

علم الجينوم: المبادئ والتطبيقات

حاج أحمد بلعوني

أستاذ بقسم العلوم الطبيعية، المدرسة العليا للأساتذة بالقبة، الجزائر



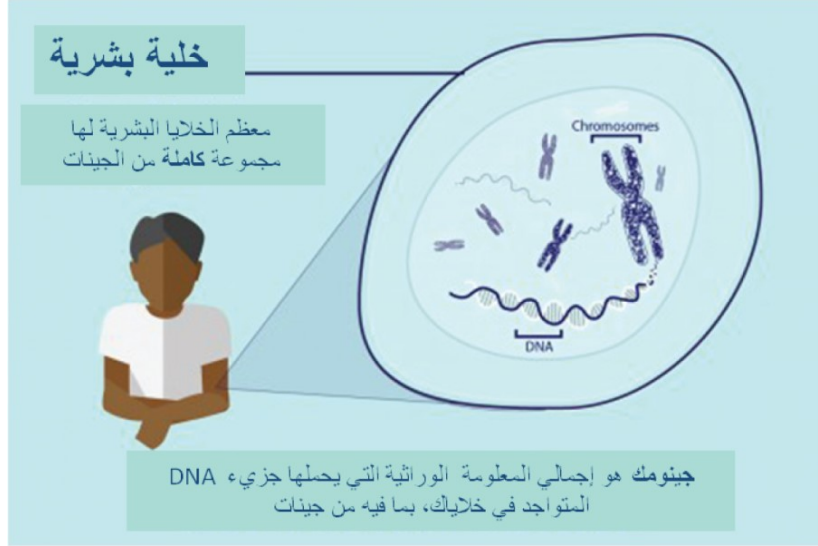
1. ما هو الجينوم، وما هو علم الجينوم؟

الجينوم هو المجموعة الكاملة للمعلومات الجينية لكائن حي، والموجودة بشكل أساسي في جزيء الحمض النووي دينا DNA، التي تحمل بدورها وحدة الترميز المعلوماتية الأساسية، وهي "الجين" : مثلا، يتكون الجينوم البشري من نحو 3 مليارات قاعدة، في حين يبلغ أكبر جينوم لنبات (*Paris japonica*) حوالي 150 مليار قاعدة، وأصغر جينوم بكتيري هو أصغر من العديد من الفيروسات (*Narsuia deltocephalinicola*، 112 كيلو بايت من المعلومات الجينية)، مما يعكس زيف مفهوم "التعقيد يأتي من الحجم" بدلاً من آليات تنظيم معقدة.

علم الجينوم هو العلم الذي يدرس بطريقة شاملة الجينومات التي حددت صيغها وتسلسلاتها (Sequences).



نبات *Paris japonica* ذو أكبر جينوم نباتي، بحوالي 150 مليار قاعدة !



ما هو الجينوم؟



تعتمد حشرة Leafhoppers على بكتيريا من أجل البقاء، وذلك في إطار تعايشي، بعضها يتميز بصغر حجم جينومها، كالبكتيريا *Narsuia deltocephalinicola* التي تتميز بأصغر جينوم

2. ما هو تحديد التسلسل للحمض النووي؟

تحديد التسلسل Sequencing هو تحديد سلسلة البقايا residues التي تشكل جزيء حامل لمعلومة. والحمض النووي DNA هو الدعامة الجزيئية الرئيسية للمعلومة الوراثية. على هذا النحو، توفر بيانات التسلسل أساساً محورياً لفهم بيولوجيا الكائن الحي. تسمح البيانات بإجراء مقارنات شاملة للكائنات الحية على المستوى الجيني للعثور على مناطق التشابه والاختلاف والأهمية الوظيفية. وعلى سبيل المثال، تسمح لنا البيانات الجينية بفهم التباين الجيني البشري على المستوى الجزيئي، وكذلك الاختلافات الجينية بين الورم والأنسجة الطبيعية. يعتقد العلماء أن فهم الأمراض على المستوى الجينومي سيؤدي إلى علاجات طبية أكثر نجاعة (personalized medicine، الطب الشخصي).

3. كيف نقوم بتحديد تسلسل الجينوم؟ ظهور علم الجينوم (Genomics)

مع التطور السريع لتقنيات تحديد التسلسل sequencing، انتقلنا من تسلسل جين واحد إلى جينوم كامل في نهاية القرن الماضي. كانت الجينومات الأولى التي تم تسلسلها هي تلك الخاصة بالفيروسات، نظرًا لصغر حجمها نسبيًا.

وقد ركزت الجهود الأولى على الكائنات الحية "النمذجية"، بمشاركة عدد كبير من المختبرات في إطار "الاتحادات البحثية Research consortia" التي عملت بالتنسيق من أجل إنجاز مشاريع بحث عملاقة، مثل هذا المشروع.

وهكذا تم الحصول على تسلسل أول فيروس خلال عام 1977 بتقنية سانجر Sanger -فيروس العائية (phiX174 أو Φ X174) - وهو فيروس بسيط للغاية يتكون جينومه من جزيء دينا دائري أحادي الخيط بطول 5386 نيوكليوتيدًا يشتمل على أحد عشر جينًا. بالنسبة للبكتيريا، كان التركيز في المقام الأول على السلالة البكتيرية الأكثر شهرة Escherichia coli (4,7 ميجا بايت، حوالي 4000 جين). اعتمد التسلسل الذي قامت به مجموعة واحدة (بلاتنر في ماديسون، الولايات المتحدة الأمريكية) على حوالي 250 "متطوعًا".

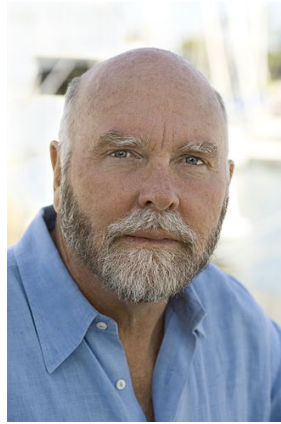


العالم فريدريك سانجر، الحائز على جائزة نوبل

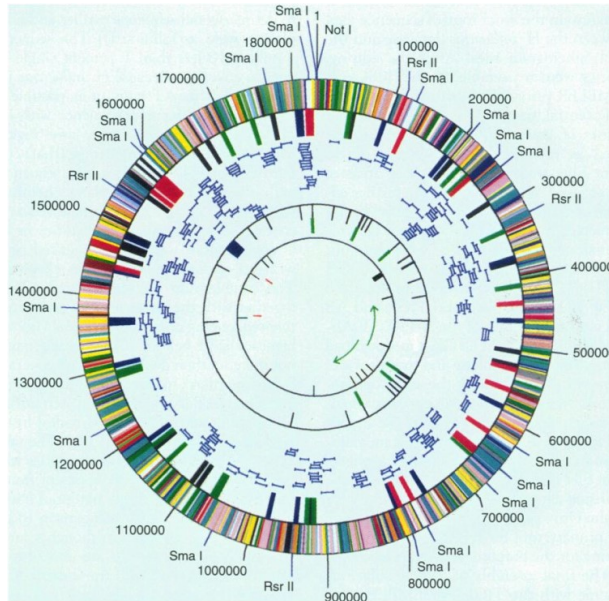
بعد تطويره تقنية تحديد تسلسل الدينا

بدأ هذا المشروع في عام 1991. وتم تنفيذ حوالي 1 ميجا بايت (21 % من الجينوم بأكمله) خلال 5 سنوات، كما تم الحصول على التسلسل الكامل (4639.2 كيلو بايت) خلال عام 1997. وقد استندت الاستراتيجيات الأولية إلى تجزئة الجينوم بطريقة تعتمد على خريطة واقعية (physical map) من أجل التقدم "خطوة بخطوة" في تحديد التسلسل الجينومي. يتضمن هذا النهج تقطيع أجزاء كبيرة، كل قطعة مجزأة إلى أجزاء صغيرة الحجم من أجل الحصول على تداخل كبير، متبوعًا بتجميع تدريجي للمناطق المتجاورة وإعادة تشكيل الأجزاء Contigs، ثم الأجزاء الكبيرة scaffolds، وأخيرًا توصيل الفراغات أو ملء ثغوب تدريجيا. ومع ذلك، استغرق هذا النهج مدة طويلة وتطلب موارد كبيرة.

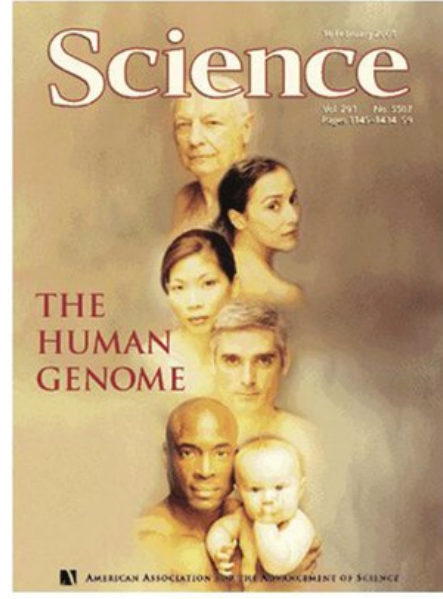
أدت ضرورة تبسيط الخطوات وتقليل التكاليف إلى تطوير طريقة التشظية (Shotgun sequencing). ويتم تنفيذ ذلك عن طريق التكسير العشوائي، ثم تحديد تسلسل جميع الأجزاء التي تم الحصول عليها، والتجميع التدريجي لجميع الأجزاء باستخدام برامج معلوماتية مختصة في هذه التطبيقات، وأخيراً ملء الثغوب. لقد أنشئت هذه الطريقة بواسطة مجموعة كانت تحمل اسم TIGR، ثم أصبحت تُسمى CELERA (معهد Craig Venter)، وهي طريقة تسمح خلال نحو شهرين بتحديد تسلسل جينوم صغير (2 ميجا بايت). وهكذا حققت هذه الطريقة الثورية، التي تم تطويرها في TIGR، نجاحاً باهراً! وسمحت بنشر التسلسل الكامل لجينوم كائن حي، المستدمية النزلية *Haemophilus influenzae*، لأول مرة. كانت تلك ولادة علم الجينوم في يوم 28 يوليو 1995. وقد تبع ذلك سيل من الجينومات جزاء تطبيق طريقة التشظية



كريغ فينتر، عالم الأحياء الأمريكي ورجل الأعمال، الذي ساهم في تطوير طريقة التشظية (Shotgun sequencing) في اطار مشروع تحديد تسلسل الجينوم البشري لأول مرة



الخريطة الجينومية لأول جينوم كامل لكائن حي
(المستدمية النزلية *Haemophilus influenzae*) نشر سنة 1995



نشر مشروع الجينوم البشري في مجلتي Nature و Science سنة 2001

4. توجهات علم الجينوم

مع إمكانية الحصول على جينوم بدائيات النوى الذي أصبح أسهل نسبيًا، باشر الباحثون في تحديد جينومات سلالات مختلفة تنتمي إلى نفس النوع : الإشريكية القولونية *Escherichia coli*. في عام 2003: تم الحصول على جينومات 4 سلالات مختلفة من الإشريكية القولونية، وكذلك أنواع مختلفة تنتمي إلى نفس الجنس. لقد كشفت مثل هذه الأبحاث عن تباين جيني غير متوقع! في الوقت الذي كان من المنتظر وجود اختلافات طفيفة بين جينومات سلالات من نفس النوع، اتضح أن هذا الاختلاف يمكن أن يمتد إلى أكثر من ثلث الجينوم في بعض الحالات.

بالإضافة إلى ذلك، ظهر قدر أكبر من التنوع البيولوجي والتطور الوراثي فيما يتعلق بالاهتمام الذي يحمله علم الجينوم تجاه الكائنات الحية حيث تمت دراسة جينومات عدد أقل من الميكروبات الممرضة pathogens مقارنة ببقية الكائنات الحية الدقيقة غير المسببة للأمراض (في عام 2003، انخفضت النسبة بين جينومات الميكروبات المسببة للأمراض مقارنة بالتي لا تتسبب فيها من 90% إلى 50%). ومن جهة أخرى، واصلت العديد من الشركات الخاصة تحديد تسلسل جينومات العديد من الميكروبات المسببة للأمراض دون نشرها. فعلى سبيل المثال، تشير التقديرات إلى أن 14 سلالة مختلفة من عصيات الجمره الخبيثة *Bacillus anthracis* تم تحديد جينوماتها في عام 2002 في الولايات المتحدة. وقد ظهر أيضًا الاهتمام بممثلي الفروع الحيوية التي لم تُدرس أو تمت دراستها قليلاً. نذكر، على سبيل المثال *Chlorobium tepidum* : هو نموذج بكتيريا من فصيلة *Chlorobia*، مُحبة للحرارة تعمل على تثبيت النيتروجين في الغلاف الجوي وتقوم بإرجاع مركبات الكبريت كمصدر طاقة من أجل التمثيل

الضوئي في ظل ظروف لاهوائية. إن الاهتمام بهذا الكائن الحي يكمن في الحاجة إلى فهم أفضل لدورات الطاقة العظيمة على مقياس كوكبي، ومن ثم كشف أسرار ظهور التمثيل الضوئي في كوكبنا.

كما ركّز علم الجينوم على البكتيريا "المفيدة" في مجالات مختلفة، مثل :

- مكافحة التلوث من قبل *Shewanella oneidensis* و *Geobacter metallidurens* التي تستقلب اليورانيوم والعديد من المعادن الثقيلة الأخرى؛ وتنتج *Geobacter* أيضًا الكهرباء،
- البكتيريا التعايشية، مثل *Bifidobacterium longum*، وهي بكتيريا معوية تحلل المركبات المعقدة النباتية كالنشاء والسليلوز،
- الكائنات الحية ذات الأهمية الزراعية، مثل *Pseudomonas putida* التي تنمو في منطقة الجذور وتساهم في تنظيف التربة من الملوثات،
- الكائنات الحية ذات الأهمية الصناعية، مثل العديد من الكائنات المحبة للحرارة التي تشكل مصدرا لإنزيمات سهلة التنقية وعالية الفعالية.

ومع سهولة تحديد التسلسل، تم الحصول على جينومات أكبر فأكبر، مثل *Streptomyces coelicolor* (8.7 ميجا بايت، 7567 بروتين) و *Bradyrhizobium japonicum* (9.1 ميجا بايت، 8317 بروتين) التي تحتوي على عدد أكبر من الجينات مقارنة مع العديد من حقيقيات النوى البسيطة، مثل خميرة الجعة *Saccharomyces cerevisiae* (12 ميجا بايت، ولكن أقل من 6000 بروتين).

5. ما هي تقنيات NGS ؟

بعد التطورات التي أنجزتها طريقة التشظية بتقنية سانجر، نشأت حاجة ملحة، وهي الحصول على المزيد والمزيد من الجينومات، لإجراء إحصاء شامل للمعلومات الجينومية لجميع الكائنات الحية. لكن تقنية سانجر لا تمكننا من الحصول على تسلسلات بسرعة تتناسب مع طموح الباحثين. لقد أدت هذه الحاجة إلى ظهور تقنيات الجيل الجديد، المعروفة باسم "NGS" (Next Generation Sequencing = الجيل الجديد لتحديد التسلسل)، التي تختلف عن تقنية سانجر التاريخية من خلال إمكانية تحديد التسلسل على التوازي (قراءة تسلسلات صغيرة عديدة في نفس الوقت) على نطاق واسع.

تولد هذه التقنيات الملايين بل البلايين من القراءات القصيرة للحمض النووي دينا المأخوذة من جينوم كامل (whole genome)، أو مناطق جينية مستهدفة targeted genetic regions، أو الحمض النووي الريبسي المنسوخ (transcribed RNA). وتشمل أجهزة الجيل الجديد النماذج Illumina Genome Analyzer و Roche 454 و Pacific Biosciences SMRT و Ion Torrent و Nanopore sequencing.

لقد غيرت هذه التقنيات الطريقة التي نستعملها في البحث في العلوم البيولوجية (والمعلوماتية الحيوية بالطريقة نفسها)، مما سمح بإجراء تجارب لم تكن ممكنة من قبل، وذلك خلال مدد قصيرة بشكل خاص.

6. ما هي الأهداف التي تنطوي على تحديد تسلسل الحمض النووي؟

إليك بعض المقاربات التجريبية الحالية التي تستخدم التسلسل:

- تقدير تعبير mRNA "RNAseq"،
- تقدير تعبير microRNA،
- تحديد مواقع ارتباط البروتين على الحمض النووي "ChIPseq" (الترسيب المناعي للكروماتين)،
- تحديد مواقع ارتباط البروتين على الحمض النووي الريبسي (الترسيب المناعي المتقاطع) "CLIPseq"،
- تحديد التسلسل بثنائي السولفيت Bisulfite sequencing (تحويل السيتوزين المميثل (methylated C) إلى اليوراسيل (U) بثنائي السولفيت متبوعاً بتحديد التسلسل عالي الإنتاجية لتحديد مواقع الميثلة التَّخَلُّقية epigenetic methylation،
- تحديد تسلسل الجينوم الكامل Whole genome sequencing للكشف عن تعدد الأشكال للنوكليوتيدات الفردية SNP، والتغيرات الهيكلية، إلخ.

7. تقنية سانجر مقارنة بالتقنيات NGS

تتميز التقنيات NGS بقراءات قصيرة ودقة جيدة وإنتاجية عالية جداً وتكلفة منخفضة نسبياً. على سبيل المثال، تتميز أجهزة العلامة التجارية Illumina بما يلي: قراءات أولية ذات نهايات فردية Single end reads أو زوجية paired end reads، وحجم قراءة يتراوح من 2 x 150 إلى 2 x 300 زوج نكليوتيدات، مع عدة تيرابتات من التسلسلات التي يتم إنشاؤها في كل دورة (تشغيل Run، وهذا ما يعادل ملايين القراءات). ومعدلات خطأ منخفضة (>1%)؛ ولكن هناك صعوبة مع المناطق الغنية بـ GC والميل إلى انخفاض الجودة في نهاية القراءات. هذا النوع من المشاكل يعني أن تقنية سانجر تظل المعيار الذهبي للتحقق من مناطق جينومية ما، لأنها تعطي قراءات طويلة نسبياً، وبدقة جيدة وتكلفة زهيدة إلى حد معين، ولكنها مع ذلك تظل منخفضة الإنتاجية.

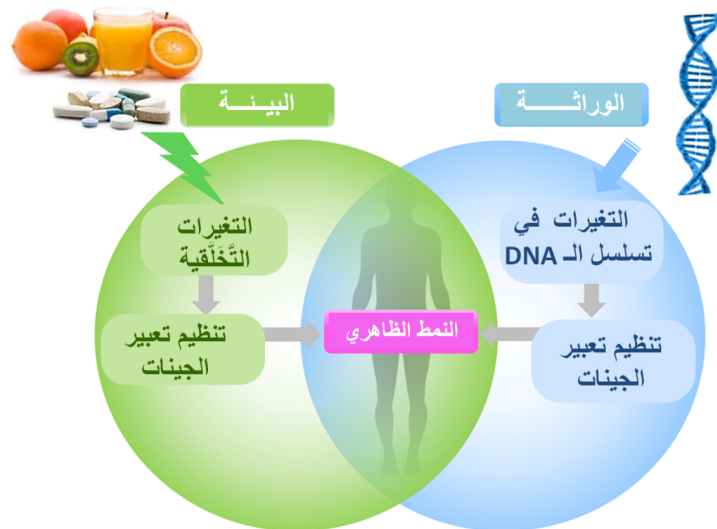
8. ما هي تطبيقات علم الجينوم؟

من الواضح أن علم الجينوم يعيد تشكيل الطريقة التي ندرس بها الكائنات الحية، والطريقة التي نستخدمها بها. لقد أثرت على العديد من جوانب حياتنا، من صحة الإنسان (دراسات الميكروبيوم، والسرطان، والطب الشخصي، وما إلى ذلك) إلى البيئة (علم الجينات، علم التخلق، إلخ)، مروراً بالتطبيقات الزراعية (انتقاء النباتات، تربية الحيوانات، الأمراض الحيوانية المصدر، أمراض النبات، إلخ) وبالتكنولوجيا الحيوية (هندسة الجينوم، تطوير اللقاحات) وغيرها من التطبيقات.

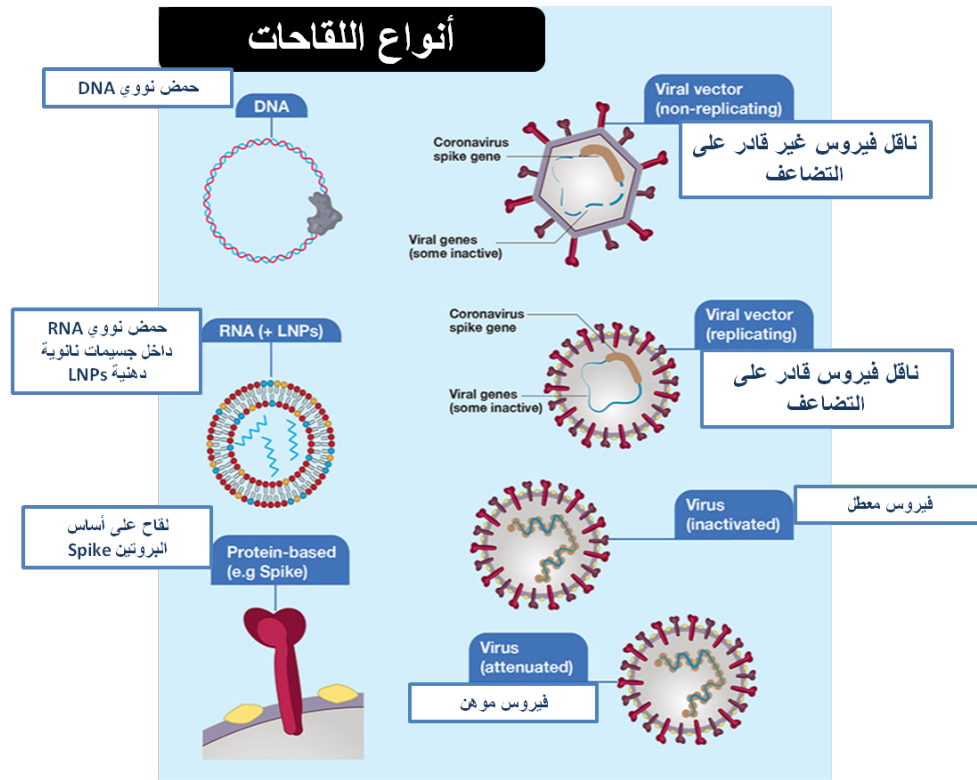
يُعدّ الوباء العالمي كوفيد-19 الحالي مثالاً رائعاً يبرز أهمية علم الجينوم. فبفضل هذا العلم نحن قادرون على تحديد المتحورات والتميز بينها، ومراقبة انتشارها، والأكثر من ذلك أن هذا العلم قد ساعد البشرية على تطوير لقاح فعال خلال مدة قياسية، بناءً على الدراسات الجينية للفيروس SARS-Cov2.



يعتقد العلماء أن فهم الأمراض على المستوى الجينومي سيؤدي إلى علاجات طبية أكثر نجاعة (personalized medicine، الطب الشخصي)



تعتبر دراسة الميثلة التخلّقية epigenetic methylation إحدى تطبيقات تحديد التسلسل باستعمال تقنيات الجيل الجديد NGS حيث يساهم هذا الميدان في فهم أثر الوسط أو البيئة في النمط الظاهري للأحياء



تحليل البيانات الجينومية لفيروس كورونا المستجد سمح للعلماء بتطوير لقاحات كذلك التي تعتمد على حمض نووي RNA داخل جسيمات نانوية دهنية LNPs، أثبتت نجاعتها في مجابهة انتشار الوباء

من ناحية أخرى، بفضل تطور علم الجينوم في مجال علم الأحياء الدقيقة، من الممكن حالياً التنبؤ بحساسية الجراثيم الممرضة للمضادات الحيوية (Genomic antibiogram). المبدأ بسيط: يتم توقع النمط الظاهري لحساسية سلالة ما إزاء مضادات حيوية بناءً على تحليل تسلسلها عن طريق تحديد جينات المقاومة، مع إمكانية تحديد الطفرات التي تساهم في النمط الظاهري للمقاومة. لا يمكن لأحد أن يتوقع متى وكيف ستكون الأوبئة القادمة، سواء كان ذلك على نطاق محدود أو على نطاق عالمي. ولكن هناك شيئاً مؤكداً: تمتلك البشرية العديد من الأدوات القوية التي لا غنى عنها، كنتيجة لإدراكنا لأهمية المعرفة والعلوم في مواجهة مثل هذه التهديدات. وإحدى هذه الأدوات هي بالتأكيد علم الجينوم، لما قدمه في فهم "الحياة"، إضافة إلى العدد الهائل من الحلول التي أصبحت ممكنة في مجابهة تحديات البشرية بفضل هذا المجال البحثي المثير.

بعض المراجع الإضافية

- https://www.marefa.org/تسلسل_الحمض_النووي
- <https://www.sigmaaldrich.com/DZ/fr/technical-documents/protocol/genomics/sequencing/sanger-sequencing>
- https://ar.wikipedia.org/wiki/كريغ_فينتر

- [https://ar.wikipedia.org/wiki/فردريك سانغر](https://ar.wikipedia.org/wiki/فردريك_سانغر)
- [https://ar.wikipedia.org/wiki/تعدد أشكال النوكليوتيدات المفردة](https://ar.wikipedia.org/wiki/تعدد_أشكال_النوكليوتيدات_المفردة)
- <https://www.nature.com/articles/s41440-019-0248-0>
- <https://blog.crownbio.com/pdx-personalized-medicine>
- <https://archive.ph/20140602063017/http://gbe.oxfordjournals.org/content/early/2013/08/10/gbe.evt118.short?rss=1>
- <https://www.nationalgeographic.com/science/article/and-the-genomes-keep-shrinking>
- http://www.genomenewsnetwork.org/resources/timeline/1995_Haemophilus.php
- <https://www.jstor.org/stable/2887657>
- <https://journals.plos.org/plosone/article/figure?id=10.1371/journal.pone.0244176.g001>
- <https://www.economist.com/briefing/2020/04/16/can-the-world-find-a-good-covid-19-vaccine-quickly-enough>