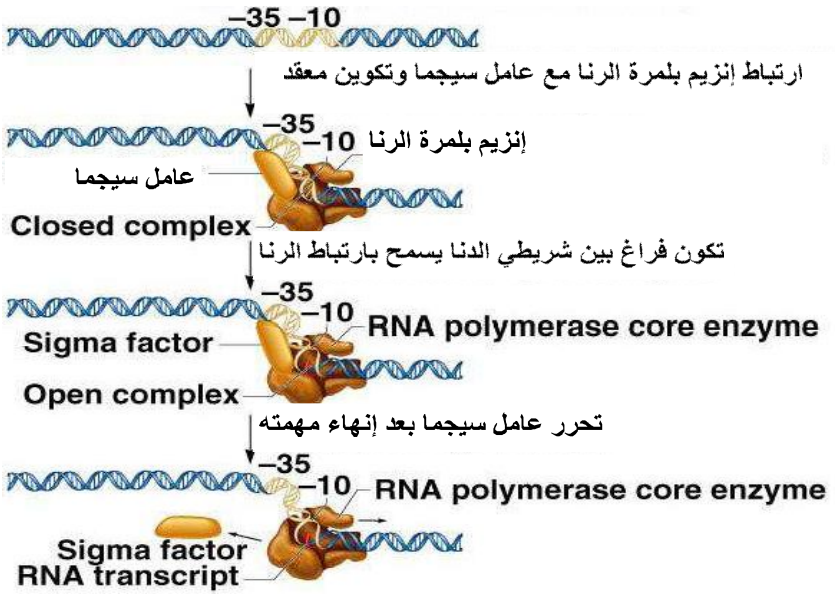
يتكون مركز الإنزيم من الوحدات التالية :

١. وحدتان من عديد الببتيد ألفا α.

٢. وحدتان من عديد الببتيد بيتا (β و'β).

٣. وحدة واحدة من عديد الببتيد أوميجا ω.

يقوم عامل سيجما بدور محدد وهو التعرف على تتابع الدنا عند نقطة بداية النسخ وربط إنزيم البلمرة بتلك النقطة. بمجرد بدء تكون شريط الرنا المرسال يتحرر عامل سيجما ويستمر إنزيم البلمرة بتحفيز استطالة شريط الرنا المرسال (الشكل ٤-٣).



(الشكل ٤-٣): يوضح بدء عملية النسخ في أوليات النواة

إن التحكم في أوبيرون اللاكتوز يمكن أن يكون:

أ - تحكماً موجباً Positive control يزيد فيه معدل النسخ في وجود المنشطات، حيث تعمل المنشطات على بدء أو تحفيز Turn on التعبير الجيني.

ب - تحكماً سالباً Negative control ينخفض فيه معدل النسخ عندما ترتبط المثبطات بتتابعات الدنا المُنَظِمة (المشغل). في هذه الآلية يعمل البروتين قرين الكابت Co-repressor على إيقاف أو كبت Turn off عملية التعبير الجيني.

تعتمد آليتي التحكم الموجبة أو السالبة، سواء كان التعبير الجيني من النوع المستحث Inducible أو القابل للكبت Repressible على ارتباط العوامل المنظمة مع تتابعات الدنا أو ما يسمى بمناطق ارتباط البروتينات المنظمة Regulator protein binding sites (RPBS)، كما يعتمد أيضًا على وجود أو غياب تلك العوامل داخل الخلايا. عندما تعمل المحفزات Inducers يزيد معدل التعبير الجيني، وعندما تعمل الكابتات Repressors أو قرائن الكابتات Co-repressors ينخفض معدل التعبير الجيني.

تستجيب الكائنات بدائية النواة عادة لبيئاتها المحيطة بها ويتأثر معدل التعبير الجيني بالإشارات المنبعثة من تلك البيئات، فبعض الأوبيرونات تُحفز عند الحاجة لمسار أيضي معين والعكس صحيح (Leonard, 2015).

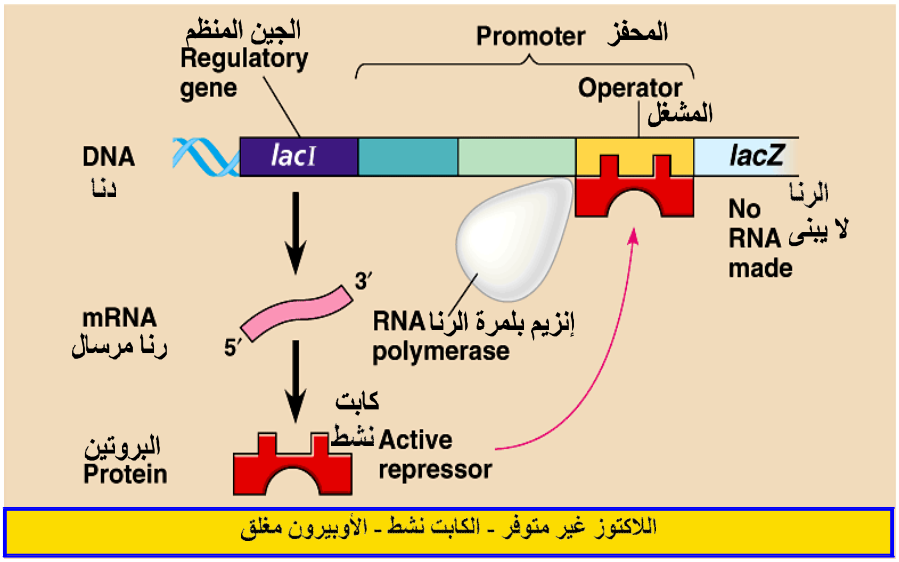
تنظيم التعبير الجيني لأوبيرون اللاكتوز Gene expression of lac operon:

أولاً: التحكم السالب عند غياب أو وجود سكر اللاكتوز:

يتحكم الجين المنظم (i) في تكوين البروتين (الكابت) الذي يمنع الأوبيرون من التعبير وتصنيع الإنزيمات اللازمة لهدم سكر اللاكتوز.

أ- التحكم السالب عند غياب سكر اللاكتوز:

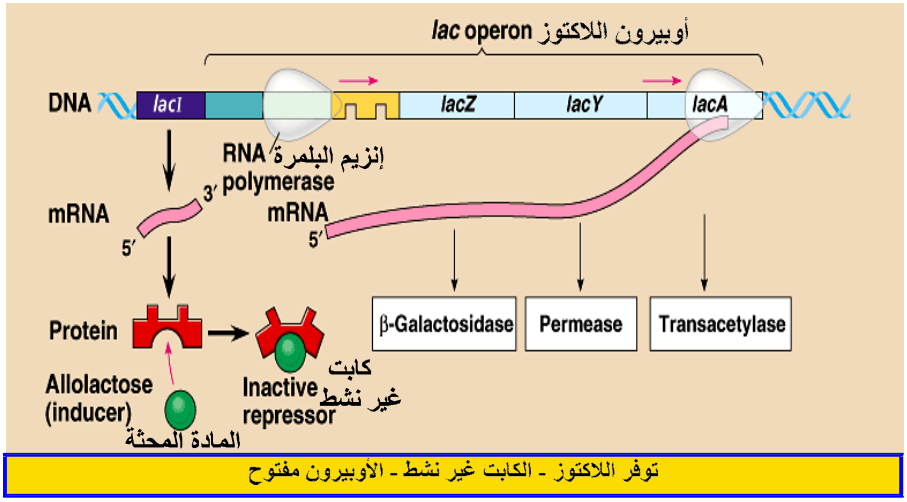
عند غياب المادة المحثة الألولاكتوز Allolactose يرتبط البروتين الكابت Repressor protein مع تتابعات المشغل مما يمنع إنزيم بلمرة الرنا من الارتباط بالمحفز ونسخ الجينات التركيبية (Z- Y-A). المادة المحثة في هذا الأوبيرون هي نواتج أيض اللاكتوز (الألولاكتوز) والتي نشأت من اللاكتوز نتيجة لتفاعل يحكمه إنزيم بيتا جالاكتوسيديز (الشكل ٤-٤).



(الشكل ٤-٤): يوضح توقف أوبيرون اللاكتوز عند غياب اللاكتوز ونشاط البروتين الكابت

ب- التحكم السالب عند وجود سكر اللاكتوز:

عندما يتكون مركب الألولاكتوز فإنه يرتبط مع البروتين الكابت ويمنعه من الارتباط مع تتابعات المشغل مما يسمح لإنزيم بلمرة الرنا بالارتباط مع المحفز ونسخ الجينات التركيبية الثلاثة (شكل ٤-٥).



(الشكل ٤-٥): يوضح نشاط أوبيرون اللاكتوز في وجود اللاكتوز وتثبيط البروتين الكابت

يتم بناء جزيئات قليلة من نواتج الجينات التركيبية الثلاثة (الإنزيمات الثلاثة) في حالة عدم وجود اللاكتوز، مما يوفر نشاطاً أساسياً منخفضاً للإنزيمات. يسمح هذا النشاط المنخفض بتكوين مادة الألولاكتوز (المادة المحثة) عند تواجد اللاكتوز لتبدأ بعد ذلك الجينات التركيبية في العمل. أي أنه لا بد من وجود إنزيم بيتا جلاكتوسيديز بتراكيز بسيطة في الخلايا غير المستحثة (عدم وجود اللاكتوز) حتى يمكن إنتاج الألولاكتوز عند توفر سكر اللاكتوز.

عندما يكون الجلوكوز متوفر واللاكتوز غير متوفر أثناء النمو الطبيعي للبكتيريا في البيئة التي تعتمد على الجلوكوز، فإن البروتين الكابت في أوبيرون اللاكتوز يرتبط بتتابعات بالمشغل ويمنع حدوث عملية النسخ. وعلى عكس ذلك

عند توفر اللاكتوز وغياب الجلوكوز، فإن الجزيئات القليلة من إنزيمات أوبيرون اللاكتوز ستنتج نسبة بسيطة من المادة المحثة (الألولاكتوز) من اللاكتوز وبالتالي تتم عملية النسخ.

ثانيًا: التحكم الموجب لأوبيرون اللاكتوز:

لوحظ أن وجود سكر الجلوكوز في الوسط المحيط بالبكتيريا يمنع استحثاث أوبيرون اللاكتوز مثله في ذلك مثل الأوبيرونات الأخرى التي تتحكم في إنتاج الإنزيمات التي تدخل في هدم المواد الكربوهيدراتية مثل أوبيرون الإرابينوز والجالاكتوز، كما ثبت أن توفر الجلوكوز في البيئة المحيطة يكون له الأفضلية على غيره من مصادر الطاقة الأقل كفاءة. تسمى هذه الظاهرة بالكبت الهدمي Catabolic repression. قبل توضيح كيفية حدوث الكبت الهدمي ينبغي أولاً معرفة ميكانيكية التحكم الموجب في نسخ أوبيرون اللاكتوز. يقوم بعملية التحكم الموجب بروتين مُنظم يسمى بروتين تنشيط الهدم Catabolic gene activator protein (CAP) بالإشتراك مع جزيء آخر صغير ومؤثر يسمى أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي Cyclic adenosine 3,5, monophosphate (cAMP).

تمت الإشارة سابقًا إلى أن المحفز في أوبيرون اللاكتوز يحتوي على موضع للارتباط بإنزيم بلمرة الرنا، كما أن المحفز يحتوى على موضع ارتباط آخر منفصل عن الموضع السابق يقع على يمين المحفز مباشرة Upstream، هذا الأخير خاص بارتباط المعقد البروتيني CAP-cAMP والذي بدوره لا بد أن يرتبط بمكانه الصحيح في أوبيرون اللاكتوز، حتى يمكن استحثاث أو تحفيز الأوبيرون ليعمل على نسخ الرنا. بمعنى أن هذا المعقد يمارس تحكمًا موجبًا على نسخ الأوبيرون، كما أن لهذا المعقد أيضًا تأثيرًا معاكسًا لتأثير البروتين الكابت. يستطيع المعقد المتكون CAP–cAMP فقط أن يرتبط بالمحفز بينما في غياب مركب أدينوزين

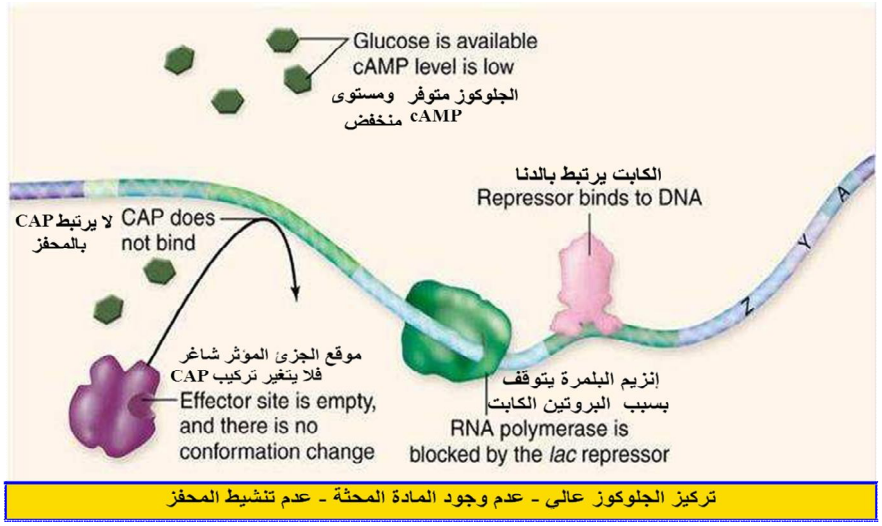
أحادي الفوسفات الحلقي cAMP لا يستطيع بروتين تنشيط الهدم CAP لوحده أن يرتبط بالمحفز. وعلى ذلك فإن مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي يعمل كجزيء مؤثر يحدد فعالية بروتين تنشيط الهدم في التأثير على نسخ أوبيرون اللاكتوز. بعد هذا التوضيح يمكن الآن فهم وتتبع آلية التحكم الموجب في أوبيرون اللاكتوز.

أثناء آلية التحكم الموجب إذا توفر الجلوكوز واللاكتوز بتركيزات عالية في البيئة المغذية فسوف يتم نسخ أوبيرون اللاكتوز ولكن بمعدل منخفض جدًا، والسبب أن تركيز الجلوكوز مرتفع. الجدير بالذكر أن وجود الجلوكوز يثبط نشاط الإنزيم اللازم لتصنيع مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي، وهذا يفسر العلاقة العكسية بين مستوى الجلوكوز ومستوى مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي. تحت هذه الظروف يسمى هذا النوع من الكبت بالكبت الهدمي Catabolic repression، الذي يستمر حتى نفاذ مخزون الجلوكوز. عندما يبدأ هذا المخزون بالتناقص في البيئة المغذية في ظل وجود اللاكتوز سيرتفع تركيز مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي، وعندها سيرتبط الألولاكتوز بالبروتين الكابت. وبما أن اللاكتوز متوفر فإن المحصلة النهائية زيادة معدل نسخ الجينات التركيبية لأوبيرون اللاكتوز.

آلية الكبت الهدمي في أوبيرون اللاكتوز (تأثير الجلوكوز):

يتأثر تركيز مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي داخل الخلية بوجود أو غياب الجلوكوز، حيث تسبب التراكيز العالية من الجلوكوز في حدوث انخفاض حاد في تركيز مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي داخل الخلية. وفي غياب هذه المادة أو وجود تراكيز منخفضة منها فإن بروتين تنشيط الهدم لا يستطيع الارتباط مع المحفز. من ناحية أخرى فإن إنزيم بلمرة الرنا لا يستطيع الارتباط

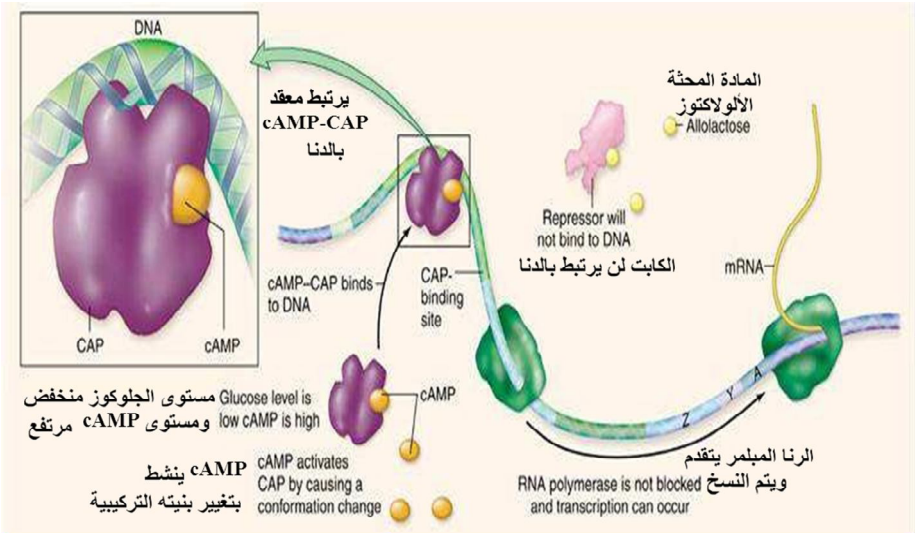
بكفاءة مع المحفز في حالة عدم ارتباط بروتين تنشيط الهدم، والمحصلة النهائية التي تنتج من التحكم الموجب لنسخ أوبيرون اللاكتوز عند وجود الجلوكوز وتحت تاثير معقد CAP-cAMP هي أن نسخ الأوبيرون لا يزيد أكثر من ٢٪ عن معدل النسخ في حالة غياب الجلوكوز. كما أن انخفاض مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي يعني عدم تكون المعقد CAP-cAMP ، مما ينتج عن ذلك عدم ارتباط بروتين تنشيط الهدم مع المحفز وهذا يؤدي إلى عدم ارتباط إنزيم بلمرة الرنا مع المحفز مما يسبب توقف عملية النسخ (الشكل ٤- ٦). مما سبق نستنتج أنه في التحكم الموجب يعمل CAP-cAMP عكس عمل البروتين الكابت.



(الشكل ٤-٦): يوضح آلية الكبت الهدمي في أوبيرون اللاكتوز عند وجود الجلوكوز بتركيز عالٍ

عندما يكون مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي غير موجود أو بتركيز منخفض فإن بروتين تنشيط الهدم لا يستطيع الارتباط مع المحفز وبالتالي لا يرتبط إنزيم البلمرة مع المحفز، والسبب وجود الجلوكوز وعدم الحاجة لبناء الإنزيمات التركيبية، ولكن عند قلة أو عدم وجود الجلوكوز تزيد نسبة مركب

أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي فيرتبط مع بروتين تنشيط الهدم وهذا المعقد يرتبط مع المحفز مما يتيح لإنزيم البلمرة الاستمرار في نسخ الجينات التركيبية وزيادة التعبير الجيني بمعدل يصل ما بين ٢٠-٥٠ ضعفًا، بمعنى آخر يمكن القول إن مركب أدينوزين أحادي الفوسفات الحلقي يعتبر بمثابة المنشط لأوبيرون اللاكتوز (الشكل ٤-٧). يطلق على هذا النوع من التنظيم بالتنظيم الموجب على عكس التنظيم السلبي الذي يحكمه عوامل مثبطة. الجدير بالذكر أن الجلوكوز يعتبر المصدر الأول للطاقة ووجوده يثبط عمل أوبيرون اللاكتوز وهذا ما يسمى بالكبت الهدمي. عند وجود الجلوكوز واللاكتوز في آن واحد فإن البكتيريا تفضل الجلوكوز أولاً كمصدر للطاقة، كما أن وجود الجلوكوز يمنع تنشيط أُوبيرون اللاكتوز. استعمال البكتيريا المتتالي (المتتابع) للسكرين: الجلوكوز واللاكتوز يسمى بالنمو ثنائي التلاؤم، وهذه الظاهرة كثيرة الحدوث عند البكتيريا.



مستوى الجلوكوز منخفض - المادة المحثة موجودة - المحفز ينشط

(الشكل ٤-٧): يوضح آلية الكبت الهدمي في أوبيرون اللاكتوز عند وجود الجلوكوز بتركيز منخفض

أوبيرون التربتوفان Tryptophan (Trp) operon:

كما أن الجلوكوز قد يكون غير متوفر طوال الوقت في بيئة نمو البكتيريا، فإن كل الأحماض الأمينية اللازمة للنمو والتكاثر قد لا تكون هي الأخرى متوفرة طوال الوقت في بيئة النمو، لذلك فقد وهب الله سبحانه هذه الكائنات القدرة على تصنيع الأحماض الأمينية غير المتوفرة من مواد أولية. تنشط الجينات الخاصة بتصنيع حمض أميني معين عند عدم توفره، بينما تكون تلك الجينات في حالة غير نشطة عند توفره. يسمى المؤثر في هذا النوع من الأوبيرونات بالمادة الكابحة المساعدة (قرين الكابت) Co-repressor التي تقوم بتحوير ناتج الجين المنظم (المادة الكابحة Apo-repressor) لتثبيط عملية نسخ الجينات التركيبية. هذا النوع من الأوبيرونات مرتبط عادة بتصنيع إنزيمات تتضمن عمليات بناء أيضي Anabolism كتصنيع الأحماض الأمينية. يعتبر أوبيرون التربتوفان أحد أوبيرونات بكتيريا القولون الذي يعمل على تصنيع Biosynthesis الحمض الأميني (التربتوفان) عند عدم توفره في بيئة نمو البكتيريا. يعمل هذا الأوبيرون على تصنيع الإنزيمات اللازمة لبناء التربتوفان الذي بدوره يساهم في بناء البروتينات الضرورية لانقسام البكتيريا ونموها. عند توفر الحمض الأميني التربتوفان فإن الخلية البكتيرية لا تحتاج إلى الإنزيمات المسؤولة عن تصنيعه، وبالتالي فإن الجينات المسؤولة عن تصنيع هذه الإنزيمات تكون متوقفة (مغلقة) Turned off. وعلى العكس من ذلك عند غياب هذا الحمض الأميني تعمل الجينات Turned on على تصنيع الإنزيمات التي تصنع الحمض الأميني التربتوفان. يطلق على مثل هذا النوع الأوبيرون القابل للكبت Repressible operons، حيث إن وجود الحمض الأميني يكبت عمل الإوبيرون. وهذا عكس ما ذكر في حالة أوبيرون اللاكتوز الذي يتم حثه عند وجود اللاكتوز، ولذا أطلق على أوبيرون اللاكتوز الأوبيرون القابل للاستحثات Inducible operon.

تركيب أوبيرون التربتوفان: Structure of (Trp) Operon:

يتركب أوبيرون التربتوفان من الآتي:

١. خمسة جينات تركيبية هي: TrpA، TrpB، TrpC، TrpD، TrpE تُشفر لخمسة إنزيمات تشارك في تصنيع الحمض الأميني التربتوفان من خلال تحويل بعض الأحماض كحمض الكورزمك Chorismic acid إلى تربتوفان بمشاركة إنزيم Chorismic synthase.

٢. محفز ومشغل مرتبطان ارتباطًا وثيقًا ويقعان على يمين Upstream الجين E.

٣. منطقة القائد Leader region (L) وتقع بين منطقتي المحفز والمشغل من جانب والجين E من جانب آخر. يوجد داخل منطقة القائد (trpL) منطقة المبطئ Attenuator (Att) التي تلعب دورًا مهماً في تنظيم عمل أوبيرون التربتوفان.

تنظيم أوبيرون التربتوفان Regulation of (Trp) operon:

توجد آليتان لتنظيم عمل أوبيرون التربتوفان:

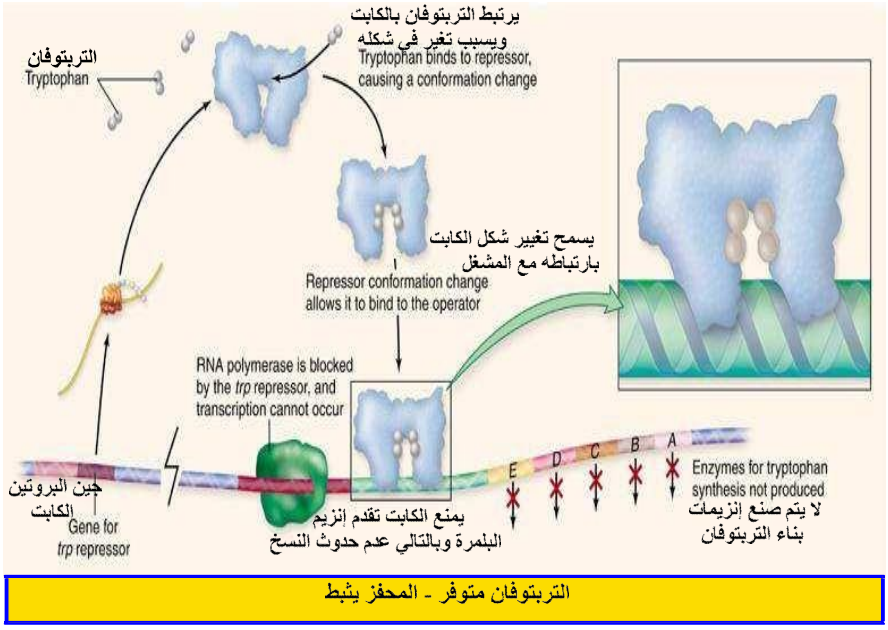
أ - آلية تفاعل البروتين الكابت مع المشغل.

ب - آلية الإبطاء التي تحدد استمرار عملية النسخ لتشمل الجينات التركيبية (عند غياب التربتوفان) أو توقفها قبل الجينات التركيبية (عند توفر التربتوفان).

أولاً: التنظيم عند توفر التربتوفان:

يرمز للجين المنظم لأوبيرون التربتوفان بالحرف R، يوجد هذا الجين بعيدًا عن مكان الأوبيرون في كروموسوم البكتيريا. ينتج الجين R بروتين قرين الكابت Apo-repressor، الذي لا يستطيع بمفرده الارتباط بالمشغل. عند توفر التربتوفان في وسط النمو فإنه يتحد مع البروتين قرين الكابت غير النشط ويحوله إلى بروتين كابت نشط يمكنه الارتباط بالمشغل، ينتج عن ذلك عدم ارتباط إنزيم بلمرة الرنا

مع المحفز، وبالتالي لا يمكن نسخ الجينات التركيبية. المحصلة النهائية هي عدم تصنيع الإنزيمات اللازمة لإنتاج التربتوفان وذلك لتوفره وعدم الحاجة لبنائه (الشكل ٤-٨). هذه الآلية تخفض نسخ أوبيرون التربتوفان حوالي ٧٠ ضعفاً.

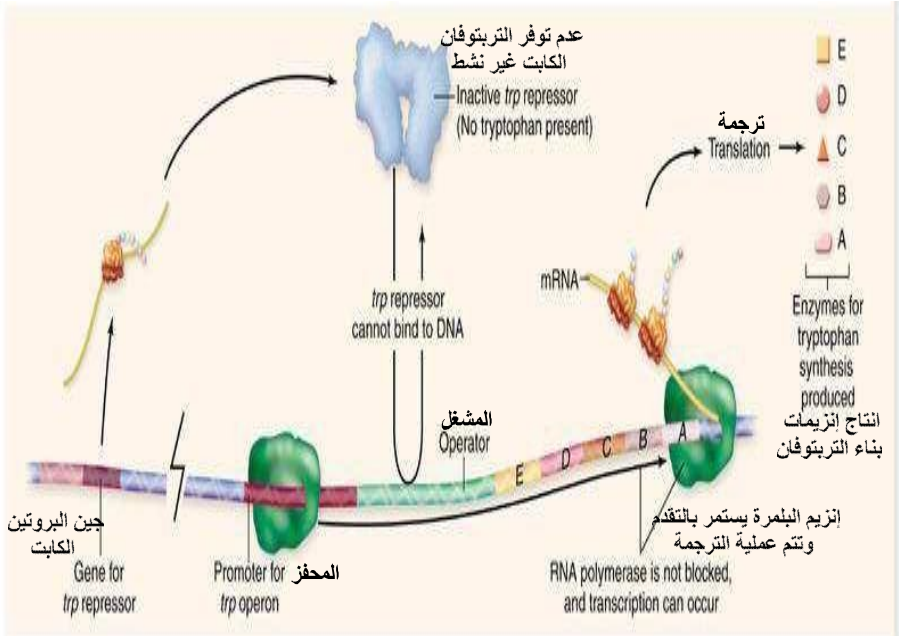


(الشكل ٤-٨): يوضح آلية تنظيم أوبيرون التربتوفان عند توفر التربتوفان

ثانيًا: عند غياب التربتوفان أو وجوده بتراكيز منخفضة:

عند الغياب الكامل للتربتوفان فإن الأوبيرون يعمل بأقصى طاقته بسبب الحاجة القصوى له، حيث يدخل في تركيب البروتينات المختلفة. أما عند وجود تراكيز منخفضة منه فإن الأوبيرون يعمل ولكن بطاقة أقل، وذلك من خلال آلية تتحكم في النسبة بين نُسخ الرنا RNA التي تشمل رنا إنزيمات تصنيع التربتوفان

وتلك النُسخ من الرنا التي تشمل فقط جزءاً من رنا القائد (حوالي ١٤٠ زوجاً قاعدياً) ، أي أن عملية النسخ تبدأ من المشغل وتنتهي قبل الجينات التركيبية أو في منطقة المبطئ (Attenuator (att. يطلق على هذه الآلية الإبطاء Attenuation، التي تُخفض أو تبطئ نسخ الأوبيرون من ٨-١٠ مرات، وبناء على ذلك فإن آلية الكبت وآلية الإبطاء يمكنهما معًا تنظيم عملية النسخ بمعدل يتراوح ما بين ٥٦٠ - ٧٠٠ مرة (الشكل ٤-٩). إن معدل التعبير الجيني لأوبيرون التربتوفان يتناسب مع نسبة تركيزه داخل الخلية.



التربتوفان غير متوفر ـ المحفز ينشط

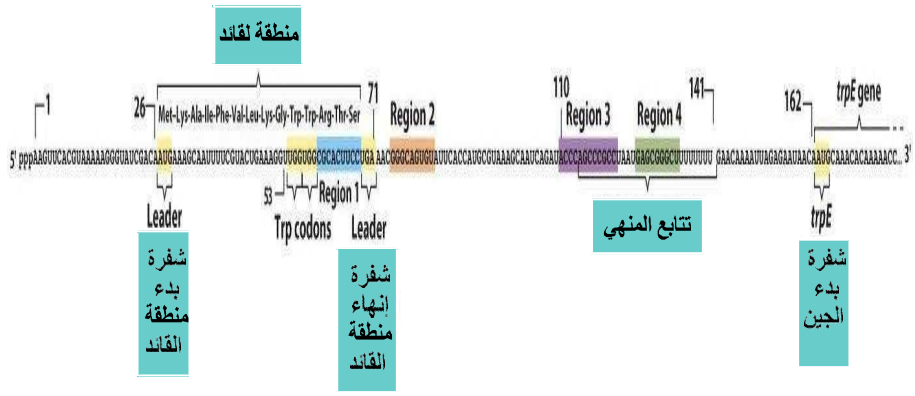
(الشكل ٤-٩): يوضح آلية تنظيم أوبيرون التربتوفان عند غياب التربتوفان أو وجوده بتراكيز منخفضة

الآليـــة الجـزيئيـــة لعمليـــة الإبطـاء Molecular mechanism of attenuation:

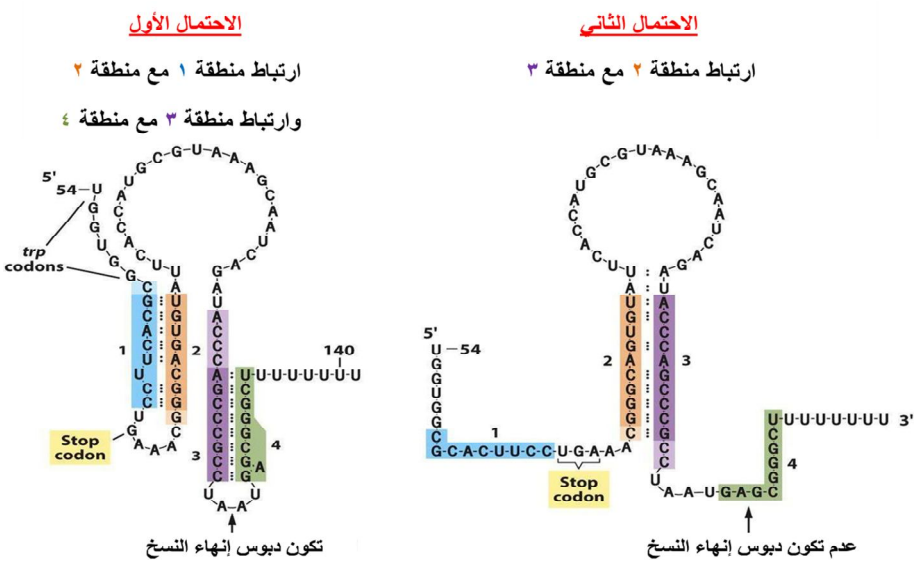
قبل البدء في فهم الآلية الجزيئية لعملية الإبطاء، لابد أن نضع في الاعتبار أن عمليتي النسخ والترجمة متلازمتان في أوليات النواة. في أوبيرون التربتوفان تنسخ منطقة القائد (L) أولاً، وأثناء النسخ تبدأ ترجمة رنا القائد المنسوخ قبل انتهاء عملية النسخ، بمعنى أن الترجمة تتم خلف إنزيم بلمرة الرنا مباشرة وأثناء عملية النسخ باتجاه الجين E. نتيجة لهذا التلازم بين عمليتي النسخ والترجمة فإن موضع الرايبوسوم على رنا القائد يلعب دورًا مهماً في عملية إنهاء النسخ عند منطقة المبطئ أو استمرار النسخ ليصل إلى الجينات التركيبية.

التركيب الجزيئي لمنطقة القائد (L):

تبدأ تتابعات منطقة القائد بالشفرة الوراثية AUG التي تشفر للحمض الأميني المثيونين، كما تحتوي على منطقة أو (حقل) Region (Domain) رقم ١ والتي تضم شفرتين وراثيتين UGG تشفر للحمض الأميني التربتوفان. يوجد بعد المنطقة رقم ١ شفرة توقف UGA، يليها ثلاث مناطق هي: ٢ ، ٣، ٤ يليها شفرة البدء للجين E (الشكل ٤-١٠). تعتمد حركة الرايبوسوم والنسخ على توفر التربتوفان الذي يسيطر على استمرار حركة الرايبوسوم من عدمها. تتشكل المناطق ١ ، ٢ ، ٣، ٤ في الرنا المرسال وذلك بتكامل قواعدها النيتروجينية لتعطي أشكالاً ثانوية Secondary structures مختلفة تكون تراكيب تشبه الثنيات Stem-loop structures أو دبوس الشعر Hairpin حسب موضع الرايبوسوم وتأثيره وتوفر التربتوفان، حيث يسيطر توفر التربتوفان أو غيابه على استمرار حركة الرايبوسوم من عدمها. كما أن المبطئ يتحكم في نسخ أوبيرون التربتوفان بعد بداية النسخ. الجدير بالذكر أن منطقة القائد *trpL* تقع قبل بداية المنطقة المشفرة للجين الأول من جينات أوبيرون التربتوفان *trpE* gene. (الشكل ٤-١١).



(الشكل ٤-١٠): يوضح التركيب الجزيئي لمنطقة القائد (L)



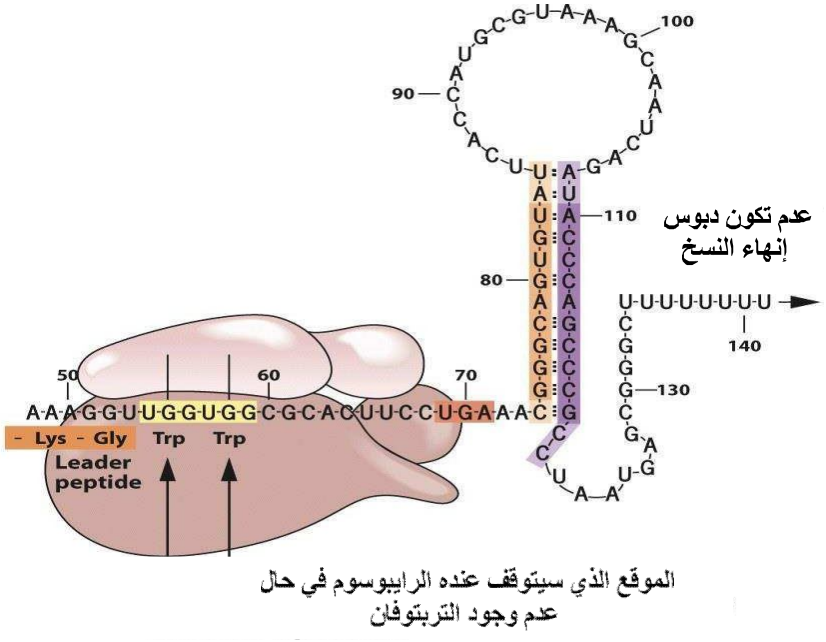
(الشكل ٤-١١): يوضح الأشكال الثانوية للرنا المرسال في منطقة القائد التي تتشكل بالاعتماد على موضع الرايبوسوم

لفهم الشفرة الوراثية وبناء البروتين لا بد من تذكر أن جزيئات الرنا الناقل tRNA تقوم أثناء عملية الترجمة بنقل الحمض الأميني (التربتوفان) إلى موضعه

الصحيح في سلسلة عديد الببتيد. عندما تصل الرايبوسومات إلى مكان الشفرة الخاصة بذلك الحمض الأميني على جزيء الرنا المرسال ترتبط الأحماض الأمينية مع جزيئات الرنا الناقل بروابط قوية، حيث تتفاعل مجموعة الكربوكسيل COOH في الحمض الأميني مع مجموعة الهيدروكسيل OH في الطرف '3 لجزيء الرنا الناقل، لينتج المركب النشط Amenoacyl-tRNA. في حالة التربتوفان مثلاً يتكون المركب النشط Tryptophanyl-tRNA، وهذا يعني أن الحمض الأميني تربتوفان ارتبط مع الرنا الناقل الخاص به وأصبح هذا المركب جاهزًا للانتقال إلى مكان الرايبوسوم. أما في حالة غياب التربتوفان فإن هذا المركب لن يتكون، وبالتالي سيتوقف الرايبوسوم وتتوقف عملية الترجمة عند شفرة التربتوفان (Sharm and Gollnick, 2014).

أولاً: عند غياب التربتوفان:

بعد نسخ شفرتي التربتوفان فإن ترجمتهما إلى الحمض الأميني تربتوفان ستتوقف عند المنطقة (١) لأن التربتوفان غير متوفر في بيئة النمو وبالتالي سيتوقف نمو سلسلة عديد الببتيد. في هذه الحالة يتوقف الرايبوسوم ويغطي جزءاً من منطقة (١)، ولهذا فإن الشكل الثانوي أو دبوس الشعر ١-٢ لن يتكون لأن منطقة ١ مغطاة بالرايبوسوم. بمجرد نسخ منطقة ٣ فإنها سترتبط مع منطقة ٢ الحرة ويتشكل الدبوس ٢-٣ المضاد لإنهاء النسخ Anti-terminator. ولأن منطقة ٣ ارتبطت مع منطقة ٢ فإن الدبوس ٣-٤ لن يتكون، لأن ٣ أصبح مرتبطاً مع ٢. بعد نسخ منطقة ٤ سيتمكن إنزيم بلمرة الرنا من إكمال عملية النسخ لمنطقة المبطئ، والبدء في نسخ الجينات التركيبية *trpE-A* genes المسؤولة عن بناء Biosynthesis التربتوفان (الشكل ٤-١٢).



(الشكل ٤-١٢): يوضح آلية عمل أوبيرون التربتوفان عند انخفاض تركيز التربتوفان وتقدم عملية النسخ لتشمل الجينات التركيبية

ثانياً: عند توفر التربتوفان:

يُنظم التعبير الجيني لأوبيرون التربتوفان عند توفره في بيئة النمو بآليتي كبت وإبطاء عملية بدء النسخ. وهذا يعتمد على عاملين أساسيين هما :

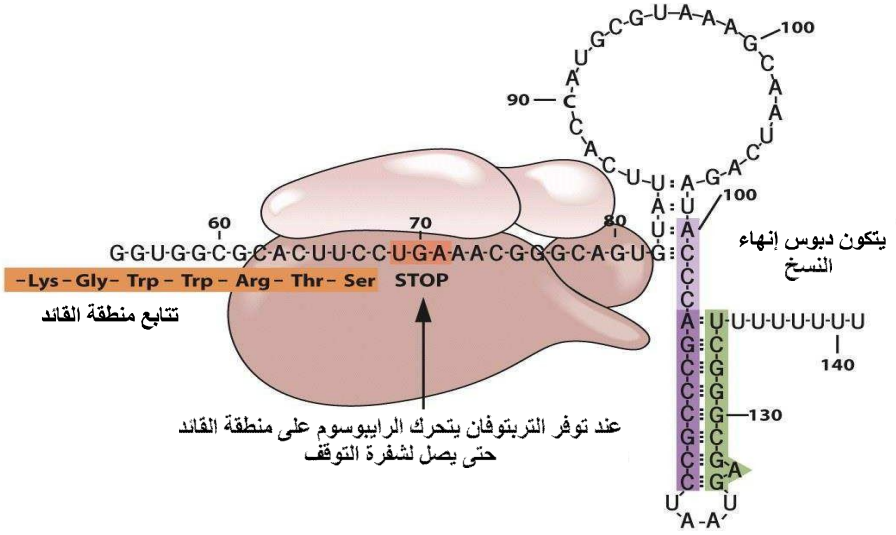
١. مستوى التربتوفان في الخلية.

٢. موقع الرايبوسوم في منطة القائد.

عند توفر التربتوفان فإن الرايبوسوم يمكنه أن يترجم شفرتي التربتوفان ويستمر في الترجمة حتى يصل إلى شفرة التوقف في منطقة القائد. في هذه الحالة فإن الرايبوسوم يغطى جزءاً من المنطقة (٢) من الرنا ولهذا فإن منطقة (٢) لن

تستطيع الارتباط مع منطقة (٣) ، وعليه يمكن لمنطقة (٣) الارتباط مع منطقة (٤) ليتشكل الدبوس ٣-٤ ، الذي يوقف عملية النسخ Transcriptional terminator loop، أي يتوقف النسخ قبل نسخ الجينات التركيبية وينفصل إنزيم بلمرة الرنا RNA poly عن شريط الدنا القالب (الشكل ٤-١٣).

تسمى منطقة ٤ بالمنهي Attenuator، لأنها تقلل أو تبطئ نسخ الرنا المرسال mRNA عند توفر التربتوفان بتركيز عالٍ، كما أن وجود التربتوفان في الخلية بتركيز منخفض يجعل عملية نسخ منطقة ١ بطيئة. يستنتج مما سبق أن الإشارة المسيطرة على عملية الإبطاء هي مستوى التربتوفان في الخلية، حيث إن هذا المستوى يحدد أين سيتوقف الرايبوسوم على رنا القائد، إما عند شفرتي التربتوفان أو عند شفرة الإيقاف.



(الشكل ٤-١٣): يوضح آلية عمل أوبيرون التربتوفان عند وجوده بتركيز عالٍ وتوقف عملية النسخ عند تتابع منطقة القائد

يلاحظ أن عمل الأوبيرونات القابلة للحث أو القابلة للكبت ما هي إلا تكيفات لتقليل صرف الطاقة اللازمة لتصنيع البروتينات الخلوية المختلفة. فعملية صنع البروتينات تستهلك طاقة خلوية عالية، ولذلك توجه الخلية بصنع البروتينات الضرورية فقط وفي الوقت المناسب الذي تحكمه الظروف المحيطة. فقد وجد أن الجينات الطافرة المرتبطة بأوبيرون اللاكتوز تنسخ الجينات التركيبية في وجود وغياب اللاكتوز وتصرف طاقة عالية بدون فائدة، بعكس ما يحدث في الطراز البري غير الطافر الذي ينسخ الجينات التركيبية في وجود اللاكتوز فقط.

يمكن إيجاز أهم الفروقات بين أوبيرون اللاكتوز و أوبيرون التربتوفان في (الجدول ٣).

(الجدول رقم ٤-١): يوضح أهم الفروقات بين أوبيرون اللاكتوز و أوبيرون التربتوفان

أوبيرون اللاكتوز	أوبيرون التربتوفان
قابل للاستحثاث	قابل للكبت
مرتبط بعملية الهدم الأيضي	مرتبط بعملية البناء الأيضي
الجين الكابت مجاور للمحفز	الجين الكابت يوجد بعيداً عن المحفز
المشغل مجاور للمحفز	المشغل يوجد داخل المحفز
الأبيرون عادة لا يعمل (مغلق)	الأبيرون عادة يعمل (مفتوح)

الفصل الخامس
تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النواة
Gene expression in eukaryotes

تُنَظّم عملية التعبير الجيني في حقيقيات النواة على عدة مستويات سيتم توضحيها لاحقًا، إلا أن عملية النسخ هي الأكثر أهمية وتأثيرًا. يتم تنظيم عملية النسخ في جينات الكائنات حقيقية النواة من خلال التفاعل بين بروتينات متخصصة وتتابعات دنا DNA sequences محددة داخل الجين أو خارجه، وقد تكون في بعض الأحيان بعيدة عن الجين كالمعززات مثلاً.

التركيب العام لجينات حقيقيات النواة General structure of eukaryotic genes:

تتكون جينات الكائنات حقيقيات النواة بشكل عام من تتابعات الإكسونات والإنترونات. تتابعات الإكسونات فقط تترجم إلى سلسلة من عديد الببتيد. أما العناصر التي تتحكم في نسخ الجينات والتعبير الجيني لحقيقيات النواة فتنقسم إلى نوعين هما: عناصر نسخ ثابتة (تتابعات عمل تقارنية) Cis–acting factors وهي عبارة عن تتابعات دنا (DNA sequences)، وعناصر نسخ عبورية أو متحركة Trans-acting factors وهي عبارة عن بروتينات (Proteins).

أولاً: عناصر النسخ الثابتة أو التقارنية Cis–acting factors:

عناصر النسخ الثابتة عبارة عن تتابعات من الدنا تنتشر داخل الجينوم إما في المناطق المشفرة أو غير المشفرة. تصنف عناصر النسخ الثابتة من حيث موقعها إلى عناصر نسخ قريبة Proximal وعناصر نسخ بعيدة Distal من الجين وتتحكم معًا

في تنظيم التعبير الجيني. كما تلعب الوراثة اللاجينية Epigenetic دورًا مهمًا في فعالية هذه العناصر (انظر الفصل الثامن).

تنقسم عناصر النسخ الثابتة إلى عدة أنواع هي:

المحفزات Promoters:

المحفزات تتابعات نيوكليوتيدية ثابتة أو تقارنية بمعنى أنها تقترن أو ترتبط بعناصر النسخ البروتينية المتحركة. تقع المحفزات بالقرب من نقطة بداية نسخ Initiation point of transcription عند الطرف 5' للجين التركيبي. ترتبط إنزيمات البلمرة RNA polys بالمحفز (الشكل ٥-١). تتابع المحفز في الخلايا حقيقية النواة أعقد وأكثر تباينًا مقارنة بالخلايا بدائية النواة. يمكن إيجاز أهم الاختلافات الجوهرية بين النوعين فيما يلي:

أ - يلعب عامل سيجما دورًا محوريًا في تحديد بدء عملية النسخ في الخلايا بدائية النواة وهذا العامل جزء من إنزيم بلمرة الرنا فيها، بينما تقوم عوامل النسخ وليس إنزيم البلمرة بتحديد عملية النسخ في الخلايا حقيقية النواة.

ب - يحتل المحفز موقعاً قريباً من بداية منطقة النسخ للجين الذي يقوم بتنظيمه في الخلايا بدائية النواة، بينما قد يكون أبعد في الخلايا حقيقية النواة.

ج - يوجد تباين كبير بين محفزات الخلايا حقيقية النواة مقارنة بالخلايا بدائية النواة، وربما يفسر ذلك وجود ثلاثة أنواع على الأقل من إنزيمات البلمرة في حقيقيات النواة.

صندوق تاتا TATA box:

صندوق تاتا عبارة عن تتابع قصير يتكرر فيه الثايمين والأدنين بشكل كبير. يقوم تتابع تاتا بتوجيه إنزيم البلمرة RNA poly II ليبدأ النسخ من مسافة تبعد ما بين ٢٠- ٣٠ زوجاً قاعدياً من نقطة بداية النسخ على يمين الجين Upstream في

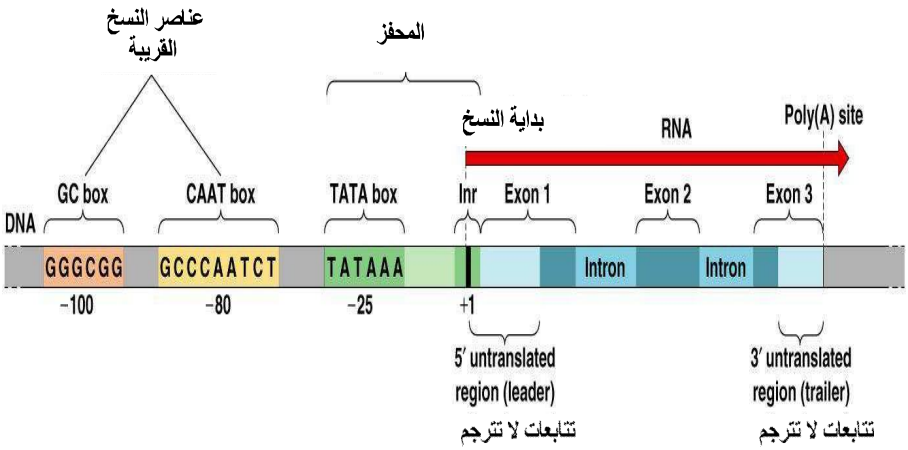
الثدييات، وعلى بعد حوال ٦٠ زوجاً قاعدياً في الخميرة Yeast (الشكل ٥-١). قد تتغير هذه المسافة من جين لآخر ومن كائن لآخر (Wong and Bateman, 1994). تعتبر تتابعات صندوق تاتا بمثابة الموقع الذي يرتبط به عامل النسخ العام Trans factor-IID (TFIID) بمساعدة بروتين الارتباط TATA-binding protein (TBP) وإنزيم البلمرة، في حال غياب هذا الصندوق تصبح نقطة بدء النسخ غير محددة، إلا أن لإنزيم البلمرة القدرة على الارتباط بتتابعات بديلة داخل المحفز. يوجد صندوق تاتا في حوالي ٣٠٪ من الجينات ويعتقد أن هناك عناصر نسخ داخل منطقة المحفز لم تكتشف بعد (Suzuki *et al*., 2001).

صندوق كات CCAAT box:

يقع صندوق كات بالقرب من المحفز، حيث يبعد ما بين ٨٠- ١٠٠ زوج قاعدي من نقطة بدء النسخ (الشكل ٥-١).

القطعة الغنية بتتابعات الجوانين والسيتوسين GC-rich segment:

تقع القطعة الغنية بتتابعات الجوانين والسيتوسين يمين نقطة بداية النسخ بعد صندوق الكات ويبلغ طولها ما بين ٥٠٠-٢٠٠٠ زوج قاعدي، توجد هذه القطعة مع حوالي ٦٠٪ من المحفزات عند الإنسان (Smale and Kadonaga, 2003). يطلق على صندوق الكات والقطعة الغنية بـ GC بعناصر النسخ القريبة من المحفز Promoter & Proximal elements، وهي تتابعات تتكرر ما بين ١٠٠- ٢٠٠ مرة. تتباين أعداد ومواقع هذين العنصرين بين الجينات المختلفة (الشكل ٥-١). لوحظ أن أي تغيير في قواعد صندوق التاتا أو صندوق الكات أو القطعة الغنية بـ GC يؤدي إلى خفض معدل النسخ. يتم التعرف على المحفز والمناطق القريبة بواسطة عناصر بروتينية متحركة تتيح لإنزيم بلمرة RNA poly II البدء بعملية النسخ.



(الشكل ٥-١): يوضح التركيب العام للجين في حقيقيات النواة مع عناصر النسخ القريبة

المعززات Enhancers:

المعززات عبارة عن تتابعات نيوكليوتيدية تقع على مسافات بعيدة جدًا من نقطة بداية النسخ (الشكل ٥-٢)، وتزيد من نشاط المحفز ومعدل النسخ، كما يحدث في خلايا معينة أثناء عملية النمو وتغير الظروف البيئية وغيرها من الحالات. يبلغ متوسط حجم المعززات ما بين ٥٠-١٥٠٠ زوج قاعدي. هناك عدة آليات مختلفة تفسر طريقة عمل المعززات من أشهرها عملية الالتفاف Looping والاتصال مع إنزيم الرنا المبلمر في منطقة المحفز (Lamond and Earnshaw, 1998).

خصائص المعززات:

أ - التنظيم الإيجابي لعملية النسخ في حقيقيات النواة، حيث تزيد من معدل النسخ بشكل كبير.

ب - يتم التعرف على المعززات بواسطة عناصر متحركة (بروتينات) متخصصة.

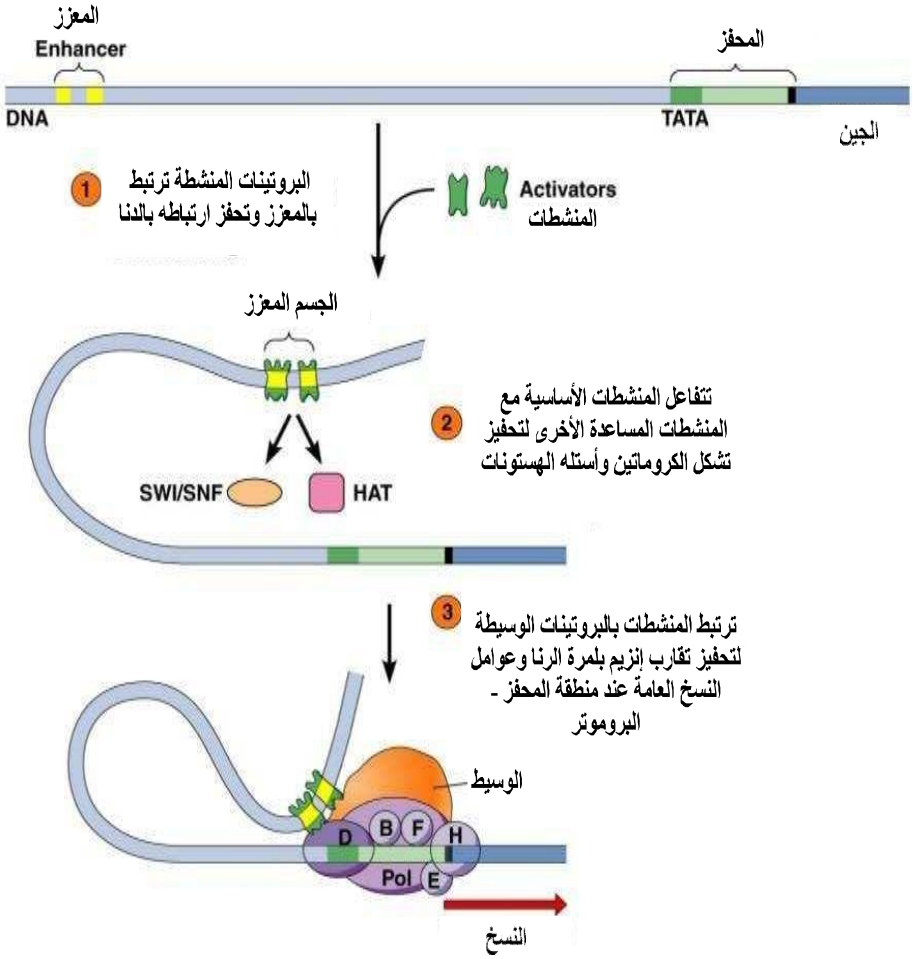
ج - يمكن للمعززات أن تعمل من بعد وعلى مسافات كبيرة قد تصل إلى ٥٠ كيلو قاعدة (50Kb).

د - تعمل المعززات يسار Downstream أو يمين Upstream الجين.

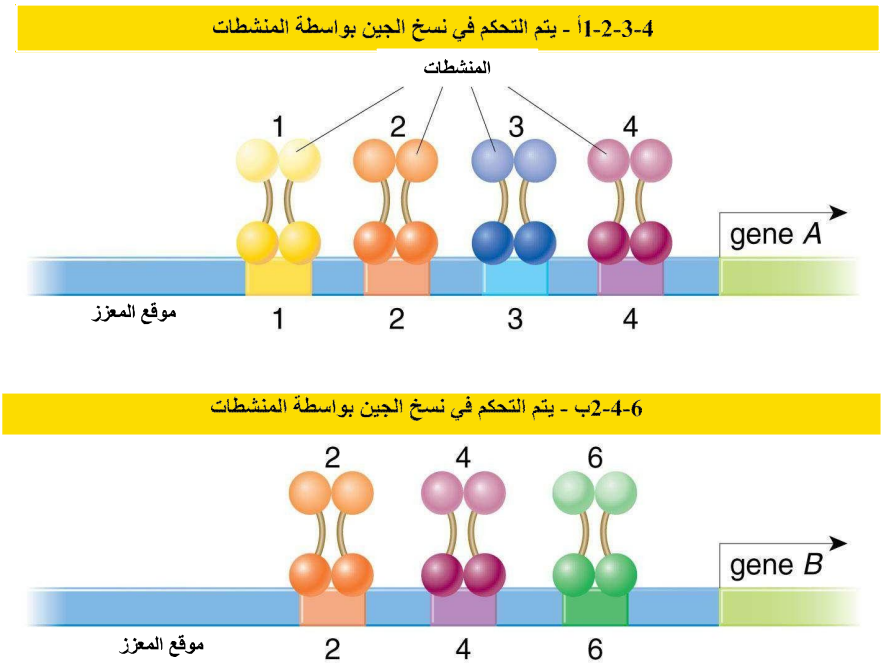
هـ- تنشط بعض المعززات تحت تأثير الهرمونات.

و - تمتاز المعززات بخاصية مهمة وهي أن بعضها يكون متخصصاً نسيجياً Tissue- specific، أي يؤثر في أنواع معنية من الخلايا أو الأنسجة ولا يعمل في أنواع أخرى.

تحتوي بعض الأنسجة على عوامل نسخ خاصة مثل: المعززات، المثبطات، المنشطات، التي تحدد مستوى نسخ وتعبير جينات محددة داخل تلك الأنسجة، ولا توجد تلك العوامل في أنسجة أخرى، بل قد يوجد عوامل نسخ مختلفة (الشكل ٥-٣). على سبيل المثال: الجينات المسؤولة عن تصنيع الأجسام المضادة محاطة بمعززات قوية تعمل فقط في الخلايا البائية B-cells، وهي نوع من خلايا الجهاز المناعي، كما أن بعض المعززات متخصصة للاستجابة للمؤثرات الخارجية مثل: جينات الصدمة الحرارية Heat shock genes التي تنشط بعد التعرض لحرارة عالية أو ظروف بيئية قاسية ونحوها (القحطاني، ٢٠١٨).



(الشكل ٥-٢): يوضح تأثير المعززات



(الشكل ٥-٣): يوضح تأثير المنشطات والمثبطات في تنظيم التعبير الجيني

المسكتات (المصمتات) Silencers:

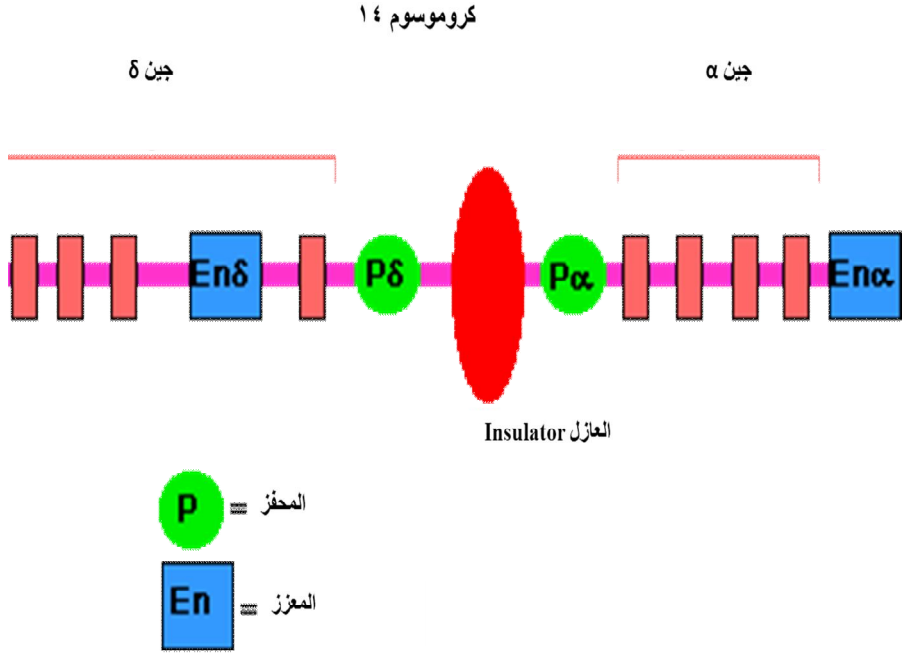
المسكتات عبارة عن تتابعات من الدنا تنظم عملية النسخ في حقيقيات النواة بشكل سلبي، وتسمى بعناصر النسخ البعيدة Distal control elements. ارتباط عوامل النسخ الأخرى بهذه التتابعات يكبت أو يثبط نسخ الجينات المستهدفة، لذلك تسمى عوامل النسخ البروتينية التي ترتبط بهذه التتابعات بالمثبطات. يمكن للمسكتات كذلك أن تعمل يسار أو يمين الجين الذي يقوم المصمت بتثبيطه، فهي تعمل عكس عمل المعززات. الجدير بالذكر أن المعززات والمصمتات تعمل بشكل مستقل عن بعضها البعض وتحتل مواقع مختلفة، كما يمكن أن ترتبط بعناصر النسخ وتعمل بعيدًا عن منطقة المحفز (Harris *et al.*, 2005). عندما تكون

المعززات أو المصمتات بعيدة عن المحفز وعوامل النسخ الأخرى، فإنها تتحرك نحوها وتلتف من خلال عملية حيوية مهمة تسمى بعملية الالتفاف DNA looping وهي عملية دقيقة للغاية. هذا الالتفاف أو التقارب يسمح بتلامس المعززات أو المصمتات مع عوامل النسخ وإنزيم البلمرة (الشكل ٥- ٥). تخضع آلية الالتفاف لتغيرات الكروماتين Chromatin remodeling وهي عملية حيوية أخرى في غاية الأهمية وقد وضحت بنوع من التفصيل في نهاية هذا الفصل. من المعروف أن دنا الكائنات حقيقية النواة يلتف بمستويات تركيبية مختلفة ومتتابعة تبدأ بتكوين ما يسمى بالجسم النووي Nucleosome الذي يؤدي دوراً مهماً في عملية نسخ الجينات. تحدث عدة تغيرات للكروماتين تؤدي في مجملها إلى إزالة الالتفاف أو التغلظ في مناطق محددة. تتم تغيرات الكروماتين من خلال أحداث أخرى كالتغيرات في حالة الميثلة Methylation والأستلة Acetylation وغيرها. إن الطبيعة الحركية للكروماتين والتحول من الحالة المتغلظة أو الملتفة إلى الحالة غير المتغلظة أو المرتخية والعكس مهمة جدًا في تنظيم التعبير الجيني (Hoppe and Francone, 1998).

العوازل Insulators:

العوازل عبارة عن تتابعات دنا يبلغ حجمها ٥٠٠-٣٠٠٠ زوج قاعدي، ولديها القدرة على حماية وعزل الجينات من إشارات النسخ التي قد تصل إليها من الجينات المجاورة، مما قد يؤدي إلى تحفيز أو حدوث عملية نسخ خاطئة. تعمل العوازل على إيقاف تنشيط المحفزات من قبل معززات جينات أخرى، ولكي ينجح العازل في أداء وظيفته لا بد أن يحتل موقعًا مناسبًا بين محفز الجين المستهدف ومعزز الجين المجاور وليس في مكان آخر (الشكل ٥-٤) (Adam *et al.*, 2002; Zhao and Dean, 2004). لذلك فالعوازل تمنع عملية التشويش التي قد تسببها

العوامل المنشطة لجينات أخرى خصوصًا الجينات القريبة وذلك من خلال الحد من تأثير المعززات، كما تمنع ارتخاء الكروماتين في المناطق المجاورة حتى لا يكون مهيأ لأي نشاط جيني قريب. يوجد تشابه بين العوازل والمحفزات في طريقة ارتباطها بعوامل نسخ محددة والتمركز في مناطق كروماتينية معينة داخل النواة. إن معرفة وظيفة العوازل مهمة لفهم التنظيم الجيني بشكل أدق، كما بينت الدراسة التي أجريت على عوازل أحد الجينات في ذبابة الفاكهة حدوث التواء في الدنا تحت تأثير العازل وهذا الالتواء يمكن العازل من أداء مهمته بشكل أدق (Oksana *et al.*, 2008; Jesse and Rohinton, 2010; Ulianov *et al.*, 2012).



(الشكل ٥-٤): يوضح موقع العازل الذي يفصل بين الجينات المتجاورة

ثانيًا: عناصر النسخ المتحركة أو العبورية Trans-acting factors (TAFs):

لتنظيم عملية النسخ لا بد أن تتعرف عناصر النسخ المتحركة على تتابعات دنا محددة (عناصر نسخ ثابتة) وترتبط بها لتنشيط أو تثبيط عملية النسخ. يمكن لعناصر النسخ المتحركة أن تنظم عمل جين واحد أو عدة جينات في آن واحد (Venter *et al.*, 2001). تم التعرف على عناصر النسخ المتحركة في الخلايا حقيقيات النواة وتشمل عدداً كبيراً من عناصر النسخ البروتينية، بعض هذه العناصر يرتبط بالمعزز والبعض الآخر يرتبط مع عناصر مرتبطة بالمحفز Promoter وليس بالمحفز ذاته.

فيما يلي أهم عناصر النسخ المتحركة في حقيقيات النواة:

إنزيم بلمرة الرنا RNA polymerase-II:

أشير في الفصل الأول إلى أهم ثلاث مراحل في عملية النسخ وهي: بدء عملية النسخ، الاستطالة، وإنهاء النسخ. كما تم كذلك في الفصل الأول الإشارة باختصار إلى الأحداث الأساسية في عملية النسخ. في هذا الفصل سوف يتم توضيح تفاصيل أدق عن عملية النسخ وما يليها من عمليات حيوية تعتبر جزءاً أساسياً في تنظيم التعبير الجيني في حقيقيات النواة.

ترتبط عناصر النسخ المتحركة بإنزيم بلمرة الرنا RNA pol-II في منطقة المحفز ليتكون معقد ما قبل بدء النسخ Pre-initiation complex (PIC). هذا المعقد يؤدي دوراً محورياً في عملية النسخ وتوجيهها بالطريقة الصحية.

عناصر النسخ الأساسية/العامة Basal/general transcription factors:

يتطلب بناء معقد ما قبل بدء النسخ PIC اتحاد عناصر النسخ الأساسية مع إنزيم بلمرة الرنا RNA pol-II، بحيث ترتبط هذه العناصر بشكل متعاقب واحدًا

تلو الآخر. تحتوي عناصر النسخ المتحركة على مناطق مهمة وظيفيًا تسمى بالحقول Domains، حيث يحتوي كل عامل نسخ على حقلين: أحدهما يرتبط بالدنا DNA-binding domain والآخر يرتبط بجزيء مؤثر آخر وينشطه Activation domain. يرمز لعناصر النسخ المتحركة بالرمز Trans factor II (TFII) ثم يضاف له حرف آخر يدل على أحد عناصر النسخ. عنصر النسخ TFIID عبارة عن بروتين مكون من جزئين أحدهما سفلي صغير Small subunit يرتبط بصندوق التاتا للجين المستهدف ويسمى TATA-binding protein (TBP) ، والآخر علوي كبير Large subunit يرتبط بعناصر النسخ الأخرى (TAFs). أثبتت الدراسات أن تكون معقد بدء النسخ يتكون بالترتيب التالي:

١. ارتباط TFIID مع المحفز أو صندوق التاتا داخل المحفز.
٢. ارتباط عنصر النسخ الثاني TFIIA مع TFIID.
٣. ارتباط عنصر النسخ الثالث TFIIB مع TFIIA.
٤. ارتباط إنزيم بلمرة الرنا مع المحفز.
٥. ارتباط عنصر النسخ الرابع TFIIF مع TFIIB.
٦. ارتباط عنصر النسخ الخامس TFIIE مع TFIIF.
٧. ارتباط عنصر النسخ السادس TFIIH مع TFIIE.
٨. ارتباط عنصر النسخ السابع TFIIJ مع TFIIH.

وبهذا يكتمل بناء معقد بدء النسخ المتكون من عناصر النسخ المتحركة وإنزيم بلمرة RNA poly-II (الشكل ٥-٥). لكل من عوامل النسخ المتحركة العامة دور محدد في تنظيم عملية النسخ، التعبير الجيني، تحديد منطقة بدء النسخ، تغيير معدل النسخ، التفاعل مع المنشطات، ثبات واستقرار الرنا المبلمر (Lee and Young, 2000). يبين (الجدول ٣-١) أهم وظائف عوامل النسخ المتحركة العامة.

جدول (٣-١): عناصر النسخ العامة وأهم وظائفها

عنصر النسخ TFII	الوظائف
TFIID	• يرتبط بصندوق تاتا أو بأي تتابع داخل المحفز في عدم وجود صندوق تاتا. • يقوم بتنشيط عملية النسخ.
TFIIA	• يرتبط مع TBP ويعمل على ثبات واستقرار ارتباط TBP بالدنا TBP-DNA interaction. • يتفاعل مع TFIID ويحفز ارتباطه بالدنا. • يساهم في تنشيط عملية النسخ من خلال ارتباطه بمنشطات النسخ.
TFIIB	• يتفاعل مع TFIID وإنزيم الرنا المبلمر ويحدد منطقة بدء النسخ. • يرتبط جزئيًا بتتابعات تاتا وينشط عملية النسخ.
TFIIF	• يرتبط بإحكام مع إنزيم الرنا المبلمر ويحفز ارتباطه بتتابعات الدنا المحددة داخل منطقة المحفز فقط، مما يساهم في ثبات واستقرار وبناء معقد ما قبل بدء النسخ PIC. • يرتبط جزئيًا بتتابعات تاتا وينشط عملية النسخ.
TFIIE	• بعدما يتكون معقد PIC يرتبط TFIIE مباشرة بتتابعات الدنا قبل بداية منطقة النسخ. • يحفز عنصر النسخ TFIIH وينشط إنزيم فك حلزنة الدنا DNA helicase.
TFIIH	• ينشط إنزيم فك حلزنة الدنا وتكوين فقاعة النسخ. • يحفز فسفرة إنزيم البلمرة أثناء استطالة عملية النسخ.
TFIIJ	• يشترك هذا العنصر مع TFIIA في بعض أدواره، إلا أن دوره المحوري مازال غير واضح تماماً.

قد يرتبط مثبط ما بالمعقد المتكون (Promoter–TFIID) ، مما يمنع ارتباط عناصر النسخ الأخرى، وبالتالي منع عملية النسخ. إلا أن ارتباط TFIIA بمقعد (TFIID-Promoter) يمنع ارتباط المثبط.

فيما يتعلق بصندوق CCAAT تم التعرف على العديد من عناصر النسخ المتحركة التي ترتبط بصندوق CCAAT في خلايا الثدييات. كما تم التعرف على عناصر نسخ متحركة ترتبط بالمنطقة الغنية بتتابعات GC. درست العناصر التي ترتبط بصندوق التاتا في كل من الدوروسوفيلا والخميرة بشكل مستفيض. الجينات التي تفتقر لصندوق التاتا تستخدم عناصر أو تتابعات بديلة داخل منطقة المحفز للارتباط بإنزيم البلمرة أو للارتباط بعناصر النسخ.

المنشطات والمثبطات المساعدة Co-activators and co-repressors:

تعتبر المنشطات والمثبطات المساعدة من عوامل النسخ المتحركة التي تؤدي دورًا مهماً في تنظيم التعبير الجيني، ورغم أن هذه المنشطات أو المثبطات المشاركة لا ترتبط مباشرة بالجين، إلا أنها ترتبط بعوامل النسخ البعيدة كالمعززات أو المصمتات أو عناصر النسخ المتحركة وتمارس عملها (الشكل ٥-٥). تعمل المنشطات المساعدة على تنشيط عملية النسخ من خلال التأثير على البروتينات الهستونية أو الدنا أو تشكل الكروماتين وغير ذلك من التأثيرات المنشطة للتعبير الجيني، بينما تعمل المثبطات المساعدة عكس عمل المنشطات المساعدة.

العوامل الوسيطة (الوسائط) Mediators:

تتألف الوسائط من مجموعة بروتينات مرتبطة مع بعضها البعض على شكل معقد بروتيني، وتقوم بعمل مشابه لعمل المنشطات، بل إن بعض الباحثين يعتبرها نوعاً آخر من المنشطات، فهي تتفاعل مع المحفز وتنظم عملية النسخ من

خلال المساعدة على نقل الإشارات المنشطة لعملية النسخ من الجزيئات المشاركة في تنظيم التعبير الجيني إلى منطقة المحفز (الشكل ٥- ٥). تتوافد وتتقارب عوامل النسخ المختلفة في مكان محدد لتبدأ العمل (Myers and Kornberg, 2000).

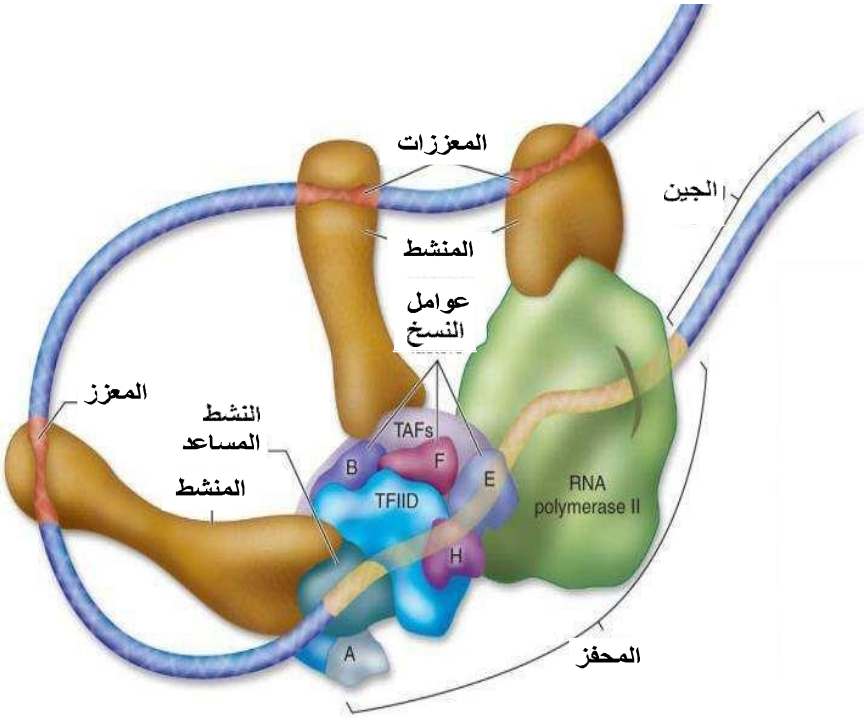
عوامل النسخ الخاصة Specific transcription factors:

يوجد بالإضافة إلى عوامل النسخ العامة عوامل نسخ خاصة ترتبط بتتابعات عوامل النسخ الثابتة أو تتابعات محددة مثل: تتابعات المحفز أو المعزز أو المصمت. تمارس عوامل النسخ الخاصة نشاطها على تلك التتابعات المهمة إما بتنشيطها أو تثبيطها وبمعدلات عالية جدًا في معظم الأحيان، وهذا التأثير هو جزء من آلية تنظيم التعبير الجيني.

تصنف عوامل النسخ الثابتة (تتابعات الدنا) وعوامل النسخ المتحركة (البروتينات) التي تتحكم في التعبير الجيني إلى:

أ - عوامل نسخ أساسية وهي البروتينات التي ترتبط بتتابعات دنا محددة داخل منطقة المحفز وتعمل على تسهيل ارتباط إنزيم البلمرة.

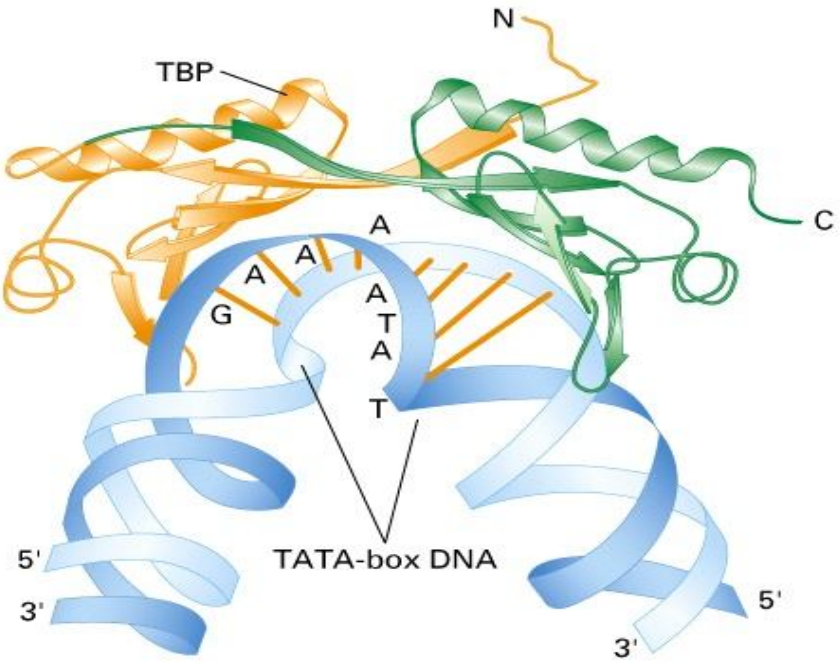
ب - عوامل نسخ خاصة وهي بروتينات ترتبط بالمعززات وتسهل عمل النوع الأول، كما تزيد من معدل عملية النسخ.



(الشكل ٥-٥): يوضح مراحل تكون معقد ما قبل بدء النسخ PIC المنشطات: ترتبط هذه البروتينات المنظمة بتتابعات دنا بعيدة عن الجين المستهدف تسمى بالمعززات والتي بدورها تقترب من PIC وعناصر النسخ القريبة من خلال التفاف الدنا فتتفاعل مع PIC وتزيد من معدل النسخ. عوامل النسخ المساعدة للمنشطات: تقوم بعمل الوسيط الذي ينقل الإشارة من البروتينات المنشطة إلى عوامل النسخ العامة. عوامل النسخ العامة: تقوم عوامل النسخ العامة بوضع إنزيم البلمرة على تتابعات الدنا المشفرة وتسمح له ببدء النسخ

تمت الإشارة مسبقًا إلى أن عناصر النسخ المتحركة (البروتينية) تحتوي على مناطق مهمة وظيفيًا تسمى بالحقول، يحتوي كل عامل نسخ على حقلين: أحدهما للارتباط بالدنا والآخر حقل منشط يرتبط بجزيء مؤثر آخر ينشط عملية النسخ. الطرف المنتهي بمجموعة الأمين N-terminal يرتبط بالدنا، بينما الطرف

المنتهي بمجموعة الكربوكسيل C-terminal يرتبط بالجزيء المنشط لعملية النسخ في تتابعات الدنا الواقعة في منطقة الميزاب Groove (الشكل ٥- ٦).



(الشكل ٥-٦): يوضح ارتباط عوامل النسخ المتحركة TBP بالدنا من جانب وبعوامل النسخ الأخرى من جانب آخر

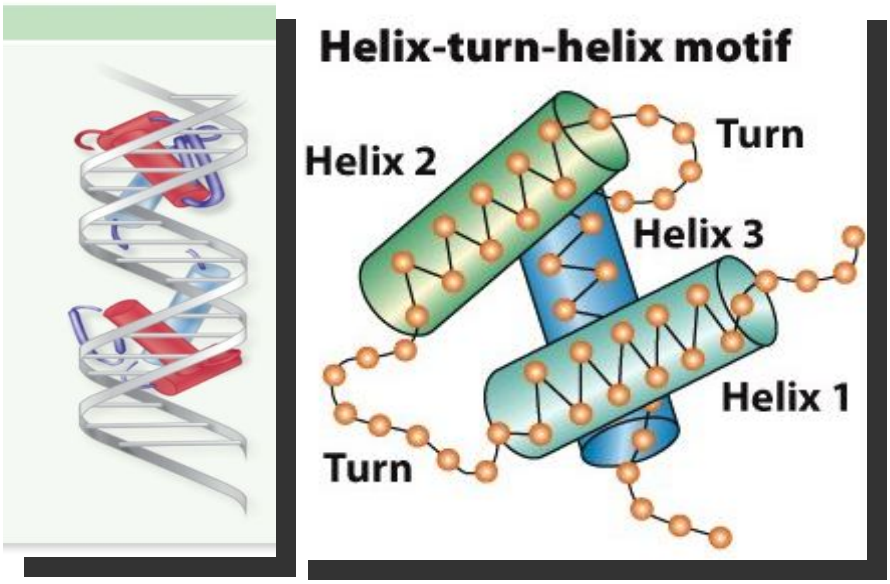
يتكون البناء أو التركيب الثانوي Secondary structure للبروتين ثلاثي الأبعاد من خلال تكون التركيب الذري للروابط الهيدروجينية. من الأشكال الشائعة للبروتين على سبيل المثال الشكل الحلزوني ألفا Alpha helix (α-helix).

حقول الارتباط بالدنا DNA-binding motifs:

توجد الحقول الخاصة للارتباط بالدنا DNA-binding motifs في حقيقيات النواة على عدة أشكال وفيما يلي بعض من هذه الأشكال:

١- حقل حلزون – لفة – حلزون Helix-turn-helix motif:

تتكون الحقول في هذا الطراز من ثلاثة حلزونات ألفا α helices 3. الحلزون رقم ٣ هو الذي يرتبط مع الدنا في منطقة الميزاب الكبير Major groove، أما الحلزونان ١ و ٢ فيرتبطان مع بروتينات أخرى. يوجد بين الحلزونين ١ و ٢ لفة غير حلزونية Non- helix ومن هنا جاءت تسميته حلزون – لفة – حلزون (الشكل ٥-٧). توجد هذه الحقول في مئات البروتينات التي ترتبط بالدنا مثل بروتين تنشيط الهدم CAP في بدائية النواة (Richard and Brian 1989).

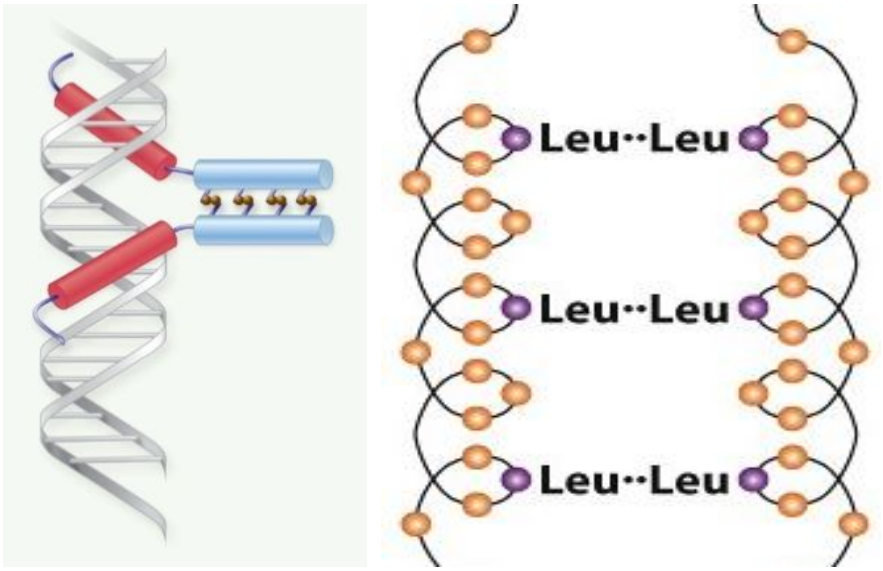


(الشكل ٥-٧): يوضح الشكل العام للحقل حلزون - لفة - حلزون أثناء ارتباط عوامل النسخ المتحركة بالدنا في حقيقيات النواة

٢- حقل سوستة الليوسين Leucine zipper motif:

تتكون سوستة الليوسين من ببتيدتين لكل منهما لولب ألفا واحد helices 1α. يرتبط هذان اللولبان معًا بواسطة الحمض الأميني الليوسين ويفصل بينها ٧

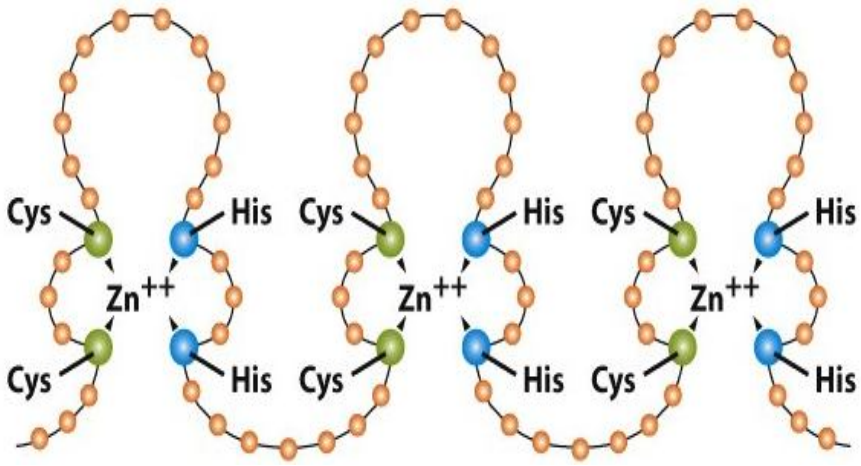
أحماض أمينية. يطلق على هذه الثنائيات كلمة سوستة Zipper، يلي هذه السوستة الشق الذي يرتبط بالـدنا والذي يحتوى على الكثير من الأحماض الأمينية اللايسين والأرجينين الموجبة الشحنة (الشكل ٥-٨).



(الشكل ٥-٨): يوضح الشكل العام لحقل سوستة الليوسين أثناء ارتباط عوامل النسخ المتحركة بالدنا في حقيقيات النواة

٣- حقل أصابع الزنك Zinc finger motif:

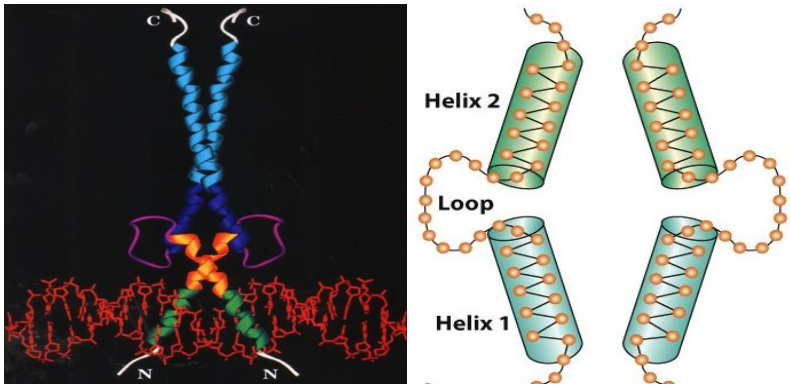
لحقل أصابع الزنك تتابعات متكررة من الحمضين الأمينيين السيستين Cycteine (C) والهستيدين Histidine (H) التي ترتبط مع أيونات الزنك (Zn). ينثني هذا الحقل إلى تراكيب ملتوية تشبه الأصابع ترتبط بالدنا ومن هنا جاءت التسمية (الشكل٥-٩). توجد مثل هذه الحقول في مستقبلات الهرمونات الاستيرويدية.



(الشكل ٥-٩): يوضح الشكل العام لحقل أصابع الزنك أثناء ارتباط عوامل النسخ المتحركة بالدنا في حقيقيات النواة

٤- حقل حلزون - لولب - حلزون Helix-loop-helix motif:

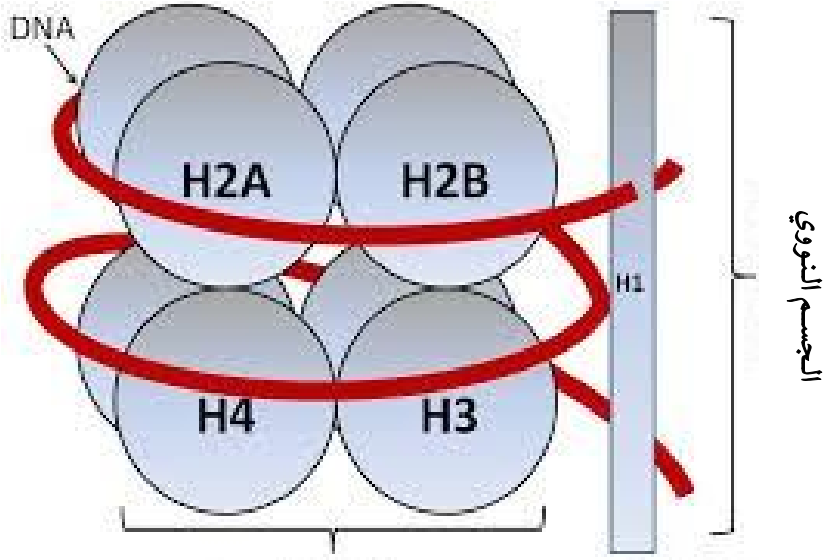
يتكون كل حقل من لولب ألفا قصير وآخر طويل متصلان معًا بالتواء. عادة ما يرتبط الحقلان معًا بالدنا (الشكل ٥-١٠).



(الشكل ٥-١٠): يوضح الشكل العام لحقل حلزون - لولب - حلزون أثناء ارتباط عوامل النسخ المتحركة بالدنا في حقيقيات النواة

إعادة تشكل الكروماتين ودوره في تنظيم التعبير الجيني لحقيقيات النواة:

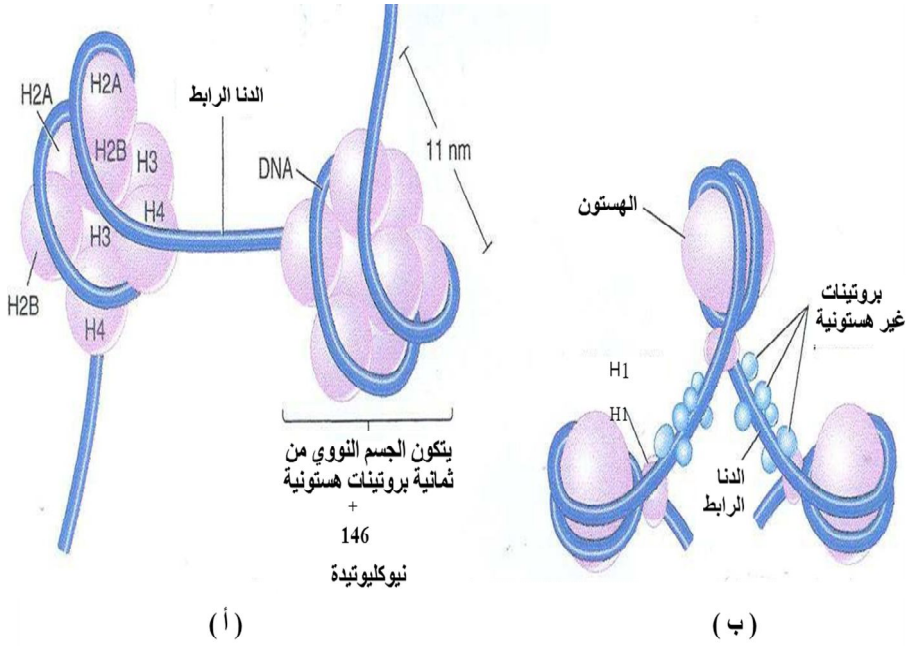
تختلف كروموسومات الخلايا حقيقية النواة عن كرموسومات الخلايا بدائية النواة من الناحيتين الكيميائية والتركيبية. دنا الكائنات حقيقية النواة مرتبط ببروتينات هستونية وغير هستونية، بينما دنا الكائنات بدائية النواة مرتبط ببروتينات قاعدية صغيرة تشبه الهستونات وبنسب ضئيلة، مما جعل تركيب وتغليف الدنا في حقيقيات النواة ونسخ الجينات أكثر تعقيدًا مقارنة بعملية نسخ جينات بدائية النواة. يلتف دنا الكائنات حقيقية النواة بمستويات تركيبة متعددة مكونًا ما يسمى بالجسم النووي Nucleosome، الذي يتكون من قطعة دنا ملتفة حول مركز الهستون (الشكل ٥-١١) بعكس دنا الكائنات بدائية النواة.



(الشكل ٥-١١): يوضح الشكل العام للجسم النووي

أثبتت الدراسات الجينية ونتائج تحليل تتابعات الدنا أن جينات حقيقيات النواة لا تحتوي على نظام الأوبيرون Operon، كما هي الحال في بدائية النواة، ولكن لديها استراتيجيات أخرى لتنسيق عملية التعبير الجيني.

تُنَظِم البروتينات الهستونية Histone proteins بنية وتركيب الكروموسومات وتوجد بكميات متساوية من حيث كتلتها مع الدنا. البروتينات الهستونية قاعدية صغيرة الحجم غنية بالحمضين الأمينيين اللايسين والأرجنين. توجد خمسة أنواع من البروتينات الهستونية هي: H1، H2A، H2B، H3، H4 (الشكل ٥-١١). كمية ونسبة هذه البروتينات ثابتة في كل خلايا الكائنات حقيقية النواة ما عدا النوع H1، مما يشير إلى أنها تلعب دورًا أساسيًا في تنظيم الدنا داخل الكروموسومات. يعتبر النوع H1 أكثر الأنواع تباينًا، وهناك عدد مختلف منه في كل خلية. كما أنه قد لا يوجد على الإطلاق في بعض الأنسجة ويستبدل بالنوع H5 كما هي الحال في الخلايا الدموية الحمراء عند الطيور. على غرار أنواع البروتينات الهستونية الأخرى فإن النوع H1 لا يشارك في تركيب الجسم النووي وإنما يتمركز فوقه ويعمل على عدم استمرار التفاف الدنا حول الجسم النووي، مما يجعل الدنا يمتد مكونا الدنا الرابط Linker DNA قبل أن يلتف مرة أخرى حول جسم نووي جديد (الشكل ٥-١٢). هذه الوظيفة المهمة للهستون H1 تحافظ على ثبات واستقرار ألياف الكروماتين وتحفز الالتفاف الشديد للدنا DNA solenoid.

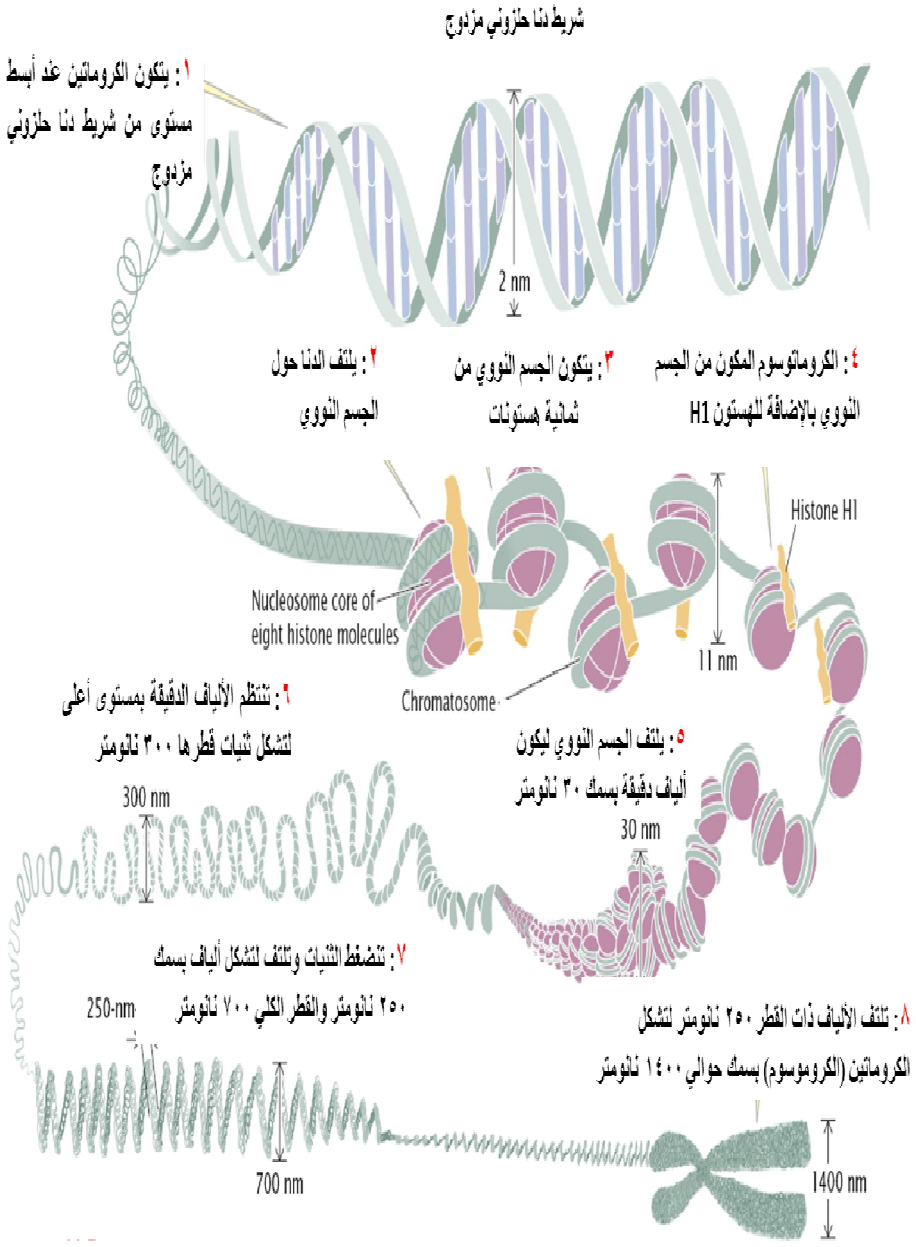


(الشكل ٥-١٢): يوضح تركيب الجسم النووي. أ- التفاف الدنا بمقدار 1.75 لفة (١٤٦ زوجاً قاعدياً) حول محور البروتينات الهستونية. ب- يربط الدنا الرابط الأجسام النووية المتجاورة. ترتبط البروتينات غير الهستونية بالدنا الرابط

تكون البروتينات الهستونية مسؤولة عن ضغط أو تعبئة الدنا DNA packing حتى يمكن أن تحتويه النواة. فشريط الدنا المزدوج يلتف حول الجسم النووي حوالي ١,٧٥ دورة بما يعادل ١٤٦ قاعدة نيتروجينية مزدوجة. ينفصل كل جسم نووي عن الذي يليه بقطعة صغيرة من الدنا تعادل ٥٠-٦٠ قاعدة نيتروجينية، تسمى بالدنا الرابط، مما يعطي الكروماتين المظهر المحبب Beaded appearance. إن التفاف الدنا حول البروتينات الهستونية يجعل من الصعب إتمام عملية النسخ، والسبب في ذلك أن تتابعات الدنا التي ترتبط بها إنزيمات النسخ

RNA polys وعناصر النسخ الأخرى عند منطقة بدء النسخ تكون مدفونة داخل الكروماتين الملتف بشدة. ولذلك لابد من حدوث تغيرات في تركيب الكروماتين تؤدي في مجملها إلى إزالة الالتفاف أو التغلظ فيرتخي الكروماتين في المناطق المراد استنساخها قبل بدء عملية النسخ. يلي إزالة الالتفاف ارتباط RNA polys وكذلك عناصر النسخ الأخرى ليتكون معقد بدء النسخ مع المحفز وتبدأ عملية النسخ.

يوجد على الأقل خمس عوائل بروتينية في حقيقيات النواة تشارك في إعادة تشكل الكروماتين هي: SWI/SNF، ISWI، NURD/Mi2، INO80، SWRI التي يتضح دورها في (الشكل ٥-١٣). تحتوي هذه المعقدات البروتينية على إنزيم ATPase لإنتاج الطاقة اللازمة لتحور الكروماتين وإعادة تنظيم الجسم النووي (Saha *et al.*, 2006). إن الطبيعة الحركية للكروماتين والقدرة على التحول من الحالة المتغلظة إلى الحالة غير المتغلظة أو الارتخاء والعكس مهمة جدًا في تنظيم التعبير الجيني وهي خطوة أساسية للتحضير لعملية النسخ، فبدون تغيرات الكروماتين لا يستطيع إنزيم البلمرة وغيره من عوامل النسخ الوصول لمنطقة المحفز وبالتالي لا تتم عملية النسخ.

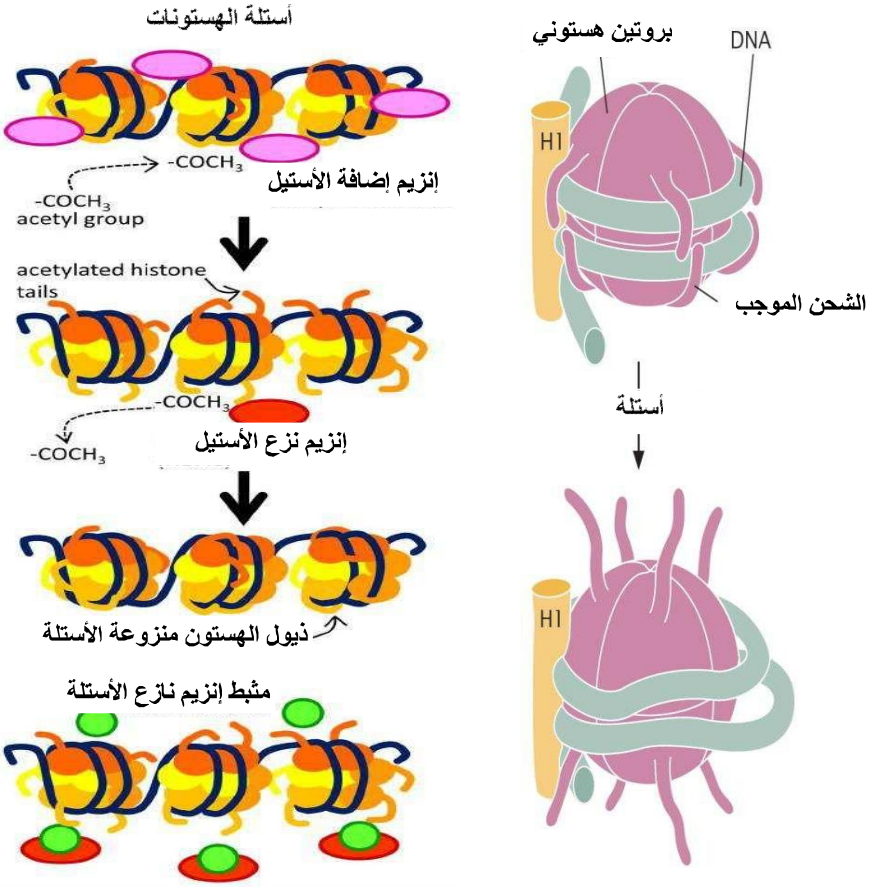


(الشكل ٥-١٣): يوضح مستويات تغليف الكروماتين

يوجد العديد من الآليات التي تعمل على إعادة تشكل الكروماتين وتحوله من حالة التغلظ لحالة الارتخاء والعكس ومن أهم تلك الآليات ما يلي :

أولاً: الأستلة Acetylation:

تعني عملية الأستلة نقل مجموعات الأستيل Acetyl groups ($-COCH_3$) سالبة الشحنة إلى السلاسل أو الذيول Chains or tails المتفرعة من الحمض الأميني اللايسين في مركز البروتينات الهستونية بواسطة إنزيم نقل متخصص يسمى إنزيم نقل مجموعة الأستيل Histone acetyl transferases (HATs). قبل حدوث عملية الأستلة تكون الذيول القاعدية ذات الشحنة الموجبة مرتبطة بقوة مع الدنا سالب الشحنة (تجاذب بسبب اختلاف الشحنة). أستلة مركز الهستون أثناء نسخ الجينات يعني أن مجموعات الأستيل ستتفاعل وترتبط مع الهستون، مما يقلل ارتباط الدنا بالهستون فيرتخي وتنكشف منطقة المحفز، مما يسمح لإنزيم البلمرة وعوامل النسخ الأخرى أن ترتبط بالمناطق المراد نسخها (الشكل ٥-١٤). بعد انتهاء عملية النسخ تزال عملية الأستلة بواسطة إنزيم نزع متخصص يسمى إنزيم نزع مجموعة الأستيل Histone deacetylases (HDACs)، فيعاود الكروماتين التفافه مرة أخرى. تسهل عملية الأستلة وصول عوامل النسخ لمناطق بدء النسخ بينما تعمل إزالة الأستلة عكس ذلك تمامًا. كلما زادت عمليات الأستلة Hyper-acetylation زاد ارتخاء الكروماتين والعكس Hypo-acetylation صحيح.



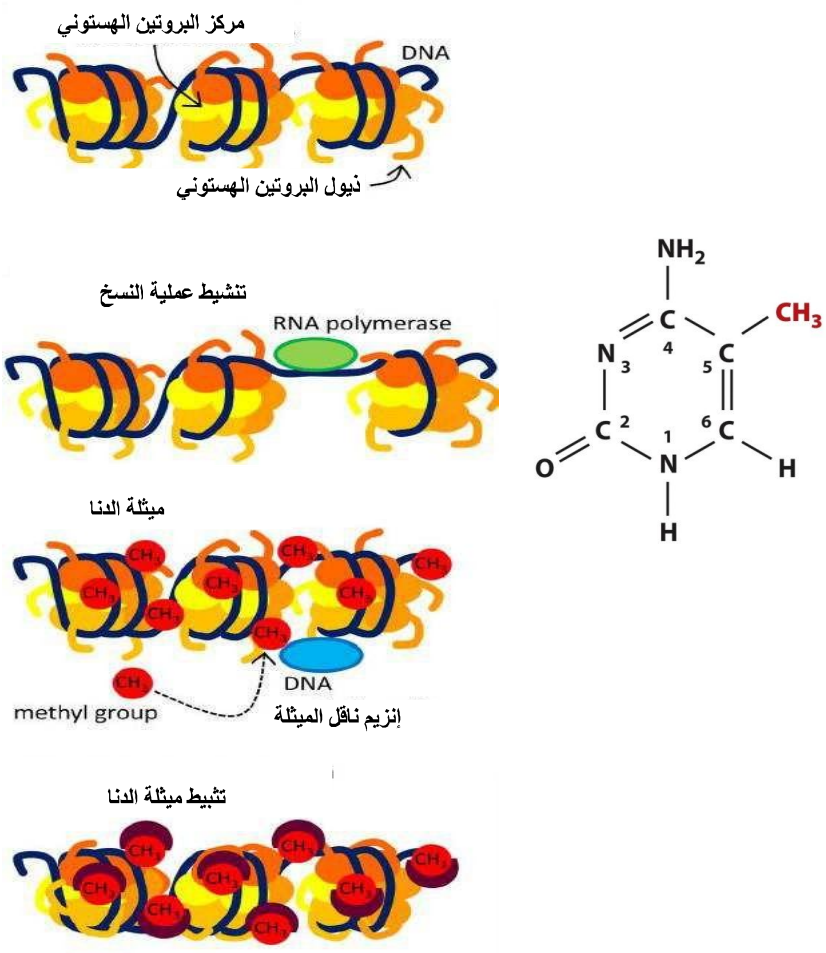
(الشكل ٥-١٤): يوضح أستلة الأحماض الأمينية اللايسين في مركز الهستون مما يؤدي إلى إزالة الشحنات الموجبة من هذا الحمض وبالتالي تقليل ارتباط الدنا بمركز الهستون (ارتخاء الدنا لتسهيل عملية النسخ)

ثانيًا: الميثلة Methylation:

تعني الميثلة إضافة مجموعة الميثيل CH_3 إلى ذرة الكربون الخامسة في قاعدة السيتوسين في جزيء الدنا بواسطة إنزيم متخصص Histone methyltransferases

(HMTs) (الشكل ٥-١٥). وجد أن معظم قواعد السيتوسين المميثلة تكون متبوعة بقواعد الجوانين mCpG. عادة تضاف مجموعة الميثيل للسيتوسين بعد تضاعف الدنا. مجموعة الميثيل على ذرة الكربون الخامسة للسيتوسين تحتل موقعاً مكشوفاً داخل الأخاديد الكبيرة Major grooves لجزيء الدنا، وبالتالي قد تلعب دورًا مؤثرًا في ارتباط الدنا مع عناصر النسخ كالمنشطات. وجود قواعد سيتوسين مميثلة في الدنا الملتف حول البروتينات الهستونية في الجسم النووي يمنع المنشطات من الارتباط بالدنا. يستنتج من ذلك أن بروتينات الهستون المميثلة مرتبطة بالمناطق الخاملة Inactive regions في الكروماتين، كما في الكروماتين المتباين أو غير النشط Heterochromatin. تزال عملية الميثلة بواسطة إنزيم متخصص لنزع مجموعة الميثيل DNA methyltransferases (DMTs). تحدث الميثلة في بعض حقيقيات النواة وتؤدي إلى تثبيط عملية النسخ خصوصًا إذا حدثت بالقرب من المحفز.

تكون ذيول الأحماض الأمينية للهستونات غير مرتبطة باحكام مع الدنا قبل عملية الميثلة وعليه فإن أجزاء من الدنا تكون مكشوفة ومنها منطقة المحفز، وبالتالي يمكن الوصول إليها من قبل عوامل النسخ وإنزيم البلمرة، لكن بعد إضافة مجموعة الميثيل ترتبط ذيول الأحماض الأمينية للهستونات بإحكام مع الدنا، فيصبح وصول عوامل النسخ للمحفز غير ممكن، وبالتالي لا تحدث عملية النسخ (الشكل ٥-١٥).

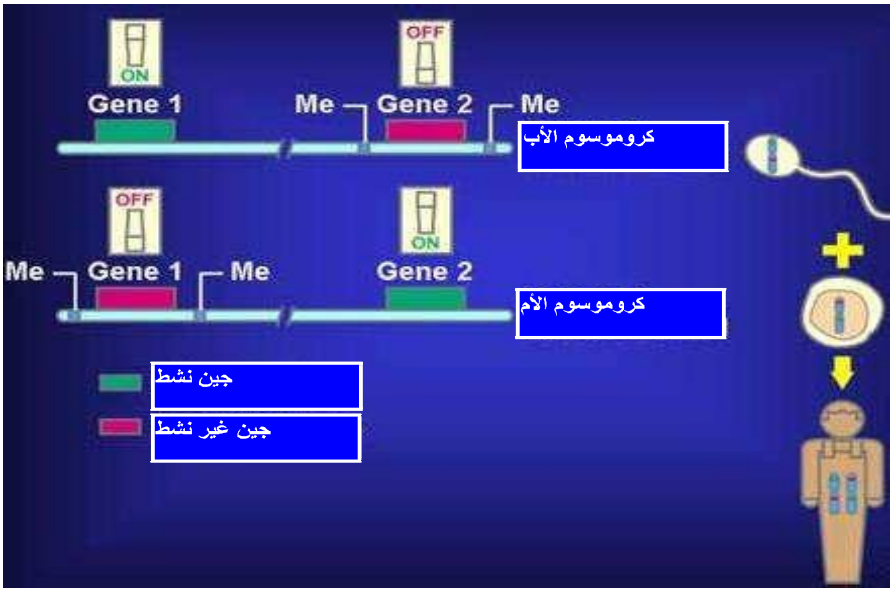


(الشكل ٥-١٥): يوضح خطوات عملية الميثلة والتغيرات التي تحدثها على الكروماتين

تلعب الميثلة دورًا مهمًا في تنظيم التعبير الجيني فمعظم الجينات غير النشطة تكون ذات ميثلة عالية Hyper-methylation كما هو الحال في العديد من أجزاء الجينوم التي تحتوي على تتابعات دنا عالية التكرار Highly repetitive sequences مثل مناطق السنترومير Centromere وأجزاء الكروموسومات الطرفية (التيلومير) Telomeres عند الثدييات. بينما الجينات النشطة تكون إما غير مميثلة أو

ذات ميثلة منخفضة Hypo-methylation. الجدير بالذكر أن الجينات الأساسية Housekeeping genes غير مميثلة وعمليات النسخ فيها عالية وعلى العكس من ذلك تزيد ميثلة الدنا في جينات وخلايا معينة وفي أوقات محددة. يتم توارث تتابعات الدنا المميثلة خلال الانقسام الخلوي ويتناسب حدوثها عكسيًا مع معدل النسخ، أي أن إزالة الميثلة يزيد من معدل النسخ. يمكن لميثلة الهستون أن تحفز أو تثبط عملية النسخ بالاعتماد على نوع الحمض الأميني المميثل وعدد مجموعات الميثيل المرتبطة بالهستون. بناء على ذلك تؤثر الميثلة على وظيفة الجين خصوصًا إذا كانت بالقرب من تتابعات المحفز.

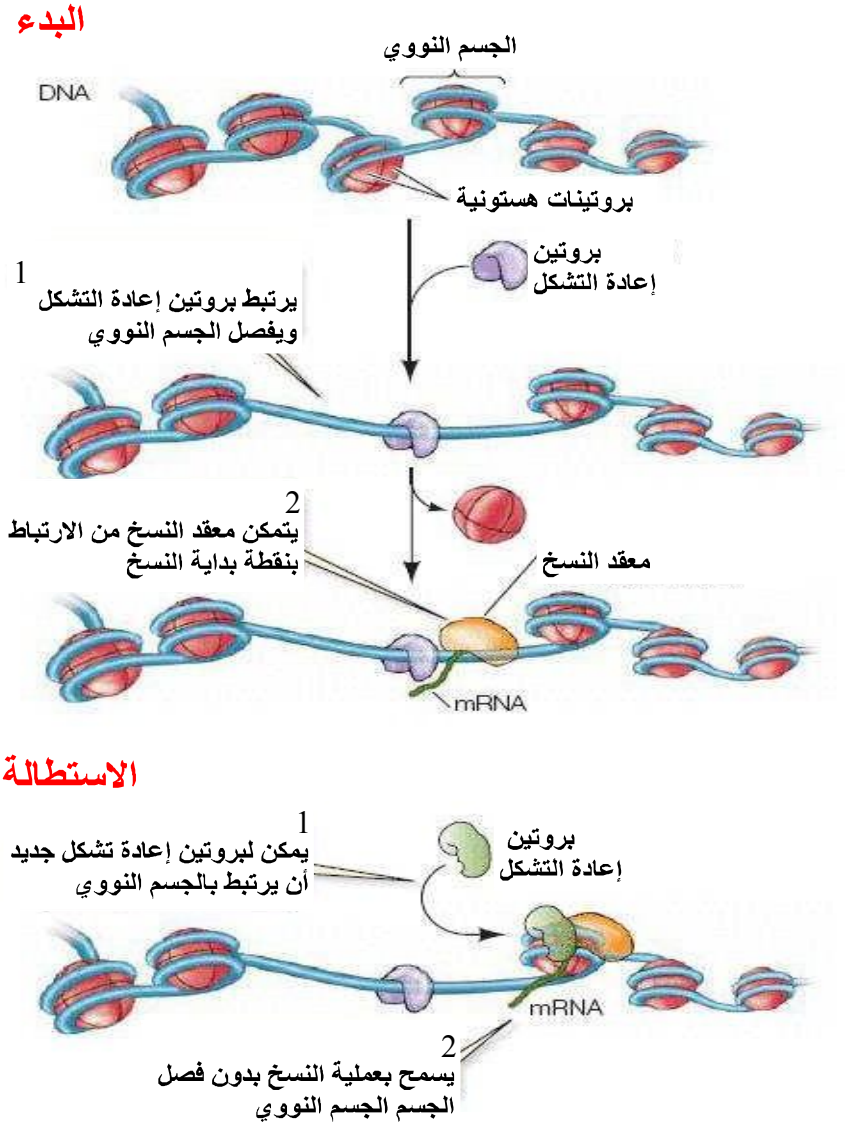
للميثلة دور مهم في ظهور وتوارث بعض الصفات الوراثية، فتثبيط أحد الليلات Allele بشكل متكرر بواسطة الميثلة سيؤدي لظهور المرض، لذلك يستخدم اختبار محدد لقياس ميثلة الدنا DNA methylation-specific test لتأكيد تشخيص المرض، كما في تشخيص متلازمة برادرولي Prader-Willi syndrome (PWS) ومتلازمة آنجلمان Angelman syndromes (AS)، هذا الاختبار يحدد فيما إذا كان الأليل المميثل مورث من الأب Paternal فقط أم من الأم Maternal فقط (الشكل ٥-١٦). تنشأ متلازمة برادرولي بسبب عيوب كروموسومية كنقص جين أو أكثر على الذراع الطويل للكروموسوم رقم ١٥ أو بسبب عيوب في ميثلة أليل الأب أو حذف النسخة الأبوية للأليل المسؤول. في حالة حذف النسخ الأموية من نفس المنطقة ينتج عنها متلازمة آنجلمان. من أعراض متلازمة برادرولي: انخفاض حركة الجنين، التخلف العقلي، قصر القامة، ضمور الأعضاء الجنسية، السمنة، الأطراف القصيرة. تظهر هذه المتلازمة بمعدل مولود في كل ٢٠٠٠٠ ولادة. أما أعراض متلازمة آنجلمان فتشمل: نمو بطيء، اضطراب النوم، تشنجات، رفرفة اليدين، الضحك والتبسم باستمرار، السعادة الغامرة. تظهر هذه المتلازمة بمعدل مولود في كل ١٥٠٠٠ ولادة (Runte *et al*., 2005).



(الشكل ٥-١٦): يوضح تغيرات حالة الميثلة في أليل أحد الآباء ودورها في التعبير الجيني

ثالثًا: إبعاد أو نقل الجسم النووي Sliding or transferring nucleosome:

إبعاد أو نقل الجسم النووي هي آلية أخرى مختلفة للتحكم في تنظيم التعبير الجيني تعتمد هذه الطريقة على إزاحة أو إبعاد جسم نووي أو أكثر بالقرب من المناطق المراد نسخها بهدف إتمام نسخ الجين المستهدف. تتم عملية الإبعاد بمساعدة بروتين متخصص يسمى بروتين إعادة التشكل Remodeling protein والذي يعمل على فصل الجسم النووي من الدنا ، مما يتيح المجال لعوامل النسخ أن ترتبط بالمحفز. تستمر عملية الإبعاد للجسم النووي التالي عند الضرورة وبنفس الطريقة حتى تكتمل عملية النسخ. الجدير بالذكر أن هناك نوعاً آخر من البروتينات يُمكّن عوامل النسخ من الوصول للمحفز دون الحاجة لفصل وإبعاد الجسم النووي (الشكل ٥-١٧).



(الشكل ٥-١٧): يوضح خطوات إبعاد أو زحلقة الجسم النووي للسماح لإنزيم البلمرة وعوامل النسخ الأخرى بالوصول لمنطقة بدء النسخ في الجين المستهدف

النسخ في الكائنات حقيقية النواة:

تتشابه عمليات النسخ في الكائنات بدائية النواة وحقيقية النواة بصفة عامة، فيما عدا الفروق الرئيسية التالية:

١. تحتوي الخلايا حقيقية النواة على ثلاثة أنواع من إنزيمات بلمرة الرنا النووية وهي المسؤولة عن تصنيع أنواع الرنا المختلفة.
٢. العديد من جزيئات الرنا المرسال في الخلايا حقيقية النواة لها نصف عمر طويل جدًا.
٣. يتعرض الرنا المرسال في الخلايا حقيقية النواة لعدة تحورات.
٤. جزيء الرنا المرسال الناضج يكون طوله (حجمه) عادة أقل من خمس طول الرنا المرسال الأولي.
٥. عملية النسخ في الخلايا حقيقية النواة أكثر تعقيدًا من عملية النسخ في الخلايا بدائية النواة بسبب أن الأولى أكبر حجمًا وتحتوي على العديد من العضيات.

الخطوات العامة لعملية النسخ في الكائنات حقيقية النواة General steps of eukaryotic transcription:

تمر عملية النسخ في الكائنات حقيقية النواة بالعديد من الخطوات العامة والمتخصصة التي يمكن إيجازها في (الشكل ٥-١٨). حسب الخطوات التالية:

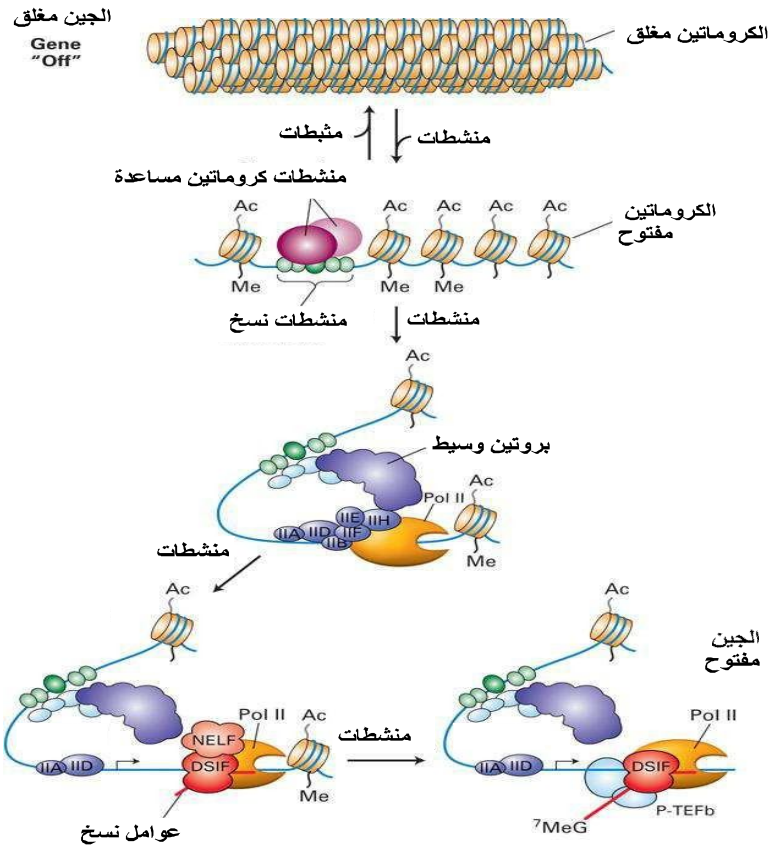
١. عندما تقل شدة التفاف الكروماتين تتمكن عوامل النسخ وإنزيم البلمرة من الوصول لمنطقة المحفز.
٢. يرتبط إنزيم البلمرة RNA polymerase-II بمنطقة المحفز لبدء النسخ.
٣. ترتبط المعززات بعوامل نسخ خاصة تسمى بالمنشطات والتي تزيد من معدل عملية النسخ.
٤. تتقارب المعززات مع عوامل النسخ العامة من خلال عملية التفاف الدنا ثم

تتصل مع بعضها بواسطة معقد بروتيني وسيط Mediator complex.

٥. تؤثر المنشطات المرتبطة بالمعززات على نشاط بروتينات أخرى مرتبة بالمحفز بما فيها عوامل النسخ الأساسية وإنزيم النسخ.

٦. تقوم عوامل النسخ المنشطة والمساعدة والوسيطة بتسهيل مهمة عوامل النسخ الأساسية.

٧. إذا اكتمل معقد بدء النسخ تبدأ عملية النسخ.

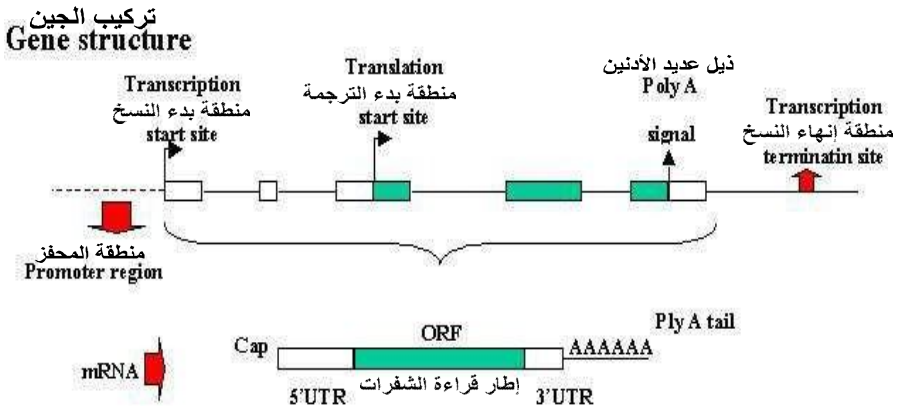


(الشكل ٥-١٨): يوضح أ- دور عملية الأستلة والميثلة في إعادة تشكل البروتين. ب- الخطوات العامة لعملية النسخ. ج- وظيفة البروتينات المنشطة والبروتينات المثبطة والوسيطة. د- تكون معقد ما قبل بدء النسخ

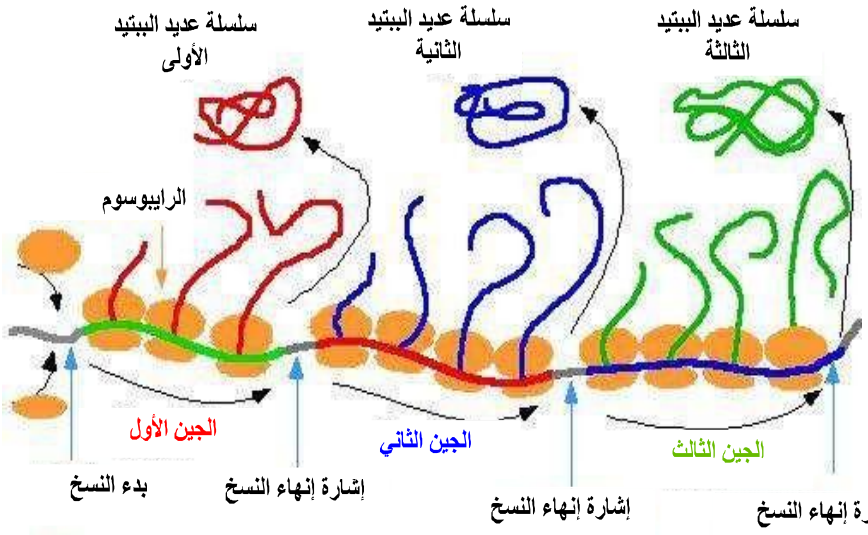
التتابعات التي تبدأ بشفرة البدء وتنتهي بشفرة التوقف تسمى منطقة إطار القراءة Open reading frame (ORF) هذا الإطار هو الذي يكون البروتين. من خلال تسلسل شفرات منطقة ORF يمكن التنبؤ بمعرفة تسلسل الأحماض الأمينية المكونة للبروتين أثناء عملية الترجمة. هناك برنامج يُوجِد هذه المنطقة ومتوفر على موقع شركة NCBI ويسمى ORF finder والذي من خلاله يمكن معرفة ORF وبالتالى يمكن تصميم البادئات لإجراء PCR. عند نسخ الجين المستهدف ينتج أحد أنواع الرنا المرسال التالية :

أ - رنا مرسال يحمل معلومات وراثية لترجمة وبناء سلسلة عديد ببتيد واحدة Open reading frame (ORF) ويطلق عليها مصطلح Monocistronic (monogenic mRNA) (شكل ٥-١٩).

ب- رنا مرسال يحمل معلومات وراثية لترجمة وبناء أكثر من سلسلة عديد ببتيد(Open reading frames (ORFs ويطلق عليها مصطلح Polycistronic (polygenic mRNA) (شكل ٥-٢٠).



(الشكل ٥-١٩): يوضح رنا مرسال يحمل معلومات وراثية لترجمة وبناء سلسلة عديد ببتيد واحدة (ORF)



(الشكل ٥-٢٠): يوضح رنا مرسال يحمل معلومات وراثية لترجمة وبناء أكثر من سلسلة عديد ببتيد واحدة (ORFs)

الفصل السادس
تنظيم التعبير الجيني بعد عملية النسخ
Post-transcriptional regulation

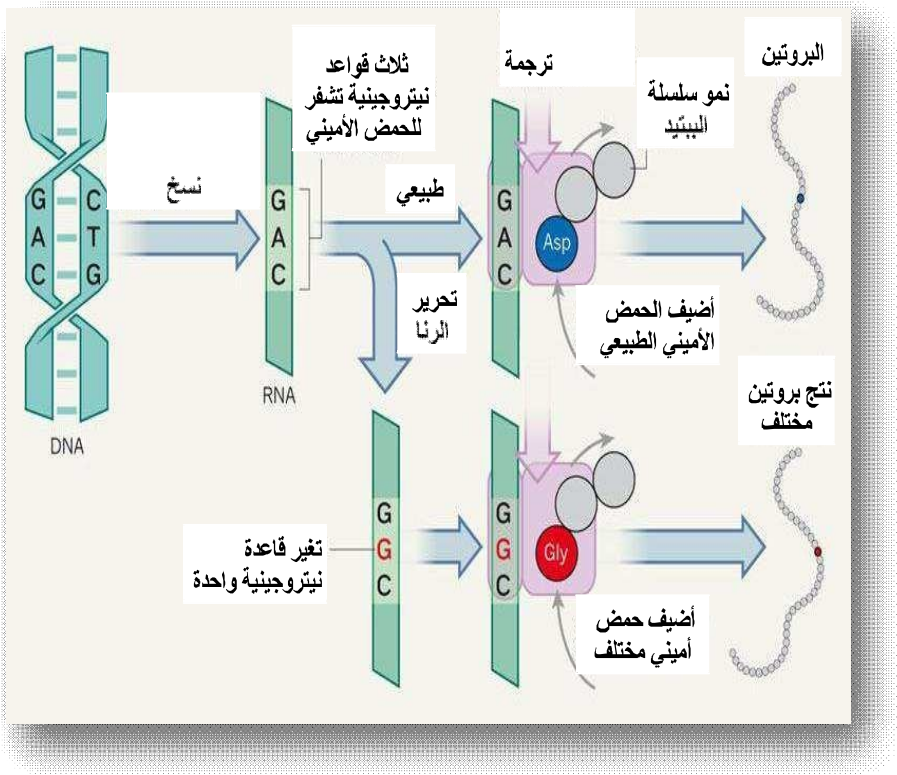
يتم التحكم في عملية التعبير الجيني من خلال توجيه أحداث بداية النسخ، لكن هناك آليات تَحَكُم أخرى تتم ما بعد بداية النسخ ولا تقل أهمية عما قبلها ومن أبرزها ما يلي:

١. تحرير الرنا RNA editing.
٢. آليات الرنا المُتداخل أو المعترض RNA interference.
٣. القص البديل Alternative splicing.
٤. ثبات الرنا المرسال وتحلله mRNA stabilization & degradation.
٥. ثبات البروتين وتحلله Protein stabilization & degradation.

أولاً: تحرير الرنا RNA editing:

يُقصد بتحرير الرنا أي تغير بسيط في التتابع النيوكليوتيدي للرنا المرسال مثل إضافة أو حذف قاعدة نيتروجينية واحدة أو تحويلها من نوع إلى آخر أثناء أو بعد عملية النسخ، مما يؤدي إلى تصنيع بروتين جديد أو إيقاف عملية الترجمة. كما يمكن تعريف عملية تحرير الرنا بأنها العملية التي تغير هوية أو تتابعات الرنا المرسال بعد نسخه. يوضح (الشكل ٦-١) أن الشفرة الوراثية على الدنا القالب CTA تم نسخها إلى mRNA المتتم للدنا القالب لتصبح GAC، هذه الشفرة تشفر للحمض الأميني الأسبرتيت Asp. عندما تحدث عملية تحرير الرنا المرسال تتغير

نيوكليوتيدة الأدنين A إلى نيوكليوتيدة الجوانين G فتصبح الشفرة الوراثية GGC التي تشفر للحمض الأميني الجلايسين Gly، مما يؤدي في الغالب إلى إنتاج بروتين مختلف أو توقف عملية الترجمة. تم الكشف عن هذه الظاهرة في جزيئات الرنا المرسال في بعض الكائنات الحية، وقد تحدث أحيانًا في دنا الميتوكوندريا mtDNA. من المهم جدًا عدم الخلط بين عملية تحرير الرنا وعملية القص البديل للرنا RNA splicing فهما عمليتان مختلفتان شكلاً ومضمونًا.



(الشكل ٦-١): يوضح عملية تحرير الرنا المرسال. يلاحظ حدوث تغير في نيوكليوتيدة واحدة في mRNA مما يسبب تغير الشفرة الوراثية الأساسية وبالتالي ينتج بروتين مختلف

آليات تحرير الرنا Mechanisms of RNA editing:

تحدث آليات تحرير الرنا بعدة طرق منها:

أ - عمليات الحذف أو الإضافة Insertion or deletion أثناء أو بعد عملية النسخ.

ب - تحول أو استبدال نيوكليوتيدة بأخرى مثل:

١. تحرير الأدنين إلى جوانين G←A وهذا النوع شائع عند الإنسان.

٢. تحرير السيتوسين إلى يوراسيل U←C.

٣. تحرير اليوراسيل إلى سيتوسين C←U.

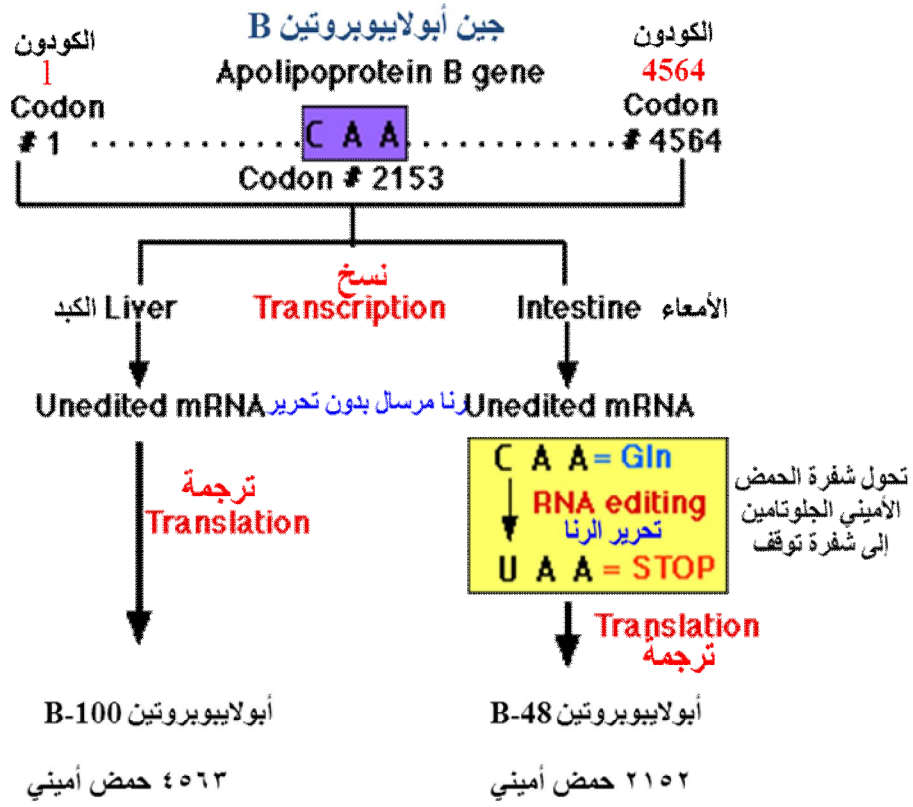
تؤدي عملية تحرير الرنا المرسال إلى ظهور رنا مرسال جديد لم يُشفر له أساسًا في الجينوم.

مثال: تتم عملية تحرير جزيئات الرنا المرسال الناضجة المسؤولة عن إنتاج بروتين الأبولايبوبروتين Apolipoprotine B لينتج عن ذلك نوعان من البروتينات Two isoforms المختلفة في التركيب والوظيفة في كل من الكبد والأمعاء كما يلي:

النوع الأول: بروتين الأبولايبوبروتين Apo-B100، الذي يصنع في خلايا الكبد بواسطة الرنا المرسال الخاصة به دون حدوث عملية تحرير، هذا البروتين يقوم بنقل الكوليسترول في الدورة الدموية.

النوع الثاني: الأبولايبوبروتين Apo-B48، الذي يصنع في خلايا الأمعاء بواسطة الرنا المرسال الذي تم تحريره عند الشفرة الوراثية CAA التي تشفر للحمض الأميني الجلوتامين، وذلك بتغير قاعدة السيتوسين C إلى اليوراسيل U من خلال إزالة مجموعة الأمين من C فتحولت الشفرة من

CAA إلى UAA وهي شفرة توقف. هذا البروتين يساعد على امتصاص الدهون في خلايا الأمعاء (الشكل ٦-٢).



(الشكل ٦-٢): يوضح عملية تحرير جزيئات الرنا المرسال الناضجة المسؤولة عن إنتاج بروتين الأبولايبوبروتين Apolipoprotine B لينتج عن ذلك نوعان من البروتينات المختلفة

ثانيًا: آليات الرنا المُتداخل أو المُعترض RNA interference (RNAi):

الرنا المُتداخل RNAi عبارة عن قطعة قصيرة من الرنا غير المُشَفِر Non-coding RNA يرتبط مع الرنا المرسال ويعيق عمله. كما يُعرف الرنا المُتداخل أو المُعترض بأنه عملية حيوية يعمل من خلالها الرنا المُتداخل على تثبيط التعبير

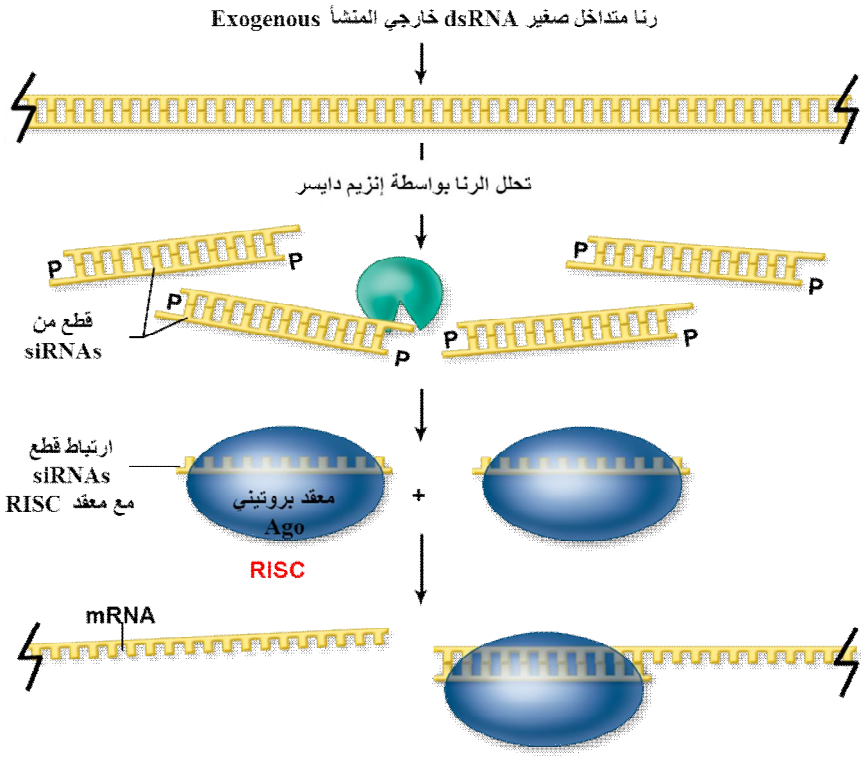
الجيني، حيث يؤدي إلى إعاقة عمل رنا مرسال محدد إما بتحلله Degradation أو إيقاف عملية الترجمة. لا يستطيع الرنا المُتداخل أن يكون فعالاً أو مؤثرًا إلا عندما يوجد بينه وبين الرنا المرسال تتابعات مشتركة Homologous sequences بشكل كامل أو جزئي، ولكل حالة تأثيراتها المختلفة كما سيتضح لاحقًا. سجلت ظاهرة الرنا المُتداخل في بعض الكائنات الحية مثل ذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) وبعض الثدييات ومنها الإنسان.

نشأ الرنا المُتداخل من جين محدد أطلق عليه جين الرنا المُتداخل RNA interference gene. كما ذكر سابقًا لكي يكون هذا الجزيء مؤثرًا يجب أن يتحد أو يتداخل مع التتابعات المشفرة (الإكسونات) على الرنا المرسال المستهدف. هذا الاتحاد أو الاندماج بين الرنا المُتداخل والرنا المرسال المستهدف يؤدي إلى تحلل الرنا المرسال أو تثبيط عملية الترجمة.

أنواع الرنا المُتداخل Types of RNAi:

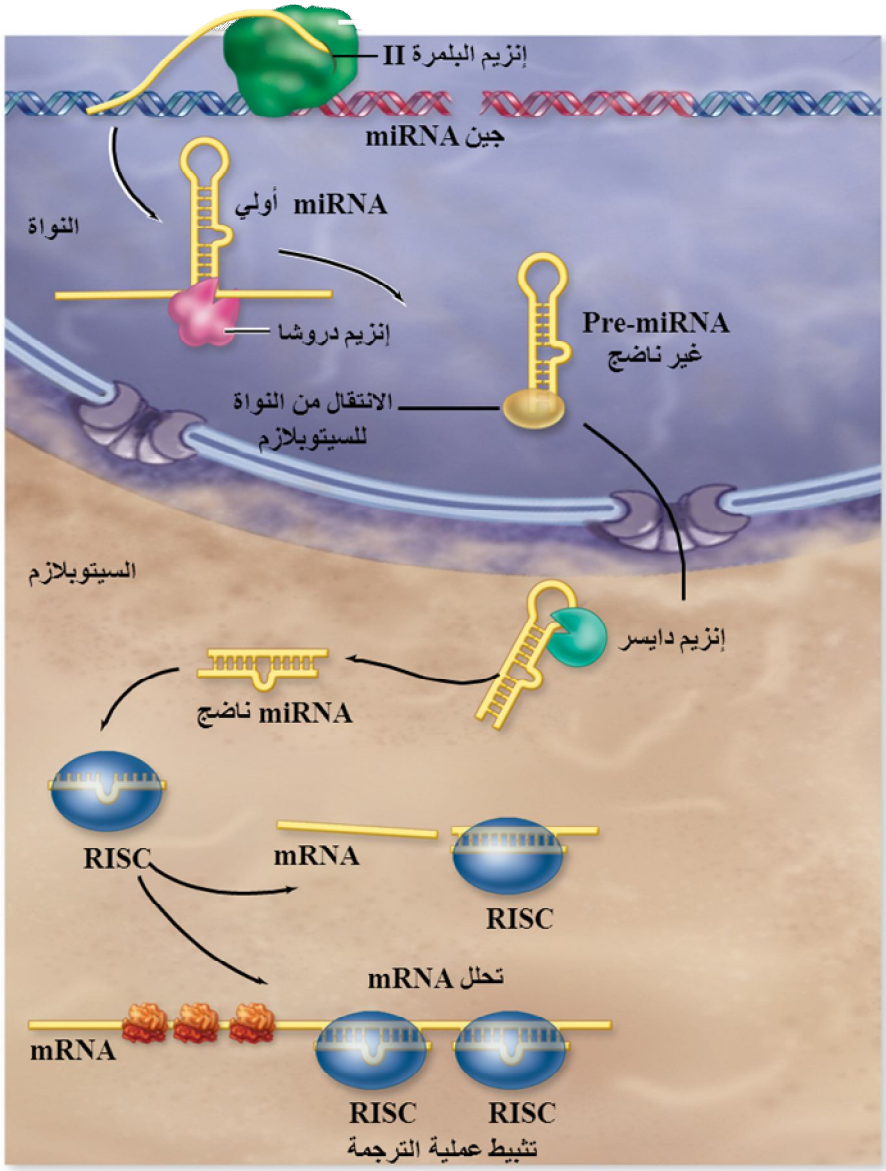
يوجد على الأقل نوعان من أنواع الرنا المتداخل هما:

النوع الأول: قطع من الرنا المتداخل الصغيرة (القصيرة) Small interfering RNAs (siRNAs) (الشكل ٦-٣). هذا النوع، نشأ من رنا طويل التف ليُعطي شريطاً مزدوجاً، وهو يعمل على تحلل الرنا المرسال قبل بدء عملية الترجمة. ونظرًا لطبيعة عمل هذا النوع فقد استخدم معمليًا لتعطيل Knock down عمل جينات معينة أو إسكاتها Gene silencing وتثبيط تعبيرها الجيني.



(الشكل ٦–٣): يوضح نشوء siRNAs من شريط رنا مزدوج طويل dsRNA. يقوم إنزيم دايسر بتجزئة dsRNA إلى قطع صغيرة يتم تحميلها على معقد بروتيني RISC ثم تتحد مع الرنا المرسال المستهدف وتحلله

النوع الثاني: قطع دقيقة من الرنا المتداخل Micro interfering RNAs (miRNA) (الشكل ٦–٤ و ٦–٥). تبدأ مراحل إنتاج هذا النوع في النواة وتنتهي في السيتوبلازم وهو ينظم عمل العديد من الجينات من خلال آليات مختلفة سيتم توضيحها لاحقًا وتؤدي في نهاية المطاف إلى تثبط التعبير الجيني.



(الشكل ٦–٤): يوضح نشوء miRNAs من الجين الخاص به ثم تعرضه لعمليات تحور داخل النواة وفي السيتوبلازم ثم تحميله على معقد بروتيني RISC ثم اتحاده مع الرنا المرسال المستهدف وتثبيط عملية الترجمة

يوجد هناك بعض المراحل المتشابهة أثناء التكوين الحيوي Biogenesis لكلا النوعين من الرنا المُتداخل، إلا أنهما يختلفان أيضًا في بعض الخصائص ومن أهما التأثير النهائي لكل منهما.

يتعرض كلا النوعين لتأثير بعض الإنزيمات في النواة والسيتوبلازم ومن أهم تلك الإنزيمات ما يلي:

١- إنزيم دروشا Drosha enzyme:

يعتبر هذا الإنزيم أحد الإنزيمات المحللة للرنا RNas enzyme وهو مسؤول عن بداية مراحل التحور التي تطرأ على الرنا المُتداخل بنوعيه داخل النواة.

٢- إنزيم دايسر Dicer enzyme:

هذا الإنزيم أيضًا أحد الإنزيمات المحللة للرنا وهو مسؤول عن مراحل التحور التي تطرأ على الرنا المُتداخل بنوعيه في السيتوبلازم. يعمل هذا الإنزيم على تجزئة شريط الرنا المزدوج الطويل Double strand RNA (dsRNA) إلى قطع صغيرة (الشكل ٦-٤).

ينشأ النوع miRNA من الخلية ويؤثر على الرنا المرسال داخل الخلية ذاتها Endogenous، بينما النوع siRNA ينشأ من خلية ويؤثر على الرنا المرسال لخلية أخرى Exogenous، حيث يدخل Injected إلى الخلية العائلة ويؤثر على عملية التعبير الجيني. يتحد miRNA مع التتابعات المتممة Complementary فقط على الرنا المرسال حيث يكون الارتباط جزئيًا وهذا كفيل بإعاقة عمل الرنا المرسال وتثبيط عملية الترجمة، أما siRNA فيتحد بشكل تام مع تتابعات الرنا المرسال، حيث يكون الارتباط تامًا وهذا يؤدي إلى تحلل الرنا المرسال. بما أن الارتباط بين miRNA والرنا المرسال جزئيًا فسوف يكون miRNA قادرًا على مهاجمة عدد

كبير من الرنا المرسال وتثبيط عملها بعكس siRNA الذي لابد من ارتباطه بشكل كامل مع الرنا المرسال وهذا يعد أقل حدوثًا مقارنة بـ miRNA.

نشوء وتأثير الرنا المُتداخل Exist and action of RNAi:

يمكن إيجاز خطوات نشوء وتأثير أنواع الرنا المتداخل فيما يلي:

١. ينسخ الجين المسؤول عن الرنا المتداخل سواء miRNA أو siRNA، كما ينسخ أي جين آخر بواسطة إنزيم البلمرة لينتج رنا متداخل أولي Pri-RNAi، لكلا النوعين وهما: النوع الأول: Pri-micro RNA الذي يلتف ليكون شريطاً مزدوجاً قصيراً يشبه دبوس الشعر Short hairpin miRNA يتضمن عدة ثنيات Stem-loops وتتابعات متكاملة وأخرى غير متكاملة. النوع الثاني Pri-siRNA الذي يلتف كذلك ليكون شريطاً طويلاً مزدوجاً Long double-stranded pri-siRNA ويتضمن تتابعات متممة بالكامل.

٢. تتعرض أنواع الرنا المتداخل بعد نسخها لعدة تحورات داخل النواة من قبل إنزيم دروشا، وتشمل هذه التحورات تشذيب Trimming النهايات الطرفية والثنيات لينتج عن ذلك صورة أخرى من الرنا المتداخل ما قبل مرحلة النضج Pre-mature RNAi (Pre-RNAi).

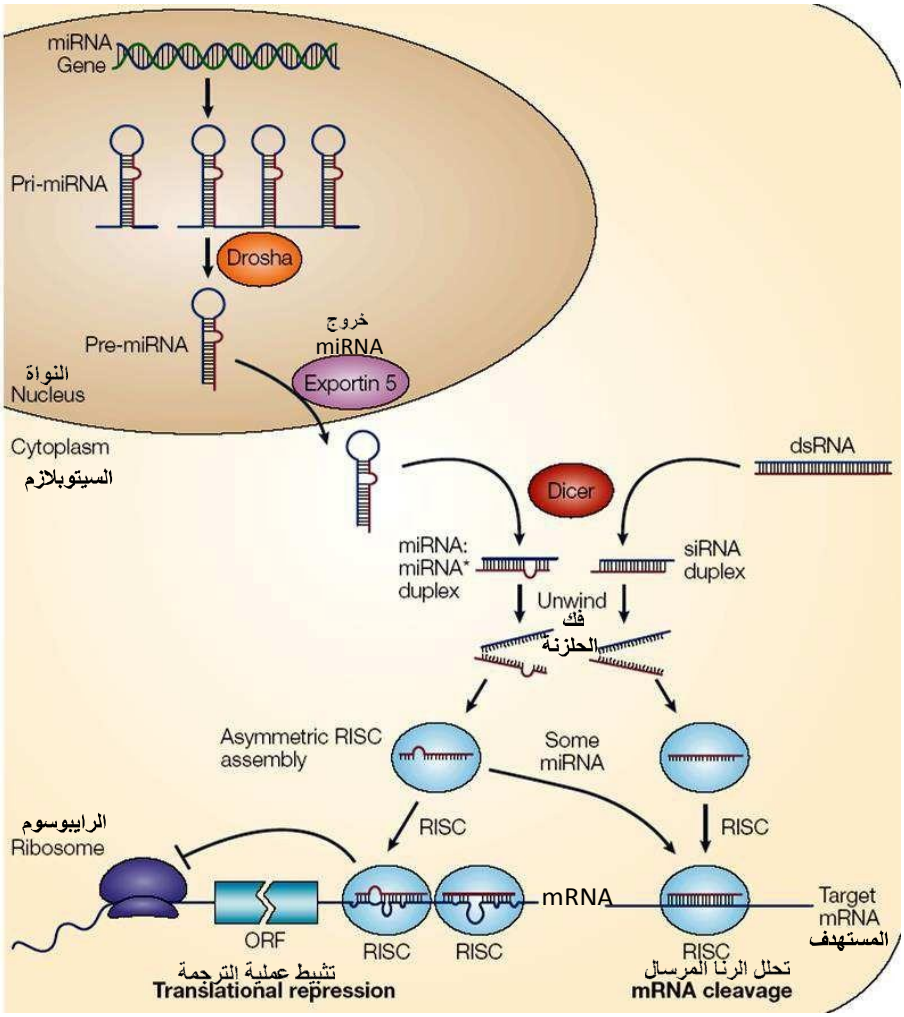
٣. تنتقل أنواع الرنا المتداخل من النواة إلى السيتوبلازم من خلال النهاية '5 عبر الثقوب النووية فيما يسمى بعملية التصدير Exporting من النواة للسيتوبلازم.

٤. يبقى miRNA داخل سيتوبلازم نفس الخلية التي نشأ منها، بينما dsRNA يحقن Injected أو ينتقل Transfected لخلية أخرى ويستقر في السيتوبلازم.

٥. عند وجود أنواع الرنا المتداخل في السيتوبلازم تتعرض لتحورات أخرى، ولكن هذه المرة من قبل إنزيم آخر هو إنزيم الدايسر.

٦. يوجد داخل السيتوبلازم معقد بروتيني يساهم في تفعيل عمل الرنا المتداخل المثبط للتعبير الجيني ويسمى RNA induced silencing complex (RISC)، عندما يتحد هذا المعقد البروتيني من الرنا المتداخل يساعد على الارتباط التكاملي ما بين الرنا المتداخل والرنا المرسال. التفاصيل الدقيقة لعمل RISC غير مفهومة بشكل كامل ولكنه على الأقل يساعد في فك حلزنة الرنا المتداخل كما يعمل إنزيم فك حلزنة الدنا Helicase، كما يساعد RISC على تحلل الرنا المرسال كما تفعل إنزيمات تحلل الأحماض النووية Nuclease، وأخيرًا يعتقد أنه يلعب دوراً في تنشيط إشارات تثبيط التعبير الجيني.

٧. يرتبط الرنا المتداخل siRNAs وبعض أجزاء من miRNAs في وجود RISC بشكل تكاملي وتام، مما يسبب تحلل الرنا المرسال mRNA Cleavage. بينما يرتبط بعض miRNAs بشكل تكاملي غير تام، مما يسبب تثبيط عملية الترجمة Translation repression (الشكل ٦-٥).



(الشكل ٦–٥): يوضح نشوء miRNAs من الجين الخاص به في الخلية ثم تعرضه لعمليات تحور داخل نواة وسيتوبلازم الخلية ذاتها. كما يوضح الشكل دخول siRNA للخلية من الخارج (بعد أن تعرض لتحورات داخل نواة الخلية التي نشأ منها). يحمل كلا النوعين على معقد بروتيني RISC بنفس الطريقة، إلا أن اتحاد siRNA مع الرنا المرسال المستهدف يكون بشكل تام، مما يسبب تحلل الرنا المرسال، بينما يتحد miRNAs مع الرنا المرسال المستهدف بشكل غير تام ويثبط عملية الترجمة

رغم أن الرنا المتداخل يحلل الرنا المرسال و/أو يقوم بتثبيط عملية الترجمة، إلا أنه بهذا العمل يعتبر إحدى الآليات التي تساهم في تنظيم التعبير الجيني بعد عملية النسخ.

بعد توضيح آلية نشوء وعمل أنواع الرنا المتداخل من الضروري مقارنة كلا النوعين بشكل عام كما في الجدول (٦-١).

الجدول (٦-١): يبين أهم الفروقات بين أنواع الرنا المتداخل

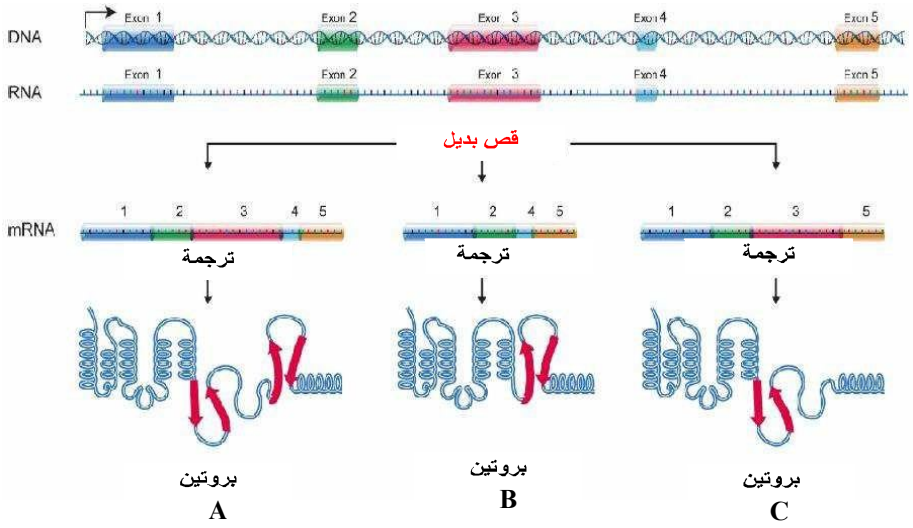
miRNA	siRNA
طوله حوالي ١٩- ٢٥ نيوكليوتيدة.	طوله حوالي ١٩- ٢١ نيوكليوتيدة.
ينشأ داخل الخلية التي يؤثر عليها Endogenous.	ينشأ خارج الخلية التي يؤثر عليها Exogenous.
يرتبط مع الرنا المرسال غالباً بشكل غير تام Imperfect match.	يرتبط مع الرنا المرسال بشكل تام Perfect match.
يسبب تثبيط عملية الترجمة وأحياناً تحلل الرنا المرسال.	يسبب تحلل الرنا المرسال.
أقل تخصصية ويثبط عدداً قليلاً جداً من أنواع الرنا المرسال.	أكثر تخصصية ويثبط العديد من أنواع الرنا المرسال.

ثالثًا: القص البديل Alternative splicing:

تمت الإشارة مسبقًا إلى أن عملية نسخ الجين هي أول وأهم خطوة في التعبير الجيني لحقيقيات النواة، إلا أن هناك أحداثاً لاحقة أخرى ومهمة مثل معالجة جزيئات الرنا واستقرارها وتحللها وبناء البروتين ومعالجته وتنظيم عمله وتحلله. تم كذلك توضيح مراحل معالجة الرنا المرسال mRNA وكيفية تحوله من رنا أولي Pre-mRNA إلى رنا ناضج Mature-RNA، من خلال قص الإنترونات، لصق

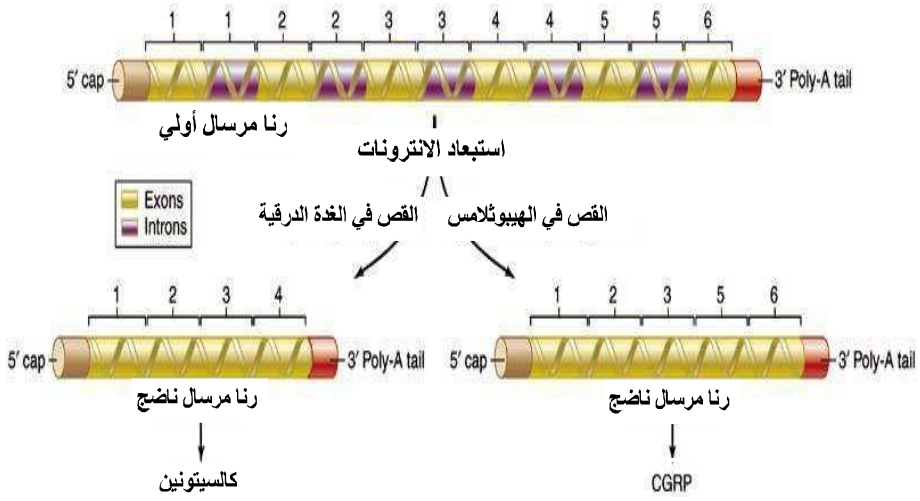
الإكسونات، إضافة Poly-A-Tail وإضافة 5'-Cap. تحدث عملية القص واللصق بواسطة بروتينات مرتبطة مع بعضها البعض على هيئة معقدات بروتينية تسمى بأجسام القص واللصق Splisosomes. يتكون المعقد من ٦-١٠ بروتينات بالإضافة إلى قطع أخرى صغيرة من الرنا النووي Small nuclear RNA (snRNA).

تعطي الآليات المختلفة لقص ولصق أجزاء الرنا المرسال الأولي تتابعات مختلفة للرنا الناضج، مما يتيح لجين واحد أن يعطي أكثر من نوع من البروتينات، وهذا ما يعرف بالقص واللصق البديل. يمكن من خلال هذه الآلية التعرف على مواقع قص مختلفة تتضمن بعض الإكسونات في أنواع الأنسجة المختلفة، مما يجعل هذه الآلية تكون سببًا في إنتاج وتنوع البروتينات Protein diversity (الشكل ٦-٦).



(الشكل ٦-٦): يوضح المفهوم العام للقص البديل. قد يتم قص إكسونات محددة في أنسجة معينة لتعطي بروتينات مختلفة

تحدث هذه العملية في بعض جينات حقيقيات النواة وهي آلية مهمة لتنظيم التعبير الجيني الخاص بالنسيج وبالتكوين الجنيني والتمايز الخلوي. من أهم مميزات القص البديل ما يسمى بالتخصص النسيجي Tissue-specific. على سبيل المثال: هناك جين يعطي بروتين الكالسيتونين Calcitonin في الغدة الدرقية Thyroid gland ويعطي نفس الجين بروتين آخر هو Calcitonin-gene related peptide (CGRP) في الغدة النخامية (الهيبوثلامس) Hypothalamus gland. العامل الرئيس الذي يتحكم في عملية القص واللصق هو وجود عوامل منشطة خاصة بالنسيج والتي تنظم العملية بكاملها (الشكل ٦- ٧).



(الشكل ٦-٧): يوضح عملية القص البديل في الغدة الدرقية لإنتاج بروتين الكالسيتونين وفي الغدة النخامية لإنتاج بروتين (CGRP)

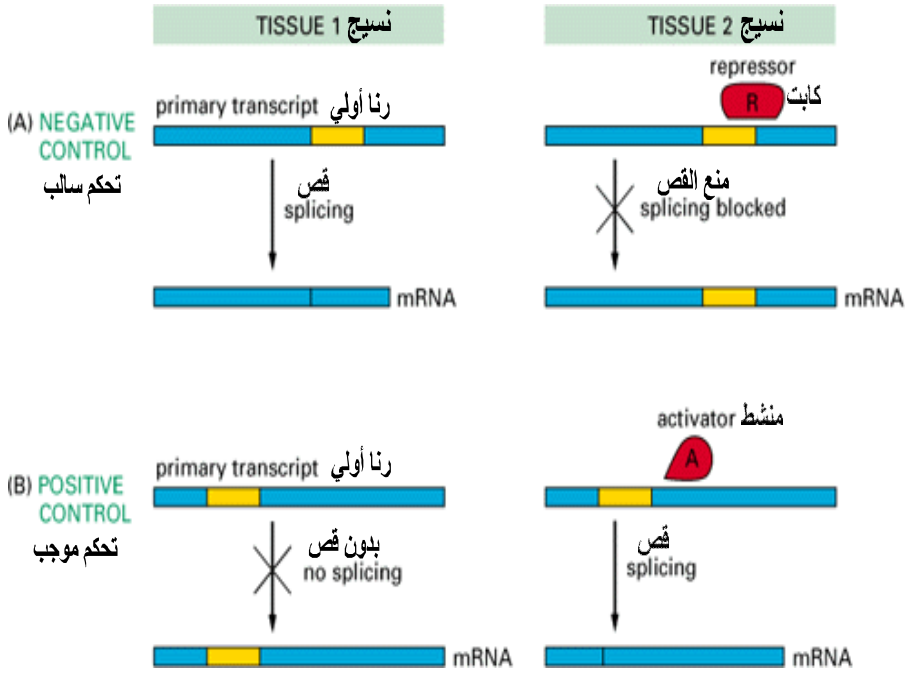
يوجد هناك أيضًا تحكم موجب وسالب في عملية القص واللصق البديل كما يلي:

أ- التحكم السالب Negative control:

لو افترضنا وجود نسيج ١ ونسيج ٢، نجد أن البروتين المثبط يرتبط بالرنا الأولي في النسيج ٢، ولهذا يمنع حدوث قص تتابعات الإنترون بعكس ما حدث في النسيج ١ (الشكل ٦-٨).

ب- التحكم الموجب Positive control:

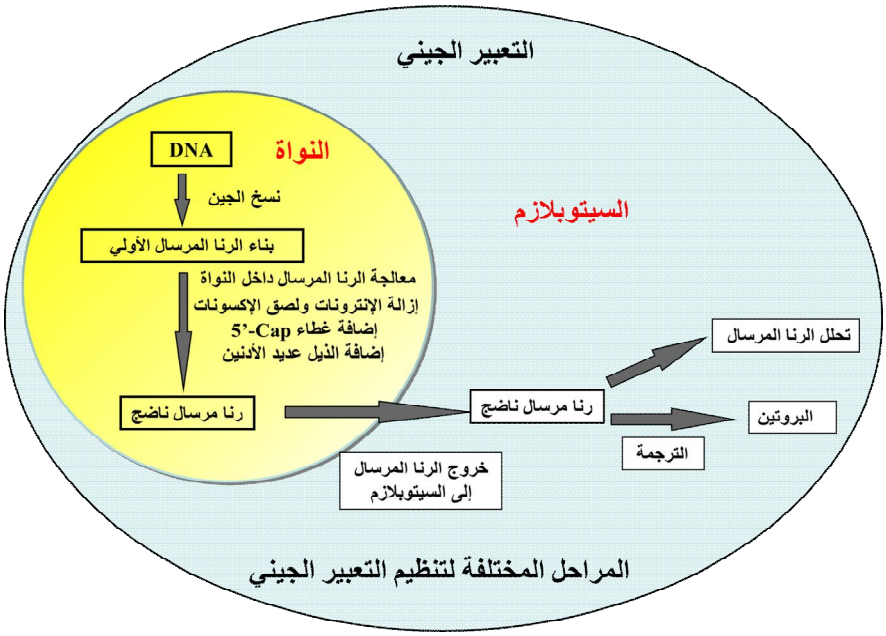
تكون عملية القص غير ممكنة بدون بروتين منشط ولهذا تبقى تتابعات الإنترون (الشكل ٦-٨).



(الشكل ٦-٨): يوضح التحكم الموجب والسالب للقص البديل

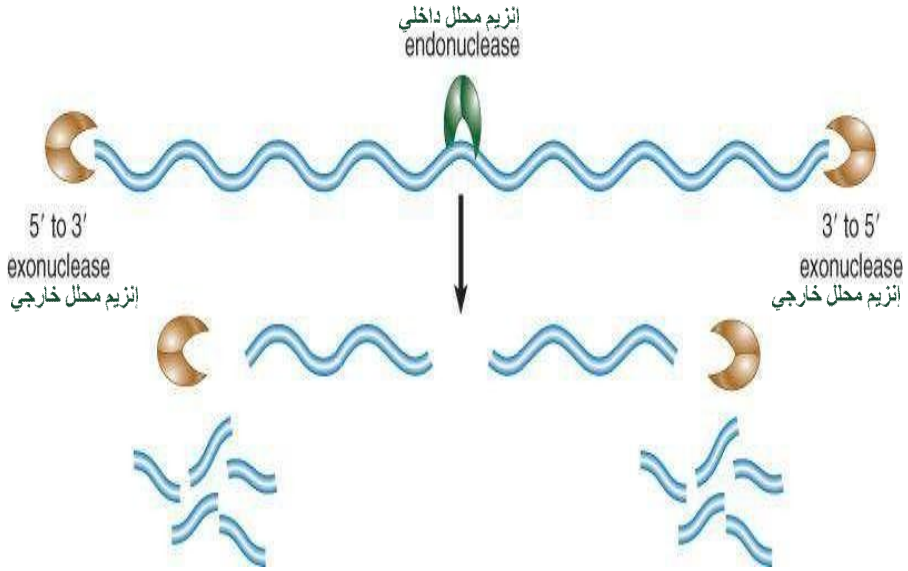
رابعًا: ثبات وتحلل الرنا المرسال mRNA stability & degradation:

تعتبر معالجة جزيئات الرنا المرسال واستقراره وانتقاله من النواة إلى السيتوبلازم ثم تحلله في نهاية المطاف بعد أن تم بناء البروتين من أهم أحداث ما بعد عملية النسخ (الشكل ٦-٩). سيتم توضيح كيفية ثبات الرنا المرسال وتحلله في الصفحات التالية. تبقى جزيئات الرنا المرسال ثابتة ومستقرة داخل الخلايا لفترة معينة تسمى بنصف العمر Half-life ثم تتحلل بعد ذلك، يُعّرف نصف العمر بأنه الوقت الذي تفقد خلاله أي مادة فعّالة حيويًا نصف نشاطها الحيوي أو الفيسولوجي في الجسم. الجدير بالذكر أن فترة البقاء أو نصف العمر لجزيئات الرنا المرسال تختلف داخل الخلية الواحدة كما تختلف من خلية إلى أخرى ومن كائن إلى آخر حسب نوع الرنا المرسال وطوله وتعرضه للعوامل التي تفقده نشاطه وحيويته كما سيتضح لاحقًا. يكون نصف العمر للرنا المرسال في الخلايا بدائية النواة منخفضاً، حيث يتراوح ما بين ثوانٍ إلى دقائق، وبعد إنهاء عملية الترجمة يتحلل الرنا المرسال بسرعة، بينما تصل فترة التحلل في حقيقيات النواة ما بين دقائق إلى أيام.



(الشكل ٦-٩): يوضح المراحل المختلفة لتنظيم التعبير الجيني

يتم تحلل الرنا المرسال بفعل الإنزيمات المحللة للرنا Ribonucleases بآليات مختلفة، سواء من الوسط الداخلي Internal sites بفعل الإنزيمات الداخلية Endonucleases أو عند الأطراف Terminals بفعل الإنزيمات الخارجية Exonucleases (الشكل ٦-١٠). يوجد هناك نوع من التوازن داخل الخلايا حقيقية النواة بين عمليات الترجمة وتحلل الرنا.



(الشكل ٦-١٠): يوضح أنواع الإنزيمات المحللة للرنا المرسال.

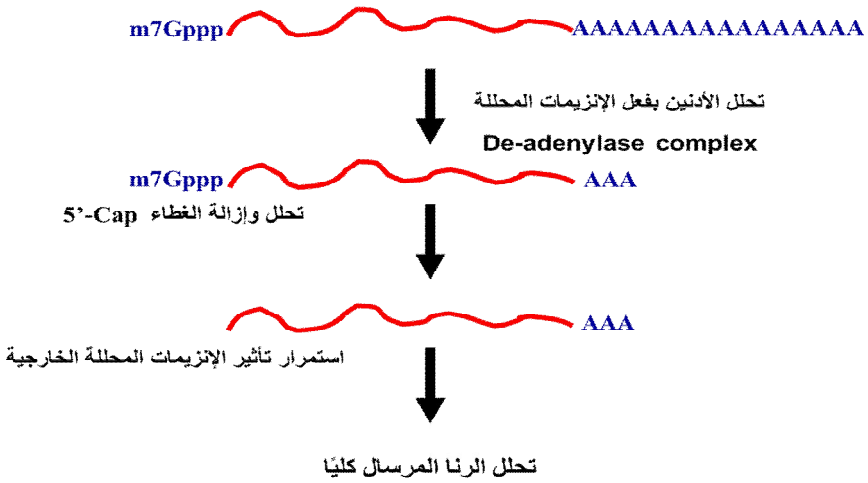
تحلل الرنا المرسال في حقيقيات النواة Eukaryotic mRNA degradation:

يتأثر ثبات وتحلل الرنا المرسال في الكائنات حقيقية النواة بالعديد من العوامل من أهمها:

أ- الذيل عديد الأدنين والغطاء 5'-Cap:

إن إزالة أو فقدان الذيل عديد الأدنين عند النهاية '3 و/أو مركب ٧- ميثيل جوانوزين 7-mG عند النهاية '5 سيؤدي إلى إعاقة عمل الرنا المرسال وعدم ثباته، مما يسهل مهاجمته من قبل الإنزيمات المحللة وتحلله بشكل أسرع. يتم تمييز الذيل عديد الأدنين بواسطة بروتينات خاصة تسمى بالبروتينات المرتبطة بالذيل عديد الأدنين Poly-A-binding proteins، التي تعمل على استقرار وثبات هذا

الذيل، لكن مع تقدم عمر جزيئات الرنا الناضجة تميل تلك الذيول إلى القصر بسبب تعرضها للإنزيمات الخلوية الخارجية. بمجرد وصول هذه الذيول إلى أقل من ١٠-٣٠ نيوكليوتيدة أدنين لا تستطيع البروتينات المرتبطة بالذيل البقاء عند هذا الطول، مما يؤدي إلى زيادة سرعة تحلل تلك الذيول من قبل الانزيمات المحللة (الشكل 6-١١). يقدر متوسط نصف العمر للرنا المرسال في بكتيريا القولون ٤ دقائق وفي الخميرة ٢٢ دقيقة وفي الإنسان ١٠ ساعات.



(الشكل ٦-١١): يوضح أنواع الإنزيمات المحللة للرنا المرسال

ب- المناطق الغنية بتتابعات الأدنين واليوراسيل AU-rich elements:

إن وجود ووفرة تتابعات الأدنين واليوراسيل في بعض جزيئات الرنا المرسال عند الثدييات يزيد من عدم استقرار الرنا المرسال وسرعة تحلل الذيل عديد الأدنين. تتركز العناصر المزيلة للاستقرار بالقرب من منطقة 3'-UTR.

ج- الإشارات الخارج خلوية Extracellular signals:

تلعب الإشارات الصادرة من خارج الخلية، مثل عوامل الإجهاد البيئي

دورًا مهمًا في عدم استقرار جزيئات الرنا المرسال، حيث يستجيب الرنا لتلك الإشارات التي تعمل بمثابة المحفزات البيئية المؤثرة على نصف عمر الرنا المرسال، وهذا بدوره ينعكس على كيفية نمو الخلايا وتمايزها واستجابتها للعوامل البيئة المحيطة.

د- أنواع الرنا المتداخل RNAi:

ارتباط أنواع الرنا المتداخل siRNA و/أو miRNA بالرنا المرسال يؤدي إلى تحلله كما تم توضيحه سابقًا.

خامسًا: ثبات وتحلل البروتين Protein stabilization & degradation:

على الرغم من أن عملية النسخ تعتبر هي المرحلة الأهم التي تتم عندها أهم الأحداث الموجهة لتنظيم التعبير الجيني، إلا أن تنظيم عملية الترجمة أيضًا جزء مهم في عملية تنظيم التعبير الجيني. يتم خلال الترجمة قراءة الشفرات الوراثية المحمولة على الرنا المرسال والتي يتم بناء عليها ترتيب الأحماض الأمينية في سلسلة عديدة الببتيد في الخلايا حقيقية النواة وبدائية النواة. هناك العديد من آليات التنظيم التي تتحكم في عملية الترجمة ومنها على سبيل المثال: ارتباط بروتينات كابتة بتتابعات خاصة على الرنا المرسال تؤدي إلى توقف عملية الترجمة. كما أن هناك آليات أخرى سيتم توضيحها في الصفحات القادمة.

قبل البدء في توضيح ثبات وتحلل البروتين لابد من التطرق لبعض المفاهيم الأساسية المتعلقة بعملية الترجمة التي يتم من خلالها صنع البروتين ومنها:

١- الشفرة الوراثية The genetic code:

تمثل الشفرة الوراثية المعلومات الوراثية التي توجد في تتابع أزواج القواعد النيتروجينية للدنا والتي تشفر أو تحدد تتابع الأحماض الأمينية في سلسلة عديد

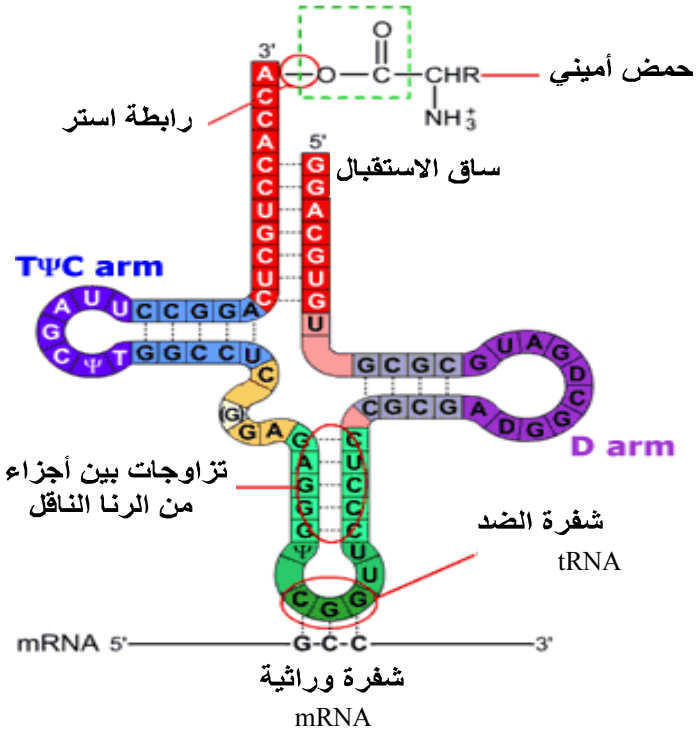
البتيد. كما تُعرّف الشفرة الوراثية بأنها العلاقة بين تتابع القواعد النيتروجينية NBs في الدنا أو الرنا المرسال المستنسخ منه وتتابع الأحماض الأمينية في سلسلة عديد البتيد. تستخدم كل الكائنات الحية تقريبًا نفس الشفرات الوراثية لتحديد الأحماض الأمينية أو إنهاء عملية الترجمة، فيما عدا بعض الحالات النادرة جدًا.

٢- الكودون Codon:

يتألف الكودون من تتابع ثلاث قواعد نيتروجينية متجاورة في الرنا المرسال mRNA والتي تحدد إما حمضاً أمينياً معيناً في سلسلة عديد البتيد، أو إنهاء عملية الترجمة. هذا التعريف يماثل إلى حد كبير تعريف الشفرة الوراثية. كل كودون مسؤول عن تحديد حمض أميني واحد فقط، إلا أن معظم الأحماض الأمينية تحدد بأكثر من كودون واحد. الكودونات غير متداخلة Non-overlapping، بمعنى أن كل قاعدة نيتروجينية توجد في موقع معين من الرنا المرسال هي جزء من كودون واحد فقط ولا تشترك مع كودون آخر بأي من القواعد النيتروجينية المكونة لها.

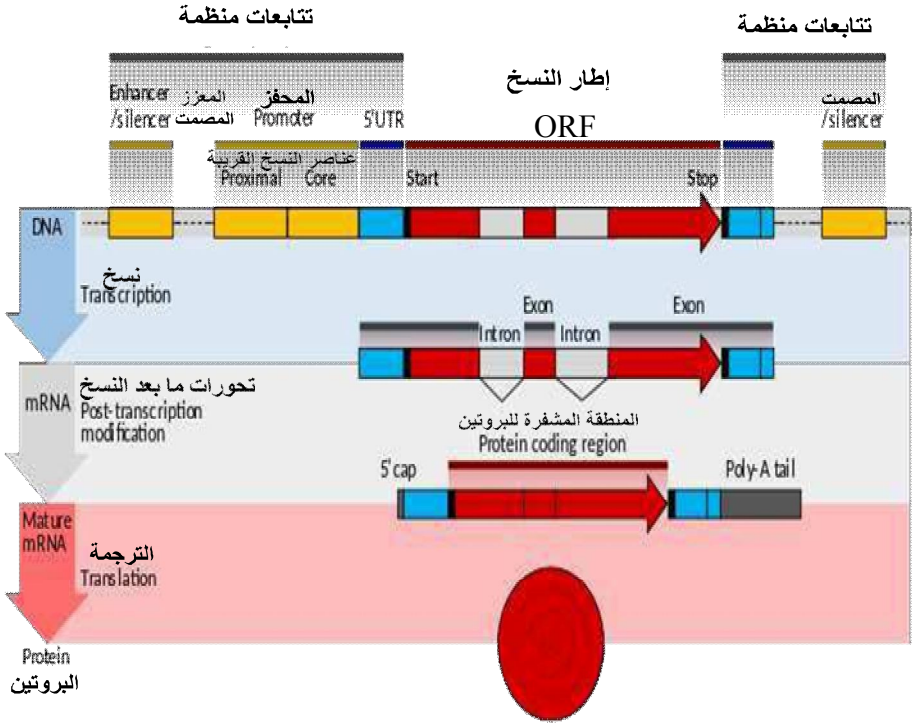
٣- الكودون المضاد Anti-codon:

يتألف الكودون المضاد من تتابع ثلاث قواعد نيتروجينية متجاورة توجد في منطقة معينة من الرنا الناقل tRNA والذي يميز أو يترجم كودونات الرنا المرسال (الشكل ٦-١٢).



(الشكل ٦-١٢): يوضح شكل وتركيب الرنا الناقل tRNA

يطلق على نسخ الشفرات الوراثية إلى الرنا المرسال ثم ترجمتها إلى البروتين مبدأ المركزية Central dogma. يتم نسخ تتابعات الدنا المكونة للجين المستهدف أما المنطقة المجاورة للجين التي تسمى Flanking region (FR) فلا تنسخ ولا تترجم. تقع المنطقة المجاورة للجين FR بالقرب من الجين وتحتوي على المحفز وبعض عناصر النسخ وقد تحتوي على المعزز. الكثير من المراجع تحصر منطقة FR عند الطرف 5' فقط إلا أن البعض يعممها لتشمل كلا الطرفين (الشكل ٦-١٣). من المهم عدم الخلط بين المناطق الطرفية للجين 5'-FR التي لا تنسخ ولا تترجم وبين تتابعات الدنا التي تنسخ ولا تترجم 5'-Untranslated region (5'-UTR) (انظر الفصل ٥ والشكل ٥-١) (Fiszer *et al.*, 2003).



(الشكل ٦-١٣): يوضح الخطوات الرئيسية لبناء البروتين

تم توضيح آلية بناء البروتين بالتفصيل في كتاب علم الخلية والوراثة، ولذلك سوف نبين هنا فقط أبرز تفاصيل عملية الترجمة حتى يكون التعبير الجيني متسلسلاً ومتكاملاً.

الترجمة (تصنيع البروتين) (Translation (protein synthesis):

تتم عملية تصنيع البروتينات الخلوية عن طريق ترجمة الشفرات الوراثية إلى أحماض أمينية متتابعة (متسلسلة). تحتاج هذه العملية إلى مشاركة العديد من الجزيئات مثل جزيئات الرنا بأنواعها، الأحماض الأمينية، الرايبوسومات، مصدر طاقة، إنزيمات متخصصة، عوامل تحرير وعوامل مساعدة أخرى (القحطاني، ٢٠١٢).

مراحل عملية الترجمة:

تبدأ مراحل عملية الترجمة بتنشيط الأحماض الأمينية أو ما يسمى بالشحن، حيث يرتبط كل حمض أميني بالرنا الخاص به بمساعدة إنزيمات خاصة منشطة تسمى Aminoacyl-tRNA synthetases. تتم هذه العملية في السيتوبلازم ولكن ليس على الرايبوسوم. يمكن اختصار معادلة تنشيط الأحماض الأمينية كالآتي:

$$\text{Amino Acid} + \text{tRNA} + \text{ATP} + \text{E} \rightarrow \text{Amino Acyl} - \text{tRNA} + \text{AMP} + 2\text{Pi}$$

يتم الربط بين الحمض الأميني والرنا الناقل عن طريق مجموعتي الهيدروكسيل (OH) لكل منها. تتضمن عملية الترجمة ثلاث مراحل كما يلي: -

أ – مرحلة البدء Initiation:

يبدأ بناء البروتين بتكوين معقد البدء Initiation complex الذي يتكون من الرنا الناقل للحمض الأميني المثيونين Met-tRNA والذي يرتبط به تحت وحدة الرايبوسوم الصغرى Small subunit وبتحفيز عامل البدء الثالث Initiation factor III. يحفز معقد البدء الرنا الناقل للمثيونين ومعه تحت الوحدة الصغرى من الرايبوسوم للتحرك نحو الرنا المرسل ليتحد مع شفرة البدء AUG بمساعدة عامل

بدء بروتيني آخر. بعد ذلك تلتصق تحت الوحدة الكبرى Large subunit للرايبوسوم من هذا المعقد بحيث تقع شفرة البدء في الموقع الببتيدي Peptidyle site (P-site) من تحت الوحدة الكبرى للرايبوسوم، ثم يرتبط الرنا الناقل tRNA الذي يحمل الشفرة المضادة Anti-codon لشفرة المثيونين في أحد طرفيه ويحمل الحمض الأميني المثيونين في طرفه الآخر.

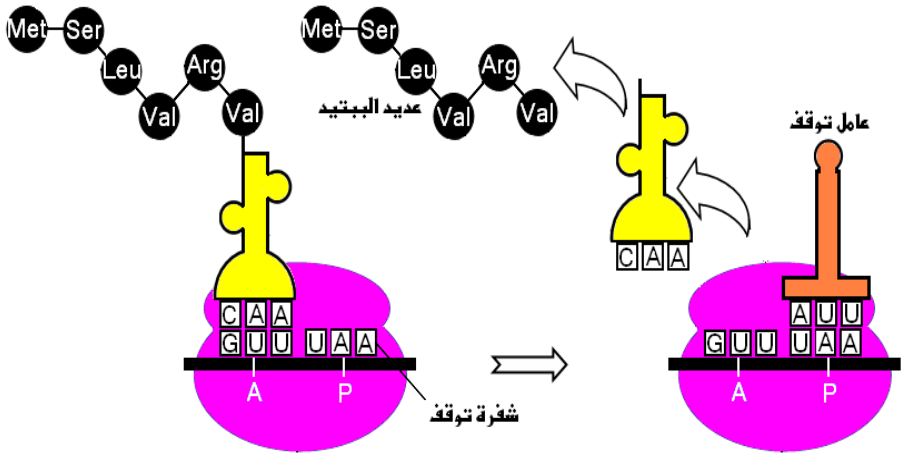
ب – مرحلة الاستطالة Elongation:

بمجرد اتصال الرنا الناقل للمثيونين بشفرة البدء تصبح الشفرة الوراثية التالية على الموقع Aminoacyl site (A-site) في الرايبوسوم جاهزة لاستقبال الرنا الناقل للحمض الأميني التالي. يحفز الرنا الناقل من قبل إنزيم التنشيط الخاص به حتى يتمكن من ربط ونقل الحمض الأميني التالي لمكانه المناسب على الرنا المرسال. يتم تحديد موقع أي حمض أميني على الرايبوسوم من خلال التوافق بين الشفرة الوراثية على الرنا المرسال وشفرة الضد على الرنا الناقل وبمساعدة عامل مساعد يعرف بعامل الاستطالة Elongation factor، هذا العامل يلعب دورًا رئيسًا في استطالة السلسلة الببتيدية. ينزلق الرايبوسوم على طول الرنا المرسل بالاتجاه '5 إلى '3 وبمعدل شفرة وراثية واحدة فقط، وبذلك ينفصل الرنا الناقل بعد أن ترك الحمض الأميني متصلاً مع الحمض الذي يسبقه بروابط ببتيدية Peptide ponds. يعود الرنا الناقل إلى السيتوبلازم لينقل حمضاً أمينياً جديداً وهكذا. تستمر عملية ربط الأحماض الأمينية الواحد تلو الآخر حسب الشفرات الوراثية المنسوخة على طول جزيء الرنا المرسل حتى النهاية عند شفرة التوقف واكتمال بناء البروتين.

ج– مرحلة الإنهاء Termination

يتم فصل سلسلة عديد الببتيد الكاملة عن الرايبوسوم عند الوصول إلى شفرة التوقف أو ما يسمى بالشفرات عديمة المعنى Nonsense codon على الرنا

المرسال وهي UAA، UAG، UGA والتي لا يوجد لها رنا ناقل متخصص ولا تشفر لأي حمض أميني. تعتبر شفرات التوقف بمثابة نهاية سلسلة بناء البروتين. تهاجم شفرات التوقف بعامل بروتيني يعرف بعامل التلخيص أو الإطلاق Release factor الذي يعزى إليه تحرير البروتين الذي تم بناؤه. تبدأ عملية بناء بروتين آخر بنفس الخطوات عند الحاجة إلى ذلك (الشكل 6- ١٤).



(الشكل ٦-١٤): يوضح عملية إنهاء سلسلة عديد الببتيد

بعد أن تمر عملية بناء البروتين بالمراحل السابقة، يكتمل صنع البروتين، لكن ذلك لا يعني إنتاج بروتينات فعّالة Functional proteins، فلا بد أن تخضع تلك الببتيدات لعدة تحورات أو تغيرات معينة قبل أن تعطي الأشكال ثلاثية الأبعاد Three dimensional conformation الفعّالة أو ما يسمى Native configuration.

تحور سلسلة عديد الببتيد Modification of polypeptide chain:

تحدث لسلسلة عديد الببتيد مجموعة من التحورات لتعطي بعد ذلك بروتيناً فعّالاً. من أمثلة تلك التحورات: إزالة الحمض الأميني المثيونين Meth – الحمض

الأول في عملية الترجمة –عند الطرف–'5 N-terminal للعديد من الببتيدات، مما يعني عدم وجود هذا الحمض الأميني في التركيب النهائي للبروتين. تتم إزالة المثيونين بعد نمو الطرف–'5 مباشرة وخروجه من الرايبوسوم، يلي ذلك إضافة مجاميع كيميائية فعّالة مثل مجموعة الأستيل $COCH_3$ وعمليات فسفرة Phosphorylation و/أو إضافة سلاسل من الأحماض الدهنية. من التحورات كذلك ربط سلسلة ببتيد واحدة أو أكثر مع بعضها البعض أو مع أيونات محددة لإنتاج معقد فعّال كما في مركب الهيموجلوبين Hemoglobin المكون من ٤ ذارت حديد مرتبطة مع بروتين الجلوبين. أيضًا تخضع بعض البروتينات للتفلج Cleavage والارتباط التساهمي مع السكريات و/أو الدهون. فيما يخص الرايبوسوم تنفصل وحدات الرايبوسوم وتعود إلى وضعها السابق قبل الاتحاد، حيث تنفصل تحت الوحدة الكبرى عن تحت الوحدة الصغرى. تتحرك البروتينات بعد إتمام عملية التحور إلى مكانها المخصص داخل الخلية أو على الأغشية الخلوية من خلال عملية التمركز Proteins localization.

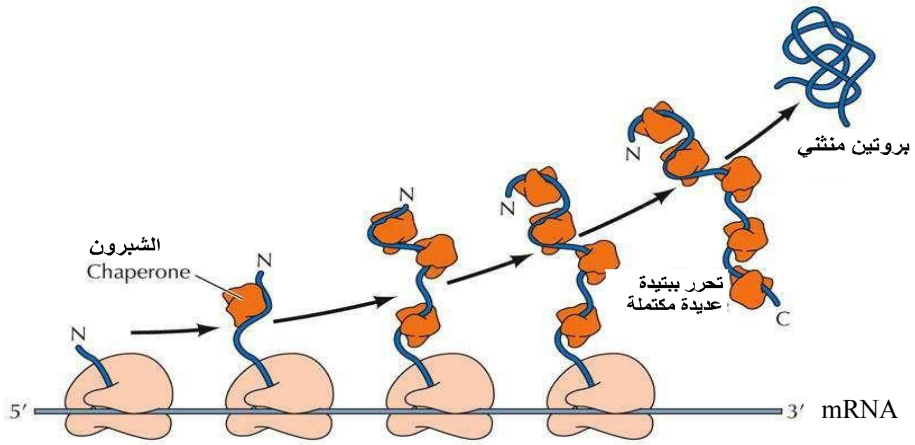
آليات تحور البروتينات ومعالجتها:

يوجد عدد من الآليات الحيوية التي تؤدي إلى تحور البروتينات ومن أهم تلك الآليات ما يلي:

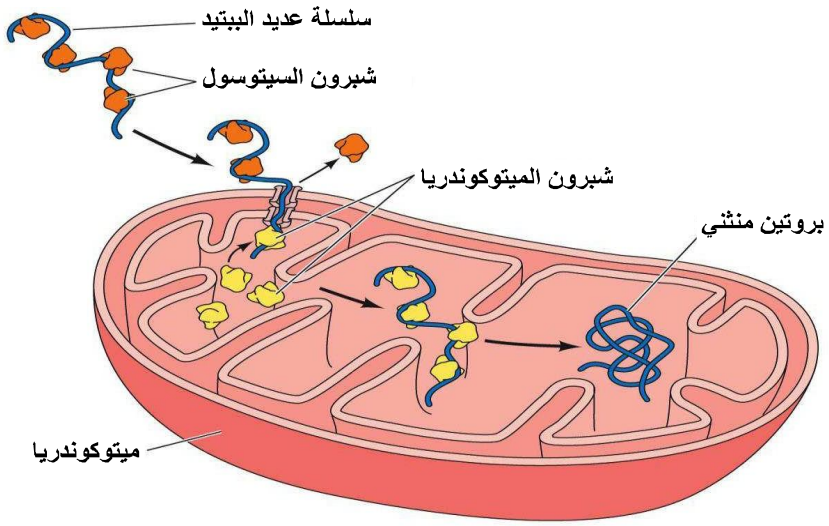
أولاً: آلية الشبرونات Chaperones:

الشبرونات هي بروتينات جزيئية تعمل على تسهيل عملية الانثناء الذاتي لبروتينات أخرى إلى الشكل ثلاثي الأبعاد، حيث تعمل الشبرونات على بقاء سلسلة عديد الببتيد النامية ممتدة (غير منثنية) لحين اكتمال بناء البروتين (الشكل ٦–١٥). عندما تنفصل سلسلة عديد الببتيد من الرايبوسوم تعمل الشبرونات على تحفيز وتسهيل عملية الانثناء الطبيعي لسلسلة عديد الببتيد دون أن تكون تلك

الشبرونات جزءاً من المعقد المتكون بعد عملية الانثناء. عند غياب الشبرونات تكون الببتيدات العديدة غير المنثية أو المنثنية جزئيًا غير مستقرة داخل الخلايا أو ربما تنثني بشكل غير طبيعي، وبالتالي لا تؤدي وظيفتها بشكل صحيح، أو لا تعمل نهائيًا. تعمل شبرونات السيتوسول Cytosolic chaperones، كذلك على استقرار السلاسل الببتيدية غير المنثنية خلال انتقالها من السيتوسول إلى عضيات أخرى كالميتوكوندريا مثلاً، حيث تعمل شبرونات الميتوكوندريا على تسهيل استلام ونقل البروتينات غير المنثنية من السيتوسول إلى داخل الميتوكوندريا حتى تصل للمكان المناسب (الشكل ٦-١٦). كما تعمل الشبرونات على تجميع البروتينات التي تتكون من وحدات عديدة Subunits. ترتبط الشبرونات بالببتيدات العديدة ارتباطًا عكوسًا، وهذا الارتباط يحتاج إلى صرف طاقة ATP.



(الشكل ٦-١٥): يوضح عمل الشبرونات أثناء عملية الترجمة



(الشكل ٦-١٦): يوضح عمل الشبرونات أثناء عملية الترجمة والنقل ودور شبرونات الميتوكوندريا

ثانياً: دور الإنزيمات في انثناء البروتينات Enzymes and protein modifications:

تمتلك الخلايا بالإضافة إلى الشبرونات بعض الإنزيمات المساعدة في انثناء البروتينات مثل إنزيمات الفولديز Foldases، التي تعمل على تحفيز انثناء البروتينات من خلال تكسير وإعادة تكوين الروابط التساهمية بين الأحماض الأمينية. عادة لا تتم عملية انثناء البروتينات في الخلايا الحية بشكل تلقائي، بل لا بد من مساعدة إنزيمات معينة كإنزيم الفولديز الذي يعمل بشكل مباشر على تسريع عملية الانثناء حتى يتخذ البروتين شكلة الطبيعي والنهائي ويصبح بروتيناً فعّالاً يؤدي وظيفته بشكل سليم.

تحلل البروتينات Protein degradation:

بعد اكتمال بناء البروتينات تقوم بوظيفتها المناطة بها أينما كانت سواء داخل الخلية أو على الغشاء الخلوي أو في خلايا أخرى. وبعد الانتهاء من القيام بوظيفتها بشكل تام تنتهي الحاجة لوجودها فتتحلل تلك البروتينات. تتباين مدة تحلل البروتينات أو ما يسمى بنصف العمر داخل الخلايا، حيث تتراوح من دقائق إلى أيام. تتحلل البروتينات المنظمة لعملية النسخ بسرعة. يتم تمييز البروتينات غير السليمة أو التي انتهى دورها ومن ثم تحللها داخل الخلية لمنع الضرر الذي قد ينتج عن بقائها في الخلية.

يوجد مساران لتحلل البروتينات في الخلايا حقيقية النواة هما:

مسار الأبيكويتين - الجسم المحلل Ubiquitin-proteasome:

يعتبر هذا المسار الرئيسي للتحلل الانتقائي للبروتينات في حقيقيات النواة. يشارك في هذا المسار ما يُعرف بالأبكوتين Ubiquitin، وهو بروتين مكون من ٧٦ حمضاً أمينياً يعمل كواسم لوسم أو تعليم Tagging بروتينات نووية وسيتوبلازمية محددة Specific proteins، لغرض تحللها السريع بواسطة معقد إنزيمي بروتيني محلل يسمى بالجسم المحلل للبروتين (بروتيسوم) Proteasome. أما البروتينات الأخرى Nonspecific proteins، فتتحلل بواسطة مسار التحلل اللايسوسومي بواسطة الأجسام المحللة Lysosomes.

خطوات وسم البروتين وتحلله:

تحدث عملية وسم البروتين ومن ثم تحلله على عدة مراحل يمكن إيجازها فيما يلي:

١. يتم تعليم البروتين المراد تحلله عن طريق التصاق بروتين الأبكوتين بمجموعة

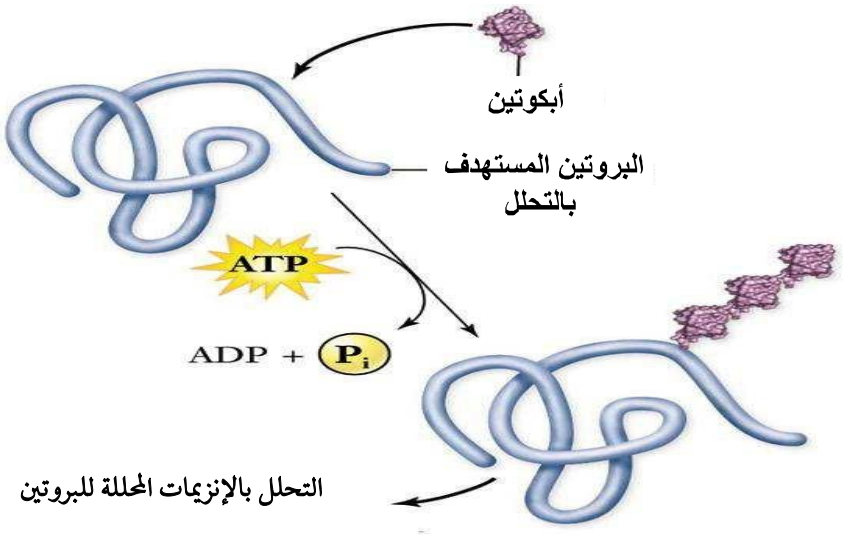
الأمين NH_2 للحمض الأميني اللايسين Lys بمساعدة الإنزيم اللاصق الليجيز Ligase (الشكل ٦-١٧).

٢. تضاف أجزاء أخرى من الأبكوتين لمواقع أخرى من الحمض الأميني اللايسين.

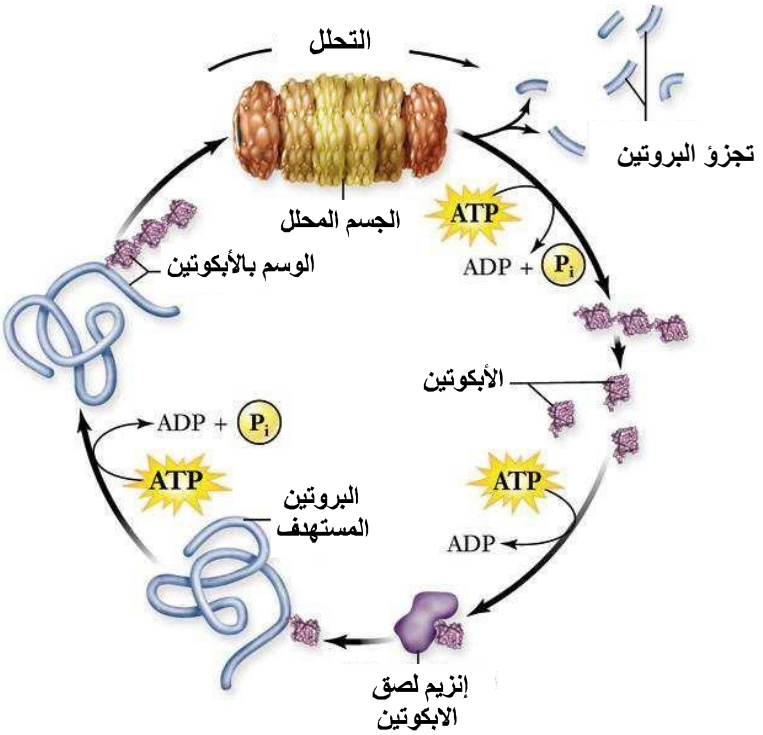
٣. يتم تمييز الأبكوتين والتعرف عليه بواسطة معقد إنزيمي بروتيني متعدد الوحدات يسمى بالجسم المحلل للبروتين Proteasome.

٤. بعد انتهاء عملية التحلل تتحرر جزيئات الأبكوتين ليعاد استخدامها مرة أخرى لتحليل بروتين آخر (الشكل ٦-١٨).

التصاق الأبكوتين بالبروتينات يؤدي إلى تحللها السريع، ولذلك فإن استقرار البروتينات داخل الخلية يحدد بواسطة وسمها بالأبكوتين من عدمه. تتطلب جميع العمليات السابقة صرف طاقة ATP.



(الشكل ٦-١٧): يوضح خطوات وسم البروتين



(الشكل ٦-١٨): يوضح خطوات وسم البروتين وتحلله

ب- مسار التحلل اللايسوسومي Lysosomal proteolysis:

مسار التحلل اللايسوسومي أحد المسارات الرئيسية لتحليل البروتينات في حقيقيات النواة، يتضمن هذا المسار احتواء وإدخال Endocytosis البروتينات غير المرغوب فيها، وغيرها من العضيات التالفة داخل الأجسام المحللة (اللايسوسومات) ليتم هضمها بالإنزيمات الهاضمة.

اللايسوسومات عبارة عن حويصلات كروية الشكل صغيرة الحجم يتراوح قطرها بين ٠,٢٥ - ٠,٥ مايكرومتر تنتشر داخل السيتوبلازم وتحتوي بداخلها على إنزيمات محللة Hydrolytic enzymes ومن هنا جاءت تسميتها بالأجسام المحللة

فهي المسؤولة عن تحلل معظم الجزيئات الكبيرة في الخلية، وكذلك التحلل الذاتي للخلية بعد موتها بفعل إنزيمات خلوية داخلية تعرف بإنزيمات التحلل الذاتي Autolysis enzymes. قدر عدد إنزيمات التحلل المائي المكتشفة في الأجسام المحللة حوالي ستين إنزيمًا، من أهمها إنزيمات النيوكليز Nucleases والبروتيز Proteases والليبيز Lipases والفوسفاتيز الحمضي Acid phosphatases وغيرها، ولا يعني ذلك أن جميع الإنزيمات توجد في لايسوسوم واحد. توجد اللايسوسومات في معظم أنواع الخلايا إلا أنها تكثر في الخلايا التي تقوم بنشاط ابتلاعي مثل الخلايا الأكولة Macrophages وخلايا الدم البيضاء Leukocytes (سعد القحطاني ٢٠١٢).

التحكم الهرموني في التعبير الجيني Hormonal control of gene expression:

تصنع الهرمونات عادة في خلايا معينة ثم تنتقل إلى الخلايا المستهدفة Target cells، حيث تقوم الهرمونات بعملها التنشيطي أو التثبيطي للتعبير الجيني. الهرمونات البروتينية مثل الانسولين كبيرة الحجم، وبالتالي لا تستطيع دخول الخلايا المستهدفة ولكنها تعمل بشكل أساسي عن طريق الارتباط بمستقبلات على سطح الخلية، مما ينشأ عنه إرسال اشارات Signals عبر غشاء الخلية تنشط عدة تغيرات داخل الخلية، بينما الهرمونات الاسترويدية صغيرة الحجم وغالبًا ما تدخل داخل الخلية عن طريق ذوبانها في طبقة الدهن المكونة للغشاء الخلوي.

تلعب بعض الجينات مثل جينات الصدمة الحرارية Heat shock genes دوراً في تنظيم التعبير الجيني بواسطة الهرمونات. لقد عُرفت هذه الجينات بأنها الجينات التي يتم فيها التعبير كاستجابة للزيادة في درجة الحرارة، إلا أن هذا الرأي قد تغير عندما عرف عن هذه الجينات أنها تستجيب للمؤثرات البيئية الصعبة كالبرودة العالية وقلة الأكسجين وغير ذلك من الظروف البيئية، ولذا أطلق على جينات الصدمة الحرارية أيضًا اسم جينات الاستجابة للضغوط (الجهد) Stress response genes. اكتشف من هذه الجينات حوالي ٢٠ جيناً في الكائنات بدائية وحقيقية النواة والتي تنشط بفعل التأثيرات البيئية الصعبة. وظائف هذه الجينات غير مفهومة بشكل كامل إلا أن الأدلة المتوفرة تفيد بأن النواتج البروتينية لبعض هذه الجينات على الأقل تخفف من التأثيرات التي سببتها الظروف البيئية الصعبة كتغير درجات الحرارة أو التعرض لعوامل بيئية أخرى غير مناسبة والتي قد تتلف الخلايا بسبب التعرض لها. في ذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) يؤدي رفع درجة الحرارة من ٢٥م إلى ٣٧م لسلسلة من استجابات جينات الصدمة الحرارية وفي عدد مختلف من

الأنسجة، مما يؤدي إلى تنشيط جينات معينة وكبت جينات أخرى بهدف التكيف أو الاستقرار أو تحمل هذه الظروف الطارئة.

الهرمونات الاسترويدية Steroid hormones:

تفرز الغدد الصماء الهرمونات الاسترويدية مباشرة في الدم، وبما أن معظم جزيئات هذه الهرمونات صغيرة الحجم فإنها تدخل إلى داخل الخلية المستهدفة عن طريق ذوبانها في دهون الغشاء الخلوي وفي داخل الخلية ترتبط هذه الهرمونات بعوامل النسخ وتنظم عملية النسخ. تأثير الهرمونات الاسترويدية متنوع فمثلاً: هرمونات الجلوكوكورتيكويد Glucocorticoids تؤثر على أيض الغذاء في معظم خلايا الجسم من خلال السماح للخلايا بالاستفادة من الجلوكوز وكذلك هدم البروتينات. كذلك تؤثر هرمونات الكورتيكويد التناسلية Gonadocorticoids مثل الإستروجين والتستوستيرون على نمو ووظيفة المناسل. من الأمثلة الشائعة على ذلك أن هرمون الإستروجين في قناة البيض للدجاج يتسبب في تنشيط تصنيع بروتين البيضة Ovalbumin، ويتم هذا التنشيط عن طريق ارتباط هرمون الإستروجين مع مستقبل بروتيني موجود في سيتوبلازم الخلية، هذا المستقبل الهرموني هو أحد عناصر النسخ. عندما يصل المعقد المكون من الهرمون والمستقبل إلى النواة، فإن المستقبل يرتبط مع الدنا عند منطقة المعزز Enhancer، مما ينشط نسخ جين تصنيع بروتين Ovalbumin (سعد القحطاني ٢٠١٢).

تلعب الهرمونات الاسترويدية دوراً مهماً في ثبات البيئة الداخلية للجسم من خلال مسارات هرمونية محددة تتحكم في نشاط الجينات المنظمة للتعبير الجيني. هذا التحكم يوجه طريقة عمل جينات معينة في وقت وزمن محددين وبمقدار محدد. هذا التنظيم يحافظ على ثبات واستقرار حياة الكائن الحي. تقوم الهرمونات الاسترويدية بتنظيم التعبير الجيني إما بتنشيط عمل جينات محددة أو تثبيطها، كما

تؤثر الهرمونات الاسترويدية على محددات الوراثة اللاجينية Epigenetic فتتحكم في التمايز الخلوي Cellular differentiation وإعادة تشكل الكروماتين ونسخ الجينات وتعديل مستويات التعبير الجيني.

خطوات تنشيط الهرمونات الاسترودية للتعبير الجيني:

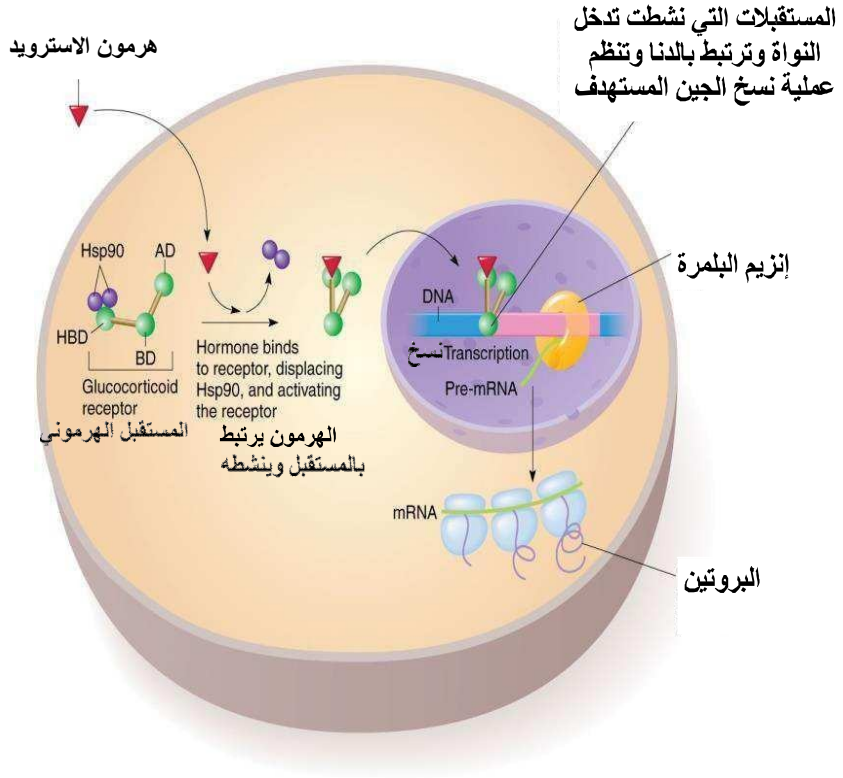
١. قبل ارتباط الهرمون بالمستقبل يكون المستقبل مرتبط ببروتينات الصدمة الحرارية Heat shock proteins (HSP) مثل Hsp90.

٢. يدخل الهرمون الاسترودي إلى داخل الخلية المستهدفة، التي تحتوي على المستقبلات الخاصة بهذا الهرمون، حيث يرتبط الهرمون بتلك المستقبلات وبتخصصية عالية.

٣. يؤدي ارتباط الهرمون بالمستقبل إلى استبعاد Hsp90 من البروتين، هذا التغير يحفز المستقبل للتحرك باتجاه النواة والدخول لها عبر الثقوب النووية Nuclear pore complex (NPC).

٤. بمجرد دخول الهرمون للنواة فإنه يرتبط بعناصر الاستجابة، وهي تتابعات نيوكليوتيدية Gene response elements (GREs) والتي تسمى كذلك بعناصر الاستجابة الهرمونية Hormone response elements (HREs).

٥. بعد ارتباط الهرمون بعناصر الاستجابة على الجين المستهدف يتم تحفيز عملية النسخ وبالتالي تصنيع البروتين المطلوب (الشكل ٦-١٩).



(الشكل ٦-١٩): يوضح خطوات تنشيط الهرمونات الاسترودية للتعبير الجيني

الهرمونات الببتيدية Peptide hormones:

مستقبلات الهرمونات الببتيدية عبارة عن بروتينات توجد على الغشاء الخلوي. وتعد تلك المستقبلات ضمن عوامل النسخ المنظمة. تفرز الغدد الصماء الهرمونات في الدم مباشرة ثم تدخل هذه الهرمونات الى الخلايا عن طريق المستقبلات البروتينية الموجودة في الغشاء الخلوي أو تذوب مباشرة في الغشاء الخلوي وهذا يعتمد على الوزن الجزيئي لكل نوع من تلك الهرمونات (Gauthier and Hewes 2006; Hidekazu *et al*., 2013).

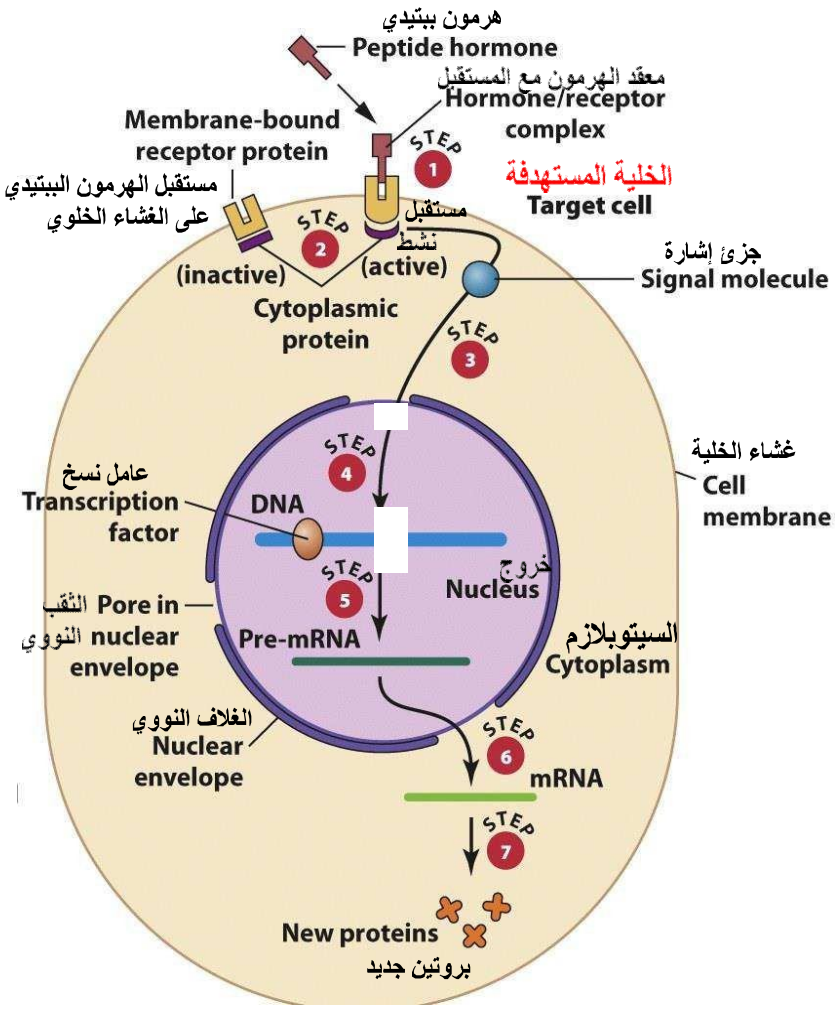
خطوات تنشيط الهرمونات الببتيدية للتعبير الجيني:

١. يرتبط الهرمون بالمستقبلات الموجودة على أسطح الأغشية الخلوية المستهدفة وينشطها.

٢. يبعث المستقبل بعد تنشيطه إشارات خلوية تؤثر على جزيئات بروتينية أخرى وتنشطها من خلال مسار إشارات خلوية متتالية.

٣. تعبر الإشارات الخلوية غشاء النواة وتحفز عوامل النسخ على الارتباط بالدنا.

٤. تنشط عوامل النسخ عملية النسخ ثم الترجمة وتصنيع البروتين المطلوب (الشكل ٦-٢٠).



(الشكل ٦–٢٠): يوضح خطوات تنشيط الهرمونات الببتيدية للتعبير الجيني

الفصل السابع
التوارث السيتوبلازمي
Cytoplasmic inheritance

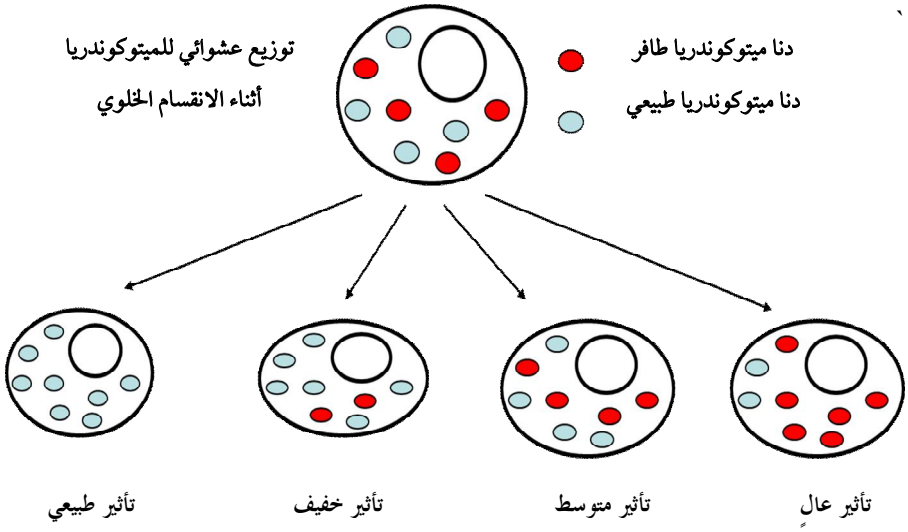
يوجد نمط من توارث الصفات يحدث بواسطة دنا الميتوكوندريا Mitochondrial DNA (mtDNA)، هذا النمط لا يتفق مع مبادئ مندل الوراثية Mendelian's principles. أطلق على هذا النوع من توارث الصفات بالتوارث السيتوبلازمي، كما سمي بالتوارث الأمومي Maternal inheritance نسبة للأم، لأن الصفة تنتقل من الأم فقط إلى أبنائها من الجنسين. يوصف هذا النوع كذلك بالتوارث خارج النواة Extra-nuclear inheritance لأنه ليس مرتبطاً بالدنا النووي.

بعد اكتشاف الدنا في عضيات خلوية أخرى غير النواة، كالميتوكوندريا Mitochondrial DNA (mtDNA) والكلوروبلاست Chloroplast DNA (chDNA) تبين أن الجينات الموجودة على دنا كل منهما تنتقل للأجيال التالية. تنتقل الجينات الموجودة على دنا الميتوكوندريا من الأم إلى كل المواليد، ولا تنتقل من الأب. لتفسير ذلك، يجب أن نتذكر أنه في الإنسان ومعظم الحيوانات يشارك الأب والأم بنفس عدد الكروموسومات في البويضة المخصبة Zygote، ولكن لا يغيب عن الذهن أن هناك آلاف الميتوكوندريا في سيتوبلازم كل من البويضة وذيل الحيوان المنوي قبل حدوث عملية الإخصاب. عند حدوث الإخصاب يندمج رأس الحيوان المنوي فقط والخالي من الميتوكوندريا مع البويضة. تبقى ميتوكوندريا الحيوان المنوي في الذيل خارج البويضة وتتحلل. بهذا لا يوجد في البويضة المخصبة إلا ميتوكوندريا الأم فقط، والتي تورث للأبناء بشكل عشوائي (شكل ٧-١).

يرث الأبناء أي صفات أو أمراض تتعلق بعيوب دنا الميتوكوندريا من الأم فقط.

تختلف أعداد الميتوكوندريا بين خلايا الكائنات الحية بشكل عام وبين خلايا نفس الكائن الحي. تعتمد وفرة الميتوكوندريا على نشاط وحيوية الخلايا والعمل الذي تقوم به تلك الخلايا. فكلما كانت الخلايا بحاجة لطاقة أعلى كلما زاد عدد الميتوكوندريا في تلك الخلايا، على سبيل المثال: يوجد تقريبًا ألف ميتوكوندريا في خلية الكبد، ومئة في خلية الجلد وأكثر من مليون في البيوضة (Evan, 2013).

يتضاعف دنا الميتوكوندريا والبلاستيدات بشكل مستقل عن تضاعف دنا النواة. وتعتبر متلازمة تلاشي الميتوكوندريا Mitochondrial depletion syndrome، من الأمراض المورثة من الأم، والتي ينتج عنها العديد من الأعراض التي تظهر على الجهاز العضلي والعصبي وتختلف شدة تأثيرها من شخص إلى آخر.



(شكل ٧-١): يوضح التوزيع العشوائي للميتوكوندريا أثناء الانقسام الخلوي

يؤثر جينوم الميتوكوندريا على الأحداث المبكرة للتكوين الجنيني، حيث تحدث الكثير من عمليات نسخ الرنا RNA transcripts في دنا الميتوكوندريا أثناء تكون البويضيات Oogenesis. نُسَخ الرنا لا تترجم مباشرة، بل تحفظ في البويضة Oocyte حتى تتم عملية الإخصاب، ثم تترجم لإنتاج البروتينات اللازمة لتوجيه عمليات الأيض Metabolism والأحداث الأولية للتكوين الجنيني.

جينوم الميتوكوندريا mtDNA genome:

معظم جينوم الميتوكوندريا عبارة عن شريط حلزوني ملتف بشكل كثيف Supercoiled وله شكل دائري Circular، بينما في بعض الأوليات والفطريات يكون له شكل خطي Linear. جينوم الميتوكوندريا خالٍ من البروتينات الهستونية والإنترونات كما في دنا البكتيريا. نظرًا لكثرة أعداد الميتوكوندريا في الخلايا فإن عزله وإكثاره باستخدام تقنية تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل Polymerase chain reaction (PCR) يتم بصورة سهلة وميسرة. يختلف حجم جينوم الميتوكوندريا بين الكائنات الحية، ففي الحيوانات عمومًا يتراوح ما بين ١٣- ١٨ كيلو قاعدة، بينما يقدر حجم جينوم الميتوكوندريا في الإنسان بحوالي ١٦٦٥٩ زوجاً قاعدياً.

يوجد دنا الميتوكوندريا في أي موقع داخل الحشوة Matrix فليس له مكان محدد. يحتوي جينوم الميتوكوندريا في الإنسان على ٣٧ جيناً قسمت إلى ثلاث مجموعات هي:

١. جينات الرنا الناقل tRNAs وعددها ٢٢ جيناً.
٢. جينات الرنا الرايبوسومي rRNAs وعددها جينان.
٣. الجينات المشفرة للبروتين mRNA وعددها 13 جيناً تساهم في عمليات التنفس الخلوي.

تتطلب المعلومات الوراثية على دنا الميتوكوندريا إلى عوامل مشابهة لما يتم في دنا النواة مثل: إنزيم بلمرة الدنا، عوامل التضاعف، إنزيم بلمرة الرنا، عوامل النسخ، البروتينات الرايبوسومية، عوامل الترجمة، بالإضافة إلى إنزيمات التنفس.

البناء الهندسي لدنا الميتوكوندريا mDNA Structure:

يتكون شريط دنا الميتوكوندريا من سلسلتين كما في (الشكل ٧- ٢) هما:

أ – السلسلة الثقيلة Heavy strand:

يتم فيها النسخ باتجاه عقارب الساعة عند السهم السفلي وتشفر للجينات التالية:

١. جينان للرنا الرايبوسومي rRNA هما 12S و 16S.
٢. جينات الرنا الناقل tRNAs وعددها ١٤ جيناً.
٣. وحيدات Subunits المعقد–I (ND 1-6) وعددها ٦.
٤. وحيدات المعقد–III وعددها ٣.
٥. وحيدة Subunit المعقد–IV (COX).
٦. وحيدتان للمعقد–V (ATPase).

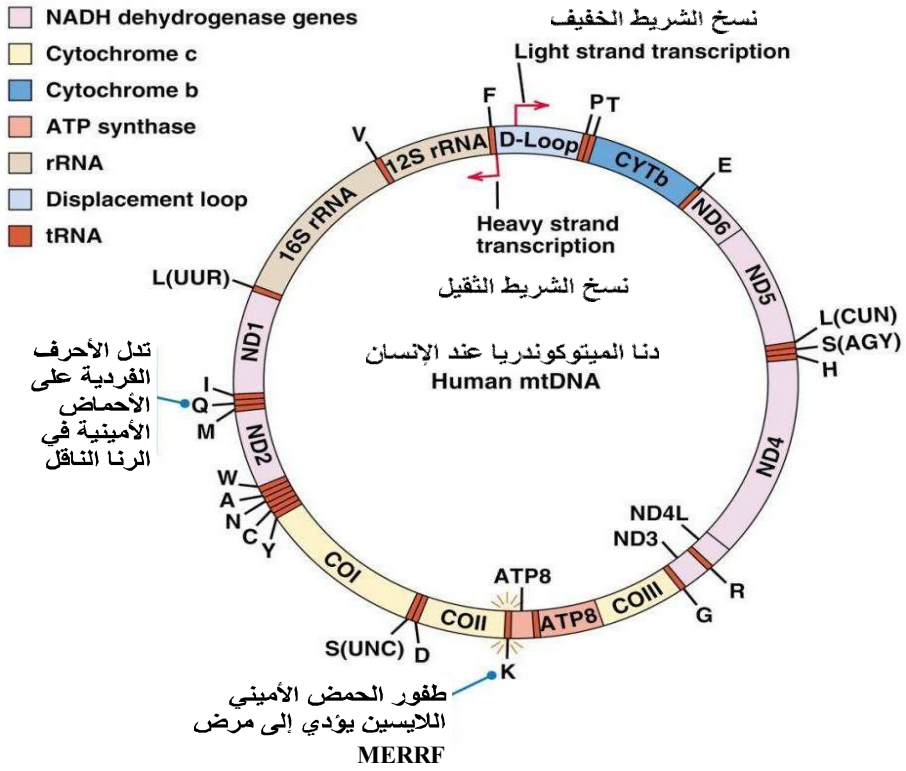
ب – السلسلة الخفيفة Light strand :

يتم فيها النسخ بعكس اتجاه عقارب الساعة عند السهم العلوي وتشفر للجينات التالية:

١. جين ND6.
٢. جينات الرنا الناقل tRNAs وعددها ٨.

يبدأ تضاعف دنا الميتوكوندريا عند منطقة D-loop وتدل الأحرف الفردية

على نوع الحمض الأميني في الرنا الناقل tRNA. كما تشير المناطق الملونة إلى مواقع الجينات المشفرة لإنزيمات الميتوكوندريا أو جينات الرنا. يشير الموقع K إلى الجين المسؤول عن الصرع العضلي، وهو من الأمراض المرتبطة بدنا الميتوكوندريا والذي يؤثر على أجزاء مختلفة من الجسم، خصوصًا الجهاز العضلي والعصبي في مراحل الطفولة أو البلوغ. من أعراض المرض تمزق العضلات وضعفها وتصلبها أحيانًا، فقدان السمع، ضمور العصب البصري، تشنجات عضلية، تراكم حمض اللبن Lactic acid في الدم، مما يسبب عدم تناسق الحركة. معظم المصابين بهذا المرض لديهم مزيج من دنا الميتوكوندريا الطبيعي والطافر، ولهذا تعتمد شدة المرض على مستوى دنا الميتوكوندريا الطبيعي. تحدث الطفرات الوراثية في دنا الميتوكوندريا بمعدل أعلى من دنا النواة، حيث تتراكم الطفرات الوراثية في دنا الميتوكوندريا وتظهر بعض الأمراض الوراثية المرتبطة بالميتوكوندريا والتي تتضمن أعراضاً عضلية وعصبية. تتباين شدة المرض وأعراضة تبعًا لنسبة دنا الميتوكوندريا المصاب إلى دنا الميتوكوندريا الطبيعي Heteroplasmy عند المصابين (Ledam, and John, 1981; Lemire, 2005).

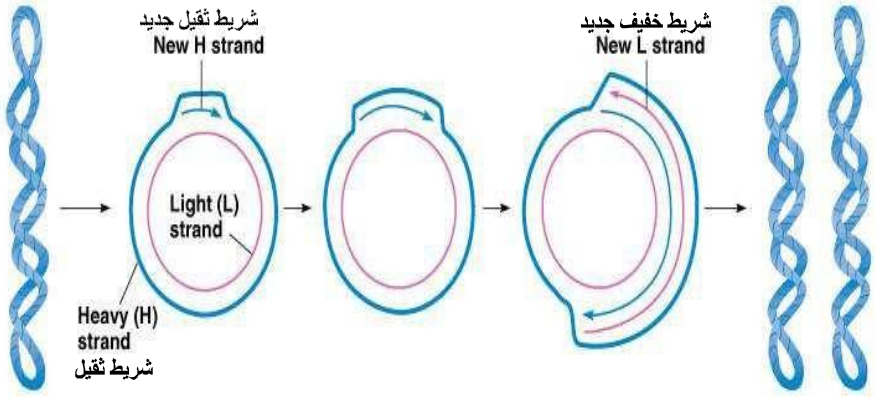


(شكل ٧-٢): يوضح خريطة جينوم الميتوكوندريا وعليها أهم المواقع الجينية

تضاعف دنا الميتوكوندريا mtDNA Replication:

يتضاعف دنا الميتوكوندريا بالطريقة شبه المحافظة Semi-conservative، كما يحدث في دنا النواة Nuclear DNA وله إنزيم بلمرة خاص. يمكن أن يتضاعف دنا الميتوكوندريا في أي وقت من دورة الخلية، فهو ليس مرتبطًا بتضاعف الدنا النووي. يبدأ تضاعف دنا الميتوكوندريا بالسلسلة الثقيلةNew H strand في منطقة D-loop وفي وجود الرنا البادئ RNA primer، حيث يقوم إنزيم البلمرة ببناء السلسلة الثقيلة الجديدة. بعد اكتمال تضاعف ما يقارب ثلثي السلسلة الثقيلة تبدأ

السلسلة الخفيفة بالتضاعف New L strand فوق السلسة الثقيلة القديمة التي تستخدم كقالب. يستمر التضاعف باتجاهين متعاكسين، ولكن ليس في آن واحد كما يحدث أثناء تضاعف دنا النواة (الشكل ٧-٣).



(الشكل ٧-٣): يوضح مراحل تضاعف دنا الميتوكوندريا

الشفرات الوراثية في دنا الميتوكوندريا Genetic codes of mtDNA:

تمتلك الميتوكوندريا عناصر الترجمة الخاصة بها والشفرات الوراثية الخاصة كذلك.

يبين (الجدول ٢-٢) و (الشكل ٧-٤) الاختلافات بين الشفرات الوراثية في كل من دنا النواة (الشفرات العالمية) ودنا الميتوكوندريا، حيث يوضح الجدول عدد أنواع الرنا الناقل وظيفة كل شفرة في كلا النوعين.

شفرات دنا الميتوكوندريا

First letter	Second letter U	Second letter C	Second letter A	Second letter G	Third letter
U	Phe	Ser	Tyr	Cys	U
	Phe	Ser	Tyr	Cys	C
	Leu	Ser	*Stop*	(*Stop*) Trp	A
	Leu	Ser	*Stop*	Trp	G
C	Leu	Pro	His	Arg	U
	Leu	Pro	His	Arg	C
	Leu	Pro	Gln	Arg	A
	Leu	Pro	Gln	Arg	G
A	Ile (Met)	Thr	Asn	Ser	U
	Ile	Thr	Asn	Ser	C
	(Ile) Met	Thr	Lys	(Arg) *Stop*	A
	Ile	Thr	Lys	(Arg) *Stop*	G
G	Val	Ala	Asp	Gly	U
	Val	Ala	Asp	Gly	C
	Val	Ala	Glu	Gly	A
	Val	Ala	Glu	Gly	G

شفرات دنا النواة

First letter	Second letter U	Second letter C	Second letter A	Second letter G	Third letter
U	UUU, UUC Phe	UCU, UCC, UCA, UCG Ser	UAU, UAC Tyr	UGU, UGC Cys	U
					C
	UUA, UUG Leu		UAA Stop, UAG Stop	UGA Stop	A
				UGG Trp	G
C	CUU, CUC, CUA, CUG Leu	CCU, CCC, CCA, CCG Pro	CAU, CAC His	CGU, CGC, CGA, CGG Arg	U
					C
			CAA, CAG Gln		A
					G
A	AUU, AUC, AUA Ile	ACU, ACC, ACA, ACG Thr	AAU, AAC Asn	AGU, AGC Ser	U
					C
	AUG Met		AAA, AAG Lys	AGA, AGG Arg	A
					G
G	GUU, GUC, GUA, GUG Val	GCU, GCC, GCA, GCG Ala	GAU, GAC Asp	GGU, GGC, GGA, GGG Gly	U
					C
			GAA, GAG Glu		A
					G

(الشكل ٧-٤): يوضح شفرات دنا النواة وشفرات دنا الميتوكوندريا

نشأت الكثير من المشاكل بسبب الاختلافات بين الشفرات الوراثية في كل من دنا النواة ودنا الميتوكوندريا، ولذلك يتعرض الرنا المرسال في بعض الكائنات التي درست كبعض الطفيليات والنباتات والفطريات لعملية تحرير RNA editing حتى يكون رنا مرسال فعّالاً: الرنا الأولي ← عملية تحرير ← رنا مرسال فعّال.

التعبير الجيني لجينوم الميتوكوندريا Gene expression of mtDNA genome:

تُفصَل معظم جينات دنا الميتوكوندريا عن بعضها البعض برنا ناقل tRNAs. وتتم عملية النسخ في سلسلتي دنا الميتوكوندريا الثقيلة والخفيفة. تحتوي منطقة D-loop على تتابعات محفز Promoter واحد فقط لكل سلسلة ويتم نسخ كامل السلسلة، ثم يتبع ذلك تجزئة الرنا المنسوخ إلى عدد من أنواع الرنا الفردي Individual RNAs بأنواعه الثلاثة المرسال والناقل والرايبوسومي. الرنا المرسال الناتج من دنا الميتوكوندريا يترجم داخل الميتوكوندريا، بينما نواتج الجينات النووية التي تحتاجها الميتوكوندريا تنتقل من السيتوبلازم للميتوكوندريا.

يتكون لجينات دنا الميتوكوندريا المشفرة للبروتينات ذيل عديد الأنين Poly-A tails ولا يتكون لها الغطاء 5'cap. يوجد كذلك عوامل بدء Initiation factors (IFs) واستطالة Elongation factors (EFs) وتحرر Release factors (RFs) تستخدم أثناء الترجمة. تبدأ ترجمة بروتينات الميتوكوندريا بشفرة المثيونين (Rebecca *et al*., 2015).

أنواع الطفرات التي تحدث في دنا الميتوكوندريا:

تتضمن الطفرات الوراثية ومنها الطفرات الكابتة أحيانا تغيرات في جينات غير تركيبية تساعد الخلية على البقاء. مثال ذلك: الطفرات الكابتة في tRNA والتي تم التعرف عليها في الكائنات الحية الدقيقة Micro-organism ويوجد منها نوعان:

أ - طفرات كابتة عديمة الحس Nonsense tRNA suppression mutation

في الطفرات الكابتة عديمة الحس قد تحدث طفرة- ١ في جين تركيبي معين تؤدي إلى كودون (شفرة) إيقاف Stop codon في هذا الجين. وقد تحدث الطفرة في

جين tRNA في منطقة الكودون المضاد Anti-codon وتؤدي إلى tRNAs طافر لكنه يستطيع قراءة شفرة التوقف التي احدثتها الطفرة- ١ وبالتالي يمكن دمج حمض أميني في هذا الموقع.

ب- طفرات tRNAs كابتة سيئة الحس Missense tRNA suppression mutation:

في هذا النوع من الطفرات قد تحدث الطفرة- ١ في جين تركيبي معين تؤدي إلى كودون مختلف يشفر لحمض أميني مختلف. وقد تحدث الطفرة- ٢ في جين tRNA في منطقة الكودون المضاد وتؤدي إلى tRNAs طافر يقوم بدمج حمض أميني خاطئ مكان الكودون الطبيعي. كما تعمل الطفرات سيئة الحس على تغير معدل النسخ ونشاط البروتينات الناتجة واللازمة لإنتاج الطاقة أو المرتبطة بإشارات الموت الخلوي المبرمج Apoptosis.

ج - طفرات نقطية Point mutations:

تحدث في الرنا الناقل والرنا الرايبوسومي وهما يلعبان دوراً محورياً في تصنيع البروتينات داخل الميتوكوندريا.

د- طفرات كروموسومية Chromosomal mutations:

الطفرات الكروموسومية تكون طفرات ذات حجم أكبر على مستوى الكروموسوم مثل طفرات النقص و الإضافة.

التأثير الأمومي Maternal effect:

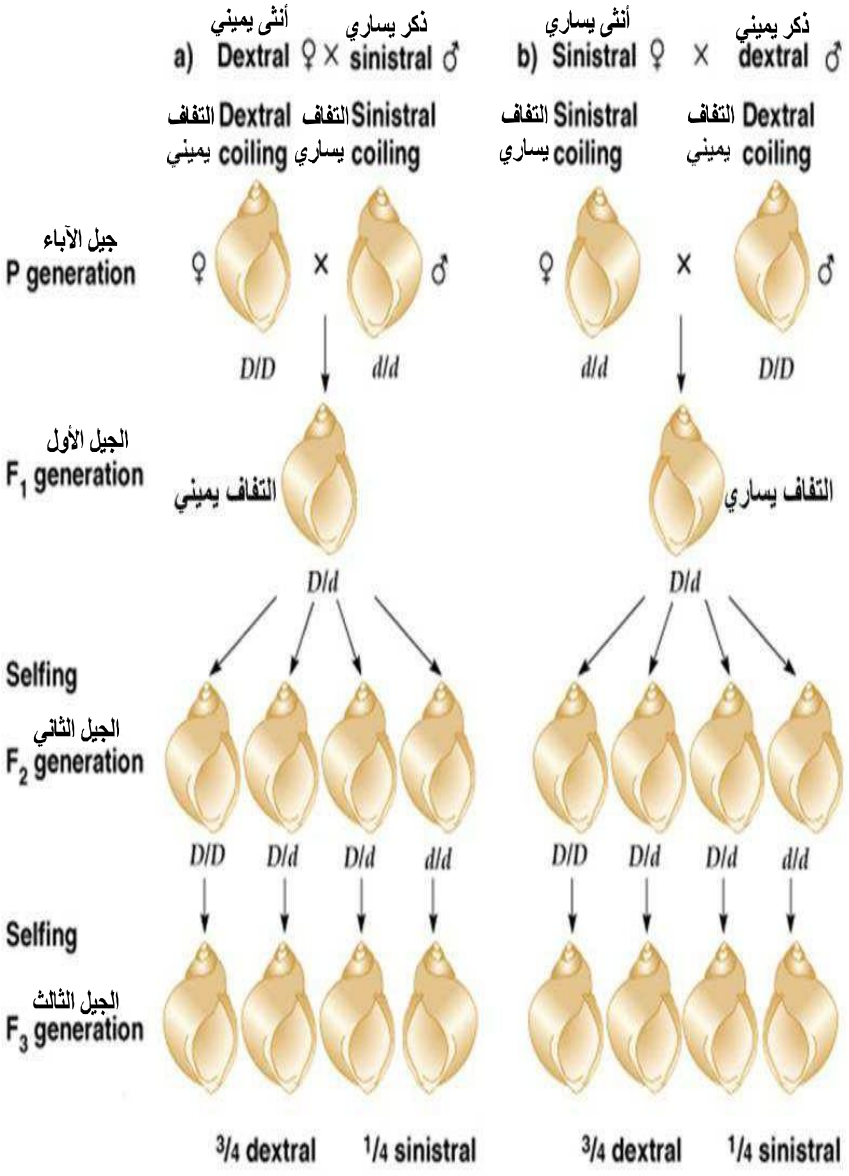
لجينات الأم تأثير واضح وفعّال على مراحل التكوين الجنيني المبكر للأفراد بعد عملية الإخصاب. فهناك العديد من جزيئات الرنا المنسوخة أثناء تكون البويضات والتي لا تترجم مباشرة بل تحفظ في البويضة. بعد إخصاب البويضة تترجم جزيئات الرنا لتعطي البروتينات الضرورية لتوجيه عمليات الأيض Metabolism والنمو داخل البويضة الملقحة Zygote. بعبارة أخرى تدعم نواتج جزيئات الرنا المنسوخة الأفراد الجديدة حتى ينشط جينومها ويتمكن من توجيه جميع الوظائف الحيوية داخل الخلية. إن الطرز المظهرية Phenotypes التي نتجت بفعل جزيئات الرنا المنسوخة والمخزنة داخل البويضة والتي نشطت بعد عملية الإخصاب هي جزيئات وُرِثت من الأم فقط.

يعد التأثير الأمومي نمطاً من أنماط التوارث لجينات نووية معينة تتحكم فيها التراكيب الوراثية للأمهات بالصفات الخارجية للنسل، وليس لجينات الآباء أو حتى النسل ذاته أي تأثير على الشكل المظهري للنسل، وذلك بسبب استمرار نشاط بعض نواتج جينات الأم مثل أنواع الرنا وبعض البروتينات الأخرى لفترة معينة بعد إتمام عملية الإخصاب وبدء التكوين الجنيني ونمط التفلج الجنيني. درست هذه الظاهرة في القواقع وتحديدًا تأثير الأم على اتجاه التفاف الصدفة (الحلزنة) في قواقع *اللمينيا* Snail shell coiling.

تمثل حلزنة صدفة القوقع المائي *لمينيا Limnaea peregra* تأثيرًا أموميًا دائمًا على الحيوان، حيث تؤثر الأم على اتجاه تحلزن الصدفة إلى اليمين (باتجاه عقارب الساعة Dextral) بحيث تكون الفتحة التي يخرج منها الحيوان إلى اليسار، كما تؤثر الأم في حلزنة الصدفة إلى اليسار (عكس اتجاه عقارب الساعة Sinistral)، بحيث تصبح الفتحة التي يخرج منها الحيوان إلى اليمين. يوضح (الشكل ٧-٥) أن

الأفراد dd في الجيل الثاني F2 تظهر التفافاً يمينياً لأنها ناتجة عن إخصاب بويضة بها بروتينات D السيتوبلازمية، بينما في الجيل الثالث تظهر أفراد ذات التفاف يساري لأنه لم يكن هنالك بروتينات D في البويضة عند إخصابها. وفي التلقيح العكسي تكون الأم يسارية وبالتالي فالجيل الأول يساري الاتجاه والجيل الثاني كله يميني الاتجاه لأن الأم تحمل بروتينات D ويحمل الجيل الثالث فردًا يساريًا حيث أن تركيب الأم dd لا يحمل بروتينات D. يتضح مما سبق أن شكل واتجاه الالتفاف يتحدد من البويضة المخصبة تحت تأثير نواتج جينات البويضة المخزنة في السيتوبلازم.

يتم تلقيح القوقع ذاتيًا (خنثى) ولكن في حالة تلقيح خارجي لقوقع يميني التحلزن مع قوقع يساري التحلزن، فإن أفراد الجيل الأول ستشابه في تحلزنها (الأم) التي أتت منها البويضة – انحراف عن النسبة المندلية – ولكن نسبة أفراد الجيل الثاني الناتجة من التلقيح الذاتي لأفراد الجيل الأول ستكون نسبة مندلية (1:3) كما في الشكل السابق.



(الشكل ٧–٥): يوضح تأثير الأم على اتجاه الحلزنة في قواقع اللمينيا Snail shell coiling

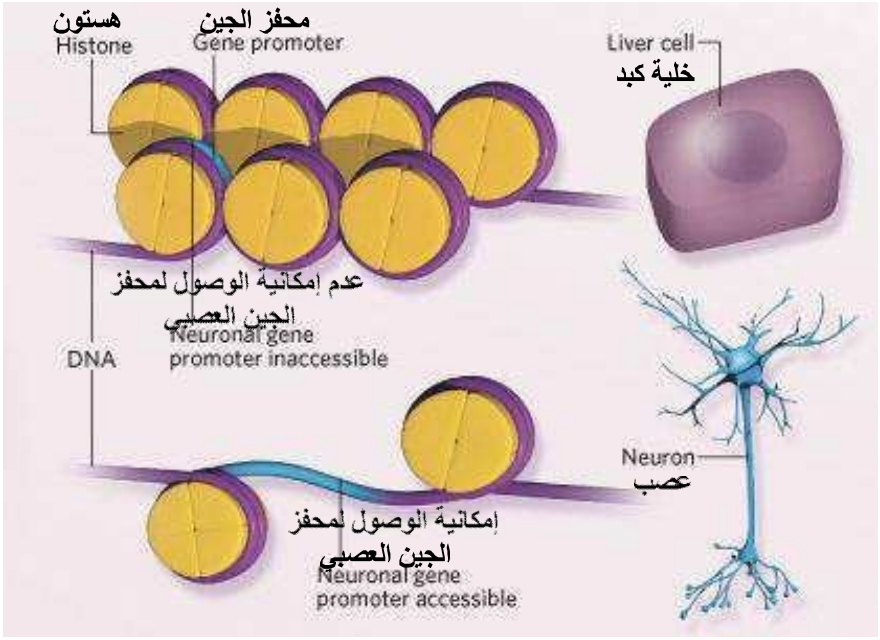
الفصل الثامن
الوراثة اللاجينية
Epigenetic

تبين للباحثين والعلماء المهتمين بعلم الوراثة أن الوراثة لوحدها لا يمكن أن تفسر الكثير من الاختلافات بين البشر أو قابلية الإصابة بأمراض معينة أو حتى حدة المرض التي تتفاوت من شخص إلى آخر، رغم أن لهم نفس التسلسل من الحمض النووي DNA كالتوائم المتطابقة Monozygotic، كما أن الحيوانات المستنسخة في كثير من الأحيان تظهر نمطاً ظاهرياً Phenotypes مختلفاً. تم كشف الكثير من الغموض حول توارث الصفات الوراثية بعد اكتشاف الوراثة اللاجينية Epigenetic. يُعد علم الوراثة اللاجينية أو وراثة ما فوق الجينات من العلوم التي حظيت باهتمام الباحثين في السنوات الأخيرة مما جعل البعض منهم يسميها بالوراثة الجديدة New genetics.

يُقصد بالوراثة اللاجينية كل التغيرات أو التحورات التي قد تطرأ على البروتينات الهستونية أو القواعد النيتروجينية وتؤثر على التعبير الجيني، وبالتالي تؤثر على الصفات الوراثية للكائن الحي دون أن تتغير تتابعات الدنا DNA sequences. بعض تلك التغيرات يمكن أن تتوارث عبر الأجيال، كما أن أغلب التغيرات قابل للتحول أو الرجوع إلى الوضع السابق أو وضع ما قبل التغير. تنشأ التغيرات المسببة للوراثة اللاجينية استجابة لعوامل مختلفة من خارج وداخل الخلايا مثل التغيرات البيئية، ممارسة الرياضة، العدوى والمرض، نوع الغذاء، التعرض للمواد السامة، تناول الأدوية وغيرها. وقد عُرف هذا النوع من التأثيرات الوراثية

أثناء دراسة وظائف الجينات، مما أدى إلى تغيير الكثير من المفاهيم والنظريات حول أسس الوراثة التقليدية. بالرغم من أن كل خلايا الكائن الحي تحوي المادة الوراثية نفسها، إلا أنها تختلف في الشكل والوظيفة التي تؤديها بسبب آليات التنظيم اللاجيني Epigenetic regulation. هذه الآليات المنظمة تحدد عمل الجينات، وهذا ما قد يفسر بعض الاختلافات التي تظهر على التوائم المتطابقة التي تحتوي على جينات متطابقة، مثل الاختلافات في الشخصية والاستجابة للأمراض والأعراض التي تصاحبها.

استخدم مصطلح الوراثة اللاجينية سابقًا لوصف عمليات تمايز Differentiation الخلايا المتماثلة وراثيًا، والتي تؤدي إلى إنتاج أنسجة وأعضاء مختلفة أثناء مراحل النمو (الشكل ٨-١). ففي المراحل الجنينية تتحول الخلايا الجذعية كاملة القدرة Totipotent إلى خلايا جذعية وافرة القدرة Pluripotent وهذه الأخيرة تتمايز لتعطي خلايا ذات مظاهر ومواصفات مميزة من خلال تنشيط بعض الجينات وتثبيط أخرى. فيما بعد استخدم مصطلح الوراثة اللاجينية لوصف التغيرات المؤثرة والمتوارثة في التعبير الجيني، والتي ليس لها علاقة بتتابعات الدنا. تلعب الوراثة اللاجينية دورًا مهماً في تطور الجينات وإسكاتها Gene silencing، وإعادة تشكل الكروماتين المتباين Heterochromatin وتطور الأمراض السرطانية وغير ذلك من تأثيرات الوراثة اللاجينية، ومع ذلك مازال هناك العديد من الجوانب الغامضة للوراثة اللاجينية كالتعبير عن بعض الأليلات الخاصة Allelic specific expression.



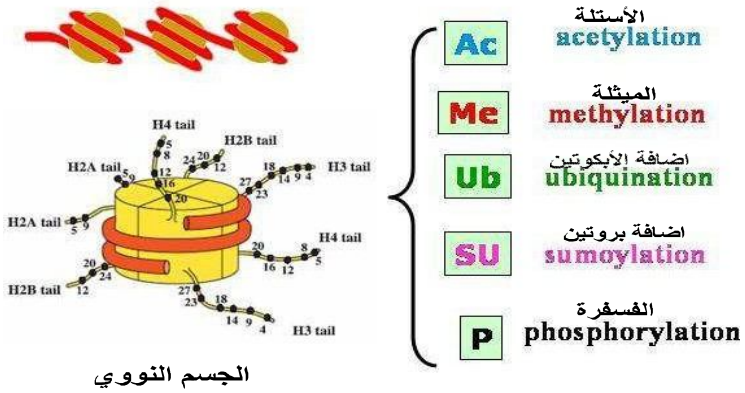
(شكل ٨-١): يوضح تأثير الوراثة اللاجينية على تمايز الخلايا

مكونات الوراثة اللاجينية:

يوجد العديد من مكونات الوراثة اللاجينية كبعض البروتينات والجزيئات والتحورات التي تتفاعل معًا وتؤثر على الصفات الوراثية مثل عمليات الميثلة والأستلة والفسفرة وغيرها من التأثرات التي تتعرض لها البروتينات المرتبطة بالدنا (انظر الفصل الخامس). يبين (الشكل ٨-٢) تشكلات الجسم النووي وأهم تحوراته ما بعد النسخ Post-translation، حيث يلعب تشكل الجسم النووي دورًا أساسيًا في تنظيم التعبير الجيني والعمليات المتعلقة بظهور الأمراض كمتلازمة برادر ولي (PWS) ومتلازمة آنجلمان (AS) التي سبق توضيحها.

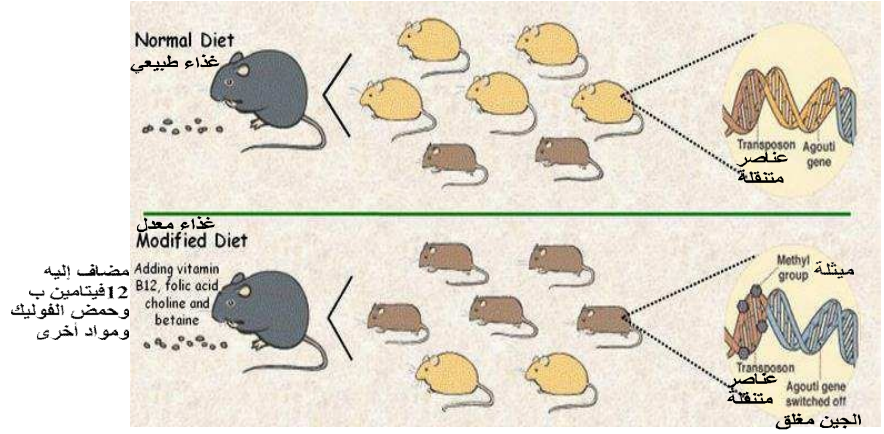
تكون الجينات الفعّالة أو النشطة بشكل عام في الخلايا الطبيعية في حالة ميثلة

منخفضة Hypometyhlation، خاصة قواعد السيتوسين المتبوعة بقواعد الجوانين أو ما يسمى جزر CpG، بالمقابل تكون الهستونات ذات أستلة عالية Hyperacetylation، وعلى نقيض ذلك تكون بعض الهستونات مميثلة وذات أستلة منخفضة، وبالتالي تكون الجينات مغلقة وغير نشطة. إن تغيرات الهستونات تؤثر على الكروماتين، مما يؤدي الى تغير التعبير الجيني. كما يوجد هناك عملية حيوية أخرى تساهم في تنشيط الوراثة اللاجينية تسمى بالسموليشن Sumoylation يتم في هذه العملية ارتباط نوع من البروتينات الصغيرة Small ubiquitin-like modifier (SUMO) مع بروتينات خلوية أخرى وتغير وظيفتها أو تغير تمركزها في المكان الصحيح أو تؤثر على ارتباطها مع بروتينات أخرى ثم تنفصل عنها بعد ذلك Desumoylating. يمكن اعتبار ظاهرة السموليشن إحدى عمليات التنظيم الجيني بعد عملية النسخ التي تدخل ضمن بعض المسارات الخلوية كعمليات النقل الخلوي ومسارات الموت الخلوي المبرمج وتنظيم أحداث الدورة الخلوية ومقاومة المرض غيرها (Hendriks *et al*., 2017; Ivo *et al*; 2018).



(شكل ٨-٢): يوضح بعض العمليات الحيوية التي تتحكم في الوراثة اللاجينية

تشير الدراسات التي أجريت على حيوانات التجارب إلى أن أقل مدة يبقى فيها تأثير الوراثة اللاجينية حوالي أربعة أجيال، وبعدها يزال منها تقريبًا ٩٠٪، كما لوحظ في الإنسان أن التأثيرات اللاجينية لا تقتصر على الحياة في الرحم وإنما يمكن أن تستمر خلال حياة الفرد، لوحظ أيضًا في التوائم المتطابقة أن الصفات اللاجينية تكون أكثر تشابهًا في التوائم الفتية ثم تبدأ بالاختلال مع تقدم العمر. الجدير بالذكر أن بعض الصفات اللاجينية تتوارث عبر الأجيال Trans-generational epigenetic inheritance بشكل ثابت، أي أنه يوجد صور لأليلات لاجينية ثابتة Epialleles بعضها قد يتأثر بعوامل مختلفة كالعوامل البيئية، الغذاء، العمر، نمط الحياة وحالة المرض. من الأحداث التاريخية التي تثبت تأثير الغذاء على الوراثة اللاجينية ما حدث أثناء الحرب العالمية الثانية وتحديدًا في شتاء عام ١٩٤٤م، عندما منع الجيش الألماني الغذاء عن الهولنديين، فنقص الغذاء المتوفر بشكل كبير وتناقص معه استهلاك الفرد للغذاء من ٢٠٠٠ إلى ٥٠٠ كالوري/ اليوم. تأثر من ذلك حوالي ٥ ملايين شخص معظمهم من الأطفال. كانت النتيجة أن الأطفال الذين عاشوا أو ولدوا في تلك الفترة كانوا قصار القامة ومصابين بالعديد من الأمراض مثل: النزيف، الأنيميا، الاكتئاب وغيرها.



(شكل ٨–٣): يوضح تأثير الغذاء على الوراثة اللاجينية

الفصل التاسع
الوراثة المناعية
Immunogenetics

أوجد الخالق سبحانه وتعالى أنظمة دفاعية داخل أجسام الكائنات الحية لتستطيع مقاومة الأجسام الغريبة كالميكروبات Microbes التي قد تضر بها وذلك من خلال شبكة أو منظومة مناعية تقع تحت مظلة الجهاز المناعي Immune system. سيتم في هذا الفصل إلقاء الضوء على الوراثة المناعية من الناحية الجزيئية مع توضيح أهم التفاصيل الجزيئية للأجسام المضادة Antibodies.

تُعرّف المناعة Immunity بشكل عام بأنها قدرة جسم الكائن الحي على التعرف على مسببات المرض Pathogens ومقاومتها والقضاء عليها. يتحقق ذلك من خلال الاستجابة المناعية Immune response وإنتاج الأجسام المضادة والخلايا اللمفاوية المتخصصة Specialized lymphocytes لمحاربة الأجسام الغريبة. تعرف مسببات المرض بالأنتيجينات أو المستضدات Antigens، ويقصد بالأنتيجين أي جسم غريب سواء كان بروتيناً أو مركباً عديد التسكر Polysaccharides متحداً مع أي مركبات أخرى. لكي تفهم الوراثة المناعية بشكل واضح، لا بد من التطرق ولو بشكل موجز لأنواع المناعة التي تقسم إلى قسمين رئيسيين هما:

أ - المناعة الذاتية (الطبيعية) Innate immunity:

تنشأ المناعة الذاتية أو الطبيعية مع الكائن الحي منذ ولادته، حيث تنتقل من الآباء إلى الأبناء. تعتبر المناعة الذاتية أو كما يسميها البعض بالمناعة الفطرية خط الدفاع الأول في الجسم، وهي مناعة غير متخصصة Nonspecific. يندرج تحت

هذا القسم أنواع أخرى من المناعة الذاتية بعضها على مستوى النوع، فهناك كائنات لا تصاب بأمراض معينة، بينما تصاب بها أنواع أخرى. يعتبر الجلد والأغشية المخاطية المبطنة لبعض القنوات أو الأعضاء وغيرها من الحواجز الطبيعية ضمن مكونات المناعة الذاتية. أما على المستوى الخلوي فتعد خلايا الدم البيضاء أو الخلايا الأكولة (البلعمية) بأنواعها المختلفة أيضًا من مكونات المناعة الذاتية (الجدول ٩-١).

خلايا المناعة الذاتية:

هناك عدد من خلايا المناعة الذاتية وهي:

أولاً: الخلايا القاتلة Natural killer (NK) cells التي تعمل على مهاجمة خلايا الجسم المصابة بالميكروب وتقضي عليها.

ثانيًا: الخلايا الصارية Mast cells التي توجد في الأنسجة الضامة والأغشية المخاطية. تفرز الخلايا الصارية مادة الهستامين Histamine وغيرها من المواد التي تحفز استجابة الجهاز المناعي.

ثالثًا: خلايا الدم البيضاء القاعدية والحامضية Eosinophils and Basophils التي تفرز العديد من المواد القاتلة للميكروب وتعزز مقاومة الجسم ضد الإصابة بالطفيليات.

رابعًا: الخلايا الملتهمة الكبيرة Macrophages والخلايا الشجرية Dendritic cells التي تعمل على التهام الميكروبات وتحللها بواسطة إنزيمات الأجسام المحللة Lysosomes.

ب - المناعة المكتسبة Acquired immunity:

نشأت المناعة المكتسبة داخل الجسم مع مرور الوقت نتيجة لتعرض الإنسان أو الحيوان لعوامل مرضية أو بيئية أو غيرها، دون أن يكون لها أصل وراثي.

وعلى عكس المناعة الذاتية تعتبر المناعة المكتسبة متخصصة Specific وتعتمد على خلايا مناعية محددة تستطيع التعرف Recognition على الأجسام الغريبة (الأنتيجينات) وتمييزها وتصنيع الأجسام المضادة لها. كما يمكن في كثير من الأحيان تذكر الأنتيجينات من قبل خلايا متخصصة ومقاومتها عند تكرار الإصابة. تتعرف الأجسام المضادة على أنتيجينات محددة وترتبط بها بتخصصية عالية جدًا High specificity، وقد يكون للفيروس الواحد أو البكتيريا الواحدة أكثر من منطقة ارتباط Antigen binding sites مع أكثر من جسم مضاد (Murray *et al*., 2016).

(الجدول ٩-١): آليات المناعة وخطوط الدفاع في جسم الكائن الحي

آليات الدفاع غير المتخصصة		**آليات الدفاع المتخصصة (الجهاز المناعي)**
خط الدفاع الأول	خط الدفاع الثاني	خط الدفاع الثالث
- الجلد - الأغشية المخاطية - الإفرازات	- خلايا الدم البيضاء - الاستجابة للالتهابات - البروتينات المقاومة للميكروبات	- الخلايا اللمفاوية - الأجسام المضادة

تقسم المناعة المكتسبة كذلك إلى:

١. **المناعة المكتسبة الطبيعية النشطة Active immunity**: تصنع من قبل جسم الكائن الحي بعد تعرضه لمسبب المرض (الأنتيجين) ودخول الأنتيجين للجسم، وحدوث العدوى أو الإصابة بالمرض، خلال فترة المرض تقوم خلايا الجهاز المناعي المتخصصة بتصنيع الجسم المضاد المناسب الذي يمكنه القضاء على الأنتيجين، وبالتالي يكتسب الجسم مناعة ضد هذا الأنتيجين غالبًا.

٢. **المناعة المكتسبة الطبيعية غير النشطة Passive immunity**: يُستمد هذا النوع من المناعة من مصدر خارجي ولا يُصنع داخل الجسم. هذا النوع من المناعة يكتسبها الجنين من المشيمة أثناء الحمل أو أثناء فترة الرضاعة الطبيعية من حليب الأم. لا يوجد في هذا النوع استجابة مناعية ضد الأنتيجين. يستمر هذا النوع من المناعة لفترة قصيرة تتراوح ما بين عدة أسابيع إلى أشهر.

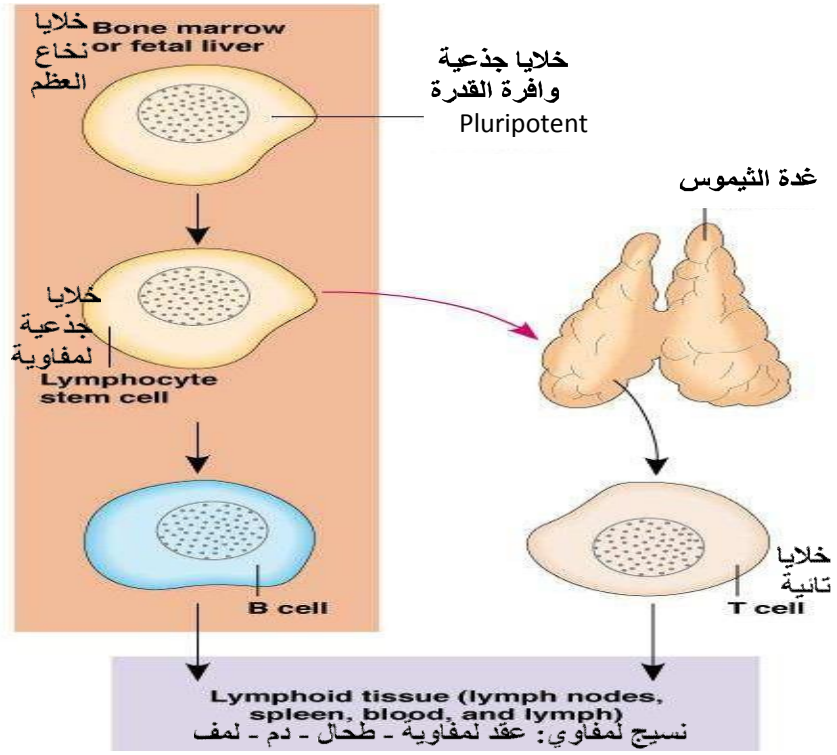
٣. **المناعة المكتسبة الصناعية النشطة**: تتم من خلال تحصين Immunization جسم الكائن الحي ضد أنتيجين معين. في هذه الحالة يتم إدخال الأنتيجين بعد التقليل من حدته ونشاطه ليكون ضعيفًا ويتمكن الجهاز المناعي من التغلب عليه وبناء الأجسام المضادة له قبل أن يستعيد نشاطه ويؤثر على الجسم، مثال ذلك التحصين ضد شلل الأطفال.

٤. **المناعة المكتسبة الصناعية غير النشطة**: يُستمد هذا النوع من المناعة من مصدر خارجي كالتحصين، مثل: استخلاص الأجسام المضادة التي تكونت في أجسام الحيوانات كالخيول، الأبقار، الأرانب، الماعز، الفئران وغيرها، ومن ثم حقنها في جسم الإنسان مثلاً. يستخدم مثل هذا الإجراء في حالات انتشار الأوبئة بشكل سريع، حيث تحقن الحيوانات المناسبة بالأنتيجين في وقت سابق أو عند بداية انتشار المرض، ومن ثم استخلاص الأجسام المضادة وحفظها لحين استخدامها عند ظهور المرض. بما أن الأجسام المضادة تكونت خارج الجسم فالجهاز المناعي لا يتفاعل مع الأنتيجين. الأجسام المضادة المحقونة في الجسم لا تدوم طويلاً، حيث يبلغ متوسط بقائها حوالي ٣-٤ أسابيع.

تعتمد المناعة المكتسبة على نوع محدد من الخلايا المناعية هي الخلايا اللمفاوية Lymphocytes ومنها:

أولاً: الخلايا اللمفاوية التائية (خلايا– ت) T-lymphocytes (T-cells):

سميت بهذا الاسم لأنها تهاجر عند تكوينها من نخاع العظم إلى الغدة الثيموسية Thymus gland (الشكل ٩–١). تُنَظِم الخلايا التائية تكاثر ونشاط خلايا الجهاز المناعي الأخرى، كالخلايا البائية والخلايا الملتهمة (البلاعم) الكبيرة والخلايا البيضاء المتعادلة Neutrophils.



(الشكل ٩–١): يوضح انتاج الخلايا البائية من الخلايا اللمفاوية الجذعية

تنقسم الخلايا التائية وظيفيًا إلى نوعين هما:

أ- الخلايا التائية القاتلة Killer T-cells (TC):

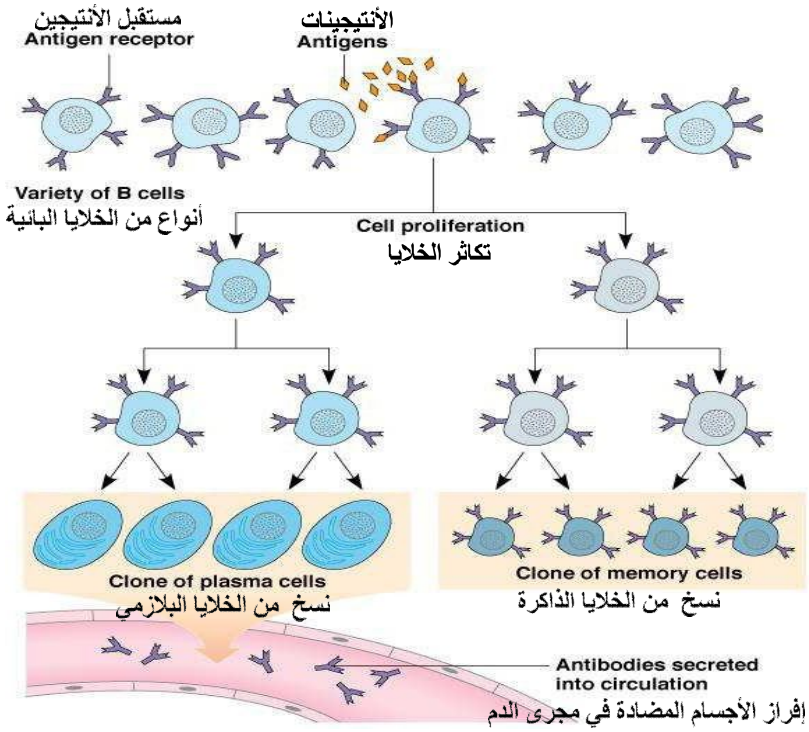
الخلايا التائية القاتلة متخصصة لقتل الخلايا التي تحتوي على أجسام غريبة

كالميكروبات. لهذا النوع من الخلايا مستقبلات متخصصة تستطيع أن تتعرف على أنتيجينات محددة مثل الفيروسات.

ب- الخلايا التائية المساعدة (TH) Helper T-cells:

لا تستطيع الخلايا التائية المساعدة ابتلاع الميكروب والقضاء عليه، ولكنها تقوم بإنتاج مركبات السيتوكين Cytokines التي بدورها تحفز الخلايا اللمفاوية البائية B-cells على إنتاج الأجسام المضادة. من البديهي أن يتبادر إلى الذهن السؤال التالي: كيف تقوم الخلايا البائية بإنتاج الأجسام المضادة؟ يتم انتاج الأجسام المضادة على مراحل (الشكل ٩-٢) يمكن إيجازها في النقاط التالية:

١. تنشأ الخلايا البائية من الخلايا الجذعية في نخاع العظم عند البالغين ومن الكبد عند الأجنة.
٢. بعد مرحلة النضج تهاجر الخلايا البائية إلى الأعضاء اللمفاوية كالطحال والعقد اللمفاوية.
٣. عندما تصادف الخلايا البائية الأنتيجين تتعرف عليه فتنشط وتنقسم لتعطي الخلايا البلازمية التي تفرز الأجسام المضادة في مجرى الدم.
٤. تنتج كل خلية بائية أجساماً مضادة يمكنها أن تتعرف على أنتيجين واحد فقط.



(الشكل ٩-٢): يوضح مراحل إنتاج الأجسام المضادة من قبل الخلايا البائية

ثانيًا: الخلايا اللمفاوية البائية (خلايا- ب) B-lymphocytes (B-cells):

تعتبر الخلايا اللمفاوية البائية من أهم خلايا الجهاز المناعي، فهي تنتشر في الوسط السائل المحيط بالخلايا Extracellular fluids، كبلازما الدم واللمف Lymph. هذا الانتشار يعزز القضاء على الميكروبات والفيروسات التي تسبح في سوائل الجسم قبل دخولها للخلايا. كما أن هذه الأجسام المضادة تهاجم الخلايا الغريبة عن الجسم كما يحدث عند زراعة الأنسجة أو الأعضاء أو نقلها من جسم لآخر. الخلايا اللمفاوية البائية مسؤولة عن بناء الأجسام المضادة التي تتكون من بروتينات مناعية جلوبيولينية Immunoglobulin تنتشر في سوائل الجسم وتقاوم الأنتيجينات.

تنقسم الخلايا البائية وظيفيًا إلى نوعين هما:

أ - خلايا بلازمية Plasma cells تقوم بتصنيع الأجسام المضادة للأنتيجينات. تنشط الخلايا البلازمية في وجود الأنتيجين ثم تموت بانتهاء تأثير الأنتيجين.

ب - خلايا ذاكرة Memory cells تتذكر الخلايا الذاكرة الأنتيجين عندما تدخل للجسم في المرة الأولى، لكنها توقفت عن تصنيع الأجسام المضادة بعد القضاء على الأنتيجين في تلك الفترة. تتواجد الخلايا الذاكرة في الجسم وتنشط عند ظهور الأنتيجين مرة أخرى فتُصنَع الأجسام المضادة له في وقت قصير قد لا يتجاوز ساعات وبكميات وافرة.

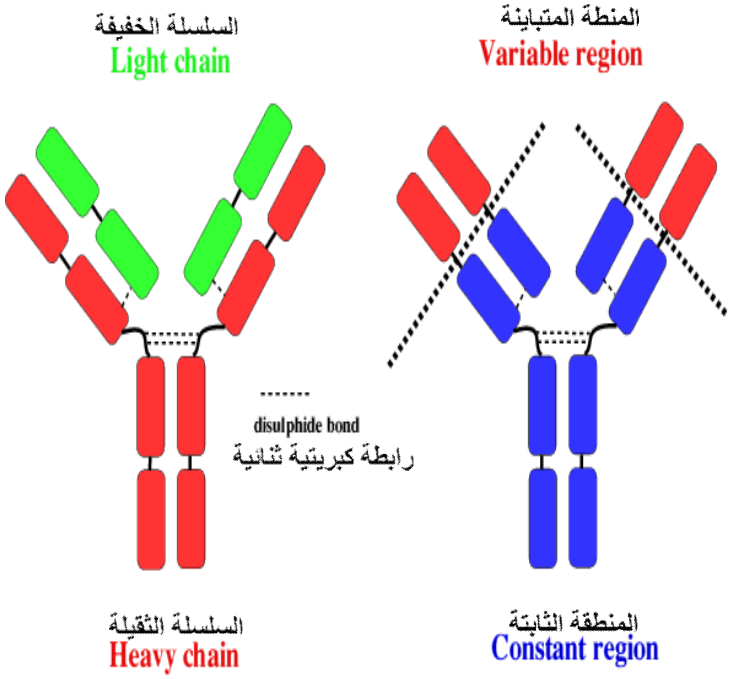
بعد هذه المقدمة الموجزة عن خلايا الجهاز المناعي، وقبل التفصيل في الوراثة المناعية، لا بد من التذكير أن الأجسام الغريبة أو الأنتيجينات التي قد يتعرض لها الجسم توجد بأعداد هائلة ولا يمكن حصرها مقارنة بعدد الجينات الثابتة التي تشفر لبناء الأجسام المضادة. وبناء على ذلك يتبادر إلى الذهن السؤال التالي: كيف يمكن للجسم بناء أعداد هائلة من الأجسام المضادة من قبل عدد ثابت من الجينات؟. للجواب على هذا السؤال لا بد من توضيح طبيعة التركيب الجزيئي للجسم المضاد.

التركيب الجزيئي للجسم المضاد Molecular structure of antibody:

جزيء الجسم المضاد عبارة عن بروتين جلوبيولين مناعي Immunoglobulin (Ig) يبدو تحت المجهر الإلكتروني على شكل حرف Y (الشكل ٩- ٣)، حيث يتكون من أربع سلاسل عديدة الببتيد كما يلي:

١. سلسلتان خفيفتان متماثلتان Light chains (L).

٢. سلسلتان ثقيلتان متماثلتان Heavy chains (H).



(الشكل ٩–٣): يوضح التركيب العام لجزيء الجسم المضـــاد. (يمين): المنطقة المتباينة تظهر باللون الأحمر والمنطقة الثابتة باللون الأزرق. (يسار): السلسلة الخفيفة تظهر باللون الأخضر والسلسلة الثقيلة باللون الأحمر

صُنِفت السلاسل الببتيدية إلى خفيفة وثقيلة بناء على طول سلسلة عديد الببتيد وعدد الأحماض الأمينية في كل سلسلة. فالسلسلة الخفيفة الواحدة تحتوي على ٢٢٠ حمضاً أميني ووزنها الجزيئي حوالي ٢٥ كيلو دالتون، بينما السلسلة الثقيلة الواحدة تحتوي على ٤٤٠ حمضاً أمينياً ووزنها الجزيئي حوالي ٥٠ كيلو دالتون. ترتبط سلاسل عديد الببتيد مع بعضها البعض بروابط كبريتية ثنائية Disulphide bonds.

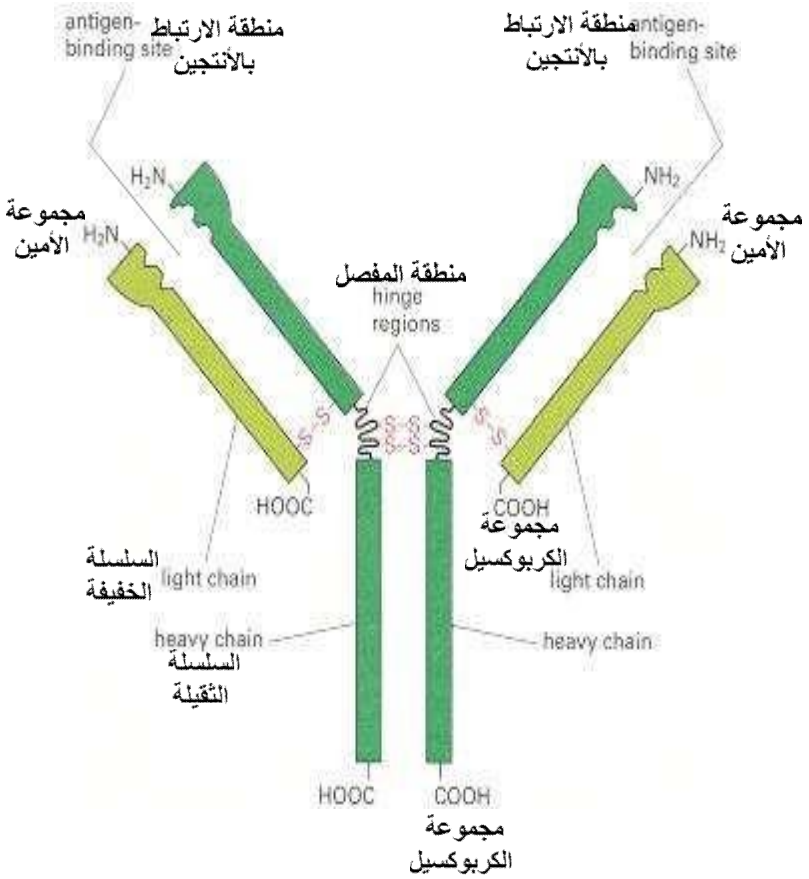
تتكون السلسلتان الخفيفة L والثقيلة H من منطقتين هما :

أ – المنطقة المتباينة Variable region (V):

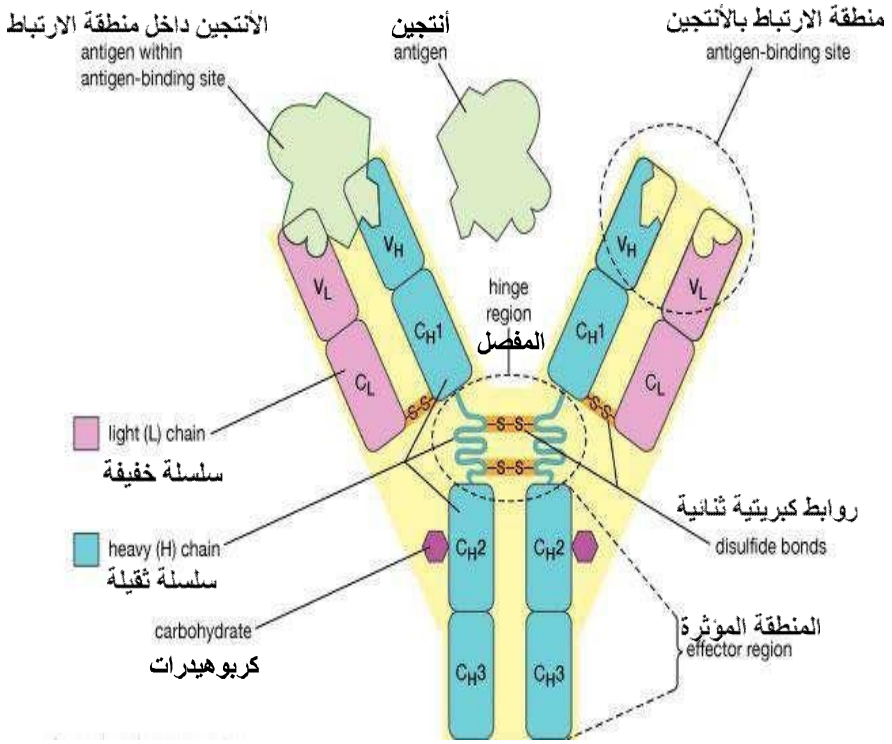
تقع في القمة عند مجموعة الأمين NH_2 وتعتبر المنطقة المتباينة هي منطقة الارتباط مع الأنتيجين Antigen-binding site (الشكلين ٩-٤ و ٩-٥) ، وتتكون من من ١١٠ أحماض أمينية. هذه الأحماض الأمينية تتغير في كل جزيء جلوبيولين، إلا أن هذا التغيير ليس شاملاً بل مقصور على أجزاء معينة من المنطقة المتباينة تسمى بمناطق التغير المفرط Hyper variable region. مناطق التغير المفرط تختلف في تتابع الأحماض الأمينية من جسم مضاد لآخر. الجدير بالذكر أن تتابع الأحماض الأمينية في مناطق التغير المفرط للسلسلة الخفيفة والثقيلة غير متماثل، وهذا سبب آخر يفسر كيف يمكن للجسم بناء أعداد هائلة من الأجسام المضادة من قبل عدد ثابت من الجينات.

ب – المنطقة الثابتة Constant region (C) :

تقع هذه المنطقة عند القاع عند مجموعة الكربوكسيل COOH وتتكون من من ١١٠ أحماض أمينية (الشكلان ٩-٤ و ٩-٥).

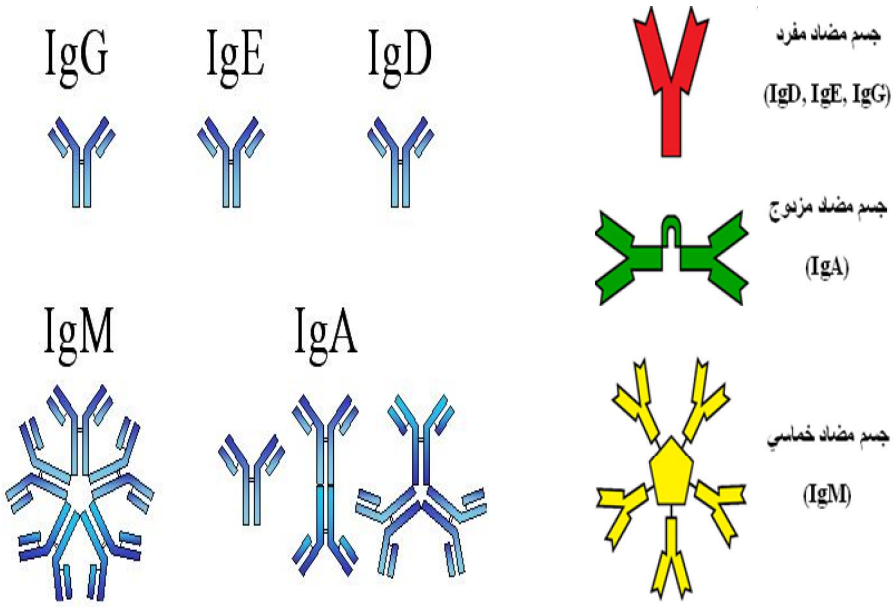


(الشكل ٩-٤): يوضح التركيب العام لجزيء الجسم المضاد – السلاسل الببتيدية الخفيفة – منطقة الارتباط بالأنتيجين



(الشكل ٩–٥): يوضح المنطقة المتباينة - المنطقة الثابتة - الأنتيجين – منطقة الارتباط مع الأنتيجين – الروابط الكبريتية المزدوجة

يوجد خمسة أنواع Classes رئيسية من الأجسام المضادة هي : IgG، IgA، IgM، IgD، IgE (الشكل ٩–٦)، كما يشتق من بعضها أنواع أخرى Sub-classes. رغم أن جميع الأجسام المضادة تشترك في تركيب جزيئي عام واحد، إلا أن كلاً منها يمتاز بصفات تميزه عن غيره (جدول ٩–٢).

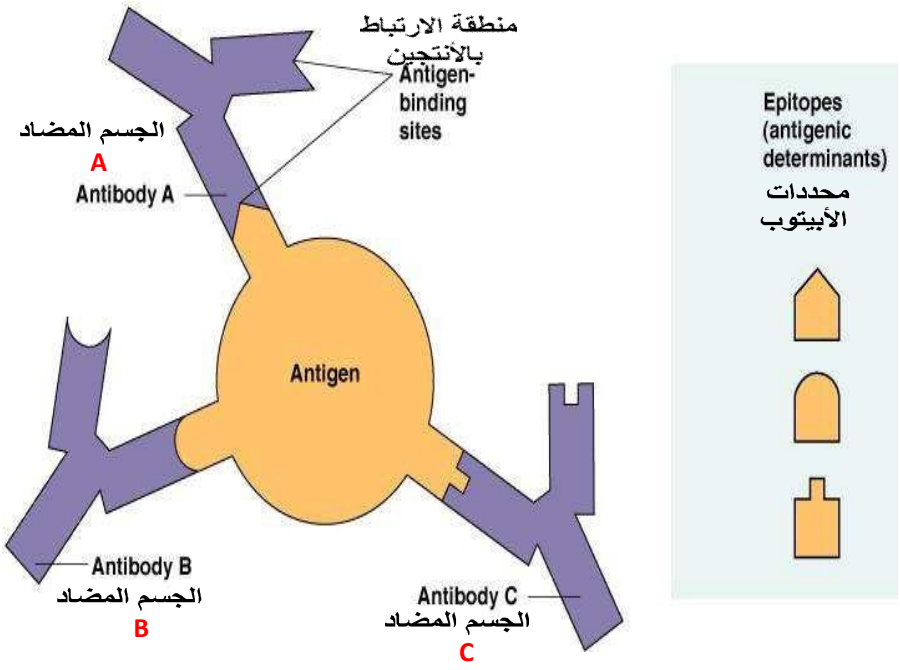


(الشكل ٩-٦): يوضح الأنواع الرئيسية للأجسام المضادة

(جدول ٩-٢): يوضح خصائص الأجسام المضادة في الإنسان

الأجسام المضادة الرئيسية	الأجسام المضادة الفرعية	السلسلة الخفيفة	السلسلة الثقيلة	التركيب	التركيز (٪)	مكان التواجد	نصف العمر بالأيام	الوظيفة
IgG	γ1, γ2, γ3, γ4	κأوλ	γ	أحادي	٨٠	الدم، اللمف، الأمعاء.	٢٣	يخفز البلع الخلوي، تحييف السموم والفيروسات، حماية الأجنة وحديثي الولادة.
IgA	α1, α2	κأوλ	α	خماسي	١٠ -٥	الدم، اللمف، أسطح الخلايا البائية.	٥	مجارية الميكروبات، الارتباط بالأنتيجينات.
IgM	لا يوجد	κأوλ	μ	ثنائي	١٠- ٥	الدم، اللمف، الإفرازات كالدموع واللعاب.	٦	حماية أسطح الأغشية المخاطية، توفير تحصين الجهاز الهضمي للأطفال.
IgD	لا يوجد	κأوλ	δ	أحادي	٢	الدم، اللمف، أسطح الخلايا البائية.	٣	بدء الاستجابة المناعية.
IgE	لا يوجد	κأوλ	ε	أحادي	٠,٠٠٢	محيط بالخلايا الصارية Mast cells وخلايا الدم البيضاء القاعدية، الدم.	٢	الحساسية.

إن أهم ما يميز عائلة البروتينات الجلوبيولينية المناعية أن تركيبها العام متشابه ولكنها تختلف فيما بينها في مناطق الارتباط بالأنتيجين بما يضمن قدرتها على التفاعل والارتباط مع كل الأنتيجينات. يتفاعل جزء صغير من الأنتيجين يسمى بالأيبتوب Epitope مع جزء من الجسم المضاد يسمى الباراتوب Paratope. لذلك فالأجسام المضادة تتعرف على مناطق الأيبتوب الموجودة على الأنتيجين (الشكل ٩-٧). الجدير بالذكر أن بعض الأنتيجينات قد يكون له أكثر من Epitope كل منها يحدد من قبل جسم مضاد مختلف.



(الشكل ٩-٧): يوضح تفاعل جزء من الأنتيجين (الأيبتوب) مع أكثر من جسم مضاد

يوجد نوعان من الأجسام المضادة حسب تفاعلها مع الأنتيجينات هما :

أ - أجسام مضادة وحيدة النسيلة Monoclonal antibodies :

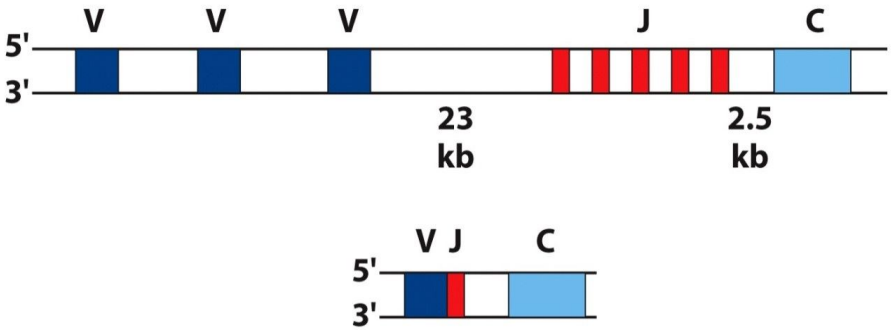
عبارة عن أجسام مضادة متجانسة Homogeneous يتم إنتاجها في المعمل من نوع واحد من الخلايا البائية كالخلايا البلازمية Plasma B cell وتحتوي على نوع واحد من مناطق الارتباط بالأنتيجين. بمعنى أن كل جسم مضاد وحيد النسيلة يستطيع أن يتحد مع أيبتوب واحد فقط للأنتيجين الواحد. في العام ١٩٨٨م استطاع جريج وينتر وزملاؤه إنتاج أجسام مضادة وحيدة النسيلة من الإنسان عن طريق الهندسة الوراثية، وذلك للتخلص من الآثار الجانبية الناتجة من استخدام الإنسان للأجسام المضادة وحيد النسيلة المُنتجة من خلال بعض الحيوانات.

ب- أجسام مضادة عديدة النسيلة Polyclonal antibodies :

عبارة عن أجسام مضادة متباينة Heterogeneous يتم إنتاجها من خلايا بائية مختلفة لحيوانات تم تحصينها لتنتج هذا النوع من الأجسام المضادة. تتألف الأجسام المضادة عديدة النسيلة من مزيج من الأجسام المضادة على شكل مجاميع ناتجة من خلايا بائية متنوعة وتحتوي على أكثر من منطقة ارتباط بالأنتيجين. بمعنى أن كل جسم مضاد عديد النسيلة يستطيع أن يتحد مع العديد من الأجزاء البروتينية (الأيبوتوب) على الأنتيجين.

الأساس الوراثي لتنوع الأجسام المضادة The genetic basis of antibodies diversity:

يُنتج الجهاز المناعي في جسم الإنسان حوالي ١٠٠ بليون من الأجسام المضادة المختلفة. هذا الكم الهائل بمثابة الذخيرة التي يمتلكها الجسم للدفاع عن نفسه، ولابد أن تكون كافية لكل ما يمكن أن يتعرض له جسم الإنسان من مسببات المرض (أنتيجينات). بما أن الأجسام المضادة عبارة عن بروتينات، فإن بناء تلك البروتينات يعتمد على وجود جينات خاصة تشفر لها وعوامل نسخ مختلفة تتحكم في عملية التعبير الجيني كما عرض في الفصول السابقة. يتبادر إلى الذهن سؤال محوري حول كيفية بناء الجسم لعدد هائل من الأجسام المضادة من حوالي ٥٠ ألف جين فقط، بمعنى آخر: كيف تستطيع الخلايا اللمفاوية البائية أن تصنع عددًا هائلاً من الأجسام المضادة؟ الإجابة على هذا السؤال ستوضح بلا شك مفهوم الأساس الوراثي لتنوع الأجسام المضادة. في البداية لابد من فهم أن المناطق المتباينة في كلا السلسلتين الخفيفة والثقيلة تساهمان معًا في تكوين مناطق الارتباط بالأنتيجين، وأن كل موقع ارتباط متخصص للاقتران بأنتيجين محدد. كما أن عملية إعادة اتحادات الدنا العشوائية التي تحدث في تتابعات الجينات المسؤولة عن بناء الأجسام المضادة تزيد وبشكل كبير جدًا من تنوع ووفرة الأجسام المضادة التي تنتجها تلك الجينات. تتم إعادة اتحادات بعض تتابعات الجينات بطريقة محكمة تحت مظلة التنظيم الجيني لبناء كل الأجسام المضادة المحتملة نتيجة لإعادة اتحادات الدنا، كما هو موضح في (الشكل ٩- ٨) و (الجدول ٩- ٣) ، وهذه الآلية ضمن آليات تنظيم التعبير الجيني التي تشبه خلط Shuffling أوراق اللعب (Jorde *et al*., 2016).



(الشكل ٩–٨): يوضح طريقة إعادة اتحاد المناطق الثلاث

(V-J-C) في حقول السلسلة الخفيفة: كابا κ ولمدا λ

(الجدول ٩–٣): يوضح عدد التوافقات المحتمل للجسم المضاد في الإنسان

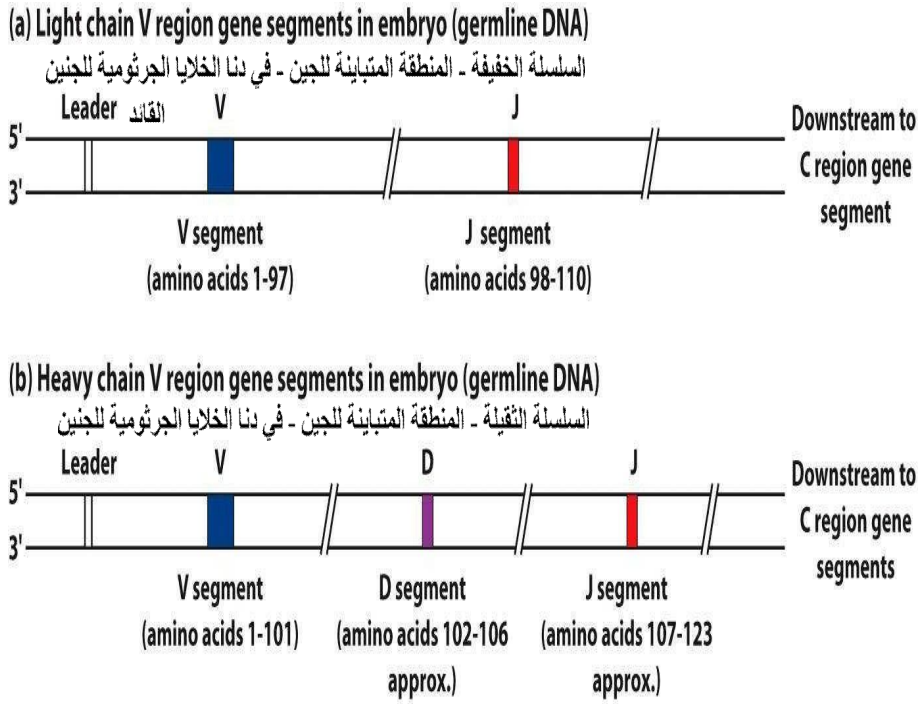
القطعة	العدد التقريبي لقطع السلسلة الثقيلة	العدد التقريبي لقطع سلسلة كابا κ	العدد التقريبي لقطع سلسلة لمدا λ
V	٤١	٤١	٣٣
D	٢٣		
J	٦	٥	٥
عدد التوافقات المحتمل	٤١ × ٢٣ × ٦ = ٥٦٥٨	٤١ × ٥ = ٢٠٥	٣٣ × ٥ = ١٦٥
العدد المحتمل لتوافقات السلسلتين الثقيلة والخفيفة = ٥٦٥٨ × (٢٠٥ + ١٦٥) = ٢٠٩٣٤٦٠			

تحتوي السلسلة الثقيلة H على ٣–٤ حقول Domains بينما السلسلة الخفيفة L تحتوي على حقل واحد. يوجد خمسة أنواع مختلفة من السلسلة الثقيلة (γ, μ, α, δ, and ε) ونوعان مختلفان من السلسلة الخفيفة (κ and λ). تظهر حقول

المنطقة المتباينة V تنوعاً وراثياً Heterogeneity يسمح بتكون مناطق ارتباط يمكنها التمييز بين الأنتيجين والجزيئات الأخرى (الشكل ٩-٩). تقع جينات السلسلة الخفيفة بنوعيها كابا κ ولمدا λ على الكروموسومات ٢ و ٢٢ على التوالي في الإنسان. المنطقة المتباينة كابا Vκ تتكون من ثلاث قطع جينية في المنطقة المتباينة V والمنطقة الرابطة J والمنطقة الثابتة C كما يلي: 300Vκ و 5Jκ و 1Cκ . نظريًا هذا يعني أن هناك احتمالاً للاتحاد بين القطع المذكورة بواقع: ٣٠٠ × ٥ × ١ = ١٥٠٠ نوع مختلف من السلسلة الخفيفة كابا. كذلك لو فرضنا أن السلسلة لمدا λ تتكون من ثلاث قطع جينية في المنطقة المتباينة V والمنطقة الرابطة J والمنطقة الثابتة C كما يلي: 30Vλ و 5Jλ و 1Cλ ، هذا يعني نظريًا أن هناك احتمالاً للاتحاد بين تلك القطع بواقع: ٣٠ × ٥ × ١ = ١٥٠ نوعاً مختلفاً من السلسلة الخفيفة لمدا. ما ذكر ينطبق على بقية المناطق في السلسلة الخفيفة كما ينطبق كذلك على جينات السلسلة الثقيلة. بل إن تنوع الأجسام المضادة الناشئ من المنطقة المتغيرة للسلسلة الثقيلة يكون أكثر بسبب مضاعة القطعة المتغيرة D في الجين، فإذا كان هناك قطعة جينية واحدة من V_H و ٢٥ قطعة D و ٦ قطع J_H يمكن أن يتكون ٤٥٠٠٠ منطقة مختلفة الترتيب للسلسلة الثقيلة.

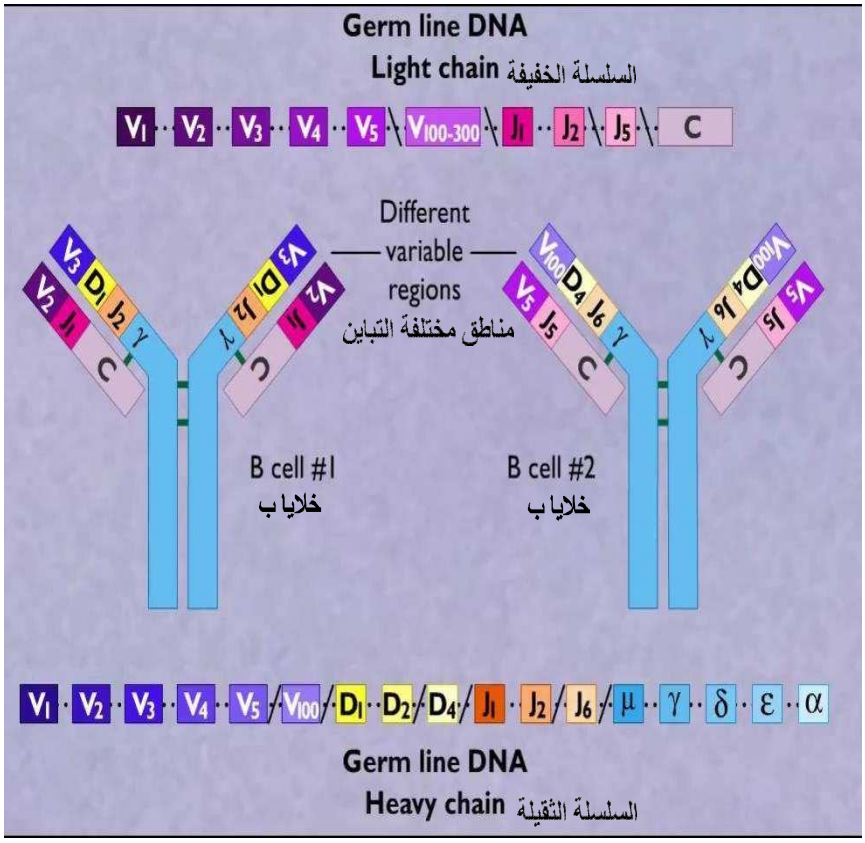
توجد المنطقة المتباينة V والرابطة J والثابتة C في السلسلتين الخفيفة والثقيلة كما توجد المنطقة D على السلسلة الثقيلة فقط للجسم المضاد. يتكون الجسم المضاد بواسطة الخلايا البائية بأكثر من آلية يتم خلالها خلط تلك المناطق على الجين. كما تتعرض تلك القطع من الجينات أثناء أو بعد عملية النسخ للإنزيمات المحللة الخارجية Exonuclease فيفقد بعض النيوكليوتيدات مما يؤثر على عملية الترجمة وتكوين الأجسام المضادة Changing reading frames (الشكلان ٩-٩ و ٩-١٠). إن حذف بعض النيوكليوتيدات أو إضافتها أو حدوث أي نوع آخر من

الطفرات الوراثية يؤدي إلى إنتاج بلايين التتابعات المحتملة والمختلفة من الأجسام المضادة عند الإنسان. يوجد هناك آليات أخرى تزيد من تنوع الأجسام المضادة مثل: حدوث الطفرات الجسدية بمعدل عالٍ كالطفرات النقطية Point mutations في مناطق التغير المفرط. كما أن عمليات القص البديل Alternative splicing التي ذكرت في الفصل السادس تساهم أيضًا في تنوع البروتينات الجلوبيولينية (Wangy *et al.*, 2015).



(الشكل ٩-٩): يوضح إعادة اتحادات (أ): القطعة المتغيرة V والقطعة الرابطة J للسلسلة الخفيفة.

(ب): القطعة المتغيرة V والقطعة المتباينة D والقطعة الرابطة J للسلسلة الثقيلة



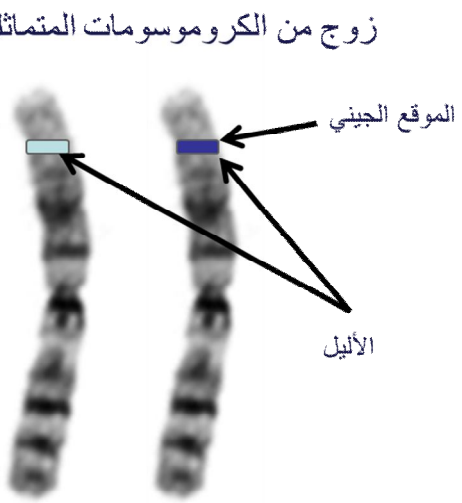
(الشكل ٩-١٠): يوضح تباين المنطقة V والمنطقة الرابطة J والمنطقة الثابتة C والقطعة D لجينات لمدا λ للسلسلتين الخفيفة والثقيلة

الفصل العاشر
تعدد الأشكال الوراثية
Genetic polymorphisms

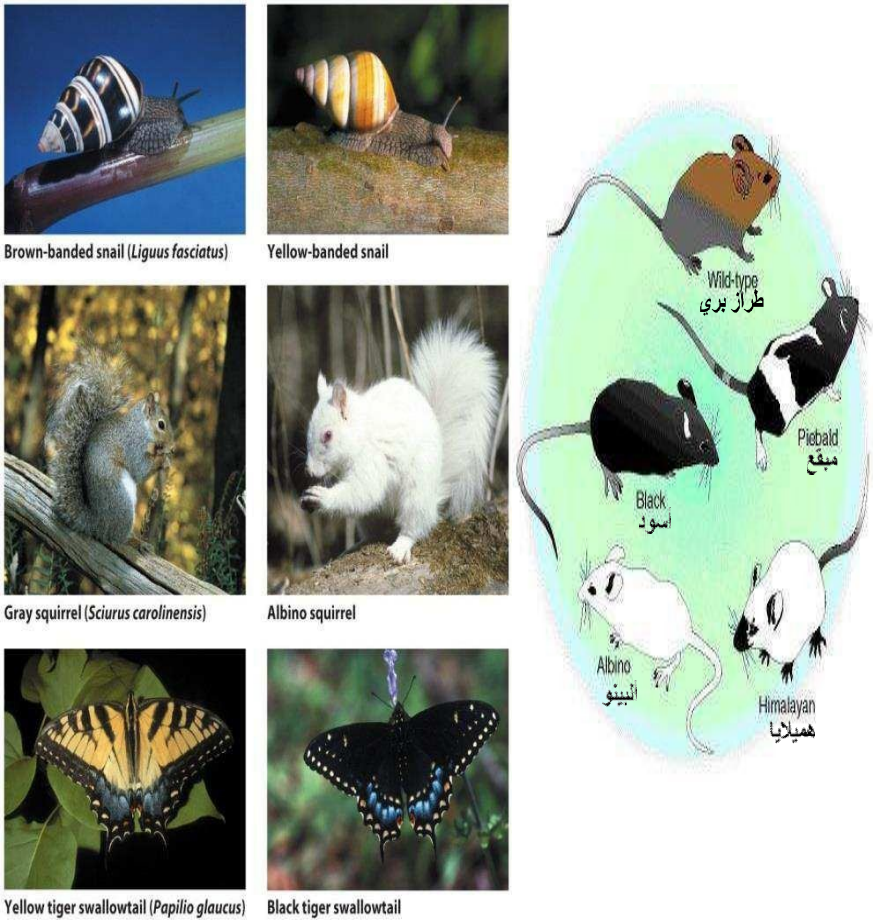
تُعرّف ظاهرة تعدد الأشكال الوراثية، بأنها وجود طرز مظهرية متعددة ومختلفة مرتبطة بأليلات Alleles الجين الواحد بين أفراد العشيرة أو الجماعة الواحدة Population أو بين أفراد العشائر المختلفة. كما تُعرّف بأنها اختلاف في تتابعات الدنا بين الأفراد والجماعات. هذه الظاهرة نتجت بفعل العديد من العوامل كتعدد الأليلات. لفهم كيفية نشوء تعدد الأشكال الوراثية، لابد من توضيح مفهوم الأليل والجين والعلاقة بينهما. يوجد أكثر من تعريف للجين أو المورث سبق الإشارة لها في الفصل الثاني.

يحتل كل جين موقع Locus محدد على الكروموسوم وله تتابع نيوكليوتيدي محدد. نتيجة لحدوث الطفرات الوراثية Genetic mutations، قد يكون للجين أكثر من صورة أو شكل بديل Alternative forms، يطلق على الشكل البديل للجين مصطلح الأليل Allele. على سبيل المثال: تحدد صفة لون العيون بجين محدد مسؤول عن هذه صفة، لهذا الجين عدة صور أو أليلات مختلفة تحدد لون العين، فهناك أليل يحدد لون العيون السوداء، وأليل ثاني يحدد لون العيون الزرقاء، وأليل ثالث يحدد لون العيون الخضراء وهكذا. بسبب تعدد صور الجين (الأليلات) المسؤول عن لون العيون نجد أن هناك أكثر من لون للعيون في عشيرة أو جماعة واحدة، وهذا يفسر اختلاف لون العيون بين الأفراد الذين نراهم من حولنا. يوجد الأليل في موقع محدد على الكروموسوم، كما توجد الكروموسومات في أزواج أحدهما مورث من الأب والآخر مورث من الأم

(الشكل ١٠-١) ويوجد على كل كروموسوم أليل، أي أن الأليلات توجد في أزواج. قد يكون الأليلان المورثان من الأب والأم متماثلين Homozygous ويعطيان نفس الصفة أو مختلفين Heterozygotes ويعطيان أشكالاً مختلفة، وهنا قد يكون الأليل سائداً Dominant ويعبر عن الصفة التي يحملها، أو متنحياً Recessive لا يستطيع التعبير في وجود الجين السائد. تنعزل الأليلات أثناء الانقسام الميوزي الأول Meiosis-I بشكل مستقل عن بعضها البعض. الجدير بالذكر أن لبعض الجينات عشرات الأليلات تعطي أنماطًا وراثية متعددة High population frequency، كما في ألوان الفراشات أو أصداف الرخويات أو فراء السناجب وغيرها (الشكل ١٠-٢). كما يجسد التوزيع الجغرافي للون البشرة والشعر بين أجناس البشر على الكرة الأرضية (الشكل ١٠-٣) مثالاً واضحاً لتعدد الأشكال الوراثية (Priyanka, 2015).

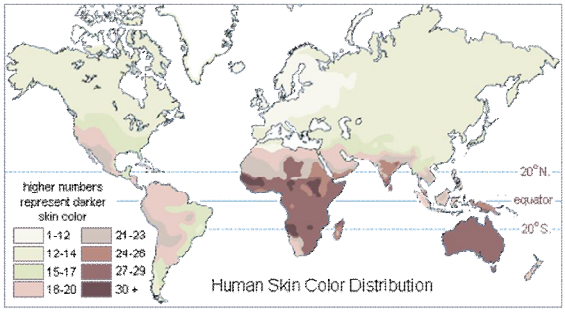


(شكل ١٠-١): يوضح موقع الجين والأليل على الكروموسوم

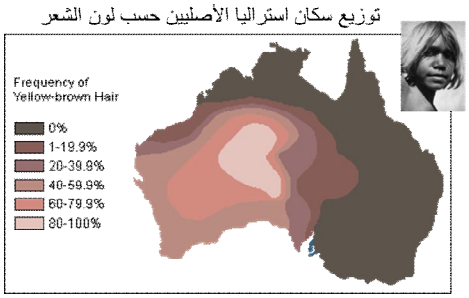


(شكل ١٠-٢): يوضح تعدد الأشكال الوراثية في بعض أنواع الحيوانات

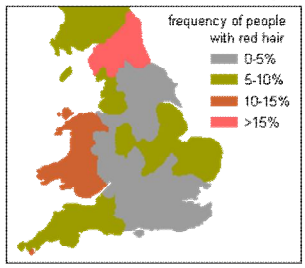
توزيع سكان الكرة الأرضية حسب لون الجلد



توزيع سكان استراليا الأصليين حسب لون الشعر



توزيع سكان بريطانيا حسب لون الشعر الأحمر



(شكل ١٠-٣): يوضح التوزيع الجغرافي للون الجلد والشعر

تسمى الجينات التي توجد على نفس الكروموسوم بالجينات المرتبطة Linked genes، ويقصد بالارتباط تلك الجينات الموجودة على نفس الكروموسوم وتورث معًا من خلال تكوين الأمشاج. لهذا فالجينات المرتبة لا تخضع لقانون مندل الثاني، وهو قانون التوزيع الحر أو المستقل، لأنها ستنتقل معًا وخاصة إذا كان ارتباطها من النوع التام، لكن هذا قد لا يحدث غالبًا بسبب عملية العبور Crossing over، التي تؤدي إلى فصل الجينات وتكوين أمشاج تحتوي على اتحادات جديدة. إن درجة أو قوة العبور تعتمد على المسافة بين الجينات المرتبطة، فكلما زادت المسافة بين الجينات زادت عمليات أو قوة العبور والعكس صحيح. يمكن تبسيط مفهوم العبور بأنه عبارة عن تبادل الجينات المتشابهة بين

الكروماتيدات المتقابلة (غير الشقيقة) في المجموعات الرباعية (الكروماتيدات الأربع المكونة للكروموسومات المتماثلة). هذه الظاهرة تتم تقريبًا في كل الحالات المرتبطة بالتكاثر الجنسي، وهي عملية تخضع لعوامل خارجية وداخلية ونادرًا ما تحدث في أحد الجنسين دون الآخر.

قد ينتج تعدد الأشكال الوراثية بسبب تغير في قاعدة نيتروجينية واحدة أو أكثر، وقد يكون تأثير هذا التغير ظاهراً ويمكن تمييزه بالعين المجردة وقد يكون غير ظاهر. قد يلتبس الأمر عند البعض بين مفهوم الطفرة الجينية وتعدد الأشكال الوراثية، فكل منهما ينتج بسبب تغيرات في تتابعات الدنا، ولكن تأثير الطفرات نادر جدًا وتكون نسبة حدوثه أقل من ١٪ مقارنة بتعدد الأشكال الوراثية الذي تكون نسبة حدوثه أكثر من ١٪. الجدير بالذكر أن الطراز البري (+) Wild type الأكثر تكرارًا في الطبيعة، بينما الطراز الطافر(-) Mutant type هو الأقل ظهورًا في الطبيعة. تستخدم تتابعات الدنا لدراسة التغيرات الوراثية داخل أليلات الجين الواحد، كما يزودنا تحليل تتابعات الدنا وتتابعات الأحماض الأمينية في البروتين بمعلومات وافرة حول العلاقات التطورية Phylogenetic relationships بين الكائنات الحية.

أنواع تعدد الأشكال الوراثية في تتابعات الدنا Types of polymorphic DNA sequences:

يوجد عدة أنواع لتعدد الأشكال الوراثية في تتابعات الدنا ومنها:

١. تغير نيوكليوتيدة واحدة Single nucleotide polymorphisms (SNPs).

٢. تغير في طول قطعة محددة Restriction fragments length polymorphism (RFLP).

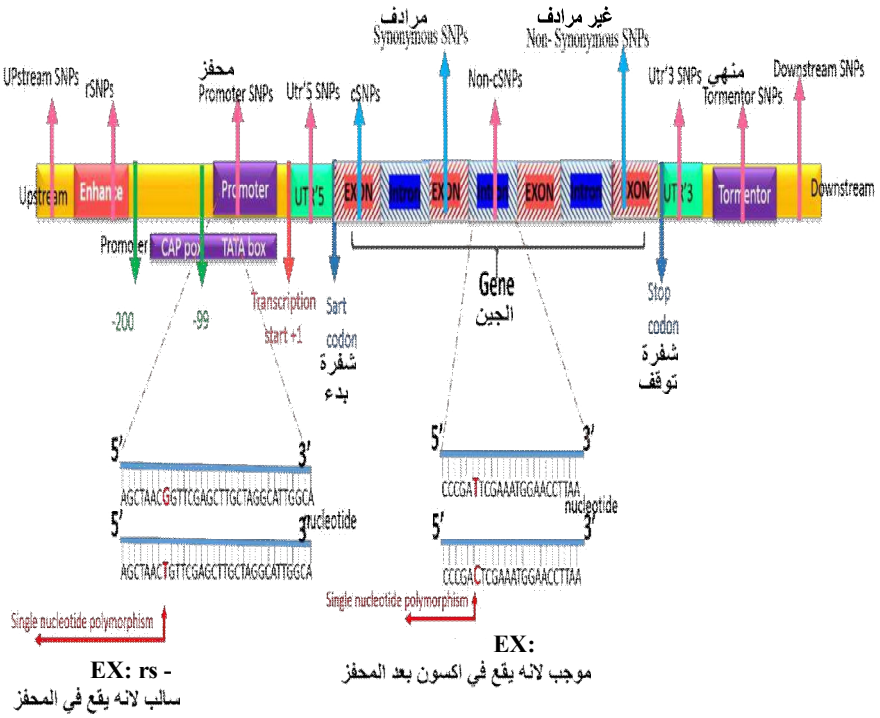
٣. تغير في تتابعات بسيطة Simple sequence length polymorphism (SSLP).

٤. تغير في تتابعات مترادفة قصيرة Short tandem repeats (STRs).

٥. تغير في عدد متباين من التتابعات المترادفة Variable number tandem repeats (VNTRs).

سوف يتم توضيح النوع الأول وهو تغير نيوكليوتيدة واحدة أو مفردة (SNP). يحدث التغير في هذا النوع لنيوكليوتيدة واحدة فقط (الشكل ١٠-٤)، وقد تكون النيوكليوتيدة المفردة واحدة من النيوكليوتيدات الأربع. كما تمت الإشارة سابقًا يجب أن يكون هذا التغير أكثر من ١٪ ليمكن اعتباره نوعاً من تعدد الأشكال الوراثية. يحدث الـ SNP ويتكرر بعد حوالي ٥٠٠-١٠٠٠ زوج قاعدي، ويقدر عدد الـ SNPs ما بين ٥٠-١٠٠ ألف داخل التتابعات المُشفرة Coding sequences، بينما يقدر عدد الـ SNPs في جينوم الإنسان ما بين ٣-٦ ملايين، قد تحدث الـ SNP في أي مكان من الجينوم سواء في المناطق المشفرة أو غير المشفرة (الشكل ١٠-٥).

(شكل ١٠-٤): يوضح تغير نيوكليوتيدة واحدة (SNP)



(شكل ١٠-٥): يوضح أن تغير نيوكليوتيدة واحدة (SNP) قد يحدث في أي موقع من الجين أو الجينوم

توجد الـ SNPs بوفرة في جينوم الكائن الحي وتعتبر من أكثر أنواع التغيرات الوراثية عند الإنسان. يمكن الكشف عن هذا النوع من التغيرات الوراثية باستخدام العديد من التقنيات البيولوجية الحديثة. ومن أشهر الطرق للتحقق من وجود SNPs جديدة هو تحديد تتابع الدنا باستخدام RT-PCR وباستخدام بادئات Primers ومسابير Probes مخصصة للـ SNP، كما يفضل استخدام طريقة أخرى للتأكيد مثل طريقة Taqman assay. يمكن اختيار SNPs بناء على معايير محددة مثل: تكرار الأليل المنخفض Minor allele frequency (MAF) والمسافة

Minimum distance بين تغير وراثي وآخر وغير ذلك من المعايير، ثم مقارنة ذلك بقاعدة البيانات المتوفرة، يلي ذلك إجراء التحليل الإحصائي المناسب لتحديد ما إذا كان هذا التغير نوعاً من تعدد الأشكال الوراثية أم طفرة.

يستخدم مصطلح تكرار الأليل المنخفض (MAF) في معرفة معظم الأليلات في العشيرة وهو شائع الاستخدام في الدراسات الوراثية للعشائر، لأنه يزودنا بمعلومات مهمة للتمييز بين التغيرات الشائعة والنادرة في عشيرة ما. ولتفسير البيانات المتحصل عليها من تكرار الأليل المنخفض لابد من عمل الإجراء التالي: تدخل SNP المستهدفة على قاعدة البيانات مثل rs429358 ثم إيجاد الأليل الأقل تكراراً MAF. لو كانت النتيجة مثلاً C=0.1506/754 (١٠٠٠)، حيث يشير الحرف C إلى الأليل الأقل في موقع جيني معين Locus وتكراره في هذا المثال 0.1506. أي ١٥٪ من ١٠٠٠ جينوم في قاعدة البيانات، كما يشير الرقم 754 إلى عدد مرات ظهور هذا الـ SNP في العينات التي تمت دراستها (Ala'a Al-Ruwaisan, 2018).

أنواع التغيرات المفردة Types of SNPs:

قسمت التغيرات المفردة تبعًا لنوع (موقع) تتابعات الدنا التي تحدث فيها كما يلي:

أ - تغيرات مفردة غير مشفرة Noncoding SNPs:

يحدث هذا النوع في تتابعات الدنا غير المشفرة ومنها: المناطق غير المترجمة Untranslated region (5'UTR & 3'UTR) والإنترونات والمناطق المنظمة، كتتابعات بدء النسخ وتتابعات إنهاء عملية النسخ وتتابعات المحفز والجينات غير الفعّالة Pseudogenes وغيرها (الشكل ١٠-٥).

ب - تغيرات مفردة مشفرة Coding SNPs:

يحدث هذا النوع من التغير في تتابعات الدنا المشفرة، وقد يؤدي إلى تغير شفرة وراثية بشفرة أخرى تشفر لنفس الحمض الأميني (مرادف) Synonymous SNPs، وبالتالي لا يتغير البروتين الناتج أو تؤدي إلى تغير شفرة وراثية بشفرة أخرى تشفر الحمض أميني مختلف (غير مرادف) Non-synonymous SNPs، وبالتالي يتغير البروتين الناتج. بعض التغيرات التي تندرج تحت هذا النوع قد ينتج عنها أمراض. يرمز لكل نوع من أنواع الـ SNP بحرف يشير إلى الموقع الذي حدث به التغير كما يلي:

النوع الأول: cSNP تحدث في المناطق المشفرة Coding region.

النوع الثاني: rSNP تحدث في المناطق المنظمة Regulatory region.

النوع الثالث: sSNP تحدث دون حدوث أي تغير في الحمض الأميني Silent.

يبين (الجدول رقم ١٠-١) ملخصاً لأنواع الـ SNPs من حيث الموقع والنتائج المحتملة وما يترتب عليها.

(الجدول ١٠-١): يوضح ملخص لأنواع الـ SNPs

موقع SNPs	النتائج المحتملة	النوع	التأثير المتوقع
التتابعات المشفرة	قد لا يحدث تغير كما لو تغيرت الشفرة الوراثية من UUG إلى CUG وكلاهما يشفر للحمض الأميني الليوسين.	sSNP	غالباً لا يحدث تغير في الصفة الوراثية
	قد يحدث تغير للحمض الأميني مثل تغير شفرة الفينيل ألنين UUC إلى شفرة الليوسين UUA .	cSNP	تتغير الصفة الوراثية
	ربما تتغير شفرة حمض أميني UCA إلى شفرة توقف UGA.	cSNP	تتغير الصفة الوراثية
	ربما قد يحدث زيادة أو نقصان في معدل النسخ Up-or down-regulate	cSNP	يحتمل تغير الصفة الوراثية
التتابعات المنظمة وغير المشفرة	لا يتأثر البروتين الناتج وقد يعتبر SNP معلماً وراثياً Genetic markers	rSNP	نتائج غير معروفة

باستخدام عينات الدراسة القابلة للتحليل الإحصائي، وإعادة الخطوات أكثر من مرة، يمكن التحقق من أن الـ SNP كان تغيرًا وراثيًا حقيقيًا أدى لظاهرة تعدد الأشكال، وليس ناتجًا بفعل خطأ Sequencing error حدث أثناء تحديد تتابعات الدنا باستخدام الأجهزة والطرق المخبرية المتبعة لتحليل تتابعات الدنا. يوضح

(الجدول ١٠- ٢) أهمية التغيرات الوراثية من الناحية الإحصائية والكيموحيوية والكشف عن الأمراض أو تشخيصها (Sripichai, and Fucharoen, 2007)

(الجدول ١٠-٢): يوضح الأهمية الإحصائية والبيولوجية للـــ SNPs

نوع الأهمية	قيمة (*p*) *p*-value	معدل اختبار (Odds) Odds ratio	نسبة التغير (%)	عدد عينات الدراسة (*n*)
إحصائية	<٠.٠٥	١.١	٥٥ – ٥٧	٧١٠٠
كيموحيوية	<٠.٠٥	٥.٢	٥٥ – ٧٥	٩٤
إكلينيكية	<٠.٠٥	٠.٥	٥٥ – ٨٦	٣٩
طبية وتشخيصية	<٠.٠٥	١٥	٥٥ – ٩٥	٢٢

يمكن استخدام ظاهرة تعدد الأشكال لتتبع الجماعات العرقية Ethnic groups وفي القضايا الجنائية Forensic والهجرة وغيرها، كما في المثال التالي: درست بعض الأنتيجينات Antigens، الموجودة في مجاميع الدم Duffy blood group system، مثل أنتيجين Fy^a و Fy^b وهي نوع من البروتينات السكرية Glycoproteins، الموجودة على أسطح خلايا الدم الحمراء Red blood cells (RBCs). تعمل هذه الأنتيجينات كمستقبلات لنوع من السيتوكينات تسمى كيموكينز Chemokines والتي تجذب خلايا الجهاز المناعي لمواقع معينة داخل الجسم كمواقع العدوى أو الالتهاب. توجد هذه الأنتيجينات بنسب مختلفة بين مجاميع أو عشائر مختلفة من البشر Human populations حول العالم. يوضح (الجدول ١٠-٣) تكرار أليل الأنتيجين Fy^a ، حيث توجد بنسبة أعلى عند الكوريين، بينما أليل الأنتيجين Fy^b أقل تكرارًا. أما في جنوب أفريقيا فكان تكرار أليل الأنتيجين Fy^b هو الأعلى قيمة (Ann, 2010).

(الجدول ١٠-٣): يوضح تكرارات مواقع أليلات الأنتيجينات في مجاميع الدم

الأليل	كوريا	جنوب أفريقيا	انجلترا
Fy^a	٠,٩٩٥	٠,٠٦٠	٠,٤٢١
Fy^b	٠,٠٠٥	٠,٩٤٠	٠,٥٧٩

أهم استخدامات SNP:

يمكن تلخيص أبرز استخدامات SNP في النقاط التالية :

١. تستخدم في إثبات الهوية الوراثية للفرد والتعرف عليه خصوصًا في القضايا الجنائية.

٢. دراسة الأمراض الوراثية والتنبؤ بها والاستعداد الوراثي للإصابة بها.

٣. تستخدم في قضايا الهجرة لتتبع الأصول العرقية.

تعدد أشكال البروتين Protein polymorphisms:

إن معظم تعدد الأشكال يتضح بشكل أكثر في البروتينات وخصوصًا الإنزيمات. كما أن مجاميع الدم هي من الأمثلة الواضحة لظاهرة تعدد الأشكال في البروتينات. فالجينات المسؤولة عن مجاميع الدم هي التي تحدد تلك المجاميع ، كما أن جين الرايسس Rhesus gene هو المسؤول عن الطراز المظهري لمجموعة الدم الموجبة أو السالبة. هذا التعدد الشكلي للبروتينات مازال يستخدم حاليًا عند نقل الدم من شخص إلى آخر. لا شك أن تعدد الأشكال الوراثي في الجينات سيظهر أثناء التعبير الجيني وينعكس على البروتينات الناتجة وتنوعها.

عندما يوجد أليلان أو أكثر في موقع وراثي تكون المجاميع أو العشائر المختلفة من البشر ذات تنوع وراثي Polymorphic population ، أما في حالة وجود أليل

واحد فقط فليس هناك تنوع وراثي في تلك المجموعة Monomorphic population. يطلق على البروتينات التي تُظهر تنوعاً أثناء الفصل الكهربائي Electrophoretic variation بأنها متعددة الأشكال والعكس صحيح (Elizabeth *et al*, 2008).

الفصل الحادي عشر
العناصر الوراثية المتنقلة
Transposons (Transposition)

تم اكتشاف العناصر الوراثية المتنقلة بواسطة الباحثة باربارا ماكلنتوك Barbara McClintock عام ١٩٣٠م أثناء دراستها لنبات الذرة، درست باربارا هذه الظاهرة لأكثر من عشرين عاماً، ثم توالت الدراسات بعد ذلك واكتشف العديد من أنواع العناصر الوراثية المتنقلة في العديد من الكائنات الحية الأخرى. سميت العناصر الوراثية المتنقلة بهذا الاسم نظرًا لطبيعة حركتها وانتقالها من موضع إلى آخر داخل الجينوم.

تُعرّف العناصر الوراثية المتنقلة بأنها تتابعات من الدنا يمكنها الانتقال من مكان إلى آخر داخل الجينوم. كما تُعرّف بأنها قطع من الدنا لها القدرة على التحرك إلى مواقع جديدة داخل الجينوم والاندماج في تلك المواقع دون أن يكون هناك أي علاقة بين التتابعات المتنقلة وتتابعات الدنا في الموقع الذي انتقلت إليه. قد تكون هذه التتابعات المتنقلة تحمل معلومات وراثية مهمة تتحرك من كروموسوم لآخر بشكل تلقائي، لذا اعتبرها بعض العلماء نوعاً من الدنا الأناني Selfish DNA لأنها ضارة في معظمها ولا تفيد أو تحمي إلا ذاتها. في البكتيريا تنتقل العناصر الوراثية المتنقلة وتغير موضعها على نفس الكروموسوم أو قد تتحرك من الكروموسوم إلى البلازميد. (Leslie and Kira 2008).

الخصائص العامة للعناصر الوراثية المتنقلة General features of transposons:

تمتاز العناصر الوراثية المتنقلة بعدد من الخصائص العامة من أهمها:

١. توجد في الخلايا بدائية النواة والخلايا حقيقية النواة.

٢. يمكن أن توجد بشكل فعّال أو غير فعّال من الناحية الوظيفية.

٣. توجد بأعداد هائلة ومتنوعة داخل الخلايا حقيقية النواة.

٤. يمكن أن تضيف العناصر الوراثية المتنقلة خصائص إيجابية لخلايا العائل كمقاومة المضادات الحيوية، إلا أن معظم العناصر الوراثية المتنقلة داخل جينوم الخلايا حقيقية النواة ذات تأثير سلبي على الطراز المظهري Phenotype كالطفرات الوراثية الضارة أو بعض الأمراض.

٥. تحتوي العناصر الوراثية المتنقلة على كل المعلومات الوراثية التي تحتاجها لبناء إنزيمات للقص واللصق اللازمة لانتقالها داخل الجينوم.

٦. يمكن أن تنتقل العناصر الوراثية المتنقلة داخل تتابعات العائل المهمة كالتتابعات المنظمة أو التركيبية، مما يسبب خللاً في وظيفة الجين و/أو تحفيز إعادة اتحادات الدنا داخل الكروموسومات Chromosome re-arrangements.

٧. تشكل العناصر الوراثية المتنقلة حوالي ٢٥٪ تقريبًا من دنا الثدييات وحوالي ٤٥٪ من دنا الإنسان.

٨. تنشط وتتسارع حركة العناصر الوراثية المتنقلة في وجود كسور أو تلف كروموسومي.

٩. تنتقل العناصر الوراثية المتنقلة أثناء الانقسام الخلوي.

أنواع العناصر الوراثية المتنقلة Types of transposons:

تندرج العناصر الوراثية المتنقلة تحت قسمين رئيسيين هما :

أولاً: عناصر وراثية متنقلة Transposons:

عبارة عن قطع من الدنا تنتقل بذاتها من موقع لآخر داخل الكروموسومات، تسمى أحيانًا بالجينات القافزة Jumping genes لأنها تقفز أو تنتقل تلقائيًا، ولكن هذا التعبير قد يكون صحيحًا لبعض تلك العناصر، حيث تقفز فعلاً من مكان إلى آخر، ولكن هناك نوع آخر من الانتقال الموضعي المتضاعف، حيث تبقى العناصر الأصل في مكانها، بينما تنتقل العناصر التي تم نسخها إلى موضع آخر في الجينوم.

ثانياً: عناصر وراثية رجعية Retroposons:

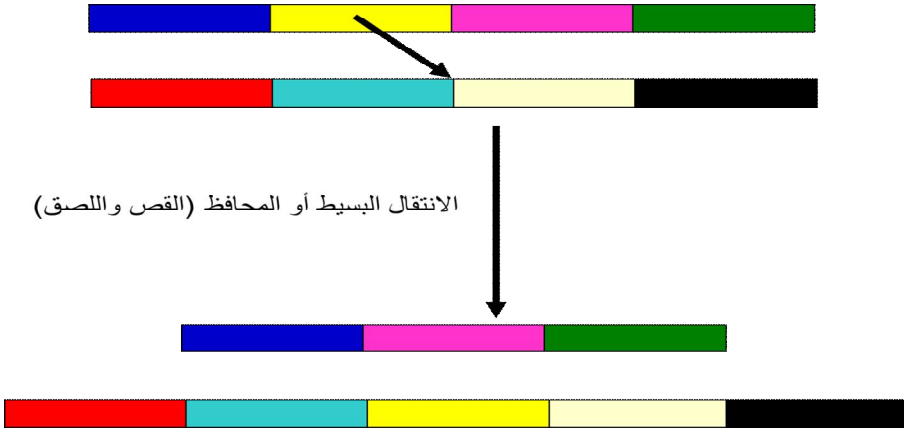
عبارة عن نوع آخر من أنواع العناصر الوراثية المتنقلة تتحرك من موقع إلى آخر من خلال قطع رنا RNAs وسيطة.

آليات انتقال العناصر الوراثية المتنقلة:

تنتقل العناصر الوراثية المتنقلة من موقع إلى آخر بعدة طرق أو آليات يمكن إيجازها في الآتي:

أ - الانتقال البسيط أو المحافظ:

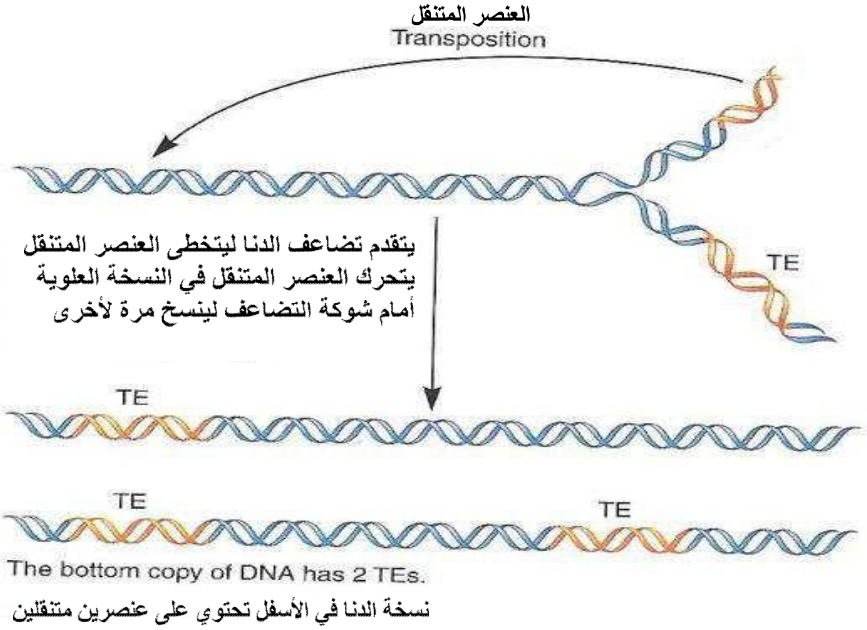
يعني الانتقال البسيط تحرك أو انتقال العنصر من موقعه الأصلي إلى الموقع الجديد (المستهدف). هذا النوع من الانتقال شائع الحدوث في البكتيريا وحقيقيات النواة. تسمى هذه الآلية أيضًا بآلية القص واللصق Cut and Past، لأن العنصر يتم قصه من موقعه الأصلي ولصقه في موقع جديد في الكروموسوم أو الجينوم (الشكل ١١-١).



(شكل ١١-١): يوضح آلية الانتقال البسيط أو المحافظ (القص واللصق) للعناصر الوراثية المتنقلة

آلية القطع والاندماج للعناصر الوراثية التي تتحرك بالانتقال البسيط:

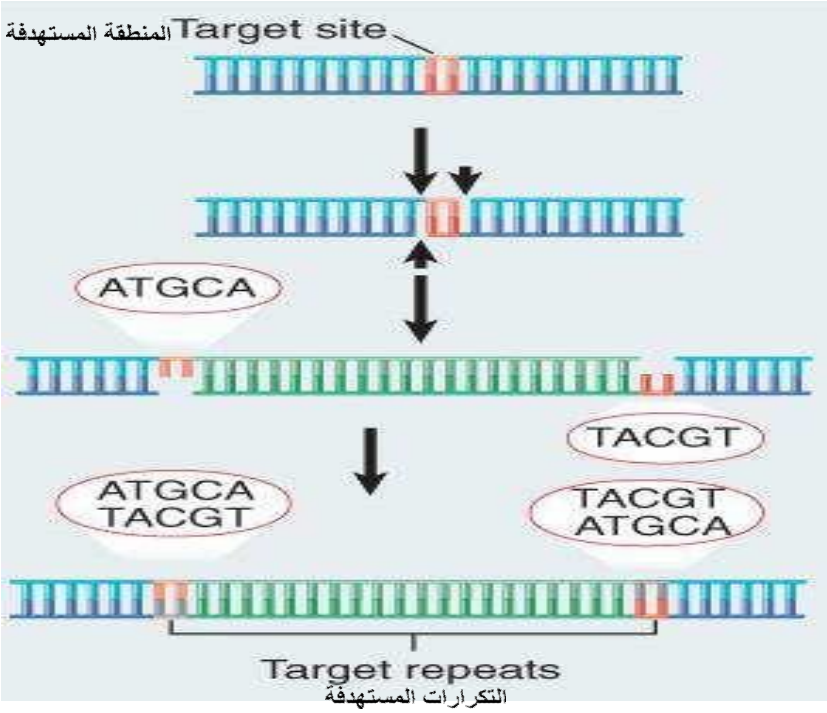
لا تزيد عملية التحرك والاندماج من عدد العناصر الوراثية المتنقلة بطريقة مباشرة، إلا أن هذه العملية تؤدي إلى زيادة عدد العناصر الوراثية المتنقلة في الجينوم، حيث إن عملية التحرك أو الانتقال تحدث غالبًا عند تضاعف الدنا بعد عبور شوكة التضاعف للمنطقة التي تحتوي على العنصر المتنقل، مما يؤدي إلى تكون عنصرين خلف شوكة التضاعف. أحد هذين العنصرين قد ينتقل أو يتحرك من موقعه الأصلي إلى المنطقة التي تقع قبل شوكة التضاعف، مما يسبب زيادة عدد العناصر الوراثية المتنقلة. يوضح (الشكل ١١-٢) أن العناصر الوراثية المتضاعفة انتقلت إلى موقع جديد لم يتضاعف بعد أمام شوكة التضاعف، فعند مرور شوكة التضاعف على العناصر الوراثية المتنقلة ستتضاعف مرة أخرى ويزيد عددها.



(الشكل ١١-٢): يوضح زيادة عدد نسخ العناصر الوراثية المتنقلة بطريقة الانتقال المحافظ

يقوم إنزيم نقل متخصص يسمى ترانسبوسيز Transposase بتسهيل انتقال العناصر الوراثية المتنقلة (الشكل ١١-٣) حسب الخطوات التالية :

١. استئصال العناصر الوراثية المتنقلة من الدنا الأساسي (المانح) Donor DNA.
٢. قطع تتابعات قصيرة في الدنا المستهدف Targeted DNA.
٣. ربط النهاية '3 للعناصر المتنقلة مع النهاية '5 للدنا المانح.
٤. يقوم إنزيم بلمرة الدنا DNA polymerase في الخلية المضيفة بملء الفجوات في سلسلة الدنا المفردة، مما يولد تكرارات قصيرة Short direct repeats تحيط بعناصر التتابعات المدخلة.
٥. يقوم الدنا اللاصق DNA ligase بربط النهايات الحرة.



(الشكل ١١-٣): يوضح انتقال العناصر الوراثية المتنقلة بمساعدة إنزيم الترانسبوسيز

لكل نوع من أنواع العناصر الوراثية المتنقلة نمط مميز من تتابعات الدنا. من أمثلة العناصر التي تنتقل أو تتحرك بواسطة الانتقال البسيط ما يلي :

١. تتابعات الدمج أو الإدخال Insertion sequences (IS) التي تحتوى على جين الترانسبوسيز Transposase.

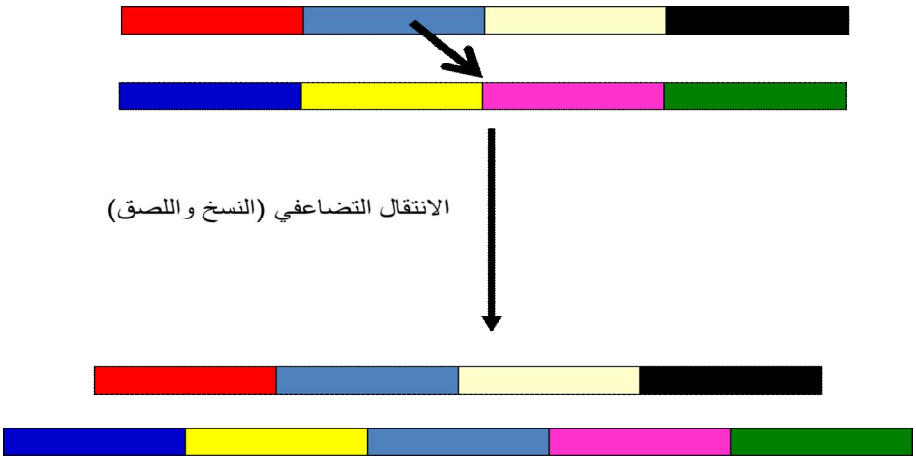
٢. العناصر الوراثية المركبة Composite transposons (CT) تحتوى على جين Transposase بالإضافة لجين مقاوم للمضادات الحيوية مثل جين *TN554* أو جين مقاوم للمعادن السامة الثقيلة مثل جين*TN21* أو جين مقاوم للحرارة مثل جين *TN1681*.

كلا النوعين منتشر في البكتيريا ويحاط بتكرار من تتابعات نيوكليوتيدية متماثلة لها نفس التكرار والاتجاه وتوجد عند نهايتي العنصر. أيضًا يحاط كلاهما بتتابعات متماثلة أو شبه متماثلة لكنها تكون معكوسة الاتجاه.

ب- الانتقال التضاعفي Replicative transposons:

العناصر الوراثية المتنقلة التي تتحرك بالانتقال التضاعفي لها تنظيم تتابعي مشابه لعناصر الدمج، وتحتوي على جينات تشفر لإنزيم الترانسبوسيز Transposase، وإنزيم الريزولفيز Resolvase الضروريين لتحفيز وانتقال العناصر المتنقلة. يرتبط إنزيم الترانسبوسيز بنهاية العناصر الوراثية المتنقلة ويحثها على التحرك والانتقال لمكان آخر في الجينوم بواسطة آلية القص واللصق أو آلية الانتقال التضاعفي. بينما يقوم إنزيم الريزولفيز بالمشاركة في عملية إعادة اتحادات الدنا DNA recombination، ولذلك يطلق على هذا الإنزيم أحيانًا إنزيم إعادة الاتحاد Recombinase (Rec).

تتضمن العناصر الوراثية التي تتحرك بالانتقال التضاعفي تضاعف العنصر في البداية ثم اندماج النسخة المتضاعفة في موقع آخر من الكروموسوم أو الجينوم. هذا النوع غير شائع نسبيًا، ويوجد في البكتيريا فقط (الشكل ١١-٤).



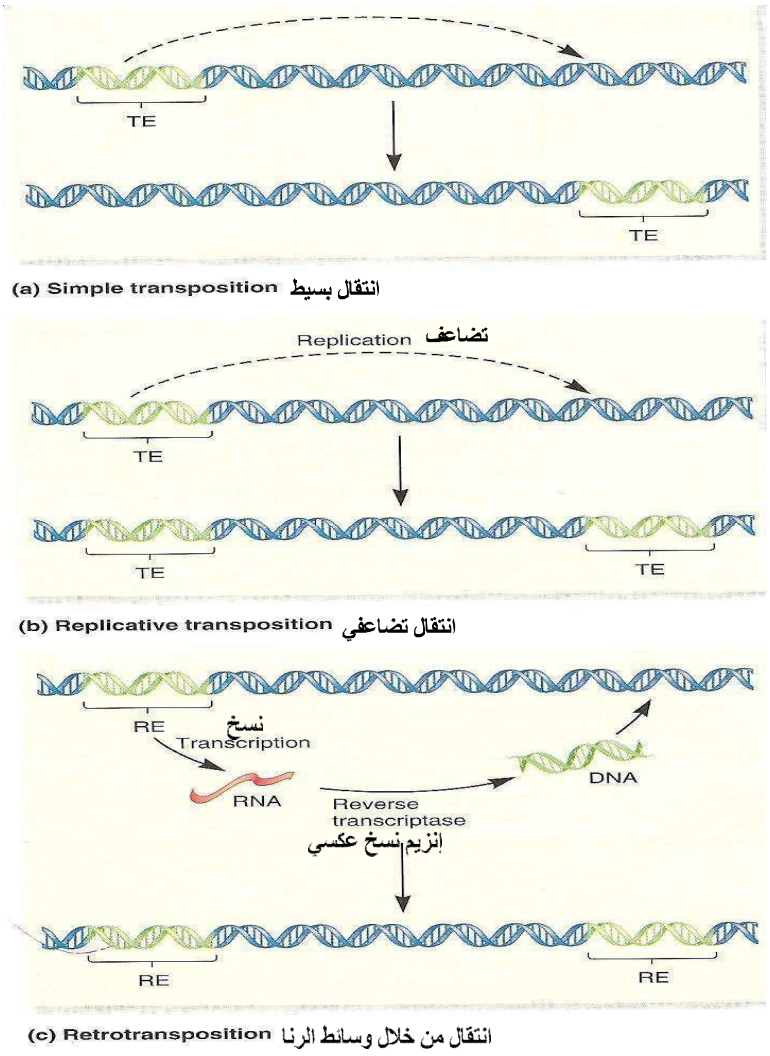
(الشكل ١١-٤): يوضح الانتقال التضاعفي للعناصر الوراثية المتنقلة

ج- الانتقال من خلال وسائط الرنا Retrotransposons:

يكون تنظيم تتابعات هذه العناصر متباين بشكل كبير، حيث يتم تقسيمها على أساس تتابعات الفيروسات المسماة بالفيروسات القهرية (الرجعية) Retroviruses وهي فيروسات تكون مادتها الوراثية الرنا RNA، الذي يتحول إلى دنا مزدوج dsDNA أو دنا متمم Complementary DNA (cDNA) ، ثم يندمج في موقعه الجديد في جينوم العائل. يتحرك العنصر المتنقل هنا من خلال وسيط هو RNA. هذا النوع شائع في حقيقيات النواة.

هناك نوعان من العناصر التي تنتقل من خلال وسائط الرنا هما: عناصر تشبه الفيروسات الرجعية وعناصر لا تشبه الفيروسات الرجعية. النوع الأول يحتوي على جين مشفر لإنزيم النسخ العكسي Reverse transcriptase والذي يحفز بناء الدنا من الرنا ويسمى الدنا الناتج من هذه العملية بالدنا المتمم cDNA. كما يحتوي هذا النوع على جين يشفر لإنزيم الدمج Integrase الذي يساهم كذلك في عملية تحرك العناصر الوراثية المتنقلة من موقع لآخر (الشكل ١١-٥).

تزداد أعداد العناصر الوراثية المتنقلة أثناء عملية الانتقال في النوع ب و ج.
ينتقل العنصر كدنا من موقع لآخر داخل الجينوم في النوعين أ و ب.



(الشكل ١١-٥): يوضح طرق انتقال العناصر الوراثية المتنقلة

قسمت العناصر الوراثية المتنقلة كذلك إلى: عناصر تامة Autonomous elements وهي العناصر التي تحتوى على كل المعلومات الضرورية لعملية التحرك أو الانتقال، وعناصر غير تامة Non-autonomous elements وهي العناصر التي تفتقد للجين المشفر لإنزيم الترانسبوسيز أو الجين المشفر لإنزيم النسخ العكسي الضروريين لتحرك العناصر الوراثية المتنقلة. يبين (الجدول ١١-١) بعض الأمثلة للعناصر المتنقلة في الكائنات الحية التي تمت دراستها بشيء من التفصيل. تحتوي جينومات الكائنات حقيقية النواة عادة على تتابعات متكررة بسيطة، متوسطة، وعالية التكرار (Tripathi *et al*., 2010).

(الجدول ١١-١): يبين أمثلة للعناصر الوراثية المتنقلة

الجينوم	العنصر	النوع	الطول (kbp)	الوصف
البكتيريا *E. coli*	*ISI*	تتابعات إدخال	٠,٧٧	تتابعات إدخال شائعة في البكتيريا، يوجد منها حوالي ٥-٨ نسخ في الجينوم.
البكتيريا *E. coli*	*Mu*	عناصر وراثية متضاعفة	٣٦	تتابعات فيروسية تدخل إلى أي مكان في الجينوم ولها القدرة على إحداث طفرات.
فطر الخميرة Yeast	*Ty*	عناصر تشبه الفيروسات	٦,٢	عناصر تشبه الفيروسات الرجعية توجد في فطر الخميرة وحيد الخلية، يوجد منها حوالي ٣٥ نسخة داخل الجينوم.
الدروسوفيلا		عناصر متنقلة	٠,٥-٣	عناصر وراثية متنقلة يوجد

الجينوم	العنصر	النوع	الطول (kbp)	الوصف
Drosophila	*P*	بسيطة		منها حوالي ٣٠-٥٠ نسخة في جينوم الدروسوفيلا.
الإنسان Human	*ALU*	عناصر لا تشبه الفيروسات	٠,٣	تتواجد بوفرة داخل جينوم الإنسان.
النبات Plant	*Ac/Ds*	عناصر متنقلة بسيطة	٤,٥	*Ac* عناصر وراثية متنقلة ذاتية توجد في نبات الذرة وغيرها، تحمل الجين المشفر لإنزيم الترانسبوسيز. *Ds* عناصر وراثية متنقلة غير ذاتية تفتقر للجين المشفر لإنزيم الترانسبوسيز.

تستمر بعض العناصر الوراثية المتنقلة في التضاعف داخل الجينوم، وقد يتفاوت معدل التضاعف من كائن إلى آخر أو من عنصر إلى آخر، ففي جينوم الإنسان يتضاعف العنصر *Alu* بمعدل بطيء نسبيًا، حيث يوجد في حوالي مليون نسخة في جينوم الإنسان. أي أن ١٠٪ من جينوم الإنسان يتكون من هذا العنصر، هذا العنصر يندمج في مواقع جديدة في الجينوم، ونادرًا ما يؤدي هذا الاندماج الجديد إلى عيوب جينية، وبالتالي عيوب مظهرية. يبين (الجدول ١١- ٢) وفرة العناصر الوراثية المتنقلة في بعض أنواع الجينومات، كما أن نسبة ووفرة هذه العناصر قد تتباين بين سلالات نفس النوع.

(الجدول ١١-٢): يوضح تباين وفرة العناصر الوراثية المتنقلة في بعض أنواع الجينومات

النوع Species	النسبة المئوية للعناصر الوراثية المتنقلة في كامل الجينوم
الضفدع	٧٧
الذرة	٦٠
الإنسان	٤٥
الفأر	٤٠
الدروسوفيلا	٢٠
الديدان الخيطية	١٢
الخميرة	٤
البكتيريا	٠,٣

تأثيرات عملية تحرك العناصر الوراثية المتنقلة على الكائنات الحية:

أثبتت الدراسات أن تحرك العناصر الوراثية المتنقلة داخل الجينوم يؤثر على الكائنات الحية. يبين (الجدول ١١-٣) بعض التأثيرات المختلفة التي يمكن أن تسببها العناصر الوراثية المتنقلة على تركيب الكروموسومات والتعبير الجيني وغير ذلك من التأثيرات. معظم التأثيرات ضارة بالكائن الحي، وقد يزيد التعرض للمواد الكيميائية المطفرة والإشعاعات الضارة والاضطراب الهرموني من معدل تحرك هذه العناصر (George and Christian, 2013).

(الجدول ١١-٣): يبين النتائج المحتملة لنشاط العناصر الوراثية المتنقلة

مستوى التأثير	النتيجة	السبب
تركيب الكروموسوم	كسور كروموسومية	استئصال العناصر الوارثية المتنقلة.
	إعادة الاتحادات الكروموسومية	إعادة اتحاد متماثل بين العناصر الوارثية التي تقع في مناطق مختلفة من الجينوم.
التعبير الجيني	حدوث طفرة	استئصال خاطئ للعناصر الوارثية المتنقلة.
	تنشيط / تثبيط الجين	إدخال عناصر وراثية داخل الجين.
	تغير التنظيم الجيني	انتقال العناصر الوراثية إلى مناطق مجاورة للتتابعات المنظمة أو العكس.
تغير محتوى الإكسون	خلط الجينات	نقل الإكسون داخل التتابعات المشفرة لجين آخر بواسطة العناصر المتنقلة.
تضاعف الجين	تكون عناصر وراثية جديدة	خلق عناصر وراثية تركيبية تنتقل بدورها إلى موقع آخر في الجينوم.

يؤدي انتقال العناصر الوراثية المتنقلة أثناء مرحلة تضاعف الدنا S-phase إلى زيادة عدد تلك العناصر. كما أن انتقال تلك العناصر من الجينات بعد مرحلة القص مثلاً يترك فجوة أو فراغاً داخل الجين، ومن المحتمل عدم معالجة هذا الخلل بآليات إصلاح تلف الدنا بالطريقة الصحيحة. فإذا حدث ذلك في الخلايا الجنسية فسوف ينتقل إلى الأجيال اللاحقة.

العناصر الوراثية المتنقلة كوسائل تجريبية:

إن الخصائص الفريدة التي تمتاز بها العناصر الوراثية المتنقلة جعل منها أداة تجريبية مهمة في علم الأحياء الجزيئي. حيث قام الباحثون بإدخال هذه العناصر إلى

الخلايا بطرق مختلفة ودمجها داخل الجينات. فإذا اندمج هذا العنصر في جين معين أدى إلى كبح أو تثبيط وظيفة ذلك الجين أو نسخه. ظاهرة نسخ الجينات باستخدام العناصر المتنقلة تدعى بوسم العناصر المتنقلة Transposon tagging، وهي عبارة عن تقنية لنسخ الجينات يتم فيها دمج العنصر المتنقل مع الجين المعني ثم نسخه في وجود مسبار Probe لتتبع الجين والتعرف عليه. إن الأهمية البيولوجية للعناصر المتنقلة من حيث تطور أنواع الكائنات بدائية وحقيقية النواة لا تزال موضع جدل ويدور حولها الكثير من الآراء والفرضيات ومنها: فرضية الدنا الأناني Selfish DNA، والتي تفيد بأن العناصر المتنقلة موجودة لأنها تحتوى على خصائص تسمح لها بالتكاثر داخل الدنا الكروموسومي للخلايا الحية. فهي تشبه الطفيليات في كونها تعيش داخل الخلايا دون تقديم أي منفعة انتخابية للكائن الحي (Leslie 2008). يعتقد بعض الباحثين أن العناصر المتنقلة تستطيع أن تتكاثر طالما أنها لم تسبب أضراراً مميتة تؤثر على بقاء الكائن الحي، بينما يعتقد آخرون أن معظم أحداث تحرك هذه العناصر ضارة بالكائن الحي، ولذلك فإن هذه العناصر كان من المفترض أن تحذف من جينومات الكائنات الحية بالانتخاب الطبيعي لولا أنها قدمت أيضًا بعض المنافع ومنها:

١. أن وجود العناصر المتنقلة قد يؤدي إلى تباين وراثي أكبر من خلال السماح بحدوث إعادة اتحادات الدنا.

٢. غالبًا ما تحمل العناصر المتنقلة البكتيرية جيناً مقاوماً للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة السامة، مما يساعد على بقاء هذه الكائنات.

٣. ظاهرة تحرك العناصر الوراثية قد تسبب اندماج الإكسونات في التتابعات المشفرة داخل الجينات التركيبية وهذه الظاهرة تعرف بخلط الجينات Exon shuffling التي تؤدي إلى تطور أو ظهور جينات لها وظائف متنوعة (Miriam and Danka 2004).

خلط الإكسونات Exon shuffling:

يعتبر خلط الإكسونات آلية جزيئية لتكوين جينات جديدة. ويتم ذلك من خلال ارتباط أكثر من إكسون من جينات مختلفة (إعادة اتحادات) أو من خلال تضاعف نفس الإكسون لبناء تتابعات جديدة. هناك عدة آليات للخلط الجيني من ضمنها مساهمة العناصر المتنقلة كعامل وسيط أثناء عملية العبور، يلي عملية خلط الجينات نظام قص معين Certain splice frame rules. الجدل حول الأهمية البيولوجية للعناصر المتنقلة مازال مستمرًا ولكن من الواضح أن هذه العناصر تستطيع الدخول وبسهولة إلى جينومات الكائنات الحية والتكاثر بسرعة.

أما أبرز الأضرار التي تسببها العناصر المتنقلة فهي :

١. تسبب العناصر الوراثية المتنقلة كسوراً كروموسومية.
٢. تؤدي في كثير من الأحيان إلى طفرات وراثية.
٣. تؤدي إلى تثبيط الجينات التي تداخلت معها أو أدت إلى تضاعفها.
٤. تُحْدِث تغيرات في الجينات المنظمة لعمل جينات أخرى.

الفصل الثاني عشر
الخرائط الجينية
Gene mapping

بدأ العمل على مشروع الجينوم البشري عام ١٩٩٠م، وكان يهدف إلى تحديد خريطة جينات الإنسان، التي يمكن من خلالها تحديد مواقع الجينات والعلاقة بين الجينات المختلفة على الكروموسومات. تصف خريطة الجينوم ترتيب الجينات أو المعالم الوراثية Genetic markers على كل كروموسوم والمسافات التي تفصلها عن بعضها البعض. يمكن تشبيه الخريطة الجينية بخريطة المدينة التي يمكن بواسطتها تحديد الاتجاهات والمواقع وأبعادها أو التنبؤ بمواقع الجينات أو المعالم وتحديد تتابعها (تسلسلها) النيوكليوتيدي ودورها الوراثي. تُبنى خريطة الجينوم بمستويات دقة Resolution متباينة أقلها خرائط الارتباط الوراثي Genetic linkage maps التي تعطي تصوراً تقريبياً أو نسبياً لمواقع الجينات والمعالم الوراثية على الكروموسوم. لقد واجه العلماء الكثير من الصعوبات التي تم التغلب عليها تدريجيًا حتى تم الانتهاء تماماً من معرفة كل التتابعات المشفرة (الإكسوم) Exome، وهي كامل تتابعات الإكسونات Whole exome sequencing (WES)، كما تم تحديد معظم التتابعات غير المشفرة.

أهداف مشروع الجينوم البشري:

١. تحديد الخريطة الفيزيائية Physical map والوراثية Genetic map.

٢. تحديد خريطة تتابعات الجينوم كاملاً Sequence map.

٣. تحديد خرائط الجينوم لأنواع أخرى من الكائنات الحية ومقارنتها مع خريطة الجينوم البشري.

٤. تطوير تقنيات تحديد تتابعات الدنا كالبرامج الحاسوبية لعزل وتحليل وعرض البيانات.

٥. الاهتمام بالقضايا الأخلاقية والقانونية والجنائية المتعلقة بالمعلومات الحيوية.

لتحديد مواقع الجينات على الكروموسومات لابد من معرفة التركيب العام للكروموسوم، الذي يتألف من تراكيب خيطية أو اسطوانية الشكل. تعمل الكروموسومات على تخزين ونقل المعلومات الوراثية وتوجد دائمًا داخل نواة الخلية حقيقية النواة أو في سيتوبلازم الخلية بدائية النواة، ويمكن رؤيتها بسهولة بواسطة المجهر الضوئي خلال الدور الاستوائي Metaphase stage من الانقسام الخلوي. يتميز كل كائن حي بعدد ثابت من الكروموسومات في خلاياه الجسدية، معظمها كروموسومات جسدية Somatic chromosomes مع وجود كروموسوم واحد أو كروموسومين هما كروموسوما الجنس Sex chromosomes متغايرة (متباينة) الشكل Heterochromosomes.

الهيئة الكروموسومية (طبعة النواة) Karyotype:

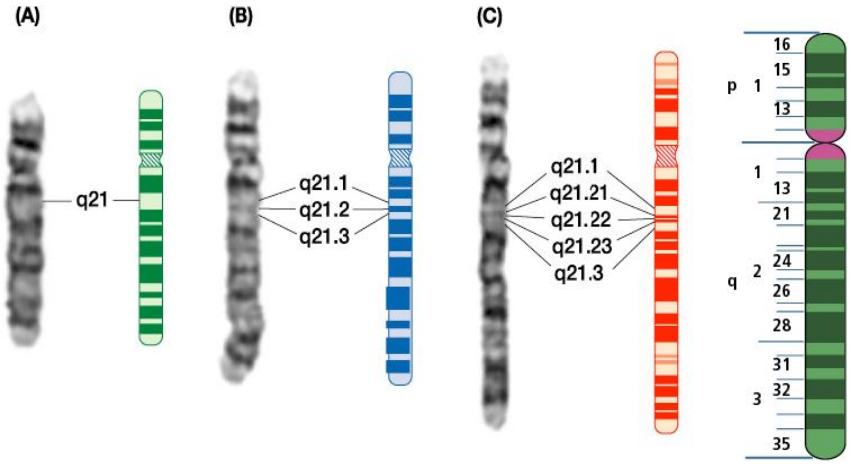
يطلق على كروموسومات نواة الخلية أو الكائن الحي الهيئة الكروموسومية أو طبعة النواة. يُعَبِر مصطلح طبعة النواة عن كروموسومات الخلية في المرحلة الاستوائية والمرتبة بطريقة قياسية طبقًا لأحجامها. كما تُعرَف طبعة النواة بأنها صورة فوتوغرافية لكروموسومات المرحلة الاستوائية المرتبة قياسيًا حسب الطول. يمكن أن تطبق على طبعة النواة معايير أخرى عند الضرورة، مثل: النسبة الذراعية، المعدل السنترومیري، التخصرات الثانوية، التشريط الكروموسومي. يتم التعرف على كروموسومات الفرد أو أجزائها المختلفة وتمييزها من خلال تقنيات التشريط أو التحزيم Banding، حيث تتميز الكروموسومات المصبوغة بنمط تشريطي محدد عبارة عن مزيج من الشرائط اللامعة Bright bands

والشرائط الداكنة Dim bands. من التقنيات الحديثة في مجال تمييز الكروموسومات تقنية التحليل الكروموسومي Flow cytometry والتهجين الموضعي Fluorescence in situ hybridization (FISH)، التي تساعد على معرفة العيوب الكروموسومية Chromosomal aberrations. ينظر علماء الوراثة الطبية للكروموسومات باهتمام كبير لأن دراستها وتحليلها يساعدان على تشخيص الأمراض الوراثية أو التنبؤ بها مثل متلازمة داون Down syndrome.

يكمن من خلال تقنيات التشريط أو التهجين الموضعي تحديد موقع الجين على الكروموسوم باستخدام المعلومات التالية:

١. رقم الكروموسوم من خلال ترتيب وترقيم الكروموسومات في طبعة النواة.
٢. رقم الذراع الطويل Long arm (q) أو الذراع القصير Short arm (p).
٣. رقم المنطقة، وهي أي قطعة كروموسومية تقع بين معلمين متجاورين، والمعلم عبارة عن المميزات التركيبية أو المورفولوجية الواضحة والتي تستخدم للتعرف على الكروموسوم.
٤. رقم التشريط وهو جزء من الكروموسوم يمكن تمييزه عن القطع المجاورة من خلال ظهوره بصورة أكثر أو أقل اصطباغًا (الشكل ١٢-١).

يتم ترقيم المناطق والشرائط بداية بالسنترومير باتجاه المناطق الطرفية Telomeres على طول كل ذراع، فمثلاً يكتب التشريط الثالث من المنطقة الثانية في الذراع الطويل للكروموسوم السادس كالتالي: 6q23 ، حيث يشير الرقم ٦ لرقم الكروموسوم والحرف q للذراع الطويل والرقم ٢ للمنطقة الثانية والرقم ٣ للتشريط الثالث.



(الشكل ١٢-١): يوضح الكروموسوم الرابع عند الإنسان بمستويات تباين (وضوح) متفاوتة

أنواع الخرائط الجينية Types of gene maps:

قسمت أنواع الخرائط الجينية، حسب المعلومات التي تتضمنها إلى أربعة أنواع كما يلي:

أ - خرائط تتابع الدنا (النيوكليوتيدات) Nucleotide sequence maps:

تهدف خرائط تتابع الدنا إلى معرفة التتابع النيوكليوتيدي للكائن الحي بشكل كامل أو جزئي. يمكن الحصول على حوالي ٦٠٠-٨٠٠ تتابع (نيوكليوتيدة) وهذا الحجم مناسب، لكن ماذا لو كان حجم الدنا أكبر كما في الإنسان (٣ ملايين زوج قاعدي) وهذا أكبر من استيعاب الأجهزة المتوفرة. للتغلب على هذه المشكلة يجزأ الجينوم إلى قطع يمكن معرفة تتابعها، وهذا يمكن بطريقتين من طرق تحديد تتابعات الدنا تم تطويرهما:

أولاً: طريقة ماكسيم وجلبرت Maxim and Gilbert method أو ما يسمى بالطريقة الكيميائية Chemical method.

ثانياً: طريقة سانجر Sanger method أو الطريقة الإنزيمية Enzymatic method وهي الأشهر والأكثر استخدامًا.

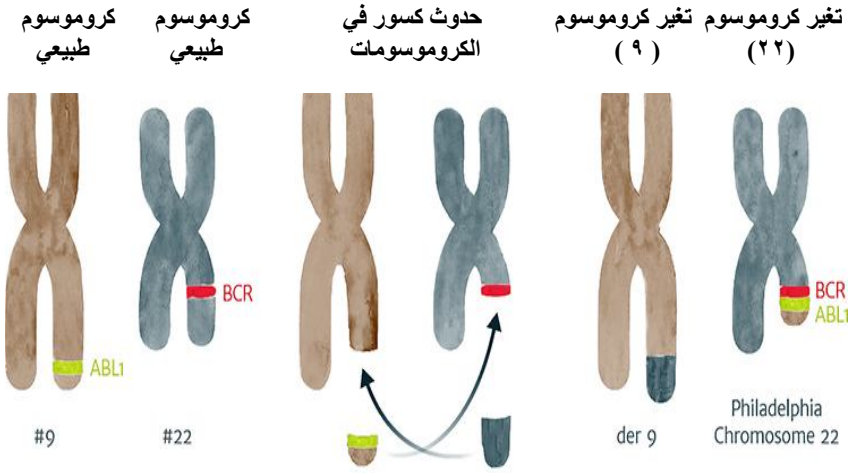
يمكن بواسطة هذه التقنيات تحديد ما بين ٦٠٠-٨٠٠ تتابع في المرة الواحدة، مما يعني الحاجة لوقت أطول وجهد وتكلفة أكبر لتحديد جينوم الإنسان كاملاً والمكون من ٣ بلايين تتابع. اكتشفت في السنوات الأخيرة طريقة جديدة لتحديد تتابع الدنا أطلق عليها الجيل التالي لتتابع الدنا Next-generation DNA sequencing (NGS)، والتي تمتاز بدقتها العالية. تشمل هذه الطريقة العديد من التقنيات الحديثة لتحديد تتابعات الدنا Modern sequencing technologies، ومن أشهرها: تقنية تتابع الومينا sequencing Illumina وتقنية تتابع روتش

Roche 454 sequencing. طُورت هذه التقنيات من قبل شركات متخصصة وأصبحت تستخدم في معظم المختبرات المتقدمة لتحديد تتابع الدنا والرنا أيضًا وفي خلال وقت قصير وتكلفة أقل من التقنيات التي سبقتها، حيث يمكن تحديد تتابع الدنا للفرد في يوم واحد تقريبًا. بهذه التقنية الجديدة يمكن عمل تتابع الأكسونات التي تشفر للبروتينات Exome sequencing ومعرفة التغيرات أو الاختلافات في المنطقة المشفرة للبروتين لأي جين معين، فمعظم الطفرات الممرضة التي تحدث في المناطق المشفرة يمكن الكشف عنها بمعرفة Whole sequencing exome، وكذلك تحديد الطفرات التي قد تسبب الأمراض. كما عرف الباحثون أن التغيرات التي قد تحدث خارج الأكسونات يمكن أن تؤثر على نشاط الجين وإنتاج البروتين وقد تسبب أمراضاً وراثية. ليس كل التغيرات تسبب أمراضاً ولكن أحيانًا تحديد تغيرات معينة مرتبطة بأمراض وراثية لم يتم تحديد تأثيرها والتي تسمى بالنتائج العرضية أو الثانوية، ومع ذلك فهي تساعد في تحديد ما إذا كانت هذه التغيرات مرتبطة بأمراض معينة أم لا؟ وبالتالي تساهم في عملية التشخيص. لقد أسهمت هذه التقنيات بشكل كبير في تطوير البحث العلمي وطرق الكشف عن الأمراض الوراثية.

ب - خرائط الوراثة الخلوية Cytogenetic maps:

تبين خرائط الوراثة الخلوية الكروموسومات تحت المجهر، بعد صبغها لتظهر على هيئة مناطق داكنة وأخرى لامعة. تهدف هذه الخرائط إلى معرفة الأسباب المؤدية للأمراض الوراثية، وذلك من خلال تتبع التغيرات الجينية المسببة لتلك الأمراض. على سبيل المثال: كروموسوم فيلادلفيا Philadelphia chromosome، نتج هذا الكروموسوم بسبب انتقال كروموسومي متبادل بين كروموسوم رقم ٩ وكروموسوم رقم ٢٢ (الشكل ١٢-٢) مما أدى إلى ظهور

سرطان الدم المزمن Chronic myelogenous leukemia (CML)، الذي يتطور مع زيادة فقدان القدرة على تمايز الخلايا الجذعية المكونة للدم، وبالتالي ظهور سرطان الدم الحاد Acute leukemia.



(الشكل ١٢-٢): يوضح انتقالاً كروموسومياً متبادلاً بين كروموسوم رقم ٩ وكروموسوم فيلادلفيا رقم ٢٢

ج - خرائط الارتباط الوراثي Genetic linkage maps:

تعتمد خرائط الارتباط الوراثي على التباين في تكرار إعادة اتحادات الدنا DNA recombination frequency بين المواقع الجينية أو المعالم الوراثية أثناء عملية العبور Crossing over التي تتم خلال المرحلة التمهيدية الأولى من الانقسام الاختزالي. تعمل خرائط الارتباط الوراثي لكل كروموسوم من خلال تحديد عدد المرات التي يتكرر فيها انتقال معلمين أو جينين معًا من الآباء إلى الأبناء. بسبب حدوث تبادل المادة الوراثية أثناء عملية العبور قد تنتقل مجموعة من الجينات المرتبطة على كروموسوم واحد مع بعضها البعض. كلما كانت المسافة بين الجينات أقل كلما زادت فرصة انتقالها كمجموعة واحدة وقل عدد الاتحادات

الجديدة أو ربما ينعدم والعكس صحيح، فكلما زادت المسافة بين الجينات أو المعالم الوراثية كلما زادت فرصة حدوث اتحادات جديدة. تكمن أهمية الخرائط الوراثية في معرفة الأمراض الوراثية التي قد تكون جيناتها تقع ضمن الخريطة الوراثية، من خلال تتبع المعالم المتوارثة الموجودة لدى الأفراد المصابين بالأمراض الوراثية فقط دون غيرهم. إلا أن الأساس الجزيئي لتلك الأمراض مازال غير مفهوم بشكل واضح.

د - الخرائط الفيزيائية Physical maps:

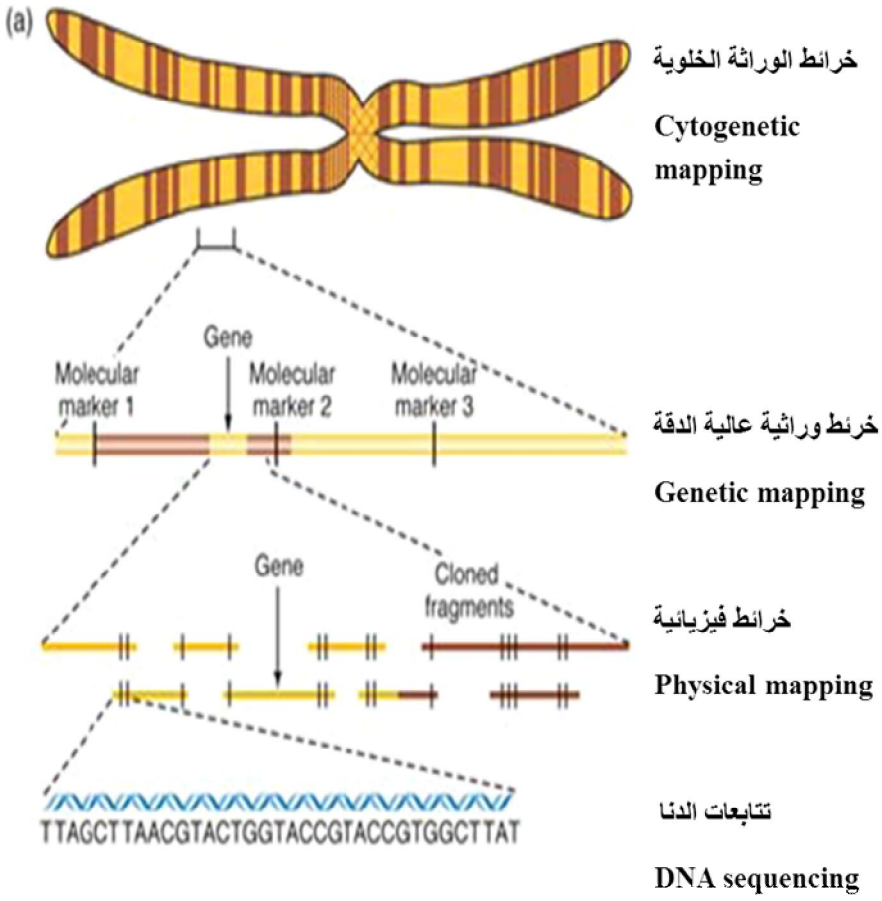
نظرًا للجهد والوقت اللذين تستغرقهما الطرق القديمة أو التقليدية لتحديد تتابعات الجينوم جاءت فكرة تعيين الخرائط الفيزيائية لقطع الدنا والتتابعات المتراكبة (المتداخلة) بين تلك القطع Overlapping DNA fragments (الشكل ١٢-٣ أ و ب). تتم هذه الطريقة على عدة خطوات كما يلي:

١. تجزئة الجينوم Genomic library إلى قطع في كل كروموسوم.

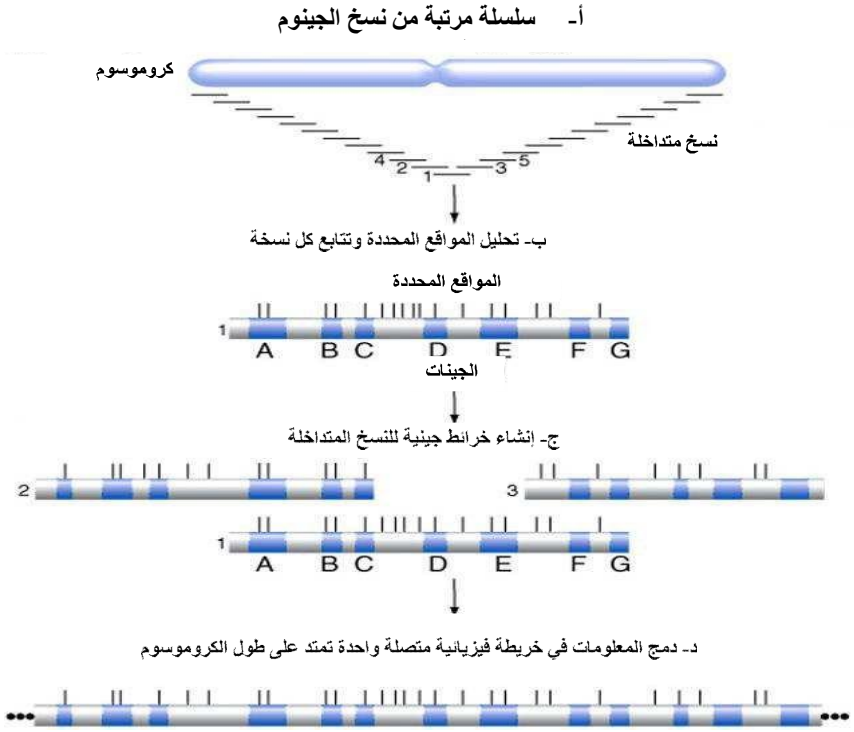
٢. تحديد تتابع الدنا في كل قطعة على حدة.

٣. تجميع تتابع الدنا لكل قطعة لتكوين صورة كاملة لتتابعات الجينوم Contiguous sequence.

تعتمد الخرائط الفيزيائية بالدرجة الأولى على تحديد المسافة الفعلية بالكيلو قاعدة Kb بين الجينات على الكروموسوم.



(الشكل ١٢–٣ أ): يوضح الخرائط الفيزيائية لقطع الدنا والتتابعات المتداخلة



(الشكل ١٢-٣ ب): يوضح التتابعات المتداخلة بين قطع الدنا

بناء على مستويات الدقة والوضوح Resolution قسمت الخرائط الفيزيائية إلى أكثر من نوع أقلها وضوحًا يكون على مستوى الكروموسوم وتظهر تحت المجهر على شكل حزم داكنة وأخرى لامعة، وأكثرها وضوحًا التي توضح تتابعات الدنا بدقة لكل كروموسوم في الجينوم كاملاً. من أهم أنواع الخرائط الفيزيائية:

أ - خريطة الدنا المتمم Complementary DNA (cDNA) التي توضح مواقع الدنا المشفرة على الكروموسوم والتي يتم فيها التعبير الجيني ويطلق عليها الإكسونات.

ب - الخريطة المتصلة Contig map التي تعطي تفاصيل أكثر وصورة أدق لتتابعات قطع الدنا المتراكبة في الجينوم.

تعتبر كل من خريطة الجينوم Genome map وتتابع الجينوم Genome sequence صورة من الجينوم، لكن خريطة الجينوم أقل تفاصيل من تتابعات الجينوم، فالتتابعات تحدد ترتيب كل قواعد الدنا في الجينوم، بينما الخرائط تحدد ببساطة عدداً من المعالم في الجينوم، مع العلم أن بعض المعالم قد تكون تتابعاته معروفة. كما أن لكل من تتابعات الجينوم وخرائط الجينوم عمليات منفصلة. على سبيل المثال: يمكن بواسطة خرائط الجينوم تحديد موقع الجين دون معرفة تتابعاته. في المثال التالي: الأول تتابع دنا والثاني خريطة لذلك التتابع. في هذه الخريطة GCC هو معلم و CCCC معلم آخر. وبعبارة أخرى تتابع الجينوم هو التفاصيل الممكنة لخريطة الجينوم.

GCCATTGACGTCCCCTTGAAA
GAGAGAGAGACTCCGCATGCG

GCC---------- CCCC----------
----------CTCCG------GCG

بما أن تتابعات الجينوم تتباين من شخص لآخر -فلماذا تحدد- وكيف تتباين هذه التتابعات؟ هناك حوالي ٣ ملايين اختلاف بين جينوم أي شخصين، ومع ذلك تتشابه تتابعات الدنا بنسبة عالية، فمعظم الاختلافات قليلة وبسيطة نسبيًا. بعد اكتمال الجينوم مازال العلماء يدرسون الدنا للعديد من الأشخاص لتحديد الاختلافات بين الأفراد والتي قد تنشأ بسبب الطفرات والأخطاء في تتابعات الدنا أثناء التضاعف خصوصًا في الخلايا الجنسية -حوالي ١٠٠ طفرة جديدة في

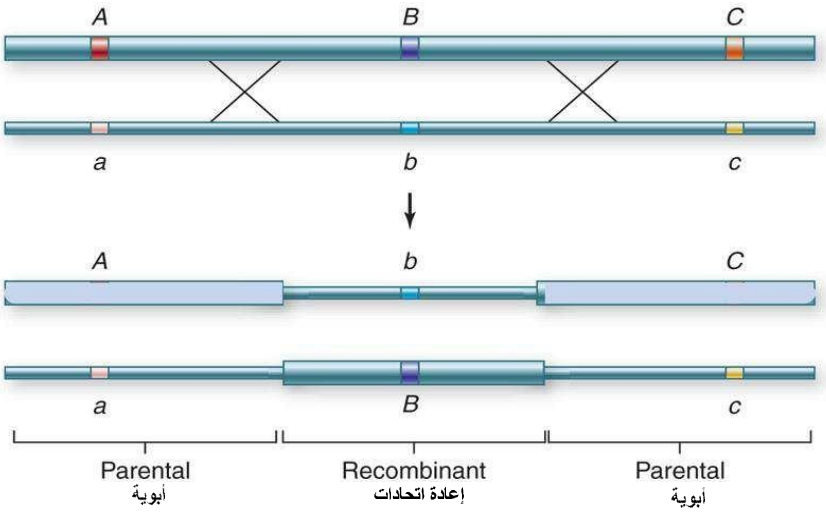
الزيجوت- لكن معظمها في الدنا المهمل Junk DNA. هناك العديد من التطبيقات العملية لمعرفة التغيرات في الجينوم من أهمها: الكشف عن الأمراض الوراثية والقضايا الجنائية ومنها تحديد طبعة الدنا DNA fingerprinting وقضايا الهجرة. في الكائنات ذات الجينوم الضخم عمومًا يعتبر إيجاد الخرائط الجينومية الشاملة أسرع وأرخص من إيجاد تسلسل الدنا لكامل الجينوم. الجدير بالذكر أن مشروع جينوم الإنسان فيه جهد مزدوج: الأول لإيجاد خرائط جينومية شاملة، والثاني لإيجاد تتابع كامل الجينوم، وكلاهما قريب من الآخر لكنهما ليسا الشيء نفسه. البعض قد يتساءل: لماذا نبحث عن الخرائط الجينومية ما دام أن تتابعات الجينوم كامل ستحدد؟ أحد الأسباب أن الخرائط تساعد في إيجاد التتابع، كما أن الخرائط تساعد في تحديد الجينات من بين تتابعات الدنا المهملة Junk DNA، فالخرائط تساعد على التنبؤ بمواقع الجينات.

تتضمن خرائط الارتباط الوراثي والخرائط الفيزيائية أنواعاً مختلفة من المعلومات ونقاط القوة والضعف. خرائط الارتباط الوراثي تحدد ترتيب الجينات على الكروموسوم والمسافة النسبية بين تلك الجينات. الجدير بالذكر أن عملية العبور وإعادة اتحادات الدنا بين الجينات تلعب دوراً في هذا النوع من الخرائط، ولأن تكرار العبور متباين على طول الجينوم فإن خرائط الارتباط الوراثي تعطي مواقع الجينات بشكل نسبي وليس مواقع فيزيائية (مكانية) أو حقيقية محددة بالتتابعات، أما الخرائط الفيزيائية فتعطي البعد بالتتابع من معلم لآخر ومن جين لآخر على الكروموسوم. تتلخص خطوات هذه العملية في اختبار الكائنات الحية المهجنة، بحيث يكون النسل Offspring الجديد الذي يشبه الآباء المهجنة ناتجاً من الجينات المتشابهة Homologues التي لم تحدث بها عملية العبور وتسمى بالأنماط الأبوية Parental، بينما يكون النسل الذي تمت فيه عملية عبور الجينات محتوياً على إعادة اتحادات Recombinant (الشكل ١٢-٤). كما ذُكر سابقًا تزيد أحداث

إعادة تكرار اتحادات الدنا بزيادة المسافة بين الجينات وتحسب من المعادلة التالية :

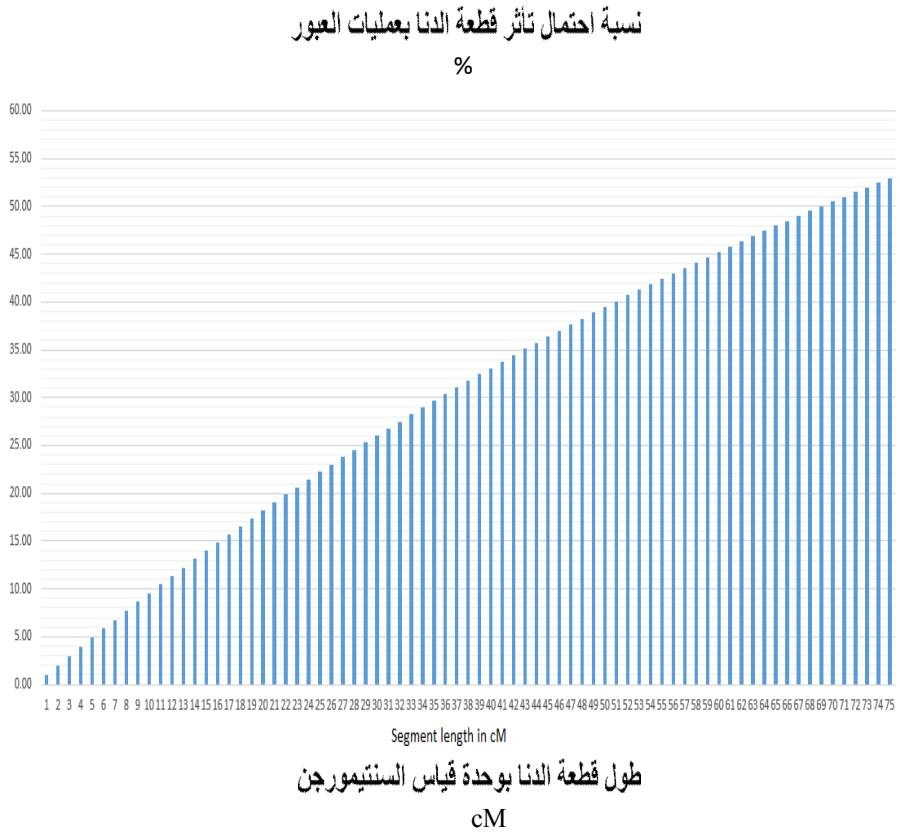
تكرار إعادة اتحادات الدنا = عدد النسل الذي حدث به إعادة اتحادات ÷ المجموع الكلي للنسل

عند الإنسان تكون نسبة واحد بالمئة من إعادة الاتحادات تعادل أو تساوي واحد سنتيمورجن Centimorgan (cM) والذي يساوي مليون زوج قاعدي. هذا المقياس يعطي نتائج حقيقية ودقيقة فقط عندما تكون المسافة بين الجينات قصيرة (الشكل ١٢-٥). يُعَرّف السنتيمورجن بأنه وحدة قياس البعد الوراثي بين الجينات. بمعنى آخر 1cM يساوي نسبة (١٪) لانتقال جين من موقع وراثي إلى آخر من خلال عملية العبور. الطرق المتبعة لقياس الخرائط الجينية تستخدم تكرار إعادة الاتحادات بين الأليلات لتحديد البعد النسبي Relative distances بين الجينات، علمًا أن تكرار إعادة الاتحادات بين الجينات تتناسب عكسيًا مع المسافة بينهما.

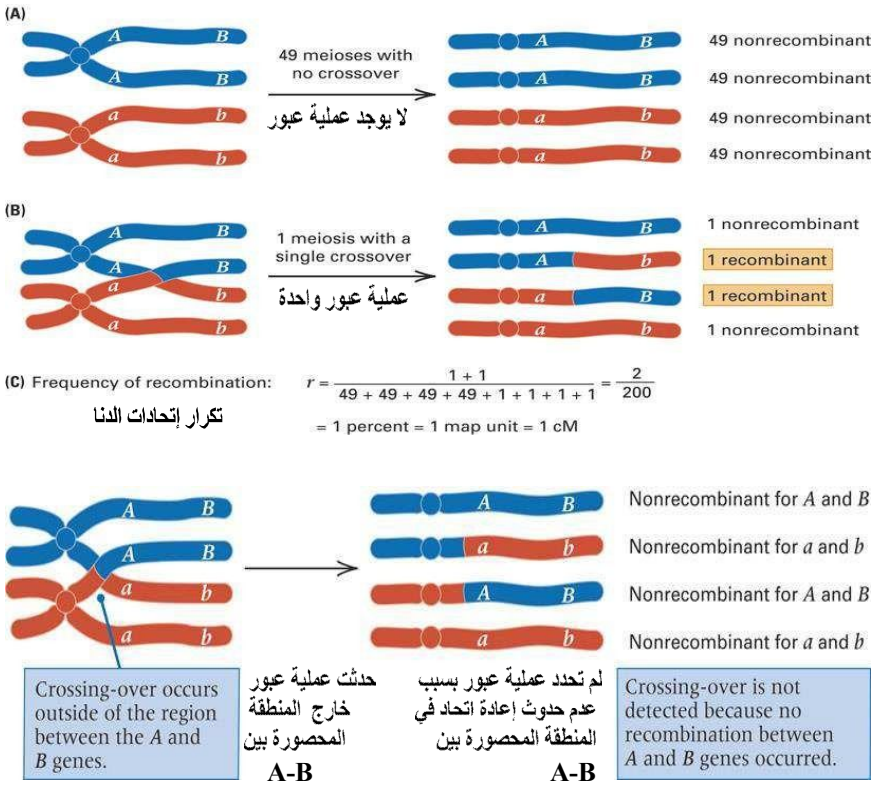


(الشكل ١٢-٤): يوضح عملية العبور بين الجينات لإنتاج الأنماط الأبوية وإعادة اتحادات الدنا

تكون الجينات مرتبطة Linked على نفس الكروموسوم إذا كانت نسبة تكرار إعادة الاتحادات أقل من ٥٠٪ ، بينما إذا كانت الجينات على كروموسومات غير متماثلة Non-homologous أو على نفس الكروموسوم ولكن بعيدة عن بعضها البعض وتنعزل بشكل مستقل ونسبة تكرار إعادة الاتحادات ٥٠٪ أو أكثر فإنها غير مرتبطة Unlinked (الشكل ١٢-٦).

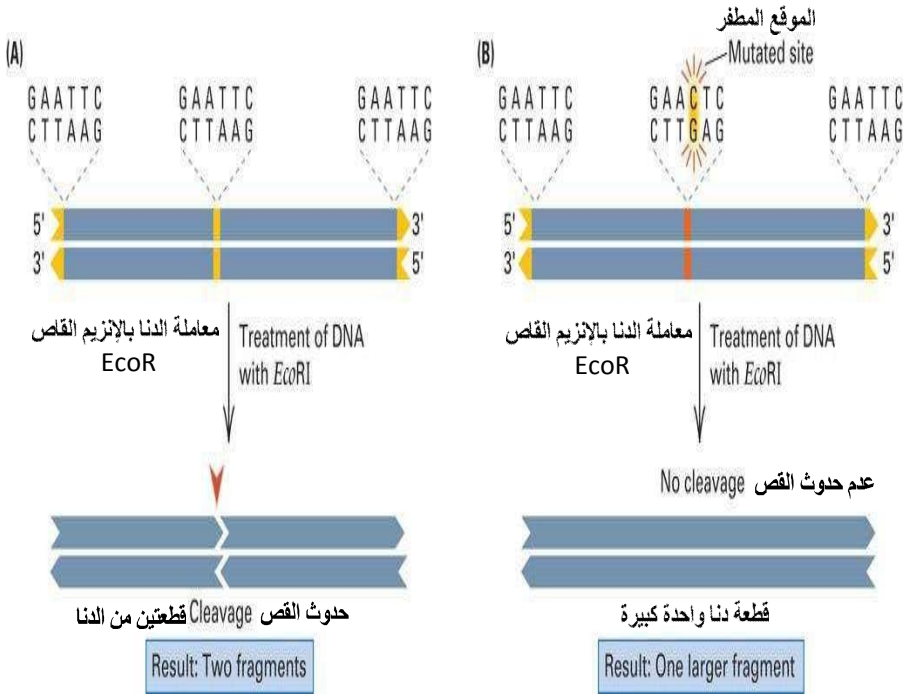


(الشكل ١٢-٥): يوضح قياس البعد الوراثي بين الجينات بوحدة السنتيمورجن التي تتأثر بعملية العبور



(الشكل ١٢–٦): يوضح عملية العبور وإعادة الاتحاد الكروموسومي

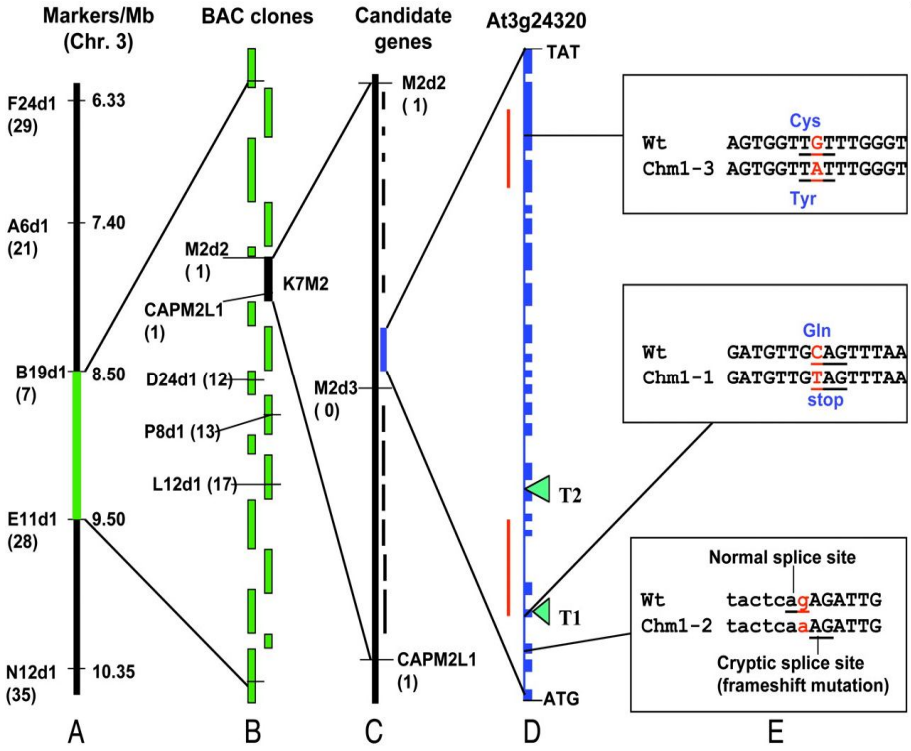
تبين المعالم الفيزيائية Physical marker تنوعاً في تتابعات الدنا بين جينومين متقاربين Two related genomes، مما يدل على وجود تعدد الأشكال الوراثية للدنا DNA polymorphism، مثل RFLP، حيث ينشأ عن اختلافات تتابعات الدنا وجود مناطق مختلفة تتعرف عليها إنزيمات القطع المحددة Restriction enzymes. فعند معاملة جينين مختلفين بنفس إنزيم القطع *EcoR1* سيعطي كل منهما قطعاً مختلفة الحجم أو الطول (الشكل ١٢–٧).



(الشكل ١٢–٧): يوضح وجود طفرة في الجين B أدت إلى تغير تتابعات الدنا وعدم قطعه من قبل إنزيم القطع EcoR1 كما حدث في الجين A

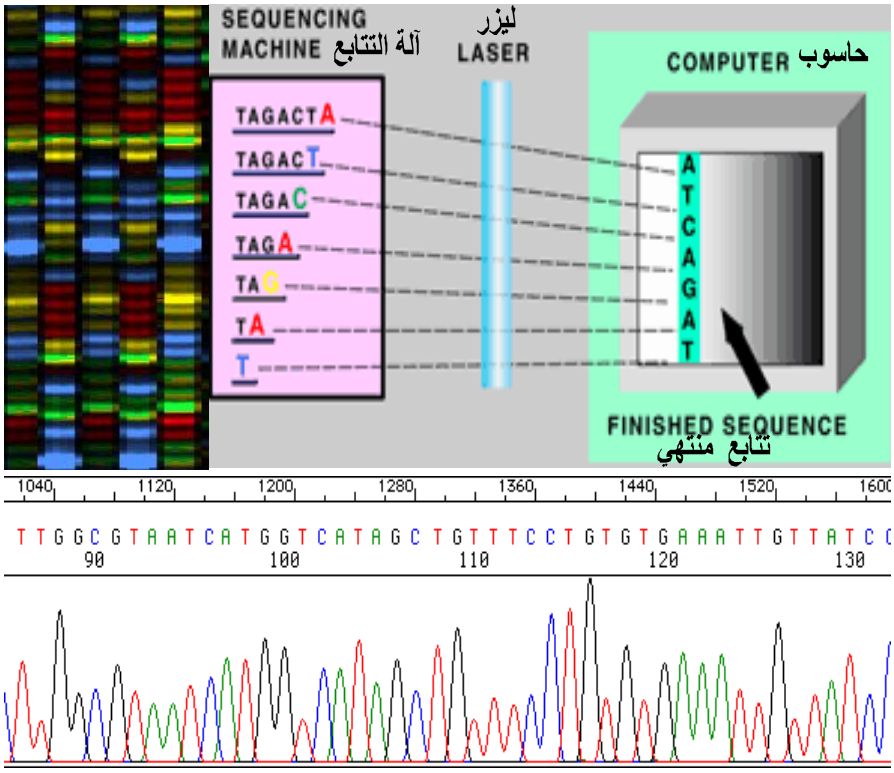
إن استخدام المعالم Markers الجزيئية، يمكننا من إنشاء خريطة وراثية. ففي الجين *CHM* تشير الأرقام بين القوسين إلى عدد مرات إعادة الاتحادات Recombinants التي تم التعرف عليها بين المعلم والجين (الشكل ١٢–٨ أ). يمكن بعدها تحديد التتابعات المتداخلة في الكروموسوم لرسم الخرائط الفيزيائية (الشكل ١٢–٨ ب). إن الخرائط عالية الدقة للمعالم تساعد في تحديد المواقع الجينية التي يفصل بينها ٨٠ زرجاً قاعدياً على الكروموسوم (الشكل ١٢–٨ ج). بعد تحديد التتابعات المتداخلة في الكروموسوم يمكن التعرف على الجين

المستهدف ضمن التتابعات المتداخلة. الموقع الجيني المستهدف *CHM* يحتوي على ٢٢ إكسوناً Exons مع وجود نوعين من الطفرات MutS كما يشير الخط الأحمر (الشكل ١٢–٨ د). وأخيرًا تحليل الطفرات *(chm1-1 - chm1-2 - chm1-3)* وكذلك طفرتي الإدخال Two T-DNA insertion mutations (T1 and T2)، يزودنا بأدلة دقيقة عن تتابع الجين *CHM*.



(الشكل ١٢–٨ أ– د): يوضح استخدام المعالم الجزيئية لإنشاء خريطة وراثية

تم تحديد تتابعات الدنا باستخدام تقنيات حديثة وبرامج حاسوبية متطورة تقوم بقراءة التتابع. الصورة التالية توضح مثالاً لكيفة قراءة الحاسوب لتتابع الدنا لعينة واحدة (الشكل ١٢–٩).



(الشكل ١٢-٩): يوضح كيفة قراءة الحاسوب لتتابع الدنا لعينة واحدة

التتابع (التسلسل) الناتج من الجهاز أو ما يسمى بالتتابع الخام Raw sequence مختلط Jumbled مع بعضه البعض ويحتوي على ثغرات وبعض الأخطاء والغموض. لذلك لابد من عملية تلميع Polishing لهذا التتابع الخام وتحويله إلى منتج نهائي طويل مستمر دون فواصل أو أخطاء من خلال عملية التشطيب أو الإنهاء Finishing. التشطيب يشمل كلاً من التجميع الذي يقرأ التتابع بشكل مترابط وبالترتيب الصحيح دون أخطاء أو ثغرات، هذه العملية تحتاج جهداً ودقة عالية.

تجميع الجينوم عملية يقوم بها برنامج حاسوبي Assembler حيث يُوجِد ويحلل التراكبات Overlaps، أو بعبارة أخرى يُوجِد تتابعات الدنا المتطابقة. الجدير بالذكر أن الجينوم يحتوي على أكثر من ٣٠٪ من التتابعات التي تكرر عدة مرات. تعتمد عملية التجميع على مقارنة كل قراءة ثم وضع كل منها في الترتيب الصحيح على أساس كيفية التداخل مع عدم تكرار استخدام التراكبات المتكررة. من الناحية العملية تشبه عملية التجميع وضع القطع بجانب بعضها البعض لمعرفة ما إذا كانت تتناسب معًا، ثم وضع القطع المطابقة في مكانها. البرنامج المُجَمِع قد تم تطويره للمساعدة في تجميع القطع الكبيرة بشكل أسرع، وهذا يحتاج أجهزة ذات قدرة تخزين كبيرة. يمكن أن تظهر الأخطاء في أي مرحلة من مراحل العملية، سواء عندما يتم قطع الحمض النووي أو نسخه، أو مروره بمراحل الكشف عن التتابعات داخل الجهاز أو عندما يتم تجميعها ووضعها معًا، كما قد يصعب نسخ أو تسلسل بعض التتابعات وقد تفقد، كما يمكن حدوث خطأ في التعرف على قاعدة ما وقد يعطي برنامج تحديد التتابع بعض الرموز التي تشير إلى احتمالين أو أكثر للقواعد النيتروجينية كما في الجدول (١٢- ١) الذي يشير إلى الرموز الواردة في تتابع الدنا طبقًا لنشرة الاتحاد الأوروبى للكيمياء البحتة والتطبيقية International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)، لكن مع التكرار وعمل تسلسل الجينوم أكثر من مرة وإعادة التجميع يمكن خفض نسبة الخطأ. إذا حصل الجهاز على تتابع خاطئ أو سقطت قطعة من الحمض النووي ولم يحدد تتابعها فهناك قراءة تصحيحية أخرى سوف تزودنا بالقراءة الصحيحة. كما أن برنامج التجميع يقارن القراءات المتكررة للجين الواحد ثم يحدد التتابع الصحيح الأكثر تكراراً. بمجرد تجميع التسلسل هناك عدة طرق للتأكد من أنه وضع بالشكل الصحيح وربما تقارن مع تتابعات معروفة مثل تتابعات المعالم على خارطة الجينوم، أو بعبارة أخرى إذا اتضح أن التسلسل الناتج يتوافق مع ما هو معروف فهذا مؤشر جيد.

أثبت تحليل الجينوم أن حوالي ٢,٩١ بليون زوج قاعدي توجد في منطقة الكروماتين الحقيقي Euchromatic region، ومع ذلك بعض الأجزاء من الجينوم في السنترومیرات والتيلوميرات والتي بها تتابعات دنا عالية لم يتم إيجاد تتابعات الدنا فيها على الأقل بالتقنيات المتاحة حالياً. ولكن ما تم إنجازه حتى الآن يكفي كأساس للباحثين للكشف عن الجينات وفهم الجينوم البشري.

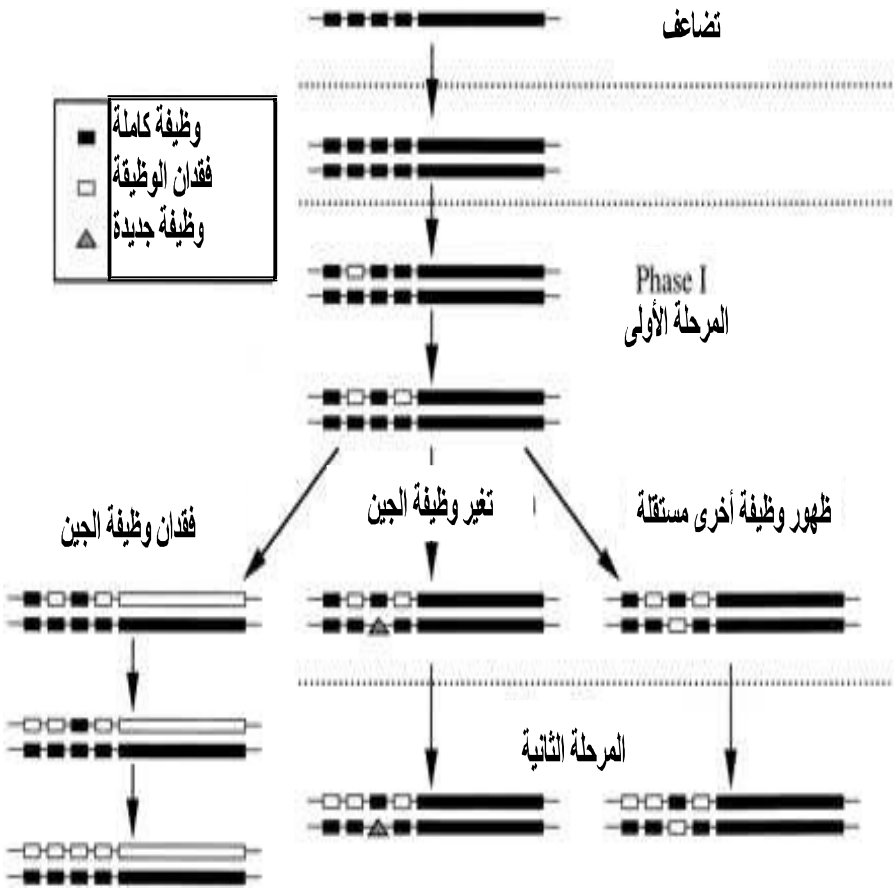
الجدول (١٢-١): يوضح الرموز الواردة في تتابع الدنا

رمز النيوكليوتيدة IUPAC	القاعدة
A	أدنين
C	سيتوسين
G	جوانين
T أو U	ثايمين أو يوراسيل
R	A أو G
Y	C أو T
S	G أو C
W	A أو T
K	G أو T
M	A أو C
B	C أو G أو T
D	A أو G أو T
H	A أو C أو T
V	A أو C أو G
N	أي قاعدة

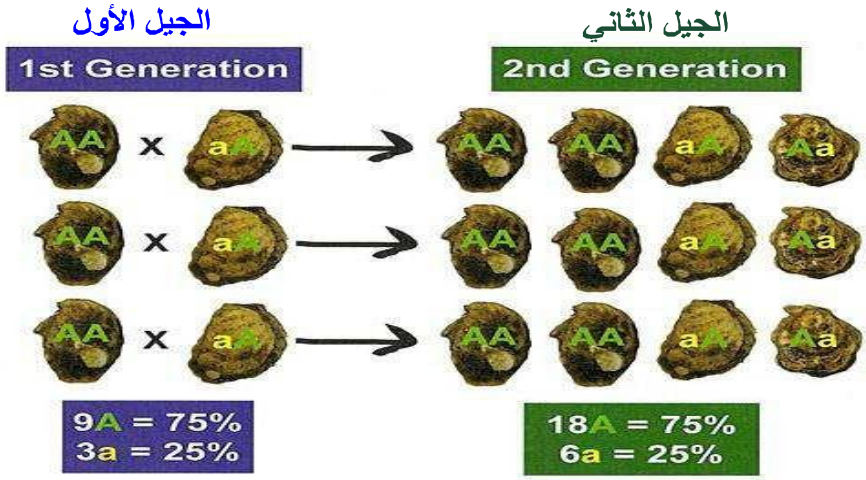
تساءل الكثير من علماء الوراثة عن احتمال تغير وظيفة الجين واكتساب وظيفة أو وظائف جديدة Neofunctionalization بعد عملية تضاعف الدنا أو الانتقال من موقع إلى آخر بسبب الطفرات مثلاً. للرد على هذا التساؤل لا بد من الإشارة إلى أن أحد النتائج المحتملة للتنوع الوظيفي تحدث عندما تتغير وظيفة أحد نسخ الجين بعد تضاعفه. هذا الأمر يعتبر عملية تكيف مع الطفرة التي حدثت، وهذا يعني أن أحد نسخ الجين يجب أن تطفُر لتطوير وظيفة معينة لم تكن موجودة في جينات الأسلاف. بعبارة أخرى تحتفظ إحدى نسخ الجين بالوظيفة الأساسية، بينما تؤدي التغيرات الجزيئية المتتابعة مع مرور الزمن وظيفة مختلفة. يعتبر تضاعف الدنا إحدى آليات التطور الجزيئي، حيث أن الأخطاء التي قد تنتج أثناء تضاعف المادة الوراثية قد تؤدي إلى تحورات في وظيفة البروتين الناتج، والتي ربما تستمر عبر الأجيال كنوع من الانتخاب الطبيعي. كما يعتقد بعض العلماء أن وظائف بعض جينات اليوم نشأت من أخطاء في عملية تضاعف المادة الوراثية، مما نتج عنه طفرات متوارثة عبر الأجيال غيرت من وظيفة تلك الجينات، وعليه يعتبر تضاعف الجينات وما ينتج عنه أحد أسباب التنوع الوراثي (الشكل ١٢-١٠). الجدير بالذكر أن الأليلات تتغير عبر الأجيال بشكل عشوائي من خلال عملية الانجراف (الانحراف) الوراثي Genetic drift والذي يعني تغير تكرار الجينات داخل المجتمع بشكل عشوائي. يحدث تغير الجينات داخل المجتمع بآليتين رئيسيتين هما: أولاً: الانجراف الوراثي الذي يحدث عندما تتغير الأليلات عبر الأجيال بشكل عشوائي. ثانيًا: الانتخاب الطبيعي Natural selection الذي يحدث في الطبيعة بشكل تلقائي وليس بفعل أو تدخل الإنسان.

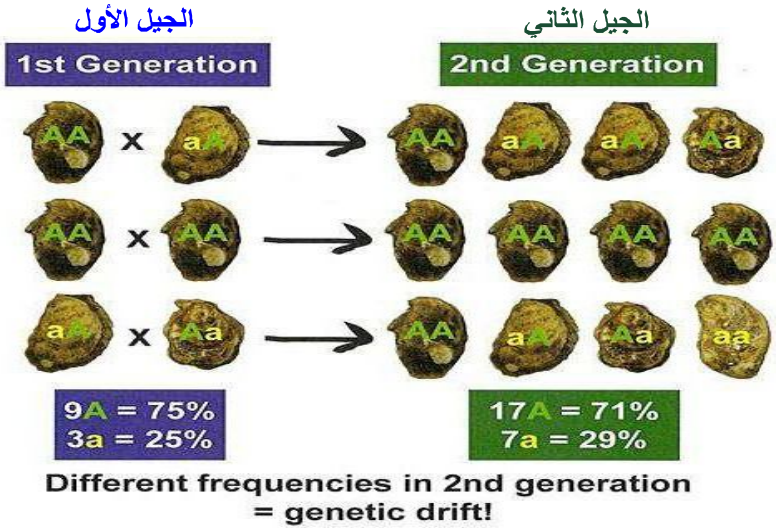
لا يحدث التغير الوراثي الذي يطرأ بفعل الانجراف الوراثي بسبب التغيرات البيئية أو عوامل الإجهاد التي يتعرض لها الأفراد. من جانب آخر يمكن أن تكون

التغيرات العشوائية الناتجة ضارة أو مفيدة أو لا تؤثر إطلاقًا في الأجيال اللاحقة. قد يكون تأثير الانجراف الوراثي واضحًا في المجتمعات الصغيرة بعكس المجتمعات الكبيرة أو الضخمة التي يصعب ملاحظة التغير في جميع أليلاتها Entire gene pool. بمعنى أنه يمكن أن يؤدي الانجراف الوراثي في المجموعات الصغيرة إلى تغيرات كبيرة وبشكل سريع (الشكل ١٢-١١).



(الشكل ١٢-١٠): يوضح تغير أو اختفاء وظيفة الجين بعد عملية التضاعف ومع تعاقب الأجيال





(الشكل ١٢-١١): يوضح مثالاً لظاهرة الانجراف الوراثي

الفصل الثالث عشر
الأساس الوراثي للسرطان
The genetic basis of cancer

يُعرّف السرطان بشكل عام بأنه مجموعة من الأمراض التي تنشأ بسبب الانقسام الخلوي العشوائي، لذلك يعتبر السرطان مرضاً وراثياً عند المستوى الخلوي. عندما تقوم الجينات بوظيفتها الطبيعية كالجينات المسؤولة عن تنظيم نمو الخلايا وانقسامها يبقى تكاثر الخلايا تحت سيطرة تلك الجينات، أما إذا فقدت تلك الجينات السيطرة على انقسام الخلايا ونموها بسبب الطفرات التي تصيب الخلايا الجسدية مثلاً أصبح انقسام تلك الخلايا عشوائيًا وخارج سيطرة الجينات، مما يسبب نشوء مرض السرطان.

يمكن تصنيف أنواع السرطان بالاعتماد على:

١. نوع الخلايا السرطانية Carcinomas، مثل سرطان الخلايا الطلائية.

٢. نوع النسيج الذي نشأت منه الخلايا السرطانية مثل سرطان الرئة أو الثدي Lung or breast carcinomas.

٣. نوع الخلايا المسببة للسرطان مثل الخلايا الليفية Fibroblasts التي تؤدي للورم الليفي Fibrosarcomas وخلايا الدم المسببة لسرطان خلايا الدم Erythroid leukemias.

يوجد حوالي ٩٠٪ من أنواع سرطان الإنسان من النوع الصلب Solid tumor والتي تصيب الأنسجة الضامة مثل العضلات والعظام والغضاريف والأنسجة الليفية. كما يوجد حوالي ٨٪ من سرطان الإنسان تنشأ من الخلايا المكونة للدم Leukemias ومن خلايا الجهاز المناعي Lymphomas.

مسببات مرض السرطان:

تم التعرف على أكثر من ١٠٠ نوع من أنواع السرطان التي تصيب الإنسان. معظم أنواع سرطان الخلايا الجسدية تنشأ من عدة طفرات تتراكم داخل الخلية، بعض هذه الطفرات تغير من نشاط جين معين، والبعض الآخر تلغي نشاط الجين، مما يعني أن السرطان نتيجة مظهرية Phenotypic لتلك الطفرات. الجدير بالذكر، أن ما بين ٩٠-٩٥٪ من حالات سرطان الإنسان لا تورث وتعتبر حالات مكتسبة وتنشأ عادة في وقت متأخر من حياة الأفراد، بينما هناك ٥-١٠٪ فقط من كل حالات السرطان يتم توارث الاستعداد للإصابة بها كصفة وراثية. بالرغم أن بعض أنواع السرطان قد تنتج بفعل الطفرات التلقائية أو الإصابة بالفيروسات، إلا أن حوالى ٨٠٪ منها على الأقل مرتبط بالتعرض لعوامل بيئية تؤدي إلى تغيرات وراثية في الخلايا الجسدية، وهذه العوامل البيئية تشمل التعرض للأشعة وبعض المواد الكيميائية المطفرة والتي تغير من الدنا بطريقة تؤثر على وظائف الجينات الطبيعية.

يوجد الكثير من الدلائل التي تشير إلى أن السرطان مرض وراثي ومنها: أن بعض أنواع السرطان يتم توارثها كصفات مندلية بسيطة. كما تم عزل ودراسة عدد من الجينات التي تؤدي إلى الاستعداد للإصابة بأنواع معينة من السرطان. بالإضافة إلى ذلك وجد أن هناك ارتباطاً كبيراً بين سرطانات معينة وانتقالات كروموسومية خاصة. ذكر فريق من العلماء أن هناك فرقاً بين المرض الوراثي Genetic disease والمرض المتوارث Inherited disease، فالسرطان مرض وراثي لأن له أساس وراثي، وكل السرطانات تقريبًا ناتجة من طفرات، لكن حوالي ٥-١٠٪ فقط من حالات السرطان يتم فيها توارث الاستعداد للإصابة بالسرطان وليس السرطان نفسه، وهذا ما يقصد بالمرض المتوارث (David, 2015).

نتيجة للأبحاث المستفيضة حول هذا المرض الخطير استطاع الباحثون حصر أهم مسببات السرطان فيما يلي:

١. انتقالات المادة الوراثية داخل الجينوم مثل الكسور الكروموسومية التي يعاد التحامها في غير موضعها الطبيعي على نفس الكروموسوم أو مع كروموسوم آخر، هذا الانتقال قد يجعل الجين المسرطن بجوار محفزات نسخ نشطة تزيد من نشاط الجين المسرطن وإنتاج البروتين بتركيز عالٍ.

٢. التغيرات التي قد تطرأ على المادة الوراثية مثل الطفرات النقطية Point mutation التي تسبب تغيراً في المنتج البروتيني للجين بزيادة نشاطه أو مقاومته للتحلل مقارنة بالبروتين الطبيعي.

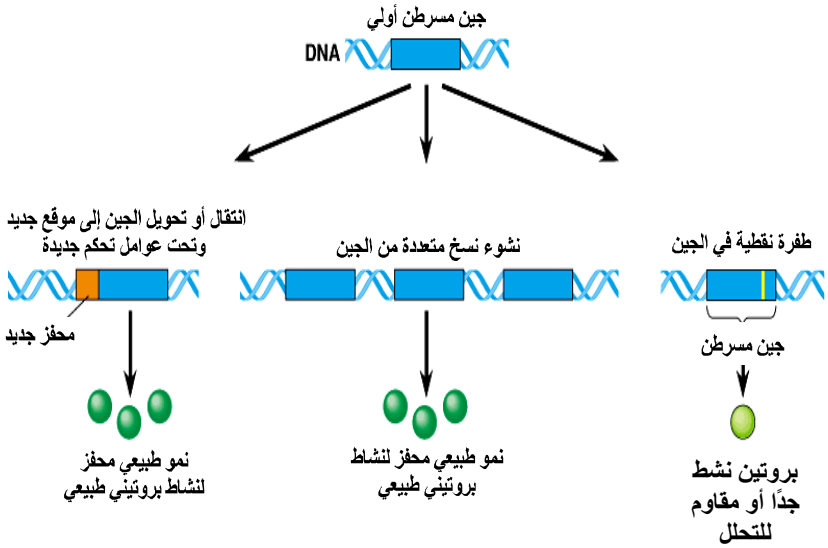
٣. التعرض لبعض المواد الكيميائية أو الإشعاعات المسرطنة Carcinogenic.

٤. الإصابة ببعض أنواع الفيروسات.

٥. توارث الجينات المسرطنة من الآباء.

يمكن أن تؤدي هذه المسببات وغيرها إلى تنبيه غير طبيعي لدورة الخلية أو تغير من الحالة الطبيعية للجين وتحوله من جين طبيعي إلى جين مسرطن لا يمكن للنظام الحيوي السيطرة على تنظيم عمله. تُعرف الصورة الطبيعية للجينات المسرطنة بالجينات المسرطنة الأولية Proto-oncogenes، وهي الجينات المسؤولة عن تصنيع بروتينات تتحكم في نمو وانقسام الخلايا الطبيعية، أي أنها تقوم بوظيفة مهمة وأساسية في الخلايا الطبيعية، على سبيل المثال: عند حدوث طفرة في أحد الجينات الطبيعية المنظمة للانقسام الخلوي Proto-oncogenes يتحول بفعل الطفرة إلى جين مسرطن Oncogene (الشكل ١٣-١). كما يمكن أن تنشأ الجينات المسرطنة بعد الإصابة بالفيروسات العكسية Retrovirus التي تحتوي على الرنا كمادة وراثية. تم اكتشاف حوالي ٧٠ جيناً مسرطناً مصاحباً للإصابة بالفيروسات

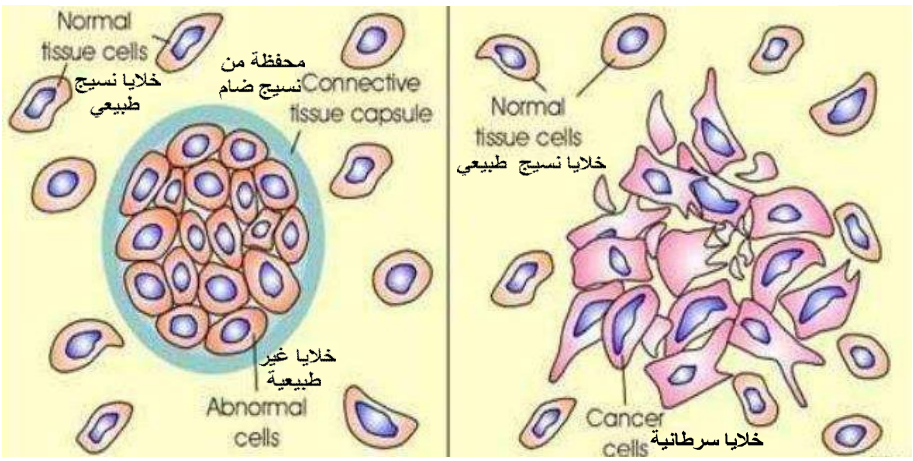
العكسية، حيث يمكن لهذا النوع من الفيروسات نسخ الرنا باستخدام إنزيم النسخ العكسي وتحويله إلى دنا والذي بدوره يتحد مع دنا خلية العائل مسببًا تحول الجينات الطبيعية للعائل إلى جينات مسرطنة.



(الشكل ١٣-١): يوضح مسببات مرض السرطان وتحول الجينات المسرطنة الأولية لجينات مسرطنة

يتعرف الجهاز المناعي في كثير من الأحيان على الخلايا التي تحتوى على الجين أو الجينات المسرطنة ويتم التخلص منها، أما إذا تمكنت تلك الجينات من الإفلات من الجهاز المناعي فإنها تنمو وتشكل مستعمرات من الخلايا المتماثلة التي تشكل الورم Tumor. إذا بقيت الخلايا الورمية ساكنة في مكان نشأتها ولم تنتشر فيطلق عليها خلايا ورمية حميدة Benign، أما عند انتشارها بعيدًا عن مكان نشأتها بواسطة الأوعية الدموية أو اللمفاوية وتكوين مستعمرات جديدة في عدة أماكن جديدة فإنها تسمى خلايا ورمية خبيثة Malignant (الشكل ١٣-٢).

نمو خلايا ورم حميد	خلايا ورم خبيث
Benign Growth	**Malignant Tumor**



(الشكل ١٣-٢): يوضح الخلايا الورمية الحميدة والخلايا الورمية الخبيثة

يوجد العديد من الجينات التي يمكن أن تكون سببًا في حدوث مرض السرطان مثل:

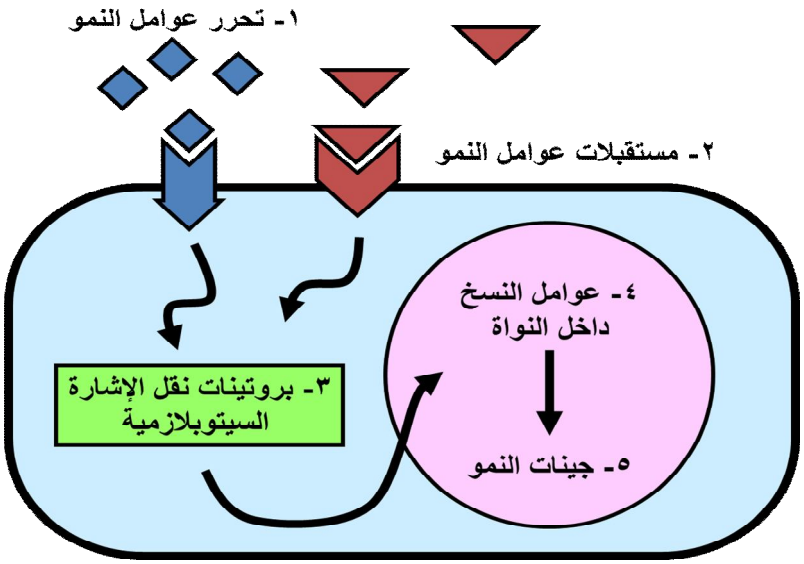
أ - الجينات المحفزة للنمو مثل جين Ras:

يُعد جين *Ras* أحد الجينات المسرطنة الأولية ويلعب دورًا مهمًا في نقل واختزال الإشارات الخلوية، كما أن له دوراً في تنظيم وتوجيه عمل العديد من الجينات الأخرى التي تتحكم في نمو وتكاثر الخلايا. يؤدي طفور هذا الجين إلى اختلالات خطيرة داخل الخلية، ومنها الانقسام العشوائي للخلايا ونشوء الخلايا السرطانية. لذلك يتحول هذا الجين في مرحلة ما لجين مسرطن Oncogenes وهو ضمن الجينات المسرطنة الشائعة عند الانسان. سجل نشاط عالٍ لجين *Ras* في حوالي ٢٠-٢٥٪ من مرضى السرطان، وقد وصلت نسبة نشاطه إلى ٩٠٪ في

بعض أنواع السرطان كسرطان البنكرياس. لذلك كان تثبيط النشاط العالي Overexpression لهذا الجين إحدى الطرق المتبعة لعلاج السرطان.

في الخلايا الطبيعية تقوم جينات السرطان الأولية بتحفيز نمو وتكاثر تلك الخلايا، بينما تقوم الجينات المثبطة للسرطان Tumor suppressor genes بتثبيط نمو الخلايا وتكاثرها. في الخلايا السرطانية تقوم الجينات المسرطنة النشطة أو الطافرة بتحفيز تحول وانتقال الخلايا السرطانية، كما أن طفور الجينات المثبطة للسرطان أو فقدانها قد يؤدي لنفس النتيجة. الجينات المسرطنة ما هي إلا شكل من أشكال الجينات المسرطنة الأولية بعد طفورها أو اختلال عملها في تنظيم نمو الخلايا وتمايزها Differentiation. تشفر الجينات المسرطنة الأولية لعدد من البروتينات التي تؤدي دوراً أساسياً في تنظيم نمو الخلايا (الشكل ١٣- ٣) من أبرزها ما يلي:

١. عوامل النمو Growth factors.
٢. مستقبلات عوامل النمو والهرمونات Receptors for growth factors and hormones.
٣. محولات الإشارات داخل الخلايا Intracellular signal transducers.
٤. عوامل النسخ Transcription factors.
٥. البروتينات المسيطرة على دورة نمو الخلية Cell-cycle control proteins.



(الشكل ١٣-٣): يوضح دور الجينات المسرطنة الأولية في تنظيم عمل بروتينات تنظيم نمو الخلايا

هناك علاقة مباشرة وقوية بين نشوء السرطان ودورة الخلية، فأثناء نمو الخلية وتطورها تتمايز الخلايا وتتكون الأنسجة الخلوية نتيجة انقسام الخلايا، يصاحب عملية التمايز والتخصص النسيجي فقدان تدريجي لقابلية الخلية للانقسام، كما تتوقف بعض الخلايا تمامًا عن الانقسام مثل الخلايا العصبية، في حين تستمر خلايا أخرى بمعدلات انقسام متباينة. توجد عوامل مختلفة تنظم دورة الخلية والمراحل المختلفة داخل هذه الدورة، من أهم تلك العوامل المنظمة لدورة الخلية البروتينات المستقبلة على الغشاء الخلوي والتي تؤدي دور الإشارة ونقلها للسيتوبلازم. هذه البروتينات تحفز انقسام الخلية، على العكس من ذلك هناك بروتينات تنقل إشارات مثبطة لعلمية النمو وانقسام الخلية. إن الخلايا الطبيعية تحتوى على بروتينات سليمة تستجيب لإشاراتها الخلوية، أما البروتينات التي نتجت من جينات طافرة فتعطي إشارات خلوية خاطئة تؤثر سلبًا على مسار دورة الخلية

الطبيعية وتجعلها تنقسم وتتكاثر بشكل عشوائي(Alberto and Eugenio, 2011) .

ب - الجينات المثبطة لنمو الخلايا مثل P^{53}:

تقوم الجينات المثبطة لنمو الخلايا أو المضادة لعمل الجينات المسرطنة Antioncogene بحماية الخلية ومنعها من التوجه نحو المسار السرطاني وذلك من خلال توجيه مسارات الإشارات الخلوية التي تحدد مصير الخلية. طفور الجينات المثبطة للنمو يثبط وظيفتها كليًا أو جزئيًا، مما ينتج عنه تحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية، وعادة ما يرافق ذلك تغيرات وراثية أخرى. الطفرات التي تصيب الجينات المثبطة للنمو في غالبها متنحية Recessive بعكس الطفرات التي تصيب الجينات المسرطنة التي تكون في غالبها سائدة Dominant. تعمل الجينات المثبطة للنمو بشكل أساسي على تنظيم دورة الخلية و/ أو تحفيز الموت الخلوي المبرمج Apoptosis.

تم التعرف على البروتين الكابت للورم (Tumor suppressor protein (P^{53} -الرقم ٥٣ يدل على الوزن الجزيئي للبروتين الناتج من هذا الجين- الذي يلعب أدوارًا مهمة في العمليات الرئيسية لتنظيم دورة الخلية ونموها وتنظيم الموت المبرمج للخلية. صنف جين P^{53} كأحد الجينات الكابتة للأورام، والسبب في ذلك أن البروتين الناتج يمنع أو يقلل من التحول الخلوي بفعل الفيروسات أو التحول الخلوي للجينات الورمية، علاوة على ذلك فإن تطفر هذا الجين أو حذفه يسبب تشوهات جنينية عند الإنسان. وجد أن نسبة كبيرة من الأورام البشرية تحتوي على جين P^{53} طافر، كما أن بعض أشكال الطفرات في جين P^{53} تحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا ورمية خبيثة Malignant tumor. يقوم بروتين P^{53} بتنشيط جين P^{21} الذي بدوره ينتج بروتيناً يعطل دورة الخلية من خلال ارتباطة ببروتينات أخرى تشارك في تنظيم دورة الخلية والمعروفة بـ Cyclic-dependent kinases (CDKs)

وذلك لمنح الخلية فرصة للقيام بعمليات إصلاح الدنا. كما يمكن للجين P^{53} تنشيط جينات تشارك في إصلاح الدنا بشكل مباشر. أما إذا تعذر إصلاح الدنا لسبب ما كحجم الضرر الكبير في الدنا، فإنه يحفز آلية أخرى هي آلية الموت الخلوي المبرمج من خلال تعزيز نسخ الجينات التي تتضمن مسار الموت الخلوي المبرمج. لوحظ أن إحداث طفرات بهذا الجين ينشط الموت الخلوي المبرمج، وعندما يفقد هذا الجين وظيفته تُفقَد السيطرة على الانقسام الخلوي فتنقسم الخلايا عشوائيًا، وبالتالي تتولد الأورام السرطانية. وجد هذا الجين في حالات طافرة عديدة عند مرضى السرطان (Anna and Sam, 2013).

ج- الجينات المسيطرة على الموت الخلوي المبرمج مثل *Bcl-2*:

تلعب الجينات المنظمة للموت الخلوي المبرمج دوراً في الأحداث الخلوية المسببة للسرطان، ومنها مجموعة جينات *Bcl-2*. كما أن لنفاذية أغشية الميتوكوندريا Mitochondria membranes permeability (MMP) دورًا أساسيًا في سلسلة أحداث الموت الخلوي المبرمج. في مسارات الموت الخلوي المبرمج المرتبطة بالميتوكوندريا، تساهم نفاذية الغشاء الخارجي للميتوكوندريا في إطلاق عوامل الموت الخلوي الأولية، مثل إنزيم سيتوكروم- سي Cytochrome-C وغيره من العوامل التي تُطلق من الميتوكوندريا. تشترك هذه العوامل مع بروتينات سيتوبلازمية أخرى مثل العامل المنشط للموت الخلوي Apoptotic protease activation factor (APAF) للبدء في أحداث الموت الخلوي المبرمج. طفور الجين *Bcl-2* يؤدي إلى جملة من التغيرات التي تطرأ على وظيفة هذا الجين ومنها التغيرات المصاحبة للتعبير الجيني والتي قد تؤدي لنشوء خلايا سرطانية. أثبتت التجارب وجود زيادة في نشاط جين *Bcl-2* عند حوالي ٥٠٪ من مرضى السرطان مثل سرطان الرئة وسرطان الدم (Vladimir *et al*., 2004; Yip and Reed 2008).

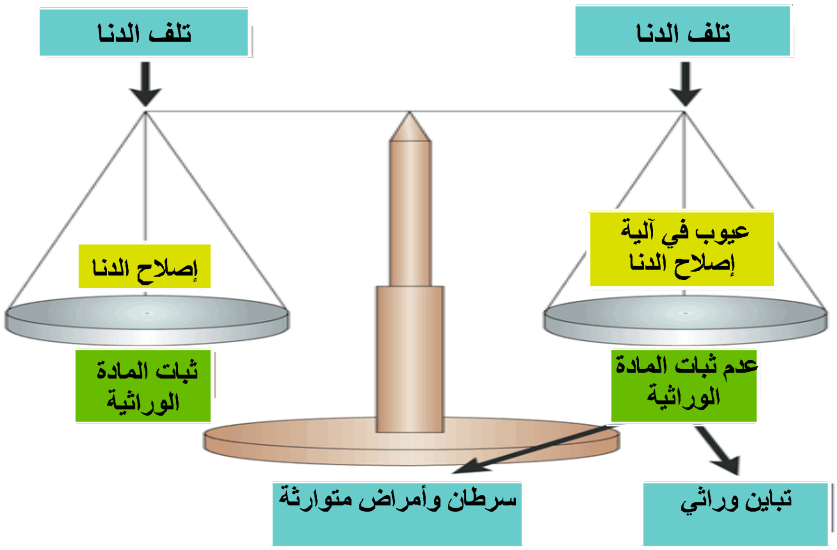
د- جينات إصلاح الدنا مثل جين *PARP*:

عندما تتعرض الخلايا لخلل ما في مادتها الوراثية (الدنا) تنشط آليات إصلاح الدنا مثل إنزيم Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP). عند حدوث تلف الدنا تحدث كسور بسيطة يمكن إصلاحها بفعل نشاط إنزيم الإصلاح PARP بمشاركة بروتينات نووية أخرى استجابة لهذا التلف. يتعرف إنزيم PARP على مواقع كسور الدنا المفردة أو المزدوجة التي قد تسبب السرطان ويرتبط بها بهدف إصلاحها.

يعد تنشيط إنزيم PARP أول خطوة تتم كاستجابة لتلف الدنا. إلا أن دور إنزيم الإصلاح PARP ما زال غير مفهوم بشكل جيد، ولكن من المؤكد أنه يشارك في العديد من الاستجابات الخلوية ذات العلاقة بالضرر الناتج عن السمية الوراثية التي قد ترتبط بحياة الخلية أو تحولها إلى خلية سرطانية أو موتها. لقد أثبتت التجارب التي أجريت للتأكد من دور وفعالية إنزيم PARP في عملية الإصلاح، أن نشاط هذا الإنزيم ضروري لإنقاذ حياة الخلايا بعد تعرض مادتها الوراثية لأضرار بسيطة يمكن إصلاحها، والدليل على ذلك أن تثبيط هذا الإنزيم يعيق عملية إصلاح الدنا. إن نشاط إنزيم PARP الإصلاحي يستهلك طاقة ATP عالية أثناء إصلاح الكسور حتى وإن كانت تلك الكسور بسيطة، ولذلك فإن تعرض الخلايا لأضرار كبيرة وكسور متعددة في الدنا، يجعل إنزيم PARP ينشط بشكل مفرط، مما يسبب استهلاك الطاقة المتوفرة بشكل كبير قد يصل لحد نفاد الطاقة وعدم إتمام عملية الإصلاح، مما يعني تعرض الدنا لمعدلات طفور عالية قد تزيد من نسبة تحول الخلايا إلى خلايا سرطانية.

إن أفضل طريقة لضمان بقاء الكائنات الحية على قيد الحياة هو إصلاح أي تلف في الدنا قابل للإصلاح، يوجد هناك استراتيجيات بديلة لتدمير الخلايا التالفة

التي لا يمكن إصلاحها. فعلى سبيل المثال، قد يؤدي التلف الشديد للدنا إلى طفرات جينية متعددة لا يمكن للخلية أن تبقى على قيد الحياة في ظل وجود تلك الطفرات، وعند ذلك تنشط آليات الموت الخلوي المبرمج أو الموت الخلوي بالتنكرز Necrosis . لقد أثبتت الدراسات الحديثة أن هناك مرونة كبيرة في عمليات إصلاح الدنا وإيقاف نمو الخلية وموت الخلايا المبرمج، فعند تعرض الكائنات الحية عديدة الخلايا لعوامل الإجهاد التأكسدي والسمية الوراثية والخلوية، تنشأ عدة استجابات خلوية مختلفة يعتمد نوعها على نوع الخلايا وموقعها والبيئة المحيطة ومدى شدة تأثير التلف الذي أصاب الخلية. كما أن فشل أنظمة وآليات إصلاح الدنا يؤدي إلى تراكم العيوب الوراثية واستمرار تكاثر الخلايا، مما قد يؤدي إلى التأثير على الجينات المثبطة للسرطان وتنشيط الجينات المسرطنة وبالتالي تحول تلك الخلايا المصابة إلى خلايا سرطانية (الشكل ١٣- ٤) (Davar *et al.*, 2012).



(الشكل ١٣-٤): يوضح دور آلية إصلاح الدنا ونشوء مرض السرطان

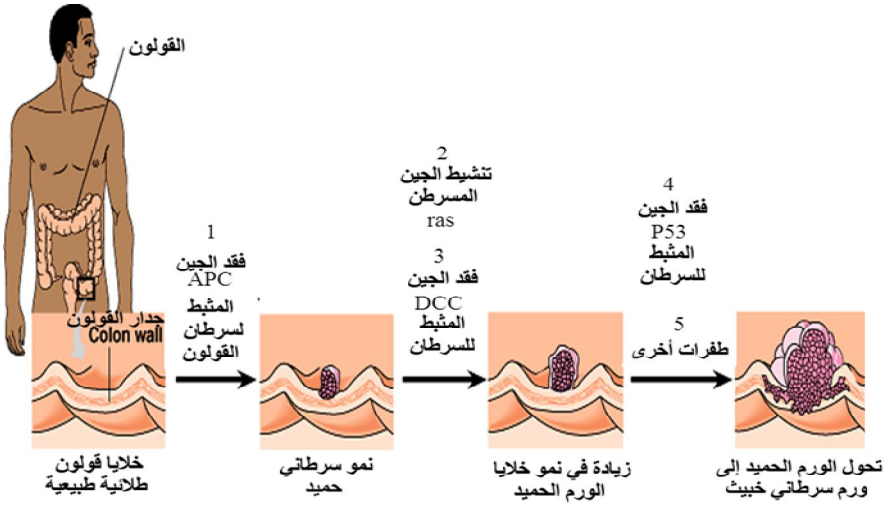
هـ - الجينات المشاركة في تغذية الخلايا السرطانية:

يُعد تكون الأوعية الدموية Angiogenesis ونموها حول الخلايا السرطانية مهماً في تزويد تلك الخلايا بالغذاء والأكسجين وبالتالي نمو وتطور الأورام السرطانية. يلعب عامل نمو الأوعية الدموية Vascular endothelial growth factor-A (VEGFA) ومستقبلاته دوراً رئيساً في نمو الأوعية الدموية حول الخلايا السرطانية. لا يعتمد نمو الأوعية الدموية حول الخلايا السرطانية على إشارات عامل نمو الأوعية فقط، بل أيضًا على تفاعل الصفائح الدموية مع إشارات الإنترلوكين Interleukin-8 (IL-8). كما ثبت أن المستقبلات المنشطة لإنزيم البروتينيز Proteinase-activated receptors (PARs) تعيق إطلاق عوامل نمو الأوعية الدموية وتتحكم في نمو الأوعية الدموية ونمو الأورام وتطورها (Lurje *et al*., 2010). إن حرمان الخلايا من الغذاء والأكسجين سيؤدي إلى توقف نموها ومن ثم موتها، لذلك تستخدم بعض المواد الكيميائية المثبطة أو المضادة لنمو الأوعية الدموية Anti-angiogenesis والمصرحة من قبل منظمة الغذاء والدواء Food and drug administration (FAD) كآلية لعلاج مرض السرطان في مراحل محددة (Mehdi and Shaker 2017).

و- الجينات المثبطة للأورام:

تقوم الجينات المثبطة للأورام بتصنيع بروتينات تثبط أو تمنع الانقسام والنمو العشوائي للخلايا، بمعنى أنها تثبط الانقسام الخلوي غير الطبيعي. تطفر هذه الجينات أو تعرضها لأي من مسببات نشوء السرطان يؤدي إلى انخفاض البروتين الناتج عن الجينات المثبطة للأورام، وبالتالي ينخفض معدل تثبيط الانقسام العشوائي. نتيجة لانخفاض التثبيط الطبيعي سيزيد معدل الانقسام العشوائي، وهذا يعني نشوء خلايا سرطانية. بعض البروتينات المثبطة لنمو السرطان يكون

موجهًا للتحكم في إشارات التمايز الخلوي أو النمو أو التلامس والالتصاق مع الخلايا المجاورة أو مع الأسطح الخارجية للخلايا (Runhua *et al.*,2015). لذلك نجد أن البروتينات المعنية التي تفقد وظيفتها الطبيعية يجعل الخلايا تفقد القدرة على الاستجابة لإشارات النمو والالتصاق بموضعها الطبيعي فتتحول إلى خلايا سرطانية تهاجر من مكانها الذي نشأت فيه إلى أماكن مختلفة لتكون مستعمرات أو كتلاً من الخلايا السرطانية كدلالة على انتشار السرطان أو ما يسمى بالورم الخبيث (الشكل ١٣ – ٥) (Choi *et al.*, 2018).



(الشكل ١٣–٥): يوضح دور الجينات المثبطة للأورام

ز- الجينات المعززة لانتشار الخلايا السرطانية:

انتشار الخلايا السرطانية Invasion and metastasis يعني انتقالها من مكان إلى آخر أو من عضو إلى آخر داخل جسم المريض، وتعد هذه المرحلة من أخطر مراحل مرض السرطان. هناك عدة آليات جزيئية تمكن الخلايا السرطانية من التحرك والانتقال للأنسجة المجاورة، حيث تنتقل إلى مجرى الدم ومن ثم تستقر في

مواقع مختلفة. ليس لكل الخلايا السرطانية القدرة على الانفصال من الموقع الأول Primary site والانتقال للأعضاء الأخرى Distant organs داخل جسم المريض. تلعب الجينات المشفرة للحشوة الخارج خلوية Extracellular matrix (ECM)، وبروتينات الالتصاق Adhesion proteins وعوامل الحركة Motility factors دورًا أساسيًا في انتشار الخلايا السرطانية. كما تؤدي بعض الجينات دوراً واضحاً في تعزيز الانتشار المبكر الخلايا السرطانية مثل جين اليوروكاينيز urokinase plasminogen (uPA)، وجين الميتالوبروتييز Matrix metalloproteases (MMPs)، من خلال تحفيز تكاثر الخلايا ونمو الأوعية الدموية حولها. يبين الجدول (١٣-١) بعض أنواع الجينات السرطانية ومعدل نشاطها والنسيج الذي تنشأ منه (Ting *et al*., 2014).

(جدول ١٣-١): يوضح بعض أنواع الجينات السرطانية ومنشأها

الجين المسرطن	منشأ الخلايا السرطانية	معدل النشاط (عدد نسخ الجين)
c-myc	خلايا الدم والرئة	٢٠ ضعفاً
N-myc	خلايا الأرومة العصبية والشبكية	٥ – ١٠٠٠ ضعف
L-myc	خلايا الرئة	١٠ – ٢٠ ضعفاً
c-abl	خلايا الدم البيضاء	٥ أضعاف
c-myb	خلايا القولون وخلايا الدم البيضاء	٥ – ١٠ أضعاف
c-erbB	خلايا البشرة	٣٠ ضعفاً
K-ras	خلايا القولون خلايا قشرة الغدة الكظرية	٤ – ٢٠ ضعفاً ٣٠ – ٦٠ ضعفاً

تتحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية إذا توفرت مجموعة من العوامل أو المقومات.

العوامل المحفزة لتحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا سرطانية:

١. النمو بشكل مستقل وعدم الاستجابة للإشارات الخلوية التي تسيطر على نمو الخلايا وعلاقتها بالوسط المحيط.

٢. عدم الاستجابة لمثبطات النمو التي تنشط في ظروف تقتضي التوقف عن النمو.

٣. مقاومة الموت الخلوي المبرمج وبقاء الخلايا غير الطبيعية.

٤. الاستمرار في الانقسام ومقاومة الشيخوخة Immortal.

٥. تزويد الخلايا بالغذاء والأكسجين بشكل مستمر من خلال تكون شبكة من الشعيرات الدموية حول الخلايا.

٦. القدرة على التحرك والانتقال لأنسجة جديدة.

بالرغم من أن السرطان يمثل مجموعة متنوعة من الأمراض، إلا أن للخلايا السرطانية خصائص مشتركة منها:

أ- تنشأ معظم أنواع السرطان من خلية مفردة تعرضت هي ونسلها لسلسلة من التغيرات الوراثية المتراكمة بسبب الانقسام الخلوي. بمعنى أن النمو السرطاني يمكن اعتباره نسيلي المنشأ Clonal in origin والخلية السرطانية تنتج خلايا سرطانية فقط.

ب- عند المستوى الخلوي والوراثي، السرطان عبارة عن عملية متعددة الخطوات تبدأ عادة كتغير قبل سرطاني Precancerous، نمو حميد Benign growth، يتبعه تغيرات وراثية إضافية تؤدي في النهاية إلى النمو السرطاني.

ج- عندما تصبح الخلايا السرطانية غازية أو شرسة Invasive يوصف نموها بالنمو الخبيث Malignant growth.

د- تتصف الخلايا السرطانية بأنها انبثاثية Metastatic، لأنها تستطيع الهجرة عبر الدم واللمف إلى أجزاء الجسم الأخرى وتكون أورامًا ثانوية.

هـ- يلاحظ تغير في الصفات الخارجية والداخلية للخلايا السرطانية المستزرعة، كزيادة نسبة الرنا وحجم الأنوية وتغيرات إنزيمية.

و- الانقسام المستمر Immortal division وعدم الاستجابة لتأثير التلامس بين الخلايا Contact-mediated growth control.

ز- تمتاز الخلايا السرطانية بتراكيب ليفية Fibers أقل كثافة وسمكًا من الخلايا الطبيعية.

ح- ارتفاع نسبة انتقال السكر عبر الأغشية الخلوية في الخلايا السرطانية، مما يفسر استهلاك الخلايا السرطانية نسبة أعلى من السكر مقارنة بالخلايا الطبيعية.

الخلايا السرطانية خلايا خالدة Immortal cells:

تنقسم الخلايا الطبيعية عادة ما بين ٦٠-٧٠ مرة ثم تهرم وتموت بعكس الخلايا السرطانية التي تتصف بالانقسام المستمر ومقاومة الشيخوخة Immortal cells والسبب وراء ذلك يكمن فيما يلي:

تعتبر النهايات الطرفية للكروموسومات أو ما يسمى بالتيلوميرات Telomeres تتابعات دنا شديدة الإلتفاف غير نشطة وراثيًا (غير مشفرة) تعمل على حماية المادة الوراثية من التحلل، كما تمنع نهايات الكروموسومات من الالتحام مع بعضها البعض بسبب خاصية الاستقطاب Polarization. يقدر معدل طول التيلومير في الإنسان عند الولادة بحوالي ١١ كيلو قاعدة وعند الكبر أقل من

٤ كيلو قاعدة. يستمر التيلومير في التناقص حتى يتلاشى تمامًا عند مرحلة الهرم أو الشيخوخة المتأخرة حيث تتوقف الخلايا عن الانقسام وتفقد وظائفها.

أثناء تضاعف الدنا ترتبط البادئات Primers بالقالب، كما تقوم التلوميرات بمنح البادئات مساحة للتجمع عليها لأنها تتابعات غير مشفرة. بعد عملية تضاعف الدنا يفقد شريط الدنا الجديد جزء من التيلومير وهو الجزء الذي ارتبطت به البادئات، ومع استمرار عمليات التضاعف يقصر الكروموسوم عند المناطق الطرفية ويفقد ما بين ٢٥-٢٠٠ قاعدة مع كل انقسام. وهكذا يتكرر فقد جزء من التيلومير مع تكرار التضاعف حتى يفقد التيلومير تمامًا. عند اختفاء التيلومير تبدأ المشكلة بالظهور فبدون التيلومير يتناقص الدنا المشفر لأن البادئات سترتبط بتتابعات الدنا المشفرة نفسها لبدء التضاعف، مما يؤدي لفقد تلك التتابعات في الشريط الجديد، وهذا له تأثير مميت ما لم يتم اصلاحه. مع كل تضاعف سيفقد جزء من التتابعات المشفرة وسوف تتعامل الخلايا مع هذا التغير كتلف دنا يسبب شيخوخة الخلايا أو تقدم العمر البيولوجي وهذا يستوجب إنهاء دورة الخلية.

تمتاز الخلايا السرطانية بميزة فريدة تجعلها خلايا خالدة Immortal وهي وجود إنزيم التيلوميريز Telomerase، حيث تنتج الخلايا السرطانية هذا الإنزيم الذي يعمل على إطالة عمر الخلايا السرطانية بعكس الخلايا الطبيعية التي يقصر فيها التيلومير مع كل انقسام حتى تموت في النهاية. يعمل التيلوميريز كإنزيم نسخ عكسي للحفاظ على الكروموسومات، حيث يبني تتابعات متكررة من الدنا عند المناطق الطرفية للكروموسوم (التيلوميرات) لتعويض ما يفقد من الدنا بعد عمليات التضاعف (Alex *et al*., 2017).

استمرار الخلايا السرطانية يتم بأن تتغلب تلك الخلايا على قصر وتلاشي التلومير كما يلي:

أ- تنمو الخلايا السرطانية وتتضاعف بسرعة.

ب- تنتج إنزيم التلوميريز القادر على بناء التلومير أثناء تضاعف الدنا، لذلك فإن تضاعف الخلايا السرطانية لا يرافقه تناقص تتابعات التلومير.

ح- تنمو وتتضاعف الخلايا السرطانية بلا حدود ودون فقدان الجينات الأساسية.

الخلاصة أن عوامل تحديد طول التلومير هي التي تحمي الجينوم من التلف، فإذا أصبح الجينوم قصير فإن الخلايا لا تستطيع الانقسام دون وجود خطورة وفقدان جزء من المادة الوراثية ولذلك تهرم الخلايا وتموت.

الفصل الرابع عشر
العلاج الجيني
Gene therapy

ذكر في الفصل الثاني أن الجين هو الوحدة الأساسية للمعلومات الوراثية في كل الكائنات الحية، وأن الجينات تحمل المعلومات الوراثية اللازمة لبناء الخلايا والحفاظ عليها والقيام بكافة الوظائف الحيوية، ومن ثم بناء أجسام الكائنات الحية بصفاتها الفريدة التي تميزها. كما أن عملية التعبير الجيني تبدأ بنسخ الدنا على شكل رنا مرسال mRNA داخل النواة، ثم ينتقل بعد ذلك للسيتوبلازم، حيث تتم عملية الترجمة عن طريق اتحاد الرايبوسوم مع الحمض النووي المرسال، ثم يقوم الحمض النووي الناقل بنقل الأحماض الأمينية لتكَون سلسلة الأحماض الأمينية المُكونة للبروتين الذي يقوم بعمل محدد داخل الخلية. عندما يتغير تركيب الجين لسبب ما كالطفرات مثلاً، فإن الشفرات الوراثية تتغير، مما ينتج عنه تغير في ترتيب أو نوع أو عدد الأحماض الأمينية المكونة للبروتين وبالتالي تتغير بنية البروتين الناتج، مما يسبب توقف أو تغير وظيفة البروتين غالبًا، وهذا ما يسمى بعيوب البروتين الوظيفية Protein dysfunction.

يُقصد بالعلاج الجيني Gene therapy (GT) الآلية أو التقنية التي يتم من خلالها تصحيح العيوب الجينية المسببة للأمراض الوراثية. كما يُعرّف العلاج الجيني بأنه تطبيق المفاهيم الوراثية لعلاج الأمراض الوراثية. يهدف العلاج الجيني إلى إنتاج البروتين الطبيعي الكافي لغرض مقاومة تأثير الأمراض ومنها على سبيل المثال: الأمراض الوراثية، الأمراض المعدية، أمراض الجهاز المناعي وغيرها، من خلال إدخال جينات سليمة إلى داخل خلايا الفرد لعلاج مرض وراثي معين.

تستبدل الجينات التالفة أو المسببة للمرض بجينات أُخرى سليمة أو إدخال جينات سليمة تحمل معلومات وراثية مرغوباً فيها إلى داخل الخلية للقضاء على المرض. يوجد حوالي ٤٠٠٠ مرض وراثي Genetic disorders يصيب الإنسان وتنتج معظمها من الطفرات الوراثية التي تطرأ على الجينوم بشكل عام. هناك على الأقل ثلاثة احتمالات للتعامل مع المرض الوراثي عند اكتشافه، وتعتمد طريقة التعامل مع المرض على الإمكانات الطبية المتوفرة. الاحتمال الأول: تجاهل المرض وبقاؤه دون علاج. الاحتمال الثاني: محاولة علاج المرض بالأدوية الممكنة لتخفيف تأثيره بشكل مؤقت، وهذا يعتمد على نوع المرض وقد لا يجدي كحل طويل الأمد. الاحتمال الثالث: استبدال الجين التالف إن أمكن بجين طبيعي من خلال التقنيات الطبية الحديثة كحل نهائي للمرض.

تمكن علماء الوراثة بفضل الله سبحانه وتعالى، ثم بفضل الأجهزة والتقنيات الحديثة، من تحديد الجينات المسؤولة عن الأمراض الوراثية ومواقعها على الكروموسومات. كما تم نسخ وتحديد التتابعات المسؤولة عن الجينات المسببة للمرض والجينات السليمة، ومن ثم تحديد تسلسل الأحماض الأمينية الطبيعية وبناء البروتينات اللازمة وتصنيعها تجاريًا كهرمون الإنسولين Insulin. بعد بحث ودراسة جين الإنسان المسؤول عن إنتاج هرمون الإنسولين تم دمجه في جينوم البكتيريا كتقنية علاجية لإنتاج الإنسولين ليتم حقنه في الأشخاص المصابين بداء السكري. ركّز العلماء في البداية على الأمراض الوراثية الناتجه عن خلل في جين واحد مثل مرض نزف الدم (الهيموفيليا) Hemophilia والأنيميا المنجلية Sickle cell anemia وضمور العضلات Muscular dystrophy وغيرها لسهولة التعامل معها ونقلها لجينوم البكتيريا مقارنة بالأمراض الوراثية التي يتسبب فيها أكثر من جين (Ermak, 2015).

طرق العلاج الجيني الفعّالة Effective approaches of gene therapy:

يعتبر العلاج الجيني حاليًا طريقة علاج تجريبية للوقاية من أمراض مختلفة، لا يستخدم في علاجها المستحضرات الطبية والأدوية أو التدخل الجراحي، بل تستخدم بدلاً منها الجينات. عند حدوث خلل في أحد الجينات يتم تفادي هذا الخلل عن طريق ما يسمى بالعلاج الجيني، ومع أن تقنية العلاج الجيني لا تزال تقنية حديثة، إلا أن النجاح الذي حققته، يؤهلها لأن تكون علم المستقبل والأمل الذي ينتظره ملايين المرضى حول العالم. بواسطة العلاج الجيني يستطيع الجسم إنتاج مواد عضوية في الوقت المناسب كعلاج جيني فعّال، مع إمكانية استمرار هذا العلاج مدى الحياة.

أهم الطرق الفعّالة للعلاج الجيني:

١- نقل الجين Gene transplantation:

يتم في هذه الطريقة إدخال الجين الطبيعي لخلايا المريض التي تحتوي على الجين غير الطبيعي بهدف إنتاج البروتين المطلوب.

٢- تصحيح الجين Gene correction:

يكون الجين غير الطبيعي قد تعرض لطفرة جينية حولته من جين سليم لجين طافر غير قادر على التشفير للبروتين الطبيعي. تصحيح الجين يتم من خلال إحداث طفرة عكسية أو تصحيحية Selective reverse mutation في الجين الطافر لإرجاعه إلى وضعه السابق ويصبح قادراً على إنتاج البروتين المطلوب.

٣- تحفيز الجين Gene augmentation:

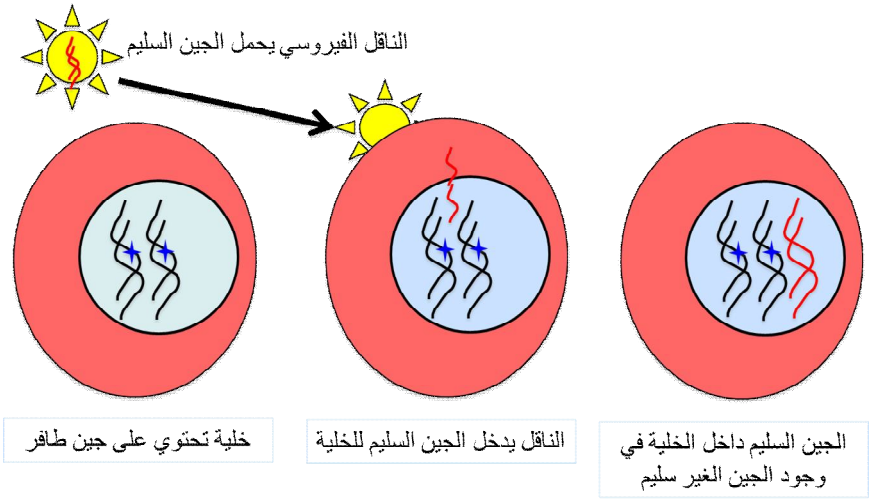
يُعدل تنظيم التعبير الجيني للجين المستهدف المسبب للمرض من خلال زيادة معدل النسخ وبالتالي تصنيع منتج بالكمية المطلوبة.

يوجد بعض الاختلافات في نتائج العلاج الجيني حسب نوع الخلايا. عند معالجة الخلايا الجنسية Germ cells كالحيوانات المنوية Sperms أو البويضات Eggs، سيكون علاج دائم في كل الخلايا الناتجة، وبالتالي سيظهر جيل خالٍ من المرض، بينما عند معالجة الخلايا الجسدية Somatic cells تعالج الخلايا المنقسمة الناتجة عنها فقط. بالرغم من نجاح العلماء في استخدام العلاج الجيني لعدد محدود من الأمراض، مثل سرطان الجلد Melanoma والأنيميا وغيرها، إلا أنه مازال هناك الكثير من التحديات التي تواجههم (Kaji, 2001).

خطوات العلاج الجيني Steps of gene therapy:

يمر العلاج الجيني بعدة بخطوات متتالية (الشكل ١٤-١) تؤدي في النهاية إلى علاج جيني ناجح. يمكن إيجاز أهم خطوات العلاج الجيني فيما يلي:

١. تحديد الجين المسؤول عن المرض.
٢. إنتاج نسخة سليمة من الجين المسؤول عن المرض بتقنيات الهندسة الوراثية.
٣. دمج الجين السليم داخل جينوم الناقل Vector كالفيروسات مثلاً.
٤. إدخال الناقل الذي يحمل الجين السليم إلى الخلية التي تحتوي على الجين غير السليم.
٥. تنشيط الجين السليم لتتم عمليتا النسخ والترجمة لإنتاج البروتين المطلوب.



(الشكل ١٤-١): يوضح خطوات العلاج الجيني

عندما يتوقف الجين عن إنتاج البروتين المطلوب يمكن اتباع الخطوات السابقة، ولكن قد يتطلب العلاج الجيني إيقاف عمل جين يعمل بطريقة غير طبيعية، كأن يعطي بروتيناً بكمية أكثر أو أقل من الحد الطبيعي، أو قد يعطي بروتيناً مختلفاً، وهنا يتم العلاج بالجينات عن طريق إيقاف عمل الجين التالف أو إدخال نسخة سليمة من الجين رغم وجود النسخة غير السليمة. فيما يلي شرح مبسط للعمليتين الأساسيتين في العلاج بالجينات:

إيقاف عمل الجين التالف:

يتم إيقاف عمل الجين التالف ومنعه من إفراز البروتين المسبب للمرض إما بتعطيل الجين من خلال تقنية تعطيل الجين Knockout gene technology، أو من خلال إسكات الرنا المرسال mRNA silencing أو التدخل في أي مرحلة من مراحل التعبير الجيني ومنع انتاج البروتين المسبب للمرض، وذلك بإدخال قطع

من الدنا لا تحمل أي معلومات وراثية بواسطة بعض النواقل Vectors، مثل الفيروسات أو البلازميدات Plasmids، لتتحد مع الجين التالف وتمنع عملية إنتاج البروتين.

إدخال نسخة سليمة من الجين:

يتم إدخال نسخة سليمة من الجين المراد التعبير عنه، والذي بدوره سوف يعالج المرض حتى في حالة وجود النسخة التالفة من الجين. توجد طريقتان لإدخال نسخة سليمة من الجين، إما أن تتم عملية الإدخال خارج الجسم *In vitro* أو داخل الجسم *In vivo*.

نظرًا لحجم الجين الكبير نسبيًا ولشحنته السالبة بسبب وجود مجموعة الفوسفات التي تدخل في تركيب النيوكليوتيدات، ولطبيعة الجين المُحبة للماء، على عكس طبيعة غشاء الخلية المُحب للدهون، ظهرت الحاجة لوجود أداة لتوصيل الجين إلى داخل نواة الخلية، هذه الأداة تسمى الناقل (Chial, 2008).

دور الناقل في العلاج الجيني:

الناقل عبارة عن أداة ترافق الجين لمساعدته على ما يلي:

١. اختراق الجين لجدار الخلية.
٢. حماية الجين من التحلل بفعل الإنزيمات المُحللة الموجودة في الليسوسوم داخل الخلية أثناء مروره داخل السيتوبلازم.
٣. اختراق الجين للغشاء النووي ومن ثم تحرره داخل النواة حيث ينشط وتتم عملية التعبير الجيني الطبيعي.

أنواع النواقل الجينية:

أولاً: النواقل الفيروسية Viral vectors:

لفت نظر العلماء قدرة الفيروسات على اختراق الخلايا وإدخال المادة الوراثية إليها، فبحثوا عن إمكانية استخدامها لنقل الجينات إلى داخل خلايا الجسم. تتم العملية عن طريق إفراغ الفيروس من محتواه الجيني واستبداله بالجين المطلوب.

من عيوب استخدام النواقل الفيروسية ما يلي:

أ- احتمال تنشيط المحتوى الجيني للفيروس الذي تمت إزالته ومن ثم حدوث مرض فيروسي.

ب- يمكن أن تتسبب بعض أنواع الفيروسات في حدوث سرطان.

ج- صغر حجم الجين الذي يمكن أن يحمله الفيروس.

د- قد يتعرف الجهاز المناعي على الفيروسات وتحدث تفاعلات مضادة.

قسمت أنواع الفيروسات المستخدمة كنواقل جينية إلى نوعين رئيسيين هما:

١- فيروسات يمكن دمجها داخل جينوم خلية العائل Integrated viruses:

لهذا النوع من الفيروسات القدرة على دمج جينومه داخل جينوم خلية العائل مثل: الفيروسات الرجعية Retrovirus، كالفيروسات المسببة لسرطان الدم عند الفئران، وفيروسات Adeno-associated virus (AAV)، وفيروس نقص المناعة المكتسبة Human immunodeficiency virus (HIV). تندمج الفيروسات مع دنا الخلايا المنقسمة فقط مستغلة تحلل الغشاء النووي أثناء الانقسام الخلوي، وهذا مفيد لعلاج السرطان بواسطة الجينات، لأن الخلايا السرطانية تمتاز بنشاط انقسامي عالٍ.

٢- فيروسات لا يمكن دمجها داخل جينوم خلية العائل Non- integrated viruses:

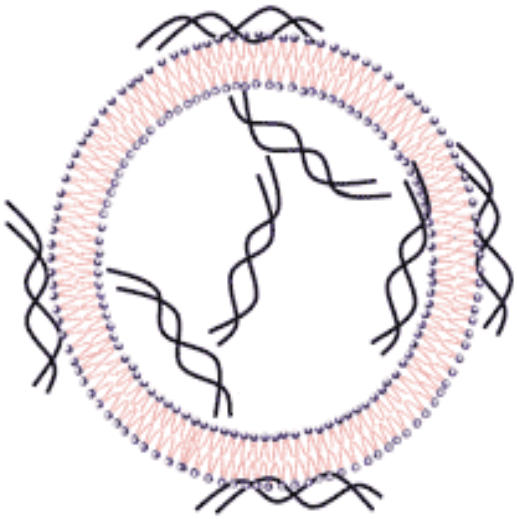
ليس لهذا النوع من الفيروسات القدرة على دمج جينومه داخل جينوم خلية العائل مثل: فيروسات الفا Alpha virus، والفيروسات الغدية Adenovirus، وفيروس الهربس Herpes simplex virus (HSV). تتحد هذه الفيروسات مع العديد من أنواع الخلايا دون الاندماج بين الجينومات، كما يمكن أن تفقد هذه الفيروسات داخل خلية العائل (Robbins and Ghivizzani, 1998; Duncan *et al*., 2018).

ثانياً: النواقل غير الفيروسية Non-viral vectors:

تعتمد النواقل غير الفيروسية على استخدام البلازميد وهو عبارة عن جزيء دنا دائري يوجد خارج المحتوى الجيني لبعض البكتيريا والخمائر. يحمل البلازميد صفات وراثية ثانوية، وله القدرة على التكاثر الذاتي. يعتمد استخدام البلازميد كناقل للجينات على استبدال جزء منه بالجين المراد إدخاله، ثم إدخال البلازميد بمحتواه الجديد إلى داخل الخلايا إما بمفرده أو مع أنظمة أُخرى مثل الليبوزوم Liposomes (الشكل ١٤-٢) أو بعض البوليمرات الموجبة أو متعادلة الشحنة. من أمثلة النواقل غير الفيروسية: الليبوزوم، الدنا المقترن بالبوليمر DNA–polymer conjugates، والدنا العاري أو المكشوف Naked DNA.

يتألف الليبوزوم من طبقة دهن مزدوجة Lipid bilayer تشترك مع الفيروسات في بعض الخصائص عندما تدخل للجسم. تصنع حويصلات الليبوزوم بشكل دقيق جدًا ليمكن استخدامها في حمل وتوصيل الجزيئات الدقيقة كالجينات، كما أنها آمنة للجسم وليس لها أضرار سمية، كما لا يمكن رفضها من قبل الجهاز المناعي كجسم غريب. من مميزات الليبوزومات أنها تحمل عدداً لا محدوداً من الجينات، تتفادى الاستجابة المناعية، آمنة، يمكن إنتاجها بسهولة. من

عيوبها أنها حساسة جدًا لدرجات الحرارة والحموضة ولا يمكن استخدامها للتعبير الجيني على المدى الطويل (Guo *et al*., 2018).



(الشكل ١٤-٢): يوضح الشكل العام لليبوزوم

الخصائص العامة للنواقل Vectors characteristics:

يجب أن تتوفر بعض الخصائص العامة في نواقل الجينات المستخدمة في العلاج الجيني لضمان نجاحها ومن أهمها ما يلي :

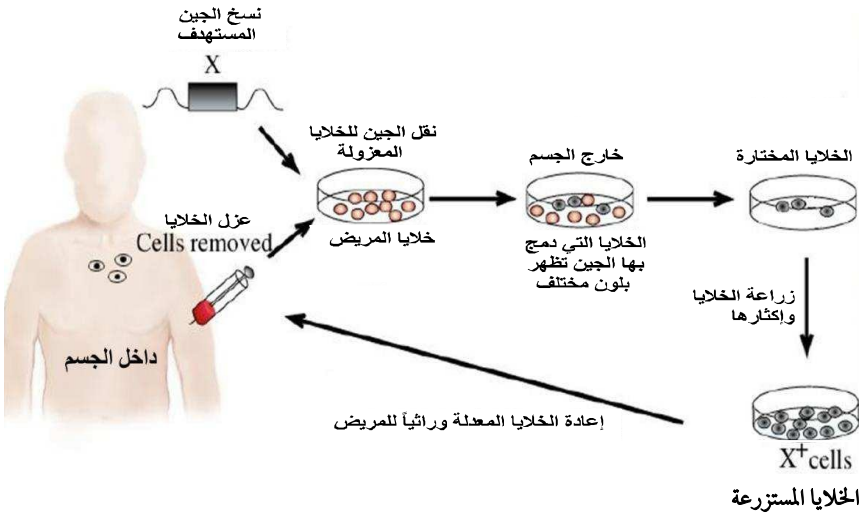
١. القدرة الاستيعابية الكافية للجينات.
٢. عدم كشفها أو التعرف عليها من قبل الجهاز المناعي.
٣. لا تسبب التهابات داخل الجسم.
٤. تكون آمنة للمريض ولا تسبب أي نوع من الأمراض.
٥. القدرة على تصحيح الخلل أو عيوب الجين المعطوب.
٦. تكون فعّالة وتعمل لفترات زمنية طويلة.

طرق نقل الجينات Strategies for transgene delivery:

هناك طريقتان أساسيتان لنقل الجينات السليمة إلى المريض هما :

أولاً: النقل خارج الجسم *In vitro*:

يتم النقل خارج الجسم بعزل الخلايا غير السليمة أو المصابة التي تحتوي على الجين المعطوب من الجسم، ثم إدخال الجين السليم للخلايا بواسطة أحد النواقل المناسبة مثل الفيروسات أو البلازميدات. يلي ذلك استزراع تلك الخلايا في ظروف خاصة ومراقبتها، ثم عزل الخلايا التي أصبحت تحتوي على الجين السليم وتنميتها، ثم إعادتها للجسم مرة أخرى (الشكل ١٤-٣).



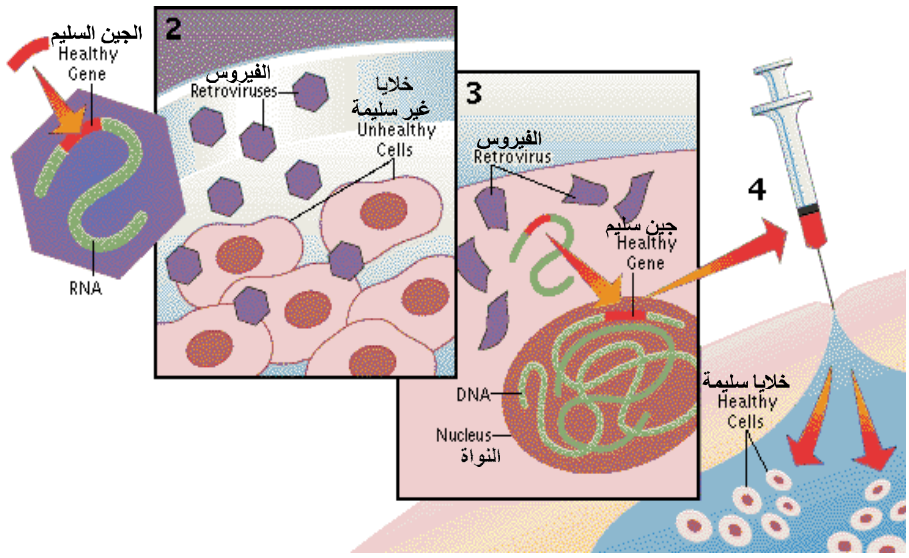
(الشكل ١٤-٣): يوضح طريقة النقل خارج الجسم.

ثانيًا: النقل داخل الجسم *In vivo*:

يتم في هذه الطريقة إدخال النسخة السليمة من الجين مباشرة إلى الخلية التي تحتوي على الجين غير السليم داخل الجسم، باستخدام أنظمة توصيل معينة دون

الحاجة إلى عزل تلك الخلايا خارج الجسم. تم تصميم أداة لحقن الجين داخل الجسم تسمى قاذف الجين Ballistic gene injection. هذه الطريقة مناسبة للخلايا التي يصعب الحصول عليها مثل خلايا المخ، خلايا الرئة، خلايا القلب (الشكل ١٤-٤).

طريقة نقل الجينات إلى الخلايا خارج الجسم أسهل ويمكن التحكم بها أكثر مقارنة بنقل الجينات للخلايا داخل الجسم، عادة ما يستخدم نقل الجينات للخلايا داخل الجسم للأنسجة التي لا يمكن استزراعها خارج الجسم أو التي لا يمكن إعادتها بعد زراعتها للجسم مرة اخرى.



(الشكل ١٤-٤): يوضح طريقة النقل داخل الجسم باستخدام قاذف الجينات

استخدم العلماء الخلايا الجذعية Stem cells للعلاج الجيني الذي نجح في بعض الحالات المرضية، من خلال اتباع الخطوات التالية :

١. عزل عينة من نخاع العظم.

٢. عزل الخلايا الجذعية من عينة نخاع العظم واستزراعها للحصول على عدد أكبر من الخلايا الجذعية.

٣. معاملة الخلايا بالناقل المناسب الذي يحتوي على الجين السليم.

٤. يندمج الفيروس مع الخلايا الجذعية المنقسمة ويدخل الجين السليم لنواة الخلية ويتحد مع الجينوم.

٥. تحقن الخلايا الجذعية المعاملة بالجين السليم في مجرى الدم Bloodstream.

٦. تستجيب الخلايا الجذعية التي تحتوي على الجين السليم لإشارات الخلل الناتج من الجين المعطوب في النسيج.

٧. الخلايا الجذعية تصحح الخلل وتبني نسيجاً جديداً خالياً من الضرر.

نجح العلاج الجيني في علاج بعض الحالات (الجدول ١٤-١).

(الجدول ١٤-١): يبين بعض الأمراض التي نجح علاجها باستخدام العلاج الجيني

نوع المرض	النسيج المستهدف
نقص المناعة الحاد Severe combined immunodeficiency (SCID)	خلايا نخاع العظم أو الخلايا اللمفاوية T- lymphocytes
نزف الدم (الهيموفيليا) Hemophilia	خلايا الكبد أو العضلات
التليف الكيسي Cystic fibrosis	خلايا الرئة
السرطان	أنواع مختلفة من الخلايا
أمراض الجهاز العصبي مثل الزهايمر	الخلايا العصبية
الأمراض المعدية مثل التهاب الكبد الفيروسي- ب	خلايا الدم البيضاء

مرض نقص المناعة الحاد Severe combined immunodeficiency (SCID):

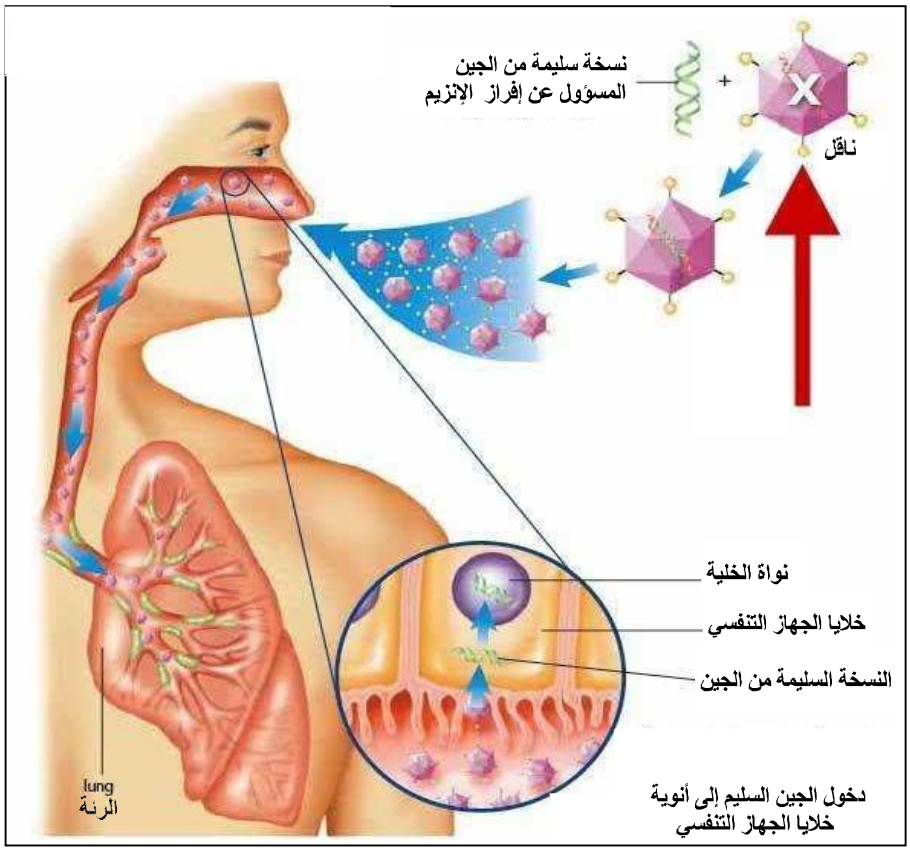
استخدم العلاج الجيني لأول مرة في شهر سبتمبر عام ١٩٩٠م لعلاج طفلة تبلغ من العمر أربع سنوات تدعى أشانتي ديسلفا Ashanti DeSilva، كانت تعاني من مرض نقص المناعة الحاد (SCID) وهو مرض وراثي متنحٍّ X-linked recessive disease، يحدث بسبب نقص إنزيم نازع أمين الأدينوسين Adenosine de-aminase deficiency (ADE)، الذي يلعب دوراً مهماً في وظيفة الجهاز المناعي. نقص إنزيم (ADE) يؤدي إلى عدم قدرة الخلايا اللمفاوية البائية والتائية على أداء وظيفتها بالشكل المطلوب وهذا يؤدي إلى موت المصاب إذا لم يعالج.

عزل الأطباء خلايا الدم البيضاء، ثم استزرعت خارج الجسم، بعد ذلك أُدخل الجين المفقود ADE gene إليها بواسطة حامل فيروسي، ومن ثم أُعيدت الخلايا المعالجة لمجرى الدم مرة أخرى، مما عزز عمل الجهاز المناعي لدى الطفلة، لكن كان هذا التأثير قصير المدى فلم يستمر سوى عدة أشهر. الطفل ديفيد David الذي يظهر في (الشكل ١٤-٥) داخل البالون يعاني من نفس المرض ونقل له نخاع العظم من شقيقته ولكنه توفي بسبب إصابته بمرض السرطان.

(الشكل ١٤-٥): يوضح الطفل ديفيد داخل البالون والذي يعاني من مرض نقص المناعة الحاد

مرض التليف الكيسي Cystic fibrosis:

يعتبر مرض التليف الكيسي من أكثر الأمراض الوراثية المميتة شيوعًا عند ذوي البشرة البيضاء، خصوصًا في الولايات المتحدة. ينشأ المرض نتيجة عيب في الجين المسؤول عن تصنيع الإنزيم المنظم للنقل البين غشائي Trans-membrane conductance regulator enzyme والذي يؤدي نقصه إلى تكوين طبقة كثيفة من المخاط المُبطن للممرات الهوائية، مما يعيق عملية التنفس. يسبب المرض كذلك خللاً في إفراز الإنزيمات الهاضمة وخللاً في عملية امتصاص الغذاء من القناة الهضمية، كذلك يتسبب في حدوث عدوى مميتة بالجهاز التنفسي (Sheridan, 2011; Rubin, 2018). حظي مرض التليف الكيسي باهتمام كبير من قبل أطباء العلاج الجيني، حيث تمكنوا من علاج هذا المرض بالجينات عن طريق إدخال نسخه سليمة من الجين المسؤول عن إفراز ذلك الإنزيم عن طريق الاستنشاق (الشكل ١٤-٦).



(الشكل ١٤-٦): يوضح طريقة العلاج الجيني لمرض التليف الكيسي

مرض نقص إنزيم الأورنثين ترانس كاربامليز Ornithine transcarbamylase (OTC) deficiency:

يسبب هذا المرض حالة من فقدان الوعي Coma خلال ٧٢ ساعة عند حديثي الولادة، كما يسبب تلفاً حاداً في الدماغ. نصف الحالات المصابة تفارق الحياة في الشهر الأول والبقية يموتون عند عمر الخامسة تقريبًا. من الحالات التي دُرِست حالة المريض جيس جيلسنجر Jesse Gelsinger عام ١٩٩٩ ، الذي يعتبر أول ضحية للعلاج بالجينات. جيلسنجر كان مُصاباً بمرض وراثي نادر في الكبد

يسبب ارتفاعًا مخيفًا في نسبة الأمونيا في الدم، ومع أن حالته كانت غير مُميتة وكان يتم التحكم فيها عن طريق الأدوية والتنظيم الغذائي إلا أنه تطوع للمشاركة في تجربة للعلاج بالجينات. مات جيلسنجر بعد أن تم حقنه بالناقل الذي يحمل الجين السليم نتيجة رد فعل مناعي من الجسم أدى إلى فشل في أعضاء متعددة. بعد تلك التجربة جمدت المنظمة العالمية للغذاء والدواء كل التجارب العلاجية باستخدام تقنية العلاج بالجينات ووضعت قوانين صارمة لتلك التقنية. وعلى الرغم من بعض التجارب غير الناجحة، إلا أن العلاج بالجينات مازال يعتبر الحلم الذي يداعب خيال العلماء لعلاج العديد من الأمراض، ولذلك فإن عدد الشركات المهتمة بأبحاث العلاج الجيني في تزايد مستمر حول العالم.

ظهر أول منتج لعلاج السرطان بالجينات في الصين عام ٢٠٠٤ تحت اسم جيندیسين (Gendicine) وهو عبارة عن جين P^{53}، المثبط للأورام، والمحمول على ناقل فيروسي مُعدل. عند حقن هذا المنتج في الورم يقوم الفيروس بإدخال الجين إلى داخل الخلايا السرطانية والذي يحفز الخلية على الانتحار. تم اختبار علاج جيندیسين على حالات متأخرة من سرطان الخلايا الحرشفية بالرأس والعنق، وبعد استمرار العلاج لمدة ٨ أسابيع بواقع حقنة واحدة أسبوعيًا أظهرت النتائج أن أكثر من ٦٤٪ من المرضى تم شفاؤهم تمامًا، وأن ٣٢٪ أظهروا انحسارًا جزئيًا للمرض. إذا استخدم (جيندیسين) مع العلاج الكيماوي أو العلاج الإشعاعي فإن كفاءة العلاج تزداد إلى ثلاثة أضعاف.

تأثير موقع الجين على العلاج الجيني Position effect in gene therapy:

يعتبر موقع الجين داخل الجينوم أحد التحديات التي تواجه أطباء العلاج الجيني، لأن للموقع الجيني داخل الجينوم دورًا مهمًا في تحديد مستوى تعبير ذلك الجين، وهذا ما يسمى بتأثير الموقع Position effect. قد يتغير موقع الجين نتيجة

أحداث إعادة تنظيم أو اتحادات الدنا في الكروموسومات Chromosomal rearrangements مثل عملية الانتقال Translocation أو الانقلاب Inversion وغيرها. هذه الأحداث قد تسبب تغيرات غير طبيعية في وظيفة الجين تتمثل في زيادة أو انخفاض مستوى التعبير الجيني، رغم أن تركيب الجين نفسه والمناطق المنظمة لعمله مثل المحفز Promoter أو المعزز Enhancer سليمة ولم تتغير ولكن موقعها فقط هو الذي تغير. كما قد ينتج من إعادة ترتيب الكروموسومات فصل الجين Transcription unit عن المحفز أو المعزز الخاص به، هذا الفصل قد يؤثر سلبًا على وظيفة الجين كزيادة أو نقصان معدل النسخ في نسيج ما. كما ينطبق ذلك على المصمتات Silencers فعزلها نتيجة تغير الموقع قد يؤدي إلى فقدان وظيفتها، وبالتالي حدوث زيادة مفرطة في عملية التعبير الجيني Over gene expression، علاوة على ذلك قد ينتج من تغير الموقع تجاور جينين مختلفين، مما قد ينتج عنه تنافس على المناطق المنظمة بين الجين المسبب للمرض والجين الآخر.

يوجد العديد من المعوقات التي تواجه العلماء فيما يخص العلاج الجيني، وقد بذل العلماء ومازالوا يبذلون جهودًا حثيثة للتغلب على تلك المعوقات ومن تلك الجهود ما يلي:

١. تطوير الطرق الحالية والتعرف على طرق جديدة أكثر كفاءة لإيصال الجينات السليمة لمكانها الصحيح داخل جسم المريض.
٢. تطوير نواقل جينية ذات فعالية عالية والتأكد من ضمان وصولها للخلايا المستهدفة.
٣. إيصال الجينات السليمة لمواقعها الصحيحة داخل جينوم المريض وبدقة عالية.
٤. التأكد من أن الجين المستزرع يتحكم في تنظيم الإشارات الخلوية الطبيعية داخل الجسم.

مخاطر ومعوقات العلاج بالجينات:

اكتشف العلماء عدداً كبيراً من الطرق المعتمدة في العلاج الجيني، تركز معظمها على علاج مرضى السرطان ونقص المناعة المكتسبة والأمراض الوراثية وأمراض الأوعية الدموية الطرفية والتهاب المفاصل الرثياني Rheumatoid arthritis. رغم مخاطر ومعوقات العلاج الجيني واستخدامه المحدود، إلا أن حوالي ٥٠٠٠ مريض حول العالم استفادوا من هذه التقنية. إن أكثر المخاوف التي يفكر فيها أطباء العلاج الجيني تدور حول الآثار السلبية أو الكارثية غير المتوقعة، التي قد تنتج بسبب العلاج الجيني. أحد هذه المخاوف هو إمكانية أن ينغرس الجين الجديد في غير مكانه الصحيح أو بجوار جين سليم، مما يسبب تغير أو إيقاف وظيفته. ومن أخطر المحاذير كذلك، أن ينغرس الجين المحمول بجوار جين مثبط للسرطان Tumor suppressor gene ويوقفه عن العمل، وبذلك تنطلق الخلايا من عقالها وتنمو نموًا سرطانيًا. كما قد يسبب الانغراس الخاطئ تنشيط الجينات المسرطنة الأولية (غير نشطة) Proto-oncogene ويحولها إلى جينات مسرطنة Oncogene.

يمكن إيجاز أبرز معوقات العلاج الجيني فيما يلي :

١. تعمل بعض النواقل الفيروسية فقط أثناء انقسام الخلايا.
٢. بعض نواقل الجينات تهاجم الجهاز المناعي.
٣. قد تكون بعض النواقل مسببة للسرطان.
٤. تفقد بعض النواقل أو لا تصل للخلية المستهدفة.
٥. قد يؤثر العلاج الجيني على جينات سليمة ويفقدها وظيفتها.
٦. بعض طرق العلاج الجيني لا تدوم طويلاً.
٧. العلاج الجيني مكلف جدًا.

المراجع العربية:

١. القحطاني، سعد بن حسين. (٢٠١٨م). الموت الخلوي المبرمج. دار جامعة الملك سعود للنشر والتوزيع، المملكة العربية السعودية، الرياض.

٢. القحطاني، سعد بن حسين. (٢٠١٢م). علم الخلية والوراثة. جامعة الملك سعود، النشر العلمي والمطابع، المملكة العربية السعودية، الرياض.

٣. القحطاني، سعد بن حسين. (٢٠٠٨م). تأثير حالة ميثلة الدنا على السمية الوراثية والموت الخلوي المبرمج المستحثة في الفئران بواسطة الزرنيخ. جامعة الملك سعود، رسالة دكتوراه، الرياض.

المراجع الأجنبية:

1. Adam, W. Miklos, G. Gary, F. (2002). Insulators: many functions, many mechanisms. Genes & Dev.16: 271-288.
2. Ala'a Al-Ruwaisan. (2018). Genetic Polymorphisms of Interleukin-18 Gene in Malaria Patients. Master of Science degree in zoology of the King Saud University.
3. Alberto, F. and Eugenio, S. (2011). Ras in Cancer and Developmental Diseases. Genes Cancer. 2(3): 344–358.
4. Alex, R. Heather, E. Upton, J. Kathleen, C. (2017). Telomerase Mechanism of Telomere Synthesis. Annu Rev Biochem. (86): 439-460.
5. Allard, S. (2008). Bioluminescent reporter genes. Postepy Biochem. 54(4):350-3.
6. Ann, D. (2010). Pharmacogenetics and human genetic polymorphisms. Biochem. J. 429, 435–449.
7. Anna, M. and Sam, W. (2013). The p53 Pathway as a Target in Cancer Therapeutics: Obstacles and Promise. Sci Transl Med. 3(64): 64rv1.
8. Chial, H. (2008) Gene-based therapeutic approaches. *Nature Education* 1(1):210.
9. Choi, W. Sookhyun, L. Sungjin, C. (2018). Microsatellite Alterations and Protein Expression of 5 Major Tumor Suppressor Genes in Gastric Adenocarcinomas. Transl Oncol. 11(1): 43–55.
10. Davar, D. Beumer, J. Hamieh, L. Tawbi, H. (2012). Role of PARP Inhibitors in Cancer Biology and Therapy. Curr Med Chem. 19(23): 3907–3921.
11. David, W. (2015). Is Cancer a Genetic Disease or a Metabolic Disease?. EBioMedicine. 2(6): 478–479.
12. Duncan, G. Kim, N. Colon-Cortes, Y. Rodriguez, J. Mazur, M. Birket, S. Rowe, S. West, N. Livraghi-Butrico, A. Boucher, R. Hanes, J. Aslanidi, G. Suk, J. (2018). An Adeno-Associated Viral Vector Capable of Penetrating the Mucus

Barrier to Inhaled Gene Therapy. 9:296-304.

13. Elizabeth, C. Jonathan, V. Mavee, W. Laura, R. David, P. Pauline, N. Stephen, B. Gruber, W. Gad, R. Hoda, A. Henry, L. Steven, L. (2008). Accurate Classification of MLH1/MSH2 Missense Variants With Multivariate Analysis of Protein Polymorphisms–Mismatch Repair (MAPP-MMR). Human mutation, 29(6): 852-860.

14. Ermak G (2015). Emerging Medical Technologies. World Scientific. ISBN 978-981-4675-81-9.

15. Evan, C. (2013). Cytoplasmic Inheritance Redux. *Advances in Child Development and Behavior,* Volume 44. 248pp.

16. *Ezkurdia I, Juan D, Rodriguez JM, Frankish A, Diekhans M, Harrow J, Vazquez J, Valencia A, Tress ML (2014). "Multiple evidence strands suggest that there may be as few as 19,000 human protein-coding genes". Human Molecular Genetics. 23 (22): 5866–5878.*

17. Fiszer, A. Wysocka, A. Jarzab, M. Lisowska, K. Krawczyk, Z. (2003). Structure of gene flanking regions and functional analysis of sequences upstream of the rat hsp70.1 stress gene. Biochim Biophys Acta; 1625(1):77-87.

18. Gauthier, S. and Hewes, R. (2006). Transcriptional regulation of neuropeptide and peptide hormone expression by the Drosophila dimmed and cryptocephal genes. Journal of Experimental Biology, 209(10): 1803-1815.

19. George, B. Christian, P. (2013). Transposable elements and microevolutionary changes in natural populations. Molecular Ecology Resources 13(5): 13. 10.1111/1755-0998.12133.

20. Guo, P. Yu, C. Wang, Q. Zhang, R. Meng, X, Feng, Y. (2018). Liposome Lipid-Based Formulation Has the Least Influence on rAAV Transduction Compared to Other Transfection Agents. Mol Ther Methods Clin Dev. 12 (9):367-375.

21. Harris, M.B., Mostecki, J., and Rothman, P.B. (2005). Repression of an interleukin-4-responsive promoter requires cooperative BCL-6 function. J Biol Chem *280*, 13114-13121.

22. Hendriks, I. Lyon, D. Young, C. Jensen, L. Vertegaal, A. Nielsen, M. (2017). Site-specific mapping of the human SUMO proteome reveals co-modification with phosphorylation. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 24 (3): 325–336.

23. Hidekazu, K. Tsuyoshi, O. Hiromichi, N. (2013). Crustacean Peptide Hormones: Structure, Gene Expression and Function. Aqua-BioScience Monographs, 6 (2): 49–90.

24. Hoppe, K.L., and Francone, O.L. (1998). Binding and functional effects of transcription factors Sp1 and Sp3 on the proximal human lecithin:cholesterol acyltransferase promoter. Journal of lipid research *39*, 969-977.

25. Ivo, A. David, L. Dan, S. Niels, H. Skotte, J. Lars, J. Michael, L. (2018). Site-specific characterization of endogenous SUMOylation across species and organs. Nature Communicationsvolume. 25; 9 (1):2456.

26. Jesse, R. and Rohinton, T. (2010). Insulators and promoters: closer than we think. Nat Rev Genet. 11(6): 439–446.

27. Jorde, L. Carey, J. Bamshad, M. (2016). Immunogenetics. *Medical Genetics* (5th edtion., p:180–196). Philadelphia, Elsevier.

28. Kaji, E. (2001). Gene and Stem Cell Therapies. JAMA. 285 (5). doi:10.1001/jama.285.5.545. ISSN 0098-7484.

29. Karl-Klaus, C. (1996). Genetic manipulation of non-segmented negative-strand RNA viruses. Journal of General Virology, 77: 381-389.

30. Lamond, A.I., and Earnshaw, W.C. (1998). Structure and function in the nucleus. Science *280*, 547-553.

31. Ledam, U and John, T. (1981). Cytoplasmic Inheritance and Intragenomic Conflict. *J. theor. Biol.* 89: 83-129.

32. Lee, T.I., and Young, R.A. (2000). Transcription of eukaryotic protein-coding genes. Annual review of genetics *34*, 77-137.

33. Lemire, B. (2005). Mitochondrial genetics. *WormBook*, ed. The *C. elegans* Research Community.

34. Leonard, S. Lacher, D. Lampel, K. (2015). Acquisition of the lac operon by Salmonella enterica. BMC Microbiol. 25;15:173.

35. Leslie, P. (2008). Transposons: The Jumping Genes. Nature Education 1(1):204.

36. Leslie, P. and Kira, Z. (2008). Barbara McClintock and the Discovery of Jumping Genes (Transposons). Nature Education 1(1):169.

37. Lurje, G. Husain, H. Power, D. yang, D. Groshen, S. Pohi, A. Zhang, W. Ning, Y. Manegold, P. El-khoueiry, A. Iqbal, S. Tang, L. Shah, M. Lenz. H. (2010). Genetic variations in angiogenesis pathway genes associated with clinical outcome in localized gastric adenocarcinoma. Ann Oncol. 21(1): 78–86.

38. Maria, L. and Víctor, R. (2012). Viral Genomes – Molecular Structure, Diversity, Gene Expression Mechanisms and Host-Virus Interactions. Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia. 314pp.

39. Mehdi, R. and Shaker, M. (2017). The Role of Angiogenesis in Cancer Treatment. Biomedicines. 5(2): 34.

40. Miriam, V. and Danka, V. (2004). Transposons – the useful genetic tools. Biologia, Bratislava, 59 (3): 309-318.

41. Murray, P. Rosenthal, K. Pfaller, M. (2016). Antigen-Specific Immune Responses. *Medical Microbiology* (8th edtion, p: 59–76.e1). Philadelphia, PA.

42. Myers, L.C., and Kornberg, R. D. (2000). Mediator of transcriptional regulation. Annu Rev Biochem *69*, 729-749.

43. Oksana, M; Anton, G; Pavel, G. (2008). Enhancer-Promoter Communication Is Regulated by Insulator Pairing in a Drosophila Model Bigenic Locus. Mol Cell Biol. 28(17): 5469–5477.

44. Oppenheim, A. Kobiler, O. Stavans, J. Court, D. Adhya, S. (2005). Switches in bacteriophage lambda development. Annu Rev Genet ;39:409-29.

45. Priyanka, R. (2015). Review on Gene polymorphism. Rrjpts, 3 (2): 34-38.

46. Rebecca, M. Alan, D. Joanna, P. (2015). Mitochondrial content is central to nuclear gene expression: Profound implications for human health. Nuffield Department of Obstetrics and Gynaecology, University of Oxford, UK.

47. Richard, G. and Brian, W. (1989). The Helix-Turn-Helix DNA Binding Motif. The Journal of Biological Chemistry, 264(4): 1903-1906.

48. Robbins and Ghivizzani. (1998). Viral vectors for gene therapy. Pharmacol Ther. 80(1):35-47.

49. Rubin, B. (2018). Unmet needs in cystic fibrosis. Expert Opin Biol Ther. (1): 49-52.

50. Runhua, L. Mandy, K. Lizhong, W. (2015). Inactivation of X-linked tumor suppressor genes in human cancer. Future Oncol. 8(4): 463–481.

51. Runte, M. Varon, R. Horn, D. Horsthemke, B. Buiting, K. (2005). Exclusion of the C/D box snoRNA gene cluster HBII-52 from a major role in Prader-Willi syndrome. Human genetic. 116 (3): 228-230.

52. Saha, A., Wittmeyer, J., and Cairns, B.R. (2006). Chromatin remodelling: the industrial revolution of DNA around histones. Nature reviews *7*, 437-447.

53. Shabalina, S and Spiridonov, N. (2004). The mammalian transcriptome and the function of non-coding DNA sequences. Genome Biol *5*, 105.

54. Sharm, S and Gollnick, P. (2014). Modulating TRAP-mediated transcription termination by AT during transcription of the leader region of the Bacillus subtilis trp operon. Nucleic Acids Res.42 (9):5543-55.

55. Sheridan, C. (2011). Gene therapy finds its niche. *Nature Biotechnology*. 29 (2): 121–8.

56. Smale, S.T., and Kadonaga, J.T. (2003). The RNA polymerase II core promoter. Annu Rev Biochem *72*, 449-479.

57. Sripichai, O. Fucharoen, S. (2007). Genetic polymorphisms and

implications for human diseases. Journal of the Medical Association of Thailand. 90 (2):394-8.

58. Suzuki, Y., Tsunoda, T., Sese, J., Taira, H., Mizushima-Sugano, J., Hata, H., Ota, T., Isogai, T., Tanaka, T., Nakamura, Y., *et al.* (2001). Identification and characterization of the potential promoter regions of 1031 kinds of human genes. Genome research *11*, 677-684.

59. Ting, W. Gilkes, D. Naoharu, T. Lisha, X. Weibo, L. Corey, B. Pallavi, C. Jordan, G. Semenza, G. (2014). Hypoxia-inducible factors and RAB22A mediate formation of microvesicles that stimulate breast cancer invasion and metastasis. Proc natl Acad Sci. 111(31): E3234–E3242.

60. Tripathi, G. Shasmal, J. Sharma, B, Uttar, T. (2010). Transposable Elements.Cellular and Biochemical Science, Edition: First, Chapter: I.K. International House Pvt Ltd New Delhi, pp.455-475.

61. Ulianov, S; Markova, E; Gavrilov, A; Razin, S. (1012). Insulators in vertebrates: regulatory mechanisms and chromatin structure. Biopolymers and Cell. 2012. Vol. 28. N 4. P. 252–260.

62. Venter, J.C., Adams, M.D., Myers, E.W., Li, P.W., Mural, R.J., Sutton, G.G., Smith, H.O., Yandell, M., Evans, C.A., Holt, R.A., *et al.* (2001). The sequence of the human genome. Science *291*, 1304-1351.

63. Vladimir, K. Stefan, J. Martin, Z. (2004). The role of Bcl-2 family members in tumorigenesis. Molecular Cell Research. 1644 (2-3): 229-249.

64. Wangy, Y. Liu, J. Huang, B. Xu, Y. Li, J. Huang, L. Lin, J. (2015). Mechanism of alternative splicing and its regulation. *Biomedical Reports*, *3*(2), 152–158.

65. William, C. (2010). Biothesis and secretion of peptide hormones. Endocrinology.

66. Wong, J.M., and Bateman, E. (1994). TBP-DNA interactions in the minor groove discriminate between A:T and T:A base pairs. Nucleic Acids Res *22*, 1890-1896.

67. Yip, K. and Reed, J. (2008). Bcl-2 family proteins and cancer. *Oncogene.* 27: 6398–6406.

68. Zhao, H., and Dean, A. (2004). An insulator blocks spreading of histone acetylation and interferes with RNA polymerase II transfer between an enhancer and gene. Nucleic Acids Res *32*, 4903-4919.

نبذة عن المؤلف

الاسم: سعد بن حسين سعد القحطاني

- أستاذ الوراثة الجزيئية، كلية العلوم، جامعة الملك سعود – الرياض.
- حصل على درجة البكالوريوس من كلية العلوم، جامعة الملك سعود – الرياض، عام ١٤١٢هـ.
- حصل على درجة الماجستير في تخصص بيولوجيا الخلية والوراثة من كلية العلوم، جامعة الملك سعود – الرياض، عام ١٤٢١هـ.
- حصل على درجة الدكتوراه في تخصص الوراثة الخلوية من كلية العلوم، جامعة الملك سعود – الرياض، عام ١٤٢٨هـ.
- حضر العديد من الدورات التدريبية التخصصية داخل المملكة وخارجها.
- شارك في العديد من المؤتمرات المحلية والدولية.
- أدار ونفذ العديد من المشاريع البحثية الممولة من وزارة التعليم ومدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية وعمادة البحث العلمي كباحث رئيس.
- عمل مع العديد من الفرق البحثية داخل المملكة وخارجها.
- عمل مستشاراً غير متفرغ في وزارة التعليم.
- شغل بعض المناصب الإدارية في جامعة الملك سعود.
- عمل عضواً في العديد من اللجان على مستوى الجامعة.
- نشر حتى تاريخ صدور هذا الكتاب أكثر من ١٠٠ بحث في مجلات علمية متخصصة (ISI).
- أشرف على العديد من طلاب الدراسات العليا وناقش العديد من الرسائل العلمية.
- حكّم العديد من الخطط الدراسية والبرامج الأكاديمية في العديد من الجامعات.
- نشر بعض المؤلفات المحكمة في مجال الخلية والوراثة.