فصل

سلول به عنوان واحد سلامت و بیماری

رئوس مطالب فصل

ژنوم، ۹
DNA غیررمزگذار، ۱۰
سازمان‌یابی هیستون، ۱۲
میکروRNA و RNAs غیر رمزگذار طویل، ۱۴
نگهداری سلولی، ۱۶
غشاء پلاسمایی: حفظ و تهیه مواد غذایی، ۱۹
انتشارات غیرفعال غشاء، ۲۱
ناقل‌ها و مجاری، ۲۱
جذب با واسطه گیرنده و به صورت مایع، ۲۲
اسکلت سلولی، ۲۴
کنش و اکنش‌های متقابل سلول ـ سلول، ۲۶
کارخانه‌های بیوسنتزی: شبکه اندوپلاسمی و دستگاه گلژی، ۲۷
دفع مواد زائد: لیزوزوم‌ها و پروتئازوم‌ها، ۲۸
متابولیسم (سوخت‌وساز) سلولی و عملکرد میتوکندری، ۳۰
فعال‌سازی سلولی، ۳۲
پیام‌رسانی سلولی، ۳۳
راه‌های هدایت پیام، ۳۴
پروتئین‌های تعدیل‌کننده پیام *hubs* و *nodes*، ۳۷
عوامل نسخه‌برداری، ۳۷
عوامل رشد و نسخه‌برداری، ۳۸
ماتریکس خارج سلولی، ۴۱
عناصر سازنده ماتریکس خارج‌سلولی، ۴۳
حفظ جمعیت‌های سلولی، ۴۷
تکثیر و چرخه سلول‌ها، ۴۷
سلول‌های بنیادی، ۴۸
نکات نتیجه‌گیری، ۵۲

پاتولوژی یا آسیب‌شناختی به معنای واقعی کلمه یعنی مطالعه درد و رنج (به یونانی Pathos= درد و رنج، Logos= مطالعه)؛ که در طب جدید استفاده می‌شود و آن مطالعه بیماری است. ویرشو قطعاً این ادعای حقیقی را مطرح می‌کند که سرچشمه بیماری در سطح سلولی است، اما امروزه ما می‌دانیم که اختلالات سلولی از تغییرات در مولکول به وجود می‌آیند (ژن‌ها، پروتئین‌ها، و غیره) که بقا و رفتار سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بنابراین، پایه و اساس آسیب‌شناختی جدید، درک اختلالات سلولی و مولکولی است که منجر به بیماری می‌شوند. بررسی این اختلالات در زمینه ساختار طبیعی سلولی، و عملکرد آن، موضوع این بخش مقدماتی است که به درک آن کمک می‌کند.

فشرده‌سازی چنین سطح وسیع و شگفت‌انگیز زیست‌شناختی سلول به یک بخش، غیرواقعی و حتی نامطلوب است. در نتیجه، به جای تلاش برای یک بررسی جامع، در اینجا، هدف بررسی اصول اساسی و شفاف‌سازی پیشرفت‌های اخیر است که مربوط به راهکارهای بیماری مورد تأکید در سراسر کتاب می‌باشد.

ژنوم

توالی ژنوم انسان در آغاز قرن ۲۱ معرف دستاوردی تاریخی در علم پزشکی بود. از آن زمان به بعد، هزینه‌های تعیین توالی شدیداً در حال سقوط‌اند و ظرفیت محاسباتی تجزیه و تحلیل مقادیر زیاد داده‌ها، به سمت تحول فهم ما از

سلامت و بیماری پیش می‌رود. از همان زمان، اطلاعات در حال ظهور نیز سطح نفس‌گیر پیچیدگی را به مراتب فراتر از توالی خطی ژنوم نشان داده است. ظرفیت بالقوه این ابزارهای قدرتمند جدید، برای گسترش درک ما از بیماریزایی، منجر به نوآوری و نیز الهام‌بخش دانشمندان و مردم عادی گردیده است.

DNA غیر رمزگذار

ژنوم انسان حدوداً شامل ۳/۲ میلیارد جفت باز DNA است، با این حال در ژنوم حدوداً ۲۰,۰۰۰ ژن رمزگذار پروتئین وجود دارد که متشکل از ۱/۵٪ ژنوم است. پروتئین‌هایی که توسط این ژن‌ها رمزگذاری می‌شوند، اجزاء بنیادین سلول‌ها بوده و عملکردی همانند آنزیم‌ها، عناصر ساختاری، و مولکول‌های پیام‌دهنده دارند. اگرچه ۲۰۰۰۰ ژن کمتر از تعداد واقعی پروتئین‌های دریافت‌کننده رمز است (بسیاری از ژن‌ها، RNA چندگانه نسخه‌بردار را تولید می‌کنند که به ایزوفورم پروتئین مجزا رمزگذاری می‌شوند) با این حال نکته شگفت‌انگیز این است که کرم‌های متشکل از تعدادی کمتر از ۱۰۰۰ سلول ـ و یا ۳۰ برابر ژنوم‌های کوچکتر نیز، از حدود ۲۰,۰۰۰ ژن پروتئین رمزگذار تجمیع شده است. شاید حتی موضوع نگران‌کننده این باشد که بسیاری از این پروتئین‌های قابل تشخیص مولکول‌های بارز شده در انسان‌ها هستند. چه چیزی انسان را از کرم‌ها جدا می‌کند؟

پاسخ به‌طور کامل شناخته شده نیست، اما شواهد از این ادعا دفاع می‌کنند که تفاوت در ۹۸/۵٪ ژنوم انسان که پروتئین‌ها را رمزگذاری نمی‌کنند، نهفته است. عملکرد چنین کش آمدن طولانی DNA (که "ماده سیاه" ژنوم نامیده می‌شود) برای سال‌های متمادی ناشناخته بود. با این حال اکنون روشن شده است که در نهایت بیش از ۸۵٪ ژنوم انسان نسخه‌برداری شده است، تقریباً با ۸۰٪ که به تنظیم بروز ژن اختصاص داده شده است. درحالی که پروتئین‌ها، آجرهای ساختمانی و دستگاه‌های موردنیاز را برای ساختن سلول‌ها، بافت‌ها، و موجودات تأمین می‌کنند، این نقاط غیررمزگذار ژنوم است که "برنامه‌ریزی مهم معماری" را ارائه می‌دهد.

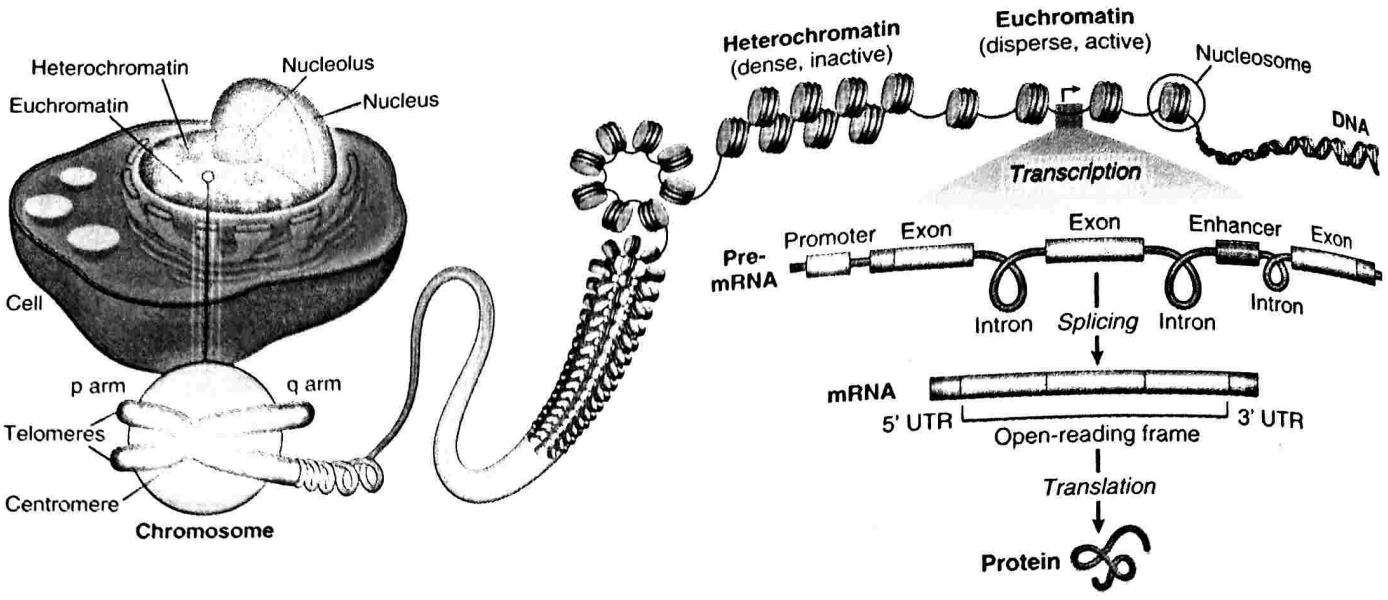
دسته‌بندی‌های مهم توالی‌های عملکردی غیر پروتئینی رمزگذار DNA موجود در ژنوم انسان، عبارتند از (شکل ۱-۱):

- **نقاط آغازکننده و گسترش‌دهنده** که عوامل نسخه‌بردار پروتئین را به هم متصل می‌کنند.
- **نقاط اتصال‌دهنده برای پروتئین‌هایی** که برای **ساختارهای کروماتینی** نظم بیشتری را سازماندهی و حفظ می‌کنند.
- ***RNAs* غیررمزگذار تنظیمی.** از ۸۰٪ ژنوم اختصاص داده شده به عملکردهای تنظیمی، اکثریت قریب به اتفاق آنها نسخه‌برداری می‌گردند به RNAs-microRNAs و RNAs طویل غیررمزگذار (بعداً شرح داده می‌شود) که هرگز به پروتئین ترجمه نمی‌شوند، اما می‌توانند بارز شدن ژن را تنظیم کنند.
- **عناصر ژنتیکی متحرک** (برای مثال، ترانسپوزون‌ها) شایان ذکرند، بیش از یک‌سوم ژنوم انسانی از "ژن‌های جهنده" تشکیل شده‌اند. این بخش‌ها می‌توانند در سراسر ژنوم حرکت کنند، و در تنظیم ژن و سازمان‌دهی کروماتین نقش داشته باشند.
- نقاط ساختاری ویژه DNA، از جمله تلومرها (انتهای کروموزوم) و **سنترومرها** (کروموزوم tethers).

نکته مهم اینکه، **بسیاری از تغییرات ژنتیکی (چندشکلی) در ارتباط با بیماری‌ها، در نقاط رمزگذار غیرپروتئین ژنوم واقع شده‌اند.** بنابراین تنوع در تنظیم ژن ممکن است در اثبات علت بیماری مهمتر از تغییرات ساختاری در پروتئین‌های خاص باشد. یکی دیگر از شگفتی‌ها که از توالی ژنوم نشات گرفته است این است که هر دو انسان، به‌طور معمول دارای کمتر از ۹۹/۵٪ DNA یکسان می‌باشند (۹۹٪ توالی مشابه با شمپانزه)، بنابراین تنوع فردی از جمله آسیب‌پذیری متفاوت به بیماری‌ها و تماس‌های محیطی، از بیش از ۰/۵ درصد DNA ما رمز می‌گیرند (از همه مهمتر اینکه، این هنوز هم نشان‌دهنده حدود ۱۵ میلیون جفت باز است).

دو شکل از رایج‌ترین تنوع DNA در ژنوم انسان عبارتند از **تک‌نوکلئوتیدهای چندشکلی** ***(SNPs)*** و **تعداد نسخه‌های مختلف** ***(CNV)***.

- SNPs عبارتند از تنوع در موقعیت‌های تک نوکلئوتیدی



شکل ۱-۱ نمایی شمایی از سازمان‌یابی DNA هسته‌ای. در بررسی با میکروسکوپ نوری، ماده ژنتیک هسته‌ای به‌طور پراکنده سازمان‌یابی گردیده‌اند و از نقطه‌نظر نسخه‌برداری به دو صورت تجمعات غیر متراکم فعال یا یوکروماتین (euchromatin)، و تجمعات متراکم غیرفعال یا هتروکروماتین (heterochromatin) که به‌طور مکانیکی به غشاء هسته‌ای متصل گردیده، دیده می‌شوند، بنابراین اختلال در غشاء هسته‌ای می‌تواند نسخه‌برداری را تحت تأثیر قرار دهد. کروموزوم‌ها (همانگونه که در شکل نشان داده شده) به وسیله میکروسکوپ نوری تنها در زمان تقسیم سلولی می‌توانند قابل رؤیت گردند. در جریان تقسیم میتوزی، به صورت کروماتیدهای زوج سازمان یافته‌اند که از طریق سنترومر به یکدیگر اتصال پیدا کرده‌اند؛ سنترومرها ناحیه‌ای متشکل از مجموعه‌ای از پروتئین‌های Kinetochore (مترادف سنترومر، دورلند) است که جدایی کروماتیدها را در زمان متافاز تنظیم می‌کنند. تلومرها تکراری از توالی‌های نوکلئوتیدی می‌باشند که در انتهای کروماتیدها قرار داشته و اجازه می‌دهند دوباره‌سازی تکراری کروموزوم تسهیل گردد. کروماتیدها به دو بازویاری کروموزوم بدون از دست دادن DNA، در انتها کوتاه"p" (Petite کوچک)، و بازوهای بلند"q" (حرف بعدی p در الفبای انگلیسی) می‌باشند. طرح نواربندی (باندینگ) در کروماتیدها به گنجایش نسبی GC (گنجایش کم در نوارها نسبت به نوارهای میانی) همراه با ژن‌هایی که بیشتر تمایل به استقرار در نوارهای میانی دارند نسبت داده شده است. هر رشته کروماتینی مرکب از دانه‌هایی از نوکلئوزوم‌ها (نوکلئوزوم متشکل از محوری از هشت هیستون می‌باشد که DNA به دور آن پیچیده شده است) است که هر یک از آنها توسط DNA اتصالی (Linker DNA) به یکدیگر متصل می‌باشند. نواحی آغازکننده (Promoters) نواحی غیر رمزگذار DNA می‌باشند که نسخه‌برداری ژن‌ها از آنجا شروع می‌شود؛ گسترش‌دهنده‌ها (enhancers) عواملی تنظیم‌کننده می‌باشند که بروز ژن را در طول فاصله ۱۰۰ کیلوباز یا بیشتر، از طریق تاشدن به سمت عقب و به طرف ناحیه آغازکننده تعدیل می‌نمایند و عواملی اضافی را که نقش محرک را در بارز نمودن گونه‌های preRNA بازی می‌کنند را به دست می‌آورند. متعاقباً توالی‌های اینترونی از ساختمان‌های preRNA جدا شده تا موجب پیام‌های نهایی و قطعی را که القاگر اگزون‌ها هستند به پروتئین و نواحی ترجمه نشده ′۳ و ′۵ (UTR) که ممکن است دارای اعمال تنظیم‌کنندگی باشند، ترجمه شود. علاوه بر گسترش‌دهنده، آغازکننده و توالی UTR، عناصر بدون رمز دیگری در سراسر ژنوم یافت می‌شوند که شامل تکرارهای کوتاه مناطق اتصال‌دهنده عوامل تنظیم‌کننده، RNAs تنظیم‌کننده بدون رمز و جابجا کننده‌ها می‌باشند.

و تقریباً همیشه دو آللی می‌باشند (تنها دو گزینه در یک ناحیه معین در جمعیت‌ها مانند A یا T وجود دارد). بیش از ۶ میلیون SNP انسانی شناسایی شده‌اند که تنوع بسیار گسترده‌ای را در جوامع مختلف نشان می‌دهند. ویژگی‌های زیر از مواردی هستند که ارزش بررسی را دارا می‌باشند:

- SNPs در سراسر ژنوم رخ می‌دهد ـ در اگزون‌ها، اینترون‌ها، نقاط بین ژنی و نقاط رمزگذار.
- تقریباً ۱٪ از SNPs در نقاط رمزگذار رخ می‌دهند که به‌طور اتفاقی در حول آنچه را که انتظار می‌رود دیده می‌شوند، زیرا نقاط رمزگذار حدود ۱/۵٪ ژنوم را تشکیل می‌دهند.
- SNPs واقع در نقاط غیررمزگذار می‌توانند در عناصر تنظیمی که در ژنوم وجود دارند، رخ دهند و در نتیجه بارز شدن ژن را تغییر دهند؛ در چنین مواردی ممکن است SNP تأثیر مستقیمی بر

استعداد ابتلا به بیماری داشته باشد.

- همچنین SNPs می‌توانند "خنثی" باشند بدون اینکه تأثیری بر عملکرد ژن و یا فنوتیپ حامل داشته باشند.
- حتی SNPs "خنثی" ممکن است شاخص‌های مفیدی باشند، زیرا اگر آنها با یک ژن مرتبط با بیماری به‌طور مجاورت فیزیکی همراه شوند به‌طور مشترک به ارث می‌رسند. به عبارت دیگر، SNP و عامل ژنتیکی سبب‌شونده، دارای **پیوستگی نامتعادل** می‌باشند.
- بیشتر SNPs بر استعداد ابتلا به بیماری اثر ضعیفی دارند و مشخص نیست که این طرح‌ها به تنهایی یا به‌طور مشترک می‌توانند برای توسعه اقدامات مؤثر جهت پیش‌بینی یا پیشگیری بیماری مورد استفاده قرار گیرند.

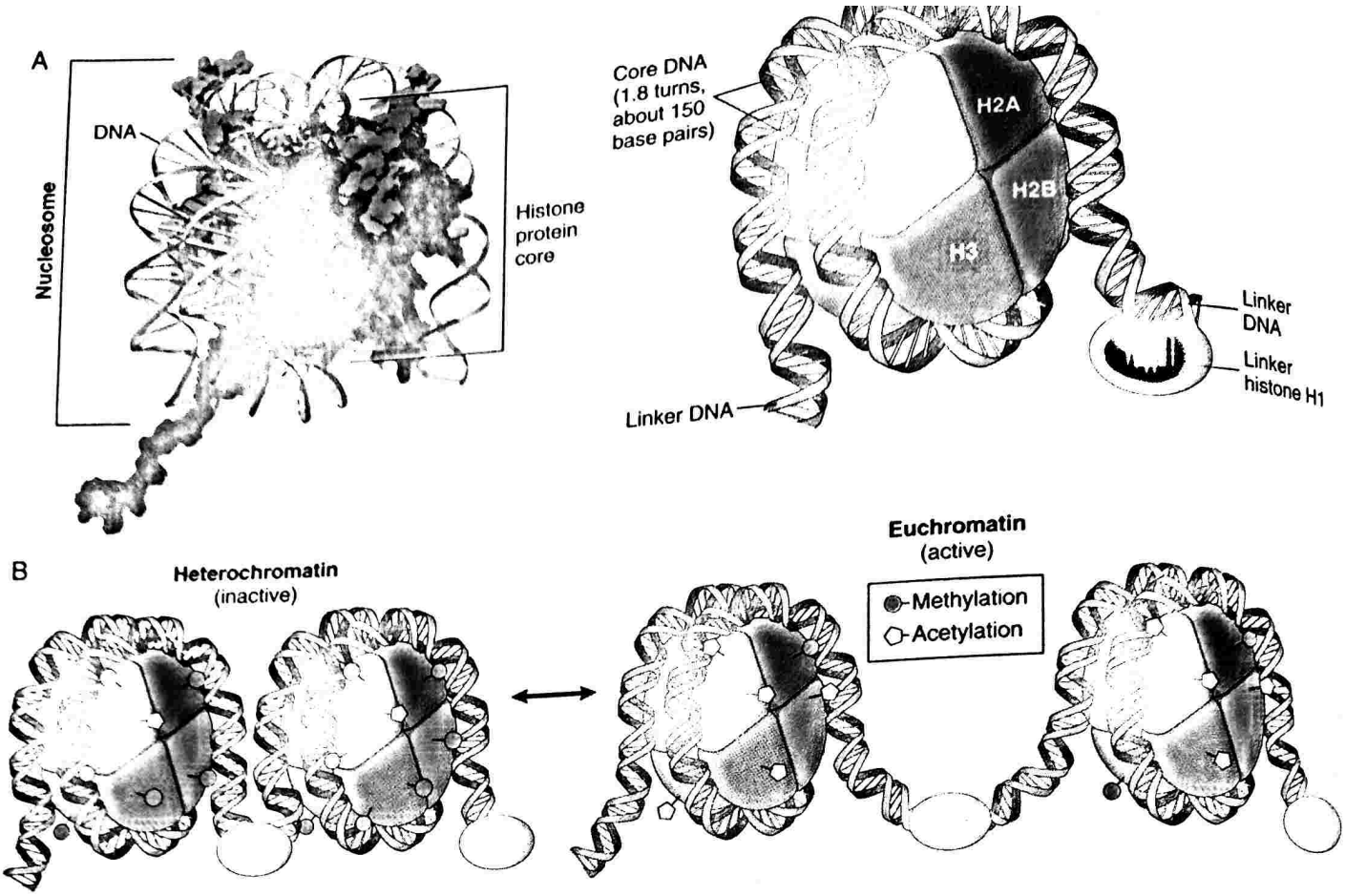
- CNVs شکلی از تنوع ژنتیکی می‌باشند که متشکل از تعداد زیاد و پیوسته به هم از DNA هستند که می‌توانند از ۱۰۰۰ تا میلیون‌ها جفت باز، متغیر باشند. در برخی موارد این جایگاه‌ها، مانند SNPs دو آللی هستند و به سادگی در یک زیرمجموعه از افراد جامعه نسخه‌برداری و یا حذف می‌شوند. در موارد دیگر، مجموعه‌ای از بازآرایی‌های چندین آلل در جمعیت انسانی وجود دارد. CNVs عامل چندین میلیون جفت باز با توالی‌های متفاوت بین هر دو نفر می‌باشند. تقریباً ۵۰٪ از CNVs شامل توالی‌های رمزگذار ژن می‌باشند؛ در نتیجه ممکن است CNVs بخش بزرگی از تنوع فنوتیپی انسان را تشکیل دهند.

مهم است که توجه داشته باشیم که **تغییرات به وجود آمده در توالی DNA، به خودی خود نمی‌توانند تنوع فنوتیپی را در جمعیت‌های انسانی توضیح دهد**؛ و نیز نمی‌تواند در وراثت ژنتیکی کلاسیک فنوتیپ متفاوت در دوقلوهای همسان را توجیه نماید. پاسخ به این معماها احتمالاً در تغییرات اپی‌ژنتیک نهفته است، تغییراتی موروثی در بارز شدن ژن که اختلال در توالی DNA در ایجاد آن نقشی ندارد.

سازمان‌یابی هیستون

حتی اگر تقریباً همه سلول‌ها در بدن ترکیب ژنتیکی همسانی داشته باشند، سلول‌های تمایزیافته دارای ساختارهایی مجزا و عملکردهایی خاص می‌باشند که ناشی از برنامه‌هایی است که اساس آنها در بارز شدن ژن قرار دارد. این تفاوت‌های خاص در چنین سلول‌های تمایز یافته در ارتباط با نسخه‌برداری و ترجمه DNA بر اثر تغییرات اپی‌ژنتیکی تنظیم می‌شوند که تغییرات متعدد به شدت تحت‌تأثیر بارز شدن ژن می‌باشند. از جمله:

- **سازمان‌یابی کروماتین** (شکل ۲-۱). DNA ژنومی در نوکلئوزوم قرار دارد و هر نوکلئوزوم حاوی ۱۴۷ جفت باز DNA که به دور یک هسته مرکزی از پروتئین‌هایی که هیستون را تشکیل می‌دهند، پیچیده است. نوکلئوزوم‌ها همانند مهره توسط DNAهای کوتاه، (Linker DNA)، به یکدیگر متصل شده که کل چنین ساختاری کروماتین نام دارد. نکته مهم اینکه، فشردگی و درهم پیچیده بودن کروماتین در هر سلول مشخص، در نقاط متفاوت ژنومی، مختلف می‌باشد. بنابراین کروماتین هسته‌ای در دو شکل اساسی وجود دارد (با بافت‌شناختی استاندارد قابل رؤیت است): (۱) هتروکروماتین، دارای تراکم هیستوشیمیایی و نسخه‌برداری غیر فعال و (۲) یوکروماتین، با پراکندگی هیستوشیمیایی و نسخه‌برداری فعال، از آنجا که تنها یوکروماتین اجازه بارزشدن ژن را می‌دهد و در نتیجه هویت و فعالیت سلولی را اعمال می‌کند، گروهی از راهکارها وجود دارد که وضعیت کروماتین را تنظیم می‌کنند (در ذیل توضیح داده شده است).
- **متیلاسیون *DNA***. به‌طور معمول سطوح بالایی از متیلاسیون DNA در عناصر تنظیمی ژن، منجر به تراکم کروماتین و توقف نسخه‌برداری می‌شوند، مانند تغییرات هیستون (در بخش‌های بعدی ببینید). متیلاسیون DNA به‌طور کامل توسط متیل‌ترانسفرازها، آنزیم‌های دمیلینه‌کننده و پروتئین‌های متصل شده به DNA متیله شده تنظیم می‌شود.
- **عوامل اصلاح‌کننده هیستون**. نوکلئوزوم‌ها ساختارهایی بسیار پویا هستند که توسط آرایه‌ای از پروتئین‌های هسته‌ای و تغییرات پس‌ازترجمه تنظیم می‌شوند:



شکل ۲-۱ نمایی شمایی از سازمان‌یابی کروماتین. (A) نوکلئوزوم‌ها حاوی هشت پروتئین هیستونی می‌باشند (که هر هیستون متشکل از زیرواحدهای زوج H2A، H2B، H3 و H4 می‌باشد) که به وسیله ۱۴۷ جفت باز DNA که به صورت ۱/۸ حلقه به دور آنها پیچ خورده است، شکل گرفته است. هیستون H1 بر روی ۲۰ تا ۸۰ نوکلئوتید قرار داشته و توسط DNA اتصالی (Linker DNA) که بین نوکلئوزوم‌ها قرار گرفته‌اند به هم متصل می‌شوند و بدین‌ترتیب کل ساختمان کروماتین شکل می‌گیرد. (B) آن قسمت از DNA باز شده (قسمتی که در دسترس عوامل نسخه‌برداری قرار می‌گیرند) با تغییر هیستون، تنظیم می‌گردد. به عنوان مثال با استیله شدن، متیله شدن و/یا فسفوریله شدن (همچنین "نشانه =Markers" نامیده می‌شوند)؛ نشانه‌ها به‌طور دینامیکی قابل ثبت و حذف می‌باشند. نشانه‌های بخصوصی، نظیر استیله شدن هیستون، ساختمان کروماتینی را "باز می‌کند"، درحالی که سایرین، مثل متیله شدن بقایای هیستون بخصوص، بسته به تراکم DNA، باعث خاموشی ژن می‌شود. همچنین خود DNA نیز می‌تواند متیله گردد، تغییری که توأم با غیرفعال شدن نسخه‌برداری باشد.

- **مجموعه‌های "بازسازی کروماتین"** می‌توانند نوکلئوزوم‌ها را در DNA تغییر مکان داده، و در معرض (یا به دور از) عناصر تنظیمی ژن، مانند شروع‌کننده‌ها، قرار دهند.
- **مجموعه‌های "نویسنده کروماتین"** بیش از ۷۰ تغییر مختلف کووالانسی هیستون را با خود حمل می‌کنند که به‌طور کلی به عنوان **شاخص‌ها** نامیده می‌شوند. این مشخصه‌ها عبارتند از متیله شدن، استیله شدن و فسفوریله شدن بقایای خاصی از اسیدهای آمینه هیستونی: **متیله شدن هیستون** لیزین‌ها و آرژنین‌ها توسط آنزیم‌های نویسنده خاص، صورت می‌گیرند. متیله شدن هیستون بقایای لیزین می‌تواند به فعال‌سازی و یا سرکوب نسخه‌برداری منجر شود که این فرایند به نوع بقایای **مشخص** هیستونی بستگی دارد. **استیله شدن هیستون** بقایای لیزین (از طریق استیل‌ترانسفرازهای هیستونی شکل می‌گیرند) که تمایل به بازکردن کروماتین و افزایش نسخه‌برداری دارند؛ داستیله شدن هیستونی (HDAC) این فرایند را معکوس می‌کند که منجر به تراکم

کروماتین می‌شود. فسفریله شدن هیستون بقایای سرین به صورت متغیر می‌تواند به ترتیب کروماتین را باز یا متراکم کند، و نسخه‌برداری را افزایش و یا کاهش دهد.

- شاخص‌های هیستونی از طریق "پاک‌کننده‌های کروماتین" (Chromatin eraser)، برگشت‌پذیر هستند. پروتئین‌های دیگر به عنوان "خواننده کروماتین" (Chromatin reader) عمل می‌کنند و هیستون‌هایی را پیوند می‌دهند که دارای علائم خاص بوده و در نتیجه بارز شدن ژن را تنظیم می‌کند.

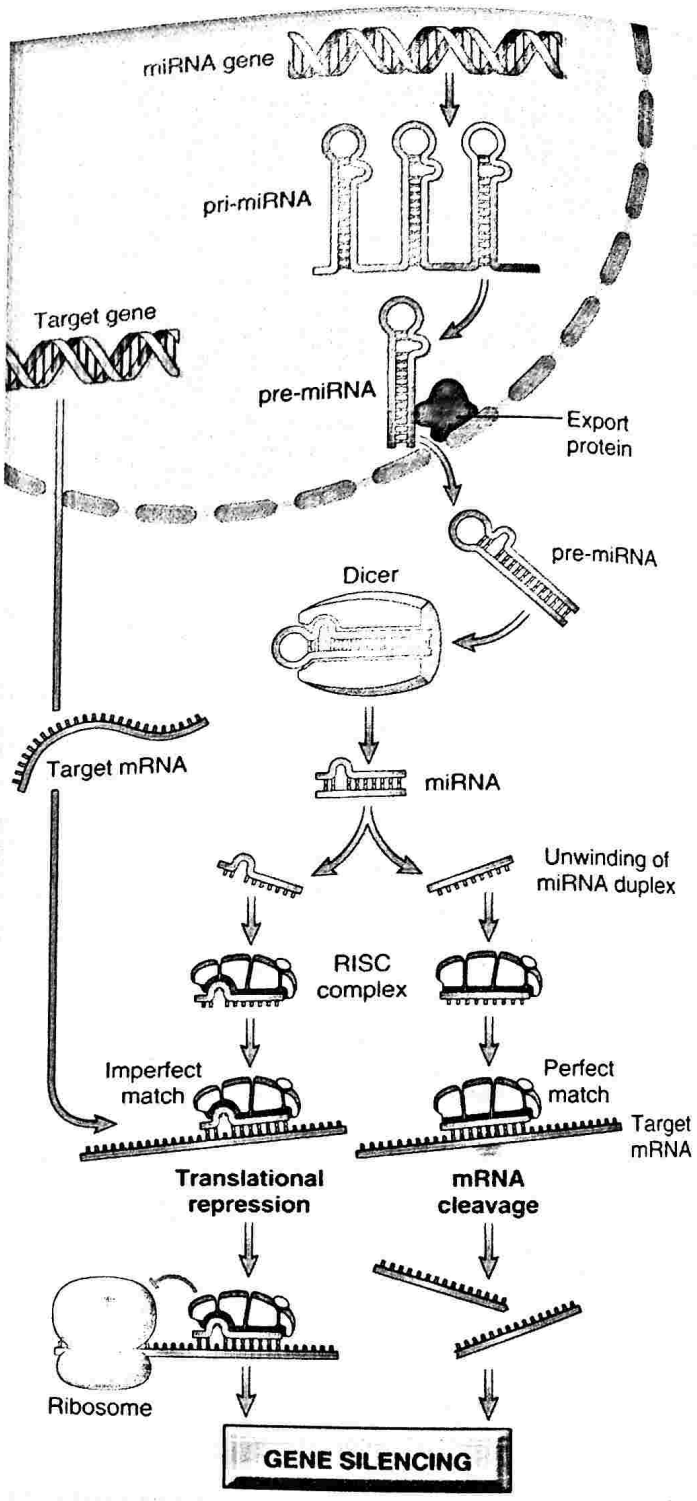
راهکارهای درگیر در سازمان‌یابی ژنومی، تنظیم اپی‌ژنتیک سلولی خاص و بارز شدن ژن، به صورت غیرقابل انکاری پیچیده هستند. علیرغم پیچیدگی‌های متعدد، آگاهی از این تغییرات در این فرآیندها احتمالاً دارای مزایای درمانی قابل‌توجهی می‌باشند زیرا که بسیاری از بیماری‌ها با تغییرات اپی‌ژنتیک ارثی و یا اکتسابی همراه هستند و عدم تنظیم "اپی‌ژنوم" نقش اصلی را در پیدایش نئوپلاسم‌های خوش‌خیم و بدخیم دارد (بخش ۶). علاوه بر این، برخلاف تغییرات ژنتیکی، تغییرات اپی‌ژنتیک (به عنوان مثال، استیله شدن هیستون و متیله شدن DNA) به آسانی برگشت‌پذیر هستند و بنابراین تابع مداخلات می‌باشند؛ در واقع استفاده از مهارکننده‌های HDAC و مهارکننده‌های متیله شدن DNA در گذشته هم در درمان انواع مختلف سرطان صورت می‌گرفت.

میکرو RNA و RNAs غیررمزگذار طویل

راهکار دیگر تنظیم ژن، به عملکردهای RNAs غیررمزگذار وابسته است. همانطور که از نام آن برمی‌آید، این‌ها توسط ژن‌هایی رمزگذاری می‌شوند که نسخه‌برداری شده ولی ترجمه نمی‌شوند. هرچند خانواده‌های زیادی از RNAs غیررمزگذار (ncRNA) وجود دارند، ولی در این قسمت ما تنها به دو نمونه از آنها اشاره می‌کنیم: (۱) مولکول‌های RNA کوچک (miRNA) و (۲) RNAs غیررمزگذار طویل (lcmRNA) که بیش از ۲۰۰ نوکلئوتید در طول زنجیره خود دارند.

- میکرو RNAs *(miRNA) RNAs*. نسبتاً کوتاهی هستند (به‌طور متوسط ۲۲ نوکلئوتید در طول زنجیره خود دارند) که در درجه اول به تعدیل ترجمه mRNA هدف، در پروتئین‌های مربوط به خود می‌پردازند. **توقف بارزشدن ژن پس از نسخه‌برداری توسط miRNAs، یک راهکار اساسی و تکاملی در جهت حفاظت از تنظیم ژن، در همه یوکاریوت‌ها (گیاهان و حیوانات)، می‌باشد.** حتی میکروب‌ها یک نسخه اولیه از دستگاه عمومی مشابه را دارا می‌باشند که از آن در جهت محافظت از خود در برابر DNA خارجی (به عنوان نمونه، در برابر فاژها و ویروس‌ها)، استفاده می‌کنند.
- ژنوم انسان حاوی تقریباً ۶۰۰۰ ژن miRNA می‌باشد که تنها ۳/۵ برابر کمتر از تعداد ژن‌های رمزگذار پروتئین می‌باشند. علاوه بر این به نظر می‌رسد miRNAs منفرد، ژن‌های رمزگذار پروتئین‌های متعددی را تنظیم می‌کنند که به هر miRNA اجازه می‌دهد تا برنامه‌های کامل بارزشدن ژن را به‌طور مشترک تنظیم کند. نسخه‌برداری ژن‌های miRNA یک نسخه اولیه (pri-miRNA) تولید می‌کند که در بخش‌های بسیار کوچکتر پردازش می‌شوند. از جمله پیرایش توسط آنزیم دایسر (Dicer). این آنزیم دایسر miRNAs بالغ تک رشته‌ای ۲۱ تا ۳۰ نوکلئوتیدی را تولید می‌کند که با چند پروتئین به نام مجموعه خاموش‌کننده ناشی از RNA مرتبط می‌باشند (شکل ۳-۱؛ RISC). جفت شدن بازی بعدی بین رشته‌ای miRNA و mRNA هدف آن، RISC را هدایت می‌کند تا mRNA را شکافته، یا ترجمه شدن آن را مهار نماید. به این ترتیب *mRNA* هدف خاموش می‌شود.

با بهره‌گیری از همان مسیر، RNAs مداخله‌گر کوچک (siRNA)، که دارای توالی‌های RNA کوتاه هستند، می‌توانند وارد سلول‌ها شوند. این‌ها به عنوان سوبسترا برای دایسر به کار می‌روند و با مجموعه RISC با شیوه‌ای مشابه، با miRNAs درونزاد واکنش نشان می‌دهند. siRNAs صناعی (سنتتیک) می‌توانند گونه‌های خاصی از miRNA را هدف قرار دهند، نتیجه اینکه ابزارهای



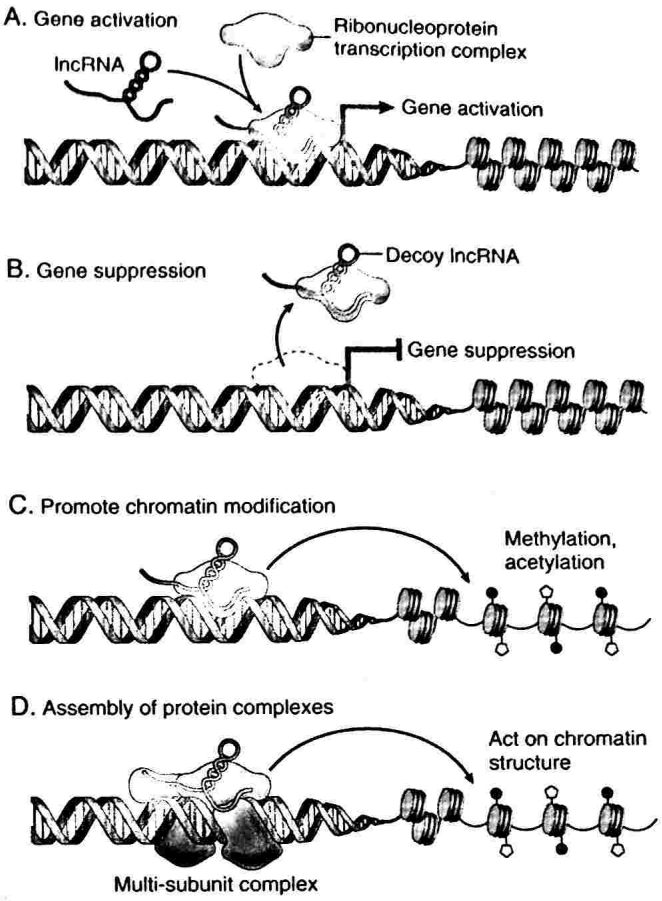
شکل ۳-۱ نمایی شمایی از چگونگی به وجود آمدن میکروRNAs و نحوه فعالیت آنها در تنظیم عمل ژن. ژن‌هایی که miRNA را به وجود می‌آورند، در ابتدا یک miRNA ابتدایی (pri-miRNA) یا پیش miRNA را می‌سازند. این عمل در هسته انجام می‌گیرد تا پیش miRNAهای تک‌رشته‌ای با پیچ‌خوردگی‌هایی که پیدا می‌کنند، miRNAs دورشته‌ای را بسازند. پس از اینکه pri-miRNAs ساخته شده در هسته، توسط پروتئین‌های ناقل بخصوصی، از هسته خارج و وارد سیتوپلاسم شدند، آنزیم سیتوپلاسمی Dicer بر روی آنها اثر کرده و miRNAs بالغ دو رشته‌ای را که حاوی ۲۱ تا ۳۰ نوکلئوتید می‌باشند را به وجود می‌آورند. متعاقباً miRNAs دو رشته‌ای از هم باز شده و رشته‌های منفردی را به وجود می‌آورند که به مجموعه پروتئین‌های RISC متصل می‌گردند. بر اساس جفت شدن miRNAs تک‌رشته‌ای با mRNA هدف، RISC یا mRNA هدف را می‌شکند، یا اینکه باعث خاموش شدن ترجمه آن می‌شود. در هر دو مورد ژن miRNA پس از نسخه‌برداری خاموش می‌شود.

آزمایشگاهی قدرتمندی برای مطالعه عملکرد ژن هستند (به اصطلاح فناوری ناک دان)؛ استفاده از آنها نیز به عنوان عوامل درمانی برای خاموش‌سازی ژن‌های بیماریزا، ازجمله تومورزاها (انکوژن‌ها) و دگرگون ساختن ضایعات نئوپلاستیک، امیدبخش هستند.

- ***RNAs* غیررمزگذار طویل *(lncRNA)***. ژنوم انسان نیز شامل تعداد بسیار زیادی از lncRNA است ــ حداقل ۳۰۰۰۰ ــ تعداد کل آنها به‌طور بالقوه بیش از ۱۰ تا ۲۰ برابر mRNA رمزگذار می‌باشد. lncRNAs بارز شدن ژن را به روش‌های متعدد تغییر می‌دهد (شکل ۴-۱). به عنوان مثال، آنها می‌توانند به برخی از نقاط کروماتین متصل شده و دسترسی RNA پلیمراز را به ژن‌های رمزگذار درون این نقطه محدود کنند. بهترین مثال شناخته شده از عملکرد سرکوبگر lncRNA، XIST است که از کروموزوم X نسخه‌برداری شده است و نقش اساسی در غیر فعال‌سازی عادی کروموزوم X دارد. خود XIST از غیرفعال‌سازی X اجتناب می‌کند، اما یک "پوشش" سرکوب‌کننده روی کروموزوم X را تشکیل می‌دهد که نسخه‌برداری از آن منجر به خاموشی ژن می‌شود. در مقابل، این نکته را باید مد نظر قرار داد که بسیاری از تقویت‌کننده‌ها، در نقاط ساخت lncRNA قرار دارند که همراه با lncRNAs، نسخه‌برداری از نواحی شروع‌کننده ژن را از طریق انواع مختلف راهکارها گسترش می‌دهد (شکل ۴-۱). مطالعات کنونی در حال بررسی نقش lncRNAs در بیماری‌هایی مانند تصلب شرائین (آترواسکلروز) و سرطان هستند.

ویرایش ژن

پیشرفت‌های جدید و هیجان‌انگیز که کشف گردیده این است که به ژنوم‌های خاص این اجازه داده شده است که به



شکل ۴-۱ نقش‌های RNAهای غیر رمزگذار طویل (LncRNAs). (A) RNAهای غیر رمزگذار طویل می‌توانند به عامل نسخه‌بردار متصل شده و بدین‌ترتیب فعالیت ژن را تسهیل نمایند. (B) در مقابل، LncRNAs با اتصال به عوامل پیش نسخه‌بردار، آنها را خاموش می‌سازند و از این طریق مانع نسخه‌برداری ژن می‌شوند. (C) با اتصال مستقیم LncRNAs به هیستون و DNA، به وسیله استیلاز یا متیلاز (آنها را داستیله و دمتیله کرده) منجر به تغییر هیستون و DNA می‌گردند. (D) در سایر موارد، LncRNAs ممکن است به عنوان داربستی برای تثبیت ساختمان‌های ثانوی و ثالثی و/یا مجموعه زیرواحدهای متعددی که ساختمان عمومی کروماتین یا فعالیت ژن را تحت نفوذ قرار می‌دهند، عمل نمایند.

گونه‌ای انحصاری و بی‌نهایت ظریف و بدون نقص، در مراحل چرخه تکامل مولکولی مؤثر باشند. این پیشرفت‌ها به‌طور کامل و به صورت غیر منتظره به دست آمد. این کشف شامل پیدا کردن خوشه‌های تنظیم‌کننده تکراری کوتاه پشت سرهم یا (CRISPRs) که به‌طور منظم فضای باز را اشغال می‌کند، و ژن‌های وابسته به این خوشه‌ها، می‌باشد. این‌ها عناصر ژنتیکی مرتبطی هستند که به یاخته‌های پروکاریوت نوعی ایمنی اکتسابی نسبت به Phages (خورنده‌ها) و پلاسمیدها می‌دهند. میکروب‌ها از این سامانه برای نمونه‌سازی DNA عوامل عفونی بهره می‌گیرند که در داخل ژنوم میزبان به صورت CRISPRs شرکت می‌کنند. CRISPRs به صورت یک توالی RNA نسخه‌برداری و پردازش می‌شوند که این توالی به توالی‌های نوکلئاز کاسپاز ۹ متصل و آن را هدایت می‌کند (یعنی یک فاژ) و منجر به تجزیه و تخریب فاژ می‌گردند. به قصد ویرایش مجدد ژن در این فرایند، از RNAs راهنمای مصنوعی (gRNA)، استفاده می‌گردد که این RNAs راهنما با اتصال به Cas9، در تکمیل توالی DNA سهیم می‌گردند. هنگام جهت‌گیری به سمت توالی هدف توسط gRNA، Cas9 منجر به شکست‌های DNA دو رشته‌ای خواهد شد.

ترمیم نقاط دارای شکاف‌های بسیار خاص، می‌تواند به جهش‌های مخرب تقریباً تصادفی در توالی‌های هدف (از طریق اتصال به انتهای غیر همسان [NHEJ])، و یا کاربرد دقیق توالی‌های جدید مورد نظر (توسط ترکیب مجدد همسان) منجر شود. gRNAs و آنزیم Cas9 می‌توانند به سلول‌هایی تک پلاسمیدی که به آسانی ساخته می‌شوند، منتقل شوند (شکل ۵-۱). با این حال، زیبایی واقعی دستگاه (و شور و هیجان در مورد توان بالقوه مهندسی ژنتیک آن) ناشی از انعطاف‌پذیری و ویژگی قابل توجه آن است که به‌طور قابل ملاحظه‌ای بهتر از دیگر دستگاه‌های ویرایش قبلی است. کاربردها عبارتند از: قرار دادن جهش خاص در ژنوم‌های سلول برای مدل‌سازی سرطان‌ها و بیماری‌های دیگر، و تولید سریع حیواناتی که توسط وارد کردن ژن بیگانه‌ای به داخل ژنوم آنها با استفاده از سلول‌های بنیادی جنینی ویرایش شده. از سوی دیگر، در حال حاضر "اصلاح" انتخابی جهش‌ها که باعث بیماری موروثی می‌شود، یا شاید نگران‌کننده است ـ امکان‌پذیر است تا اینکه فقط بتوان صفات کمتر "مطلوب" را از بین برد. قابل پیش‌بینی است که پدید آمدن فناوری‌های جدید، الهام‌گرفته از یک مناظره و بحث جدی در مورد کاربرد آن می‌باشد.

نگهداری سلولی

زنده ماندن و فعالیت طبیعی سلول‌ها به انواع عملکردهای