فصلنامه علمی - تخصصی دانشجویی زیست شناسی دانشگاه
الزهرا(س)، شماره ۳۷، بهار و تابستان ۱۴۰۰

در این شماره می خوانید:

مقدمه‌ای بر بیوانفورماتیک، چیستی و کاربردها

بیوانفورماتیک را برای مادربزرگتان توضیح دهید!

فناوری کریسپر(CRISPR) و قابلیت آن در کنترل کامل وراثت اپی ژنیک

مطالعه تأثیر بیش بیان ژن *OCT4* و مهار همزمان ژن *P53* بر بیان ژن‌های پرتوانی در سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان

واکسن اختصاصی، زمینه نوظهور واکسینومتیک

شناسنامه نشریه

فصلنامه بهار و تابستان ۱۴۰۰، شماره ۳۷- سال شانزدهم
فصلنامه علمی - تخصصی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا(س)
صاحب امتیاز: انجمن علمی دانشجویی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا(س)
مدیرمسئول: شادی مرکبی ثابت
سردبیر: شادی مرکبی ثابت
هیئت تحریریه: نگار مالیان، زهرا شفیعی، نیلوفر ترکزاده، سپیده فرجی، شادی مرکبی ثابت، فاطمه فریادرس، زهرا پرهیزگار
ویراستاری: فاطمه دهقان، شادی مرکبی ثابت
استاد مشاور: سرکار خانم زهرا موسوی‌نژاد
صفحه‌آرا و طراح جلد: ملیکا خرمشکوه
چاپ: دانشگاه الزهرا(س)
کارشناس نشریات: سرکار خانم زهرا وزیری
آدرس: تهران، ونک، ده ونک، دانشگاه الزهرا(س)، ساختمان معاونت فرهنگی و اجتماعی دانشگاه الزهرا(س)
رایانامه:
DNAmagazine98@gmail.com

فهرست مطالب

«پرونده بیوانفورماتیک»

مقدمه‌ای بر بیوانفورماتیک، چیستی و کاربردها ۳

بیوانفورماتیک را برای مادربزرگتان توضیح دهید!..... ۵

«از کریسپر(CRISPR) چه خبر؟!»

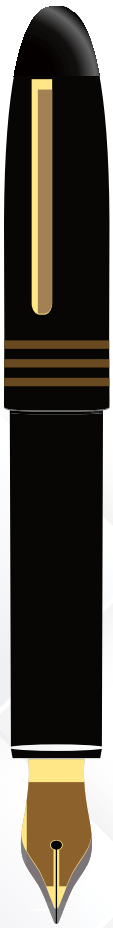
فناوری کریسپر(CRISPR) و قابلیت آن در کنترل کامل وراثت اپی ژنیک ۸

«از مهار ژن تا واکسینولوژی»

واکسن اختصاصی، زمینه نوظهور واکسینومتیک..... ۱۰

مطالعه تأثیر بیش بیان ژن *OCT4* و مهار همزمان ژن *P53* بر بیان ژن‌های پرتوانی در سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان..... ۱۴

سخن سردبیر



شماری دیگر بر دفتر فصلنامه علمی-تخصصی DNA اضافه شد و در اختیار شما خوانندگان قرار گرفت. این بار هم مانند شماره قبل، نشریه DNA رنگ و بوی متفاوتی به خود گرفته است که به دلیل همکاری با افراد تازه کار، اما پرانرژی و دلسوز ماست.

با همه مشکلاتی که شاید بیش از پیش در مسیرمان بودند، مقابله کردیم و می‌کنیم. «امید همواره زنده است» و هیچگاه ناامیدی به ما راه نفوذ ندارد. خدا را شاکرم که در این چند تجربه پر چالشی که در نشریه DNA داشته‌ام، با همراهان و اعضای صمیمی‌ای آشنا شدم که باعث هموارتر شدن راه شدند و این مسئولیت سنگین را به تجربه‌ای زیبا به یادماندنی تبدیل کردند.

در این شماره، نهایت سعی اینجانب در جمع‌آوری مطالبی شد که برای خوانندگان ساده و مفهوم باشند، اما در دل این مطالب نکات بسیاری نهفته است و امیدوارم که همکاران آینده‌ام در شماره‌های بعدی، این مطالب را به صورت تخصصی‌تر و با ذکر جزئیات بیشتر، ادامه دهند تا اندکی به علم خوانندگان بیفزایند.

در آخر، از اعضای هیئت تحریریه و همچنین افرادی که زحمات کارهای تکمیلی چاپ نشریه را کشیدند کمال تشکر را دارم و از صمیم قلب، موفقیت و سلامتی روزافزون برایشان آرزومندم.

شادی مرکبی ثابت،

تیر ماه ۱۴۰۰

مقدمه‌ای بر بیوانفورماتیک، چیستی و کاربردها

فاطمه فریادرس
کارشناسی بیوتکنولوژی

مقدمه

حجم فوق‌العاده زیاد داده‌های مولکولی و الگوهای مبهم و مرموز آن‌ها، ما را بر آن داشته است تا به پایگاه‌های داده و ابزارهای تحلیل داده‌ها نیاز مبرم پیدا کنیم. تلاش و هدفمان یافتن روش‌های جدیدی برای مدیریت این داده‌های حجیم و پیچیده و نیز فراهم‌کردن بستری برای دسترسی به ابزارهای رایانه‌ای و الگوریتم‌های قدرتمند ریاضی است، تا بتوانیم این حجم داده‌ها را تحلیل کنیم.

نیاز علم ژنتیک به رایانه

بیولوژی مولکولی و علم ژنتیک درگیر مسائلی هستند که بیوانفورماتیک می‌تواند با به‌کارگیری اطلاعات رایانه‌ای به حل آن‌ها کمک کند. مقدار زیاد داده‌ها برای نگهداری و مقایسهٔ آن‌ها، بسیار مشکل و گاهی ناممکن است. یکی از کاربردهای بیوانفورماتیک تحلیل این داده‌ها برای پی‌بردن به معمای تکامل هستی است. حل این معما در میلیاردها نوکلئوتید درون ژنوم موجودات زنده نهفته است.

بیوانفورماتیک چیست؟

بیوانفورماتیک علم نوینی است که در آن با استفاده از رایانه و نرم‌افزارها و بانک‌های اطلاعاتی سعی می‌کنند به مسائل بیولوژیکی؛ به‌خصوص در زمینه‌های سلولی و مولکولی پاسخ دهند. در این علم سعی تا تحقیقات وسیع‌تری دربارهٔ پروتئین‌ها و ژن‌ها انجام دهند؛ بنابراین دو فعالیت برجسته‌ای که بیوانفورماتیک‌دانان به آن مشغول هستند، پروتئومیکس و ژنومیکس است.

ژنومیک شامل تجزیه‌وتحلیل داده‌ها و اطلاعات ژنتیکی به‌خصوص ژنوم موجودات است. به کل DNA موجود در سلول‌های یک جاندار ژنوم می‌گویند که به‌عنوان مادهٔ ژنتیکی عمل می‌کند و سبب بروز صفات وراثتی (فنوتیپ) می‌شود. با انتقال مادهٔ وراثتی از یک نسل به نسل دیگر، صفات ارثی از نسلی به نسل بعد منتقل می‌شوند. در موجوداتی که تولیدمثل جنسی دارند، ژن‌ها از طریق سلول جنسی نر (اسپرم) و سلول جنسی ماده (اووم) نسل آینده را می‌سازند. به‌طور خلاصه ژنومیک شامل توالی‌یابی و آنالیز ژن‌ها و رونوشت‌های آن‌ها در یک موجود زنده است.

پروتئومیکس به آنالیز پروتئین‌های یک موجود زنده گفته می‌شود. علاوه بر ژنومیکس و پروتئومیکس، شاخه های دیگری از علوم زیستی وجود دارند که در بیوانفورماتیک از آن‌ها استفاده می‌شود که عبارت‌اند از: متابولومیکس و ترانسکریپتومیکس. در هرکدام از این بخش‌ها سعی می‌کنند تا به سوالات و پیچیدگی‌های حیات پاسخ دهند. در حوزهٔ متابولومیکس داده‌های مرتبط با متابولیت‌های سلولی را تجزیه‌وتحلیل می‌کنند و در علم ترانسکریپتومیکس داده‌های مربوط به رونویسی را بررسی می‌کنند.

کاربردهای بیوانفورماتیک

مطالعات بیوانفورماتیک ذخیره‌سازی و دستکاری و تفسیر داده‌های زیستی، به‌ویژه داده‌های اسیدهای نوکلئیک و اسیدهای آمینه است و همچنین مطالعهٔ قوانین مولکولی و سیستم‌هایی که از نظر محاسباتی بر ساختار و عملکرد و تکامل اشکال مختلف زندگی اثرگذار هستند. کلمهٔ «محاسباتی» نه‌تنها به معنای «رایانه‌ای» است، بلکه به تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با روش‌های ریاضیاتی و آماری و الگوریتمی هم اشاره دارد، که البته بیشتر آن‌ها باید با نرم‌افزارها اجرا شوند. زیست‌شناسی محاسباتی یا بیوانفورماتیک با داده‌های کمی را زیست‌شناسی کمی می‌نامند.

بیوانفورماتیک به بخشی مهم در بسیاری از زمینه‌های زیست‌شناسی تبدیل شده است. در زیست‌شناسی مولکولی، تکنیک‌های بیوانفورماتیک با پردازش تصویر و سیگنال، امکان استخراج نتایج مفیدی از مقدار زیادی دادهٔ خام فراهم می‌شود. در زمینهٔ ژنتیک هم به توالی‌یابی و حاشیه‌نویسی ژنوم و جهش‌های مشاهدهٔ شده آن کمک می‌کند، که در

توسعهٔ هستی‌شناسی زیستی و سازماندهی داده‌های زیستی نقش مهمی ایفا می‌کند. همچنین در تحلیل بیان و تنظیم ژن و پروتئین نقش دارد. ابزارهای بیوانفورماتیک در مقایسه‌کردن و تحلیل و تفسیر داده‌های ژنتیکی و به‌طور کلی در درک جنبه‌های تکاملی زیست‌شناسی مولکولی کمک‌کننده هستند. در سطحی یکپارچه‌تر، به تحلیل و فهرست‌بندی مسیرهای زیستی و شبکه‌هایی کمک می‌کند که بخش مهمی از زیست‌شناسی سیستم‌ها هستند. در زیست‌شناسی ساختاری، به شبیه‌سازی و مدل‌سازی DNA ، RNA، پروتئین‌ها و همچنین فعل و انفعالات بیومولکولی کمک می‌کند.

نقش بیوانفورماتیک در کشف داروهای جدید

از آنجایی که باکتری‌های بیماری‌زا بیشتر و بیشتر در مقابل آنتی‌بیوتیک‌های رایج مقاوم می‌شوند، نیاز روبه‌رشدی به کشف داروها و واکسن‌های جدید وجود دارد؛ بنابراین با استفاده از علم بیوانفورماتیک و نرم‌افزارهای مختلف، می‌توان در یافتن مکانیسم‌های عمل داروها به دانشمندان کمک کرد و به‌وسیلهٔ کامل‌کردن دانش دربارهٔ فیزیولوژی باکتری‌ها و شبکه‌های انتقال سیگنال، علم پزشکی را در شناخت اهداف جایگزین برای درمان‌های ضدباکتریایی یاری رساند.

زمینه‌های مهم بیوانفورماتیک

۱. تحلیل توالی‌های ژنوم

۲. پیش‌بینی ساختار سه‌بعدی پروتئین

۳. تحلیل کارکردی در سطح ژنوم

۴. ایجاد و مدیریت پایگاه‌های داده‌ای

۵. مدل‌سازی ریاضی و فرایندهای حیات

نتیجه

هدف اصلی بیوانفورماتیک، افزایش درک فرآیندهای زیستی است و آنچه آن را از سایر رویکردها متمایز می‌کند، تمرکزش بر توسعهٔ تکنیک‌های فشردهٔ محاسباتی برای دستیابی به این هدف است. با توجه به اینکه پیشرفت‌ها در علم زیست‌شناسی به تجهیزات تحقیقاتی خاص در این زمینه نیاز دارد و امروزه برای بررسی‌های مختلف ژنتیکی موجودات، داده‌های بسیار زیادی به دست آمده است، می‌توان برای حل مشکلات اساسی، علم بیوانفورماتیک را معرفی کرد. در نهایت امیدواریم که همهٔ محققان برای پیشرفت علم و تکنولوژی از این علم با توجه به عملکرد بسیار زیادش استفاده کنند.

منابع

https://blog.faradars.org

https://geniranlab.ir/

https://blog.surena.ac/post/What-is-Bioinformatics

https://itan.ir/۷۱۲۹

http://nbnc.ir

بیوانفورماتیک را برای مادربزرگ خود توضیح دهید!

زهرا پرهیزگار
کارشناسی بیوتکنولوژی

چکیده

این پرسش «روی چه چیزی کار می‌کنید؟» را قطعا بارها در مهمانی و دورهمی خانوادگی و در طول صحبت با اطرافیان از شما پرسیده‌اند. برقراری ارتباط با مخاطب دربارهٔ موضوعات علمی و علاقه‌مند کردن آن‌ها به علم، کار دشواری باشد یا نه، باید آن را برای سال‌ها انجام دهید؛ پس بهتر است یاد بگیرید.

اگرچه معمولاً این موضوع را آموزش نمی‌دهند، اما توانایی توضیح‌دادن کارتان به دیگران مهارتی ضروری در علم است و برقراری ارتباط نقش کلیدی را ایفا می‌کند.

با استفاده از برخی مثال‌ها دربارهٔ فعالیت‌های گروه دانشجویان فرانسه (RSG - France)، در اینجا به موضوعات زیر می‌پردازیم:

۱. چرا داشتن چنین مهارت‌های ارتباطی مهم است؟

۲. چگونه می‌توانید با استفاده از منابع موجود و یا کار با افرادی که تجربهٔ قبلی دارند در این فعالیت‌ها مشارکت کنید؟

۳. چه چیزی از این تجربهٔ شگفت‌انگیز به دست می‌آورید؟

هدف ما ایجاد انگیزه در شما و ارائهٔ نکات و ایده‌هایی برای مشارکت در ارتقاء فعالیت‌های علمی و در عین حال بهره‌مندی از تمام مزایای آن است.

اهمیت ارائهٔ پژوهش‌ها به مخاطبان

گاهی پاسخ به پرسش «روی چه چیزی کار می‌کنید؟» برای یک دانشمند دشوار است، اما نباید از آن اجتناب کند، بلکه باید سعی کند به‌وضوح و با اشتیاق دربارهٔ زیبایی موضوع تحقیقش توضیح دهد. برقراری ارتباط با مخاطب تمرین دشواری است.

مخاطب چه کسی است؟ می‌تواند شخصی باشد که با موضوع تحقیق شما آشنا نیست، یا به بحث علمی عادت ندارد، یا از افرادی باشد که عموماً دربارهٔ علم کنجکاوند و حتی کودکی باشد پرسشگر. به عبارت دیگر، باید برای همهٔ افرادی که خارج از آزمایشگاه تحقیقاتی‌تان هستند، مفاهیم را از ابتدا توضیح دهید، بدون اینکه دانش قبلی را در نظر بگیرید. همچنین در زمینهٔ حرفه‌ای ممکن است بحث‌هایی با دانشمندانی از رشته‌های دیگر یا حتی هم‌رشته با خودتان داشته باشید که تجربه‌های متفاوتی دارند.

توضیح‌دادن دانشتان به مخاطبان، زمینه‌ساز ترویج و محبوب‌شدنش می‌شود. موقعیت‌های مختلفی وجود دارد که دانشمندان می‌توانند دربارهٔ کارشان صحبت کنند؛ مانند بحث‌های آزاد علمی، بحث در یک کافه، سمینارهای عمومی، سخنرانی‌های ویژه برای یک روز علمی و ملی، روزهای بازدید عمومی در مؤسسه‌های تحقیقاتی یا حتی زمانی که شما گروه‌تان را برای دوره‌های آموزشی آماده می‌کنید.

چرا برقراری ارتباط مؤثر با مخاطب بسیار مهم و ضروری است؟ به دلایل زیادی از جمله؛ آموزش جهانی، ادغام علوم و استخدام دانشمندان جوان برای پرورش نسل بعدی محققان. همچنین در بسیاری از کشورها بودجهٔ علمی بیشتر توسط مالیات‌دهندگان تأمین می‌شود و این عادلانه است که آن‌ها پیشرفت‌ها و ریسک‌های موجود در تحقیق را درک

کنند و بدانند که پولشان چگونه هزینه می‌شود؛ پس برای توضیح‌دادن به آن‌ها باید ارتباط موثری برقرار شود.

بسیاری از مردم معتقدند که علم موضوع پیچیده‌ای است و نمی‌توانند آن را درک کنند؛ اما این درست نیست و شما به‌عنوان یک دانشمند می‌توانید با توضیح‌دادن سادهٔ مسائل اصلی و مهم علمی و اینکه چرا این مسائل چالش‌برانگیز و هیجان‌انگیزند، به آن‌ها کمک کنید. این امر به مردم کمک می‌کند تا علم را برای هرکسی در دسترس و درک‌شدنی بیابند. علاوه بر این، توضیح کار و حوزهٔ تحقیقتان به‌طور کلی برای ایجاد علاقه در جوانان مهم است. همچنین شما با نشان‌دادن شورواشتیاق در کارتان ممکن است بتوانید دیگران را علاقه‌مند کنید و سپس با آموزش به آن‌ها محققان جدیدی را پرورش دهید. این موضوع می‌تواند دربارهٔ کودکان و نوجوانان و حتی دانشمندان دیگری صدق کند که زمینهٔ تحقیقاتی جدیدی را کشف می‌کنند. الهام‌گرفتن از یک مربی اغلب نکتهٔ کلیدی در حرفهٔ علمی است.

نقش کلیدی محققان جوان

اگرچه ارتباط مؤثر در هر مرحله از حرفهٔ شما مهم و مفید است، شما می‌توانید به‌عنوان یک متخصص جوان، تأثیری خاص و ویژه بگذارید. دانشمندانِ جوان، پلی بین متخصصان و مخاطبان هستند، به همین علت انجمن دانشجویان جامعهٔ بین‌المللی زیست‌شناسی محاسباتی و گروه‌های دانشجویی منطقه‌ای در چنین فعالیت‌هایی شرکت می‌کنند. در واقع دانشمندان جوان اغلب بسیار پویا و پرحرارت هستند و مخاطبان جوان احساس نزدیکی بیشتری به آن‌ها داشته و از یک دانشمند پرشور و پویا در روپوش آزمایشگاهیِ استقبال می‌کنند. به علاوه، دانشمندان جوان معمولاً مسئولیت کمتری دارند و زمان بیشتری برای برقراری ارتباط و توضیح علم نسبت به دانشمندان ارشد دارند. البته باید به این نکته توجه کرد که سازماندهی رویدادها، موضوعی وقت‌گیر است و برنامه‌ریزی رویدادها و مدیریت آن‌ها نیازمند صرف زمان کافی است. برخی مفاهیم در این مقاله را با فعالیت‌هایی نشان خواهیم داد که به رهبری گروه دانشجویان (منطقه‌ای) فرانسوی (RSG - France) هدایت می‌شوند.

در هنگام توضیح‌دادن پروژه‌ها یا کارهای‌تان خود، این نکته مهم و درخور توجه است که از به‌کاربردن اصطلاحات فنی و تخصصی اجتناب کنید؛ چراکه تنها متخصصان قادر به درک آنها هستند و برای مخاطبان دیگر این گفتگو بسیار خسته‌کننده است و آنان مجبور هستند برای درک توضیحاتتان سوالات زیادی را بپرسند؛ پس باید سعی کنید از مثال‌های ملموس استفاده کنید تا مشخص شود که کار شما چقدر سرگرم‌کننده و جذاب است. RSG - France از این رویکردها برای ترویج علم در روزهای علمی برای عموم و در همکاری با انجمن‌های دیگر استفاده کرد. در ادامه به مثال‌هایی از این قبیل اشاره می‌شود.

نمونه‌هایی از چگونگی ارائه علوم

در ابتدا با همکاری برگزارکنندگان محلی در روزهای علمی، یک بازی تعاملی توسط RSG - France برای بازدیدکنندگان ۷ تا ۹۹ ساله ایجاد شد. این بازی مفهوم توالی‌های DNA و مقایسهٔ آن‌ها را شرح داد. روند بازی بر اساس یک تحقیق بود و مردم باید همانند یک محقق عمل می‌کردند. موضوع تحقیق آن‌ها نمونهٔ DNA بود که از مدفوعی در کوهستان یافته بودند و آن‌ها باید تشخیص می‌دادند که متعلق به چه حیوانی است. موضوع این تحقیق و داستان مربوط به آن، علاقهٔ اکثر بازدیدکنندگان را به خود جلب کرد. در تمام طول بازی به آن‌ها کمک کردند تا به‌عنوان یک محقق خوب و زیست‌شناس محاسباتی عمل کنند.

این تحقیق، یک بازی در زندگی واقعی بود؛ به همین علت مردم از آن استقبال کردند. در واقع وقتی مردم از بازی لذت می‌برند، درک نمی‌کنند که دربارهٔ کار محققِ بیوانفورماتیک یاد می‌گیرند، همچنین هر چه فعالیتِ خنده‌دارتر باشد، یادگیری آسان‌تر می‌شود. در پایان نیز به شرکت‌کنندگانی که تحقیق را تکمیل کردند با توضیح دستاوردهایشان از آزمایشگاه تحقیقاتی (مشابه آنچه که یک دانشجو یا یک محقق جوان ممکن است بعد از فارغ‌التحصیلی از استاد دریافت کند) پاداش دادند. این بازی به‌مدت سه سال توسط همکاران محلی استفاده شد، که همیشه یک موفقیت بزرگ محسوب می‌شود.

RSG – France به‌عنوان دومین فعالیت علمی عمومی، در همکاری با شرکتی کار می‌کرد که دانش‌آموزان را برای تعطیلات علمی، به اردوگاه تابستانی می‌آورد؛ سپس میزگردی با دانش‌آموزان و محققان ایجاد می‌شد و آن‌ها شورواشتیاق خود را به‌روش جالبی به‌اشتراک می‌گذاشتند. بحث‌ها و گفتگوهای غیررسمی باعث می‌شود دانش‌آموزان جوان بیشتر به علم علاقه‌مند شوند. در این زمینه RSG - France یک کارگاه بیوانفورماتیک نیز برای نوجوانان ترتیب داد و هدف

آن، توصیف و توضیح بیوانفورماتیک به شرکت‌کنندگان بود و به آن‌ها کمک کرد تا دانش بیوانفورماتیک خود را بهبود بخشند. کاری که انجام شد برای کسانی مفید بود که می‌خواستند در مورد کارشان در بیوانفورماتیک توضیح دهند.

نکاتی دربارهٔ چگونگی ارائهٔ علم

نکتهٔ کلیدی در توضیح‌دادن مؤثر کارتان و صحبت‌کردن دربارهٔ زمینهٔ خاص برای مخاطبان، ساده‌گویی است. دانشمندان به خواندن گزارش‌های دقیق تحقیق‌ها برای اطلاعاتی مرتبط با پروژه‌شان عادت دارند؛ اما کسانی که متخصص نیستند و می‌خواهند بفهمند علم درباره چه چیزی است، با این مطالب آشنایی ندارند. سعی نکنید داستان بیوانفورماتیک و یا جزئیات پروژهٔ تحقیق فعلی خود را با سؤالات و فرضیات اصلی و به‌طور کامل توضیح دهید؛ زیرا تنها چند نفر در آزمایشگاه‌تان یا در حوزه شما به آن علاقمند خواهند شد و اگر مادربزرگتان بگوید که او علاقه‌مند است، فقط به این خاطر است که از صحبت‌کردن با شما لذت می‌برد و شما می‌توانید مطمئن باشید که او حتی یک کلمه از صحبت‌های شما را به یاد نمی‌آورد!

علم را با مقایسه‌کردن نمونه‌های آشنا از دنیای روزمره توضیح دهید؛ برای مثال ژن‌ها فصل‌هایی از کتاب هستند و اسیدهای آمینه کلماتِ آن‌ها و همه با هم (ژن‌ها) یک داستان می‌گویند. رونویسی و ترجمهٔ؛ یعنی کتاب را از ابتدا تا انتها می‌خوانند و آن را درک می‌کنند. ژنوم مجموعه‌ای از کتاب‌هاست که یک داستان بزرگ، داستان زندگی یک نفر را تعریف می‌کند. بیوانفورماتیک چیست؟ تنها راه تجزیه‌وتحلیل تمام داستان است.

خواندن یک‌به‌یک تمام کتاب‌ها بسیار وقت‌گیر است؛ بنابراین باید از کامپیوتر استفاده شود. زیست‌شناسان محاسباتی از کامپیوتر برای درک داستان زندگی ما استفاده می‌کنند. به یاد داشته باشید که اگر هدفتان آموزش دادن نیست، بیشتر توجه مردم را جلب کنید و در مقابل جامعهٔ بدون کارشناس، مطمئن شوید که سخنرانی‌تان را لذت‌بخش اجرا می‌کنید. داشتن سرگرمی و استفاده از مثال‌های واقعی به مخاطبان کمک می‌کند تا نکته‌ها را به یاد داشته باشند. فراموش نکنید که وقتی مخاطبان از شنیدن لذت می‌برند، خیلی بهتر از فرآیند آموزشی یا فعالیت یاد می‌گیرند.

زمانی برای ترویج علم آماده‌اید که از صحبت‌کردن با مردم لذت ببرید، آنگاه علاقه‌مندان واقعی به موضوع ارائهٔ‌تان را ملاقات خواهید کرد. علاقهٔ مخاطب در شورواشتیاق یا در سؤالات آن‌ها مشهود است و این اشتیاق به‌شدت برای سخنران ارزشمند است.

اگر از نظر علمی مبتدی هستید، می‌توانید از کتاب‌ها و منابع اینترنتی استفاده کنید و همچنین از مهارت‌ها و تجربیات انجمن‌های محلی و ملی و دیگر همکاران و دوستانتان بهره ببرید. استادان نیز ممکن است برای ترویج دانش با دانشجویان جدید از این گزینه‌ها استفاده کنند. برخی از انجمن‌ها به این فعالیت‌ها اختصاص داده شده‌اند و می‌توانید از آن‌ها مشورت بگیرید. آن‌ها ممکن است چند اسلاید، یک داستان یا تارنمای مناسبی برای‌تان داشته باشند. چرا از کارهایی که قبلا انجام شده و ابداعات گذشته استفاده نکنید، همان‌طور که RSG - France انجام داد؟ وقتی‌که می‌توانید از روش‌های موجود برای اهداف جدید استفاده کنید، هیچ سودی برای‌تان در ابداع مجدد چیزی وجود ندارد.

نتیجه‌گیری

علم بخش مهمی از جامعه است و یکی از نقش‌های دانشمندان برقراری ارتباط دربارهٔ کارتان با مخاطبان است و این موضوع حتی برای شما هم مفید است، چراکه به گفت انیشتین: «شما چیزی را واقعاً درک نمی‌کنید، مگر اینکه بتوانید آن را به مادربزرگ خود توضیح دهید.» علاوه بر این، توضیح‌دادن دربارهٔ تحقیقتان به همکارانتان بخشی از کار روزانه‌تان است و هرگونه همکاری، در کنار ارتباطات بهتر کارآمدتر خواهد بود.

تشکر و قدردانی

از Gonzalo Parra، Abhishek Pratap، Geoff Macintyre و Thomas Abeel برای نظرات مفیدشان دربارهٔ این مقاله و Stephanie Holt برای کمک به تهیهٔ پیش‌نویس آن تشکر می‌کنیم.

منابع:

1. Oshlack A (2013) A 10-step guide to party conversation for bioinformaticians. Genome Biol 14: 104.

2. Lee A, Dennis C, Campbell P (2007) Nature's guide for mentors. Nature 6: 7.

3. Dean C (2009) Am I making myself clear? A scientist's guide to talking to the public. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.

فناوری کریسپر و قابلیت آن در کنترل کامل وراثت اپی ژنیک

زهرا شفیعی: کارشناسی بیوتکنولوژی
نگار مالیان: کارشناسی بیوتکنولوژی

فناوری جدید کریسپر (CRISPR) توانایی کنترل‌کردن کامل وراثت اپی‌ژنتیک را ارائه می دهد.

دانشمندان دریافته‌اند که چگونه می‌توان ساختار اساسی کریسپر را تغییر داد تا دامنهٔ آن را بیش از ژنوم به سمت اپی‌ژنوم توسعه دهیم. کریسپرها پروتئین‌ها و مولکول‌های کوچکی هستند که به DNA متصل می‌شوند و کی و کجا روشن یا خاموش‌شدن ژن‌ها را کنترل می‌کنند.

در مقاله‌ای که در ۹ آوریل ۲۰۲۱ درمجلهٔ cellمنتشر شد، محققان کالیفرنیا از دانشگاه سان‌فرانسیسکو و موسسهٔ (whitehead) ابزاری جدید مبتنی بر کریسپر به نام CRISPRoff را معرفی کردند که به دانشمندان این اجازه را می‌دهد تا تقریبا هر ژن موجود در سلول‌های انسانی را بدون ویرایش‌کردن کد ژنتیکی‌اش خاموش کنند. محققان همچنین نشان دادند که به محض خاموش‌شدن یک ژن، تا صدها نسل از آن سلول خاموش باقی می‌مانند، مگر اینکه با ابزاری مکمل به نام CRISPRon دوباره روشن شوند (که در مقاله توضیح داده شده است). از آنجا که اپی‌ژنوم در بسیاری از بیماری‌ها، از عفونت ویروسی تا سرطان، نقش اصلی را بازی می‌کند، تکنولوژی CRISPRoff ممکن است روزی منجر به درمان‌های اپی‌ژنتیک قدرتمندی شود و از آنجا که این رویکرد شامل هیچ‌گونه ویرایش DNAای نیست، احتمالا نسبت‌به درمان‌های سنتی کریسپر، که باعث تغییرات ناخواسته و مضر در ژنوم می‌شدند، ایمن‌تر عمل کند. دکتر لوک گیلبرت، از مرکز جامع سرطان خانوادهٔ هلن دیلر UCSF و یکی از نویسندگان ارشد این مقاله گفت: «اگرچه درمان‌های ژنتیکی و سلولی، آیندهٔ علم پزشکی هستند، اما نگرانی‌های امنیتی بالقوه‌ای دربارهٔ تغییر دائمی ژنوم وجود دارد، به همین علت است که ما در حال تلاش برای یافتن راه‌های دیگری برای استفاده از کریسپر در درمان بیماری هستیم.»

تبدیل کریسپر از ژنوم به تغییردهندهٔ اپی‌ژنوم

کریسپر معمولی به دو بخش سخت‌افزاری مولکولی مجهز است که آن را به ابزار مؤثر ویرایش‌کنندهٔ ژن تبدیل می‌کند. یک جزء آن آنزیم پیک DNA است که به کریسپر توانایی تغییر توالی DNA را می‌دهد. دیگری عاملی داخلی است که می‌توان آن را از صفر روی هر توالی دلخواهی از DNA برنامه‌ریزی کرد و کنترل دقیقی بر روی محل ساخت ویرایش‌ها اعمال کرد.

برای ساخت CRISPRoff محققان ابتدا از عملکرد آنزیم پیک معمول برای بریدن DNA صرف‌نظر کردند، در حالی که عامل داخلی را حفظ کردند و کریسپر از کار افتاده‌ای ساختند که قادر به هدف قراردادن هر ژنی باشد، اما آن را ویرایش نکند؛ سپس آن‌ها یک آنزیم به این کریسپر متصل کردند، ولی این آنزیم به‌جای به هم پیونددادن DNA، بر روی اپی‌ژنوم عمل می‌کرد.

ابزار جدید، ویژگی اپی‌ژنتیک خاص و شناخته‌شدهٔ متیلاسیون DNA را هدف قرار می‌دهد، که یکی از بخش‌های مولکولی بسیاری از اپی‌ژنوم‌هاست. طی فرآیند متیله‌شدن DNA، یک برچسب شیمیایی کوچک که به‌عنوان گروه متیل شناخته می‌شود، به DNA ضمیمه می‌شود و ژن‌های مجاور را خاموش می‌کند. اگرچه متیلاسیون DNA به‌طور طبیعی در تمام سلول‌های پستانداران رخ می‌دهد، CRISPRoff به دانشمندان کنترل بی‌سابقه‌ای بر این فرآیند ارائه می‌دهد. ابزار دیگری که در این مقاله ذکر شده است، CRISPRon است. این روش نشانه‌های متیلاسیون ذخیره‌شده توسط CRISPRoff را حذف می‌کند و این فرآیند را به‌طور کامل برگشت‌پذیر می‌کند.

دکتر جاناتان وایزمن، عضو موسسهٔ Whitehead و نویسندهٔ ارشد مقاله و عضو سابق هیئت علمی دانشگاه سان فرانسیسکو می‌گوید: «اکنون یک ابزار ساده داریم که می‌تواند اکثریت قریب به اتفاق ژن‌ها را خاموش کند. می‌توانیم این کار را برای ژن‌های متعدد و هم‌زمان به کار بگیریم بدون اینکه هیچ آسیبی به DNA وارد شود، به گونه‌ای که این فرآیند بتواند برگشت‌پذیر باشد. این ابزاری عالی برای کنترل بیان ژن است.»

شگفتی بزرگی در انتظار عقیدهٔ اساسی اپی ژنتیکی

بر اساس کار پیشین گروهی در ایتالیا، پژوهشگران مطمئن بودند که CRISPRoff قادر خواهد بود ژن‌های مشخصی را خاموش کند، اما آن‌ها گمان می‌کردند

که حدود ۳۰درصد ژن‌های انسانی به ابزار جدید پاسخی نخواهند داد.

DNAاز چهار نوع نوکلئوتید A C G T تشکیل شده است، اما به‌طور کلی تنها نوکلئویدهای C را می‌توان در کنار نوکلئوتیدهای G متیله کرد. دانشمندان از دیرباز بر این باور بوده‌اند که متیلاسیون تنها می‌تواند ژن‌ها را دربخش‌هایی از ژنوم خاموش کند که توالی‌های CG در آن‌ها به‌شدت متمرکز هستند، یا به اصطلاح به «جزایرCpG» معروف‌اند. این در حالی است که نزدیک به یک‌سوم ژن‌های انسانی فاقد جزایر CpG بوده و محققان تصور می‌کردند که متیلاسیون، این ژن‌ها را خاموش نخواهد کرد.

اکنون آزمایش‌های CRISPRoffاین تصور را رد می‌کند. دکتر گیلبرت می‌گوید: «چیزی که پیش از این کار تصور می‌کردند این بود که ۳۰درصد ژن‌هایی که جزایر CpG ندارند، توسط متیلاسیون DNA کنترل نمی‌شوند، اما کار به وضوح نشان می‌دهد که شما نیاز به یک جزیرهٔ CpG برای خاموش‌کردن ژن‌ها توسط متیلاسیون ندارید. این نتیجه برای من بسیار حیرت‌انگیز بود.»

هنگامی که CRISPRoff ژنی را خاموش می‌کند، نه‌تنها آن ژنِ خاموش‌شده در سلولِ در حال درمان باقی می‌ماند، بلکه در چهارصدوپنجاه نسل از سلول‌های حاصل از تقسیمات سلولی آن نیز دیده خواهد شد. تیم تحقیقاتی شگفت‌زده شدند که این امر دربارهٔ بلوغ سلول‌های بنیادی نیز صادق است. اگرچه تمایز سلول‌های بنیادی به سلول‌های بالغِ مختلف، بازنویسی درخور توجهی از اپی‌ژنوم است، علائم متیلاسیون منتقل‌شده توسط کریسپر به‌صورت کامل به کسر مهمی از سلول‌هایی منتقل می‌شود که این انتقال را انجام داده‌اند.

این یافته‌ها حاکی از آن است که CRISPRoff برای اینکه اثرات درمانی مؤثری داشته باشد، تنها به یک بار تجویزشدن نیاز دارد و این نکته آن را تبدیل به رویکردی امیدوارکننده برای درمان اختلالات ژنتیکی نادر می‌کند. اختلالاتی از قبیل سندرم مارفان که بر روی بافت پیوندی اثر می‌گذارد یا سندرم جاب که اختلال در سیستم ایمنی بدن است، همچنین اشکال خاصی از سرطان که ناشی از فعالیت کپیِ آسیب‌دیدهٔ یک ژن هستند.

محققان خاطر نشان کردند که اگرچه CRISPRoff فوق‌العاده امیدوارکننده است، اما برای تحقق توانایی درمانی آن به‌صورت کامل، نیاز به کار بیشتری است. زمان خواهد گفت که آیا CRISPRoff و فن‌آوری‌های مشابه آن، آیندهٔ پزشکی خواهند بود یا خیر؟

منبع:

https://www.sciencedaily.com/releases.۲۱۰۴۱۶۱۳۱۹۲۳/۰۴/۲۰۲۱/html

واکسن اختصاصی، زمینه‌نوظهور واکسینومیک

سپیده فرجی: کارشناسی بیوتکنولوژی
شادی مرکبی ثابت: کارشناسی بیوتکنولوژی

حرف‌زدن دربارهٔ اثرات سودمند ایمنی‌سازی بسیار سخت است. طبق گفتهٔ مرکز CDC یا مرکز کنترل بیماری‌ها (Center for Disease control) واکسن کودکانی که طی دو سال گذشته در آمریکا متولد شده‌اند را از بیش از ۳۲۲میلیون بیماری و ۲۱میلیون احتمال بستری‌شدن و ۷۳۲هزار مرگ حفظ کرده است. همچنین صرفه‌جویی ۱.۴تریلیون دلار نیز از دیگر تأثیرات واکسن بوده است؛ مثلا واکسن‌ها تقریبا بیماری‌ای به نام آنفلوآنزای هموفیلوس را از بین برده‌اند. این بیماری عامل عفونت‌های خونی؛ مثل ذات‌الریه، پنومونیا، مننژیت، معلولیت دائمی و مرگ در نوزادان تازه‌متولدشده بود.

پس واکسن‌ها خیلی مؤثر هستند، اما مسئله‌ای جدی پیش رو داریم. برای کسب حفاظت مطلوب از واکسن‌ها نیازمند تزریق چندبارهٔ آن‌ها هستیم، به همین علت جامعهٔ علمی امروز به‌دنبال تولید واکسن‌های تک‌دزی (Single shot vaccine) است. تصور کنید در تمام طول عمرتان فقط یک بار واکسن می‌زنید و در طول عمرتان هیچوقت آنفلوانزا نمی‌گیرید.

مسئلهٔ جدی دیگر این است که واکسن‌سازی در برابر بعضی میکروب‌های خاص مثل ویروس HIV خیلی دشوار است، همچنین در حال حاضر بهینه‌سازی واکسن برای افراد آسیب‌پذیر مثل افراد خیلی جوان و خیلی مسن مسئلهٔ دیگری است. البته یکی از مشکلات بزرگمان نگرش‌های ضدواکسنی (anti vax attitude) است؛ مثلا در ایالات متحده ۱۰۰هزار کودک هیچ واکنسی دریافت نکرده‌اند و این تعداد در حال افزایش است، طوری‌که سازمان بهداشت جهانی(WHO) نگرش‌های ضدواکسنی را جزء ده تهدید جدی و بزرگ علیه سلامت انسان به شمار می‌آورد؛ زیرا در بعضی مناطق شاهد افزایش شیوع بیماری‌هایی هستیم که تصور می‌کردیم از بین رفته‌اند. مثل سرخک. خیلی‌ها فراموش کرده‌اند که سرخک بیماری ویروسی خطرناکی است و سرعت و وسعت انتشار زیادی دارد، طوری که یک نفر می‌تواند باعث آلودگی جمعیت یک استادیوم شود. با این حساب اگر واکسیناسیون را در جامعه کم کنیم، چه کسی آسیب می‌بیند؟

واکسن‌زدن باعث شیوع بیماری‌هایی می‌شود که افراد کم‌سن را درگیر می‌کند؛ درنتیجه اولین تأثیر واکسیناسیون افزایش شانس بزرگسال‌شدن است. واکسن‌زدن به طول عمر افراد مسن می‌افزاید؛ چون در برابر ویروس‌های کشنده مقاوم می‌شوند.

حالا چطور می‌توان واکسن‌ها را بهینه کرد؟

در واقع باید واکسن‌هایی بسازیم که باعث افزایش ایمنی ضعیف‌ترین افراد شود، یا تعداد بیشتری از واکسن‌ها تک‌دزی شوند. همهٔ واکسن‌ها حاوی آنتی‌ژن هستند که تکه‌ای از میکروب است. بدن برای به‌خاطرسپردن آنتی‌ژن میکروب‌هایی که با آن‌ها برخورد داشته، آنتی‌بادی‌ها را می‌سازد. در واقع واکسن بدن را وادار به داشتن پاسخ ایمنی می‌کند اما پاسخ ایمنی تمایل به پایین و بالارفتن دارد و همین بی‌ثباتی ایمنی، بدن را نیازمند به دزهای بیشتری از واکسن می‌کند.

امروزه تلاش برای ساخت مولکول‌هایی است که بتوانند پاسخ واکسن‌هارا تقویت کنند و پاسخ ایمنی را در مدت‌زمان بیشتری به حالت آماده باش بگذارند. به این مولکول‌ها یاری‌رسان (adjuvant) می‌گویند. این مولکول‌ها به واکسن اضافه می‌شوند تا پاسخ بیشتری داشته باشد.

با کمک این مولکول‌ها می‌توان سطح بیشتری از آنتی‌بادی و حفاظتی عمیق‌تری ایجاد کرد و درنتیجه مصونیت طولانی‌تری در مقابل بیماری و عوامل آن داشت. این مولکول‌های کمک‌رسان بر اساس سن یا عوامل عمومی افراد تأثیرات متفاوتی می‌گذارند.

امروزه به مفهوم تازه‌ای از واکسن رسیده‌ایم. مفهومی به نام داروهای دقیق (precision medicine) که در آن پاسخ جمعیت به داروهای یکسان متفاوت است و در تلاشند که این مفهوم را برای واکسن‌ها نیز اعمال کنند.

پنج رویکرد گام‌به‌گام در تولید واکسن‌های دقیق

اطلاع‌داشتن از نگاه جامعه به واکسن بسیار مهم است، چراکه اگر پیشرفته‌ترین واکسن جهان هم ساخته شود، وقتی کسی از آن استفاده نکند عملا هیچ فایده‌ای ندارد.

مسیر ایمنی‌سازی اکثر واکسن‌ها تزریق عضلانی یا MI است و دانشمندان در تلاش هستند که راه‌های دیگری نیز بیابند و برای این کار باید تمامی مسیرهایی را کشف کنند که می‌توانند مواد تشکیل‌دهندهٔ واکسن را بدون از دست دادن خواص آن به بدن و خصوصا به سیستم دفاعی بدن برسانند.

واکسن‌ها دارای اجزای مختلفی هستند. همهٔ آن‌ها آنتی‌ژن دارند و آنتی‌بادی‌هایی که در اثر تحریک آنتی‌ژن‌ها ایجاد می‌شوند و ایمنی ایجاد می‌کنند و همچنین موادی که به‌عنوان تسریع‌کننده کمک بزرگی به فرآیند می‌کنند، اما موضوع این است که مواد خیلی زیادی وجود دارند و احتمال افزودن مولکول‌های دیگر نیز به این لیست

ممکن است و در عین حال اضافه‌کردن و سنجیدن همهٔ آن‌ها نیز ناممکن است. امروزه روش‌هایی برای آزمایش واکسن‌ها در خارج از بدن و درون ظرف کشت‌بافت و با شرایط آزمایشگاهی ایجاد شده است. با استفاده از مهندسی بافت از سلول‌های خونی در خارج از بدن، برای آزمایش ایمنی‌سازی استفاده می‌شود که اثر واکسن بر روی نوزادان یا افراد مسن و دیگر گزینه‌ها را بررسی می‌کنند.

این مسئله خیلی مهم و حیاتی است؛ چون اگر بخواهیم برای همهٔ عفونت‌هایی مثل زیکا و ابولا و HIV واکسن بسازیم، باید در فاز سوم آزمایش‌های بالینی، همهٔ مواد کمکی و آنتی‌ژن‌های لازم برای جمعیت‌های مختلف را بررسی کنیم، در حالی که انجام چنین آزمایشی برای هر ترکیب به لحاظ زمانی و بررسی عوارضشان ناممکن است. اینجاست که فکر می‌کنیم توانایی آزمایش واکسن در خارج از بدن می‌تواند تفاوت زیادی در سرعت تولید واکسن ایجاد کند که سرانجام این سلسله اتفاقات، پاسخ ایمنی محافظت‌کننده در برابر یک پاتوژن خاص است و آنتی‌بادی‌ها و سلول‌های دیگر را برای دفاع از بدن در منطقه خاصی جمع می‌کند.

در کمیسیون بین‌المللی تشکیل‌شده برای بررسی چگونگی ایمنی‌سازی واکسن‌های فعلی؛ مثل بررسی حفاظت واکسن هپاتیت Bاز نوزادان، از تکنیکی به نام «نمونه‌های کوچک، داده‌های بزرگ» استفاده می‌کنند. قطره‌های کوچکی از خون کودک را قبل و بعد از ایمنی‌سازی از نظر تمام سلول‌ها و همهٔ ژن‌ها و تمام مولکول‌های موجود در آن‌ها اندازه‌گیری می‌کنند و به این ترتیب وضعیت نوزاد در قبل و بعد از واکسیناسیون را با هم مقایسه می‌کنند تا چگونگی موفقیت این واکسن‌ها را درک کنند و از اطلاعاتش برای ساخت واکسن‌های بعدی استفاده کنند.

واکسینولوژی واژه‌ای است که احتمالا از این به بعد بیشتر با آن سروکار خواهیم داشت.

به گفتهٔ محققان، عصر طلایی بعدی با علم واکسینومیک آغاز خواهد شد. علمی که با فهم ژنوتیپی و فنوتیپی به واکسن و ایمنی‌سازی نگاه خواهد کرد. امروزه برای بیماری‌هایی؛ مثل هپاتیت B، آنفولانزا، سرخک، اوریون، سرخچه، سیاه‌زخم و آبله واکسن‌هایی بر پایهٔ ژنوتیپ و فنوتیپ ساخته شده است.

در حال حاضر واکسن‌ها را عمدتا چطور می‌سازند؟

روش پزشکی فعلی در واکسینولوژی، تجویز جهانی یکسان واکسن به تمام افراد جامعه است که فارغ از تنوع ژنتیکی و محیطی افراد به طور عمومی به همه تزریق می‌شود. در این روش ایمنی‌سازی فرض بر این است که واکسن‌ها در هر دو نوع ایمنی اصلی (در سطح آنتی‌بادی و سلولی) با نرخ تقریبا ناموجودِ عوارض جانبی، برای تمام افراد یک واکنش را نشان می‌دهد و به یک اندازه در ایمن‌کردن افراد مختلف در برابر بیماری‌های متفاوت مؤثر است، همچنین فرض شده که همهٔ افراد به یک میزان در خطر ابتلا به بیماری قرار دارند. بنابراین دز مصرفی و تعداد آن‌ها برای تمام افراد یکسان است. نقطه‌قوت این روش امکان تحویل خودکار و گستردهٔ واکسن و درنتیجه کنترل بسیاری از بیماری‌هاست، اما ضعفش این است که در پاسخ ایمونولوژیک، نکته‌هایی را در نظر نمی‌گیرند؛ مانند تفاوت میزان خطر بیماری، واکنش‌زایی متفاوت وابسته به ژنتیک و همچنین تفاوت دز لازم برای اثربخشی در افراد مختلف. در زمان پیشرفت علم‌های ایمونولوژی، ژنتیک،زیست سلولی‌مولکولی و بیوانفورماتیک، ارزش توجه به واکسیناسیون با رویکرد شخصی برای انتخاب دز مصرفی مشخص شد. تداخل این موضوعات باعث ایجاد تنش بین الگوی سنتی و تکامل‌یافتهٔ واکسینولوژی شده است.

امروزه موضوعی کاملا جدید و متفاوت با واکسن‌های قدیمی موضوع بحث و بررسی‌های علمی قرار گرفته و با نام شخصی‌سازی واکسن(personalized vaccine) معروف شده است. در این نوع واکسن‌ها نیز موضوع آزمایش، هدف قراردادن آنتی‌ژن برای کسب نتیجهٔ بهتر و به‌طور هم‌زمان به حداکثر رساندن ایمنی و به حداقل رساندن عوارض جانبی واکسن است، اما این واکسن‌ها شخصی‌سازی می‌شوند و مانند سابق به‌صورت عمومی و یکسان برای تمام افراد جامعه تزریق نمی‌شوند؛ چون هدف ایجاد ایمنی برای اکثریت جامعه نیست بلکه ایمنی‌سازی در سطح فردی است.

در واکسن‌سازی به شیوهٔ نوین به جنسیت فردی که قرار است واکسن را تزریق کند نیز توجه می‌کنند؛ زیرا مشخص شده است که کروموزوم x انواعی دارد و هاپلوئید Y از ایجاد پاسخ ایمنی جلوگیری می‌کند، همچنین سطح آنتی‌بادی‌های حاصل از واکسن در جنس مونث نسبت به مردان بالاتر است. از دیگر نکته‌ها، سطح نژادی و بومی افراد است؛ به‌عنوان مثال بومیان آلاسکا و آمریکا، آلوتیپ خاصی از Gm و Km دارند که منجر به پاسخ ایمنی ضعیف به آنتی‌ژن‌های واکسن پلی‌ساکاریدی می‌شود یا سطح زیر جمعیت سبب ضعیف‌کردن پاسخ ایمنی واکسن در افرادی می‌شود که برای سرکوب رونویسی از ژن پاسخ ایمنی دارو مصرف می‌کنند. شناخت محدودیت‌های رمزگذاری‌شدهٔ ژنتیکی و استفاده از این اطلاعات، هم به تصمیم‌گیری‌های بالینی آگاهانه و هم به فرصت‌های پیشرفت علم برای تولید واکسن‌های بهتر و الگوریتم‌های بهبودیافتهٔ تزریق واکسن کمک می‌کند.

واکسینومیک

واکسینومیک در واقع مجموع دو مفهوم ایمونوژنتیک و ایمونوژنومیک است که بر پاسخ‌های ایمنی ناشی از واکسن دلالت دارد و از عواملی که بررسی می‌کند، پاسخ‌های ایمنی متفاوت یک واکسن تحت تأثیر ژنتیک متفاوت در سطوح ایمنی هومورال و سلولی و ذاتی واکسن‌ها در سطح فردی و اجتماعی است.

امروزه با تکمیل مرحلهٔ اول پروژهٔ ژنوم انسان، واکسینولوژی شخصی امکان‌پذیر شده است؛ یعنی ابزارهای جدید مولکولی با استفاده از توان بالای تغییرات ژنی به‌ویژه تک‌نوکلئوتیدها، می‌توانند واکسن‌هایی به مراتب مفیدتر با عوارض کمتر تهیه کنند. فنوتیپ‌های متفاوت ژنتیکی می‌توانند منجر به پاسخ‌های ناهمگن ایمنی به مواد

بیولوژیک مثل واکسن‌ها شود.

پیش‌بینی می‌کنند که در آینده واکسن‌های ایمنی و پاسخ‌های آن به‌صورت کمی و اختصاصی به سطح بالینی برسند. برای تحقق این پیش‌بینی به ابزارهای جدید توالی‌یابی کم‌هزینه‌تر، پایگاه اطلاعاتی جامع و معتبر از ژنوتیپ‌ها و فنوتیپ‌ها، اطلاعات بیوانفورماتیکی و ابزارهای آماری برای تجزیه‌وتحلیل و تفسیر داده‌ها نیاز است. نکتهٔ مهم این است که واکسن‌های شخصی اگرچه به ابزارهای آزمایشگاهی وابسته است، اما ذاتا ناشی از تمایل به افزایش نتایج در سطح بیمار، تولید ایمنی،کاهش عوارض جانبی، صرفه اقتصادی و عوامل مرتبط با شخص بیمار است.

تأثیر ژنتیک بر پاسخ ایمنی واکسن‌ها

واکنش انسان‌ها به واکسن‌ها متفاوت است و پاسخ ایمنی میزبان در جمعیت به‌طور درخور توجهی متفاوت است. هیچ راهی برای پیش‌بینی واکنش فرد خاص یا جمعیت به یک واکسن وجود ندارد. با شناسایی عواملی که در ایجاد پاسخ‌های جانبی مؤثر هستند، امکان غربالگری شخصی قبل از واکسناسیون فراهم می‌گردد. به‌عنوان مثال واکسن آبله بالاترین عارضه را در بین واکسن‌های مجاز در حال حاضر دارد. آمار جمع‌آوری‌شده نشان می‌دهد که در واکسیناسیون یک‌میلیون نفر، ۱ تا ۲ مرگ رخ می‌دهد، اما باز هم برای مبارزهٔ بیشتر با بیماری‌های عفونی به‌کمک واکسیناسیون باید بتوان واکسن‌هایی ساخت که ایمن‌تر و مؤثرتر باشند.

ژنتیک و به تبع آن عوامل ایمنی به احتمال زیاد نقش مهمی در پیشرفت عوارض جانبی پس از واکسیناسیون AE دارند، به‌عنوان مثال تغییرات سایتوکین Th1 و Th2 پس از واکسیناسیون آبله از جملهٔ عوارض آن است. به نظر می‌رسد که الگوی سایتوکین، مسیر یک پاسخ التهابی خاص باشد و نشان می‌دهد که ترشح سایتوکین توسط فیبروبلاست‌ها ممکن است نقشی اساسی در AE های سیستمیک داشته باشد. حالا اگر فردی دارای یک تغییر ژنتیکی خاص باشد که با خطرات جدی عوارض جانبی مواجه است، رویکردهای ایمونوژنتیک همچنین اطلاعات مربوط به تعادل بین مزایا و خطرات احتمالی واکسن‌ها مانند واکسن آبله را به پزشکان ارائه می‌دهد. برای مثال امروزه ارتباط بین تب پس از واکسیناسیون آبله و هاپلوتیپ‌های خاص در مجموعهٔ ژن IL1 و IL8 را نشان می‌دهد. این تحقیقات، اطلاعات اولیه را برای درک تغییر در پاسخ میزبان ارائه می‌دهد و می‌تواند اطلاعات مفیدی را فراهم کند که عوارض ناشی از واکسیناسیون به میزان زیادی بکاهد. بدیهی است که برای تأیید یافته‌ها به تحقیقات ژنتیکی در مقیاس بزرگ نیاز است.

جنسیت و پاسخ ایمنی به واکسن

به‌طور کلی زنان در مقایسه با مردان پاسخ‌های ایمنی هومورال و سلولی شدیدتری را به تحریک آنتی‌ژنیک مانند عفونت و واکسیناسیون نشان می‌دهند. قبلا نشان داده شده بود که بین آنتی‌بادی پروتئین‌های ویروس سرخک و سرخچه در زنان و مردان تفاوت وجود دارد و تفاوت هورمونی (هورمون های استروئیدی) و ژنتیکی (ژن‌های مرتبط با X) ممکن است بر پاسخ ایمنی هومورال تاثیر بگذارد. مطالعات اخیر و همچنین تفاوت‌های مبتنی‌بر جنسیت در پاسخ آنتی‌بادی IgG به دو دز واکسن ویروس سرخچه و اوریون نشان می‌دهد که خانم‌ها نسبت به مردان پاسخ آنتی‌بادی بیشتری به عوامل بیماری سرخچه و اوریون نشان می‌دهند. با این حال این مطالعات نشان داد که پاسخ ایمنی آزمایشگاهی مانند تکثیر لنفوسیت‌ها به واکسیناسیون سرخچه و اوریون وابسته به جنس نیست. به‌طور مشابه اختلافات جنسیتی در سطح آنتی‌بادی خنثی ناشی از واکسیناسیون، پس از یک دز واکسن آبله در بزرگسالان سالم با خنثی‌سازی بالاتری در زنان مشاهده شده است، بنابراین بسیار مهم است که تفاوت‌های مبتنی بر جنسیت که ممکن است زمینهٔ بروز پاسخ‌های ایمنی متفاوت را فراهم کند در زمینهٔ واکسن‌های شخصی‌سازی شدهٔ نوظهور برای تأمین ایمنی مطلوب در نظر گرفته شود.

مفهوم و نحوهٔ اجرای واکسن‌های شخصی‌سازی شده

واکسن‌های شخصی با مدل فعلی بهداشت عمومی واکسیناسیون پیشگیرانه تداخل دارد. مدل فعلی واکسیناسیون پیشگیرانه در برابر بیماری‌های عفونی به پذیرش جهانی و توزیع واکسن بستگی دارد. استانداردهایی که برای اولین بار در سال ۱۹۹۲ پیشنهاد شد، شناسایی و به حداقل رساندن موانع ایمن‌سازی معمول است. موانع خاص ذکرشده در این استانداردها شامل تأخیر در تعیین وقت ملاقات‌ها و نیاز به ویزیت خوب کودک و معاینهٔ فیزیکی است. تلاش برای شخصی‌سازی واکسیناسیون ممکن است از توصیه‌هایی برای به حداقل رساندن موانع و تسهیل واکسیناسیون دور شود. علاوه بر این موفقیت بهداشت عمومی در واکسیناسیون تا حد زیادی به ایمنی جمعی و مصونیت بخش زیادی از مردم بستگی دارد. برای انجام این کار برخی از واکسن‌ها به ۸۰ تا ۹۰درصد جذب واکسن بستگی دارد.

اکنون دانشمندان در حال دستیابی به بالاترین میزان جذب واکسن هستند. این کار تا حدی با به حداقل رساندن عوامل منع مصرف و اقدامات احتیاطی برای واکسن‌ها انجام شده است. علاوه بر این به استثنای چند نمونه، دز را برای سن یا توده بدنی تنظیم نمی‌کنند و همچنین تعداد دزها را بر اساس قرارگرفتن در معرض بیماری یا واکسن‌های گذشته تغییر نمی‌دهند. معیار جذبی که از آن به عنوان بالاترین میزان موفقیت خود در تاریخ سلامت عمومی نام برده می‌شود به روش یکسان واکسیناسیون بستگی دارد. علاوه بر این، سفارشات دائمی و واکسیناسیون گسترده‌ای را برای افراد نیازمند به واکسیناسیون سریع و به‌موقع انجام می‌دهند.

نمونه‌های عملی نیز ممکن است مانع باشند. استفاده از واکسن‌های مختلف برای گروه‌های مختلف افراد بر اساس ویژگی‌های شخصی یا ترکیب ژنتیکی می‌تواند به تلاش و زمان بیشتری در روند واکسیناسیون نیاز داشته باشد. نیاز به غربالگری فاکتورهای فردی، برای

واکسیناسیون متفاوت می‌تواند هزینه‌های زیادی را تحمیل کند. اگرچه در هزینه‌های دیگر نیز صرفه‌جویی می‌شود. مفهوم واکسن‌های شخصی بستگی به دانش قبلی دربارهٔ تأثیر ژنتیک بر پاسخ ایمنی دارد، اما درحال حاضر چنین آزمایشاتی انجام نمی‌گیرد. واکسیناسیون حتی بر اساس نژاد و قومیت هم تغییر نمی‌کند. در گذشته فقط از روی اجبار به سوی واکسیناسیون جهانی قدم برداشته شده است. به‌عنوان مثال برای هپاتیت A و هپاتیت B واکسن مزدوج پنوموکوک را تجویز می‌کنیم.

به طور کلی آزمایش سرولوژی در یک بزرگسال با سابقهٔ منفی آبله‌مرغان ارزان‌تر از دو دز واکسن است. به‌عنوان مثال کمیتهٔ مشورتی که دربارهٔ روش‌های ایمن‌سازی اظهار نظر می‌کند، درمؤسسات مراقبت‌های بهداشتی غربالگری سرولوژیک قبل از واکسیناسیون کارکنانی که سابقهٔ منفی یا نامطمئن واریسلا دارند و واکسنیه نشده‌اند احتمالا مقرون‌به‌صرفه خواهد بود. با وجود این چنین آزمایش‌هایی در حال حاضر به‌طور معمول در میان نیروهای تازه نفس در ایالات متحده انجام می‌شود،ولی باز هم هرساله که به سمت واکسیناسیون جهانی نسل بعدی می رویم تلاش‌ها در این زمینه کاهش می‌یابد.

علاوه بر این باید مسئلهٔ سود حداکثر نیزدر نظر گرفته شود. اکثر واکسن‌هایی که به‌طور معمول اسفتاده می‌کنیم دارای سرعت پاسخ ایمنی بالایی هستند. آیا واقعا ما می‌توانیم برای بهبود پاسخ ایمنی برای ۵ درصد از جمعیت غربالگری ژنتیکی را در کل جمعیت تحمیل کنیم؟ با این حال ممکن است شرایط خاصی را در نظر بگیریم که در آن واکسن‌ها نتوانند به چنین مقادیر بالایی دست یابند. مانند کارگران بهداشتی با اضافه وزن که پاسخ‌دهی بالاتری نسبت به واکسن هپاتیت B دارند یا کودکان بومی امریکا که پاسخی به واکسن‌های هموفیلوس آنفولانزا نوع b نداده‌اند.

هنوز هم این گروه‌ها به‌راحتی به‌صورت فنوتیپی شناسایی می‌شوند و در این مرحله هیچ مدرکی نشان نمی‌دهد که این گروه‌ها باید برنامه واکسیناسیون متفاوتی دریافت کنند. غربالگری برای افزایش تمایل به AEهای خاص ممکن است برخی اشکال غربالگری ژنتیکی را نیز به همراه داشته باشد.

همچنین باید مشکل عملی مجوز واکسن‌های شخصی را در نظر بگیریم. برای بیماران مبتلا به سرطان، واکسن‌های اختصاصی می‌توانند برای بیماران جداگانه تولید شوند البته بدون مشکلاتی که تولیدکنندگان بیولوژیک با مجوز تولید و توزیع انبوه رو به رو هستند.

با فرض به حداقل رساندن چنین موانعی، زیست‌شناسی جدید با افزایش ژنوتیپ اطلاعات فنوتیپ و هزینه کم غربالگری ژنتیکی با خروجی بالا به‌طور حتم منجر به رویکرد شخصی‌تری برای واکسن‌ها خواهد شد، دقیقا همان‌طور که دربارهٔ داروسازی نیز وجود دارد. علاوه بر این یک دیدگاه اجتماعی نقص صفر دربارهٔ خطر ممکن است رویکردهای منحصر به فرد واکسن‌ها را بیشتر هدایت کند. بنابراین اگرچه موانع درخورتوجهی باقی مانده است، اما یک رویکرد افزایش واکسینومیک برای محافظت در برابر بیماری‌های پیشگیری‌شونده با واکسن با تسریع در توسعه کارکردهای جدید واکسن پیش‌بینی می شود. چنین رویکردی را برای درک عمیق‌تری از مکانیسم زیربنای آنتی‌ژن رابط ژن پاسخ ایمنی و هدایت در ایمونولوژی ژنتیکی فراهم می‌کند. در کل چنین رویکردی منجر به عصر طلایی جدید واکسینولوژی خواهد شد.

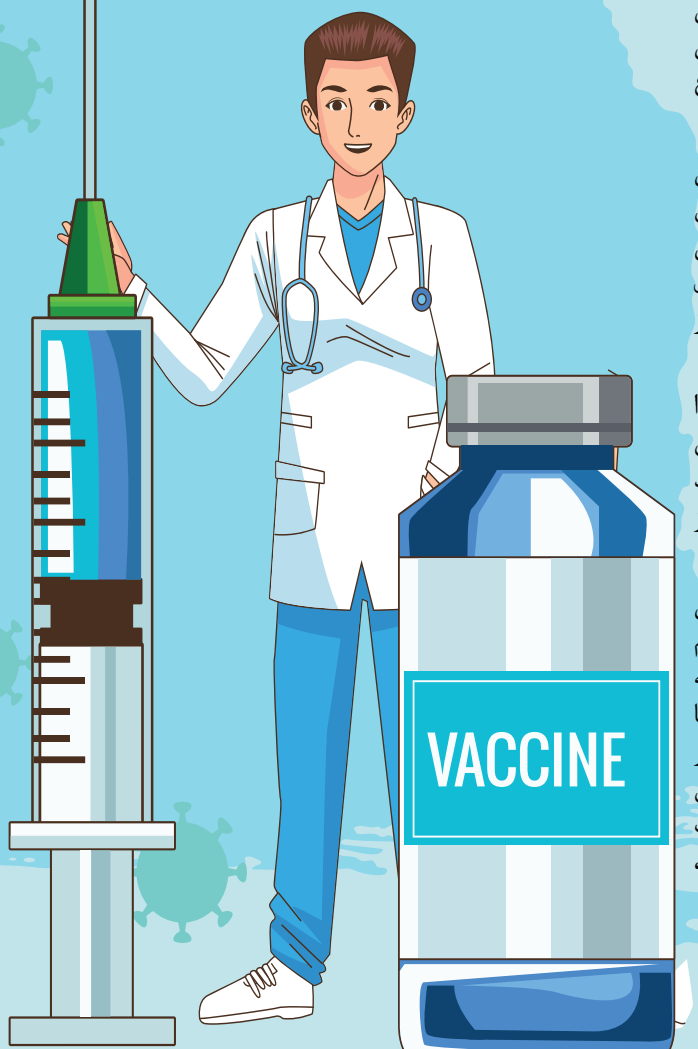
با وجود کارهای زیادی که هنوز در دست انجام نیست و موانع مهمی که دربارهٔ آن‌ها بحث شد، بدیهی ست که به سمت مرز علمی جدید و دورهٔ جدیدی از وکسینولوژی شخصی در حال حرکت هستیم. واکسینومیک امکان تولید واکسن جهت‌دار را فراهم می‌کند و سرعت آن را تسریع می‌کند و واکسینولوژی پیش‌بینی کننده در نهایت به پزشکان امکان می‌دهد که واکسن بدهند؛ یعنی آیا این بیمار خاص از نظر ژنتیکی مستعد ابتلا به بیماری و پیامدهای نامطلوب هست یا نه؟ چند در مصرفی تجویزکردن و اینکه آیا AE درخورتوجهی اتفاق می‌افتد؛ این دومین دورهٔ طلایی واکسینولوژی آمادهٔ آغاز است، که در آن واکسن‌های ایمن به آنتی‌ژن‌ها و روش‌های تسریع‌شده و جهت‌دار برای تولید واکسن آشکار می‌شود.

منبع:

Gregory A Poland ,MD. Inna G

Ovsyannikova. PhD and Robert M jacobson MD

Personalized vaccine: The emerging field of vaccinomic



مطالعه تأثیر بیش بیان ژن OCT4 و مهار همزمان ژن P53 بر بیان ژن‌های پرتوانی در سلول‌های بنیادی بافت چربی انسان

نیلوفر ترک‌زاده
کارشناسی ارشد بیوشیمی

چکیده

OCT4 مهمترین فاکتور رونویسی درگیر در حفظ پرتوانی و بازبرنامه‌ریزی سلول‌های سوماتیک است. از طرفی تحقیقات اخیر نشان داده است که فقدان یا جهش در ژن P53، بازبرنامه‌ریزی هسته را تسهیل می‌کند. هدف این مقاله بررسی بازبرنامه‌ریزی سلول‌های بنیادی در بافت چربی انسانی تحت تأثیر افزایش بیان OCT4 و کاهش بیان P53 است. سلول‌های بنیادی بافت چربی با استفاده از آنزیم کلاژناز از نمونه‌های چربی استخراج شد و در مرحلهٔ پاساژ سوم، مورفولوژی فیبروبلاست‌مانندی نشان داد. افزایش بیان ژن OCT4 و مهار بیان P53 به بازبرنامه‌ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی به سمت حالت پرتوانی کمک می‌کند. این روش ممکن است توان تمایزی سلول‌های بنیادی بافت چربی را برای کاربردهای درمانی افزایش دهد.

مقدمه

بافت چربی یکی از منابع مهم و غنی سلول‌های بنیادی مزانشیمی است که در زمینهٔ پزشکی ترمیمی بسیار به آن توجه می‌شود. سلول‌های بنیادی بافت چربی به‌راحتی جداسازی و بدون سطوح درخور توجهی از پیرشدن، در محیط‌کشت تکثیر می‌شوند. چندتوان‌بودن این سلول‌ها از نظر تمایزی، پیش‌تر توسط محققان مختلف اثبات شده است، همچنین چندین مطالعه نشان داده است که سلول‌های بنیادی بافت چربی، ژن‌های پرتوان متعددی؛ مانند OCT4، SOX2، NANOG، UTF1 و NODAL را بیان می‌کنند که نشان‌دهندهٔ ارتباط نزدیک بین سلول‌های بنیادی مزانشیمی و سلول‌های بنیادی جنینی است. در هر حال، بیان ژن‌های پرتوان با کشت و پاساژ این سلول‌ها به‌سرعت کاهش می‌یابد که انحراف فنوتیپ سلول‌ها به‌سمت حالت تمایزیافته در محیط‌کشت را نشان می‌دهد (۱).

محققان روش‌های مختلفی را برای بازبرنامه‌ریزی سلول‌های سوماتیک و افزایش پرتوانی آن‌ها مطرح کرده‌اند. انتقال هستهٔ سلول سوماتیک، هم‌جوشی سلولی، بازبرنامه‌ریزی به‌وسیلهٔ عصارهٔ سلول‌های پرتوانی و انتقال فاکتورهای رونویسی نمونه‌هایی از این روش‌ها هستند. در سال ۲۰۰۶ «تاکاهاشی» و «یاماناکا» نشان دادند که با استفاده از افزایش بیان فاکتورهای رونویسی OCT4 و KLF4 و c-MYC (فاکتورهای معروف یاماناکا)، می‌توان سلول‌های بالغ را به سلول‌های بنیادی پرتوان بازبرنامه‌ریزی کرد و سپس سلول‌های پرتوان ایجاد شده را به انواع سلول‌های بدن تمایز داد. از آنجایی که در بین فاکتورهای یاماناکا، دو ژن KLF4 و c-MYC نقش سرطان‌زایی و تومورزایی داشتند، در تحقیقات بعدی تلاش کردند تا این ژن‌ها را حذف و با ژن‌ها یا مولکول‌های شیمیایی دیگری جایگزین کنند (۲،۱).

OCT4 یکی از فاکتورهای رونویسی است که در طی تحقیقات گذشته، به‌عنوان مهم‌ترین ژن مسیرهای ملکولی درگیر در پرتوانی شناخته شده است. این ژن تنها فاکتور اجباری برای بازبرنامه‌ریزی است و سایر فاکتورها نقش افزایش‌دهندهٔ بازده را بر عهده دارند. در سال ۲۰۱۱، Li و همکارانش نشان دادند که ترکیبی از چهار مولکول کوچک والپروئیک‌اسید، ترانیل سیپرومین، CHIR99021 و 616452(VC6T) را می‌توان جایگزین SOX2 وKLF4 و c-MYC کرد و سلول‌های بنیادی پرتوان القا را فقط با واردکردن فاکتور رونویسی OCT4 به فیبروبلاست‌های موش تولید کرد (۲).

ژن P53 از ژن‌های دیگری است که در بازبرنامه‌ریزی به آن توجه می‌شود. P53 ژن سرکوبگر تومور است که با القای توقف چرخه سلولی، پیری، ترمیم DNA و آپوپتوز مانع از شروع تشکیل تومور می‌شود و به‌تازگی نشان داده شده است که فقدان یا جهش در ژن P53 بازبرنامه‌ریزی هسته‌ای را تسهیل می‌کند، در حالی که بیان P53 بازده بازبرنامه‌ریزی را کاهش می‌دهد. در سال ۲۰۰۸، ژائو و همکارانش نشان دادند که خاموش‌کردن ژن P53 همراه با افزایش بیان UTF1، به‌وسیلهٔ فاکتورهای یاماناکا و حتی در غیاب c-MYC، تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده از فیبروبلاست های بالغ انسانی را ۱۰۰برابر افزایش می‌دهد. در واقع مسیر P53–P21 به‌عنوان سدی در

می‌کنند (۳).

به‌طور کلی بر اساس تحقیقات پیشین، افزایش بیان فاکتور پرتوانی OCT4 و مهار بیان ژن P53 نقش مهمی را در بازبرنامه‌ریزی و پرتوان‌سازی سلول‌های سوماتیک بر عهده دارند. از طرفی سلول‌های بنیادی مزانشیمی تمایزنیافته هستند که از نظر مرحلهٔ تمایزی، حد واسط سلول‌های بنیادی جنینی قرار دارند و حتی در پاساژهای کم ژن‌های پرتوانی، OCT4 و SOX2 را بیان می‌کنند. بنابراین ممکن است نسبت به سلول‌های سوماتیک بالغ، انتخاب مناسب‌تری برای بازبرنامه‌ریزی به‌کمک افزایش بیان فاکتورهای رونویسی پرتوانی باشند. تا به حال چند تحقیق در زمینهٔ افزایش بیان OCT4 و SOX2در سلول‌های بنیادی مزانشیمی انجام شده است که افزایش تکثیر و توانایی تمایزی سلول‌های دریافت‌کنندهٔ مادهٔ ژنتیک خارجی را نشان می‌دهد. در مقالهٔ حاضر نیز بازبرنامه‌ریزی سلول‌های بنیادی درون بافت چربی انسانی، با استفاده از افزایش بیان فاکتور رونویسی OCT4 و کاهش بیان P53 طراحی شد. این روش ممکن است توانایی تمایز سلول‌های بنیادی مزانشیمی را برای کاربردهای درمانی بهبود بخشد (۳).

جداسازی سلول‌های بنیادی بافت چربی

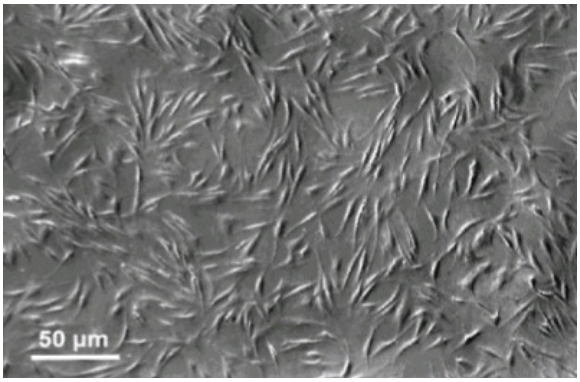
نمونه‌های چربی را چندین بار با بافر فسفات سالین (PBS) حاوی آنتی‌بیوتیک شسته و با استفاده از تیغ جراحی سترون تا حد امکان ریز شد. بافت خردشده به درون یک بطری کوچک شیشه‌ای سترون حاوی مگنت و آنزیم کلاژناز I (Invitrogen) با غلظت ۰/۲درصد منتقل شد و در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد روی همزن مغناطیسی قرار گرفت. به این ترتیب، سلول‌ها در طی ۱۵ تا ۲۰ دقیقه جداسازی شدند. سوسپانسیون سلولی با دور rpm۱۲۰۰ به‌مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد تا کسر عروقی استرومایی (SVF) به دست آید. رسوب سلولی در محیط DMEM حاوی ۲۰درصد سرم جنینی گاوی (FBS) و ۱درصد آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین و استرپتومایسین معلق شد. سلول‌ها شمارش و با تراکم $10^{4\times5}$ سلول بر میلی‌لیتر به فلاسک‌های کشت سلول منتقل شدند. محیط سلول‌ها هر دو روز، یک بار عوض شد. سلول‌ها پس از رسیدن به تراکم ۸۰ تا ۹۰درصد پاساژ داده شدند.

تمایز سلول‌های بنیادی بافت چربی به سلول‌های چربی و استخوانی

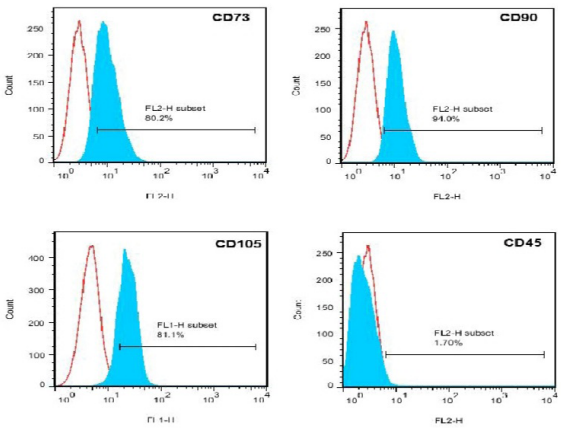
سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحله پاساژ سوم به‌مدت سه هفته در محیط‌های تمایز چربی (حاوی ۱۰درصد FBS، ۱میکرومولار دگزامتازون، ۵میکروگرم بر میلی‌لیتر انسولین، ۱۰۰میکرومولار ایندومتاسین و ۵۰۰میکرومولار IBMX) و استخوانی (حاوی ۱۰درصد FBS، ۰/۰۵ گرم‌برلیتر آسکوربیک اسید، ۳/۷ گرم بر لیتر بیکربنات سدیم و 10^{-3} مولار بتا گلیسرول فسفات) کشت داده شدند. سپس تمایز چربی با رنگ‌آمیزی Oil Redo و تمایز استخوانی با رنگ‌آمیزی Alizarian Red بررسی شد.

نتایج

جداسازی و شناسایی سلول‌های بنیادی بافت چربی: سلول‌های بنیادی بافت چربی در طی چند ساعت پس از جداسازی به کف فلاسک‌های کشت سلول چسبیدند. این سلول‌ها در مرحله پاساژ سوم ظاهر فیبروبلاست‌مانندی نشان دادند (شکل ۱). طبق نتایج فلوسیتومتری، ۹۴درصد از سلول‌ها برای نشانگر CD90 مثبت بودند و نشانگرهای CD73 و CD105 به ترتیب در ۸۰/۲ و ۸۱/۱درصد از سلول‌ها بیان شد. نشانگر CD45 فقط در ۱/۷درصد از سلول‌ها بیان شد (شکل ۲).



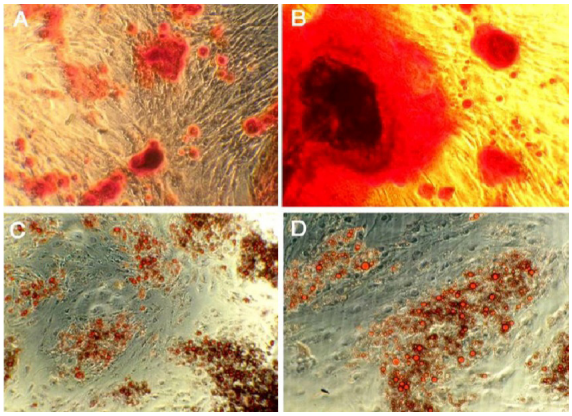
شکل ۱: تصویر میکروسکوپ نوری در فاز کنترل. سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحلهٔ پاساژ سوم.



شکل ۲: بررسی بیان نشانگرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی و خون‌ساز در سلول‌های بنیادی بافت چربی در مرحلهٔ پاساژ سوم با روش فلوسیتومتری.

گفتنی است که پروتئین‌های CD90، CD73 و CD105 نشانگرهای سلول‌های بنیادی مزانشیمی و CD45 نشانگرهای سلول‌های بنیادی خون‌ساز هستند. برای بررسی توان تمایزی سلول‌های بنیادی بافت چربی، این سلول‌ها در مرحلهٔ پاساژ ۳ به‌مدت ۳ هفته در محیط تمایز سلول‌های استخوانی (استئوسیت) و سلول‌های چربی (آدیپوسیت) کشت داده شدند. در محیط تمایز استخوانی رنگ‌آمیزی سلول‌های تمایزیافته با Alizarian red تمایز این سلول‌ها را به سلول‌های استخوانی (استئوسیست) تأیید

کـرد. بـا ایـن رنگ‌آمیـزی، رسـوب‌های کلسـیم بـه رنـگ قرمـز درآمـد. در محیـط تمایـز چربـی، قطره‌هـای چربـی از حـدود روز پنجـم تمایـز ظاهـر شـدند. رنگ‌آمیـزی سـلول‌های تمایزیافتـه بـا Oil red تمایـز ایـن سـلول‌ها را بـه سـلول‌های چربـی تأییـد کـرد. بـا ایـن رنگ‌آمیـزی قطره‌هـای چربـی بـه رنـگ قرمـز درآمـد (شـکل۳).



شـکل۳: تمایـز سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی بـه سـلول‌های اسـتخوانی (BgA). سـلول‌های چربـی (C و D) کـه بـه ترتیـب بـا oil red و alizarian red رنگ‌آمیـزی شـده‌اند.

ترنسفکشـن سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی بـا وکتـور حامـل ژن OCT4 و shRNA مهارکننـدۀ P53

در مرحلـۀ پاسـاژ ۳ سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی بـا وکتـور بیانـی حامـل، ژن OCT4و shRNA مهارکننـدۀ P53را دریافـت کردنـد. همچنیـن از وکتـور بیانـی حامـل ژن GFP به‌عنـوان وکتـور MOCK گـروه کنتـرل اسـتفادهَ شـد. ۴۸ سـاعت پـس از ترنسفکشـن، بیـان پروتئیـن GFP بـا میکروسـکوپ فلورسـنت در ۲۰ تـا ۲۵درصـد سـلول‌ها مشـاهده شـد (۴-۳).

بحث:

سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی، جـزء سـلول‌های بنیـادی مزانشـیمی هسـتند کـه به‌آسـانی و بـا تعـداد زیـاد جداسـازی و در محیط‌کشـت به‌راحتـی تکثیـر می‌شـوند. اسـتفاده از ایـن سـلول‌ها در درمـان، بـا مشـکلات اخلاقـی و رد پیونـد مواجـه نیسـت. تـا بـه حـال چندیـن تحقیـق نشـان داده اسـت کـه سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی، ژن‌هـای پرتـوان متعـددی؛ ماننـد OCT4، SOX2، NANOG، UTF1 و NODAL را بیـان می‌کننـد کـه باعـث می‌شـود انتخـاب مناسـبی بـرای بازبرنامه‌ریـزی و تولیـد سـلول‌های بنیـادی پرتـوان باشـند. در ایـن مقالـه، سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی بـا افزایـش بیـان فاکتـور رونویسـی OCT4 و کاهـش بیـان ژن P53 توسـط shRNA مهارکننـدۀ آن بازبرنامه‌ریـزی شـدند. بـه ایـن منظـور از وکتـور PCXLE-Hoct4/shP53 اسـتفاده شـد، کـه در سـال ۲۰۱۱ توسـط تیـم یامانـاکا بـرای بازبرنامه‌ریـزی سـلول‌های فیبروبلاسـت و ایـن مقالـه از آن اسـتفاده کردیـم، ژن OCT4 و یـک shRNA مهارکننـدۀ ژنP53، وکتـور دوم SOX2 و KLF4 و وکتـور سـوم c-MYC و LIN28 را بیـان می‌کـرد (۴).

در ایـن مقالـه بـرای ترنسفکشـن سـلول‌ها از روش الکتروپوزیشـن بـا دسـتگاه نئـون ترسفکشـن اسـتفاده شـد کـه بـازده ترنسفکشـن DNA خارجـی در آن بالاتـر و احتمال ادغـام ژنومـی ژن خارجـی بیشـتر از روش لیپوفکشـن اسـت. همچنیـن در ایـن روش درصـد زیـادی از سـلول‌ها زنـده می‌ماننـد و سـلول‌های کمتـری لازم اسـت، کـه ایـن ویژگی‌هـا مزیت‌هایـی‌بزرگ ایـن روش بـه شـمار می‌رونـد.

OCT4 یکـی از فاکتورهـای رونویسـی اسـت کـه طـی تحقیقـات گذشـته به‌عنـوان مهم‌تریـن ژن در مسـیرهای مولکولـی درگیـر در پرتوانـی شـناخته شـده اسـت. در سـال ۲۰۱۶، zhou و همکارانـش نشـان دادنـد کـه OCT4 به‌تنهایـی می‌تواننـد سـلول‌های بنیـادی عصبـی را بـه سـلول‌های بنیـادی پرتـوان القاشـده بازبرنامه‌ریـزی کننـد. در واقـع OCT4 تنهـا فاکتـور اجبـاری بـرای بازبرنامه‌ریـزی اسـت و سـایر فاکتورهـا نقـش افزایش‌دهنـدۀ بـازده بازبرنامه‌ریـزی را بـر عهـده دارنـد. اسـتفاده از عوامـل کاهش‌دهنـدۀ بیـان ژن P53 باعـث افزایـش بـازده بازبرنامه‌ریـزی سـلول‌های سـوماتیک می‌شـود. به‌عنـوان مثـال بیـان shRNA مهارکننـدۀ ژن P21 کـه تنظیم‌کننـدۀ ژن P53 اسـت، کارایـی بازبرنامه‌ریـزی را حـدود سـه‌برابر افزایـش می‌دهـد. در ایـن مقالـه نیـز وکتـور اسـتفاده‌شـده بـرای بازبرنامه‌ریـزی سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی، حامـل OCT4 و یـک shR-NA مهارکننـدۀ بیـان P53 بـود. فـرض می‌کنیـم کـه افزایـش بیـان ژن OCT4 از طریـق شـبکۀ ارتباطـی پیچیـده‌ای کـه بـا سـایر ژن‌هـای پرتوانـی تشـکیل می‌دهـد، بیـان آن‌هـا را افزایـش می‌دهـد و shRNA مهارکننـده و بیـان P53 را نیـز بـا برنامه‌ریـزی سـلول‌ها تسـهیل می‌کنـد، بنابرایـن یـک هفتـه پـس از ترنسفکشـن، بیـان ژن OCT4 و سـایر ژن‌هـای پرتوانـی را در سـلول‌های دریافت‌کننـده بـا روش qpcr بررسـی کـرده و نتایـج آن را نشـان می‌دهـد. سـطح بیـان ژن OCT4 در روز هفتـم پـس از انجـام ترنسفکشـن به‌طـور معنـی‌داری افزایـش یافـت. همچنیـن بیـان ژن‌هـای SOX2 و LIN28 وc-MYC در سـلول‌های دریافت‌کننـده نسـبت بـه گـروه کنتـرل افزایـش معنـی‌داری نشـان داد. یکـی از ژن‌هـای هـدف OCT4 ژن REX1اسـت کـه طبـق نتایـج qpcrدر سـلول‌های دریافت‌کننـده بـا وکتـور حامـل ژن OCT4 و shRNA مهارکننـدۀ P53 نسـبت بـه گـروه کنتـرل افزایـش معنـی‌داری نشـان داد. بیـان دو ژن KLF4 و NODAL تغییـر معنـی‌داری در سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی دریافت‌کننـده نسـبت بـه گـروه کنتـرل نشـان نـداد. گفتنـی اسـت کـه فاکتـور رونویسـی KLF4 در بازبرنامه‌ریـزی سـلول‌های سـوماتیک و حفـظ ویژگی‌هـای خودنوزایـی و پرتوانـی نقـش دارد و از تمایـز سـلول‌های بنیـادی جلوگیـری می‌کنـد. افزایـش بیـان برخـی از ژن‌هـای پرتوانـی و نـه تمـام آن‌هـا، در سـلول‌های بنیـادی بافـت چربـی بازبرنامه‌ریـزی شـده کـه نشـان‌دهندۀ تمایززدایـی نسـبی ایـن سـلول‌ها بـه وسـیلۀ وکتـور حامـل ژن OCT4 و shRNA مهارکننـدۀ P53 اسـت (۶-۵).

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، در این مقاله نشان دادیم که سلول‌های بنیادی بافت چربی با دریافت ژن توسط وکتور اپی‌زومال بیانی حامل ژن OCT4 و shRNA مهارکنندهٔ ژن P53 باعث افزایش بیان ژن‌های پرتوانی OCT4، SOX2، REX1 و CCND1 می‌شود که نقش مثبت این وکتور را در برنامه‌ریزی سلول‌های بنیادی بافت چربی به سمت حالت پرتوانی نشان می‌دهد.

منابع:

1: Zhang, Z. N., Chung, S. K., Xu, Z., & Xu, Y. (2014). Oct4 maintains the pluripotency of human embryonic stem cells by inactivating p53 through Sirt1-mediated deacetylation. Stem Cells, 32(1), 157-165.

2: Ng, W. L., Chen, G., Wang, M., Wang, H., Story, M., Shay, J. W., ... & Wang, Y. (2014). OCT4 as a target of miR-34a stimulates p63 but inhibits p53 to promote human cell transformation. Cell death & disease, 5(1), e1024-e1024.

3: Mohiuddin, I. S., Wei, S. J., Yang, I. H., Martinez, G. M., Yang, S., Cho, E. J., ... & Kang, M. H. (2021). Development of Cell-based High Throughput Luminescence Assay for Drug Discovery in Inhibiting OCT4-DNA-PKcs and OCT4-MK2 Interactions. Biotechnology and Bioengineering.

4: Inzunza, J., Arias-Fuenzalida, J., Segura-Aguilar, J., Nalvarte, I., & Varshney, M. (2021). Generation of nonviral integration-free human iPS cell line KISCOi001-A from normal human fibroblasts, under defined xeno-free and feeder-free conditions. Stem Cell Research, 51, 102193.

5: Fu, X., Wu, S., Li, B., Xu, Y., & Liu, J. (2020). Functions of p53 in pluripotent stem cells. Protein & cell, 11(1), 71-78.

6: Harikumar, A., Lim, P. S., Nissim-Rafinia, M., Park, J. E., Sze, S. K., & Meshorer, E. (2020). Embryonic stem cell differentiation is regulated by SET through interactions with p53 and β-catenin. Stem cell reports, 15(6), 1260-1274.