علم ما فوق الوراثة (الوراثة اللاجينية) Epigenetics

لقد أضاف مفهوم **فوق الوراثة** بعداً جديداً لفهمنا لطبيعة العوامل المتحكمة في انتقال صفات الكائن الحي والتعبير عنها مظهريا أو فسيولوجياً، وربما ستعيد هذه الاكتشافات الجدل حول فرضيات جرى تحييدها في تفسير الدور الذي يمكن أن تلعبه **العوامل البيئية في إحداث تغيرات وراثية** تنتقل عبر الأجيال، ومثال ذلك تطور ما يسمى بالأنواع البيئية Ecotypes. تندرج العديد من الآليات ضمن التغيرات فوق الوراثية، ومنها **تحورات الهستون وإعادة تشكل الكروماتين والايسلة وحتى تغايرات RNAi**، إلا أن الآلية الأكثر شيوعاً والتي حظيت باهتمام كبير وتمت دراستها باستفاضة اكبر هي **الميثلة Methylation**.

يعرف علم ما فوق الوراثة بأنه العلم الذي يهتمّ بدراسة اختلاف الصفات (Traits) المظهرية أو الخلويّة أو الفسيولوجيّة التي لا تحدث بسبب تغيّرات في سلسلة الحامض النوويّ (حامض نووي ريبوزي منقوص الأكسجين). وبعبارةٍ أبسط، علم ما فوق الجينات هو الذي يدرس بشكلٍ رئيسيّ العوامل الخارجيّة والبيئيّة التي تنشّط أو تثبّط عمل الجينات، وتؤثّر على كيفيّة قراءة الخليّة للجينات. ومن هنا، فإنّ هذا العلم يسعى **لوصف التعديلات الديناميكيّة في القدرة الكامنة لخليّة ما على الاستنساخ وهذه التعديلات قد تنتقل أو لا تنتقل بالوراثة**، مع أنّ استخدام مصطلح "علم ما فوق الوراثة" لوصف العمليّات التي لا تنتقل بالوراثة هو أمرٌ مثيرٌ للجدل، وعلى خلاف علم الجينات القائم على دراسة التغيّرات في سلسلة الحامض النوويّ (DNA) (أي التركيب الوراثي Genotype)، فإنّ التغيّرات في التعبير الجينيّ والنمط المظهري (Phenotype) تحدث لأسباب أخرى في علم ما فوق الوراثة، ولهذا استُخدم مقطع (**Epi**) بمعنى: فوق أو خارج أو حول.

يشير المصطلح أيضًا إلى التغيّرات الوظيفيّة التي تحدث للمجموع الجينيّ (الجينوم Genome) أو التي تحدث في التعبير الجيني أو النمط المظهري التي تنتج عن آليات أخرى غير تلك التي تتعلق بتغير تسلسل DNA. ولذا يشير الاسم إلى تعديلات تحدث في وظيفة الجين دون أي تغيير في سلسلة النكليوتايدات التي تشكل الحامض النووي، ومن الأمثلة على هذا النوع من التغيّرات: **ميثلة الحامض النوويّ (DNA methylation) وتحورات الهستون (Histone modification)**، فكلاهما يعدّل كيفيّة تعبيرالجينات عن نفسها (Gene expression) دون تعديل سلسلة الحامض النوويّ التابعة لها، وقد يُتَحكّم بالتعبير الجيني عن طريق البروتينات الكابحة (Repressor genes) التي ترتبط بالمواقع الكاتمة (Silencer regions) المتواجدة على سلسلة الحامض النوويّ (DNA). هذه التغيّرات التخليقية قد تستمرّ خلال انقسامات الخليّة طوال فترة حياتها، وقد تستمرّ أيضًا لعدّة أجيال حتى لو أنّها لم تتضمّن تغيّرات في تركيب سلسلة الحامض النوويّ (DNA) للكائن الحيّ.

فبدلًا من ذلك، ثمّة عوامل غير جينيّة تسبّب تغيّرًا في سلوك أو طريقة تعبير الجينات نفسها. والدلائل القاطعة التي تدعم الوراثة اللاجينية تُظهر أنَّ هذه الآليات قد تسمح بتوريث التأثيرات المترتبة على تجارب الوالدين إلى الأجيال اللاحقة!. فالوراثة اللاجينية **تتعارض** مع فكرة أن **الوراثة تتم فقط عبر الكود الجيني** الذي يورث من الأبوين إلى النسل.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic/4th Stage/Field Crops Sciences

أحد الأمثلة على التغيّر ما فوق الوراثي في الكائنات حقيقيّة النواة (Eukaryotes) هي عمليّة التمايز الخلويّ، فخلال عمليّة التشكّل (Morphogenesis) فإنّ الخلايا الناتجة من انقسام البويضة المخصّبة ستتحول إلى جميع أنواع الخلايا الموجودة في هذا الكائن الحيّ، كالخلايا العصبيّة والعضليّة وبطانة الأوعيّة الدمويّة .. إلخ، عن طريق تنشيط بعض الجينات وتثبيط أخرى.

الأساس الجزيئيّ لما فوق الوراثة Molecular background of Epigenetics

قد تعدّل التغيرات فوق الوراثية من فعالية بعض الجينات، دون تغيير سلسلة الحامض النوويّ DNA، كما يمكن تنشيط أو تثبيط بروتينات الكروماتين المرتبطة بالحامض النوويّ DNA؛ **وهذا هو السبب في أنّ الخلايا المتمايزة في الكائنات الحيّة متعددة الخلايا تفعل فقط الجينات اللازمة لنشاطها وتُحفَظ التغيّرات فوق الجينية لدى انقسام الخلايا**، ويحدث معظمها خلال حياة النبات، لكن إذا حدث تثبيط جينيّ في حبة لقاح أو بويضة ونتج عنهما بويضة مخصّبة، فإنّ هذه التغيرات قد تنتقل إلى الجيل اللاحق.

قد ينجم عن الضرر الذي يلحق بالحامض النوويّ DNA تغيّرًا فوق وراثياً أيضًا وهذه الأضرار شائعة جدًا (**فهي تحدث ١٠٠٠ مرّة في اليوم الواحد في الخليّة الواحدة**)، ومع أن غالبيتها تُصحّح، **إلا انه قد يحدث التغير فوق الوراثي ويبقى في مكان إصلاح الضرر**. على وجه التحديد، إذا حدث كسر مزدوج في سلسلة الحامض النوويّ DNA، فستحدث سلسلة غير مبرمجة من العمليّات فوق الوراثية التي تتضمن كبت جينات معينة عبر ميثلة الحامض النوويّ، وتعديلات معينة في الهستون والكروماتين. بالإضافة إلى ذلك، قد يتجمّع إنزيم Parp1(poly(ADP)-ribose polymerase مع المركّب الناتج عنه (poly(ADP)-ribose(PAR) ممّا ينشّط الكروماتين ويحدث تغييرات فوق جينيّة معيّنة.

البحث في علم ما فوق الجينات يحتوي على تقنيّات مختلفة لفهم الظاهرة ما فوق الوراثية ومنها الترسّب المناعيّ الكروماتينيّ (Chromatin immunoprecipitation)، وFlourescent in situ hybridization وغيرها. كما تلعب تقنيات المعلومات الحيويّة دورًا متزايدًا في هذا المجال.

آليات التعديل فوق الوراثي Mechanisms of Epigenetic Modifications

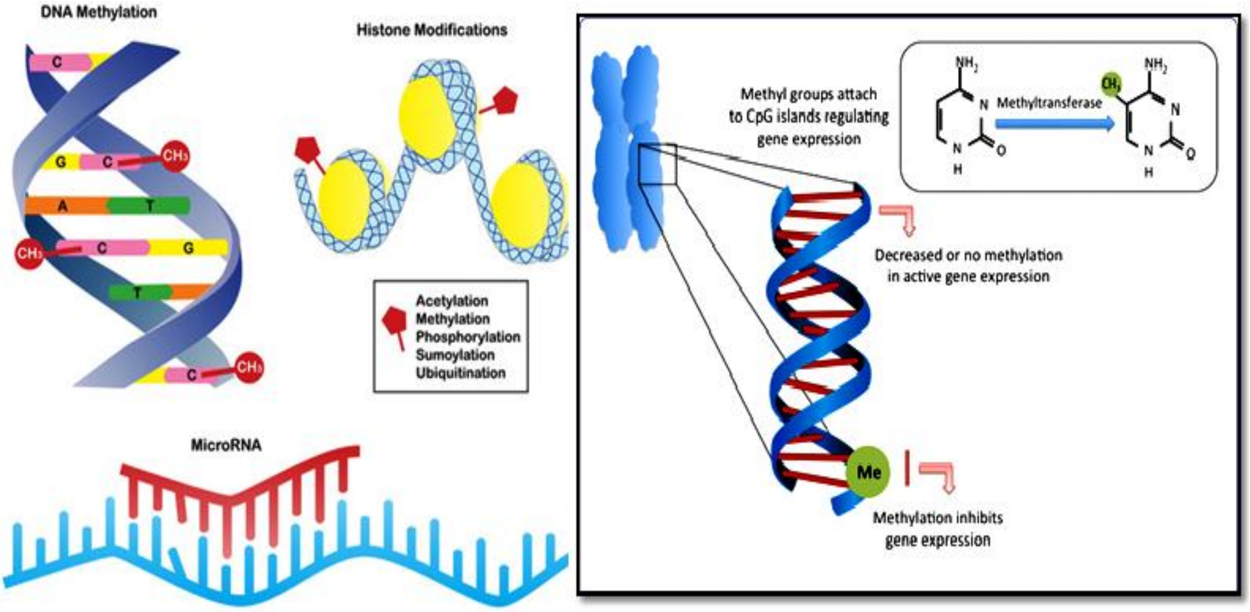
- **التعديلات "التساهمية" بين الحامض النوويّ والهستون**

يتألف الكروماتين من الحامض النوويّ DNA بالإضافة إلى بروتينات الهستون المرتبطة به، فإذا اختلفت الطريقة التي يرتبط بها الحامض مع هذه البروتينات، قد يختلف التعبير الجيني أيضًا، وتحدث التعديلات على الكروماتين Chromatin remodeling من خلال طريقتين أساسيّتين:

- **تعديلات ما بعد الترجمة Posttranslational modifications للأحماض الأمينيّة لبروتينات الهستون، ممّا يؤثّر على ارتباط الحامض النوويّ بها.**

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic/4th Stage/Field Crops Sciences

- **إضافة مجموعات المثيل الوظيفيّة للحامض النوويّ DNA ممّا يجعل المواقع المميثلة أقلّ مقدرة على تعبير جيناتها عن نفسها ويحدث عادةً للمناطق المكرّرة في الحامض.**



التحورات فوق الوراثية وميثلة DNA وعلاقتها بالتعبير الجيني

يتعرض DNA الذي يتألف من سلسلة طويلة من الوحدات البنائية المسماة بالنكليوتيدات (Nucleotides)، بالإضافة إلى سكر خماسي رايبوزي منقوص الأوكسجين مرتبط بمجموعة فوسفات، إلى تحورات مختلفة تغير من تركيبه الكيميائي وبالتالي أداءه لوظائفه، ويعد ارتباط مجاميع المثيل به التي وصفت في منتصف القرن المنصرم احد أهم هذه التحورات. كيميائياً، تحدث الميثلة بإضافة مجموعة المثيل (CH_3) إلى نكليوتايد السايتوسين على موقع الذرة الخامسة للكاربون في حلقة البايرميدين (Pyrimidine ring) وتدعى حين إذ "٥- مثيل سايتوسين" (5-methylcytosine (Mc أو 5-methyl deoxycytosine للدلالة على أن هذه العملية تحدث بشكل خاص في الحامض النووي.

اكتشفت الميثلة في بادئ الأمر كجزء من أنظمة الدفاع لدى العائل في الكائنات بدائية النواة للتصدي لهجمات الفايروسات من خلال هضم وتقطيع دنا الكائن المتطفل وبالتالي إبطال مفعوله، لكنها موجودة أيضا في الكائنات حقيقية النواة وتختلف أهميتها باختلاف الكائن وموقعها في DNA، كما أنها تلعب دوراً مهما في السيطرة على العناصر المنتقلة TE (Transposable Elements) في الجينوم. لذا يساهم تفاعل الميثلة الكيموحيوي في التنظيم الطبيعي لعمل الجينوم وتطوره، كما استخدم في الكشف عن التباين في النظام الإنزيمي في الكائنات بدائية النواة، والتنظيم فوق الوراثي للتعبير الجيني وتركيب الجينوم في معظم الكائنات حقيقية النواة.

تختلف نسبة ميثلة DNA باختلاف أنواع الكائنات الحية، وقد تصل نسبة ميثلة السايتوسين إلى أكثر من ٣٠% في بعض الأنواع النباتية. إن النسبة العالية لتباين نمط الميثلة DNA وتركيب الكروماتين تلعب دوراً محورياً في التنظيم فوق الوراثي لعمل الجينات، وهو أمر ضروري

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic/4th Stage/Field Crops Sciences

لتغيير المعلومات الوراثية وتحديد الشكل المظهري للكائن الحي. كما يمكن أن تشارك الحوامض النوويّة الرايبوزية الصغيرة (Small RNAs) في عمليّة التحكّم بالتعبير الجيني عن طريق تعديل الكروماتين، من خلال استهدافه لمواقع الحفّاز أو المحفز (Promoter) في سلسلة الحامض النوويّ DNA.

أنزيمات القطع Restriction Enzymes

حرص العديد من الباحثين على عزل ودراسة أنزيمات القطع وخصوصاً في مجال الهندسة الوراثية، ، وتم تقسيمها إلى ثلاثة أنواع رئيسة:

- إنزيمات القطع من النوع الأول (Type I restriction enzymes): تتصف هذه الأنزيمات بصفات مميزة جداً، إذ تتعرف على تتابع معين في حلزون DNA ولكنها لا تقطع الحلزون خلال ذلك التتابع، **وإنما تتحرك على طول جزيئة DNA لمسافة تتراوح بين ١٠٠٠-٥٠٠٠ نكليوتايد من موقع التتابع الحساس ثم تقطع خيطا واحدا وبصورة عشوائية مكونة فجوة في ذلك الخيط يبلغ طولها حوالي ٧٥ نكليوتايد.**
- إنزيمات القطع من النوع الثاني (Type II restriction enzymes): يمكن لهذه الأنزيمات التعرف على تتابع معين من النكليوتايدات في حلزون DNA، ثم تقطع الحلزون خلال أو قرب ذلك التتابع لإنتاج قطع دنا محددة الأطوال، وهي ذات أهمية في تقنيات الهندسة الوراثية.
- إنزيمات القطع من النوع الثالث (Type III restriction enzymes): تتميز هذه الأنزيمات بقابليتها على قطع حلزون DNA في مواقع محددة ومعروفة، وبهذا تكون خصائص هذه الأنزيمات وسطاً بين صفات إنزيمات النوعين الأول والثاني.

يمكن أن تختلف إنزيمات القطع بعدد **التتابعات المتناظرة (Palindromic sequence)** التي تميزها، فبعضها يميز تتابعات تتألف من أربعة نكليوتايدات وأخرى خمس أو ست..وهكذا. وبذا يتباين تكرار مواقع القطع في الجينوم لإنزيم معين بحسب عدد التتابعات التي يتعرف عليها، وعليه **يرتبط التكرار عكسياً مع عدد التتابعات بسبب زيادة ندرة مواقع القطع بزيادة عدد التتابعات** وفقاً للمعادلة التالية:

عدد مواقع القطع=١\N٤، و N تمثل عدد تتابعات النكليوتايد.

تختلف الإنزيمات أيضاً في شكل القطع الذي تنتجه في شريط DNA، وهذا يرتبط بشكل مباشر بتتابع القطع، فإما أن يقطع الإنزيم كلا شريطي DNA بشكل متقابل منتجاً نهايات ملساء (Blunt ends)، أو أن يقطع الشريطين بشكل متعرج منتجاً نهايات تعرف بالنهايات اللزجة (Sticky ends)، والأخيرة هي المفضلة في الدراسات الجزيئية **لسهولة ربط القطع الناتجة بالمكيفات (Adaptors) التي سترتبط في خطوة لاحقة بالبادئات.**

تنتمي الإنزيمات الثلاث *EcoRI* و*HpaII* و *MspI* إلى النوع الثالث الذي يقطع عند التتابع الهدف. إذ يتعرف إنزيم *EcoRI* على التتابع السداسي النكليوتايد (5'-GAATTC-3') المتناظر ويقطع بين الكوانين والادنين منتجاً تتابع رباعي النكليوتايد ذو نهاية لزجة (5'-AATT).

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic/4th Stage/Field Crops Sciences

```
5'GAATTC  5'G AATTC  5'---G      AATTC---3'
3'CTTAAG  3'CTTAA G  3'---CTTAA      G---5'
```

وهو بذلك يشترك مع الإنزيمين الآخرين بشكل نهايات القطع التي ينتجها، إلا إن إنزيمي *HpaII* و*MspI* يميزان ذات التتابع الرباعي (5'-CCGG-3')، ولذا يوصفان بأنهما إنزيمي قطع متناظرين (Isoschizomers).

```
5'CCGG    5'C CGG    5'---C     CGG---3'
3'GGCC    3'GGC C    3'---GGC    CG---5'
```

ويكمن الاختلاف فيما بينهما في حساسيتها لتميثل نكليوتايد السايتوسين، وبالتالي سيتوقف قطعهما للتابع المذكور من عدمه تبعاً لما يلي:

1. **يقطع الإنزيمان التتابع في الحالة الاعتيادية، وهي عدم تميثل أي من نكليوتايدي السايتوسين في التتابع الرباعي وفي كلا شريطي DNA.**
2. **لا يقطع أي منهما في حالة تميثل كلا نكليوتايدي السايتوسين الخارجي والداخلي.**
3. **يقطع إنزيم *HpaII* في حالة تميثل نكليوتايد السايتوسين الخارجي فقط لأحد شريطي دنا (Hemi-Methylated) وليس كلاهما.**
4. **يقطع إنزيم *MspI* في حالة تميثل نكليوتايد السايتوسين الداخلي فقط لأحد شريطي دنا (Hemi-Methylated) أو كلاهما (Fully-Methylated).**

الحامض النوويّ الرايبوزيّ RNA المستنسخ والبروتينات المشفّرة

تنتج بعض الجينات مركبات معينة تساعد على إبقاءها فعالة باستمرار، على سبيل المثال فإنّ Hnf4 و MyoD هي مركبات تساعد على **تنظيم تعبير العديد من الجينات الخاصّة بنشاط الكبد والعضلات، ويعطي الحامض النوويّ الرايبوزيّ إشارات تتضمن استدعاءً محددًا لمجموعة من البروتينات لتعديل الكروماتين أيضًا، وإنزيمات ناقلة لمجموعة المثيل للحامض النوويّ DNA إلى مواقع محدّدة، كما تقوم سلاسل مقتطعة من الحامض النوويّ الرايبوزي بتغيّرات أخرى فوق جينية عن طريق تشكيل سلاسل مزدوجة من الحامض النوويّ الرايبوزيّ RNA.** وهذه التغيّرات سيتمّ وراثتها من قبل الجيل التالي **حتى لو لم يعد المحفّز الأصلي لتنشيطها موجودًا**. تنشّط وتثبّط هذه الجينات عادة عن طريق انتقال الإشارات **Signal Transduction**، لكنّها قد تنتقل أيضًا عبر الانتشار البسيط من خلال **وصلات الفواصل Gap junctions** بين الخلايا. تورّث الأمّ جزءًا كبيرًا من الحامض النوويّ الرايبوزيّ والبروتين للبويضة المخصّبة، ممّا ينتج تأثيرًا أميًّا (سايتوبلازمياً) على الأنماط المظهرية، بينما ينتقل جزء صغير من الحامض النوويّ الرايبوزيّ من الأب إلى البويضة المخصّبة (عن طريق حبة اللقاح)، لكن

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic 4th Stage Field Crops Sciences

هناك أدلّة جديدة تظهر بأنّنا نستطيع رؤية تغيّرات واضحة ناتجة من هذا الانتقال على مدى الأجيال المختلفة من الذرّيّة.

الأحماض النوويّة الرايبوزيّة الدقيقة Micro RNAs

وهي مجموعة من الأحماض غير المشفِّرة، تتراوح أطوالها بين ١٧ إلى ٢٥ نكليوتايد (قاعدة نايتروجينية)، وتتحكّم بعمليّات حيويّة كثيرة في النباتات والحيوانات وقد تمّ اكتشاف ٢٠٠٠ نوع منها إلى عام ٢٠١٣ في الإنسان، وكل واحد من هذه الأحماض قد يستهدف ١٠٠-٢٠٠ حامض رايبوزيّ مراسل mRNA، حيث يكون مسؤولا عن تثبيطه ومعظم هذا التثبيط يحصل من خلال تحلّل الحامض الرايبوزيّ المراسل المُستهدَف، لكنّ البعض الآخر يحدث في مرحلة ترجمة الحامض إلى بروتينات.

ويبدو لنا أنّ هذه الأحماض الدقيقة (التي يتم التحكّم بها بطريقة فوق جينيّة) تنظم عمل أكثر من ٦٠% من الجينات المشفّرة التي تترجم إلى بروتينات، ومن الطرق المقترحة لكيفيّة تثبيط هذه الأحماض فوق وراثياً هي **الميثلة (الجزر المتميثلة) CpG islands المرتبطة بهذه الأحماض،** بالإضافة إلى وجود أحماضٍ أخرى يتمّ تثبيطها عن طريق تعديلات الهستون أو ميثلة الحامض النوويّ DNA المركبة.

الحامض النووي الرايبوزيّ المراسل mRNA

في عام ٢٠١١، تمّتِ البرهنة على أنّ ميثلة هذا الحامض تلعب دورًا مهمًّا جدًا في التوازن الحراريّ في الجسم البشريّ، كما أنّ الجين المرتبط بالسُّمنة (FTO gene) يُحدث تغييرات على مستوى هذا الحامض.

الأحماض النوويّة الرايبوزيّة الصغيرة RNAs

وهي أحماض صغيرة، يتروح طولها بين ٥٠-٢٥٠ نكليوتايد، وهي غير مشفّرة، وظيفتها الرئيسية هي التحكّم بالتعبير الجيني، ويُنظر لها كأداة فاعلة في الصراع مع البكتيريا المقاومة للأدوية وتلعب دورًا مهمًّا في الكثير من العمليّات الحيويّة مثل الارتباط بالحامض النوويّ الرايبوزيّ المراسل والبروتينات في غير حقيقية النواة (Prokaryotes).

البريونات Prions

وهي بروتينات مُعدِية، تخرج عن الوظيفة الأساسية للبروتينات التي تقوم بوظائف خلويّة محدّدة، حيث تستطيع تحويل الأشكال الأصليّة للبروتينات إلى شكل آخر مُعْدٍ ومُؤذٍ، وتُعتَبر بهذه الصورة عاملًا فوق وراثياً يستطيع إحداث تغيير للنمط المظهري دون تغيير في الجينوم.

ويَعتبِر البعض أنّ البريونات الفطريّة عواملٌ فوق جينيّة **لأنّ النمط المظهري المعدي منها قد يتمّ وراثته دون تعديل في الجينوم**، ويُعتَبر البروتينان (+PSI) و(URE3) اللذان اكتُشِفا في الخميرة عامي ١٩٦٥ و ١٩٧١ أفضل مثالين على هذا النوع من البريونات. تعمل هذه البريونات من خلال تحطيم البروتينات المتجمّعة، مقلّلة من نشاطها. **وفي الخلايا التي تحتوي**

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic/4th Stage/Field Crops Sciences

على البروتين **PSI+** يحدث خلل في البروتين **Sup35** مسبّبا معدلًا أعلى من القراءة لدى الرايبوسومات لشيفرة التوقّف.

تموقع الأجسام النوويّة Nuclear bodies packaging

يتمّ تعليب الجينوم (packaging) بمساعدة الأجسام النوويّة، وتموقع هذه الأجسام ليس عشوائيًا، **بل يحدّد إمكانية وصول الحامض النوويّ DNA للبروتينات المنظمة والمتحكّمة، وهذا يحدّد الاختلافات في تعبير الجينات عن نفسها وتمايز الخلايا، ويتمّ استبقاء بعض الأجسام النوويّة هذه في الخلايا التكاثرية.** وهكذا، فإنّ تموقع هذه الأجسام قابل للوراثة نسبيًا، وأفادت دراسات حديثة أنّ هناك علاقة بين هذا التموقع وبعض العوامل فوق الوراثية الأخرى، كميثلة الحامض النوويّ.

References

1. Kary B. Mullis. 1990. The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction. 262(4): 56-65.
2. Kenshi Hayashi, Kary B. Mullis, François Ferré, Richard A. Gibbs. 1994. The Polymerase Chain Reaction Birkhäuser Basel. P, 464.
3. Zahra M Alkhafaji and Hassan M Abu-Almaali. 2013. PCRing and Primer Design. University of Baghdad, Baghdad. P, 304.
4. Mahmood M. Refaat and Saad B. Aloutabi. 2008. Introduction to Biotechnology. The General Egyptian Association of International Books and Documents, Cairo. P, 312
5. Elsahookie, M.M., and Ayoob O. Alfalahi. 2008. Polyploidy and its relationship with plant breeding and adaptation. The Iraqi J. Agric. Sci. 39(6):49-71.
6. Elsahookie, M.M., and Ayoob O. Alfalahi. 2008. TILLING: Modern technique combines traditional mutagenesis and functional genomics. The Iraqi J. Agric. Sci. 40(1):1-25.

Assist.Prof. Dr.Ayoob Obaid Alfalahi
Molecular Genetic/4th Stage/Field Crops Sciences