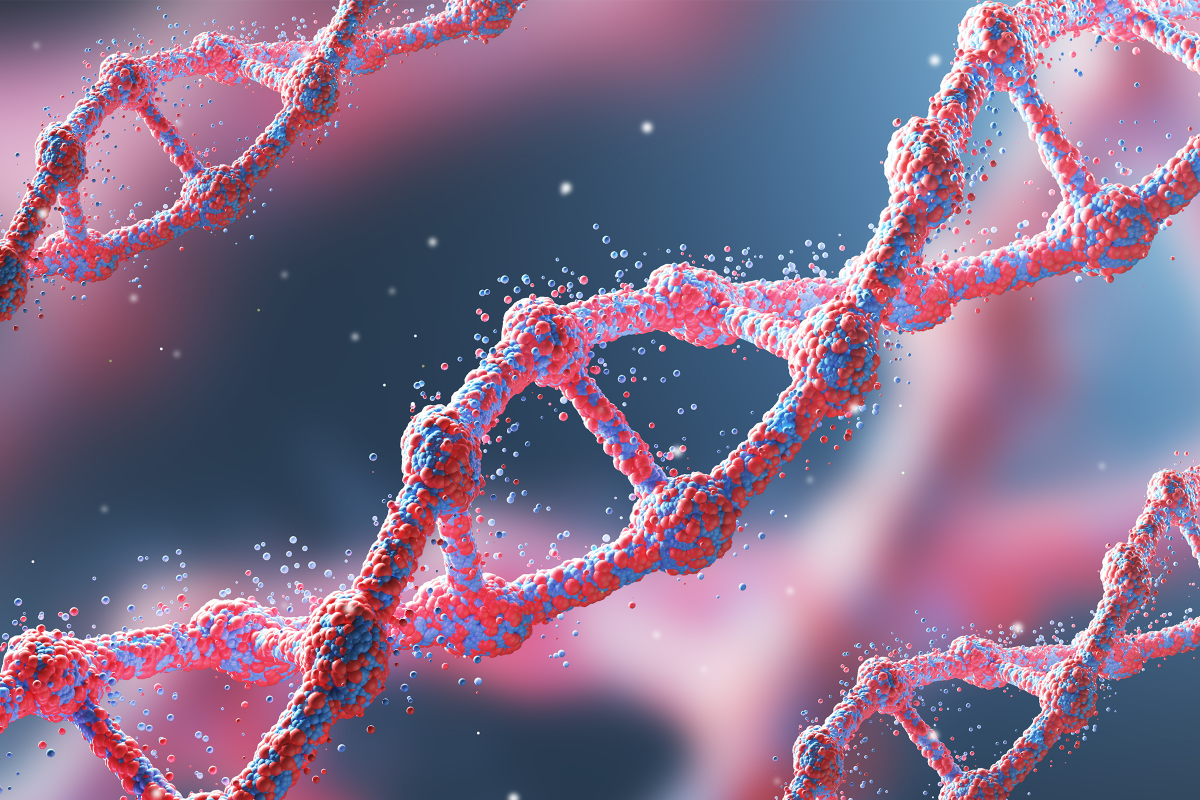




مقدمة قصيرة جداً

جون آرتشيبالد

علم الجينوم

ترجمة أمنية طلعت

علم الجنوم

مقدمة قصيرة جدًا

تأليف
جون آرتشيبيولد

ترجمة
أمنية طلعت

مراجعة
أحمد سمير درويش



الناشر مؤسسة هنداوي

المشهرة برقم ١٠٥٨٥٩٧٠ بتاريخ ٢٦ / ١ / ٢٠١٧

يورك هاوس، شبيت ستريت، وندسور، SL4 1DD، المملكة المتحدة

تليفون: ٨٣٢٥٢٢ ١٧٥٣ (٠) ٤٤ +

البريد الإلكتروني: hindawi@hindawi.org

الموقع الإلكتروني: https://www.hindawi.org

إنَّ مؤسسة هنداوي غير مسؤولة عن آراء المؤلف وأفكاره، وإنما يعبر الكتاب عن آراء مؤلفه.

تصميم الغلاف: ولاء الشاهد

الترقيم الدولي: ٩٧٨ ١ ٥٢٧٣ ٢٩٧٠ ٦

صدر الكتاب الأصلي باللغة الإنجليزية عام ٢٠١٨.

صدرت هذه الترجمة عن مؤسسة هنداوي عام ٢٠٢٢.

جميع حقوق النشر الخاصة بتصميم هذا الكتاب وتصميم الغلاف محفوظة لمؤسسة هنداوي.

جميع حقوق النشر الخاصة بالترجمة العربية لنص هذا الكتاب محفوظة لمؤسسة هنداوي.

جميع حقوق النشر الخاصة بنص العمل الأصلي محفوظة لدار نشر جامعة أكسفورد.

Copyright © John Archibald 2018. *Genomics* was originally published in English in 2018. This translation is published by arrangement with Oxford University Press. Hindawi Foundation is solely responsible for this translation from the original work and Oxford University Press shall have no liability for any errors, omissions or inaccuracies or ambiguities in such translation or for any losses caused by reliance thereon.

المحتويات

٧	شكر وتقدير
٩	تمهيد
١١	١- ماهية علم الجينوم
٢٣	٢- كيفية قراءة كتاب الحياة
٤١	٣- فهم الجين والجينوم
٥٧	٤- الجينوم البشري في علم الأحياء والطب
٧٣	٥- علم الجينوم التطوري
١٠٣	٦- علم الجينوم وعالم الميكروبات
١٢٥	٧- مستقبل علم الجينوم
١٤١	قراءات إضافية
١٤٣	المراجع

شكر وتقدير

يتطور العلم الحديث بخطى سريعة، ويُصبح متخصصًا للغاية لدرجة أن المرء يستعصي عليه أن يظل مُلمًا إلمامًا كاملاً بتخصصه، فضلًا عن مجال واسع مثل علم الجينوم. ولأنَّ علم الجينوم مجال بحثي معتمد على التكنولوجيا، فإنه بالأخص يشهد تطورات سريعة جدًا. وفي تأليف هذا الكتاب، استفدت من عمل عدد كبير من العلماء. ولهذا فإنني مدين تحديدًا للأشخاص الآتين، الذين أدرجت أسماءهم حسب ترتيبها أبجديًا، على وقتهم وجهدهم في تقديم التعليقات على بعض الفصول الواردة هنا أو جميعها، وهم: كارين بيدارد، وجينيو تشينج، وأندريه كومو، وجنيفر كوركوران، وبروس كيرتس، وجان دي فريس، ومات فيلد، وبيتر هولاند، وفيليب هوجنهولتز، وجون جيرلستروم-هولتكفيست، ونيكول كينج، ورasmus نيلسن، وإيناكي رويث تريو، وبيث شابيرو، وديفيد والش. وأودُّ أيضًا أن أتقدَّم بالشكر إلى لاثا مينون وجيني نوجي من دار نشر جامعة أكسفورد على تقديم مساعدة تحريرية متخصصة طوال وقت العمل على هذا الكتاب.

تمهيد

أحدث علم الجينوم (الجينوميكس) تغييرًا فارقًا في العلوم البيولوجية. فالقدرة على تحديد التركيب الجيني الكامل للكائنات الحية قد غيّرت النهج التي يسلكها الباحثون في مجال العلم والتساؤلات التي قد تُطرح بشأنه، وذلك يسري على عدة مجالات، بدءًا من علم الأوبئة والطب حتى علم الأحياء التطوري وعلم الأدلة الجنائية. يُعد مشروع الجينوم البشري أشهر إنجاز في مجال علم الجينوم بفارق كبير عن الإنجازات الأخرى؛ فهو خلاصة سعي دءوب شهد تحدياتٍ تكنولوجية، واستغرق إنجازُه من آلاف العلماء في أرجاء العالم ثلاثة عشر عامًا، وتكلّف ما يُناهز ٣ مليارات دولار أمريكي لإتمامه. ففي عام ٢٠٠٠، وصف الرئيس الأمريكي ويليام كلينتون تسلسل الجينوم الناتج من هذا المشروع بأنه «أهم وأروع خريطة أنتجتها البشرية على الإطلاق». ومع أن هذه «الخريطة» كانت مهمة، كانت بمثابة تصوّر مبدئي منخفض الدقة؛ أي إنها كانت بداية وليست نتيجة نهائية. وحتى اللحظة التي تُخط فيها هذه السطور، جرى تحديد تسلسل آلاف الجينومات البشرية سعيًا إلى تحقيق الغايات الأساسية المتمثلة في تحسين فهم نظامنا البيولوجي في الصحة والمرض، و«شخصنة» الطب (أي: تحديد التدخل الطبي اللازم وفق احتياجات كل فرد على حدة). ويستغرق الآن تحديد تسلسل جينوم بشري بضعة أيام لا غير، وبتكلفة صغيرة قدرها ألف دولار أمريكي. أما جينومات الفيروسات والبكتيريا البسيطة، فيمكن تحديد تسلسلها في غضون ساعاتٍ على جهازٍ بحجم راحة يدك. وتُستخدم المعلومات بطرقٍ لم يكن من الممكن تصوّرها قبل بضع سنوات فقط.

قد يحمل مصطلح «علم الجينوم» معانيَ مختلفةً لأشخاص مختلفين. فأحد معانيه أنه مجموعة من الطرق التجريبية المستخدمة لتحليل تسلسل جينوم كائن حي وبنيته. وكذلك يُعد فرعًا علميًا ناضجًا واسع التأثير يُركز على «الجينوم» والجينات التي يحويها.

ويستكشف هذا الكتاب الذي بين أيدينا علم الجينوم ومجموعة أدواته التي تتوسع بوتيرة سريعة. ويتجلى الهدف من الكتاب في تزويد القارئ بنظرة عامة واسعة عن الموضوع؛ ليشمل بذلك علم الأحياء الجزيئي الذي يستند عليه علم الجينوم، وأمثلة على التساؤلات العلمية التي عادةً ما يتناولها، والكيفية التي يؤثر بها علم الجينوم في حياتنا اليومية، والكيفية التي من المرجح أن يؤثر بها في حياتنا في المستقبل. وكما سنرى، فإن علم الجينوم هو مجال سريع الوتيرة لا يكتفي بالاستمرار في توسيع الحدود التكنولوجية فحسب، بل يتحدى كذلك حدوداً اجتماعية وقانونية وأخلاقية، مُحاولاً توسيعها. بل إن تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي تتطور بسرعة هائلة لدرجة أن بعض الطرُق التي ابتُكرت خلال العقد الماضي قد عفا عليها الزمن الآن. وصحيح أن استكشاف الموضوع يتطلب قدرًا محددًا من التفاصيل العلمية المتخصصة، لكنني بذلت قصارى جهدي لتقليل هذه المعلومات المتخصصة إلى أدنى حد. وكذلك فالقارئ له مُطلق الحرية في تخطي أجزاء من الكتاب لينتقل إلى أي جزء يسوقه اهتمامه إليه؛ إذ أوردت في نهاية الكتاب قوائم بالمراجع والمؤلفات الإضافية التي يمكن قراءتها لمزيد من الاطلاع على ما يتعلق بكل فصل للراغبين في التعمق في سبر أغوار موضوعات بعينها.

الفصل الأول

ماهية علم الجينوم

يُعد التعرف على ماهية الوراثة واحدًا من أعظم الانتصارات التي حقّقها العلم في القرن العشرين. فالحمض النووي أو الحمض النووي الريبوزي المنقوص الأكسجين — الذي يُعرّف اختصارًا بـ «دي إن إيه» — والذي اكتُشف لأول مرة في عام ١٨٦٩ على يد طبيب سويسري يُدعى فريدريش ميسر، كثيرًا ما يوصف بأنه «جزء الحياة الرئيسي»؛ إذ تتكوّن منه الجينات، ويُمثّل المادة الوراثية التي تنقل الكائنات الحية من خلالها الصفات الجسدية والسلوكيات الفطرية إلى نسلها. ومن منظور التكوين البنيوي والكيميائي، فإن الحمض النووي جُزء بسيط نسبيًا، لكنه قادرٌ على تخزين كميات هائلة من المعلومات. ويستخدم علماء الأحياء مصطلح «جينوم» ليشيروا به إلى إجمالي مجموع جزيئات الحمض النووي داخل الخلية الواحدة أو الخلايا المتعددة المكوّنة لكائن حي. وهكذا يحتوي الجينوم على جميع جينات الكائن الحي بالإضافة إلى ما يُسمّى بالحمض النووي «غير المشفّر». وقد يتباين قدر الحمض النووي غير المشفّر (الذي أحيانًا ما يُسمى الحمض النووي «القديم الفائدة») في الجينوم الواحد من نوع إلى آخر من الكائنات. تجدر الإشارة كذلك إلى أن الكائنات الحية المُعقّدة كثيرًا ما تحمل أكثر من جينوم؛ فقد يوجد الحمض النووي في حُجيرتين مستقلتين أو أكثر داخل الخلية. فالإنسان مثلاً لديه جينومان؛ أحدهما في نواة الخلية، والآخر في «مصنع إنتاج الطاقة» الخلوي، المعروف بالميتوكوندريون. ويختلف حجم الجينومات وتكوينها اختلافًا كبيرًا حسب نوع الكائن الحي الذي توجد فيه.

بيولوجيا الخلايا

إن اللبنة الرئيسية للحياة على كوكب الأرض هي الخلية، ويوجد منها نوعان رئيسيان؛ الخلايا البدائية النواة والخلايا الحقيقية النواة. تمثّل بدائيات النواة الكائنات المجهرية

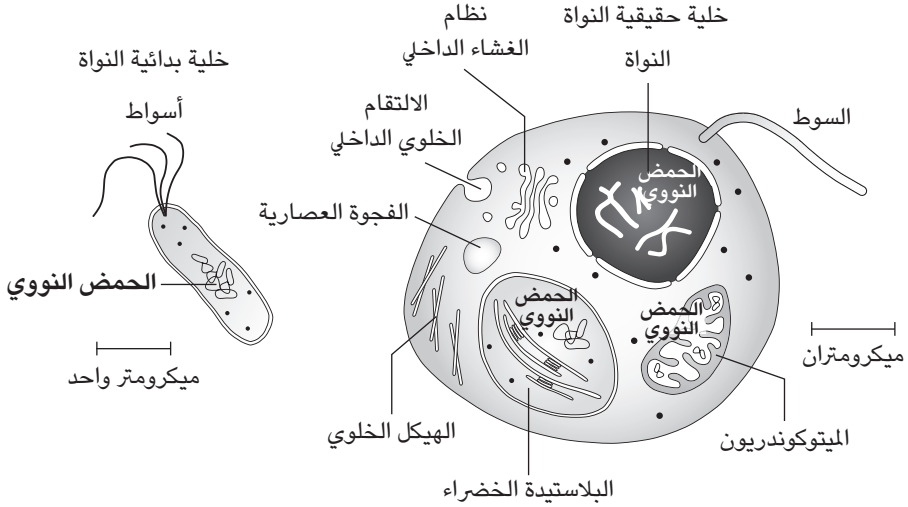
الوحيدة الخلية التي تتضمن عددًا لا حصر له من البكتيريا التي توصَّل إليها العلم، كالإشريكية القولونية الموجودة في أمعائنا واليرسينية الطاعونية المُسبِّبة لوباء الطاعون، والمكورة العقدية التي تساهم في تسوُّس الأسنان والمكورة العنقودية التي تسبَّب العدوى الجلدية، واللاكتوباسيلس التي نستخدمها في صناعة الزبادي، والبكتيريا الزرقاء التي تمارس عملية التمثيل الضوئي في مياه المحيطات، والبكتيريا المثبِّتة للنيتروجين التي تعيش في علاقة تكافلية مع جذور النباتات. كل تلك البكتيريا وأنواع أخرى أكثر بكثير تُصنَّف ضمن بدائيات النواة.

تشمل بدائيات النواة أيضًا «العتائق»، أو البكتيريا العتيقة، وهي مجموعة من الكائنات الوحيدة الخلية المعروفة بدرجّة أقل، وتعيش غالبًا في البيئات ذات الظروف المناخية القاسية. تستطيع العتائق أن تعيش في درجات حرارة تتعدى ١٠٠ درجة مئوية في الينابيع الحارة والمنافس الحرارية المائية في قاع المحيطات، في حين أن أنواعًا أخرى منها تنمو في بيئات شديدة الملوحة مثل المَلْأَحَات الشمسية، التي قد تزداد درجة ملوحتها لتصل إلى مقدار يساوي ملوحة ماء البحر عشر مرات. غير أن هناك عتائق أخرى تُعد «مُحبة للأحماض»؛ إذ عُثِر عليها تعيش في أحواض كبريتية ومياه التصريف الحمضية من المناجم عند مستويات من الأس الهيدروجيني تقترب من الصفر (على مقياس يمتد من صفر إلى ١٤).

على النقيض من بدائيات النواة، التي لا تحوي سوى مكونات قليلة في بنيتها الداخلية، تتميز حقيقيّات النواة بوجود عدد من الحجيرات الداخلية المحاطة بأغشية (انظر الشكل ١-١). وتحتوي تلك الحجيرات على النواة التي يستقر فيها الجينوم الرئيسي للخلية، وتستقر فيها كذلك الميتوكوندريون، وهو إحدى العُضَيَّات المهمة التي تمثِّل موقع إنتاج مُرَكَّب أدينوسين ثلاثي الفوسفات. وفي حالة حقيقيات النواة التي تمارس التمثيل الضوئي، توجد أيضًا عضوية من البلاستيدات الخضراء تستخلص ضوء الشمس. تحتوي الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء كليهما على جينوم، وهذه نتيجة موروثه من أنهما تطوّرتا أصلًا من بكتيريا كانت غير تطفلية جاءت لتستقر داخل خلية مضيفة حقيقيّة النواة. وتتميز حقيقيات النواة أيضًا بوجود «هيكل خلوي» دقيق، وهو نظام داخلي يتكون من دعامات كالسقالات قائمة على شبكة من الخيوط البروتينية، ويسمح للخلايا الحقيقية النواة بأن تغيّر شكلها وتنمو لتبلغ حجمًا أكبر كثيرًا من حجم الخلايا البدائية النواة.

كقاعدة أساسية، فإن جميع الكائنات التي تُرى بالعين المجردة كائنات حقيقية النواة — مثل الحيوانات، والنباتات، والفطريات، والطحالب البحرية البنية، وما إلى ذلك — وكذلك

ماهية علم الجينوم



شكل ١-١: الخلايا البدائية النواة والحقيقية النواة.

تضم حقيقيات النواة مجموعة واسعة من الكائنات المجهرية الوحيدة الخلية كطحالب البرك، والعوالق النباتية في المحيطات، والأميبات في التربة، وبعض مسببات الأمراض مثل البكتيريا المسببة للإصابة بالمalaria، التي تُدعى المتصورة. هذا وتتألف الجينومات النووية في الخلايا الحقيقية النواة من عدة جزيئات طويلة من الحمض النووي، في حين أن الجينومات في بدائيات النواة، وكذلك تلك التي في العضيات، عادةً ما تكون دائرية بطبيعتها. ومع التنقل عبر الفصول التالية، ستُستعرض اختلافات أخرى متنوعة بين الخلايا البدائية النواة والحقيقية النواة.

لاحظ أنني لم أدرج الفيروسات في هذا الاستعراض العام لبيولوجيا الخلية. والسبب في ذلك أنها لا تنتمي إلى بدائيات النواة ولا إلى حقيقيات النواة. بل إن كثيرين من علماء الأحياء لا يعتبرون الفيروسات كائنات حية أصلاً؛ لأنها تعتمد على آليات عمل الخلية لكي تتكاثر (توجد فيروسات معروفة تصيب كلاً من بدائيات النواة وحقيقيات النواة). لكن هذا لا يعني الانتقاص من أهميتها؛ فالفيروسات الموجودة على كوكب الأرض أكثر بكثير من البكتيريا (علماء بأن عدد البكتيريا كبير أصلاً)، وكذلك تتنوع الفيروسات تنوعاً مذهلاً في أشكالها ووظائفها. وتتفرد الفيروسات أيضاً بأن بعضها يحوي جينوماً قائماً على الحمض

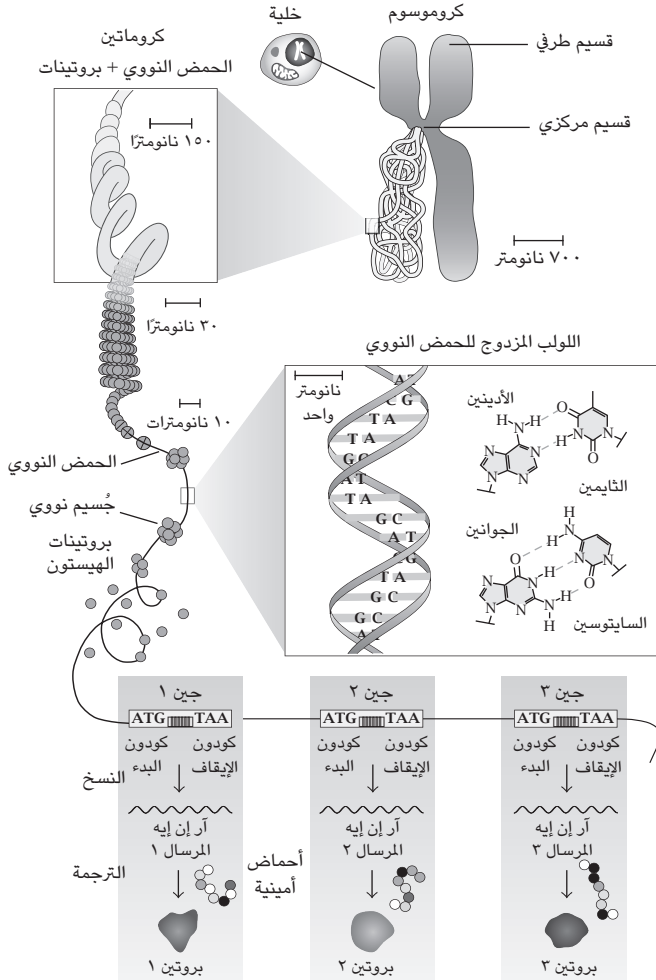
النووي الريبوزي الذي يعرف اختصارًا بـ «آر إن إيه»، على عكس الكائنات الخلوية التي تستخدم الحمض النووي فقط مادةً وراثية. وسنستكشف تنوع الفيروسات والجينومات الخاصة بها في الفصل السادس، وهو مجال بحثي شائق يحظى بطفرة متجددة في الاهتمام به بفضل التقنيات الحديثة المستخدمة لتحديد تسلسل الحمض النووي.

بيولوجيا الجزيئات

إن البنية اللولبية المزدوجة المميزة للحمض النووي لا تحمل سر فهم كيفية انتقال الجينات إلى النسل فحسب، وإنما كذلك كيفية قيامها بـ «توجيه» عملية تخليق البروتينات التي تُعد وحدات البناء الرئيسية التي تُبنى منها جميع الخلايا. ومن المفيد تخيل شكل الحمض النووي بأنه سُلَّمًا لولبيًا، إذ تتكوّن درجات السُلَّم من النيوكليوتيدات التي تحتوي الجهة الخارجية منها على مجموعة فوسفات سالبة الشحنة، وتحتوي الجهة الداخلية منها على واحدة مما يُعرف بالقواعد النيتروجينية، وكذلك يوجد السكر الذي يربط بينهما. وفي الحمض النووي أربع قواعد نيتروجينية: الأدينين (A)، السايتوسين (C)، الجوانين (G)، الثايمين (T)، حيث تتحكم خصائصها الكيميائية المحددة في كيفية التفاعل بين شريطي اللولب المزدوج؛ فتتقرن القاعدة النيتروجينية A بالقاعدة T، وتتقرن القاعدة C بالقاعدة G. وبذلك فإن «الزوجين القاعديين» A-T و C-G يكوّنان الدرجات الداخلية لسُلَّم الحمض النووي (انظر الشكل ١-٢).

تستلزم عملية تضاعف الحمض النووي فك شريطي اللولب المزدوج بعضهما عن بعض. وفور انفصالهما، تستخدم آلية تخليق البروتينات في الخلية كل شريط منفصل من اللولب كقالب لإضافة نيوكليوتيدات مكّلة بالتتابع؛ فتضاف بقايا قواعد A إلى الشريط المنفصل مُقابل قواعد T في الشريط المقابل، وتُدْرَج قواعد C مُقابل قواعد G في الشريط المقابل. وتصبح النتيجة النهائية وجود لولبين مزدوجين من الحمض النووي متطابقين مع اللولب المزدوج الأصلي. وصحيح أنّ تضاعف الحمض النووي عملية متناهية الدقة لكنها ليست مثالية؛ إذ تنشأ خلال هذه العملية أغلب الطفرات في الحمض النووي. سنعيد تناول مفهوم دمج النيوكليوتيدات بمزيد من التفصيل في الفصل التالي؛ إذ إنه يشكّل أساس أغلب التقنيات المستخدمة في المختبرات لتحديد تسلسل الحمض النووي. وتعني الطبيعة التكميلية التي يتسم بها شريطا الحمض النووي أنّ ما يحتاج إلى تحديد تسلسله هو شريط واحد فقط؛ فمعرفة ترتيب القواعد النيتروجينية في شريط واحد تعني إمكانية استنتاج تسلسل القواعد النيتروجينية في الشريط الآخر.

ماهية علم الجينوم



شكل ١-٢: الكروموسومات، والحمض النووي، والحمض النووي الريبوزي، والبروتينات. يعرض الشكل ما يأتي: (١) تغليف الحمض النووي والبروتينات داخل الكروماتين والكروموسومات التي توجد في نواة الخلية الحقيقية النواة، (٢) البنية اللولبية المزدوجة للحمض النووي، بما في ذلك «لبنة البناء» الكيميائية الأربعة التي يتكون منها الحمض النووي، (٣) كيف يؤدي الحمض النووي إلى ظهور وسيط كيميائي يُطلق عليه الحمض النووي الريبوزي، وكيف تُستخدم المعلومات المخزنة في الحمض النووي الريبوزي قالبًا لتخليق البروتينات.

إن الآلية التي تساهم بها الجينات في بناء البروتينات تتضمن كذلك فصل اللولب المزدوج. وفي هذه الحالة، يعمل أحد شريطي الحمض النووي كقالب لإنتاج الحمض النووي الريبوزي، وهو يشبه الحمض النووي في تركيبه الكيميائي لكنه يختلف عنه. فالسكر في الحمض النووي الريبوزي هو سكر الريبوز الخماسي، وليس سكر الريبوز المنقوص الأكسجين كما هو الحال في الحمض النووي، والقواعد النيتروجينية المكونة للنيوكليوتيدات الريبوزية هي: A و C و G و U (اليوراسيل). ولأن U يتشابه كيميائياً مع T، فإنه يقترن مع A. وعلى حسب الحمض النووي الريبوزي الناتج، فقد يُصبح بمثابة جزيء أحادي الشريط فقط، أو قد يُطوى ليكون بنية معقدة ثلاثية الأبعاد مؤلفة من مناطق ذات شريط واحد وأخرى ذات شريطين بالتناوب فيما بينها.

تعمل جزيئات الحمض النووي الريبوزي كحلقة وصل بالغة الأهمية بين الجينات الموجودة في الحمض النووي والبروتينات التي تحددها. وفي حين أن الحمض النووي والحمض النووي الريبوزي سلسلتان خطيتان من النيوكليوتيدات، فإن البروتينات بوليمرات مكونة من أحماض أمينية. يوجد عشرون نوعاً مختلفاً من الأحماض الأمينية في البروتينات الموجودة طبيعياً، وكل نوع منها «متأصل» فيما يُسمى الشفرة الوراثية العامة. وتُعد الشفرة الوراثية التي تستخدمها جميع الخلايا (البدائية النواة والحقيقية النواة) شفرة ثلاثية؛ أي إن كل حمض أميني محدد «يُشفّر» بفعل «كودون» ذي ثلاث قواعد نيتروجينية. وتظهر هذه الكودونات واحداً تلو الآخر في تسلسل جينات الحمض النووي، وتُحوّل تلك الكودونات إلى حمض نووي ريبوزي عن طريق عملية يُطلق عليها «النسخ». ثم يُستخدم هذا الحمض، الذي يُطلق عليه الحمض النووي الريبوزي المرسال، كقالب لتخليق البروتينات؛ وفي أثناء عملية «الترجمة»، ترتبط الأحماض الأمينية بعضها ببعض ارتباطاً خطياً بالترتيب الدقيق الذي حدّته الكودونات في الجين (ارجع للشكل ١-٢).

يُعد تخليق البروتين عملية معقدة للغاية؛ إذ إنها تتضمن العشرات من جزيئات البروتينات والحمض النووي الريبوزي. وتحقيقاً لمقاصدنا، يكفي أن ندرك أننا، بسبب استخدام الشفرة الوراثية نفسها في تخليق البروتين لدى معظم الكائنات الحية التي فُحصت، يمكننا أن نتوقع بثقة عالية تسلسل الأحماض الأمينية المكونة لأي بروتين معين، استناداً إلى تسلسل الحمض النووي المكوّن للجين الخاص به. ببساطة، تُعد الجينات التي تُشفّر البروتين سلاسل طويلة من كودونات مكونة من ثلاث نيوكليوتيدات، ويمكننا، بمساعدة جهاز كمبيوتر، أن نبحتّ عبر كل الحروف الكيميائية التي تُشكّل جينوماً بعينه

ونحدد الجينات بداخله. (تجدر الإشارة إلى أن الباحثين قد وثّقوا بضعة من حالات «إعادة تعيين الكودون»؛ أي الحالات التي تُستخدم فيها كودونات معينة ثلاثية القواعد داخل جينوم كائن حي بهدف تحديد حمض أميني مختلف عن ذلك الذي في الشفرة المعيارية. غير أن هذه الأمثلة نادرة للغاية؛ ولذا توصف الشفرة الوراثية عمومًا بأنها «عامة»؛ فطبيعتها المعقّدة والاعتباطية إلى حدٍّ ما تُشير بوضوح إلى السلف المشترك الذي نشأت منه كل أشكال الحياة على وجه الأرض).

الجينومات بالأرقام

المقصود بالتحديد التام لتسلسل جينوم كائن حي هو تحديد الترتيب الدقيق لكل قواعد الأدينين والسيتوسين والجوانين والثايمين الموجودة في حمضه النووي. غير أن حجم الجينوم يختلف اختلافًا شاسعًا من نوع إلى آخر، وكلما كان الجينوم موضع الاهتمام أكبر حجمًا، ازدادت التحديات المرتبطة بتحديد تسلسله. لهذا ليس من المستغرب أن مجال علم الجينوم البحثي بدأ بدراسة الجينومات الصغيرة في بدائيات النواة والفيروسات. فأول جينوم حُدّد تسلسله، وذلك في عام ١٩٧٦، كان جينومًا لفيروس تتمثل مادته الوراثية في الحمض النووي الريبوزي، ويُطلَق عليه إم إس ٢، وهو «عائية» تصيب بكتيريا الإشريكية القولونية والبكتيريا المتعلقة بها. ويكاد جينوم هذا الفيروس يكون بسيطًا بقدر البساطة التي يُمكن أن يُصبح عليها أي جينوم؛ إذ يبلغ طوله حوالي ٣٦٠٠ زوج قاعدي، ويحتوي فقط على أربعة جينات مُشفّرة للبروتين. ثم رُصد تسلسل أول جينوم أساسه الحمض النووي بعد فترة قصيرة، وكان جينومًا للعائية «فاي إكس ١٧٤». وهذا الفيروس له تاريخ طويل في أبحاث علم الأحياء الجزيئي ولا يزال يُستخدم حتى اليوم. فنظرًا إلى صغر حجمه (إذ يصل طوله إلى حوالي ٥٤٠٠ زوج قاعدي، ويحتوي على أحد عشر جينًا مُشفّرًا للبروتين)، كثيرًا ما يُستخدم كمجموعة ضابطة إيجابية في المختبرات المختصة بعلم الجينوم بهدف التيقن من أن وسائل تحديد التسلسل والأدوات المعلوماتية الحيوية تؤدي دورها كما ينبغي.

تحمل بكتيريا الإشريكية القولونية، التي تُستخدم كثيرًا في التجارب المختبرية في أوساط الأبحاث الأساسية والتطبيقية، جينومًا يبلغ طوله حوالي ٤,٦ ملايين زوج قاعدي، وتحتوي على حوالي ٤٣٠٠ جين مُشفّر للبروتين (تجدر الإشارة إلى أن تسلسل الجينومات قد حُدّد في مئات من سلالات الإشريكية القولونية المختلفة حتى الآن، والفرق الجوهري الذي

لوحظ بينها يُسفر عن اختلافات مهمة في قدرة تلك السلالات على الأمراض). يمتد جينوم الإشريكية القولونية في خط مستقيم يبلغ طوله حوالي ١,٥ مليمتراً، وهو أمر استثنائي نظراً إلى أن قطر اللولب المزدوج للحمض النووي يصل إلى نانومتريين فحسب، وأن طول خلية مفردة من خلايا بكتيريا الإشريكية القولونية يبلغ حوالي ميكرومتريين فقط. وكذلك قد تضم الإشريكية القولونية وغيرها من البكتيريا «بلازميدات»، وهي جزيئات حلقية من الحمض النووي بالغة الصغر، تختلف في طبيعتها المادية عن الجينوم الرئيسي للخلية. وعادةً ما يصل طول البلازميدات إلى أقل من ١٠ آلاف زوج قاعدي، ولا تحتوي إلا على عدد يتراوح بين بضعة جينات وبضع عشرات منها. هذا وتُنقل البلازميدات في الطبيعة من خلية إلى أخرى مراراً، ويمكن معالجتها وإجراء تعديلات عليها بسهولة في المختبر؛ لذا تُستخدم على نطاق واسع في الهندسة الوراثية.

أما الجينوم البشري، فيتألف من حمض نووي يبلغ طوله حوالي ٣,٢ مليارات زوج قاعدي. ويحتوي الكروموسوم البشري في المتوسط على حمض نووي طوله حوالي ٥ سنتيمترات، وإذا أخذ في الحُساب كل أزواج الكروموسومات التي يبلغ عددها ثلاثة وعشرين زوجاً، نجد أن نواة كل خلية من خلايانا تحمل سلسلةً منضغطة طولها حوالي مترين من الحمض النووي. وهذه الأرقام تُبرز الانضغاط الهائل الذي لا بد من حدوثه لكي ينحشر الحمض النووي داخل الخلية (ارجع للشكل ١-٢). وكذلك تُبين الصعوبات التي تواجه محاولة تحديد أي تسلسل جينومي، وتحديد الأجزاء المعينة من الحمض النووي التي تُمثل جينات.

ما زلنا لا نعرف عدد الجينات الموجودة في الجينوم البشري. فالتقديرات الحالية تتراوح بين ١٩ ألفاً و ٢٥ ألفاً، لكن لا أحد يعرف على وجه اليقين. ويرجع ذلك إلى أسبابٍ عديدة. فكثير من الشكوك تُحيط بحقيقة أن نسبة الجينات المُشفرة للبروتين تبلغ نحو ١ في المائة فقط من إجمالي الجينوم البشري، والجينات نفسها كثيراً ما تكون مُقسّمة إلى أجزاء. إنَّ الجينات في جينومات الخلايا البدائية النواة عبارة عن سلاسل متجاورة ومتواصلة من الكودونات المُحددة للأحماض الأمينية، وإن عملية اكتشاف الجينات عادة ما تكون سهلة في تلك الحالة. ولكن في الخلايا الحقيقية النواة، فإن المقاطع الجينية التي تحتوي على كودونات، والتي تُسمّى «الإكسونات»، تُقطعها امتدادات من الحمض النووي غير المُشفّر، تُسمى «الإنترونات». تُنسخ الإنترونات لتكوّن الحمض النووي الريبوزي لكنها تُجرى إزالتها («تضفيرها») قبل استخدام الجزيء كقالب لتخليق البروتين. وكثيراً ما

تحمل الجينات البشرية عشرات الإنترونات، التي قد يصل طول كل منها إلى عشرات الآلاف من النيوكليوتيدات. ومن ثم، فإن تمييز الإكسونات من الإنترونات ومن أشكال أخرى من الحمض النووي غير المشفر يشكّل تحديًا. صحيح أن بعض علماء علم الأحياء الجزيئي ابتكروا تقنيات مختلفة للبحث في كميات هائلة من بيانات تسلسل الجينومات والتركيز على الكودونات المحددة للبروتين فقط، ولكن لا تزال الأدوات أبعد ما تكون عن تحقيق الأداء المثالي، ويزيد على ذلك أن ما يجدي استخدامه لتحديد تسلسل جينوم كائن حي قد لا يجدي مع جينوم كائن حي آخر.

ومن المشكلات المرتبطة بذلك السياق أن مقاطع كبيرة من الجينوم البشري لم يُحدّد تسلسلها بعد، ويرجع ذلك إلى التحديات التقنية المرتبطة بتحديد تسلسل أنواع معينة من الحمض النووي، مثل سلاسل النيوكليوتيدات المتكررة. ونظرًا إلى طبيعة تلك التسلسلات، من المستبعد أن تكون تلك المقاطع الناقصة التي لم يُحدّد تسلسلها غنية بالجينات، ولكن من الممكن ظاهريًا أن تلك الأجزاء من الجينوم ما زالت تحمل جينات مختبئة فيها. ولذا ما زالت الجهود مستمرة من أجل تحسين جودة تسلسل الجينوم البشري المرصود، مستفيدة من أحدث الأجهزة في تحديد تسلسل الحمض النووي وتحليله.

من المهم أيضًا إدراك أن التعريف الدقيق لماهية الجين نفسه قد يتفاوت. فمع أن المساعي الرامية إلى تحديد تسلسل الجينوم تميل إلى التركيز على الجينات المشفرة للبروتين، فإن جميع الخلايا لديها مجموعة متنوعة من جينات الحمض النووي الريبوزي غير المشفرة التي لا يُعد منتجها النهائي الوظيفي هو البروتين، وإنما جزيء الحمض النووي الريبوزي نفسه. تجدر الإشارة إلى أن بعض جزيئات الحمض النووي الريبوزي غير المشفرة هذه معروف منذ زمن طويل. وهي تشمل جزيئات الحمض النووي الريبوزي «الريبوسومية» التي تُعد مكونات حمض نووي ريبوزي للريبوسوم المساهم في تخليق البروتين، وجزيئات الحمض النووي الريبوزي «الناقلة» التي تتمثل وظيفتها في حمل أحماض أمينية مفردة إلى موقع استطالة سلسلة البروتين. ويتجلى أحد الاكتشافات، التي توصلت إليها أبحاث علم الجينوم في العقد الماضي، في فهم أن الجينات المشفرة للبروتين تُخبئ فيما بينها عدة مئات من الجينات الصغيرة المشفرة للحمض النووي الريبوزي، التي تتسم نواتجها بتنوع وظيفي أفضل بكثير مما كان يُعتقد أنه ممكن أصلًا. وتشمل هذه النواتج جزيئات الحمض النووي الريبوزي «الدقيقة»، وهي فئة مكونة من جزيئات حمض نووي ريبوزي مُنظمة صغيرة ترتبط بجزيئات الحمض النووي الريبوزي المرسل، وفي أثناء ذلك تضبط التعبير

عن الجينات المُشفَّرة للبروتين. ومن خلال التأثير في وقت تنشيط تلك الجينات وتثبيطها، فإن جزيئات الحمض النووي الريبوزي الدقيقة لديها إمكانية التأثير في بعض العمليات الخلوية الرئيسية، مثل تضاعف الحمض النووي وانقسام الخلايا.

ما زال ينقصنا الكثير لتتعلمه عن حجم «الصندوق الأسود» لبيولوجيا الحمض النووي الريبوزي الصغير وتعقيده، وأكّرر مجدداً أن التطورات التكنولوجية سمحت للباحثين بأن يسلكوا اتجاهات جديدة مثيرة. وبذلك يظل مفهوم «الجين» مستمراً في التطور.

لماذا نحدد تسلسل أحد الجينومات؟

قبل أن نصرف انتباهنا إلى التفاصيل العملية الأساسية المتعلقة بكيفية تحديد تسلسل الجينومات، دعونا نفكر ما السر وراء الاهتمام الشديد بفعل ذلك والإثارة الهائلة الكامنة فيه. فما الفائدة المرجوة من تحديد تسلسل جينوم الكائن الحي؟ ولماذا يُعد الحصول على قائمة بكل جيناته مهماً جداً؟ أحياناً ما يوصف الحمض النووي بأنه «وصفة» للحياة، ويوصف الجينوم بأنه «قائمة مكونات» الخلية. صحيح أن هذين التشبيهين ليسا مثاليين، لكن من المؤكد أننا، من دون قائمة كاملة بالجينات، لن نستطيع أبداً فهم بيولوجيا الكائن الحي فهماً تاماً. غير أن تسلسل الجينوم وحده لا يُخبرنا بكل ما نحتاج إلى معرفته، إطلاقاً. فما زالت توجد جينات كثيرة في الإنسان والكائنات الحية الأخرى لم تُوضَّح وظائفها. إذ إن معرفة تسلسل الجين (والبروتين الذي يُشفره) لا تخبرنا بالضرورة بأي شيء عن وظيفته (أو وظائفه) في الخلية، والجينات لا تعمل وحدها بمعزل عما يحيط بها. فالجينات والبيئة تتفاعلان معاً بطرق معقدة؛ إذ تؤدي كلتاها أدواراً مهمة في حياة الكائن الحي. لكن تحديد تسلسل جينومي كامل يُعد بمثابة نقطة انطلاق قيِّمة جداً — وأقرب منالاً من أي وقت مضى — يستطيع الباحثون أن يحصلوا منها على معلومات عن وظائف الجينات والبروتينات من خلال تجارب معملية.

الأمر الذي لا يقل أهمية عن وجود قائمة بجينات الكائن الحي هو معرفة متى تكون الجينات نشطة أو غير نشطة على مدار تاريخ حياتها. ففي الأنواع المعقدة المتعددة الخلايا، لا ينشط عند أي وقت معين سوى جزء بسيط من الجينات داخل الجينوم (أي: يُنسخ إلى حمض نووي ريبوزي مرسل؛ ومن ثم يُستخدم في تخليق البروتينات). وما يؤدي إلى تمايز الخلايا والأنسجة هو توالف مجموعات فرعية معينة من البروتينات في خلايا مختلفة في الوقت المناسب. وحتى في الميكروبات الوحيدة الخلية، تتغير أنماط التعبير الجيني استجابة

للبيئة المحيطة بها، كالتغيرات في شدة الضوء، وتركيز العناصر المغذية، ووفرة الفيروسات، إلى غير ذلك. وإذا فُحصت أنماط التعبير الجيني فحَصًا منهجيًا، فيمكنها أن تقدم خيوطًا مفيدة لمعرفة الوظائف التي قد تؤديها جينات وبروتينات معينة. وأحد الأمثلة المهمة على ذلك هو دراسة بعض الأمراض البشرية مثل السرطان الذي ينشأ غالبًا عند حدوث طفرة في جينات معينة و/أو تنشيط جينات معينة أو تثبيطها على نحو خاطئ.

وكما سنرى في الفصل الخامس، تُستخدم تسلسلات الجينوم الكاملة لمعالجة مسائل جوهرية في علم الأحياء التطوري عبر نطاق واسع من النطاقات الزمنية. ومن بين هذه الموضوعات دراسة أنماط الهجرة البشرية المبكرة، وكيف نختلف نحن البشر عن أقرب أقربائنا من غير البشر؛ أي: أفراد سلالة النياندرتال التي صارت منقرضة. وكذلك تُستخدم البيانات الجينومية لدراسة كيفية تطور الحيوانات والنباتات المتعددة الخلايا، بل تعود بالزمن أكثر إلى الوراء، فتدرس كيفية تطور أولى الخلايا الحقيقية النواة من أسلافها البدائيات النواة. وكما سيناقدش في عدة فصول تالية، يستخدم الباحثون مجالًا فعالًا يُسمى «علم الميتاجينوم» (أو علم الجينوم البيئي أو الميتاجينوميكس) يتيح لهم الوصول إلى حدٍّ أبعد من تحليل جينوم واحد فقط في المرة الواحدة؛ ليدرسوا بذلك خلائط معقدة من جزيئات حمض نووي مُستخلصة مباشرةً من البيئة، بما في ذلك عينات من التربة والماء، والهواء أيضًا. وتُعد أمعاء الإنسان أحد الموضوعات التي يوليها علم الميتاجينوم تركيزًا مكثفًا بالأخص. إذ يمكن لبيانات تسلسل الحمض النووي المأخوذة من مثل هذه العينات أن تخبرنا بأمور كثيرة عن المجتمعات الميكروبية الموجودة داخلها؛ فإمكاننا الآن أن نحاول معرفة هوية الكائنات الموجودة هناك وماهية ما تفعله، دون استخدام المجهر على الإطلاق. هذا ويقوم كل موضوع من الموضوعات التي تركز عليها الأبحاث المتنوعة هذه على مجموعة شائعة من أدوات تحديد تسلسل الحمض النووي وتجميع الجينوم. ولأن الحمض النووي يبقى حمضًا نوويًا، بغض النظر عن مصدره، سرعان ما تنتقل التطورات التكنولوجية من أحد مجالات علم الجينوم إلى مجالات أخرى.

الفصل الثاني

كيفية قراءة كتاب الحياة

على الرغم من الأهمية البيولوجية التي يحملها الحمض النووي، فإنه جزيء هش. فبنيتُه الطولية التي تُشبه الخيط تُصعّب دراسته في حالته الطبيعية. ونادراً ما يوجد الحمض النووي في الخلايا الحية منفرداً؛ إذ عادةً ما يرتبط ارتباطاً وثيقاً بالبروتينات (ارجع للشكل ١-٢)؛ البروتينات التي تعمل على ضغطه وتنظيم عملية التعبير الجيني. ومن ثم، فإن عملية استخلاص (أو «استخراج») الحمض النووي من العديد من البروتينات والدهون والجزيئات العيانية الأخرى داخل الخلية تستلزم استخدام مواد كيميائية قوية وتعرّضه لتلفٍ مادي. وبينما يُمكن تقدير حجم الكروموسومات السليمة في المختبر، عادةً ما تَجمع الأدوات الحديثة المُستخدمة في تحديد تسلسل الحمض النووي أجزاءً من الحمض النووي لا يزيد طول كلٍّ منها على ألف زوج قاعدي من تسلسل النيوكليوتيدات. لذا فمن أجل تحديد تسلسل أحد الجينومات، لا بد أولاً أن يولّد العلماء آلافاً إلى ملايين من «قراءات» تحديد تسلسل قصيرة مفردة (كلما زاد حجم الجينوم زادت القراءات المطلوبة)، ثم يُقارن بين القراءات بمحاكاة حاسوبية، وبعدئذٍ تُستخدم لإعادة بناء (أو «تجميع») صورة حمض نووي لكائن حي كما هو موجود في الخلية. سنتناول في هذا الفصل تقنيات تحديد التسلسل، وفي الفصل الثالث سنركّز على الأدوات المستخدمة في تجميع الجينوم واكتشاف الجينات. وتجدر الإشارة إلى أن التطورات التكنولوجية في هاتين المسألتين كلتيهما أوصلت مجال علم الجينوم إلى وضعه الحالي.

تحديد تسلسل البروتينات والحمض النووي الريبوزي

بالرغم من الانتشار الهائل لعملية تحديد تسلسل الحمض النووي حالياً، فإنها تطورت بعد تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي وتسلسل البروتينات بفترة طويلة. ويرجع

ذلك إلى عدة عوامل، أهمها أن استخلاص جزيئات البروتينات والحمض النووي الريبوزي في البداية كان أسهل من استخلاص الحمض النووي؛ وبذلك كانت أكثر قابلية لإجراء تجارب عليها. جدير بالذكر أن أول بروتين «قُرئ» تسلسل أحماضه الأمينية حتى النهاية، كان هرمون الأنسولين الصغير الذي حدّد تسلسله عالمُ الكيمياء الحيوية البريطاني فريدريك سانجر في منتصف خمسينيات القرن العشرين. لن نتطرق هنا إلى مناقشة الطرق التي حدّد بها سانجر تسلسل البروتينات، لكن إسهاماته المؤثرة في الكيمياء الحيوية وعلم الأحياء الجزيئي تتخلل كل جزء من هذا الكتاب وجديرة بأن يتكرر ذكرها (فاز سانجر مرتين بجائزة نوبل في الكيمياء، في عامي ١٩٥٨ و ١٩٨٠، لإسهامه في تطوير تحديد تسلسل البروتينات وتسلسل الحمض النووي، على الترتيب).

وقد ظهرت طرق لتحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي بعد ذلك بحوالي عقد. انصبّ التركيز الأولي، بحُكم الضرورة، على الجزيئات الصغيرة التي استُخلِصت بسهولة مثل جزيئات الحمض النووي الريبوزي الناقلة. ففي عام ١٩٦٥، استطاع روبرت هولي، عالمُ الكيمياء الحيوية الأمريكي والحائز على جائزة نوبل، أن يستخلص من بعض خلايا الخميرة حمضاً نووياً ريبوزياً ناقلاً طوله سبع وسبعون نيوكليوتيدة، وحدد تسلسله كاملاً. وطوال الستينيات، كان سانجر عاكفاً على إجراء تجارب بوسائل جديدة لدراسة جزيئات صغيرة من الحمض النووي الريبوزي، ثم كان عالمُ الأحياء الدقيقة الأمريكي كارل ووز هو الذي بنى على تلك الوسائل وطوّرها لدراسة جزيئات حمض نووي ريبوزي أكبر حجماً بكثير. وكانت اهتمامات ووز العلمية مُنصبة على الريبوسوم، وهو مركّب معقّد يرتبط فيه البروتين بالحمض النووي الريبوزي، ويوجد بوفرة هائلة، ويُعدّ مسئولاً عن تخليق البروتين؛ وهكذا كان ووز هو أول من جمع تسلسلات من الحمض النووي والحمض النووي الريبوزي من أجل استخدامها مقياساً زمنياً لقياس المسافات التطورية بين الكائنات الحية.

تضمنت تقنية «فهرسة الحمض النووي الريبوزي»، التي استخدمها ووز وزملاؤه، إنماء مزارع خلايا في وجود الفوسفات المُشع. فبينما تُصنّع الخلايا مكونات ريبوسومية جديدة (وهو ما يجب أن تفعله باستمرار)، يدمج الفوسفات في الريبونيوكليوتيدات، ثم أخيراً في جزيئات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي rRNA. ويمكن بعد ذلك استخلاص جزيئات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي التي وُسمت إشعاعياً عن طريق الفصل الكهربائي بالهلام، وهي تقنية تتضمن فصل الجزيئات حسب الحجم

بتمريرها عبر مادة هلامية مسامية في وجود مجال كهربائي. (يُعد استخدام الوسوم أو العلامات سمة شائعة في أبحاث علم الأحياء الجزيئي؛ وكما سنرى، تُستخدم مجموعة متنوعة من الوسوم المختلفة في تحديد تسلسل الحمض النووي، ولكن يظل الغرض واحدًا على الدوام، وهو القدرة على تمييز الجزيئات المُخلقة حديثًا كي يُمكن اقتفاؤها أثناء إجراء التجربة.)

للحصول على المعلومات الفعلية الخاصة بالتسلسل، قُطعت جزيئات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي المُستخلصة والمُشعة إلى قطع أصغر حجمًا باستخدام إنزيمات خاصة من الإنزيمات التي تفكك الحمض النووي الريبوزي (مثل إنزيم الريبونوكلياز تي^١، الذي يقطع من بعد ريبونوكليوتيدات الجوانين). ثم فُصلت العينات مرة أخرى وفقًا لحجمها، وبعد عدة دورات من التفكيك والفصل، كان ما تَبقى أنماطًا مميزة من نقاط سوداء على لوح تصوير بالأشعة السينية. إذ تُمثل كل نقطة جزءًا من الحمض النووي الريبوزي لا يتعدى طوله خمس نيوكليوتيدات أو ستًا. وبجهد كبير، أمكن التوصل إلى التسلسل الدقيق للنيوكليوتيدات المكوّنة لكل جزءٍ من الحمض بتدقيق النظر في انتقاله أثناء عملية الفصل الكهربائي والإنزيمات التي أدّت إلى تحليله. وهكذا أصبح كل تسلسل من تسلسلات الحمض النووي الريبوزي، في زمان ووز، مُدخلًا مدونًا في فهرس الحمض النووي الريبوزي المُستخدم في المختبرات، وقد أفضت نتائج تحليلات هذا الفهرس في النهاية إلى اكتشاف نطاق الحياة الثالث، وهو العتائق.

تحديد تسلسل الحمض النووي

تُعد تقنيات تحديد التسلسل الجزيئي القائمة على الحمض النووي الريبوزي مُجهدة إلى أقصى حد؛ لذا سرعان ما حلت محلها، في أواخر السبعينيات، طريقتان لتحديد تسلسل الحمض النووي ابتكرهما سانجر وعالم علم الأحياء الجزيئي الأمريكي والتر جيلبرت، كلٌّ على حدة. وما زال نهج «التحديد الكيميائي للتسلسل» الذي ابتكره جيلبرت مفيدًا في تطبيقات بحثية معينة، لكننا سنركّز هنا على ما أصبح معروفًا باسم «طريقة سانجر لتحديد التسلسل»؛ إذ إن هذا النهج هو الذي بات سائدًا داخل المجتمع البحثي لأسباب مختلفة. وما زال يُستخدم على نطاق واسع في الوقت الحاضر، وإن كان يُطبّق باستخدام معدّات وكواشف حديثة.

عادةً ما تبدأ طريقة سانجر بإدخال جزء الحمض النووي المراد تحديد تسلسله في جزيء بلازميد حلقي مربوط به «بادئ» قصير من بادئات تحديد تسلسل الحمض النووي. ثم تُخلط هذه الجزيئات من الحمض النووي مع إنزيم بوليميريز الحمض النووي، وهو الإنزيم نفسه الذي يُضاعف الحمض النووي داخل الخلية في الطبيعة. ويُضاف إلى هذا الخليط كلُّ من وحدات بناء الحمض النووي الأساسية الأربع، وهي النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين (المعروفة اختصارًا بـ «دي إن تي بي») المتمثلة في الأدينوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين، والسيتيدين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين، والجوانوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين، والثايميدين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين، على أن تكون واحدة من تلك النيوكليوتيدات موسومة إشعاعيًا. ومن العوامل الضرورية لنجاح التجربة إضافة نيوكليوتيدات ثنائية ثلاثية الفوسفات منقوصة (المعروفة اختصارًا بـ «دي دي إن تي بي») الأكسجين أيضًا. وتعمل هذه النيوكليوتيدات باعتبارها مُنهيات للسلسلة؛ فهي معدّلة كيميائيًا بطريقة تُتيح دمجها في الحمض النووي عن طريق إنزيم البوليميريز، ولكن لا يمكن استخدامها لمواصلة مدِّ السلسلة. وتستخدم طريقة سانجر التقليدية أربعة أنابيب تفاعل منفصلة لكل عينة حمض نووي يُراد تحديد تسلسلها، ولا تختلف كل عينة عن الأخرى إلا في هوية جزيء النيوكليوتيدات الثنائية الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين المضاف إليها (يحتوي كل أنبوب على جزيء مختلف من جزيئات إنهاء سلسلة الحمض النووي).

وفي عمل سانجر على تطوير طريقته، تجلّت المُعيّنة في تعديل الكميات النسبية من النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين والنيوكليوتيدات الثنائية الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين الموجودة في أنابيب التفاعل، بحيث يصبح دمج الثانية نادرًا؛ وبذلك لا يحدث إنهاء السلسلة إلا نادرًا. ففي أنبوب الأدينين، عندما تُصادف إحدى بقايا الثايمين على قالب الحمض النووي، سيضيف إنزيم البوليميريز جزيئًا عاديًا من الأدينوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين أغلب الوقت. والعلة في ذلك أن الأدينين يقتصر بالثايمين، وعدد جزيئات الأدينوسين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين في الأنبوب أكثر من جزيئات الأدينوسين الثنائي الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين. وبذلك تتواصل استطالة السلسلة. وعند الوصول إلى الثايمين التالي في القالب، يصبح إنهاء السلسلة مستبعدًا مرة أخرى، لكنه يظل ممكنًا. وبذلك تصير النتيجة النهائية أنبوب أدينين مليئًا بقطع مشعّة من الحمض النووي ذات أحجام متعددة، بحيث تشير كل قطعة

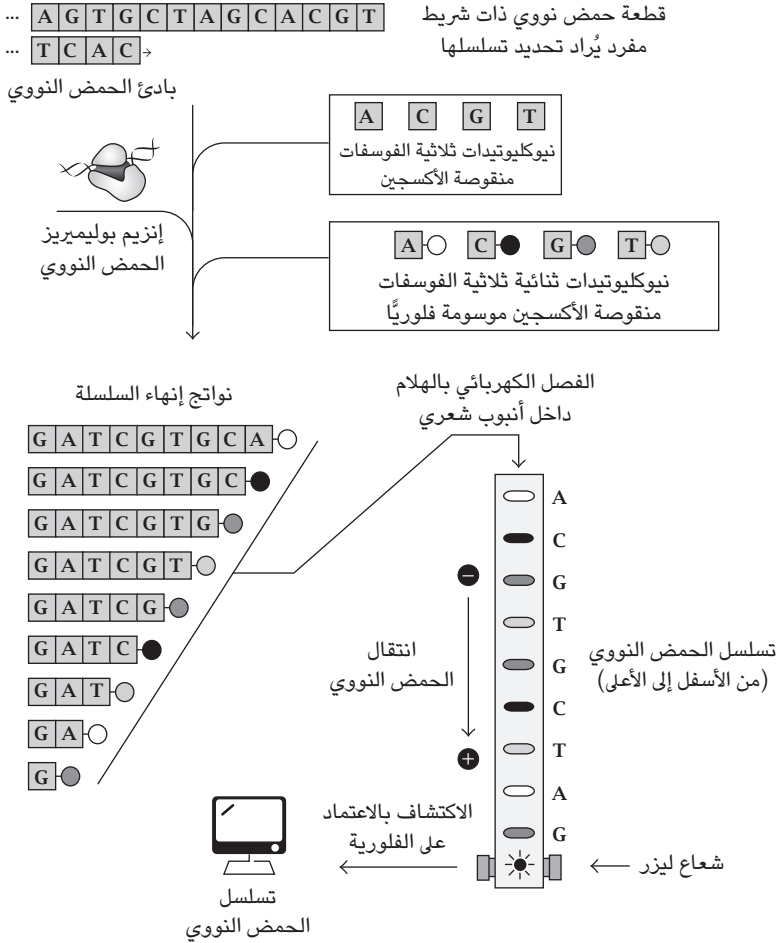
منها إلى موضع إحدى بقايا الثايمين في قالب الحمض النووي. تحذو التفاعلات التي تجري في الأنابيب الثلاثة الإضافية حذو الأنبوب الأول، باستثناء أن قطع الحمض النووي المُخلَّقة حديثاً تُنهى جزئيات سيتيدين ثنائي ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين، وجوانوسين ثنائي ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين، وثيميدين ثنائي ثلاثي الفوسفات منقوص الأكسجين.

الخطوة الأخيرة هي استخدام الفصل الكهربائي بالهلام لفصل قطع الحمض النووي في كلٍّ من الأنابيب الأربعة المتراصة جنباً إلى جنب. وهذا بدوره يؤدي إلى تكوين ما يُعرف بـ «سُلم» تحديد تسلسل الحمض النووي، الذي يمكن إظهاره بتعريض قطعة من لوح تصوير الأشعة السينية للهلام (وذلك بسبب استخدام جزئيات مشعة من النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين). وتحليل أنماط انتقال درجات السُلم، يمكن استنتاج تسلسل جزيء الحمض النووي الأصلي.

تجدر الإشارة إلى أن نسخة سانجر الأصلية من طريقة تحديد التسلسل القائمة على إنهاء السلسلة باستخدام نيوكليوتيدات ثنائية ثلاثية الفوسفات منقوصة الأكسجين؛ كانت بمثابة قفزة نوعية فارقة تخطت تقنية فهرسة الحمض النووي الريبوزي. فلأن هذه العملية تضمّنت تخليق الحمض النووي في أنبوب اختبار، أتاحت الاستغناء عن ضرورة الحصول على كميات كبيرة من المادة البادئة (الأمر الذي كان يحدُّ من جزئيات الأحماض النووية التي يُمكن تحديد تسلسلها). غير أنَّ الطريقة ظلت تستهلك وقتاً طويلاً وبقيت عُرضة للخطأ البشري (أقول هذا من واقع الخبرة). فالمواد الهلامية اللازمة لفصل الحمض النووي صعبة التحضير، وتسلسل النيوكليوتيدات يُقرأ بالعين من ألواح التصوير بالأشعة السينية. ولا يمكن أن يُقرأ من التسلسل سوى جزء يتراوح طوله بين ١٥٠ و ٢٠٠ زوج قاعدي في كل تفاعل، وهو ما يعني أن تحديد تسلسل قطع أطول من الحمض النووي يتطلب تكرار إجراء عدة تفاعلات من تفاعلات تحديد التسلسل باستخدام بادئات مختلفة من الحمض النووي.

واستجابةً للطلب المتزايد باستمرار على طريقة سانجر، شهدت تحسیناً كبيراً على مرَّ السنوات. ففي منتصف ثمانينيات القرن العشرين، أسفر إجراء تجارب باستخدام الوسوم الفلورية (بدلاً من الوسوم المشعة) عن ابتكار أجهزة تُحدد تسلسل الحمض النووي بـ «طريقة مؤتمتة». فبالاعتماد على الفلورية، يمكن استخدام علامات مختلفة كيميائياً لتمييز كلٍّ من النيوكليوتيدات الثنائية الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين الأربعة، وهو ما يعني أن كل نواتج إنهاء السلسلة الممكنة يُمكن أن تُخلَّق في الأنبوب نفسه

علم الجينوم



شكل ٢-١: الصورة المؤتمتة من طريقة سانجر القائمة على إنهاء السلسلة باستخدام نيوكليوتيدات ثنائية ثلاثية الفوسفات منقوصة الأكسجين.

وُثِرَ في نفس ممر الهلام المُستخدَم في تحديد التسلسل (انظر الشكل ٢-١). هذا وقد ساهم استخدام إنزيمات بوليميريز الحمض النووي التي تستطيع الحفاظ على سلامة بنيتها عند التعرض للحرارة — مثل تلك المُستخدَمة في «تفاعل البوليميريز المتسلسل»

(وهو تقنية مستخدمة لتضخيم امتدادات محددة من الحمض النووي مأخوذة من كميات متناهية الصغر من المادة البادئة؛ للتفاصيل طالع الفصل الخامس) — في زيادة أئمة العملية وتسريع وتيرتها. وتفصل الأدوات الحديثة المستخدمة في تنفيذ طريقة سانجر قطع الحمض النووي الموسومة بتمريرها عبر أنابيب شعرية دقيقة، ثم تقرأ آلة (وليس إنساناً) تسلسل الحمض النووي وتسجله بتسليط ليزر على العينة أثناء مرورها عبر الجزء السفلي من الأنبوب واكتشاف أي من العلامات الفلورية الأربعة هي الموجودة.

قفزت تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي عدة قفزات نوعية فارقة على مدار العقد الماضي. لكن قبل الانتقال إلى النقطة التالية، تجدر الإشارة إلى أن نهج سانجر ما زال له مجال لاستخدامه. ففي ظل تطبيقه باستخدام مجموعة الأدوات الحالية، ما زال يمثل المعيار الذهبي من حيث جودة البيانات، ويُنْتِج قراءات بأطوال معتبرة جداً (يتراوح متوسطها بين ٨٠٠ و ١٠٠٠ زوج قاعدي). وكذلك فإن طريقة سانجر المؤتمنة تُحقق أعلى فاعلية بأقل تكلفة ممكنة إذا كانت الاحتياجات بسيطة (مثل الحاجة إلى تحديد تسلسل جزيئات قصيرة من الحمض النووي يقل عددها عن عدة عشرات من الجزيئات). لاحظ أيضاً أننا سنُرجئ مناقشة تجميع الجينوم إلى الفصل الثالث، بعد استكشاف «الجيل الثاني» من التقنيات المتنوعة لتحديد التسلسل. وإجمالاً، فإن التحديات المرتبطة بتجميع أجزاء الجينوم معاً من قراءات تحديد التسلسل المفردة هي نفس التحديات، بغض النظر عن كيفية توليد تلك القراءات.

الجيل الثاني من تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي

اعتمد مشروع الجينوم البشري الممول حكومياً في أوجه على أقصى الإمكانيات المُسخرة لتحديد تسلسل الحمض النووي لدى أكثر من عشر جامعات ومراكز بحثية في الولايات المتحدة والمملكة المتحدة وفرنسا وألمانيا واليابان والصين. وكان كلٌ منها مزوداً بالعشرات من أحدث أدوات تطبيق طريقة سانجر، التي كان كلٌ منها يُحدد تسلسل ٩٦ أو ٣٨٤ عينة من الحمض النووي بالتوازي، على مدار ٢٤ ساعة في اليوم طوال أيام الأسبوع. وقد خرجت من رحم هذه الجهود بيانات عالية الجودة، وأنجزت مهمة تحديد تسلسل الجينوم البشري قبل موعدها المقرر. لكنها كانت مهمة مُكلّفة؛ إذ تكلفت ٣ مليارات دولار أمريكي. ثم بدأ المشروع الممول بتمويل خاص الذي نفّذته شركة سيليرا المالكة للأمريكي كريج فينتر بعد ذلك بفترة طويلة، وأثمرت جهوده عن إنتاج تسلسل جينومي بالجودة

نفسها تقريباً وبالأدوات نفسها، لكن بتكلفةٍ بلغت حوالي ٣٠٠ مليون دولار أمريكي. (استفادت شركة سيليرا، عند إنجازها لتلك المهمة، من نتائج سنوات من البيانات الأولية التي أنتجها المشروع الحكومي؛ طالع الفصل الثالث للاطلاع على الاستراتيجيات المختلفة المستخدمة.) بعد إضفاء تحسينات طفيفة على طريقة سانجر وتحديثها ورفع كفاءتها باستمرار، اقتربت بحلول أواخر التسعينيات من الحد الأقصى لتوليد البيانات التي تُنتجها كل أداة في كل وحدة زمنية.

وفي منتصف العقد الأول من القرن الحادي والعشرين، بعد فترة قصيرة من إعلان انتهاء مشروعَي الجينوم البشري الحكومي والخاص، ظهرت تقنية لتحديد التسلسل قادرة على توليد بيانات أكبر بـ ١٠٠٠ مرة مقارنةً بـ ١٠٠٠ مرة من التكلفة. وقد أُطلق على هذا النهج اسم «تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات» Pyrosequencing، والقاسم المشترك بينه وبين كل ما يُطلق عليه تقنيات «الجيل الثاني» التي ظهرت بعد ذلك هو قدرته على تحقيق موازنة هائلة؛ أي القدرة على تنفيذ عدة آلاف إلى ملايين من تفاعلات تحديد التسلسل المفردة على جهاز واحد في الوقت نفسه. اللفت أن معظم أجهزة الجيل الثاني لتحديد التسلسل لا تزال ضخمة (تقريباً بنفس حجم الأجهزة الحديثة التي تستخدم طريقة سانجر)، في حين أن التفاعلات نفسها تُجرى على سطح شريحة زجاجية مستطيلة لا يبلغ عرضها سوى بضعة سنتيمترات.

وعلى عكس طريقة سانجر التي تستخدم الفصل الكهربائي بالهلام لـ «قراءة» نواتج تفاعلات إنهاء السلسلة التي تُجرى سلفاً، فإن طريقة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات تُسجل تخليق الحمض النووي تسجيلاً آنياً أثناء حدوثه في الوقت الفعلي. وتعتمد كيمياء هذه الطريقة، التي ابتكرها عالم الكيمياء الحيوية السويدي بال نيرين، على الكشف عن البيروفوسفات التي تُحرر كلما أضاف إنزيم البوليميريز إحدى النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين إلى قالب حمض نووي. ويتحقق ذلك باستخدام سلسلة من التفاعلات الكيميائية المتتابعة المتعددة الإنزيمات التي تستخدم البيروفوسفات لتوليد دَفقة من الضوء الحيوي.

تجدر الإشارة إلى أن أول جهاز متاح تجارياً من أجهزة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات — بل وأول جهاز لتحديد التسلسل من الجيل الثاني — قد طُرِح في عام ٢٠٠٥. إذ أنتجته شركة «٤٥٤ لايف ساينسز»، التي أسسها العالم ورائد الأعمال الأمريكي جوناثان روثبرج (والتي منحها نيرين وزملاؤه رخصة استخدام تقنيتهم).

والعامل الرئيسي الذي منح هذا الجهاز القدرة على إجراء كم هائل من العمليات المتوازية لتحديد تسلسل الحمض النووي هو استخدام طبق «بيكوتيترا» يحتوي على عدة آلاف من التجاويف المنفصلة لإجراء التفاعلات، حيث يصل قطر كل تجويف منها إلى حوالي ٢٥ ميكرومترًا. ويحتوي كل تجويف على كُرَيَّة واحدة، ترتبط بها آلاف النسخ المتطابقة من قالب حمض نووي ذي شريط واحد، ومضخمة من جزيء «جذري» واحد (يُعد هذا التضخيم خطوة ضرورية لإيصال إشارة الضوء الحيوي المولدة في كل تجويف إلى مستويات يمكن اكتشافها). يُضاف البادئ إلى الحمض النووي الموجود في كل تجويف، ويصبح جاهزًا للاستطالة عند إضافة النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين والإنزيمات المناسبة.

ولأنَّ طريقة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات تستخدم «إشارة» واحدة (أي: الضوء) للكشف عن دمج النيوكليوتيدات، يجب إدخال النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين إلى قالب الحمض النووي بطريقة منهجية. وينفذ ذلك باستخدام نظام من الموائع الدقيقة يدفع النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين الأربع عبر طبق بيكوتيترا واحدة في كل مرة وبترتيب محدد. تُسلط كاميرا قوية على طبق البيكوتيترا، وتسجِّل ما إذا انبعث ضوء أم لا في كل تجويف (وهذا يكشف بالتبعية عما إذا كان اندماج النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين قد حدث هناك أم لا).

غير أنَّ تلك الطريقة تواجه عائقًا مهمًا يُسمَّى مشكلة «البوليمر المتجانس»؛ فعندما يُصايف الجهاز على قالب الحمض النووي أكثر من بضع نيوكليوتيدات متماثلة، يجد صعوبة في استنتاج العدد الدقيق لعمليات اندماج النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين التي حدثت. فعلى سبيل المثال، حينما يوجد في قالب حمض نووي سلسلة مكوَّنة من ثماني قواعد أدينين متتالية، سيترتَّب على ذلك اندماج ثماني قواعد من الثايميدين الثلاثي الفوسفات المنقوص الأكسجين، ولكن سيصعب التمييز بموثوقية بين إشارات الضوء الحيوي المنبعث من الاندماج السابع أو الثامن أو التاسع. وكلما كان مقطع البوليمر المتجانس أطول، تفاقمَت المشكلة.

وبصرف النظر عن البوليمرات المتجانسة، فقد عزَّزت التحسينات التكنولوجية من كثافة عدد التجاويف في كل طبق بيكوتيترا إلى حوالي مليون تجويف؛ ليتمكن بذلك توليد قراءات يزيد متوسط أطوالها على ٥٠٠ زوج قاعدي، وهذا تحسُّنٌ كبير عن القراءات

البالغ طولها حوالي ١٠٠ زوج قاعدي التي تُنتجها أجهزة الجيل الأول. هذا وتستطيع الفئة الأكثر تقدماً من أجهزة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات أن تولّد بيانات تسلسلاتٍ يبلغ طولها حوالي ٥٠٠ مليون زوج قاعدي أثناء مدة تشغيل تصل إلى عشر ساعات. وقد شهد عام ٢٠٠٦ إثبات الإمكانات الهائلة لطريقة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات، حين حُدّد تسلسل طوله مليون زوج قاعدي من الحمض النووي الخاص بأحد أفراد سلالة النياندرتال (انظر الفصل الخامس)، وكذلك عام ٢٠٠٧ حين حدد التسلسل الكامل لجينوم جيمس واطسون الفائز بجائزة نوبل (انظر الفصل الرابع). تجدر الإشارة إلى أنّ تسلسل جينوم واطسون حُدّد في شهرين بتكلفة تصل إلى حوالي ٢ مليون دولار أمريكي، وهي تكلفة صغيرة إذا ما قورنت بتكلفة استخدام طريقة سانجر.

تحديد تسلسل الحمض النووي بأشباه الموصّلات

من الشواهد على التطوّر السريع الذي تشهده طرق تحديد تسلسل الحمض النووي أنّ تقنية تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات، التي ابتكرتها شركة ٤٥٤ لايف ساينسز رغم كل إمكانياتها، قد ظهرت واندثرت في غضون عقدٍ زمني واحد، ولم تُعد تُعتبر منافسة لمجموعةٍ متنوعةٍ من أنظمةٍ ناشئةٍ أخرى. (يُذكر أنّ شركة ٤٥٤ لايف ساينسز، التي أسسها روثبرج، استحوذت عليها شركة روش دياجنوستيكس في عام ٢٠٠٧، التي توقّفت في عام ٢٠١٦ عن دعم معداتها التي تستخدم تقنية تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات). وقبل الانتقال إلى النقطة التالية، دعونا نعرض نبذة موجزة عن تقنية جديدة أنتجتها شركة اسمها أيون تورنت (هي أيضاً من بنات أفكار روثبرج)؛ إذ تتشابه هذه التقنية التي تحدد التسلسل باستخدام شبه موصّل مع طريقة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات في جوانب عديدة، لكنهما تختلفان تماماً فيما يتعلق بالكشف عن التسلسل.

ففي تقنية تحديد التسلسل بأشباه الموصّلات، التي ابتكرتها شركة أيون تورنت، لا توجد سلسلة تفاعلات كيميائية متتابعة مُحفّزة بالإنزيمات تؤدي إلى انبعاث دفقة من الضوء. وإنما يُكشف عن عمليات اندماج النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين عن طريق «استشعار» أيونات الهيدروجين H^+ المتولدة في أثناء تخليق الحمض النووي. وتُضاف النيوكليوتيدات إلى خلية التدفق بترتيب معين، كما هو الحال في

طريقة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات. ثم ينتج عن كل عملية اندماج للنوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين إطلاق أيون هيدروجين واحد، واللافت أنَّ ملايين المستشعرات في شريحة حساسة للأيونات موجودة أسفل تجاويف طبق البيكوتيتز تكتشف التغيرات الناتجة في الحموضة (أو الأس الهيدروجيني). يوصف هذا النهج بأنه نهج «غير بصري» قائم على أشباه الموصلات لتحديد تسلسل الحمض النووي، وخلاصة فكرته أنَّ أجهزة صغيرة لقياس الأس الهيدروجيني تحوّل معلومات كيميائية (أي: أيون الهيدروجين) إلى بيانات رقمية عن التسلسل، بالطريقة نفسها التي تحوّل بها شريحة أشباه الموصلات في الكاميرا الرقمية الضوء إلى معلومات رقمية. تتميز أطوال قراءات التسلسل التي تُنتجها تقنية شركة أيون تورنت بأنها مذهلة (تصل حاليًا إلى حوالي ٤٠٠ زوج قاعدي)، علاوةً على أن الجهاز أسرع كثيرًا من الأنظمة الأخرى المنتمة إلى الجيل الثاني (إذ لا يستغرق وقت التشغيل سوى بضع ساعات). وخير برهان على ذلك أن تقنية شركة أيون تورنت استُخدمت لتحديد تسلسل أحد الجينومات البشرية في عام ٢٠١١ (ومن المناسب أنَّ ذلك كان جينوم جوردون مور، الذي شارك في تأسيس شركة الإلكترونيات العملاقة إنتل، وصاغ «قانون مور»، الذي ينصُّ على أن أداء شرائح المعالجات الحاسوبية يتضاعف كل ثمانية عشر شهرًا). لكن بوجه عام، يُعد حجم التسلسل الذي يُنتجه أيُّ من هذه الأجهزة في كل مرةٍ من مرات التشغيل متواضعًا في الوقت الحالي، وما زالت هذه التقنية متأثرةً بمشكلة البوليمرات المتجانسة التي سبق توضيحها في طريقة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات. وفي الوقت الحالي، يُركز تسويق نظام أيون تورنت على الترويج لاستخدامه في عمليات تحديد التسلسل الإكلينيكية السريعة والتطبيقات ذات الصلة (مثل اكتشاف الطفرات الجينية التي تؤدي إلى الإصابة بالسرطان) بدلًا من تحديد تسلسل الجينومات من البداية.

تحديد التسلسل المعتمد على تقنية إنهاء السلسلة القابل للعكس

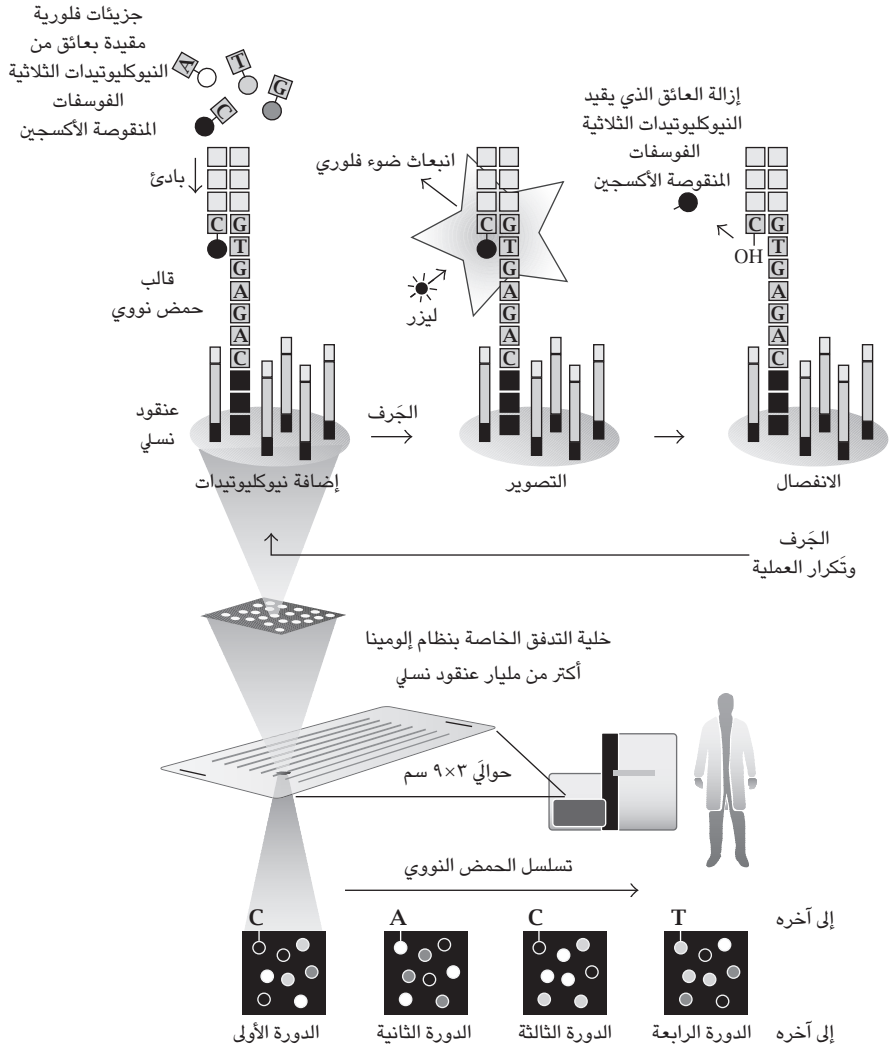
يُعد نظام إلومينا واحدًا من أكثر الأنظمة استخدامًا بين أنظمة الجيل الثاني من تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي. وعلى غرار طريقتي سانجر والطريقة القائمة على إطلاق البيروفوسفات، يستخدم نظام إلومينا نهج «تحديد التسلسل بالتحليق» القائم على إنزيم بوليميريز الحمض النووي. لكنَّ الفارق أنه يستخدم ما يُسمى تقنية «إنهاء السلسلة القابل للعكس». وكما يوحي الاسم، فإن هذه التقنية تستخدم جزيئات مُعدّلة

من النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين تؤدي دور إنهاء السلسلة؛ إذ يمكن دمجها لتكوّن حمضاً نووياً، ولكن لا يمكن استغلالها إلى أن يُزال «عائق» كيميائي خاص.

يحدد نظام إلومينا تسلسل عناقيد من الحمض النووي متصلة عشوائياً بسطح شريحة زجاجية صلبة (يحتوي كل عنقود على حوالي ألف جزيء حمض نووي متماثل) (انظر الشكل ٢-٢). ونظراً إلى أنّ هذه العناقيد تُمثّل مواقع دمج النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين، فهي بذلك تُعدّ مناظرة للتجاويف التي تحوي الكُريات في أطباق البيكوتيتير المستخدمة في الطريقة القائمة على إطلاق البيروفسفات. يُبدأ نهج إلومينا لتحديد التسلسل بإضافة خليط يحتوي على جميع النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين الأربعة إلى خلية التدفق، على أن يكون كلٌّ منها مُقيّداً بعائق كيميائي فلوري مختلف. ويبيّث كل عنقود من الحمض النووي واحدةً من الإشارات الضوئية الفلورية الأربعة تُمثّل كل حدث من الأحداث الأربعة المحتملة لدمج النيوكليوتيدات. ثم تزال النيوكليوتيدات التي لم تندمج، ويُصوّر سطح خلية التدفق كله بكاميرا؛ إذ يُفيد ذلك في تسجيل أيّ واحدة من الإشارات الفلورية الأربع هي التي اكتُشفت في كل عنقود. تتمثل الخطوة الأخيرة في إزالة عوائق إنهاء السلسلة وجرف الكواشف الزائدة حتى يتسنى بدء الدورة التالية. يُحدّد طول قراءة تسلسل الحمض النووي بعدد الدورات المنفّذة.

ونظراً إلى أن كيميائ نظام إلومينا تعتمد على تقنية إنهاء السلسلة القابل للعكس، لا يعاني النظام مشكلة البوليمرات المتجانسة؛ إذ لا يمكن دمج سوى نيوكليوتيدة واحدة من النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين في كل مرة، بغضّ النظر عن طول جزء البوليمرات المتجانسة في امتدادٍ معين من قالب الحمض النووي. غير أن النظام له عيوبه. فطول القراءات التي يُنتجها نظام إلومينا أقصر إلى حدٍّ ما من معظم قراءات الطرق الأخرى من الجيل الثاني (إذ كان طولها ٥٠ زوجاً قاعدياً في البداية، ووصل حالياً إلى أعلى من ٣٠٠ زوج قاعدي)، وهو ما يفرض تحدياتٍ حينما يُراد استخدامه في تجميع الجينوم (الفصل الثالث). لكنّ نظام إلومنيا يعوّض قصوره في أطوال القراءات بالجودة وحجم الإنتاجية خلال وقت محدد من زمن التشغيل. فمع أن دورة تشغيل واحدة قد تستغرق عدة أيام، يمكن لأحدث أجهزة من هذه النوعية أن تولّد ما يصل إلى أربعة مليارات قراءة من قراءات التسلسل، وما يزيد على ٥٠٠ مليار زوج قاعدي من بيانات

كيفية قراءة كتاب الحياة



شكل ٢-٢: تحديد التسلسل المعتمد على تقنية إنهاء السلسلة القابل للعكس (شركة إلومينا).

أولية غير مُعالجة عن التسلسل. وهذه الكمية المذهلة من المخرجات هي التي أتاحت تحديد تسلسل جينوم بشري في أقل من أسبوع مقابل ألف دولار أمريكي تقريباً.

تحديد تسلسل جزيئات مفردة

في السنوات الأولى من تطوير تقنيات الجيل الثاني غابت الحلول المبتكرة لمواجهة المشكلات الصعبة تمامًا. لهذا وظفت الشركات العاملة في مجال التكنولوجيا الحيوية فرقًا من علماء علم الأحياء الجزيئي والكيميائيين والمهندسين ليتعاونوا معًا (وينافسوا الشركات الأخرى) من أجل اكتشاف أفضل طريقة لتحسين أساليبها؛ سعيًا إلى زيادة طول قراءات التسلسل إلى أقصى حد والارتقاء بجودة القراءات وحجم النتائج المُخرَجة (عبر إجراء العمليات بالتوازي) إلى أعلى مستوى. وصحيح أننا لم نستكشف إلا أبرز طرق الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل التي ظهرت خلال أوائل العقد الأول من القرن الحادي والعشرين وحتى منتصف العقد، ولكنَّ نَمَّةَ مشكلتين رئيسيتين تشترك فيهما كل هذه التقنيات، وهما: قِصر طول القراءات والحاجة إلى تضخيم الحمض النووي. فمن أجل التغلب على مشكلات نسبة «الإشارة إلى الضجيج» المتأصلة في الأنظمة المختلفة، توضع آلاف الأجزاء المتماثلة من الحمض النووي في منطقة محدّدة (كأحد تجاويف خلية التدفق مثلًا)، وتُكتشف «إشاراتهما» الإجمالية ككلٍّ (مثل انبعاث ضوء أو ضوء فلوري، أو تغيير الأس الهيدروجيني). غير أنَّ تضخيم الحمض النووي يستغرق وقتًا طويلًا، ويحمل معه احتمالية حدوث انحيازات، مثل تمثيل بعض مناطق الجينوم محل الدراسة بأكثر أو أقل من حقيقتها الفعلية بسبب التفاوتات في نسب وفرة قواعد الأدينين، والسيتوسين، والجوانين، والثايمين. وهذا يقودنا إلى ما يُعرَف أحيانًا باسم تقنيات «الجيل الثالث»، التي تتميز بحساسيتها الشديدة، لدرجة أنها تستطيع تحديد تسلسل الحمض النووي بدقة على مستوى الجزيئات المفردة. وبهذا فإن التحديات التكنولوجية والفوائد المحتملة عظيمة على حدٍّ سواء.

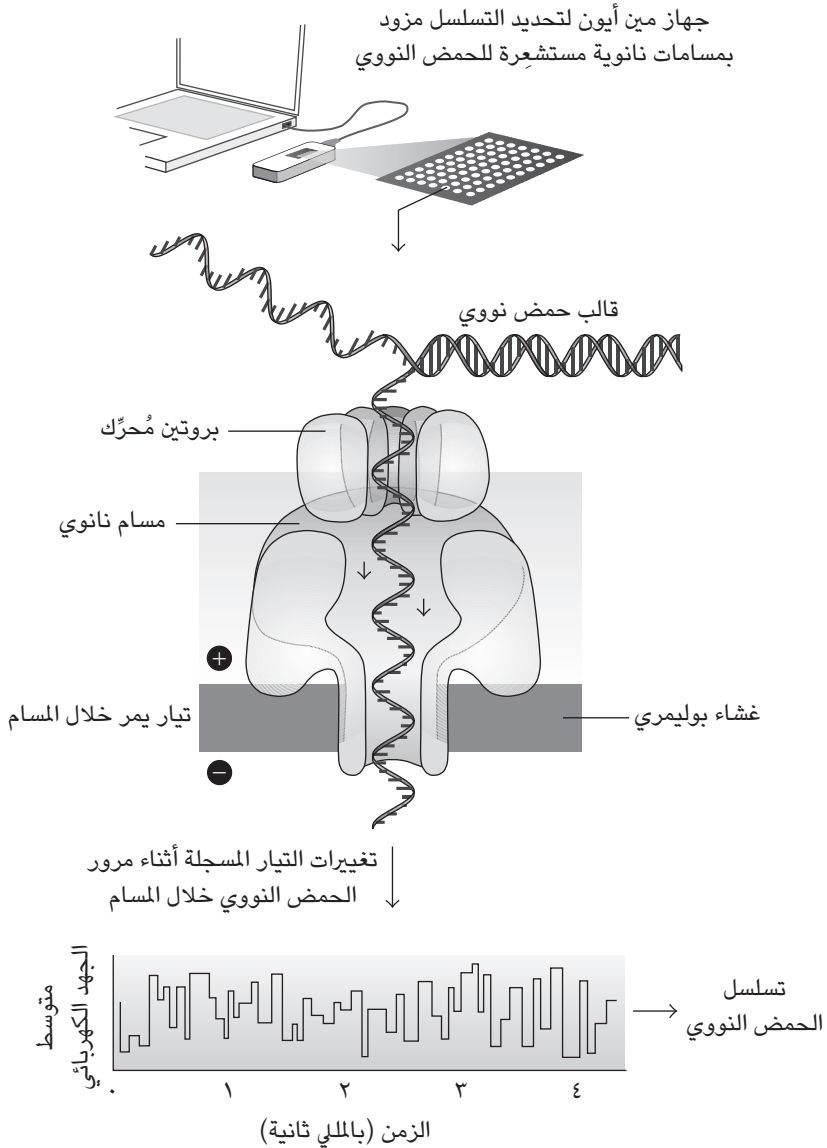
وفي هذا الصدد، تجدر الإشارة إلى جهاز تحديد التسلسل «الآني للجزيئات المفردة» الذي أنتجته شركة باسيفيك بيوساينسز (المعروفة اختصارًا باسم باسبيو)، والذي يستخدم خلية تدفق مغطاة بتجاويف بالغة الصغر يصل عرضها إلى ٥٠ نانومترًا فقط. ويوجد في كل تجويف إنزيمٌ مُهندسٌ خصيصٌ من إنزيمات بوليميريز الحمض النووي مُثبَّت بقاعه الشفاف. ويُمكن تحديد تسلسل جزيئات مفردة لأنَّ إنزيم البوليميريز ثابت؛ إذ تصبح كاميرا الجهاز قادرة على التركيز على ما يحدث في قاع كل تجويف، فتُسجل بذلك التوهُّج الفلوري الذي يحدث كلما أدمج إنزيم البوليميريز إحدى النيوكليوتيدات الثلاثية الفوسفات المنقوصة الأكسجين في سلسلة الحمض النووي (علمًا بأنَّ كل نيوكليوتيدة منها

تحمل علامتها الفلورية الواسمة الخاصة بها.) هذا ويتسم الجيل الأول من أجهزة باسبيو بكبر حجمه (يصل وزن الجهاز إلى حوالي ١٨٠٠ رطل)، لكن الطُّرُز الأحدث يبلغ حجمها ثلث حجم أجهزة الجيل الأول، علاوةً على أنها حسَّنت من عملياتها الكيميائية وزادت من حجم إنتاجية التسلسلات خلال وقت محدد من زمن التشغيل. وتحتوي خلايا التدفق الحالية على حوالي مليون تجويف في كلٍّ منها؛ وبذلك صار ممكناً الحصول على قراءات يتراوح متوسط أطوالها بين ١٠ و ٢٠ ألف زوج قاعدي، فيما يتجاوز أقصى أطوالها ٤٠ ألف زوج قاعدي.

وفي عام ٢٠١٤، أطلقت شركة أكسفورد نانوبور تكنولوجيا جهاز «مين أيون»، الذي يُمكِّنه تحديد تسلسل جزيئات مفردة من الحمض النووي تحديداً آنياً على غرار جهاز باسبيو. لكنَّ الفارق أنَّ جهاز مين أيون يمكن حمله في جيبك؛ إذ يصل وزنه إلى ٩٠ جراماً، وتبلغ أبعاد حجمه ١٠ سنتيمترات × ٣ سنتيمترات × سنتيمترين، ويمكن توصيله بجهاز الكمبيوتر مباشرةً عبر منفذ يو إس بي قياسي. وعلى النقيض من أي جهاز آخر متوفر، يحدد جهاز مين أيون تسلسل جزيء الحمض النووي من خلال تمريره عبر مسام نانوي بروتيني (انظر الشكل ٢-٣).

تبدأ العملية بتوصيل تيار كهربائي إلى غشاء اصطناعي مزوّد بمسامات كهذه يتراوح عددها بين مئات وعدة آلاف. وتعمل بروتينات محرّكة مُخصَّصة على توصيل جزيئات الحمض النووي المزدوجة الشريط إلى المسامات النانوية، ثم تفك الحمض النووي، وتُنزل قواعده تدريجياً خلال كل مسام قاعدة واحدة في كل مرة. والمُذهل أنَّ تسلسل كل جزيء من الحمض النووي يُستنتج من تسجيل اضطرابات التيار التي تحدث في كل مسام نانوي عند مرور القواعد النيوكليوتيدية خلاله. وقد أبلغَ عن أنَّ ذلك الجهاز أنتج قراءات تدنو أطوالها من مليون زوج قاعدي، فضلاً عن أنَّ طبيعته التي تُسهِّل حمله ونقله أوصلت عملية تحديد تسلسل الحمض النووي إلى أماكن لم تكن قد وصلت إليها من قبل. فعلى سبيل المثال، شهد عام ٢٠١٥ استخدام بعض أجهزة مين أيون في موقع ميداني على أرض الواقع من أجل تتبُّع تفشّي فيروس الإيبولا في غينيا. واستُخدم الجهاز كذلك في محطة الفضاء الدولية. وصحيح أنَّ إجمالي التسلسلات المُخرَجة من جهاز مين أيون كان متواضعاً في البداية، لكنه يزداد باطراد مع نضوج تلك التقنية، وحشِر المزيد والمزيد من المسامات النانوية في خلية التدفق. وكذلك تُنتج شركة أكسفورد نانوبور تكنولوجيا

علم الجينوم



شكل ٢-٣: تحديد تسلسل جزيء مفرد (شركة أكسفورد نانوبور تكنولوجيز).

إصدارًا من جهاز تحديد التسلسل (اسمه «بروميث أيون») يُمكن استخدامه على طاولات المختبرات، ويمتاز بقدرته على تشغيل عدد يصل إلى ثمانٍ وأربعين خلية تدفق بالتوازي، علمًا بأنَّ كل خلية منها تحتوي على ما يقرب من ٣ آلاف مسام نانوي.

رغم الإمكانيات الهائلة التي تتمتع بها الأجهزة المتاحة حاليًا من أجهزة تحديد تسلسل الجزيئات المفردة، فإنَّ معدلات الخطأ لديها أعلى من معدلات الخطأ لدى أجهزة إلومينا وأجهزة تحديد التسلسل القائم على إطلاق البيروفوسفات، فضلًا عن أنَّ إجمالي عدد القراءات التي تنتج في كل مرة من مرات تشغيل الجهاز عادةً ما تكون أقل. وقد ثبت حاليًا أنَّ أنظمة تحديد تسلسل الجزيئات المفردة تكون فعالة جدًّا، بالأخص عند استخدامها مع تقنيات أخرى «تقليدية» مثل جهاز إلومينا. وتكمن فكرة ذلك في الجمع بين الجودة العالية والإنتاجية الكبيرة اللتين يتيحهما جهاز إلومينا والقراءات الأطول التي تُنتجها أنظمة تحديد تسلسل الجزيئات المفردة. وكما سيُنَاقَش في الفصل الثالث، فإن طول القراءات بات عاملاً حاسماً عند محاولة تجميع جينومات كبيرة ومعقَّدة.

تتفاوت الأنظمة المختلفة المنتمية إلى الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل في نقاط قوتها وضعفها. فما يكفي لفكِّ تشفير جينوم أحد الفيروسات قد يكون مع الأسف غير كافٍ لعالم محاصيل يحل جينوم نبات كبير. لذا يؤثر في اختيار النظام المستخدم في تحديد التسلسل عواملٌ مثل طول قراءة التسلسل والجودة، ووقت تشغيل الجهاز، وإجمالي مخرجات البيانات، وكذلك الفوارق في كمية قوالب الحمض النووي المطلوبة. وبناءً على مدى السرعة التي تغيَّرت بها التكنولوجيا على مدار العقد الماضي، بات من الصعب توقُّع ما ستبدو عليه عملية تحديد تسلسل الحمض النووي في غضون أكثر من بضع سنين من الآن. ولكن يُمكن الافتراض بثقة أنَّ تكلفة تخزين معلومات تسلسل الحمض النووي ستصبح عمَّا قريب مساويةً لتكلفة توليد تلك المعلومات.

الفصل الثالث

فهم الجين والجينوم

إن تحديد تسلسل جينوم ما يُشبه تجميع قطع الأحجية. إذ يمكن تجميع بعض الأجزاء معًا بسهولة، على غرار ترتيب القطع المكوّنة لحواف الأحجية وفرزها وتعшиقها معًا بكفاءة لتكوين إطار الصورة. أما الأجزاء الأخرى، فهي تشبه سماءً زرقاءً موحّدة اللون؛ لذا يستعصي تجميعها دون بذل جهد منهجي (وكثيرًا ما تجعل المرء في حيرة متسائلًا عمّا إذا كانت بعض القطع الأساسية مفقودة). وفي حين أن تحديد تسلسل الحمض النووي بات أسرع وأقل تكلفة من أي وقت مضى، فلا يزال تجميع الجينوم يشكل تحديًا كبيرًا. سوف نستكشف في هذا الفصل كيفية استخدام الطرق المختبرية والحوسبية للتعرف على الطبيعة الفيزيائية لجزيئات الحمض النووي داخل الخلايا الحية، وكيفية تمييز الجينات من بين كميات هائلة من الحروف الكيميائية المكوّنة لجينوم كائن حي.

تحديد تسلسل الحمض النووي بالتشظية

لا يمكن تحديد تسلسل الجينوم (على الأقل حتى الآن) بالبدا من أحد طرفي الحمض النووي والمواصلة دون توقف حتى الوصول إلى الطرف الآخر. فكل سلسلة من النيوكليوتيدات — أي كل قراءة — يُنتجها جهاز تحديد تسلسل الحمض النووي لا تمثل عادةً إلا نتقّةً بالغة الصغر من الجينوم المستهدف. علاوةً على ذلك، فالعيوب الكامنة في طبيعة الطرق المستخدمة للتمييز بين قواعد الأدينين، والساييتوسين، والجوانين، والثايمين في الحمض النووي، تُحتمّ التحري مرارًا من موضع كل نيوكليوتيدة في الجينوم من أجل إعطاء تسلسل موثوق فيه. ومن منطلق تلك الأسباب، استخدم علم الجينوم إجراءً يُعرف باسم تحديد تسلسل الجينوم بأكمله بـ «التشظية» Shotgun sequencing. وقد سُمي هكذا نسبةً إلى الانتشار العشوائي لشظايا الرصاص الذي يقذف من سبطانة البندقية، واستُخدم لأول

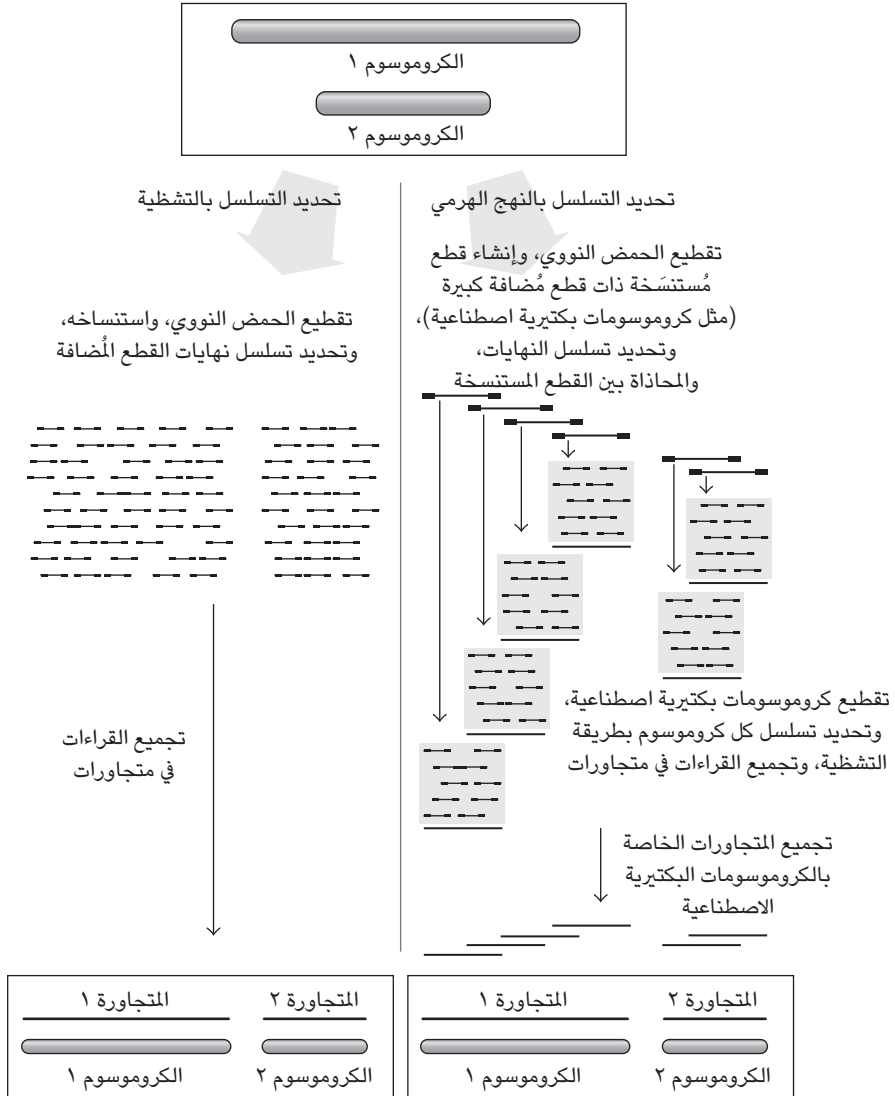
مرة في عام ١٩٨١ لتحديد تسلسل جينوم فيروس تبرقش القرنييط الذي يبلغ طوله حوالي ٨ آلاف زوج قاعدي. ومع أنَّ تلك الطريقة أثبتت أنها مناسبة على نحوٍ مثالي لمهمة تحديد تسلسل الجينومات الصغيرة في بدائيات النواة والميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء، فإنها اعتُبرت في البداية غير مناسبة لدراسة الجينومات الأكبر حجمًا والأكثر تعقيدًا في حقيقيات النواة. ولكن ثبت أنَّ ذلك غير صحيح، كما هو موضح بالمثال في التسابق على تحديد تسلسل الجينوم البشري (انظر الفصل الرابع). فهذه الطريقة ظلت فعالة على مر فترة زمنية طويلة من حيث تحقيق الموازنة بين الكفاءة والدقة.

تبدأ طريقة تحديد التسلسل بالتشظية بعزل الحمض النووي الخاص بالجينوم، ثم قصه عشوائيًا، واستخلاص مجموعة من القطع المتساوية في الحجم. وعادةً ما تُضاف القطع بعد ذلك ككل داخل بلازميدات حلقية (أي: «تُستنسخ») لبناء «مكتبة» جينومية. ومن هذه المجموعة الكبيرة من البلازميدات، يقع الاختيار على بعض القطع المستنسخة عشوائيًا، ويُحدَّد تسلسل نهايات قطع الحمض النووي المُضافة. تجدر الإشارة إلى أنَّ الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل يستغني عن خطوة الاستنساخ؛ إذ يُحدَّد تسلسل قطع الحمض النووي المقصوفة عشوائيًا عبر كمِّ هائل من العمليات المتوازية باستخدام إحدى التقنيات الموضحة في الفصل الثاني. وبغض النظر عن الطريقة المستخدمة، تمثل كل قراءةٍ لتسلسل حمض نووي لقطعة عشوائية لجزء صغير من الجينوم؛ وبذلك فعند الحصول على قراءاتٍ كافيةٍ ومقارنتها بعضها ببعض، يمكن «تجميع» تسلسل الجينوم الأصلي في الكمبيوتر (انظر الشكل ٣-١).

يعتمد عدد التسلسلات اللازم توليدها على حجم الجينوم المراد تحديد تسلسله. ويمكن حساب هذا العدد سلفًا باستخدام الصيغة البسيطة التالية: $N \times L/G$ ، حيث يمثل N عدد قراءات تسلسل الحمض النووي، فيما يمثل L متوسط طول القراءة، أما G فهو طول الجينوم المستهدف. ويُمكن من هذه الصيغة معرفة مقدار التسلسلات الواجب تحديدها من أجل تحقيق المستوى المطلوب من عمق «تغطية» الجينوم. تشير التغطية هنا إلى متوسط عدد مرات ظهور موضع نيوكليوتيدة معين في الجينوم ضمن مجموعة من التسلسلات التي حُصل عليها عشوائيًا. وعند استخدام طريقة سانجر التقليدية لتحديد التسلسل، تكفي تغطية مقدارها حوالي ثمانين مرات لضمان أنَّ حوالي ٩٧ في المائة من الجينوم سيُغطَّى بمحض الصدفة. ولأنَّ تقنيات الجيل الثاني من أنظمة تحديد التسلسل تُظهر معدلات خطأ أعلى من معدلات طريقة سانجر، لا بد أن يكون عمق التسلسل أعلى

فهم الجين والجينوم

الجينوم المراد تحديد تسلسله



شكل ٣-١: مقارنة بين نهج «التشظية» والنهج «الهرمي» لتحديد تسلسل الجينوم وتجميعه.

إذا كان مطلوبًا الحصول على مستوى الجودة نفسه؛ (فعند استخدام نظام إلومينا مثلًا، يلزم الحصول على تغطية تتراوح بين ثلاثين وخمسين مرة لتجميع الجينوم من البداية).

تجميع الجينوم: مشكلات وحلول

في ظل وجود قدر كافٍ من التغطية، يمكن تجميع جينومات الفيروسات وكثير من بدائيات النواة بدقة وكفاءة باستخدام بيانات أولية مولدة من معظم أجهزة تحديد التسلسل الحديثة. ولكن تنشأ المشكلات عند مُصادفة حمض نووي متكرر (أي: عند تكرر تسلسلات محددة من حمض نووي في أكثر من جزء من الجينوم). تحتوي معظم الجينومات على تكرارات من نوع ما، لكن كميتها الإجمالية تختلف اختلافًا كبيرًا داخل الخلايا البدائيات النواة والحقيقيات النواة وفيما بينهما، وكذلك يختلف حجم الوحدات المكررة. هذا ويشجع عن الجينومات النووية وجود تسلسلات متكررة فيها؛ فأكثر من ٥٠ في المائة من الجينوم البشري عبارة عن تسلسلات متكررة من أنواع مختلفة (انظر الفصل الرابع)، وتبلغ نسبة التسلسلات المتكررة في بعض الجينومات النووية في النباتات حوالي ٩٠ في المائة.

لماذا تمثل التسلسلات المتكررة من الحمض النووي أهمية؟ تكتشف خوارزميات تجميع الجينوم تداخلات بين قراءات التسلسلات الأولية ثم تجمعها لإنتاج «متجاورات»، أو مجموعات متجاورة من قطع الحمض النووي المتداخلة. يُقصد بالمتجاورة توافق قراءتين أو أكثر من قراءات تسلسل الحمض النووي. ومن حيث المبدأ، فعند الحصول على عدد كافٍ من القراءات، يُمكن تجميع ولو حتى جينوم نووي كبير للغاية بدقة إذا كان يحتوي على عدد قليل من التكرارات أو يخلو منها؛ عندئذٍ ستكون بعض المتجاورات الفردية مكافئة لكروموسومات كاملة. غير أنَّ وجود التكرارات يعني أن الخوارزميات تواجه صعوبة في تحديد أي منطقة من الجينوم هي التي استُخرج منها تسلسل متكرر معين. وإذا كان متوسط طول قراءة التسلسل أقصر من طول التسلسلات المتكررة في الجينوم، فإن توليد متجاورات كبيرة ودقيقة سيصبح صعبًا. وبذلك كلما زادت التسلسلات المتكررة، تفاقمت المشكلة.

وفي الواقع، تتألف معظم الجينومات النووية من مزيج من التسلسلات الفريدة وتكرارات قصيرة وطويلة من أنواع مختلفة، وعليه ابتكر الباحثون طرقًا لحل هذه المشكلة. إحدى تلك الطرق هي استخراج تسلسلات من كلا طريقي قطع الحمض النووي

المختارة عشوائياً (ارجع للشكل ٣-١)، وجعل الخوارزمية تتبع ما يُسمى «الأطراف المقترنة» والمسافة بينها (وهي مسافة معروفة لأن الحمض النووي الجينوم انتُقي حسب حجمه قبل بناء المكتبة الجينومية وتحديد التسلسل). هذا يحسّن من فرص تثبيت بيانات التسلسل المأخوذة من كل قطعة حمض نووي تثبيثاً راسخاً بالجينوم. ومن الشائع أيضاً إجراء تحديد التسلسل مراراً باستخدام حمض نووي مقصوص إلى أحجام مختلفة (وليكن ألفي و ١٠ آلاف و ٥٠ ألف زوج قاعدي مثلاً)؛ فهذا يُعزز فعالية بيانات الأطراف المقترنة أكثر وأكثر في التغلب على المشكلات المرتبطة بتسلسلات الحمض النووي المتكررة. ولكن حتى عند اتخاذ تلك التدابير وغيرها، نادراً ما تعتبر الجينومات النووية «كاملة» حقاً بالمعنى الذي يفيد بتحديد تسلسل كل كروموسوم بوضوح من أحد الأطراف إلى الطرف الآخر. لذا كثيراً ما يُستخدم مصطلح «المسودة» في الإشارة إلى جينوم حُدّد تسلسله وُجِعَ بمستوى من الجودة يُتيح تحديد معظم الجينات بثقة ودراستها. صحيح أن التسلسل الناتج النهائي تظل فيه فجوات، لكنه يُعد كافياً لمعظم التطبيقات البحثية. وهكذا يُعد تسلسل الجينوم البشري مسودة تسلسل. فبعد تحديد تسلسل جينوم ذبابة الفاكهة بطريقة التشظية لإثبات المبدأ في عام ٢٠٠٠، نجح العالم الأمريكي ورائد الأعمال كريج فينتر في قيادة فريق من الباحثين، بتمويل خاص، إلى تحديد تسلسل الجينوم البشري باستخدام النهج نفسه. وقد اختلفت منهجيتهم عن الاستراتيجية الهرمية المتدرجة «من الأعلى إلى الأسفل»، التي لجأ إليها مشروع الجينوم البشري الممول حكومياً. ففي هذه الحالة الثانية، استُنسخت قطع كبيرة من الحمض النووي يتراوح طولها بين ٥٠ و ٢٠٠ ألف زوج قاعدي في نواقل خاصة تُسمى «كروموسومات بكتيرية اصطناعية». وبتحديد تسلسل نُتف صغيرة من أطراف الآلاف من هذه القطع المُستنسَخة «المكونة من قطع مضافة كبيرة»، استُنْتُجَت خريطة فيزيائية منخفضة الدقة للكروموسومات قبل ظهور التقنيات العالية الإنتاجية لتحديد التسلسل. ثم اختيرت بعض القطع المستنسخة المفردة من قطع الكروموسومات البكتيرية الاصطناعية المستنسخة، وحُدّد تسلسلها بطريقة التشظية على نطاق صغير حسب الضرورة لملاءم الفجوات المتبقية على طول كل كروموسوم (ارجع للشكل ٣-١).

تبدو هذه العملية شاقة، وهكذا كانت بالفعل! لكن من المهم أن ندرك أن بداية المشروع الممول حكومياً جاءت وقتما كانت طريقة سانجر ما تزال مُجهدة ومُكلّفة؛ ولذلك كان تقليل الوقت المستغرق في توليد بيانات التسلسل الأولية والمال المُنفق على ذلك أمراً ذا أهمية بالغة. وكذلك أتاح النهج القائم على الكروموسومات البكتيرية الاصطناعية لمختبرات

مختلفة في أنحاء العالم بأن تعمل بالتوازي دون حدوث ازدواجية في جهودها (بتخصيص كروموسومات بكتيرية اصطناعية وكروموسومات مختلفة لفرق مختلفة، على سبيل المثال). وهذا ليس ممكناً عند استخدام نهج عشوائي تماماً من نُهج تحديد التسلسل بالتشظية. أما اليوم، فنادرًا ما تُستخدم قطع الكروموسومات البكتيرية الاصطناعية المستنسخة في مشروعات الجينوم القياسية (مع أن تلك القطع تمثل جانباً مهماً من تحديد التسلسل «الميتاجينومي» للحمض النووي المأخوذ مباشرة من البيئة؛ انظر الفصل السادس). تمتاز تقنيات تحديد التسلسل المنتجة لقراءات طويلة، مثل تلك التي ابتكرتها شركتا باسبيو وأكسفورد نانوبور تكنولوجياً (ارجع للفصل الثاني)، بأنها أدوات ذات كفاءة وفعالية مُتزايدة في علاج مشكلة التسلسلات المتكررة في الحمض النووي، وتُستخدم طرق الجيل الثاني «القياسية»، مثل نظام إلومينا، بأساليب جديدة مبدعة لتحسين جودة تجميعات الجينوم.

ويتضمن أحد النهج، الذي طوّره شركته اسمها «١٠ إكس جينوميكس»، استخدام جهاز قائم على موائع دقيقة لتقسيم أجزاء كبيرة من الجينوم إلى «كُرَيَّات هلامية» صغيرة. يُضخّ الحمض النووي الموجود في كل كُرَيَّة، ثم يوسم بـ «باركود» فريد، ويحدد تسلسله على أحد أجهزة إلومينا. فإنتاج قراءات تسلسلات موسومة بباركود يُحسّن عملية تجميع الجينوم تحسیناً كبيراً، وذلك بتقديم معلومات كروموسومية طويلة المدى؛ إذ تُستمد القراءات التي تحمل الباركود نفسه من الكُرَيَّة الهلامية نفسها ومن قطعة الحمض النووي المادية نفسها. ومن ثَم، يمكن ربطها بالمنطقة الجينومية نفسها بثقة. واللافت أن هذا النهج قد استخدم مؤخراً لإنتاج سبع تجميعات لجينومات بشرية تتسم بجودة عالية وتكلفة منخفضة، وتبدأ بكتل ضئيلة من الحمض النووي يصل حجمها إلى نانوجرام واحد.

العثور على الجينات من خلال الترانسكريبتومات

في الثمانينيات والتسعينيات من القرن العشرين، حينما كانت عملية تحديد تسلسل الجينوم ما تزال في مرحلتها الأولى، ابتُكرت تقنيات من أجل تسريع عملية اكتشاف الجينات في البشر. كانت الفكرة هي استهداف مناطق الجينوم التي تُنسخ إلى الحمض النووي الريبوزي فقط دون سواها؛ وبذلك يُسلط التركيز مباشرةً على المناطق المُشفّرة للبروتينات، وتُتجنّب مشكلة الاضطرار إلى توليد كميات ضخمة من الحمض النووي

الجينومي غير المشفر (وغربلتها) بحثًا عن جينات. تتضمن التقنية استخدام الحمض النووي الريبوزي كقالب لإنتاج ما يُسمى بالحمض النووي المكمل. وتُجرى هذه الخطوة عن طريق إنزيم النسخ العكسي، وهو إنزيم من إنزيمات تخليق الحمض النووي يوجد بطبيعته في الفيروسات التي تحتوي جينوماتها على الحمض النووي الريبوزي. ويُعد النسخ العكسي الذي يُحوّل فيه الحمض النووي الريبوزي إلى حمض نووي عملية ضرورية ومفيدة؛ إذ لا تتوفر طريقة سهلة لتحديد تسلسل جزيئات الحمض النووي الريبوزي المرسل مباشرة (علمًا بأنّ تقنية ووز لفهرسة الحمض النووي الريبوزي لم تكن قابلةً للتطبيق إلا على جزيئات معينة وفيرة جدًا من الحمض النووي الريبوزي، وهُجّر استخدامها حينما ظهرت تقنية سانجر لتحديد تسلسل الحمض النووي)، وعادةً ما يكون الحمض النووي أكثر استقرارًا بكثيرٍ من الحمض النووي الريبوزي عند إجراء التجارب المختبرية عليهما.

وفور تخليق جزيئات الحمض النووي المكمل، يمكن استنساخها لتكوّن بلازميدات، ونشرها في بكتيريا إشريكية قولونية، وتحديد تسلسلها بسهولة. ما يميز هذا النهج هو أن جزيئات الحمض النووي المكمل خالية من الإنترونات التي تنفصل بسهولة عن جزيئات الحمض النووي الريبوزي المرسل في الخلية قبل إجراء النسخ العكسي في أنبوب الاختبار. ومن ثم فإن «الفائدة التي تعود من ذلك» عظيمة؛ إذ لا تحتوي جزيئات الحمض النووي الريبوزي المكمل حينها إلا على الإكسونات المُشفّرة للبروتينات، وذلك بغض النظر عن حجم الإنترونات في الجينات نفسها ووفرتها. أشير إلى القراءات المفردة الناتجة من تحديد تسلسل الحمض النووي المكمل باسم التسلسلات الواسمة المُعبّر عنها، وأصبح النهج منذئذٍ معروفًا باسم تحديد التسلسلات الواسمة المُعبّر عنها.

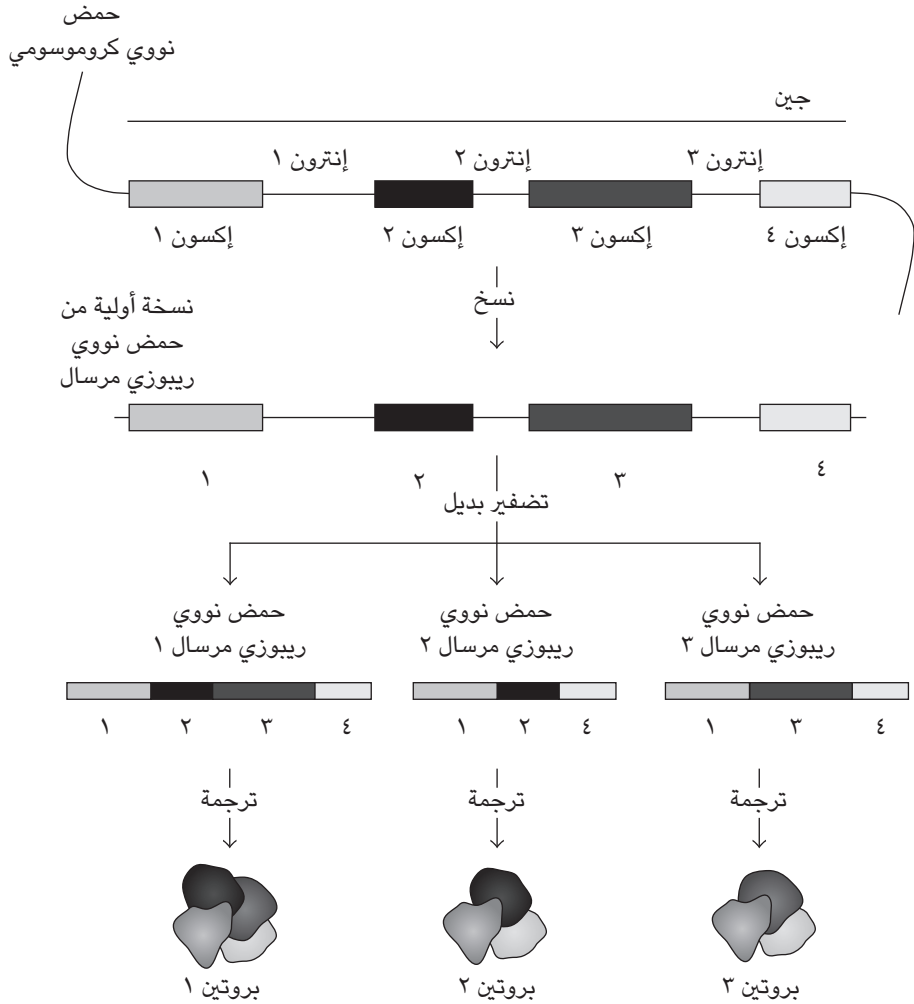
ومع أنّ تقنية تحديد التسلسلات الواسمة المُعبّر عنها والمنتمية إلى الحمض النووي المكمل طُبّقَت في البداية في مجالات بحثية في الطب الحيوي، صارت من أفضل التقنيات التي يعتمد عليها الباحثون العاملون في جميع مجالات علوم الحياة. وهي مفيدة بالأخص في دراسة التعبير الجيني في الكائنات المتعددة الخلايا. إذ يمكن استخراج عينات الحمض النووي الريبوزي من أنسجة مختلفة وتحويلها إلى جزيئات حمض نووي مكمل لتحديد تسلسلها، ويمكن مقارنة نسب وفرة جزيئات الحمض النووي المكمل (التي يُستمد كلٌّ منها من جزء منسوخ من حمض نووي مرسل) في مجموعات البيانات المختلفة. ويمكن لمثل هذا النهج أن يُسفر عن فهم عميق مهم فيما يخص الجينات والبروتينات التي

تكون نشطة عند أوقات مختلفة داخل أجزاء مختلفة من الكائن الحي. وكذلك فإنَّ نهج تحديد التسلسلات الواسمة المُعبَّر عنها أصبح بديلاً شائعاً وميسور التكلفة لعملية تحديد تسلسل الجينوم في مجالات متنوعة من علم الأحياء. وصار تحديد تسلسل بضعة آلاف من القطع المستنسخة المُختارة عشوائياً من مكتبة تقليدية للحمض النووي المكمل كافياً لإلقاء نظرة خاطفة على مجموعة الجينات في كائن حي مُكتشَف حديثاً دون تحمُّل النفقات والتعقيدات الملازمة لعملية التعامل مع الجينومات.

حتى منتصف العقد الأول من القرن الحادي والعشرين، كانت التسلسلات الواسمة المُعبَّر عنها تُحدَّد أساساً باستخدام تقنية سانجر التقليدية، لكنها أيضاً قد تطورت تجاوباً مع تلك التقنيات الحديثة المستخدمة في تحليل الحمض النووي. وقد أُجِّلَ محلُّ هذا النهج الآن نهجٌ آخر يُطلَق عليه تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي، وهي تسمية في غير محلها؛ لأنَّ هذا النهج، مثله مثل نهج تحديد التسلسلات الواسمة المُعبَّر عنها، يعتمد على تحويل الحمض النووي الريبوزي إلى حمض نووي مكمل قبل تحديد التسلسل. الفرق الرئيسي بين النهج التقليدي لتحديد التسلسلات الواسمة المُعبَّر عنها ونهج تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي، هو أن ذلك الأخير يستخدم أنظمة الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل؛ وبذلك يستطيع توليد بيانات أكثر بكثير في تجربة معينة. وباستخدام إحدى الوسائل التكنولوجية مثل إلومينا، من الممكن اكتشاف نُسخ حمض نووي ريبوزي مرسل تكافئ نسبة تتراوح بين ٨٠ و ٩٠ في المائة من الجينات الموجودة في جينوم كائن حي، حتى تلك التي عُبر عنها عند مستويات منخفضة جداً في الوقت الذي استُخرج فيه الحمض النووي الريبوزي. من الممكن أيضاً أن تُحدد، في آنٍ واحد، الاختلافات في مستوى التعبير عن آلاف الجينات في أنسجة مختلفة من كائن حي متعدد الخلايا، أو بين مزارع خلايا نمت في ظروف بيئية مختلفة، على سبيل المثال. يشير مصطلح «علم الترانسكريبتوم» (الترانسكربتوميكس) إلى دراسة الترانسكريبتوم (أي: المجموعة الكاملة من جزيئات الحمض النووي الريبوزي الموجودة في خلية أو مجموعة خلايا).

أصبح تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي أداة لا غنى عنها لتأزم عملية تحديد تسلسل الجينوم، وهذا يُسرِّع بشدة من وتيرة عملية اكتشاف الجينات في الجينومات بجميع أشكالها وأحجامها. وقد اتضح أنَّ التنبؤ بالحدود بين الإنترونات والإكسونات أكثر تعقيداً من مجرد محاذاة تسلسلات الحمض النووي المكمل والحمض النووي الجينومي. والسبب الأكبر وراء ذلك هو ظاهرة التضفير البديل، التي تحدث حينما يُنتج نفس الجين أكثر

فهم الجين والجينوم



شكل ٣-٢: التضفير البديل.

من نوع واحد من نُسخ الحمض النووي الريبوزي المرسل (انظر الشكل ٣-٢). ففي ظل ظروف مختلفة أو في أنسجة مختلفة، يمكن لجين واحد أن يُنتج عشرات البروتينات

المختلفة في وظائفها بـ «الخلط والمطابقة» بين الإكسونات. نستنتج الآن، باستخدام تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي، أن التضفير البديل سمةٌ في جميع الخلايا الحقيقية النواة، بدءاً من الميكروبات الوحيدة الخلية وصولاً إلى البشر.

تَبَتَ أيضًا أن تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي وسيلة شديدة الفعالية لتمييز الجينات الصغيرة في الحمض النووي الريبوزي، مثل تلك الجينات التي تُشَفَّر بحر جزيئات الحمض النووي الريبوزي الدقيقة التي أصبحت تُعد ضوابط تنظيمية مهمة في عملية التعبير عن الجينات المُشَفَّرة للبروتينات. ولأنَّ التسلسلات الصغيرة من الجينات في الحمض النووي الريبوزي كثيرًا ما تختلف بشدة من نوع إلى آخر، قد يستعصي العثور عليها باستخدام عمليات البحث العادية عن التشابهات الخاصة بالتسلسلات. وفي هذه الحالة، يبدأ الباحثون بانتقاء جزء من الحمض النووي الريبوزي ذي نطاق حجم معين، على أن يكون أصغر بكثير من جزيئات الحمض النووي الريبوزي المرسل المُشَفَّرة للبروتين. ثم يُحوَّل الجزء الصغير من الحمض النووي الريبوزي إلى حمض نووي مكمل كالمعتاد، ويُحدَّد تسلسله تحديدًا عميقًا باستخدام تقنية مناسبة من تقنيات الجيل الثاني. وبالنظر إلى الوفرة النسبية للنُّسخ الصغيرة من الحمض النووي الريبوزي والمواضع التي رُبِطَتْ بها على الجينوم المُجمَّع، فمن الممكن أيضًا ربط جزيئات الحمض النووي الريبوزي الصغيرة بالجينات المحددة المُشَفَّرة للبروتين التي تنظِّم عملية التعبير عنها.

أين توجد الجينات وما دورها؟

يوجد في صميم علم الجينوم الحديث برنامج كمبيوتر يُسمَّى «بلاست» (بالإنجليزية BLAST التي تمثل الأحرف الأولى من الكلمات التالية: Basic Local Alignment Search Tool التي تعني أداة البحث عن مناطق محاذاة موضعية أساسية). وفي هذا البرنامج، تُستخدم تسلسلات جزيئية للبحث عن معلومات في قاعدة بيانات تحتوي على تسلسلات جينية مأخوذة من كائنات حية أخرى من أجل تحديد مناطق التشابه. إذ تبحث خوارزمية «بلاست» عن مناطق المحاذاة الموضعية بين التسلسل المراد مقارنته وتسلسل واحد أو أكثر في قاعدة البيانات. ثم تُنشَأ قائمة بـ «النتائج المشابهة»، ويُخصص لكل نتيجة من النتائج مقياسٌ لدالتها الإحصائية يُسمَّى قيمة «التوقع». وبإيجاز، تصف قيمة التوقع عدد النتائج المشابهة التي يُتَوَقَّع رؤيتها بمحض الصدفة عند البحث في قاعدة بيانات بحجم معين. وكلما كانت قيمة التوقع الخاصة بنتيجة معينة من نتائج «بلاست» أكبر،

زادت «دلالة» التطابق، وصار الباحث أكثر يقيناً من أنه قد ميز جيناً حقيقياً. ويمكن إجراء عمليات البحث في برنامج «بلاست» باستخدام تسلسلات الحمض النووي بصفتها تسلسلات يُراد مقارنتها بتسلسلات أخرى (وهي خطوة ضرورية عند البحث عن جينات الحمض النووي الريبوزي غير المشفر) أو تسلسلات الأحماض الأمينية في البروتينات؛ ويُعد هذا الاستخدام الثاني أكثر شيوعاً في التحليلات التي تُجرى على نطاق الجينومات، وأحد أسباب ذلك أنه أقدر على كشف التسلسلات المتشابهة على مدى مسافات تطويرية أكبر.

يمكن أيضاً العثور على الجينات باستخدام طُرُق تُسمَّى «من البداية» Ab Initio. وفي هذه الحالة، يُستخدم برنامج للتعرف على خصائص الجينات الموجودة في الجينوم محل الاهتمام مثل تركيب النيوكليوتيدات عند الحدود بين الإنترونات والإكسونات. وقبل العثور على الجينات، يتلقى البرنامج «تدريباً» على مجموعة منتقاة بعناية من الجينات المعروفة ونُسخ جزيئات الحمض النووي الريبوزي المرسل التي تحويها، وحالما «يتعلم» الشكل الذي عادةً ما تتخذه جينات الكائن الحي، يمكن استخدام البرنامج لتحديد جميع امتدادات تسلسل الحمض النووي التي تحمل تلك السمات في الجينوم، بغض النظر عما إذا كانت تلك التسلسلات مشابهة لجينات معروفة في كائنات حية أخرى أم لا. لكن هذا النهج له عيوبه، وأبرزها حتمية توفّر بعض بيانات تسلسلات جينية على الأقل بالفعل (وإلا فسيتعذر تدريب خوارزميات الكمبيوتر). وفي الواقع العملي، عادةً ما تتضمن عملية التنبؤ بالجينات تشغيل عدة أنواع مختلفة من برامج اكتشاف الجينات ومقارنة النتائج. وتُعتبر امتدادات التسلسلات التي يتوقع أن تكون جينات بناءً على عدة فئات من الأدلة؛ جينات حقيقية على الأرجح، خاصةً إذا وُجد دليل واضح على النسخ.

بعد التنبؤ بالتسلسلات الجينية تأتي الخطوة التالية، وهي تعيين الوظيفة. وتنبثق هذه الخطوة انبثاقاً طبيعياً، إلى حد ما، من الإجراءات القائمة على برنامج «بلاست» التي تُستخدم لتحديد الجينات في المقام الأول؛ فإذا كان تسلسلُ جينٍ أو بروتين معين من النوع «س» يُشبه بروتين وظيفته معروفة من النوع «ص»، يُحتمل عندئذ أن يكون له الوظيفة نفسها أو وظيفة أخرى مشابهة. وعادةً ما تُربط نتائج «بلاست» بقواعد بيانات كبيرة تحتوي على عدة آلاف من تسلسلات بروتينات مختارة بعناية، بروتينات تأكدت وظيفتها «أو وظائفها» بالتجربة. وكثيراً ما تُنسب الوظائف إلى مناطق فرعية محدّدة من البروتين تُسمَّى نطاقات البروتين. فعلى سبيل المثال، تحتوي قاعدة بيانات «بفام»

على حوالي ١٧ ألف «عائلة» مختلفة من البروتينات، وتُعد بمثابة مرجعاً مهماً في مراحل توضيح تفاصيل الجينوم. كثيراً ما تحتوي البروتينات على نطاقات متعددة ذات وظائف فرعية مختلفة. فعلى سبيل المثال، تُعد عوامل النسخ بروتينات تؤدي أدواراً مهمة في تنظيم التعبير الجيني، وعادةً ما تحتوي على نطاقات مرتبطة بالحمض النووي ونطاقات تفاعل البروتينات بعضها مع بعض، ويمكن اكتشاف كلا النوعين من النطاقات باستخدام برامج حاسوبية.

وعند تعيين وظائف جينات في جينوم حُدّد تسلسله حديثاً، يصبح الهدف نسب وظيفة مُفترضة إلى أكبر عدد ممكن من الجينات. وتتفاوت درجة الثقة المرتبطة بهذه الوظائف التي جرى تعيينها تفاوتاً شديداً. ففي بعض الأحيان، يكون ممكناً التنبؤ، بيقين كبير، بأنّ الجين «س» يُشفر بروتيناً معيناً مسئولاً عن تضاعف الحمض النووي. وفي أحيان كثيرة أخرى، يكون من المستحيل التنبؤ بهذه الدرجة من الدقة. فقد يُتنبأ بأنّ أحد البروتينات ناقل للسكر (لأنّ تسلسل أحماضه الأمينية يتشابه مع تسلسل الأحماض الأمينية لدى ناقلات تتميز بها كائنات حية أخرى)، ولكن قد لا يكون نوع السكر الذي ينقله واضحاً على وجه الدقة. أو قد يُتنبأ بأنّ بروتيناً ما يرتبط بأغشية خلوية (لأنه يحتوي على نطاقات يُفترض أنها تمتد عبر الغشاء الخلوي)، لكن دون إمكانية فهم المزيد عن وظيفته. وكثيراً ما يكون البروتين المتوقع بلا وظيفة واضحة على الإطلاق. وهذا شائع جداً بالأخص عند توضيح تفاصيل تسلسل جينوم كائن حي لا يُعرف له أقرباء. هذا ويتضمن الجينوم الموضحة تفاصيله بدقة معلومات عن مجموعة واسعة من العمليات البيولوجية المختلفة، بما في ذلك القدرات الأيضية المتوقعة (ويمكن الاستعانة بهذه المعلومات في استنتاج كيف يعيش الكائن الحي) والخصائص الخلوية، مثل القدرة على صنع سوط يتحرك به.

أين تؤدي البروتينات وظائفها؟

يتمثل جانب آخر من عملية توضيح تفاصيل تسلسل الجينوم في توقُّع المكان الذي تؤدي فيه جزيئات البروتين وظائفها. ويمكن تحقيق ذلك لأن البروتينات تحتوي غالباً على تسلسلات معينة من الأحماض الأمينية تعمل كأنها «طابع بريدية» داخل الخلايا. ومن الأمثلة على ذلك أنّ معظم (ولكن ليس كل) البروتينات التي تؤدي وظائفها في الميتوكوندريون تُشفر في الجينوم النووي وتُخلَق في السيتوبلازم في الواقع، وتحتوي مثل

هذه البروتينات على «بيبتيدة موجّهة» مكوّنة من خمسة عشر إلى ثلاثين حمضاً أمينياً على أحد الطرفين، بحيث تعمل على توجيه البروتينات نحو العضية. وتحتوي بروتينات البلاستيدات الخضراء المُشَفَّرة بالجينات النووية على تسلسلات موجّهة مشابهة. ومن ثم، تُدرَّب الخوارزميات على فحص تسلسلات الأحماض الأمينية في البروتينات بحثاً عن وجود تلك العناصر الموجّهة وعناصر أخرى من هذه النوعية، ويمكن استخدامها لتوقع أيّ مجموعة من بين آلاف البروتينات هي التي يُرجَّح أنها تعمل في عضية معينة. ومن الأمثلة الأخرى النمط المميز المتمثل في تسلسل «كيديل» KDEL، ويُعد هذا التسلسل المكون من أربعة أحماض أمينية هو السمة المميزة للبروتينات الموجودة داخل منطقة معينة من جهاز الغشاء الداخلي للخلايا الحقيقية النواة. ومع أنّ هذه الأدوات ليست مثالية، يستخدمها الباحثون لتجميع قوائم ببروتينات ترتبط بمناطق منفصلة في الخلية. وبعدئذٍ يمكن استخدام هذه التنبؤات لصياغة فرضيات من أجل اختبارها داخل المختبرات.

ومن المجالات التجريبية المستخدمة لتأكيد الموقع داخل الخلية مجال سريع التطور من مجالات «الأوميكس»، (أي: المجالات التي تحلل كميات هائلة من الجزيئات البيولوجية)، يُسمى علم البروتيوم (البروتيوميكس). وفي هذه الحالة، يُستخدم أحد إنزيمات قُطع البروتين، كإنزيم التريبسين مثلاً، لهضم عينة من البروتينات استُخلِصت من عضيةٍ مثل الميتوكوندريون. ثم يُمرَّر الخليط المُقَطَّع خلال أداة تُسمى مطياف الكتلة. ونظراً إلى خصوصية إنزيم التريبسين، الذي لا يقطع البروتينات إلا عند جزيئات معينة من الحمض النووي، تكون قُطع البروتين بحجم محدّد؛ ومن ثمّ يمكن أن تكتشفها الأداة. ومن خلال مقارنة مخرجات التجارب بالبروتينات المتوقعة استناداً إلى تسلسلات الجينوم، يمكن تأكيد أيّ من البروتينات يتموضع بالفعل في العضية المُعنية. وبوجه أعم، يُستخدم علم البروتيوم جنباً إلى جنب مع علم الجينوم للتيقن من دقة توقعات الجينات القائمة على برامج حاسوبية؛ فالنتائج الإيجابية الزائفة لن تُنتج بروتينات حقيقية.

إعادة تحديد تسلسل الجينوم

تُعد مقارنة تسلسلات الحمض النووي بين فردين أو أكثر من النوع نفسه مصدراً ثرياً بالمعلومات لدراسة علم الأحياء الجزيئي والتطوري. ولكن حتى مع توافر أفضل الأدوات وألع العقول، قد يكون التحدي المتمثل في تجميع جينوم من جديد (أي: من البداية) باهظ التكلفة إلى حد تعجيزي. ولحسن الحظ، تكون هذه الخطوة غير ضرورية في بعض

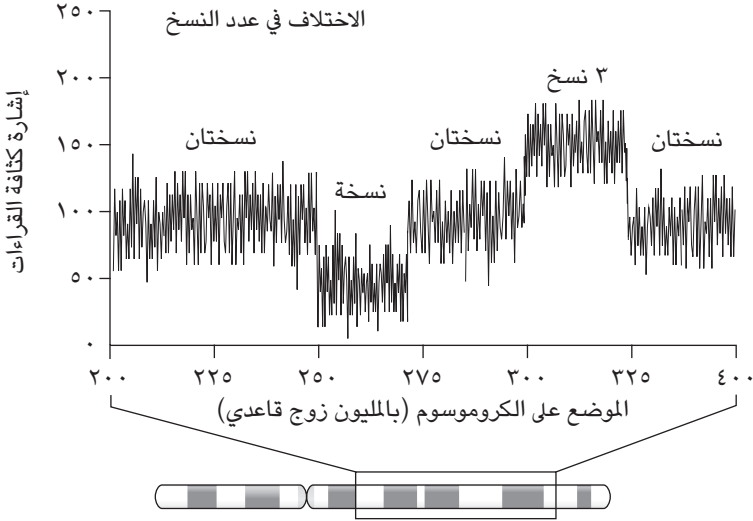
الحالات. تتضمن عملية «إعادة تحديد تسلسل» الجينوم توليد بيانات أولية عن التسلسلات من الفرد أو السلالة محل الاهتمام و«ربط» القراءات بجينوم مُجمّع سلفًا. يمكن إجراء إعادة تحديد التسلسل بطريقة موجهة (بالتركيز على الإكسونات فقط مثلاً) أو يمكن تطبيقها على الجينوم بأكمله. وعمومًا، كلما كانت جودة تجميع الجينوم المرجعي أكبر، أصبحت استراتيجية إعادة تحديد التسلسل أنفع. ومع أننا نُغفل ذلك كثيرًا، فإنَّ قدرتنا على «تحديد تسلسل» جينوم بشري في غضون أسبوع ومقابل ألف دولار لم تصبح ممكنة إلا بفضل جهود رسم خرائط الجينوم التي بُذلت في مشروع الجينوم البشري الأصلي الممول حكوميًا، الذي بُني هو نفسه على مجهودات علماء الوراثة البشرية قبل عقود.

وفي هذا الصدد، يُستخدم نهج موجه يُطلق عليه «تحديد تسلسل الإكسوم كله» على نطاق واسع في أبحاث الأمراض البشرية. وقد يتضمّن هذا النهج استخدام «مصفوفة دقيقة»، وهي قطعة صغيرة من الزجاج تُثبّت عليها بصفة دائمة جزيئات مفردة الشريط من الحمض النووي تُمثّل مجموعة محدّدة من الإكسونات. وتوجد مصفوفات تحتوي على أكثر من ١٠٠ ألف إكسون بشري متوفرة تجاريًا، وتُستخدم في أغراض التشخيص. تُغمر المصفوفة الدقيقة بعينات الحمض النووي المأخوذة من المرضى، وتُجرّف المادة التي لم «تُهَجّن» مع الحمض النووي الموجود على المصفوفة (أي: لم تقترن قواعدهما بقواعده)، ويُجمّع الحمض النووي المتبقي ويُحدّد تسلسله بتقنيات الجيل الثاني. خلاصة الأمر أنَّ تحديد تسلسل الإكسوم كله يسمح للباحثين بفحص مناطق تشفير البروتين في الجينوم بكفاءة بحثًا عن الطفرات المسببة للأمراض بجزءٍ صغيرٍ من تكاليف تحديد تسلسل الجينوم كله.

سرعان ما تُصبح إعادة تحديد تسلسل الجينوم بأكمله هي العملية النموذجية السائدة في مجال علم الجينوم البشري المقارن. فهي كافية للاكتشاف الدقيق للتشكّلات المتعددة للنوكليوتيدات المفردة (أي: الاختلافات في موضع نيوكليوتيدة واحدة في الجينوم لدى أفراد إحدى الجماعات). ويمكنها أيضًا، بدرجة أقل، أن تُحدد طفرات الإضافة والحذف القصيرة في الحمض النووي غير المتكرر، وكذلك الكشف عن الاختلافات في عدد النسخ بين الجينومات المستهدفة والمرجعية. إذ يتزايد إدراك أهمية الاختلافات في عدد النسخ فيما يتعلق بالأمراض والبيولوجيا البشرية، وفي البيانات الجينومية تتجلى تلك الاختلافات في صورة اختلافات في عمق تغطية التسلسل التي حُصل عليها لجين معين أو جزء معين من الحمض النووي. وتُعد المناطق الجينومية التي تُظهر زيادة أو نقصًا كبيرًا

فهم الجين والجينوم

في عدد القراءات المفردة التي رُبطت بالجينوم المرجعي، مؤشراً دالاً على التغيرات في عدد النسخ في الكائن الحي محل الدراسة (انظر الشكل ٣-٣).



شكل ٣-٣: اكتشاف الاختلاف في عدد النسخ باستخدام الجيل الثاني من تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي.

غير أنَّ نهج إعادة تحديد تسلسل الجينوم له عيوبه. فعلى سبيل المثال، يستحيل إلى حدٍّ كبير رؤية التمددات والانكماشات في التسلسلات المتكررة بهذه المنهجية، وإذا كانت أطوال القراءات المفردة من تسلسل الحمض النووي أقصر بكثير من طول وحدة متكررة مفردة، فبيانات ربط القراءات بمواضعها على الجينوم وحدها لن تقدم أي معلومات قيِّمة عن التغيرات الموجودة في عدد الوحدات المتكررة من جينوم إلى آخر. وما يفاقم المشكلة أنَّ جودة الجينوم المرجعي ربما تتضرر في تلك المناطق بسبب وجود تكرارات.

وتُعد الانقلابات نوعاً آخر من الاختلافات البنيوية التي يصعب اكتشافها باستخدام نهج عام من طرق إعادة تحديد التسلسل. فقد يكون حجم هذه الانقلابات صغيراً بقدرٍ بضع عشرات من النيوكليوتيدات أو قد يتجاوز مليون زوج قاعدي، وتعتمد درجة

الموثوقية التي يُمكن اكتشاف الانقلابات ذات الأطوال المختلفة بها في البيانات الجينومية على عوامل مثل طول قراءة التسلسل والأدوات الحوسبية المستخدمة لربط القراءات بمواقعها في الجينوم. ولأنَّ الانقلابات قد تُخل بطبيعة تسلسلات الجينات و/أو تؤثر في التعبير عن الجينات القريبة، تلقى اهتمامًا كبيرًا من الباحثين الذين يدرسون الأساس الوراثي للأمراض. ويتمثل أكبر انقلاب معروف لدى البشر في جزء من الحمض النووي طوله حوالي ٤,٥ ملايين زوج قاعدي على الكروموسوم ٨ يُعد مقلوبًا (بالنسبة إلى الجينوم المرجعي) في نسبة يُقدَّر أنها تتراوح بين ١٢ و ٦٠ في المائة من سكان العالم، حسب العرق. وبالرغم من عدم وضوح الآليات الجزيئية الأساسية الكامنة وراء هذا الانقلاب، فإنه مرتبط بالتهاب المفاصل الروماتويدي ومرض الذئبة الحمراء الذي يُعد من أمراض المناعة الذاتية.

ومن الأمثلة الأخرى التي دُرست جيدًا ما يُطلق عليه انقلاب أيسلندا، وهو جزء طوله حوالي ٩٠٠ ألف زوج قاعدي من الكروموسوم البشري ١٧ يُعد مقلوبًا لدى حوالي ٢٠ في المائة من الأوروبيين. وقد أظهرت دراسة أُجريت عام ٢٠٠٥ أنَّ بعض السيدات الأيسلنديات المصابات بانقلاب الكروموسوم ١٧ قد زادت لديهن معدلات إعادة اتحاد الحمض النووي، ولأسباب مجهولة أنجبن عددًا أكبر من الأطفال. أمَّا الشكل «العادي» (أي: غير المقلوب) للكروموسوم ١٧، فيرتبط بالعديد من الاضطرابات العصبية التنكسية، بما فيها مرضا الألزهايمر وباركنسون. ومن السمات المشتركة بين هذه الانقلابات وغيرها وجود تسلسلات متكررة عند نقاط توقفها، ومن الصعب ربط هذه التسلسلات بمواقعها على الجينوم المرجعي. هذا ويُعد أحد الموضوعات التي تلقى اهتمامًا كبيرًا، ويُجرى عليها أبحاث عديدة في مجال المعلوماتية الحيوية ابتكار خوارزميات أفضل لاكتشاف الانقلابات الجينومية الكبيرة والصغيرة على حدٍّ سواء من بيانات التسلسل التي أنتجتها تقنيات الجيل الثاني، وتستمر مثل هذه الخوارزميات في التطور جنبًا إلى جنب مع نُهج تحديد التسلسل التي تهدف إلى جمع معلومات طويلة المدى، مثل نهج شركة ١٠ إكس جينوميكس الذي ورد ذكره سابقًا. وكما سنرى في الفصل الرابع، فإن تسلسل الجينوم البشري ما زال «عملًا قيد التطوير» أمامه الكثير.

الفصل الرابع

الجينوم البشري في علم الأحياء والطب

مشروعان ورؤية واحدة

يُشار كثيرًا إلى المرحلة الأولى من تحديد تسلسل الجينوم البشري باسم مشروع الجينوم البشري. لكن هذا الإطار شهد إقامة مشروعين مختلفين بالطبع؛ أحدهما ممول من القطاع الحكومي والآخر بدعم من شركة خاصة. وكذلك لا توجد إجابة بسيطة على السؤال عن هوية أصحاب الجينومات التي حُدد تسلسلها. فالمشروع الحكومي استند إلى عينات حمض نووي مستخرجة من خلايا دم بيضاء تبرّع بها عدد من الرجال والنساء المجهولين. وقد وردَ أنَّ الجزء الأكبر من بيانات التسلسل استُخلص من متبرّع واحد في مدينة بافلو بولاية نيويورك. أما في حالة المشروع المنافس الذي أقيم بتمويل خاص، ونفّذته شركة سيليرا جينوميكس التي يملكها كريج فينتر، فقد أخذت عينات الحمض النووي التي حُدد تسلسلها من خمسة أفراد (منهم فينتر نفسه).

تذكّر أن المشروعين اختلفا اختلافًا كبيرًا في الاستراتيجيات الأساسية التي اتبعاها. فالمشروع الحكومي اعتمد بشدة على إنتاج ما يُسمى بالخريطة المادية التي شارك في وضعها عددٌ كثيف من الباحثين، والتي تُعد تمثيلًا دقيقًا لبنية كل كروموسوم يُمكن أن تُربط به قطع أصغر من التسلسلات المجمّعة في النهاية. وقد استغرق المشروع ثلاثة عشر عامًا (١٩٩٠-٢٠٠٣)، وكُلّف إتمامه ما يُقدَّر بنحو ٣ مليارات دولار أمريكي. أمّا مشروع فينتر، الذي بلغت تكلفته ٣٠٠ مليون دولار أمريكي، وبدأ في عام ١٩٩٨ مستعينًا بأحدث أجهزة تحديد التسلسل بتقنية سانجر، فكان قائمًا على نهج التشظية؛ إذ تركّزت الجهود على توليد قراءات تسلسلات مفردة وتجميعها في متجاورات وسقالات أكبر حجمًا. (يُزعم أن تجميع فينتر اعتمد على البيانات الأولية الصادرة عن المشروع الحكومي، وقد كان هذا

الادعاء موضع خلاف؛ لأنَّ عملية التجميع، من المنظور الحرفي، لم تكن اختبارًا حقيقيًا لنهج قائم على تحديد التسلسل بالتشظية فقط.) وعمليات التجميع اختلفتا من حيث عدد الفجوات التي احتوت تسلسلاتهما عليها، ومن حيث البنية المادية لجينوميهما، وعدد الجينات التي توقَّعتاها. ولكن مع أخذ جميع الأمور في الحُساب، فإنهما كانتا متشابهتين كثيرًا؛ فقد اعتُبر أنَّ كلا الجينومين «مكتمل» بنسبة تُناهز ٩٠ في المائة في وقت النشر عام ٢٠٠١.

تجدر الإشارة مجددًا إلى أنَّ كلا المشروعين استخدم عينات حمض نووي من أكثر من شخص واحد، ومع أنَّ تلك الخطوة اعتُبرت ضرورية من أجل تقليل التعارض مع المعايير القانونية والأخلاقية، فإنها أدت إلى إنتاج تسلسلات جينومية مركبة. وفي عام ٢٠٠٧، نشر فريق كريج فينتر أول جينوم لفرد واحد (وقد كان جينوم كريج فينتر نفسه). ثم نُشر بعدها بفترة قصيرة التسلسل الجينومي لجيمس واطسون، الأمريكي المشارك في اكتشاف بنية الحمض النووي، وكان تسلسلًا جديدًا بالملاحظة؛ لأنه أول تسلسل يُحدّد باستخدام إحدى تقنيات الجيل الثاني (وهي طريقة تحديد التسلسل القائمة على إطلاق البيروفسفات، ارجع للفصل الثاني). وبذلك كان جينوما فينتر وواطسون علامة على بداية عصر دراسة الجينومات الشخصية، الذي يمضي بوتيرة متسارعة وتطور متزايد باستمرار. أسفرَ أول مشروعين للجينوم البشري عن الجينوم «الموحد»؛ وهو جينوم حُدّد تسلسله واعتُبر أنه يُعبّر عن جينومات البشر كلهم. ولكن لا يوجد في الحقيقة شيءٌ مثل هذا الجينوم البشري «الموحد». وهذه الحقيقة تمثل أساس مفهوم الطب الشخصي (أو الدقيق).

بنية الجينوم البشري

يتوزَّع تقريبًا ٣,٢ مليارات زوج قاعدي من الحمض النووي في البشر على ثلاثة وعشرين زوجًا من الكروموسومات (انظر الشكل ٤-١). وفيما عدا البويضات والحيوانات المنوية، فإن خلايا البشر خلايا ثنائية المجموعة الكروموسومية، بمعنى أنَّ لديها نسختين من كل كروموسوم؛ وبذلك يوجد حوالي ٦,٤ مليارات زوج قاعدي من الحمض النووي في نواة كل خلية. تُرقَّم الكروموسومات التي تُسمَّى كروموسومات جسدية أو لا جنسية بأرقام من ١ إلى ٢٢، ويتراوح حجمها بين حوالي ٢٥٠ مليون زوج قاعدي (الكروموسوم ١) إلى حوالي ٥٠ مليون زوج قاعدي (الكروموسوم ٢٢). وعلى الرغم من الاختلاف الشديد بين

الجينوم البشري في علم الأحياء والطب



شكل ٤-١: بنية الجينوم البشري وما يحتوي عليه من كروموسومات. يحمل الإنسان اثنين وعشرين كروموسومًا جسديًا ونوعين مختلفين من الكروموسومات الجنسية: إكس وواي. يشير رأس السهم إلى القسيم المركزي في الكروموسومات. وتمثل المناطق المظلمة باللون الرمادي مناطق كروموسومية مميزة تُرى عند إجراء عملية الصبغ في التحليل الوراثي الخلوي. أما المناطق الملوّنة بالأسود، فتتمثل أكبر مناطق الجينوم البشري التي لم يُحدّد تسلسلها بعد و/أو التي تتضمن أجزاءً لم يوضّح تسلسلها بدقة كافية، مثل التسلسلات المتكررة التي تُشفر الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي. يظهر في الشكل الجينوم الميتوكوندري البشري أيضًا (لكنه ليس مرسومًا وفق مقياس محدد).

الكروموسومين الجنسيين «إكس» و«واي»، فإنهما يعتبران زوجًا كروموسومياً. إذ أظهرت أبحاث أنهما انبثقا مما كان في الأصل زوجًا متطابقًا من الكروموسومات الجسدية منذ ما يزيد على ١٨٠ مليون سنة في مرحلة مبكرة من تطور الثدييات. تحمل الإناث نسختين من الكروموسوم إكس في كل خلية (أحدهما موجود في شكل بنية منضغطة صغيرة يُطلق عليها جسم بار)، بينما يحمل الذكور كروموسومين؛ أحدهما إكس والآخر واي.

يصل حجم كروموسوم إكس إلى ١٥٣ مليون زوج قاعدي، ويحتوي على حوالي ألفي جين. أمّا الكروموسوم واي، فيقل حجمه عن نصف تلك القيمة (إذ يبلغ ٥٩ مليون زوج قاعدي)، وهو بمثابة أرض جينومية بور؛ فاعتبارًا من عام ٢٠٠٣، توقّف عدد جيناته عند ثمانية وسبعين جينًا. ومن بين جميع الكروموسومات البشرية، أثبت الكروموسوم واي أنه الأصعب في تحديد تسلسله. فهو يمتلئ بالمناطق المتكررة، وحتى باستخدام التقنيات الحديثة، ما زال أكثر من ٥٠ في المائة منه غير مُحَدّد تسلسله (ارجع للشكل ٤-١). وقد استطاع بعض الباحثين، بالتفحص الدقيق، تمييز حفنة من الجينات الإضافية مؤخرًا، وهو اتجاه من المرجح أن يستمر مع توصيف المزيد من خصائص الكروموسوم واي. ورغم طبيعته الانحلالية، فمن الواضح أن الكروموسوم واي هو الكروموسوم المحدد لنوع الجنس. إذ يوجد جين معين، وهو جين المنطقة المُحدّدة للجنس في الكروموسوم، يشفّر بروتينًا مشاركًا في نمو الخصيتين، وتوجد جينات أخرى متموضعة في الكروموسوم واي تؤدي دورًا في تكوين الحيوانات المنوية.

يوجد على أحد طرفيّ كلّ من الكروموسومات البشرية ١٣ و ١٤ و ١٥ و ٢١ و ٢٢ منطقة كبيرة غير محدّد تسلسلها بدقة كافية. وهناك تقع الجينات المُشفرة للحمض النووي الريبوزي الريبوسومي، التي توجد في مقاطع متكررة تكررًا ترادفيًا لم تُكتشف بناها الدقيقة إلى الآن. ويقع بالقرب من القسيمات المركزية أجزاء كبيرة أخرى غير مُحَدّد تسلسلها مكوّنة من عدة كروموسومات (ارجع للشكلين ١-٢ و ٤-١)، وهذه تمثل مناطق جينومية مهمة لتقسيم الكروموسومات إلى خلايا ابنة أثناء عملية انقسام الخلية. وتتناثر أجزاء جينومية مختلفة أصغر حجمًا وغير مُحَدّد تسلسلها عبر الكروموسومات الجسدية الاثنتين والعشرين والكروموسومين الجنسيين. وعمومًا، تتميز مثل هذه المناطق بوجود تسلسلات متكررة من الحمض النووي، وتحتوي على قلة من الجينات أو تخلو منها أصلًا. وتوجد أجزاء صغيرة من الجينوم حُدّد تسلسلها، لكنها، لأسباب مختلفة، لم تُربط بكروموسوم معين. وفي عام ٢٠١٥، استفاد الباحثون من القراءات الطويلة التي أنتجها

جهاز باسبيو الذي يستطيع تحديد تسلسلات جزيئات مفردة من أجل استكشاف بنية أكثر من ٥٠ في المائة من الفجوات المتبقية في الجينوم المرجعي (علمًا بأن التسلسل المستمد من المشروع الذي نُفذ بتمويل حكومي هو المرجع الذي عادةً ما تُقارَن به الجينومات الأخرى). ولكن بعد أكثر من خمسة عشر عامًا، ما زالت توجد مناطق عديدة من الجينوم البشري غير مرتّبة وغير مُحدّد تسلسلها.

الجينوم الميتوكوندري البشري

سهلٌ أن ننسى أن كل واحد منا لديه جينومان. إذ كنا منهَمكين في الحديث عن الحمض النووي الموجود في نواة الخلية، لكن الميتوكوندريا الموجودة لدينا أيضًا تحتوي على حمض نووي. تُعد الميتوكوندريا حُجيرات مهمة مُحاطة بغشاء مزدوج، وأشهر وظائفها إنتاج مُركّب أدينوسين ثلاثي الفوسفات، الذي يُعد بمثابة عملة الطاقة للخلية. إذ يُستخدم الأدينوسين الثلاثي الفوسفات لتوفير الطاقة للتفاعلات الكيميائية في جميع أنواع الخلايا المختلفة لدينا، بل في كل أشكال الحياة الخلوية. وقد تطورت الميتوكوندريا من بكتيريا كانت غير طفيلية عن طريق التكافل الداخلي (انظر الفصل الخامس). ومن الواضح جدًّا أن جينات الميتوكوندريا لدى كل الكائنات الحية الحقيقية النواة، بما في ذلك البشر، تتشابه تشابهًا شديدًا مع تلك الموجودة لدى طائفة معينة من البكتيريا تُسمى متقلبات ألفا.

يتكون الجينوم الميتوكوندري البشري من جزيء حلقي يبلغ حجمه ١٦٥٦٩ زوجًا قاعديًا (ارجع للشكل ٤-١)، ولا يحتوي إلا على ثلاثة عشر جينًا مُشفّرًا للبروتين، واثنين من جينات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي، واثنين وعشرين جينًا لجزيئات الحمض النووي الريبوزي الناقل التي تنقل الأحماض الأمينية إلى الريبوسوم أثناء تخليق البروتين. وتجدر الإشارة إلى أن معظم الجينات التي تُشفّر البروتينات اللازمة لاحتفاظ الميتوكوندريا بفاعليتها، والبالغ عددها أكثر من ألف بروتين توجد في الجينوم النووي. وتُترجم هذه البروتينات في سيتوبلازم الخلية، وتوجّه إلى العضية بعد تصنيعها. ومن منظور طبي حيوي، ثُبِت ارتباط عدد متزايد من الأمراض بحدوث طفرات في الجينات الميتوكوندريّة والجينات النووية المُشفّرة للبروتينات الميتوكوندريّة. وتختلف أنماط وراثة هذه الطفرات بناءً على موقع الجين. وذلك لأن الميتوكوندريا والحمض النووي الميتوكوندري لدى البشر والعديد من الحيوانات الأخرى لا ينتقلان إلى النسل إلا من أمهاتهم. وتعني هذه العملية

التي تُسمَّى «الوراثة الأمومية» أنَّ الذكور لا يورثون طفرات الحمض النووي الميتوكوندري إلى أطفالهم. أمَّا الطفرات الحادثة في الجينات النووية التي تُشفَّر البروتينات الميتوكوندريّة، فيمكن أن تُورث من أيٍّ من الوالدين بطريقة الوراثة المندلية القياسية. وكما سنرى في الفصل الخامس، ثبت أنَّ الخصائص التي تميز الحمض النووي الميتوكوندري مفيدة في مجالات علمية متنوعة، من بينها علم الأدلة الجنائية، وعلم الأنساب، ودراسة أنماط الهجرة البشرية.

كم عدد الجينات؟

تُعدُّ مسألة عدد الجينات الموجودة في جينوماتنا النووية محل جدال مستمر. فقد ثبت أنَّ التوقعات الأولى التي تراوحت بين ٤٠ ألف و ١٠٠ ألف جين مُشفَّر للبروتين أكبر بكثير من العدد الفعلي. إذ تنبأ مشروعا الجينوم البشري الخاص (أي: مشروع فينتر) والحكومي، بناءً على التسلسلين الجديدين المُحسَّنين اللذين نشرهما في عام ٢٠٠٣، بوجود حوالي ٢٦ ألف و ٣٠ ألف جين على التوالي. ولكن حتى وقت كتابة هذه السطور، يبلغ عدد الجينات البشرية المُشفَّرة للبروتين الموضَّحة تفصيلها في قواعد البيانات العامة أكثر بقليل من ٢٠ ألف جين، بينما اقترحت دراسة قائمة على علم البروتيوم في عام ٢٠١٤ أنَّ العدد الحقيقي للجينات قد يكون قليلاً إلى حدٍّ يبلغ حوالي ١٩ ألفاً. ولا تشمل هذه التقديرات معظم الجينات الزائفة في الجينوم التي يتوقَّع أن عددها حوالي ١٣ ألفاً (وتلك الجينات هي التي تُبُطت بسبب حدوث طفرات). يُعتبر العديد من الجينات الزائفة نتاج تضاعف الجينات؛ ففي بعض أكبر العائلات المتعددة الجينات، يصنَّف أكثر من نصف الجينات بأنها جينات زائفة. وكذلك لا تشمل هذه الأرقام التقديرية عدداً لا حصر له من جينات الأحماض النووية الريبوزية غير المُشفَّرة التي اكتُشفت حديثاً، والتي كان يتوقَّع في البداية أن كثيراً منها مُشفَّر للبروتين.

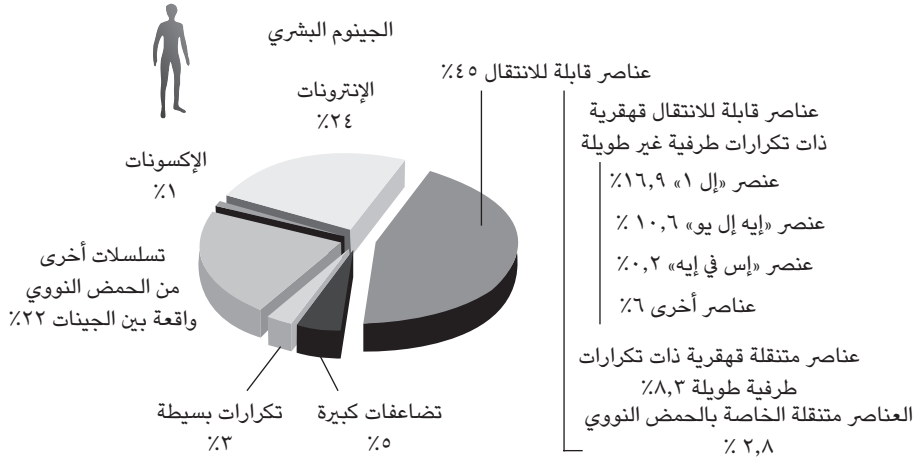
ومن المؤكَّد أنَّ المستقبل سيشهد اكتشاف جينات جديدة مُشفَّرة للبروتينات كلما أضيفت تحسينات على الجينوم البشري المرجعي، ومع ظهور إجماع على الخوارزميات الأدق في اكتشاف الجينات. وستُحذف جينات أخرى من القائمة باعتبارها نتائج إيجابية زائفة. ولكن بغض النظر عن العدد الدقيق للجينات، فإنَّ عدد جيناتنا يُقارب عدد جينات العديد من الكائنات الحية الأخرى «الأبسط» مثل ذباب الفاكهة (التي يبلغ عدد جيناته ١٤ ألف جين تقريباً)، والديدان الخيطية (حوالي ٢٠ ألف جين)، ونبات الأرابيدوبسيس

الذي يعد فأر التجارب النباتي (حوالي ٢٦ ألف جين). ماذا علينا أن نفهم من هذا؟ مع أنَّ عدد جينات البشر يبلغ حوالي ٢٠ ألف جين فقط، تشير الأبحاث إلى أن الجسم البشري مؤلَّف من ١٠٠ ألف بروتين مختلف على الأقل. وهذا يعني أن كل جين من جيناتنا، في المتوسط، قادر على تخليق بروتينات متعددة ومختلفة من حيث الوظيفة عن طريق عملية التضفير البديل. وكثيراً ما يُعبَّر عن هذه البروتينات المختلفة في أنسجة مختلفة، وهذا نتيجة لعوامل التضفير الخاص بالأنسجة، التي توجَّه آلية التضفير إلى إنتاج جزيئات حمض نووي ريبوزي مرسل مختلفة بخلط إكسونات مختلفة معاً (ارجع للشكل ٣-٢). ومن ثَمَّ، يساعد التضفير البديل في تفسير كيفية تفاوت درجة «التعقيد» تفاوتاً كبيراً بين بعض الكائنات الحيَّة ذات الأعداد المتشابهة من الجينات.

الجينات القافزة والحمض النووي «القديم الفائدة»

إحدى السمات اللافتة حقاً في الجينوم البشري هي قلة عدد الجينات التي تتضح «فائدتها» بالفعل. فهي لا تمثل إلا ١ في المائة تقريباً من الشفرات الجينومية المُشفرة للبروتين؛ إذ يتألَّف ربع الجينوم تقريباً من إنترونات (وهي التسلسلات التي تفصل بين الإكسونات المُشفرة للبروتين وتُزال من الحمض النووي الريبوزي المرسل قبل بدء عملية الترجمة) (انظر الشكل ٤-٢). ويتكوَّن تقريباً نصف الجينوم البشري من عناصر قابلة للانتقال. ويشار إلى هذه العناصر الجينية أحياناً باسم «الجينات القافزة»، وذلك لسبب وجيه؛ فهي تسلسلات من الحمض النووي يمكنها أن تغيَّر موقعها. وتُعد العناصر القابلة للانتقال القهقرية هي الفئة الأوفر بين فئات العناصر القابلة للانتقال في الجينوم البشري. تتضاعف العناصر القهقرية عبر آلية «نسخ ولصق»، حيث تُنسخ إلى حمض نووي ريبوزي، ثم تُنسخ عكسياً إلى الحمض النووي، ثم تُدمج في مكان جديد في الجينوم. صحيح أنَّ كثيراً من العناصر القابلة للانتقال القهقرية الموجودة في جينوماتنا تُعد خاملة أو في طريقها إلى الخمول؛ لأنَّ تسلسلاتها التي تغيَّرت بالطفرات لم تعد قادرة على الحركة، وتتلأش في الخلفية الجينومية. ولكن توجد عناصر قابلة للانتقال قهقرية أخرى نشطة وأخذة في الانتشار بسرعة. ومن أبرز أنواع العناصر القابلة للانتقال القهقرية «إيه إل يو»، وهو عنصر قصير موجود في أكثر من مليون نسخة متناثرة عبر كروموسوماتنا (علماً بأنَّ هذا العنصر المفرد القابل للانتقال الذي يبلغ طوله ٣٠٠ زوج قاعدي يُشكِّل حوالي ١١ في المائة من الجينوم بأكمله). وقد كشفت دراسات علم الجينوم المقارن أن

علم الجينوم



شكل ٤-٢: تركيب الجينوم البشري. موضح الفئات المختلفة للعناصر الجينية القابلة للانتقال.

نشأة عنصر «إيه إل يو» نتجت من اندماج قطعتين من أحد جينات الحمض النووي الريبوزي الصغيرة منذ حوالي ٦٥ مليون سنة؛ ومنذ ذلك الحين، أخذت تتكاثر داخل جينومات الثدييات. من الواضح أن عناصر قابلة للانتقال قهقرية أخرى، مثل «إل ١»، قد تطورت من فيروسات قهقرية، وهي فيروسات خاصة تقضي جزءاً من «حياتها» مدمجة في جينوم الكائن المضيف لها. وتشكل التسلسلات الفيروسية القهقرية حوالي ٨ في المائة من الجينوم البشري.

وإجمالاً، يمكن اعتبار العناصر القابلة للانتقال عناصر وراثية «أناية»؛ فهي تنتشر بمجرد أنها قادرة على الانتشار، مفترضةً بذلك أنها لا تتأثر كاهل مضعفها؛ وبذلك ستستمر في التكاثر. وقد ثبت أن عدداً متزايداً من إضافات العناصر القابلة للانتقال القهقرية المدمجة من جديد مسئولٌ عن بعض الأمراض التي تصيب الإنسان. فعلى سبيل المثال، رُبطت إضافات عناصر «إيه إي يو» بأنواع معينة من الهيموفيليا، وسرطان القولون والمستقيم، وسرطان الثدي، وسرطان الدم، والتليف الكيسي. وثبت أن حالات الانتقال القهقري للعنصر «إل ١» تتسبب في الإصابة بسرطان القولون، والحثل العضلي الدوشيني المرتبط بالكروموسوم إكس. وفي بعض الحالات، تنبع المشكلة من أن العنصر القابل للانتقال دمج نفسه مباشرة في جين مُشفّر للبروتين، فأعاق بذلك قدرته على إنتاج بروتين

وظيفي نشط. وفي حالات أخرى، يدخل العنصر في حمض نووي «منظم» غير مشفر؛ وبذلك يُعدّل عملية التعبير عن جينات قريبة بالغة الأهمية. وبينما يظل كثير من الأمور المتعلقة بالعناصر القابلة للانتقال مجهولاً، فمن الواضح أن أنشطتها قد أثّرت — ولا تزال تؤثر — في بيولوجيا البشر والرئيسيات الأخرى.

وفي عام ٢٠٠٣، أطلق المعهد الوطني الأمريكي لأبحاث الجينوم البشري مشروع موسوعة عناصر الحمض النووي (إنكود). صحيح أن هدفه على الورق كان بسيطاً، وهو تحديد جميع العناصر الوظيفية في الجينوم البشري. ولكن عملياً، تضمن ذلك استخدام مجموعة من النهج التجريبية والمعلوماتية الحيوية لمحاولة تحسين فهم أجزاء الجينوم غير المشفرة للبروتين. وبعد خضوع المشروع لعدة تحسينات متكررة، قاد إلى اكتشاف عدة آلاف من جزيئات افترض أنها جينات صغيرة من الحمض النووي الريبوزي تختبئ ضمن ما كان يُعتبر حمضاً نووياً غير مشفر. وصحيح أن أغلب هذه الجينات الصغيرة لم يُتحقق منها بالتجربة بعد، ولكن تبين أن بعضها يُنظم التعبير عن الجينات المشفرة للبروتين.

وتجدر الإشارة إلى أن الادعاء الأعم والأكثر إثارة للجدل الذي خرج به مشروع إنكود هو أن ٨٠ في المائة أو أكثر من الجينوم البشري له وظيفة كيميائية حيوية. واستند هذا الادعاء إلى ملاحظة أن حوالي ٨٠ في المائة من الجينوم يُظهر دليلاً على أنه نُسخ إلى حمض نووي ريبوزي، أو أنه مرتبط ببروتينات، أو موجود داخل كروماتين مُعدّل تعديلاً خاصاً. وقد وُصفت النتائج (خصوصاً في وسائل الإعلام) بأنها بمثابة شهادة وفاة مصطلح الحمض النووي «القديم الفائدة»، ذاك المصطلح المُحمّل بمعانٍ ضمنية الذي لطالما استخدم لوصف الجزء الكبير من الجينوم البشري (وجينومات العديد من حقيقيات النواة الأخرى) الذي ليس له وظيفة معروفة. ومن الواضح أن جزءاً كبيراً مما يُعتبر في العموم حمضاً نووياً عديم الفائدة مستمد من الانتشار الأثاني للعناصر القابلة للانتقال؛ فالنسبة البالغة ٤٥ في المائة الموضحة سابقاً (ارجع للشكل ٤-٢) لا تشمل إلا تلك التي يمكن اكتشافها عن طريق تشابهات التسلسلات (أي: إن النسبة الحقيقية ربما تكون أعلى من ذلك بكثير). وكذلك أظهرت أبحاث أنه يمكن التعبير عن جينات زائفة غير وظيفية. لذا فإن ادعاءات مشروع إنكود أثارت غضب عدد ليس بقليل من علماء الجينوم المؤمنين بنظرية التطور الذين يعترضون على عدة أمور، من بينها استخدام المشروع لمصطلح «الوظيفة». وبالرغم من غموض مفهوم الوظيفة البيولوجية،

فإنه محوري لتعريف الجين، الذي يتطور هو نفسه باستمرار. ومن المؤكد أنَّ الجدل سيتواصل بينما يستمر العلماء في فكِّ تعقيدات الأجزاء غير المشفرة من جينومنا.

خريطة الهاب ماب المؤدية إلى الطب المشخص

كان الهدف الرئيسي الذي يسعى إليه مشروع الجينوم البشري منذ بدايته هو إحداث تغيير فارق في الأبحاث الطبية الحيوية، وفي ممارسة الطب نفسها في النهاية. ومن أجل ذلك، أنشئ مشروع هاب ماب الدولي استنادًا إلى الجينوم البشري المرجعي ليكون نظامًا لتحديد المتغيرات الجينية البشرية المرتبطة بالصحة والمرض. وكان السبيل إلى تحقيق ذلك هو إنشاء ما يُسمَّى «خريطة النمط الفردي». والنمط الفردي هو مجموعة تسلسلات محددة من الحمض النووي مورثة كوحدة. وبمعاينة التنوع الجيني عبر مجموعات سكانية مختلفة من البشر، يمكن تمييز الأنماط الشائعة لتباين تسلسلات الحمض النووي. ويمكن استخدام هذه المعلومات لتحسين فاعلية دراسات الارتباط على مستوى الجينوم بالكامل التي تُستخدم لتحديد الارتباطات بين الأشكال المتعددة للنيوكليوتيدات المفردة والسمات البشرية، شاملة كل شيء من طول القامة ولون الشعر إلى ارتفاع ضغط الدم ولزوجة قوام شمع الأذن. تُعرَّف الأشكال المتعددة للنيوكليوتيدات المفردة بأنها تغيّرات في موضع نيوكليوتيدة مفردة لدى أكثر من ١ في المائة من السكان. ويؤدي العديد من الأشكال المتعددة للنيوكليوتيدات المفردة إلى حدوث تغيّرات في تسلسل بروتين ما، لكن أغلبها لا يؤدي إلى ذلك.

بدأ مشروع هاب ماب في عام ٢٠٠٣ قبل ظهور الجيل الثاني من تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي. لذا كان المشروع متواضعًا من حيث عدد الأشخاص الخاضعين للدراسة (كان عددهم في البداية حوالي ٢٧٠ فردًا) وحجم البيانات المُجمَّعة (استُخدمت مصفوفات التنميط الجيني القائمة على التهجين بدلًا من التحديد الفعلي لتسلسل الحمض النووي). ومع التقدمات التكنولوجية، تحسّنت كثافة بيانات الخريطة والفائدة العائدة منها تحسُّنًا هائلًا. فجرى التعرُّف على مئات الآلاف من الأشكال المتعددة من النيوكليوتيدات المفردة، ورُبط ما يزيد على الألف منها بأنماط ظاهرية محددة لبعض الأمراض. وهكذا فإنَّ دراسات الارتباط على مستوى الجينوم بالكامل قد منحت الباحثين في مجال الطب الحيوي أساسًا أقوى يركزون عليه للتوصل إلى الأسس الوراثية لأمراض مثل فقر الدم المنجلي، والتليف الكيسي، وبعض أنواع السرطان القابلة للانتقال بالوراثة.

لكن هذه الدراسات لها عيوبها أيضًا. صحيح أنها مفيدة في تحديد «الارتباطات بين» تباين تسلسلات الحمض النووي والأمراض، لكنها بحد ذاتها لا تستطيع تحديد «السبب». ويعتمد نجاح مثل هذه الدراسات على نوعية مُصمَّمة تصميمًا ملائمًا من أنظمة أخذ العينات تشمل أعدادًا غفيرة من الأفراد في المجموعة المتأثرة بالمرض والمجموعة الضابطة كليهما. وبوجهٍ أعم، تعرَّضت تلك الدراسات لانتقادات بسبب تركيزها المبالغ فيه على الجوانب الجينية للصحة والمرض، واستهانتها في خضم ذلك بأهمية عوامل أخرى مثل النظام الغذائي والبيئة.

جينومات بالآلاف

مع أنَّ هذا قد يبدو غريبًا، لم يعد ممكنًا تحديد عدد الجينومات البشرية التي حُدِّد تسلسلها. وفي الوقت الحالي، فالاستراتيجية المُفضَّلة هي إعادة تحديد تسلسل الجينوم الكامل (ارجع للفصل الثالث)، بحيث تتضمن ربط بيانات التسلسل المستمدة من تقنيات الجيل الثاني بمواضعها في الجينوم المرجعي. وقد أسفرت عن نتائج باهرة. إذ نجح اتحاد مشروع الألف جينوم (الذي يُعبَّر اسمه عنه تعبيرًا مناسبًا) والمُختتم مؤخرًا في وضع قائمة بحوالي ٨٥ مليون شكل متعدد من أشكال النيوكليوتيدات المفردة، و٣,٦ ملايين طفرة قصيرة من طفرات الإضافة أو الحذف، و٦٠ ألف متغاير بنيوي أكبر في إطار عملية عالمية لأخذ عينات مُعبَّرة عن التنوع الجيني البشري. وهذه البيانات تُحفِّز الأبحاث بطرق متوقَّعة وغير متوقَّعة. فبخلاف أنها تتيح مصدرًا غنيًا بالبيانات تستفيد منه دراسات على شاكلة دراسات الارتباط التي تركز على الأمراض، يستخدمها العلماء أيضًا للتعرف على نظامنا البيولوجي الأساسي، بعدما فوجئوا بصعوبة تحقيق ذلك حينما لم يكن متوفرًا سوى زوج من الجينومات. ومن الأمثلة على ذلك أنَّ إحدى دراسات الارتباط الأخيرة، التي استفادت من بيانات مشروع الألف جينوم، نجحت في التعرف على عشرة جينات مرتبطة بنمو الكلى ووظيفتها، وهي جينات لم تُربط سابقًا بهذا الجانب البالغ الأهمية من وظائف الأعضاء البشرية.

وفي عام ٢٠١٦، أعلن فريق كريج فينتر تحديد تسلسل ١٠٥٤٥ جينومًا بشريًا. وبالإضافة إلى أنَّ تكلفة تلك الدراسة كانت منخفضة إلى حدٍّ باهر (إذ تراوحت بين ألف وألفي دولار أمريكي لكل جينوم)، وجودتها كانت عالية (إذ تراوح معدل التغطية بين حوالي ٣٠ و٤٠ مرة)، فإنها كانت مهمة في التلميح إلى أعماق تنوع الجينوم البشري التي

لم تُكتشف بعد. إذ جرى تحديد أكثر من ١٥٠ مليون مُتغايِر جيني في المناطق المُشفَّرة وغير المُشفَّرة من الجينوم على حدٍّ سواء، علماً بأنَّ كل جينوم مُحدّد التسلسل كان يتضمّن ٨٦٠٠ متغايِر جديد في المتوسط. وعلاوةً على ذلك، اكتُشف أنَّ كل جينوم جديد يحتوي على تسلسل طوله ٠,٧ مليون زوج قاعدي ليس موجوداً في الجينوم المرجعي. وهذا يؤكّد الحاجة إلى ابتكار طُرُق في مجال اكتشاف التباينات البنيوية في بيانات الجينوم الشخصية. ولكن إجمالاً، خلص المشاركون في وضع الدراسة إلى أن «البيانات المولّدة من التحديد العميق لتسلسل الجينوم تتَّسم بالجودة اللازمة لاستخدامها في أغراض إكلينيكية».

وحتى الوقت الذي نُخط فيه تلك السطور، يُطلِعي شريط المستجَدّات في الموقع الإلكتروني لمشروع المائة ألف جينوم البريطاني بأنهم قد حدّدوا تسلسل ٣٩٥٤٠ جينوماً بشرياً (سأعود لأتحقّق مرة أخرى في غضون ساعة تحسُّباً لأن يكون العدد قد زاد). وتهدف هذه المبادرة الطموحة المولّدة من الحكومة إلى تحديد تسلسل جينومات المرضى التابعين لهيئة الخدمات الصحية الوطنية، مع إيلاء تركيز خاص على الأمراض النادرة والمُعديّة وأنواع معينة من السرطان. ويوجد اتفاق واسع النطاق على أنَّ تشخيص السرطان وعلاجه هما أكثر جانبين سيستفيدان من تحديد تسلسل الجينوم، من بين جميع الأمراض التي تصيب الإنسان.

علم الجينوم السرطاني

من الشائع اعتبار السرطان مرضاً واحداً، لكنه في الحقيقة مجموعة من الأمراض تتميز بالنمو الجامح للخلايا، وغزو الخلايا السرطانية للأنسجة، والانبثاث (أي: الانتشار). وقد استطاع الباحثون تعريف مئات الأنواع المختلفة من السرطانات والأورام، التي يتضح أنَّ الغالبية العظمى منها تتضمن وجود تعديلات في الحمض النووي. إذ يمكن للطفرات المتوارثة الموجودة من قبل أن تجعل الأفراد عُرضة للإصابة بالسرطان، لكن معظم السرطانات تنشأ من تراكم طفرات وتغيّرات جينومية أخرى على مدار حياة الفرد. ولهذه الأسباب، تؤثر أبحاث الجينوم تأثيراً عميقاً في فهمنا للأسس الجينية والكيميائية الحيوية والبيولوجية لخلايا السرطان، وكيفية اكتشافه وعلاجه.

يوجد نوعان أساسيان من الجينات يُسهمان في الإصابة بالسرطان وتطوره. أحدهما هو الجينات المثبّطة للأورام؛ وتلك هي التي، حينما تُعدّل بفعل طفرة معينة أو تصبح خاملة، تؤدي إلى النمو الجامح للخلايا. وكثيراً ما تعمل تلك الجينات المثبّطة للأورام، مثل

الجين المشفر لبروتين يُسمَّى «بي ٥٣»، على تشفير بعض عوامل النسخ (أي: البروتينات التي تتمثل وظيفتها في تنظيم التعبير الجيني). وتُعد عوامل النسخ «مراكز» جزيئية؛ فالطفرات التي تُنشطها أو تُثبطها لها تأثيرات بعيدة المدى بفعل تعديل التعبير عن جينات أخرى، الذي قد يؤدي بدوره إلى حدوث مزيد من الاختلالات في الخلايا. هذا وقد وُصف بروتين الأورام «بي ٥٣» بأنه «حارس الجينوم»؛ إذ إنَّ حوالي ٥٠ في المائة من السرطانات المعروفة تتضمن حدوث طفرة في الجين «بي ٥٣» (أو بعض الاختلالات غير المباشرة في الوظيفة الطبيعية للبروتين «بي ٥٣»). أمَّا النوع الثاني، فهو الجينات الورمية الأولية، وهذه هي الجينات التي لا تؤدي نواتجها البروتينية إلى تطوُّر السرطان إلا حينما تنشط نشاطاً مُفرطاً؛ فهي عادةً ما تنتمي إلى المسارات الكيميائية الحيوية المشاركة في عملية انقسام الخلية. وعلى غرار الجينات المثبطة للأورام، فإن الجينات الورمية الأولية جينات «طبيعية». ولا تصبح جينات ورمية إلا إذا عدلتها طفرة على نحوٍ يؤدي إلى التكاثر الجامح للخلايا.

وليس شرطاً أن تحدث الطفرات المرتبطة بالسرطان داخل تسلسلات جينية. فلأنَّ المناطق غير المشفرة يُمكن أن تكون مهمة في تنظيم التعبير عن الجينات المحيطة بها، فإنَّ الطفرات أو تغيرات الإضافة أو الحذف التي تحدث لمثل هذه التسلسلات «المنظمة» يُمكن أن تُسهم في الإصابة بالسرطان. وكذلك تنطوي الإصابة بالسرطان على حدوث تغيرات جينومية تؤثر في كيفية تفاعل الخلية مع ما يحيط بها. وهذا يشمل التهزُّب من الجهاز المناعي، وتحسين تدفق الدم إلى الورم (وهو ما يُساعد على نموه إلى حجم أكبر)، وتزايد احتمالية غزو الخلايا السرطانية للأنسجة وانتشار الورم. وقد بدأت بعض التحليلات التي تُحلَّل أنواعاً متنوعةً من الأورام على نطاق الجينوم بالكامل تُسلط الضوء على كيفية إثارة هذه الأحداث.

وكان من الأبحاث الفارقة مشروع أطلس الجينومات السرطانية الذي اكتمل مؤخراً. فعلى مرَّ ثمانين سنة بدأت من عام ٢٠٠٣، طرح المشروع تحليلات لجينومات حوالي ١٠ آلاف ورم، واضعاً بذلك أساساً مهماً لعمليات التطوير المستقبلي في هذا المجال. وبعدئذٍ ظهر فهمٌ عميق لأصول السرطان نتيجة تحديد تسلسل عدة مئات من جينومات الأورام من جديد. وبات واضحاً الآن وجود حوالي ١٤٠ جيناً بشرياً يُمكن، إذا تغيَّرت بفعل طفرة ما، أن تُحفز نمو الأورام. ويحتوي أيُّ ورم معين على عدد يتراوح بين اثنتين وثمانٍ من هذه الطفرات التي يُطلَق عليها الطفرات «السائقة» — وكلُّ منها يؤثر بطريقة ما في

نمو الخلية أو بقائها حية أو الحفاظ على سلامة الجينوم — بالإضافة إلى عدد يتراوح بين عشرات وآلاف التغيرات الإضافية في النيوكليوتيدات المفردة (التي تُسمَّى الطفرات «الراكبة») وطفرات بالإضافة أو الحذف الصغيرة.

وقد تبين كذلك أنَّ بعض التغيرات الجينومية الأشد جذريَّةً تؤدي أدوارًا مهمة في السرطان. ومن الأمثلة البارزة على ذلك جينوم «هيلا». كان جينوم هيلا هو أول خط خلايا بشرية تُستَنتب له مزرعة دائمة؛ ويشير اسمه إلى هنريتا لاكس، المريضة الأمريكية التي استُخرجت منها الخلايا الأصلية (دون موافقتها)، وتُوفيت على إثر إصابتها بسرطان عنق الرحم في عام ١٩٥١. ونظرًا إلى خلود خلايا هيلا، ظلت دعامة أساسية لأبحاث علم الأحياء الجزيئي والخلوي طوال عقود عديدة.

ويتميز جينوم هيلا بأنه يحتوي، بالنسبة إلى الجينوم المرجعي، على حوالي ١,٧ مليون متغاير من متغايرات النيوكليوتيدات المفردة، وحوالي ٧٥٠ طفرة كبيرة من طفرات الحذف، وعدد هائل من التغيرات المتمثلة في إعادة ترتيب الكروموسومات وتضاعفها. وتجدر الإشارة إلى أنَّ الكثير من التغيرات التي رُصدت في خلايا هيلا، وتحديدًا التغيرات التي شملت الكروموسوم ١١، رُصدت أيضًا في بعض سرطانات عنق الرحم الأخرى، وكذلك سرطان الثدي وسرطانات البلعوم الأنفي والرأس والرقبة. ويتمثل شذوذ خلايا هيلا في وجود ثلاث أو أربع نُسخ من بعض الكروموسومات في كل خلية (أي: ما يتراوح بين ستة وسبعين وثمانين كروموسومًا في كل خلية إجمالًا).

ولا عجب في أنَّ أبحاث علم الترانسكريبتوم أظهرت كذلك أنَّ أنماط التعبير الجيني في خلايا هيلا تختلف بشدة عن خلايا الأنسجة الطبيعية، وهي حقيقة قد تعقد تفسير نتائج البحث المستمدة من استخدام خلايا هيلا كخط خلايا نموذجي. وليس واضحًا كم تعديل جينومي من بين هذه التعديلات قد نشأ من الورم الأصلي أو حدث خلال السنوات الكثيرة التي زُرعت فيها خلايا هيلا في مختبراتٍ في أنحاء العالم. ولا يبدو واضحًا في كثير من الحالات مدى الدور الذي تؤديه تغيرات إعادة ترتيب الكروموسومات وتضاعفها في نمو الخلايا السرطانية وتطورها (بدلاً من أن تكون نتيجة لذلك).

ومع ذلك، أكد تحديد تسلسل الجينوم ما كان الأطباء الإكلينيكيون يظنونونه منذ فترة طويلة، ألا وهو أنَّ الأورام تتطور. إذ تمكَّن الباحثون باستخدام أحدث التقنيات من «إعادة تشغيل شريط» تطور السرطان، بدءًا من المرحلة التي يكون فيها نسيجًا طبيعيًا ثم تحوله إلى ورم أولي، وصولًا إلى مرحلة انتشاره. وقد أدى ذلك إلى استنتاجات غير

متوقعة، من بينها حقيقة أنَّ السرطانات المنتشرة يمكن أن تنشأ من عدة سلالات خلوية سرطانية مختلفة داخل ورمٍ أولي. وهذا يتعارض مع وجهة النظر التقليدية القائلة بأن تطور السرطان عملية خطية تحدث فيها طفرات جديدة بناءً على طفرات موجودة من قبل.

وتُعد الغاية النهائية التي يرمي إليها علم الجينوم السرطاني هي منح الأطباء القدرة على تخصيص نظام لعلاج المريض ليس بما يتوافق مع نوع السرطان فحسب، وإنما أيضاً مع إجمالي مجموعة الطفرات التي يُظهرها الورم المحدد لدى المريض. وسوف يستلزم تحقيق هذه الغاية إحراز خطوات متقدمة في عدة جبهات، أهمها التوصل إلى فهم أدق بكثير فيما يخص نسب إسهامات الطفرات «السائقة» و«الراكبة» في تطور السرطان. ولكن في الوقت الحالي، ما زالت كفاءة تقنيات تحديد التسلسل غير كافية لاكتشاف كل الطفرات بدقة وسرعة، وحتى لو استطعنا تحقيق ذلك، فنحن لا نعرف في معظم الحالات كيفية استخدام البيانات لاتخاذ قرارات متبصرة بشأن العلاج. ومن المشكلات المرتبطة بهذا السياق أنَّ الأورام تكون متباينة في كثير جداً من الأحيان، وأنَّ الجينومات التي نحدد تسلسلها من هذه الأورام عبارة عن مزيج مختلط من جميع الجينومات الموجودة في العينة، شاملةً الطفرات. وهنا يتيح استخدام التقنيات الترانسكريبتومية والجينومية القائمة على الخلايا المفردة فرصاً جديدة لنا (انظر الفصل السادس). وتُعد الآفاق أكثر إشراقاً في حالة السرطانات المنتقلة بالوراثة، على الأقل بقدر ما يُمكن أن يُسهِم تحديد تسلسل الجينوم الشخصي في الفحص والتشخيص.

الفصل الخامس

علم الجينوم التطوري

يُرد في المعاجم أنَّ تعريف «الطرّس» هو «مخطوطة أو قرطاس تُسطر عليه كتابات لاحقة فوق كتابات سابقة مطموسة». وهكذا فإنَّ الجينوم يُشبه الطرّس كثيرًا؛ إذ يمكن أن يُرى أسفل النص الحالي آثار متبقية من إسهامات سابقة من «مؤلفين» مختلفين في أزمنة مختلفة. ومع أننا قد ندّعي، بناءً على أسس عقلانية مقبولة، أننا ننتقن لغة الجينوم، فإننا ما زلنا نتعلم كيف نفهم ما يريد أن يخبرنا به تسلسل الجينوم. والطرّس الجينومي يمنحنا نافذة على تطور الحياة لا يمكن أن تفتحها أي وسيلة بحثية أخرى، وقد نضج مجال علم الجينوم المقارن لدرجة أننا أصبحنا نملك فهمًا عميقًا لبعض أهم المسائل الأساسية في علم الأحياء. دعونا نستكشف بعض الأمثلة، بدءًا من الوقت الحالي وبالعودة إلى وقت أسبق في زمن التطور.

الجزئيات بمثابة ساعات

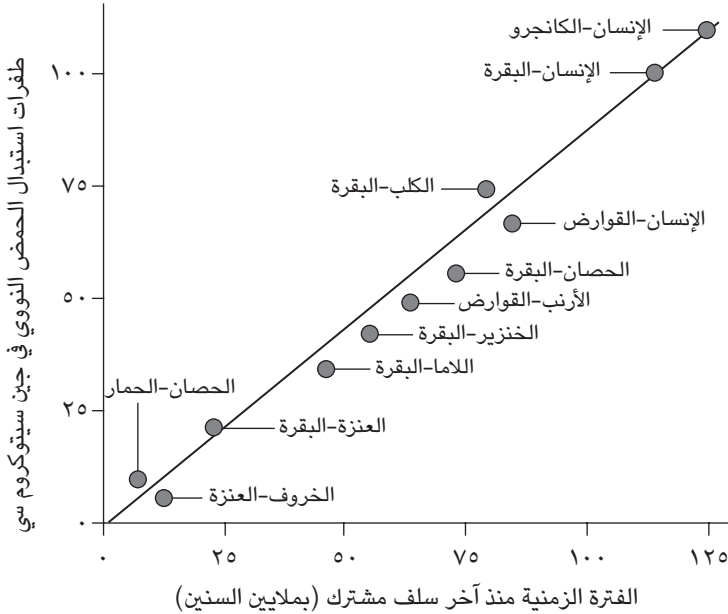
تُعَد فكرة استخدام الجزئيات أدواتٍ لتتبع تاريخ التطور قائمةً منذ وقت طويل، أطول في الواقع من وقت استخدام تقنيات تحديد تسلسل الحمض النووي. ففي عام ١٩٥٨، وضع فرانسيس كريك (المشهور باكتشاف البنية اللولبية المزدوجة للحمض النووي) تصورًا لتخصيص أسماء علم تصنيف البروتين:

هو معنى بدراسة تسلسلات الأحماض الأمينية المكوّنة لبروتينات أحد الكائنات الحية ومقارنتها فيما بين أنواع الكائنات الأخرى. ويمكن القول إنَّ هذه التسلسلات هي أدق تعبير عن النمط الظاهري للكائن الحي، وإنها قد تخفي داخلها كميات هائلة من المعلومات عن التطور.

تُمثِّل هذه الكلمات التنبُّئية جوهر المجال الذي يُعرف اليوم بالتطور الجزيئي. وفي أوائل الدراسات التي أُجريت على الهيموجلوبين، أي: البروتين المسئول عن نقل الأكسجين والموجود في خلايا الدم الحمراء لدى الفقاريات، لاحظ لينوس بولينج وإميل زوكركاندل أنَّ تباعد التسلسلات يزداد زيادةً خطيةً مع التباعد التطوري. بمعنى أنه كلما كانت الصلة أبعد بين كائنين (كما يُستنتج من السجل الحفري)، زاد عدد الاختلافات الملاحظة عند محاذاة سلاسل أحماضهما الأمينية بعضها بجوار بعض. وقد لوحظ النمط نفسه في بروتينات أخرى مثل بروتين السيتركروم سي في الميتوكوندريا (انظر الشكل ١-٥)، وهو ما يزيد من إمكانية استخدام مثل هذه البيانات للتنبؤ بأوقات حدوث التباعد التطوري بين كائنات حية حُدِّد تسلسل بروتيناتها بالفعل لكن العلاقة التطورية بينها غير واضحة. مع مرور الوقت، بات جلياً أن بعض البروتينات المختلفة كانت لها معدلات تطورية مختلفة، لكنَّ معدل تغَيُّر بروتين معين كان شَبه ثابت على مر الزمن. وهذا هو ما يُطلق عليه «الساعة الجزيئية»، وهو مفهوم أساسي يستند عليه البحث الجينومي المقارن الحديث. ويمكن استنتاج الساعات الجزيئية باستخدام كلٍّ من تسلسل البروتينات (الأحماض الأمينية) وتسلسل الحمض النووي (النيوكليوتيدات)، غير أن «دَقَّات» ساعة التسلسل الأخير أسرع من ساعة التسلسل الأول. ويُعد المعدل الذي تتغير به تسلسلات الحمض النووي غير المشفرة، مثل الإنترونات والمناطق الواقعة بين الجينات، بمرور الوقت هو الأسرع على الإطلاق، ويشار إليه بمعدل الطفرة المحايدة.

غير أنَّ الساعات الجزيئية أبعد ما تكون عن المثالية. إذ أظهرت أبحاثٌ أنَّ معدلات حدوث طفرات في الحمض النووي قد تتأثر بعدة عوامل. فمن المعروف أنَّ بعض القوى الخارجية مثل الإشعاع والعوامل الكيميائية المسبِّبة للطفرات تُتلف الحمض النووي، لكن الطفرات في الواقع جزء طبيعي حتمي من بيولوجيا الجينوم. وتتباين معدلات الطفرات التي تحدث بفعل عوامل داخلية متأصلة تبايناً كبيراً من سلالة إلى أخرى بناءً على بعض العوامل، مثل دقة تضاعف الحمض النووي وكفاءة آليات إصلاح الحمض النووي بالخلية. وكذلك يُمكن أن تتباين معدلات حدوث الطفرات بين الجينومات الموجودة في أجزاء مختلفة من الخلية نفسها، كما هي الحال في الميتوكوندريون والنواة في الخلايا الحقيقية النواة. ومردُّ ذلك إلى أنَّ سلامة الجينوم تُحَفَظ بفعل آليات مختلفة موجودة داخل الخلية في عضيات مختلفة، بالإضافة إلى أنها تُعرَّض لبيئات كيميائية حيوية مختلفة

علم الجينوم التطوري



الإنسان ...	asn	leu	his	gly	leu	phe	gly	arg	lys	thr	gly	gln	ala	pro	gly	tyr	ser	tyr	...
الشمبانزي ...	asn	leu	his	gly	leu	phe	gly	arg	lys	thr	gly	gln	ala	pro	gly	tyr	ser	tyr	...
الحوت ...	asn	leu	his	gly	leu	phe	gly	arg	lys	thr	gly	gln	ala	val	gly	phe	ser	tyr	...
الذباب ...	asn	leu	his	gly	leu	phe	gly	arg	lys	thr	gly	gln	ala	ala	gly	phe	ala	tyr	...
الخميرة ...	asn	leu	his	gly	ile	phe	gly	arg	his	ser	gly	gln	ala	gln	gly	tyr	ser	tyr	...
القمح ...	asn	leu	his	gly	leu	phe	gly	arg	gln	ser	gly	thr	thr	ala	gly	tyr	ser	tyr	...

شكل ٥-١: الساعة الجزيئية. في الأعلى، مخطّط بياني يُظهر مستويات تباعد تسلسلات الحمض النووي بين أزواج من جينات السيتوكروم سي في بعض الحيوانات كدالة في الزمن (المُقاس بملايين السنين) منذ تباعدها وانفصالها عن آخر سلف مشترك. في الأسفل، جزء من تسلسلات بروتين السيتوكروم سي المستمدة من كائنات حية مختلفة. وكل وحدة تمثل حمضًا أمينيًا واحدًا (ممثّل بشفرة من ثلاثة حروف، على سبيل المثال: asn = الأسباراجين، gly = الجلايسين). وتشير المربعات الرمادية إلى أحماض أمينية يختلف تسلسلها عن تسلسل الأحماض الأمينية لدى الإنسان.

قليلاً (فعلى سبيل المثال، يتعرض الحمض النووي الميتوكوندري لأنواع تفاعلية ضارة من الأكسجين تتولّد موضعياً عن طريق التنفس الهوائي).

وعند النظر إلى المناطق المُشفَّرة من أحد الجينومات (أي الجينات المُشفَّرة للبروتين وجينات جزيئات الحمض النووي الريبوزي البنيوية مثل جزيئات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي)، نجد أنَّ معدلات تباعد التسلسلات محدودة تحدُّداً صارماً بما تسمح به البنية والوظيفة؛ فعملية الانتقاء الطبيعي ستتخلص من الكائنات الحية التي تغيَّر تسلسلها إلى حدٍّ يجعل نجاح عملية تكاثرها مهدِّداً بالخطر. وبالطبع فإنَّ دقة استنتاجات التطور المعتمدة على الساعات الجزيئية لا تتجاوز دقة عمليات المعايرة الحفرية التي تُربط بها الاستنتاجات. ومع ظهور بيانات جديدة، لا يتوقف الباحثون عن إعادة اختبار أساليبهم وتحسينها لفهم تعقيدات عملية التطور الجزيئي بدقة أكبر. وهكذا فإنَّ أي ساعة جزيئية، مُعايرة بدقة ومُستخدمة للغرض المرجو منها، يمكن أن تكون بمثابة إطار قِيَم جدًّا لتقدير الوقت الذي ظهرت فيه سلالات معينة من الكائنات الحية وتطورت فيه صفاتها البيولوجية في الزمن السحيق.

دراسة الجينوم السكاني لآدم وحواء

كان من أوائل تطبيقات الساعة الجزيئية القائمة على الحمض النووي وأكثرها إثارة للجدل هو استخدامها لفهم تطور جنسنا البشري فهماً أفضل. وقد أثبت الحمض النووي شبه البكتيري الموجود في الميتوكوندريون أنه ذو فائدة بالغة في هذا الصدد. تذكروا أنَّ الكروموسوم واي حكَرَّ على الذكور فقط، وأن الميتوكوندريا تُورَّث من الأمهات رغم وجودها في كلٍّ من الذكور والإناث. ومن ثم، فإن استمرار النمط الجيني للميتوكوندريا والكروموسوم واي (إن وُجد) لدى أي فرد معين لفتراتٍ زمنية طويلة داخل مجموعة سكانية هو احتمال يتأثر تأثراً شديداً بالطبيعة العشوائية لسلسلة الأنساب. وقد صاغ الباحثون مصطلحي «آدم الكروموسوم واي» و«حواء الميتوكوندريا» للإشارة إلى أحدث الأسلاف المشتركة لهذين المكونين الجينيين المختلفين للجينوم البشري، وكما سنرى، استُخدم علم الجينوم المقارن للعودة بالزمن إلى الوراء من أجل اقتفاء أثر تلك الأسلاف. ومع أنَّ ذلك قد يبدو مُنافياً للبديهية، فإن آدم وحواء لم يوجدوا معاً بالضرورة في الزمن نفسه أو في المكان نفسه.

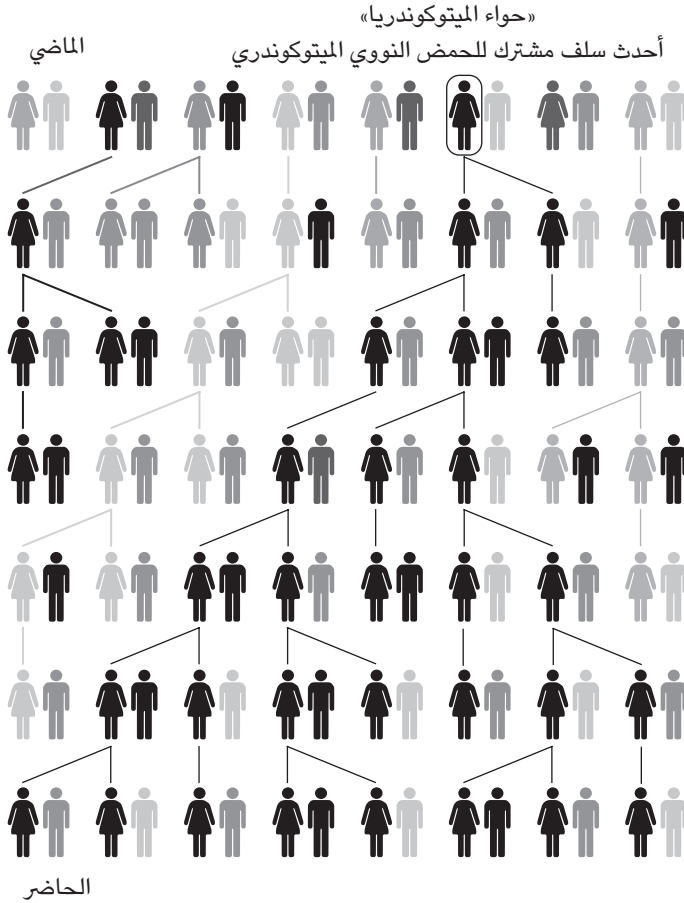
إن عُمر حواء الميتوكوندريا ظل ثابتاً نسبياً منذ المرة الأولى التي جرى فيها التنبؤ به، عام ١٩٨٧، في دراسة فارقة نشرها آلان ويلسون، عالم الوراثة بجامعة كاليفورنيا (في بيركلي) والمولود في نيوزيلندا، وزملاؤه. وقد استعان فريق ويلسون بنهج الساعة الجزيئية

ليستنتج أن جزيئات الحمض النووي الميتوكوندري في جميع البشر المعاصرين يعود أصلها إلى سيدة واحدة كانت تعيش في أفريقيا منذ حوالي ٢٠٠ ألف سنة. وباستخدام منهجيات مماثلة، كان متوقعًا في البداية أن آدم الكروموسوم واي أصغر بكثير في العمر؛ وذلك لأن السلف المشترك الذي انحدر من الجزء غير المُعاد اتحاده من الكروموسوم واي، المنتقل من الآباء إلى الأبناء، استُنتج أنه كان يعيش قبل الوقت الحاضر بحوالي ١٠٠ ألف عام. ولكن مع تراكم المزيد من البيانات الجينومية المستمدة من ذكور ينتمون إلى مناطق جغرافية متنوعة، أُرجع عمر آدم مرةً أخرى إلى زمن أبعد يتراوح بين ٢٠٠ ألف و ٣٠٠ ألف سنة مضت.

وهذه الأرقام لا تعني أن البشرية كانت مُمثلةً برجلٍ واحد حي و/أو امرأة واحدة حية عند أوقاتٍ معينة في الزمن. بل كل ما في الأمر أن آدم الكروموسوم واي وحواء الميتوكوندريا كانا مجرد فردين داخل الجماعات البشرية الخاصة بكلٍّ منهما تصادف أن جميع تسلسلات الكروموسوم واي وجزيئات الحمض النووي الميتوكوندري المنتقلة إلى البشر المعاصرين ترجع إليهما. ومن المؤكد بكل وضوح أن جزيئات الحمض النووي الميتوكوندري الموروثة من الأم، والكروموسومات واي المأخوذة من الأب، ينتقلان بالوراثة مع كل جيل، لكن النمط الجيني لأي إنسان مُعرّض للانقراض، وتزداد احتمالية حدوث ذلك نتيجة حدوث ظواهر «عنق الزجاجة السكانية» (التي من المعروف أنها وقعت في أزمنة مختلفة أثناء التطور البشري) (انظر الشكل ٥-٢). وكلما رجع المرء بالزمن إلى الخلف، فإن عدد الأنماط الجينية السلفية التي يُمكن تصوّر أن أصل الأنماط الجينية لدى البشر المعاصرين يرجع إليها يُصبح أقل فأقل. وعند أي وقت من الزمن، لا يمكن أن يوجد سوى آدم كروموسوم واي واحد وحواء ميتوكوندريا واحدة، وتبدو سلاسل النسب التي ينحدران منها مختلفة تمامًا. وتجدر الإشارة إلى أن أعمار آدم وحواء وهُويّاتهما ليست ثابتة في الحقيقة، بل ستتغير مع استمرار تطور المجموعات البشرية، وانقراض سلالات أمومية وأبوية مختلفة.

هذا ويتواصل تحسّن فهمنا لتطور الكروموسوم واي والحمض النووي الميتوكوندري بفضل ظهور معلومات جديدة. وتجدر الإشارة بالأخص إلى حقيقة وجود استثناءات لدى البشر وبعض الحيوانات الأخرى تشدّد عن القاعدة الصارمة التي تقضي بوراثة الميتوكوندريا من الأم، على ما يبدو. وحتى الإسهامات الأبوية الصغيرة والمتقطعة في الأنماط الجينية الميتوكوندريّة الحالية تؤثر في كيفية نمذجة الباحثين لعملية تسلسل الأنساب؛ وبذلك يُمكن أن تُثبت خطأ التقديرات التي تتوقع عُمر حواء استنادًا إلى

علم الجينوم



شكل ٥-٢: توارث الميتوكوندريا البشرية والحمض النووي الميتوكوندري من الأم. يشير اللون الأسود إلى السلالة الأمومية التي تبدأ من الجيل الحالي حتى سبعة أجيال ماضية لتصل إلى أحدث سلف مشترك للحمض النووي الميتوكوندري. ويُشار إلى هذه الأنثى الوحيدة، المقدّر أنها كانت تعيش في أفريقيا منذ حوالي ٢٠٠ ألف عام، باسم «حواء الميتوكوندريا». وتمثل الدرجات المختلفة من اللون الرمادي سلالات أمومية انقرضت نتيجة انحراف جيني عشوائي أو انتقاء طبيعي. يرث الذكور (الممثلون بدرجات مختلفة من اللون الرمادي) الحمض النووي الميتوكوندري من أمهاتهم، لكنهم لا يورثونه إلى نسلهم.

الساعات الجزيئية. ومع استمرار تراكم كميات هائلة من البيانات الجينومية الخاصة بالجماعات السكانية البشرية، شرع الباحثون في المهمة الشاقة التي يسعون فيها إلى إظهار التشابهات والاختلافات بين تاريخ تسلسل نسب الميتوكوندريا والكروموسومات واي وتاريخ تسلسل نسب بقية الجينوم البشري؛ أي الكروموسومات الجسدية التي يُعاد اتحادها جنسياً وتتوارثها من أمهاتنا وآبائنا. وتُنتج تلك المهمة فُسيفساء جينومية معقدة عبر المكان والزمان، لكنها متوافقة مع نموذج تطور البشر الذي يُسمَّى «الخروج من أفريقيا». وقد تعقّدت الصورة بظهور دليل يشير إلى أنَّ البشر الأوائل تزاوجوا مع أفراد سلالة النياندرتال وسلالات أخرى منقرضة بعد تطورهم في أفريقيا قبل أكثر من ١٠٠ ألف عام، وبدءوا ينتشرون في جميع أنحاء العالم.

الحمض النووي القديم: من العظام إلى الجينومات

من الناحية الجيولوجية، يُسمَّى العصر الذي نعيش فيه حالياً عصر الهولوسين، وهو يمتدُّ من الوقت الحاضر على مرِّ حوالي ١١٧٠٠ عام مضت إلى نهاية العصر الجليدي الأخير. وتندرج دراسة الكائنات الحية التي عاشت قبل عصر الهولوسين تحت مجال علم الحفريات، الذي يعتمد اعتماداً كبيراً على تفسير السجل الحفري. وقد أتاحَت التطورات التي أُحرزت في البيولوجيا الجزيئية وعلم الجينوم دراسة المادة الوراثية للكائنات المنقرضة؛ لتقدِّم بذلك طرقاً جديدة ومثيرة لإنشاء نماذج تُحاكي التاريخ التطوري بالتعاون مع الأبحاث القائمة على علم التشكُّل.

بدأ مجال أبحاث الحمض النووي القديم يتشكل في ثمانينيات القرن العشرين، بالتزامن مع ابتكار تقنية مختبرية يُطلق عليها تفاعل البوليميريز المتسلسل «بي سي آر»، بل إنَّ هذه التقنية هي التي جعلت تشكُّل هذا المجال البحثي ممكناً. ويستخدم تفاعل البوليميريز المتسلسل، الذي اخترعه العالم الأمريكي كاري موليس الحائز على جائزة نوبل، إنزيم بوليميريز، وزوجاً من «بادئات» الحمض النووي القصيرة (التي يحتاج إليها الإنزيم لبدء تخليق الحمض النووي)، ونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات منقوصة الأكسجين لتضخيم قطعة الحمض النووي المعنية تضخيماً أسياً من عينة حمض نووي مركبة. يتسع نطاق استخدام هذه التقنية ليشمل كل شيء، بدءاً من اختبارات الأبوة وتحريات مسرح الجريمة إلى دراسة إيكولوجيا الأحياء الدقيقة (انظر الفصل السادس). وما يجعل هذه التقنية فعالة جداً في أبحاث الحمض النووي القديم، أنها تتيح للباحث دراسة كميات

الحمض النووي البالغة الصغر المتبقية في البقايا البيولوجية مثل الأنسجة والأسنان والعظام المتيبسة. فحالما يُضخَّ الحمض النووي القديم باستخدام تفاعل البوليميريز المتسلسل إلى كميات يُمكن التعامل معها عملياً، يمكن عندئذٍ تحديد تسلسله ومقارنته بالحمض النووي لكائنات حية حالية باستخدام تقنيات معلوماتية حيوية قياسية. وتُعدّ تسلسلات الحمض النووي القديم بمثابة المكافئ الجزيئي لآلة الزمن؛ فهي يُمكن أن تمنحنا معلومات عن بيولوجيا كائنات لم تعد موجودة.

إنَّ أكبر تحدٍّ يواجهه العلماء الذين يدرسون الحمض النووي القديم هو تفتت عينة الحمض النووي؛ فكلما كانت الحفيرة أقدم، زادت احتمالية تجزؤ الحمض النووي إلى قطع صغيرة. فالخلايا الحية تحتوي على إنزيمات النيوكليز، وهي إنزيمات تعمل على فك روابط الحمض النووي الريبوزي والحمض النووي ويكون نشاطها محكوماً بشدة صارمة في الحالة الطبيعية. ولكن عند الموت، تبدأ هذه الإنزيمات في العمل عشوائياً دون تمييز، ولأنَّ آليات إصلاح الحمض النووي في الخلية لم تعد تؤدي وظيفتها عندئذٍ، يتكسَّر الحمض النووي إلى قطع أصغر فأصغر. وكذلك تصبح هذه القطع الصغيرة من الحمض النووي معدلة كيميائياً بمرور الوقت، وهذا يُمكن أن يثبِّط إنزيمات بوليميريز الحمض النووي المستخدمة في تحديد التسلسل ويؤدي إلى دمج نيوكليوتيدات غير صحيحة (ومن ثَمَّ وقوع أخطاء في عملية تحديد التسلسل). ويعتمد معدل تفتت الحمض النووي اعتماداً كبيراً على البيئة التي استقر فيها الكائن بعد موته. وبوجه عام، يبقى الحمض النووي فترة أطول في الأنسجة التي تُجمد أو تُجفَّف سريعاً عند الموت؛ لأنَّ هذه الظروف تمنع إنزيم النيوكليز من ممارسة نشاطه في خلايا الكائن الميت، وكذلك في خلايا الميكروبات التي تعيش بالقرب منه.

وعلى غرار كثير من مجالات العلوم المتطورة، تنال أبحاث الحمض النووي القديم نصيبها من الجدل. إذ يُحتمَّ أن تُتخذ تدابير استثنائية لضمان أنَّ تسلسلات الحمض النووي القديم مأخوذة حقاً من الكائن محل الاهتمام، وليس من الشخص الذي استخرج الحمض النووي، أو من علماء الحفريات الذين تعاملوا مع الحفيرة بأيديهم، أو من تجمُّع الميكروبات الذي كان موجوداً على الحفيرة وداخلها وقت جمعها (قد تكون هذه الميكروبات نفسها قديمة أو حديثة). فتفاعل البوليميريز المتسلسل يتَّسم بحساسية بالغة لدرجة أنَّ الكميات الضئيلة جداً من المعدات المختبرية والكواشف الحديثة التي تلوث الحمض النووي، قد تجعله يُنتج نواتج يُمكن أن يُعتقد خطأً أنها جزيئات حمض نووي

قديم. بل حتى الحمض النووي المحمول في الهواء يُمكن أن يُضخَّم ويُحدَّد تسلسله إذا وصل إلى داخل أوعية تفاعل البوليميريز المتسلسل. لذا يعتقد كثيرون أنَّ أول التقارير المنشورة عن تسلسلات الحمض النووي القديم المأخوذة من حشرات محبوسة في الكهرمان ونباتات متحفرة، وحتى عظام الديناصورات، تُمثِّل عينات ملوثة من كائنات حية عصرية. وعادةً ما تُجرى أبحاث الحمض النووي القديم الآن في «غرف نظيفة» مُعقَّمة بـعوامل مُبيضة وأشعة فوق بنفسجية لتقليل احتمال التلوث إلى أدنى حد. ويبدو أن المدة الزمنية القصوى لبقاء حمض نووي قديم تبلغ حوالي مليون سنة، وهذا لا يحدث إلا في الحالات التي يُجمد فيها الكائن.

وبالرغم من الصعوبات والمشاق المصاحبة لتطوُّر مجال أبحاث الحمض النووي القديم، استطاع الباحثون استعادة تسلسلات حمض نووي قديم أصلية من كائنات متنوعة تنتمي إلى نطاق شاسع جدًّا من الأزمنة المختلفة. فعلى سبيل المثال، استعاد بعض الباحثين تسلسلات حمض نووي ميتوكوندري من مومياوات مصرية كانت تعيش قبل ألف عام، ومن «أوتزي» رجل الجليد الذي عاش قبل حوالي ٥٢٠٠ عام واكتُشفت جُثته متجمدة عام ١٩٩١ في نهر جليدي في أعالي جبال الألب بولاية تيرول النمساوية. وقد أتاحت تحليلات هذه التسلسلات رؤى عميقة عن أنماط الهجرة البشرية وأصول الأنماط الجينية الميتوكوندرية في البشر المعاصرين. وكما سنستعرض في الفصل السابع، حدّد تسلسل أجزاء جينية، بل جينومات نووية كاملة، من بقايا متجمدة من بعض حيوانات الماموث الصوفي التي يعود تاريخها إلى أكثر من ٤٠ ألف سنة مضت، وكذلك من دببة كهفية يعود تاريخها إلى حوالي ٣٠٠ ألف سنة مضت. بل استعان الباحثون بتفاعل البوليميريز المتسلسل لتحديد تسلسلات أقدم من هذه بكثير؛ إذ ضخّموا به تسلسلات نباتية وحيوانية مُستخرجة من عينات جليدية جوفية أسطوانية في جرينلاند يعود تاريخها إلى حوالي ٨٠٠ ألف سنة قبل الوقت الحاضر. ويأتي أقدم جينوم نووي حدّد تسلسله حتى الآن من إحدى عظام حصان برّي كان يعيش منذ حوالي ٧٠٠ ألف سنة، وقد عُثر عليها متجمدة في إقليم يوكون شمال غرب كندا.

جينوم سلالة النياندرتال

كان من بين أبرز الإنجازات التي توصلت إليها أبحاث الحمض النووي القديم تحديد تسلسل جينومات نووية من بعض أفراد سلالة نياندرتال وغيرهم من أقرباء الإنسان

الذين صاروا منقرضين الآن. وقد نشرت دورية «ساينس» العلمية أول جينوم من هذا القبيل في عام ٢٠١٠ ضمن بحث بقيادة أحد الباحثين الرئيسيين في هذا المجال، وهو سفانت هابو العالم السويدي في معهد ماكس بلانك للأنثروبولوجيا التطورية في ألمانيا. وكان هابو عاكفًا خلال ثمانينيات وتسعينيات القرن العشرين على إجراء دراسات رائدة عن بقاء الحمض النووي في مومياوات بشرية، وبعض حيوانات الكسلان المنقرضة، ودببة كهفية، وفي عام ١٩٩٧، قاد أول محاولة ناجحة لتحديد تسلسل أجزاء حمض نووي ميتوكوندري مستخرج من إحدى عظام أحد أفراد سلالة النياندرتال يعود تاريخها إلى حوالي ٤٠ ألف عام. وقد قَدِّمَت البيانات دعمًا تجريبيًا يؤيد الفرضية التي أصبحت تلقى قبولًا عالميًا الآن، والتي تفترض أن جميع البشر المعاصرين تنحدر أصولهم من أفريقيا.

كان هابو من أوائل الذين أدركوا أن الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل لديه القدرة على إحداث تغيير فارق في أبحاث الحمض النووي القديم، على غرار ما فعلته تقنية تفاعل البوليميريز المتسلسل. وكما نُوقِشَ في الفصل الثاني، كان من عيوب أولى تقنيات الجيل الثاني قصر طول قراءات التسلسل؛ إذ كان يبلغ حوالي خمسين نيوكليوتيدة في البداية. وبناءً على حجم الجينوم المستهدف ومدى تعقيده، قد يفرض ذلك تحديًا كبيرًا يهدد دقة تجميع الجينوم. ولكن لأنَّ العينات المستخرجة من الحمض النووي القديم مجزأة جدًا بالفعل، لا يرقى طول القراءة إلى أن يُمثَّل مشكلة. الأهم هو معدل الإنتاجية خلال مدة معينة من زمن التشغيل، وأنظمة الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل تُنتج كمية كبيرة جدًا من البيانات لدرجة تُتيح الحصول على مستويات مُرضية من التغطية حتى عند تحديد تسلسل جينومات حيوانية كبيرة. وفي الحالات التي يتوافر فيها بالفعل جينوم مرجعي عالي الجودة مُحدَّد تسلسله من أحد الكائنات القريبة الصلة، تصبح عملية تجميع الجينوم من جديد غير ضرورية (ارجع للفصل الثالث)، بل كل ما هنالك أن قراءات تسلسل الحمض النووي القديم «تربط» بمواضعها على الجينوم المرجعي فحسب؛ وبذلك يمكن تحديد الاختلافات في النيوكليوتيدات بين الجينوم القديم والجينوم الحديث. وهكذا فإنَّ هذه هي الاستراتيجية التي استُخدمت لتحديد تسلسل جينوم سلالة النياندرتال، حيث كان الجينوم البشري بمثابة المرجع، وفي حالة الماموث الصوفي المنقرض، حيث حُدِّد موضع القراءات استنادًا إلى تسلسل جينوم أحد الأفيال الآسيوية (انظر الفصل السابع).

كان مشروع جينوم النياندرتال إنجازًا تقنيًا ومعلوماتيًا حيويًا عظيمًا. وأول ما نشره فريق هابو في إطار هذا المشروع كان تسلسل حمض نووي لأحد أفراد النياندرتال

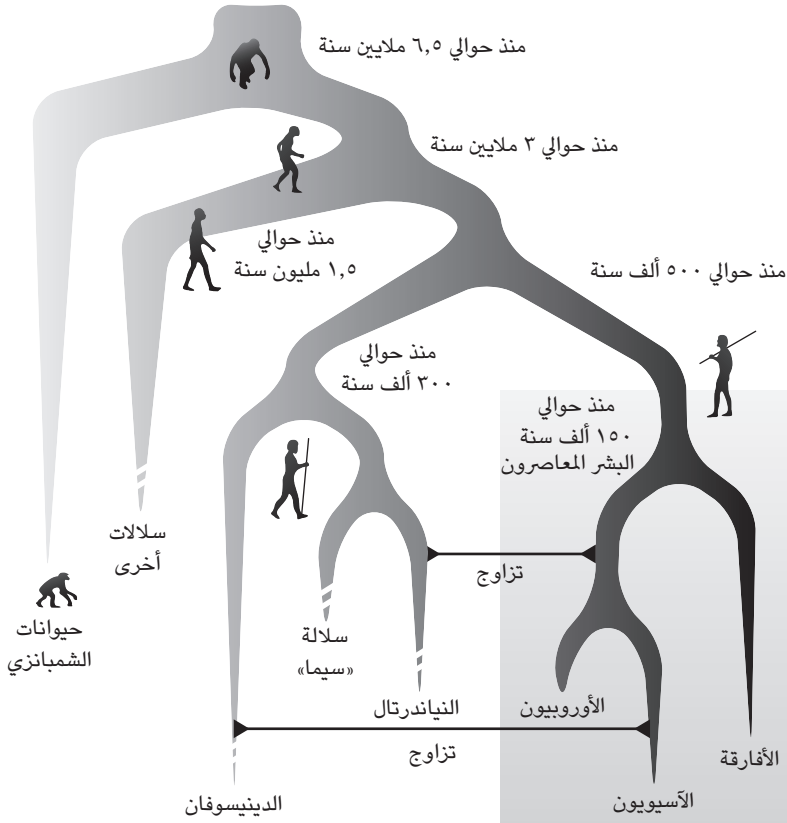
طوله حوالي مليون زوج قاعدي، وقد نشره في عام ٢٠٠٦، وحصلوا عليه باستخدام تقنية تحديد التسلسل القائمة على إطلاق البيروفوسفات بالتعاون مع شركة ٤٥٤ لايف ساينسز. وصحيح أن هذه الدراسة المعيارية أظهرت أنه من الممكن، نظرياً، تحديد تسلسل جينوم نووي كبير مُستخرَج من عينة حمض نووي قديم تحديداً كاملاً، لكنها أوضحت أيضاً أن ذلك سيستلزم اتباع ما يُعرَف بنهج القوة الغاشمة أو البحث الشامل. فنسبة الحمض النووي الذي يخض الحفرية بالفعل لا تتجاوز ١ في المائة من إجمالي الحمض النووي المُستخرَج منها إلا في حالات نادرة؛ لذا اضطر الباحثون إلى تفحص العديد من عظام النياندرتال المختلفة من أجل العثور على عظام يمكنها إنتاج مادة بادئة كافية لتحديد التسلسل (فضلاً عن إقناع المتاحف بالاستغناء عن حفرياتها الثمينة). وقد استقر الباحثون على عظام خاصة بثلاثة أفراد مختلفين كانوا يعيشون منذ فترة تتراوح بين حوالي ٤٠ ألف و ٥٠ ألف سنة، عُثِر عليها في كهف فينديجا في كرواتيا. وكذلك توجَّب تعديل الإجراءات المتبعة لإنتاج مكتبات الحمض النووي اللازمة لتحديد التسلسل؛ وذلك لتقليل الكمية المفقودة من الحمض النووي. ثم اكتمل الجينوم أخيراً باستخدام تقنية إلومينا، القائمة على «تحديد التسلسل بالتخليق»، التي تُنتج قراءات مفردة أقصر من القراءات التي تُنتجها طريقة تحديد التسلسل القائمة على إطلاق البيروفوسفات، لكن إجمالي عدد القراءات التي ينتجها جهاز تقنية إلومينا في مرة التشغيل الواحدة أكبر بكثير. ومع تشغيل الجهاز مئات عديدة من المرات، أمكن الحصول على ما يكفي من القراءات المستمدة من تسلسل النياندرتال، لدرجة أتاحت تغطية الجينوم حتى عمق مقداره ١,٣ مرة تقريباً (بطول إجمالي يزيد على ٤ مليارات زوج قاعدي). وقد تجاهل الفريق أكثر من ٩٥ في المائة من قراءات التسلسل الأولية في النهاية بعدما ارتأوا أنها ملوثة. ولكي يساعد بابو وزملاؤه في التمييز بين القراءات القديمة الأصلية وقراءات الجينوم البشري المعاصر، حدّدوا تسلسل جينومات خمسة أفراد يعيشون في مناطق متفرقة من العالم. ثم قُورنت كل قراءات جينوم النياندرتال والجينوم البشري بجينوم الشمبانزي، ولأن صلة قرابة الشمبانزي بكل من الإنسان والنياندرتال أبعد بكثير، كانت مقارنة جينوم كل منهما بجينوم الشمبانزي بمثابة نقطة مرجعية حاسمة لتقدير حجم التباين بين تسلسل جينوم النياندرتال والجينوم البشري، وعنصر ضابط لتأثير التلوث (فحيوانات الشمبانزي لا تجمع حفريات ولا تُوظف في منشآت تحديد التسلسل!).

وإجمالاً، اتضح أن جينوم النياندرتال والجينوم البشري متطابقان بنسبة تبلغ حوالي ٩٩,٥ في المائة، مقارنةً بنسبة تطابق بلغت ٩٩ في المائة عند المقارنة بين جينوم

الشمبانزي والجينوم البشري. أما الاكتشاف الأكثر إثارة للدهشة، فكان أنَّ درجة التشابه بين تسلسلات الجينوم المستمدة من ثلاث جماعات سكانية غير أفريقية (الصينيون، وسكان بابوا غينيا الجديدة، والفرنسيون) وجينوم النياندرتال كانت أعلى بحوالي ٤ في المائة من درجة التشابه بينه وبين جينومات سكان غرب أفريقيا وجنوب أفريقيا. وقد فُسِّر هذا «الأثر» النياندرتالي الواضح رغم صغره على أنه دليل على حدوث تزاوج بين أفراد النياندرتال والأسلاف الأوائل للسكان المعاصرين من غير الأفارقة (انظر الشكل ٣-٥)، وربما كان ذلك في منطقة الشرق الأوسط، حيث يبدو أنهم كانوا موجودين معاً لفترة. وقد بات الدليل المؤيد لهذه الفرضية المثيرة للجدل، المتداولة منذ عدة عقود، أقوى مع تحديد تسلسل عدة جينومات قديمة أخرى، ومع إسهام جودتها الزائدة في إتاحة استخراج معلومات تعدُّ استخلاصها من التسلسل الأصلي ذي التغطية المنخفضة. فعلى سبيل المثال، عرِّض أحد أعداد دورية «نيتشر»، في عام ٢٠١٤، جينوم نياندرتال مُحدِّداً تسلسله بعمقٍ مقداره ٥٠ مرة، وهو ما يساوي العمق الذي عادةً ما يتحقق في تحديد تسلسل الجينوم البشري. وتجدر الإشارة إلى أنَّ هذا الجينوم المعين، الذي استُخرج من حفرةٍ عمرها حوالي ٥٠ ألف عام عُثِر عليها في كهف دينيسوفا في جبال ألتاي في سيبيريا، اكتُشف أنه يحتوي على امتدادات طويلة تتَّسم بالتماثل الازيجوتي (أي: امتدادات من التسلسل تتماثل فيها الكروموسومات المستمدة من الأم والكروموسومات المستمدة من الأب)، ومستوى من التغاير الازيجوتي على نطاق الجينوم كله أقل بكثير من ذلك الذي رُصد لدى بشر معاصرين. وهذا يشير إلى أن هذا الفرد، الذي كان أنثى، كانت تنتمي إلى جماعة سكانية صغيرة، وكان لها أب وأم تربطهما صلة قرابة قريبة للغاية (أي: إنهما كانا شقيقين من أحد الوالدين أو ما شابه).

تجدر الإشارة هنا إلى سلالة أخرى حصل الباحثون على بيانات تسلسل الجينوم القديم الخاص بها، وهي سلالة الدينيسوفان. إذ استخرج فريق بابوا، بالتعاون مع علماء روسيين، حمضاً نووياً، وحددوا تسلسل جينوم نووي بتغطيةٍ مقدارها ٣٠ مرة من عظمةٍ إصبع بالغة الصغر ومحفوظة بحالة جيدة استثنائية (لكنها غير مؤرَّخة) عُثِر عليها في كهف دينيسوفا الذي ورد ذكره آنفاً. ولا عجب أنَّ العظمة نفسها لا تكشف سوى معلومات قليلة عن هويَّة صاحبها. لكن تسلسل الجينوم يشير إلى أنه ليس من سلالة النياندرتال التقليدية، بل فرد من فرع مختلف من أفرع التطور البشري المبكر تَبَاعَد مُتَّسِعاً من سلالة النياندرتال بعدما تشعَّب منها البشر المعاصرون (ارجع للشكل ٣-٥).

علم الجينوم التطوري



شكل ٥-٣: الشجرة التطورية للبشر المعاصرين وأقرب أقربائهم. يوضح هذا المخطط البياني حالتين موثقتين من التزاوج بين أسلاف سلالات البشر المعاصرين وأسلاف منقرضين؛ إذ تتضمن إحداهما سلالة النياندرتال فيما تتضمن الأخرى ما تُسمَّى سلالة الدنيسوفان. وتشير سلالة «سيما» إلى جينوم شبيه بجينوم النياندرتال حُدِّد تسلسله من عينة أُخِذت من رفات بماغرة سيما دي لوس هويسوس الإسبانية.

وعلى غرار أفراد النياندرتال، يبدو أنَّ أفراد الدينيسوفان قد أسهموا في الحمض النووي المنتقل إلى البشر المعاصرين، غير أنَّ هذا الإسهام كان من نصيب جماعات سكانية مختلفة (وخاصة الميلانيزيين الأوائل، في هذه الحالة)، وحدث بعد إسهام النياندرتال. ومثل جينوم

النياندرتال الذي عُثر عليه في جبال ألتاي، تشير الخصائص المحددة لتسلسل الدينيسوفان إلى أن تلك العظمة الغامضة تخص فردًا كان ينتمي إلى جماعة سكانية صغيرة متضائلة ذات مستوى منخفض من التنوع الجيني.

ما الذي يجعلنا بشرًا؟

من المهم للمستقبل أن نعرف متى بالضبط، وأين، وكيف، وإلى أي مدى، تفاعل أسلاف البشر المعاصرين مع سلالتي النياندرتال والدنيسوفان وغيرهما من السلالات القديمة. وفي ظل تفتت عينات الحمض النووي القديم، لا نعرف المدى الذي يُمكن أن نبغله في العودة إلى أزمنة أبعد في سعيينا إلى فهم تطور نوعنا البشري. وذلك بالطبع ما يحاول العلماء اكتشافه بلهفة. فعلى سبيل المثال، شهدت الآونة الأخيرة تحديد تسلسل جينومات نووية من عظام خاصة ببعض أوائل البشر المعاصرين عمرها حوالي ٤٠ ألف سنة عُثر عليها في سيبيريا ورومانيا. ويُقدم الجينوم «الروماني» أقوى دليل حتى الآن على حدوث تزاوج بين البشر وسلالة النياندرتال، ويبدو أن هذا الفرد كان له سلف نياندرتالي ينتمي إلى فترة ماضية تتراوح بين أربعة أجيال وستة فقط. وكذلك استطاع الباحثون أن يستخلصوا، بكل صبر وحذر، تسلسل جينوم شبه نياندرتالي من عينة حمض نووي تالفة جدًا مُستخرجة من مغارة سيما دي لوس هويسوس (والتي تعني «حفرة العظام») الشهيرة في شمال إسبانيا (ارجع للشكل ٥-٣). جدير بالذكر أن تلك الحفريات تعود إلى حوالي ٤٣٠ ألف سنة مضت. ويشهد الآن مجال أبحاث الحمض النووي القديم توافر الأدوات اللازمة للاستفادة من حفريات يعود تاريخها إلى مليون سنة مضت. وبالاعتماد على البيانات المتاحة بالفعل، بدأ بعض الخبراء يحاولون اكتشاف ما يميز البشر المعاصرين عن أقرب أقربائنا المنقرضين. فمن بين مئات الآلاف من طفرات استبدال الحمض النووي التي حدثت بطول الفرع التطوري المؤدي إلينا، أي طفرات هي التي غيّرت نظامنا البيولوجي بطرق أثرت في «نجاحنا» التطوري؟

تكشف المقارنات التي أُجريت بين جينومات النياندرتال والدنيسوفان وجينومات حيوانات الشمبانزي والبشر أن حوالي ١٠٠ طفرة استبدال فقط، من بين حوالي ثلاثة آلاف طفرة استبدال خاصة بالبشر تحدث في مناطق من الجينوم البشري يُتوقع أنها تنظم التعبير الجيني، هي التي أدّت بالفعل إلى حدوث تغيير في الأحماض الأمينية (أي: حدوث تغيير في النمط الظاهري). وفي الوقت الحالي، لا يفهم الباحثون سوى قلة قليلة

من وظائف هذه البروتينات المعدلة فهما كافياً لجعلها مصدرًا غنيًا بالمعلومات، ولكن من بينها بروتيناً مشاركاً في حركة الحيوانات المنوية واثنين آخرين مرتبطين بالجلد. وقد أظهرت تحليلات حديثة للبيانات الهائلة المنبثقة من مشروع الألف جينوم وجود توزيع غير عشوائي لحمض نووي مستمد من سلالة النياندرتال عبر الكروموسومات البشرية. وبوجه عام، كثيراً ما تحتوي المناطق الغنية بالجينات في الجينوم البشري على عدد أقل من الأليلات النياندرتالية، وقد رُصد انخفاضٌ مذهل بمقدار خمس مرات في كمية الحمض النووي النياندرتالي على الكروموسوم إكس. (يُستخدم مصطلح «الأليل» للإشارة إلى أشكال مختلفة لجزء واحد من الحمض النووي). وعلاوةً على ذلك، فالجينات المعبر عنها بمستويات عالية في خصيتَي الإنسان (وليس في أنسجة أخرى) هي أيضاً خالية إلى حد كبير من الأليلات المستمدة من سلالة النياندرتال. تتوافق هذه النتائج مع الفكرة القائلة بأنَّ بعض نسل أفراد النياندرتال وأسلاف البشر المعاصرين كانوا محرومين من الإنجاب، مع أنَّ أسلافهم تزاوجوا بكل وضوح. وعلى النقيض من ذلك، فالجينات الغنية بالأليلات النياندرتالية تتضمن جينات مُشفرة لبروتينات مهمة في الشعر والجلد، خصوصاً الكيراتين، وهو ما يشير إلى أن اكتساب هذه الامتدادات الحمضية النووية أدى دوراً في تكيف الإنسان مع البيئات الأبرد خارج أفريقيا.

تأثير التطور

تشير مجموعة كبيرة من الأدلة إلى أن الانتقاء الطبيعي قد أثر في جينات مرتبطة بنظامنا الغذائي، وتصبغنا، ومقاومتنا لمسببات الأمراض، وجوانب مختلفة من نظامنا الفيسيولوجي تؤثر في صلاحيتنا للعيش في بيئات مختلفة. ومن الأمثلة التي دُرست جيداً الموضع الكروموسومي لجين «إل سي تي»، المشفر لإنزيم اللاكتيز الذي يعمل على هضم اللاكتوز. فالحالة السلفية لدى البشر، بصفتهن ثدييات، هي «عدم استدامة إنزيم اللاكتيز»؛ أي: فقدان القدرة على هضم اللاكتوز بعد الفطام. ولكن في سكان أوروبا وبعض سكان شرق أفريقيا، تُظهر المنطقة الجينومية المحيطة بجين «إل سي تي» دليلاً على وجود ضغط انتقائي سابق يُحيد القدرة على استخدام اللبن مصدرًا للطاقة في مرحلة البلوغ، وتؤكد تجارب مختبرية أن بعض المتغيرات الجينية المرتبطة باستدامة إنزيم اللاكتيز تسهم في زيادة التعبير عن هذا الجين. وتشير امتدادات طويلة من التماثل الزيجوتي المرتبط بهذا الجين موجودة لدى سكان أوروبا وشرق أفريقيا المعاصرين، لكنها

غير موجودة في معظم التسلسلات الجينومية القديمة، إلى حدوث عمليات مسح انتقائي منذ حوالي ٩ آلاف عام لمتغايرة الجين لدى السكان الأوروبيين، ومنذ حوالي ٥ آلاف عام لدى سكان شرق أفريقيا (انظر الشكل ٥-٤). وتتوافق هذه التقديرات بدقة مع بيانات أثرية تشير إلى تدجين الماشية في الشرق الأوسط وشمال أفريقيا منذ حوالي ١٠ آلاف عام. ومن الأمثلة الأخرى على تأثير التطور البشري التباين في عدد الجينات المشفرة لإنزيم الأميليز اللعابي «إيه إم واي ١»، المسئول عن هضم النشا وتحليله إلى سكريات بسيطة. فقد كشف أحد الأبحاث عن وجود علاقة مباشرة تربط بين عدد نسخ جين الأميليز وكمية بروتين الأميليز في أفواهنا، وبينما يحمل الشمبانزي جيناً واحداً من الأميليز، يُمكن أن يكون لدينا نحن البشر ستة جينات منه أو أكثر. ومن المثير للاهتمام أنَّ الأفراد المنتمين إلى جماعات سكانية يعتمد نظامها الغذائي على الزراعة ويحتوي على «نسبة نشويات عالية»، كاليابانيين، كثيراً ما يكون عدد جينات الأميليز في جينوماتهم أكبر من عددها عند أولئك الذين يتبعون أنظمة غذائية «منخفضة النشا»، كالمجتمعات البدائية التي تعيش على الصيد وجمع الثمار. ويوصف المثال السابق بأنه مثال للانتقاء الإيجابي، حيث أدى تضاعف الجينات إلى زيادة عدد نسخ جين الأميليز وبروتين الأميليز، وبذلك أتاح فائدة تعزز الصلاحية البيولوجية لأنه سمح باستخلاص الطاقة من النشا بكفاءة أكبر.

ومن المناطق الجينومية الأخرى المرتبطة بحالات انتقاء حديثة متعلقة بالنظام الغذائي الموضعان الكروموسوميان لجين «سي آر إي بي آر إف» وجين «إف إيه دي إس». إذ ترتبط طفرة مسببة لتغيير الأحماض الأمينية في جين «سي آر إي بي آر إف»، المُشفّر لبروتين مهم من بروتينات تبادل الإشارات بين الخلايا، بزيادة مؤشر كتلة الجسم لدى سكان جزر ساموا في بولينيزيا (ارجع للشكل ٥-٤). ومع أنَّ هذا الأليل العالي التواتر يُربط حالياً بزيادة العُرضة للسمنة، تشير بيانات جينومية إلى أنه انتُقي انتقاءً إيجابياً في الماضي القريب لقدرته على منح السكان المؤسسين لجزر ساموا القدرة على مقاومة المجاعات. أما في حالة جين «إف إيه دي إس»، وهو منطقة من الكروموسوم ١١ تُشفّر إنزيمات نازعة لتشبع الأحماض الدهنية، فتكشف المقارنات التي أُجريت بين شعب الإنويت في جرينلاند، والأمريكيين الأصليين، وغيرهم من الشعوب الأصلية وغير الأصلية الأخرى، عن وجود تباين مذهل في معدلات تواتر الأليلات يتسق مع حدثٍ تكيفي مرتبط بتكيفات أيضية مع نظام غذائي عالي الدهون في القطب الشمالي. تشير الدلائل إلى أن هذا حدث في بيرنجيا — أي موقع الجسر البري الذي كان موجوداً في عصور ما قبل التاريخ

عبر ما يُعرف الآن بمضيق بيرنج — حيث عاش البشر لآلاف السنين بعد الهجرة الأولى من آسيا نحو الشرق في وقت العصر الجليدي الأخير تقريبًا. وفي نهاية المطاف، انتشرت متغيرات جين «إف إيه دي إس» جنوبًا مع الشعوب الأصلية التي سكنت الأمريكتين لأول مرة.

يُمكن النظر إلى تنوع تصبُّغ البشرة لدى البشر المعاصرين على أنه مقايضة بين الحماية من التأثيرات الضارة للأشعة فوق البنفسجية وعملية الحفاظ على تخليق فيتامين د، التي تستلزم التعرض للأشعة فوق البنفسجية. وتشير بعض الأبحاث إلى أنَّ ضغوطًا انتقائية قد أثَّرت في لون بشرتنا، سواءً بتسميرها أو تفتيحها. إذ أظهر مسحٌ حديث أجري على ٢٣٠ جينومًا أوراسيويًا «قديمًا» (أي: من أفراد عاشوا في فترةٍ ممتدة بين ٣٠٠ و٦٥٠٠ سنة قبل الميلاد) أنَّ بعض المتغيرات الجينية المرتبطة بتصبُّغ البشرة الفاتحة قد تحوَّلت من متغيرات منخفضة التواتر منذ ٤ آلاف عام إلى متغيرات عالية التواتر لدى الأوروبيين المعاصرين (ومن المثير للاهتمام أن هذا المسح كشف أيضًا عن دليل على انتقاء اتجاهي لخاصية طول القامة في مجموعات سكانية معينة في أوروبا وأفريقيا، ارجع للشكل ٥-٤). وتجدر الإشارة هنا إلى أنَّ أحد الجينات المهمة هو جين «إم سي آر ١»، الذي يُشفر بروتينًا يساعد في تحفيز خلايا البشرة لإنتاج الميلانين. وبينما لا يحمل الأفارقة سوى أليل واحد من أليلات «إم سي آر ١»، توجد عشرات المتغيرات الجينية في سكان شرق آسيا والقوقازيين، وتؤدي خمسة من هذه المتغيرات على الأقل إلى تغيرات في الأحماض الأمينية تُسفر عن فقدان وظيفة البروتين، ويبدو أن كثيرين من هؤلاء السكان ينحدرون من سلالة النياندرتال. وبذلك يبدو أن عملية الانتقاء قد عملت بقوة على إعاقة طفرات جين «إم سي آر ١» لدى البشر الذين يعيشون في البيئات القريبة من خط الاستواء التي تتسم بمستوياتٍ عالية من الأشعة فوق البنفسجية، بينما سمحت بطفرات تفتيح البشرة في المناطق الأقرب إلى الشمال. ومن الجينات الأخرى المعروفة بأنها تؤثر على لون البشرة جين «إس إل سي ٢٤ إيه ٥»، الذي تؤدي الطفرات الحادثة فيه إلى إنشاء بروتينات ذات تسلسلاتٍ مختلفة من الأحماض الأمينية تُسهم أيضًا في شحوب البشرة. وكذلك تتضح مواضع كروموسومية أخرى مرتبطة بالتصبُّغ من دراساتٍ جينيةٍ أُجريت على لون الجلد والعينين في جمهورية الرأس الأخضر، التي تأثرت سكانها الحاليون بامتزاج جيني بين أسلاف الأفارقة والسكان الأوروبيين على مرِّ مئات السنوات القليلة الماضية.

وبالإضافة إلى ذلك، فإن بعض عمليات المسح التي أُجريت على مستوى الجينوم بحثًا عن أدلة على الانتقاء الطبيعي قد قدّمت رؤى عميقة عن كيفية تكيف البشر مع الحياة في البيئات ذات الظروف القاسية. ومثال على ذلك أن المقارنات الجينية التي أُجريت بين أشخاص يعيشون في ثلاثة مواقع مرتفعة — هضبة التبت، وجبال الأنديز في أمريكا الجنوبية، وجبال سيمين في أثيوبيا — وأقرب أقربائهم ممن يعيشون في مناطق منخفضة، قد كشفت عن وجود بصمات للانتقاء الإيجابي في جينات حُفَز التعبير عنها في ظروف منخفضة الأكسجين (ارجع للشكل ٥-٤) (ومن المثير للاهتمام أن النمط الفردي التكيفي الذي اكتُشف في قاطني هضبة التبت يبدو منحدرًا من سلالة الدينيسوفان). وأمّا بخصوص درجة الحرارة، فقد أوضح أن جين عامل النسخ «تي بي إكس ١٥» يؤدي دورًا في تمايز أنواع معينة من الخلايا الدهنية التي تبدأ، عند تعرّضها لدرجات حرارة باردة، في إنتاج بروتين يساعد في توليد حرارة (وهو الثيرموجينين). تُظهر منطقة «تي بي إكس ١٥» في الجينوم بصمات للانتقاء الإيجابي في سكان الإنويت؛ ولذا رُبط بينها وبين التكيف مع البرودة.

هذا وقد اكتُشف تكيف جينومي مع عنصر الزرنيخ السام لدى قاطني مدينة سان أنطونيو دي لوس كوبريس في شمال غرب الأرجنتين. صحيح أن مستويات الزرنيخ الطبيعية الموجودة هناك أعلى ١٠ مرات من المستوى الذي تعتبره منظمة الصحة العالمية آمنًا. لكن المنطقة يعيش فيها بشر منذ أكثر من ١٠ آلاف عام، ويحمل سكانها الحاليون أشكالًا متغايرة من جينات معروف أنها تؤدي دورًا في أيض الزرنيخ، وهي متغايرات أقل تواترًا بكثير لدى أقرب أقربائهم ممن يعيشون في مناطق ذات مستويات منخفضة من الزرنيخ.

وأخيرًا، أظهرت أبحاث جينومية دليلًا على حدوث انتقاء في مجموعات سكانية تتعرض بانتظام لبعض مسببات الأمراض مثل المتصورة الطلائعية المسببة للملاريا (التي تُنقل عن طريق لدغات البعوض)، والمثقبيات المسببة لداء النوم الأفريقي، والبكتيريا المسببة لمرض الكوليرا. ومن وجهة نظر تطورية، فمثل هذه الأمثلة مثيرة للاهتمام؛ لأنّ الأليلات المعينة المرتبطة بمقاومة بعض العوامل المسببة للمرض يمكن كذلك أن ترتبط هي نفسها بإحداث أحد الأمراض. فعلى سبيل المثال، يمكن للمتغايرات الجينية التي تمنح القدرة على مقاومة الملاريا أن تؤدي أيضًا إلى الإصابة بفقر الدم المنجلي واضطرابات أخرى في الدم. لذا ففي المجموعات السكانية المعرضة لمسببات الأمراض، يُتعمد الحفاظ على هذه الأليلات المرتبطة بالأمراض في جميعية الجينات.

الحيوانات وتعدُّد الخلايا

لقد ركّزنا حتى الآن على الأمثلة التي تستند فيها الاستنتاجات التطورية إلى تحليل الحمض النووي. وصحيح أنَّ هذا النهج فعال، لكنه محدود. فالساعة الجزيئية «تدق» بسرعة فيما يتعلق بتسلسلات النيوكليوتيدات، خصوصاً في الحمض النووي غير المشفر، وبالإضافة إلى تأثيرات إعادة ترتيب الجينوم، قد يستعصي تمييز المناطق الجينومية المتماثلة بين الكائنات الحية التي تربطها صلة قرابة بعيدة. وكذلك يُمكن أن تصبح الجينات نفسها «مشبعة»؛ فإذا كان وقتُ كافٍ قد مر، فسيكون نفس الموضع النيوكليوتيدي قد شهد طفرات استبدال مراراً بعد تشعُّب الأنواع وتباعدها، وهو ما يؤدي إلى محو الإشارة المُعبِّرة عن التطور وإضافة «ضجيج». وعندما يُعرف بوجود تشعُّب أو يُشتبه في وجوده، يتجه الباحثون إلى تحليل تسلسلات البروتينات (أي: الأحماض الأمينية) التي يمكن استنتاجها بدقة من التسلسلات الجينية نظراً إلى الطبيعة العامة للشفرة الجينية. ويُمكن المقارنة بين المخزونات الجينية لدى كائنات حية مختلفة، جنباً إلى جنب مع إنشاء الأشجار التطورية القائمة على البروتينات، من أجل إعادة تمثيل أحداث مهمة في التطور. وفي هذا الصدد، تُعدُّ نشأة تعدد الخلايا مثلاً رائعاً ذا صلة.

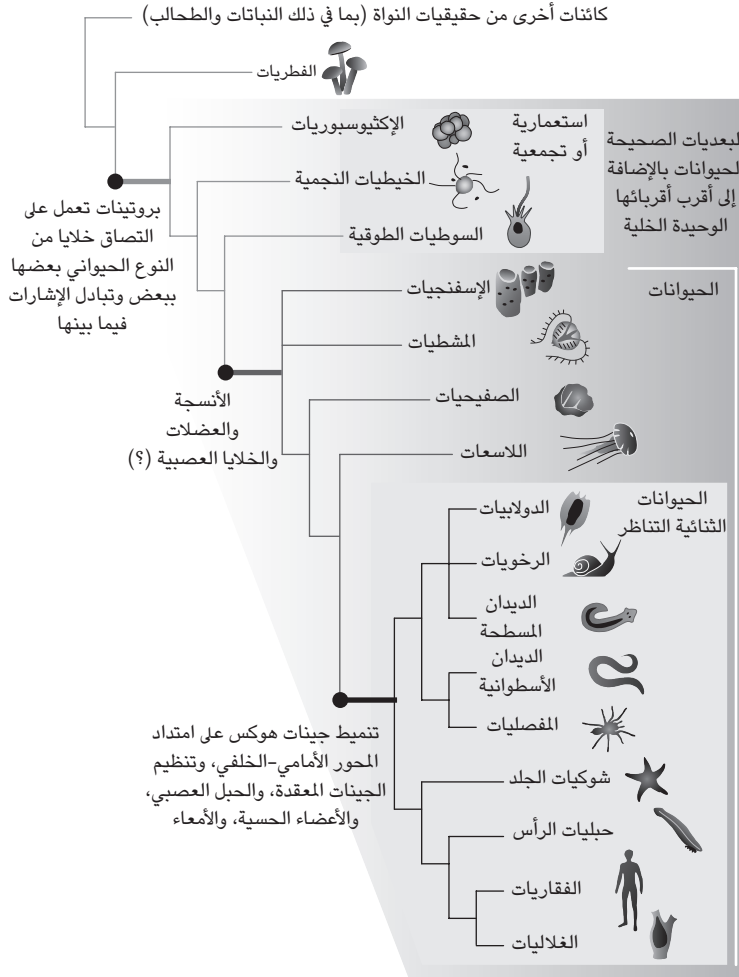
فعلى مرِّ فترة تتراوح بين مليار ونصف سنة وملياري سنة بعد ظهور الحياة لأول مرة، كانت الكائنات الحية ميكروبية فقط. لذا فإنَّ ما يُجسّد تعدد الخلايا الحقيقي هو نطاقٌ حقيقيات النواة؛ فبخلاف الأمثلة البيئية المتجسدة في الحيوانات والنباتات، تطورت كائنات متعددة الخلايا تطوراً مستقلاً من أسلاف وحيدة الخلية أكثر من اثني عشر مرة على مرِّ الـ ٨٠٠ مليون سنة الماضية، ضمن الفطريات والأعشاب البحرية كالطحالب الحمراء وعشب البحر البني، على سبيل المثال. وقد أتاح علم الجينوم هذه الرؤى العميقة بطريقتين. أولاًهما نهج تحليلي اسمه «التحليل الجينومي التطوري» والذي أتاح استنتاج العلاقات بين كائنات حية تشعَّبت قديماً، وذلك بتجميع تسلسلات بروتينات كثيرة مختلفة معاً في تحليل واحد. وتُعدُّ هذه خطوة ضرورية؛ لأنَّ حجم المعلومات التي يمكن استخراجها من بروتين واحد كثيراً ما يكون محدوداً، كما أن تحليل العلاقات بين عدة تسلسلات في وقت واحد يزيد من نسبة «الإشارة إلى الضجيج». والآن أصبحت التحليلات الجينومية التطورية لمئات البروتينات في وقت واحد إجراءً معتاداً، وقد أمدَّت الباحثين بـ «خارطة طريق» للعلاقات بين حقيقيات النواة. أمَّا الطريقة الثانية، فهي أنَّ ربط وجود الجينات الرئيسية المرتبطة بتعدد الخلايا وعدم وجودها بشجرة حقيقيات

النواة قد أتاح فهمًا عميقًا بخصوص الوقت الذي نشأ فيه كل جين في كل مجموعة من المجموعات المختلفة وكيفية نشأته. وبينما أبرزت هذه التحليلات أفكارًا أساسية شائعة، فإن أهم فكرة مُستفادة هي أنَّ الأنظمة الجزيئية التي يتركز عليها تعدد الخلايا تختلف من مجموعة إلى أخرى. فالتطور يؤثر بما هو متاح.

في حالة الحيوانات، تُعد بعض مكونات «مجموعة أدوات» تعدد الخلايا قديمة حقًا. إذ أظهرت تحليلات جينومية تطورية أنَّ الحيوانات تتشارك مع الفطريات (وليس النباتات كما كان يُعتقد سابقًا) في أحدث سلف مشترك، وأنَّ عدة سلالات وحيدة الخلية يستطيع أفرادها تكوين مستعمرات وتجمُّعات خلوية تُعد شقيقةً لمجموعات حيوانية معروفة مثل الحبلليات، والمفصليات، والإسفنجيات (انظر الشكل ٥-٥). وما دُرِس على أفضل نحو من بين تلك المجموعات هو السوطيات الطوقية التي تُذكرنا ببنيتها الخلوية بخلايا التغذية لدى الإسفنجيات. ومع أنَّ السوطيات الطوقية ليست من الحيوانات، فإن جينوماتها، وكذلك جينومات اثنين من «البعديات الصحيحة» الأخرى الوحيدة الخلية (البعديات الصحيحة تعني الحيوانات بالإضافة إلى أقرب أقربائها)، تتضمن جينات تشفر بروتينات حيوانية مميزة تشارك في التصاق الخلايا بعضها ببعض وتبادل الإشارات بينها (مثل الكادهيرين، والليكتين، وكينازات تيروزين الالتصاق البُوري). وبذلك ظهرت هذه السمات الجزيئية المرتبطة بالحيوانات أثناء إحدى مراحل التطور التي سبقت نشأة تعدد الخلايا الحيوانية المعقدة بوقت طويل والانفجار الكامبري الذي حدث فيما بعد، وأدى التضاعف الجيني والتمايز الوظيفي لهذه الجينات وغيرها من الجينات السلفية دورًا رئيسيًا في نشأة الحياة الحيوانية المعقدة.

ومن الأمثلة المتطورة الأحدث جينات هوكس أو جينات النحت. اكتُشفت جينات هوكس أصلًا في ذباب الفاكهة، وتعمل على تشفير عوامل النسخ المرتبطة بالحمض النووي التي تتحكم في النمو على طول المحور الممتد من الرأس إلى الذيل في الحيوانات الثنائية التناظر. وقد أظهر علم الجينوم المقارن أنَّ معظم اللافقاريات لديها عنقود واحد من جينات هوكس، في حين أنَّ الثدييات والأسماك يُمكن أن تحمل أربعة عناقيد أو أكثر. ومن اللافت أن بعض التجارب التي أُجريت على أنظمة حيوانات مختلفة تُظهر أن التعبير الزماني والمكاني عن جينات هوكس أثناء النمو عادةً ما يكون معاكسًا لموضعها على الكروموسوم؛ فالجينات الموجودة عند نهاية عنقود هوكس تُنشَط أولاً في الأجزاء الأمامية من الجنين، بينما يُعبَّر عن الجينات الموجودة في بداية العنقود لاحقًا في مناطق خلفية.

علم الجينوم



شكل ٥-٥: تطور الحيوانات وأقرب أقربائها الوحيدة الخلية.

ومن الواضح أن هذا البرنامج الإنمائي القائم على جينات هوكس كان مرتبطاً ارتباطاً متأسلاً راسخاً ببيولوجيا أقدم الحيوانات الثنائية التناظر (ارجع للشكل ٥-٥).

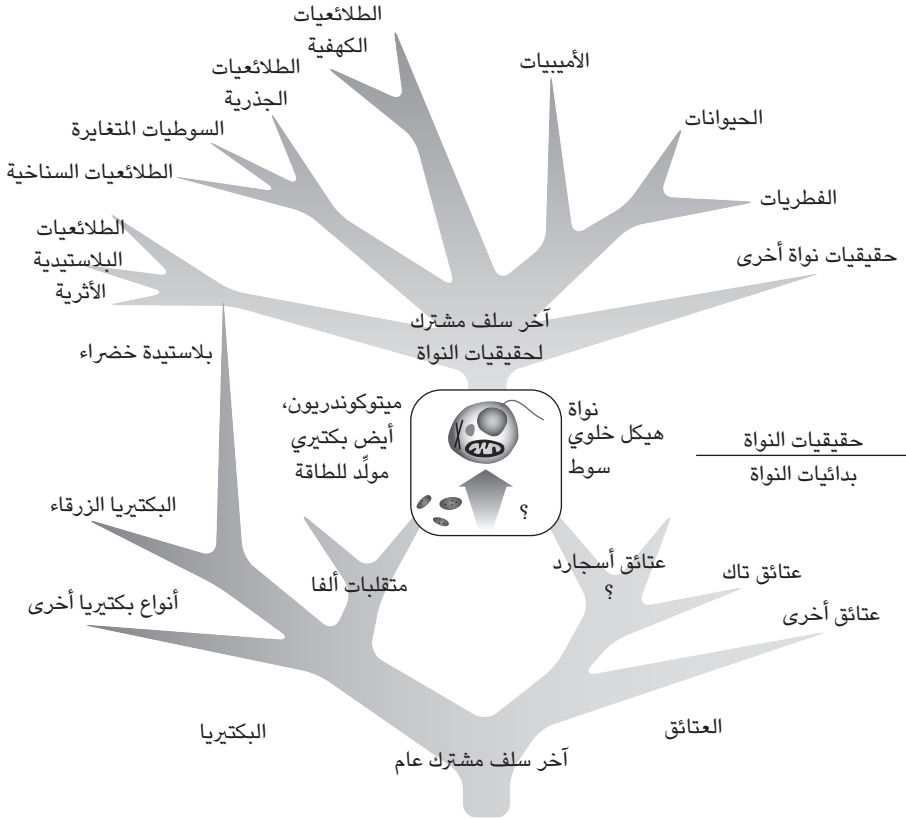
هذا ويُعدّ تطور بعض الخصائص الحيوانية المميّزة الأخرى، مثل العضلات والجهاز العصبي، أقل وضوحًا. ففي التحليلات الجزيئية، يتضح أنّ المشطيات، التي تحمل خلايا عصبية وعضلات أثرية، هي الأعمق تشعُّبًا تباعديًا من بين كل الحيوانات الحقيقية، وهو ما يشير إلى أن هذه الخصائص تطوّرت قبل ظهور أولى ثنائيات التناظر منذ فترة تتراوح بين ٥٠٠ و ٦٠٠ مليون سنة بكثير. ولكن في تحليل جينومي تطوري حديث أُجري على ١٧١٩ بروتينًا لتقليل النتائج التجريبية الزائفة في عملية إعادة إنشاء الشجرة التطورية، وُجد أن الإسفنجيات هي الأعمق تشعُّبًا. ومع أنّ الإسفنجيات لديها أنسجة، فإنها تفتقر إلى عضلات وخلايا عصبية حقيقية؛ لذا ربما تكون هذه الخصائص قد تطوّرت لاحقًا في سلف مشترك بين المشطيات واللاسعات (مثل قنديل البحر)، والصفحيات، وثنائيات التناظر (ارجع للشكل ١٥). وتُعد الصفحيات («الحيوانات المسطحة») بالأخص من السلالات التي تمثل إشكالية كبيرة في هذا الصدد. فمع أنّ هيئتها ظاهريًا تشبه الأميبا، من الواضح أنها حيوانات من حيث تعدد الخلايا وموضعها في الشجرة الجينومية التطورية، وهكذا ربما تكون قد فقدت العضلات والأعصاب في مرحلة ثانية. تجدر الإشارة إلى أنّ هذا لغزٌ ينشأ مرارًا وتكرارًا عند المقارنة بين بيانات جزيئية وبيانات خاصة بالتشكُّل، وهو ما يشدّد على أهمية وجود إطار تطوري لتربط به خصائص الكائنات الحية.

حقيقيات النواة والعضيات

تُعدّ مسألة كيفية تطور حقيقيات النواة من بدائيات النواة واحدةً من أصعب المسائل في علم الأحياء، بعد مسألة أصل الحياة نفسها مباشرةً. فتسلسلات الجينوم تؤيد وجود فرق بين البكتيريا (أو البكتيريا الحقيقية) والعتائق (البكتيريا القديمة) التي اكتشفها كارل ووز؛ تأييدًا قويًا، وتوضح أن حقيقيات النواة تُعدّ في الأصل مزيّجًا من الاثنين (انظر الشكل ٥-٦). وبوجه عام، تنحدر جينات حقيقيات النواة، المرتبطة بعملية الأيض الخلوي وبيولوجيا الأغشية، من أصل بكتيري، بينما تُشتق جينات «الإدامة» المشاركة في معالجة المعلومات (مثل تخليق البروتين، وعملية النسخ، وتضاعف الحمض النووي) من العتائق. ومن بين بروتينات حقيقيات النواة التي يتشابه تسلسلها بوضوح مع تسلسل البروتينات الموجودة في بدائيات النواة (علمًا بأنّه توجد بروتينات كثيرة لا ينطبق عليها ذلك)، فإن عدد البروتينات «البكتيرية» يفوق عدد بروتينات العتائق حوالي ثلاث مرات.

علم الجينوم

ولكن لم يتَّضح السبب (أو الأسباب) وراء هذا التفاوت في العدد. وحتى بعد عدة عقود من البحث والدراسة، ما زالت مسألة الانتقال من بدائيات النواة إلى حقيقيات النواة غامضة.



شكل ٥-٦: شجرة الحياة. مخطّط بياني يُبرز الأصل التطوري للخلية الحقيقية النواة من سلف للميتوكوندريون مُنتمٍ إلى متقلبات ألفا ومضيفٍ عتائقي، ربما تكون له صلة بسلف يُسمّى عتائق أسجارد.

حُدّد تسلسل أول الجينومات العتائية في تسعينيات القرن العشرين، وقد أيدت تحليلاتها الرأي الذي يفترض أنّ الحياة مكوّنة من «ثلاثة نطاقات»، ومفاده أنّ البدائيات

وحقيقيات النواة نطاقان شقيقان مختلفان من الناحية التطورية ومستقلان عن البكتيريا التي تُمثل نطاقًا ثالثًا. ولكن عندما خضعت بروتينات موزعة توزيعًا عامًا لتحليلات جينومية تطورية، تبين أن بعض حقيقيات النواة انبثق من داخل العتائق أحيانًا. أثرت هذه الفكرة لأول مرة في عام ١٩٨٤، وكان من أثارها هو جيمس ليك، أستاذ علم الأحياء التطوري في جامعة كاليفورنيا بلس أنجلوس، الذي لاحظ تشابهات تشكلية بين رييوسومات حقيقيات النواة وبعض العتائق تحت المجهر الإلكتروني، وهذه كانت ملاحظة لافتة.

وتجدر الإشارة إلى أن فكرة احتمالية انبثاق حقيقيات النواة من داخل سلالة عتائقية متنوعة أصلًا قد أيدها الاكتشاف الحديث الذي عُثر فيه على مجموعات عتائقية جديدة في رواسب مأخوذة من بيئات قاسية الظروف مثل «قلعة لوكي»، وهو حقل في أعماق البحر به مناسف حرارية مائية، ويقع بين جرينلاند والنرويج. وقد سُميت هذه العتائق التي تنتمي إلى ما يُسمى عتائق أسجار، والتي عثر عليها فريق من العلماء بقيادة زيبس إتيما في جامعة أوبسالا، نسبةً إلى آلهة إسكندنافية؛ لتصبح مسمياتها عتائق لوكي، وعتائق ثور، وما إلى ذلك. تتكون جينوماتها من مزيج غريب من جينات مُشفرة لبروتينات عتائقية «عادية» و«بروتينات مُميّزة خاصة بحقيقيات النواة»، وهي بروتينات يُفترض في الأصل أنها لا توجد إلا في العمليات الداخلية لحقيقيات النواة. وتشتمل هذه البروتينات المُميّزة لحقيقيات النواة على بروتينات تشكّل الهيكل الخلوي الصلب وتنقل الحويصلات من الموقع أ إلى ب في الخلايا الحقيقية النواة. وبذلك فإن عتائق أسجار يُمكن أن تُغيّر فهمنا للخلية المضيفة المحيرة التي تتشارك مع السلف البكتيري للميتوكوندريون. ومع الأسف، كل ما نعرفه عن النظام البيولوجي الخاص بها مجرد استنتاجات من جينومات رُقعت معًا من تسلسلات حُصل عليها مباشرة من عينات حمض نووي بيئي عن طريق دراسات ميتاجينومية (انظر الفصل السادس)؛ أي: إن الخلايا الفعلية لم تُشاهد قط، فضلًا عن إنشاء مزرعة لها أو دراستها في المختبر. ولذا فوظائف البروتينات المُميّزة لحقيقيات النواة في صنف عتائق أسجار غير معروفة.

تنقسم الفرضيات الخاصة بتطور حقيقيات النواة إلى نوعين عامين. وهما نموذج «الميتوكوندريا المتأخرة» الذي يفترض أن السمات البارزة لبيولوجيا الخلايا الحقيقية النواة، مثل النواة ونظام الغشاء الداخلي والهيكل الخلوي، قد تطوّرت قبل نشأة الميتوكوندريون من التكافل الداخلي. وهنا تُعتبر القدرة على ابتلاع الفريسة

(باستخدام الهيكل الخلوي) شرطاً سابقاً أساسياً لتطوُّر الميتوكوندريا. وعلى العكس من ذلك، يفترض سيناريو «الميتوكوندريا المبكرة» أنها تطوَّرت في كنف مُضيف بدائي النواة، وأنَّ الخلية الحقيقية النواة لا يمكن أن تكون قد نشأت من دون تطور هذه العضية التقليدية النموذجية. وهكذا قد يُمثَّل صنف عتائق الأسجار، مع بروتيناتها المُميّزة لحقيقيات النواة، «الحلقات المفقودة» بين بدائيات النواة وحقيقيات النواة، ولكن في الوقت الحالي، لا تتوفر بيانات كافية للتمييز بين النموذجين.

ما نعرفه أنَّ الميتوكوندريا تطورت من أحد أفراد متقلبات ألفا البكتيرية، وأنَّ آخر سلفٍ مشتركٍ لجميع حقيقيات النواة المعروفة كان يحمل عضية كهذه (ارجع للشكل ٥-٦). ومع أنَّ ذلك متوافق مع نموذج «الميتوكوندريا المبكرة»، فإنه لا يستبعد احتمال وجود حقيقيات نواة من دون ميتوكوندريا من قبلُ لكنها انقرضت، أو أننا ببساطة قد أغفلنا ملاحظة مثل هذه الكائنات. بل إنَّ إحدى الطلائعيات اللاهوائية البسيطة التي تُسمَّى المونوسيركومونويدات (والتي تعيش سعيدة في أمعاء حيوان الشينشيلة) تُظهر أن العيش دون الميتوكوندريون ممكن. وقد اكتُشفت في جينومه النووي جينات منحردة من أصل ميتوكوندري، ولكن لم يُعثر على أي أثر لجينات مُشفَّرة لبروتينات موجَّهة إلى الميتوكوندريون.

من المهم أن ندرك أن المونوسيركومونويدات ليست من حقيقيات النواة «القديمة»؛ فهي بالطبع تعيش إلى يومنا هذا، وتوضح التحليلات الجينومية التطورية أنها مرتبطة ارتباطاً خاصاً بطلائعيات تحتوي على الميتوكوندريون، تُعرَف باسم «الطلائعيات الكهفية»، مثل اليوجلينا التي تعيش في طحالب البرك والمثقبيات (ارجع للشكل ٥-٦). ومن الواضح أن المونوسيركومونويدات فقدت الميتوكوندريون الخاص بها في مرحلة لاحقة. ويبدو أنَّ تحقيقها لهذا الإنجاز يرجع جزئياً إلى أنها أحلَّت محل الجينات المسؤولة عن التخليق الحيوي لعناقيد الحديد والكبريت نُسخاً أخرى اكتسبتها من البكتيريا، علماً بأنَّ عملية التخليق الحيوي لعناقيد الحديد والكبريت عملية كيميائية حيوية أساسية تحدث في ميتوكوندريون جميع حقيقيات النواة. وتُظهر بعض التجارب أنَّ عملية التخليق الحيوي للحديد والكبريت في المونوسيركومونويدات تحدث في السيتوبلازم. (اتضح أنَّ حفنة من الطلائعيات اللاهوائية الأخرى تحتفظ بالميتوكوندريون لكنها لا تحمل جينوماً؛ وكما هو متوقَّع، فهذه الميتوكوندريا الخالية من الجينوم هي الموقع الذي تحدث فيه عملية التخليق الحيوي للحديد والكبريت، بالإضافة إلى عمليات كيميائية حيوية أخرى.) ومع وضع كل

ذلك في الحسبان، نجد أنَّ مسألة ما إذا كانت الخلية الحقيقية النواة قد تطورت بالتزامن مع الميتوكوندريون أم أن عضية الميتوكوندريون تطورت بعد ظهور السمات الرئيسية لحقيقيات النواة بالفعل، ما زالت غير محسومة.

أهي شجرة الحياة أم شبكة الحياة؟

تُعد جميع الكائنات الحقيقية النواة بمثابة فُسيفساء من الجينومات وبيولوجيا الخلايا. بل تزداد الصورة تعقيدًا حينما تؤخَذ في الحسبان البلاستيدات الخضراء الموجودة في السلالات التي تمارس عملية التمثيل الضوئي. فعلى غرار الميتوكوندريا، تحتوي البلاستيدات الخضراء على جينومات بالغة الصغر مقارنةً بجينومات بدائيات النواة، لكنَّ الجينات التي تحتفظ بها، والتي يتراوح عددها بين ٥٠ و ٢٠٠، تشير بوضوح إلى إحدى شُعب البكتيريا؛ التي تتمثل، في تلك الحالة، في البكتيريا الزرقاء القادرة على التمثيل الضوئي (ارجع للشكل ٥-٦). واللافت أنَّ البلاستيدات الخضراء في كلٍّ من الطحالب الحمراء والخضراء انتقلت إلى بعض حقيقيات النواة الأخرى عن طريق ما يُسمى التكافل الداخلي «الثانوي». وهنا يجلب المتكافل الداخلي الحامل للبلاستيدات الخضراء معه نواة وميتوكوندريونًا امتزجت جيناتها بالجينوم النووي للكائن المضيف (وفي بعض الحالات، تظل نواة المتكافل الداخلي كما هي؛ مما يؤدي إلى وجود كائن يحمل أربعة جينومات أو ربما خمسة مختلفة). غير أنَّ التكافل الداخلي الثانوي ليس مجرد ظاهرةٍ تطوريةٍ شاذة؛ إذ أدَّت إلى ظهور كائنات حية ضوئية التغذية تحمل أهميةً للأنظمة الإيكولوجية، مثل الدياتومات التي تُكوِّن تجمُّعات الطحالب الكثيفة المنتشرة، والطحالب الثنائية الأسواط المتسبِّبة في حدوث ظاهرة «المد الأحمر». وكذلك أُورِدَت تقارير عن أمثلة على تكافل داخلي «ثالثي» (اعتبر هذا المكافئ الخلوي لُدْمَى ماتريوشوكا الروسية التي تُمثِّل أمهاتٍ مختلفة الحجم بحيث توضع الدُمى الصغيرة داخل الأكبر منها). ومع وضع تطور الميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء في الحُسبان، يتضح أنَّ الجينات قد انتقلت رأسيًا وأفقيًا في حقيقيات النواة منذ ظهورها لأول مرة منذ ١,٥ مليار سنة تقريبًا.

ولكن بعيدًا عن التكافل الداخلي، يدور جدالٌ حول مقدار النقل الجيني الأفقي الذي يحدث في حقيقيات النواة. يشتهر النقل الجيني الأفقي، الذي يُعرَف بأنه تبادل المادة الجينية عبر الأنواع، بأنه محرك التجديد في بدائيات النواة، وقد أوضحت ثلاث آليات يحدث

النقل من خلالها. أولاهما هي الاقتران، وهي آلية تتضمن مرور الحمض النووي بين خلايا بدائية النواة متصلة مادياً عبر أنبوب رفيع يُسمى خيطاً شعرياً. وثانيها آلية التحول، وهي تحدث حينما تمتص إحدى بدائيات النواة حمضاً نووياً غريباً طليقاً، مثل ذلك الحمض النووي المُطلق من الخلايا الميتة. أمّا الثالثة فهي النقل بالوساطة، وهي تتضمن حدوث تبادل جيني بوساطة من الفيروسات التي يمكنها التقاط قطع من الحمض النووي من إحدى الخلايا ونقلها إلى خلية أخرى. وصحيح أنَّ الأهمية النسبية لهذه الأشكال الثلاثة من التبادل الجيني تتفاوت فيما بين سلالات البكتيريا والعتائق المختلفة وداخلها، ولكن ثبت بالتجربة وبالأدوات المعلوماتية الحيوية أن كل آلية منها قادرة على نقل الحمض النووي من سلالة إلى أخرى. وباستثناء آلية نقل الجينات بوساطة الفيروسات، لم تُوضَّح آليات كهذه في حقيقيات النواة، مع أنَّ علم الجينوم المقارن أظهر دليلاً على وجود نقل جيني أفقي من بدائيات النواة إلى حقيقيات النواة ومن حقيقيات النواة إلى حقيقيات النواة في الطلائعيات والنباتات وبعض الحيوانات.

وينتشر النقل الجيني الأفقي وسط البكتيريا والعتائق انتشاراً كبيراً، لدرجة أن العديد من العلماء صاروا يعتبرون شجرة حياة بدائيات النواة أشبه بشبكة. لنضرب هنا مثلاً بالبكتيريا الإشريكية القولونية التي حُدِّد تسلسل ما يزيد على ألفي جينوم لها. فحتى اللحظة التي تُخط فيها تلك السطور، يحتوي الجينوم الشامل للإشريكية القولونية على حوالي ٩٠ ألف جين، وبعبارة أخرى، يوجد حوالي ٩٠ ألف جين مختلف اكتُشف في جينوم سلالة أو أكثر من سلالات الإشريكية القولونية، ويستمر حجم الجينوم الشامل في الازدياد بمقدار ثلاثين إلى خمسين جيناً كلما حُدِّد تسلسل جينوم جديد. وهذا أمرٌ مذهل نظراً إلى أنَّ عدد الجينات في أي سلالة معينة من الإشريكية القولونية نادراً ما يتجاوز ٤ آلاف جين. وتجدر الإشارة إلى أنَّ العديد من تلك الجينات الخاصة بسلالات الإشريكية القولونية تُسهِّل التكيف مع البيئات الجديدة والقدرة على الأمراض (فعلى سبيل المثال، تُعد الاختلافات المشؤمة بين بكتيريا الإشريكية القولونية «أ» و«١٥٧»: إتش ٧» المسببة للإسهال، والإشريكية القولونية الطبيعية في أمعائنا ناتجةً من جينات مُستمدة من نقل جيني أفقي في تلك البكتيريا الأولى). وفي المقابل، فالجينوم الأساسي للإشريكية القولونية — أي مجموعة الجينات المشتركة بين كل جينومات هذا النوع — يحتوي على حوالي ألف جين فقط، ويتضاءل بمرور الوقت. وبأخذ كل الجينومات البكتيرية المُحدَّد تسلسلها في الحُساب، يكون حجم الجينوم الأساسي أقل من ١٥٠ جيناً! وسواءً أكان الشكل المُعبَّر

عن الحياة شجرةً أو شبكة (أو كلتيهما)، فإن جينومات بدائيات النواة متنوعة ومستمرة التغيُّر إلى حدٍّ استثنائي. وكما سنرى في الفصل السادس، فإننا لم نلمح سوى غيض من فيض تنوُّع الجينومات. وهنا أيضًا تواصل الأدوات الجينومية الحديثة فتح مسارات جديدة للاستكشاف.

علم الجينوم وعالم الميكروبات

إذا حاول المرء استنبات مزرعة ميكروبية من عنصر بيئي كالتربة أو مياه البحر، فيمكنه حينئذٍ أن يرى تحت الميكروسكوب خلايا أكثر بحوالي ١٠٠ مرة من الخلايا التي ستنتجها مستعمراتٌ على طبق بتري. وهذه الملاحظة، المعروفة باسم «التفاوت الهائل في عدد الخلايا بين الطبيعة والأطباق» (انظر الشكل ٦-١)، أثارت اهتمام علماء علم الأحياء الدقيقة وأصابتهم بالإحباط لعقود. وليس المقصود من ذلك أن أغلب الميكروبات في الطبيعة «لا يمكن» زراعتها في المختبر، بل كل ما في الأمر أنَّ المحاولات الساعية إلى ذلك لم تُكلَّل بالنجاح حتى الآن. ووفقاً لعالم إيكولوجيا الأحياء الدقيقة فيليب هيوجنهولتز، فأكثر الكائنات الحية قابليةً للزراعة بسهولة هي «الميكروبات التي ليس لها فائدة» على غرار الحشائش الضارة في عالم النباتات، ويقدر أنها تشكّل أقل من ١ في المائة من جميع الأنواع الميكروبية» وقد أتاح علم الأحياء الجزيئي وعلم الجينوم معاً استكشاف تنوع نسبة الـ ٩٩ في المائة المتبقية وتفاعلها مع الأنظمة الإيكولوجية.

تحديد التسلسل الجيني من عينات بيئية

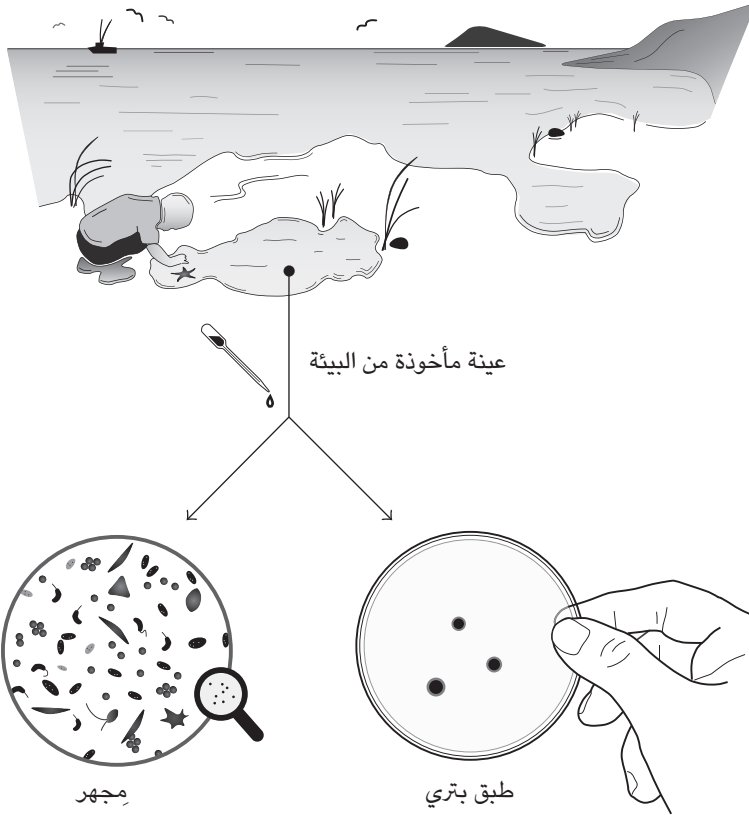
في ثمانينيات القرن العشرين، ابتكر نورمان بيس، أستاذ الكيمياء الحيوية في جامعة كولورادو، أدواتٍ جزيئيةً مستقلة عن الزراعة لاستكشاف الغالبية الميكروبية المستترة. وترتكز الإجراءات المتبعة في استخدام تلك الأدوات على تفاعل البوليميريز المتسلسل، وهي تقنية لتضخيم الحمض النووي في المختبر باستخدام إنزيم بوليميريز الحمض النووي، وزوج من «بادئات» الحمض النووي، ونيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات منقوصة الأكسجين لتضخيم تسلسلات محددة من الحمض النووي تضخيمًا أُسيًا من كميات ضئيلة جدًا من المادة البادئة (ارجع للفصل الخامس). وعلى حُطى معلّمه كارل ووز، استهدف

بيس جين الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي في الوحدة الفرعية الصغيرة؛ وهذا الجين بالأخص، لأنه يتسم بانتشار هائل، ويحتفظ بنسبة كبيرة من تسلسله الأصلي، كان قابلاً بسهولة لتضخيمه بتفاعل البوليميريز المتسلسل من «حمض نووي مجتمعي» (أي حمض نووي لم يُستخرج من كائن حي واحد مستنبت في مزرعة، بل مستمد مباشرةً من عينة بيئية). وباستخدام بادئات تفاعل البوليميريز المتسلسل المصممة لتتناسب مع أكثر المناطق احتفاظاً بطبيعتها في جين الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي، أظهر بيس وزملاؤه إمكانية تضخيم أجزاء الجينات المأخوذة من مجموعة واسعة من الميكروبات في تجربة واحدة. وقد استُنسخت أجزاء الحمض النووي المضخمة وحُدَّت تسلسلها وحُلَّت باستخدام أدوات معلوماتية حيوية مختلفة.

وعلى مدار العقدين الماضيين، استُخدم «تفاعل البوليميريز المتسلسل البيئي» لفحص تركيب مجتمعات ميكروبية في نطاق واسع من البيئات المتنوعة، كمياء البحر، والرواسب البحرية، والملاحات الشمسية، والتربة الزراعية، ولحاء الأشجار، وآبار النفط، وحتى مكيفات الهواء، وستائر الاستحمام، ولوحات مفاتيح الكمبيوتر. ونتيجةً لذلك، اتسع نطاق معرفتنا بالتنوع الجيني لبدائيات النواة اتساعاً هائلاً، سواءً تلك الموجودة ضمن مجموعات الكائنات الحية المعروفة سابقاً أو خارجها. وصحيح أنَّ الأرقام الدقيقة ما زالت محل جدل، ولكن يُتوقع وجود مائة شعبة بكتيرية أو أكثر (وبذلك ارتفع العدد المتوقع بعدما كان حوالي اثنتي عشرة شعبة فقط في أواخر الثمانينيات)، ويبدو ممكناً وجود مستوى مماثل من التنوع داخل العتائق. وقد صار عدد ما حُدَّت تسلسله وأودِع في قواعد البيانات العامة من جينات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي المختلفة الخاصة ببدائيات النواة يبلغ ملايين الآن.

وكذلك أثبت تفاعل البوليميريز المتسلسل البيئي فعاليةً مماثلة عند استخدامه لاستكشاف تنوع حقيقيات النواة من الميكروبات. إذ بدأت في مطلع العقد الأول من القرن الحادي والعشرين عمليات مسح جزيئي، غير معتمدة على المزارع، لمواطن بحرية، وأسهمت في توسيع نطاق المعرفة بتنوع العوالق توسيعاً كبيراً؛ مما أدى إلى اكتشاف عدة مجموعات جديدة من الطحالب لم يعرفها العلم من قبل. وتجدر الإشارة هنا بالأخص إلى عملية مسح شامل لتنوع حقيقيات النواة البحرية الدقيقة قد أُجريت ضمن رحلة تارا أوشنز الاستكشافية التي تَمَّت مؤخراً. فعلى مدار عدة سنوات، جمع علماء على متن السفينة الشراعية البحثية الفرنسية «تارا» آلافاً من عينات الماء من مختلف أنحاء العالم

علم الجينوم وعالم الميكروبات



شكل ٦-١: التفاوت الهائل في عدد الخلايا بين الطبيعة والأطباق.

ومن أعماق مختلفة. ثم استُخرجت منها أحماض نووية، وأُجريت تفاعلات البوليميريز المتسلسل البيئي، واستُخدمت تقنيات الجيل الثاني من أنظمة تحديد التسلسل التي تستطيع العمل على كميات هائلة بالتوازي لتوليد الملايين من قراءات تسلسل الحمض النووي. وإلى جانب المستويات المذهلة من التنوع الجيني التي رصدها الباحثون، اكتشفوا أنَّ النسبة بين وفرة السلالات الرئيسية التي تمارس التمثيل الضوئي والتي لا تمارس التمثيل الضوئي كانت شديدة الاختلاف عما كان يُفترض سابقاً.

وفيما يمُسُّنا نحن البشر، فإنَّ فهمنا لبحرِ الميكروبات التي تعيش في جسم الإنسان وعليه قد تغيَّر تمامًا بفضل تطبيق الطُّرُق الجزيئية. إذ كشفت عمليات المسح التي أُجريت باستخدام تفاعل البوليميريز المتسلسل البيئي عن وجود مئات الأنواع البكتيرية التي لم تكن معروفة من قبلُ تعيش في أفواهنا وسُرر بطوننا وفي جهازنا الهضمي. وجرى التعرفُ أيضًا على مجموعة متنوعة من حقيقيات النواة الدقيقة اللاهوائية والعتائق المُنتجة للميثان؛ ومع أنَّ هذه الكائنات أقل وفرة بكثير من البكتيريا، يبدو أنها تؤثر في العمليات والوظائف العضوية في أمعائنا. وهكذا أصبح ما يُسمى بالميكروبيوم البشري محل دراسة مكثفة، فيما تسعى فرق من الأطباء وعلماء الأحياء الدقيقة وعلماء الجينوم إلى فهم كيفية تغيُّر تركيب الميكروبيوم البشري بمرور الوقت والسبب وراء ذلك، وكيف يؤثر في صحتنا ورفاهنا.

علم الميتاجينوم: محرك الاستكشاف

يُعد تفاعل البوليميريز المتسلسل البيئي أداةً فعالة لاستكشاف التنوع الميكروبي، ولكن لأنه يركز (في الأغلب) على الجينات الواسمة التي احتفظت بطبيعتها الأصلية طوال رحلة التطوُّر مثل الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي، فإنه يُمِد الباحثين بقدرٍ قليل للغاية من المعلومات المباشرة عن بيولوجيا الكائنات الحية المستترة. صحيح أنه يُمكن أن يساعدنا في الإجابة عن سؤال «من يوجد داخل الكائن الحي؟» لكنه لا يمنحنا إجابة عن سؤال «ما الدور الذي يؤديه؟». وبفضل التقدمات في علم الأحياء الجزيئي وعلم الجينوم والمعلوماتية الحيوية، انتقل المجال إلى ما هو أبعد بكثير من مجرد التضخيم الذي يستهدف جينات معينة من العينات البيئية.

يشير مصطلح «علم الميتاجينوم»، الذي استُخدم لأول مرة عام ١٩٩٨ في منشور لعالم الأحياء الدقيقة الأمريكي جو هاندلسمان وزملائه، إلى النهج الذي يجري فيه عزل أجزاء كبيرة من الحمض النووي مأخوذة مباشرةً من البيئة وتحليلها. ومن بين المزايا الرئيسية لهذا النهج، المعروف أيضًا باسم علم الجينوم البيئي، أنه يتجنَّب التحيزات المرتبطة بالتضخيم الذي يحدث باستخدام تفاعل البوليميريز المتسلسل؛ إذ يسمح للعلماء بالحصول على عينات عشوائية من عشرات وحتى مئات الجينات الموجودة على نفس الجزء من الحمض النووي الجينومي؛ مما يتيح رؤيةً ثاقبةً تعمِّق فهمهم للخصائص البيولوجية للكائن صاحب تلك الجينات. (لاحظُ أن بعض الباحثين يعتبرون أن عمليات

مسح الحمض النووي البيئي، التي تستهدف جينات معينة باستخدام تفاعل البوليميريز المتسلسل، مندرجة تحت علم الميتاجينوم.)

وكان أحد الشواهد البارزة على إمكانات علم الميتاجينوم الواعدة اكتشاف طريقة جديدة تستخدمها الميكروبات في المحيطات لتوليد الطاقة اعتمادًا على الضوء، وذلك في عام ٢٠٠٠. فعند تحليل جزء كبير من حمض نووي فُصل من عينة ماء مأخوذة من خليج مونتيري بكاليفورنيا، وجد أوديد بيجا وإدوارد ديلونج وبعض مُعاونيهما جينًا مشفرًا لأحد بروتينات الرودوبسين. وصحيح أنَّ هذا الاكتشاف في حد ذاته لم يكن استثنائيًا جدًّا؛ لأنَّ بروتينات الرودوبسين تُكتشف في مجموعة متنوعة من الكائنات الحية المختلفة، حيث تعمل كمستشعرات للضوء في حقيقيات النواة (بما في ذلك عيون البشر والحيوانات الأخرى)، وكمستشعرات للضوء ومضخَّات للأيونات أو البروتونات في العتائق المحبة للأوساط المالحة. ولكن في هذه الحالة، كشف بحثٌ معلوماتي حيوي أن جين الرودوبسين كان موجودًا في حمض نووي جينومي كان واضحًا جدًّا أنه من أصلٍ بكتيري منحدر، على وجه التحديد، من إحدى المتقلبات (أو البروتيوبكتيريا). لذا أُطلق على البروتين الجديد اسم «البروتيورودوبسين»، وأظهرت أبحاث أُجريت فيما بعد أن مجموعة متنوعة من البكتيريا البحرية، بل وحفنة من حقيقيات النواة الوحيدة الخلية، تستخدم بروتينات رودوبسين مرتبطة بالأغشية لاستخلاص الطاقة الشمسية. ويبدو أن ما سهَّل انتشار جينات الرودوبسين إلى هذا النطاق الواسع من الكائنات الدقيقة هو النقل الجيني الأفقي (ارجع للفصل الخامس).

يختلف نظام البروتيورودوبسين اختلافًا كبيرًا عن آلية تجمع الضوء المعتمدة على الكلوروفيل التي تستخدمها البكتيريا الزرقاء والطحالب، وقد غيَّر اكتشاف هذا النظام من طريقة تفكير العلماء في تدفُّق الطاقة عبر الأنظمة الإيكولوجية الميكروبية. وما زال يتبقى الكثير لتعلمه. إذ اكتُشف تنوُّع جيني هائل في جينات البروتيورودوبسين في بيانات ميتاجينومية مستنتجة من عينات المياه السطحية التي أخذت من جميع أنحاء العالم في إطار الرحلة الاستكشافية التي أجراها كريج فينتر خلال عامي ٢٠٠٣ و ٢٠٠٤ لأخذ عينات من المحيطات في أنحاء العالم. وبخلاف البروتيورودوبسين، حدَّدت هذه الدراسة الميتاجينومية الواحدة أكثر من ستة ملايين تسلسل مختلف من التسلسلات البروتينية؛ أي: أكثر من ضعف العدد الموجود في قواعد البيانات العامة في ذلك الوقت. ولم يُظهر تقريبًا ألفان من تلك البروتينات أيَّ تشابه واضح في تسلسلها مع البروتينات التي جرى

تميزها سابقًا. يزيد على ذلك أننا لا نزال نجهل دور أغلب تلك البروتينات، وفي كثير من الحالات، نجهل أنواع الكائنات الحية التي تنتمي إليها. وكذلك أحدث علم الميتاجينوم تغييرًا فارقًا في فهمنا لدورة النيتروجين. فلطالما اعتُقد أن عملية النترتة الهوائية — وهي تحويل الأمونيا إلى نترات عبر أكسدة النترت — حكر على بكتيريا معينة. ولكن في منتصف العقد الأول من القرن الحادي والعشرين، وجد الباحثون جينات مسؤولة عن أكسدة الأمونيا على كُتل كبيرة من الحمض النووي تنتمي إلى العتائق. ثم عُثر على عتائق مؤكسدة للأمونيا منذ ذلك الحين في مواطن برية وبحرية متنوعة، من بينها المياه الساحلية (حيث تعيش العتائق أحيانًا في علاقة تكافلية مع الإسفنجيات)، وعينات مأخوذة من أعماق البحار. وفي بعض البيئات، توجد العتائق المؤكسدة للأمونيا بوفرة أكبر من نظيراتها البكتيرية. وهكذا يساعد علم الميتاجينوم في سد الفجوات الكامنة في معرفتنا بالدورات البيوجيوكيميائية التي تحافظ على استمرارية الحياة على وجه الأرض، وهي فجوات لم نكن على علم بوجودها أصلًا في كثير من الحالات. وبفضل علمي «الميتاترانسكريبتوم» (الذي يدرس التعبير الجيني لدى الميكروبات ضمن بيئات طبيعية) و«الميتابروتيوم» (الذي يدرس كل البروتينات في المجتمعات الميكروبية من مصادر بيئية) المزهريين، صار الباحثون الآن قادرين على تخطي مسألة «تحديد النمط الظاهري من النمط الجيني»، مُستكشفين تنوع ووفرة الحمض النووي الريبوزي البيئي والبروتينات.

جينومات ميكروبية كاملة من البيئة

من العوامل الضرورية لنجاح علم الميتاجينوم القدرة على مضاعفة كُتل كبيرة من الحمض النووي في المختبر. لذا فانتقاء الأداة مهم. صحيح أن أغلب البلازميدات، مثل تلك المستخدمة في طريقة سانجر لتحديد التسلسل، لا تتفع إلا لاستنساخ أجزاء صغيرة من الحمض النووي يتراوح طولها عادةً بين ألف وخمسة آلاف زوج قاعدي. لكن نواقل الاستنساخ المتخصصة مثل «الكروموسومات الاصطناعية البكتيرية» تسمح بإضافة أجزاء من الحمض النووي يصل طولها إلى ٣٠٠ ألف زوج قاعدي (في بكتيريا الإشريكية القولونية عادةً) ومضاعفتها باستمرار. بل من الممكن إضافة أجزاء أكبر من الحمض النووي باستخدام ما يُسمى «كروموسومات اصطناعية خميرية» في جنس الخميرة الحقيقي النواة النموذجي؛ فباستخدام هذا النظام، يمكن استنساخ قطع من الحمض

النووي بحجم الكروموسوم يصل طولها إلى حوالي مليوني زوج قاعدي. (تجدر الإشارة إلى أنَّ الكروموسومات الاصطناعية الخميرية استُخدمت في مرحلة «تحديد مواضع الجينات» الأولية في مشروع الجينوم البشري الحكومي، مع أنَّ أجزاءها المُضافة الفائقة الحجم كانت غير مستقرة في بعض الأحيان، وكان من الصعب تحليلها بثقة.) وبافتراض إمكانية استخراج حمض نووي عالي الجودة من عينة بيئية، يمكن حينئذٍ استخدام نواقل تحمل إضافات كبيرة لبناء مكتبة ميتاجينومية تكون بمثابة مستودع لجميع المعلومات الجينومية التي كانت موجودة في تلك العينة. ولا تختلف هذه المكتبات عن تلك المستخدمة في المشروعات التقليدية لتحديد تسلسل الجينوم، ويمكن مقارنة أي حمض نووي معين بالحمض النووي المسجَّل في تلك المكتبات باستخدام الأدوات نفسها.

فعل سبيل المثال، يمكن تفحص إحدى المكتبات الميتاجينومية بطريقة منهجية بحثاً عن وجود جينات معينة بواسطة تفاعل البوليميريز المتسلسل؛ وفي هذه الحالة، فإنَّ قطع المكتبة المستنسخة التي تحتوي على نسخة واحدة أو أكثر من الجين المستهدف هي فقط التي ستنتج نواتج تضخيم. ثم يمكن بعد ذلك اختيار هذه الجينات المستنسخة لتحديد تسلسلها. أو يمكن اختيار بعض قطع المكتبة المستنسخة عشوائياً وتحديد تسلسلها من النهاية باستخدام بادئات متوافقة مع موقع إضافة الحمض النووي. ويُمكن من هذه النُتف القصيرة من التسلسل تمييز القطع المستنسخة محل الاهتمام وتحديد تسلسلها بتقنية التشظية حتى الاكتمال (ارجع للفصل الثالث)؛ فكل مستنسخ يُقدم لمحة سريعة عن أحد الجينومات الموجودة في عينة الحمض النووي الأصلية. ويُعد مثلاً البروتيورودوبسين وأكسدة الأمونيا الموضَّحان سابقاً مجرد مثالين من عدد هائل من الأمثلة التي دفعت فيها هذه الاستراتيجيات عجلة البحث إلى الأمام نحو اتجاهات جديدة مثيرة.

وباستخدام الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل، يُمكن حتى تجميع جينومات كاملة أو شبه كاملة من كتلة كبيرة من الحمض النووي المجتمعي. وفي هذه الحالة، يُحدد تسلسل المكتبة الميتاجينومية كلها بطريقة التشظية، وتُجمَّع باستخدام أدوات معلوماتية حيوية قياسية. وصحيح أنَّ تعقيد مشكلة التجميع يُمكن تبسيطه إلى حدٍّ كبير عن طريق البدء باستنابات «مزرعة تخصص»؛ أي مزرعة تُنشأ من العينة البيئية الأصلية على وسيط يوفر الظروف المواتية لنمو حفنة فقط من النوع الأصلي. غير أنَّ استراتيجيات التخصص كثيراً ما تبوء بالفشل، وبحكم طبيعة هذه المزارع ودلالة تعريفها، فهي لا تمثل البيئة في حالتها الطبيعية.

لذا فإحدى الاستراتيجيات البديلة هي البدء بكتلة كبيرة من الحمض النووي مستخرجة من بيئة ذات تنوع ميكروبي محدود بطبيعتها. وقد أثبت فريقٌ بحثي بقيادة أستاذة علم الأحياء الدقيقة جيليان بانفيلد، الأسترالية المولد، جدوى هذا النهج الأخير في عام ٢٠٠٤. وهنا كانت البيئة المستهدفة هي أحد مواقع التصريف في منجم آيرون ماونتين للحديد الواقع بشمال كاليفورنيا. فالتصريفات الحمضية الخارجة من المناجم قد تتدفق طبيعياً أو نتيجةً لعملياتٍ صناعية مثل تعدين الفحم أو البناء؛ تتميز تلك التصريفات بانخفاض الأس الهيدروجيني الخاص بها (أي: إنها شديدة الحموضة)، واحتوائها على تركيزات عالية من المعادن السامة، وانخفاض مستويات التنوع البيولوجي (ولا عجب في ذلك بالطبع). استخرج الباحثون حمضاً نووياً من عينات أغشية حيوية رقيقة مأخوذة من مئات الأقدام تحت الأرض، وحددوا تسلسلات جينومات شبه كاملة من عدة كائنات من البكتيريا والعناثق وجمعوها. وقد أتاحت إعادة إنشاء مساراتها الكيميائية الحيوية رؤى عميقة ثاقبة حول كيفية تمكّن الميكروبات من البقاء على قيد الحياة في مثل هذا الموقع ذي الظروف القاسية.

وأثبت فريق بانفيلد مؤخراً أنّ وجود بيانات كافية وقدرة حوسبية يُتيح تجميع جينومات كاملة من مجتمعات ميكروبية معقدة. ونجح الباحثون، الذين كانوا مُركّزين في هذه المرة على عيناتِ رواسب ومياه جوفية مأخوذة من أماكن قريبة من نهر كولورادو، في توليد حوالي ٤,٦ مليارات قراءة من قراءات التسلسلات باستخدام تقنية إلومينا، وتمكّنوا من تجميع حوالي ٢٥٠٠ جينوم بكتيري كامل أو شبه كامل وأربعة وعشرين جينوماً عتائقاً. وبذلك أسفرت الدراسة عن تحديد ما لا يقل عن سبع وأربعين شعبة بكتيرية جديدة، وأظهرت مستوى التشابك المذهل بين عمليات أيض الميكروبات في الطبيعة. إذ توقع الباحثون أنّ النواتج الأيضية التي يولدها كائن حي داخل تلك المجتمعات تغذي المسارات الكيميائية الحيوية لكائنات أخرى والعكس. وتقطع مثل هذه الملاحظات شوطاً طويلاً نحو تفسير السبب الذي يجعل قدرًا هائلاً من التنوع الميكروبي عصياً على الاستزراع.

تجدر الإشارة إلى أنّ الجينومات المستمدة من التحديد العميق لتسلسلات المكتبات الميتاجينومية تُمثّل فُسيفساء اصطناعية حرفياً؛ بعبارة أخرى، فهي مجموعات مُركّبة مؤلفة من قراءات تسلسلات مستمدة من عدة كائنات حية. وذلك لأنّ أي عينة بيئية، بغض النظر عن مدى انخفاض مستوى التنوع الميكروبي، تُعد مجرد لقطة سريعة لأحد

المجتمعات الحية، وليست مزرعة خالصة؛ فكل جزء مفرد من الحمض النووي وارد من جينوم خلية مفردة، وهذا الجينوم في حد ذاته جزءٌ من مجموعة أكبر. ولكن يُمكن أن تكون هذه الصورة الفسيفسائية غنية جدًا بالمعلومات المفيدة. ففي حالة الدراسة التي أجراها فريق بانفيلد على التصريف الحمضي الخارج من أحد المناجم، استطاع الباحثون بفضل التحليل الدقيق لأوجه التباين بين التسلسلات الميتاجينومية أن يستنتجوا أنماط تبادل جيني يحدث داخل مجموعات البكتيريا والعتائق المكوّنة لهذه الأغشية الحيوية الرقيقة الحمضية.

وهكذا أثبت علم الميتاجينوم حتى الآن أنه يكون أقل نفعًا عند استخدامه لاستكشاف تنوع الميكروبات الحقيقية النواة. ويرجع هذا إلى أسباب متنوعة. فكثافة الجينات المُشفّرة في الجينومات النووية عادةً ما تكون أقل بكثير من كثافتها في جينومات البكتيريا والعتائق — إذ إنّ جينات حقيقيات النواة أكثر تناثرًا وتباعداً — وعادةً ما تكون الجينات نفسها منفصلة بإنترونات متداخلة فيما بينها. ومن ثم، فأَيُّ جزء يُحدّد تسلسله عشوائيًا من حمض نووي خاص بخلية حقيقية النواة من المرجح ألا يكون غنيًا بمعلومات مفيدة بقدر أجزاء الحمض النووي الخاص بخلية بدائية النواة. وكذلك فلأنّ جينومات حقيقيات النواة كبيرة الحجم وتكرارية بطبيعتها، يكون تجميعها أصعب من تجميع جينومات بدائيات النواة، وهذا ينطبق بالأخص على بيانات التسلسل المأخوذة من مكتبات ميتاجينومية. وأخيرًا، فإنّ عدد جينومات حقيقيات النواة التي حُدّد تسلسلها أقل بكثير من جينومات بدائيات النواة التي حُدّد تسلسلها، ومن دون توفر جينومات مرجعية عالية الجودة مأخوذة من نطاق تطوري متنوع من الكائنات الحية المستزرعة، يُصبح فهم بيانات التسلسل البيئية أصعب بكثير. صحيح أنّ بضع دراسات قد استخدمت علم الميتاجينوم لاستكشاف تنوع ميكروبات حقيقيات النواة في الطبيعة، لكنّ هذا المجال ما زال قيد التطوير في كثير من النواحي.

دراسة جينومات وترانسكربتومات الخلايا المفردة

يتمثّل أحد النهج المُكمّلة لعلم الميتاجينوم في تطبيق تقنيات تضخيم الحمض النووي لدراسة خلايا مفردة. وبحكم دلالة التعريف، فإنّ نهج «علم جينوم الخلايا المفردة» (أو تحديد التسلسل على مستوى الخلايا المفردة) لا يعتمد على توفر مزرعة، ويتجنب مشكلة تجميع قراءات تسلسلات مأخوذة من كتلة كبيرة من حمض نووي مجتمعي. بل يعتمد

النهج على وضع خلية واحدة في أحد أوعية التفاعل، وهو ما يمكن تحقيقه بوسائل مختلفة. ففي حالة الطلائعيات الكبيرة (أي: حقيقيات النواة الميكروبية باستثناء النباتات والحيوانات والفطريات والأنواع التي تربطها بها صلة قرابة)، يمكن عزل خلايا مفردة من عينة بيئية باليد مباشرةً باستخدام أنبوب شعري ذي طرف مدبب رفيع. ويمكن أيضاً استخدام طرق أكثر تعقيداً، بما في ذلك استخدام مقياس التدفق الخلوي، وهو أداة قادرة على فرز الخلايا بكميات كبيرة في زمن قصير وفق خصائصها الفيزيائية والكيميائية.

بعد فرز الخلايا، يصبح إلزاماً إجراء خطوة تضخيم الحمض النووي. وضرورة هذه الخطوة تكمن في أن كمية الحمض النووي الموجودة داخل حتى أكبر الخلايا الحقيقية النواة غير كافية لتحديد التسلسل. يُضخَّم الحمض النووي بإحدى التقنيات الجزيئية المتعددة، وأكثر تلك التقنيات شيوعاً هي «التضخيم المتعدد بالإزاحة». تستخدم هذه التقنية بوليميريز حمض نووي خاصاً مشتقاً من فيروس ومزيجاً مولدًا عشوائياً من البادئات لتضخيم الجينوم تضخيماً غير محدد. وحالما تُضخَّم عينة الحمض النووي، يحين دور استخدام إحدى تقنيات الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل لتوليد البيانات، ثم تُجمع القراءات للحصول على تسلسل الجينوم (ارجع للفصل الثالث). وقد ثبت أن علم جينوم الخلايا المفردة نهجٌ فعّال في دراسة بدائيات النواة وحقيقيات النواة ذات الجينومات الصغيرة، وعند دمج هذا النهج مع دراسة ترانسكربتومات الخلايا المفردة، فإنهما يتيحان تحديداً مجموعة الجينات التي تحتوي عليها كائنات حية مفردة داخل جماعة ما، بل يتيحان أيضاً تحديد كيفية اختلاف أنماط التعبير من خلية إلى أخرى عند التأثر ببعدي فيروسية، على سبيل المثال.

غير أن أحد العيوب الرئيسية التي تحدُّ من فعالية تقنيات علوم الأوميكس المطبقة على نطاق الخلايا المفردة حالياً هو انحياز عملية التضخيم. إذ أظهرت تجارب مضبوطة بعناية تضمّنت استخدام ميكروبات حُدِّد تسلسل جينوماتها سلفاً أن مستوى التضخيم ليس مُتساوياً عبر كل مناطق الجينوم. وقد أثار هذا مخاوف بشأن القابلية للاستنساخ وشكوكاً حيال درجة اكتمال الجينومات والترانسكربتومات المشتقة من خلايا مفردة. لكنّ هذا النهج يُمكن أن يوفر بيانات قيّمة حينما يستحيل الحصول على معلومات خاصة بأحد علوم الأوميكس باستخدام وسائل تقليدية. وكذلك أثبت هذا النهج جدواه في دراسة الخلايا التي تتكون منها الكائنات الحية العيانية. فعلى سبيل المثال، يمكن الآن تفحص أنواع السرطان التي تصيب الإنسان ودراستها خليةً بخلية؛ مما يتيح معلومات عميقة

جديدة عن الطفرات التي تنشأ مع تطور المرض وعن كيفية تغَيُّر الخلايا السرطانية استجابةً للأدوية المستخدمة للقضاء عليها (ارجع للفصل الرابع).

عالم الفيروسات المتوسِّع المذهل

كما غَيَّر علم الميتاجينوم فهمنا لتنوع الحياة الخلوية، فإنَّ استخدام الأدوات الجزيئية التي لا تعتمد على الاستزراع قد كشف سِيراً لا ينتهي من التنوع الفيروسي. وفي هذا الصدد، حظيت الفيروسات البحرية باهتمامٍ خاص، لسببٍ وجيه؛ وهو أنَّ كل مليلتر (مل) من المياه فيه حوالي ١٠ مليون جزيء فيروسي؛ وبذلك فهي أكثر الكائنات البيولوجية وفرةً في البحر. ووفقاً لعالم الفيروسات الكندي كيرتس ساتل، فإن هذه الفيروسات البحرية تُحدِث ٢٣١٠ عدوى في الثانية، وتحتوي على قدر هائل من الكربون يعادل كمية الكربون في ٧٥ مليون حوت أزرق. وإذا جيء بجميع الفيروسات الموجودة في المحيط ورُصِّت صفّاً بحيث يكون طرف كل فيروس ملامساً لطرف الآخر، فستتجاوز أقرب ستين مجرة.

ولكن بالرغم من الوفرة المذهلة التي توجد بها الفيروسات، من السهل تجاهلها. فقبل استخراج الحمض النووي، عادةً ما تُقسَّم العينات البيئية حسب حجمها لاستبعاد الخلايا التي تُعد أكبر من الكائنات الحية محل الدراسة أو الخلايا الأصغر منها، ولأنَّ حجم الكثير من الفيروسات (ولكن ليس كلها) أصغر بكثير من بدائيات النواة، فإن الجزء الفيروسي الصغير يسقط عبر المرشحات ويُنبَذ في العادة. وحتى لو كانت الدراسة مهمة بالفيروسات على وجه التحديد، فإن تنوعها الجيني الشديد قد يمثل إشكالية. فالفيروسات ليس لديها جينات حمض نووي ريبوزي ريبوسومي، ولا يوجد في الواقع جين واحد مشترك بين كل الفيروسات يُمكن أن يكون بمثابة واسم جزيئي عام. وهذا بدوره يحدُّ من فائدة نُهج تفاعل البوليميريز المتسلسل البيئي، الذي يستهدف جينات محددة، في اكتشاف فيروسات جديدة. وقد أثبت نهج تحديد التسلسل الميتاجينومي بالتشظية أنه مثالي لهذه المهمة.

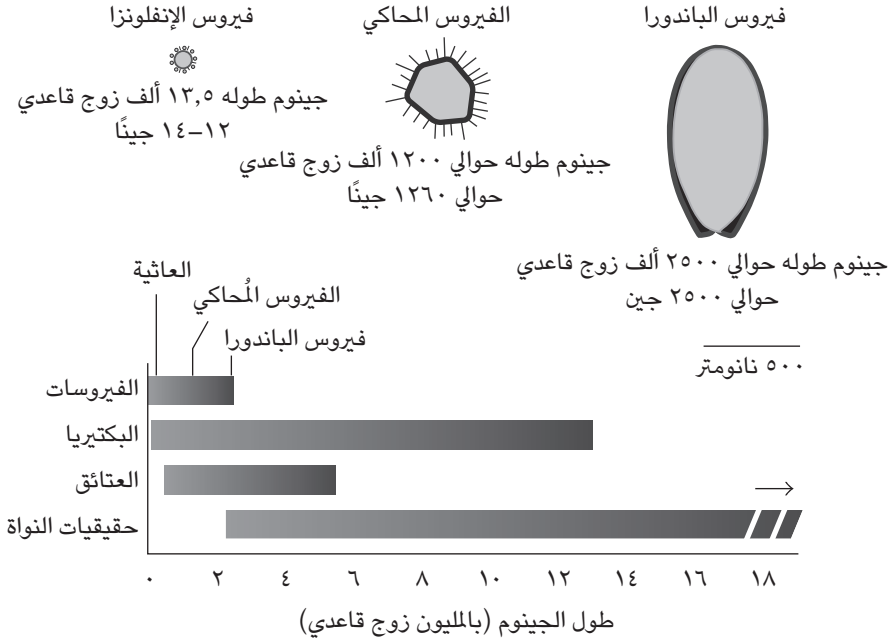
أُنْتُجَت أولى مجموعات البيانات الخاصة بالميتاجينومات الفيروسية في أوائل العقد الأول من القرن الحادي والعشرين، مستهدفةً رواسب بحرية وينايع حارّة، وكذلك الأمعاء وفضلات البراز البشرية. كانت السِّمة المميزة المشتركة بين كل هذه العينات هي استرجاع نسبة عالية من جينات مجهولة الوظيفة منها. وصحيح أنَّ الجينومات الفيروسية ذات كثافة جينية موحَّدة، لكن ما لا يقل عن ٥٠ في المائة من الجينات التي جرى التعرُّف

عليها في العينات الميتاجينومية لا تُظهر أي تشابه واضح في التسلسل مع جينات موجودة في فيروسات أخرى أو في بدائيات النواة أو حقيقيات النواة. بل تتجاوز هذه النسبة ٩٥ في المائة في بعض الحالات. يُفترض أنَّ هذا مرتبط بالمعدلات التطورية السريعة للجينات الفيروسية، بالإضافة إلى حقيقة أنَّ الجزء الذي استُكشف من «عالم الفيروسات» باستخدام الأدوات الجزيئية ضئيل جدًا. وبغض النظر عن الأسباب، فإن هذا التنوع الهائل يؤكد مدى ضآلة معرفتنا بالتنوع الفيروسي في الطبيعة ومدى الصعوبة التي سنواجهها لفهم الدور الذي تؤديه هذه الجينات الغامضة للفيروسات التي تعيش فيها.

تُخبرنا المراجع التقليدية بأن الفيروسات قوية، ولكنها محدودة من حيث مخزونها الجيني. فجينومات الإنفلونزا، على سبيل المثال، طولها حوالي ١٣٥٠٠ زوج قاعدي فقط، وتتراوح أعداد الجينات المشفرة للبروتين فيها بين ١٢ و ١٤ جينًا (انظر الشكل ٦-٢)، وذلك حسب السلالة، في حين أن فيروس العوز المناعي البشري (إتش آي في-١) يحتوي على جينوم طوله حوالي ٩٧٠٠ زوج قاعدي وتسعة جينات. وكلاهما جينوم مكوّن أساسًا من الحمض النووي الريبوزي. أمّا جينوم التهاب الكبد الوبائي بي، فهو أصغر وأصغر؛ إذ يبلغ طوله ٣٠٢٠ زوجًا قاعديًا ويحتوي على أربعة جينات، ويُعد حمضه النووي مزيّجًا من أجزاء مفردة الشريط وأخرى مزدوجة الشريط. لكن دراسة الفيروسات خارج نطاق الشواغل المتعلقة بصحة البشر ترسم لنا صورة مختلفة تمامًا. فبمساعدة أنظمة الجيل الثاني من تقنيات تحديد التسلسل، اكتُشفت مجموعة واسعة من فيروسات ذات جينوم مكوّن من الحمض النووي تصيب حقيقيات النواة الميكروبية والحيوانات والبكتيريا. وفي بعض الحالات، تُعد جينوماتها مختلفة تمامًا عما يُعتبر «طبيعيًا» لدرجة أن البعض بدأ يعاود طرح السؤال القديم الذي يستفسر عن كيفية ارتباط الفيروسات بكاائنات خلوية.

في أوائل العقد الأول من القرن الحادي والعشرين، استطاع فريق من باحثين فرنسيين بقيادة جان-ميشيل كلافيري وديديه راءول أن يوصّفوا جينوم فيروس سُمّي الفيروس المحاكي. ويصيب هذا الفيروس، الذي استُخلص لأول مرة من أحد أبراج تبريد المياه في إنجلترا أثناء تفشّي الالتهاب الرئوي في عام ١٩٩٢، الأميبا وحيدة الخلية. ويشير اسمه إلى «الميكروب المحاكي»؛ إذ عُثر على الفيروس المحاكي، الذي يبلغ قطره حوالي ٠.٥ ميكرومتر، مستترًا بين بكتيريا بحجم مماثل أثناء إجراءات الترشيح. ودُهل الباحثون عندما اكتشفوا أنَّ جينوم الفيروس المحاكي طوله حوالي ١,٢ مليون زوج قاعدي، ويحوي ١٢٦٢ جينًا مشفّرًا للبروتين. وفي عام ٢٠١٣، حُدّد تسلسل جينوم فيروسي أكبر حجمًا يصيب الأميبات

علم الجينوم وعالم الميكروبات



شكل ٦-٢: تنوع الجينوم الفيروسي بالنسبة إلى البكتيريا والعتائق وحقيقيات النواة.

أيضاً، وكان ذلك هو جينوم الفيروس الذي سُمِّي فيروس باندورا في تسمية ملائمة مُعبرة عنه. يبلغ طول جينوم فيروس باندورا حوالي ٢,٥ مليون زوج قاعدي، ويحوي حوالي ٢٥٠٠ جين. وهذا أكبر بكثير من العديد من جينومات بدائيات النواة، وحتى من جينومات بعض حقيقيات النواة (انظر الشكل ٦-٢). وتجدر الإشارة إلى أنَّ حوالي ١٠ في المائة فقط من جينات الفيروس المحاكي وفيروس باندورا يُمكن أن تُنسب إليها وظائف مُفترضة بناءً على تشابه التسلسل فحسب.

إحدى السمات اللافتة في جينومات الفيروس المحاكي وفيروس باندورا هي وجود تسلسلات مشابهة لبروتينات الترجمة في بعض بدائيات النواة وحقيقيات النواة. وهذا أمر غير مسبوق ومحير؛ نظراً إلى أنَّ تلك الفيروسات ليس لديها ريبوسومات؛ ولذا فهي عاجزة عن تخليق البروتينات الخاصة بها. ومن الاكتشافات الأخرى الجديرة بالملاحظة أنَّ بعض الفيروسات العملاقة نفسها يُمكن أن تُصاب بفيروسات. إذ ثبت أن تلك

«العائيات الفيروسية» تؤثر سلبيًا في تكاثر الفيروسات العملاقة (مما يعود بالنفع على الأميبا المضيفة)، وهذا يُضفي معنىً بيولوجيًا جديدًا على عبارة «عدو عدوي صديقي». وهكذا فإنَّ رصد مثل هذه السمات، إلى جانب اكتشاف تداخل في الأحجام بين جينومات الفيروسات العملاقة وجينومات الكائنات الخلوية، قد غدَّى تكهنات بأن بعض الفيروسات العملاقة ربما تنتمي إلى نطاق رابع قديم من نطاقات الحياة لم يُعرف سابقًا. وإذا صح ذلك، أي: إذا كانت الفيروسات العملاقة تشكل بالفعل كيانًا تطوريًا متلاحمًا قائمًا بذاته، فيمكن أن نتوقَّع أنَّ جينات تلك الفيروسات توجد معًا على نفس الفروع في أشجار تطور السلالات.

غير أنَّ الوضع ليس هكذا في الأغلب. فمن بين الجينات التي يُمكن تحليل مراحل تطورها في جينومات الفيروس المحاكي وفيرس باندورا، توجد جيناتٌ كثيرةٌ مشابهة جدًا للجينات التي تحملها الأميبات والبكتيريا في الواقع. وهذا يتفق مع الفرضية القائلة بأنَّ جينوماتها «العملاقة» ناتجةٌ من توسُّع حديث؛ فربما أن الفيروسات العملاقة تطوَّرت من فيروسات ذات جينومات أصغر حجمًا عن طريق التقاط الجينات من الخلايا الحقيقية النواة التي تصيبها، ومن البكتيريا التي تعيش في البيئة المحيطة بها مباشرة. وما زال يوجد جدل دائر حول أيٍّ من هذين السيناريوهين يعكس الواقع بصورة أدق، ولكن إذا نظر المرء إلى الفيروسات ككلٍّ، يجد سوابق كثيرة لفكرة أن «الفيروسات تُعد نشالة للجينات». فعلى سبيل المثال، تشتهر جينومات العائيات الزرقاء — وهي عائية فيروسية تصيب البكتيريا الزرقاء — باحتوائها على جينات مرتبطة بالتمثيل الضوئي مستمدة من كائناتها المضيفة (فالعائية الزرقاء نفسها لا تمارس التمثيل الضوئي)، وبأنها تنقل تلك الجينات نقلًا متبادلًا بين سلالات بكتيرية مختلفة. فهل تنتمي الفيروسات إلى شجرة الحياة؟ لا تزال الإجابة غير محسومة، لكن الشيء الحتمي أنَّ الفيروسات «مرتبطة» ارتباطًا راسخًا بشجرة الحياة، وقادرة على نقل الجينات جيئةً وذهابًا من فرع إلى آخر. فما دامت توجد خلايا على وجه الأرض، توجد فيروسات تصيبها.

الميكروبيوم البشري

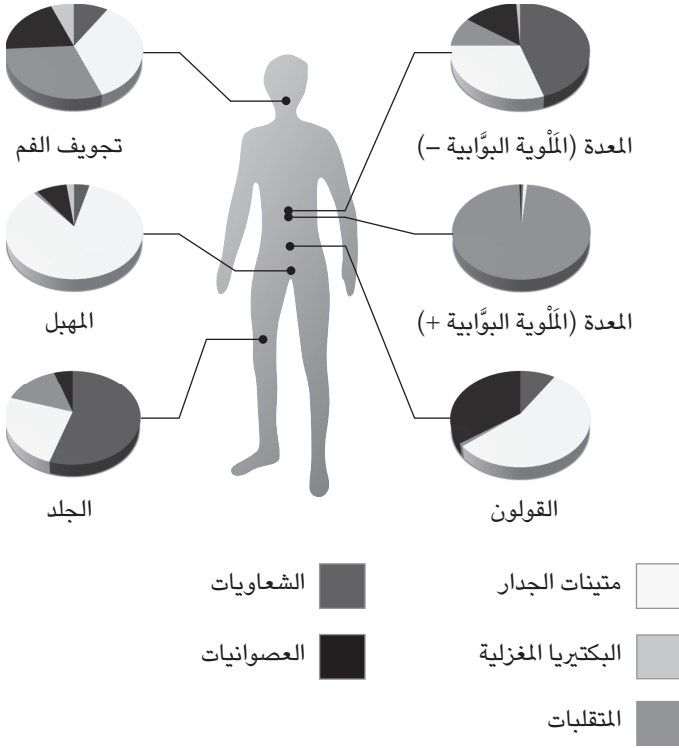
إذا ضربنا مثلاً برجلٍ وزنه ٧٠ كيلوجرامًا وطوله ١,٧ متر، نجد أن جسده مؤلَّف من حوالي ٣٠ تريليون خلية، منها ٢٥ تريليون خلية دم حمراء تقريبًا. وفي هذا الرجل نفسه، سيصل إجمالي عدد الخلايا البكتيرية إلى ما يقرب من ٣٩ تريليون خلية؛ وبهذا يزيد

عدد الخلايا البكتيرية على عدد الخلايا البشرية بنسبة مقدارها ١,٣ إلى ١ تقريباً. ليس من السهل أبداً حصر عدد العتائق وحقيقيات النواة الميكروبية التي تعيش على أجسادنا وداخلها؛ وبالرغم من تأثيرهما الواضح على صحتنا، فإن عدد البكتيريا يفوق عدد كليهما بعدة قيم أسية. وهذه أرقام استثنائية، خصوصاً إذا أخذنا في الحسبان أنها لا تشمل عدداً لا حصر له من الفيروسات التي تتغذى على الميكروبات المرافقة لنا. إن أجسامنا أنظمة إيكولوجية معقدة، ومثلها مثل أي بيئة طبيعية أخرى، فهي عُرضة للاضطراب.

وفي هذا الصدد، يجسّد مشروع الميكروبيوم البشري الأمريكي، الذي بدأ عام ٢٠٠٨، مثلاً نموذجياً لجهود مجتمع الأبحاث الطبية الحيوية الدولية الأشمل الساعية إلى فهم الدور الذي تؤديه الميكروبات المقيمة لدينا في الصحة والمرض. وقد ركّزت الجهود تركيزاً أساسياً على خمسة أماكن في جسم الإنسان، وهي: الجلد والفم والمهبل والأمعاء والأنف/الرئة. واستُخدم الحمض النووي الميكروبي الذي استُخرج من هذه الأماكن، والذي حُدّد تسلسله بطريقة التشظية باستخدام بعض تقنيات الجيل الثاني، من أجل البناء على دراسات سابقة اعتمدت على تفاعل البوليميريز المتسلسل في تحديد تسلسل جينات الحمض النووي الريبوزي، ولُحّت إلى التنوع المذهل الذي يمكن العثور عليه في هذه الأماكن من الجسم وغيرها من الأماكن. فعلى سبيل المثال، نعلم الآن أن ميكروبيوم الجلد يتألف من حوالي ألف نوع بكتيري مختلف ربما تنتمي إلى تسع عشرة شعبة مختلفة. ويهيمن على هذه المنطقة من جسم الإنسان، التي تصل مساحتها إلى حوالي مترين مربعين، أفراد من البكتيريا الشعاعية (بنسبة تتجاوز ٥٠ في المائة)، ثم بعض أفراد بكتيريا متينات الجدار بنسبة أقل (تبلغ حوالي ٢٥ في المائة) (انظر الشكل ٦-٣). ومع أن بكتيريا «المكورات العنقودية» المنتمية إلى شعبة متينات الجدار والمرتبطة بالجلد معروفة جيداً، فإنها لا توجد بكثرة؛ إذ لا تشكّل إلا حوالي ٥ في المائة من ميكروبيوم الجلد بناءً على تحليلات أجزاء مُضخّمة من الحمض النووي الريبوزي. (لاحظ أن عمليات النقل الجيني الأفقي والجينومات الشاملة (ارجع للفصل الخامس) يُمكن أن تجعل مسألة تعريف «الأنواع» البدائية النواة إشكالية صعبة؛ ففي علم الميتاجينوم، عادةً ما يُعرّف الباحثون الأنواع المختلفة بأنها كائنات حية تشترك في أقل من ٩٧ في المائة من تسلسلات جينات الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي.)

وتتمثل إحدى المعلومات الأساسية المستفادة من أبحاث الميكروبيوم البشري التي أُجريت على مرّ العقد الماضي في مدى تباين تركيب المجتمعات الميكروبية داخل الأفراد

علم الجينوم



شكل ٦-٣: الوفرة النسبية للبكتيريا وتنوعها على جسم الإنسان وداخله.

الأصحاء والمرضى وفيما بينهم. فعلى عكس ميكروبيوم الجلد، تُهيمن على ميكروبيوم الأمعاء البكتيريا اللاهوائية، التي ربما يصل عدد أنواعها إلى ٥٠٠ نوع إجمالاً، منها ثلاثون نوعاً بالأخص متوافرة بكثرة. وتنتج بعض من هذه البكتيريا فيتامينات مثل فيتاميني إتش وكه، ويُمكن أن تساعد في تحسين الكفاءة التي نهضم بها الأطعمة المشتقة من النباتات. ويرجع ذلك إلى أنها تنتج إنزيمات تحلل بعض الكربوهيدرات إلى أحماض دهنية نهضمها فيما بعدُ باستخدام إنزيمات تشفرها جيناتنا.

أظهر بحثٌ ميتاجينومي أجري حديثاً أنَّ بعض اليابانيين لديهم بكتيريا «العصوانية العامة» *Bacteroides plebeius* المرتبطة بالأمعاء، في حين أنَّ سكان أمريكا الشمالية

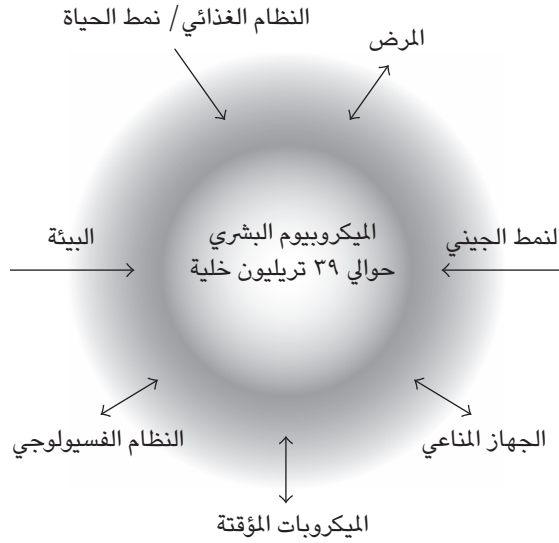
ليس لديهم هذا النوع. وهذه نقطة مهمة؛ لأنَّ جينوم هذا النوع تحديدًا يشفّر إنزيمًا قادرًا على تحليل مركبات عديد السكاريد المشتقة من الأعشاب البحرية. ومن الغريب أنَّ هذا الجين لا يوجد في أي بكتيريا أخرى غير البكتيريا العصوانية العامة سوى البكتيريا البحرية فقط. ولهذا اقترح أنَّ البكتيريا العصوانية العامة اليابانية قد اكتسبت هذا الجين «النافع» من عملية نقل جيني أفقي من بكتيريا بحرية بُلعت مع الأعشاب البحرية النيئة المستخدمة في تحضير السوشي.

وتمثل بكتيريا الملوية البوابية التي تعد إحدى المتقلبات مثالًا آخر على ميكروب مُوزع توزيعًا متقطعًا. فبالرغم من ربط هذه البكتيريا بالقرحة وسرطان المعدة، فإنَّ أكثر من ٨٠ في المائة من الحاملين لها لا تظهر عليهم أعراض. ولذا يحاول العلماء فهم مدى الدور الذي تؤديه بكتيريا الملوية البوابية في النظام الإيكولوجي «الطبيعي» للأمعاء. الواضح أنَّ بكتيريا الملوية البوابية متكيّفة بدرجة كبيرة مع الحياة في هذه البيئة الحمضية، وعند الإصابة بعدوى، تشهد الأمعاء انخفاضًا كبيرًا في مستويات بكتيريا متينات الجدار والبكتيريا الشعاعية. (ارجع للشكل ٦-٣). ويُمكن أن يكون هذا التغيير دائمًا. وقد ربط بعض الباحثين بين زيادة نسبة متينات الجدار المرتبطة بالجلد إلى البكتيريا الشعاعية ومرض الصدفية الجلدي، وكذلك اقترح وجود روابط بين السمّة وانخفاض نسبة بكتيريا العصوانيات إلى متينات الجدار.

وتجدر الإشارة إلى أنَّ إحدى الطُرُق التي حاول بها الباحثون الذين يدرسون الميكروبيوم أن يضبطوا قابلية الجينات البشرية للتباين هي دراسة التوائم. وبينما وُجد أنَّ التشابهات بين ميكروبيومات التوائم أحادية اللاقحة وبعضها أكبر من التشابهات الموجودة بين ميكروبيومات الأشخاص الذين لا تربطهم صلة، تبيّن على نحوٍ مثير للاهتمام أنَّ الاختلافات ليست كبيرة. ويتضح من التحليل الأيضي لبيانات ميتاجينومية باستخدام الأدوات المعلوماتية الحيوية أنَّ الوظيفة أهم من التصنيف. أي إنَّ الخصائص الأيضية العامة لمجتمع ميكروبي معين تكون أكثر ثباتًا فيما بين الأشخاص من ثباتها في تركيب الأنواع المستترة. ومن الواضح الآن أن مجموعةً معقدة من العوامل تُسهم في تأسيس الميكروبيوم البشري والحفاظ عليه على مدار حياة الإنسان (انظر الشكل ٦-٤). والهدف النهائي من البحث في هذا المجال هو إنشاء نقطة مرجعية لما يُعد ميكروبيومًا «طبيعيًا» لفرد سليم صحيًا. وحتى نصل إلى هذا الهدف، نحتاج إلى أن نُحسن فهمنا لمدى اختلاف الميكروبيوم وسبب اختلافه، وكيف يتغير تركيبه كلما تقدمنا في العمر، ومدى تأثر اختلاف

علم الجينوم

الميكروبيومات بالاختلافات في نمطنا الجيني ونظامنا الفسيولوجي. ولهذا يتزايد اعتبار أبحاث الميكروبيوم البشري ذراعاً مهماً لعلم الوراثة الطبية.



شكل ٦-٤: عوامل داخلية وخارجية تؤثر في تركيب الميكروبات ووفرته النسبية في الميكروبيوم البشري.

التنقيب البيولوجي في عصر علم الميتاجينوم

تُعرّف منظمة الصحة العالمية التنقيب البيولوجي بأنه «البحث المنهجي عن مصادر جديدة للمركّبات الكيميائية والجينات والكائنات الدقيقة والكائنات العيانية ومنتجات أخرى قيّمة من الطبيعة وتطويرها». وسرعان ما أصبح علم الميتاجينوم تقنيةً أساسية في هذا المجال التنافسي الذي يُعد أحد مجالات البحث التطبيقي. يجمع التنقيب البيولوجي، في ذروة مستوياته، بين المعلوماتية الحيوية واستراتيجيات تجريبية تتسم بإنتاجيتها العالية من أجل اكتشاف أنشطة كيميائية حيوية جديدة في مجتمعات ميكروبية. تسمح

تلك الاستراتيجيات التجريبية للباحثين بتجاوز التحدي المتمثل في التنبؤ الدقيق بوظائف الجينات من التسلسلات وحدها. بل إنَّ الباحث لا يحتاج في البداية إلى أي بيانات متعلقة بالتسلسلات؛ فكل ما يهم هو أنَّ جزء الحمض النووي البيئي س مرتبط بالنشاط ص. وعليه يمكن تحديد تسلسل الجين (أو الجينات) الكامن وراء النشاط في وقتٍ لاحق.

وتُعد الطريقة الأكثر استخدامًا لإجراء الغرلة القائمة على الوظيفة هي استخدام ما يُسمى بنواقل «التعبير». وتُستنسخ في هذه الطريقة أجزاء من حمض نووي بيئي مُكوَّنة نواقل تحتوي على تسلسلات، وعندما تُدمج هذه التسلسلات داخل كائن حي مضيف معين، ستحفَّزه على التعبير عن الجين (أو الجينات) الموجود على كل جزء. ويشيع استخدام بكتيريا الإشريكية القولونية كائنًا مُضيفًا في مثل هذه التجارب، ولكن توجد خيارات أخرى أيضًا تشمل جنس الخميرة الأحادي الخلية. ثم يحتاج المرء بعد ذلك إلى طريقة لغرلة كل البكتيريا المختلفة (والنُتف الصغيرة الخاصة بها من الحمض النووي البيئي) بحثًا عن النشاط أو البروتين أو الجين محل الاهتمام. وهنا كثيرًا ما تُمثل «القراءة» اكتشاف ناتجٍ أضي معين يمكنه الكشف عن وجوده بتغيير لون وسط النمو، على سبيل المثال. وبإجراء مقايسة قوية بما يكفي، يمكن غرلة نواتج البروتين الناتجة من كثير من بكتيريا الإشريكية القولونية في الوقت نفسه. فالمازاة ضرورية؛ إذ توجد العديد من التحديات التقنية المرتبطة بعملية الغرلة القائمة على نواقل التعبير، ومن المفيد للباحث تعظيم فرص الحصول على «نتيجة منشودة».

وتجدر الإشارة إلى أنَّ إمكانية التوصل إلى اكتشافات باستخدام مثل هذا النهج تُعد عظيمة. فعلى سبيل المثال، عندما أتى بعض الباحثين بجزئيات حمض نووي مستخرجة مباشرة من التربة — التي تُعد واحدة من أكثر المجتمعات الميكروبية التي عرفها العلم تنوعًا — وغربلوا بناءً على وظائفها، أسفر ذلك عن تمييز بروتينات جديدة كثيرة خاصة ببدايات النواة لها استخدامات مهمة في مجال التكنولوجيا الحيوية. وتشمل هذه البروتينات بعض إنزيمات هضم الدهون، التي تُستخدم في الصناعات الغذائية والمنظفات ومستحضرات التجميل، بالإضافة إلى إنزيمات تحمل خصائص مضادة للسرطان والميكروبات. وقد أنتجت بعض الفطريات البحرية إنزيمات مقاومة بطبيعتها لدرجات الحرارة والحموضة القاسية. ومن حيث المبدأ، فإن أي بيئة تزدهر فيها الميكروبات تُعد مصدرًا محتملاً لاكتشافاتٍ جديدة. فأحدى عمليات المسح الميتاجينومي التي أُجريت حديثًا على بكتيريا مرتبطة بالإنسان أسفرت عن اكتشافٍ مذهل عُثر فيه على جينات

مرتبطة بإنتاج المضاد الحيوي اللاكتوسيلين. بل أظهرت تجارب أُجريت فيما بعدُ أنَّ ما يُنتج اللاكتوسيلين بالفعل ميكروباتٌ تعيش في المهبل يُفترض أنها تتيح وقاية طبيعية من بعض مسببات الأمراض. وهكذا ربما يثبت الميكروبيوم البشري أنه مصدر غني، ومربح، بأدوية تحمل خصائص مضادة للميكروبات.

الموسوعة الجينومية

كثيرًا ما كانت القيود المالية والتقنية في الماضي تُحتم أن تكون الكائنات الحية التي يقع عليها الاختيار لتحديد تسلسل جينوماتها هي الأكثر قابلية للنمو بسهولة، وأن تكون ذات صلة بالطب الحيوي و/أو التكنولوجيا الحيوية. وفي هذا الصدد، تُعد الموسوعة الجينومية للبكتيريا والعناثق مشروعًا دوليًا طموحًا يهدف إلى التغلب على التحيزات التي تشوب عملية أخذ العينات، والتي كانت مهيمنة على أول خمسة عشر عامًا من عملية تحديد تسلسل الجينومات الميكروبية. ويشير باحثو الموسوعة الجينومية، بقيادة نيكوس كيربيدس من معهد الجينوم المشترك الأمريكي، إلى أنَّ نسبةً ما حُدِّد تسلسل جينوماته (أو ما زال قيد التحديد) من بين «سلالات الأصناف» البكتيرية والعناثقية — وهي أنواعٌ بدائية النواة مُسمَّاة ولها مُمثلٌ مزرورع — تبلغ حوالي ٣٠ في المائة فقط. ومن ثم، تهدف الموسوعة الجينومية إلى رَأب الفجوات بتحديد تسلسل جينومات بدائيات النواة حسب انتمائها التصنيفي، وليس حسب صلتها العملية القصيرة الأمد.

تتمثل الغاية الرئيسية التي ترمي إليها الموسوعة الجينومية في «تحديد تسلسل جينوم نوع واحد على الأقل يُمثل كل الأنواع البكتيرية والعناثقية التي نُشر اسمها صحيحًا»، التي يبلغ عددها الإجمالي ١١ ألف نوع. ومع أنَّ مشروع الموسوعة يبدو طموحًا، فإنه يتحلَّى بواقعية متزايدة نظرًا إلى التطور السريع الذي تشهده تقنيات تحديد التسلسل والإمكانات المعلوماتية الحيوية. ولأنَّ كل عام يشهد تسمية مئات الأنواع البكتيرية الجديدة، فإنَّ خط النهاية الذي تركض صوبه هذه الجهود يتحرك باستمرار. وبالرغم من ذلك، فمن المؤكَّد أنَّ نهجًا من نوعية الموسوعة الجينومية يسعى إلى توثيق تنوع بدائيات النواة سيقدم إسهامات دائمة لكلِّ من البحث الأساسي والتطبيقي. وما سيكون مهمًّا بالأخص هو دور الموسوعة الجينومية في تقديم نقطة مرجعية شاملة لتفسير البيانات الميتاجينومية؛ مما يسمح للباحثين بتحسين فهمهم للمجموعات الجينية الموجودة في مختلف الكائنات الحية التي تعيش في مواطن متنوعة.

لا توجد حالياً موسوعة جينومية لحقيقيات النواة الميكروبية على غرار الموسوعة الجينومية للبكتيريا والعتائق، ولكن ينبغي أن تتوفر واحدة. ضع في حسابك أن عدد جينومات ذبابة الفاكهة التي حُدَّت تسلسلها حتى الآن أكبر من كلِّ ما حُدَّت تسلسله من جينومات الطلائعيات الجذرية، وهي مجموعة متنوعة تنوعاً استثنائياً من حقيقيات النواة يعود تاريخها في السَّجل الحفري إلى أكثر من نصف مليار سنة. وتجدر الإشارة إلى أنَّ الطلائعيات الجذرية تشمل المنخربات، وهي حقيقيات نواة أحادية الخلية، يعتمد عليها قطاع النفط اعتماداً كبيراً في تحديد التاريخ الذي ترجع إليه الرواسب، وكذلك تشمل مجموعة واسعة من الأميبات المعروفة بدورها المهم في نظام التربة الإيكولوجي، والشعاعيات التي تُعد طلائعيات بحرية وفيرة ذات هياكل معدنية اشتهرت من رسومات إرنست هيكل في مطلع القرن الماضي. ترتبط الطلائعيات الجذرية أيضاً بالسوطيات المتغايرة (التي تشمل الدياتومات في البحر التي تُنتج حوالي ٥٠ في المائة من أكسجين العالم)، والطلائعيات السناخية التي تعد خليطاً متنوعاً من طُفيليات وكائنات حية غير طفيلية (ارجع للشكل ٥-٦). وتجدر الإشارة إلى أنَّ الطلائعيات الجذرية مجرد مجموعة واحدة من بين مجموعات كثيرة من الطلائعيات لم تُدرَس بالقدر الكافي؛ فمجموعات المزارع تزخر بطلائعيات تمارس التمثيل الضوئي وأخرى لا تمارسه، وكثيرٌ منها لم يُحدَّد تسلسل جينات أحماضه النووية الريبوزية الريبوسومية قَط، فضلاً عن تسلسل جينوماته.

غير أنَّ حقيقيات النواة الميكروبية ليست مُهملة إهمالاً تاماً، بل العكس. فانطلاقاً من جينوم الخميرة الأول الذي نُشر في عام ١٩٩٦، أصبح مجال جينوم الفطريات المقارن مجالاً ناضجاً جداً يحتوي على مئات التسلسلات المكتملة، وقد استفادت علوم الطب الحيوي استفادةً عظيمة من العشرات والعشرات من الجينومات المُحدَّد تسلسلها الخاصة ببعض مسببات الأمراض مثل طفيل المتصورة المسببة للملاريا، والمثقبيات التي تُسبب داء النوم الأفريقي وداء شاجاس. وكذلك ينصبُّ تركيزٌ خاص على دراسة جينومات الطحالب الدقيقة. ومع استمرار تحسين الطرق المتبعة في تحديد تسلسل الجينوم وتجميعه، سنعرض في النهاية سعيًا منهجياً مدفوعاً بدراسة التصنيف نحو استكشاف التنوع الجينومي لحقيقيات النواة الميكروبية. فمستوى التنوع الجيني والبيولوجي الخلوي لدى الطلائعيات قُدِّر أنه يضاهي، أو يفوق، مستوى التنوع لدى كل الممالك الحيوانية والنباتية مُجتمعةً. وبذلك سيتوجَّب بذلُ جهودٍ متضافرة لسدِّ تلك الفجوات المعرفية الضخمة. وهذا سيُثَمِّر إطاراً أقوى بكثير لتفسير الكمية الهائلة من البيانات الميتاجينومية وبيانات جينومات الخلايا المفردة الناتجة من أجهزة تحديد التسلسل في المختبرات في مختلف أنحاء العالم.

الفصل السابع

مستقبل علم الجينوم

«ما يُعد خيالاً اليوم سيصير واقعاً في الغد.» تنطبق هذه العبارة المتداولة بسلاسة على علم الأحياء الجزيئية وعلم الجينوم. وفي هذا الفصل الأخير، سنستكشف بعض الطرق التي سيُواصل بها علم الجينوم توسيع حدود آفاق المعرفة البشرية، وتغيير عالمنا وطريقة تفاعلنا معه. وقد أثّرت بالفعل قضايا أخلاقية وقانونية واجتماعية مهمة. فمن يمتلك تسلسل جينومك ومن له حق الاطلاع على المعلومات التي يحويها؟ هل ينبغي أن يقر القانون «تصميم» أطفال بتعديل الحمض النووي للأجنة البشرية؟ وهل ينبغي إعادة أنواع منقرضة إلى الحياة وإطلاقها في البيئات البرية الطبيعية؟ مع تزايد شيوع الطب الشخصي وطب الإنجاب القائمين على علم الجينوم، لن تبقى مثل هذه الأسئلة مجرد أسئلة افتراضية بعد الآن.

جينومات عند الطلب، وبأبعاد ثلاثية

بحلول الوقت الذي ستقرؤون فيه هذا الكتاب، ستكون بعض المعلومات التي يحتوي عليها قد أصبحت قديمة بالفعل. وبالرغم من استحالة التنبؤ تنبؤاً دقيقاً بالحالة التي ستصل إليها عملية تحديد تسلسل الجينوم في المستقبل وكيفية وصولها إليها، توجد ثلاثة اتجاهات عامة واضحة، وهي أن أجهزة تحديد تسلسل الحمض النووي في المستقبل ستكون أصغر وأسرع وأدق. فيما يخص الحجم، فالمستقبل بات بين أيدينا بالفعل. إذ أعلنت شركة أكسفورد نانوبور تكنولوجيز، التي طوّرت جهاز مين أيون الذي يساوي حجمه حجم الجيب (ارجع للشكل ٢-٣)، مؤخراً عن جهاز سميّدج أيون، وهو جهاز بحجم الإبهام لتحديد التسلسل سيُتاح توصيله بهاتفك الذكي. وصحيح أن إمكانات هذا

الجهاز ما زالت غير واضحة، ولكن إذا كان النضج السريع لعملية تحديد التسلسل بجهاز مين أيون مؤشراً لأي شيء، فقد يُمثل ذلك الجهاز الجديد تطوراً فارقاً يقلب الأوضاع. غير أن سهولة حمل مثل هذه الأجهزة شيء، والقدرة على تحضير عينات الحمض النووي سريعاً شيء آخر، وهذا العامل ما زال مفقوداً حتى الآن. لذا تعمل شركة أكسفورد نانوبور تكنولوجيز على ذلك أيضاً. فالآونة الحالية تشهد ابتكار أدوات وكواشف جديدة يُمكن استخدامها ميدانياً خارج المختبرات، وستُتيح الانتقال من العينة البيئية وصولاً إلى مرحلة تحديد تسلسل الجينوم في غضون دقائق. وعليه فالإمكانات لا حصر لها. تخيل أنك تقتفي مسار تفشي مريض مُعدٍ اقتفاءً أنياً، أو أنك تُراقب جناحاً بالمشفى في مكانه الفعلي لرصد انتشار بكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية، أو تقيم تقدّم بكتيريا مُهندسة وراثياً في محطة لمعالجة مياه الصرف الصحي.

وبالعودة إلى التنبؤ بمستقبل تحديد تسلسل الجينوم داخل المختبرات، فإنّ وتيرة تحديد تسلسل الجينوم ستصبح أسرع فأُسرع. وستظل أطوال قراءات تسلسل الحمض النووي تزداد إلى أن يصبح من المعتاد قراءة التسلسل من أحد طرفي الكروموسوم إلى الطرف الآخر. وستتلاشى مشكلة تجميع الجينوم. وكذلك سيُمكن تحديد تسلسلات جينومات خلايا مفردة مأخوذة من أي مكان وكل مكان وتسلسلات ترانسكربتوماتها بدقة عالية. فالإمكانات في هذا الصدد أيضاً لا سقف لها. إذ سيُمكن تحديد تسلسل الحمض النووي الريبوزي مباشرةً دون الحاجة إلى تحويله أولاً إلى حمض نووي (في الواقع، يستطيع جهاز مين أيون أن ينجز تلك المهمة بالفعل). وسيعود تحديد تسلسل البروتينات بقوة؛ فمن حيث المبدأ، يمكن تحديد تسلسل أي مادة بوليميرية يمكن تمريرها خلال مسام نانوي، بما في ذلك سلاسل الأحماض الأمينية التي تتكون منها بروتيناتنا. وقد نستغني في النهاية عن الاستعانة بالمسامات النانوية، ونلجأ بدلاً من ذلك إلى استخدام مجاهر إلكترونية ذات قدرة عالية ومدربة على تحديد تسلسل الجزيئات المفردة بدقة ذرية. وتجدر الإشارة إلى أن بذور هذه التكنولوجيا قد نُثرت بالفعل.

وفضلاً عن ذلك، سيصبح لدينا فهمٌ شامل للجينوم في ثلاثة أبعاد. فعلى مرّ العقد الماضي، قدّمت الأبحاث التي تركز على الموضوعات المشتركة بين علم الجينوم والفحص المجهرى نظرةً عميقة على بيولوجيا الكروموسومات في الخلايا الحية، لكن علماء الجينوم (بمن فيهم أنا) ما زالوا يميلون إلى اعتبار الجينومات كيانات خطية عقيمة. وهذا أبعد ما يكون عن الحقيقة. وفي هذا الصدد، يُعد فهم طبيعة التفاعلات الطويلة المدى بين

مناطق كروموسومية مختلفة عاملاً رئيسياً لفهم الكيفية التي تُنشّط بها الجينات وتُتَبَّط في الخلايا الطبيعية والخلايا السرطانية. ومن المهم أيضاً فهم التفاصيل العملية الأساسية التي تنطوي عليها عمليات أساسية مثل انقسام الخلايا وإعادة الاتحاد الجيني. وهكذا فإن الجينوم سيصبح كياناً حياً في بيولوجيا الخلايا في المستقبل.

وسوف يتسنى لنا تحديد تسلسل «الجينوم البشري» كاملاً حتى آخر زوج قاعدي فيه. وسيتحقّق ذلك بالجمع بين أحدث الطرق وأعلىها إنتاجيةً والتفكير التقليدي المتعلق بـ «الخرائط الفيزيائية»، وهذا بمثابة توازٍ بين الاستراتيجيات المتنافسة التي حدّدت أول سباق نحو تحديد تسلسل الجينوم البشري. وبذلك سيُحدّد تسلسل جينومك وجينومي، إذا شئنا. وهكذا فإنّ التحدي الأصعب الذي سيواجه علم الجينوم في المستقبل هو معرفة ما ينبغي فعله بكل هذه البيانات التي ستتوفر.

الحمض النووي باعتباره جهاز تخزين

احتاج جوناثان روثبرج في عام ٢٠١١ إلى شخصٍ مميز يُجَرَّب عليه تقنيته الجديدة التي ابتكرتها شركة أيون تورنت. فاستعان بجوردون مور، الذي شارك في تأسيس شركة الإلكترونيات العملاقة إنتل، وقد كان هذا اختياراً مناسباً من عدة جوانب. إذ إنّ «قانون مور» ينص على أنّ عدد الترانزستورات التي يُمكن حشرها في دائرة متكاملة يتضاعف كل ثمانية عشر شهراً تقريباً. وهذا يحدث منذ منتصف ستينيات القرن العشرين. ولكن مع الأسف، شارفت هذه الزيادة المنتظمة في أداء الإلكترونيات على النهاية. ففي ظل استخدام التكنولوجيات الحالية القائمة على السيليكون، تضع قوانين الفيزياء حدّاً أقصى على كثافة الترانزستورات. وما زالت الحلول المحتملة لهذه المشكلة، مثل ابتكار أجهزة كمبيوتر كمية، محصورة في إطار الخيال العلمي. ولكن ماذا عن الحمض النووي؟ هل يُمكن تحويل وحدات البت والبايت التي يتكون منها عالمنا الرقمي إلى قواعد أدينين، وسايروسين، وجوانين، وثيامين، بغرض تخزين البيانات؟

تحقّق ذلك بالفعل. ففي عام ٢٠١٢، نشر جورج تشيرش، الباحث الرائد في مجال علم الجينوم من جامعة هارفرد وصاحب التنبؤات المستقبلية المثيرة للجدل، كتاباً بعنوان «الإحياء» يستكشف فيه بصحة المؤلف المشارك — إد ريجيس — الحياة في عصر الهندسة الوراثية. وفي نهاية الكتاب، يوضح تشيرش كيف حوّل نسخة رقمية من محتوى الكتاب (المؤلف من ٥٣٤٢٦ كلمة وإحدى عشرة صورة) إلى لغة الحمض النووي. إذ أُعيد

تشفير جميع أرقام الواحد والصفّر ورُكِّبت في صورة عدة آلاف من سلاسل قصيرة (١٥٩ نيوكليوتيدة) من الحمض النووي مرتبطة برقائِق دقيقة. ثم ضُخَّ «الكتاب» بتفاعل البوليميريز المتسلسل، و«قُرئ» تسلسله على أحد أجهزة إلومينا المُستخدَمة في تحديد تسلسلات الحمض النووي. وحينئذٍ اكتُشفت عشرة أخطاء.

أما نيك جولدمان وزملاؤه، من المعهد الأوروبي للمعلوماتية الحيوية في المملكة المتحدة، فقد استخدموا الحمض النووي من أجل تخزين صور وسونيات شكسبير والورقة البحثية الشهيرة التي ألفها واطسون وكريك عن البنية اللولبية المزدوجة للحمض النووي، مستعينين في ذلك باستراتيجية مختلفة لإعادة التشفير. وصحيح أنّ تشيرش وجولدمان وزملاءهما ليسوا أوّل من خزّن بيانات في الحمض النووي — إذ تحقّق ذلك لأول مرة في عام ١٩٨٨ — لكنهم هم الأبرز بين مجموعة طموحة من العلماء تُوسّع حدود الممكن. هذا وتسير وتيرة التطور بخطى سريعة. فباستخدام استراتيجية تخزين تُسمّى «نافورة الحمض النووي»، استطاع يانيف إرليتش ودينا زيلينسكي، من مركز جينوم نيويورك، مؤخراً أن يشفّرًا نظامًا كاملاً من أنظمة تشغيل الكمبيوتر وفيلمًا (يصل حجمه إلى حوالي ٢ ميجابايت من البيانات المضغوطة) في حمض نووي بكثافةٍ مقدارها ٢١٥ بيتابايت في كل جرام من الحمض النووي. ثم فُكّ تشفيره بدقة تامة بواسطة عملية تحديد التسلسل بتقنية إلومينا.

وصحيح أنّ كل هذا باهر، ولكن توجد تحديات جسيمة يجب التغلب عليها قبل أن يسود استخدام الأقراص الصلبة القائمة على الحمض النووي. وأكبر تلك التحديات هو عملية تخليق الحمض النووي التي تكلف مبالغ طائلة وتتسم ببطء شديد في الوقت الحالي. فتخليق أجزاء الحمض النووي البالغ عددها ٧٢ ألف جزء المستخدمة في تجربة إرليتش وزيلينسكي يتكلف ٧ آلاف دولار (إلى جانب إنفاق ألفي دولار آخرين على تحديد التسلسل). وحتى لو كان تخليق الحمض النووي رخيصاً، فإنّ أسرع أجهزة تخليق الحمض النووي لا يمكنها إنتاج الجزيئات بالسرعة الكافية لتكون مفيدة في تخزين البيانات على نطاقٍ تجاري.

وكذلك توجد مشكلة استرجاع البيانات. فإذا كانت ملفات بياناتك مخزّنة في حمض نووي، فكيف يمكنك الوصول إلى الملفات التي تريدها فقط، مثلما يمكنك الوصول إليها على جهاز الكمبيوتر الخاص بك، دون أن تُضطر إلى استرداد كل الملفات (أي: تحديد تسلسلها كلها في هذه الحالة) في الوقت نفسه؟ إحدى الطرُق التي حقّقت نجاحاً بالفعل هي وسم

كل ملف بباركود فريد أثناء تخليق الحمض النووي. وباستخدام بعض بادئات تفاعل البوليميريز المتسلسل المُصمَّمة خصوصاً لوسوم محددة، يمكن للمرء تضخيم الملفات التي يريدها فحسب وتحديد تسلسلها. غير أنَّ تفاعل البوليميريز المتسلسل يستغرق وقتاً ومُعْرض للخطأ. وفي الوقت الحالي، يُظهر الحمض النووي مؤشرات واعدة بأنَّ استخدامه كوسطٍ لأرشفة البيانات على المدى الطويل سيكون أنجح من استخدامه لتخزينها فترةً قصيرة. وبصرف النظر عن النهج المُستخدَم لكتابة الحمض النووي وقراءته، يجب أن يكون قادراً على اكتشاف الأخطاء التي تسببها إنزيمات الطبيعة المعيبة وتصحيحها. وما زال عصر الحمض النووي الرقمي (إذا انتهى المطاف إلى وجوده) بعيد المنال. إذ يلزم إجراء ملايين التحسينات في حجم عملية تخليق الحمض النووي وسرعتها، إذا كان مقدراً لها أن تصبح حلاً عملياً لمشكلة تخزين بيانات العالم المتزايدة. ولكن تجدر الإشارة إلى أنَّ تكلفة تحديد تسلسل الحمض النووي قد انخفضت بمقدار مليوني مرة منذ عام ٢٠٠٣، وهي وتيرة تتجاوز قانون مور. ولتضع في حُسبانك أنه يُمكن نظرياً، عند كثافة قصوى مقدارها وحدتاً بت في كل نيوكليوتيدة، تخزين كل بيانات العالم في كيلوجرام واحد فقط من الحمض النووي. هذا يعني كثيراً من الحمض النووي، ويعني كذلك كثيراً من البيانات! ومن ثَم، فليس صعباً أن نتصور مستقبلاً تزر فيه مراكز أرشفة البيانات في العالم برقائق مصنوعة من الحمض النووي بدلاً من الأقراص الصلبة التي تستخدمها أجهزة الكمبيوتر.

جينومات مُحررة — إعادة كتابة كتاب الحياة

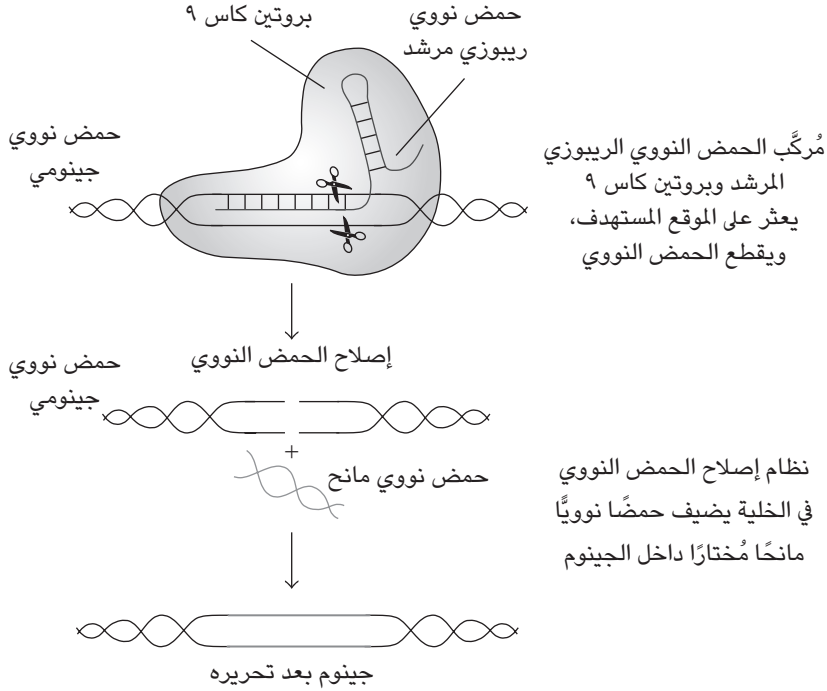
أحد الجوانب المثيرة للإعجاب في تخزين البيانات القائم على الحمض النووي أنَّ الأدوات متوفرة في كل مكان حولنا. وعند تخزين البيانات كما ينبغي، ستصبح متاحة للأجيال القادمة باستخدام إنزيمات الأنظمة البيولوجية الخاصة بمعالجة المعلومات (وحتى لو تفتت الحمض النووي، فقد أظهرت الأبحاث التي أُجريت على الحمض النووي القديم أنَّ الحمض النووي المفتت بشدة يُمكن أن يظل قابلاً للقراءة). فمجال التكنولوجيا الحيوية تأسس على عطاء الطبيعة. فالإنزيمات المُستخدَمة لأول مرة، في سبعينيات القرن العشرين، لقطع الحمض النووي من كائنات مختلفة وتضفيره معاً مشتقة أصلاً من بكتيريا، و«وظيفتها الأساسية» هي تدمير الأحماض النووية الفيروسية الدخيلة. وكذلك فإنزيم البوليميريز «تاك» المُستخدَم في إجراء التضخيم بتفاعل البوليميريز المتسلسل

مُشتق أصلاً من بكتيريا المستحرة المائية، التي تعيش عند درجة حرارة ٧٠ درجة مئوية في الينابيع الحارّة بحديقة يلوستون الوطنية. وكما تعلّمنا في الفصل السادس، أصبح علم الميتاجينوم أداة فعّالة لتسخير الإمكانيات الكيميائية الحيوية الكامنة في العالم الطبيعي. يُعرف أحد أكثر التطورات الحديثة إثارةً في الأبحاث الطبية الحيوية باسم تقنية «كريسبر»، (بالإنجليزية CRISPR التي تشير إلى الحروف الأولى من العبارة Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats؛ أي: «التكرارات العنقودية المتناظرة القصيرة المنتظمة التباعد»). وتوجد هذه التكرارات طبيعياً في جينومات البكتيريا والعناق، حيث تشكل جزءاً مما يوصف بأنه نظام مناعي بدائي النواة. وقد أسفر توضيح بيولوجيا هذه التكرارات العنقودية والبروتينات المرتبطة بها (المعروفة باسم بروتينات كاس) عن ابتكار تقنية فعّالة لتحرير الحمض النووي على يد إيمانويل شاربنتييه، وجينيفر داودنا، وفينج جانج. وفي الواقع، فتقنية كريسبر تُعد واحدة من بين عدة طرق لتحرير الحمض النووي ابتُكرت في السنوات الأخيرة، لكنها تمتاز بأنها أسرع وأكثر مرونة وأدق من التقنيات الأخرى؛ ولذلك أصبحت الأداة المفضّلة. (لا عجب في أنّ ساحات القضاء شهدت معركة قانونية شرسة من أجل اقتناص الحق في الحصول على براءة اختراع لتقنية كريسبر.)

تجدر الإشارة إلى أنّ تكرارات كريسبر وبروتينات كاس في بدائيات النواة قد تطورت معاً لتفتت الأحماض النووية الدخيلة التي تهاجم الخلية. ويتحقق جزء من ذلك بإنتاج جزيئات صغيرة من الحمض النووي الريبوزي مشتقة من تكرارات كريسبر تساعد في استهداف الحمض النووي الدخيل لتدميره بإنزيمات بروتينات كاس. أمّا في المختبر، فقد استغلّ الباحثون هذا التأثير التعاوني المشترك بين تكرارات كريسبر وبروتين كاس ٩ لتحرير جينوم عند الرغبة (انظر الشكل ٧-١). فأولاً، يُصنّع حمض نووي ريبوزي «مرشد» مُخلّق يتطابق تسلسله مع الموقع المحدّد الذي يُراد تحريره في الجينوم (الموقع المستهدف). ثم يأتي إنزيم كاس ٩ المرتبط بالحمض النووي الريبوزي المرشد ليقطع الموقع المستهدف على شريطي الحمض النووي كليهما. وأخيراً، تُضيف بروتينات إصلاح الحمض النووي الطبيعية في الخلية حمضاً نووياً «مانحاً» يوفره المستخدم إلى موقع القطع. ويمكن إضافة أي حمض نووي مُراد إلى أي مكان تقريباً في الجينوم.

ومع أنّ تقنية التحرير الجيني «كريسبر-كاس ٩» ما زالت جديدة تماماً، فقد استُخدمت بالفعل في مجموعة متنوعة من تطبيقات الأبحاث الأساسية والتطبيقية. وأثارت ضجة احتفالية وجدلاً معاً. فعلى سبيل المثال، استُخدم النظام لإصلاح طفرات

مسببة للأمراض في الفئران. ونفذ ذلك بحقن مكونات «كريسبر-كاس ٩» المنشودة داخل جنين في مراحله المبكرة أو زيجوت (بويضة مُخصَّبة).



شكل ٧-١: تحرير جينوم باستخدام تقنية «كريسبر-كاس ٩».

فور تحرير الحمض النووي، يظل التغيير دائماً إلى الأبد؛ فيتطور الكائن الحي حاملاً التسلسل المعدل في جينومه وينقله إلى الأجيال القادمة. وتشهد المختبرات كذلك تحرير جينومات الخلايا البشرية باستخدام تقنية «كريسبر-كاس ٩». غير أنَّ أحد التحديات والشواغل الرئيسية التي تواجه هذه التقنية هي مسألة حدوث تعديلات خارج الموقع المستهدف. صحيح أنَّ نظام «كريسبر-كاس ٩» كُفَّ للغاية في إجراء عمليات التحرير المنشودة في الموقع المستهدف، ولكن يُمكن أن تحدث كذلك تغييرات غير مقصودة في أماكن

أخرى من الجينوم. وهذا شيء غير مرغوب فيه، وقد يُشكّل خطورة، حسب طبيعة التطبيق الذي تُستخدم فيه التقنية. لذا يستكشف الباحثون طرقًا متنوعة للحد من هذه المشكلة إلى أدنى درجة على أمل القضاء عليها تمامًا. ومع وضع كل العوامل في الحُسبان بوجه عام، فإنَّ تقنية «كريسبر-كاس ٩» تُظهر مؤشرات واعدة على إمكانية استخدامها بنجاح للعلاج الجيني والعلاج بالخلايا الجذعية. ولكن لأسباب متعلقة بالسلامة والأخلاقيات، توجد مخاوف من استخدام تقنية «كريسبر-كاس ٩» لتحرير الزيجوت البشري.

علم الأحياء التخليقي

يوجد عند مُلتقى علم الأحياء بالهندسة مجال سريع التقدم يُسمَّى علم الأحياء التخليقي. فتصميم الخلايا وأجزاؤها وتعديلها وحتى تجميعها من جديد يتطلب نهجًا اختزاليًا وعقلانيًا ومعياريًا. وكما هو متوقع، فإن علم الأحياء التخليقي مبنِي على التطورات التي شهدتها علم الأحياء الجزيئي طوال عقود، ويستفيد من أحدث الأدوات مثل تقنية «كريسبر-كاس ٩». غير أنَّ ذلك المجال طوّر لغةً خاصة به، مستلهمًا ذلك من الهندسة الكلاسيكية. إذ يُطلق على الوحدات الأساسية لعلم الأحياء التخليقي اسم «أجزاء اللبنة الحيوية»، وهي تسلسلات حمض نووي تحتوي على عناصر وظيفية مثل جينات مشفرة للبروتين والمحفزات التي تنظم عملية التعبير عن هذه الجينات. وهذه الأجزاء محدودة من عند حوافها بمناطق مُعرّفة يُمكن للإنزيمات هضمها؛ مما يسمح للباحثين بإضافتها داخل نواقل استنساخ بكتيرية وخلطها ومطابقتها من أجل بناء «أجهزة». وهذه الأجهزة عبارة عن مجموعاتٍ من أجزاء لبنات حيوية جُمعت لتنفيذ وظيفةٍ معينة داخل الخلايا. ثم تُدمج الأجهزة في «أنظمة» يمكنها أن تُؤدِّي مجموعات أكبر من المهام البيولوجية للخلايا.

وتُسلّط مجالات كثيرة في علم الأحياء التخليقي (ولكن ليس كلها) تركيزًا كبيرًا على توحيد المقاييس والعلوم «المفتوحة المصدر». ويتجسد هذا التركيز في المسابقة الدولية للآلات المُهندسة وراثيًا، التي تُعقد سنويًا في بوسطن. وقد توسّعت هذه المسابقة على مرّ العقد الماضي لتشمل مُشاركين من مختلف أنحاء العالم، من بينهم طلاب في المدارس الثانوية والجامعات. وتتمثل أهداف المسابقة في تعزيز الوعي بعلم الأحياء التخليقي والاهتمام به، مع إنتاج أجزاء لبنات حيوية موحّدة لمصلحة المجال ككل في الوقت نفسه. ووسط هذه الأهداف المُهمّة بالمجتمع، تُجرى أبحاث تطبيقية في الأوساط الصناعية، وكثيرًا ما تكون بالتعاون مع علماء في مختبرات أكاديمية.

ومن أكثر الاستخدامات إثارةً بين تطبيقات علم الأحياء التخليقي هندسة الخلايا وجعلها بمثابة «مصانع» لإنتاج مركبات حيوية مفيدة للعلم والمجتمع. ومن حيث المبدأ، يمكن تحقيق ذلك باستراتيجيتين مختلفتين؛ إحداهما «تصاعدية متدرجة من أسفل إلى أعلى»، والثانية «تنازلية متدرجة من أعلى إلى أسفل». تبدأ هذه الطريقة الثانية بخلايا طبيعية، وتسعى إلى تعديل تكوينها الجيني تدريجياً. وكان أحد إنجازاتها الفارقة ابتكار نظام لإنتاج عقار الأرتيميسينين المضاد للملاريا. ويُعد المركب المُبتكر واحداً من التربينويدات، ويوجد طبيعياً في نبات الشيح الحولي، الذي يُستخدم في الطب الصيني التقليدي؛ صحيح أنه يُمكن استخراج هذا المركب من مصدره مباشرة، ولكن يتم هذا بصعوبة بالغة وتكلفة باهظة. وقد استطاع أستاذ علم الأحياء التخليقي جاي كيسلينج وبعض زملائه إعادة هندسة المسارات الأيضية للإشريكية القولونية، ثم الخميرة بعدئذٍ، لإنتاج الأرتيميسينين في المختبر. وتشمل الأمثلة الأخرى الحديثة على «الهندسة الأيضية» استخدام الخميرة لإنتاج الإيزوبوتانول كوقود حيوي، واستخدام الإشريكية القولونية لتخليق مركبات طليعية كيميائية تُستخدم في إنتاج ألياف الاسباندكس الصناعية، واستخدام البكتيريا الوندية لإنتاج أحماض أمينية لأغراض تجارية مثل حمض اللايسين. وصحيح أن الهندسة الأيضية بالنهج التنازلي تحمل إمكاناتٍ كامنة هائلة، لكنها تستلزم عملاً شاقاً أيضاً. فالخلايا الحية شديدة التعقيد لدرجة أن عملية إيصال «مصنع خلايا» جديد إلى مرحلة يمكن فيها استخدامه لإنتاج مركب كيميائي مهم على نحو فعال ومُجدٍ اقتصادياً، قد تستغرق فترة تتراوح بين خمس سنوات وعشر، وتتكلف عدة ملايين من الدولارات (إذ استغرق إنتاج الأرتيميسينين عشرة أعوام، وتكلف حوالي ٥٠ مليون دولار أمريكي). وتجدر الإشارة إلى أن الاكتفاء بإدخال الجينات الصحيحة في جينوم كائن مُستخدم بكثرة في التجارب المخبرية ليس كافياً؛ فالعمل الذي أنجزه كيسلينج يؤكّد أهمية اتباع دورة «التصميم، فالبناء، فالاختبار، فالتعلم» التي يألّفها المهندسون كثيراً. وفي حالة الهندسة الأيضية، غالباً ما يتوجب تكرار الدورة مراراً من أجل تحقيق النتيجة المرجوة. لكن وتيرة التقدم تتسارع، وتساعدنا على ذلك مجموعة متنامية من أدوات علم الأحياء التخليقي والمعرفة المكتسبة عن طريق التجربة والخطأ.

وكذلك فإن الطرق التصاعدية في علم الأحياء التخليقي صعبة بالقدر نفسه. يمكننا نظرياً أن نبني إحدى الخلايا قطعةً بقطعة واضعين نتيجةً محدّدة في حُسباننا دون التقيد بـ «الفوضى» المتأصلة في الحياة. ولكن لأنّ الخلايا تطورت بالانتقاء الطبيعي، فحتى أبسط

الخلايا لديها دوائر جينية معقدة، وكثيراً ما تكون زائدة عن الحاجة، وربما تكون ذات صلة بأغراض الباحث أو لا، لكنها مع ذلك يجب أن تؤخذ في الاعتبار. وفي هذا الصدد، دمج كريج فينتر وزملاؤه بين طرق تصاعدية وأخرى تنازلية في بحثهم الذي أجروه على ما قد يوصف بأنه «أبسط» كائن حي معروف، وهو بكتيريا تُسمى الميكوبلازما. ففي عام ١٩٩٩، استخدموا تقنية تعطيل الجينات ليتنبَّأوا بأن أقل عدد من الجينات يحتاج إليه الكائن الحي ليبقى حياً يبلغ حوالي ٣٧٥. وفي عام ٢٠١٦، خلَق فينتر ورفقة من الباحثين الآخرين نسخة جينوم كائن حي مُعاد ترتيبها من الصفر في المختبر، واستخدموها بنجاح لـ «تشغيل» خلية ميكوبلازما قد أزيل جينومها الأصلي.

لكن حتى بكتيريا الميكوبلازما كائنٌ معقدٌ يحمل مئات الجينات. وتُعدُّ النهج التصاعدية المتبعة في علم الأحياء التخليقي أشبه بالكيمياء العضوية. فهي تركز على أنظمة خالية من الخلايا يمكن فيها التلاعب بجزيئات تخليقية، مثل جزيئات الحمض النووي الريبوزي من أجل توضيح العمليات الكيميائية الحيوية الأساسية، والتحكم فيها في نهاية المطاف. وصحيح أننا غير متيقنين ممَّا إذا كنا سنتمكَّن على الإطلاق من إنشاء الخلايا من الألف إلى الياء، ولكن لا شك أننا سنتعلم كثيراً من المحاولة. ولعل أفضل ما يُعبَّر عن عقلية هذا الفرع من علم الأحياء التخليقي هو المقولة الشهيرة التي كتبها ريتشارد فاينمان على سبورة سوداء، قائلاً: «ما لا أستطيع إنشائه، لا أفهمه».

علم الجينوم الإحيائي

يُعد علم الأحياء المعني بـ «الإعادة من الانقراض» (أو إحياء الأنواع المنقرضة) مجالاً علمياً يتقدم بخطى سريعة ويثير جدلاً، ويستكشف إمكانية إعادة الأنواع المنقرضة إلى الحياة في يوم من الأيام. ويعترف علماء الأحياء حالياً بثلاثة نُهج عامة ربما يمكن استخدامها لجعل هذا الأمر حقيقة واقعية، وهي: التهجين الرجعي، والاستنساخ، وتحرير الجينوم. في واقع الأمر، إنَّ التهجين الرجعي لا يؤدي إلى إحياء أنواع منقرضة، بل يستخدم التهجين الانتقائي لكائنات حية حالية من أجل إعادة خصائص جسدية و/أو سلوكية محددة فُقدت بمرور الوقت.

ويتضمن أشهر مثال على التهجين الرجعي ثور الأُرْخُص، الذي يُعد نوعاً منقرضاً من الماشية البرية انبثقت منه ماشية عصرية مستأنسة. إذ يهدف الباحثون إلى إعادة إنشاء تلك الكائنات البرية ذات القرون الحادة (والمزاج الحاد) التي اختفت من أوروبا في

مطلع القرن السابع عشر، وذلك من خلال إحداث تزاوج ممنهج بين سلالات معينة من الماشية تُظهر سمات شبيهة بسمات الأرخص. هذا وتعود محاولات إحياء ثور الأرخص إلى عشرينيات القرن العشرين، حينما أجرى عالما الحيوان الألمانيان لوتس هيك وهابنز هيك برنامجاً للتهجين الرجعي أنتج سلالة تُعرف باسم «ماشية هيك» تشبه ثيران الأرخص في بعض خصائصها (ولكن ليس كلها). (تجدد الإشارة إلى أنَّ الأخوين هيك استطاعا أيضاً أن يُوجدا بالتهجين سلالة «حصان هيك»، التي أنشئت احتذاءً بالحصان البري الأوراسي المنقرض التاربان.) وقد استفادت بعض الجهود الحالية الساعية إلى إحياء ثيران الأرخص من بيانات جينية وجينومية مستمدة من سلالات ماشية ذات أنماط ظاهرية متنوعة، ومن جينوم فعلي لثور الأرخص حُدّد تسلسله من حمض نووي مستخرج من عظمة عضد عمرها حوالي ٦٨٠٠ عام عُثِر عليها في بريطانيا.

أمّا نهج إعادة من الانقراض بالاستنساخ، فيعتمد على نقل نوى الخلايا الجسمية، وهو إجراء استخدم في التجربة الشهيرة لاستنساخ النعجة دُولي في تسعينيات القرن الماضي. يبدأ هذا النهج بزراعة نواة خلية جسمية مأخوذة من حيوان ما في خلية بويضة انتزعت منها نواتها. ثم بعد التحفيز بصدمة كهربائية، ستبدأ هذه الخلية الهجينة في الانقسام، ويمكن زرع الجنين الناتج في أم مُضيفة واستكمال مراحل نموه حتى نهاية فترة الحمل. ومع أنَّ الإجراء يبدو واضحاً وبسيطاً، فإنه يستلزم متطلبات تقنية صعبة، وقلماً يُنتج نسلًا صالحًا للحياة. وحتى يتسنى للباحثين إجراء عملية استنساخ لإعادة كائن معين من الانقراض، لا بد أن يحصلوا على خلايا ذلك الكائن المنقرض (وإلا فلن توجد نواة لنقلها)، وهذه حالة نادرة؛ إذ لا يمكن أن تحدث إلا عندما يكون الانقراض حديثاً جداً، ويكون العلماء قد زرعوا و/أو جمّدوا مواد خلاياه. وبينما أثبت الباحثون إمكانية نقل النوى فيما بين الأنواع في المختبر بين خلايا ثور الغور المهّد بالانقراض وأبقار داجنة، يبدو محتملاً أنه كلما زادت المسافة التطورية بين الكائنين قلَّ احتمال النجاح؛ بسبب عدم التوافق بين نواة المانح والخلية المتلقية. وهكذا فإنَّ آفاق نجاح هذا النهج على المدى البعيد في إعادة الكائنات من الانقراض تبدو ضبابية في الوقت الحاضر. وأخيراً، يمكن استخدام تقنية «كريسبر-كاس ٩» (أو أداة تحرير أخرى) من أجل هندسة جينوم كائن حي ليُشبه جينوم كائن منقرض، شَبْهًا كلياً أو جزئياً. ويعتمد هذا النهج على توافر بيانات تسلسلات جينومية من النوع المنقرض محل الاهتمام، وهو ما يفرض قيوداً على عمر الكائن الذي يرغب الباحثون في إحيائه. فمن الصعب للغاية

استخراج عينة موثوقة من حمض نووي من مادةٍ عمرها أكثر من بضعة آلاف من السنوات (ارجع للفصل الخامس)، وتعتمد «فترة صلاحية» أي حمض نووي قديم اعتمادًا كبيرًا على الظروف التي حُفظ فيها. وفي الوقت الحالي على الأقل، يُعدّ التوسّع في تحرير الجينوم مهمةً مُجهدّة أيضًا، في ظل وجود متغيرات كثيرة يجب أن توضع في الحسبان قبل استخدام الخلايا المُهندسة في أنبوب الاختبار لنقل النوى فيما بين الأنواع.

لهذه الأسباب وغيرها، فإنَّ عملية إعادة الكائنات المنقرضة إلى الحياة باستخدام تحرير الجينوم ما زالت مجرد خيال علمي حاليًا. وقد أعلن جورج تشيرش أنه هو وفريقه البحثي ربما يستطيعون إحياء الماموث الصوفي قريبًا في عام ٢٠١٩. وتشير أبحاث إلى أن أعداد الماموث قد تراجعت بشدة في الفترة التي تتراوح بين ١٥ ألف عام و١٠ آلاف عام مضت، ويبدو أن آخر كائنات من هذا النوع قد ماتت قبل حوالي ٥٥٠٠ سنة على جزيرة سانت بول قبالة الساحل الغربي لما يُعرَف الآن بالبر الرئيسي لآلاسكا، وقبل ٤ آلاف عام فقط على جزيرة رانجل شمال شرق سيبيريا. ولم تتضح الظروف التي أدّت إلى زوال هذا الكائن الذي يُعتبَر أيقونةً للعصر الجليدي. تفترض إحدى الفرضيات المطروحة أننا — نحن البشر — اصطدنا الماموث حتى الانقراض، ولكن من المحتمل أيضًا أن يكون ارتفاع درجات الحرارة المرتبط بنهاية العصر الجليدي الأخير قد أدّى دورًا مهمًا في ذلك.

مع ذلك، فقد حُدّد تسلسل جينوم الماموث الصوفي كاملاً باستخدام حمض نووي مستخرَج من عظام متجمّدة في منطقة التندرا، وتُقارَن تلك التسلسلات بتسلسلات جينوم الفيل الآسيوي الذي يُعدّ أقرب أقرباء الماموث من الأحياء. إذ يعكف فريق تشيرش على تحرير جينوم أجنة الأفيال تحريراً منهجيًا، بمنحها العشرات من جينات الماموث، بما في ذلك تلك الجينات التي من المتوقع أنها تؤدي دورًا في تكوين الشعر وترسّب الدهون، وجينات مرتبطة بحجم الأذن. وستصبح النتيجة جينًا مهجّنًا من الفيل والماموث يمكن زراعته واستكمال مراحل نموه حتى الولادة في فيل أو إنمائه في رحم اصطناعي.

ولكن لماذا قد نرغب في إحياء الماموث الصوفي، أو على الأقل إحياء فيل يشبه الماموث ذي قدرة أكبر على النمو والازدهار في درجات حرارة باردة؟ اقترح أن عودة مثل هذا الكائن ستساعد في التخفيف من آثار التغيّر المناخي، وذلك بإعادة منطقة التندرا القطبية إلى ما يُسمى سهوب الماموث العشبية، كما كانت خلال العصر الجليدي الأخير، حينما كانت البيئة الطبيعية تحت هيمنة الماموث وحيوانات أخرى ضخمة تتغذى على العشب مثل البيسون. وتقوم حُجة هذا الاقتراح على أنَّ حيوانات الماموث، بسحقها للأشجار

في الصيف وإحداث ثقب في الجليد في الشتاء، ستُسهم في إبطاء معدل ذوبان التربة الصقيعية السفلية؛ مما سيؤدي بدوره إلى إبطاء إطلاق غازات الدفيئة في الغلاف الجوي. تنبع هذه الفكرة المثيرة من العمل الذي أنجزه العالم الروسي سيرجي زيموف. فزيموف قد أنشأ مع ابنه نيكيتا «منتزه بيلستوسين»، وهي محمية في منطقة التندرا السiberية النائية، وجعلها أهلاً بثيران المسك، وثيران البيسون، وخيول «أعيد دمجها في الحياة البرية الطبيعية». من المتصور أن شبيه الماموث الصوفي المستحدث بالهندسة الوراثية سيصبح موجوداً هناك عمّا قريب.

ومن المخلوقات الأخرى المتنوعة التي أثّرت إمكانية إعادتها من الانقراض طائر الدودو، والنمر التسماني، والحمام المهاجر. وتختلف الأسباب من كائن إلى آخر، مثلما تختلف المخاوف المثارة ضد إعادة إحياء كل كائن منها. وفي الوقت الحالي، لا يتضح مآل كل هذا. إذ أكدت بيث شابيرو، أستاذة علم الأحياء التطوري بجامعة كاليفورنيا في سانتا كروز، أن تقنيات إعادة الكائنات من الانقراض لا تقتصر بالضرورة على إحياء أنواع منقرضة. بل يحمل هذا النهج إمكانات هائلة تُبشّر بنجاح استخدامه في مجال علم الأحياء المعني بحفظ الكائنات، وليكن مثلاً في الحالات التي تكون فيها الأنواع المهددة بالانقراض قليلة العدد، وتتسم بتنوع جيني غير كافٍ ليمنحها فرصة جيدة للبقاء على قيد الحياة. ينطبق هذا على الفيل الآسيوي الذي شهدت أعداده، لأسباب مختلفة (من بينها تجارة العاج)، انخفاضاً جامحاً إلى حوالي ٤٠ ألفاً في الوقت الحاضر، بعدما كانت أقلّ بقليل من المليون في ثمانينيات القرن العشرين. فهل ينبغي أن نستخدم علم الجينوم لفعل شيء حيال ذلك؟

مستقبل علم الجينوم

نعود إلى حيث بدأنا؛ أي: إلى الجينوم البشري وكيف ستتغير حياتنا بمعرفته. مع تزايد انتشار تحديد تسلسل الجينوم الشخصي، أصبحنا على مشارف عصر الطب الشخصي. بل يُمكن القول إنه بطريقة ما قد صار قائماً بالفعل إذا نظرنا إلى أن بعض التقنيات الجينومية يشيع استخدامها الآن في تشخيص بعض الأمراض كالسرطان وعلاجها (ارجع للفصل الرابع). وتجد بعض أدوات علوم الأوميكس الأخرى مكاناً لها في مجموعة أدوات الطب الشخصي، مُتخذةً علم الجينوم أساساً لها. فعلى سبيل المثال، يُستخدم الآن علم الترانسكريبتوم لمراقبة نشاط جينات تُعرف بتقلّب مستويات التعبير عنها في أنواع معينة

من سرطان الثدي وسرطان البروستاتا. ومن ثم، يمكن تصميم استراتيجيات علاجية خُصِّصى وفقاً لذلك.

وكذلك من المجالات التي يزداد التركيز عليها مجال «الإيبيجينوم». تُعرّف التغيرات فوق الجينية بأنها تغيرات ثابتة في التعبير الجيني ليست ناتجة من تغيّر تسلسلات الحمض النووي. وتُعدّ مثيلة بقايا السيتوسين في الحمض النووي من التعديلات فوق الجينية المهمة جداً. فقد أثبت مستوى المثيلة لدى الجينات أنه أداة لتشخيص أنواع معينة من الحساسيات تجاه بعض الأدوية، بما في ذلك عوامل العلاج الكيميائي؛ وبذلك فالحصول على هذه المعرفة يفيد عند اتخاذ قرارات بشأن أنظمة العلاج.

ولن تقتصر استخدامات علم الجينوم الشخصي في المستقبل على تشخيص الأمراض وعلاجها فحسب، وإنما الوقاية من الأمراض أيضاً. وكذلك ستُصبح أداة مفيدة لأولئك الذين يتمنّون اتخاذ قرارات مستنيرة بشأن نمط الحياة من أجل زيادة مستوى الرفاه على المدى الطويل إلى أقصى حد. وهذا يشمل إدارة النظام الغذائي وممارسة التمرينات الرياضية، واستخدام الأدوية التي لا تستلزم وصفة طبية، والتأثيرات الضارة الناتجة من الأدوية التي تستلزم وصفة طبية. باختصار، سيُستخدم تحديد تسلسل الجينوم لنفع الأشخاص الأصحاء أيضاً.

ولكن من المهم أن نتذكر أن تفسير تسلسل الجينوم ليس علماً دقيقاً، ولا يقترب من الدقة حتى. فالجينوم لا يمكن أن يخبرنا بكل شيء أو حتى بمعظم الأشياء التي قد نرغب في معرفتها عن صحتنا المستقبلية وعُرضتنا للإصابة ببعض الأمراض. إذ يختلف تسلسل الجينوم اختلافاً كبيراً من شخص لآخر، وكلنا نحمل طفرات مرتبطة بأحد الأمراض بطريقة أو بأخرى. ففي بعض الحالات، مثل الجين المرتبط بسرطان الثدي «بي آر سي إيه ١» و«بي آر سي إيه ٢»، يكون الارتباط بالمرض قوياً (فالنساء اللواتي يحملن طفرات معينة في هذين الجينين يُمكن أن يُصنبن بسرطان الثدي أو سرطان المبيض باحتمالية تبلغ ٨٠ في المائة). ولكن في معظم الحالات، تكون العُرضة للإصابة بالمرض أقل وضوحاً، وتعتمد على عدد لا يُحصى من العوامل، من بينها عوامل كثيرة غير وراثية. وأخيراً، من بين أكبر التحديات التي تواجه الطب المشخص مسألة الخصوصية. فالأطباء سيُصادفون عدداً متزايداً باستمرار من مرضى حُدّد تسلسل جينوماتهم بالكامل. وستكون الأسباب التي دفعتهم إلى ذلك مختلفة. وكذلك سيختلف مدى توعيتهم لأنفسهم بشأن ما يمكن أن يُخبرهم به تسلسل جينوماتهم وما لا يمكن أن يُخبرهم به، وماهية

العواقب المحتملة حال اكتشاف عُرضة شديدة للإصابة بمرض معين. فمن يحقُّ له أن يعرف ذلك وكيف ينبغي الحفاظ على الخصوصية؟ يجب الحرص على تحقيق التوازن بين تعظيم فائدة البيانات الجينومية في الوقاية من الأمراض وتشخيصها وعلاجها من ناحية، وتقليل احتمالية التمييز إلى أدنى حد من ناحية أخرى. وهذا يشمل، على سبيل المثال، لا الحصر، التمييز في التوظيف وحق الحصول على خدمات التأمين والرعاية الصحية، وسياقات اجتماعية مختلفة.

سيغيّر علم الجينوم عالمنا بطرق قد تخطر أو لا تخطر ببالنا. فتقنية «كريسبر-كاس ٩» يُمكن أن تعالج أمراضاً وتمكّننا من تعديل الخط النسلي البشري بصفة دائمة. وهذا يحمل تداعيات اجتماعية وقانونية وأخلاقية لا يُستهان بها. فعلم الجينوم الإحيائي وبعض جوانب علم الأحياء التخليقي يُثيران قضايا أخلاقية شائكة خاصة بهما. إذ إنَّ كليهما لديه إمكانية تغيير مسار تطور الأحياء على كوكبنا. وفي هذا الصدد، يتعلق أحد المخاوف المشتركة التي أعرب عنها بعض العلماء وغير العلماء بالوتيرة الاستثنائية التي تتطور بها التكنولوجيا في العلوم الجزيئية. ومع الأسف، يبدو في كثير جدًّا من الأحيان وكأن الباحثين لم يكن لديهم الوقت الكافي لاستكشاف العواقب المترتبة على تكنولوجيا جديدة قبل استخدامها بالفعل. فيما يؤكّد آخرون أنَّ الوقت قصير، وأننا نحتاج إلى التحلّي بالشراسة والجرأة في مساعيها إلى استخدام جميع الأدوات المتاحة لنا لكي نحلّ أزمة الطاقة الوشيكة، ومواجهة التغيّر المناخي الناجم من الأنشطة البشرية، والتعامل مع مجموعة متنوعة من الشواغل المجتمعية الأخرى التي يمكن معالجتها باستخدام أدوات علم الأحياء التخليقي وعلم الجينوم. وهكذا فإنَّ تحديد «أفضل» المسارات التي ينبغي أن نمضي فيها قُدماً ليس بالأمر الهين، ولكن ثمة شيئاً واحداً واضحاً، وهو أنَّ المستقبل سيشهد وجود عدد وفير من العلماء المبدعين الطموحين المتطلعين بتفكيرهم إلى المستقبل المستعدين لتوسيع حدود الممكن. ويقع على عاتق كلِّ منا أن نقرر تثقيف أنفسنا حتى نتمكن من التوصل إلى رأيٍ مُستنير بشأن ما هو صواب.

قراءات اضافية

The following books (listed in alphabetical order) explore the past, present, and future of genomics. Most are popular science books; many expand on the topics discussed in Chapter 7, including synthetic biology, resurrection biology, genome editing, and personalized medicine.

- S. Armstrong (2014). *P53: the gene that cracked the cancer code*. Bloomsbury Sigma.
- G. Church and E. Regis (2012). *Regenesis: how synthetic biology will reinvent nature and ourselves*. Basic Books.
- J.A. Doudna and S.H. Sternberg (2017). *A crack in creation: gene editing and the unthinkable power to control evolution*. Houghton Mifflin Harcourt.
- D. Field and N. Davies (2015). *Biocode: the new age of genomics*. Oxford University Press.
- A.M. Lesk (2017). *Introduction to genomics*, third edition. Oxford University Press.
- V.K. McElheny (2010). *Drawing the map of life: inside the Human Genome Project*. Basic Books.
- S. Pääbo (2015). *Neanderthal man*. Princeton University Press.
- J. Parrington (2015). *The deeper genome*. Oxford University Press.

- J. Quackenbush (2011). *The human genome: the book of essential knowledge*. Imagine Publishing.
- B. Shapiro (2015). *How to clone a mammoth: the science of de-extinction*. Princeton University Press.
- J. Shreeve (2004). *The genome war: how Craig Venter tried to capture the code of life and save the world*. Alfred A. Knopf.
- M. Snyder (2016). *Genomics and personalized medicine: what everyone needs to know*. Oxford University Press.

المراجع

الفصل الثاني: كيفية قراءة كتاب الحياة

- S. Goodwin, J.D. McPherson, and W.R. McCombie (2016). Coming of age: ten years of next-generation sequencing technologies. *Nature Reviews Genetics*, 17: 333–51.
- J.M. Heather and B. Chain (2016). The sequence of sequencers: the history of DNA sequencing. *Genomics*, 1–7: 1–8.
- J. Quick et al. (2016). Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. *Nature*, 530: 228–32.
- J.M. Rothberg et al. (2011). An integrated semiconductor device enabling non-optical genome sequencing. *Nature*, 475: 348–52.

الفصل الثالث: فهم الجين والجينوم

- R. Eklom and J.B.W. Wolf (2014). A field guide to whole-genome sequencing, assembly and annotation. *Evolutionary Applications*, 7: 1026–42.
- D. Sims et al. (2014). Sequencing depth and coverage: key considerations in genomic analyses. *Nature Reviews Genetics*, 15: 121–32.
- H. Stefansson et al. (2005). A common inversion under selection in Europeans. *Nature Genetics*, 37: 129–37.

Z. Wang, M. Gerstein, and M. Snyder (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, 10: 57–63.

الفصل الرابع: الجينوم البشري في علم الأحياء والطب

- M.J.P. Chaisson et al. (2015). Resolving the complexity of the human genome using single-molecule sequencing. *Nature*, 517: 608–11.
- R. Cordaux and M.A. Batzer (2009). The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nature Reviews Genetics*, 10: 691–703.
- S.R. Eddy (2012). The c-value paradox, junk DNA and ENCODE. *Current Biology*, 22: R898–R899.
- M. Gorski et al. (2017). 1000 genomes-based meta-analysis identifies 10 novel loci for kidney function. *Scientific Reports*, 7: 45050.
- International Human Genome Sequencing Consortium (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 409: 860–921.
- S. Levy et al. (2007). The diploid genome sequence of an individual human. *PLoS Biology*, 5: e254.
- S. Scherer (2008). *A short guide to the human genome*. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- A. Telenti et al. (2016). Deep sequencing of 10,000 human genomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 113: 11901–6.
- J.C. Venter et al. (2001). The sequence of the human genome. *Science*, 291: 1304–51.
- B. Vogelstein et al. (2013). Cancer genomic landscapes. *Science*, 339: 1546–58.
- D.A. Wheeler et al. (2008). The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing. *Nature*, 452: 872–7.

The 1000 Genomes Project Consortium (2015). A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526: 68–74.

الفصل الخامس: علم الجينوم التطوري

F.H.C. Crick (1958). On protein synthesis. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 12: 138–63.

J. Dabney, M. Meyer, and S. Pääbo (2013). Ancient DNA damage. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 5:a012567.

S. Fan et al. (2016). Going global by adapting local: a review of recent human adaptation. *Science*, 354: 54–9.

R.E. Green et al. (2010). A draft sequence of the Neanderthal genome. *Science*, 328: 710–22.

P. Holland (2011). *The animal kingdom: a very short introduction*. Oxford University Press.

A. Karnkowska et al. (2016). A eukaryote without a mitochondrial organelle. *Current Biology*, 26: 1274–84.

S. Kumar (2005). Molecular clocks: four decades of evolution. *Nature Reviews Genetics*, 6: 654–62.

I. Mathieson et al. (2015). Genome-wide patterns of selection in 230 ancient Eurasians. *Nature*, 528: 499–503.

J.O. McInerney (2014). The hybrid nature of the Eukaryota and a consilient view of life on Earth. *Nature Reviews Microbiology*, 12: 449–55.

M. Meyer et al. (2012). A high-coverage genome sequence from an archaic Denisovan individual. *Science*, 338: 222–6.

R. Nielsen et al. (2017). Tracing the peopling of the world through genomics. *Nature*, 541: 302–10.

A. Sebé-Pedrós, B.M. Degnan, and I. Ruiz-Trillo. (2017). The origin of Metazoa: a unicellular perspective. *Nature Reviews Genetics*, 18: 498–512.

- M. Slatkin and F. Racimo (2016). Ancient DNA and human history. *Proceedings of the National Academy of Science, USA*, 113: 6380–7.
- S.M. Soucy, J. Huang, and J.P. Gogarten (2015). Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nature Reviews Genetics*, 16: 472–82.
- K. Zaremba-Niedzwiedzka et al. (2017). Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity. *Nature*, 541: 353–8.

الفصل السادس: علم الجينوم وعالم الميكروبات

- K. Anantharaman et al. (2016). Thousands of microbial genomes shed light on interconnected biogeochemical processes in an aquifer system. *Nature Communications*, 7: 1329.
- P. Bork et al. (2015). Tara Oceans studies plankton at planetary scale. *Science*, 348: 873.
- I. Cho and M.J. Blaser (2012). The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, 13: 260–70.
- M.G. Fischer (2016). Giant viruses come of age. *Current Opinion in Microbiology*, 31: 50–7.
- C. Gawad, W. Koh, and S.R. Quake (2016). Single-cell genome sequencing: current state of the science. *Nature Reviews Genetics*, 17: 175–88.
- J.A. Gilbert and C.L. Dupont (2011). Microbial metagenomics: beyond the genome. *Annual Reviews of Marine Science*, 3: 347–71.
- P. Hugenholtz (2002). Exploring prokaryotic diversity in the genomic era. *Genome Biology*, 3: R0003.1–R0003.8.
- The Human Microbiome Project Consortium (2012). Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*, 486: 207–14.
- N.C. Kyrpides et al. (2014). Genomic encyclopedia of bacteria and archaea: sequencing a myriad of type strains. *PLoS Biology*, 12: e1001920.

الفصل السابع: مستقبل علم الجينوم

- D. Cyranoski (2015). Ethics of embryo editing divides scientists. *Nature*, 519, 272.
- Y. Erlich and D. Zielinski (2017). DNA Fountain enables a robust and efficient storage architecture. *Science*, 355: 950–4.
- C.A. Hutchison III et al. (2016). Design and synthesis of a minimal bacterial genome. *Science*, 351: aad6253.
- J. Nielsen and J.D. Keasling (2016). Engineering cellular metabolism. *Cell*, 164: 1185–97.
- P.E.M. Purnick and R. Weiss (2009). The second wave of synthetic biology: from modules to systems. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10: 410–22.
- B. Shapiro (2016). Pathways to de-extinction: how close can we get to resurrection of an extinct species? *Functional Ecology*, 31: 996–1002.
- L. Tang et al. (2017). CRISPR/Cas9-mediated gene editing in human zygotes using Cas9 protein. *Molecular Genetics and Genomics*, 292: 525–33.
- S.A. Zimov (2005). Pleistocene Park: return of the mammoth's ecosystem. *Science*, 308:796–8.

