به نام خداوند بخشنده مهربان

ژنتیکا

روشها و پروتکلهای ژنتیکی

www.genetica.ir

آشنایی با پروژه ژنوم انسان

پروژه ژنوم انسان: طرح نقشه‌برداری و تعیین توالی کل ژنوم انسان اولین بار در سال ۱۹۸۴ در کنفرانسی در Alta Uta عنوان شد. تأمین قسمتی از بودجه این پروژه را دپارتمان انرژی آمریکا به عهده گرفت و در سال ۱۹۸۸ کنگره آمریکا رسماً اجرای پروژه ژنوم انسانی را از سال ۱۹۹۱ به مدت ۱۵ سال تصویب کرد. در این سال انسیتو بهداشت ملی آمریکا (NIH) نیز برای اجرای این طرح اعلام آمادگی کرد. بزودی کشورهای انگلیس، فرانسه، آلمان و ژاپن نیز به این پروژه پیوستند. در سال ۱۹۹۸ سازمان ژنوم انسانی (HUGO) ایجاد شد. اهداف اولیه پروژه ژنوم انسانی که از سوی HUGO دنبال می‌شد چنین است:

- تعیین نقشه دقیق ژنتیکی کروموزومها
- تهیه نقشه فیزیکی کروموزومهای اورگانیسم‌هایی که به‌عنوان مدل انتخاب شده‌اند
- تعیین توالی کل ژنوم انسان
- ایجاد شبکه‌های ارتباطی و بانک‌های اطلاعاتی

تعیین توالی بیش از ۹۰ ٪ ژنوم انسان در فوریه سال ۲۰۰۱ به پایان رسید. اما هنوز بسیاری از ژنهای انسان شناسایی نشده‌اند.

روش‌ها

در انجام پروژه ژنوم انسان (HGP) برای شناسایی ژنها از روشهای مختلف نقشه برداری ژنوم استفاده شده‌است و به مرور زمان تکنیکهای پیشرفته تری برای انجام پروژه، بکار گرفته می‌شود. روال کار برای تعیین توالی ژنوم انسان به این صورت بود که ابتدا کل ژنوم انسان بصورت کتابخانه BAC تهیه شده و سپس با روشهای مختلفی از این کلون‌ها، کانتیگ تهیه می‌شد. سپس قطعه‌های وارد شده در هر یک از کلون‌های کانتیگ تعیین توالی می‌شد. در سال ۱۹۹۲ کار تهیه کانتیگ برای کل کروموزوم ۲۱و Y به پایان رسید. برای تهیه کانتیگها بطور هم‌زمان نقشه برداری ژنتیکی نیز استفاده می‌شد. در سال ۱۹۹۴ نقشه ژنتیکی ژنوم انسان با حد تفکیک cM1 با استفاده از مارکرهای پلی مورف تهیه شد. سرانجام در فوریه سال ۲۰۰۱، HPG اعلام کرد که تعیین توالی ۹۰٪ یوکروماتین ژنوم انسان به پایان رسیده‌است. البته در همان تاریخ شرکت Celera نیز اعلام کرد که ۹۳٪ یوکروماتین ژنوم انسان را به روشی دیگر تعیین کرده‌است. شرکت Celera در سال ۱۹۹۸ ادعا کرده بود که می‌تواند ژنوم انسان را ظرف سه سال با روش دیگری تعیین توالی کند. در این روش به جای این که ابتدا کلون‌های موجود در کتابخانه ژنوم را به صورت شمارشی

مرتب کرده و سپس تعیین توالی کنند، ابتدا BACها را تعیین توالی کرده و سپس از یک الگوریتم کامپیوتری برای تعیین ترتیب قطعه‌های کلون شده استفاده می‌شود.

با تکمیل پروژه ژنوم انسان، شناسایی ژن‌ها، شناسایی جهش‌های بیماریزا، تشخیص بیماریهای ژنتیکی، تشخیصهای پیش از بروز علامت‌ها، پیشگیری از بروز بیماری‌های ژنتیکی و ... بسیار آسان خواهد شد.

بطور کلی پروژه ژنوم انسان نه تنها چهره دانش ژنتیک مولکولی انسانی را دگر گون ساخت بلکه بر بیشتر علوم زیستی اثر زیادی گذاشته‌است.

ژنوم اورگانیسم‌های مدل

یکی از هدف‌های پروژه ژنوم، تعیین توالی ژنوم و شناسایی ژن‌های اورگانیسمهای مدل است. اورگانیسمهای مدل در انجام بسیاری از پژوهش‌های ژنتیکی بکار می‌روند. با مشخص بودن ژنوم این جانداران انجام این تحقیقات با دقت و سهولت بیشتری انجام خواهد شد. در برنامه پروژه ژنوم، تعین توالی ژنوم و شناسایی ژن‌های برخی از جانداران مانند اشریشیا کلی به‌عنوان نماینده پروکاریوت‌ها و ساکاومایسس سرویزیه، C.elegans و موش به‌عنوان نمایندگان یوکاریوت‌ها انجام شده‌است.. بسیاری از ژن‌های مخمر با ژن‌های انسان اورتولوژی دارد و برای بررسی عملکرد این ژن‌ها اغلب از مخمر از نظر آزمایشگاهی کار با آن ساده‌تر است استفاده می‌شود. C.elegans که یک جاندار پر سلولی ساده‌است برای تحقیق در مورد تنظیم بیان ژن‌ها در تمایز سلولی، فرایند پیری و اپوپتوز به کار می‌رود. موش‌ها نیز به‌عنوان پستانداران عالی دربررسی بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی و سرطان‌ها ب کار می‌روند. با نزدیک شدن به پایان پروژه ژنوم انسان، هم‌اکنون دانشمندان پروژه جدیدی را به نام پروژه پروتئوم انسان، شروع کرده‌اند که هدف این پروژه شناسایی کلیه پروتئینهایی است که در سلول‌های انسان بیان می‌شوند (پروتئوم) این پروژه به رهبری سازمان پروتئوم انسان یا HUPO در حال انجام است. با انجام این پروژه خصوصیت‌های کامل پروتیین‌های سلولی، عملکرد آن‌ها و زمان بیان آنها مشخص خواهد شد.

تاریخچه: طرح نقشه برداری و تعیین توالی کل ژنوم انسان اولین بار در سال ۱۹۸۴ در کنفرانسی در Alta Uta عنوان شد . تأمین قسمتی از بودجه این پروژه را دپارتمان انرژی آمریکا بعهده گرفت و در سال ۱۹۸۸ کنگره امریکا رسماً اجرای پروژه ژنوم انسانی را از سال ۱۹۹۱ به مدت ۱۵ سال تصویب کرد. در این سال انسیتوبهداشت ملی آمریکا (NIH) نیز برای اجرای این طرح اعلام آمادگی کرد. بزودی کشورهای انگلیس ،فرانسه ، آلمان و ژاپن نیز به این پروژه پیوستند . در سال ۱۹۹۸ سازمان ژنوم انسانی (HUGO) ایجاد شد . اهداف اولیه پروژه ژنوم انسانی که از سوی HUGO دنبال می شد چنین است :

• تعیین نقشه دقیق ژنتیکی کروموزومها

• تهیه نقشه فیزیکی کروموزومهای ارگانیسمهایی که بعنوان مدل انتخاب شده اند

• تعیین توالی کل ژنوم انسان

• ایجاد شبکه های ارتباطی و بانکهای اطلاعاتی

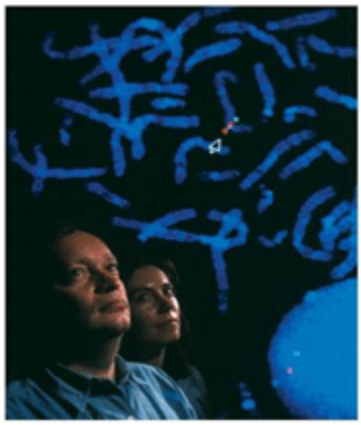
تعیین توالی بیش از ۹۰ ٪ ژنوم انسان در فوریه سال ۲۰۰۱ به پایان رسید. اما هنوز بسیاری از ژنهای انسان شناسایی نشده اند.

روشها:

در انجام پروژه ژنوم انسان (HGP) برای شناسایی ژنها از روشهای مختلف نقشه برداری ژنوم استفاده شده است و به مرور زمان تکنیکهای پیشرفته تری برای انجام پروژه ، بکار گرفته می شود. روال کار برای تعیین توالی ژنوم انسان به این صورت بود که ابتدا کل ژنوم انسان بصورت کتابخانهٔ BAC تهیه شده و سپس با روشهای مختلفی از این کلونها ، کانتیگ تهیه می شد. سپس قطعات وارد شده در هر یک از کلونهای کانتیگ تعیین توالی می شد. در سال ۱۹۹۲ کار تهیه کانتیگ برای کل کروموزوم۲۱و Y به اتمام رسید . برای تهیه کانتیگها بطور همزمان نقشه برداری ژنتیکی نیز استفاده می شد. در سال ۱۹۹۴ نقشه ژنتیکی ژنوم انسان با حد تفکیک cM1 با استفاده از مارکرهای پلی مورف تهیه شد.سرانجام در فوریه سال ۲۰۰۱ ، HPG اعلام کرد که تعیین توالی ۹۰٪ یوکروماتین ژنوم انسان به اتمام رسیده است . البته در همان تاریخ شرکت Celera نیز اعلام کرد که ۹۳٪ یوکروماتین ژنوم انسان را به روشی دیگر تعیین کرده است . شرکت Celera در سال ۱۹۹۸ ادعا کرده بود که می تواند ژنوم انسان را ظرف سه سال با روش دیگری تعیین توالی کند.در این روش بجای اینکه ابتدال کلونهای موجود در کتابخانه ژنوم را بصورت کانتیگ مرتب کرده و سپس تعیین توالی کنند، ابتدا BAC ها را تعیین توالی کرده و سپس از یک الگوریتم کامپیوتری برای تعیین ترتیب قطعات کلون شده استفاده می شود. با تکمیل پروژه ژنوم انسان ، شناسایی ژنها ، شناسایی جهشهای بیماریزا، تشخیص بیماریهای ژنتیکی ، تشخیصهای قبل از بروز علائم ، پیشگیری از بروز بیماری های ژنتیکی و ... بسیار آسان خواهد شد . بطور کلی پروژه ژنوم انسان نه تنها چهره علم ژنتیک مولکولی انسانی را دگر گون ساخت بلکه بر اکثر علوم زیستی تاثیر زیادی گذاشته است.ژنوم اورگانیسمهای مدل:یکی از اهداف پروژه ژنوم ، تعیین توالی ژنوم و شناسایی ژنهای اورگانیسمهای مدل است.اورگانیسمهای مدل در انجام بسیاری از تحقیقات ژنتیکی بکار میروند .با مشخص بودن ژنوم این جانداران انجام این تحقیقات با دقت و سهولت بیشتری انجام خواهد شد.در برنامه پروژه ژنوم ، تعین توالی ژنوم و شناسایی ژنهای برخی از جانداران مانند

E.coli بعنوان نماینده پروکاریوتها و ساکاومایسس سرویزیه ، C.elegans وموش بعنوان نمایندگان یوکاریوتها انجام شده است.. بسیاری از ژنهای مخمر با ژنهای انسان اورتولوژی دارد و برای بررسی عملکرد این ژنها اغلب از مخمر از نظر آزمایشگاهی کار با آن ساده تر است استفاده میشود. C.elegans که یک جاندار پر سلولی ساده است برای تحقیق در مورد تنظیم بیان ژنها در تمایز سلولی، فرایند پیری و اپوپتوز بکار میرود .موشها نیز بعنوان پستانداران عالی دربررسی بسیاری از بیماریهای ژنتیکی و سرطانها بکار میروند. با نزدیک شدن به اتمام پروژه ژنوم انسان ، هم اکنون دانشمندان پروژه جدیدی را بنام پروژه پروتئوم انسان ، شروع کرده اند هدف این پروژه شناسایی کلیه پروتئینهایی است که در سلولهای انسان بیان می شوند (پروتئوم) این پروژه به رهبری سازمان پروتئوم انسان یا HUPO در حال انجام است . با انجام این پروژه خصوصیات کامل پروتئینهای سلولی ، عملکرد آنها و زمان بیان آنها مشخص خواهد شد.

برای آنکه انسان بتواند شرایط زیستی اش را تغییر دهد یا بهبود ببخشد لازم است که از مهندسی معکوس استفاده کند، و برای شناخت اجزای زیستی سرمایه گذاری کند. پروژه ژنوم انسان یکی از این موارد است که ۶ میلیار دلار برای آن هزینه شده است و ربات ها و ابر رایانه هایی برای آن طراحی شدند که عمل آنالیز و ذخیره سازی اطلاعات را انجام دهند .



پروژه ژنوم انسان یک تلاش بین المللی است که ۱۳ سال به طول انجامید و به طور رسمی در اکتبر ۱۹۹۰ آغاز به کار کرد. پروژه ۱۵ ساله طراحی شده بود، اما پیشرفت سریع فناوری، کامل شدن آن را شتاب داد و پروژه در سال ۲۰۰۳ به اتمام رسید. اهداف پروژه تعیین توالی کامل ۳ میلیارد زیرواحدDNA ، تعیین همه ژن های انسان، و قابل دسترس قرار دادن اطلاعات ژنی برای مطالعات زیستی بیشتر، بود. همچنین بخشی از پروژه ژنوم انسان این بود که به موازات، توالی یابی ژنوم برای جانداران مدل نظیر باکتری ای-کولای، برای

کمک به گسترش فناوری و تفسیر عملکرد ژن های انسان، صورت گیرد .دپارتمان انرژی برنامه ژنوم انسان و موسسه ملی سلامت تحقیقات ژنوم انسان مشترکاً حامی مالی پروژه ی ژنوم انسان بودند.

بیش از ۱۸ کشور، برنامه های تحقیقاتی ژنوم انسان را دایر کردند .برخی از برنامه های عظیم تر در استرالیا، برزیل، کانادا، چین، دانمارک، اتحادیه اروپا، فرانسه، آلمان، ایتالیا، ژاپن، کره، مکزیک، هلند، روسیه، سوئد، انگلستان و ایالات متحده است. برخی از کشورهای درحال توسعه از طریق مطالعات تکنیک های زیست مولکولی برای تحقیقات ژنومی و مطالعه ی موجودی که خاص ناحیه جغرافیایی آنهاست، مشارکت داشته اند. سازمان ژنوم انسان (HUGO) به هماهنگی همکاری جهانی در پروژه ژنوم کمک می کرد.

ژن ها اطلاعات لازم برای ساخت همه ی پروتئین های ضروری موجودات را حمل می کند. این پروتئین ها تعیین می کنند که موجود چه طور به نظر برسد، متابولیسم بدنش یا دفاع در مقابل عفونت و حتی رفتارش چه گونه باشد

ژنوم چیست؟ و چرا اهمیت دارد؟

ژنوم کل محتوای DNA یک موجود است که ژن هایش را نیز در بر می گیرد .ژن ها اطلاعات لازم برای ساخت همه ی پروتئین های ضروری موجودات را حمل می کند. این پروتئین ها تعیین می کنند که موجود چه طور به نظر برسد، متابولیسم بدنش یا دفاع در مقابل عفونت و حتی رفتارش چه گونه باشد .

DNAاز ۴ ماده شیمیایی مشابه که باز نامیده می شوند و به اختصارA ، T، Gو C خوانده می شوند، ساخته می شود که میلیون ها یا میلیاردها بار در تمام ژنوم تکرار می شوند. برای مثال ژنوم انسان سه میلیارد جفت باز دارد.

ترتیب ویژه ی A ها، Tها، Cها و G ها بسیار مهم است و زمینه ی تمام تفاوت های حیات است، حتی دیکته می کند که موجود، انسان باشد یا گونه های دیگر از قبیل مخمر، برنج، یا مگس سرکه، که هریک ژنوم خودش را دارند. به این دلیل که همه ی ای موجودات به سبب شباهت در توالی DNA مرتبط هستند، دیدگاه هایی که از ژنوم های غیر انسان بدست آمده است، اغلب منجر به دانش جدیدی درباره زیست شناسی انسان می شود.

مزیای کاربردی شناخت DNA چیست؟

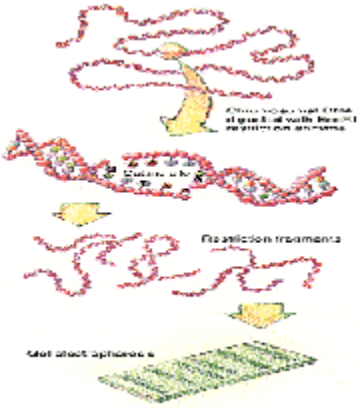
شناخت اثرات تغییرات DNA در میان افراد می تواند منجر به راه های جدید انقلابی برای تشخیص، درمان و حتی روزی پیشگیری از هزاران اختلال که بر ما اثر می گذارد، شود. علاوه بر فراهم ساختن اطلاعات

برای درک زیست شناسی انسان، شناخت توالی DNA موجودات دیگر می تواند منجر به درک درستی از قابلیت های طبیعی آنها شود که می توان آن را درجهت حل چالش های مراقبت های سلامتی، کشاورزی، تولید انرژی، بازسازی و حفظ محیط زیست و جداسازی کربن به کار گرفت .

توالی یابی DNA چگونه انجام می شود؟

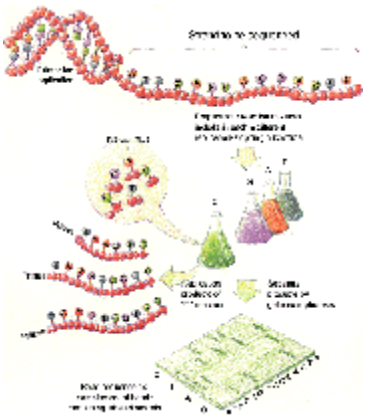
مراحل توالی یابی DNA به طور خلاصه و به زبان ساده به این ترتیب است:

*کروموزوم ها، که دامنه اندازه آنها از ۵۰ میلیون باز تا ۲۵۰ میلیون باز است، باید ابتدا به قطعات کوچک شکسته شوند)**مرحله سابکلونینگ**(



*هر قطعه کوچک به عنوان الگو برای تکثیر مجموعه ای از قطعات که به اندازه یک باز با همدیگر تفاوت طولی دارند استفاده می شود، که باز حذف شده در هر مرحله در مرحله بعدی شناسایی می شود)**مرحله آماده سازی الگو و واکنش های توالی یابی.**(

*قطعات در هر مجموعه توسط ژل الکتروفورز جدا می شوند)**مرحله جدا سازی .**(رنگ های فلورسنت جدید امکان جداسازی هر ۴ نوع قطعه در یک خط واحد در ژل را فراهم می سازد.



*آخرین باز در پایان هر قطعه شناسایی می شود) .**مرحله فراخوانی باز** .(این فرایند توالی اصلی A ها، Tها، Cها و G ها برای هر قطعه کوتاهی که در مرحله اول ایجاد شده را از نو ایجاد می کند.

توالی یاب های خودکار نتیجه حاصل را آنالیز می کنند و خروجی آنها یک کروماتوگرام متشکل از ۴ نوع پیک رنگی که هر رنگ نماینده یکی از چهار باز DNA است، می باشد.

بعد از آنکه باز ها خوانده شدند، کامپیوترها برای مونتاژ کردن توالی قطعات کوتاه حدود ۵۰۰ بازی، به توالی های ممتد طویل که از نظر خطا، ناحیه های کد کننده ی ژنی و دیگر مشخصات آنالیز می شوند، استفاده می شود.

توالی های که خاتمه یافتند به پایگاه داده های توالی عمومی، ارائه می شوند. از جمله مهم ترین و معروف ترین این پایگاه ها GenBankاست. اطلاعات توالی پروژه ژنوم انسان در این بانک به صورت رایگان برای همه افراد در دسترس است.

پروژهٔ ژنوم انسان در سال ۱۹۹۰ با تخصیص بودجه‌ای معادل ۳ میلیارد دلار (سالیانه ۲۰۰ میلیون دلار) و با همکاری مشترک دپارتمان انرژی(DOE) و موسسهٔ ملی بهداشت(NIH) آمریکا آغاز شد. در واقع طرح این موضوع، از اواسط دههٔ ۱۹۸۰ میلادی و با هدف درک مبانی بروز ۴۰۰۰ بیماری ژنتیکی انسان عنوان گردید و سال‌های پایانی این دهه صرف ظرفیت‌سنجی و هماهنگی تحقیقات برای انجام این پروژه بزرگ و بین‌المللی گردید. این پروژه در آغاز به عنوان یک برنامهٔ ۱۵ ساله مطرح گشت اما پیشرفت‌های قابل ملاحظه‌ای که در اجرای آن حاصل آمد، عملاً زمان اجرای آنرا کاهش داد به طوری‌که محققان پروژه امیدوارند نتایج آن تا پایان سال ۲۰۰۳ منتشر گردد.

اهداف و زمانبندی پروژه:

این پروژه با اهداف زیر به اجرا درآمده است:

۱-شناسایی تقریباً همهٔ ژن¬های موجود در ژنوم انسان(بیش از ۱۰۰ هزار ژن)

۲-تشخیص توالی ۳ میلیارد باز آلی که ژنوم انسان را شکل داده¬اند

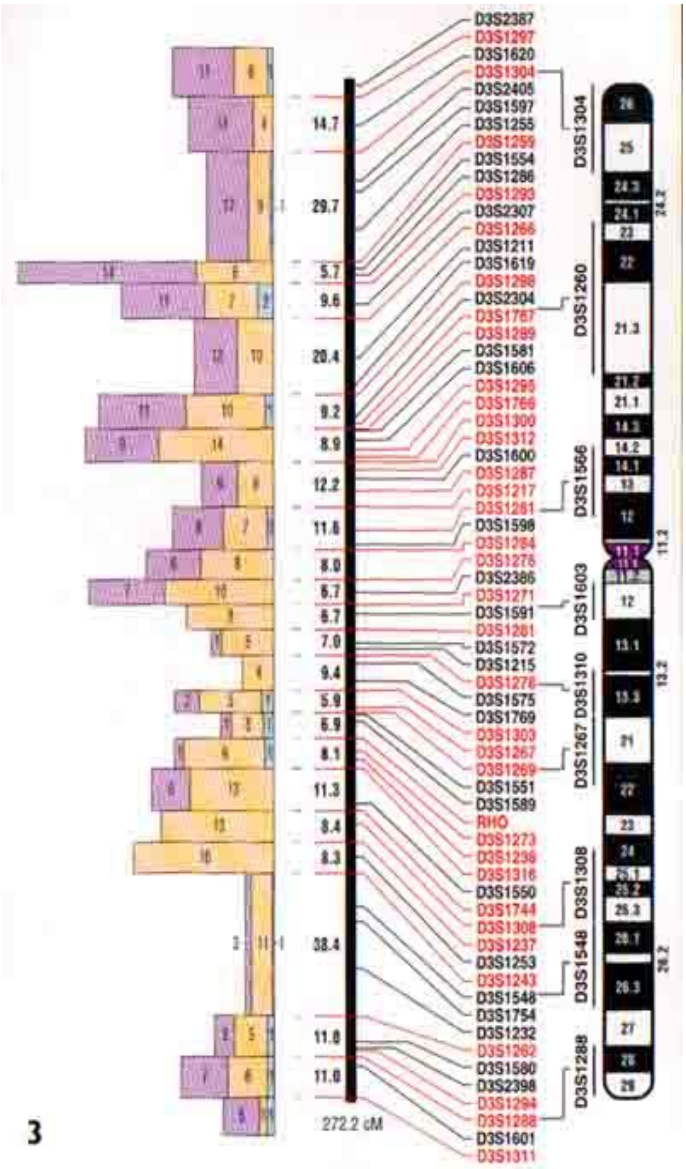
۳-ذخیره¬سازی اطلاعات در پایگاه¬های اطلاعاتی

۴-ارتقای روش¬ها برای تحلیل اطلاعات

۵-انتقال فناوری به بخش¬های خصوصی

۶-نمایان ساختن جنبه¬های اخلاقی، قانونی و اجتماعی که انتظار می¬رود از این پروژه حاصل شود

برای تحقیق روی پروژهٔ ژنوم انسان، لازم بود تا اطلاعات توالی موجودات دیگر مشخص گردد. بنابراین پیش از این پروژهٔ ژنم انسان، پروژه ژنوم باکتری E.coli و مخمر S.cerevisiae به پایان رسید و کار بر روی توالی یابی ژنوم موجوداتی چون کرم خاکی، مگس سرکه و موش ادامه یافت.



پروژهٔ ژنوم انسان، طی سه برنامهٔ ۵ ساله طراحی و اجرا شد:

برنامهٔ اول: ۱۹۹۵-۱۹۹۰ (که به دلیل پیشرفت قابل ملاحظه در سال ۱۹۹۳ به پایان رسید)

برنامهٔ دوم: ۱۹۹۸-۱۹۹۳

برنامهٔ سوم: ۲۰۰۳-۱۹۹۸

اهداف نهایی برنامه سوم در طی برگزاری کارگاه‌های متعدد پایه‌ریزی شد. این کارگاه‌ها توسط دپارتمان

انرژی و موسسه ملی بهداشت آمریکا و با همکاری ۱۸ کشور دنیا و کمک قابل توجه مرکز سانجر در انگلستان و مراکز تحقیقاتی آلمان، فرانسه و ژاپن به اجرا درآمد.

این اهداف عبارت بودند از:

۱-تشخیص کامل توالی‌ها و دسترسی آزاد به اطلاعات به دست آمده

۲-پوشش حداقل ۹۰ درصد ژنوم انسان با کمک کلون‌های مکان‌یابی شده تا پایان سال ۲۰۰۱

۳-تکمیل اطلاعات مربوط به یک سوم ژنوم انسان تا پایان سال ۲۰۰۱

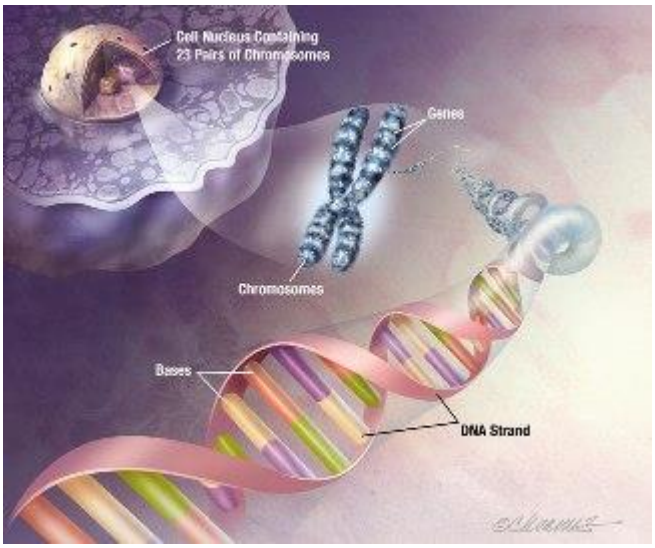
۴-تکمیل پروژه ژنوم تا پایان سال ۲۰۰۳

در ژوئن ۲۰۰۰، دانشمندان اعلام کردند که طرح خام ژنوم انسان یکسال پیش از موعد مقرر تکمیل گردیده و در فوریه ۲۰۰۱ شماره‌های مخصوص ژورنال‌های Science و Nature به بحث پیرامون این قضیه اختصاص یافت. این طرح‌خام شامل اطلاعات مربوط به حدود ۹۰ درصد ژنوم انسان بود. دانشمندان امیدوار هستند تا مصادف با پنجاهمین سال کشف بزرگ واتسون و کریک، این پروژه عظیم را کامل نمایند.

یکی از شالوده‌های اصلی علم زیست‌شناسی مدرن، نظریه تکامل داروین می‌باشد. در فرمول‌بندی کلاسیک نظریه تکامل همیشه سازگارترین گونه‌ها با محیط بقاء می‌یابند. مفهوم سازگاری با محیط واقعا ایده ملالت‌باری است، زیرا آنچه مهم است فقط تعداد نوزادان قادر به تناسل می‌باشد. البته باید به خاطر داشته باشیم که تکامل در یک محیط نوسانی اتفاق می‌افتد و فرآیندی مستمر و تدریجی نیست. نکته مهم دیگر اینکه ما نباید عصر کنونی را پایان و انتهای فرآیند تکامل بدانیم. تکامل نه تنها متوقف نشده است، بلکه شاید در آینده با سرعت بسیار زیادتری پیش رود. ما اساسا کلافی بسیار پیچیده متشکل از ژن‌هائی که زمان لقاح اسپرم و تخمک به ما تعلق می‌گیرند و نیز محیط رشدی هستیم که دقیقا از زمان تشکیل نطفه آن را تجربه می‌کنیم. هر گونه تلاش برای پیش‌بینی آینده یک موجود زنده فقط بر اساس ژن‌ها - یا فقط بر اساس محیط رشد- محکوم به شکست است. این واقعیت همیشه درست بوده است، اما مفهوم تکامل در حال تغییر است. اگرچه هنوز علاقه‌مندیم که برای یک محیط مشخص بهترین ژن‌های مناسب را پیدا کنیم، اما امروزه خوشبختانه به توانائی کنترل محیط دست یافته‌ایم و به خاطر نقشه‌برداری از ژنوم

انسان و پیشرفت مهندسی ژنتیک، می‌توانیم ژن‌ها را نیز تحت کنترل درآوریم. در واقع انسان‌ها دیگر مجبور نیستند که در برابر خواست محیط به ناچار تسلیم شوند، بلکه می‌توانند محیط رشد خود را کنترل کنند. این قدرتی است که ما به آن دست یافته‌ایم. به بیان دیگر، انتخاب طبیعی دیگر تعیین کننده فرآیند تکاملی نیست بلکه از این پس انتخاب مصنوعی مسیر تکامل انسان را تعیین خواهد کرد.

صد سال پیش هیچ کسی نمی‌دانست که دی. ان. آ چیست. پنجاه سال پیش، یعنی قبل از کشف پرفسور واتسون و کریک، ما نمی‌دانستیم که ژن‌ها دی. ان. آ هستند. اما امروزه زنجیره کامل دی. ان. آ چندگونه از جانوران را می‌دانیم و نقش و تاثیر اکثر آنها را می‌فهمیم. طبیعتا سوالی که مطرح می‌شود این است که ۵۰ سال آینده دانش و فنآوری زیستی چقدر پیشرفت خواهد کرد؟ با توجه به پیش‌بینی‌ها و تجارب خودم، هرگونه پیش‌بینی در این باره هر چقدر هم که متهورانه باشد، در نگاه نسل‌های آینده بسیار محافظه‌کارانه خواهد بود. در پروژه ژنوم انسان نقشه‌ای با جزئیات کامل فراهم می‌شود که می‌توانیم با استفاده از آن هر چیز مشخص مربوط به ژنتیک انسان را به سرعت پیدا کنیم.



در سازمانی که من در آن مشغول به کارم، ژن‌هائی را کشف کرده‌ایم که مسبب خصوصیات پیچیده انسان و همچنین بیماری‌های پیچیده‌ای هستند که افراد مختلف به آنها دچار می‌شوند. ظرف ۱۸ ماه گذشته حجم مطالعات و پژوهش‌های ژنتیکی توسط ما بیش از کل چنین مطالعاتی در طی تاریخ کره زمین بوده است. سیستم رایانه‌ای خودکاری که طراحی کرده‌ایم هر روزه تقریبا ۲۰۰ هزار اندازه‌گیری ژنتیکی انجام می‌دهد. با استفاده از این سیستم، ژن‌هائی را کشف کرده‌ایم

که مسبب اکثر بیماری‌های مهم از جمله سرطان پوست، بیماری‌های قلبی- عروقی، سرطان سینه، دیابت، آرتروز، سرطان ریه، و اسکیزوفرنی هستند. ما ژن‌هائی را شناسائی کرده‌ایم که مسوول بروز تقریبا ۲۵ درصد هر یک از این بیماری‌ها هستند. نشانه اینکه در مسیر درستی قرار داریم این است که ژن‌هائی را که قبلا می‌دانستیم در بروز برخی بیماری‌ها نقش دارند، با این سیستم خودکار مجددا کشف کرده‌ایم.

یکی از نتایج مهم چنین پیشرفت‌هائی این است که در آینده علم پزشکی و روش درمان بیماران از بیخ و بن تغییر خواهد کرد، زیرا خواهیم توانست استعداد ابتلاء به بیماری‌های ارثی را در افراد ریشه کن کنیم. به بیان دیگر روش‌های درمانی آینده کاملا فردی بوده و هر شخصی راه درمان مخصوص خود را خواهد داشت. حداقل نصف موارد بیماری‌زا را نمی‌توان با روش‌های درمانی سنتی کنونی از بین برد. در عوض، پزشکان آینده با استفاده از ژن درمانی از بیماری‌ها پیشگیری خواهند کرد. بنابراین پزشکی آینده از حالت انفعالی خارج شده و پیش‌دستانه عمل خواهد کرد. در بین روش‌های ژن درمانی، روش سوماتیک کمتر محل مناقشه است. در این روش درمانی یک ویروس یا سلول بنیادی به کار رفته و تغییرات ژنتیکی به فرزندان فرد بیمار منتقل نمی‌شوند. در واقع این روش صرفا اثر مسکن دارد و هنگامی که ارگانیسم بمیرد، اثرات درمانی نیز از بین می‌روند. در حالیکه در روش دیگر، که "مهندسی ژنتیک جرم‌لاین" نامیده می‌شود و جنجال برانگیز است، از سلول‌های بنیادی جنینی استفاده می‌شود و در نتیجه اثرات درمان همیشگی و موروثی خواهند بود. به بیان دیگر اثرات این نوع ژن درمانی به نسل بعدی منتقل می‌شوند.

من تصور می‌کنم که استاندارد شدن همانند سازی انسان و ژن درمانی جرم‌لاین فقط چند سال دیگر زمان می‌خواهد. اما سنت‌های فرهنگی در برابر چنین پیشرفت‌هائی مانع ایجاد می‌کنند. به طور کلی اروپائیان سنتی درباره ارگانیسم‌های اصلاح شده ژنتیکی (تراریخت)، اگر نگوئیم کاملا مخالف، مردد هستند. از سوی دیگر چینی‌ها و هندی‌ها با علاقه زیاد چنین امکاناتی را دنبال می‌کنند. در برخی استان‌های شمالی هند، به خاطر استفاده از فنآوری کنترل جنسیت، نسبت تولد پسران به دختران ۴ به ۳ است. اخیرا نخست وزیر چین گفته است که " ما با استفاده از مهندسی ژنتیک مردم چین را تغییر می‌دهیم تا هزینه‌های بهداشتی و مراقب از آنها را کاهش دهیم." توقف پیشرفت‌های مهندسی ژنتیک ممکن نیست، زیرا پیشرانه این تحولات ملاحظات اقتصادی می‌باشد.

من فکر نمی‌کنم که بتوان مجموعه‌ای یکنواخت از قوانین و ضوابط برای این نوع پیشرفت‌های فنآوری تهیه کرد. اما مطمئنم کسانی که مسیر گزینش را هدایت می‌کنند، شانس بقای بیشتری خواهند داشت. البته پیش‌بینی اینکه چه کارهائی را نباید انجام دهیم چندان دشوار نیست. نخست اینکه باید مواظب باشیم تا انتهای این جاده نرویم و همه انسان‌ها را یکدست و یکنواخت نکنیم. تکامل همیشه طرفدار تنوع است، زیرا اگر شرایط محیط دشوار شود فقط در صورت وجود تنوع موجودات بقاء می‌یابند. علاوه بر این، یکنواخت شدن نسل بشر بسیار کسالت‌آور خواهد بود و من فکر می‌کنم که یکی از بیم‌های آینده این است که حوصله انسان از زندگی کردن سر برود.

اگر کسی می‌توانست سوار بر ماشین زمان به دویست سال آینده سفر کند، مطمئن نیستم که آیا قادر می‌بود انسان‌ها را از بقیه تشخیص دهد چرا که آنها تا آن زمان بسیار تغییر خواهند کرد. امروزه ما نه تنها ابزارهای لازم را برای کنترل تکامل به دست آورده‌ایم، بلکه می‌توانیم سرعت پیشرفت آن را فوق‌العاده افزایش دهیم. خلاصه اینکه تکامل کاملا در تسخیر ماست. من فقط می‌توانم امیدوار باشم که ما انسان‌ها از این قدرت عظیم عاقلانه استفاده کنیم.

طرح نقشه‌برداری و تعیین توالی کل ژنوم انسان اولین بار در سال ۱۹۸۴ در کنفرانسی در Alta Uta عنوان شد. تأمین قسمتی از بودجه این پروژه را دپارتمان انرژی آمریکا به عهده گرفت و در سال ۱۹۸۸ کنگره امریکا رسماً اجرای پروژه ژنوم انسانی را از سال ۱۹۹۱ به مدت ۱۵ سال تصویب کرد. در این سال انسیتو بهداشت ملی آمریکا (NIH) نیز برای اجرای این طرح اعلام آمادگی کرد. بزودی کشورهای انگلیس ،فرانسه، آلمان و ژاپن نیز به این پروژه پیوستند. در سال ۱۹۹۸ سازمان ژنوم انسانی (HUGO) ایجاد شد. اهداف اولیه پروژه ژنوم انسانی که از سوی HUGOدنبال می‌شد چنین است:

- تعیین نقشه دقیق ژنتیکی کروموزومها
- تهیه نقشه فیزیکی کروموزومهای اورگانیسم‌هایی که به‌عنوان مدل انتخاب شده‌اند ◆ تعیین توالی کل ژنوم انسان
- ایجاد شبکه‌های ارتباطی و بانک‌های اطلاعاتی

تعیین توالی بیش از ۹۰ ٪ ژنوم انسان در فوریه سال ۲۰۰۱ به پایان رسید.اما هنوز بسیاری از ژنهای انسان شناسایی نشده اند.

روشهادر انجام پروژه ژنوم انسان (HGP) برای شناسایی ژنها از روشهای مختلف نقشه برداری ژنوم استفاده شده است و به مرور زمان تکنیکهای پیشرفته تری برای انجام پروژه، بکار گرفته می‌شود. روال کار برای

تعیین توالی ژنوم انسان به این صورت بود که ابتدا کل ژنوم انسان بصورت کتابخانه BAC تهیه شده و سپس با روشهای مختلفی از این کلون‌ها، کانتیگ تهیه می‌شد. سپس قطعه‌های وارد شده در هر یک از کلون های کانتیگ تعیین توالی می‌شد. در سال ۱۹۹۲ کار تهیه کانتیگ برای کل کروموزوم ۲۱و Y به پایان رسید. برای تهیه کانتیگها بطور هم‌زمان نقشه برداری ژنتیکی نیز استفاده می‌شد. در سال ۱۹۹۴ نقشه ژنتیکی ژنوم انسان با حد تفکیکcM ۱ با استفاده از مارکرهای پلی مورف تهیه شد.سرانجام در فوریه سال ۲۰۰۱، HPGاعلام کرد که تعیین توالی ٪۹۰ یوکروماتین ژنوم انسان به پایان رسیده است. البته در همان تاریخ شرکت Celera نیز اعلام کرد که ٪۹۳ یوکروماتین ژنوم انسان را به روشی دیگر تعیین کرده است. شرکت Celera در سال ۱۹۹۸ ادعا کرده بود که می‌تواند ژنوم انسان را ظرف سه سال با روش دیگری تعیین توالی کند.در این روش به جای این که ابتدال کلون‌های موجود در کتابخانه ژنوم را به صورت کانتیگ مرتب کرده و سپس تعیین توالی کنند، ابتدا BAC ها را تعیین توالی کرده و سپس از یک الگوریتم کامپیوتری برای تعیین ترتیب قطعه‌های کلون شده استفاده می‌شود.

با تکمیل پروژه ژنوم انسان، شناسایی ژن ها، شناسایی جهش های بیماریزا، تشخیص بیماریهای ژنتیکی، تشخیصهای پیش از بروز علامت‌ها، پیشگیری از بروز بیماری های ژنتیکی و ❓ بسیار آسان خواهد شد.

بطور کلی پروژه ژنوم انسان نه تنها چهره دانش ژنتیک مولکولی انسانی را دگر گون ساخت بلکه بر بیشتر علوم زیستی اثر زیادی گذاشته است.

ژنوم اورگانیسم های مدل

یکی از هدف‌های پروژه ژنوم، تعیین توالی ژنوم و شناسایی ژن‌های اورگانیسمهای مدل است.اورگانیسمهای مدل در انجام بسیاری از پژوهش‌های ژنتیکی بکار میروند .با مشخص بودن ژنوم این جانداران انجام این تحقیقات با دقت و سهولت بیشتری انجام خواهد شد.در برنامه پروژه ژنوم، تعین توالی ژنوم و شناسایی ژن‌های برخی از جانداران مانند E.coli به‌عنوان نماینده پروکاریوت ها و ساکاومایسس سرویزیه، C.elegansو موش به‌عنوان نمایندگان یوکاریوت ها انجام شده است.. بسیاری از ژن‌های مخمر با ژن‌های انسان اورتولوژی دارد و برای بررسی عملکرد این ژن‌ها اغلب از مخمر از نظر آزمایشگاهی کار با آن ساده‌تر است استفاده می‌شود C.elegans .که یک جاندار پر سلولی ساده است برای تحقیق در مورد تنظیم بیان ژن‌ها در تمایز سلولی، فرایند پیری و اپوپتوز به کار می‌رود .موش‌ها نیز به‌عنوان پستانداران عالی دربررسی بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی و سرطان‌ها ب کار می‌روند. با نزدیک شدن به پایان پروژه ژنوم انسان، هم‌اکنون دانشمندان پروژه جدیدی را به نام پروژه پروتئوم انسان، شروع کرده‌اند که هدف این پروژه شناسایی کلیه

پروتئینهایی است که در سلول‌های انسان بیان می‌شوند (پروتئوم) این پروژه به رهبری سازمان پروتئوم انسان یا HUPO در حال انجام است. با انجام این پروژه خصوصیت‌های کامل پروتیین‌های سلولی، عملکرد آن‌ها و زمان بیان آنها مشخص خواهد شد

پروژه هزار ژنوم انسانی، تفاوت انسان‌ها را مشخص کرد

پزشکی - یک تلاش بین المللی برای یافتن تنوع در ژن‌های انسانی به اولین نقطه عطف خود رسیده و با شناسایی ۱۵ میلیون گونه ژنی، تفاوت‌های ژنتیکی بین اقوام و افراد مختلف را آشکار کرده است.

پس از مدت‌ها انتظار برای نتایج فاز آزمایشی اولین تلاش گسترده تعیین توالی ژنی انسان‌ها، این پروژه توانست ۹۵ درصد گونه‌های شناخته شده در ژنوم انسانی را تعیین کرده و به شناخت چیزی در حدود ۱۵میلیون گونه ژنی منجر شود که بیشتر از نصف آنها تا پیش از این هرگز دیده نشده بودند. این داده‌ها نمایان‌گر کامل‌ترین تلاش انجام شده تاکنون برای درک عمق تفاوت‌های ژنتیکی بین افراد و اقوام است، ولی نتایج حاصل همچنین این واقعیت را برجسته می‌کنند که داده‌های بسیار زیادی برای کشف باقی مانده‌اند.

به گزارش نیچر، پروژه هزار ژنوم انسانی که حاصل کنسرسیومی از پژوهشگران بیش از ۷۵ دانشگاه و شرکت از سراسر جهان است، دو سال پیش ماموریتی را برای فهرست کردن گونه‌های ژنتیکی (تفاوت‌های کوچک بین افراد در مناطق مشخص ژنوم انسان) که در همه اقوام پیدا می‌شوند، آغاز کرد. نتایج ارزیابی نشان داد که چنین تفاوت‌هایی نسبتا معمولند و ژنوم هر فرد به طور متوسط حاوی بین ۲۵۰ تا ۳۰۰ نمونه از چیزی است که اصطلاحا جهش «نبود عملکرد» خوانده می‌شود و ژن را از انجام وظیفه خود باز می‌دارد.

ریچارد دوربین، متخصص ژنوم در موسسه ولکام‌تراست‌سنجر در هینکستون انگلیس و یکی از معماران ارشد این پروژه می‌گوید: «این رقم نسبتا زیادی است؛ و تقریبا یک درصد کل ژن‌ها را در بر می‌گیرد».

معدن طلای داده‌ها

این اولین بازوی پروژه است که از سه بخش تشکیل شده است: اول تعیین توالی کامل ژنی ۱۷۹ نفر در غرب افریقا، اروپا، چین و ژاپن با سطح دقت نسبتا پایین؛ دوم تعیین توالی ژنی کامل دو گروه از خانواده‌های سه نفره شامل یک کودک و والدینش با سطح دقت بالا؛ و در نهایت تعیین توالی نواحی exome (نواحی از ژنوم که حاوی ژن‌های کدگذاری کننده پروتئین هستند) برای ۶۹۷ نفر دیگر.

به گفته دیوید گلدشتاین، متخصص ژنتیک از دانشگاه دوک در دورهام کالیفرنیای‌شمالی که در این کنسرسیوم شرکت داشته، مقاله‌ای که تحلیل توالی داده‌ها را تشریح می‌کند، شاید آن قدر که تاکنون در

میان عموم منتشر شده، غافل‌گیری بزرگی برای متخصصین ژنتیک نباشد؛ ولی به گفته او تاثیرات چنین کشفی طولانی‌مدت و سازنده خواهند بود. علاوه بر تولید مقادیر عظیمی از داده‌های خام، تحلیل آنها نیز پژوهشگران را بر آن داشته تا ابزارهایی را برای کار با این گونه داده‌ها بسازند. گلدشتاین این را «صندوقچه گنج مملو از ابزارهای لازم برای تعیین کامل توالی ژنی» می‌نامد.

این پروژه در فاز بعدی خود، دامنه اقدامات تعیین توالی را گسترده‌تر خواهد کرد و کار را به ۲۵۰۰ نفر تعمیم خواهد داد.

این فهرست به پژوهشگران مرجعی خواهد داد تا جهش‌های ژنی را که در بیماران خود پیدا می‌کنند، با آن مقایسه کنند. دوربین هم‌چنین به این نکته اشاره می‌کند که مقایسه تفاوت‌ها در ژنوم‌های افراد مختلف منجر به خلق تصویر بهتری از نحوه عملکرد نیروهای تکاملی بر روی ژن‌های مشخص برای ایجاد ویژگی‌های جدید می‌شود.

گونه‌های نادرتر

مقاله دیگری از این پروژه که در مجله ساینس منتشر شده، روش جدیدی را برای یافتن تفاوت‌ها در مناطقی از ژنوم که حاوی کپی‌های چندگانه از ژن‌ها هستند معرفی می‌کند. به گفته اوان ایشلر از دانشگاه واشینگتن در سیاتل، نویسنده اصلی این مقاله و رئیس گروه کاری پروژه هزار ژنوم بر روی تفاوت‌های ساختاری، این نوع از تفاوت‌های ساختاری را نمی‌توان با استفاده از روش‌های سنتی پیدا کرد و رهگیری آن نیز خیلی سخت است.

در مقایسه قطعات دی‌ان‌ای که حاوی کپی‌هایی از ژن‌ها در انسان‌ها و میمون‌های بزرگ هستند، اعضای گروه توانستند در تعداد کپی‌ها تفاوت‌های زیادی را بین گونه‌ها در ژن‌های مرتبط با رشد مغزی تعیین کنند. ایشلر می‌گوید: «به طور مجزا، این‌ها تنها تعدادی داستان هستند، ولی در مجموع برای من این سیگنالی است که ادعا می‌کند این ژن‌ها و خانواده‌های ژنی مشخص در انسان تقویت شده‌اند؛ یافته‌هایی که نشان می‌دهند که بخش بزرگی از داده‌های ژنومی هنوز کشف نشده باقی مانده‌اند».

به گفته گلدشتاین مقاله منتشر شده در ساینس به لحاظ فناوری هم «بسیار دلگرم کننده است. این گامی بزرگ به جلو در توانای ما برای بازنمایی دقیق این نوع از تفاوت‌ها و تنوع است».

تعیین توالی ژنی به لحاظ فناوری گامی به جلو محسوب نمی‌شود، و شیوه‌های جاری هم در معرض خطاهایی قرار دارند که باید در مرحله تحلیل تصحیح شوند و یا در نظر گرفته شوند. به گفته دیوید آلتشولر؛ مسئول ژنتیک پزشکی و اجتماعی در انستیتوی برود در کمبریج ماساچوست و عضوی از کنسرسیوم؛ یکی از فواید

اولیه پروژه هزار ژنوم این است که توانسته به عنوان یک آزمایشگاه پژوهشی اشتراکی عمل کند که در آن، پژوهشگران می‌توانند بر روی مجموعه‌ای از بهترین شیوه‌ها به توافق برسند.

در سالیان گذشته، فراگیرترین راه برای تحقیق در مورد ژنتیک بیماری‌ها بررسی کل ژنوم بود که به دنبال جهش‌هایی در مناطق مشخص ژنوم می‌گشت که می‌دانستیم در ۵ درصد افراد با بقیه تفاوت دارند و تلاش می‌کرد تا این‌ها را به بیماری‌های خاصی ربط دهد. ولی این تحقیقات به نتیجه نرسید و خیلی از پژوهشگران پیشنهاد دادند که شاید گونه‌های نادرتر نقش مهم‌تری در این میان داشته باشند.

آلتشولر می‌گوید: «هیجان‌انگیز این است که ما به سمتی می‌رویم که ابزارها و شیوه‌های لازم را به دست بیاوریم تا به جای حدس و گمان، پاسخی تجربی برای این پرسش پیدا کنیم».