الفصل الرابع

خصائص الجينات وآليات عملها
نماذج من الأمراض الوراثية

كما سبق القول فإن الجينات هى التى تتحكم فى صفات الكائن الحى، ومن هنا فإن دراسة تركيب الجينات والتعرف على آليات عملها يعتبر الآن حجر الزاوية فى العلوم البيولوجية، فالتحكم فى الجينات يعطى فرصة اختيار الصفات المطلوبة، ويعطى فرصة التخلص من الأمراض ويخلق عالما جديدًا من الكائنات الحية على سطح الأرض لا نعرفه الآن.

البحث عن الجينات اللازمة لوجود الحياة

نشرت مجلة نيوزويك الأمريكية فى عددها الصادر فى ٢٢ فبراير ١٩٩٩ موضوعا مثيرا تبناه معهد أبحاث الجينوم بالولايات المتحدة The Instutute of Genomic Research (TIGR) وترأس فريق البحث (كلير فراسر Claire Fraser) رئيسة المعهد الذى أسسه كريج فنتر Craig Venter صاحب مشروع الجينوم البشرى. لقد جعلت فراسر وفريقها البحثى البكتيريا عديمة الجدار المسماه *Mycoplasma genitalium* – التى لها ٤٧٠ جينا – مادة لهذه الدراسة – حيث قاموا بتعطيل ١٧٠ جينا فيها – جينا واحدا فى كل مرة – وعلى رغم ذلك استطاعت هذه البكتيريا أن تعيش فى كل مرة – ويهدف العلماء من ذلك إلى تحديد ماهية أقل عدد من الجينات يلزم لوجود كائن حى. ولخطورة هذا التوجه فى أبحاث الجينات على مستقبل البشرية لجأ المعهد إلى آرثر كابلان Arthur Caplan عالم الأخلاقيات فى مجال البيولوجيا بجامعة بنسلفانيا – الذى قام بدوره بتشكيل فريق بحثى من ٢٠ من خبراء اللاهوت والفلسفة والقانون والأخلاقيات لدراسة تداعيات تجارب كلير فراسر والتى تقف خلفها فكرة أن سر الحياة يكمن فى توليفة معينة من الجينات.

وسوف نستعرض هنا جانبا من آليات عمل الجينات، وخصائص بعض الجينات.

آلية تنظيم عمل الجين فى الكائنات أوليات النواة

يتصف الجين فى أدائه الخاص بعملية النسخ transcription بالقدرة على الانتقال من حالة العمل turn on (activation) إلى حالة الكبح switch off (repression). وفى الكائنات أوليات النواة تتميز الجينات بقدرتها على الاستجابة للظروف البيئية.

يخضع تنظيم نسخ الجين فى الكائنات أوليات النواة إلى آلية يشارك فيها موقعان على حمض DNA يقعا قبل مادة الجين نفسها، يعرف الموقع الأبعد منهما عن الجين باسم (بروموتار) Promoter، ويعرف الموقع الأقرب إلى الجين باسم (أوبيريتور) Operator (شكل ملون ٣٢).

ويعتمد عمل كل من الموقعين على الارتباط بجزىء بروتينى معين.

وبالنسبة للبروموتار فإنه يرتبط بإنزيم RNA polymerase الضرورى لعلمية النسخ وبناء جزىء m-RNA. وبالنسبة لموقع الأوبيريتور فهو إما يرتبط بجزىء منشط activator وإما بجزىء كابح repressor. وعلى ذلك فإن ارتباط الجزىء المنشط بالأوبيريتور يفتح الطريق أمام إنزيم RNA polymerase لكى يصل إلى الجين ويقوم بنسخه. أما عدم ارتباطه فإنه يؤدى إلى عدم قيام هذا الإنزيم بدوره وبالتالى لا يتم نسخ الجين. ويطلق على الآلية المعتمدة على المنشطات اسم (التنظيم الإيجابى) positive regulation. أما الآلية التى تعتمد على الكوابح فيطلق عليها اسم (التنظيم السلبى) negative regulation حيث يؤدى ارتباط الجزىء الكابح بالأوبيريتور إلى الحيلولة دون قيام الإنزيم بنسخ الجين، أما عدم ارتباط الجزىء الكابح بالأوبيريتور فإنه يؤدى إلى فتح الطريق أمام إنزيم RNA polymerase لكى يقوم بنسخ الجين. ومن الجدير بالذكر أن هناك جينات تعتمد آلية تنظم عملها على منشط activitor وأخرى تعتمد آلية تنظم عملها على كابح repressor.

وتجدر الإشارة إلى أن لكل من المنشط أو الكابح موقعا عليه يترتبط عنده بحمض DNA عند منطقة الأوبيريتور، ويطلق على هذا الموقع site اسم DNA-binding domain، كما أن على كل من المنشط أو الكابح موقعا آخر يعرف باسم allosteric site يرتبط عنده المنشط أو الكابح بجزىء يعرف باسم allosteric effector، وتتنوع طرز هذه الجزيئات الأخيرة. وارتباط allosteric effector بالكابح يغير من خصائصه. مما يؤدى إلى فك ارتباطه بالأوبيريتور.

كما أن ارتباط allosteric effector بالمنشط يؤمن ارتباطه بالأوبيريتور.

آلية الأوبيرون لعمل الجينات (شكل ملون ٣٣)

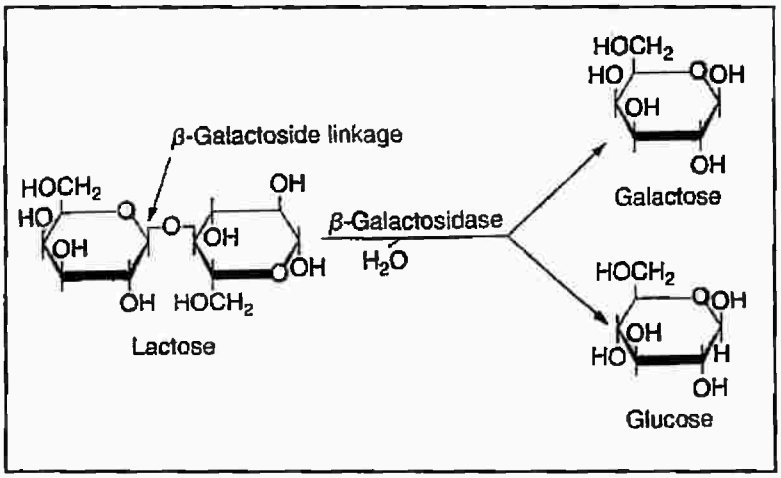
فى عام ١٩٦١ نشر العالمان الفرنسيان (جاكوب) F. Jacob ومونود J. Monod بحثا على الصفحة رقم ٣١٨ فى العدد الثالث من مجلة البيولوجيا الجزيئية J. Molecular Biology تناولا فيه آلية عمل الجينات فيما عرف باسم فرضية الأوبيرون Operon hypothesis. وهذه الفرضية كانت حجر الزاوية الذى قامت عليه تكنولوجيا الهندسة الوراثية Genetic Engineering. وقد أمكن الحصول على إنسولين بشرى من البكتيريا اعتمادا على هذه الفرضية. وما يذكر أن جاكوب ومونود منحا جائزة نوبل فى عام ١٩٦٥ تقديرا للفرضية التى قدماها.

وسوف نستعرض الآن فرضية الأوبيرون، ثم نتناول الكيفية التى تم بها تخليق الإنسولين البشرى عن طريق الاستعانة بالبكتيريا.

توضح آليـة (لاك أوبيـرون) Lac Operon كيـف تقوم بكتيريـا اشيريشيا كـولاى *Escherichia coli* بتخليق الإنزيمات اللازمة لهضم سكر اللاكتوز للحصول منه على الطاقة اللازمة لها.

وقد اتضح أن هناك ثلاثة جينات تركيبية Structural genes متجـاورة يرمـز لهـا بـالحروف Z,Y,A هى المسئولة عن تكويـن ثلاثة إنزيمـات، حيث تقوم هذه الجينـات أولا بنسخ جـزىء m-RNA يوصف بأنه (عديد الجينات) multigenic.

فالجين (Z) ينتج إنزيم *B*-galactosidase الذى يقوم بهضم الجلوكوز (شكل ٣٤)، أما الجين (Y) فهو ينتج إنزيم Permease الذى يعمل على تيسير نقـل سـكر اللاكتـوز إلى داخـل الخليـة. أما الجين (A) فهو ينتج إنزيم Transacetylase وليس لهـذا الإنزيـم دور فـى عمليـات التحـول الغذائى لسكر اللاكتوز.



شكل (٣٤): إنزيم *B*-Galactosidase يقوم بتكسير سكر اللاكتوز إلى جالاكتوز وجلوكوز.

ويقع قبل الجين (Z) مباشرة جينان تنظيميان هماجين الأوبيريتور Operator ثم جين الدافـع أو البروموتار Promoter (P) ويصبح ترتيب الجينـات مـن اليسـار إلى اليمـين هـو البروموتـار ثـم الأوبيريتور ثم الجينـات التركيبيـة الثلاثـة (ZYA) (تقـرأ مـن اليسـار إلى اليمـين). ويلاحـظ أن الإنزيم الذى يساعد على بناء حمض m-RNA أمـام حمـض DNA والمسمى RNA-Polymerase يقع على البروموتار. وعلى هذا الإنزيم أن يمر على موقع الأوبيريتور قبل أن يصل إلى الجينـات

التى تنسخ لتعطى جزيئا واحدا من حمض m-RNA الذى تتم ترجمته بعد ذلك إلى الإنزيمات الثلاثة المستقل كل منها عن الآخر والتى سبق ذكرها والتى بها تتمكن البكتيريا من هضم اللاكتوز.

وتعرف الجينات التركيبية الثلاثة بالإضافة إلى البروموتار والأوبيريتور معا باسم (الأوبيرون) Operon.

وعلى بعد مسافة معينة من الأوبيرون يقع جين منظم Regulator gene يطلق عليه الرمز (I)، ولا يعتبر هذا الجين جزءا من الأوبيرون، ويتم نسخ هذا الجين إلى حمض m-RNA تتم ترجمته إلى أربع سلاسل من عديد البيتيد تنضم معا لتكون بروتينا يطلق عليه اسم (الكابح) Respressor. ويتحد البروتين الكابح مع الأوبيريتور بطريقة تعطل حركة إنزيم (RNA-Polymerase) الواقع عند البروموتار وبذلك فإن عملية النسخ تصبح معطلة inhibited. وهذا ما يحدث معظم الوقت طالما أنه لا يوجد لاكتوز فى الوسط المحيط بالبكتيريا، وبالتالى لا توجد حاجة إلى تخليق الإنزيمات المتعلقة بالتعامل مع اللاكتوز، وهذا يحول دون إضاعة جهد البكتيريا وطاقتها فى تفعيل هذه الآلية إذا ما كان سكر اللاكتوز غير متوفر فى البيئة المحيطة.

وتجدر الإشارة إلى أن سكر اللاكتوز دوره هنا يوصف بأنه allosteric factor (السابق الإشارة إليه)، حيث إن اتحاده مع البروتين الكابح يغير من طبيعة هذا البروتين بما يجعله يترك موقعه عند الأوبيريتور، وهذا يتيح الفرصة لإنزيم RNA-Polymerase لأن يتجه إلى الجينات التركيبية الثلاثة ليقوم بنسخها.

وعلى ذلك يمكن القول إن وجود سكر اللاكتوز يحث عمليتى النسخ والترجمة وتخليق الإنزيمات التى تهضم اللاكتوز، ويؤدى إتمام هدم سكر اللاكتوز إلى تحرير البروتين الكابح الذى يعود مرة أخرى للاتحاد مع الأوبيريتور مما يؤدى إلى وقف عملية نسخ حمض m-RNA وبالتالى توقف تخليق الإنزيمات. وتنشط العملية كلها مرة أخرى عند دخول لاكتوز جديد إلى البكتيريا وبذلك يمكن القول بوجود تنظيم سلبى رجعى Negative feedback control يتحكم فى نشاط الأوبيرون.

ويلاحظ أن آلية الأوبيرون لا تعمل إذا ما كان سكر الجلوكوز متوفرا بالبيئة، حيث إن الجلوكوز يعطى طاقة قابلة للاستخدام بصورة أكبر مما يعطيه سكر اللاكتوز. وتعرف آلية كبح آلية (لاك أوبيرون) - التى تعمل فى وجود سكر الجلوكوز - باسم Catabolic repression. ولا يتسع المقام هنا لذكر تفاصيلها.

تطبيقات توظيف آلية الأوبيرون

فى عام ١٩٧٧ تم إنتاج أول حمض نووى معاد الاتحاد Recombinant DNA، حيث تم تحميل جين هرمون سوماتوستاتين Somatostatin على بكتيريا *E. coli* التى بدأت تنتج هذا الهرمون عقب ذلك. وفى عام ١٩٧٨ تم نقل جين هرمون الإنسولين البشرى إلى بكتيريا (إشيريشياكولاى) *Escherichia coli* لجعلها تنتج إنسولينا بشريا يعالج به المصابون بمرض البول السكرى diabetes millitus اللذين لا تنتج خلايا بيتا فى البنكرياس لديهم هذا الهرمون (شكل ٣٥).

ويتكون الإنسولين البشرى من سلسلتين من الأحماض الأمينية، إحداهما تتكون من (٢١) حمضا أمينيا، والثانية تتكون من (٣٠) حمضا أمينيا، وترتبط السلسلتان معا باثنتين من روابط ثنائية الكبريت Disulphide bond (شكل ٣٥ ملون).

وكان علاج المرضى بالسكر يعتمد على حقنهم بإنسولين بقرى Bovine insulin، وذلك على رغم أن هذا الإنسولين يختلف عن الإنسولين البشرى فى أن الحمض الأمينى رقم (٨) فى السلسلة الصغيرة هو Threonine، وأن الحمض الأمينى رقم (١٠) فى هذه السلسلة هو Valine بدلا من isoleucine. ويؤدى هذا الاختلاف إلى حدوث حساسية لدى حوالى ٥٪ من المرضى الذين يحقنون بالإنسولين البقرى.

وكانت أول خطوة فى طريق تخليق إنسولين اصطناعى هى معرفة ترتيب الأحماض الأمينية داخل سلسلتى عديد الببتيد فى الإنسولين البشرى. وبمعرفة ذلك تمكن العلماء من تخليق حمض DNA اصطناعى يحمل شفرات السلسلة (A) وآخر يحمل شفرات السلسلة (B).

ومن المعروف أن سيتوبلازم بعض أنواع البكتيريا - مثل إيشيرشيا كولاى - يحمل حلقات صغيرة من حمض DNA يطلق عليها اسم بلازميدات Plasmids، يحمل كل منها جينا أو أكثر، وذلك بالإضافة إلى وجود الشريط الأساسى لحمض DNA البكتيرى. وقد استغل العلماء هذه البلازميدات كوسيلة لإدخال جينات الإنسولين الاصطناعية إلى داخل البكتيريا وكذلك باستغلال البلازميدات التى ترتبط عادة بحمض DNA البكتيرى عند الجين (Z) فى لاك أوبيرون. وقد قام العلماء بوضع حمض DNA الاصطناعى للسلسلة (A) فى بكتيريا تختلف عن تلك التى وضع فيها حمض DNA الاصطناعى للسلسلة (B) (شكل ملون ٣٦). ولتحفيز البكتيريا على تشغيل حمض DNA الاصطناعى يضاف سكر لاكتوز إلى المزرعة وبذلك تبدأ

عملية نسخ حمض m-RNA أمام حمض DNA الاصطناعى ثم تحدث عملية ترجمة شفرات حمض m-RNA إلى إحجى سلسلتى عديد البيتيد الخاصة بالإنسولين البشرى. وقد قدر أن بكتيريام واحد يمكن أن ينتج مائة ألف نسخة من أحد سلسلتى عديد البيتيد. وفى النهاية تتم تنقية المنتج، وتجرى عملية ربط السلسلتين معا. وبذلك أمكن الحصول على الإنسولين البشرى ليستعمله مرضى السكر دون إحداث استثارة مناعية عندهم فضلا عن رخص ثمنه.

ويوضح شكل (٣٧ أ) صورة بالميكروسكوب الإلكترونى الماسح لبكتيريا (إشيريشيا كولاى) أثناء قيامها بتخليق الإنسولين البشرى، ويلاحظ وجود إنتفاخات bulges فى جسم الباكتريام، على عكس البكتيريا غير المعاملة -- فى الركن العلوى من الشكل - فلا تظهر فيها هذه الإنتفاخات. ويوضح (شكل ٣٧ ب) صورة بالميكروسكوب الإلكتروني النفاذ لقطاعات عالية الرقة فى البكتيريا أثناء إنتاجها للإنسولين حيث يرى داخل البكتيريا تراكمات إفرازية.

(ب) (ا)

شكل (٣٧): بكتيريا *Escherichia coli* أثناء تخليقها للإنسولين البشرى.

(أ) كما تبدو بالمجهر الالكترونى الماسح وقد ظهرت انتفاخات فى أماكن من أجسامها – فى الركن العلوى تبدو البكتيريا العادية.

(ب) كما تبدو فى قطاعات المجهر الالكترونى النافذ. وقد ظهرت تجمعات المادة البروتينية المخلقة.

ومن الجدير بالذكر أن جين الإنسولين البشرى يقع على الزراع القصير للكروموسوم رقم (١١).

وفى يوليو ١٩٨٠ تم تجربة هرمون الإنسولين المنتج عن طريق البكتيريا المهندسة وراثيا على (١٧) متطوع وذلك فى مستشفى جاى Guys hospital فى لندن وثبتت فاعليته.

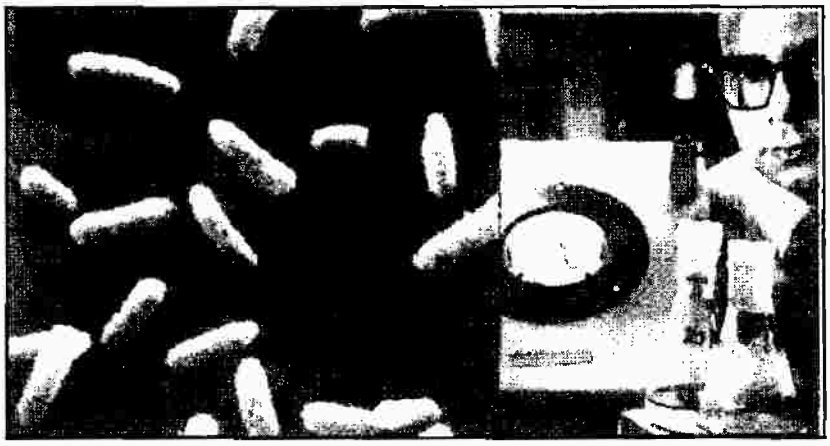
وفى عام ١٩٨٢ تمت موافقة الإدارة الفيدرالية للعقاقير Federal Drug Administratin (FDA) بالولايات المتحدة الأمريكية على تسويق الإنسولين البشرى الذى تنتجه البكتيريا.

وفى عام ١٩٨٦ حصلت شركة العقاقير Eli Lilly على الترخيص بإنتاج وتسويق الإنسولين المنتج بالهندسة الوراثية تحت اسم Humulin.

وفى مثال آخر تم فى عام ١٩٧٩ الحصول على هرمون النمو البشرى human growth hormone (HGH) عن طريق نقل الجين البشرى الخاص بالهرمون إلى بكتيريا *E. coli*، وذلك لحقن الأطفال المصابين بالقزمة dwarfism به بدلا من الاعتماد على هرمون مأخوذ من جثث الموتى cadavers. وهذا فضلاً عن تكلفته العالية فإنه يعرض المريض لمرض يصيب المخ عن طريق مادة شبه فيروسية تعرف باسم (برى أون prion) ويعرف المرض باسم (CJ) Creutzfeldt-Jacob Syndrome.

وقد دخل هذا الهرمون مجال الاستخدام التجريبى عام ١٩٨٥ وقامت شركة Genentech بتسويقه تحت اسم protropin، وقامت شركة Eli Lilly بتسويقه تحت اسم Humatrope.

وقد امتد البيوتكنولوجى إلى استخدام البكتيريا لمكافحة تلوث البيئة. ومن المثير فى هذا الصدد أن الباحث (أناند تشاكرابارتى) Anand Chakrabarty قام بهندسة بكتيريا *Pseudomonas* وراثيا لتنتج إنزيمات تحلل بقع البترول التى تلوث البحار والتى تسببها ناقلات البترول. (شكل ٣٨).



شكل (٣٨): إلى اليمين وجه العالم Anand Chakrabarty الذى قام بالهندسة الوراثية لبكتيريا *Pseudomonas* لتنتج إنزيمات تحلل البترول، وبذا يمكن استخدامها فى إزالة بقع البترول.

وفى اتجاه آخر تمكن العالم Joseph M. McCune من جامعة ستانفورد فى عام ١٩٨٨ من الحصول على فأر له جهاز مناعى بشرى، وأطلق على الفأر اسم (الفأر البشرى) The human mouse بهدف استخدامه فى أبحاث جهاز المناعة للإنسان ودراسات مرض الإيدز.

***

ونعود الآن إلى الحديث عن مادتنا الوراثية والعلاج بالجينات.

آلية تنظيم عمل الجين فى الكائنات حقيقيات النواة

تتميز حقيقيات النواة عن أوليات النواة بصفة عامة بأن عدد جيناتها أكثر، كما أن حجم الجينات فيها أكبر، كما تخضع آلية تنظيم الجينات فى حقيقيات النواه إلى شبكة معقدة من العوامل المنظمة. وتلعب الجينات أدوارًا متباينة فى أثناء عملية التكوين فى حقيقيات النواة لتكوين الأنسجة والأعضاء، كما أن تباين وظائف الخلايا إلى حد كبير فى حقيقيات النواة يحتاج إلى آليات تنظيمية خاصة. ولكل هذه الأسباب وغيرها فإن آلية تنظيم عمل الجينات فى حقيقيات النواة تبدو معقدة إلى حد كبير وتناولها يعتبر خارج نطاق هذا الكتاب.

نماذج من بعض الأمراض وعلاقتها بالجينات

مرض التصلب الضمورى للعضلات Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS)

يؤثر هذا المرض على الخلايا العصبية الحركية فى المخ والحبل الشوكى مما يؤدى إلى ضعف العضلات والشلل ثم الوفاة. وتظهر أعراض المرض بين سن ٣٥، ٧٠ سنة وتحدث الوفاة عادة بعد ٣ – ٥ سنوات من ظهور الأعراض. وترجع بعض حالات هذا المرض إلى سبب وراثى. وتعرف هذه الحالات باسم التصلب الضمورى العائلى للعضلات Familial ALS. وقد اكتشف الجين الخاص بهذا المرض فى عام ١٩٩٣ بواسطة مجموعة من ٣١ عالما من أربع دول يقودهم العالم روبرت براون Robert Brown من المستشفى العام فى ماساشوستس، روبرت هورفتز Robert Horvitz من معهد ماساشوستس للتكنولوجيا. وقد عرف أن الجين الطبيعى يقع على الكروموسوم رقم (٢١)، وأنه مسئول عن تكوين إنزيم Superoxide dismutase الذى يعمل على تخليص الجسم من الشوارد الحرة Free radicals التى تسبب الكثير من الأضرار بالجسم تصل إلى حد إحداث السرطان. كما أن هذه الشوارد الحرة تضر بالخلايا العصبية بصورة تؤدى إلى هذا المرض. وينتج هذا المرض بسبب حدوث طفرة أو أكثر فى هذا الجين. وقد حدد العلماء حدوث (١١) طفرة فى مواقع مختلفة من هذا الجين يؤدى كل منها إلى الترجمة إلى حمض

أمينى مختلف مما يحدث خللا فى تركيب الإنزيم وبالتالى يتعطل عمله. وفى تقرير نشر فى عام ١٩٩٦ وجد أن غياب الإنزيم الطبيعى يؤدى أيضا إلى تعريض الخلايا العصبية لكميات كبيرة من الجلوتاميت glutamate ، وهذا بدوره يسبب تدمير الخلايا العصبية.

مرض السكر Diabetes

بفضل تكنولوجيا الحمض النووى DNA technology توصل العلماء إلى الكثير من المعلومات حول آلية الإصابة بمرض السكر. فمن المعروف أن المريض بالسكر لا يستطيع جسمه أن يجرى عمليات التحول الغذائى للجلوكوز وينتج عن ذلك عجز فى الحصول على الطاقة التى تلزم لأداء الجسم لعملياته الحيوية. وفى الواقع هناك طرازان من مرض السكر هما:

١- مرض سكر طراز I Type I diabetes

وتحدث الإصابة به منذ فترة الطفولة Juvenile-onset diabetes وفيه لا تعمل خلايا بيتا فى البنكرياس بالنشاط الكافى لإنتاج القدر المطلوب للجسم من هرمون الإنسولين، مما يحرم خلايا الجسم من هذا الهرمون الضرورى لحدوث التحول الغذائى للجلوكوز وإنتاج الطاقة. ويتم معالجة الأمر هنا بحقن المريض بهرمون الإنسولين. وقد أمكن بفضل ثورة البيوتكنولوجى الحصول على إنسولين بشرى عن طريق الهندسة الوراثية للبكتيريا كما ذكر من قبل وذلك بدلا من الاعتماد على إنسولين الأبقار الذى يسبب حساسية لدى بعض الأشخاص. وقد أمكن فى عام ١٩٩٤ لفريق من علماء جامعة اكسفورد الكشف عن أن هناك (١٨) موقعا على كروموسومات مختلفة تقف خلف الإصابة بالمرض، أهمها تلك الواقعة على الأذرع الطويلة للكروموسومات أرقام ٦، ١١، ١٨.

٢- مرض سكر طراز II Type II diabetes

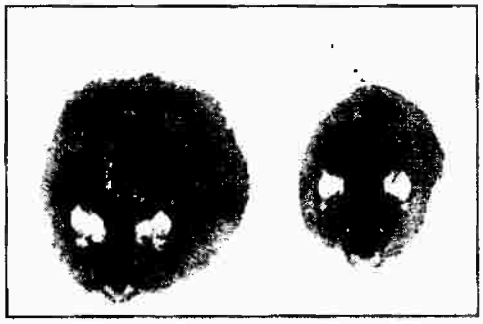
ينشأ هذا المرض من غياب المستقبلات receptors التى تقع على أسطح الخلايا والمتخصصة فى ارتباط هرمون الإنسولين بها حتى يبدأ هذا الهرمون فى القيام بوظيفته فى هذه الخلايا. وبالتالى تعجز الخلايا عن إنتاج الطاقة على رغم توفر هرمون الإنسولين. وتعتبر الإصابة بهذا الطراز من مرض السكر أقل وطأة من الإصابة بالطراز الأول، وهو عادة يصيب الأفراد فى الفترة من ٢٥ - ٣٠ عاما من أعمارهم. وتعالج هذه الحالة عن طريق ضبط الوزن والتحكم فى التغذية واستخدام بعض العقاقير عن طريق الفم والتى تجعل خلايا الجسم أكثر حساسية للتأثر بهرمون الإنسولين.

ومما يذكر هنا أن بعض الأشخاص يصابون بهذه الحالة فى فترة مبكرة نسبيا من أعمارهم وذلك فى سن البلوغ، وتعرف هذه الحالة باسم maturity-onset diabetes of young (MODY)، وأرجع فريق من علماء جامعة شيكاغو بقيادة (جريم بل) Graeme Bell هذه الحالة إلى نقص

فى إنزيم جلوكوكاينيز glucokinase، كما توصل فريق من العلماء الفرنسيين إلى حقيقة أن الجين المسئول عن نقص هذا الإنزيم يقع على الكروموسوم رقم (٧). وفى الواقع فإن هذا الإنزيم يلزم خلايا بيتا فى البنكرياس لكى تستشعر كمية الجلوكوز فى الدم وبالتالى تستجيب بإفراز القدر المناسب من هرمون الإنسولين. ومن المأمول أن تستخدم تكنولوجيا العلاج بالجينات لعلاج هذه الحالة من مرض السكر فى وقت ليس ببعيد طالما أنها تعتمد على جين واحد.

السمنة Obesity

ومن ناحية أخرى فإن العلاقة بين الجينات والسمنة obesity ظلت غامضة حتى استطاع جفرى فريدمان Jeffrey Friedman وزملاؤه فى جامعة روكفلر Rockefeller University فى نيويورك فى عام ١٩٩٤ الكشف عن هذه العلاقة من خلال تجاربهم على الفئران والتى استمرت ثماني سنوات. وقد استطاعوا التوصل إلى الجين المسئول عن السمنة وسمى *ob* gene، وأوضحت دراساتهم أن هذا الجين يقع على الكروموسوم رقم (٦)، وأنه يتكون من ٦٥٠,٠٠٠ قاعدة نيتروجينية، وأن هذا الجين ينتج بروتينا يتكون من ١٦٧ حمضا أمينيا. كما كشفت دراسات فريدمان وزملاؤه عن أن هذا البروتين يعمل على تثبيط زيادة الوزن، ومن ثم فإن الفئران التى يطفر mutates فيها هذا الجين تصاب بالبدانة (شكل ٣٩). واعتمادا على هذه النتائج عقد فى عام ١٩٩٥ اتفاق بين شركة Amgen للبيوتكنولوجى وجامعة روكفلر لإنتاج وتسويق بروتين يعمل على تثبيط البدانة، وفى عام ١٩٩٦ تم التخليق الاصطناعى لبروتين تحت اسم ob protein نجح فى خفض وزن الفئران. ومن المعروف أن الإصابة بالسمنة تؤدى فى بعض الأفراد إلى مرض السكر وزيادة ضغط الدم وآلام فى المفاصل.



شكل (٣٩): الفأر إلى اليمين طبيعى، بينما الفأر إلى اليسار يحتوى على جين طافر للسمنة (*ob*).

الجلوكوما: Glaucoma

وفى مثال آخر ثبتت العلاقة بين مرض الجلوكوما glaucoma والجينات. والمعروف أن مرض الجلوكوما ينشأ عن زيادة الضغط داخل مقلة العين مما يؤدى إلى تلف العصب البصرى. وفى

عام ١٩٩٧ استطاع علماء (جامعة أيوا) Iowa University تحديد الجين المسئول عن حدوث هذا المرض فى سن المراهقة Juvenile-onset glaucoma. وأوضحت تكنولوجيا الحمض النووى DNA technology أنه يقع على الكروموسوم رقم (١) وأنه يتكون من حوالى مليون من أزواج القواعد النيتروجينية. كما أوضحت دراسات أخرى أن الجين المسئول عن حدوث المرض بعد هذه السن يقع على الكروموسوم رقم (٣).

الأورام Tumours

أدرك العلماء أن هناك حالات عديدة تؤيد وجود علاقة بين الجينات وحدوث الأورام.

فعلى سبيل المثال ترجع الإصابة بسرطان الجلد melanoma فى بعض الحالات إلى جينات تقع على الكروموسومين (١)، (٩).

وفى عام ١٩٨٦ تمت كلونة لجين عرف باسم *p53* يعمل على تثبيط حدوث السرطان فى جميع أعضاء الجسم عن طريق تكوينه لبروتين وزنه الجزيئى يبلغ ٥٣ كيلودالتون يرتبط بجزىء DNA إذا حدث به كسر يؤدى إلى حدوث ورم وذلك فى موضع الكسر، مما يحول دون تضاعف جزىء DNA وبالتالى يمنع حدوث الورم – وهذا الاتحاد يعطى فرصة لآلية إصلاح الجزىء المكسور. وفى عام ١٩٩٢ اكتشف علماء جامعة جونز هوبكنز Johns Hopkins أن الجين يكون أربعة بروتينات وليس بروتينا واحدًا، وأن غياب أى منهم فى حالة جين *p53* الطافر لن يحول دون تضاعف جزىء DNA وبالتالى سيتكون الورم.

وفى عام ١٩٩٤ كشف العلماء عن جين يؤدى طفوره إلى حدوث سرطان ثديى، وقد سمى الجين *BRCA1*، وبعد مرور ١٥ شهرًا اكتشف العلماء جينا آخر يؤدى طفوره أيضا إلى سرطان ثديى، وأعطى هذا الجين الاسم *BRCA2* وقد عرف فيما بعد أن التى ترث الجين *BRCA1* تزداد لديها فرصة الإصابة بسرطان المبيض.

وقد عرف فيما بعد أن الجين *BRCA1* ينتج بروتينا يتكون من ١٨٦٣ حمضا أمينيا، وأن الجين *BRCA2* ينتج بروتينا يتكون من ٣٤١٨ حمضا أمينيا.

وقد استطاع العلماء عن طريق تكنولوجيا الحمض النووى DNA Technology التوصل إلى تقنية للكشف عن هذين الجينين.

وفى عام ١٩٩٣ كشف العلماء من جامعتى جونز هوبكنز وهلسنكى عن أن أحد طرز سرطانات القولون يرجع إلى أحد الجينات. ويعرف هذا السرطان باسم hereditary nonpolyposis colon cancer (HNPCC) أو Lynch Syndrome. وقد صمم له العلماء مجسا probe للكشف عن هذا الجين.

***

ويلاحظ أن الجينوم ليس مجرد تسلسل بسيط للقواعد النيتروجينية، فقد أوضحت الدراسات العلمية أن للجينوم بعض الخصائص التى تستحق البحث والتفسير، وسنذكر هنا أمثلة منها:

الإنترونات Introns

ومن المفترض أن يتناسب حجم المادة الوراثية مع درجة تعقيد جسم الكائن الحى، إلا أن تلك العلاقة لا تشاهد فى الواقع. فعلى سبيل المثال يزيد حجم الجينوم (المادة الوراثية) فى حيوان السلمندر أو نباتات الزئابق lilies عن عشرة أضعاف حجم الجينوم البشرى. وتفسير ذلك أن الجينوم لا يتكون كله من جينات فعالة، فهناك أجزاء من الجينوم غير معلومة الوظيفة - وهى تبدو حتى الآن عديمة الوظيفة. وتوجد هذه الأجزاء فى جزىء حمض DNA على نمطين (شكل ملون ٤٠).

(أ) تتابعات بينية Spacers بين الجينات وهى غير معلومة الوظيفة.

(ب) إنترونات Introns: وهى تتابعات تبدو عديمة الوظيفة تتخلل الجين نفسه.

اسم الكائن الحى	حجم الجينوم بالمليون من أزواج القواعد	عدد كروموسومات المجموعة النصفية
الخميرة Yeast (*Saccharmyces cerevisiae*)	١٤	١٦
العفن Slime mold (*Dictyostelium*)	٧٠	٧
نبات أرابيدوبسس *Arabidopsis thaliana*	٧٠	٥
الذرة Corn	٥,٠٠٠	١٠
البصل Onion	١٥,٠٠٠	٨
الزنبق Lily	٥٠,٠٠٠	١٢
دودة اسطوانية Nematode (*Caenorhabditis elegans*)	١٠٠	٦
ذبابة الفاكهة Fruit fly (*Drosophila*)	١٦٥	٤
الضفدع Toad (*Xenopus laevis*)	٣,٠٠٠	١٨
الأسماك الرئوية Lungfish	٥٠,٠٠٠	١٧
الدجاج Chicken	١,٢٠٠	٣٩
الفأر Mouse	٣,٠٠٠	٢٠
البقر Cow	٣,٠٠٠	٣٠
الكلب Dog	٣,٠٠٠	٣٩
الإنسان Human	٣,٠٠٠	٢٣

ويلاحظ أن الجين يتكون عادة من أجزاء هامة وظيفيا تسمى إكسونات Exons، بالإضافة إلى أجزاء أخرى تبدو عديمة الوظيفة تعرف باسم (إنترونات) Introns.

والإنترونات نادرة الوجود فى الكائنات أوليات النواة وهى أكثر تواجدا فى حقيقيات النواة البسيطة مثل الخميرة. أما فى حقيقات النواة العليا فإن كمية DNA فى الإنترونات تبلغ عشر مرات كمية هذا الحمض فى الإكسونات. ومعنى ذلك أن الجينوم فى الكائنات العليا معظمه إنترونات عديمة الوظيفة لا تتم ترجمته إلى بروتينات.

والواقع فإن الجين بأكمله ينسخ إلى حمض (رنا رسول أولى) preliminary m-RNA ثم تحذف deleted الإنترونات منه ويستبقى على الإكسونات التى يتم لحمها spliced بعضها مع بعض ليتكون حمض رنا رسول نهائى Final m-RNA وذلك هو الذى تتم ترجمته إلى سلسلة الأحماض الأمينية.

ويوضح الجدول الآتى نسبة تواجد الإكسونات Exons وحجم الجينوم وعدد الجينات فى بعض الكائنات ومنها الإنسان:

اسم الكائن	عدد أزواج القواعد	نسبة الإكسونات	عدد الجينات
بكتيريا *E. coli*	٤×١٠^{٦}	٪١٠٠	$١٠^{٣}$
دودة *Caenorhabditis*	٩×١٠^{٧}	٪٢٥	$٦ - ٧ \times ١٠^{٣}$
حشرة *Drosophila*	١٨×١٠^{٨}	٪٣٣	$١ - ٢ \times ١٠^{٤}$
سمكة رئوية *Protopterus*	١٤٠×١٠^{٩}	٪٠,٨	——
نيوت (برمائيات) *Triturus*	١٩×١٠^{٩}	٪٣	——
الإنسان *Homo sapiens*	٣×١٠^{٩}	٪١٥	$٦ - ٧ \times ١٠^{٤}$

ويرجع الفضل فى اكتشاف الإنترونات إلى بحثين نشرا فى عام ١٩٧٧، أحدهما لثلاثة من العلماء من معهد ماساشوستش للتكنولوجيا (MIT) هم:

S. Berget ; C. Moore ; P. Sharp

والبحث الثانى قام به أربعة من العلماء هم:

L. Chow ; R. Gelinas ; T. Broker ; R. Roberts

تضخيم الجينات Gene Amplification

يقصد بتضخيم الجين تكوين عدة نسخ منه، ويحدث ذلك فى أمثلة محدودة تحتمها الحاجة المتعاظمة لتفعيل آلية إنتاج الخلية لبروتين معين. ومن أمثلة ذلك تضخيم الجين المنتج لحمض RNA الريبوسومى (r-RNA) فى بويضات البرمائيات، ويبلغ حجم البويضة هنا حوالى مليون ضعف حجم الخلية الجسمية، ومنوط بها تخليق البروتينات اللازمة خلال المراحل الأولى للتكوين الجينى. ومن هنا تكون الحاجة إلى أعداد كبيرة من الريبوسومات تصل إلى (١٠)[١٢] فى البويضة الواحدة وبالتالى تكون هناك حاجة إيجاد نسخ عديدة من جين معين، ويتم ذلك عن طريق العديد من دورات تضاعفية repeated rounds of amplification لهذا الجزء من الحمض النووى DNA (شكل ملون ٤١)، مما ينتج عنه أكثر من مليون نسخة من هذا الجين. ولا يورث تضخيم الجينات إلى أجيال الخلايا الناتجة عن البويضة. ويلاحظ تضخيم الجينات أيضا فى خلايا مبيض حشرة الدروسوفلا، وفى الخلايا السرطانية التى يعتريها تكاثر غير منضبط. ويعتمد علاج السرطان بعقار Methotrexate على إحباطه لإنزيم Dihydrofolate reductase اللازم لتخليق الوحدات البنائية لحمض DNA (deoxynucleotide triphosphate, dNTPs).

مستويات تعبير الجين (شكل ملون ٤٢)

يتم التحكم فى إظهار الصفة عن طريق عدد من المراحل الواقعة بين المادة الوراثية نفسها والبروتين النهائى، وبهذا فإن دراسة التعبير الجينى تبدو عملية معقدة أمام العلماء.

ويمكن تحديد مستويات تنظيم التعبير الجينى فيما يلى:

١ – نسخ حمض DNA.

٢ – التعامل مع حمض DNA المنسوخ بحذف الإنترونات على سبيل المثال.

٣ – انتقال حمض DNA بعد ذلك من النواه إلى السيتويلازم.

٤ – هضم حمض RNA فى السيتوبلازم لإعادة استخدام وحداته البنائية.

٥ – ترجمة حمض m-RNA إلى سلاسل الأحماض الأمينية.

٦ – تشكيل (تصميم) سلاسل الأحماض الأمينية لتعطى التكوين ثلاثى الأبعاد للمادة البروتينية.

عائلات الجينات والجينات الكاذبة

يعزى كبر حجم الجينوم فى الكائنات حقيقيات النواه إلى سبب آخر - بالإضافة إلى وجود الإنترونات - هو أن بعض الجينات توجد بصورة متكررة، فبينما يوجد كل جين فى الكائنات أوليات النواة مرة واحدة فى الأغلب، فإن الجين فى حقيقيات النواة يوجد فى نسخ متكررة يطلق عليها وصف (عائلة الجين gene family). وفى كثير من الحالات فإن وجود نسخ عديدة من جين واحد يتطلبه احتياج متعاظم لكميات كبيرة من البروتين وحمض RNA، ومثال ذلك احتياج الخلية لكميات كبيرة من الهستونات ومكونات الريبوسومات. ومن عوامل كبر حجم الجينوم مسئولية كل مجموعة من جينات العائلة الواحدة عن نشاط مرحلة عمرية معينة. ومثال ذلك عائلة الجين المسئول عن إنتاج (جلوبين ألفا وجلوبين بيتا) α-globin and β-globin اللازمان لبناء الهيموجلوبين. حيث تتوزع مسئولية إنتاج الجلوبين فى المرحلة الجنينية المبكرة Embryonic والمرحلة الجنينية المتأخرة Fetal ومرحلة بعد الولادة Adult على جينات هذه العائلة من الجينات. (شكل ملون ٤٣).

وقد يتواجد العديد من جينات العائلة الواحدة متقاربين كما فى حالة جينات عائلة الجلوبين (عائلة جلوبين ألفا تتواجد جيناتها على الذراع القصير للكروموسوم رقم ١٦، وعائلة جلوبين بيتا تتواجد جيناتها على الذراع القصير للكروموسوم رقم ١١).

وفى حالات أخرى تتواجد جينات العائلة الواحدة موزعة على عدة كروموسومات.

ويعتقد العلماء أن كل عائلة جينات إنما نشأت عن طريق عملية تضاعف duplication لجين واحد موجود فى السلف البعيد للكائن الحى، وكثيرا ما يعترى بعض جينات العائلة الواحدة طفرات عبر التاريخ التطورى تؤدى إلى أن يتواءم منتج هذه الجينات بصورة أفضل فى عضو معين من الجسم أو خلال مرحلة عمرية معينة. ومثال لذلك القدرة الأفضل التى يتميز بها جلوبين المرحلة الجنينية المتأخرة fetal globin للارتباط بالأوكسيجين مما يعطى الجنين قدرة متميزة فى الحصول على الأوكسيجين من الدورة الدموية للأم. على أن بعض الطفرات التى تحدث لبعض جينات عائلة جينات معينة تفقد هذه الجينات وظيفتها بحيث تصبح غير قادرة على إعطاء منتج، ومن ثم تعرف هذه الجينات باسم (الجينات الكاذبة) Pseudogenes.

وتتواجد هذه الجينات الكاذبة فى عائلتى الجينات ألفاجلوبين α-globin وبيتاجلوبين-β-globin (شكل ملون ٤٤).

التتابعات المتكررة داخل الجينوم Repetitive DNA Sequences

كان الفضل للعالمين Roy Britten and David Kohne فى اكتشاف احتواء الجينوم بصفة عامة على تتابعات من الدى أوكسى نيوكليوتيدات التى تتكرر آلاف وملايين المرات ولا تحمل أية شفرات Noncoding DNA Sequences. ومن أمثلة ذلك التتابع ACAAACT فى حشرة الدروسوفلا.

وقد توجد هذه التتابعات متجاورة لبعضها البعض clustered or tandem arrays. وفى حالات أخرى توجد هذه التتابعات مبعثرة Scattered فى الجينوم، وهى إما أن تكون من عدد قليل من النيوكليوتيدات (كل منها فى حدود بضع مئات) وتعرف باسم single interspersed elements, (or SINs وإما أن تكون من عدد كبير من النيوكليوتيدات (كل منها يبلغ بضع آلاف) وتعرف باسم (long interspersed elements, or LINEs).

عدد الجينات - الجينوم حامل الشفرات

يبلغ عدد الجينات فى بكتيريا *E. coli* حوالى ٤٠٠٠ جين، وفى الخميرة يتراوح هذا العدد بين ٥,٠٠٠ و ١٠,٠٠٠ جين، وفى الإنسان حوالى ٣٨,٠٠٠ جين، وإذا كان حجم الجينوم البشرى 3×10^9 من أزواج القواعد النيتروجينية فإن قدرًا يصل إلى ٣٪ منه فقط هو الذى يحمل شفرات يتم نسخها ثم ترجمتها إلى بروتين.

الوحدات الوراثية المتنقلة Transposable elements (Transposons)

وصفت هذه الوحدات الوراثية المتنقلة لأول مرة العالمة مكلنتوك Barbara McClintock فى دراستها على نبات الذرة. وقد نالت جائزة نوبل فى عام ١٩٨٣ تقديرا لذلك. وقد اتضح فيما بعد شيوع هذه الوحدات فى مختلف الكائنات، حيث تنتقل مادة وراثية من الجينوم نفسه إلى موقع جديد. ويتم ذلك بمساعدة وسائط من حمض DNA أو وسائط من حمض RNA. وسنتعرض هنا للطراز الأول فقط (شكل ملون ٤٤).

وتتكون الوحدة الوراثية المتنقلة فى أبسط صورها من جزء من حمض DNA يشار إليه باسم (تتابع الإيلاج Insertion sequence (IS يتراوح حجمه فى البكتيريا بين ٨٠٠ - ٢٠٠٠ دى أوكسى نيوكليوتيد. ويحتوى هذا التتابع فى وسطه على جين إنزيم النقل transposase وعلى جانبيه تتابع معكوس inverted repeat من الدى أوكسى نيوكليوتيدات يرمز له IR. وهناك وحدات وراثية متنقلة تكون أكثر تعقيدا complex، حيث تتكون كل وحدة من

تتابعين إيلاج two Insertion sequences تقع بينهما جينات أخرى – وتتحرك هذه كلها كوحدة واحدة. وتتلخص عملية النقل فى الخطوات الآتية (شكل ملون ٤٥):

(أ) تنفصل الوحدة الوراثية المراد نقلها بحيث يكون لها أطراف كليلة blunt.

(ب) ينشق DNA فى الموقع المستهدف النقل إليه – وتتكون بذلك أطراف متدلية overhanging.

(جـ) يقوم إنزيم transposase بربط الوحدة الوراثية المتنقلة عند القطع الحادث فى DNA المستهدف النقل إليه.

(د) ينتج بذلك فرجه على كل من شريطى حمض DNA فى الموقع الذى تم النقل إليه، يتم إصلاح الفرجتين بتخليق DNA عند موقع الفرجة ثم إجراء عملية ربط ligation مع المادة المنقولة.

ويدل وجود تكرار مباشر قصير short direct repeat على جانبى جين على استيعاب وحدة وراثية متنقلة.