الجولة الرابعة:

مع إنزيمات القطع والتحديد وتكوين الرفليبات:

بدأت فى عامى ١٩٧٨م، ١٩٧٩م دراسات قام بها «دافيد بوتشتاين» [من معهد ماساتشوستس التكنولوجى] فى ذلك الوقت ثم انتقل بعدها لجامعة ستانفورد، وكان معه مجموعة من الباحثين، واستنتج من هذه الدراسات أنه نتيجة لاستعمال إنزيم تحديد على الدنا الورائى (والتى تم اكتشافها فى عام ١٩٧٠م) لبضعة أشخاص ينتج زمراً من الشظايا (قطع متباينة وغير متساوية الأطوال) تختلف أحياناً اختلافاً بيناً من فرد إلى آخر.. على عكس المُتوقع وهو أن تُقطع هذه الإنزيمات عند مواقع محددة فتنتج أطوال متساوية.. ولكن النتيجة توضح أن هذه الإنزيمات تعرفت على الأماكن التى تقطع بها [وهى تسمى مواقع البتر التى تتعرف عليها إنزيمات التحديد {Recognition Sites} ذلك فى أماكن متفرقة بالدنا وهى تختلف من شخص لآخر.. فتقطعت عندها؛ لذا نتجت أطوال غير متساوية.. وفى ضوء بحث العلماء عن تفسيرات تفسر السبب فى اختلاف «مواقع أو أماكن» تعرف الإنزيمات القاطعة؛ نجدهم عللوها لعدة أسباب:

١ـ إما لأسباب طبيعية تحدث للكروموسوم أثناء عملية الانقسام وهى خاصية العبور بينه وبين الكروموسوم الأخوى المقابل له فيتبادلا الأجزاء بينهما.

٢ـ أن موضع «مواقع التحديد» [موضع التتابعات التى يعرفها الإنزيم] تتباين من شخص إلى آخر بسبب حدوث طفرات حدثت فى تتابعات النيوكليوتيدات بشريط الدنا لهؤلاء الأفراد [وعلى وجه الدقة فى تتابعات القواعد].

٣ـ إما السبب طبيعى أو بتدخل ملوثات ومؤثرات عديدة من البيئة.

ولقد أُطلق على هذه الزُمر من الشظايا مصطلح [الرفليبات]، وبما أن هذه الرفليبات تتباين من شخص إلى آخر. (كما سبق وذكرنا بأعلى) بسبب طفرات حدثت فى تتابعات القواعد، فهذا يعنى أن كل رفليب يعادل طفرة، بل هو طفرة.

ولقد أتاحت هذه الاكتشافات (التى قام بها دافيد بوتشتاين وغيره) الفرصة إلى إيجاد مجال جديد وفريد للتباين بين الأفراد يمكن الاستفادة منه.. «وهو ما سنعرفه بعد قليل».

فالرفليبات إذن {RFLPS} هى: كلمة مختصرة من مصطلح أطلقه الباحثون على زمر من شظايا الدنا والمصطلح الأساسى هو: {Restriction Fragment length polymorphisms} ومعناها هو: «تباينات طول شظايا التحديد» أو الرفليبات. أو (التباين بين الأفراد فى حجم شظايا الدنا التى تقطعها إنزيمات تحديد معينة، ولقد أمكن تحديد مواقع نحو ٣ آلاف رفليب مبعثرة على طول كروموزومات الجينوم البشرى، أمكن رسم خرائط توضح مواقعها لتصبح بمثابة مجموعة ضخمة من الواسمات تشكل شبكة موزعة على الكروموسومات البشرية يمكن أن ننسب إليها الجينات وأن نخرطنها (وسنلقى عليها مزيداً من الضوء بعد قليل).

والسؤال الذى يتبادر للذهن هو:

١ـ هل تختلف الرفليبات فى نفس الشخص كما قد تختلف بين الأفراد؟ وكيف تم الاستفادة منها؟ وهل ظهر ما هو أحدث من الرفليبات؟ وكيف تم الاستفادة من الأحدث؟!! وسنجيب عن هذه الأسئلة. بالترتيب..

أولاً: الدور الذى تلعبه إنزيمات التحديد والاختلاف فى نفس الفرد:

سبق وأن عرفنا من الجولة الخاصة بإنزيمات التحديد أنه يوجد على جديلتى الدنا مواقع تعرف "recognition sequences"، وعندما يعثر إنزيم التحديد المعين على موقعه الخاص (مواقع تعرفه الخاصة به). والمتفرد بشريط الدنا الوراثى (المأخوذ من شخص ما)، فإن هذا الإنزيم يبتر الدنا فى الموضع بالضبط، وكأنه (أى الإنزيم) مقص صغير منمم.. وتشظى إنزيمات التحديد جينوم أى كائن حى إلى عدد كبير من القطع قد يصل فى الإنسان إلى ما يزن قطعة وتتراوح أطوال هذه الشظايا (أو المُزق) ما بين عشرات الآلاف وبضع آلاف من أزواج القواعد.

ومن خلال الدراسات العديدة والمتواصلة استنتج الباحثون أنه عند استخدام إنزيم تحديد معين على مقطعى دنا "DNA Segments" من نفس الموقع فى كروموزومين شقيقين لفرد، يحمل كل منهما أليلاً مختلفًا لجين.

والآليل Allele: واحدة من صور بديلة متعددة للجين ويشغل موقعًا محدداً على الكروموسوم يرث الفرد آليل واحداً لكل موقع من كل من الأبوين وبذا يحمل

كل فرد آليلين لكل جين} إن الشظايا الناتجة عن البتر قد تختلف طولاً (قطع متباينة وغير متساوية الأطوال) ذلك أن أحد الأليلين قد يحمل حروف تتابع التعرف، فيُبتر عندها، بينما لا يحمله الأليل الآخر فينجو من البتر، ومن بين التفسيرات لسبب هذا الاختلاف أنه: ـ نتيجة لحدوث طفرة فى موقع القطع تسببت فى عدم تعرف إنزيم التحديد على الموضع فلم يقطع، وأضف إلى ذلك الاختلاف فى نفس الفرد، اختلاف آخر ولكنه بين الأفراد؛ فقد يختلف فردان فى مكان الموقع الذى يقوم فيه إنزيم تحديد معين بقطع الدنا، ونتيجة للذلك سيتباين طول شظايا الدنا الناتجة من الشخصين باستخدام إنزيم تحديد واحد على نفس المنطقة الكروموزومية، ويستفيد الباحثون من كل ما سبق ذكره من اختلافات كثيراً ومنها أن ثمة اختلافات يمكن كشفها بين الأفراد عند سلسلة الدنا تُظهرها الرفليبات، لكنها لا تظهر فى شكله الخارجى (الذى تستخدمه خرائط الارتباط). ومعنى ذلك أن المظهر الواحد (الذى قد يكون مرضًا وراثيًا) قد ينجم عن أليلات مختلفة دناوية كلٌّ منها ينشأ عن طفرة mutation فى مكان مختلف من نفس الجين تفسد عمله. أيضًا من الممكن أن تستخدم الفروق فى حجم الشظية نتيجة استخدام إنزيم تحديد يبتر دنا شخصين أو عدة أشخاص} فى تمييز فرد عن آخر، وكروموسوم عن آخر، وهذه الفروق (الرفليبات) تمتاز بأنها تورث، مثلما الجينات بطريقة مندلية عادية، ونظراً لما سبق من خصائص فإن الباحثين يمكن أن يستعملوا الرفليبات ويستفيدوا منها كواسمات فى دنا الفرد، بل هناك من يُطلقون عليها نفس المصطلح أى أنها {واسمات دنا عديدة الصور ـ أو بوليمورفية، «إذا استخدمنا مصطلح علم الوراثة»، {والبوليمورفية «تعدد المظهر» Polymorphism هى: اختلاف فى تتابع دناوى بين الأفراد والتباينات الوراثية التى توجد بالعشيرة بنسبة تزيد على ١٪ تعتبر بوليمورفيات مفيدة لتحليل الارتباط الوراثى}.

ملحوظة هامة:

«تقدمت البحوث فى هذا المجال كثيراً منذ سبعينات القرن العشرين وحتى بدايات القرن الواحد والعشرين، وأصبحنا نجد أنواعًا كثيرة من واسمات لا تتطلب إنزيمات التحديد وتقوم أيضاً بمهمة تحديد هوية مناطق خاصة فى الدنا».

وبما أن كل رفليب سبق وذكرنا أنه طفرة فإنه يمكن تتبعها بتحليل الدنا فى الأجيال المتتابعة بل ومن الممكن أن تستخدم فكرة العبور وخرائط الارتباط فى تحديد مواقع الرفليبات: كلما تباعدت مواقعها على الكروموسوم ازدادت نسبة العبور بينها. بل وقد يمزج بين مواقع الچينات فى هذا الشأن؛ فنقدر المسافة بين كل رفليب وچين. ولقد أفاد الرفليبات كثيراً فى تشخيص العديد من الأمراض الوراثية، بل إن رفليباً قريبًا جداً من چين مرض ما قد يصلح كدليل قوى إلى تشخيص مرض وراثى «وسنذكر بعد قليل أمثلة لاستخدام الرفليبات فى الأمراض الوراثية».

مواقع تعرف إنزيمات التحديد

"Restriction Enzymes Cleavage Sites":

قد توجد مواقع التعرف فى جوار الچينات، وليس بالضرورة فى تتابعها المشفر، فقد نجدها فى تتابعات التنظيم وفى الإنترونات introns كان يُعتقد أنها مناطق لغو لا تُشفر لشىء نعرفه (لكن هناك بوادر تفيد بأهميتها الآن)، وفى سقط الدنا Junk DNA.

أمثلة للاستخدامات المتعددة للرفليبات:

ومن بين هذه الأمثلة نذكر سبعة استخدامات وهى:

أولاً: اعتبار مجموعة الشظايا التى يخلفها إنزيم التحديد من الخصائص المميزة لهذا الچينوم.

ثانيـــاً: عندما تصبح الرفليبات شبكة من الواسمات والبحث عن چين مرض هنتنجتون.

ثالثاً: استخدام الرفليبات فى الكشف عن أمراض أخرى.

رابعاً: فوائد أخرى للخرطنة الوراثية مثل القدرة على تطوير أدوية خاصة بكل فرد.

خامساً: الاستفادة من أحد الإنزيمات فى الكشف عن چين مرض وراثى بالحيوان.

سادساً: فى البحث عن أصول الإنسان.

سابعاً: فى إنشاء مكتبة للچينوم البشرى.

وفيما يلى نلقى الضوء على كل مثال:

أولاً: إن مجموعة الشظايا التى يخلفها أى إنزيم تحديد بعد عمله على چينوم أى كائن، تعتبر من الخصائص المميزة لهذا الچينوم، ومن الممكن بسهولة إذا كان حجم الچينوم صغيراً أن تستخدم فى رسم خريطة فيزيقية له، أما إذا كان حجم الچينوم كبيراً، فمن الممكن أن يُستعان بالكمبيوتر لرسم مثل هذه الخريطة، وفى أحد الأوقات تم بالفعل تطوير تقنية تؤتمت تحليل بوليمورفية الدنا باستخدام محطة عمل روبوتية يمكنها أن تتعامل مع أطباق بكلٍّ ٩٦ نقرة صغيرة ـ وبذا ففى المقدور أن تحلل ٩٦ واسماً وراثيًا فى نفس الوقت أوتوماتيكياً. مكنت هذه الإجراءات من: (١) تكثير مقطع الدنا المطلوب اختباره للبوليمورفية عن طريق تفاعل البوليميريز المتسلسل. (٢) تحليل البوليمورفات لتحديد الصور الموجودة. (٣) قراءة النتائج أوتوماتيكيًا وتخزينها مباشرة فى الكمبيوتر.

ثانيًا: عندما تصبح الرفليبات شبكة من الواسمات والدالات الوراثية أو: [خرطنة الچينات باستخدام الواسمات الرفليبات والبحث عن چين مرض هنتنجتون]:

١ـ كانت سلسلة القواعد مهمة عسيرة؛ فقد تطلب الأمر فى عام ١٩٧١م سنتين لتحديد تتابع طوله ٢٠ زقًّا لا أكثر لذا كانت حيرة الباحثين فإذا كان الأمر قد تطلب سنتين لتحديد تتابع الـ ٢٠ زقًّا فكيف يتسنى لهم سلسلة ٣٠٠٠ ـ ٣٥٠٠ مليون زق؟

٢ـ ومن خلال الأبحاث الناجحة التى استهدفت الرفليبات؛ منذ نهاية السبعينات من القرن الماضى، رأى عدد من الوراثيين ومن بينهم البيولوچى «دافيد بوتشتاين» وعدد آخر من زملائه أهمية حُسن الاستفادة من التباينات الموجودة فى أى مكان مجاور للچين، وأنه يمكن استخدامها كدالات قريبة من الچينات للكشف عن

الجينات المطلوبة ومنها تلك الجينات المتسببة فى حدوث الأمراض، ذلك لأن الرفليات مُبعثرة عبر كل الكروموزومات، وبالتالى فيمكن أن تحل الرفليات محل الواسمات ، [أى محل جينات الصفات المظهرية التى بنى عليها مورجان مثلاً خرائط العبور فى حشرة الدروسوفيلا والتى تتألف من تتابع معين من القواعد]، وهكذا تُستخدم الرفليات بنجاح كشبكة من الواسمات الوراثية، والتى يمكن أن تكون مرجعاً لوضع كل جين على الخريطة الوراثية. وبالفعل تم استخدامها أثناء البحث عن جين مرض كوريا هنتنجتون..

٣ـ ولقد كانت فكرة الخرطنة باستخدام الواسمات الرفليية جديدة تماماً فى عام ١٩٧٩م وذلك أثناء البحث عن جين (مرض كوريا هنتنجتون أو رقص هنتنجتون Huntington's chorea Disease).

٤ـ وعن هذا المرض تذكر:

أنه يُنسب اسم هذا المرض للطبيب الأمريكى الذى اكتشفه وهو [جورج سمنر هنتنجتون] وهو من الأمراض الوراثية التى تم دراستها وظهورها فى الغرب ودرجة الإصابة به بمعدل «١» من كل مائة ألف شخص).

ويحدث هذا المرض نتيجة عيب فى جينة موروثة واحدة سائدة وليست متنحية مثل مرض تاى ساكس.

بداية ظهور المرض وأعراضه:

تبدأ فى الظهور من سن ٣٠ ـ ٥٠ سنة وغالباً ما تستمر هذه الأعراض مع المريض وتزداد تدريجياً من ١٥ ـ ٢٥ سنة.. وهو لا ينتقل إلا فى نحو الأربعين أو بعد ذلك بفترة.. ومن أعراضه ظهور الاكتئاب والمتاعب النفسية ثم يفقد بعدها المريض قدرته على السيطرة على عضلاته وتظهر عليه حركات غير إرادية وغير متناسقة فى الأطراف حتى أنه يصاب بالعجز وعدم النطق واضطرابات عاطفية، وبتطور المرض تحدث اضطرابات عاطفية واختلال عقلى مطرد وتشنجات تجعل المريض يُصاب بالاكتئاب الانتحارى والهذيان والجنون والصراخ المتواصل.

وفى عام ١٩٧٩م لم يكن ثمة من حدد بالفعل ـ وقتها ـ موقع جين باستخدام

واسمات الدنا، وإن كان ثمة من عثر على چينات بفضل الواسمات التقليدية ـ وهى [أنتيچينات كرات الدم الحمراء]... تُرى ماذا حدث؟

لإتمام البحث عن چين مرض كوريا هنتنجتون؟!!

إن الذى حدث نحاول إلقاء الضوء عليه فى السطور التالية:

(أ) فى عام ١٩٧٩م بدأ مجموعة من الباحثين استخدام الدنا المطعم... ولم يكن معروفاً وقتها إلا واسم رفليبى واحد... ونذكر من مجموعة الباحثين: «چيمس جوزيلا J.Gusella» من [كلية طب بهارفارد].

وكان لديه معمل فى بوسطن طور فيه رفليبات مشعة ـ وكانت معه «نانسى ويكسلر N.Wexler» [أخصائية العلاج النفسى والعصبى]. من جامعة كولومبيا ـ (والتى كان لديها اهتمام خاص لأن والدتها ماتت متأثرة بمرض كوريا هنتنجتون)، ومعهم عدد خاص من المعاونين... وعُهد إليها بتنفيذ برنامج بحثى عن المرض والسفر إلى فنزويلا حيث ابتليت بهذا المرض إحدى العائلات هناك.

(ب) ولقد عمل هذا الفريق البحثى فى وقت لم يكن الادعاء فيه بوجود آلاف الواسمات بالجينوم البشرى يقع بعض منها قرب چين يهم المختصين إلا أمراً نظرياً مبنيًا على ما تم التوصل إليه من نتائج الأبحاث على أنواع من كائنات أخرى.

(جـ) وبالفعل ذهب الفريق العلمى للبحث عن المرض والذى كان شائعًا فى ٣ قرى على شواطئ بحيرة ماراكايبو بفنزويلا، واستمر العمل عدة سنوات من العمل الشاق المتواصل، وتم من خلال الدراسة المتأنية معرفة وتعقب أصل المرض (أى تتبع المسئول عن توارث هذا المرض عبر عدة أجيال) حتى وصلوا للعقد الأول من القرن الماضى وكانت امرأة تسمى ماريا كونسبسيون M. Concepcion، وهذه السيدة وصل عدد أحفادها إلى ١١ ألف منهم ٩ آلاف على قيد الحياة.

(د) وأتاح ذلك الفرصة لأخذ عينات من دمائهم لفحصها باستخدام المجس الوراثى المناسب الذى تم التوصل إليه بمعمل چيمس چوزيلا الذى كان قد طور طريقة الرفليبات بالواسمات المشعة.

وكان من نتائج هذه المجموعة البحثية ما تم نشره:

أولاً فى سنة ١٩٨٠م، عندما نشرت الأبحاث الأساسية عن الخرطنة الرفليبية للچينات، وكان عدد الچينات البشرية التى وضعت على الخريطة هو ٤٥٠؛ حيث كانت الخرطنة أساساً بالطرق السيتولوچية. وأدت الأبحاث المكثفة خلال هذه الفترة إلى الاعتقاد بإمكانية استخدام الرفليبات فى كشف چينات الأمراض، فقد يوجد الواسم الرفليبى فى صورة على كروموسوم طبيعى وفى صورة أخرى على الكروموزوم الحامل لچين المرض. فإذا كانت الصورة الأخيرة وثيقة الارتباط بالچين، فإن العثور على الرفليب يعطى الإشارة بوجود الچين. وتكون الخطوة التالية هى حساب بُعده التقريبى عن الرفليب الواسم، الأمر الذى يمهد الطريق إلى تعقب الچين، والچينومات البشرية متعددة الصور إلى حد بعيد.. ؛ ثمة واحدة من بين كل خمس قواعد تختلف بين أى فردين، (ويبلغ طول الچينوم البشرى حوالى ٣٣٠٠ سنتيمورجان).

(هـ) ووفقاً لذلك فإذا ارتبط چين هنتنجتون فى دنا المرضى برفليب مُشع معين كان ذلك معناه أن الچين قريب من هذا الرفليب، ولقد نجح الفريق البحثى من خلال توظيفه الخريطة الرفليبية فى الكشف عن وجود الچين الخاص بمرض هنتنجتون، وأُعلن عن هذا الفتح فى نوفمبر من عام ١٩٨٣م. حيث أثبتوا أن بالمرضى من أفراد العائلات ـ (التى فحصوها) ـ نموذجاً مميزاً من الرفليبات كما اتضح أن لدى البعض من الأقارب (لهذه العائلة) ممن لم يُصبهم المرض بعد نفس نموذج الرفليبات المميز، (ولقد أصابهم المرض فى نهاية الأمر) وحدد الباحثون موقع الچين المسبب للمرض بأنه يقع على الطرف الأعلى للذراع القصير للكروموسوم الرابع). وأصبح من الممكن باستخدام المسبر الملائم كشف وجوده فى (دنا) أى شخص.

(و) لقد عزز ذلك التقرير ـ بما يحمله وقتها من إثارة بالغة وفريدة ـ من الجهود الجارية للخرطنة بالرفليبات؛ بعدما كانت الفكرة المسيطرة على أذهان الباحثين خلال هذه المرحلة الزمنية. (وفى ضوء الإمكانيات المتاحة وقتها) ـ أن خرطنة الچينوم البشرى تتطلب تعقب الكثير من الواسمات والچينات وهى تتحرك عبر الأجيال ـ

كمثل المسبر «ج٨» وچين هنتنجتون، وحفَّز هذا التقرير الباحثين على القيام بدراسات جديدة لدراسة الأمراض والعلل والتى منها ما يفترض أن يكون وراثيًا، ومنها دراسات استغلت العائلات من هذه العشيرة فى رسم خريطة واسمات [للكروموسوم ٢١]، وكانت الخريطة مفيدة فى تحديد موقع چين مرض الزهايمر، وموقع چين مرض التصلب الجانبى الضامر (مرض لو جيريج) وفى رسم خريطة لكل من الكروموزومين [١٧، ٢٢] حيث تقع چينات تسبب صورتين من الورم الليفى العصبى، وفى رسم خريطة للكروموسوم [١١] استُخدمت فى البحث عن موقع محتمل لمرض الهوس الاكتئابى. ولقد اختُبرت مائة عائلة أو أكثر على طول العالم وعرضه ـ فى أوروبا وأمريكا الشمالية والجنوبية، وحتى فى بابُوا، غينيا الجديدة، وكان چين هنتنجتون فيها جميعاً على نفس الموقع على الكروموسوم الرابع، ونذكر من بين تلك العائلات قصة الأمريكية «چوليس كوريفار» والتى مات جميع أفراد أسرتها بمرض هنتنجتون والذى من بين ما يسببه هو إصابة خلايا المخ بالضمور، ورغم الاستفادة من تلك الوسيلة المعملية للتنبؤ بحدوث هذا المرض.. وكانت نتيجة الاختبار سلبية فإن (كوريفار) خرجت من هذه التجربة محطمة تماماً.

ولم يُكشف عن تركيب الطفرة المسببة لمرض هنتنجتون إلا فى عام ١٩٩٣م، وكان عبارة عن امتداد مميز لثلاثية من القواعد هى: (س أ ج) ـ تتضاعف داخل الچين مع تقدم عمر المريض فتفسد عمل البروتين الناتج عنه، وهكذا تظهر الأعراض القاتلة على المريض.

(ز) أيضاً يُذكر أن البروتين الذى يكود له الچين المسبب للمرض، يطلق عليه اسم بروتين «هنتجتين» والعلماء يعرفون الآن أن هذا البروتين فى حالته الغير سوية هو المسئول عن تدهور الأعصاب ويعرفون كيف يفعل وكيف يُسبب لعصب واحد بمفرده أن يموت.. لكن لا زال العلماء يجهلون وظيفة هذا البروتين وهو فى حالته السوية.

(ح) والجدير بالذكر.. أن الباحثين قد تمكنوا؛ على منتصف الثمانينات، وبعد

توظيف مناهج الرفليب، من الوصول بعدد الچينات التى تم خرطنتها باستخدام الواسمات الرفليبية إلى ١٥٠٠ چين (أى تضاعف العدد ثلاث مرات).

ثالثاً: استخدام الرفليبيات فى الكشف عن أمراض أخرى:

لقد أثمرت نفس الطرق عند تطبيقها على مرض التليف الكيسى ومرض الكلية متعدد الأكياس، وحثل دوتشين العضلى، وغيرها، أمكن بهذه الطريقة، فى حالات كثيرة تحديد الكروموسوم الذى يقع عليه الچين. وبالتالى أعطى هذا الموضوع الضوء الأخير للوراثيين لإمكانية الاستفادة من الرفليبيات فى خرطنة الچينوم البشرى (إلا أنه تطورت التقنيات وأصبح هناك أدوات أسرع وأعقد تم استخدامها فى مشروع الچينوم) وترتب على ذلك المزيد من الجهد أملاً فى إمكانية عزل الچين نفسه المسبب للمرض وتحديد تتابعاته ومن ثم تحديد هوية ما ينتجه، والتوصل لطريقة عمل الچين وليلتقى مع تقنية مثل العلاج الچينى بما يتيح وسائل علاجية أفضل.

رابعاً: فوائد أخرى للخرطنة الوراثية:

ومن بين فوائد الخرطنة الوراثية نذكر أيضاً القدرة على تطوير دواء مُفصَّل خصيصاً للفرد: «عقاقير بلا آثار جانبية»: إذ أنه كثيراً ما ترجع الآثار الجانبية للعقاقير إلى اختلافات حقيقية فى استجابة الفرد إلى المادة الكيماوية، ففى التباين بين الأفراد من الاتساع ما يسمح بوجود بيوكيميا مختلفة. وعلى سبيل المثال هناك چين متنح فى العشائر الأوروبية يتحكم فى الحساسية لعلاج ضغط الدم المرتفع ونسبة من تظهر بهم هذه الصفة فى تلك العشائر هى (٥٪) وهؤلاء لا يمكنهم استخدام علاج ضغط الدم إلا بكميات فى حدود (١٪) من الجرعة العادية. والتصنيف الوراثى لمثل هذه الفروق سيثمر أدوية جديدة تلائم مرضى معينين.

ومما ساعد على تحقيق الأمل فى الوصول لخريطة وراثية للچينوم البشرى ما تم من خلال تطوير تقنية صبغ كيماوية تُفرِّق بوضوح كامل بين كل كروموسوم والآخر إذ نجد أن لكل كروموسوم نمطًا من الشرائط اللاصقة يميزه عن غيره مما أعطى

الباحثين الأمل وقتها فى إتاحة الفرصة بمزيد من الأبحاث لرد چينات بذاتها إلى كروموسوم بذاته بطرق خاصة فى زراعة الخلايا.

خامساً: الاستفادة من أحد إنزيمات التحديد فى الكشف عن چين مرض وراثى بالحيوان:

ظروف المرض:

هو مرض بومب Pompe disease، وهو مرض وراثى يسبب ضموراً خطيراً فى العضلات يودى بحياة العجول بعد الفطام بنحو ستة أشهر، ووراء هذا المرض چين متنح يتسبب فى الأفراد الأصيلة له فى عجز الجسم عن إنتاج إنزيم ألفا جلوكوسيديز alpha glucosidase الذى يحرر الجلوكوز من الجليكوچين ليستخدمه الجسم فى إنتاج الطاقة. وعندما يرث الحيوان تركيبًا وراثيًا أصيلاً بهذا الچين المتنحى يموت مبكراً، بينما تعيش الأفراد التى تحمل الچين المعيب مع الچين الطبيعى (خليط heterozygotes) وتبلغ نسبتها فى عشيرة الماشية نحو ١٥٪. وبالطبع فذلك يؤدى لإصابة مُربى الماشية بالخسارة ومن المهم بالنسبة له ألا يحدث تزاوج بين فردين خليطين يحمل كل منهما الچين المعيب لازدياد المخاوف من احتمال أن ربع النسل الناتج سيقتله المرض.

وتتجه الأنظار لما يقدمه العلم هنا من حل لهذه المشكلة..

العثور على إنزيم تحديد وبداية حل المشكلة:

حيث عثر الباحثون على إنزيم تحديد مناسب هو إنزيم (MSPI) له داخل الچين الطبيعى موقع تعرف ـ أما الچين المعيب فيحمل طفرة نقطية واحدة (تحيل حمض البرولين فى البروتين الذى يشفِّر له الچين الطبيعى، إلى حمض جلوثامين) فى موقع التعرف هنا، فلا يميزه الإنزيم.

لذا تختلف نتائج التشظية بالإنزيم بين الأفراد الأصيلة للچين الطبيعى و بين حاملى چين المرض. أمكن إنتاج المسبر المشع لكشف الچين المرضى، وغدا من الممكن فى ظرف ساعات ـ عن طريق دنا مأخوذ من خلايا الدم كشف وجود الچين من عدمه.

سادساً: في البحث عن أصول الإنسان باستخدام الرفليبيات وإنزيمات التحديد؟!!

س: كيف تدخَّل علماء الوراثة في مناقشة أصل الإنسان؟ وما هو دور إنزيمات التحديد؟!

(جـ) تدخلوا من خلال دراسة التنوع الوراثي للجماعات البشرية الحالية، وبالنسبة إلى هذه الجماعات وُجد أن الجينة ذاتها أو حتى الجزء ذاته من الدنا يظهر بعدة أشكال، وأن الجينات المغايرة (الألائل alleles) تُظهر كذلك تنوعاً (في حالة الجينات المكودة، تكود الألائل بروتينات وظيفية تكون مختلفة بعضها عن بعض، ومع ذلك تؤمن الوظيفة نفسها). وهذا التنوع في الواقع الاعتقاد الشائع له الآن أنه نتيجة طفرات في الدنا حدثت في الماضي، وتراكمت مع مرور الزمن، وأصبحت متكررة الحدوث نوعاً ما في الجماعات البشرية. ومن المفيد هنا أن يقوم هؤلاء الباحثون المتخصصون بتحديد كمية الطفرات المتراكمة في تسلسلات الدنا لأفراد مختلفين موجودين حالياً، مما يسمح بعرض تاريخ تعاقب هذه التسلسلات من جهة ومن جهة أخرى سمح بتقدير مدى اختلاف تكرار الألائل بين الجماعات المتنوعة الحالية، مما يمكِّن من إعادة صياغة التاريخ الوراثي لهذه الجماعات.

ولقد درس علماء الوراثة هذا التنوع على مستوى البشرية المنتشرة على كوكب الأرض. ومنذ سنة ١٩٨٠م تحققت معرفة الاختلافات الوراثية باستخدام «إنزيمات التحديد restriction enzymes» التي تقطع عادة جزيء الدنا في مواقع خاصة يطلق عليها «مواقع التحديد» كما أن وجود مثل هذه المواقع أو غيابها على امتداد جزيء الدنا يختلف من شخص لآخر وبالتالي تقوم إنزيمات التحديد بإنتاج شوب من الدنا بأطوال مختلفة بحسب الشخص. وفي عام ١٩٩٠م أصبحت التقانات المستخدمة في التحاليل الوراثية أكثر إتقاناً، مما سمح للباحثين بتنسيق النيوكليوتيدات وترتيبها إلى وحيَّدات تشكل جزيء الدنا؛ أي: أصبح بالإمكان معرفة التنوع الوراثي بشكل أدق (حتى بين نيوكليوتيدة ومجاورة).

سابعاً: إنشاء مكتبة للجينوم البشرى:

حيث يستطيع العلماء بواسطة استخدام إنزيمات التحديد أن يشظوا الجينوم البشرى بأكمله إلى مئات الآلاف من الشظايا، يمكن أن تفصل تبعاً للحجم باستخدام تقنية التفريد الكهربى Electro phoresis، وأن يتم إيلاج كل شظية فى بكتيريا أو خلية خميرة مناسبة ليُخزن بها، لينشئوا مكتبة كاملة للجينوم يمكن سلسلتها قطعة قطعة.

الجولة الخامسة:

ما بين الرفليبيات والفنترات والتوصل للبصمة الوراثية:

أولاً: تمهيد:

كان التوصل إلى تكوين الرفليبيات من الدنا الوراثى من أكثر النتائج نفعاً وإفادة بعدما تمكن الباحثون من اكتشاف إنزيمات القطع والتحديد واستخدموها فى قطع المادة الوراثية ، وباستمرار سعى الباحثين وجهودهم المبذولة فى فترة الثمانينات توصلوا لنوع منها أسموه (مواقع العدد المتباين من المكررات الترادفية وهى ترجمة عربية للمصطلح بالإنجليزى وهو: ـ "Variable number of repeats" وتُقرأ مختصرة {$VNTR_s$} ونقرؤها باللغة العربية الفنترات.

تُرى ما هى حكاية الفنترات؟!! معاً ننتقل للنقطة الثانية لنعرف ..

ثانياً: علماء الطب الشرعى يفضلون الفنترات:

والإجابة نأخذها من نتائج أبحاث العلماء فى هذه الفترة حيث توصلت إلى أنه كثيراً ما يحدث أن يقع جينوم الكائن الحى على تتابع بلا معنى (يعتقدون أنه بلا معنى لكن ظهر أن له أهمية)، تتابع مؤلف من عدد يتراوح عادة ما بين زوجين و ٦٠ زوجًا من القواعد فيكرره مرات ومرات متجاورة يختلف عددها كثيراً بين الأفراد ويتراوح ما بين ٣ ـ ٦٠ مرة، وإذا ما بتر دنا هذه الكروموسومات بإنزيم تحديد معين فإنه يقطع على جانبى مواقع المكررات وتتكون الشظايا، وهذه الشظايا الناتجة تختلف فى الحجم كثيراً بين الأفراد بسبب العدد المتغاير من المكررات التى يحملها كلٌّ.

وقد تحمل بعض الكروموزومات ٣٠ نسخة مترادفة، ويحمل غيرها ٣١ نسخة،

وهكذا. ولقد اتجه الباحثون وبخاصة علماء الطب الشرعى للعمل على الفنترات واستخدامها باعتبارها رفليات عالية البوليمورفية، وذلك كبديل عن استخدام الرفليات العادية والسبب فى ذلك يرجع إلى أن الفنترات تسهل التمييز بين الأفراد، لأنه يوجد عند الكثير من مثل هذه المواقع عشرات من الأطوال البديلة وبالتالى فهناك كثرة للتباين فى عدد المكررات بينهما، أما فى حالة الرفليبات العادية فهناك حذر وخوف من احتمال أن يحمل شخصان [عشوائياً] نفس النموذج من الرفليات [عند نفس الموقع الرفليبى]، بمعنى أنه فى الرفليبات العادية نجد أن قطع الدنا الناتجة عن البتر بإنزيم التحديد ستتماثل ما بين الأفراد، ما لم تكن طفرة قد أفسدت موقع التعرف، فلا تتسم الاختبارات بالدقة المطلوبة، بينما يمكن تحقيق الدقة المطلوبة والتمييز بدقة بين الأطوال المختلفة باستخدام الفنترات.

ثالثاً: تعيين البصمة الوراثية بعد ظهور الفنترات:

ولقد ترتب على ذلك أن أصبح بين يد الباحثين المختصين نظام فعال لتحديد بصمة الدنا.

أى أن هذه الفنترات تخدم فى تعريف هوية ما يسمى بالبصمة الوراثية (Genetic Fingerprint)، والتى لا يمكن تزويرها أو إخفاؤها، وفى فترة نهاية الثمانينات والتسعينات كانت معظم معامل بصمات الدنا تكتفى باختيار أربعة مواقع من هذه الفنترات، ويرى فيها علماء الطب الشرعى أنها كافية لتوفير قدر كبير من المعلومات عن الهوية فى ساحات القضاء.

وأصبح بالإمكان ـ بعد ظهور الفنترات إجراء وتعيين البصمة الوراثية لمعرفة الجانى وذلك بأن تؤخذ عينة من مسرح الجريمة. يكون الجانى قد تركها كأن تكون نقطة دم أو شعرة أو .. إلخ، ثم تعرض لإنزيم تحديد يُشظِّى الدنا حول فنتر فى العينة وكذا فى عينة أخرى من دم المشتبه فيه أو يستخدم التفاعل المتسلسل للبوليميريز فى تكثير فنتر نعرف تتابعين على جانبيه نستخدمهما طليعتين لكل من العينتين، وبعدها تُغْمر شظايا كل من العينتين فى مسابر مشعة تحمل تتابعاً قصيراً من منطقة أحد الفنترات، فتقترن بالتتابعات المكملة لتظهر شرائط مشعة تتطابق فى العينتين إذا كان

المشتبه فيه هو المجرم (من الممكن بهذه الطريقة تمييز عدد من المكررات فى كروموزومى الفرد ـ فقد يختلف العدد فى الكروموزوم الآتى من الأب عن الآتى من الأم). وعادة تُفحص أربعة مواقع لفنترات لتقليل احتمالات الخطأ.

ملحوظة: وإذا كنا عزيزى القارئ قد تحدثنا عن البصمة الوراثية بصفة عامة على أنها نوعية عالية البوليموفية من الرفليبات وتسمى الفنترات وأنها مكررات وكان حديثنا هنا فى ضوء الاستفادة من إنزيمات التحديد (التى تحدثنا عنها باستفاضة)، فإننا سنتناول الحديث عن البصمة الوراثية بصورة أعمق، وكيف تم اكتشافها (قصة الاكتشاف)، وسيكون ذلك بعد التمهيد لها بالدخول للچين نبحث فى أغواره لنعرف المزيد عن البصمة الوراثية.. ومعه الجديد من أسرار الچين (سبحان الله).