

مقاله آموزشی

پروژه ژنوم انسان و تأثیر آن بر پزشکی

محمد مهدی یعقوبی

گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه تربیت مدرس

چکیده

پروژه ژنوم انسان با هدف تعیین توالی کل ژنوم انسان در سال ۱۹۹۰ در دپارتمان انرژی و مؤسسه ملی بهداشت ایالات متحده شروع و با همکاری سایر کشورها در مدت کوتاهی تبدیل به یک پروژه جهانی شد. نتایج اولیه این پروژه در اوایل سال ۲۰۰۱ منتشر شد و در دسترس همگان قرار گرفت. اطلاعات این پروژه در آوریل ۲۰۰۳ تکمیل شد و هم‌اکنون می‌توان با مراجعه به پایگاه‌های حاوی این داده‌ها روی شبکه جهانی اینترنت به صورت رایگان به آنها دست یافت. پروژه ژنوم در سطوح مختلفی بر علم پزشکی تأثیر گذاشته است که مهمترین آنها موارد زیر است: ۱- شناسایی ژنهای مؤثر بر بروز بیماری‌های مختلف اعم از بیماری‌های تک ژنی یا چند ژنی؛ ۲- تشخیص دقیق و انگشت‌نگاری مولکولی بیماری‌های همچون سرطان، پیش‌بینی آینده بیمار از طریق پروفایل بیان ژن و درمان هدفدار با توجه به این پروفایل ژنی؛ ۳- آغاز دوره فارماکوژنتیک و طراحی اختصاصی دارو بر اساس اهداف مولکولی جدید به کمک اطلاعات موجود در ژنها و با حداقل عوارض جانبی؛ ۴- بررسی همزمان بیان هزاران ژن و تعیین ژنوتیپ و توالی با استفاده از فناوری ریزآرایه (Microarray) در بیماری‌های نظیر بیماری قلب، ریه و سرطان؛ ۵- ژن درمانی بیماری‌های مختلف تک ژنی اعم از بارز یا نهفته و بیماری‌های چند عاملی مثل سرطان؛ ۶- کشف عوامل مولکولی دخیل در تکوین انسان در دوران جنینی و امکان ترمیم بافت یا اندام آسیب‌دیده با دستکاری ژنی و هدایت فرایند تمایز به سمت مورد دلخواه.

مقدمه و تاریخچه

برگزار شده بود، مطرح شد. مجریان و هزینه اولیه این پروژه به ایالات متحده محدود می‌شد، اما به تدریج کشورهای دیگری نیز به آن پیوستند به طوری که به غیر از مؤسسات خصوصی حدود بیست دولت از آن حمایت مالی کردند. در اینجا مختصراً از تاریخچه این پروژه و اتفاقات جنبی آن ذکر می‌شود (۱):

اوایل سال ۱۹۸۷: آقای Walter Gilbert از مرکز تحقیقات ملی^۱ استعفا کرد و با هدف تعیین توالی ژنوم انسان و کسب حقوق احصاری و درآمد حاصل از فروش اطلاعات آن شرکت Corp Genome را تأسیس کرد.

سپتامبر ۱۹۸۸: مؤسسه ملی بهداشت^۲ (NIH) اداره ژنوم انسان را

از نگاه دانشمندان و اهل اندیشه و پژوهش، علم و دانش و محصول آن که همان فناوری است میراث مشترک بشر بوده و بدون هیچ گونه محدودیتی متعلق به همه انسانها است. از این رو نتایج تحقیقات علمی نباید در اختیار گروهی خاص قرار گیرد، به ویژه اگر این تحقیقات درباره خود انسان و رموز حیات و تکوین او باشد. پروژه ژنوم انسان^۱ که از آن به عنوان بزرگترین انقلاب علمی در حوزه علوم زیست‌شناسی و پزشکی یاد می‌شود، چنان تحول عظیمی در این علوم ایجاد کرده است که گفته می‌شود نظیر آنرا در جای دیگری نمی‌توان یافت. امروزه می‌توان تنها با فشار دادن چند کلید روی صفحه کلید رایانه و بدون هیچ گونه هزینه‌ای، به اطلاعات ژنوم انسان (در کنار اطلاعات ژنوم سایر موجودات) دست یافت. هدف پروژه ژنوم انسان تعیین توالی کل ژنوم انسان بود که تفکر آن ابتدا در سال ۱۹۸۵ در جلسه‌ای که در دانشگاه سانتا کروز کالیفرنیا،

ژنوم را تا سال ۲۰۰۱ آماده و نسخه نهایی را در فاصله سال ۲۰۰۳-۲۰۰۵ منتشر کنند.

دسامبر ۱۹۹۹ : توالی کروموزوم ۲۲ به عنوان اولین توالی کروموزوم انسان توسط پژوهشگران انگلیسی، ژاپنی و آمریکایی بدست آمد. مارس ۲۰۰۰ : همکاری میان شرکت Celera و کنسرسیوم HGP به علت اختلاف نظر بر سر سیاست آزادسازی اطلاعات ژنوم متوقف شد. مه ۲۰۰۰ : توالی دومین کروموزوم انسان (کروموزوم شماره ۲۱) به همت دانشمندان آلمانی و ژاپنی بدست آمد.

ژوئن ۲۰۰۰ : طی مراسمی در کاخ سفید شرکت Celera و کنسرسیوم HGP اعلام کردند که از عداوتها و اختلافات گذشته دست برداشته‌اند و نتایج نسخه اولیه ژنوم را با هم منتشر خواهند کرد.

دسامبر ۲۰۰۰ : قرار بود Celera و HGP نتایج خود را با هم در مجله Science به چاپ برسانند، اما این توافق نیز از هم پاشید و کنسرسیوم HGP مقاله خود را به مجله Nature فرستاد.

فوریه ۲۰۰۱ : مقاله HGP پانزدهم فوریه در مجله Nature و مقاله Celera روز بعد در مجله Science به چاپ رسید. گزارش اولیه ژنوم انسان نتایج جالب و گاه دور از انتظاری داشت که به مواردی از آن اشاره می‌شود. علاقه‌مندان می‌توانند برای اطلاعات بیشتر به منابع فوق و یا پایگاه‌های مربوط روی شبکه جهانی اینترنت مراجعه کنند(۲۹).

- از جمله جالب‌ترین نتایج این پروژه آن بود که تعداد ژنهای انسان خیلی کمتر از آن چیزی است که پیش‌بینی می‌شد. آقای Walter Gilbert حدود بیست سال قبل پیش‌بینی کرده بود که انسان حدود ۱۰۰-۵۰ هزار ژن دارد، در حالی که این پروژه نشان داد تعداد ژنهای انسان حدود ۳۲۰۰۰ است (تعداد ژنهایی که شرکت Celera گزارش کرد تا آن زمان ۲۶۳۸۳ و ژنهایی که HGP گزارش کرد حدود ۲۴۵۰۰). یعنی انسان تنها دو برابر نماتود *C. elegans* ژن دارد و از عدد بود. این تعداد تنها ۳۰۰ ژن منحصر به او است، چرا که بقیه ژنهای را موش از جمله نکات جالب دیگر آن بود که کمتر از ۲٪ از ژنوم پروتئینهای را کدگذاری می‌کند و ۹۸٪ بقیه را توالی‌های تشکیل می‌دهد که نقشی در اطلاعات ندارند و به پروتئین ترجمه نمی‌شوند.

- ۴۰-۴۸٪ از ژنوم را توالی‌های تکراری از قبیل ترتیبهای Alu، ترانس‌پوزونها، LINES و SINES تشکیل می‌دهد. - تراکم ژن در کروموزومهای مختلف با هم یکسان نیست. به عنوان مثال بیشترین تراکم در کروموزوم ۱۹ (۲۳ ژن در هر مگاباژ) و کمترین تراکم ژن در کروموزوم ۱۳ است (۵ ژن در هر مگاباژ).

تأسیس کرد و یک ماه بعد تفاهم‌نامه موافقت و همکاری بین این مؤسسه و دپارتمان انرژی^۴ (DOE) برای پروژه ژنوم انسان به امضا رسید. دپارتمان از آنجا که گرایش تاریخی این دپارتمان مطالعه آثار انرژی هسته‌ای و سایر انواع انرژی روی وراثت و ژنتیک انسان بود، به این پروژه پیوست.

سپتامبر ۱۹۹۹ : کمیته بررسی مسائل و ملاحظات اخلاقی، حقوقی و اجتماعی پروژه ژنوم کار خود را آغاز کرد.

اکتبر ۱۹۹۰ : شروع رسمی این پروژه توسط NIH و دپارتمان انرژی اعلام شد. البته قبل این دو مرکز برنامه‌هایی را برای تعیین توالی ژنوم *C.elegans* موجودات پست‌تر همچون گونه‌هایی از باکتریهای مخم، نماتود و سایر موجودات شروع کرده بودند و ژاپنیها نیز یکسال بعد برنامه تعیین توالی ژنوم برنج را آغاز کردند.

ژوئیه ۱۹۹۱ : پس از استماع گزارش کنگره، زمانی که آقای J. Venter اعلام کرد مؤسسه ملی بهداشت در حال پر کردن هزاران تقاضای به ثبت رساندن^۵ EST ها است، جنجالی بر پا شد.

آوریل ۱۹۹۲ : آقای J. Watson بخاطر اختلاف نظر با ریس مؤسسه ملی بهداشت بر سر به ثبت رساندن ژنهای استغفا کرد.

ژوئیه ۱۹۹۲ : مؤسسه بریتانیایی Welcome Trust با بودجه ۹۵ میلیون دلار به پروژه ژنوم پیوست. دانشمندان فرانسوی و آمریکایی در اکتبر همین سال اولین نقشه‌فیزیکی کروموزومها را کامل کردند. یکسال بعد NIH و DOE برنامه پنج ساله ۱۹۹۸-۱۹۹۳ را منتشر کردند که بر اساس آن می‌باشد توالي ۸۰ Mb از ژنوم تا انتهای برنامه بدست آید و کل توالي ژنوم نیز تا پایان سال ۲۰۰۵ مشخص شود.

سپتامبر ۱۹۹۴ : نقشه کامل پیوستگی^۶ ژنوم انسان با میانگین فاصله ۷/۰ Cm بین مارکرهای، و در اواخر سال بعد نقشه فیزیکی ژنوم با حدود ۱۵۰۰۰ مارکر منتشر شد.

فوریه ۱۹۹۶ : اعضاء کنسرسیوم بین‌المللی ژنوم در جلسه‌ای که به همت مؤسسه Welcome Trust در برمودا برگزار شده بود بر سر آزادسازی اطلاعات ژنوم به فاصله ۲۴ ساعت در بانکهای اطلاعاتی توافق کردند. آقای Venter^۷ ۱۹۹۸ : آقای C. Gilbert که شرکت خصوصی Celera را با بودجه ۳۰۰ میلیون دلار تأسیس کرده است تا ظرف مدت کمتر از سه سال تمام توالي ژنوم را بدست آورد. هدف وی نیز به ثبت رساندن توالي ژنوم و فروش آن بود. در پاسخ به این حرکت، مؤسسه Welcome Trust بودجه خود را به ۳۳۰ میلیون دلار افزایش داد و تعیین توالي یک سوم از ژنوم را به عهده گرفت.

اکتبر ۱۹۹۸ : NIH و DOE تصمیم گرفتند نسخه اولیه اطلاعات

حتی مرگ نیز به نوعی برنامه‌ریزی شده است و توسط ژنها هدایت می‌شود (مرگ برنامه‌ریزی شده سلول^{۱۱} یا آپوپتوز^{۱۲}). شاخه ژنتیک تکوینی با مطالعه چنین ژنهایی به سرعت رشد کرده است که در بخش‌های بعد، به آن اشاره خواهد شد با شناسایی ژنها و رهاسازی انبوه اطلاعات ژنوم، نقش ژنتیک در پزشکی به میزان زیادی افزایش پیدا کرده است. در گذشته پزشکان عمدتاً بر پایه اطلاعات فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی عمل می‌کردند، اما امروزه صرف نظر از اینکه بیماری ژنتیکی باشد یا نباشد، برای مقابله بهتر با آن و درمان مناسب، ناگزیر از دانستن مکانیسم مولکولی ایجاد بیماری هستیم. شناسایی اساس مولکولی بروز بیماری و چگونگی تأثیر عوامل مختلف بر بروز آن به شناسایی ژنها و محصولات آنها بستگی دارد و درک این جزئیات تأثیر عمیقی بر تشخیص، درمان، پیش‌آگهی و پیشگیری دارد. امروزه حتی برای نجات یک بیمار از مرگ که در بخش ICU بستری شده است نیازمند بررسی مکانیسم مولکولی بیماری او هستیم.

در گذشته ما درباره چگونگی پاسخ سلول به محركها و استرسهای محیطی و متابولیکی و مکانیسم برقراری ارتباط بین سلولها چیز زیادی نمی‌دانستیم. مطالعه عمل ژنها فرستاد بررسی فرایندهای درون سلولی که منجر به مرگ در ICU می‌شوند را فراهم کرده است.

مهترین این عوامل شامل: سنترم دیسترس حاد تنفسی^{۱۳}، سپسیس^{۱۴}، شوک عفونی و نارسایی در چند اندام^{۱۵} است. تغییرات مولکولی که در بافتها و اندامهای آسیب دیده رخ می‌دهد و وقایع سلولی که در سطح التهاب اندام، آسیب بافتی و ترمیم نقش دارند همگی در سطح مولکولی کنترل می‌شوند. اهمیت این رویکرد مولکولی تا اندازه‌ای زیاد شده است که PCR^{۱۶} را در مقابل CPR^{۱۷} قرار داده‌اند تا اهمیت موضوع را بررسانند^(۷).

تأثیر دیگر پروژه ژنوم ایجاد یک تاکسونومی جدید برای بیماریهای مادر سطح بالینی نمی‌توانیم ناهنجاریهای پاتولوژیک، بیوشیمیائی و بالینی را که همراه بیماری هستند از آنها بیان که مسؤول بروز بیماری هستند تشخیص دهیم.

- 7- Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
- 8- National Human Genome Research Institute (NHGRI)
- 9- Vector
- 10- Locus
- 11- Programmed Cell Death
- 12- Apoptosis
- 13- Acute Respiratory Distress Syndrome
- 14- Sepsis
- 15- Multiple System Organ Failure
- 16- Polymerase Chain Reaction
- 17- Cardiopulmonary Resuscitation

- بیش از ۱/۴ میلیون چندشکلی تک نوکلئوتیدی^۷ یا SNP در ژنوم انسان شناسایی شده است که عامل اصلی تفاوت افراد و گوناگونی در مواردی نظیر پاسخ به داروها است که در ادامه به آن اشاره خواهد شد. - و نکته آخر اینکه میزان جهش در میوز مردان حدود دو برابر زنان است.

گزارش اولیه ژنوم به تدریج کاملتر و فوایدی که خالی مانده بود پر شد، به طوری که در مراسمی که در تاریخ ۱۴ آوریل ۲۰۰۳ و پنجاه سال پس از کشف ساختمن DNA در دانشگاه سانتاکروز کالیفرنیا، و با حضور بزرگان این پروژه برگزار شد، آقای Francis Collins ریسیس مؤسسه ملی تحقیقات ژنوم انسان^۸ رسماً پایان تعیین توالی ژنوم انسان را اعلام کرد. این توالی بدست آمده بیش از ۹۹٪ از ژنوم را شامل می‌شود. آنچه که باقی مانده است توالی‌هایی نظیر ترتیبهای تکراری سانتوروم است که کلون کردن آنها کار دشواری است و در اغلب حاملها^۹ نیز ناپایدارند. نتیجه این تلاش جهانی آن است که امروزه می‌توان به کمک قدرت فناوری اطلاعات از هر گوشه‌ای از دنیا و بدون پرداخت هزینه به اطلاعات ژنوم دست یافت. حجم اطلاعات حاصل شده به اندازه‌ای زیاد است که بدون آشنایی با مبانی دانش بیوانفورماتیک نمی‌توان به بازیابی و تجزیه و تحلیل این اطلاعات پرداخت. پایگاههای اصلی روی شبکه جهانی اینترنت که اطلاعات ژنوم را ارائه می‌کنند از این قرار است:

- I. <http://genome.ucsc.edu/>
- II. <http://www.ensembl.org/>
- III. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

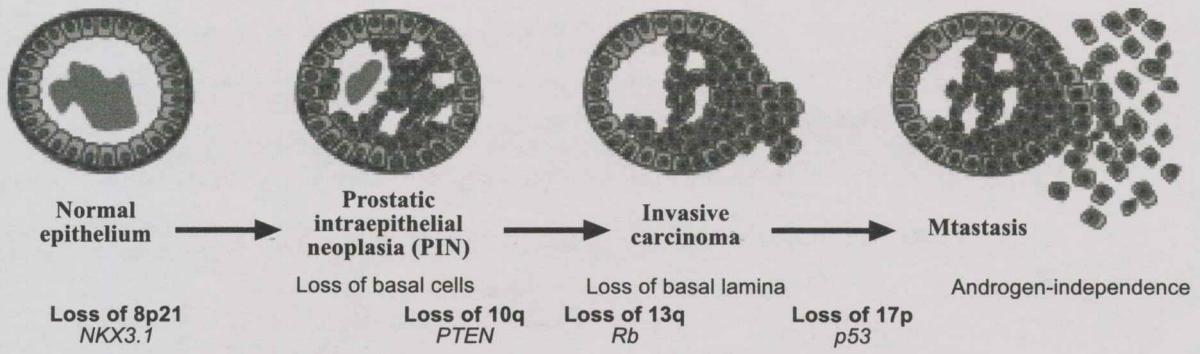
آثار پروژه ژنوم انسان بر علم پزشکی

شناسایی ژنهای انسانی و توالی ژنوم آثار بسیار مهمی بر علم پزشکی برجا گذاشته است که می‌توان آنرا به چند بخش تقسیم کرد:

۱- شناسایی ژنهای بیماری‌زا و ایجاد تحول در معیارهای تشخیصی (۴۷ و ۴۶ و ۴۵)

تقرباً همه صفات و بیماریهای انسان به نوعی پایه ژنتیکی دارند و متأثر از ژنها هستند. ژنتیک دیگر محدود به مطالعه تعدادی بیماریهای نادر تک ژنی یا اختلالات کروموزومی و مادرزادی نیست، اگرچه تعداد چنین بیماریهایی نیز به هزاران مورد می‌رسد و تاکنون بیش از چهارده هزار جایگاه^{۱۰} ژنی در انسان گزارش شده است که بروز جهش در آنها سبب بیماریهای مختلف می‌شود. بیماریهای شایع نظیر دیابت، سرطان و بیماریهای قلبی گرچه با الگوی مندلی به ارث نمی‌رسند، استعداد بروز آنها ژنتیکی است. مهمتر از همه آنکه رشد و تکوین همه موجودات از جمله انسان در دوران جنینی و پس از تولد تحت کنترل و هدایت ژنهاست.

به عنوان مثال بیماری چشمی رتینیت پیگمنتوزا^{۱۸} دارای هر سه نوع توارث اتوزومال مغلوب، اتوزومال غالب و وابسته به جنس است و یا مثلاً دیابت دارای یک شکل خودایمنی مرتبط با HLA است. گاهی یک بیماری بر اثر بروز جهش در ژنهای مختلف بروز می‌کند که تظاهرات بالینی آن مشابه هم است و در مقابل گاهی ژنهای مختلف در یک ژن سبب بروز بیماریهای مختلف یا یک بیماری با شدت‌های متفاوت می‌شود. همانطور که ذکر شد این تحولات به بیماریهای تک ژنی محدود نمی‌شود و دانشمندان به دنبال کشف مکانیسم مولکولی همه بیماریها و اختلالات هستند.



شکل - ۱: مراحل مختلف سرطان پروستات و ژنهایی که در هر مرحله‌چار جهش می‌شوند نشان داده شده است. (۹)

می‌شود. تشخیص سرطان مثانه با روش‌های سیستوکوپی یا سیستولوژی انجام می‌شود که روش‌هایی تهاجمی و پرهزینه هستند. حتی بیمارانی که جراحی شده باشند باید به منظور بررسی عود مجدد تومور هر سال این آزمایشها را انجام بدهند. استفاده از مارکرهای مولکولی این کار را برای بیمار و پزشک بسیار آسان کرده است. به این صورت که با گرفتن نمونه ادرار بیمار (یا فرد مشکوک) بیان ژنهای همچون telomerase .bcl-4 و survivin در سلولهای سرطانی مثانه که به درون ادرار ریخته می‌شوند سنجیده می‌شود. مثال دیگر هموکروماتوز اثری است. دیابت، تغییر در رنگدانه پوست و افزایش پایدار سطح فریتین ممکن است از علائم هموکروماتوز باشد، اما تشخیص دقیق این بیماری در گذشته نیاز به بیوپسی کبد داشت که امروزه با آزمایش ژنتیکی این نیاز مرتفع شده است.

۲ - آغاز دوره فارماکوژنومیک^{۱۹} و شناسایی اهداف جدید دارویی (۱۰و۱۱)

مطالعات نشان می‌دهد که سالانه یکصدهزار نفر به علت عوارض جانبی داروها فوت می‌کنند و میلیونها نفر نیز در معرض خطر این عوارض هستند، به طوری که درمان این افراد بیلیونها دلار در سال هزینه می‌برد.

امروزه متخصصان بالینی برای تعریف و تشخیص بیشتر بیماریها از علائم فنوتیپی استفاده می‌کنند (هر چند دیگر تعبیر بیماری به حساب نمی‌آوریم)، در حالی که این معیارها می‌توانند مکانیسمهای اصلی را مخفی کند و ناهمگونی قابل ملاحظه‌ای را بپوشاند. درین بیماریهای انسانی تنها بیماریهای عفونی یک طبقه‌بندی واقعی دارند. کشف پایه و اساس ژنتیکی بیماریها طبقه‌بندی جدیدی را برای بیماریها ایجاد کرده است که در آن معیارهای تشخیص نسبت به خود بیماری در درجه بالاتری قرار دارند. اطلاعات ژنی به ما کمک کرده است تا اشکال مختلف بیماریها را از هم تفکیک کنیم.

به عنوان مثال مسیرها و مولکولهای متنوعی که در پاتوژن آسم نقش دارند شناسایی شده است. فهم دقیق چگونگی بروز بیماری در سطح مولکولی، به پژوهش در پیش‌آگهی دقیق و انتخاب راه مناسب برای درمان کمک می‌کند.

ثمره دیگر پروژه ژنوم تشخیص آسانتر و دقیقتر بیماریها است. این مسئله در بیماریهایی نظری سرطان اهمیت زیادی پیدا کرده است. امروزه برای بررسی دقیقتر سرطان و داشتن پیش‌آگهی مناسب از بیمار، پروفایل بیان ژن را بررسی می‌کنند. از آنجا که در مراحل مختلف سرطان ژنهای مختلفی وارد می‌شوند و بیان آنها تغییر می‌کنند، می‌توان از تغییر بیان این ژنها به عنوان شاخص پیش‌آگهی استفاده کرد. به عنوان مثال همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است در مراحل مختلف سرطان پروستات ژنهای خاصی بر اثر جهش از دست می‌روند یا غیرفعال می‌شوند. مثلاً یکی از نشانه‌های مراحل پیشرفته این سرطان افزایش بیان ژن bcl-2 است (در شکل آورده نشده است)، که منجر به مقاومت به آپوپتوز می‌شود، لذا افزایش بیان این ژن نشان دهنده پیش‌آگهی خوبی برای بیمار نیست. (۹)

نمونه دیگر تشخیص به کمک مارکرهای ژنی، از سرطان مثانه ذکر

در این سلطان بر اثر جایگای بین کروموزومهای ۹ و ۲۲ ژنهای bcr و abl در کنار هم قرار می‌گیرند و پروتئین دورگه bcr-abl به وجود می‌آید که دارای فعالیت تیروزین کینازی دائمی است و باعث می‌شود که مسیرهای پیامرسانی زیادی فعال و تکثیر سلول از کنترل خارج شود.

این پروتئین که در ۹۵٪ از بیماران دیده می‌شود، برای عمل خود باید به یک مولکول ATP متصل شود و Gleevec درست به همان محلی متصل می‌شود که ATP باید وصل شود، لذا با جلوگیری از اتوفسفریلاسیون bcr-abl عمل آن مختل می‌شود. نکته مهم آن است که این دارو تنها روی فرم جهش‌یافته abl مؤثر است و روی سلولهای سالم اثر سوء ندارد. Gleevec در درمان CML با ۹۰٪ موفقیت بالینی سالم اثر سوء ندارد. FDA در ماه مه ۲۰۰۱ (۲۶) در ماه مه ۲۰۰۱ همراه بود و سازمان غذا و داروی ایالات متحده (GIST) تأیید کرد (۱۲).

۳- ظهور فناوری پرقدرت ریزآرایه

فناوری ریزآرایه که نوعی از آن به نام تجاری Microchip® GeneChip® نیز شناخته می‌شود، در سال ۱۹۹۶ توسط شرکت Affymetrix به صورت تجاری وارد بازار شد. با این روش می‌توان همزمان بیان هزاران ژن را در شرایط مختلف اندازه‌گیری کرد و یا ژنتیپ و توالی هزاران مارکر را در یک آزمایش بدست آورد. در حالت اول برای بررسی پروفایل بیان ژن از cDNA array استفاده می‌شود. به این صورت که cDNA ژنهای مورد نظر را می‌سازند آنرا با واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) تکثیر و همگی را به کمک روبوت روی یک لام چاپ می‌کنند. سپس mRNA نمونه مورد نظر (خون، بافت و ...) را با فلورئسانس نشاندار می‌کنند و روی لام هیریداسیون انجام می‌دهند. هر مولکول mRNA به توالی مکمل خود متصل می‌شود و نتیجه یکسری نقاط با رنگهای مختلف است که تفسیر آن به عهده نرم‌افزارهای مناسب است. با این روش می‌توان بیان هزاران ژن را در شرایطی نظیر سلامت و بیماری، مراحل مختلف تکوین، ترمیم بافت، و مراحل مختلف بیماریهایی همچون سلطان بدست آورد.

20- Halotane

21-6- mercaptopurine

22- Genotype-Based Medicine

23- Individualized Medicine

24- Chronic Myeloid Leukemia (CML)

25- Platelet Derived Groth Factor

26 - Food and drug administration

27 - Gastrointestinal Stromal Tumour

28 - Microarray

تفاوت‌های ژنتیکی افراد که به عنوان چندشکلی تک نوکلئوتید یا SNP شناخته می‌شود، عامل اصلی تفاوت در پاسخ بدن به دارو است. یک دارو ممکن است در بدن افراد مختلف به میزان متفاوتی متابولیزه شود و گاه نه تنها اثر مفیدی ندارد بلکه عوارض کشنده‌ای در پی دارد. در اینجا چند نمونه از این چند شکلی ذکر می‌شود:

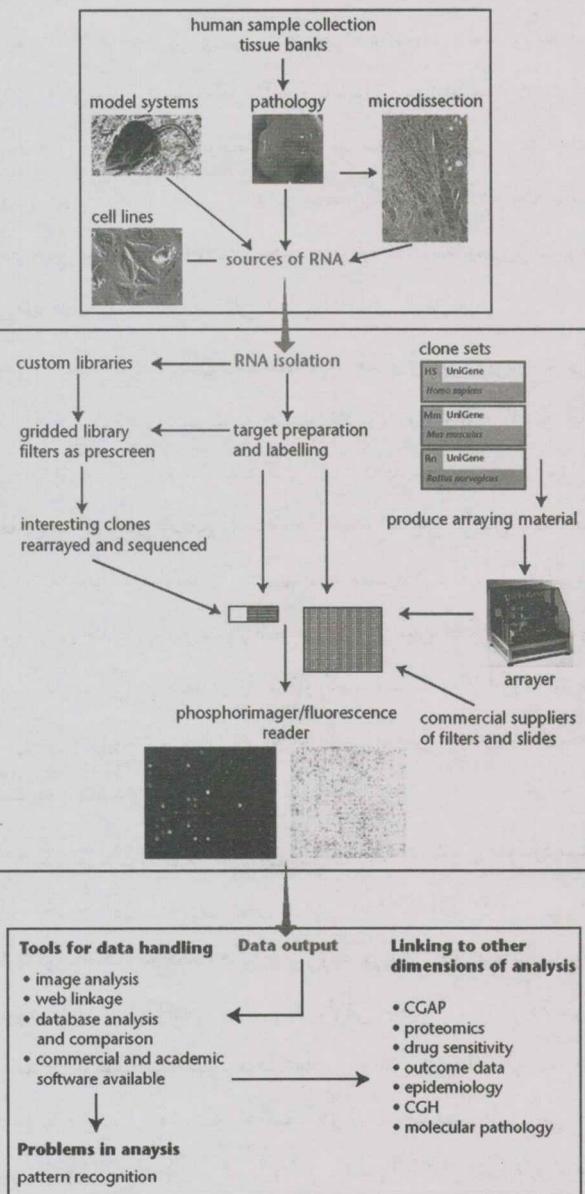
- نمونه معروف این قبیل عوارض، هیپرترمی بدخیم ناشی از استفاده از داروی بیهوشی هالوتان^{۲۰} است که سبب اسپاسم شدید عضلانی و در موارد شدید باعث مرگ می‌شود.

- از دیگر نمونه‌های SNP که سبب تفاوت افراد در پاسخ به دارو یا استعداد بروز بیماری می‌شود می‌توان به افزایش استعداد بروز بیماری آلزایمر ناشی از یک جفت باز اختلاف در ژن ApoE و یا مقاومت به ویروس HIV بر اثر یک حذف ساده در ژن ccr5 اشاره کرد.

- داروی ۶ - مرکاپتوپورین^{۲۱} برای درمان لوسمی کودکان به کار می‌رود، اما برخی کودکان بر اثر مصرف این دارو فوت می‌کنند چون قادر آنزیم thiopurine methyl transferase که برای متابولیزه کردن دارو لازم است.

- برخی افراد مبتلا به سل که داروی ایزونیازید مصرف می‌کنند چهار عوارض جانبی از قبیل نوروپاتی محیطی، ضعف، خستگی و احساس درد در بازوها، دستان و پاها می‌شوند که ناشی از SNP در ژن N-acethyl transferase است. لذا در بیماران دارای این SNP باید از داروی دیگری استفاده کرد. از آنجا که پاسخ بدن هر فرد در برابر دارو با توجه به ژنهای او تعیین می‌شود، لذا با شناسایی SNP می‌توان برای هر فرد با توجه به زمینه ژنتیکی او داروهای اختصاصی طراحی و تجویز کرد. همچنین چون برخی چندشکلی‌ها امکان عوارض جانبی داروها را افزایش می‌دهند، برای چنین افرادی باید داروهای جایگزین تجویز کرد. به این نحوه درمان، درمان مبتنی بر ژنتیپ^{۲۲} یا درمان انفرادی^{۲۳} می‌گویند. با اتمام پژوهه ژنوم و شروع دوره فارماکوژنومیک طراحی دارو وارد مرحله جدیدی شده است. تاکنون اهداف داروها شامل گیرندهای سطح سلول (۴۵٪)، آنزیمهای (۲۵٪) و هورمونها (حدود ۲۰٪) بودند. اما داروهای جدید بر اساس اطلاعات موجود در ژنهای و پروتئینها، و نه بر اساس روش سنتی آزمایش و خطاب، طراحی می‌شوند.

چنین داروهایی ژنهای یا مسیرهای ژنتیکی خاصی را مهار یا تحریک می‌کنند، و چون کاملاً اختصاصی طراحی شده‌اند عوارض جانبی آنها به حداقل می‌رسد. نمونه معروف چنین داروهایی Gleevac (ST1571) است که بنیاد سوییسی Novartis برای درمان لوسمی مزمن میلویید^{۲۴} (CML) طراحی کرد (البته هدف اولیه از طراحی این دارو گیرنده PDGF^{۲۵} بود).



شکل-۳: در این شکل نمایی از مراحل مختلف تهیه و تفسیر لام ریزآرایه (از جداسازی mRNA تا تفسیر اطلاعات) آورده شده است.^(۲۴)

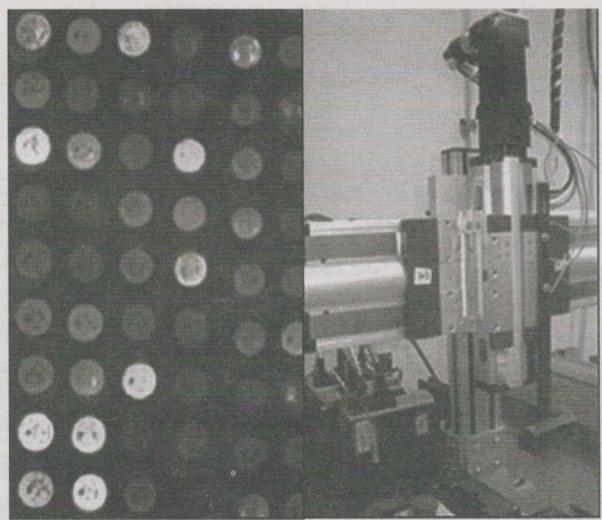
سرطان: لوسومی حاد^{۳۰} یک مثال از موفقیت ریزآرایه در تشخیص است. محققان با بررسی بیان ۶۸۱۷ ژن توانستند لوسومی لنفویید حاد را از لوسومی میلویید حاد^{۳۱} تفکیک کنند.

29- Cystic Fibrosis

30- Acute Leukaemia

31- Acute Lymphoid Leukaemia

32- Acute Myeloid Leukaemia



شکل-۲: سمت راست: دستگاه روبوتوییکی که عمل چاپ کردن قطعات روی لام را انجام می‌دهد. سمت چپ: پس از عمل هیبریداسیون بسته به اینکه توالی‌های مکمل با هم هیبرید شده باشند یا نه، بکسری نقاط رنگی دیده می‌شود که توسط نرم‌افزار تفسیر می‌شوند.^(۲۳)

در حالت دوم یعنی Affymetrix که شرکت Oligonucleotide array به آن نام تجاری GeneChip® داده است، الیگونوکلئوتیدهای ساختگی (که ممکن است به روش فتوولیتوگرافی روی خود لام ساخته شوند) روی لام چاپ و سپس مشابه روش قبل هیبریداسیون انجام می‌شود. این روش در تعیین ژنتیک مارکرهای ژنتیکی در طول ژنوم و یا تعیین توالی و بررسی چهشها بکار می‌رود. به عنوان مثال تاکنون بیش از هزار جهش در ژن cftr شناسایی شده است که باعث بروز بیماری فیبروز سیستیک^{۲۹} می‌شوند. تمام این چهشها را می‌توان به کمک این فناوری در یک آزمایش غربالگری کرد.

کاربردهای فناوری ریزآرایه در پزشکی (۱۵)

با شناسایی ژنهای و درک نقش آنها در بروز بیماریهای مختلف، می‌توان با بررسی ژنهای مستعدکننده بروز بیماری به کمک ریزآرایه، افرادی که در معرض خطر بروز بیماریها هستند را شناسایی کرد. مثلاً تغییر در بیان ژنهای خاصی ممکن است نشان‌دهنده شروع سرطان باشد. چنین افرادی را می‌توان وارد برنامه‌های پیشگیری کرد. همچنین با ریزآرایه می‌توان بیماری را به طور دقیق و به موقع تشخیص داد و برای هر فرد با توجه به پروفایل بیان ژنی او درمان را شروع کرد. در این بخش به منظور ملموستر شدن این کاربردها، چند نمونه از آن ذکر می‌شود:

پایه، با شناسایی ژنهایی که در دوران رشد و نمو نقش دارند و بررسی عملکرد آنها، کم کم به پاسخ سوالات همیشگی که در ذهن بشر وجود داشته است نزدیک می‌شویم. چگونه از یک سلول تخم اولیه موجودی با میلیاردها سلول و انواع بافتها و اندامهای مختلف تشکیل می‌شود؟ عواملی که تمایز سلول پایه اولیه را به سمت یک سلول خاص کنترل می‌کنند کدامند؟ آیا می‌توان تمایز سلول پایه را به طور هدفمند در دست گرفت؟ آیا امکان ترمیم بافت به کمک سلول پایه وجود دارد؟ آیا تنها سلول پایه جنینی خاصیت چندتوانی^{۳۹} را دارد، یا سلول پایه بزرگسال هم می‌تواند به سلولهایی غیر از بافت خود تمایز یابد؟

اینها از جمله سوالاتی است که محققان در سالهای اخیر به شدت روی آن کار می‌کنند، به طوری که شاخه ژنتیک تکوینی و بحث سلول پایه از جمله موضوعات اصلی سالهای اخیر شده است. سلول پایه جنینی اگرچه خاصیت چندتوانی دارد، معایی همچون دسترسی نه چندان آسان به آن، تومورزا بودن پس از پیوند و مخالفتهای اخلاقی با استفاده از آن، سبب شده است محققان رو به سوی منابع سلول پایه بزرگسال آورند. تاکنون سلول پایه را از بافت‌هایی نظری مغز استخوان، کبد، روده، مغز، نخاع، ماهیچه، پوست، لوزالمعده، شبکیه، چربی، ریه، بیضه، دندان، غذ پستانی، و بند جفت جدا کرده‌اند. تلاشهای زیادی برای تمایز این سلولها به سایر بافت‌ها انجام شده است که در مواردی موفق هم بوده‌اند. مثلاً سلول پایه استرومای مغز استخوان را به سمت سلولهای عصبی، ماهیچه، انوتیلیال و هپاتوسیت و در مقابل سلولهای پایه عصبی موجود در مغز را به سمت سلولهای خونی تمایز داده‌اند! (شکل-۴) (ازم به ذکر است که تا چند سال قبل به غلط تصور می‌شد مغز فاقد سلول پایه است). از این ویژگی به عنوان تمایز غیرمعمول یا Plasticity یاد می‌شود، که در گذشته تصور می‌شد تنها سلول بنیادی جنینی دارای این ویژگی است. از همین رو این سلول به عنوان منبع سلول پایه برای سلول درمانی یا ژن درمانی اختلالات و بیماریهای مختلف از جمله ترمیم دریچه‌های قلب یا بافت آن پس از انفارکتوس میوکارد، ترمیم کبد، سکته مغزی، ترومای مغز و نخاع، پارکینسون، ترمیم اعصاب محیطی، ترمیم استخوان و سایر بیماریها مطرح شده است.

این سلول در دسترس ترین سلول پایه بزرگسال است و چون از خود فرد گرفته می‌شود مشکلات سیستم ایمنی و دفع پیوند را هم ندارد. بر همین اساس پژوهشگران امیلوارند در آینده بتوان به کمک فناوری سلول پایه بسیاری از بیماریها و اختلالات را درمان کرد و به ترمیم ضایعات ناشی از ترومما پرداخت.

33- Mesothelioma
34- Adenocarcinoma
35- Rat
36- Prednisone

37- Post Genomic Era
38- Proteomics
39- Multipotency

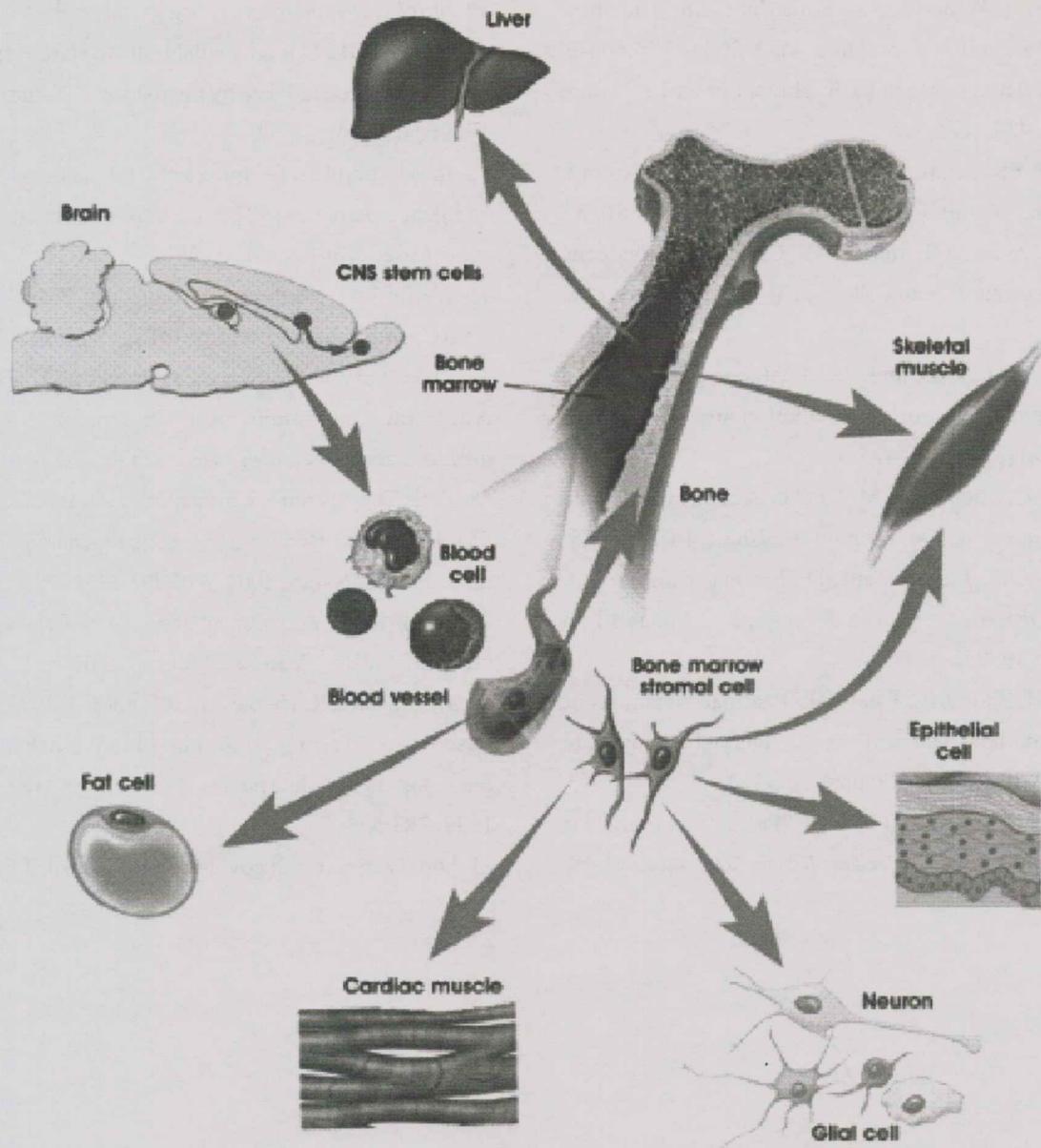
این روش توانست در یک مطالعه ۳۶ مورد از ۳۸ نمونه ناشناخته لوسمی را بطور صحیح شناسایی و طبقه‌بندی نموده و همچنین لوسمی لنفویید حاد را به دو نوع با منشاء سلول B و T تقسیم کند و اطلاعات جدیدی را درباره نقش ۵۰ ژن در پاتوژنی بیماری ارائه کند مطالعات مشابهی در ملانومای خوش خیم و بدخیم، سرطان پستان و سرطان کولورکتال انجام شده است. نتایج چنین بررسی‌هایی اطلاعات جدیدی درباره مکانیسم بیماری‌زایی ارائه می‌کند که با کمک آنها می‌توان درمان هدفمندی را آغاز کرد.

ویه: در یک مطالعه نشان داده شد که سیگنالهای آپوپتوز در آتوپی، آسم، و سارکوپیدوز نسبت به حالت سلامت، *in vivo*، کاهش پیدا می‌کند پژوهشگران در مطالعه دیگری نشان دادند که در مرحله پیشونده بیماری سارکوپیدوز ژنهای وابسته به فاکتور رشد بیان می‌شوند. تفکیک پاتولوژیک بین مزوپلیومای^{۳۳} بدخیم پرده جنب با آدنوکارسینومای^{۳۴} ریه با روش‌های متداول بسیار دشوار است، اما بررسی بیان تعدادی ژن ممکن است تفاوت این دو بیماری را آشکار کند. استفاده دیگر این روش در پیش‌بینی سیر پیشرفت بیماری و عواقب بالینی سرطان آدنوکارسینومای ریه است که با روش‌های هیستوپاتولوژی امکان پذیر نیست.

قلب: بررسی بیان بیش از ۴۰۰۰ ژن در مدل رتی^{۳۵} انفارکتوس میوکارد نشان داد که در این بیماری بیان بیش از ۲۰۰ ژن تعییر می‌کند. فارماکوژنومیک: به کمک فناوری ریزآرایه می‌توان آثار فارماکوکوئینامیک داروها را در سطح ژنمی بررسی و عوارض جانبی آنها را در مقادیر یا زمانهای مختلف پیش‌بینی کرد. عوارض جانبی داروها بطور وسیع و جامع با این روش مشخص می‌شود. در آینده می‌توان با بررسی یک نمونه از بیمار، قبل از مصرف دارو آثار درمانی آنرا پیش‌بینی و بر اساس زمینه ژنتیکی فرد داروی مناسب را تجویز کرد. به ریزآرایه‌ای که به این منظور طراحی و ساخته شده است[®] PharmaArray[®] گفته می‌شود. بررسی آثار داروی روان‌گردان Delta 9-tetrahydrocannabinol که از اجزاء ماری‌جوانا است، و همچنین مطالعه آثار ۱۴ روزه داروی پردنیزون^{۳۶} خوارکی و شناسایی ژنهای پاسخ‌ده به استروپید در مراحل حاد و مزمن از جمله تحقیقاتی است که در این بخش به کمک ریزآرایه انجام شده است.

۴ - ژنتیک تکوینی، سلول پایه و ترمیم بافت (۱۶۷ و ۱۶۹ و ۱۸۰)

دوران پس از شناسایی ژنوم انسان را به نام دوره پساژنومی^{۳۷} نام‌گذاری کرده‌اند که با سه ویژگی شناخته می‌شود: ریزآرایه، پروتئومیک، و سلول



© 2001 Terese Winslow, Lydia Kibiuk, Caitlin Duckwall

شکل-۴: در این شکل تمایز سلول پایه استرومای مغز استخوان به سلولهای مختلف (ماهیچه قلب، نورون و گلیا، وابی تیال، ماهیچه اسکلتی و کبد) در مقابل تمایز سلول پایه عصبی مغز به سمت سلولهای خونی آورده شده است. (۲۱)

References:

1. Roberts L, Davenport RJ, Pennisi E, Marshall E. A History of Human Genome Project. *Science* 2001; 291: 1195.
2. Lander EL, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody M, Baldwin J, et al. The Genome

- Sequencing Consortium “Initial sequencing and analysis of the human genome”. *Nature* 2001; 409:870-921.
3. Venter JC, Adams MD, Myers E, Li PW, Mural RJ, Sutton GG. The sequence of the human genome. *Science* 2001; 291:1304-51.

4. Trent RJA, Williamson R, Sutherland GR. The “new genetics” and clinical practice. *MJA* 2003; 178:406-9.
5. Bell JI. The double helix in clinical practice. *Nature* 2003; 421:414-16.
6. Collins FS, Jegalian KG. Genomics and the future. *Scientific American* 1999; December: 50-55.
7. Villar J, Méndez S, Slutsky AS. Critical care medicine in the 21st century: from CPR to PCR. *Critical Care* 2001; 5:125-30.
8. McCabe LL, McCabe ER. Postgenomic medicine presymptomatic testing for prediction and prevention. *Clin Perinatal* 2001; 28:425-34.
9. Abate SC, Shen MM. Molecular genetics of prostate cancer. *Genes & Development* 2000; 14:2410-35.
10. Ganguly NK, Bano R, Seth SD. Human genome project: pharmacogenomics and drug development. *Indian J Exp Biol* 2001; 39: 955-61.
11. Lee VH, Sporty JL, Fandy TE. Pharmacogenomics of drug transporters: The next drug delivery challenge. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50(suppl 1): 33-40.
12. Druker BJ. STI 571(GleevecTM) as a paradigm for cancer therapy. *Trends in Molecular Medicine* 2002; 18(4): 14-18.
13. <http://www.microarrays.org>
14. Bowtell DL. Option available-from start to finish- for obtaining expression data by microarray. *Nature Genetics* 1999; 21(suppl): 25-32.
15. Joos L, Eryüksel E, Brutsche MH. Functional genomics and gene microarrays: The use in Research and Clinical medicine. *Swiss Med Wkly* 2003; 133:31-8.
16. Verfaillie CM, Pera MF, Lansdorp PM. Stemcells: Hype and reality. *Hematology* 2002; 369-91.
17. Woodbury D, Schwarz EJ, Prockop DJ, Black IB. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J Neurosci Res* 2000; 61:364-70.
18. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410:701-5.
19. Chopp M, Li Y. Treatment of neural injury with marrow stromal cells. *Lancet Neurol* 2002; 2:92-100.
20. Bjornson CR, Rietze RL, Reynolds BA, Magli MC, Vescovi AL. Turning brain into blood: a hematopoietic fate adopted by adult neural stem cells in vivo. *Science* 1999; 283:534-7.
21. [http://stemcells.nih.gov/infocenter/Stem cell Basics.asp](http://stemcells.nih.gov/infocenter/Stem%20cell%20Basics.asp)