

الفصل الرابع

خصائص الجينات وآليات عملها نماذج من الأمراض الوراثية

كما سبق القول فإن الجينات هي التي 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 جديداً 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 Institute 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 بينها - 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 في الكائنات أوليات النواة إلى آلية يشارك فيها موقعان على حمض DNA يقعا قبل مادة الجين نفسها، يعرف الموقع الأبعد منهما عن الجين باسم (بروموتان) Promoter، ويعرف الموقع الأقرب إلى الجين باسم (أوبيريتور) Operator (شكل ملون ٣٢).

ويعتمد عمل كل من الموقعين على الارتباط بجزء بروتيني معين.

وبالنسبة للبروموتار فإنه يرتبط بإنزيم RNA polymerase الضروري لعلمية النسخ وبناء جزء m-RNA. وبالنسبة لموقع الأوبيريتور فهو إما يرتبط بجزء منشط activator وإما بجزء كابح repressor. وعلى ذلك فإن ارتباط الجزء المنشط بالأوبيريتور يفتح الطريق أمام إنزيم RNA polymerase لكي يصل إلى الجين ويقوم بنسخه. أما عدم ارتباطه فإنه يؤدي إلى عدم قيام هذا الإنزيم بدوره وبالتالي لا يتم نسخ الجين. ويطلق على الآلية المعتمدة على المنشطات اسم (التنظيم الإيجابي) positive regulation. أما الآلية التي تعتمد على الكوابح فيطلق عليها اسم (التنظيم السلبي) negative regulation حيث يؤدي ارتباط الجزء الكابح بالأوبيريتور إلى الحيلولة دون قيام الإنزيم بنسخ الجين، أما عدم ارتباط الجزء الكابح بالأوبيريتور فإنه يؤدي إلى فتح الطريق أمام إنزيم RNA polymerase لكي يقوم بنسخ الجين. ومن الجدير بالذكر أن هناك جينات تعتمد آلية تنظم عملها على منشط activator وأخرى تعتمد آلية تنظم عملها على كابح repressor.

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

آلية الأوبرون لعمل الجينات (شكل ملون ٣٣)

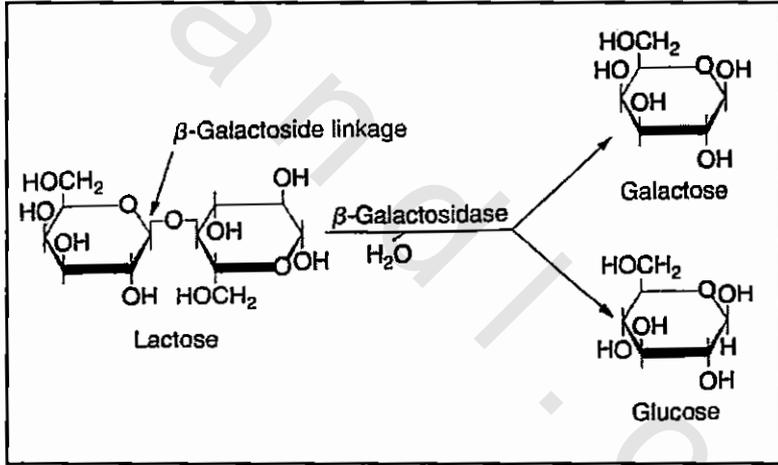
في عام ١٩٦١ نشر العالمان الفرنسيان (جاكوب) F. Jacob ومونود J. Monod بحثا على الصفحة رقم ٣١٨ في العدد الثالث من مجلة البيولوجيا الجزيئية J. Molecular Biology تناولوا فيه آلية عمل الجينات فيما عرف باسم فرضية الأوبرون Operon hypothesis. وهذه الفرضية كانت حجر الزاوية الذي قامت عليه تكنولوجيا الهندسة الوراثية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

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

توضح آلية (لاك أوبيرون) Lac Operon كيف تقوم بكتيريا اشيريشيا كولاي *Escherichia coli* بتخليق الإنزيمات اللازمة لهضم سكر اللاكتوز للحصول منه على الطاقة اللازمة لها.

وقد اتضح أن هناك ثلاثة جينات تركيبية Structural genes متجاورة يرمز لها بالحروف Z,Y,A هي المسؤولة عن تكوين ثلاثة إنزيمات، حيث تقوم هذه الجينات أولاً بنسخ جزيء m-RNA يوصف بأنه (عديد الجينات) multigenic.

فالجين (Z) ينتج إنزيم β -galactosidase الذى يقوم بهضم الجلوكوز (شكل ٣٤)، أما الجين (Y) فهو ينتج إنزيم Permease الذى يعمل على تيسير نقل سكر اللاكتوز إلى داخل الخلية. أما الجين (A) فهو ينتج إنزيم Transacetylase وليس لهذا الإنزيم دور فى عمليات التحول الغذائى لسكر اللاكتوز.



شكل (٣٤): إنزيم β -Galactosidase يقوم بتكسير سكر اللاكتوز إلى جالكتوز وجلوكوز.

ويقع قبل الجين (Z) مباشرة جينان تنظيميان هما جين الأوبيريتور Operator ثم جين الدافع أو البروموتار Promoter (P) ويصبح ترتيب الجينات من اليسار إلى اليمين هو البروموتار ثم الأوبيريتور ثم الجينات التركيبية الثلاثة (ZYA) (تقرأ من اليسار إلى اليمين). ويلاحظ أن الإنزيم الذى يساعد على بناء حمض m-RNA أمام حمض DNA والمسمى RNA-Polymerase يقع على البروموتار. وعلى هذا الإنزيم أن يمر على موقع الأوبيريتور قبل أن يصل إلى الجينات

التي تنسخ لتعطي جزيئا واحدا من حمض m-RNA الذى تتم ترجمته بعد ذلك إلى الإنزيمات الثلاثة المستقل كل منها عن الآخر والتي سبق ذكرها والتي 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 البيبتيد تنضم معا لتكون بروتينا يطلق عليه اسم (الكابح) Repressor. 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 لاکتوز فى الوسط المحيط بالبكتيريا، وبالتالي 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 عمليتي النسخ والترجمة وتخليق الإنزيمات التي تهضم اللاكتوز، ويؤدي إتمام هدم سكر اللاكتوز إلى تحرير البروتين الكابح الذى يعود مرة أخرى للاتحاد مع الأوبيريتور مما يؤدي إلى وقف عملية نسخ حمض m-RNA وبالتالي توقف تخليق الإنزيمات. وتنشط العملية كلها مرة أخرى عند دخول لاکتوز جديد إلى البكتيريا وبذلك يمكن القول بوجود تنظيم سلبي 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) - التي تعمل فى وجود سكر الجلوكوز - باسم Catabolic repression. ولا يتسع المقام هنا لذكر تفاصيلها.

تطبيقات توظيف آلية الأوبرون

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 البيبتيد 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 *إشيريشيا 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 أوبرون. 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 لاکتوز إلى المزرعة وبذلك تبدأ

عملية نسخ حمض m-RNA أمام حمض DNA الاصطناعي ثم تحدث عملية ترجمة شفرات حمض m-RNA إلى إحجى سلسلتى عديد البيبتيد الخاصة بالإنسولين البشرى. وقد قدر أن بكتيريا واحد يمكن أن ينتج مائة ألف نسخة من أحد سلسلتى عديد البيبتيد. 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 الإلكتروني الماسح لبكتيريا (إشيريشيا كولاي) أثناء قيامها بتخليق الإنسولين البشرى، ويلاحظ وجود إنتفاخات bulges فى جسم البكتيريام، 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)



(أ)

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.

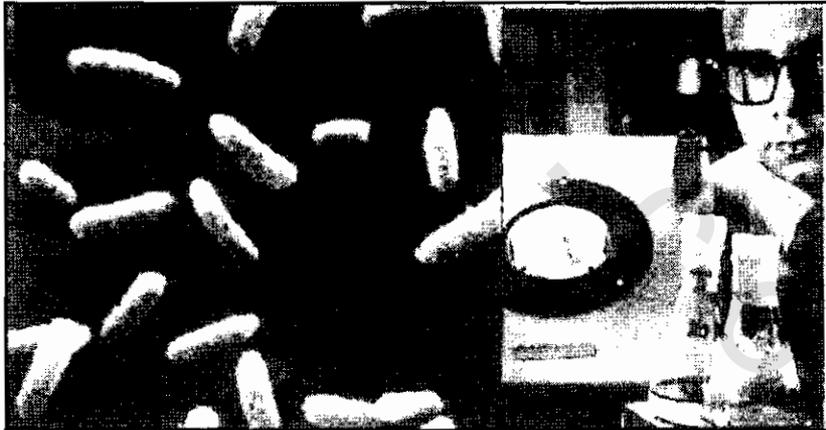
وفي عام ١٩٨٢ تمت موافقة الإدارة الفيدرالية للعقاقير (FDA) بالولايات المتحدة الأمريكية على تسويق الإنسولين البشرى الذى تنتجه البكتيريا.

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

وفي 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 بالقزامة dwarfism به بدلا من الاعتماد على هرمون مأخوذ من جثث الموتى cadavers. وهذا فضلا عن تكلفته العالية فإنه يعرض المريض لمرض يصيب المخ عن طريق مادة شبه فيروسية تعرف باسم (برى أون prion) ويعرف المرض باسم Creutzfeldt-Jacob (CJ) Syndrome.

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

وقد امتد البيوتكنولوجيا 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 التى 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 الوراثة 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 النواة إلى شبكة معقدة من العوامل المنظمة. وتلعب الجينات أدواراً 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 (ALS) Amyotrophic Lateral Sclerosis

يؤثر هذا المرض على الخلايا العصبية الحركية فى المخ والحبل الشوكى مما يؤدي 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 عالماً من أربع دول يقودهم العالم روبرت براون Robert Brown من المستشفى العام فى ماساشوستس، روبرت هورفيتز 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

أميني مختلف مما يحدث خللا في تركيب الإنزيم وبالتالي يتعطل عمله. وفي تقرير نشر في عام ١٩٩٦ وجد أن غياب الإنزيم الطبيعي يؤدي أيضا إلى تعريض الخلايا العصبية لكميات كبيرة من الجلوتاميت glutamate ، وهذا بدوره يسبب تدمير الخلايا العصبية.

مرض السكر Diabetes

بفضل تكنولوجيا الحمض النووي 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 الغذائي للجلوكوز وينتج عن ذلك عجز في الحصول على الطاقة التي تلزم لأداء الجسم لعملياته الحيوية. وفي 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 في البنكرياس بالنشاط الكافي لإنتاج القدر المطلوب للجسم من هرمون الإنسولين، مما يحرم خلايا الجسم من هذا الهرمون الضروري لحدوث التحول الغذائي للجلوكوز وإنتاج الطاقة. ويتم معالجة الأمر هنا بحقن المريض بهرمون الإنسولين. وقد أمكن بفضل ثورة البيوتكنولوجيا الحصول على إنسولين بشري عن طريق الهندسة الوراثية للبكتيريا كما ذكر من قبل وذلك بدلا من الاعتماد على إنسولين الأبقار الذي يسبب حساسية لدى بعض الأشخاص. وقد أمكن في عام ١٩٩٤ لفريق من علماء جامعة أكسفورد 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 التي تقع على أسطح الخلايا والمتخصصة في ارتباط هرمون الإنسولين بها حتى يبدأ هذا الهرمون في القيام بوظيفته في هذه الخلايا. وبالتالي 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 في الفترة من ٢٥ - ٣٠ عاما من أعمارهم. وتعالج هذه الحالة عن طريق ضبط الوزن والتحكم في التغذية واستخدام بعض العقاقير عن طريق الفم والتي تجعل خلايا الجسم أكثر حساسية للتأثر بهرمون الإنسولين.

ومما يذكر هنا أن بعض الأشخاص يصابون بهذه الحالة في فترة مبكرة نسبيا من أعمارهم وذلك في 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 جلووكاينيز 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 وبالتالي 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 التى استمرت ثمانى 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 يطفّر 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 بجزء DNA إذا حدث به كسر يؤدي إلى حدوث ورم وذلك فى موضع الكسر، مما يحول دون تضاعف جزء DNA وبالتالي يمنع حدوث الورم - وهذا الاتحاد يعطى فرصة لآلية إصلاح الجزء المكسور. وفى عام ١٩٩٢ اكتشف علماء جامعة جونز هوبكنز Johns Hopkins أن الجين يكون أربعة بروتينات وليس بروتينا واحداً، وأن غياب أى منهم فى حالة جين *p53* الطافر لن يحول دون تضاعف جزء DNA وبالتالي سيتكون الورم.

وفى عام ١٩٩٤ كشف العلماء عن جين يؤدي طفوره إلى حدوث سرطان ثديى، وقد سمي الجين *BRCA1*، وبعد مرور ١٥ شهراً اكتشف العلماء جينا آخر يؤدي 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 (HNPCC) hereditary nonpolyposis colon cancer 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 التي تستحق البحث والتفسير، وسنذكر هنا أمثلة منها:

الإنترونات Introns

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

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

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

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

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 في الكائنات أوليات النواة وهي أكثر تواجدا في حقيقيات النواة البسيطة مثل الخميرة. أما في حقيقيات النواة العليا فإن كمية DNA في الإنترونات تبلغ عشر مرات كمية هذا الحمص في الإكسونات. ومعنى ذلك أن الجينوم في الكائنات العليا معظمه إنترونات عديمة الوظيفة لا تتم ترجمته إلى بروتينات.

والواقع فإن الجين بأكمله ينسخ إلى حمض (رنا رسول أولي) preliminary m-RNA ثم تحذف deleted الإنترونات منه ويستبقى على الإكسونات التي يتم لحمها spliced بعضها مع بعض ليتكون حمض رنا رسول نهائي 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:

عدد الجينات	نسبة الإكسونات	عدد أزواج القواعد	اسم الكائن
٢١٠	%١٠٠	٦١٠×٤	بكتيريا <i>E. coli</i>
$٢١٠ \times ٧ - ٦$	%٢٥	٦١٠×٩	دودة <i>Caenorhabditis</i>
$١٠ \times ٢ - ١$	%٣٣	١٠×١٨	حشرة <i>Drosophila</i>
—	%٠,٨	١٠×١٤٠	سمكة رثوية <i>Protopterus</i>
—	%٣	١٠×١٩	نيوت (برمائيات) <i>Triturus</i>
$١٠ \times ٧ - ٦$	%١٥	١٠×٣	الإنسان <i>Homo sapiens</i>

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 في أمثلة محدودة تحتملها الحاجة المتعاطمة لتفعيل آلية إنتاج الخلية لبروتين معين. ومن أمثلة ذلك تضخيم الجين المنتج لحمض RNA الريبوسومي (r-RNA) في بويضات البرمائيات، ويبلغ حجم البويضة هنا حوالي مليون ضعف حجم الخلية الجسمية، ومنوط بها تخليق البروتينات اللازمة خلال المراحل الأولى للتكوين الجيني. ومن هنا تكون الحاجة إلى أعداد كبيرة من الريبوسومات تصل إلى (١٠) في البويضة الواحدة وبالتالي 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 النووي 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 في خلايا مبيض حشرة الدروسوفلا، وفي الخلايا السرطانية التي يعترها 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 في إظهار الصفة عن طريق عدد من المراحل الواقعة بين المادة الوراثية نفسها والبروتين النهائي، وبهذا فإن دراسة التعبير الجيني تبدو عملية معقدة أمام العلماء.

ويمكن تحديد مستويات تنظيم التعبير الجيني فيما يلي:

- ١ - نسخ حمض DNA.
- ٢ - التعامل مع حمض DNA المنسوخ بحذف الإنترونات على سبيل المثال.
- ٣ - انتقال حمض DNA بعد ذلك من النواه إلى السيتوبلازم.
- ٤ - هضم حمض RNA في السيتوبلازم لإعادة استخدام وحداته البنائية.
- ٥ - ترجمة حمض m-RNA إلى سلاسل الأحماض الأمينية.
- ٦ - تشكيل (تصميم) سلاسل الأحماض الأمينية لتعطي التكوين ثلاثي 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 متعاطم 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 و جلوبيين بيتا) α -globin and β -globin اللذان لهما لبناء الهيموجلوبين. حيث تتوزع مسئولية إنتاج الجلوبيين 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 الجلوبيين (عائلة جلوبيين ألفا تتواجد جيناتها على الذراع القصير للكروموسوم رقم ١٦، وعائلة جلوبيين 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 تؤدي 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 جلوبيين 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 ألفا جلوبيين α -globin وبيتا جلوبيين- 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 الـدى 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 النيوتروجينية فإن قدرًا يصل إلى ٣٪ منه فقط هو الذى يحمل شفرات يتم نسخها ثم ترجمتها إلى بروتين.

الوحدات الوراثية المتنقلة (Transposons) Transposable elements

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 الـدى 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 الوراثة المراد نقلها بحيث يكون لها أطراف كلية blunt.
- (ب) ينشق DNA فى الموقع المستهدف النقل إليه - وتتكون بذلك أطراف متدلّية overhanging.
- (ج) يقوم إنزيم transposase بربط الوحدة الوراثة 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.