(٣)

البيوتكنولوجيا فى الطب

العــلاج بالجينـــات
gene therapy

هناك إنزيم إسمه أدينوزين دى أمينيز (أدا) adenosine deaminase (ADA) يشفِّر له جين يقع على الكروموزوم رقم ٢٠ من الطاقم الوراثى ، أى الجينوم ، البشرى ، ونقص هـذا الإنزيـم (الـذى ينتـج عـن خطـأ فـى كـودون واحد بالجين يجعله متنحياً أمام الجين الطبيعى) يسبب مرضاً ، إذ يفقد الجسم مناعته ضد الميكروبات جميعاً (الفيروسات والبكتريا والبروتوزوا والفطر) . الانفلونزا تصبح كارثة . الزكام المصحوب بالرشح ينقلب بسهولة إلى التهـاب رئوى . الجديرى قد يقتل . يصبح الشخص المريض أكثر عرضة للسرطان ، لاسيما اللوكيميا leukemia (سرطان الدم) ـ فاحتمال الإصابة به يبلـغ نحـو عشـرة آلاف ضعـف احتمـال إصابـة الفـرد العـادى . المُبْتَلـون بهـذا المـرض الوراثى يعيشون حياتهم القصيرة بعيداً عن الناس . المرض يقتل بكفاءة خلال الأشهر الأولى من الحياة . كان المريض الذى عاش أطول فـترة طفـلاً عـاش اثنى عشر عاماً فى " فقاعة " معقمة لا يتصل بأحد ولا حتـى والديـه ، ومـات فى هيوستون عام ١٩٨٤ بعد عملية نقل نخاع عظم فى محاولة لعلاجه .

ومرض نقص أدا مرض وراثـى نـادر ، يولـد بـه طفـل مـن بيـن كـل ١٥٠٠٠٠ وليد . وهنـاك الآن مـن العلمـاء الذيـن يدرسـونه عـدد يفـوق عـدد المرضى به .

ولقد أجريت أول " عملية " للعلاج بالجينات لطفلة عمرها خمس سنوات تحمل هذا المرض إسمها أشانتى ديسلفا Ashanthi DeSilva ، كان ذلك يوم الجمعة ١٤ سبتمبر سنة ١٩٩٠ . يوم لاينسى فى تاريخ الطب . أجرى العملية فريق من العلماء : يرأسه وليم فرينش آندرسون W.French Anderson ، ومعه ميكائيل بليز R. Michael Blaese وكينيث كالفر Kenneth W.Culver .

ومهمة إنزيم أدا فى الجسم هى التخلص من مركب ديوكسى أدينوزين deoxyadenisine السام الذى ينتج عن الأيض metabolism فى الجسم ، والذى يرتبط إذا ما ازداد بالفسفور فى الجسم مكوناً " ديوكسى أدينوزين ترايفوسفات " deoxyadenosine triphosphate – وهذا مركب يقتل خلايا المناعة ، لاسيما خلايا " ت " T cells . إنزيم أدا يحول هذا المركب الأخير إلى مادة غير مؤذية هى الإينوزين inosine . وغياب أدا يغرق الجسم فى فيض من الديوكسى أدينوزين ، وينتهى بالقضاء على مقاومة الجسم لأى ميكروب يغزوه . مرض نقص أدا يشبه فى الحقيقة مرض الإيدز AIDS تماماً ، سوى أنه وراثى لايعدى وليس مكتسباً .

تقوم الخلايا الجذعية stem cells فى العظام بتصميم ضربين من خلايا " ت " ، التى تنتقل إلى الغدة التيموسية thymus حيث يتم إنضاجها (ومن الحرف الأول لاسم هذه الغدة أخذت الخلايا اسمها) . وضرّبا خلايا " ت " – ويوجدان طبيعيا بنفس النسبة – هما الخلايا المعاونة helper ووظيفتها أن تنبه جهاز المناعة بالجسم (ومنه خلايا ب B cells المنتجة للأجسام المضادة antibodies ، ومن هذه الأجسام : جلوبيولينات المناعة immunoglobulins التى تقاوم الفيروسات والبكتريا) ، أن تنبهه إلى أن شيئا ما ليس على ما يرام بالجسم – أن الجسم قد وقع تحت تهديد كائن مُمْرِض pathogen . يتم التنبيه بأن تفرز خلايا ت المعاونة هذه مواد تسمى

السيتوكينات cytokines ـ من بينها إنترلوكين ـ ٢ (إل ـ ٢) - interleukin 2 (IL-2) ، وجاما إنترفيرون gamma interferon وعامل نمو وتمايز خلايا ب .

ثم هناك الضرب الثانى من خلايا " ت " : الخلايا القاتلة killer cells ، التى تستجيب لنداء التحذير الصادر عن شقيقاتها من الخلايا المعاونة ، فتنطلق تتعقب المُمْرِضات وتلتهمها . وخلايا " ت " الناضجة تحيا بضعة أشهر ، لكنها تستطيع أن تنقسم لتحمل الخلايا الجديدة ، على أسطحها ، نفسَ " الذاكرة " القديمة لسنين طويلة ، ذاكرة اليقظة للتعامل مع التهديدات التى واجهت الخلايا الأم .

يكفى ١٠٪ من الإنتاج الطبيعى لإنزيم أدا لعلاج ضحايا هذا المرض . فهل يمكن أن يُحقن المريض بهذا الإنزيم ، مثلما يُحقن مرضى السكر يومياً بالإنسولين لتعويض عجز الجسم عن إنتاجه ؟ تقول المحاولات مع غير الإنسولين من بروتينات ، فى علاج أمراض وراثية أخرى ، إنها تفشل دائماً ، إذ تتحلل هذه البروتينات بسرعة أثناء دورانها فى الدم بسبب تكون أجسام مضادة لها ، وبسبب البلى . لكنا لا نتوقع إنتاج أجسام مضادة فى دم مرضى نقص أدا ، فجهازهم المناعى يكاد يكون معطلاً . فى أواخر عام ١٩٨٥ ، طلع العلماء بمادة يمكن أن يغلف بها الإنزيم فتحفظه سليماً وهو يدور فى الدم . كانت مادة التغليف هذه هى بولى إيثلين جليكول (بيج) polyethelene glycol (PEG) ـ ومن ثم أُنتج العقار بيج ـ أدا PEG - ADA . وعندما جُرب هذا العقار اتضح أنه لايفيد كثيراً ، فهو يمد عمر النصف half life لهذه الإنزيم إلى أسبوع لا أكثر ، ثم إن أجسام الأطفال المرضى ـ على الرغم من ضعف مناعتها ـ تطور ضده أجساماً مضادة قد تقتل الطفل ـ إذا تغاضينا عن الآلام الرهيبة التى يتعرض لها الطفل عند حقنه مرة كل أسبوع ، وعن تكاليف العلاج السنوية التى قد تصل إلى مائتى ألف دولار .

هنا اتجه التفكير إلى الهندسة الوراثية : إيلاج الجين المشفِّر لأدا فى الخلايا الجذعية لنخاع عظام المريض ، بعد أخذ عينات منه ، ثم إعادة زرعها فيه ، لتقوم الخلايا المطعمةُ بالجين الصحيح بإنتاج إنزيم أدا . لكن لماذا لاتُستخدم كرات الدم البيضاء ؟ تسحب عينة من دم الطفل المريض ، تُكَاثر منها خلايا الدم البيضاء فى مستنبت ، يولج جين أدا الطبيعى فى الكرات البيضاء هذه عن طريق فيروس ارتجاعى طُعِّم بالجين ، تُكَاثر الخلايا المحورة وراثياً بالبلايين ، لتُضَخ ثانية فى دم الطفل ، ربما مرة كل ثلاثة أشهر ، فتقوم بإنتاج الإنزيم فى الدم . نعالج الطفل كذا بالجينات ! علاج يُحقن فيه الطفل على فترات بكرات دمه المحورة وراثياً ، مثلما مرضى السكر يحقنون يوميا بالإنسولين ، ومرضى أنيميا البحر الابيض (الثالاسيميا thalassemia) يحقنون بالديسفيرال Desferal كل ليلة .

كان فريق أندرسون قد تمكن من زراعة خلايا ت فى المستنبت ، وكان قد تمكن بالفعل من تطعيم جين أدا الطبيعى فى المادة الوراثية لفيروس فئران ارتجاعى أزيلت منها الجينات المُمْرِضة ، وكان أن مزج هذا الفيروس بخلايا ت مستزرعة مأخوذة من ثلاثة أطفال مرضى ، فتمكن منها الفيروس ووصل إلى مادتها الوراثية واندمج بها وبه جين أدا . واختُبرت هذه الخلايا المحورة وراثياً فى المعمل . وضعت فى محلول به ديوكسى أدينوزين فحوّلته إلى اينوزين . ووُجد أنها تساعد خلايا ب فى إنتاج الأجسام المضادة . كانت الخلايا المطعمة بالجين المشفِّر لأدا تنتج هذا الإنزيم فعلاً ـ فى المعمل ، وكان معظمها من خلايا ت المعاونة .

صُممت التجربة بحيث يدمج الجين المشفِّر لأدا فى خلايا ب المأخوذة من دم أشانتى ، ويضاف إليها إنترلوكين ـ ٢ حتى يزداد تضاعفها ، وتترك هكذا أسبوعاً تُكَثَّر فيه ، ليُعاد حقنها فى دم الطفلة (١٠٠ مليون خلية / كيلوجرام من وزن الجسم) فى جرعات شهرية لمدة ستة أشهر . بعد هذه المرحلة الأولى تبدأ المرحلة الثانية ، التى تستمر ٩ ـ ١٢ شهراً ، يؤخذ فيها

من الطفلة كل شهر عينة دم وتتلقى جرعة من " الجينات " إنما بتركيز يتزايد حتى يصل فى نهاية المرحلة إلى ١ ـ ٣ بليون خلية / كجم من وزن الجسم ، ليستمر هكذا ، ربما لتزيد الفترة بين الجرعات إلى بضعة أشهر ، ولقد تظهر الخلايا ذات " الذاكرة " وتتزايد حتى " تشفى " الطفلة .

وفى الساعة الثانية عشرة واثنين وخمسين دقيقة ظهر يوم ١٤ سبتمبر ١٩٩٠ ـ ولفترة امتدت ٢٨ دقيقة ـ كانت تنساب إلى عروق الطفلة أشانتى بليون خلية من خلايا دمها بعد أن حُوِّرت وراثياً لتحمل الجين الطبيعى المشفِّر لإنزيم أدا .

وفى يوم ٣١ يناير من العام التالى (١٩٩١) قام نفس فريق العلماء بإجراء " العملية " لطفلة أخرى اسمها سينثيا كاطشول Cynthia Cutshall .

بعد أكثر من تسعة أشهر من إجراء " العملية " ، كانت خلايا ت فى دم أشانتى تصنع ٢٠ ـ ٢٥٪ من الإنتاج الطبيعى من الإنزيم أدا ـ أكثر بالفعل من المطلوب لتحقيق مستوى معقول من المناعة . أما خلايا سينثيا فكانت تصنع أقل من ذلك كثيراً ، وإن كان ما تنتجه يُضفى من المناعة ما يكفى . وضعت الفتاتان بعد ذلك تحت اختبارات لفحص استجابتهما للعديد من الأنتيجينات ، واتضح أن الجسم يستجيب بوضوح بالغ للعديد الذى جُرِّب من الأنتيجينات بإنتاج الأجسام المضادة . ثمة دليل ملموس يشير إلى نجاح العلاج بالجينات ـ ذاك هو أن يكبر حجم اللوزتين tonsils ، فهما تشكلان معسكراً مركزياً للمناعة . ولقد بدأ بالفعل جسم كل من الطفلتين ينمى اللوزتين بشكل واضح . أصبحت الطفلتان تمارسان الحياة الطبيعية لمن هم فى مثل عمرهما. نجح العلاج بالجينات .

ومنذ ذلك التاريخ طبقت تكنولوجيا العلاج بالجينات على المئات فى أمريكا وفى أوروبا بالنسبة للكثير من أمراض الدم الوراثية (ومنها نحو

٣٠٠ مرض يمكن نظرياً علاجها بالجينات) ، وبدأ التجريب لإيلاج الجينات المطلوبة فى الخلايا الجذعية . ثم بدأ التحرك نحو علاج أمراض أخرى وراثية بالجينات ـ غير الأمراض التى تتطلب استخدام خلايا الدم : استخدمت الجينات على خلايا الجلد والكبد والرئة والكلى والمعدة والعين ، بل وحتى المخ .

من الطبيعى أن يتجه العلاج بالجينات نحو الأمراض الوراثية التى تنتج عن عيب فى جين واحد ، يؤثر فى نمط واحد من الخلايا يمكن الوصول إليه لإزالته أو تبديله ، والأفضل بالطبع أن يكون الجين المسبب للمرض قد حُددت هُويته وكُلْوِن . ولعل أشهر الأمراض الوراثية المرشحة للعلاج بالجينات الآن هى : أنيميا الخلايا المنجلية sickle cell anemia ، والثالاسيميا بأنواعها (والجين المسئول فى الحالتين يقع على الكروموزوم ١١) والتليف الكيسى (الكروموزوم ٧) ، ومرض هنتنجتون (الكروموزوم ٤) ، وحثل دوتشين العضلى (كروموزوم الجنس س x) ، والبول الفينايل كيتونى (الكروموزوم ١٢) ، متلازمة ليش نيهان (كروموزوم س) ، مرض جوشر (الكروموزوم ١) ، مرض تاى ساكس (الكروموزوم ١٥) ، مرض نقص أدا (الكروموزوم ٢٠) ، فرط الكولسترول العائلى (الكروموزوم ١٩)

الكروموزوم البشرى الاصطناعى
artificial human chromosome

هناك بالكروموزومات ثلاثة ضروب من الدنا : الدنا الذى يشفر للمعلومات الوراثية (ويشكل معظم جسم الدنا الكروموزومى) ، ودنا التيلومير telomere (فكل كروموزوم يحدُه فى كلٍّ من طرفيه تيلومير أو قلنسوة تتألف من تتابعات دناوية مكررة آلاف المرات ، مهمتها الحد من تآكل الدنا المشفِّر ، ومنع الكروموزومات داخل النواة من الالتحام ببعضها بعضا) ، ثم دنا السنترومير centromere (الموجود عادة فى وسط الكروموزوم ،

والذى يرتبط بالمغزل spindle أثناء انقسام الخلية فيمكِّن نسخة الكروموزوم الجديدة من الانفصال عن الأصل) ، ويتألف هو الآخر من مكررات من تتابع دناوى قصير) .

تمكنت مجموعة من العلماء الأمريكيين ، عام ١٩٩٧ ، من تخليق كروموزوم بشرى اصطناعى ـ بأن أخذوا بعضا من دنا كرات دم بشرى بيضاء ، ثم قاموا بتصنيع تيلوميرين بربط آلاف من وحدات دناوية مُخلَّقة آليا ، كما صنعوا أيضا بنفس الطريقة سنتروميرا . غلفوا هذه المكونات الثلاثة بالليبيدات حتى يمكن تمريرها من غشاء الخلية ، ثم أولوجوها فى خلية سرطانية بشرية مرباة فى مستنبت ، فإذا بالخلية تقوم أوتوماتيكيا بتجميع هذه المكونات فى صورة كروموزوم اصطناعى ، ثم وجدوا أن هذا الكروموزوم الاصطناعى يورَّث ، عند انقسام الخلية ، الى الخلايا الجديدة ، تماماً مثل غيره من كروموزومات الخلية .

كان الكروموزوم الاصطناعى يورث ، وكان فعالاً .

يعتبر الكروموزوم البشرى الاصطناعى نقطة تحول فى علم وراثة الإنسان ، وسيفتح الباب واسعاً أمام علاج البشر بالجينات ، ففيه يمكن أن يُنقل الجين الذى يحتاجه المريض إلى خلايا دمه ، دون اللجوء إلى الفيروسات التى قد تولج مادتها الوراثية فى غير المكان الصحيح بكروموزومات خلايا الدم .

السوماتوستاتين
somatostatin

هذا الهرمون بروتين صغير (ببتيد) طوله ١٤ حمضاً أمينياً لا أكثر ، تصنعه غدة الهيبوثالامص hypothalamus ، ومهمته تثبيط إنتاج هرمون النمو من الفص الأمامى للغدة النخامية pituitary . كان هذا الهرمون هو أول

هرمون بشرى تنتجه بكتريا إ . كولاى . حدث هذا عام ١٩٧٧ . فى ذلك الوقت كان على العلماء الثلاثة الذين قاموا بهذا العمل (إيتاكيورا K. Itakura وبوليفار F.Bolivar وهربرت بوير H. Boyer أن يخلِّقوا الجين المشفِّر لهذا الهرمون من ٤٢ نوتيدة (١٤ × ٣) (بجانب عشر نوتيدات أخرى تحمل إشارات العمل) ، ولم يكن هذا بالأمر اليسير فى ذلك الجين . ثم إنهم أولجوا الجين فى بلازميد ليدخل جسم البكتيرة .

إذا لم نوفر لبكتريا إ . كولاى فى بيئتها سوى سكر اللاكتوز lactose ، نبه ذلك جيناً بها يختص بإنتاج إنزيم بيتاجالاكتوسيديز beta galactocidase الذى يحلل اللاكتوز إلى جالاكتوز وجلوكوز (والأخير هو السكر الذى تعشقه إ.كولاى) . والمنطقة من دنا البكتيرة القادرة على الإحساس باللاكتوز وعلى توجيه إنتاج الإنزيم المُحَلل تسمى أوبيرون لاك lac operon . نُقِل إذن هذا الأوبيرون ومعه الجين المسئول عن إنتاج إنزيم بيتاجالاكتوسيديز ملاصقاً للجين المصنِّع لهرمون السوماتوستاتين على بلازميدة (اسمها pBR322) أولجت فى البكتريا . عندما غذيت البكتريا على اللاكتوز وحده عمل الأوبيرون فبدأ الجين المشفر للإنزيم يعمل ، وعمل معه أيضا جين الهرمون ، ليُنتج الكثير من هذا البروتين . لكن كان من الضرورى " لحصد المحصول " من داخل البكتريا أن يتم فصل الإنزيم عن الهرمون ، كما كان من اللازم التغلب على اتجاه البكتريا إلى تحليل قدر كبير مما تنتجه من هذا الببتيد الغريب عليها إلى مكوناته من الأحماض الأمينية .

أمكن التغلب على هاتين المشكلتين بربط جين السوماتوستاتين بنهاية أحد جينات البكتيرة (جين زد z) بحيث يُقرأ تتابعه على أنه جزء من جين z . تنتج البكتيرة إذن بروتيناً طويلاً ، هو نتاج شفرة جينين معاً ، ثم إنها تفرزه خارجها ، حيث يمكن فصل السوماتوستاتين كيماوياً وجمعه ، دون الحاجة إلى تحطيم البكتيرة ـ ليتضح أن السوماتوستاتين الذى صنعته البكتريا مطابق تماماً للهرمون الذى ينتجه الجسم البشرى . كانت هذه أول مرة يُصنَّع فيها جين آدمى وأول مرة تنتج فيها بكتريا بروتينات آدمية .

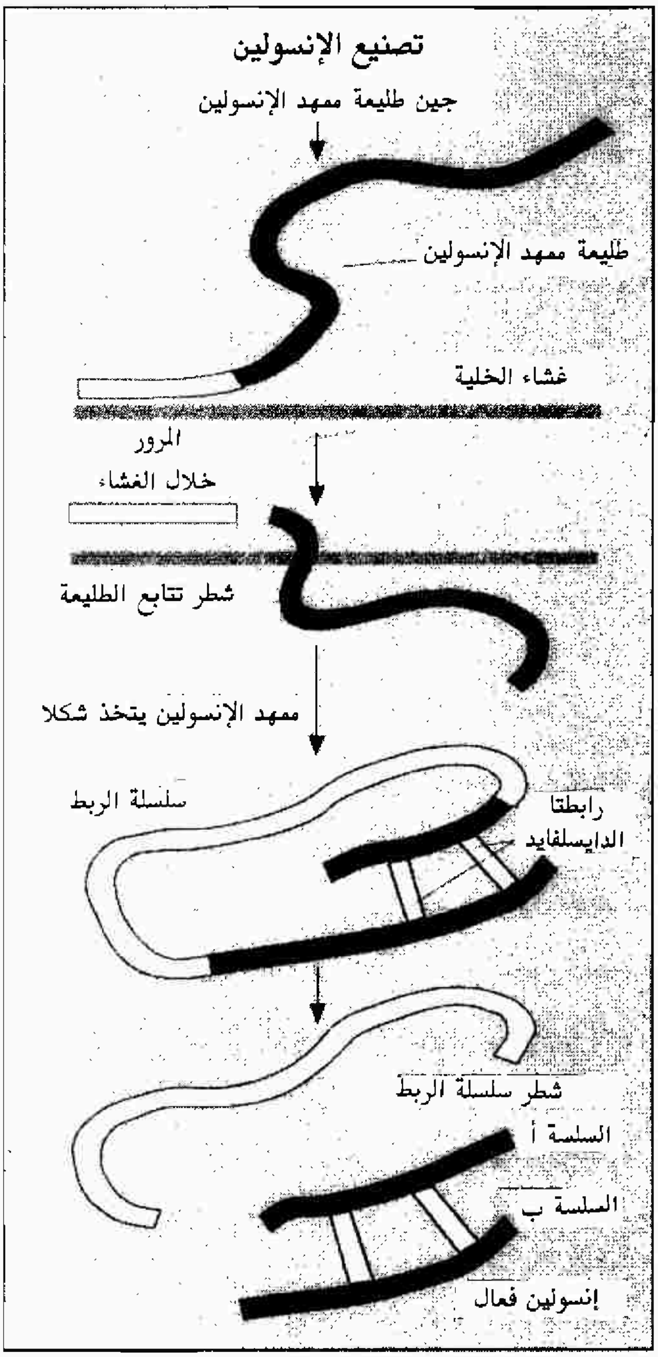
الإنســـوليـــن
insulin

الإنسولين البشرى من أثمن البروتينات العلاجية . هو هرمون تفرزه خلايا بيتا فى جزر لانجرهانس islets of Langerhans بالبنكرياس ووظيفته التحكم فى مستوى السكر فى الدم ، وقد اكتشفه عام ١٩٢٣ عالمان (بانتج وبست F.G. Banting & C.H. Best) إذ وجدا أن مرض السكر diabetes يرجع إلى عجز فى إنتاج الجسم للإنسولين . ولقد مكّنت حقَن الإنسولين اليومية الملايين من حياة تكاد تكون طبيعية . استُخدمت غدد البنكرياس من الماشية والخنازير ـ التى تجمع من المجازر ـ فى توفير الإنسولين للبشر . وإنسولين الماشية يشبه كثيراً الإنسولين البشرى ، لكنه لا يطابقه ، فهناك اختلاف فى ثلاثة أحماض أمينية بينهما (اثنين فى السلسلة أ وواحد فى السلسلة ب) . وهناك من المرضى من يكشف جهازهم المناعى هذا الفارق الطفيف ، فتصنع أجسادهم أجساماً مضادة له antibodies . فى هؤلاء ، قد تعادل الأجسام المضادة فِعْلَ الإنسولين ، ومن ثم يحتاجون إلى جرعات من الإنسولين أعلى ، ثم إنه قد يسبب التهابا كريها وورماً مؤلماً فى موضع الحقْن الذى يتكرر يومياً .

فإذا تذكرنا أن تعداد من يصابون بهذا المرض فى تزايد ، بسبب ضغوط الحياة وتغير العادات الغذائية والانفجار السكانى ، أدركنا ضرورة إيجاد مخرج . من الممكن أن يجرى تصنيع هرمون الإنسولين كيمياوياً ، لكن سعره سيكون مستحيلاً . ومن الممكن أن نغير ـ بالتمثيل البيولوجى biosynthesis ـ أحدَ الأحماض الأمينية فى إنسولين الخنزير لننتج إنزيماً لا يسبب إزعاجاً كثيراً ، لكن مثل هذا الإنزيم سيحمل كميات من شوائب من بنكرياس الخنزير . ولقد فتحت تكنولوجيا الدنا المطعم الطريق لحل المشكلة .

نبدأ الخلية البشرية فى خلايا البنكرياس صناعة الإنزيم بإنتاج مايسمى طليعة مُمهّد الإنسولين preproinsulin ، وهذا شريط بروتينى طويل له ذيل

يمكن هذا الجزىء من المرور عبر الغشاء الخلوى ، ثم ينفصل ، ليتحول الجزىء إلى ممهد الإنسولين proinsulin . يحمل هذا الجزىء ٨٤ حمضاً أمينياً ، تقوم إنزيمات فى البنكرياس ببتر ٣٣ حمضا منها ليتبقى جزىء الإنسولين البشرى العامل ـ فى صورة سلسلتين : السلسلة أ من ٢١ حمضا أمينيا ، والسلسلة ب من ٣٠ حمضا ، تربطهما رابطتان من الدايسلفايد disulfide bridges . يصعب حقاً أن نتخيل أن تتمكن خلية البكتريا من إنتاج وتحوير جزىء طليعة ممهد الإنسولين ، لتعالجه حتى تعطى الإنسولين ، إذا ما أولجنا بها الجين المشفر : فليس لديها مؤكدا الآلية اللازمة لذلك . لكن العلماء خلّقوا جزىء دنا يشفّر لسلسلتى أ ، ب يربطهما كودون أ ث ج (المشفر لحمض الميثيونين) ويتصل بهما جين بكتيرى أيضاً عن طريق كودون أ ث ج . أولج هذا الجين التركيبى المكبر فى بلازميد ، وأُدخل فى البكتريا ، لتنتج بروتيناً مختلطاً يتألف من سلسلتى الإنسولين متصلتين ومتصلاً بهما البروتين الذى يشفّر له جين البكتريا ـ وموقعا الاتصال يحملان حمض الميثيونين . سلسلتا الإنسولين لا تحملان أصلاً هذا الحمض . هنا يضاف بروميد السيانوجين cyanogen bromide الذى يحطم الميثيونين ، فينقسم جزىء البروتين الطويل إلى قِطَعِه الثلاث ، لتوصل سلسلتا الإنسولين بعد ذلك فى تفاعل يكوّن قنطرتى الدايسلفايد بينهما . يمكن للبكتريا إذا أُحسنت هندستها أن تنتج من الإنسولين البشرى ما تتورم منه . يُسوّق الآن ، ومنذ عام ١٩٨٢ ، الإنسولين البشرى الناتج عن البكتريا (تحت اسم هوميلين humulin) ، وقد أوضح استعماله أنه بالفعل مأمون وفعّال .



الشكل رقم (١٦)

ينتج الانسولين المُهنّدس وراثياً بأن نبدأ من تتابع الأحماض الأمينية فى سلسلتى الإنسولين ، ومنها نعرف تتابع القواعد فى جين كل سلسلة فنُركِبه بالماكينة ، وندفع بالسلسلتين إلى البكتيريا

هرمون النمــو البشــرى
human growth hormone

وهرمون النمو البشرى ، أو السوماتوتروبين البشرى somatotropin ، جزىء آخر من الجزيئات العلاجية الثمينة . هذا هرمون تفرزه الغدة النخامية ، يبلغ طوله ١٩١ حمضاً أمينيا (أى نحو أربعة عشر ضعف طول بروتين السوماتوستاتين البشرى) ، ويقوم بحفز نمو الخلايا والأنسجة . تؤدى زيادة افرازه فى الجسم إلى العَمْلَقَة gigantism ، مع تضخم ملحوظ فى اليدين والقدمين والذقن ، ومتاعب فى العظام والمفاصل عند الكِبَر . فإذا لم تنتج النخامية منه مايكفى ـ لسبب وراثى أو مرضى ـ تحول الفرد إلى قزم . ولم يكن ثمة علاج للأطفال المصابين بالقزمية dwarfism الوراثية (وهناك طفل بين كل ٥٠٠٠ وليد يعانى من نقص هذا الهرمون) إلا الحقْن المنتظم بهذا الهرمون ، الذى كان يُستخلَص من الغدد النخامية للموتى بالمستشفيات عن طريق تقنية كيماوية مجهدة . كان هذا العلاج يكلف كثيراً ، إذ يحتاج الطفل فى العام غددَ نحو سبعين جثة . وفى أوائل الثمانينات كشف عن إصابة ثلاثة ـ كانوا قد عولجوا بالهرمون المستخلص من جثث الموتى ـ بمرض كرويتسفلد جاكوب Kreutzfeld - Jacob (الذى يصيب المخ ويشبه كثيراً مرض جنون البقر) ، نُقِل إليهم فيروسه البطىء slow virus من نخامية مريض مات بهذا المرض ـ لتظهر الأعراض بعد نحو ثلاثين عاماً . وهنا حُظِر استخلاص الهرمون من الجثث .

تم إيلاج الجين البشرى المسئول عن هذا الهرمون فى بكتريا إ.كولاى عام ١٩٧٩ ، لتُنتج هى منه نوعيّة تفضل المستخلصة من الجثث كثيراً . تُنتج هذا الهرمون الآن من البكتريا ثلاث شركات على الأقل ليستخدم فى علاج القزمية وفى الإسراع من التئام الجروح والكسور والحروق . ولقد يستعمل أيضاً فى " التخسيس " ، بالنظر إلى ماله من قدرة على تشجيع تكوين العضلات لا الدهون (يستخدمه بعض الرياضيين لزيادة حجم عضلاتهم) ـ وهذا مجال خَطِر ـ ستكون له بالتأكيد سوق واسعة ـ لكنه يتطلب التمهل والحذر .

فى بداية الأمر ، لوحظ أن للهرمون الذى تنتجه البكتريا آثاراً جانبية ، اتضح أنها ترجع إلى تلوثه بمركب كيماوى من جدر خلايا البكتريا ، سامٍ إذا وصل دم الإنسان . يظهر هذا المركب فى الهرمون لأن البكتريا تنتجه داخل خلاياها ، ويلزم تحطيمها لاستخلاصه . أمكن التغلب على المشكلة ، لتؤكد ضرورة أن يولى المهندس الوراثى اهتمامه إلى ما تنتجه البكتريا من بروتينات بشرية .

الإنترفيرون
interferon

لاحظ أليك إيزاكس Alick Isaacs أن نمو فيروس داخل الخلايا يمنع نمو فيروس آخر فيها . اكتشف عام ١٩٥٧ هو والسويسرى جين لينديمان Jean Lindemann أن الخلايا المصابة بالفيروس الأول تفرز مادة مضادة (إنترفيرون) توقف نمو الفيروس الثانى يمكن العثور عليها فى السوائل حول النسيج وفى الدم . بسرعة اعتُبر الإنترفيونُ النظيرَ للمضادات الحيوية antibiotics للبكتريا ـ فهذه تقتل البكتريا ولكنها لا تؤذى الفيروسات .

غدا الإنترفيرون إذن من البيولوجيكيات biologicals المحتملة ، حتى بعد أن اتضح أنه نوعىّ تماما : فإنترفيرون الفأر مثلاً لايصلح إلا للفأر ولايحمى الإنسان ـ ومعنى هذا أننا لانستطيع استخدام الحيوان فى إنتاج إنترفيرون يصلح للبشر ، إنما يلزم أن نستخلصه من خلايا بشرية تنمى فى مستنبت فى المعمل ـ وحتى هنا سيكون القدر الذى تنتجه الخلايا البشرية ، كما اتضح ، ضئيلاً جداً ، الأمر الذى يزيد من مجهود إنتاجه كعلاج ويرفع ثمنه . (يمكن من ٤٥ ألف لتر من الدم استخلاص عُشْر جرام من الإنترفيرون النقى لا أكثر) . لكن الاهتمام بالإنترفيرون ظل يزداد بعد أن اكتُشف أنه يحث الخلايا المصابة بالفيروسات على تمثيل جزيئات تقاومها ، وينبه الجهاز المناعى لإنتاج خلايا " ت " ، مثلما ينبهه إلى مقاومة بعض

النموات السرطانية . غير أن الإنترفيرون ظل بعيداً عن حقل التجريب الواسع ، لقلة المتوفر منه وارتفاع سعره وانخفاض نقاوته .

وفى عام ١٩٨٠ تمكنت ثلاث مجموعات من العلماء (كل على حدة) من انتاجه نقيا بتكنولوجيا الدنا المطعَّم . ظهر فى البداية أن منه ثلاثة ضروب (ألفا وبيتا وجاما) (تقوم كرات الدم بتخليق ألفا ، والأرومة الليفية بتخليق بيتا وخلايا " ت " بتخليق جاما) . ـ لكن عدد الضروب قد تعدى الآن عشرة ، بينها اختلافات ضئيلة فى مقاومة الفيروسات وفى تنبيه الجهاز المناعى . كما ظهر أنه ليس فى الحق بالدواء السحرى الذى كان متوقعاً ، لكنه يفيد فى اندمال الجروح والتئام كسور العظام وعلاج الحروق والتقرحات ، كما يدخل الآن فى علاج بعض أنواع السرطانات (منها ساركوما كابوسى Kaposis's sarcoma ، وبعض سرطانات الكُلية ، والميلانوما ، ولوكيميا النخاع الشوكى المزمنة) ، وأمراض المناعة الذاتية ، وثآليل الأمراض التناسلية ، وإن كانت له ـ بالجرعات الكبيرة ـ آثار جانبية بغيضة .

البلازمينوجين
plasminogen

مرض القلب هو القاتل الأول فى مجتمعات الغرب اليوم ـ واحد من بين كل اثنين هناك يموت بسبب مضاعفات هذا المرض ، وتتزايد ضحاياه الآن فى العالم الثالث . ينشأ تصلب الشرايين عن الترسيب المستمر للكولسترول cholestrol على جدر الشرايين ، لاسيما منها المتوسطة والكبيرة الحجم ، ومن هنا خطورته .

والكولسترول مادة حيوية ضرورية جداً للحياة ، يصنع الكبد منها ٧٥٪ ويأتى الباقى من الغذاء ، عادة من الدهون الحيوانية ، إذ تخلو منه المنتجات النباتية تماماً . من هذه المادة تصنع خلايا الجسم أغشيتها ، وتصنع

الغدة الكُظْرِية adrenal والأعضاء الجنسية هرمونات غاية فـي الأهميـة ، ثـم إنها مكوِّن رئيسى فى تشكيل أملاح الصفراء وفيتامين د . يجرى الكولسترول فى الدم ليصل إلى الخلايا التى تستخدمه وتطلقه إلى الدم ثانية بعـد الاستخدام ليعود إلى الكبد ، فيتخلص منـه أو يعيـد تدويره . ولما كـان الكولسترول لا يذوب فى الماء ، فإنه لايمر من أغشية الخلايا إليها إلا عندما تسمح لـه بذلك سلسلة من المستقبلات receptors . فإذا حدث وترسب الكولسترول فى موقـع بشريان ، ولم يستطع تيار الدم أن يغسله ، ولم يجد الجسم من المذيبات القـدر الذى يحلله ، بقى فى مكانه مكونا لطخة ، تتزايد مـع الوقـت حتـى ليغدو من الصعب إزالتها ، بينما هى تسد مجرى الدم فى الوعاء رويداً رويداً . فـإذا ما وقع ذلك فى شـبكة الشرايين التاجيـة التـى تغذى القلب ، قلَّ مـا يصـل إلـى عضلة القلب من الأكسجين ـ عادة دون أن يشـعر الفـرد . قـد يبدأ مثـل هـذا الترسيب الغادر البطىء من الطفولـة ، لكـن أعراضـها لاتظهر عـادة إلا فـى أواسط العمر ـ والرجال أكثر تعرضاً له من النساء . يحدث أن تتكون أحيانـاً جلطة دموية فى مكان اللطخة بالشبكة التاجية فتـؤدى إلـى شـبه انسداد . هنـا يحس المريض بآلام هائلة فى الصدر تعلن عن نوبة قلبية . وإذا ما حدث ذلك فى الشرايين السباتية carotid arteries وقعت السكتة الدماغية stroke . فـإذا لم يمكن إعادة تيار الدم إلى العضلـة ، ماتت ، ليحـل محلهـا ــ إذا لم يتـوفَّ المريض ـ نسيجاً ليفياً لايمكن أن ينقبض كعضلة القلـب السـليمة ، ولـذا يظـل القلب طول حياة المريض يضخ الدم بصورة عاجزة .

هناك إذن علاقة وثيقة جداً بين مرض القلب وبين كولسترول الدم ــ وبينه وبين الدهون المشبعة . ولما كان الكولسترول لايـذوب فـى المـاء ، فقد جهـز لـه الجسـم أسطولاً مـن نـاقلات تسمى الليبوبروتينـات lipoproteins ، يمكنها أن تسبح بحُرِّيَّة فى بلازما الدم وهـى تحملـه ــ كمـا تقوم أيضـاً بنقل الدهون التى نأكلها مـن الأمعـاء إلـى الكبد . هنـاك من الليبوبروتينـات أربـع صور ، كلّ منها يعبر عن مرحلة فى تحولها ، ولكل منها دوره . فأما الأولى

فهى الليبوبروتين ذو الكفاءة المنخفضة جداً very low density lipoprotein (VLDL) ، وهذه تحتوى بجانب الكولسترول على ترايجلسريدات triglycerides – أكثر أنواع الدهون المشبعة وجوداً فى غذائنا . يخرج هذا الليبوبروتين إذن من الكبد محملاً بالكولسترول والترايجلسريدات ، ليترك حمولة من هذه الأخيرة فى محطات على طول الطريق حيث يحرق لإنتاج الطاقة أو يخزن كدهون . عندما تقل الحمولة من الجلسريدات تقل كثافة الليبوبروتينات وتصبح متوسطة intermediate – الصورة الثانية – ليعود البعض منها إلى الكبد للاستيعاب ، وتبقى فى تيار الدم الصورة الثالثة : الليبوبروتين منخفض الكثافة (L D L) low density – وهذه هى الصورة التى تنقل الكولسترول إلى خلايا الجسم لتصنع منه أغشيتها أو تركّب منه هرمونات . ومعظم ما يحمله الجسم من كولسترول (٧٥ – ٨٠٪ منه) موجود فى شاحنات الليبوبروتين منخفض الكثافة هذا . والمستوى المرتفع من هذا الليبوبروتين فى الدم هو الذى يرتبط بزيادة الإصابة بتصلب شرايين القلب . [توجد على أسطح الخلايا مستقبلات تسمح لجزئيات هذا الليبوبروتين بالولوج إلى داخل الخلية . يشفر لهذه المستقبلات جين ، يقع على الكروموزوم ١٩ . وفساد هذا الجين يسبب " فرط الكولسترول " فى الدم – وهذا واحد من أخطر الأمراض الوراثية] . وعندما تتخلص الخلايا من الليبوبروتين بعد استخدامه ، يخرج إلى الدم فى صورة ليبوبروتين عالى الكثافة H D L (الصورة الرابعة) ، حيث يتشرب ما يجده من كولسترول كالاسفنج وينتفخ ، ليمضى فى طريقه إلى الكبد حيث يتحلل أو يعاد تدويره .

يعرف الليبوبروتين منخفض الكثافة بقدرته على ترسيب الكولسترول فى الشرايين – ومن ثم يقال إنه " خبيث " ، أما الليبوبروتين عالى الكثافة فهو الصورة " الطيبة " ، لأنه الوسيلة التى يخرج بها الكولسترول من الحلبة . ولقد اتضح بالفعل أنه كلما ازداد الليبوبروتين عالى الكثافة فى الجسم كلما قلت القابلية للإصابة بمرض القلب – فارتفاع نسبته تعنى ارتفاع كفاءة

التخلص من الكولسترول . والحق أن هناك من هذا الليبوبروتين عالى الكثافة ثلاثة أشكال (١ ، ٢ ، ٣) ، وزيادة نسبة الشكل الثانى وحده هى التى ترتبط بانخفاض نسبة الإصابة بمرض القلب . (اتضح أن الرياضة البدنية ترفع من نسبة هذا الشكل الثانى بالذات) . ولما كان المكون الأساسى فى الليبوبروتين منخفض الكثافة هو الأبوليبوبروتين ب apolipoprotein B ، بينما يكون فى الليبوبروتين عالى الكثافة هو الأبوليبوبروتين أ ـ ١ ، فقد اتُخِذ هذان أساساً فى التحاليل الاكلينيكية .

ولقد عُزِل جين بشرى يشفر للأبوليبوبروتين أ ـ ١ ، لتُستخدم تكنولوجيا الدنا المطعم فى انتاجه بكميات وفيرة تكفى لاستعماله لمن يتميزون بمستوى منخفض من الليبوبروتين عالى الكثافة ، إذ يقلل من خطر إصابتهم بالنوبات القلبية .

لكن الجسم ينتج طبيعياً بروتيناً ثميناً يقوم بإذابة جلطات الدم إذا وقعت حيثما لايجب ، غير أنه يفرزها بكميات غاية فى الضآلة تكفى فقط لإجراء عملية " التنظيف " الروتينية . لو أمكن تصنيع هذا الجزىء الحيوى بكميات وفيرة لأصبح عقاراً سحرياً غاية فى الأهمية . فالجسم يعرفه . يسمى هذا البروتين " منشط بلازمينوجين الأنسجة " tissue plasminogen activator . ولقد تمكنت إحدى الشركات الكبرى من إنتاج كميات تسويقية منه ، بعد تطعيم الجين المشفِّر فى ناقل أولج إلى خلايا ثدييات مستزرعة (ويُسَوَّقُ تحت اسم أكتيفيز activase) وظهر بالفعل أن حقْن الأكتيفيز فى غضون أربع ساعات من حدوث الأزمة القلبية يذيب الجلطة بسرعة ويعيد لعضلة القلب نصيبها من الدم . لكن سعره كان مرتفعاً للغاية (٢٠٠٠ دولار للجرعة) ، كما اتضح أن نشاطه لايستمر بعد الحقن إلا فترة قصيرة ، فثمة جزىء مثبط له inhibitor يوجد طبيعياً فى الدم ـ مما يفسر المعدل المرتفع من الجلطات بعد استعماله بفترة . هنا قفزت جماعة أخرى من العلماء إلى

العمل ، فصمموا عام ١٩٨٩ جزيئاً جديداً من منشط بلازمينوجين الأنسجة ، حوروا فى الواقع من التركيب الجزيئى لهذا المنشط وأنتجوا جزيئاً جديداً لم يكن له من قبل وجود . كان هذا الجزىء يذيب الجلطات تماماً مثل الأكتيفيز. لكن حساسيته للمثبط الموجود فى الدم أقل كثيراً ، ومن ثم يبقى لفترة أطول .

بدأت البيوتكنولوجيا تنتج عقاراتٍ مبتكرة ، تُهَنْدِس جزيئات بروتينية جديدة تماماً لم يسبق أن وجدت بالطبيعة .

مسابر التشخيص الوراثى
probes

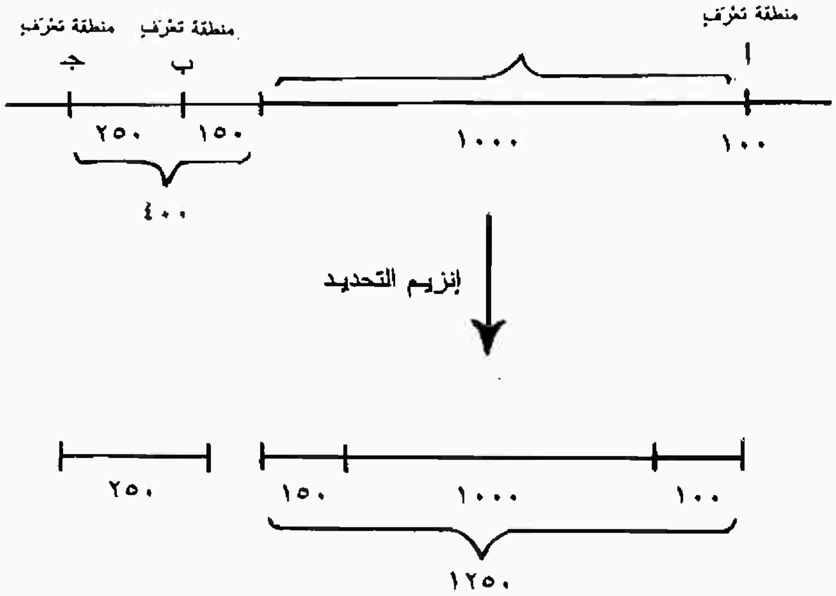
يمكن لتقنيات معالجة الدنا أن تُسهم كثيراً فى تشخيص الأمراض الوراثية فى الإنسان . تنشأ الأمراض الوراثية عن عيوب فى الدنا ، تتابعات دناوية تحولت – طفرت – فتغير نظامها ولم تعد تنتج البروتين الذى يشفر له الجين الطبيعى ، أو أصبحت تنتجه بكميات أقل فلا توفر المطلوب منها للجسم ، أو غدت تنتج بروتيناً آخر ضاراً . يمكن إذن أن نتجه فى التشخيص إلى تسلسل النوتيدات فى الجين لنرى إن كان قد تغير – قياساً إلى نموذج تسلسلٍ طبيعى نعرفه للجين . نلجأ هنا إلى خصيصة التكامل الجزيئى بين القواعد المؤلفة للدنا (أ دائما مع ث ، ج دائما مع س) – إلى طريقة تسمى تهجين الحمض النووى . إذ تُحَضَّر سلاسل مفردة (لامزدوجة) تحمل القواعد المكملة للتتابع المطلوب سبره ، ثم أننا نشععها ، لتصبح مسابر مُشعة ، ثم نمزجها بالدنا المطلوب التشخيص فيه ، والمجهَّز أيضاً فى صورة جدائل مفردة . ستهجَّن – أى تلتحم – جدائل المسبر المشععة فقط ، بالجدائل المكملة لها إن كانت موجودة (ولن تمس غيرها) لتكوّن لوالب مزدوجة هجينة يمكن كشفها بعد التفريد الكهربائى electrophoresis . بل وقد يستعمل تهجين الدنا فى معرفة موقع الجين والكروموزوم الذى يحمله ، فى تقنية تسمى التهجين فى الموقع in situ hybridization . إذ تؤخذ مثلاً دهكة من دنا خلية بشرية ،

ثم تعامل لفصل اللوالب المزدوجة للكروموزومات إلى جدائل مفردة ، لتعالج بالمسبر المشع للجين ، ثم تؤخذ صورة اشعاعية . ستشتبك المسابر المشعة بالجين فى موقعه ، وتظهر فى الصورة بقعة سوداء تحدد مكانه وتحدد الكروموزوم الذى يحمله . وقد نجحت هذه الطريقة عام ١٩٨١ ، بعد تحسينها ، فى تحديد موقع الجين المشفر للإنسولين على طرف الذراع القصير للكروموزوم البشرى رقم ١١ .

إذا كان العطب الوراثى قد نشأ عن طفرة نقطية بجين يحمل فى تتابعه موقع تعَرُّفٍ لأحد إنزيمات التحديد ، كان من السهل التشخيص بالمسابر تشخيصا مباشراً . جين بيتا جلوبين فى الإنسان مثلاً طوله ٣٧٦ زوجاً من القواعد (زق) ، وهو يحمل التتابع ٥َ ــ س . ث ج أ ج الذى يتعرف عليه إنزيم التحديد Dde I . إذا عُرِّض الجين الطبيعى لهذا الإنزيم شَطَرَه إلى مقطعين يختلفان طولاً : واحد طوله ٢٠١ زق والآخر طوله ١٧٥ زق . تُعْطِب هذا الجينَ طفرةٌ نقطية تحول القاعدة أ ، فى تتابع التعرف داخله ، إلى ث ، وتتسبب فى مرض أنيميا الخلايا المنجلية sickle cell anaemia . فإذا استخدمنا مسابر مشعة لجين بيتا الطبيعى ، على عينة من دنا يحمل هذا الجين عُرِّضت لفعل إنزيم التحديد هذا ، ثم قمنا بالتفريد الكهربائى للناتج ، ظهرت لنا لطختان مشعتان قصيرتان متتاليتان . أما عينات الدنا النظيرة المأخوذة من خلايا دم شخص منجلى ، فلن ينشطر تتابع الجين فيها بفعل الإنزيم ـ لأن الإنزيم لن يجد التتابع الذى يعرفه فقد غيرته الطفرة ، وبذا فستظهر عن التفريد الكهربائى لطخة واحدة كبيرة تشمل الجين كله . (وربما كان لنا هنا أن نلاحظ ان تحولاً بسيطاً ـ لايزيد على نوتيدة واحدة ـ كان هو الفرق بين الصحة والمرض) .

والحقيقة أننا نستطيع أن تستخدم الرفليبات هذه فى التشخيص حتى لو لم تقع الطفرة داخل الجين (مثلما كان الوضع فى الأنيميا المنجلية) وإنما فى منطقة متاخمة للجين على الدنا . فنحن نعرف الآن موقع أكثر من ألفى

رفليب منثورة على طول كروموزومات الانسان (والمجهودات جارية لزيادتها) . ولكى تتضح الطريقة دعنا نفترض أن جينا يهمنا (لأن طفوره يسبب مثلاً مرضا وراثياً) يكمن فى منطقة ما على كروموزوم طولها ١٠٠٠ زق . لنفترض الآن أن إلى اليمين على مقربة من هذه المنطقة التى تحمل الجين (الطبيعى) موقعَ تعرّفٍ (أ) لإنزيم تحديد معين يبتره فى منتصفه عند نوتيدة تبعد عن منطقة الجين ١٠٠ زق (مثلاً إنزيم HaeIII الذى يبتر التتابع ٥َ - ج ج . س س مابين ج الثانية و س الأولى) ، وأن إلى يسارها موقعين مماثلين (ب ، ج) على مبعدة ١٥٠ و ٤٠٠ زق على التوالى :



إذا استخدمنا إنزيم التحديد إذن على دنا أفراد طبيعيين (غير مصابين بالمرض) فإنا نتوقع أن ينشطر هذا الامتداد إلى جزءين ، واحدٍ طوله ١٢٥٠ زق [١٠٠٠ زق (منطقة الجين) + ١٠٠ زق + ١٥٠ زق (إلى اليسار)] ، والآخر طوله ٢٥٠ زق (مابين ب ، جـ) . يعرفنا التفريد الكهربائى بهذا إذ تظهر لطختان واضحتان يختلفان حجماً .

افترض الآن أننا عرّضنا دنا أفراد يحملون المرض ، إلى إنزيم التحديد ، فكانت النتيجة لطخة واحدة كبيرة ، قطعة واحدة طولها ١٥٠٠ زق

(١٠٠ + ١٠٠٠ + ١٥٠ + ٢٥٠) . هنا نستطيع القول إن طفرة قد حدثت بموقع التعرف (ب) غيرت من التتابع فيه فلم يستطع إنزيم التحديد التعرف عليه ، ولم يبتره ـ وإنما بتَر فقط عند الموقعين أ ، جـ . ومعنى هذا أن موقع التعرف ب أقرب إلى الجين المعنى من الرفليب جـ (وأن منطقة الجين تقع ما بين أ ، ب) ـ نعنى أننا نستطيع أن نستخدم الموقع ب كواسم ، " جين طافر " قريب مرتبط بجين المرض .

طبيعى أننا سنبدأ العمل غير عارفين بالمسافات فى الخريطة التى وُضِعت للتوضيح ، وليس لدينا سوى خريطة مواقع التحديد للرفليبات توضح أماكن تعرف إنزيم التحديد الذى سنستخدمه . فإذا لاحظنا أننا إذا عرضنا للإنزيم دنا عدد معقول من المرضى مسحوبٍ من عائلة ممتدة extended family معروفة بالمرض ، وظهرت دائما فى مكان ما عند التفريد الكهربائى لطخة أكبر مما تقول به الخريطة ، عرفنا بوجود طفرة فى دنا المرضى بهذا الموقع الأوسط ، وأن موقع التحديد الطافر يقع بجوار الجين ، ويمكن أن يُستخدم فى تشخيص وجود هذا الجين المرضى أى كدليل على وجوده ـ أى نشخِّص وجود الطفرة الرفليبية دليلاً على وجود الجين المرضى الذى لانعرف تركيبه بالضبط . لكن علينا أن نلاحظ حدود هذا التشخيص : فلقد يحدث تأشيب recombination (فى الخلايا الجنسية لمن يحمل الجين المرضى من الأبوين) ما بين هذا الجين المرضى وبين موقع التعرف الطافر للإنزيم ، فلا يظهران سوياً فى دنا المريض . تتوقف نسبة هذا التأشيب بالطبع على بُعد الجين عن موقع التعرف (فتزداد بزيادته) . ومعنى حدوث التأشيب هو أن يظهر فرد غير مريض يحمل الرفليب الطافر ، أو يظهر مريض لا يحمله .

تتحدد المادة الوراثية للفرد عند إخصاب الحيوان المنوى للبويضة وتكوين الزيجوت . ومن الممكن إذا توفرت المسابر الملائمة لجين مرض وراثى أن يكشف عن وجوده فى الجنين قبل الولادة ، إذا كان ثمة ما يدعو

إلى ذلك ، حتى تنتبه الأم فتفكر فى أمر الإجهاض أو إبقاء الحمل . كما أن مثل هذه المسابر قد تُستخدم فى كشف حمل بعض الأفراد جينات مرضية لا يظهر أثرها إلا فى عمر متقدم ، مثل مرض هنتنجتون Huntington . فالجين المسئول عن هذا المرض ـ وهو سائد ـ لايبدأ فى الإفصاح عن نفسه إلا فى نحو سن الأربعين ، وهو مرض قاتل ، يصيب الفرد أولاً بالاكتئاب ، ثم فقدان السيطرة على العضلات ، لينتهى بتدهور عقلى فظيع يتقدم ، حتى الموت . وحامل الجين لابد أن يصاب بالمرض ـ عادة بعد أن يكون قد أنجب . وكشف وجود الجين فى سن العشرين مثلاً لايعنى بالنسبة لحامله إلا أن يعرف أن جيناته قد حكمت عليه بالموت بهذه الميتة البشعة بعد نحو عشرين عاماً ـ حتى ليحاول الكثيرون ممن يخبرهم التشخيص الوراثى بأنهم يحملون الجين أن ينتحروا . قد يتسبب التشخيص الوراثى إذن فى مشاكل إنسانية وأخلاقية يلزم مواجهتها .

الفاكسينات
vaccines

للجسم جهاز مناعى مهمته الدفاع ضد الأمراض المعدية ـــ لذا فإن أخطر الأمراض هو ما يصيب هذا الجهاز (كالإيدز) إذ يتركه فريسة سهلة لأى كائن مُمْرِض يغزوه . إذا ما استثار الجهازَ المناعى كائنٌ ممرض غزا الجسم ، قامت خلايا الدم بإنتاج أجسام مضادة antibodies خاصةٍ لمواجهته وتسهيل القضاء عليه ، وقد تُضفى المناعة ضده بالذات لفترات طويلة . من الممكن أن يُستثار الجهاز المناعى لإنتاج الأجسام المضادة ضد الميكروب قبل أن يُصاب الفرد به ، وذلك عن طريق التحصين بالفاكسينات . تعمل الفاكسينات بالجسم لأن كرات الدم البيضاء لا يلزمها وجود نفس الكائن الحى المُمْرِض حتى تنتج الأجسام المضادة له ، فما يستحث كراتِ الدم البيضاء فى الواقع هى جزيئات نوعية خاصة توجد على غلافه أو بجوفه تسمى الأنتيجينات antigens (ولكل أنتيجين جسم مضاد خاص) ، والتحصين

بالفاكسينات يعنى إدخال هذه الأنتيجينات إلى الجسم قبل الإصابة ، بطريقة مأمونه ، كى يُستَحَثّ وينتج الأجسام المضادة ، حتى إذا حدث وغزا الميكروب الجسم وَجَدَه مجهزاً ومستعداً بالفعل لمواجهته .

هناك طرق ثلاث معروفة لتحضير الفاكسينات . أولها أن نستعمل ماقد نجده فى الطبيعة من أقارب للكائن الممرض تكون غير مؤذية ، أو أن نستنبط سلالةً من هذا الكائن مستضعفةً attenuated لاتؤذى . ونجاح مثل هذه الفاكسينات الحية يرجع إلى أنها تحمل واحداً أو أكثر من الأنتيجينات التى يحملها الميكروب الممرض . ومن أمثلة هذه الفاكسينات فاكسين الجدرى smallpox . [وجد أن أجساد نحو نصف من يصابون بفيروس العنز caprine arthritis encephalitis (C A E V) تنتج أيضاً أجساماً مضادة لفيروس الإيدز ــ أحد أقارب فيروس العنز ــ الأمر الذى قد يزكى استخدام الفاكسين المصنوع من فيروس العنز فى الوقاية من مرض الايدز] . أما الطريقة الثانية فيُقتل فيها الكائن المُمْرِض ، بالفورمالين مثلاً ، ليُحقن الجسمُ به ميتاً ، فقد وُجد أن جزيئات الأنتيجينات فى بعض هذه الكائنات الميتة كثيراً ما تكون فعالة لدرجة مذهلة . ومن أمثلة هذه الفاكسينات ، فاكسين سولك لمرض شلل الأطفال . ترتكز الطريقة الثالثة على حقيقة أنه يكفى لاستثارة الجهاز المناعى للجسم جزءٌ فقط من الميكروب ، لا كله حياً أو ميتاً ، أى لايلزم أن يكون الجسم مستعداً لمقاومة كل أنتيجينات الكائن المُمْرِض ، ويكفى أن يواجه واحداً منها فقط . يُحَضَّر إذن الفاكسين من جزىء واحد موجود على غلاف الميكروب ، أو من صورة محورة من جزىء توكسين toxin (سُمّ) ينتجه الميكروب . ومن أمثلة هذه الفاكسينات فاكسين الدفتريا وفاكسين التيتانوس .

يواجه إنتاج الفاكسينات بهذه الطرق التقليدية مشاكل كثيرة ، فهى تتطلب إمكانيات ضخمة وتتضمن الكثير من المحاذير ، مثل الحاجة إلى تكثير كميات هائلة من الكائن المُمْرِض ، أو إلى كميات هائلة من الدم لتنمية

الميكروبات ، ومثل احتمال أن يلوّ الفاكسين بالكائن المُمْرِض حياً . يمكن للبيوتكنولوجيا الحديثة أن تصنّع جزىء الأنتيجين كيماويا ، فالأنتيجين عادة هو مجرد جزىء بروتيني يمكن أن نعرف تسلسل الأحماض الأمينية به ، وأن نبني مثيلا له بالمعمل . لكن الأمر يصبح فى غاية الصعوبة إذا كانت سلسلة الأحماض الأمينية طويلة . لكن اتضح أنه لايلزم فى الحق لاستثارة المناعة فى الجسم أن يوجد جزىء بروتين الأنتيجين بأكمله ، إنما فقط فى كثير من الأحوال جزء معين قصير منه ـ يتراوح طوله عادة ما بين ثمانية وعشرة أحماض أمينية ـ يسهل تصنيعه أو انتاجه بيوتكنولوجيا . والمهم إذن أن يُحَدَّد هذا الجزء من كل أنتيجين . تسمى هذه الفاكسينات باسم الفاكسينات الصغرى subunit vaccines .

كانت أولى محاولات البيوتكنولوجيا الناجحة فى حقل تحضير الفاكسينات الصغرى هى إنتاج فاكسين لمقاومة الالتهاب الكبدى ب hepatitis B ، بكميات تكفى لتحصين مجتمعات كبيرة من البشر . يصيب فيروس هذا المرض كبد الإنسان فيتلفه وقد يؤدى إلى السرطان . أمكن التوصل إلى تتابع الجين المشفِّر لأنتيجينٍ يوجد على غلاف الفيروس . لكن لم تنجح كلْونته فى البكتريا ، فاتجه العلماء إلى الخميرة . كلْونوا الجين فى بلازميد دفعوا به داخل الخميرة *Saccaromyces cerevisiae* ، فاستوعبته وأنتجت من الأنتيجين كميات وفيرة ـ كان فعله يشبه فعل البروتين الفيروسى إلى حد كبير ، ونجح فى تحصين البشر ضد هذا الفيروس . استُخدمت هذه الطريقة أيضاً فى إنتاج فاكسينات لأمراض عديدة فى الإنسان والحيوان (منها مرض الحمى القلاعية فى الماشية foot & mouth disease) . (والواقع أنه من الممكن أن يحوَّر الفيروس الممرِض نفسه بأن نزيل ما به من جينات ممرضة ، ثم ندفع به داخل الجسم البشرى كفاكسين) .

الأجسام المضادة النقية
monoclonal antibodies

لكنا نستطيع أن نواجه المشكلة بطريقة أخرى . ماذا لو صنّعنا الأجسام المضادة ذاتها ، بدلاً من أن ينتجها الجسم ؟ يُحقن أنتيجين الكائن المُمرِض مثلاً فى حصان أو أرنب ، ثم نستخلص من دمه الأجسام المضادة للأنتيجين لنعالج بها من يحتاجها . هذا فى الواقع ممكن ، لكن القدر الناتج من الأجسام المضادة المطلوبة سيكون ضئيلاً ، ثم إنه سيكون مختلطاً بالعديد من الأجسام المضادة الأخرى . لكن الجسم المضاد على أية حال ليس سوى بروتين ، بروتين كبير يُحَدَّدُ وراثياً . وكما ندفع خلية بكتيرية مثلاً إلى صناعة بروتين الإنسولين ، يمكننا أن نجعل الخلايا الحية خارج أجسامنا مصنَعَنَا ، لتقوم هى بإنتاج الأجسام المضادة فنستخلصها نحن للعلاج .

الأجسام المضادة كما رأينا نوعيَّة . للأنتيجين الواحد جسم مضاد واحد فقط يشتبك معه ، سطحه مجهز للتعرف على منطقة بذاتها من هذا الأنتيجين ولا غيره . هناك الآلاف المؤلفة من الأنتيجينات ، والجسم يستطيع أن ينتج لكل منها الجسم المضاد الذى يوافقه . ولقد تستخدم هذه الأجسام كما ذكرنا فى العلاج ، لكنها قد تستخدم أيضا كعدة تشخيص نشخص بها تشكيلة عريضة من الأمراض ، بل وحتى من المنتجات . ولقد حاول العلماء طويلاً إنتاج الجسم المضاد ، بكميات نقية ، لأى أنتيجين بذاته : مُنْتَج لايحمل إلا نوعاً واحداً فقط من الأجسام المضادة ، حتى نجح سيزار ميلشتاين Cesar Milstein وجورج كوهلر Georges Kohler عام ١٩٧٦ من ابتكار تقنية جديدة لإنتاجها ـ تقنية تحولت بسرعة لتصبح صناعة هائلة : تقنية إنتاج الأجسام المضادة النقية من الهيبريدومات . بل لقد أنشىء فى عام ١٩٨٤ " بنك بيانات الهيبريدومات " ليعمل كمركز للمعلومات عنها ، إذ تضاف الآلاف من خطوط هيبريدومات جديدة فى كل عام .

يصعب فى المستنبت بالمعمل أن تُستزرع خلايا ب التى تنتج الأجسام المضادة فحياتها قصيرة . وخلية ب الواحدة لا تنتج إلا نوعاً واحداً فقط من الأجسام المضادة . قام العالمان بحقن فأر بالأنتيجين المطلوب تحضير الأجسام المضادة له ، فأنتج خلايا ب المنتِجة لهذه الأجسام . ثم كان أن دمج العالمان خلية ب مأخوذة من طحال الفأر ، فى خلية سرطانية ، فنتجت خلية هجينة تسمى هيبريدومة hybridoma أمكن اكثارها لتنتج كلوناً clone . ومثل هذه الهيبريدومات يمكن استنباتها فى المعمل وتكون خالدة immortal ، فتنقسم إلى مالا نهاية منتجة كميات هائلة من الجسم المضاد الوحيد الذى تخصصت فيه . [ومن الممكن أن تُحفظ هذه الهيبريدومات فى النتروجين السائل (على درجة حرارة ــ ١٩٦°م) فيما يسمى بنوك الخلايا cell banks] . يمكن لهذا الجسم المضاد أن يتعرف على نمط واحد لموقع أنتيجينى ـ مثلاً تجمع من خمسة أحماض أمينية أو ستة تكوّن سلسلة جانبية على سطح بروتين . ولقد استعملت مثل هذه الأجسام المضادة النقية فى علاج أمراض كاللوكيميا (سرطان الدم) : إذ يوجد على أسطح كرات الدم المصابة بالمرض أنتيجينات خاصة مميّزة ، أمكن إنتاج هيبريدومات تحمل خلايا ب الملائمة لها ، تقوم بإنتاج وفرة من الأجسام المضادة النقية ، التى تحقن فى الجسم فتقتضى على خلايا الدم المصابة .

من الممكن أن تستخدم هذه الأجسام المضادة النقية كوسيلة عالية التخصص فى تشخيص الأمراض . نحن نعرف مثلاً أن خلايا الأورام السرطانية تحمل على أسطحها بروتينات خاصة تميزها عن الخلايا السوية . فإذا أمكن تمييز هذه البروتينات ، فمن الممكن صناعة الأجسام المضادة لها كما ذكرنا ، ومن الممكن أن نستخدم هذه الأجسام فى كشف وجود المرض ، حتى قبل أن تظهر الأورام بحيث يمكن البدء مبكراً فى العلاج . بل ومن الممكن أن تستغل هذه الأجسام النقية مثلاً فى كشف أنواع لحوم الحيوانات فى اللحم المفروم ، المستعمل فى صناعة السجق . فإذا تمكنّا من معرفة جزىء خاص لايوجد إلا فى لحم الخنزير أو لحم الكلاب ، ففى مقدورنا أن نصنع

الأجسام المضادة النقية لـه لنكشف بها عن وجوده فى أى عينة من اللحم المفروم .

البصمــة الوراثيــة
genetic fingerprint

تستخدم الفنترات (المكررات الترادفية المتباينة العدد) كما ذكرنا فى تحديد البصمة الوراثية وتتخذ دليلاً للاتهام فى ساحات القضاء ، وذلك بأن تؤخذ عينة من القرينة البيولوجية التى تركها المجرم (نقطة دم مثلاً أو شعرة أو حيوانات منوية فى جرائم الاغتصاب) ، ثم تُعَرَّض لإنزيم تحديد يشظىّ الدنا حول فنتر فى العينة وكذا فى عينة أخرى تؤخذ من دم المشتبه فيه ، أو يستخدم التفاعل المتسلسل للبوليميريز فى تكثير فنتر نعرف تتابعين على جانبيه نستخدمهما طليعتين . يجرى تفريد الشظايا لكل من العينتين فى جهاز التفريد الكهربائى ـ الذى يقوم بفصل الشظايا على الجيل تبعاً لحجمها عند تمرير التيار الكهربائى ، وتحريكها (الأكبر أبطأ) ــ لتُغْمَر 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 أن نميز عدداً من المكررات فى كروموزومى الفرد ـ فقد يختلف العدد فى الكروموزوم الآتى من الأب عن الآتى من الأم) . تُفْحَص عادة أربعة مواقع لفنترات لتقليل احتمالات الخطأ .

بعض استخدامات التفاعل المتسلسل للبوليميريز

لهذه التقنية استعمالات غاية في الأهمية في مجالات طب الإنسان والوراثة البشرية . هى تقنية غاية فى الحساسية ، تمكننا من إنتاج أعداد هائلة من أى تتابع (أو جين) بذاته يهمنا دون اللجوء إلى الكَلْوَنَة فى ميكروب . وبها يمكن تحديدُ هُوية ، وتكثيرُ ، الجزء من الدنا البشرى الباقى فى الخطوط الخلوية الناتجة عن تهجين خلايا الفأر بخلايا الإنسان . فالعادة ــ كما سبق أن ذكرنا ــ أن تُطْرد كروموزومات الإنسان مع الانقسام ، ليتبقى جينوم الفأر ومعه كروموزوم بشرى أو جزء من كروموزوم .

يحتوى الجينوم البشرى على مايقرب من ٩٠٠ ألف نسخة من تتابع مكرر يسمى ألو Alu repeat ، حتى لنجد نسخة منه داخل أو قرب كل جين بشرى . يبلغ طول مكرر ألو ٣٠٠ زق ، وكل هذه المكررات تحمل التتابع أ ج ث س (وهذا موقع تعرف لإنزيم بتر إسمه ألو ١ Alu I) ، ولها جميعاً ذيل طويل كله من النوتيدات أ . توجد مكررات ألو هذه فى جينوم كل الثدييات ، لكن هناك تتابعاً داخلياً فى مكرر ألو البشرى لايوجد إلا فى جينومنا .

إذا عولجت الخلايا الهجين بإنزيم ألو ١ ، ثم اخترنا طليعتين من التتابع المميز لنا الموجود بمكرر ألو البشرى ، وأجرينا التفاعل المتسلسل ، أمكننا أن نلتقط rescue ، ونكاثر تتابعات الدنا البشرى وحده من بين كل الشظايا الناتجة عن تشظى جينوم الفأر بالخلية .

يفيد التفاعل المتسلسل أيضاً فى كشف بعض مايحدث من طفرات فى جينات السَّرْطَنة oncogenes فى الإنسان وتحيلها إلى جينات مُسَرْطِنة . فالمعروف مثلاً أن الطفرات فى جين السرطنة راس ras تحدث فى الكثير

من أنواع السرطانات البشرية . ولقد بينت الفحوص السريعة بهذا التفاعل المتسلسل لدنا خلايا سرطانية مأخوذة من مرضى السرطان اللمفاوى الخبيث أن الصور المختلفة من المرض تنتج عن طفرات مختلفة فى جين راس .

كما تخدم هذه التقنية فى تشخيص وجود بعض السرطانات . تنشأ الليمفوما الحويصلية follicular lymphoma عن انتقال translocation يحدث ما بين الكروموزومين ١٤ و ١٨ فى الإنسان ، إذ يرحل جزء محدد من الموقع الدناوى (أ) ، المشفِّر للسلسلة الثقيلة لجلوبيولين المناعة immunoglobulin ، على الكروموزوم ١٤ ، إلى موقع (ب) جين سرطنة الثدى BCL2 على الكروموزوم ١٨ . من الممكن أن نصمم طليعتين واحدة للطرف ٣َ من الموقع أ والأخرى للطرف ٥َ من الموقع ب . فإذا ما عُرِّض الدنا للتفاعل المتسلسل ، فإنه يضاعف مقطعاً دناوياً (طوله ٣٠٠ زق) إذا كان هناك بالفعل انتقال ، ليشير ذلك إلى وجود المرض ، وإلا التحم المقطعان كلٌّ بمنطقته المكملة على الكروموزوم ١٨ أو ١٤ ، ولم يظهر هذا المقطع القصير .

هناك أمراض مرتبطة بالجنس متنحية ، تقع جيناتها على الكروموزوم س X ، وتظهر فى الذكور فقط إذا كان الكروموزوم فى الجينوم يحملها . تتجنب النسوة (ذوات التركيب الخليط للجين) أن يحملن جنيناً ذكراً إذا قررن أن يتم الاخصاب خارج الرحم ليُنقل الجنين إلى أرحامهن . من الممكن هنا أن تؤخذ خلية واحدة لا أكثر من كل جنين يتم انتاجه فى المعمل (عندما يكون عدد خلايا الجنين عشرة) . تفحص الخلية بالتفاعل المتسلسل لوجود بعض من تتابع يسمى DYZ1 . هذا التتابع لايوجد إلا على كروموزوم Y وطوله ٣٥٠٠ زق ومنه على هذا الكروموزوم نحو ٥٠٠٠ نسخة ، يستعمل التفاعل المتسلسل فى تكثير مقطع منه طوله ١٤٩ زق ، لا يظهر بالطبع إذا كان الجنين أنثى .

بل ومن الممكن أن تستغل هذه التقنية فى إجراء تحليل للارتباط بين جينين باستعمال حيوانات منوية مفردة . تحدث كما رأينا أثناء عملية الانقسام الميوزى أن تتبادل الكروموزومات بعض المقاطع فيما يسمى " العبور " crossing over فتخرج كروموزومات مؤشبة تتوقف نسبتها على البعد بين الجينين . فإذا أخذنا عدداً كبيراً من الحيوانات المنوية من شخص خليط فى كل من موقعين ، وعرضنا دناها واحداً واحداً لتفاعل بوليميريز متسلسل يستعمل فيه فى نفس الوقت طليعتين لكل جين ، ثم اختبرت النتائج من كل واحد من الحيوانات المنوية بمسابر للأليلات الأربعة ، أمكننا أن نعرف نسبة التأشيب ونحدد المسافة بين الجينين .

مشروع الجينوم البشرى
human genome project

ربما كان مشروع الجينوم البشرى هو أخطر ما تقوم به البيوتكنولوجيا الآن من مشاريع ، بل هو أخطر ما قامت به البشرية من مشاريع بيولوجية . بدأ هذا المشروع رسمياً بالولايات المتحدة فى عام ١٩٩٠ ، والمفترض أن ينتهى من مهمته فى ظرف خمسة عشرة عاماً ، أى نحو عام ٢٠٠٥ . انضمت إلى الولايات المتحدة الآن دول عديدة منها انجلترا وفرنسا وإيطاليا واليابان . والمهمة الأساسية لهذا المشروع هى سَلْسَلَةُ الثلاثة آلاف مليون نوتيدة التى تشكل المادة الوراثية للبشر ، وخَرْطَنَة وتحديد هوية المائة ألف جين أو نحوها الموجودة بجينومنا ، وتحسين وتطوير تقنيات السَّلْسَلة لتستفيد منها المجالات الأخرى من أوجه البيولوجيا (وقد اعتُبرت هذه مهمة رئيسية) ، ثم فَحْص ودراسة الآثار الاجتماعية لإزاحة الستار عن الجينات التى تكوّننا (وقد خُصِّصت لهذه الدراسة وحدها ٣٪ من ميزانية المشروع الأمريكى) . سيقوم مشروع الجينوم البشرى بجانب خَرْطَنَة جينوم الإنسان بخرطنة جينومات خمسة من الكائنات الحية الأخرى : بكتريا

إيشيريشيا كولاى (وقد تم بالفعل يوم ١٩٩٧/١/١٦ الانتهاء من سلسلة جينومها ، واتضح أنه يتألف من ٣٦٣٨٨٥٨ زق تشكل ٤٢٨٦ جينا) ، والخميرة (وقد تم الانتهاء من خرطنة جينومها عام ١٩٩٦ وبلغ طوله نحو ١٢ مليون زق) ونيماتودا سينورابديس *Caenorrhabdis* (وطول جينومها يبلغ نحو ١٠٠ مليون زق) وذبابة الفاكهة ، الدروسوفيلا (نحو ١٨٠ مليون زق) ، والفأر (نحو ٣٠٠٠ مليون زق) .

سيخدم كشف جينومات هذه الكائنات النموذج فى المقارنة والتعرف على الوظيفة المحتملة لبعض الجينات البشرية . ولقد ثار فى البداية جدل طويل حول لزوم معرفة البلايين الثلاثة من النوتيدات بطاقمنا الوراثى ، إذا كنا نعرف أن ٩٥٪ منها هى من سَقَط الدنا الذى لا يشفر لشىء نعرفه . وانتهى الجدل إلى ضرورة أن نعرف كل شىء عن جينومنا حتى الأجزاء منه التى تبدو لغواً ، فقد لاتكون كذلك .

على عام ١٩٩٦ ـ بعد بدء مشروع الجينوم بنحو ست سنوات ـ كان قد خُرّطِن من الجينات البشرية ، ورُدَّ إلى مواقعه التقريبية على الكروموزومات نحو ٢٧٠٠ جين ، كُلْوِن منها نحو ١٠٠٠ . ومن بين الألفين وسبعمائة جين ، هناك نحو ١٥٠٠ من الجينات المسببة للأمراض الوراثية ، كما تم تقريباً الانتهاء من المسح الكامل للكروموزومين ١٦ ، ٢١ . وفى ٦ أكتوبر عام ١٩٩٦ أعلن أن عدد الجينات البشرية التى تمت خرطنتها قد بلغ ٦٢٨٩ جينا .

سيكون الجينوم الناتج لشخص تركيبىٍّ (يصبح مرجعاً للمقارنة) ، شخص سيكون بالطبع ذكراً (فمن اللازم أن نُسَلْسِلَ الكروموزوم ص Y) لكنه مزيج من قطع دنا مأخوذة من مصادر بشرية مختلفة ـ دناً مُركَّباً مُجَمَّعاً من سلالات البشر المختلفة ، وليس دنا شخص بذاته .

سيتكلف المشروع العالمى نحو ١٢ بليون دولار ـ أضخم مهمة بيولوجية اضطلع بها الانسان ، وسيكشف لنا فى النهاية عن التركيب الجزيئى للجينات البشرية على خريطةٍ جزيئية . وسيتطلب الأمر أن يحتشد العلماء لمحاولة تفسيرها وتفهمها ، سيحتاج إلى عبقريات تفك رموزها وتجلى معناها. ستغير النتائج حتى من فلسفتنا فى الحياة ، وستفتح الباب لمجالات جديدة هائلة فى كل آفاق علوم الحياة ، ولدراسات أعمق فى التطور وفى العلاقات الوراثية بين الكائنات الحية ، وستثير قضايا اجتماعية وأخلاقية وقانونية لم يواجه مثلها الانسان قبلا .