فصلنامه علمی- تخصصی دانشجویی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا(س)

شماره ۴۲ – پاییز ۱۴۰۱

آنچه در این شماره می‌خوانیم

نوبل پزشکی و فیزیولوژی امسال به انسان های منقرض شده رسید!

آینده داروهای جدید و نقش بیوتکنولوژی در آن

الکتروفورز دوبعدی؛ روشی قدرتمند برای تفکیک پروتئین‌ها

سیستم خونی جدید؛ حل معمایی ۳۰ ساله!

درمان سرطان ریه با کمک بخش پنهان ژنوم انسان

کشفی چشم‌گیر در مورد توانایی مغز بزرگسالان در بازیابی بینایی

به نام خدا

فصلنامه علمی- تخصصی دانشجویی
بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا(س)

فصلنامه پاییز ۱۴۰۱
شماره ۴۲ _ سال هفدهم

صاحب امتیاز:
انجمن بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا(س)
مدیر مسئول:
سمیرا کمیجانی
سردبیر:
مریم هادی پور
هیئت تحریریه:
تارا شاهمرادی، سیده نرجس تافته، بهار مانی، مریم هادی‌پور، ماندانا رشیدی، شادی روشن‌نفس
ویراستاری:
مریم هادی پور، سمیرا کمیجانی
صفحه‌آرا و طراح جلد:
بیتا سعادتیان مقدم
استاد مشاور:
دکتر محبوبه ضرابی

چاپ:
دانشگاه الزهرا(س)
نشانی:
تهران، ونک، دانشگاه الزهرا(س)، ساختمان معاونت فرهنگی و اجتماعی دانشگاه الزهرا(س)
رایانامه:
DNAmagazine98@gmail.com

سخن سردبیر

با گذشت سه سال از شیوع پاندمی ویروس کووید-۱۹ و تحقیقات و توجهات متمرکز دانشمندان به دریافت اطلاعات جامع در خصوص این ویروس و تاثیرات آن، همچنان نیازمندی بشر به گسترش علم در سایر حوزه‌های زیست‌شناسی به طور گسترده احساس می‌شود. سعی در توجه به سایر حیطه‌های بیولوژی و ایجاد ارتباط میان دانش‌های مختلف، هدف رشته بیوتکنولوژی و پژوهشگران فعال در این حوزه است.

تامل بر حیطه تکامل و نگرش زیبا و جدید دانشمندان این حوزه که منجر به کشف گروهی جدیدی از اجداد انسان و دریافت جایزه نوبل شد؛ ایجاد ارتباط میان یافته‌های ۳۰ ساله هماتولوژی و موارد بالینی مشکوک که باعث دستیابی به سیستم خونی ناشناخته شد؛ بهره برداری از دانش روزافزون در حوزه دارویی و در نهایت، تکنیک‌های آزمایشگاهی نوین برای ایجاد سهولت در مهم‌ترین بخش کار یک زیست شناس، همه از مواردی است که اذهان پویا و جویای علم را به خود جذب کرده و علاوه بر تغییر بینش، در ایده‌زایی هم نقش موثری ایفا می‌کند.

در این شماره از نشریه DNA، تمام تلاش ما، دستیابی به این هدف و ارائه اطلاعاتی جدید و در عین‌حال کامل برای ایجاد دانش بیشتر و بهتر برای شما همراهان گرامی است.

امید است این شماره از نشریه DNA، گامی در جهت معرفی گوشه‌ای از مطالعات بی‌شمار دانش زیست‌شناسی و در کل، افزایش اطلاعات شما علاقمندان برداشته باشد.

مریم هادی‌پور
آذر ماه ۱۴۰۱

فهرست

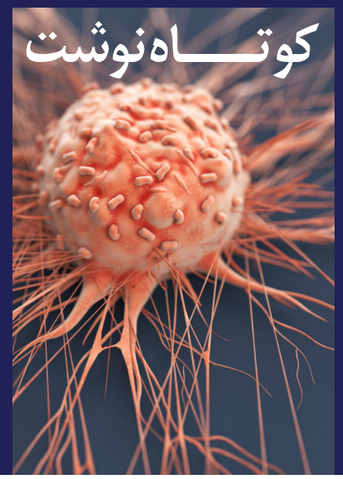
۵ نوبل پزشکی و فیزیولوژی امسال به انسان های منقرض شده رسید!

۹ الکتروفورز دوبعدی؛ روشی قدرتمند برای تفکیک پروتئین ها

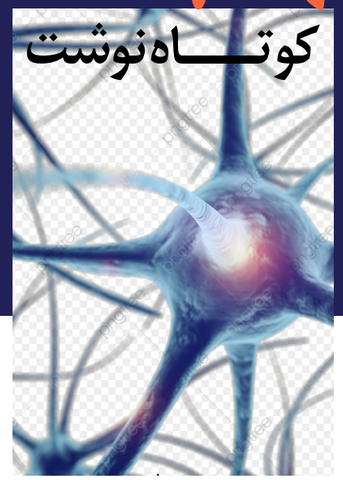
۱۸ آینده داروهای جدید و نقش بیوتکنولوژی در آن

۲۳ سیستم خونی جدید؛ حل معمایی ۳۰ ساله!

۲۷ درمان سرطان ریه با کمک بخش پنهان ژنوم انسان



۲۹ کشفی چشم گیر در مورد توانایی مغز بزرگسالان در بازیابی بینایی



نوبل پزشکی و فیزیولوژی امسال به انسان های منقرض شده رسید!

تارا شاه مرادی
دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا تهران

جایزه نوبل فیزیولوژی و پزشکی امسال به سوانته پابو[1]، زیست‌شناس سوئدی به دلیل اکتشافات وی در مورد ژنوم انسان‌های منقرض شده و تکامل انسان، اعطا شد (۳). این زیست شناس، در مطالعات خویش از قطعات گرانبهای DNA یافت شده در فسیل‌هایی با قدمت ده‌ها هزار سال استفاده کرد. مطالعات پابو در آلمان، منجر به توالی‌یابی ژنوم نئاندرتال[2] و کشف گروه جدیدی از انسان‌ها به نام دنیسووان‌ها[3] شد (۱).

بشریت، همواره شیفته‌ی ریشه‌های خود بوده است. ما از کجا آمده‌ایم و با کسانی که پیش از ما آمده‌اند چه نسبتی داریم؟ چه چیزی ما را از سایر انسان‌ها متمایز می‌کند؟ در مورد رابطه خود با نئاندرتال‌های منقرض‌شده چه می‌دانیم؟ پرسش از منشأ خود و آنچه ما را منحصر به فرد می‌کند، از زمان‌های قدیم، بشریت را درگیر خود کرده است. دیرینه‌شناسی و باستان‌شناسی، دو علم مهم برای مطالعات تکامل انسان هستند. سوانته پابو از طریق تحقیقات پیشگامانه خود به چیزی به ظاهر غیرممکن دست یافت: تعیین توالی ژنوم نئاندرتال، یکی از خویشاوندان منقرض‌شده انسان امروزی (۳).

هومو ساپینس[4] با ظرفیت منحصر به فرد خود برای ایجاد فرهنگ‌های پیچیده، نوآوری‌های پیشرفته، و هنرهای تجسمی و همچنین با توانایی عبور از آب‌های آزاد و گسترش به تمام نقاط کره زمین مشخص می‌شوند. نئاندرتال‌ها نیز به صورت گروهی زندگی می‌کردند و مغزهای بزرگی داشتند. آن‌ها همچنین از ابزارهایی برای زندگی استفاده می‌کردند، اما این ابزارها در طول صدها هزار سال به مقدار بسیار کمی توسعه یافتند. تفاوت ژنتیکی بین انسان خردمند و نزدیک‌ترین خویشاوندان منقرض‌شده ما، تا زمانی که از طریق کار اصلی پابو شناسایی نشد، ناشناخته بود. تحقیقات مداوم و تجزیه و تحلیل پیامدهای عملکردی این تفاوت‌ها، بر هدف توضیح آنچه که ما را منحصراً انسان می‌سازد، متمرکز است (۳).

تحقیقات درباره تکامل انسان، شواهدی ارائه کرد که نشان می داد انسان امروزی، هومو ساپینس، برای اولین بار در آفریقا و در حدود ۳۰۰۰۰۰ سال پیش ظاهر شده است. این در حالی است که نزدیکترین خویشاوندان شناخته شده ما، نئاندرتال‌ها، در خارج از آفریقا توسعه یافتند و از حدود ۳۰۰۰۰ سال پیش، در اروپا و آسیای غربی اقامت داشتند. در حدود ۷۰۰۰۰ سال

---

۱ Svante Pääbo

۲ Neanderthal :گونه‌ای از سرده انسانها بودند که ۳۰ هزار سال پیش منقرض شدند و به لحاظ فیزیکی با انسان‌امروزی تفاوتهای عمده‌ای داشتند.

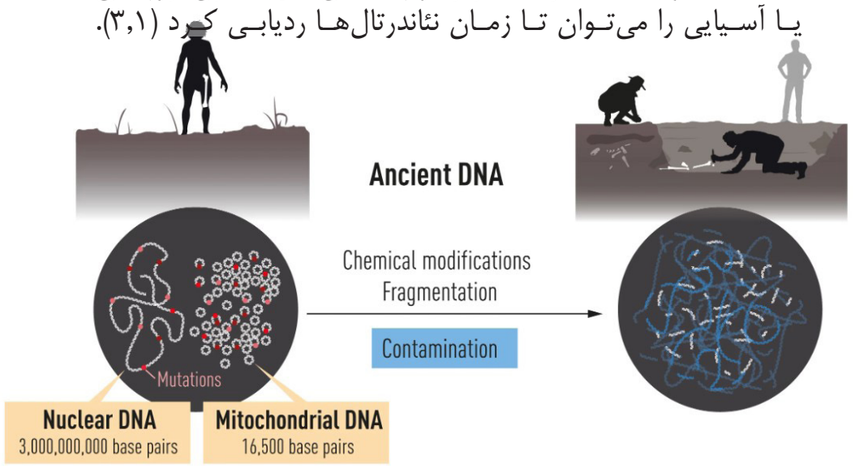
۳ Denisovans

۴ Homo_ sapiens : انسان خردمند یا هوشمند که اجداد انسانهای امروزی محسوب میشوند.

پیش، جمعیت موجود در آفریقا منقرض شد و گروه‌هایی از هوموساپینس‌ها از آفریقا به خاورمیانه مهاجرت کرده و از آنجا به سایر نقاط جهان گسترش یافتند. انسان‌های خردمند و نئاندرتال‌ها به‌مدت ده‌ها هزار سال در بخش‌های وسیعی از اوراسیا همزیستی داشتند (۳).

سوانته پابو در اوایل کار خود مجذوب امکان استفاده از روش‌های ژنتیکی مدرن برای مطالعه DNA نئاندرتال‌ها شد. با این حال، او خیلی زود متوجه چالش‌های فنی شدیدی شد؛ زیرا با گذشت زمان، DNA از نظر شیمیایی اصلاح شده و به قطعات کوتاه تبدیل می‌شود.

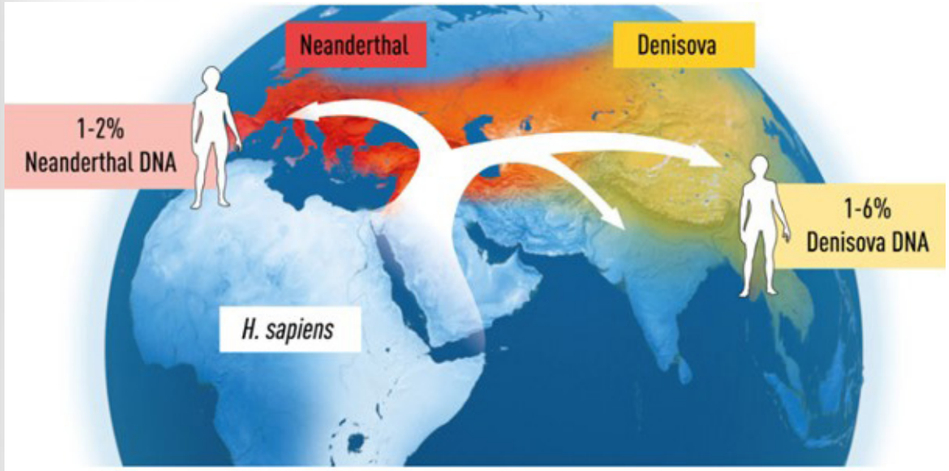
پس از هزاران سال، تنها مقدار کمی از DNA باقی مانده و آنچه باقی مانده است به طور گسترده به DNA باکتری‌ها و انسان‌های معاصر آلوده شده است. در راستای این تحقیقات، پابو مجبور به ایجاد روش‌هایی برای تجزیه و تحلیلDNA هایی که در اثر قرار گرفتن در معرض عناصر، به مدت هزاران سال، آسیب دیده و با توالی‌هایی از میکروارگانیسم‌ها و انسان‌های مدرن آلوده شده بودند، شد. سپس او و همکارانش از این تکنیک‌ها، برای توالی‌یابی ژنوم نئاندرتال‌ها استفاده کردند که مقالات آن در سال ۲۰۱۰ منتشر شد. این دستاورد ژنتیکی منجر به یافتن این نتیجه شد که دو نژاد نئاندرتال‌ها و هوموساپینس با هم آمیخته‌اند و ۱ تا ۴ درصد از ژنوم انسان‌های مدرن اروپایی یا آسیایی را می‌توان تا زمان نئاندرتال‌ها ردیابی کرد (۳,۱).



DNA در دو بخش مختلف در سلول قرار دارد. DNA هسته‌ای، بیشتر اطلاعات ژنتیکی را در خود جای داده است؛در حالی که ژنوم میتوکندری بسیار کوچکتر و در هزاران نسخه وجود دارد.

پس از مرگ موجودات، DNA در طول زمان تجزیه میشود و در نهایت، فقط مقادیر کمی باقی میماند. همچنین این مقدار باقیمانده، به DNA باکتری و انسان معاصرآلوده میشود (منبع: nobelprize.org).

محققـان از تکنیـک هـای پابو، برای شناسـایی منشـا یک اسـتخوان انگشـت ۴۰۰۰۰ سـاله کـه در غـاری در جنوب سـیبری در سـال ۲۰۰۸ یافتشـد، اسـتفاده کردند. DNA جدا شـده از اسـتخوان نشـان داد که این اسـتخوان نـه متعلق بـه نئاندرتـال هـا و نه متعلق به هوموسـاپینس یـا همان انسـان هـای خردمنـد اسـت؛ بلکـه متعلـق بـه فردی اسـت کـه معـرف گروه جدیـدی از انسـان هـا بـه شـمار میـر ود. نـام ایـن گـروه جدیـد، از روی نـام غـاری کـه اسـتخوان در آن پیـدا شـد، دنیسـووان هـا نامگذاری شـد.
انسـان هـای نخسـتین سـاکن قـاره آسـیا نیـز بـه این گـروه مرتبـط می شـوند و DNA دنیسـووان را مـی تـوان در ژنـوم میلیاردهـا انسـان زنـده امـروزی پیـدا کـرد. پابـو همچنیـن دریافـت کـه زمـان انتقـال ژن از ایـن انسـانها کـه اکنـون منقـرض شـده اند بـه هومو سـاپینس ، پـس از مهاجرت بـه خـارج از آفریقـا و در حـدود ۷۰۰۰۰سـال پیـش بـوده اسـت (۳,۱).



تصویـر دو: اکتشـافات پابـو اطلاعـات مهمـی در مـورد چگونگـی جمعیـت جهـان در زمانـی کـه هوموسـاپینس از آفریقـا مهاجـرت کـرده و بـه سـایر نقـاط جهـان گسـترش یافتنـد، ارائـه کرده اسـت. نئاندرتـال هـا در غـرب و دنیسـووان هـا در شـرق، در قـاره اوراسـیا زندگـی مـی کردنـد. (منبع:nobelprize .org)

در سـال هـای ابتدایـی تحقیقـات بـر DNA انسـان هـای باسـتانی، ایـن موضـوع بـا نگرانـی هایـی در مـورد آلودگـی DNA انسـان مـدرن مواجـه شـده بـود؛ (پابـو اعتـراف کـرده اسـت کـه DNA ابتدایـی ای کـه از یـک مومیایـی مصـری اسـتخراج کـرده بـود، احتمالا متعلـق به خـود آن مومیایی بـوده اسـت.) امـا، بـه لطـف روش هـای توسـعه یافتـه در آزمایشـگاه پابـو، و همچنیـن ظهـور فنـاوری هـای جدیـد توالـی یابـی، جـای ترسـی بـرای اینگونـه آلودگـی، ماننـد سـابق وجـود نـدارد (۱).
عملکـرد پابـو در کشـف DNA نئاندرتال ها، دنیسـووان ها و سـایر انسـان ها، پیامدهـای مهمـی بـرای پزشـکی مـدرن دارد. اگرچه نسـبت DNA باسـتانی در ژنـوم انسـان انـدک اسـت، امـا بـه نظـر میرسـد اهمیـت ایـن مـاده از نسـبت آن بیشـتر بـوده و نقـش مهمـی در خطرات بیمـاری هـای مختلف ،

از اسکیزوفرنی تا COVID-۱۹ دارد (۱).
یکـی از محققـان در ایـن زمینـه گفتـه اسـت:«ایـن واقعیـت کـه بخش عمدهـای از مردمـی کـه امـروزه در جهـان زندگی میکنند، DNA انسـان هـای باسـتانی ماننـد نئاندرتـال هـا را دارنـد، پیامد مهمـی برای مـا دارد و مـن فکـر میکنـم کـه دانسـتن آن و تـلاش بـرای درک پیامدهـای آن بـرای سـلامتی، چیـزی اسـت کـه تـا پایـان زمـان زیسـتن انسـان هـا، بـه عنـوان یـک گونـه بـا مـا خواهـد بـود.» برخـی از پژوهشـگران معتقدنـد کـه بـا وجـود ژنـوم چندیـن نئاندرتـال و دنیسـووان، مـی توان ژنهـای منحصربـه فـرد انسـان امـروزی را شناسـایی کـرد (۱).

بـا ردیابـی چگونگـی جریـان یافتـن ژنهـا بیـن جمعیـت هـای انسـان های نخسـتین، محققـان توانسـته انـد مهاجـرت ایـن گـروه ها و همچنین منشـأ برخـی از ابعـاد فیزیولـوژی انسـان مـدرن، از جملـه ویژگیهای سیسـتم ایمنی و مکانیسـم هـای سـازگاری بـا زندگـی را ردیابـی کننـد. بیـش از ۵۰۰۰۰۰ سـال پیـش، اجـداد نئاندرتـال هـا و انسـان هـای امـروزی در حـال مهاجرت بـه سرتاسـر جهـان بودنـد کـه یک جهـش ژنتیکـی محـوری باعـث بهبود ناگهانـی مغـز برخـی از آنهـا شـد. هنگامـی کـه محققـان بـرای اولیـن بـار توالـی یـک ژنـوم کامـل نئاندرتـال را گـزارش کردنـد، ۹۶ اسـید آمینـه شناسـایی شـد کـه ایـن اسـیدهای آمینـه، بیـن نئاندرتـال هـا و انسـان های امـروزی متفـاوت اسـت.
دانشـمندان بـا مطالعـه در ایـن زمینـه در تـلاش بودنـد تـا بفهمنـد کـدام یـک از ایـن تغییـرات بـه انسـان مـدرن کمـک کـرد تـا بـا نئاندرتـال هـا و سـایر گونـه هـای انسـان رقابت کنـد. در مـاه سـپتامبر سـال ۲۰۲۲ ،محققان متوجـه شـدند کـه نوعـی ژن که در انسـان یافت مـی شـود، امـا در نئاندرتال هـا یـا دنیسـووان هـا نمیتـوان آن را پیـدا کـرد، بـه رشـد عصبـی بیشـتر در ارگانوئیدهـای مغـزی مرتبط اسـت.
در پایـان ایـن تحقیقـات، پژوهشـگران معتقـد بودنـد که پیـش از ایـن، هرگز بـه آنچـه انسـان کنونی را انسـان می سـازد، نزدیـک ترنشـده بودنـد (۲,۱) .

الکتروفورز دوبعدی؛ روشی قدرتمند برای تفکیک پروتئینها

بهار مانی
دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا تهران

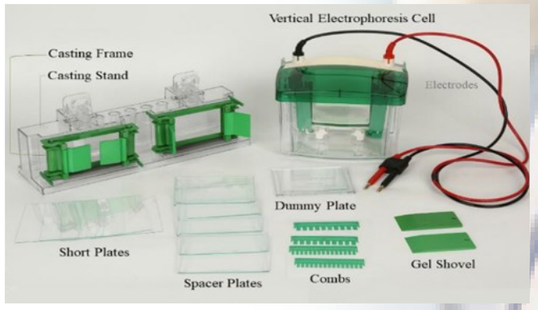
هر مولکول دارای بار خالص در میدان الکتریکی به حرکت در می آید؛ این پدیده که الکتروفورز نامیده میشود، شیوه موثری برای جدا سازی ماکرومولکول هایی مثل پروتئین ها، DNA و RNA است (۱).
ژل ها متخلخل هستند و جدا سازی نه تنها به بارمولکول بلکه به اندازه آن نیز بستگی دارد.
ژل به عنوان یک محیط حمایتی برای جداسازی ماکرومولکول هایی که قبل تر ذکر شد، تحت تأثیر بار الکتریکی استفاده میشود (۲).
الکتروفورز از این جهت که تمامی مولکول ها صرف نظر از اندازه شان وادار به حرکت از درون همان بستر می شوند، نقطه مقابل فیلترا سیون ژلی است.
ژل همانند یکی از دانه های ستون فیلترا سیون ژلی رفتار می کند (۱).
جداسازی های الکتروفورزی تقریباً همیشه بر روی ژل ها یا بسترهای جامد نظیر کاغذ صورت میگیرد.
علت آن است که عنوان یک الک مولکولی[۱] و کارایی جداسازی را بالا میبرد. مولکول هایی که اندازه آنها در مقایسه با روزنه های موجود در ژل کوچکتر است به سهولت در آن حرکت می کنند، در حالی که مولکول های خیلی بزرگتر از روزنه های موجود در ژل، تقریباً غیر متحرک اند.
مولکول هایی که اندازه آنها متوسط است، با درجه های متفاوتی در ژل حرکت میکنند (۱).
به طور معمول دو نوع ماده برای ساخت ژل استفاده میشود:

■ آگارز: یک نوع پلی ساکارید است که از جلبک دریایی جدا می شود و از واحدهای تکرار شونده آگاروبیوز شکیل شده است.
این ژل عموماً دارای اندازه منافذ بزرگتری نسبت به ژل پلی آکریل آمید است که آن را برای جداسازی مولکولهای بزرگتر با جرم مولکولی بیش از ۲۰۰کیلو دالتون مناسب می سازد (۲).
ژل آگارز یک روش کارآمد برای جداسازی اسیدهای نوکلئیک است.
غلظت آگارز در ژل به اندازهٔ قطعاتی از نمونه که قرار است از یکدیگر جدا شوند بستگی دارد که این مقدار بیشتر بین ۰/۵ تا ۲٪ قرار دارد (۳).
برای ژل آگارز از سیستم الکتروفورز افقی استفاده می شود (۲).

■ آکریل آمید: پلی آکریل آمید از طریق پلیمریزه شدن آکریل آمید و ایجاد پیوندهای عرضی با متیلن بیس آکریل آمید[۲] (۱)،تحت تأثیر آغازگر محلول در آبی مثل آمونیوم پرسولفات[۳] (۴) و کاتالیزوری به نام تترا متیل اتیلن دی آمین[۴] (۵) تهیه می شود.
پلی آکریل آمید یک بستر مناسب برای الکتروفورز به شمار می آید؛ زیرا هم از لحاظ شیمیایی خنثی است و هم تهیه آن سریع و آسان است (۱).
این ماده در حالت پلیمریزه، اثرات سمی مونومر آکریل آمید را ندارد (۶). ژل پلی آکریل آمید معمولاً برای جدا سازی پروتئین ها استفاده می شود (۷).
می توان با تغییر غلظت آکریل آمید اندازهٔ منافذ ژل را (متناسب با اندازهٔ پروتئینها) تغییر داد (۸).
غلظت ژل معمولاً از ۵٪ تا ۲۰٪متغیر است (۲).
از آنجایی که اکسیژن یک عامل مهارکننده برای پلیمریزاسیون آکریل آمید است، در ژل الکتروفورز

۱ Molecular sieve
۲ N,N'-Methylenebisacrylamide
۳ Ammonium persulfate (APS)
۴ Tetramethylenediamine (TEMED)

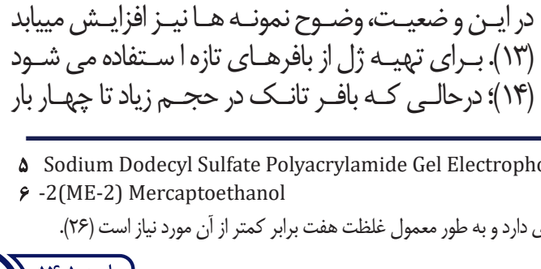
سدیم دودسیل سولفات- پلی آکریل آمید[۵] (SDS- PAGE) از سیستم الکتروفورز عمودی برای جداسازی استفاده میشود تا تماس با اکسیژن محدود باشد (۹).



شکل ۱. اجزای سیستم الکتروفورز عمودی (۱۰)

SDS-PAGE

در این تکنیک، الکتروفورز درون یک ورقه نازک عمودی از پلی آکریل آمید انجام می گیرد (۱) و ضخامت ژل ایجاد شده می تواند ۰/۷۵، ۱ یا ۱/۵ میلیمتر با شد (۱۰).
می توان تحت یک شرایط دناتوره کننده، پروتئین ها را از طریق الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید بر اساس جرم تا حدود زیادی از یکدیگر جدا کرد. ابتدا مخلوط پروتئین ها در محلولی از سدیم دودسیل سولفات (SDS)حل می شود (۱).
سدیم دودسیل سولفات یک سورفکتانت آنیونی است که تقریبا تمامی برهمکنش های غیرکووالان (پیوندهای هیدروژنی و آبگریز) را در ساختار طبیعی پروتئین برهم میزند (۱ و ۱۱) و ساختار دوم، سوم و چهارم دیتیوتریتول پروتئین را مختل می کند (۴).
۲- مرکاپتواتانول[۶] یا دی تیوتریتول[۷] (DTT) نیز به عنوان کاهنده جهت احیای پیوند های دیسولفیدی اضافه میشوند و به دناتوره شدن پروتئین کمک میکنند (۱۱،۴،۱). کمپلکس SDS با پروتئین دناتوره، حاوی بارمنفی نسبتاً بزرگی است که کم و بیش با جرم پروتئین متناسب است.
بار منفی ای که پروتئین در اثر اتصال SDS کسب میکند، معمولاً به مراتب از بار الکتریکی پروتئین طبیعی بزرگتر است. به این ترتیب بار الکتریکی پروتئین طبیعی اهمیت خود را از دست می دهد (۱). در ادامه، زنجیره های پلی پپتیدی با نسبت بار به جرم یکسان ایجاد می شوند (۴) و حرکت کمپلکس پروتئین- SDS دیگر تحت تأثیر بار اصلی و شکل مولکولی پروتئین نیست، بلکه تنها به جرم مولکولی نسبی بستگی دارد (۱۱).
حرارتدادن نمونه ها تا ۹۵ درجه سانتیگراد باعث دناتوره شدن بیشتر می شود (۵).



شکل ۲ .نحوهٔ ایجاد زنجیره های پلی پپتیدی با نسبت بار به جرم یکسان و جداسازی آنها بر اساس وزن مولکولی (۹)

کاربرد بافرها در الکتروفورز، انحلال موادی است که با آنها ژل می سازند (۳). همچنین هدایت جریان از کاتد (قطب منفی) به آند (قطب مثبت) از طریق ژل، توسط بافر تانک (Buffer Running) انجام می شود (۸). در سیستم بافر پیوسته، دقیقاً از همان بافری که برای تهیه ژل استفاده می شود، باید به عنوان بافر تانک هم استفاده کرد (۷) اما SDS-PAGE یک سیستم الکتروفورزی ناپیوسته است که در آن برای تهیه بافر ژل و تانک از دو نوع متفاوت از بافرها استفاده می شود (۸).
چون بافرها بستر مناسبی برای رشد میکروارگانیسم ها هستند، می توان آنها را داخل یخچال نگهداری و به صورت سرد استفاده کرد.
در این وضعیت، وضوح نمونه ها نیز افزایش مییابد (۱۳). برای تهیه ژل از بافرهای تازه استفاده می شود (۱۴)؛ درحالی که بافر تانک در حجم زیاد تا چهار بار

۵ Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis
۶ -2(ME-2) Mercaptoethanol
۷ دی‌تیوتریتول (Dithiotreitol) نسبت به مرکاپتواتانول بوی تند و سمیت کمتری دارد و به طور معمول غلظت هفت برابر کمتر از آن مورد نیاز است (۲۶).

قابل استفاده است اما در حجم های کوچک می توان هر بار آن را دور ریخت (۱۳).

در الکتروفورز سدیم دودسیل سولفات- پلی آکریل آمید دو لایه ژل وجود دارد؛ ژل پایینی یا جداکننده[۸] (۴) که به وسیلهٔ سمپلر بین صفحات شیشه‌ای ریخته می‌شود. باید توجه داشت تا حباب داخل ژل وارد نشود (۷). برای صاف‌کردن سطح ژل از نرمال بوتانول[۹] (۱۵) یا ایزوپروپیل الکل هیدراته[۱۰] و یا آمیل الکل (۷) استفاده می‌شود. سپس الکل مورد استفاده بیرون ریخته می‌شوند و سطح ژل چندین بار با آب شستشو داده می‌شود. در مرحله بعدی ژل بالایی یا متراکم‌کننده[۱۱] ریخته می‌شود و شانه در جای خود قرار می‌گیرد تا چاهک‌هایی برای بارگذاری نمونه‌ها ایجاد کند (۷).

ژل‌های SDS-PAGE معمولاً به صورت تازه برای هر آزمایش تهیه می‌شوند اما می‌توان آن‌ها را آماده کرد و تا حدود یک هفته با مقداری آب در یخچال (دمای ۴درجه سانتی‌گراد) نگهداری نمود (۷،۱۱). ژل متراکم‌کننده دارای غلظت آکریل آمید کمتر و در نتیجه اندازه منافذ بزرگ‌تری نسبت به دیگری است (۴).

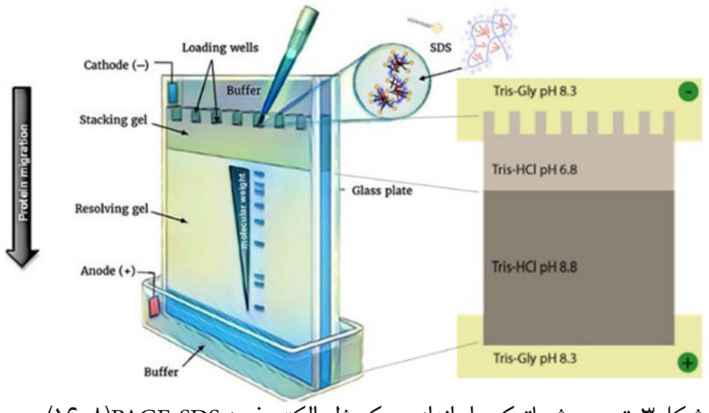
در این بخش از ژل، جدا شدن پروتئین ها مدنظر نیست.

در واقع وجود ژل متراکم‌کننده برای این منظور است که همهٔ پروتئین‌ها به طور همزمان وارد مرحله جداسازی شوند و باندهای ناواضح و دارای ناخالصی[۱۲] تشکیل ندهند (۸).

کمپلکس‌های SDS– پروتئین را در معرض الکتروفورز قرار می‌دهند. جهت جریان از بالا به پایین است (۱).

با اعمال ولتاژ دو یون با تحرک الکتروفورتیک متفاوت در سمت بالا و پایین ژل قرار می‌گیرند که یک مرز متحرک را تشکیل می‌دهند. مولکول‌های پروتئین بین گلیسین و کلر حرکت می‌کنند و این فرایند باعث می‌شود تا نمونه پروتئین در ژل به صورت باندهایی که حجم آن‌ها بسیار کمتر از حجم بارگذاری شده است، فشرده و متمرکز شوند. شایان ذکر است که بافر مورد استفاده برای تهیه ژل‌ها pH مختلفی دارند (۱۱) که علت آن کنترل وضعیت شارژ گلیسین است؛ گلیسین وابسته به pH می‌تواند بار مثبت، خنثی یا منفی داشته باشد (۸).

۸ Resolving gel
۹ n-Butanol
۱۰ Isopropyl alcohol hydrated (IPA)
۱۱ Stacking gel
۱۲ Smeared bands



شکل۳. تصویر شماتیک راه اندازی یک ژل الکتروفورز PAGE-SDS(۸، ۱۶).

هنگامی که نمونه‌ها به اندازه کافی به سمت پایین ژل حرکت کردند، فریم ژل[۱۳] از مخزن خارج می‌شود و ژل به کمک کاردک از صفحات شیشه‌ای جدا می‌گردد. ژل متراکم کننده در این مرحله قابل جداسازی است، زیرا تفکیک باندهای پروتئین در بخش پایینی صورت گرفته است (۷). هنگامی که الکتروفورز کامل شد، رنگ‌آمیزی ژل با نیترات نقره[۱۴] یا کوماسی بلو[۱۵] انجام می‌گیرد و بدین ترتیب پروتئین‌های موجود در ژل قابل رویت شده و تعدادی باند نمایان می‌شود (۱).

این روش غیر اختصاصی است و تمام پروتئین‌ها را نمایان می‌کند (۱۶). هنگامی که ژل با کوماسی بلو رنگ‌آمیزی می‌شود، مقادیر اندکی در حدود ۰،۱میکروگرم از پروتئین یک باند مشخص به وجود می‌آورد. با رنگ‌آمیزی نیترات نقره حتی مقادیر کمتر یعنی در حدود ۰،۰۲میکروگرم نیز قابل ردیابی است (۱).

در روش اختصاصی رنگ‌آمیزی آنتی‌بادی‌های اختصاصی برای تشخیص پروتئین‌ها استفاده می‌شود (۱۶).

نشانگرهای رادیواکتیو متصل به آنتی‌بادی را می‌توان با قراردادن ورقه‌ای از فیلم حساس به پرتو X آشکار نمود. به این تکنیک اصطلاحاً اتورادیوگرافی[۱۶] می‌گویند (۱،۱۶).

SDS–PAGE، تکنیکی سریع، حساس و دارای قدرت تفکیک بالاست (۱) و روشی برای تعیین وزن مولکولی تقریبی پروتئین‌های ناشناخته است. یک پروتئین با وزن مولکولی شناخته شده تحت عنوان نشانگر[۱۷] به همراه نمونه ناشناخته به طور همزمان تحت الکتروفورز قرار می‌گیرند (۵،۱۱).

۱۳ Gel frame
۱۴ Silver stain
۱۵ Coomassie brilliant blue
۱۶ Autoradiography
۱۷ Marker or Ladder

پس از رنگ‌آمیزی با توجه به تحرکی که پروتئین استاندارد داشته است و لگاریتم وزن مولکولی آن، می‌توان نمودار خطی به دست آورد و وزن مولکولی نسبی نمونه مجهول را با استفاده از تحرک نسبی آن تعیین کرد (۱۱).

تحرک اغلب زنجیره‌های پلی پپتیدی تحت این شرایط با لگاریتم جرم آن‌ها نسبت خطی دارد.

هر چند تعدادی از پروتئین‌های غنی از کربوهیدرات و پروتئین‌های غشایی از این رابطه تجربی پیروی نمی‌کنند (۱).

متمرکزسازی ایزوالکتریک[۱۸]

سرعت مهاجرت (v) یک پروتئین در میدان الکتریکی (E) به بار خالص موجود روی پروتئین (z) و ضریب اصطکاک (f) بستگی دارد.

ضریب اصطکاک جسم، هم به جرم و شکل مولکول مهاجر و هم به گرانروی محیط بستگی دارد. سرعت مهاجرت یک مولکول از رابطه زیر به دست می آید :

$$v = \frac{EZ}{f}$$

جداسازی پروتئین‌ها از طریق الکتروفورز بر اساس محتوای نسبی آمینواسیدهای اسیدی و بازی آن‌ها نیز امکان پذیر است. نقطه ایزوالکتریک یا pI یک پروتئین،pH ای است که در آن بار خالص پروتئین صفر است. در این حالت چون در معادله بالا مقدار z یا همان بار خالص موجود روی پروتئین صفر می‌شود، تحرک الکتروفورزی پروتئین نیز صفر می‌شود.

زمانی که مخلوطی از پروتئین‌ها تحت یک شیب pH در ژل و در غیاب SDS باردار تا زمانی که در شیب pH به موقعیتی برسند که بار خالص آن‌ها صفر باشد، بر اساس بار خالص خود به سمت آند یا کاتد مهاجرت می کنند (۱۸).

این روش جداسازی پروتئین‌ها بر اساس نقطه ایزوالکتریکشان IEF نامیده می‌شود (۱).

برای انجام این روش می‌توان از نوارهایی با شیب pH تثبیت شده[۱۹](IPG strips) استفاده کرد (۱۹).

نوارهای ReadyStrip IPG روی یک سطح پلاستیکی قرار دارند. آن‌ها در اندازه‌های متفاوت (۷ تا ۲۴ سانتی متری) و شیب‌های (Gradients) متفاوت pH تولید می‌شوند (۲۰).

این نوارها در ابتدا آبگیری شده هستند و باید قبل از استفاده مجدداً هیدراته شوند تا به ضخامت اصلی خود (۰/۵ میلی‌متر) برسند (۱۹). انتخاب بافر مورد استفاده برای عمل هیدراته کردن[۲۰] با توجه به شرایط می‌تواند متفاوت باشد، اما به طور معمول حاوی اوره (دناتوره کننده و حل کنندهٔ پروتئین‌ها)، شویندهٔ غیریونی یا زوئیترونی[۲۱] همانند[۲۲] CHAPS (حل کنندهٔ پروتئین‌های آبگریز و کاهش‌دهنده تجمع پروتئین‌ها)، DTT، رنگ (ردیابی حرکت نمونه) و بافر IPG یا فارمالیت‌های[۲۳] متناسب با محدوده pH نوار IPG است (۱۹,۲۱).

IEF قادر است پروتئین‌هایی را که نقطه ایزوالکتریک آن‌ها اختلاف اندکی به اندازه ۰,۰۱ دارند به راحتی از یکدیگر تفکیک کند؛ این یعنی پروتئین‌هایی که تنها یک واحد بار خالص با یکدیگر اختلاف دارند قابل جداسازی هستند (۱).

شکل ۴. نوار IPG به همراه بافر مخصوص آن (منبع: سایت Cytiva)

۱۸ Isoelectric Focusing (IEF)
۱۹ Immobilized pH gradient
۲۰ Rehydration
۲۱ Zwitterionic
۲۲ Cholamidopropyl dimethyl-ammonium propane sulfonate
۲۳ فارمالیت (Pharmalyte) مخلوط آمفولیت‌های حامل (Carrier ampholytes) است. آمفولیت‌های حامل مولکول‌های کوچک و محلول با بار مثبت یا منفی هستند که بر اساس نقطه ایزوالکتریک خود در میدان الکتریکی مرتب می‌شوند. به این ترتیب آن‌ها رسانایی یکنواخت‌تری را در شیب pH ایجاد می‌کند (۲۷).

نوار IPG از طرفی که ژل با محلول در تماس باشد، داخل سینی[۲۴] آب‌رسانی قرار می‌گیرد. نمونه پروتئینی به منظور بارگذاری داخل ژل[۲۵]، اضافه می‌شود. در طول هیدراته شدن باید به نوار روغن نوار IPG از طرفی که ژل با محلول در تماس باشد، داخل سینی آب‌رسانی قرار می‌گیرد. نمونه پروتئینی به منظور بارگذاری داخل ژل ، اضافه می‌شود . در طول هیدراته شدن باید به نوار روغن معدنی[۲۶] افزوده شود (۱۹) تا از تبخیر نمونه و رسوب اوره جلوگیری کند (۲۱). مرحلهٔ هیدراته کردن بین ۱۰ تا ۱۲ساعت طول می کشد (۱۹).

پس از این نوار IPG با کمک پنس به سینی متمرکزسازی[۲۷] منتقل می‌شود (۲۱). IEF عموماً از طریق چندین مرحله تغییر ولتاژ که با مقدار نسبتاً پایین شروع می‌شود، ادامه می‌یابد. ولتاژ به تدریج به ولتاژ نهایی مورد نظر افزایش می‌یابد.

ولتاژ اولیه پایین، تجمع نمونه را به حداقل می‌رساند و سپس حداکثر ولتاژی که اعمال می‌شود پروتئین‌ها را به درستی از یکدیگر جدا می‌کند. در طول متمرکزسازی ایزوالکتریک، انتقال یون‌ها، پروتئین‌ها و بافر IPG به الکترودها با انتقال آب همراه است. ممکن است نتایج بهتری با به کارگیری پدهای کاغذی مرطوب بین نوار IPG و هر الکترود به دست آید. پدهای الکترود[۲۸] باید مرطوب باشند، نه خیس. یک پد کاغذی مرطوب روی هر الکترود قرار داده می‌شود و بعد نوار IPG هیدراته داخل سینی قرار می‌گیرد (۱۹).

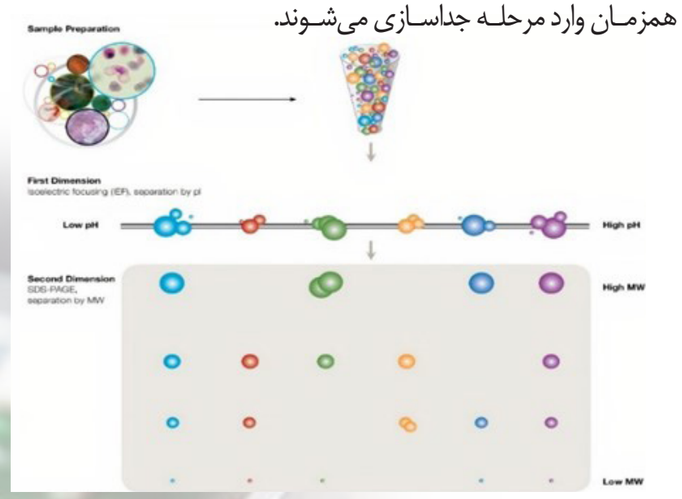
شکل ۵. اجزای یک سیستم IEF (برگرفته از سایت Bio–Rad)

الکتروفورز دوبعدی[۲۹]

اگر IEF را با SDS–PAGE ترکیب کنیم قدرت تفکیک جداسازی به میزان بسیار زیادی افزایش پیدا می‌کند. نمونه تحت IEF قرار می‌گیرد، سپس این ژل تک ردیفی به صورت افقی در بالای یک ژل SDS–PAGE قرار داده می‌شود. مجددا این پروتئین‌ها در

۲۴ Rehydration tray
۲۵ Loading into the gel
۲۶ Mineral oil
۲۷ Focusing tray
۲۸ Electrode pads
۲۹ Two-dimensional gel electrophoresis (DE-2)

جهت عمود بر حالت قبل الکتروفورز می‌شوند تا الگویی دوبعدی از لکه‌ها[30] حاصل شود. در چنین ژلی پروتئین‌ها در جهت افقی بر اساس نقطه ایزوالکتریکشان و در جهت عمودی بر اساس جرمشان از یکدیگر جدا شده‌اند (۱).
بدیهی است که هنگام ریختن ژل SDS–PAGE شانه گذاشته نمی‌شود؛ چون به وجود چاهک‌ها نیاز نیست (به جز مواقعی که نیاز به استفاده از نشانگر باشد که در این حالت یک چاهک بر روی ژل ایجاد می‌کنیم).
علاوه بر این، فقط یک لایه ژل که معادل لایه جداکننده است، ریخته می‌شود و با افزودن نرمال بوتانول یا ایزوپروپیل الکل هیدراته روی ژل سطح آن صاف می‌شود. در اینجا از لایه متراکم‌کننده استفاده نمی‌شود؛ چراکه همهٔ پروتئین‌ها در نوار IPG حضور دارند و به طور همزمان وارد مرحله جداسازی می‌شوند.

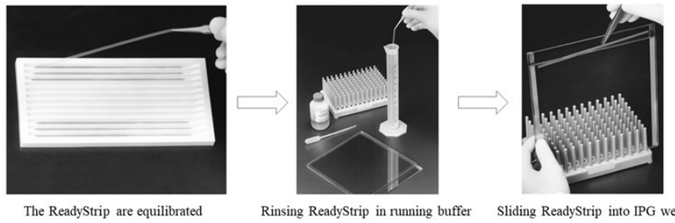


شکل ۶. موقعیت پروتئین‌های نمونه در بعد اول و دوم 2-DE (۲۱)

اگر قرار باشد که بعد دوم الکتروفورز انجام شود، بلافاصله قبل از اجرای بعد دوم، نوارهای IPG طی دو مرحلهٔ ۱۵دقیقه‌ای متعادل[31] می‌شوند (۱۹). برای این منظور محلولی استفاده می‌شود که حاوی اوره، گلیسرول (جلوگیری‌کننده از شناور شدن نمونه‌ها)، احیا کننده (که بعداً با یدواستانید[32] جایگزین می‌شود)، SDS و رنگ (معمولا برموفنول آبی) است (۷،۱۹).
در صورتی که لازم باشد یک نشانگر بارگذاری شود، باید اندازه ژل بزرگ‌تر از نوار IPG باشد و یک چاهک در این ناحیه انتهایی (انتهای اسیدی) وجود داشته باشد (۱۹) که برای ایجاد آن از شانه مخصوص استفاده می‌کنند. پس از برداشت نوار IPG از سینی تعادل چند بار داخل بافر تانک که در یک استوانه مدرج ریخته شده،

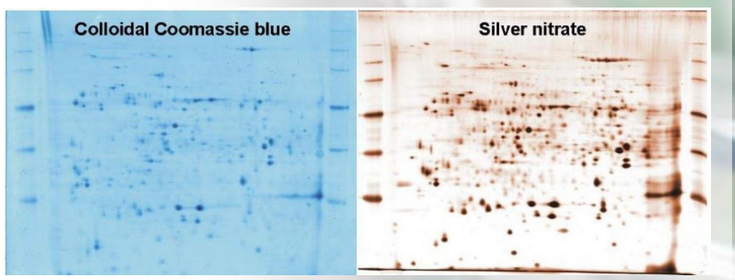
۳۰ Spots
۳۱ Equilibrate
۳۲ یدواستامید (Iodoacetamide) گروه تیول پروتئین‌ها و DTT باقی مانده را آلکیله می‌کند تا از اکسیداسیون مجدد آن‌ها در طول الکتروفورز جلوگیری کند. در غیر این صورت بعد از انجام بعد دوم الکتروفورز اتفاقاتی مثل Point streaking (تصویر QR code) و... رخ می‌دهد (۱۹).

فروبرده می‌شود (۲۲). نوار IPG روی سطح ژل قرار می‌گیرد و با آگار مذاب در جای خود ثابت می‌شود. به طور دقیق‌تر با استفاده از اسپاتول‌ها بر قسمت پشتی پلاستیکی نوار IPG برای چند دقیقه فشار آورده می‌شود تا نورا IPG در جایگاه مناسب قرار گیرد و آگار جامد شود (۲۱،۲۲). به طور کلی عدم وجود حباب در هر مرحله‌ای مهم است تا از بروز انواع خطاها جلوگیری شود (۱۹،۲۱).



شکل ۷. متعادل شدن و شستشوی نوار IPG و قراردادن آن روی ژل الکتروفورز SDS–PAGE (۲۲)

پس از انجام بعد دوم الکتروفورز با SDS–PAGE، ژل با روش‌هایی که قبل‌تر نام برده شد رنگ‌آمیزی شده و اسکن می‌شود (۲۳).
هنگام برداشتن ژل برای رنگ‌آمیزی، نوار IPG جدا و دور انداخته می‌شود. تصویر اسکن شده از ژل‌های الکتروفورز دوبعدی لکه‌هایی را نشان می‌دهند که هر کدام نشان دهندهٔ یک پروتئین منفرد یا گروهی از ایزوفرم‌های پروتئینی است.

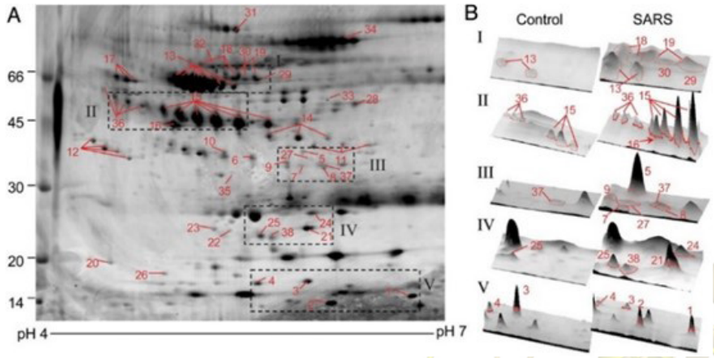


شکل ۸. الگوی پروتئینی دوبعدی ۱۰۰میکروگرم از عصاره پروتئین تام[33] Arabid opsis متمرکزسازی شده روی نوار IPG با محدوده ۴ تا ۷ و رنگ‌آمیزی شده با کوماسی بلو (چپ) و نیترات نقره (راست) (۱۷)

با کمک نرم افزارهای تحلیلی موجود همانند؛
2D Platinum ImageMaster هر لکه با یک طرح کلی که به صورت دستی یا خودکار اطراف آن ترسیم می‌شود، تعریف می‌شود. در این روش شدت پیکسل لکه‌ها ثبت می‌شود که با مقدار پروتئین موجود در آن لکه مرتبط است. سپس می‌توان یک نمایش گرافیکی سه‌بعدی از لکه‌ها را مشاهده کرد و پارامترهای آن (همانند وزن مولکولی، pI احتمالی و...) را از طریق نرم افزار به دست آورد (۲۳).

۳۳ Total protein extracts

سه‌بعدی از لکه‌ها را مشاهده کرد و پارامترهای آن (همانند وزن مولکولی، pI احتمالی و...) را از طریق نرم افزار به دست آورد (۲۳).



شکل ۹. بررسی پروتئوم پلاسمای بیماران مبتلا به SARS و شناسایی ۳۸ لکهٔ افتراقی بین بیماران و گروه کنترل. لکه‌های پروتئینی که بیان متفاوتی از گروه کنترل دارند، روی تصویر اسکن شده مشخص شده‌اند (A) و تصاویر سه بعدی این لکه‌ها بین دو گروه، توسط نرم افزار 2D Platinum ImageMaster تجزیه و تحلیل شده‌اند (B) (۲۴).

به این ترتیب دانستیم الکتروفورز دوبعدی یکی از قدرتمندترین ابزارها برای جداسازی پروتئین‌ها بر اساس اندازه و بار آن‌ها است. مزیت این روش این است که پروتئین‌هایی که بر اساس جرم مولکولی خود در SDS–PAGE جدا می‌شوند را می‌توان بر اساس بار، بیشتر از یکدیگر جدا کرد (۲۵). در بسیاری از رشته‌های بیولوژیکی از روش‌های الکتروفورز استفاده می‌شود و یک ابزار تحلیلی و تشخیصی مهم را ارائه می‌دهد. برای مثال هنگام تولید پروتئین‌های نوترکیب، وجود یا عدم وجود پروتئین مورد نظر و یا تغییرات پروتئینی در طول فرایند خالص‌سازی بررسی می‌شوند (۷). مثال دیگر آنکه می‌توان پروتئین‌های جدا شده از سلول تحت شرایط فیزیولوژیک متفاوت را تحت الکتروفورز دوبعدی قرار داد و سپس شدت سیگنال‌ها را سنجش کرد. از این طریق می‌توان هرگونه افزایش یا کاهش غلظت پروتئین‌های خاصی که در پاسخ به آن وضعیت فیزیولوژیک صورت گرفته را مشاهده کرد.

اشکالی که بر الکتروفورز دوبعدی وارد است این است که بسیاری از پروتئین‌ها را آشکار می‌کند، اما با این حال ماهیت آن‌ها را مشخص نمی‌کند. برای شناسایی ماهیت پروتئین‌ها الکتروفورز ژل دوبعدی را با تکنیک‌های طیف سنجی جفت می‌کنند. به این ترتیب در نهایت شناسایی پروتئین با طیف سنجی جرمی[۳۴] انجام می‌شود (۱).

۳۴ Mass spectrometry

آینده داروهای جدید و نقش بیوتکنولوژی در آن

سیده نرجس تافته
دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا تهران

آنچه ما می دانیم این است که مراقبت‌های پزشکی در آینده، شخصی، دیجیتالی و مبتنی بر داده‌ها خواهند بود. این تغییرات در حال حاضر به خوبی در حال انجام است، اما به نظر می‌رسد تا اواسط قرن حاضر به طور چشمگیری افزایش یابد (۱).

برخی قرن بیست و یکم را «قرن زیست شناسی» نامیده اند و بیوتکنولوژی به عنوان یک رشته نسبتا جدید با پتانسیل زیادی که برای پیشبرد پیشرفت پزشکی دارد، فعالیت می کند (۲).

بسیاری از این پیشرفت‌ها ناشی از گسترش پزشکی شخصی است. به عنوان مثال، یک رشته جدید به نام فارماکوژنومیک، به دنبال تعیین چگونگی تأثیر ژنتیک افراد بر پاسخ آن‌ها به داروهای خاص است (۳). برخی از کاربرد های فارماکوژنومیک:

۱ داروها برای عملکرد صحیح خود، نیاز به اتصال به گیرنده‌ها (پروتئین‌های موجود روی سطح سلول) دارند و DNA فرد تعیین می‌کند که چه نوع و چه تعداد از گیرنده ها، میتواند بر پاسخ فرد به دارو تأثیر بگذارد و برخی از داروها باید به طور فعال وارد بافت‌ها و سلول‌های هدف خود شوند.

۲ DNA می‌تواند بر جذب برخی داروها تأثیر بگذارد. کاهش جذب می تواند به این معنا باشد که دارو به خوبی عمل نکرده و باعث تجمع آن در سایر قسمت های بدن می شود که در نتیجه مشکلاتی را ایجاد می کند.

۳ DNA همچنین می‌تواند بر سرعت حذف برخی داروها از سلول‌هایی که در آنها اثر می‌کنند تأثیر بگذارد. اگر داروها خیلی سریع از سلول خارج شوند، ممکن است زمانی برای عمل نداشته باشند (۴).

به طور کلی می‌توان گفت که هدف فارماکوژنومیک، توسعه آزمایش‌هایی است که پیش‌بینی می‌کند پروفایل ژنتیکی کدام بیمار بیشتر از یک داروی خاص سود می‌برد.

شکل۱–نحوه عملکرد فارماکوژنومیک. (منبع: Genengnews.com)

بیوتکنولوژی همچنین در تشخیص بیماری‌های ناشی از عوامل ژنتیکی تحول عظیمی ایجاد کرده است. آزمایش‌های جدید می‌توانند تغییرات در توالی DNA ژن‌های مرتبط با خطر بیماری را تشخیص دهند و احتمال ابتلا به بیماری را پیش‌بینی کنند. تشخیص زودهنگام، در بسیاری موارد، کلید پیشگیری از بیماری یا کند کردن پیشرفت آن از طریق درمان اولیه است (۳).

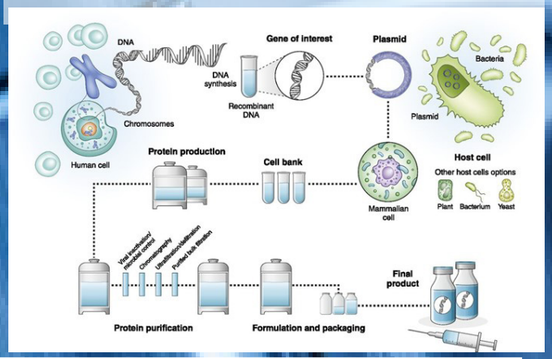
اما آیا ما موفق به درمان قطعی سرطان خواهیم شد؟ آیا اعضای بدنی که در آزمایشگاه‌ها ایجاد شده‌اند، اهدای عضو را منسوخ می‌کنند؟ اگرچه پیش‌بینی آینده غیرممکن است، اما می‌توان تغییر را از یک نقطه نظر متصور شد. از این جهت،

بسیاری از تغییراتی که ما شاهد آن خواهیم بود، اکنون در حال انجام هستند؛ اگرچه هنوز در مراحل اولیه خود می باشند.
جنبه‌هایی از پزشکی که درآینده می‌توانیم از آنها مطمئن باشیم مربوط به نوآوری‌ها در تشخیص، مراقبت از بیمار و توسعه دارو است (۱).

داروهای بیوتکنولوژی چگونه ساخته می‌شوند؟

برخلاف اکثر داروها که به طور شیمیایی سنتز می‌شوند و ساختار آنها شناخته شده است، بیشتر داروهای بیولوژیک، ترکیبات پیچیده‌ای دارند که به راحتی قابل شناسایی نیستند.
محصولات بیولوژیکی، از جمله تولیدات بیوتکنولوژی، به حرارت و آلودگی‌های میکروبی حساس هستند؛ بنابراین، استفاده از اصول آسپتیک[۱] از مراحل اولیه ساخت تا نقطه پایانی آن، ضروری است که این مورد نیز در تضاد با اکثر داروهای رایج است (۵).
ساخت مواد بیولوژیک فرآیندی بسیار سخت است.
درمان‌های مبتنی بر پروتئین، ساختارهایی به مراتب بزرگ‌تر، پیچیده‌تر و متفاوت‌تر از ساختار داروهای مبتنی بر ترکیبات شیمیایی دارند. به‌علاوه، داروهای مبتنی بر پروتئین با استفاده از سیستم‌های زنده پیچیده ساخته می‌شوند که نیازمند شرایط دقیقی هستند تا محصولاتی سازگار بسازند.
فرآیند تولید شامل چهار مرحله اصلی زیر است:

- تولید رده سلولی اصلی حاوی ژن سازنده پروتئین مورد نظر
- رشد تعداد زیادی سلول سازنده پروتئین
- جداسازی و خالص‌سازی پروتئین
- آماده‌سازی بیولوژیک برای استفاده بیماران



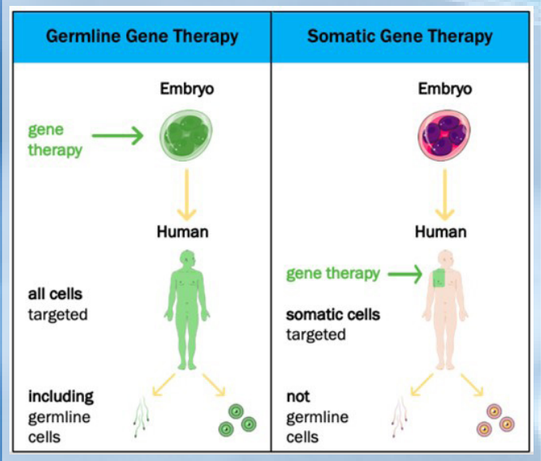
شکل۲- مراحل تولید داروی بیولوژیک (منبع: cjasn.asnjournals.org)

برخی از داروهای بیولوژیکی را می‌توان با استفاده از باکتری‌های شناخته‌شده، مانند E.coli تهیه کرد. برخی دیگر، به خطوط سلولی گرفته‌شده از پستانداران، مانند همستر، نیاز دارند. این مورد به این دلیل است که بسیاری از پروتئین‌ها دارای ویژگی‌های ساختاری هستند که فقط سلول‌های بدن پستانداران می‌توانند ایجاد کنند.
به عنوان مثال، به برخی از پروتئین‌ها، مولکول‌های قندی متصل شده و اگر مولکول‌های قند در الگوی درستی وجود نداشته باشند، به درستی عمل نمی‌کنند.
هنگامی که مرحله دوم تولید، یعنی فرآیند رشد، انجام شد، پروتئین مورد نظر از سلول‌ها و محیط رشد جدا می‌شود.
فناوری‌های مختلف فیلتر، برای جداسازی و خالص‌سازی پروتئین‌ها استفاده می‌شود.
این فناوری‌ها، جداسازی را بر اساس اندازه، وزن مولکولی و بار الکتریکی پروتئین‌ها انجام می‌دهند.
پروتئین خالص شده معمولا با یک محلول استریل مخلوط می‌شود که قابلیت تزریق را برای آن ایجاد می‌کند. مراحل نهایی، شامل پر کردن ویال‌ها یا سرنگ‌ها با دوزهای جداگانه، برچسب زدن، بسته‌بندی و در دسترس قرار دادن آن‌ها در اختیار پزشکان است (۳).

ژن درمانی و ویرایش ژن

ژن درمانی، یک رویکرد پزشکی است که با اصلاح مشکل ژنتیکی، این امکان را می‌دهد که به جای استفاده از جراحی با انجام دستکاری ژنتیکی، بیماری را درمان یا از وقوع آن پیشگیری کند (۶).
بر اساس تعریف آژانس دارویی اروپا (EMA)[۲] یک محصول دارویی ژن درمانی، در واقع دارویی بیولوژیک به شمار می‌رود که دارای دو ویژگی است:

(الف) حاوی یک ماده فعال باشد که شامل یک اسید نوکلئیک نوترکیب است.
این ماده فعال، در انسان استفاده می شود یا برای انسان با هدف تنظیم، ترمیم، جایگزینی، افزودن یا حذف یک توالی ژنتیکی تجویز می‌گردد.
ب) اثر درمانی، پیشگیری یا تشخیصی آن مستقیماً به توالی اسید نوکلئیک نوترکیب موجود در آن یا محصول بیان ژنتیکی این توالی مربوط است.
همچنین محصولات دارویی ژن درمانی نباید شامل واکسن علیه بیماری‌های عفونی باشد (۷).
به طور کلی، ژن درمانی را می توان به دو دسته تقسیم کرد: ژن درمانی خط زایا[۳] و ژن درمانی سوماتیکی[۴].
تفاوت این دو رویکرد در این است که در ژن درمانی سوماتیک، ماده ژنتیکی در برخی از سلول‌های هدف قرار می‌گیرد، اما این تغییر به نسل بعدی منتقل نمی‌شود؛ در حالی که در ژن درمانی خط زایا، اصلاحات و تغییرات به سلول‌های هدف منتقل می‌شود (۷).



شکل ۳- انواع روش‌های ژن درمانی (منبع: the-gist.org)

اولین روش ژن درمانی، که اغلب انتقال ژن نامیده می‌شود، برای موارد زیر مورد استفاده قرار می‌گیرد:

- معرفی یک ژن جدید به سلول ها برای کمک به مبارزه با یک بیماری.
- تعریف یک کپی غیر معیوب از یک ژن برای جایگزینی نسخه تغییریافته که باعث بیماری می‌شود.

مطالعات بعدی منجر به پیشرفت در تکنیک‌های ژن درمانی شد. یک تکنیک جدیدتر به نام ویرایش ژنوم (نمونه ای از آن CRISPR-Cas[۵]) از رویکرد متفاوتی برای اصلاح تفاوت‌های ژنتیکی استفاده می‌کند (۶).
در واقع، ویرایش ژنوم به جای معرفی مواد ژنتیکی جدید به سلول‌ها، ابزار مولکولی را برای تغییر DNA موجود در سلول معرفی می کند.
کاربردهای ویرایش ژنوم:

- اصلاح یک تغییر ژنتیکی زمینه‌ساز یک اختلال، برای عملکرد درست آن ژن
- روشن کردن یک ژن برای کمک به مبارزه با یک بیماری
- خاموش کردن ژنی با عملکرد نامناسب
- برداشتن بخشی از DNA که عملکرد ژن را مختل کرده و باعث بیماری می‌شود(۶).

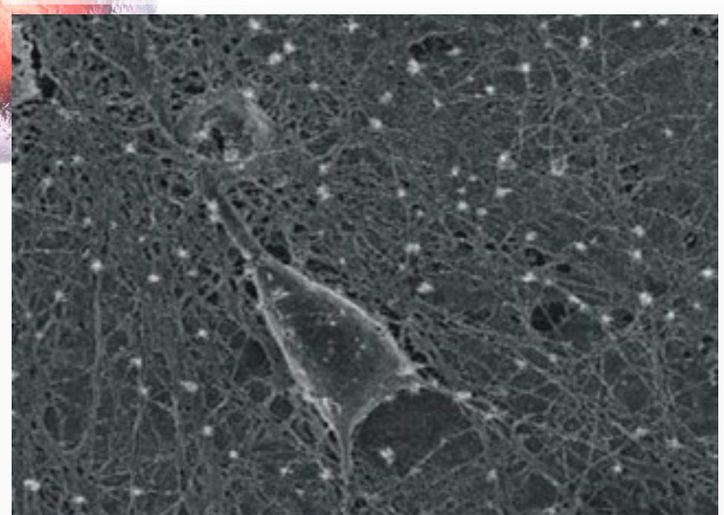
اگرچه ژن درمانی برای درمان تعداد کمی از بیماری‌ها، از جمله یک اختلال چشمی به نام آموروزیس[۶] و یک اختلال عضلانی به نام آتروفی عضلانی نخاعی[۷] استفاده می شود، اما قابل ذکر است که این روش با استفاده از آدنوویروس[۸] نوترکیب توانسته گام مهمی در درمان سرطان بردارد.
آدنوویروس نوترکیب می‌تواند منجر به از دست دادن یا به دست آوردن عملکرد ژن شده یا فعال سازی سلول های ایمنی خود بیمار برای از بین بردن سلول های

۱ تکنیک آسپتیک (Aseptic technique) اشاره به روش هایی دارد که در شرایط استریل انجام می شود.
۲ European Medicines Agency
۳ Germline gene therapy
۴ Somatic gene therapy
۵ ویرایش ژنوم CRISPR-Cas از یک RNA راهنمای مصنوعی در ترکیب با آنزیمی از سیستم ایمنی باکتریایی(مانند Cas۹) برای ویرایشDNA با سهولت و دقت بی‌سابقه استفاده می کند (۱).
۶ آموروزیس(Amaurosis)از دست دادن یا ضعف بینایی است که بدون آسیب دیدگی ظاهری چشم رخ می دهد.
۷ آتروفی عضلانی نخاعی(spinal muscular atrophy) یک اختلال عصبی عضلانی نادر است که منجر به از بین رفتن نورون های حرکتی می گردد.
۸ Adenoviruses

سرطانی با بیان مولکول هایی که پاسخ های ایمنی را افزایش می دهد(۶ و ۸).
از جمله موفقیت های ژن درمانی در درمان سرطان می توان به تولید داروی تیساجنلکلوسل[۹] که با نام تجاری کیمریا[۱۰] شناخته شده و برای برخی از بیماران کودکان و بزرگسالان مبتلا به نوعی لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL)[۱۱] تجویز می شود، اشاره کرد.
روند تولید این دارو با جمع آوری لنفوسیت‌های T بیمار شروع شده و سپس بر روی این سلول‌ها، اصلاح ژنتیکی صورت می‌گیرد تا دارای یک ژن جدید حاوی یک پروتئین خاص شود که لنفوسیت‌های T را برای هدف قرار دادن و کشتن سلول‌های سرطان خون هدایت کند (۹).

نانو پزشکی و فناوری سلول های بنیادی

نانوپزشکی کاربرد پزشکی و فناوری نانو است؛ یعنی استفاده از موادی با اندازه‌هایی در محدوده نانومتر.
نانوپزشکی شامل استفاده از نانومواد یا نانوذرات برای انتقال و هدف قرار دادن داروها به بدن است. بدون استفاده از فناوری نانو، این داروها جذب نشده و یا به طور طبیعی دفع می‌شوند (۱).
پژوهش‌های زیادی در زمینه نانوتکنولوژی و بخش تحقیقات مغز در حال انجام است.
به عنوان مثال می توان به استفاده از نانولوله کربنی برای تحریک الکتریکی سلول های بنیادی عصبی اشاره کرد و همچنین قابل ذکر است که تلاش‌هایی برای استفاده از فناوری نانو در جهت ترمیم مغز و تولید سیگنالهای عصبی نیز صورت گرفته است (۱۰).



شکل ۴- نورون هیپوکامپ موش صحرایی کشت شده که روی لایه‌ای از نانولوله های کربنی خالص‌شده رشد کرده است (۱۰).

از طرفی فناوری سلول‌های بنیادی حوزه‌ای است که به سرعت در حال توسعه یافتن است.
این حوزه، تلاش زیست‌شناسان سلولی، ژنتیک‌دان‌ها و پزشکان را ترکیب کرده و امید به درمان مؤثر برای انواع بیماری‌های بدخیم و غیر بدخیم را ارائه می‌دهد.
سلول‌های بنیادی به عنوان سلول‌های پیش‌ساز همه توان، با قابلیت خودنوسازی و تمایز چندگانه تعریف می‌شوند.
سلول‌های بنیادی به خوبی زنده می‌مانند و تقسیم پایداری را در محیط کشت سلولی نشان می‌دهند، که آنها را به اهداف ایده‌آلی برای دستکاری آزمایشگاهی تبدیل می‌کند.
اگرچه تحقیقات اولیه بر روی سلول‌های بنیادی خونساز متمرکز شده است، سلول های بنیادی در قسمت‌های دیگر نیز شناسایی شده‌اند.
تحقیقات روی سلول‌های بنیادی بافت جامد به پیشرفت سلول‌های بنیادی خون‌ساز نرسیده است (۱۱).

۹ Tisagenlecleucel
۱۰ Kymriah
۱۱ Acute Lymphoblastic Leukemia

آینده...؟

روش‌های فعلی در حیطه آنکولوژی و درمان سرطان بر توسعه نانوداروهای سرطانی ایمن و کارآمد متمرکز هستند اما به طور چشمگیری، سلول‌های بنیادی می توانند به عنوان داروهای احیا کننده، حامل‌های درمانی، هدف‌گیری داروها و تولید سلول‌های ایمنی به دلیل داشتن اثرات بیولوژیکی منحصر به فرد بر روی سایر سلول‌ها، مورد استفاده قرار گیرند (۱۲).
از طرفی روش‌های ژن درمانی جدیدی در حال تحقیق است تا محققین اطمینان حاصل کنند که ایمن و موثر خواهد بود.
در هر صورت، ویرایش ژنوم یک تکنیک امیدوارکننده است که پزشکان امیدوارند به زودی از آن برای درمان اختلالات در افراد استفاده کنند (۶).
علی رغم پیشرفت‌های حاصله در چند سال اخیر، بسیاری از روش‌های درمانی دیگر به زودی ارائه شده و درمان‌های شخصی‌سازی شده بیشتری را تولید می‌کنند.
توسعه بیشتر این روش‌ها و اصلاح سیستم‌های دارورسانی برای بهبود نتایج درمانی ضروری است (۱۲).

سیستم خونی جدید؛ حـــــــل معمایی ۳۰ ساله!

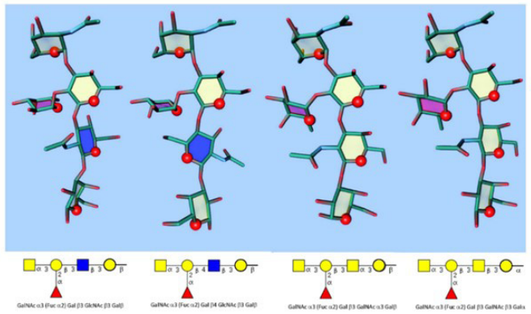
مریم هادی پور
دانشجوی کارشناسی بیوتکنولوژی دانشگاه الزهرا تهران

تـا قبـل از سـال ۱۹۰۰ میـلادی، چنیـن تصور می‌شـد کـه گـروه خونی تمامـی افراد یکسـان اسـت.
برداشـت اشـتباهی کـه در پـی آن، خطـر جانـی بـرای افـراد را بـه همـراه داشـت.
زیـرا براسـاس ایـن فـرض، خـون از هـر انسـانی بـه انسـانی دیگـر یـا حتی میـان انسـان و حیوانـات قابلیت انتقـال داشـت (۱). بـا گذرزمـان، نتایج مطالعات نشـان داد کـه گـروه خونـی هـر فـرد براسـاس وجـود یـا عدم وجـود نـوع خاصـی ازمولکول‌هـا تعییـن می‌شـود (۲). ایـن مولکول‌هـا را آنتـی‌ژن[1] می‌نامنـد.
هماننـد هـر سـلول دیگـر که بـرای حفـظ ایمنـی خود ومقابلـه بـا عوامـل خارجـی، آنتـی‌ژن تولیـد می‌کنـد تا سیسـتم ایمنـی، آنتی‌بادی‌هایـی علیـه آن تولیـد کنـد؛ گلبول‌هـای قرمـز موجـود درخـون هـم ایـن نـوع از مـاده ایمنـی را تولیـد نمـوده و در غشـای خـود قـرار می‌دهنـد.(۱)
آنتی‌ژن‌هـای موجـود روی غشـای گلبول‌هـای قرمـز می‌تواننـد از جنـس قنـد یـا پروتئیـن باشـند.
انواعـی از سیسـتم‌ها، بـرای تعییـن گـروه خونـی بـر اسـاس ماهیـت ایـن آنتی‌ژن‌هـا کشـف شـده اسـت کـه عبارتنـد از:

۱ سیستم خونی ABO

تعییـن گـروه خونـی براسـاس سیسـتم ABO، وابسـته بـه قندهـای موجـود بـر روی گلبـول قرمـز اسـت (۱). وجـود آنتی‌ژن‌هـای گـروه خونـی A و B بـا حضـور یـک ژن گـروه خونـیA یـا B در DNAو انـواع مختلفـی از پیش‌سـازهای آنتی‌ژنـی شـروع می‌شـود کـه از گلیکولیپید[2] وگلیکوپروتئین[3] سـاخته شـده‌اند (۳).

ایـن نـوع از آنتی‌ژن‌هـا، از پیش‌سـاز الیگوسـاکاریدی[4] تشـکیل شـده کـه یـک یـا چنـد قنـد دیگردرمحل‌های مختلـف زنجیـره بـه آن متصـل شـده‌اند.
براسـاس نـوع قنـد تشـکیل‌دهنده الیگوسـاکارید وهمچنیـن محـل اتصـال و ماهیـت زنجیـره‌ای کـه بـه آن متصـل شـده اسـت، انـواع مختلفـی ازکربوهیدرات‌هـای پیچیـده پدیـد می‌آینـد.
تمامـی ایـن مـوارد، در شـبکه آندوپلاسـمی و دسـتگاه گلـژی سـلول‌های رتیکولوسـیت[5] انجـام می‌شـود.
درنهایـت، درافـرادی بـا گـروه خونـیA و B، بـه ترتیب آنتی‌ژن‌هـایA و B، و در گـروه خونـیO ، آنتـی‌ژن H دارای بیشـترین مقـدار اسـت (۴).



شـکل ۱: نمایـش سـه بعـدی پنتاسـاکاریدهای گـروه خونـی A. آنتی‌ژن‌هـای گروه‌هـای خونـی A وB توسـط آنزیم‌هـای ان-اسـتیل گالاکتوزآمینیـل ترنسـفراز[6] و گالاکتوزآمینیـل ترنسـفراز[7] سـنتز می‌شـوند کـه اتصـال قندهـای ان-اسـتیل گالاکتوزآمیـن (GalNAc) و گالاکتـوز (Gal) را بـه گـروه هیدروکسـیل کربـن شـماره سـوم زنجیـره تسـهیل می‌کنـد (۴).

۲ سیستم گروه خونی Rh

آنتی‌ژن‌هـای سیسـتم خونـیRh ، از جنـس پروتئیـن هسـتند. ژن تولیـد ایـن نـوع از آنتـی‌ژن در DNA، تحـت عنـوان ژن *rhd* وجـود دارد کـه پروتئیـن حاصل از ترجمـه آن را آنتـی ژن D می‌نامنـد. در صـورت وجـود ایـن پروتئیـن بـر روی غشـای گلبـول قرمـز، گـروه خونـی فـرد در تشـخیص‌های پزشـکی مثبـت شـده و کمبـود ایـن پروتئیـن، گـروه خونـی را منفـی خواهـد کـرد (۱).
در نتیجـه، گروه‌هـای خونـی رایـج، ترکیبـی از سیسـتم‌های گـروه خونـی ABO وRh هسـتند؛ امـا گروه‌هـای خونـی ناشـناخته و کمیـاب نیـز بـر اسـاس ایـن سیسـتم‌های طبقه‌بنـدی وجـود دارنـد (۲).

	گروه A	گروه B	گروه AB	گروه O
نوع گلبول قرمز خونی	A	B	AB	O
آنتی بادی پلاسما خون	آنتی بادی B	آنتی بادی A	فاقد آنتی بادی	آنتی بادی A و B
آنتی ژن موجود در گلبول قرمز	آنتی ژن A	آنتی ژن B	آنتی ژن A و B	فاقد آنتی ژن

شکل ۲: جدول خلاصه گروه‌های خونی در سیستمABO (۵).

■ گروه خونی Rhnull (گروه خونی طلایی)
زمانـی کـه فـرد، آنتـی‌ژن حاصـل از بیـان ژن[8] *rhd* را بـر روی گلبـول قرمـز خـود نداشـته باشـد، دارای گروه خونـی Rhnull خواهـد بـود. ایـن گـروه خونـی، تـا کنـون، کمیاب‌تریـن گـروه خونـی شـناخته اسـت و از ایـن رو، آن را گـروه خونـی طلایـی می‌نامنـد. تفـاوت آن بـا گـروه خونـی Rh منفـی، ایـن اسـت کـه فـرد دارای گـروه خونـی منفـی، دارای پروتئیـن D در بـدن خـود اسـت امـا مقـدار ایـن پروتئیـن بسـیار کـم بـوده و در مقایسـه بـا فـرد دارای گـروه خونـی مثبـت، ناچیز بـه شـمار مـی‌رود؛ ایـن در حالـی اسـت کـه در بـدن فـردRhnull ، پروتئیـن D تولیـد نمی‌شـود (۶).
هنـگام دریافـت خـون از فـردی دیگـر، ایـن قاعـده بایـد رعایـت شـود: آنتی‌ژن‌هـای فـرد اهداکننـده خـون بایـد از فـرد دریافت‌کننـده کمتـر بـوده یـا مسـاوی آن باشـد. درنتیجـه، تمامـی افـراد می‌تواننـد از فـردی بـا گـروه خونـی طلایـی، خـون دریافـت کننـد؛ امـا تنهـا افـراد Rhnull می‌تواننـد بـه آن‌هـا خـون اهـدا کننـد (۶,۷).
آمـار نشـان می‌دهـد کـه از هـر ۶ میلیـون نفـر در جهـان، ۱ نفـر دارای ایـن نـوع گـروه خونـی اسـت. تـا سـال ۲۰۱۸، تعـداد ۴۳ فـرد بـا ایـن گـروه خونـی شناسـایی شـده‌اند کـه تنهـا یـک نفـر از آن‌هـا ایرانـی اسـت (۸).

■ گروه خونی Hh (گروه خونی مومبای یا بمبئی)
درک ایـن نـوع از گـروه خونـی، نیازمنـد توضیحـات بیشـتری در مـورد آنتـی‌ژن H اسـت.
آنتـی‌ژن H توسـط یـک آنزیـم بـه نـام فوکوسـیل ترنسـفراز[9] تولیـد می‌شـود کـه مرحلـه نهایـی سـنتز ایـن مولکـول را تسـریع می‌بخشـد.
از طرفـی دیگـر، دو ناحیـه از ژنـوم، دو آنزیـم را کـد می‌کننـد کـه پیش‌ماده‌هـای ایـن دو آنزیـم، ویژگی‌هـای مشـابهی بـا آنزیـم فوکوسـیل ترنسـفراز دارنـد. هـر دو ژن در کروموزوم شـماره ۱۹ وجـود دارنـد:

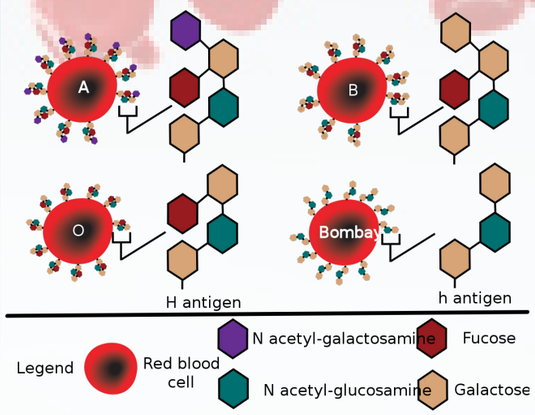
۱ Antigen
۲ Glycolipid
۳ Glycoprotein
۴ Oligosaccharide
۵ Reticulocyte: گلبول قرمز نابالغ
۶ N-acetylgalatosaminyltransferase
۷ Galactosaminyltransferase
۸ Gene expression
۹ Fucosyl transferase

- جایگاه *fut1* که فوکوسیل ترانسفراز را کد می‌کند.
- جایگاه *fut2* که به طور غیرمستقیم، شکل محلول آنتی‌ژن H را که در ترشحات بدن یافت می‌شود، کد می‌کند.

فنوتیپ گروه خونی بمبئی، نتیجه جهش‌های نقطه‌ای در ژن *fut1* است. حداقل یک کپی از *fut1* لازم است تا فرد دارای ژنوتیپ H/H یا H/h شود و آنتی‌ژن H روی گلبول‌های قرمز تولید شود. اگر هر دو نسخه از *fut1* غیرفعال باشند، ژنوتیپ h/h بوده و فنوتیپ بمبئی به دست می‌آید (۹). مشابه با افراد Rhnull، این افراد نیز می‌توانند به همه خون اهدا کنند ولی تنها از گروه خونی مشابه خون دریافت می‌کنند.

چنان‌چه گروه خونی متفاوتی به این افراد تزریق شود، بدن واکنش ایمنی بسیار شدیدی نشان می‌دهد که ناشی از واکنش به آنتی‌ژن‌هایی است که تا کنون در خون این افراد وجود نداشته است.

شیوع این گروه خونی، ۴ در میلیون است و در ایران ۴۰ فرد با این گروه شناسایی شده‌اند (۹).



شکل ۳: ساختار مولکولی سیستم آنتی‌ژنی ABO(H) (۹).

۳ سیستم خونی Er:

سیستم خونی Er، جدیدترین سیستم کشف شده است. تحقیقی که در پاییز سال ۲۰۲۲ در دانشگاه بریستول[۱۰] بریتانیا انجام شد، منجر به دستیابی به این سیستم خونی شد که ماهیت آن، بیش از مدت سی سال، برای دانشمندان مجهول مانده بود (۱۰).

آنتی‌ژن Er، اولین بار در سال ۱۹۸۲ شناسایی شد. اما جرقه کشف این سیستم خونی مرتبط با آن، از یک نوزاد متولد نشده نشات گرفت. پزشکان معالج متوجه مشکلی در رابطه مادر با جنین شده بودند، اما ماهیت آن مشکل نامعلوم بود.

در نتیجه، طی عمل سزارین اورژانسی، جنین را از بدن مادر خارج کرده و در دستگاه قرار دادند.

حتی با وجود این و پس از تزریق خون، نوزاد دچار خونریزی مغزی شد و جان خود را از دست داد. دلیل خونریزی مشخص نشد؛ اما پس از بررسی خون مادر، تعدادی آنتی‌بادی بیگانه مشاهده شد که شک پزشکان را برانگیخت ودرنهایت، نمونه خونی برای مطالعه بیشتر، به دانشگاه بریستول فرستاده شد (۱۱).

در اولین مرحله این مطالعه، نمونه‌های خونی از افرادی با آلوآنتی‌بادی[۱۱] در برابر مجموعه‌ای از آنتی‌ژن‌ها، به نام Er گرفته شد.

سپس، نمونه‌ها با استفاده از تکنیکی که امکان تجزیه و تحلیل تمام توالی‌های DNA کد کننده ژن آن‌ها را فراهم می‌کرد، مورد بررسی قرار گرفتند. پس از مقایسه توالی‌های ژنی این افراد، جهش خاصی در ژن کد کننده پروتئینی به نام Piezo۱ ، یک پروتئین مشهور در مطالعات زیستی، شناسایی شد.

این جهش، منجر به تولید یک پروتئین تغییریافته در سطح سلولی این افراد می‌شود. با توجه به این تفاوت‌های ژنتیکی، تعداد کمی از افراد دارای آمینواسیدهای متفاوت و تغییریافته در پروتئین Piezo۱ خود هستند. در نتیجه، گلبول قرمز با پروتئین Piezo۱ رایج که در بدن عموم افراد یافت می‌شود، برای سیستم ایمنی بدن آن‌ها بیگانه به نظر می‌رسد (۱۰, ۱۱)

در مرحله دوم از پژوهش، تیم تحقیقاتی، واکنش آنتی بادی‌ها را در محیط کشت حاوی نسخه‌های

[۱۰] University of Bristol

[۱۱] Alloantibody: آنتی‌بادی‌هایی که دستگاه ایمنی پس از قرار گرفتن در معرض آنتی‌ژن‌های ناشناخته از گلبول قرمز، تولید می‌کند (۱۰).

جهش‌یافته از Piezo۱ بررسی کردند. این عمل، صرفا برای تایید این مورد بود که تنوع در ساختار پروتئین، عامل ناسازگاری در این افراد است (۱۱).

در کل ، پنج آنتی ژن Er وجود دارد: Er^a, Er^b, Er^3, Er^4, Er^5 که دوتا از آنها، Er۴ و Er۵، توسط تیم تحقیقاتی دانشگاه بریستول کشف شد. وجود این آنتی ژن ها پنج تغییر احتمالی پروتئین Piezo۱ در سطح گلبول‌های قرمز خون را مطرح می‌کند (۱۱, ۱۲).

پروفسور Ash Toye، استاد زیست‌شناسی مولکولی دانشگاه بریستول و یکی از پژوهشگران سازمان ملی سلامت بریتانیا در مورد این تحقیق میگوید: « این کار نشان می دهد که حتی پس از تمام تحقیقات انجام شده تا به امروز، گلبول قرمز ساده هنوز هم می‌تواند ما را شگفت‌زده کند.

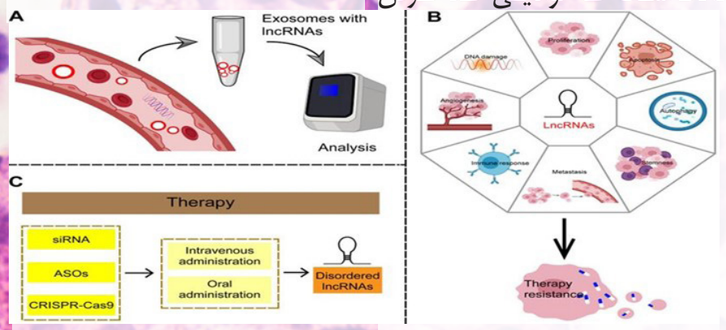
پروتئین‌های Piezo ، پروتئین‌های حسی مکانیکی هستند که توسط گلبول قرمز برای حس کردن فشار بر روی این سلول استفاده می‌شود. این پروتئین تنها در چند صد نسخه در غشای هر سلول وجود دارد. این مطالعه تاثیر فوق العاده پروتئین ها را در پزشکی نشان می‌دهد.»

همچنین، دکتر Tim Satchwell، یکی از نویسندگان اصلی این مطالعه در دانشگاه بریستول، به حضور دانش بیوتکنولوژی در این کشف جدید اشاره می‌کند و می‌گوید: «این مطالعه، نمونه خوبی از ترکیب فناوری‌های جدید با رویکردهای سنتی‌تر است، برای پاسخگویی به سوالاتی که برای مدتی طولانی پاسخ به آن‌ها غیرممکن تلقی می‌شد.» (۲).

درمان سرطان ریه با کمک بخش پنهان ژنوم انسان

ماندانا رشیدی
دانشجو دکتری عمومی رشته پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

تا سال ۲۰۲۰، نزدیک به ۲ میلیون نفر قربانی سرطان ریه شده اند. انواع مختلفی از سرطان ریه وجود دارد. سیگار عامل خطر اصلی سرطان ریه است (۲).
در میان انواع مختلف سرطان، Non-small cell lung cancer (NSCLC) جان بیشتر بیماران را گرفته و یا تا حد زیادی غیرقابل درمان باقی می‌ماند (۱). NSCLCبیماری است که در آن سلول‌های بدخیم (سرطانی) در بافت‌های ریه تشکیل می‌شوند (۲).
متأسفانه، حتی درمان‌های تازه فقط می‌توانند عمر بیماران را تا چند ماه افزایش دهند و تنها تعداد کمی به مدت طولانی زنده می‌مانند.امروزه، علم به دنبال کشف درمان‌های جدیدی برای مقابله با سرطان است. پژوهشگران دانشگاه برن و بیمارستان اینسل در مطالعه‌ای جدید، اهداف جدیدی را برای تولید داروهای سرطان تعیین کرده‌اند (۱).
برای اهداف جدید در درمان سرطان، دانشمندان دسته‌ای از ژن‌ها، که کمتر شناخته شده هستند و lncRNAs[1] نامیده می‌شوند، بررسی کردند. LncRNAها به وفور در «ماده تاریک» ژنوم انسان یافت می‌شوند. ماده تاریک، بخشی از DNA است که توانایی کد کردن پروتئین (که اکثریت ژنوم ما را تشکیل می‌دهد) را ندارد و می‌توان گفت که عملکردی برخلاف mRNA دارد. ژنوم انسان حاوی حدود ۲۰۰۰۰ ژن کدکننده پروتئین است ولی تنها حدود ۱ درصد از DNA از ژن‌های کدکننده پروتئین تشکیل شده است.
۹۹ درصد دیگر نمی‌توانند پروتئینی را کدگذاری کنند. از طرفی دیگر، تعداد LncRNA ها از تعداد ژن‌های کدکننده پروتئین بیشتر است (۳،۱).
عملکرد بیولوژیکی ۹۹٪ از lncRNA ها ناشناخته است اما میتوان گفت که lncRNAها نقش های متنوعی در تنظیم فرآیندهای رونویسی[2] ژن، پس از رونویسی، ترجمه و اصلاح اپی‌ژنتیک ایفا می‌کنند. بیان نابجا یا اختلال عملکرد lncRNA ارتباط نزدیکی با بیماری‌های مختلف دارد. lncRNAها می‌توانند تکثیر سلولی، آپوپتوز[3]، مهاجرت و تهاجم را در طول دوره گسترش سرطان تنظیم کنند. مطالعات اخیر نشان داده است که lncRNA ها ممکن است در بازسازی و متاستاز[4] تومورها نیز نقش داشته باشند (۴).



A کاربرد بالینی lncRNA ها در سرطان معده
شکل lncRNA-Bها در اگزوزوم‌ها فراوان هستند و می‌توان آن‌ها را

۱ Long non-coding RNA
۲ Transcription
۳ Apoptosis
۴ Metastasis

در نمونه‌های پلاسمایی شناسایی کرد و به عنوان نشانگرهای زیستی غیرتهاجمی برای سرطان معده در نظر گرفت.
شکل lncRNA-Cها می‌توانند در شبکه تنظیمی پیچیده مقاومت درمانی به روش های مختلفی درگیر شوند، از جمله تأثیر بر تقویت یا بیان بیش از حد انکوژن‌ها، سرکوب ژن‌های سرکوبگر تومور، آپوپتوز، اتوفاژی، رگ زایی و...

برای مطالعه نقش lncRNA ها درNSCLC، باید به دنبال RNAهایی بود که بر روی این بیماری تاثیر دارد. تحلیل و بررسی این موضوع، منجر به تهیه فهرستی از حدود ۸۰۰ lncRNA شد که محققان در صدد بررسی اهمیت آنها را بر روی سلول‌های NSCLC بودند.
برای انجام این تحقیق، یک سیستم غربالگری ایجاد شد که از تولید lncRNAها با حذف بخشی از دستورالعمل ساخت آن‌ها در DNA جلوگیری می‌کند. محققان سیستم غربالگری خود را روی دو رده سلولی NSCLC مشتق شده از بیماران اعمال کرده و چگونگی تأثیر مهارlncRNA های انتخابی را مشاهده کردند و در نهایت، آن را نشانه سلول‌های سرطانی[5] نامیدند.
نشانه‌های سلول سرطانی، رفتارهای سلولی هستند که به پیشرفت بیماری کمک می‌کنند؛ از جمله آن‌ها می‌توان به تکثیر،متاستاز و مقاومت درمانی اشاره نمود.
در نهایت، فهرستی از ۸۰ lncRNA به دست امده است که تاثیرگذارترین موارد بر سلولهای NSCLC هستند. از بین این ۸۰ ژن، محققان چندین lncRNA را برای آزمایش‌های بعدی انتخاب کردند (۱).
برای آزمایش‌های بعدی، محققان از رویکردی استفاده کردند که در سطح DNA کار نمی‌کند. در عوض، این روش lncRNA ها را پس از تولید، مورد هدف قرار می‌گیرد. برای این منظور، محققان از RNA های کوچک سنتزشده به طور شیمیایی به نام الیگونوکلئوتیدهای آنتی‌سنس (ASO)[6]استفاده کردند که به lncRNA هایی که هدف قرار می دهند متصل شده و منجر به تخریب آن‌ها می‌شوند.
الیگونوکلئوتیدهای آنتی سنس ممکن است برای جلوگیری از تولید پروتئین های مورد نیاز برای رشد سلول استفاده شوند. شایان ذکر است، چندین ASO برای درمان بیماری‌های انسانی تایید شده‌اند، اگرچه هنوز هیچ کدام برای درمان سرطان استفاده نشده‌اند (۱).

این آزمایش‌ها نشان داد که برای اکثر lncRNA های انتخاب‌شده، تخریب شدن توسط یک ASO از تقسیم سلولی سرطانی در کشت سلولی جلوگیری می‌کند. نکته مهم این است که همین درمان، تأثیر کمی بر سلول‌های غیرسرطانی ریه که نباید با درمان سرطان آسیب ببینند، داشت. در یک مدل سه بعدی NSCLC، مهار یک lncRNA منفرد با یک ASO، رشد تومور را به بیش از نصف کاهش داد (۱).
با توجه به نقش محوری lncRNAها در سرطان، درمان های مبتنی بر lncRNA ممکن است رویکردهای امیدوارکننده ای را در درمان سرطان نشان دهند (۴).
محققان در حال ادامه تحقیقات خود در مدل های بالینی سرطان و بررسی همکاری با شرکت‌های موجود به منظور توسعه دارویی برای درمان بیماران هستند.
در مورد بررسی این روش روی سرطان‌های دیگر، پژوهشگران به دنبال راه‌هایی برای انطباق این نوآوری بر روی سایر سرطان‌ها بودند تا بتوانند پتانسیل استفاده از آن را بالاتر ببرند (۱).

۵ Hallmark
۶ Allele-specific oligonucleotide

کشف چشم‌گیر در مورد توانایی مغز بزرگسالان در بازیابی بینایی

شادی روشن نفس
دانشجوی دکتری عمومی رشته پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم

یافته‌هایی تازه در رابطه با توانایی‌های مغز یافت شده که نشان می‌دهد مغز بیماران بزرگسال توانایی بهبود بخشی از نابینایی ارثی را دارد. این یافته حاصل همکاری پژوهشگران دانشگاه کالیفرنیا است. این نتایج، حاصل پژوهش در رابطه با بیماری آموروز لبر (LCA) بود که از زمان جنینی ایجاد می‌شود.

این اصطلاح به گروهی از بیماری‌های ارثی شبکیه اشاره دارد که با اختلال شدید بینایی در بدو تولد مشخص می‌شوند. عامل این بیماری جهش در تعدادی ژنوم است که منجر به اختلال در گیرنده های شبکیه می شود (۱).

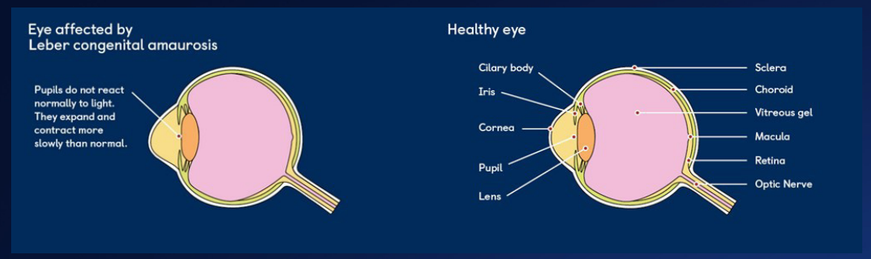
چشم انسان از خارج شامل سه لایه اصلی صلبیه، مشیمیه و شبکیه است که هر لایه وظیفه‌ای دارد. شبکیه داخلی‌ترین بخش چشم است که محل قرارگیری گیرنده‌های نوری است؛ این گیرنده های انواع مختلفی دارند و وظیفه آن‌ها، تبدیل نور به پیام عصبی از طریق مکانیسم‌های خاص است.

این پیام عصبی به وسیله عصب بینایی[۲] از طریق دو راه شکمی و پشتی وارد مغز می شوند و پس از پردازش این پیام‌ها در مغز، فرایند دیدن حاصل می شود (۲).

آموروز لبر زمینه‌ای می‌تواند باعث از دست دادن کامل یا درصدی بینایی به طور ناگهانی و بدون درد در یک یا هر دو چشم شود. علائم معمولا در سال‌های نوجوانی یا بیست سالگی شروع می‌شود؛ اما به ندرت ممکن است که علائم در اوایل کودکی شروع شود. این بیماری، نسبت به سایر بیماری های شبکیه سریع‌تر پیشرفت می‌کند. نقص در تعدادی از ژن‌ها باعث آموروز لبر زمینه‌ای می‌شود. این نقص بر نحوه عملکرد سلول‌های گیرنده نوری در پشت چشم تأثیر می‌گذارد (۳).

اشکال مختلفی از LCA وجود دارد؛ بسته به این که کدام ژن خاص نقص ژنتیکی دارد. برخی از انواع این بیماری پایدار می‌مانند، در حالی که برخی دیگر با گذشت زمان وخیم‌تر شده و منجر به انحطاط بینایی می‌شوند (۳).

۱ Leber congenital amaurosis
۲ Optic nerve



شکل ۱- در شکل تفاوت دو چشم نرمال و چشم مبتلا به LCA نشان داده شده است که در چشم فرد مبتلا به LCA مردمک در پاسخ به نور به درستی گشاد نشده و کندتر از حالت معمول واکنش نشان می دهد (۳).

در حال حاضر درمان قطعی برای بیماری LCA وجود ندارد ولی تجویز ترکیبات شیمیایی به نام رتینوئید[۳] های مصنوعی که شبکیه را هدف قرار می دهند، می تواند تا حدود زیادی از بینایی این بیماران را بازیابی کند (۱).

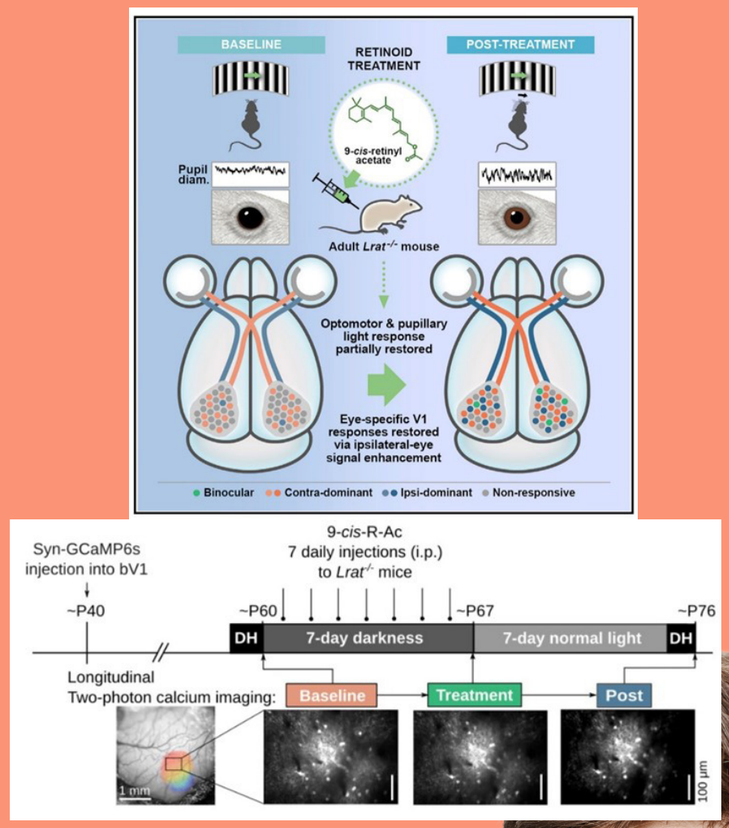
رتینوئیدها مشابه رتینوئیک اسید هستند؛ رتینوئیک اسید متابولیت فعالی از ویتامین A است که نقش مهمی را در بینایی ایفا می کند و مسئول رشد و تکثیر سلول‌های بینایی و ایجاد پیام عصبی بینایی است. علی‌رغم ظهور استراتژی‌های سلولی و مولکولی متعدد برای بازگرداندن بینایی در اختلالات شبکیه، هنوز مشخص نیست که مدارهای بینایی مرکزی تا چه حد می‌توانند هنگام اصلاح نقص شبکیه در بزرگسالی بهبود یابند (۵).

پژوهشگران برای پاسخ به این سوال، به بررسی مدل موش Lrat[۴] پرداختند که در آن، حساسیت به نور شبکیه و پاسخ‌های اپتوموتور تا حدی با تجویز ۹-سیس-رتینیل استات (دارویی که برای درمان بیماری آموروز لبر زمینه‌ای به کار می رود) در بزرگسالی بازیابی می‌شوند. پژوهشگران در این پژوهش، آزمایش را روی موش‌هایی که مبتلا به LCA بودند انجام دادند و برای آن‌ها ۹-سیس-رتینیل استات را به مدت ۷ روز تجویز کردند (۵،۱).

پس از درمان و انجام تصویربرداری، نتایج، افزایش در تعداد و دامنه پاسخ نورون‌های بینایی پاسخگو در قشر بینایی اولیه (V1[۵]) را نشان داد. قشر بینایی اولیه، در لوب پس سری مغز قرار دارد.

توانایی دستگاه بینایی برای کشف شکل اشیاء، درخشندگی قسمت‌های انفرادی آنها، سایه روشن و... بستگی به عمل قشر بینایی اولیه دارد. به طور خاص، درمان با رتینوئید پاسخ‌ها را از چشم همان طرف از مغز افزایش داد و تعادل طبیعی پاسخ‌های خاص چشم را در V1 بازیابی کرد (۸،۵).

۳ Retinoids
۴ لسیتین-رتینول آسیل ترانسفراز (LRAT)، آنزیمی که عمدتاً در سلول های اپیتلیال رنگدانه شده شبکیه و کبد وجود دارد، تمام ترانس رتینول را به استرهای ترانس رتینیل تبدیل می کند. پژوهشگران بیان ژن Lrat موش را با نوترکیبی هدفمند مختل کرده و یک موش هموزیگوت (Lrat-/-) تولید کردند (۷).
۵ قشر بینایی اولیه، این قسمت در لوب پس سری مغز قرار دارد. توانایی دستگاه بینایی برای کشف شکل اشیاء، درخشندگی قسمت‌های انفرادی آنها، سایه روشن و... بستگی به عمل قشر بینایی اولیه دارد (۸).



شکل۲- خلاصه‌ای از آزمایش انجام شده در این مطالعه و نتیجه آن (۶).

طبق نتیجه پژوهشگران، بلافاصله پس از درمان، سیگنال‌هایی که از چشم طرف مقابل، که مسیر غالب در موش است، می‌آید، دو برابر نورون‌های بیشتری را در مغز فعال می‌کند.
نکته جالب‌تر این بود که پس از درمان، سیگنال‌هایی که از مسیر چشمی یک طرفه می‌آمدند، پنج برابر نورون‌های بیشتری را در مغز فعال می¬کردند و این اثر بسیار چشمگیر بود.
این واقعیت که این درمان در مسیر بینایی مرکزی در بزرگسالی بسیار خوب عمل می کند، از یک مفهوم جدید پشتیبانی می کند و آن این است که پتانسیل پنهانی برای بینایی وجود دارد که فقط در انتظار شروع شدن است.
این یافته فرصت های تحقیقاتی هیجان انگیزی را فراهم می آورد. این الگوی جدید می‌تواند به توسعه درمان‌های رتینوئید برای نجات کامل‌تر مسیر بینایی مرکزی بزرگسالان مبتلا به این بیماری کمک کند (۱).

راه‌های ارتباطی:
DNAmagazine
Biotech.au
DNAmagazine98@gmail.com

NAT·
MDCCC
XXXIII
OB·
MDCCC
XCVI
ALFR·
NOBEL