فصل

۱

سلول به عنوان واحد سلامت و بیماری

مطالب فصل

ژنوم
DNA غیر کد کننده
سازمان‌یابی هیستون
میکرو RNA و RNA طویل غیر کد کننده
خانه‌داری سلولی[1]
غشاء پلاسمایی: محافظت و کسب مواد غذایی
اسکلت سلولی
تعامل‌های سلول- سلول[2]
ماشین بیوسنتتیک[3]: شبکه اندوپلاسمی و دستگاه گلژی
دفع مواد زاید، لیزوزوم‌ها و پروتئازوم‌ها
متابولیسم سلولی و عملکرد میتوکندریایی
فعال‌سازی سلولی
پیام‌رسانی سلولی
مسیرهای انتقال پیام (سیگنال)
پروتئین‌های پیام‌رسان ترکیبی[4]، هاب‌ها[5] و گره‌ها[6]
عوامل رونویسی
عوامل رشد و گیرنده‌ها
ماتریکس خارج سلولی
اجزاء ماتریکس خارج سلولی
حفظ جمعیت سلولی
تکثیر و چرخه سلولی
سلول‌های بنیادی[7]
ملاحظات پایانی

ترجمه تحت‌اللفظی واژه پاتولوژی (آسیب‌شناسی) مطالعه درد و رنج است (در یونانی *pathos* به معنی درد و رنج و *logos* به معنی مطالعه است). امّا هنگامی که این واژه را در پزشکی مدرن به‌کار می‌بریم، منظور مطالعه بیماری است. نظر ویرشو مبنی بر اینکه بیماری در سطح سلولی آغاز می‌شود قطعاً صحیح بوده است، ولی امروزه می‌دانیم که اختلالات سلولی ریشه در تغییرات مولکولی (ژن‌ها، پروتئین‌ها و غیره) دارند و آنها هستند که بقا و رفتار سلول‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین اساس آسیب‌شناسی مدرن، فهم اختلالات سلولی و مولکولی است که باعث ایجاد بیماری‌ها می‌شوند. ذکر این اختلالات در زمینه عملکرد و ساختار طبیعی سلول کمک کننده خواهد بود که مضمون این فصل مقدماتی را تشکیل می‌دهد.

متراکم کردن مضامین وسیع و جالب توجه رشته بیولوژی سلولی در یک فصل، غیرواقع‌گرایانه (و حتی غیرمنطقی) است. بنابراین به جای تلاش برای یک مرور جامع، هدف ما در اینجا ارائه اصول پایه این علم و برجسته‌کردن پیشرفت‌های اخیر است که با مکانیسم بیماری‌ها در سایر قسمت‌های کتاب مرتبط اند.

1- Cellular housekeeping
2- Cell-cell interactions
3- Biosynthetic machinary
4- Modular signeling proteins
5- Habs
6- Nodes
7- Stem cells

ژنوم

تعیین توالی[1] ژنوم انسان در ابتدای قرن بیست و یکم دستاوردی برجسته در علم بیومدیکال بود. از آن زمان تاکنون، کاهش سریع هزینه‌های تعیین توالی و امکان استفاده از کامپیوتر در تجزیه و تحلیل حجم بالایی از داده‌ها نویدبخش تحولی در درک ما از سلامت و بیماری است. در همین راستا اطلاعات مهمی در دست است که نشان می‌دهد ورای تعیین توالی خطی ژنوم، سطح بالایی از پیچیدگی وجود دارد. توان بالقوهٔ این ابزارهای جدید قدرتمند برای گسترش فهم ما از پاتوژنز بیماری‌ها و خلق نوآوری‌های درمانی، هم دانشمندان و هم عامه مردم را هیجان زده و مشتاق ساخته است.

DNA غیر کد کننده

ژنوم انسان حاوی حدود ۳/۲ میلیارد جفت باز DNA است. در حالی که تنها حدود ۲۰,۰۰۰ ژن کد کننده پروتئین در ژنوم وجود دارد که فقط ۱/۵٪ ژنوم را به خود اختصاص می‌دهند. پروتئین‌هایی که توسط این ژن‌ها کد می‌شوند، اجزاء اساسی سلول هستند و به عنوان آنزیم، عناصر ساختاری و مولکول‌های پیام‌رسان عمل می‌کنند. اگرچه عدد ۲۰,۰۰۰، تعداد پروتئین‌های کد شده را کمتر از واقع تخمین می‌زند (زیرا بسیاری از ژن‌ها چندین نسخه RNA تولید می‌کنند که ایزوفرم‌های پروتئینی متفاوتی را کد می‌نمایند)، ولی این واقعیت تکان دهنده وجود دارد که کرم‌ها که کمتر از ۱۰۰۰ سلول دارند و ژنوم آنها ۳۰ برابر کوچکتر است هم حدوداً از ۲۰,۰۰۰ ژن کد کننده پروتئین ساخته شده‌اند. شاید حتی نکته ناامید کننده‌تر این باشد که بسیاری از این پروتئین‌ها هومولوگ مولکول‌های بیان شده در انسان هستند. پس چه چیزی انسان را از کرم‌ها متمایز می‌سازد؟

پاسخ به این سؤال چندان مشخص نیست. ولی شواهدی وجود دارد که تفاوت در آن ۹۸/۵٪ مابقی ژنوم انسانی نهفته است که پروتئین‌ها را کد نمی‌کند. عملکرد این دنباله‌های طویل DNA (که «ماده تاریک» ژنوم نامیده می‌شد) برای سالها یک راز بود. با این وجود اکنون مشخص شده است که بیش از ۸۵٪ از ژنوم انسان در نهایت رونویسی می‌شود و بیش از ۸۰٪ آن به تنظیم بیان ژن تعلق دارد. لذا، اگرچه پروتئین‌ها، دستگاه‌ها و واحدهای ساختمانی را برای ساخته‌شدن سلول‌ها، بافت‌ها و ارگانیسم‌ها فراهم می‌کنند ول[illegible]

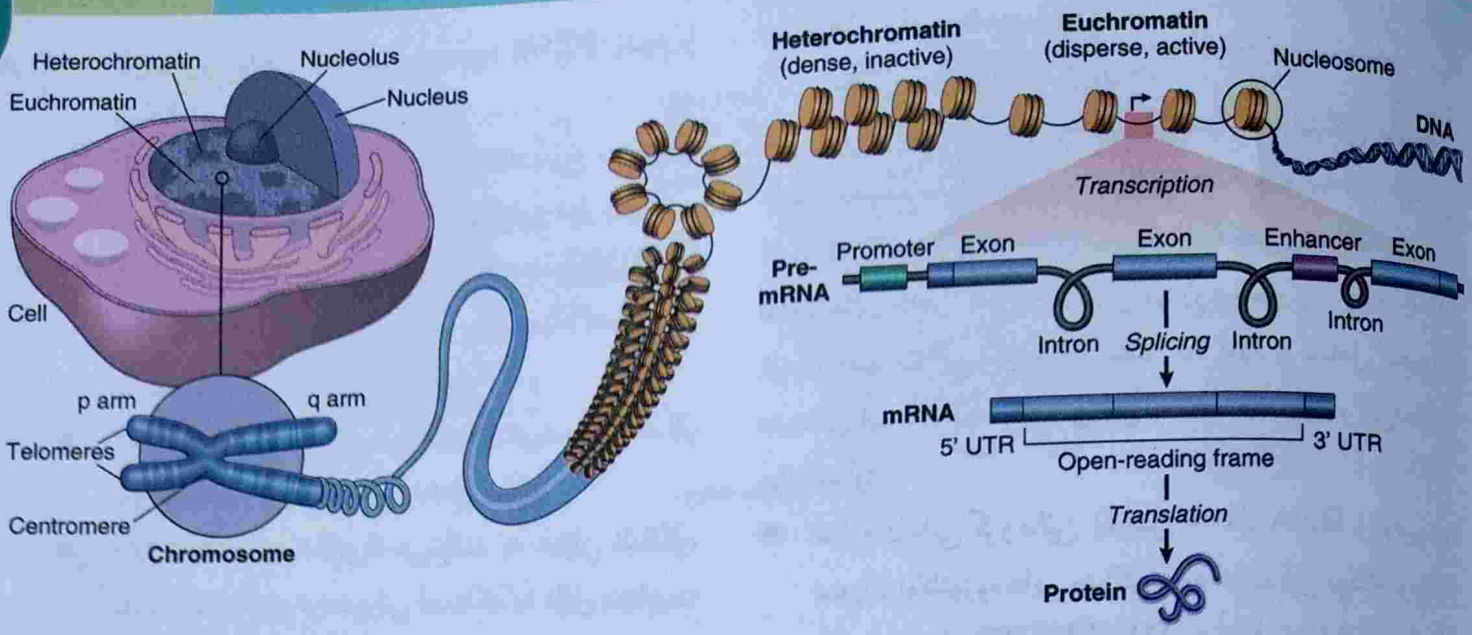
هستند که «برنامه‌ریزی معمارانه‌ای»[2] را که بسیار حیاتی است تأمین می‌نمایند.

دسته‌های اصلی توالی‌های DNA غیر کدکننده پروتئین در ژنوم انسان عبارتند از (شکل ۱-۱):

- نواحی پیش‌برنده[3] و تقویت کننده[4] که به عوامل رونویسی پروتئینی متصل می‌شوند.
- جایگاه‌های اتصال برای پروتئین‌ها که ساختارهای کروماتینی رده بالاتر را سازماندهی و تنظیم می‌کنند.
- RNAهای تنظیمی غیرکدکننده. از ۸۰٪ ژنومی که به عملکردهای تنظیمی اختصاص دارد، قسمت عمده‌ای به صورت RNA، میکرو RNA، و RNA طویل غیر کدکننده رونویسی می‌شود (بعداً مورد بحث قرار می‌گیرد). اینها هرگز به پروتئین ترجمه نمی‌شوند ولی می‌توانند بیان ژن را تنظیم کنند.
- عناصر ژنتیکی متحرک[5] (مثل ترانس‌پوزون‌ها[6]). به طور جالبی بیش از یک سوم ژنوم انسان از این ژن‌های جهنده[7] تشکیل شده است. این قطعات می‌توانند در ژنوم گردش کنند و در تنظیم ژن و سازماندهی کروماتین نقش دارند.
- نواحی ساختاری خاص در DNA شامل تلومرها[8] (انتهاهای کروموزوم) و سانترومرها ("افسار"[9] کروموزوم)

ذکر این نکته حائز اهمیت است که **بسیاری از تفاوت‌های ژنتیکی (پلی‌مورفیسم‌ها) که با بیماری‌ها در ارتباطند، در قسمت‌هایی از ژنوم قرار دارند که کد کننده پروتئین نیستند.** بنابراین، این احتمال وجود دارد که تغییر در تنظیم ژن‌ها اهمیت بیشتری نسبت به تغییرات ساختاری پروتئین‌های خاص در ایجاد بیماری‌ها داشته باشد. نکته جالب توجه دیگری که از تعیین توالی ژنوم حاصل شده است این است که ۹۹/۵٪ DNA در انسان‌های مختلف مشابه است (و ۹۹٪ توالی ژنی در انسان مشابه شامپانزه‌ها می‌باشد). بنابراین تفاوت‌های فردی، مثل استعداد به بیماری‌ها و مواجهه با عوامل محیطی تنها در کمتر از ۰/۵٪ از DNA ما کد می‌شود (که البته معادل حدود ۱۵ میلیون جفت باز است).

1- Seqencing
2- Architectural planning
3- Promoter
4- Enhancer
5- Mobile genetic elements
6- Transposons
7- Jumping genes



شکل ۱-۱. سازمان‌یابی DNA هسته‌ای. در سطح میکروسکوپ نوری، ماده ژنتیکی هسته به صورت پراکنده (یوکروماتین که از نظر رونویسی فعال است) یا کاملاً متراکم (هتروکروماتین که از نظر رونویسی غیرفعال است) قرار می‌گیرد. کروماتین می‌تواند به صورت مکانیکی به غشاء هسته متصل باشد، لذا اختلالات غشاء هسته می‌تواند رونویسی را تحت تأثیر قرار دهد. کروموزوم‌ها (همان‌طور که نشان داده شده‌اند) تنها در هنگام تقسیم سلول با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده‌اند. کروموزوم‌ها در هنگام میتوز به صورت کروماتیدهای جفتی در می‌آیند که در سانترومر بهم متصل شده‌اند. سانترومرها به عنوان محلی برای تشکیل کمپلکس پروتئینی کینتوکور[1] عمل می‌کنند که جداشدن کروموزوم‌ها را در متافاز تنظیم می‌نماید. تلومرها توالی‌های نوکلئوتیدی تکراری هستند که انتهاهای کروماتیدها را می‌پوشانند و اجازه می‌دهند همانندسازی‌های مکرر کروموزومی بدون حذف DNA از انتهای کروموزوم‌ها انجام شود. کروماتیدها دارای بازوهای کوتاه "P" ("Petite"[2]) و بلند "Q" (حرف بعدی در الفبا) هستند. طرح نواربندی (banding) مشخصه کروماتیدها به محتوای نسبی GC نسبت داده می‌شود (محتوای GC در باندها نسبت به نواحی بین باندی کمتر است). ژن‌ها تمایل دارند در نواحی بین باندی مستقر شوند. هر رشته کروماتین از مجموعه نوکلئوزوم‌ها تشکیل شده است - که شامل DNA پیچیده به دور هسته‌های هیستونی اکتامریک هستند. نوکلئوزوم‌ها توسط پیوند دهنده‌های DNA به هم وصل شده‌اند. پیش‌برنده‌ها[3] نواحی غیرکد کننده DNA هستند که رونویسی ژن را آغاز می‌کنند. آنها روی همان رشته ژن مربوطه و در بالادست آن قرار گرفته‌اند. تقویت کننده‌ها[4] عناصر تنظیم کننده‌ای هستند که می‌توانند بیان ژن را از فاصله‌ای در حد ۱۰۰ KB یا بیشتر تنظیم نمایند. آنها این عمل را با ایجاد حلقه بازگشتی روی آغازگر و فراخوانی عوامل دیگر که برای بیان گونه‌های پیش- mRNA لازمند انجام می‌دهد. توالی‌های اینترونی متعاقباً بریده شده و از پیش- mRNA خارج می‌شوند تا پیغام نهایی شامل اگزون‌ها (که به پروتئین ترجمه می‌شوند) و نواحی غیرقابل ترجمه ′۳ و ′۵ (UTR)[5] (که ممکن است نقش تنظیمی داشته باشند) ساخته شود. علاوه بر تقویت کننده‌ها، پیش‌برنده‌ها و توالی‌های UTR، عناصر غیر کدکننده دیگری نیز در سراسر ژنوم یافت می‌شوند که شامل تکرارهای کوتاه، نواحی متصل شونده به عامل تنظیم کننده، RNAهای تنظیمی غیر کدکننده و ترانس‌پوزون‌ها می‌باشند.

1. Kinetochor; 2. به معنی کوچک; 3. Promoter; 4. Enhancers; 5. Untranslated region

دو نوع از تغییرات DNA در ژنوم انسان که بیشترین شیوع را دارند عبارتند از پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی[1] *(SNPs)* و تفاوت در تعداد کپی‌ها[2] *(CNV)*.

- SNPها واریان‌هایی در جایگاه یک نوکلئوتید منفرد هستند و تقریباً همیشه دو آللی می‌باشند (چون تنها دو انتخاب در یک جایگاه خاص در جمعیت وجود دارد مثل A یا T). بیش از ۶ میلیون SNP انسانی شناسایی شده‌اند که فراوانی بسیاری از آنها در جمعیت‌های مختلف، متفاوت است.

ویژگی‌های زیر قابل ذکر هستند:

- SNPها در سراسر ژنوم - در داخل اگزون‌ها، اینترون‌ها، نواحی بین ژنی و نواحی کد کننده - رخ می‌دهند.
- تقریباً ۱٪ از SNPها در نواحی کدکننده ایجاد می‌شوند که با در نظر گرفتن شانس نیز تقریباً همین انتظار را

1- Single-nucleotide polymorphisms
2- Copy number variations

داریم زیرا نواحی کد کننده حدود ۱/۵٪ از ژنوم را تشکیل می‌دهند.

- SNPهایی که در نواحی غیر کدکننده رخ می‌دهند ممکن است در عناصر تنظیم کننده ژنوم قرار بگیرند و بنابراین بیان ژن را تغییر دهند. در چنین مواردی SNP ممکن است اثر مستقیمی بر روی استعداد به بیماری داشته باشد.
- SNPها ممکن است واریان‌های «خنثی» باشند که اثر روی عملکرد ژن یا فنوتیپ حامل ندارند.
- حتی SNPهای «خنثی» می‌توانند به عنوان نشانگر، مفید باشند و این در صورتی است که به دلیل مجاورت فیزیکی، همراه با یک ژن مرتبط با بیماری به ارث برسند. به عبارت دیگر SNP و عامل ژنتیکی مسبب بیماری در یک پیوستگی نامتعادل[1] قرار دارند.
- اثر اغلب SNPها در ایجاد استعداد به بیماری، ضعیف است و شناسایی این واریان‌ها - به تنهایی یا همراه یکدیگر - ممکن است در تدوین استراتژی‌های مؤثر برای پیش‌گویی یا پیشگیری بیماری مفید واقع شود.
- CNVها نوعی از تغییرات ژنتیکی هستند که از تعداد متفاوتی از دنباله‌های بزرگ پیوسته DNA تشکیل شده‌اند. طول آنها از ۱۰۰۰ جفت باز تا میلیون‌ها جفت باز متغیر است. در برخی از موارد این جایگاه‌ها همانند SNPها دو آللی هستند و به سادگی در زیرگروهی از جمعیت، مضاعف شده و یا حذف می‌شوند. در برخی موارد دیگر بازآرایی‌های پیچیده‌ای از ماده ژنومی وجود دارد که آل‌های متعددی را در جمعیت انسانی شامل می‌شوند. CNVها مسئول ایجاد تفاوت در توالی میلیون‌ها جفت باز در انسان‌های مختلف هستند. تقریباً ۵۰٪ از CNVها توالی‌های کدکننده ژن را دربر می‌گیرند. بنابراین ممکن است CNVها زمینه‌ساز قسمت عمده‌ای از تفاوت‌های فنوتیپی در انسان‌ها باشند.

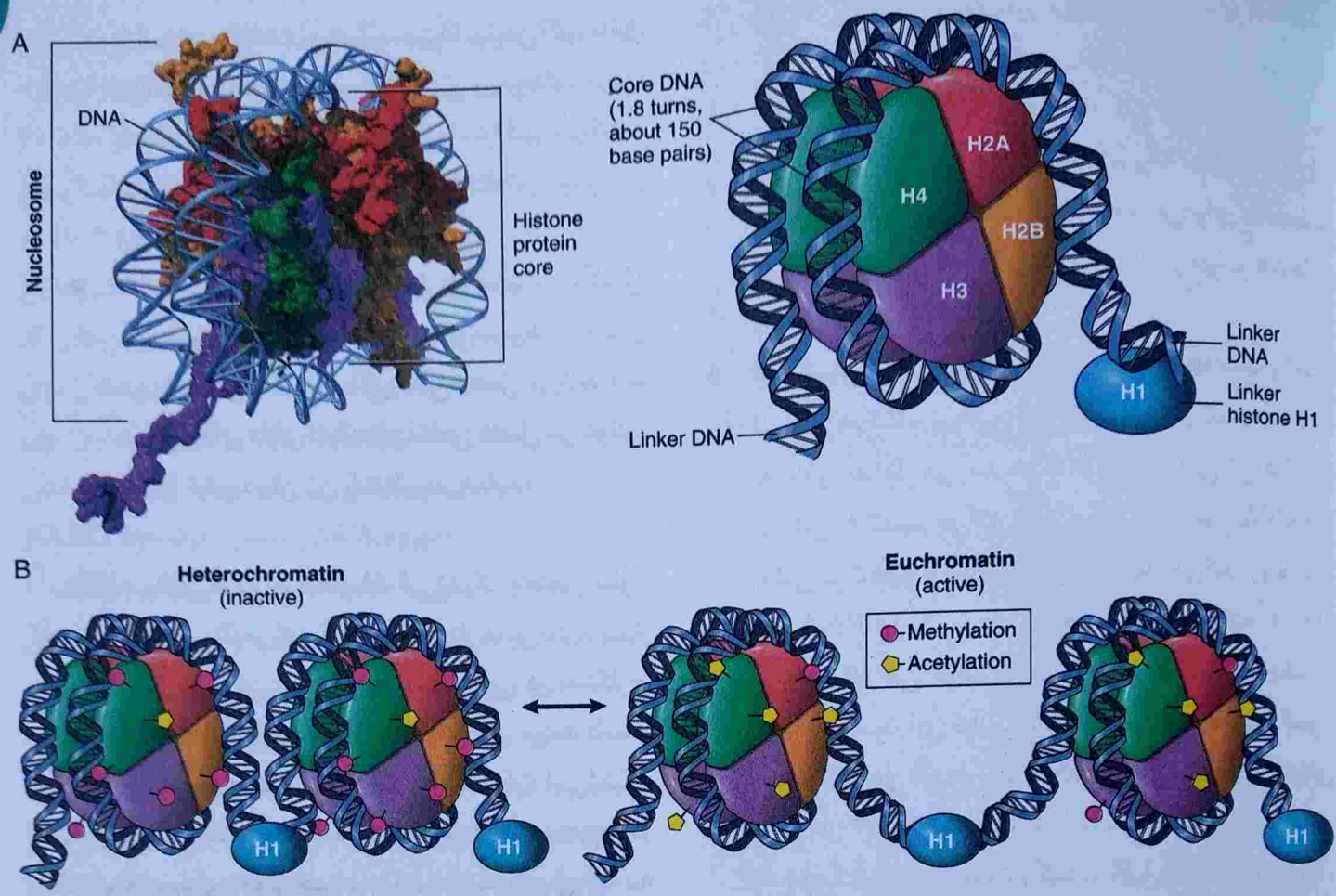
ذکر این نکته اهمیت دارد که تفاوت در توالی *DNA* به خودی خود نمی‌تواند تنوع فنوتیپی در جمعیت‌های انسانی را توجیه کند. به علاوه توارث ژنتیکی کلاسیک نمی‌تواند فنوتیپ‌های متفاوت را در دوقلوهای تک‌تخمی توضیح بدهد. پاسخ این معماها احتمالاً در اپی‌ژنتیک[2] نهفته است - یعنی تغییرات قابل به ارث رسیدن در بیان ژن که ناشی از تغییرات توالی DNA نمی‌باشد (مطالب بعدی را ببینید).

سازمان‌یابی هیستون

حتی اگر فرضاً تمام سلول‌های بدن ترکیب ژنتیکی یکسانی داشته باشند، سلول‌های تمایز یافته عملکرد و ساختار مجزایی دارند که ناشی از برنامه‌های بیان ژن مختص رده آنهاست. این تفاوت‌های خاص هر نوع سلول در رونویسی و ترجمه DNA توسط تغییرات اپی‌ژنتیک تنظیم می‌شود و شامل تغییرات متعددی است که عمیقاً بیان ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند و عبارتند از:

- سازمان‌یابی کروماتین (شکل ۲-۱). DNA ژنومی به صورت نوکلئوزوم‌هایی متراکم شده است. این نوکلئوزوم‌ها از یک قطعه DNA به طول ۱۴۷ جفت باز تشکیل شده‌اند که به دور یک هسته مرکزی از جنس پروتئین به نام هیستون[3] پیچیده‌اند. نوکلئوزوم‌ها شبیه دانه‌های تسبیحی هستند که به وسیله متصل کننده‌های کوتاه DNA به هم وصل شده‌اند. کل این ساختار کروماتین نامیده می‌شود. نکته مهم اینکه پیچ‌خوردگی‌ها و فشردگی‌های کروماتین در نواحی ژنومی مختلف در هر سلول متفاوت است. بنابراین کروماتین هسته‌ای به دو شکل اساسی وجود دارد (و توسط هیستولوژی استاندارد قابل مشاهده است): ۱) دارای نمای هیستوشیمیایی متراکم که از نظر رونویسی غیرفعال است و هتروکروماتین نامیده می‌شود ۲) دارای نمای هیستوشیمیایی پراکنده که از نظر رونویسی فعال است و یوکروماتین نامیده می‌شود. از آنجا که تنها یوکروماتین اجازه بیان ژن را می‌دهد و بنابراین هویت و فعالیت سلولی را دیکته می‌کند، لذا مکانیسم‌های متعددی وضعیت کروماتین را به دقت تحت کنترل دارند (در زیر بحث شده است).
- متیلاسیون *DNA* سطوح بالای متیلاسیون DNA در عناصر تنظیم کننده ژن به طور معمول سبب متراکم‌شدن کروماتین و خاموش شدن رونویسی می‌شود. همانند تغییرات هیستون (قسمت بعد را ببینید) متیلاسیون DNA نیز توسط متیل‌ترانسفرازها، آنزیم‌های دمتیله کننده و پروتئین‌های متصل شونده به DNA متیله، شدیداً تحت کنترل است.
- عوامل تغییر دهنده هیستون. نوکلئوزوم‌ها، ساختارهایی

1- Linkage disequilibrium 2- Epigenetics
3- Histones



شکل ۲-۱. سازمان‌یابی کروماتین. (A) نوکلئوزوم‌ها از اکتامرهای پروتئین‌های هیستونی تشکیل شده‌اند (یک جفت از هر کدام از زیرواحدهای هیستونی H2A، H2B، H3 و H4)، که توسط ۱/۸ دور از DNA شامل ۱۴۷ جفت باز احاطه شده‌اند. H1 بر روی نوکلئوتید ۲۰ تا ۸۰ DNA پیوند دهنده بین نوکلئوزوم‌ها قرار دارد و به پایداری ساختار کلی کروماتین کمک می‌کند. زیرواحدهای هیستون بار مثبت دارند و لذا امکان متراکم‌شدن DNA را که بار منفی دارد فراهم می‌نمایند (B). بازشدن نسبی پیچش‌های DNA (و بنابراین دسترسی به عوامل رونویسی) با ایجاد تغییراتی در هیستون تنظیم می‌شود. استیلاسیون، متیلاسیون و/یا فسفریلاسیون (که در اصطلاح «نشانه» نامیده می‌شوند) مثال‌هایی از این تغییرات هستند. نشانه‌ها به صورت دینامیک نوشته و پاک می‌شوند. برخی از نشانه‌ها مثل استیلاسیون هیستون ساختار کروماتین را «باز» می‌کنند در حالی که برخی دیگر نظیر متیلاسیون رزیدوهای خاصی از هیستون در جهت متراکم‌سازی DNA عمل کرده و منجر به خاموشی ژن می‌شوند. خود DNA نیز می‌تواند متیله شود. این تغییر با غیرفعال‌سازی رونویسی ارتباط دارد.

بسیار دینامیک هستند که توسط آرایه‌ای از پروتئین‌های هسته‌ای و تغییرات پس از ترجمه، تنظیم می‌شوند:

- کمپلکس‌های عامل شکل‌گیری مجدد کروماتین، می‌توانند جایگاه نوکلئوزوم‌ها را روی DNA تغییر دهند و عناصر تنظیم کننده ژن نظیر پیش‌برنده‌ها[1] را آشکار (یا مخفی) سازند.
- کمپلکس‌های «نویسنده کروماتین»[2] بیش از ۷۰ نوع تغییر کوالان مختلف در هیستون‌ها ایجاد می‌کنند که در مجموع «نشانه‌ها»[3] نامیده می‌شوند. این تغییرات عبارتند از متیلاسیون، استیلاسیون و فسفریلاسیون رزیدوهای اسیدهای آمینه‌های خاصی از هیستون‌ها،

متیلاسیون هیستونی لیزین‌ها و آرژنین‌ها توسط آنزیم‌های نویسنده خاصی انجام می‌گیرد. متیلاسیون رزیدوهای لیزین هیستون می‌تواند منجر به فعال‌سازی یا مهار رونویسی شود که بستگی به این دارد که کدام رزیدوی هیستون نشان‌گذاری شده باشد. استیلاسیون هیستونی رزیدوهای لیزین (که توسط استیل ترانسفرازهای هیستونی انجام می‌گیرد) تمایل دارد که کروماتین را باز کرده و رونویسی را افزایش دهد. داستیلازهای هیستونی (HDAC) عکس این عمل

1- Promoters
2- Chromatin writer
3- Marks

را انجام می‌دهند و سبب متراکم‌شدن کروماتین می‌شوند. فسفوریلاسیون هیستونی رزیدوهای سرین، به طور متغیری کروماتین را باز و متراکم می‌کند و می‌تواند به ترتیب سبب افزایش یا کاهش رونویسی شود.

- نشانه‌های روی هیستون‌ها از طریق فعالیت «پاک‌کن کروماتین[1]» قابل برگشت هستند. پروتئین‌های دیگری هم به عنوان «خواننده کروماتین» عمل می‌کنند و به هیستون‌های دارای نشانه‌های خاص متصل می‌شوند و به این ترتیب بیان ژن را تنظیم می‌نمایند.

مکانیسم‌های درگیر در تنظیمات اپی‌ژنتیک مختص سلول که در سازمان‌یابی ژنومی و بیان ژن نقش دارند، بی‌تردید بسیار پیچیده‌اند. علی‌رغم این پیچیدگی، کسب توانایی در دستکاری این فرآیندها احتمالاً مزایای درمانی قابل توجهی خواهد داشت. زیرا بسیاری از بیماری‌ها احتمالاً ناشی از تغییرات اپی‌ژنتیک اکتسابی یا ارثی هستند و اختلالات «اپی‌ژنوم» نقش محوری در ایجاد نئوپلاسم‌های خوش‌خیم و بدخیم دارند (فصل ۶). به علاوه - برخلاف تغییرات ژنتیکی - تغییرات اپی‌ژنتیک (مثل استیلاسیون هیستون و متیلاسیون DNA) به راحتی قابل برگشت هستند و بنابراین می‌توان در آنها مداخلاتی انجام داد. در واقع استفاده از مهارکننده‌های HDAC و مهارکننده‌های متیلاسیون DNA در درمان انواع مختلف سرطان شروع شده است.

میکرو RNA و RNA طویل غیر کدکننده

یکی دیگر از مکانیسم‌های تنظیم ژن، به عملکرد RNAهای غیرکد کننده وابسته است. این RNAها، همان‌طور که از نامشان مشخص است توسط ژن‌هایی کد می‌شوند که رونویسی می‌شوند ولی ترجمه نمی‌گردند. اگرچه خانواده‌های مجزای متعددی از RNAهای غیر کدکننده وجود دارند، تنها دو نمونه از آنها در اینجا توضیح داده می‌شوند: مولکول‌های کوچک RNA که میکرو *RNA* نامیده می‌شوند و *RNA*های طویل غیرکدکننده که بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید طول دارند.

- میکرو *RNA*ها (*miRNA*ها)، RNAهای نسبتاً کوتاهی هستند (به طور متوسط دارای ۲۲ نوکلئوتید) که عمدتاً ترجمه mRNA هدف به پروتئین را تنظیم می‌کنند

خاموش‌شدن بیان ژن پس از رونویسی، توسط miRNA یک مکانیسم اساسی تنظیم ژن در تمام یوکاریوت‌ها (گیاهان و حیوانات) است که در طی تکامل همچنان حفظ شده است. حتی باکتری‌ها هم یک نسخه ابتدایی از چنین وسیله‌ای را در اختیار دارند که از آن برای محافظت خودشان در برابر DNA بیگانه (مثلاً در برابر فاژها و ویروس‌ها) استفاده می‌کنند.

- ژنوم انسان حاوی حدود ۶۰۰۰ ژن miRNA است و تعداد ژن‌های کد کننده پروتئین تنها ۳/۵ برابر این تعداد می‌باشد. به علاوه به نظر می‌رسد هر miRNA چندین ژن کدکننده پروتئین را تنظیم می‌کند و به این ترتیب هر miRNA نقشی در تنظیم کل برنامه بیان ژن ایفاء می‌کند. رونویسی ژن miRNA یک نسخه اولیه (miRNA اولیه[2]) ایجاد می‌نماید که طی فرایندی به تدریج به قطعات کوچکتری تبدیل می‌شود. این فرایند شامل برش توسط آنزیم دایسر[3] است. محصول این فرایند miRNAهای بالغ تک‌رشته‌ای با ۲۱ تا ۳۰ نوکلئوتید است که با مجموعه‌ای از چند پروتئین به نام کمپلکس خاموش کننده القا شده با RNA[4]، (RISC- شکل ۳-۱) مرتبط می‌شود. در نتیجه، جفت شدن بازها بین رشته miRNA و mRNA هدف، RISC را وادار به شکستن mRNA و یا مهار ترجمه آن می‌کند. به این ترتیب، *mRNA* هدف دچار خاموشی پس از رونویسی می‌شود.

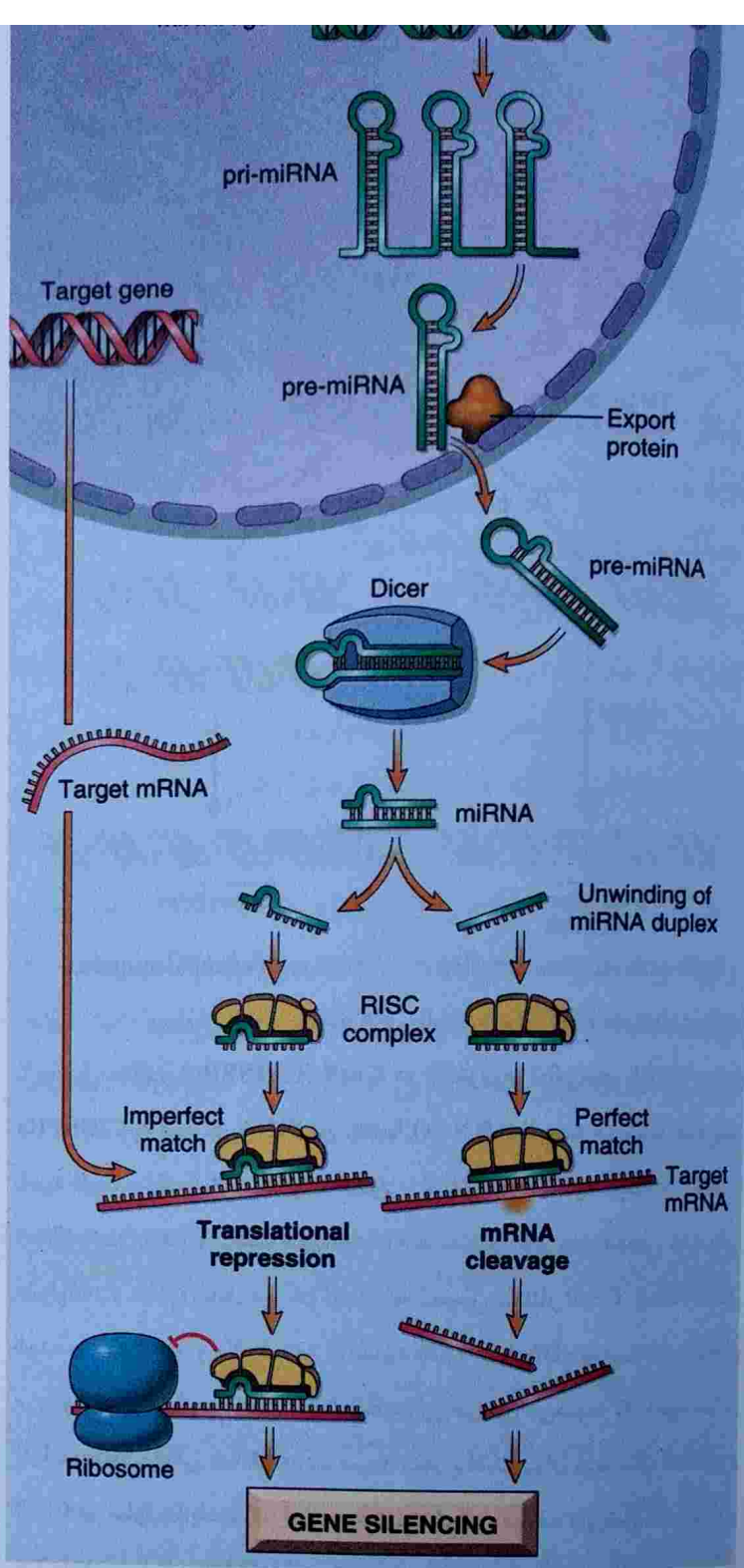
*RNA*های کوچک مداخله گر[5] (siRNA)، توالی‌های کوتاهی هستند که می‌توانند به سلول وارد شده و همان مسیر ذکر شده را طی کنند. این RNAها به عنوان سوبسترای دایسر عمل می‌کنند و با روشی مشابه miRNAهای درون‌زاد، با کمپلکس RISC واکنش می‌دهند. بنابراین siRNAهای سنتتیک که گونه‌های خاصی از mRNA را هدف قرار می‌دهند ابزارهای آزمایشگاهی قدرتمندی برای مطالعه عملکرد ژن به شمار می‌آیند (که به آن تکنولوژی ضربه فنی کننده[6] می‌گویند). به علاوه آنها نویدبخش عوامل درمانی هستند که ژن‌های پاتوژن - مثل انکوژن‌های درگیر در ایجاد بدخیمی - را خاموش می‌کنند.

1- Chromatin erasers
2- Pri-miRNA
3- Dicer
4- RNA-induced silencing complex
5- Small interfering RNA
6- Knockdown technology

همچنین حاوی تعداد بسیار زیادی lncRNA است - حداقل ۳۰,۰۰۰ تا که تعداد مجموع آنها به بیش از ۱۰ تا ۲۰ برابر mRNAهای کد کننده می‌رسد. lncRNAها بیان ژن را با روش‌های مختلفی تنظیم می‌کنند (شکل ۴-۱). به عنوان مثال آنها می‌توانند به جایگاه‌هایی در کروماتین متصل شوند و دسترسی RNA پلی‌مراز را به ژن‌های کد کننده آن ناحیه محدود کنند. شناخته شده‌ترین مثال برای عملکرد مهارکننده آنها عبارت است از XIST که از روی کروموزوم X رونویسی می‌شود و در غیر فعال‌شدن فیزیولوژیک کروموزوم X نقش اساسی دارد. خود XIST از غیرفعال شدن X فرار می‌کند ولی یک «غلاف[4]» مهارکننده بر روی کروموزوم X - که خود از روی آن رونویسی شده است - تشکیل می‌دهد و سبب خاموش‌شدن ژن می‌شود. در مقابل، مشخص شده است که بسیاری از تقویت کننده‌ها[5] محل ساخت lncRNA هستند، به طوری که lncRNAها با مکانیسم‌های مختلفی رونویسی را از پیش‌برنده[6] ژن گسترش می‌دهند (شکل ۴-۱). مطالعه روی نقش lncRNAها در بیماری‌هایی مثل آترواسکلروز و سرطان، همچنان در جریان است.

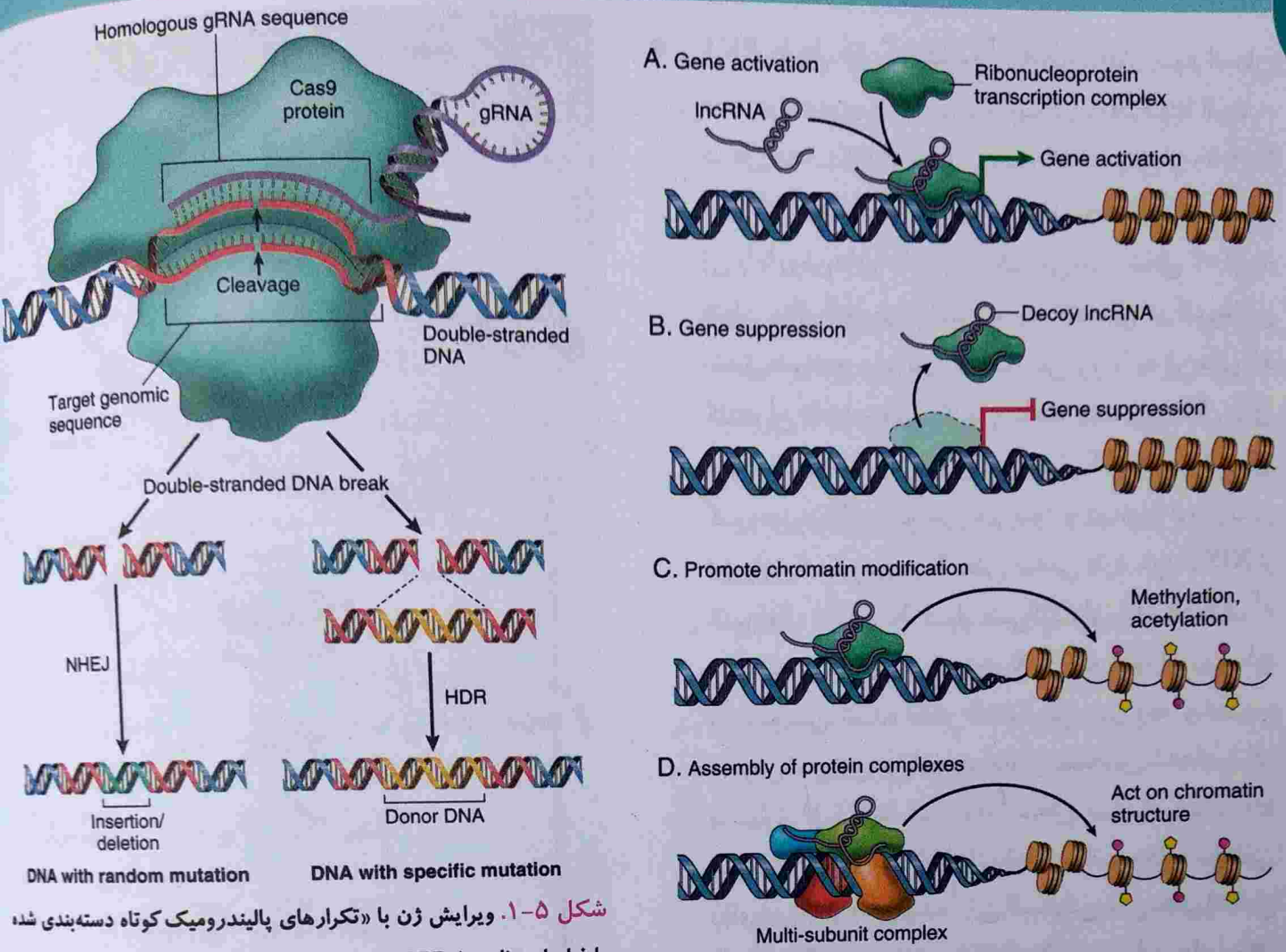
ویرایش ژن

پیشرفت‌های هیجان‌انگیز اخیر که امکان ویرایش دقیق و اختصاصی ژنوم را فراهم می‌آورد، بابی جدید در انقلاب مولکولی باز کرده است. این پیشرفت‌ها منشأیی کاملاً غیر منتظره دارد: کشف تکرارهای پالیندرومیک کوتاه دسته‌بندی شده با فواصل منظم[7] (CRISPR) و Cas (یا ژن‌های مرتبط با CRISPR[8]). اینها عناصر ژنتیکی مرتبط با هم هستند که به پروکاریوت‌ها نوعی ایمنی اکتسابی در برابر فاژها و پلاسمیدها می‌بخشند. باکتری‌ها از این سیستم برای نمونه‌برداری از DNA عوامل آلوده کننده استفاده می‌کنند و آنها را به صورت CRISPR به ژنوم میزبان وارد می‌نمایند. CRISPRها رونویسی می‌شوند و به صورت توالی‌های RNA در می‌آیند که



شکل ۳-۱. تشکیل میکرو RNAها (miRNA) و نحوه عملکرد آنها در تنظیم فعالیت ژن. ژن miRNA ترجمه می‌شود و یک miRNA اولیه (pri-miRNA) می‌سازد که در داخل هسته فرآوری شده و پیش-miRNA[1] را تشکیل می‌دهد. پیش- miRNA یک RNA تک‌رشته‌ای با ساختارهای حلقه سنجاق‌سری[2] ثانویه است که دنباله‌ای از RNA دورشته‌ای را ایجاد می‌کند. پس از اینکه این پیش- miRNA توسط پروتئین‌های انتقالی اختصاصی از هسته خارج شد، آنزیم سیتوپلاسمی دایسر، پیش- miRNA را برش می‌زند تا یک miRNA بالغ دورشته‌ای به طول ۲۱ تا ۳۰ نوکلئوتید تولید کند. سپس دو رشته miRNA از هم جدا می‌شوند و تک‌رشته‌های حاصل وارد مولتی‌پروتئین RISC می‌شوند. جفت‌شدن بازها بین miRNA تک‌رشته‌ای و mRNA هدف باعث می‌شود که RISC، mRNA هدف را بشکند یا ترجمه آن را مهار کند که هر دو حالت باعث خاموشی ژن mRNA پس از ترجمه می‌گردد.

1- pre-miRNA
2- Hairpin loop
3- Long noncoding RNA
4- Cloak
5- Enhancers
6- Promoter
7- Clustered regulatory interspaced short palindromic repeats
8- CRISPR-associated genes



شکل ۴-۱. نقش RNAهای طویل غیرکدکننده (lncRNA). (A) RNAهای طویل غیرکدکننده می‌توانند اتصال عوامل رونویسی را تسهیل کنند و در نتیجه باعث فعال‌سازی ژن می‌شوند. (B) از سوی دیگر lncRNAها می‌توانند پیشاپیش به عوامل رونویسی متصل شده و از رونویسی ژن جلوگیری نمایند. (C) تغییرات اعمال شده بر هیستون و DNA توسط استیلازها و متیلازها (یا داستیلازها و دمتیلازها) ممکن است با اتصال lncRNAها هدایت شود. (D) در سایر موارد ممکن است lncRNAها به عنوان داربستی برای پایداری ساختارهای ثانویه و ثالثیه عمل کنند یا کمپلکس‌های دارای چندین زیرواحد[1] را که ساختار کلی کروماتین یا فعالیت ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند، پایدار سازند.

شکل ۵-۱. ویرایش ژن با «تکرارهای پالیندرومیک کوتاه دسته‌بندی شده با فواصل منظم» (CRISPRs)/Cas9. در باکتری‌ها توالی‌های DNA حاوی CRISPRs به صورت RNAهای راهنما (gRNAs) ترجمه می‌شوند که یک ناحیه ثابت و یک توالی متغیر با حدود ۲۰ باز دارند. ناحیه ثابت gRNA به Cas9 متصل شده و باعث می‌شود ناحیه متغیر، هترودوپلکسی با توالی هومولوگ در DNA سلول میزبان ایجاد کند. سپس نوکلئاز Cas9، DNA متصل شده را می‌شکند و یک قطعه شکسته شده از DNA دورشته‌ای حاصل می‌شود. برای انجام ویرایش ژن gRNAهایی طراحی می‌شوند که ناحیه متغیر آنها هومولوگ توالی DNA هدف مورد نظر باشد. بیان همزمان gRNA و Cas9 در سلول‌ها باعث کارآمدی شکست توالی هدف می‌شود. در غیاب DNA هومولوگ، DNA شکسته از طریق اتصال انتهایی غیرهومولوگ (NHEJ) ترمیم می‌شود که روشی پرخطا است و باعث ورود اضافات[3] و حذف‌های[4] (indels) مختل کننده DNA می‌شود. در مقابل، در صورت وجود یک DNA «دهنده» هومولوگ که ناحیه هدف CRISPR/Cas9 را پوشش دهد سلول می‌تواند از نوترکیبی DNA هومولوگ (HDR) برای ترمیم شکست DNA استفاده کند. HDR کارآمدی کمتری نسبت به NHEJ دارد ولی قادر است تغییرات را با دقت به توالی DNA وارد کند. کاربردهای بالقوه CRISPR/cas9 در همراهی با HDR عبارتند از ترمیم نقایص ژنتیکی ارثی و ایجاد جهش‌های پاتوژنیک.

1- Multisubunit complexes
2- Guide RNA
3- Insertions
4- Deletions

به نوکلئاز Cas9 متصل شده و آن را به سمت یک توالی (مثل یک فاژ) هدایت می‌کنند و به این ترتیب منجر به شکستن و تخریب فاژ می‌گردند. در ویرایش ژن، همین فرآیند با استفاده از RNAهای راهنمای[2] (gRNA) مصنوعی شبیه‌سازی می‌شود. به طوری که یک gRNA که مکمل DNA دلخواه ما است به Cas9 متصل می‌شود. هنگامی که Cas9 توسط gRNA به سمت توالی هدف هدایت شد، باعث ایجاد شکست در DNA