مجلهٔ زیست‌شناسی ایران
(علمی)

جلد۵، پیاپی۱۰، پائیز و زمستان ۱۴۰۰

صاحب امتیاز: انجمن زیست شناسی ایران

مدیر مسئول : دکتر محمد نبیونی

سردبیر: دکتر علی فرازمند

ویراستار: دکترعلی فرازمند

مدیر اجرایی: امیرحسین بندلی

آماده‌سازی جلد: نیلوفر پورکمالی

ناظر چاپ: عارف آریافر

چاپ: مرکزنشردانشگاهی

هیئت تحریریه:

دکتر ناصر آق

دکتر سعید امین‌زاده

دکتر اباصلت حسین‌زاده

دکتر فرشاد درویشی

دکتر غلامرضا رکنی لموکی

دکتر علیرضا ساری

داوران:

دکتر سمیه اسمعیلی رینه، دکتر وحید اکملی، دکتر منصورافشارمحمدیان، دکتر سعید امین‌زاده، دکتر علیرضا ایرانبخش، دکتر سعیده جعفری نژاد، دکتر فرشاد درویشی، دکتر شکیبا درویشعلیپور، دکتر اتابک روحی امینجان، دکتر علیرضا ساری، دکتر سپیده سپهری، دکتر محسن شریفی، دکتر زهرا علیزاده، دکتر مرتضی عطری، دکتر عطاالله کالیراد، دکتر ربابه لطیف، دکتر رضاندرلو، دکتر حلیمه حسن پور

آدرس: تهران، خیابان شهید یدالله کلهر، پلاک ۲۸۵- واحد۱۷، دفتر انجمن زیست‌شناسی ایران

سایت اینترنتی: www.ibs.org.ir

سایت مجله زیست‌شناسی ایران: www.ijbio.ir

تلفکس : ۰۲۱۶۶۹۱۶۰۰۷

۷۵۰,۰۰۰ ریال

راهنمای نگارش مقاله

الف) هدف: مجله زیست شناسی ایران به شکل فصلنامه و هر سه ماه یکبار توسط انجمن زیست شناسی ایران منتشر می‌شود. هدف از انتشار این مجله معرفی مسائل و مفاهیم آموزشی و پژوهشی و کاربردی دانش زیست شناسی، بویژه در کشور، در زمینه های مختلف و متنوع علوم است، جهت افزایش سطح دانش زیست شناسی و آشنا ساختن جامعه با تحولات و چالشهای آن در سطح ملی و بین المللی است.

ب) نکات راهنما در نگارش:

۱- در مقاله، قواعد دستور زبان فارسی و رسا بودن جملات مورد توجه ویژه قرار گیرد.

۲- مقالات ارسالی برای چاپ در این مجله نباید قبلاً چاپ شده (مگر در شکل خلاصه در گردهماییها) و یا به طور همزمان برای چاپ به مجلات دیگر ارائه شده باشد.

۳- مسئولیت درستی مطالب مندرج در مقاله بر عهده نویسنده یا نویسندگان مقاله است.

۴- مجله در پذیرش، رد، و اصلاح (ویرایش و پیرایش) مقالات آزاد است.

۵- استفاده از مقالات مجله با ذکر مآخذ آزاد است.

۶- مقالات دریافتی توسط هیأت تحریریه با همکاری متخصصان داوری شده، در صورت تصویب با رعایت نوبت به چاپ می رسد . تصمیم نهایی برای چاپ مقاله توسط هیأت تحریریه صورت می گیرد.

ج) روش تنظیم مقاله: از اساتید، متخصصان و پژوهشگرانی که مایل به چاپ مقالات خود در مجله زیست شناسی ایران هستند خواهشمند است نکات زیر را در تدوین و ارسال مقاله رعایت فرمایند.

۱- مقالات ارسالی می تواند به شکل مروری و یا مقاله علمی پژوهشی در زمینه آموزش و پژوهش و نقد برنامه های آموزشی باشد.

۲ – در مقالات مروری باید مقتضیات و ضروریات ویژه این شکل از مقالات رعایت شود. انتظار می رود کانون توجه این مقالات مسائل روز و در عین حال عامتر علمی باشد.

۳- مقالات باید به زبان فارسی تهیه شوند و هر مقاله یک چکیده به انگلیسی داشته باشد.

۴- مقالات نباید از ۱۲ صفحه چاپ شده در مجله (حدود ۶ هزار کلمه) تجاوز کند.

۵- مقالات بایستی با حداقل فاصله خطوط ۱/۵ سانتیمتر و به صورت یک رو در کاغذ قطع A4 تایپ شود. حاشیه بالا و پایین و طرفین ۳ سانتیمتر در نظر گرفته شود تا امکان ویرایش آن فراهم باشد.

۶- هر مقاله باید دارای قسمتهای زیر باشد: عنوان مقاله، مشخصات مؤلف یا مؤلفین و آدرس دقیق همراه با شماره تلفن و email فرستنده (مسئول مکاتبات)، چکیده به فارسی و انگلیسی با ۲ تا ۵ واژه کلیدی (keywords)، و فهرست منابع.

۷- شکلها، جداول و نمودارها شماره گذاری و به همراه زیر نویس آنها در انتهای متن جداگانه آورده شود.

۸- فهرست منابع باید به ترتیب زیر به صورت الفبایی (نام خانوادگی اولین مؤلف) تنظیم و شماره هر مورد در متن داخل پرانتز آورده شود: مقاله) نام خانوادگی مؤلف یا مؤلفین، حروف نخست نام کوچک، (سال انتشار)، عنوان مقاله، نام مجله و شماره مجله و شماره صفحات. و کتاب) نام خانوادگی مؤلف یا مؤلفین، حروف نخست نام کوچک، سال انتشار، و کتابهای ترجمه: نام کتاب، تعداد صفحات، نام خانوادگی مؤلف یا مؤلفین، حروف نخست نام کوچک، سال انتشار، نام مترجم یا مترجمین، تعداد صفحات.

۹ – در نوشتن منابع، در صورت استفاده از منابع فارسی، ابتدا این منابع و سپس منابع خارجی آورده شود.

۱۰- تایپ مقاله با 2007 یا word 2003 در محیط ویندوز یک ستونی انجام شود.

۱۱- در صورت دسترسی به مشخصات DOI ، لطفاً در پایان مقاله وارد کنید.

برای ارسال مقاله به صورت online از سایت مجله زیست شناسی ایران به نشانی www.ijbio.ir استفاده فرمایید.

فهرست

سخن سردبیر

نیم قرن انتظار: از رویای پردیسان تا واقعیت باغ گیاهشناسی تهران ۱

حسین آخانی، مریم ملک‌محمدی، حسنا پورهاشمی و نفیسه صمدی

سالگرد تولد ژنوم انسان، میراث دشوار: ژنوم انسان در بیست سالگی ۲۴

وحیده حسن زاده

وراثت‌پذیری ۳۳

عطا کالیراد

ژنهایی از پستوخانه ۴۸

نازنین عندلیب

بستن ژنگان کامل انسان ۵۴

نازنین عندلیب

مهندسی RNA حلقوی به منظور ترجمه قوی و پایدار در سلول‌های یوکاریوتی ۵۹

ارد قویمی، سعید امین زاده

مقدمه‌ای بر توالی‌یابی نسل جدید و کاربردهای آن ۷۴

الهه محمودی، مینا امین و مهرداد زینلیان

مروری بر ابزار کریسپر برای ویرایش ژنگان ۸۶

زهرا ایران‌دوست، زهرا مرحمتی و سیدمحسن دهنوی

توسعه ساختار آموزش زیست شناسی با استفاده از نقشه های مفهومی ۱۰۱

حسین فراست

مروری بر تاثیرات تغییرات اقلیم بر بوم‌سازگان‌های مانگرو ۱۱۱

نسترن دلفان و مهدی قدرتی شجاعی

مروری بر اهمیت ماکروجلبک‌ها در صنعت آبزی پروری (با تاکید بر ماهیان) ۱۱۷

رضوان تمدنی، وحید مرشدی و محمد صراف

مورینگا اولیفرا، درخت معجزه ۱۲۵

فاطمه ولایتی پور، فاطمه فتوحی چاهوکی، سیدعبدالحمید انگجی ، سعید امین زاده

نیروی حیات ۱۲۹

ربابه لطیف

استرس اکسیداتیو و بیماری‌های انسانی ۱۳۴

زینب سادات سیدی

صرع زائی: سازوکارهای ایجاد تشنج و صرع ۱۴۲

رضا مقدسی، احمد علی معاضدی و زهره قطب الدین

کنترل ژنتیکی میوز در گیاهان ۱۴۹

اسد معصومی اصل و سید ایمان آشتی

معرفی و نقد کتاب: "رفتار، بوم‌شناسی و تکامل سیکلیدماهیان" نگاشته شده توسط ماریا ای. آباته و دیوید نواکس (۲۰۲۱)

به بهانه ارائه گزارش‌های مختلف پیرامون اثرات منفی گونه‌های سیکلید (تیلاپیا) در آب‌های داخلی ایران ۱۵۹

علیرضا رادخواه و سهیل ایگدری

معرفی کتاب: **دلارام اسلیمی اصفهانی** ۱۶۴

سخن سردبیر

دسامبر سال ۲۰۲۱ طرح ژنوم انسان بیست ساله شد. مثل یادمان ده سالگی آن در سال ۲۰۱۱ مجلات *نیچر* و *ساینس* که درفت نخست ژنگان انسان را منتشر کرده بودند مقالات متعددی در مورد جزئیات کار و تاریخچه این طرح واقعا عظیم، که به تعبیری در زمان خود بزرگترین طرح در تاریخ فعالیت های علمی انسان قلمداد شد، منتشر ساختند. بدرستی انتظار این بود که دانش حاصل از طرح ژنگان، زیست شناسی انسان را در تمام ابعاد و از جمله تجزیه و تحلیل بیماریهای ژنتیکی و غیره متحول سازد. انعکاس گسترده نتایج این طرح و نتیجه گیری های درست و یا گاهی شتاب زده و رویائی بسیاری از حتی زیست شناسان و متخصصین ژنتیک زمانه هیجان زیادی در جامعه برانگیخت. پیشنهاد طرح ژنگان انسان در دورانی شکل گرفت که ژنتیک دربست تحت استیلای نگرش های ژن محور به سر می برد. در واقع اهداف اولیه این طرح شناسائی و توالی یابی ژنها و مکان یابی- نقشه برداری ژنی- انها بود. با همان نگاه ژن محور و با تکیه بر شمار تخمینی پروتئین های شناخته شده تصور این بود که باید در کل ژنگان ۱۰۰ هزار ژن را شناسائی و توالی شان را تعیین کنند. نتایج درفت اولیه در سال ۲۰۰۱ توسط دو تیم بزرگ پژوهشی، یکی تحت رهبری بخش دولتی و دیگری کمپانی خصوصی سلرا، به ترتیب تعداد ژنهای انسان را با تکیه بر پارامترهای روز حدود ۳۱ هزار و ۳۸ هزار برآورد کردند. یافته غیرمنتظره دیگر تشابه توالی ۹۹,۹ درصد ژنگان میان افراد انسانی و تفاوت تنها در یک هزارم توالی های ژنگان بود. همین دویافته منشاء پژوهشهای زیادی شد. از یک طرف به نظر می رسید که پیچیدگی ژنوم انسان نه در وسعت توالی های رمزگذار- یعنی توالی هایی که نهایتا به ترجمه پروتئین ها منجر می شود- بلکه در توالی های با نقش تنظیمی است. بتدریج معلوم شد پیرایش دگرواره (alternative splicing) و ویرایش RNA RNA (editing) از جمله مکانیسم های تنظیمی هستند که به عنوان منبع گوناگونی ژنها در عملکرد ژنوم موجودات پیچیده تر نقش دارند. از طرف دیگر تفاوت حدود یک در هزار ژنگان در میان افراد انسانی به شکل گیری مفهوم چندشکلی های تک نوکلئوتیدی (single nucleotide polymorphism; SNPs) و پیشنهاد تعیین نقشه این چندشکلی ها وترسیم نقشه هاپلوتیپی SNPs در ژنگان انسان منجر شد و پژوهش های زیادی در مورد رابطه این تفاوت های تک نوکلئوتیدی و بروز بیماریها در دو دهه گذشته انجام گرفت.

بعلاوه چون از مدتها قبل می دانستند که فقط حدود یک و نیم درصد ژنگان توالی رمزگذار پروتئین هاست نقش بخش عظیم باقی مانده ژنگان (۰۹۸,۵ درصد) که اسرارآمیز می نمود همیشه مورد توجه ژنتیک دانان مولکولی بود. کشفیات مقایسه ای میان موجودات زنده گوناگون با میزان توالی های رمزگذار اندک در بستر یک ژنگان بسیار بزرگ در دهه ۶۰ میلادی منجر به شکل گیری مفهوم C-Value Paradox شد، پارادکسی که به عدم تناسب میزان تام ژنگان با پیچیدگی ارگانیسم اشاره داشت. یعنی پیچیدگی بیشتر یک ارگانیسم با افزایش میزان ژنگان آن تناسب مستقیم نداشت و بخش اعظم ژنگان را در اغلب موجوداتی که مطالعه شدند توالی های تکراری و بسیار تکراری تشکیل می دادند. زمانی با نخوتی خودپسندانه این بخش های ژنگان را آشغال (junk DNA) می نامیدند، چیزی که عقل سلیم نمی توانست آن را بپذیرد چراکه توالی های تکراری بخش قابل توجهی از ژنگان ما و بسیاری از موجودات زنده دیگر را می سازد و در یکی دو دهه اخیرپژوهشهای قابل توجهی در این زمینه صورت گرفته و همچنان در جریان است؛ از قریب دو دهه پیش پژوهش های زیست شناسی مولکولی پردامنه ای در مورد نقش توالی های غیر رمزگذار ژنگان، در سطح DNA و نیز بویژه RNA های غیر رمزگذار، در سازمان یابی ژنگان و بروز صفات و بیماریها در جریان بوده است.

در سال ۲۰۰۳ درفت کاملتری ازژنگان انسان منتشر شد ولی بسیاری نمی دانستند که هنوز بخش قابل توجهی از توالیهای تکراری همچنان با روشهای کلاسیک قابل ردیابی نبوده و توالی شان تا همین اواخرتعیین نشده ماند. این بخش های باقی مانده عمدتا در نواحی موسوم به هتروکروماتین کروموزومها مانند سانترومرها، نواحی تلومری، توالی های بین ژنی و به عبارتی نماینده بخش های با توالی های تکراری و بسیار تکراری ژنگان بودند. طی ۲۰ سال گذشته در سایه توسعه و ابداع روش های جدید توالی یابی بتدریج این نواحی نیز توالی شان تعیین شد و اینک گفته می شود توالی یابی ژنگان تکمیل شده است! اهمیت توالی یابی این بخش از ژنگان جدا از اینکه چالشی عظیم بود شاید بتواند به دانش مربوط به نقش های بالقوه این توالی های تکراری یا بسیار تکراری در فعالیت های تنظیمی و یا نقش آنها درساختار ژنگان کمک کند.

یکی از امیدهای رهاورد طرح ژنگان انسان پزشکی فرد مدار بوده است. یعنی جستجوی درمان بر پایه تفاوت های فردی که درواقع با همان سیطره نگاه ژن محور پیشنهاد شد. اینکه رابطه بین ژنها و بیماریها/صفات اغلب یک رابطه یک به یک نیست و بیشترِ حالاتِ طبیعی و ناهنجار نتیجه برهمکنش ژنهای بسیاری است دریافتِ جدیدی نیست؛ در مطالعات کلاسیک ژنتیک آنجا که هدف نشان دادن برهمکنش ژنها و محیط در بروز صفات بودند مفهوم "norm of reaction" برای نخستین بار در مقاله ای توسط Richard Woltereck (۱۹۰۹) پیشنهاد شد. در این مفهوم بسیار داهیانه گوناگونی های فنوتیپی یک ژنوتیپ معین در میان افراد حامل همان ژنوتیپ به برهمکنش آن ژنوتیپ [و خود در بسترژنتیکی گوناگون افراد] در مواجهه با گوناگونی های محیطی نسبت داده می شود. برای توجیه این گوناگونی ها سپس واژه هایی چون بیان پذیری متغیر(variable expressivity) و نفوذپذیری ناقص (incomplete penetrance) معرفی شدند. تاکید بر همین نکات بظاهر ساده و کلاسیکِ ژنتیک در دوران جهانگیری کرونا بسیار اهمیت دارد؛ چرا که توجیه اثر مثلا کشنده همان ویروس در یک نفر در مقایسه با عفونت بدون علائم و حتی نامرئی همان ویروس در فرد دیگر ریشه در درک همین بدیهیات کلاسیک دارد که در بررسی و توجیه مشاهدات نظیر از دیدمان پنهان می ماند. دانستن موضوع رابطه پیچیده بین ژنوتیپ و فنوتیپ/بیماری، نگرش صرفا ژن محور پزشکی فردمدار یا پزشکی دقیق را اغلب به چالش می کشند. چرا که مطالعه ونتیجه گیری های علمی بر پایه توالی های صِرفِ DNA ساده انگارانه بوده، بررسی جامع و ژرف روابط تنظیمی بین این توالی ها در مقیاس ژنتیکی و اپیژنتیکی ، و در نظر داشتنِ تاثیر محیط هایی که هر فرد در طول زندگی تجربه می کند از ضروریات مطالعات مبتنی بر ژنگان است. سالهاست در رابطه با وراثت صفات پیچیده [و شاید هم پیچیده صفات] عبارت *وراثت گُم* (missing heritability) رواج دارد. این اشارات در سخن سردبیر با این هدف است که پیچیدگیهای کشفیات و کاربردهای علمی را مردم پسند و کمپانی پسند ساده سازی نکنیم و در عمومی سازی علم و معرفی کاربردهای امروز و آینده آن هوشمندانه و واقع بینانه عمل کنیم. در این شماره شاید نتوانستیم به خوبی و کفایت به طرح ژنگان انسان بپردازیم ولی با چند مقاله ای که تقدیم شده است تا حدودی به مسائل پیرامون این طرح عظیم و تاثیرگذار پرداخته ایم و در شماره های آینده نیز به این موضوع خواهیم پرداخت.

در سالی که عنوان *علوم پایه و توسعه پایدار* لقب گرفته است از شما اندیشمندان گرامی دعوت می شود با تالیف و ترجمه مقالات و پرداختن به دیدگاه های مطرح در زمینه اهمیت آموزش و پژوهش های علوم پایه – و البته نقش علوم زیستی– در توسعه پایدار، شماره آینده مجله زیست شناسی ایران را پربار سازند.

سلامت و پایدار باشید!

سردبیر،

علی فرازمند

نیم قرن انتظار: از رویای پردیسان تا واقعیت باغ گیاهشناسی تهران

حسین آخانی[1*]، مریم ملک‌محمدی[1]، حسنا پورهاشمی[2] و نفیسه صمدی[1]

۱- تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست‌شناسی، گروه علوم گیاهی، آزمایشگاه تحقیقاتی گیاهان هالوفیت و C_4

۲- اتریش، وین، دانشگاه منابع طبیعی و علوم زیستی

چکیده

پارک طبیعت پردیسان و نواحی مجاور آن در بین دو رود دره فرحزاد و درکه و دو اتوبان حکیم و همت در منطقه ۲ تهران واقع شده است. این پارک به سازمان حفاظت محیط زیست تعلق دارد و قبل از انقلاب بنا بود که به یک پارک طبیعت با طراحی زیست بوم های مختلف جهان تبدیل شود. مساحت پارک ۳۰۰ هکتار است ولی دو رود دره فرحزاد در غرب و رود دره درکه در شرق آن را به کوه های شمال تهران پیوند می دهد و با در نظر گرفتن مناطق سبز مجاور، شامل دو طرف اتوبان چمران، پارک های گفتگو و فدک و تپه ملاصدرا وسعتی حدود ۵۵۰ هکتار منطقه یکپارچه سبز را تشکیل می‌دهد. بر اساس تحقیقات گسترده از سال ۱۳۷۷ پوشش گیاهی این منطقه بررسی و در راستای حفاظت از زیست بوم تهران به منظور تهیه یک برنامه جامع مدیریتی ناحیه‌بندی شده است. هدف این پژوهش حفظ و احیای پوشش گیاهی طبیعی و نیز ایجاد فضای سبز در این پهنه با توجه به ارزش‌های بوم شناختی، نیاز تفرجی، علمی و پژوهشی در شهر تهران است. عبور دو روددره مهم شهر تهران، پارک طبیعت پردیسان، برج میلاد و باغ گیاهشناسی تهران – که ساخت آن بر اساس تفاهم نامه‌ای میان دانشگاه تهران و شهرداری تهران از خرداد ماه سال ۱۴۰۰ آغاز شده است – این منطقه را به یک پهنه با ارزش زیست محیطی تبدیل کرده است. بر اساس تحقیقات طولانی از سال ۱۳۷۷ حدود ۵۳۰ گونه‌ی گیاهی شامل ۴۴۳ گونه خودروی و ۸۷ گونه کشت شده از پردیسان و مناطق مجاور (برج میلاد) شناسایی شده است. تغییرات کاربری، بخصوص ساخت پارک نهج البلاغه منجر به از بین رفتن حدود ۷۴ گونه گیاهی خودرو شده است. پوشش گیاهی پردیسان باقیمانده رویش‌های استپی و علفزارهای معتدله است که چون میان کوهپایه‌های البرز به سمت شمال و استپ‌های بیابانی به سمت جنوب واقع شده عناصری از هر دو گروه را دارد. سیمای عمومی پوشش گیاهی علفزار است که حضور گونه‌های چند ساله استپی از جنس‌های گون و استیپا به آن سیمای استپی نیمه خشک و درختچه ای–جنگلی در رود دره ها داده است. بر اساس پژوهش حاضر بخش مرکزی پردیسان بالاترین غنای گونه‌ای و غرب پردیسان (در امتداد دره فرحزاد) باارزش‌ترین گونه‌های گیاهی را دارد. پردیسان ارزش حفاظتی بالایی دارد و بهتر است در قالب اثری طبیعی ملی به منطقه حفاظت شده شهری تبدیل شود تا این میراث ارزشمند حفظ شود. در ضمن احیای رود دره ها و حفظ فضای سبز با تاکید بر حفظ تنوع زیستی بومی و برنامه ریزی برای برنامه های گردشگری علمی و آموزشی از مهمترین اهداف پهنه بندی این مقاله است. **ایجاد باغ گیاهشناسی در دو بخش غربی و شرقی اتوبان چمران از مهمترین اتفاقات سال ۱۴۰۰ است که بر اساس توافق شهرداری تهران و دانشگاه تهران آغاز شده است.** بخش غربی آن واقع در شمال پارک گفتگو به شهرداری تهران تعلق دارد که بخش های مهمی از باغ گیاهشناسی شامل بخش رده بندی، گذر لینه، باغ گیاهان دارویی و میوه و باغ کودکان و زیست بوم زاگرس قرار دارد. در بخش شرقی علاوه بر پژوهشکده گیاهشناسی، گلخانه های نمایشی و تحقیقاتی، زیست بوم هیرکانی، البرز و منتخبی از گیاهان زیست بوم های ۵ قاره جهان به نمایش گذاشته خواهد شد. ساخت موزه تحقیقاتی (هرباریوم) در پژوهشکده و موزه گیاهشناسی نمایشی (شامل دنیای گیاهان، دیرینه شناسی ، گیاه باستانشانسی و گیاه مردمشناسی) در موزه علم اجرا خواهد شد. **ثبت ملی میراث طبیعی و تنوع زیستی و گیاهی پارک طبیعت پردیسان با تاکید بر ایجاد باغ گیاهشناسی در آخرین مصوبه پنجمین شورای اسلامی شهر تهران در تاریخ ۱۰ مرداد ۱۴۰۰ و نامگذاری باغ گیاهشناسی تهران در مصوبه ۲۹ تیر ۱۴۰۰ به انجام رسید.**

کلیدواژگان: پردیسان، باغ گیاهشناسی، تهران

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: hakhani@ut.ac.ir

مقدمه

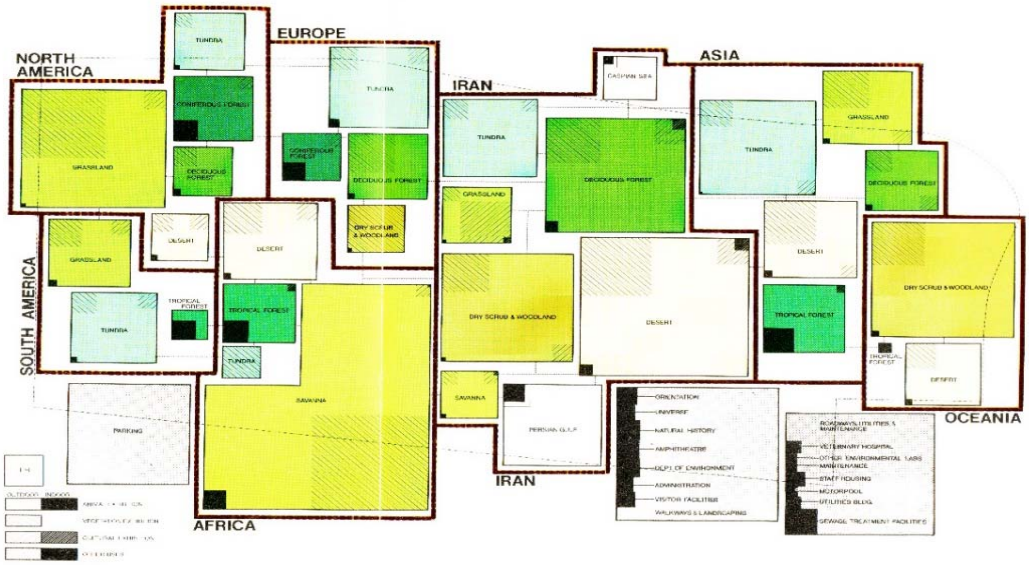
ایده ایجاد باغ گیاهشناسی ملی ایران و نیز پارک طبیعت پردیسان توسط اسکندر فیروز مطرح شد و کلید خورد. وی که در ورود محیط زیست به بحث های سیاست گزاران حکومتی ایران و توجه به آن در برنامه‌های توسعه‌ای نیم قرن اخیر در ایران نقش مهمی داشته است دوران کودکی خود را در برلین گذرانده و در آمریکا مهندسی خوانده بود. فیروز شکارچی ماهری بود که با مطالعاتی که در زندگی جانوران و همچنین خواندن سفرنامه‌های شرق شناسان داشت، بیش از پیش به ارزش‌های طبیعی سرزمین ایران پی برد و دست از شکار برداشت (Firouz 2012). او در چارچوب بنیان **سازمان حفاظت محیط زیست** در سال ۱۳۵۰، شبکه گسترده‌ای از مناطق حفاظت شده را چهارگانه در سراسر ایران ایجاد کرد، کنوانسیون رامسر را بنیان گذاشت و در اندیشه‌ی ایجاد مراکز آموزشی و پژوهشی بود که مردم را با طبیعت آشنا کند؛ ایجاد باغ گیاهشناسی و پارک طبیعت پردیسان در همین راستا انجام گرفت.

ساخت باغ گیاهشناسی (واقع در چیتگر و موسوم به آریامهر) در سال ۱۳۴۷ آغاز شد ولی ساخت پارک طبیعت پردیسان که در آن موزه تاریخ طبیعی پیش‌بینی شده بود با وقوع انقلاب و جنگ تحمیلی به تعویق افتاد. گیاهشناسان برجسته‌ای چون پر وندلبو ((Per Wendelbo (1927-1981) نروژی، استاد باغ گیاهشناسی دانشگاه گوتنبرگ سوئد (Berg 1982) و هانس رنه مارک (Per Hans Bengt Runemark (1927–2014)) سوئدی استاد دانشگاه لوند از جمله محققانی بودند که بخش‌های مهم باغ گیاهشناسی مانند هرباریوم را بنیان گذاشتند. پر وندلبو مجله گیاهشناسی ایران (The Iranian Journal of Botany) را هم بنیان گذاشت. با وقوع انقلاب اسلامی، باغ گیاهشناسی در اختیار موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع (وزارت کشاورزی) قرار گرفت. از تاریخ ۱۳۷۰ تا ۱۳۷۹ این موسسه زیر نظر وزارت جهاد و با ادغام دو وزارتخانه از سال ۱۳۷۹ زیر نظر وزارت جهاد کشاورزی به عنوان باغ گیاهشناسی ملی ایران اداره می‌شود.

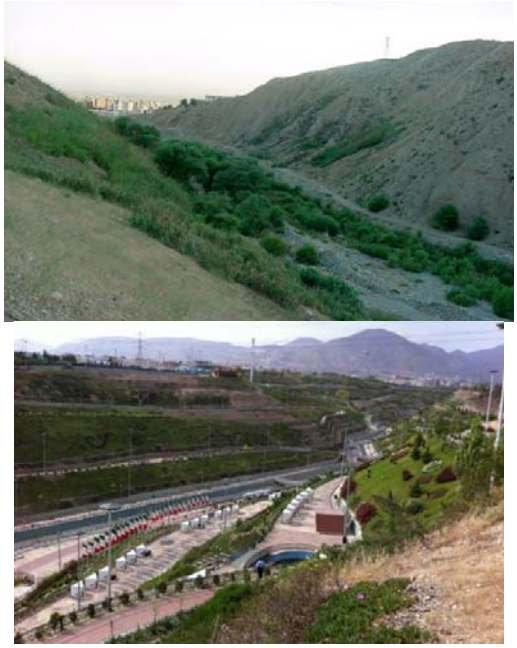
برای ساخت پارک طبیعت پردیسان و ایجاد یک موزه تاریخ طبیعی اهداف بزرگی وجود داشت که نه تنها تداعی "پردیس" یا "بهشت" باشد، بلکه بنا بود بزرگترین و مجهزترین مرکز پژوهشی در همه زمینه‌های مربوط به محیط زیست در ایران و مرکزی برای آموزش و آشنایی مردم با محیط زیست باشد. شرکت آمریکایی ماندالا طرح ایجاد پارک طبیعت را تهیه کرد و بنا بود که در آن هفت زیست بوم جهان ساخته شود (McHarg 1975) (شکل ۱).

پس از انقلاب نهادهای زیادی در پی تصاحب زمین‌های پردیسان برآمدند. بخش‌هایی در شرق پردیسان توسط وزارت نیرو (به عنوان موزه آب)، وزارت مسکن و شهرسازی (مرکز تحقیقات مسکن و شهرسازی) و سازمان آب (فاضلاب شهرک غرب) به تصرف درآمد و تغییر کاربری یافت. کارشناسان و مدیران وقت سازمان حفاظت محیط زیست (بخصوص هوشنگ ضیایی) در مقابل فشارهای اشغال پردیسان مقاومت کردند و با کاشت گونه‌های درختی سعی کردند آن را به شکل پارک حفظ کنند. چندین ساختمان مانند ساختمان مرکزی سازمان حفاظت محیط زیست و همچنین ساختمان موزه تاریخ طبیعی (در محل پیش‌بینی شده طرح شرکت ماندلا) ساخته شد. البته فقط بخش کوچکی از آن به موزه تعلق گرفت و بقیه به عنوان ساختمان اداری مورد بهره‌برداری قرار گرفت. با ایجاد محلی برای نگهداری حیوانات، ساختمان مرکز پژوهش‌های سازمان حفاظت محیط زیست، محل برگزاری همایش (ساختان سرو)، ساخت سوله تنوع زیستی، کارگاه موزه و تبدیل دره‌ی زیبای فرحزاد به پارک نهج البلاغه‌ی ۲ توسط شهرداری منطقه ۲ بخش‌های زیادی از محیط طبیعی پردیسان تغییر کاربری داده شد (شکل ۲).

در سال ۱۳۹۶ طی توافق‌نامه‌ای به امضای عیسی کلانتری رئیس وقت سازمان حفاظت محیط زیست و محمد علی نجفی شهردار وقت تهران، پارک پردیسان به مدت ۱۵ سال به شهرداری تهران واگذار شد تا طرح‌های پارک طبیعت در آنجا اجرا شود. کمیته‌ای به ریاست محمد حقانی شکل گرفت تا با کمک بخش خصوصی پروژه‌های تبدیل پردیسان به محل گردشگری برنامه‌ریزی و عملیاتی شود. بسیاری از متخصصان و طرفداران محیط زیست از جمله نگارنده اول این مقاله نگران بودند که این واگذاری باعث تغییر کاربری پارک طبیعت پردیسان شود (آخانی ۱۳۹۶).



شکل ۱- تصویر گرافیکی بیوم‌های پیشنهادی در طرح مک هارگ (McHarg 1975)



شکل ۲- دره فرحزاد قبل (بالا در سال ۱۳۸۰) و بعد از ساخت پارک نهج البلاغه (پایین در سال ۱۳۹۸)

طی جلساتی که در شورای شهر با حضور بسیاری از دست‌اندرکاران و کارشناسان برگزار شد، مسئولین شهرداری، بخصوص سازمان بوستان‌ها و فضای سبز شهر تهران اعلام کردند که پارک پردیسان حفظ خواهد شد و از هر عملیاتی که باعث تهدید و تخریب محیط طبیعی این پارک شود پرهیز خواهند کرد.

با همین هدف، سازمان بوستان‌ها و فضای سبز شهر تهران از دانشگاه تهران درخواست کرد تا به بررسی دقیق پوشش گیاهی و ارائه برنامه حفاظتی پارک برای حفظ زیست بوم شهر تهران بپردازد.

این مقاله گزارشی از تحقیقات گسترده‌ای است که توسط نگارنده اول و همکارانش از سال ۱۳۷۷ در محدوده تهران و به طور ویژه در بین دو رود-دره فرحزاد تا رود-دره درکه صورت گرفته است. بخش‌هایی از نتایج این تحقیقات منتشر شده (Akhani et al. 2013; Mahdavi et al. 2013) و یا در مقاله دیگری منتشر می‌شود. بر اساس نتایج این تحقیقات و تغییراتی که در نیم قرن اخیر در شهر تهران اتفاق افتاده است بر آن شدیم که برنامه مدیریتی جامعی در محدوده بین دو رود-دره فرحزاد و درکه تهیه کنیم. هدف اصلی این برنامه حفظ و احیا پوشش گیاهی طبیعی و نیز ایجاد فضای سبز در این پهنه با توجه به ارزش‌های بوم شناختی، نیاز تفرجی، علمی و پژوهشی شهر تهران است. این پهنه به طور مشترک در اختیار سازمان حفاظت محیط زیست، شهرداری تهران و دانشگاه تهران است و بر اساس طرح جامع تهران در پهنه G (سبز) -فقط با کاربری فضای سبز- قرار دارد. این پهنه از نظر زمین‌شناسی و هیدرولوژی کاملا به هم مربوط است که اتوبان‌های شمالی-جنوبی چمران، شیخ فضل الله و یادگارامام آن را به چند قطعه‌ی

جدا تقسیم کرده است.

در راستای برنامه سوم توسعه شهر تهران (شورای اسلامی شهر تهران ۱۳۹۷)، در طرح ارائه شده توسط دانشگاه تهران، ایجاد ارتباط زیستی و دسترسی پیاده و دوچرخه بین قطعات جدا افتاده و کاربری فضای سبز پایدار، حفظ تنوع زیستی، شناخت و حفاظت از میراث طبیعی شهر، و ایجاد فضاهای تفرجی علمی با توجه به آنچه که پیش‌تر در ایده پردیسان در نظر گرفته شده بود با اهداف چهارگانه‌ی زیر برنامه‌ریزی شد: ۱) ایجاد یک منطقه حفاظت شده شهری به منظور حفظ باقیمانده زیست بوم تهران در بخش‌های دست نخورده پارک طبیعت پردیسان؛ ۲) ایجاد باغ گیاهشناسی در شرقی‌ترین بخش منطقه واقع در شمال پارک گفتگو برای پیوند زدن دانشگاه، مدیریت شهری و سازمان حفاظت محیط زیست؛ ۳) تبدیل برج میلاد به یک منطقه گردشگری با رویکرد توسعه فضای سبز ویژه؛ ۴) ژینایی (احیای اکولوژیک) رود–دره‌های فرحزاد و درکه.

طرح ایجاد باغ گیاهشناسی طی تفاهم نامه‌ای در تاریخ دوم خرداد ۱۴۰۰ به امضای ریاست دانشگاه تهران و شهردار تهران رسید و فعالیت‌هایی برای ایجاد آن آغاز شده‌است.

برای نشان دادن اهمیت مناطق حفاظت شده شهری و باغ گیاهشناسی در ادامه مطالبی در مورد معرفی این مناطق و ذکر تاریخچه آن در جهان آمده است و به مقایسه ایران با کشورهای دیگر جهان پرداخته می‌شود. سپس در دو بخش به پارک طبیعت پردیسان به عنوان منطقه حفاظت شده شهری و باغ گیاهشناسی تهران به عنوان پروژه در دست ساخت پرداخته می‌شود.

مناطق حفاظت شده شهری

رویکرد جدید ایجاد فضای سبز در سدهٔ بیست و یکم طبق اصول تبیین شده توسط سازمان جهانی بهداشت فرصتی برای نزدیکی مردم به طبیعت، حفظ تنوع زیستی، کاهش آسیب‌های محیطی مانند آلودگی هوا و آلودگی صوتی، کاهش تاثیرات شدید آب و هوایی مانند امواج گرمایی یا باران‌های شدید و سیل‌آسا، افزایش کیفیت زندگی شهری و بهبود سلامت و رفاه شهروندان است (Europe 2017). حفظ تنوع زیستی نه تنها به ایجاد محیطی مطبوع برای زیستن انسان‌ها کمک می‌کند بلکه برای پایداری اکولوژیک شهر ضرورتی اجتناب ناپذیر است. به همین دلیل شهرهای بزرگ دنیا به سوی ایجاد مناطق حفاظت شده از زیست بوم‌های باقیمانده خود هستند و یا حتی زیست‌بوم‌های تخریب شده را احیا می‌کنند تا زندگی شهری با طبیعت آمیخته شود. برای نمونه در شهرهای سیدنی، ریو، سائوپائولو، مکزیکوسیتی، هنگ‌کنگ، تایپه، مارسی، بمبئی، کینگ‌استون، نایروبی، سئول، کیپ‌تاون، لندن، برلین، نیویورک، لس‌آنجلس و سان‌فرانسیسکو چنین مناطقی ایجاد شده‌اند و به عنوان جاذبه‌های توریستی و برای کاهش تاثیرات منفی زندگی شهری بر شهروندان مورد استفاده قرار می‌گیرند (Trzyna 2014). مناطق حفاظت شده شهری جزء مناطق به رسمیت شناخته شده در سطح بین المللی نیستند و از یکی از شش دسته‌بندی مناطق حفاظت شده IUCN شامل: ذخیره گاه طبیعی، منطقه حیات وحش، پارک ملی، آثار طبیعی ملی، مدیریت زیستگاه و گونه‌ها، منظر حفاظت شده و منطقه حفاظت شده با استفاده پایدار از منابع طبیعی پیروی می‌کند (Trzyna, 2014).

معمولا بیشتر مناطق حفاظت شده شهری در دسته دوم (پارک‌های ملی) یا دسته پنجم (چشم‌انداز یا منظر حفاظت شده) هستند و یا در غالب دیگر شکل‌های بین‌المللی رسمی مثل مناطق حفاظت‌شده دریایی، میراث جهانی، ژئوپارک یونسکو، تالاب‌ها (کنوانسیون رامسر) و ذخیره‌گاه زیست‌کره به ثبت می‌رسند (Trzyna, 2014).

برلین نمونه یک پایتخت اروپایی است که فضای سبز شهر تلفیقی از محیط‌های طبیعی و گونه‌های کاشته شده است که هزینه زیادی برای نگهداری از آن نمی‌شود. بعد از اتحاد برلین شرقی و غربی، مدیریت شهری به جای ساخت پارک‌های مصنوعی، محیط‌های طبیعی بیشتری را ایجاد کرد که با هزینه‌ای کم شرایط مناسبی برای بازگشت گونه‌های گیاهی و جانوری فراهم شود. این محیط‌ها برای خانواده‌ها، بخصوص کودکان بسیار دلپذیر است و به راحتی می‌توانند در حاشیه یا در دل این مناطق پیاده‌روی و یا دوچرخه‌سواری کنند. بسیاری از پرندگان، حشرات و خزندگان فرصت زیست پیدا کردند و سطح شهر به مانند یک مدرسه رابطه تنگاتنگی بین محیط زیست طبیعی و زندگی روزمره ایجاد کرده‌است (شکل ۳).

توسعه خودرو–محور، قطعه قطعه شدن شهر به وسیله اتوبان‌ها و حبس شهروندان در دیوارهای بتنی و اتوبان‌ها و جایگزینی باغ‌ها با آسمانخراش‌ها، بخش مسکونی تهران را

به مکانی خشن تبدیل کرده است که جای چندانی برای زیست سالم و ایجاد ارتباط بین انسان‌ها در آن دیده نمی شود. علی‌رغم انتقادات بسیاری که به این سیاست‌ها شده است تغییر ریل مبلمان شهری به سوی شهری پایدار و زیست محور با مقاومت‌های زیادی مواجه می‌شود.

شکل ۳- منطقه حفاظت شده یوهانس تال-آدلرسهوف[1] واقع در جنوب-شرقی برلین، اولین فرودگاه تجاری آلمان است که به پارک طبیعت تبدیل شده است.

البته در بین شهرهای ایران با ایجاد ۲۳۰۰ پارک، در تهران تلاش‌های زیادی برای توسعه کمی فضاهای سبز شده است. اما بیشتر این پارک‌ها با ایجاد فضای سبز مصنوعی به مصرف زیاد آب و هزینه‌های نگهداری بالا وابسته است. عمده این پارک‌ها با گیاهان وارداتی پر شده‌اند و الگوبرداری آنها بیشتر بر مبنای پارک‌های انگلیسی قرن نوزدهم و بیستم است که شهروندان به صورت هدایت شده فقط اجازه دارند در مسیرهای تعیین شده حرکت کنند. رابطه شهروند و فضای سبز اغلب با جدول‌های بتنی و موانع فیزیکی جدا شده‌است. چمن‌کاری نیز نمونه‌ی الگوبرداری از لردهای انگلیسی قرن ۱۷ است (Meyer-Wieser 2017). مصرف سالانه بیش از ۱۴۰ میلیون مترمکعب آب در فضای سبز شهری، حفظ فضای سبز شهر تهران را بسیار ناپایدار و گران کرده‌است. تقریبا همه رود-دره‌های شهر یا به کلی حذف شده‌اند و یا به حدی به حریم آنها تجاوز شده‌است که کارکردهای طبیعی خود را از دست داده‌اند. این در حالی است که در اقلیم ایرانو-تورانی که پوشش گیاهی اغلب به شکل استپی است، تشکیل جنگل فقط در امتداد رود-دره‌ها ممکن است. شهر تهران از محیط‌های طبیعی بسیار زیبایی برخوردار است که علیرغم آسیب‌هایی که در این سال‌ها دیده‌اند، بسیاری از آنها قابلیت احیا و یا بازگشت به شرایطی نزدیک به طبیعی را دارند.

اولین گام برای حرکت به سوی شهری زیست‌پذیر، شناسایی، حفظ و نگهداری لکه‌های طبیعی به جا مانده در شهر است. این لکه‌های طبیعی در کنار دیگر فضاهای سبز شهری می‌توانند زیرساخت‌های سبز شهر را شکل دهند. دومین اقدام برای برنامه‌ریزی صحیح شهری برقراری ارتباط بین این لکه‌های سبز و ایجاد کریدورهایی است که با برقراری ارتباط اکولوژیک، زیست پذیری و پایداری زیستی شهر را افزایش می‌دهند.

تاریخچه و اهمیت باغ‌های گیاهشناسی

باغ گیاهشناسی جایی است که به کاشت، نگهداری و نمایش طیف وسیعی از گیاهان زنده همراه با نام‌های علمی و محلی آنها اختصاص دارد و اغلب توسط دانشگاه‌ها یا دیگر سازمان‌های پژوهشی و علمی اداره می‌شوند. باغ‌های گیاهشناسی معمولا با مجموعه‌ی گیاهان خشک شده (هرباریوم) و برنامه‌های پژوهشی در زمینه‌های مختلف علم گیاهشناسی مرتبط هستند. در اصل نقش آن‌ها، نگهداری مجموعه‌ای مستند از گیاهان زنده و یا خشک شده برای پژوهش‌های علمی، حفاظت، نمایش و آموزش است.

تاریخچه باغ‌های گیاهشناسی در جهان

در گذشته انسان با سه انگیزه به مسافت‌های بسیار دور سفر می‌کرد: طلا، ادویه و دارو. دو مورد آخر از سه مورد ذکر شده را می‌توان علت ایجاد بسیاری از قدیمی‌ترین باغ‌های گیاهشناسی دانست. علاوه بر باغ‌های یونانی، آثاری از باغ در مصر، بین‌النهرین، چین و مکزیک یافت شده‌است که همه این تمدن‌ها به صورت مستقل از یکدیگر به کشت برخی از گیاهان برای استفاده اقتصادی یا زینتی پرداخته‌اند (Hill ۱۹۱۵).

احداث باغ‌های گیاهشناسی از سابقه‌ای بسیار طولانی برخوردار است، به طوریکه ساخت اولین باغ گیاهشناسی را به افلاطون در ۵۰۰ سال پیش از میلاد مسیح نسبت می‌دهند. منشأ باغ‌های جدید گیاهشناسی را می‌توان در باغ‌های دارویی قرون وسطی در اروپا با نام باغ‌های طب

[1] Johannisthal-Adlershof Naturpark

دانست. اولین باغ ثبت شده از این نوع در دوره رنسانس ایتالیا در سال ۱۵۴۵ در پادوا[1] است که هنوز هم با طرح اصلی خود پابرجاست (Hill ۱۹۱۵) و طرح آن با الهام گرفتن از چهارباغ ایرانی است که جهان به صورت سمبلیک در آن به نمایش گذاشته شده‌است (Pourhashemi ۲۰۲۱).

در قرن هفدهم میلادی نقش تحقیقات گیاهشناسی و مرتبط با گیاهان در باغ‌های گیاهشناسی افزایش داشته و نخستین باغ‌های گیاهشناسی با تعریف امروزی در دوران رنسانس اروپا شکل گرفتند. اغلب این باغ‌ها عمومی و مرتبط با دانشگاه‌ها بوده و به عنوان مرجعی برای آموزش و تحقیق به کار می‌رفتند. ریاست این باغ‌ها اغلب با یک متخصص گیاهشناس با اعتبار جهانی بوده است (Hill ۱۹۱۵).

در قرن هفدهم میلادی انتقال گیاهان، بذر و پیاز و غده از سراسر جهان به باغ‌های گیاهشناسی آغاز شد و این انتقال در قرن هجدهم سیر صعودی به خود گرفت. با ورود گیاهان جدید به باغ‌ها مکان‌هایی با عنوان گلخانه یا مانند آن به اغلب باغ‌های گیاهشناسی اضافه شدند که مکانی برای حفاظت از گیاهان در طول زمستان هستند و امروزه از عناصر مهم برای هر باغ گیاهشناسی به شمار می‌آیند. نقطه عطف علم گیاهشناسی در قرن هجدهم، ارائه سیستم نامگذاری دو اسمی برای گیاهان و جانوران توسط کارل لینه[2]، رخ داد. اگر چه پیش از لینه هم جمع‌آوری و نگهداری گیاهان به صورت خشک شده و برای مطالعات علمی رواج داشت اما با تبیین سیستم جدید نامگذاری و طبقه‌بندی گیاهان هرباریوم‌های بزرگ در کنار باغ‌های گیاهشناسی شکل گرفته و بخشی جدایی ناپذیر از این مجموعه‌ها شدند. به تدریج کتابخانه‌ها و آزمایشگاه‌ها نیز به باغ‌های گیاهشناسی و هرباریوم‌ها اضافه شدند (Hill ۱۹۱۵).

در قرن نوزدهم و بیستم به سرعت بر تعداد باغ‌های گیاهشناسی در دنیا افزوده شد و این باغ‌ها به محلی برای نگهداری گونه‌های نادر و در معرض خطر انقراض تبدیل شده و نقش حفاظت از گیاهان را نیز ایفا می‌کردند. همچنین آموزش همگانی درباره گیاهان به وظایف و اهداف باغ‌های گیاهشناسی افزوده شد (Primack and Miller-Rushing 2009).

در قرن بیست و یکم با توجه به افزایش گرمای کره‌زمین و خطر انقراض بسیاری از گونه‌های گیاهی و تحقیقات علمی در خصوص ساختار ژنتیکی گیاهان برای شناخت روابط خویشاوندی و نیز استفاده در اصلاح و مهندسی ژنتیکی، باغ‌های گیاهشناسی به دلیل داشتن نمونه‌های زنده گیاهی از سراسر جهان اهمیت بسیار زیادی در پژوهش‌های علمی و حفاظت از ذخایر ژنتیکی پیدا کردند (Primack and Miller-Rushing 2009)

امروزه برخی از باغ‌های گیاهشناسی دنیا شهرت جهانی داشته و آمار بازدید سالیانه آن‌ها بسیار بالاست و از جاذبه‌های توریستی شهر و یا حتی کشور خود محسوب می‌شوند. در راس آن‌ها باغ گیاهشناسی سلطنتی کیو[3] در لندن قرار دارد که با مساحت حدود ۱۳۰ هکتار بزرگترین باغ گیاهشناسی جهان محسوب می‌شود که در ابتدا پارکی به همین نام (Park Kew) در شهر لندن بود. این مجموعه حدود ۳۰۰۰۰ نمونه گیاهی زنده از سراسر جهان دارد که بسیار حائز اهمیت است و هرباریوم این مجموعه با حدود ۷ میلیون نمونه گیاهی خشک شده برای محققین علم گیاهشناسی شهرت داشته و سالانه هزاران محقق از سراسر جهان تنها به منظور بازدید از هرباریوم کیو به لندن سفر می‌کنند (https://www.kew.org). باغ گیاهشناسی برلین[4] نیز یکی از مهمترین و تاثیرگذارترین باغ‌های گیاهشناسی دنیا است که فعالیت‌ها و نحوه مدیریت آن شباهت فراوانی با باغ گیاهشناسی کیو دارد. در این باغ حدود ۲۳۰۰۰ گونه گیاهی زنده رویش دارد و گلخانه‌های آن با نمایش اکوسیستم‌های جهان شهرت بین المللی دارد (https://www.bgbm.org).

تاریخچه باغ‌های گیاهشناسی ایران

بر اساس اطلاعات به دست آمده از مرکز داده‌های باغ‌های گیاهشناسی جهان، ۳۷۱۲ باغ گیاهشناسی در جهان ثبت شده است و با توجه به اینکه پس از انقلاب اسلامی هیچ باغ گیاهشناسی در کشور احداث نشده است، ایران با تنها چهار باغ گیاهشناسی که سه تای آن‌ها فعال نیستند، از جمله فقیرترین کشورهای جهان در این زمینه است. یک مورد از

[1] Padua
[2] Carl Nilsson Linnæus
[3] Kew Royal Botanical Gardens
[4] Berlin Botanical Garden and Botanical Museum-Dahlem

این چهار مورد تکراری است (موسسه گیاهشناسی ایران)، یک مورد تا زمان انتشار این مقاله هنوز ساخته نشده است (دانشگاه مازندران، بابلسر) و یک مورد (پردیس کشاورزی کرج) غیرفعال است. به عبارت دیگر فقط یک باغ گیاهشناسی فعال در کشور وجود دارد (https://tools.bgci.org).

در ایران اولین باغ گیاهشناسی در سال ۱۳۱۰ در دانشکده کشاورزی کرج توسط اروین گائوبا[1]، اولین مدرس گیاهشناسی مدرسه فلاحتی آن زمان تأسیس شد و به دنبال آن در سال ۱۳۳۶ آربراتوم (باغ گیاهان درختی و درختچه‌ای) نوشهر ایجاد شد. باغ گیاهشناسی ملی ایران در سال ۱۳۴۸ در زمینی به وسعت ۱۴۵ هکتار با مجموعه‌ها و کلکسیون‌های متعددی از اقلیم‌های آب و هوایی ایران و جهان راه‌اندازی شد. باغ‌های گیاه‌شناسی مشهد، دزفول (فدک)، یزد، همدان، کاشان و تبریز به عنوان باغ‌های اقماری باغ گیاه‌شناسی ملی ایران ایجاد شده یا در حال احداث می‌باشند (https://nbgi.rifr-ac.ir-). باغ گیاهشناسی ارم شیراز نیز که قدمت آن به قرون دوازدهم و سیزدهم هجری می‌رسد در حال حاضر به عنوان باغ گیاهشناسی ارم زیر نظر دانشگاه شیراز است (https://eramgarden.shirazu.ac.ir).

اهمیت باغ‌های گیاهشناسی

باغ‌های گیاهشناسی علاوه بر افزودن به سرانه فضای سبز در شهرها امکاناتی را در اختیار شهروندان قرار می‌دهند که علاوه بر لذت بردن از فضای سبز و تفرج در آن اطلاعات مفید و علمی در رابطه با طبیعت کسب کنند. دراین باغ‌ها به طور معمول گیاهانی از سراسر جهان کاشته شده که متناسب با رویشگاه‌های مختلف در سطح جهان و طبقه‌بندی‌های علمی، اطلاعات مفیدی در رابطه با نام علمی، رویشگاه و شرایط کشت آن‌ها ارائه می‌شود.

باغ‌های گیاهشناسی با در اختیار داشتن امکانات پژوهشی و آموزشی در کنار کادر علمی و متخصص دانشگاهی محیطی بسیار مناسب برای آموزش و تحقیق در علوم گیاهشناسی، اکولوژی، کشاورزی و حفاظت از محیط زیست را فراهم می کنند و نمونه بسیار موفقی از تعامل دانشگاهیان با شهروندان و ایفای نقش مستقیم علم در افزایش کیفیت زندگی شهروندان هستند. امروزه از باغ‌های گیاهشناسی به عنوان دریچه‌هایی به اجتماع[2] نام برده می‌شود و این باغ‌ها نقشی مهم در آموزش عمومی و نیز افزایش سطح آگاهی همگانی در رابطه با حفاظت از تنوع زیستی و توسعه پایدار ایفا می‌کنند. در باغ‌های گیاهشناسی با ایجاد فضای مناسب و فرح بخش و نیز به کارگیری روش‌های آموزشی مدرن و خلاقانه، آمادگی همگانی را برای پذیرش آموزش‌های شهروندی افزایش داده و دریچه‌ای کارآمد و مستدام برای ارتباط با شهروندان فراهم می‌آورند.

نمایش نواحی جغرافیای گیاهی جهان در بسیاری از باغ‌های گیاهشناسی مشهور دنیا از جمله در باغ گیاهشناسی برلین نیز پیاده شده است و از آن به عنوان درونمایه "جهان در یک باغ" نام برده می‌شود (Lack 2000). این الگو این امکان را به شهروندان می‌دهد که در یک بازدید یک روزه و کوتاه و بدون نیاز به تحمل رنج سفر با گیاهان مختلف از سرتاسر جهان آشنا شوند.

از جمله وظایف مهم پژوهشکده‌ها و باغ‌های گیاهشناسی حفاظت از گیاهان و تنوع زیستی و نیز شناخت عوامل انقراض و یا تهدید جوامع گیاهی است. گیاهان در حال انقراض با روش‌های علمی توسط متخصصان شناسایی شده و در شرایط مناسب در باغ‌های گیاهشناسی کاشته و نگهداری می‌شوند و نیز تلاش می‌شود با شناخت عوامل تهدید و تعامل با مردم، جوامع محلی و نهادهای رسمی از این گیاهان حفاظت شود.

از مهمترین کارکردهای باغ‌های گیاهشناسی، حفظ گیاهان در محیط خارج از رویشگاه[3] آنهاست. در حال حاضر یک سوم گونه‌های گیاهی جهان در معرض خطر انقراض هستند. یکی از راه‌های حفظ این گونه‌های گیاهی باغ‌های گیاهشناسی است. در حال حاضر حدود یک چهارم فلور جهان (۸۰ هزار گونه گیاهی) در دنیا در باغ‌های گیاهشناسی به صورت زنده وجود دارد. در حالیکه با توجه به روند فعلی تخریب طبیعت و افزایش گرمای کره زمین این رقم باید به ۷۰ درصد گیاهان زنده برسد (Chen and Sun 2018)

بر اساس تحقیقات انجام گرفته در باغ‌های گیاهشناسی بزرگ دنیا، یکی از بهترین و موثرترین راه‌ها برای ارتباط

[1] Ervin Gauba

[2] Windows to the public

[3] *ex situ*

موثر با شهروندان و آموزش مسائل محیط زیست و تنوع زیستی، ایجاد محیط‌های مناسب برای مشاهده گیاهان آشنا برای مردم است که از آن به عنوان بخش اتنوبوتانی (گیاه-مردم‌شناسی) نام برده می‌شود (Löhne et al. 2009). در این بخش فضایی را به شهروندان و به ویژه کودکان برای آموختن و تجربه کردن کشت و کار و باغبانی اختصاص می‌دهند. انجام فعالیت‌های باغبانی می‌تواند نقش موثری در کاهش تنش و اضطراب درونی افراد داشته و به ایجاد فضای امن و آرام در جامعه نیز کمک کند. همچنین شهروندان می‌توانند پس از آموزش‌های اولیه در باغ گیاهشناسی به فعالیت‌های داوطلبانه و عام‌المنفعه بپردازند که یکی از مهمترین شاخص‌های توسعه فرهنگی و اجتماعی جامعه محسوب می‌شود.

اهمیت و رابطه

هرباریوم‌ها با باغ‌های گیاهشناسی در جهان و ایران

در کشورهای پیشرفته علمی جهان بین باغ‌های گیاهشناسی، هرباریوم‌ها و دانشگاه‌ها رابطه تنگاتنگی وجود دارد. باغ‌های گیاهشناسی، بیش از آنکه باغی جهت بازدید مردم باشند از مهمترین و پویاترین مراکز پژوهشی جهان هستند. بخش مهمی از بازدید کنندگان باغ‌های گیاهشناسی، محققان و دانشمندان گیاهشناس هستند که در بخش تحقیقاتی و موزه‌های گیاهشناسی (هرباریوم) به مطالعه گیاهان خشک شده‌ای اقدام می‌کنند که توسط گیاهشناسان از همه مناطق جهان جمع‌آوری شده‌اند. با کشف روش‌های تعیین توالی نشانگرهای مولکولی[1] با استفاده از نمونه‌های خشک شده و نمونه‌های زنده، ارزش نمونه‌های موجود در باغ گیاهشناسی بیش از پیش برای محققان شناخته شد. در سال‌های اخیر هزاران مقاله علمی منتشر شده است که با استفاده از این نمونه‌ها توانسته‌اند روابط خویشاوندی گیاهان را بررسی کنند (Chen and Sun, 2018).

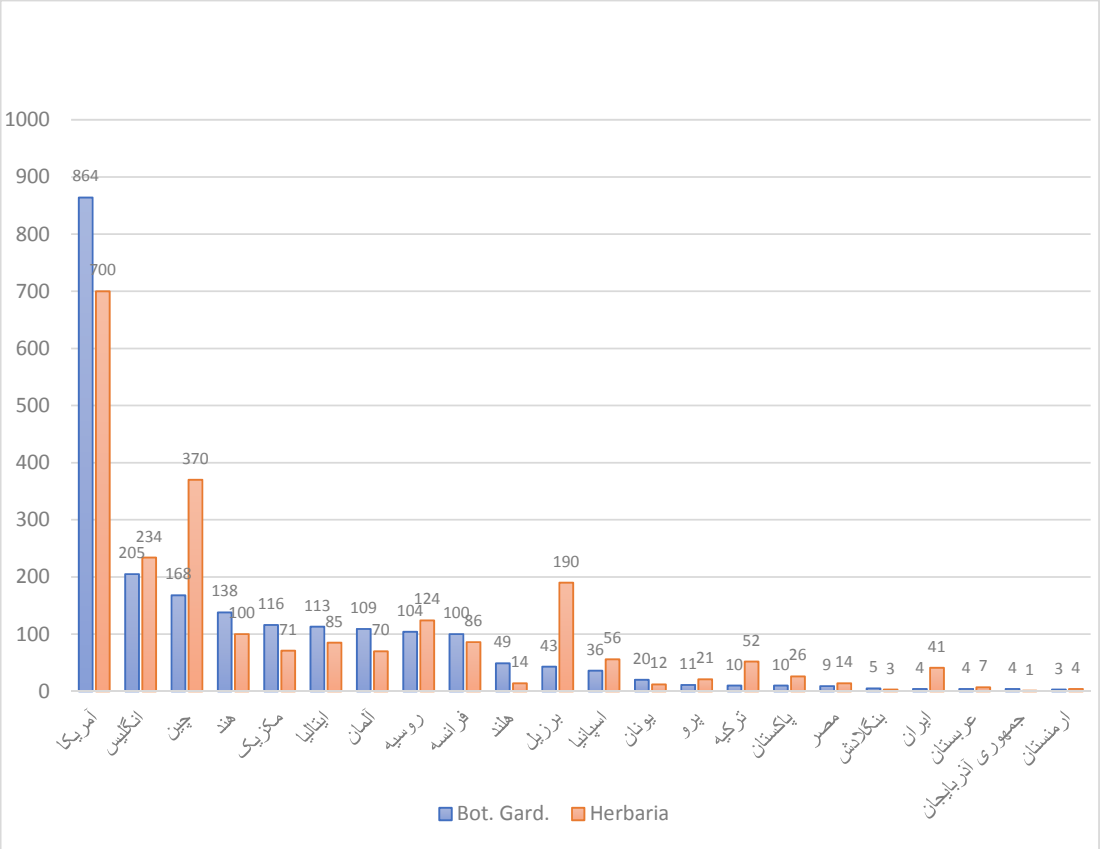
بر اساس اندکس جهانی هرباریوم‌های جهان[2]، تا تاریخ اول دسامبر ۲۰۲۰، تعداد هرباریوم‌های فعال در ۱۸۲ کشور جهان ۳۴۲۶ هرباریوم است که ۳۹۶,۲۰۴,۸۹۱ نمونه هرباریومی را نگهداری می‌کنند. از ایران ۴۱ هرباریوم در این اندکس ثبت شده است که در مجموع ۱،۰۵۷،۲۲۲ نمونه را نگهداری می‌کنند. بزرگترین هرباریوم ثبت شده ایران هرباریوم باغ گیاهشناسی ملی است که ۱۴۰,۰۰۰ نمونه گیاهی هرباریومی را نگهداری می‌کند (Thiers 2021).

عدم تناسب تعداد هرباریوم‌ها و باغ‌های گیاهشناسی کشور نشان‌دهنده فقدان سیاست‌گذاری صحیح در نقشه علمی کشور است. افزایش تعداد هرباریوم‌ها در کشور، اگر چه خبر خوبی است ولی نشان‌دهنده توسعه دانش گیاهشناسی نیست. کل نمونه‌های گیاهی ۴۱ هرباریوم ایران، حتی به یک هرباریوم متوسط در دانشگاهای اروپایی نمی‌رسد. عمق این فاجعه زمانی مشخص می‌شود که بدانیم در سال‌های بعد از انقلاب شمار دانشگاه‌های کشور و فارغ‌التحصیلان رشته‌های زیست‌شناسی به شدت افزایش یافته است (آخانی ۱۳۹۷). شکل ۴ مقایسه تعداد هرباریوم‌ها و باغ‌های گیاهشناسی ایران را با چند کشور مطرح جهان و منطقه نشان داده است که بر اساس اطلاعات پایگاه داده‌های باغ‌های گیاهشناسی جهان (https://bgci.org) به دست آمده است. چنانچه مشاهده می‌شود ایران علی‌رغم وسعت بسیار زیاد و شمار زیاد مراکز دانشگاهی از فقیرترین کشورهای جهان و حتی منطقه از نظر شمار باغ‌های گیاهشناسی است. مقایسه نسبت شمار هرباریوم‌ها به باغ‌های گیاهشناسی (۱۰,۵ برابر) در ایران نشان می دهد که سیاست درستی در برنامه‌های گیاهشناسی وجود ندارد و طبیعی است که دانشگاه‌ها و مراکز تحقیقاتی ایران نمی‌توانند نقش جدی در حفاظت، شناخت، کشت و از همه مهمتر تربیت محققان توانمند و استفاده اقتصادی از گونه‌های گیاهی داشته باشند. مقایسه ایران و آلمان با جمعیتی برابر نشان می‌دهد که تعداد باغ‌های گیاهشناسی آلمان- ۱۰۹ باغ- حتی از تعداد دانشگاه های این کشور-۱۰۲ دانشگاه بیشتر است (جدول ۱). مقایسه تعداد باغ‌های گیاهشناسی هلند به هرباریوم‌ها نشان می‌دهد که این کشور با ۴۹ باغ و فقط ۱۴ هرباریوم دارای یکی از بالاترین تعداد باغ‌های گیاهشناسی به نسبت مساحت و هرباریوم است (شکل ۴). بدون شک موفقیت کشور هلند در تولید گل در جهان مدیون همین نگاه است.

فلور و پوشش گیاهی پارک طبیعت پردیسان

در بازدیدهای میدانی سال‌های ۱۳۷۷ تا ۱۳۹۹ از محدوده پارک طبیعت پردیسان و مناطق مجاور (برج میلاد) حدود ۸۰۰ نمونه گیاهی جمع‌آوری شده‌است که در آزمایشگاه هالوفیت و C_4 دانشگاه تهران نگهداری می‌شوند.

[1] molecular markers
[2] http://sweetgum.nybg.org/science/ih



شکل ۴- مقایسه باغ‌های گیاهشناسی و هرباریوم‌های ایران و شماری از کشورهای پیشرفته جهان و کشورهای منطقه

فهرست نهایی شامل ۵۳۰ گونه‌ی گیاهی است که در این میان ۴۴۳ گونه خودرو و ۸۷ گونه کاشته شده هستند.

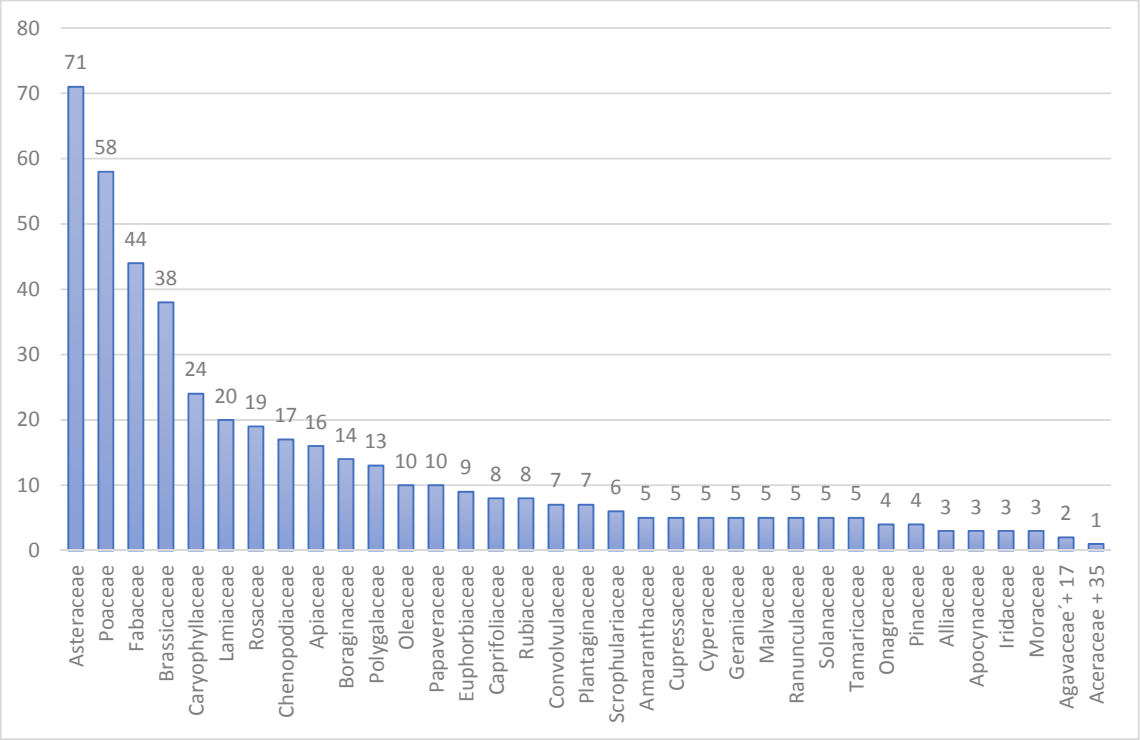
چهار تیره *Asteraceae*، *Poaceae*، *Fabaceae* و *Brassicaceae* به ترتیب با ۷۱، ۵۸، ۴۴ و ۳۸ گونه بیشترین تعداد و در مجموع حدود ۴۰ درصد از گونه‌ها را دارا هستند (شکل ۵).

مقایسه نتایج تحقیقات در دو بازه زمانی ۱۳۹۷-۱۳۹۹ و ۱۳۷۷-۱۳۸۰، نشان می‌دهد که به احتمال بسیار زیاد ۷۴ گونه گیاهی در محدوده پارک پردیسان به دلیل تغییر کاربری و تغییرات رویشگاه حذف شده‌اند. بیشتر گونه‌های حذف شده از دره فرحزاد هستند که شامل گونه‌های آبدوست کنار رودخانه و گونه‌های استپی روی شیب‌ها بودند. چهار تیره *Asteraceae*، *Poaceae*، *Fabaceae* و *Brassicaceae* به ترتیب با ۷۱، ۵۸، ۴۴ و ۳۸ گونه بیشترین تعداد و در مجموع حدود ۴۰ درصد از گونه‌ها را دارا هستند (شکل ۵).

جدول ۱- مقایسه کشور آلمان و ایران از نظر تعداد باغ‌های گیاهشناسی، هرباریوم‌ها، دانشگاه‌ها، جمعیت و گونه‌های گیاهی

شاخص	آلمان	ایران
جمعیت (میلیون نفر)	۸۳	۸۳
مساحت (km^2)	۳۵۷۱۶۷	۱۶۴۸۱۹۵
تعداد گونه‌های گیاهی	۲۷۰۰	۸۰۰۰
تعداد گونه‌های اندمیک	۶	۲۰۰۰
تعداد هرباریوم‌ها	۷۰	۴۱
تعداد نمونه‌های هرباریومی	۲۲،۱۲۰،۱۰۰	۱،۰۵۷،۲۲۲
تعداد باغ‌های گیاهشناسی	۱۰۹	۴
تعداد دانشگاه‌ها	۱۰۲	۲۵۷

مقایسه نتایج تحقیقات در دو بازه زمانی ۱۳۹۷-۱۳۹۹ و ۱۳۷۷-۱۳۸۰، نشان می‌دهد که به احتمال بسیار زیاد ۷۴ گونه گیاهی در محدوده پارک پردیسان به دلیل تغییر کاربری و تغییرات رویشگاه حذف شده‌اند.



شکل ۵- تیره های گیاهی خودرو و کاشته شده و تعداد گونه‌های آن‌ها در پردیسان.

بیشتر گونه‌های حذف شده از دره فرحزاد شناخته شده‌اند که شامل گونه‌های آبدوست کنار رودخانه و گونه‌های استپی روی شیب‌ها بودند.

در این میان ۱۸ تیره دارای دو و ۳۶ تیره دارای یک گونه می باشند:

تیره هایی با دو گونه:

Agavaceae, Anacardiaceae, Asparagaceae, Cannabaceae, Cistaceae, Cleomaceae, Ephedraceae, Fagaceae, Hypericaceae, Juncaceae, Lythraceae, Nyctaginaceae, Primulaceae, Salicaceae, Typhaceae, Verbenaceae, Violaceae, Zygophyllaceae.

تیره هایی با یک گونه :

Aceraceae, Adiantaceae, Adoxaceae, Aizoaceae, Arecaceae, Berberidaceae, Biebersteiniaceae, Campanulaceae, Capparaceae, Celastraceae, Crassulaceae, Datiscaceae, Dipsacaceae, Elaeagnaceae, Equisetaceae, Frankeniaceae, Ixioliriaceae, Lauraceae, Liliaceae, Linaceae, Meliaceae, Myrtaceae, Nitrariaceae, Orchidaceae, Orobanchaceae, Oxalidaceae, Paulowniaceae, Platanaceae, Plumbaginaceae, Portulacaceae, Resedaceae, Rutaceae, Simaroubaceae, Thymelaeaceae, Ulmaceae, Vitaceae.

پوشش گیاهی پردیسان باقیمانده رویش‌های استپی و علفزار[1]های معتدله است که به دلیل واقع شدن در کوهپایه‌های البرز به سمت شمال و استپ‌های بیابانی به سمت جنوب عناصری از هر دو گروه گیاهان را دارا است. سیمای عمومی پوشش گیاهی علفزار است که حضور گونه‌های چند ساله استپی از جنس‌های گون و استیپا به آن سیمای استپی نیمه خشک داده است. شاید بتوان پردیسان را از معدود مناطق ایران دانست که در نیم قرن اخیر – به جز قفس‌های علف خواران- از چرای دام محفوظ بوده است.

به طور کلی سه گروه عمده پوشش گیاهی در طی دو دوره پژوهشی در پردیسان شناخته شده است. نمونه هایی از این پوشش‌ها در شکل ۶ و ۷ نشان داده شده است.

۱. جوامع رطوبت دوست

این جوامع در امتداد رود-دره فرحزاد مهمترین واحد رویشی بودند که با ساخت پارک نهج البلاغه تقریبا به طور

[1] Grassland

کامل از بین رفتند. البته لکه‌هایی در داخل پارک وجود داشت که از پساب طبیعی شهرک غرب تغذیه می‌شدند و بسیاری از آنها در سال‌های اخیر از بین رفتند. در حال حاضر فقط دو نقطه‌ی داخلی پارک دارای این جوامع است که هر دو از جریان فاضلاب تصفیه شده تغذیه می‌شوند. جوامع جنگلی امتداد رودخانه فرحزاد عمدتا از درختان بید و گز (*Salix acmophylla-Tamarix ramosissima*) و همچنین گونه مهاجم عرعر (*Ailanthus altissima*) تشکیل می‌شد (شکل ۲). نیزارهای گسترده‌ای در شیب‌های تند دره فرحزاد وجود داشت که عمدتا توسط قمش (*Arundo donax*) و نی (*Phragmites australis*) پوشیده شده بودند. البته بعد از تخریب دره، یک لکه کوچک از قمش زارهای قدیمی باقی مانده است. لکه‌هایی از قمش در سراسر پارک، بخصوص در شرق پردیسان و در مجاورت ساختمان سازمان و معاونت طبیعی دیده می‌شود (شکل ۵ پ).

در حاشیه رودخانه و قنات و آبشار دره فرحزاد، گیاهان آب دوست بسیاری رویش داشتند که عمدتا به جنس‌های سازو، علف هفت‌بند و یوپاتوریوم تعلق داشتند. در شمال بخش مرکزی پارک یک جویبار وجود دارد که توده‌هایی از لویی (*Typha domingensis*)، پونه (*Mentha longifolia*)، ترشک (*Rumex chalepensis*) و توریلیس (*Torilis arvensis*) در آن تشکیل جامعه داده‌اند. توده‌های نیشکر (*Saccharum ravennae*) نیز در امتداد آبراه‌هایی که آب فاضلاب سطحی جریان دارد (مانند شرق ساختمان تاکسیدرمی) مشاهده می‌شود. آشک (*Halimodendron halodendron*) از معدود گونه‌های درختچه‌ای بزرگ خودرو در پارک است که چندین لکه طبیعی آن در پارک وجود دارد. قبل از احداث پارک نهج البلاغه در یال غربی دره در شیب‌های تند یک لکه از آن‌ها وجود داشت. در حال حاضر دو لکه از این گیاه در دره‌های غرب پارک در دو سوی مسیر آسفالت بین بزرگراه یادگار و دره فرحزاد دیده می‌شود.

۲. جوامع تپه ماهورهای پردیسان

پوشش گیاهی پردیسان عمدتا یک استپ استپیا و گون بود که به طور پراکنده با گیاهان چند ساله‌ای از جنس‌های *Astragalus, Matthiola, Cousinia, Acanthophyllum,* و *Achillea, Polygonum, Eryngium, Echinops, Anchusa,* تعداد زیادی از گونه‌های یکساله مناطق استپی همراه آن دیده می‌شدند (شکل ۶ الف). بسته به میزان بارندگی تغییرات شگرفی در سیمای پوشش گیاهی پردیسان دیده می‌شود. در سال‌های پر باران با غالب شدن گونه‌های یکساله عمدتا متعلق به جنس‌های *Aegilops, Hordeum* , *Thaeniatherum* و *Avena* گیاهان چند ساله چندان قابل مشاهده نیستند (شکل ۶ ب). در تحقیقی که در سال ۱۳۹۸ انجام شد، پوشش گیاهی منطقه تغییرات اساسی کرده بود. مهمترین دلیل این تغییرات بارندگی‌های دو سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ بود که باعث چیره‌شدن جوامع گیاهی یکساله گسترده در پارک پردیسان شده‌است (شکل ۶ ث، د). البته در دو دهه گذشته منطقه تحت تاثیر عوامل متعددی قرار گرفته‌است که می‌توان به حضور مردم در پارک و جمع‌آوری بوته‌های چندساله برای ایجاد آتش و ریشه کن شدن بسیاری از بوته‌ها، انجام تخریب‌های متعدد ناشی از عبور و مرور مردم، دوچرخه و موتور سواری، ایجاد آتش‌بر، ساخت فنس‌هایی برای نگهداری یوز اشاره کرد. البته یک عامل زیستی این تغییرات هم به نظر می‌رسد که حذف خرگوش‌ها توسط سگ‌های بدون سرپرست باشد. خرگوش به عنوان تنها علف‌خوار پارک نقش مهمی در تنظیم زی‌توده گیاهان یکساله دارد. در پژوهش سال ۱۳۹۸ در فنس مجاور قفس یوز که در آن چند عدد خرگوش نگهداری می‌شد به طور مشخص حذف گونه‌های یکساله در این منطقه محصور شده در مقایسه با مناطق مجاور بدون حضور خرگوش مشاهده می‌شد (شکل ۶ پ). وجود گونه‌های سوزنی برگ شامل سرو نقره‌ای و کاج در پارک نیز در تغییر سیمای پوشش گیاهی منطقه اثر گذاشته است. سوزنی برگان به دلیل تغییرات شگرفی که در خاک زیر منطقه سایه خود ایجاد می‌کنند، باعث می‌شوند بسیاری از گونه‌های دو لپه‌ای و همچنین گونه‌های آفتاب دوست استپی از بین بروند. زیر این درختان گیاهان اندکی رشد می‌کنند و در بین آن‌ها به ندرت گیاهان چندساله مشاهده می‌شود. گیاهان یکساله جنس *Aegilops* مهمترین گیاه بین سروهای کاشته شده پردیسان است. تغییر هیدرولوژی پارک نیز در دینامیک پوشش گیاهی منطقه بسیار موثر بوده است. مسیرهای ورود آب‌های زیرزمینی و جریان‌های فصلی که از ارتفاعات شمال تهران وارد پارک می‌شد در اثر ساخت اتوبان و سایر عملیات ساخت و ساز بسته شده‌اند و این مسئله به طور مشخص بر عمق رطوبت خاک تاثیر منفی می‌گذارد. این

اتفاق باعث می‌شود که دسترسی به آب برای ریشه‌های گیاهان چندساله که معمولا دارای ریشه‌های عمیق هستند به سختی انجام شود و آن‌ها در معرض تنش آبی قرار گیرند که همراه با سایر عوامل ذکر شده در بندهای قبلی می‌تواند به روند تدریجی کاهش پوشش‌های استپی منجر شود.

بر اساس پلات‌هایی که در سال ۱۳۹۸ در مناطق استپی ثبت شده است جوامع متعددی در پارک قابل تشخیص بود. اما به دلیل نمونه برداری در سال پر باران و غلبه گیاهان یکساله، جداسازی جوامع کار دشورای است. تقریبا همه جوامع استپی به شدت تحت تاثیر چیرگی *Aegilops columnaris* هستند. در کل ۸ گروه جوامعی که *Aegilops* در آنها غالب است بر اساس گونه‌های دیگر مهم و شاخص قابل تشخیص هستند. وجود جوامعی مانند بومادران بیابانی (*Achillea tenuifolia*) در زمین‌های خشک با بستر قلوه سنگی ناشی از خشک شدن دره های مرطوب در مرکز پارک است (جدول ۲).

جوامع محیط‌های دستکاری شده

پردیسان به دلیل انواع عوامل ناپایداری خاک، وجود پوشش‌های دست کاشت، لگدمال شدن زمین، چمن‌کاری و آبیاری مصنوعی در حاشیه مستعد شکل‌گیری جوامع دستکاری شده است. در عین حال به عنوان باقیمانده زمین‌های زراعی قدیمی آثار جوامع متاثر از انسان در آن دیده می‌شود. بخشی از مهمترین جوامع وابسته به دخالت‌های انسان در شکل ۷ نشان داده شده‌اند.

ناحیه‌بندی پردیسان و مناطق طبیعی و نیمه طبیعی بین رود_دره‌های فرحزاد و درکه

بر اساس پژوهش‌های دراز مدت طی ۲۲ سال جمع‌آوری اطلاعات دقیق و تهیه نقشه‌های غنای گونه‌ای و ارزش گونه‌ای (منتشر نشده) بخش مرکزی پارک پردیسان دارای بالاترین غنای گونه‌ای است و غرب پردیسان، در امتداد دره فرحزاد و محل ساخت پارک نهج البلاغه دو، دارای باارزش‌ترین گونه‌های گیاهی بود. نتیجه این پژوهش به خوبی نشان می‌دهد که پارک پردیسان دارای ارزش حفاظتی بسیار بالایی است که در قالب اثری طبیعی ملی می‌تواند به منطقه حفاظت شده شهری تبدیل شود. در نقشه‌ای که بر همین اساس تهیه شده‌است (شکل ۸) به منظور حفظ این میراث ارزشمند و احیای آنچه به نادرست تغییر کاربری داده شده‌است مناطق زیر به منظور حفاظت از تنوع زیستی و احیا زیست بوم شهر تهران مشخص و پیشنهاد شده‌اند:

۱. حفظ و احیای ۲۰ هکتار از دره فرحزاد در شمال پارک نهج البلاغه یک به طوری که بستر رودخانه به حالت طبیعی خود برگردد و پوشش‌های مجاور متشکل از گونه‌های بومی و باغات گذشته احیا شود.

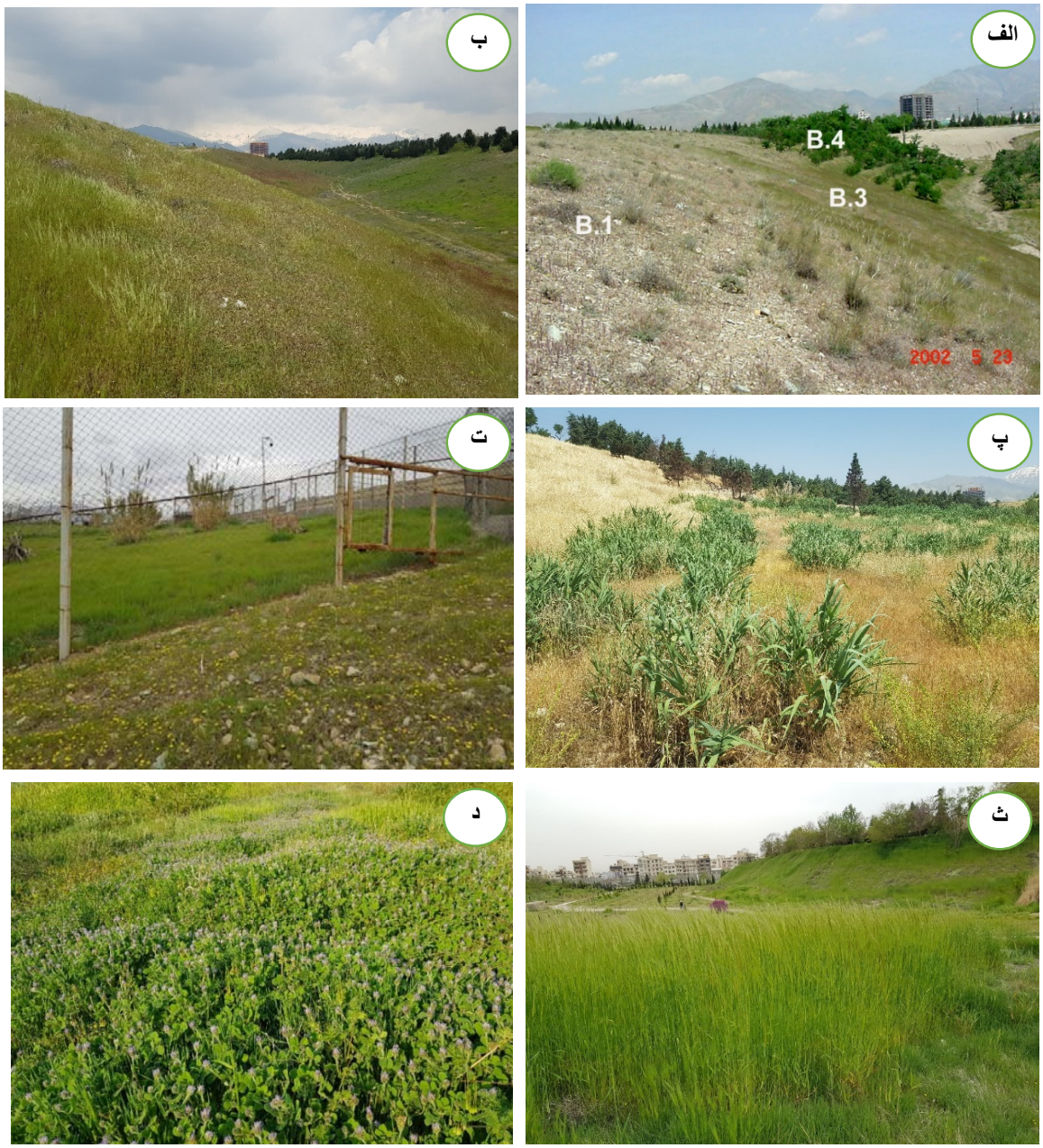
۲. احیای دره فرحزاد در پارک نهج البلاغه ۱ و ۲ به مساحت ۶۰ هکتار. ارائه طرح ژینایی جهت تلفیق فضاهای کاشته شده با گونه‌های بومی و بازگرداندن رودخانه به شکل طبیعی ضرورت دارد.

جدول ۲- جوامع گیاهی تپه‌های استپی پارک پردیسان بر اساس (Akhani et al. 2013) و مطالعات جدید.

No	جامعه
1	*Polygonum paronychioides-Stipa hohenackeriana* comm.
2	*Tragopogon longirostris- Stipa hohenackeriana* comm.
3	*Medicago monspeliaca-Aegilops columnaris* comm.
4	*Rosa persica* comm.
5	*Ducrosia anethifolia-Bromus sterilis* comm.
6	*Cupressus arizonica-Robinia pseudoacacia* plantation
7	*Pinus eldarica-Robinia pseudoacasia* plantation
8	*Hordeum spontaneum* comm.
9	*Achillea tenuifolia* comm.
10	*Trigonella coerulensens-Aegilops columnaris* comm.

۳. حفاظت کامل ۱۵۰ هکتار از مناطق مرکزی پارک پردیسان و استفاده از آن طبق برنامه جامع مدیریتی که کلیات آن در بخش بعدی این مقاله آمده‌است.

۴. حفظ فضای سبز در ۱۵۰ هکتار (به نام بافرزون) در اطراف پهنه‌ی حفاظت شده در محدوده پارک پردیسان و برج میلاد به طوری که تلفیقی از گونه‌های کاشته‌شده و بومی به ایجاد تنوع زیستی شهری و آشنایی مردم با گونه‌های بومی کمک کند.



شکل ۶- نمونه ای از جوامع گیاهی پارک طبیعت پردیسان. الف. منظر استپی مناطق مرکزی پردیسان در سال ۱۳۸۱. ب؛ همان منطقه در سال ۱۳۹۸. پ. لکه‌های قمش در شرق پردیسان؛ ت. مقایسه پوشش علف‌های یکساله در دو محوطه نگهداری یوز (گوشتخوار) در راست و خرگوش (علفخوار) چپ در شمال پردیسان؛ ث. جامعه جوی خودرو (*Hordeum spontaneum*) در جنوب پردیسان؛ د. لکه‌های شنبلیه خودرو (*Trigonella coerulesens*) که فقط در سال‌های پر باران در پردیسان رشد می‌کند.

شکل ۷- تعدادی از جوامع گیاهی پردیسان شامل مناطق مرطوب، تخریبی و باغچه ها. الف. لکه هایی از درختچه های بید و گز در شمال دره باغ ملل؛ ب. جامعه بابونه بیابانی (*Achillea tenuifolia*) در کف دره در جنوب پارک نزدیک ورودی جنوبی؛ پ. ورک زار (*Rosa persica*) واقع در شرق پارک نشان دهنده تخریب در گذشته؛ ت. لکه هایی از گیاهان C_4 در کنار باغچه‌ها که از گونه‌هایی مانند خرفه، خار خسک و سورگوم (*Portulaca oleracea, Tribulus terresteris Sorghum halepense*) غالب شده است. ث. جامعه فرفیون (*Euphorbia helioscopia*)در شیب های چمن کاری شده غرب پردیسان. د. لکه های جوی خودرو (*Hordeum murinum* subsp. *glaucum*).

Hordeum spontaneum comm., *Avena ludoviciana* comm. (جامعه یولاف یا جوی دوسر), *Rosa persica* comm. (جامعه ورک), *Alhagi maurorum* comm. (جامعه خارشتر), *Prosopis farcta* comm. (جامعه جغجغک), *Malva sylvestris* comm. (جامعه پنیرک), *Euphorbia helioscopia-Taraxacum* sp. comm. (جامعه قاصدک-فرفیون), *Hordeum murinum* subsp. *glaucum* comm., *Portulaca oleracea-Tribulus terresteris* comm., *Bromus tectorum* comm., *Poa bulbosa comm.*

۵. حفظ کاربری پارک گفتگو به مساحت ۱۸ هکتار و تقویت گونه‌های آن با گونه‌های بومی و نصب پلاک برای آن‌ها.

۶. بررسی فضای سبز ژئوفیزیک در شمال کوی فاطمیه دانشگاه تهران تا اتوبان حکیم به مساحت ۱۲ هکتار به منظور حفاظت از آن برای اهداف آموزشی و پژوهشی

۷. ایجاد باغ گیاهشناسی تهران در ۱۰ هکتار در طرفین اتوبان چمران (حدفاصل اتوبان‌های حکیم و همت). جزییات نقشه باغ در شکل ۱۰ آمده است.

۸. اصلاح و تقویت پوشش گیاهی تپه‌های موسوم به "اری" محل لرزه‌نگاری تهران و ساخت موزه علم (و طبیعت) به عنوان بخشی از محدوده جغرافیای گیاهی باغ گیاهشناسی تهران به مساحت ۱۰ هکتار.

۹. حفظ و احیای ۳۰ هکتار از دره‌ی درکه (روبروی خیابان ملا صدرا) به حالت طبیعی به منظور بازگشت کارکرد طبیعی رودخانه‌ی درکه تا باغ گیاهشناسی.

برنامه آموزشی و پژوهشی پیشنهادی در پارک طبیعت پردیسان و باغ گیاهشناسی تهران

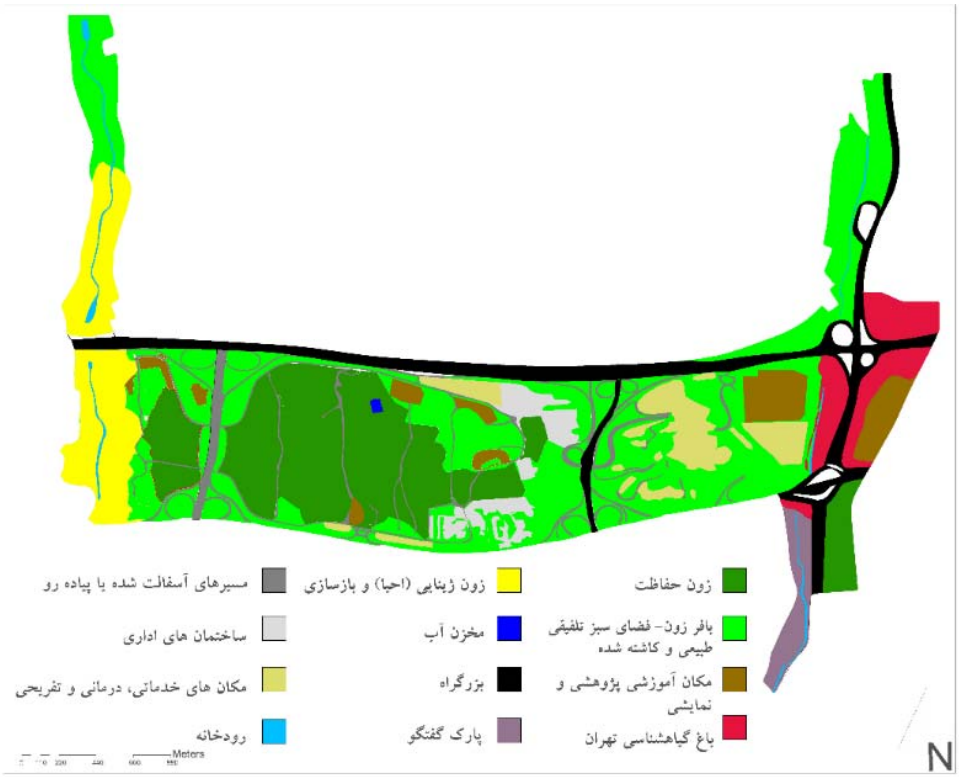
پارک پردیسان پتانسیل بسیار بالایی برای اجرای برنامه‌های آموزشی و پژوهشی دارد. برنامه‌های آموزشی به سه گروه آموزش خردسالان و کودکان (آموزش غیررسمی)، آموزش برای دانش‌آموزان و دانشجویان و آموزش شهروندان بزرگسال طبقه‌بندی می‌شود. اجرای برنامه‌های آموزشی را می‌توان در اختیار سازمان‌های مردم نهاد و دانشگاه‌ها قرار داد تا با کمک محققان برنامه آموزشی را به اجرا درآورند.

این برنامه‌ها در بهار، اواخر تابستان و پاییز متمرکز است که در دوره‌های مختلف تورهای علمی گیاهگردی را تدارک دیده و به متقاضیان ارائه می‌دهد. این تورها شامل موارد زیر هستند:

۱. تور گیاهشناسی برای کودکان تا ۶ سال

۲. تور گیاهشناسی برای دانش‌آموزان ابتدایی

۳. تور گیاهشناسی برای دانش‌آموزان دبیرستانی



شکل ۸- نقشه پهنه بندی (تعیین زون) پردیسان، برج میلاد و باغ گیاهشناسی تهران و مناطق مجاور

۴. تور گیاهشناسی برای دانشجویان (سیستماتیک گیاهی

۵. اردوهای علمی بوم‌شناسی (دانشجویان)

۶. تور گیاهگردی برای بزرگسالان

علاوه بر این تورها برگزاری گارگاه‌های تخصصی آموزش گیاهشناسی، فضای سبز، بوم‌شناسی و حفاظت با محوریت پارک طبیعت پردیسان و باغ گیاهشناسی، برگزاری نشست‌های گیاهشناسی، بوم‌شناسی و حفاظت در مرکز همایش‌های پارک طبیعت پردیسان و پژوهشکده گیاهشناسی، برگزاری رویدادهای فرهنگی- هنری مرتبط با گیاهشناسی و تنوع زیستی با محوریت پارک طبیعت و باغ گیاهشناسی: برگزاری رویداد نقاشی گیاهان بومی در پارک (art botany)، جمع‌آوری و خشک‌کردن گیاهان و ساخت تابلوهای گیاهی و در نهایت حفظ و نمایش آثار منتخب در نمایشگاه دائمی بخش بازدیدکنندگان پارک طبیعت پردیسان و باغ گیاهشناسی می‌تواند نقش مهمی در بالا بردن جایگاه این دو منطقه به عنوان یکی از مراکز مهم و بزرگ علمی عمومی داشته باشد.

برنامه‌های پژوهشی

وجود ۵۳۰ گونه گیاهی که ۴۴۳ گونه آن خودرو هستند و یا قبلا در پارک پردیسان حضور داشتند، فرصت استثنایی برای دانشگاه‌ها و مراکز پژوهشی برای انجام تحقیقات در اختیار قرار می‌دهد. تحقیقات زیادی در پارک قابل انجام است که در زیر به چند مورد اشاره می‌شود.

۱. بررسی رابطه بارندگی‌های سالیانه و پوشش گیاهی در پارک پردیسان

۲. بررسی اثر آتش‌سوزی‌های سال‌های گذشته بر تنوع گیاهی پارک پردیسان

۳. بررسی اثر گیاهان کاشته شده غیربومی (شامل سوزنی برگان و پهن برگان) در تنوع زیستی

۴. بررسی اثر حیات وحش پارک بر پوشش گیاهی با استفاده از محوطه‌های باقیمانده به عنوان قفس‌های یوز

۵. بررسی تغییرات فنولوژیک گیاهان در رابطه با تغییرات آب و هوایی

۶. بررسی جمعیت گونه‌های گیاهی نادر و در حال انقراض

۷. بررسی فون پارک با تاکید بر حشرات

۸. نقش پارک پردیسان در ترسیب کربن[1] در شهر تهران

۹. بررسی نقش گیاهان در کاهش جزیره گرمایی

پیشنهادات مدیریتی

پارک طبیعت پردیسان نیاز به یک طرح مدیریتی دارد و در این بخش فقط پیشنهادات کلی در این خصوص ارائه می‌شود تا مورد توجه قرار گیرد.

۱. جایگاه قانونی پارک

پارک طبیعت پردیسان اولین پارک طبیعی داخل شهر تهران است که لازم است هر چه سریع‌تر به عنوان میراث طبیعی شهر ثبت و به عنوان منطقه حفاظت شده شهری حفظ گردد. با توجه به مالکیت این پارک توسط سازمان حفاظت محیط زیست، لازم است پارک طبیعت پردیسان به عنوان اثر طبیعی ملی ثبت گردد تا در آینده از گزند هر گونه تخریب در امان بماند و نیز لازم است ثبت آن به عنوان میراث طبیعی توسط سازمان میراث فرهنگی در دستور کار قرار گیرد.

۲. مدیریت اجرایی و حفاظتی پارک

در حال حاضر پارک فاقد یک ساختار مشخص مدیریتی است و طبق توافق شهرداری تهران و سازمان حفاظت محیط زیست این پارک توسط ماموران حفاظتی سازمان پارک‌ها و فضای سبز کنترل و حفاظت می‌شود. برای آنکه برنامه‌های حفاظتی با تغییر مدیریت با مشکل مواجه نشود لازم است نسبت به تشکیل یک کمیته فنی-مدیریتی اقدام گردد و جزییات این کمیته و اختیارات آن در طرح مدیریتی مشخص گردد.

۳. مشارکت مردم در حفاظت و اجرای برنامه‌های آموزشی، پژوهشی و تفرجی در پارک

مهمترین عامل نگهداری از پارک و ذخایر ژنتیکی آن مشارکت مردم در انجام امور است. شمار زیادی از شهروندان از پارک به عنوان تفرجگاه و محلی برای ورزش، پیاده‌روی و دوچرخه‌سواری استفاده می‌کنند. طبیعی است که با اجرای برنامه‌های آموزشی و علمی طیف

[1] Carbon sequestration

دیگری از مخاطبان به پارک اضافه می‌شوند که اغلب دغدغه حفظ محیط زیست را دارند.

۱. پیشنهاد می‌شود که به زودی "انجمن یا گروه دوستداران پارک طبیعت پردیسان" شکل گیرد تا این گروه به سازمان حفاظت محیط زیست و شهرداری در حفاظت پارک و همچنین اجرای برنامه‌های علمی و ژینایی کمک کند. یکی از مهمترین معضلات پارک در حال حاضر جلوگیری از آتش‌سوزی است. با عضوگیری می‌توان تعداد دیده‌بان‌های پارک را به صدها نفر افزایش داد تا از اتفاقات تخریبی و آتش‌سوزی جلوگیری گردد.

۲. استفاده از کمک‌های مردمی در تامین هزینه‌های انجام برنامه‌های علمی، آموزشی و ایجاد باغ‌های پایلوت و مناطق جغرافیای ایران. در سال‌های اخیر بارها دیده شده است که خیرین و علاقه‌مندان برای مشکلات محیط زیستی مشارکت فعال می‌نمایند. پارک پردیسان و باغ گیاهشناسی تهران به دلیل جایگاه جغرافیایی که دارند می‌تواند محلی برای جذب این کمک‌ها باشند.

۴. راهکارهای حفاظت از آتش‌سوزی

آتش‌سوزی یکی از بزرگترین مشکلات حفاظتی پارک طبیعت پردیسان است که به دلیل خشک‌شدن گیاهان علفی در تابستان رخ می‌دهد. در دو سال اخیر به دلیل حفاظت مستمر و گشت‌های ویژه‌ای که سازمان پارک‌ها تدارک دیده است و ممنوعیت ورود مردم به عمق پارک تعداد آتش‌سوزی‌ها بسیار کاهش یافته‌است. در زیر پیشنهاداتی برای به حداقل رساندن آتش‌سوزی‌ها ارائه می‌شود:

راهکار زیستی: بر اساس تحقیقات حاضر ساختار پوشش گیاهی پارک پردیسان نسبت به ۲۰ سال پیش تغییرات زیادی کرده‌است (شکل ۶ آ، ب). این تغییرات ناشی از چند عامل است: عامل اول تغییر رژیم بارندگی است. در دو سال پیوسته (سال‌های آبی ۱۳۹۷–۱۳۹۸ و ۱۳۹۸–۱۳۹۹) به دلیل بارندگی‌های زیاد، پوشش علفی یکساله پارک بسیار بیشتر شده و تقریبا پوشش گیاهان چندساله را تحت تاثیر قرار داده‌است. البته کاهش شدید بارندگی در سال آبی ۱۳۹۹–۱۴۰۰ باعث کاهش شدید پوشش علفی در سال ۱۴۰۰ شد. دوم آنکه با توجه به خاصیت اللوپاتی[1] که گونه‌های سوزنی برگ دارند، چون بخش عمده پارک توسط سوزنی برگان پوشیده شده است بسیاری از گونه‌های چند ساله و مقاوم از پوشش گیاهی حذف و یا جمعیت آنها فقیر شده‌است؛ عامل سوم حذف گیاهخوارانی چون خرگوش توسط سگ‌های بدون سرپرست در پارک پردیسان است. در مطالعه‌ای که در این پژوهش در قفس‌های یوز انجام شد، مشاهده‌شد که قفسی که در آن خرگوش است بر خلاف دیگر قفس‌ها گیاهان علفی و یکساله کمتری دارد (شکل ۶ ت). در گذشته نیز جمعیت طبیعی خرگوش در پارک پردیسان قابل توجه بود که با افزایش سگ‌های بدون سرپرست تقریبا به صفر رسیده‌است.

برای حل مشکل آتش سوزی انتقال سگ‌های بدون سرپرست از محوطه پارک پردیسان به محل‌های نگهداری مناسب و احیای جمعیت خرگوش‌های پارک با انتقال چند خرگوش بومی از مناطق مجاور (مانند سرخه حصار) پیشنهاد می‌شود.

همچنین ایجاد مرزهای سبز طبیعی در مسیرها با تقویت گونه‌های چهارکربنه خودرو می‌تواند راهکار بیولوژیک دیگری برای حل مشکل آتش‌سوزی باشد. گیاهان چهارکربنه اغلب در فصل گرم رشد می‌کنند که در آن زمان پارک به شدت مستعد آتش‌سوزی است. به همین دلیل با آبیاری حاشیه رویش‌های سبز بومی متشکل از گیاهانی مانند *Portulaca oleracea*, *Tribulus teresstris*, *Paspalum* spp., *Setaria* spp., *Echinocloa* spp. *Bothriochloa ischaemum*, *Cynodon dactylon* شکل خواهد گرفت (شکل ۷ ت).

راهکار آموزشی: ضرورت دارد که در ورودی‌های پارک پردیسان تابلوهای بزرگی نصب گردد که در آن ضمن تاکید بر ممنوعیت ایجاد آتش و محدود بودن آن به سه نقطه مشخص شده در منطقه‌بندی پارک، مردم را با مقررات ورود به پارک طبیعت آشنا کرد. ضمن آنکه این تابلوها و علائم در فواصل ۲۰۰ متر نصب شوند.

باغ گیاهشناسی تهران

محدوده باغ گیاهشناسی تهران در دو سوی غرب و شرق اتوبان چمران واقع شده‌است (شکل ۱۰). این منطقه از شمال به اتوبان همت و از جنوب به اتوبان حکیم متصل

[1] Allelopathy

می‌گردد. سمت غربی این باغ به مساحت ۱۰ هکتار متعلق به شهرداری تهران است و بخشی از رود–دره درکه واقع در شرق بیمارستان میلاد و دانشگاه علوم پزشکی است. سمت شرقی این باغ نیز به مساحت حدود ۱۰ هکتار موسوم به زمین‌های ژئوفیزیک به دانشگاه تهران تعلق دارد.

از نظر جغرافیایی این محدوده مسیل رودخانه‌ی درکه است که ارتفاع بخش غربی آن در پایین‌ترین نقطه واقع در شمال پارک گفتگو ۱۳۶۱ متر و بالاترین ارتفاع آن در نزدیکی اتوبان همت ۱۴۰۰ متر است. ارتفاع بخش شرقی از جنوبی‌ترین نقطه در جنوب غربی موسسه ژئوفیزیک ۱۳۸۳ متر و بالاترین نقطه در حاشیه شمال شرقی در بلندی‌های نزدیک خوابگاه چمران ۱۴۶۵ متر است. اختلاف ارتفاع پایین‌ترین تا بالاترین نقطه باغ ۱۰۴ متر است. منطقه دارای پستی بلندی‌های زیادی است که در برگیرنده خرد زیستگاه‌های طبیعی برای ایجاد یک باغ گیاهشناسی است. از جمله عبور رودخانه درکه در امتداد شمال به جنوب بخش غربی، همچنین وجود منابع آبی دائم یا موقتی حاصل زهاب‌های ارتفاعات مجاور (جویبار زیر اتوبان چمران واقع در شمال بخش غرب) و یک رشته قنات به این منطقه ارزش طبیعی بالایی داده است. چشم‌انداز کوه‌های توچال بدون وجود عارضه ساختمانی در مقابل آن از ارزش‌های ویژه باغ محسوب می‌شود. بر اساس مشاهدات میدانی، عبور جریان مداوم هوا باعث مطبوع شدن هوای منطقه شده‌است. وجود یک باغ قدیمی در شمال بخش غربی، مجاورت با پارک گفتگو (محل نمایشگاه‌های گل و گیاه)، برج میلاد و پارک پردیسان، امکان اتصال به موزه علم از طرف بخش شمال‌شرقی، مجاورت با کوی دانشگاه تهران در بخش شرقی، امکان استفاده از خط اتوبوسرانی بی‌آرتی اتوبان چمران، دسترسی به مترو از ایستگاه‌های پارک گفتگو و برج میلاد، محاط بودن توسط شبکه اتوبانی که دسترسی غیر قابل کنترل را محدود می‌کند از جمله مزایای این محل است. در طرح باغ گیاهشناسی اتصال دو بخش غربی و شرقی با یک پل روی اتوبان چمران و اتصال بخش شرقی به محل ساخت موزه علم روی اتوبان همت پیش‌بینی شده‌است. ایستگاه هواشناسی ژئوفیزیک در کنار باغ واقع شده است که از طریق داده‌های آن می‌توان تحقیقات علمی گسترده‌ای برنامه‌ریزی کرد. اخیرا تحقیقات گسترده‌ای در مورد تغییرات اقلیمی با توجه به رفتارهای فنولوژیک گیاهان در باغ‌های گیاهشناسی دنیا در دست انجام است (Primack and Miller-Rushing 2009).

بر اساس داده‌های اقلیمی ایستگاه ژئوفیزیک تهران، متوسط بارندگی سالیانه منطقه ۲۳۸ میلیمتر و متوسط دمای سالیانه ۱۶ درجه سانتیگراد است. این محل دارای آب و هوای خشک قاره‌ای ایرانو–تورانی است. از نظر زمین‌شناسی منطقه بخشی از مخروط‌افکنه تهران است که عمده رسوبات آبرفتی–کنگلومرایی در آن دیده می‌شود و اغلب دارای خاک لومی–شنی است.

پوشش گیاهی طبیعی محل احداث این باغ به شدت تحت تاثر عوامل تخریبی قرار گرفته است و به دلیل ایجاد باغچه‌هایی که برای کشت گونه‌های غیر خودرو آماده شده بودند، غنی از حضور گونه‌های مستعد رویشگاه‌های تخریب شده است. در بررسی که در خرداد ۱۴۰۰، تنها در بخشی از این محل انجام گرفت، تعداد ۱۱۰ گونه گیاهی خودرو شناسایی شد (شکل ۹).

شکل ۹– پوشش گیاهی ایجاد شده در باغچه های آماده کاشت باغ گیاهشناسی تهران که اغلب از گونه های آتریپلکس و سلمک تشکیل شده است.

نقشه اولیه و بخش‌های باغ گیاهشناسی

باغ گیاهشناسی تهران با الگو برداری از باغ‌های گیاهشناسی معروف جهان دارای هفت بخش مهم است (شکل ۱۰).

۱. بخش سیستماتیک، ۲. بخش بیوم‌ها و جغرافیای گیاهی، ۳. بخش گیاهان دارویی و کاربردی، ۴. گلخانه‌های پژوهشی و نمایشی، ۵. باغ کودکان، ۶. پژوهشکده و هرباریوم، ۷. موزه گیاهشناسی در محل موزه علم. در ادامه مهمترین ویژگی‌های هر بخش در زیر ذکر می‌گردد.

۱. بخش سیستماتیک. در بخش غربی باغ طراحی شده و شامل باغچه‌های رده‌بندی و گذر لینه است. باغچه‌های رده‌بندی بر اساس آخرین سیستم‌های رده‌بندی جهانی (The Angiosperm Phylogeny 2016) نمایش داده می‌شوند. هر باغچه متناسب با تعداد گونه‌ها به یک گروه اصلی (شاخه، رده، راسته و تیره) تعلق دارد و شروع آن‌ها از جنوب باغ (شمال پارک گفتگو) است که گیاهان بدون گل شامل جلبک‌ها (آکواریوم)، خزه‌گیاهان، سرخسیان و بازدانگان کشت خواهند شد. نهاندانگان ابتدایی در امتداد مسیر بعد از گذر لینه قرار دارد. باغچه های تک‌لپه‌ای‌ها در سمت غرب و مشرف به رودخانه و شامل باغ‌های لاله، زعفران، نخل و دو استخر گیاهان آبزی پیش‌بینی شده‌است. بیشتر دولپه‌ای‌های درختی و درختچه‌ای در باغچه‌های میانی و دولپه‌ای‌های علفی و بوته‌ای در باغچه‌های شمالی طراحی شده‌اند. گذر لینه در جنوب باغ قرار دارد و مجموعه‌ای از ۵۳ رواق است که با گونه‌های نهاندانه بالارونده و بر اساس روند تکامل کاشته می‌شوند و بازدیدکنندگان با عبور از این گذر، گویا از ۲۰۰ میلیون سال تکامل گیاهان عبور می‌کنند. دریاچه آب‌شور برای کاشت گیاهان شورپسند آب‌دوست و نیز باغ صخره‌ای و تپه ماسه‌ای در باغچه‌های بخش سیستماتیک در نظر گرفته شده‌است.

۲. بخش بیوم‌ها و جغرافیای گیاهی. بیشتر بیوم‌های جهان در قسمت شرقی باغ قرار دارد که در آن جنگل‌های هیرکانی، البرز، مناطق مدیترانه‌ای، آفریقا، استرالیا و بخشی از آمریکا در زمین‌های متعلق به دانشگاه تهران طراحی شده‌است. تالاب انزلی در شمالی‌ترین بخش و نزدیک به اتوبان همت قرار دارد. .زمین‌های ملاصدرا (محل موزه علم) با گونه‌های سوزنی برگ پوشیده شده‌اند. اگر چه این بخش خارج از محدوده فعلی باغ طراحی شده‌است، ولی پیشنهاد می‌شود در طرح توسعه جنگل‌های سوزنی برگ شمالی به باغ ملحق شود.

زاگرس در بخش غربی (شیب‌های غرب اتوبان چمران) قرار دارد. در همان نقطه یک آبشار (نماد آبشار مارگون) و یک تالاب (نماد تالاب گندمان) و مجاور آن نماد کوه دنا پیش‌بینی شده‌است. احیای رود–دره درکه بخشی از این طرح است که، امکان دسترسی برای بازدیدکنندگان در فصول پر باران میسر خواهد بود. در فصول کم‌باران نیز در صورت تصفیه آب این امکان فراهم می‌شود. در جنوبی‌ترین بخش رودخانه– ورودی جنوبی– یک آبشار طراحی می‌شود که به دلیل آنکه تنها رودخانه زنده مرکز تهران است از جذابیت بصری و گردشگری بالایی برخوردار است.

۳. بخش گیاهان دارویی و کاربردی. این بخش در شمالی‌ترین بخش باغ غربی است و شامل دو زیربخش گیاهان دارویی و اقتصادی علفی و نیز درختان باغی است. در باغچه‌های گیاهان دارویی و کاربردی گیاهان علفی و یا درختچه‌های کوتاه کاشت می‌شوند و درختان مثمر نیز در محلی که در گذشته باغ بوده‌است به همان شکل قدیمی حفظ شده و نیز این بخش تا مجاورت دانشگاه علوم پزشکی ایران توسعه می‌یابد.

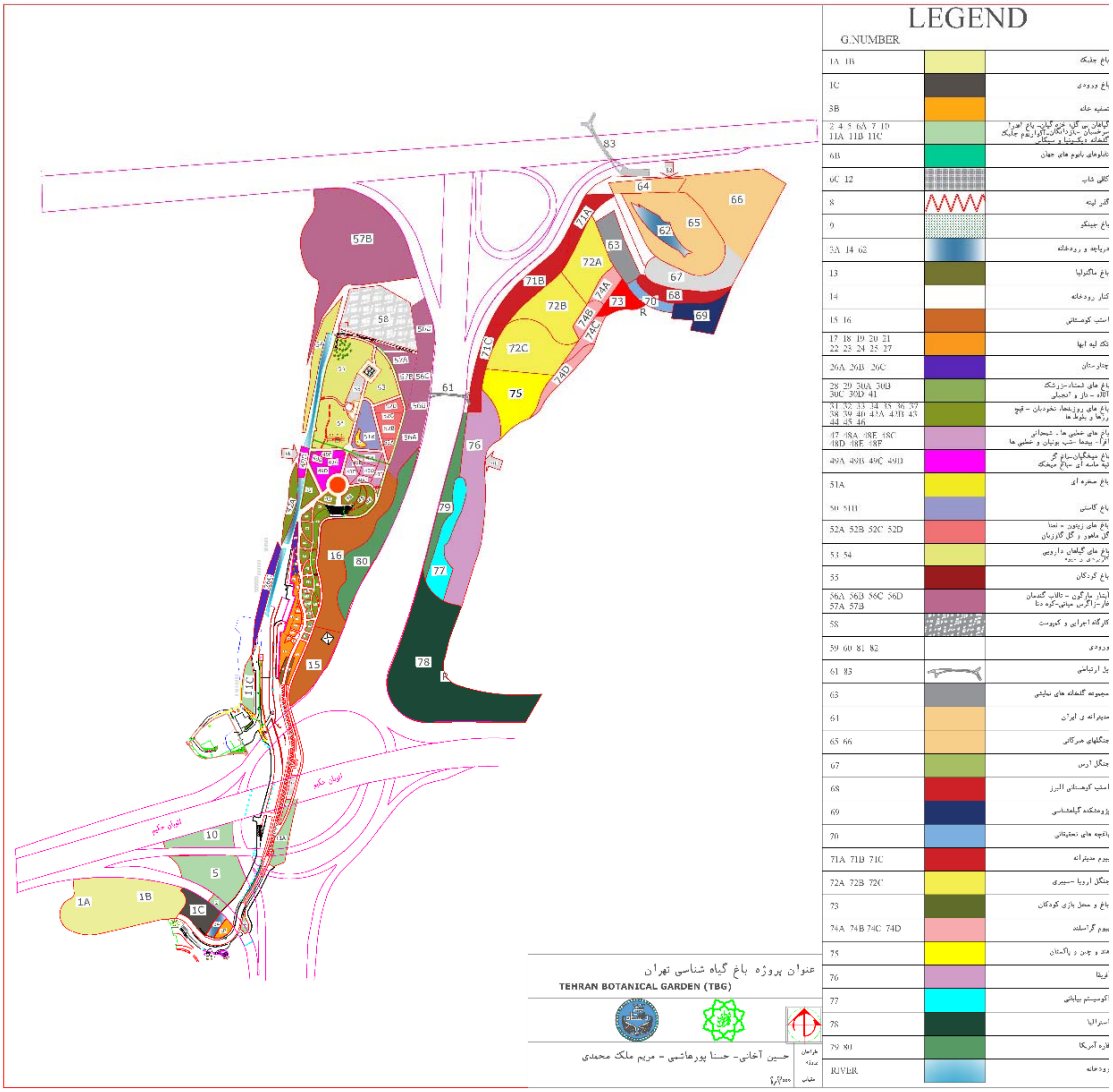
۴. گلخانه‌های تحقیقاتی و نمایشی. بخش عمده گلخانه‌های تحقیقاتی و نمایشی در شرق باغ در زمین‌های دانشگاه تهران و نزدیک پژوهشکده گیاهشناسی است. در این بخش حدود ۳۰۰۰ مترمربع گلخانه پیش‌بینی شده‌است و گیاهانی که از نظر اقلیمی امکان نگه‌داری آنها در فضای باز وجودندارد در این گلخانه‌ها کاشته خواهندشد و این گلخانه‌ها امکان بازدید از باغ را در طول سال فراهم می‌کنند. دو گلخانه کوچک (دیکسونیا–سیکاس و گلخانه کاکتوس) در بخش سیستماتیک (باغ غربی) طراحی شده‌اند.

۵. باغ کودکان. این باغ مجاور باغ میوه است و در آن امکانات کاشت گیاه و برگزاری کارگاه برای آموزش کودکان در نظر گرفته شده است.

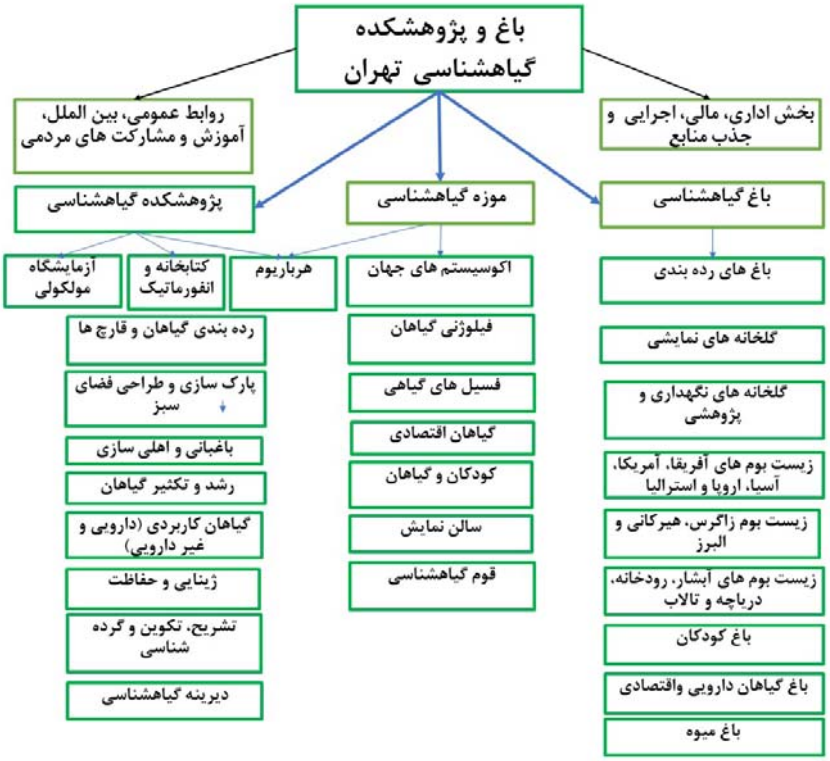
۶. پژوهشکده و هرباریوم. ساخت پژوهشکده در زمینی به مساحت حدود ۵۰۰ متر مربع زیر بنا در دو طبقه منفی صفر (هرباریوم) و پنج طبقه روی زمین پیش‌بینی شده است و محل تجمع فعالیت‌های تحقیقاتی دانشگاه تهران از سه پردیس علوم، کشاورزی و ابوریحان خواهدبود. این پژوهشکده دارای بخش‌های متنوعی است که در آن پژوهشگران به جنبه‌های مختلف تحقیقات گیاهشناسی برای استفاده از آن‌ها در فضای سبز، تولید گیاهان زینتی، کاشت و اهلی‌کردن گیاهان مقاوم به خشکی و شوری و همچنین ارائه تحقیقات در سطح بالای بین‌المللی خواهند پرداخت. رویکرد پژوهشی این مرکز انجام تحقیقات در

جنوب‌غربی آسیا و آسیای‌میانه است و در حال حاضر هیچ مرکز تحقیقاتی که بتواند این منطقه از جهان را پوشش دهد وجود ندارد. هدف‌گذاری این پژوهشکده به گونه‌ای است که با تجمیع هرباریوم‌های دانشگاه تهران، بتوان بزرگترین هرباریوم ایران را در آنجا ایجاد کرد. نقشه اولیه این پژوهشکده در شکل ۱۱ آمده است.

۷. موزه گیاهشناسی. یکی از بزرگترین کمبودهای کشور فقدان یک موزه نمایشی گیاهشناسی است. فلات ایران به عنوان قدیمی‌ترین تمدن جهان به عنوان بخشی از هلال بارور محلی برای اهلی‌کردن گونه‌های خودرو بوده است. انسان در این فلات ارتباط تنگاتنگی با گیاهان و محیط‌زیست داشته است که برای مخاطبان نمایش این تاریخ و همچنین استفاده انسان از گیاهان در سده‌های پیشین بسیار آموزنده و افتخارآفرین است. در ضمن نمایش زندگی و تنوع گیاهان به کمک امکانات دیجیتال مدرن برای دانش‌آموزان و دانشجویان از بخش‌های مهم این موزه خواهدبود.



شکل ۱۰- نقشه اولیه باغ گیاهشناسی تهران



شکل ۱۱- بخش های مختلف باغ گیاهشناسی تهران و پژوهشکده گیاهشناسی

برنامه کلی احداث باغ گیاهشناسی تهران

۱. فاز مقدماتی فروردین تا اسفند ۱۴۰۰ (کلنگ زنی و افتتاح) . آماده شدن باغ برای بازدیدهای محدود تخصصی (انعقاد قرارداد وتصویب دو پروژه طرح جامع و مدیریت پروژه پایان تیر ماه، تهیه طرح جامع و تصویب آن تا پایان شهریور.

۲. کوتاه مدت: فروردین ۱۴۰۱ تا اسفند ۱۴۰۲ (آماده سازی برای بازدید عموم)

۳. میان مدت: فروردین ۱۴۰۳ تا اسفند ۱۴۰۵ (تکمیل همه اجزای اصلی)

۴. بلند مدت خُرد: فروردین ۱۴۰۶ تا اسفند ۱۴۰۹ (اصلاح، توسعه و بهسازی و ایجاد کریدورهای طبیعی با سایر عناصر طبیعی شهری)

۵. بلند مدت کلان: فروردین ۱۴۱۰ تا اسفند ۱۴۱۹ (اصلاح، توسعه و بهسازی و ایجاد کریدورهای طبیعی با سایر عناصر طبیعی شهری)

جمع بندی

پارک پردیسان، برج میلاد، باغ گیاهشناسی تهران، پارک گفتگو و موزه علم (و طبیعت) در بین دو رود–دره مهم شهر تهران قرار دارند (شکل ۱۰). این مراکز مجموعه‌ای متصل و مرتبط را شکل داده‌اند که می‌توانند به عنوان قطب مهم گردشگری علمی و محیط زیستی در تهران، ایفای نقش کنند. پارک پردیسان به عنوان تنها باقیمانده محیط طبیعی شهر تهران و باغ گیاهشناسی نقش بسیار مهمی در حفظ و نمایش تنوع زیستی گستره ایرانو–تورانی و آموزش شهروندی در راستای توسعه پایدار خواهند داشت. در واقع همکاری سه تشکیلات مهم دانشگاه تهران به عنوان بزرگترین و قدیمی‌ترین دانشگاه کشور با شهرداری تهران و سازمان حفاظت محیط زیست، نشان دهنده مسئولیت اجتماعی دانشگاه، بازکردن درهای دانشگاه به روی عموم و تربیت نسلی مسئولیت‌پذیر، وطن‌دوست و آشنا با محیط زیست است. باغ گیاهشناسی جایگاه ویژه‌ای در این مجموعه خواهد داشت که در آن نه تنها آموزش

گیاهشناسی و پرورش گیاهان بومی مهم است بلکه در بخش جغرافیای گیاهی بیوم‌های جهان را به نمایش می‌گذارد تا نشان دهد که همه ما روی یک سیاره زندگی می‌کنیم و مسئولیت مشترکی در حفظ کره زمین داریم.

قرارگیری باغ گیاهشناسی تهران در مجاورت برج میلاد، نماد پایتخت مدرن ایران، امکان بازدید و پژوهش را برای عموم مردم ایران و جهان فراهم می‌کند. احیاء رود–دره درکه در باغ گیاهشناسی تهران باعث جذب طبیعتگردان علاقه‌مند خواهد شد که در حال حاضر با کانال‌کشی رودخانه‌ها و یا اشغال حریم آن‌ها امکان بهره‌مندی از این موهبت زیبای طبیعی شهر تهران وجود ندارد. شایان ذکر است که در زمان نگارش این مقاله طرح جامع باغ گیاهشناسی تهران، توسط تیمی از متخصصان در پردیس علوم دانشگاه تهران در دست تهیه و با توجه به فراهم بودن زیرساخت ایجاد باغ گیاهشناسی در بخش غربی طراحی و کاشت گیاهان در باغچه‌های این بخش در دست انجام است.

ساخت باغ گیاهشناسی با مشارکت شهرداری تهران نقطه تلاقی ماموریت دو نهاد بزرگ دانشگاه و شهرداری است که اولی دارای مسئولیت اجتماعی بزرگی برای پیوند علم و اجتماع در راستای دانشگاهی سبز است و دومی شهر را برای همه می‌خواهد. به همین دلیل تلاش می‌کنیم که باغ گیاهشناسی را با **۱) پایه‌ریزی تمامی اجزای پروژه بر مبنای کاهش ردپای کربن و آب**؛ ۲) **استفاده از مشارکت مردم شامل خیرین و داوطلبان در ساخت و نگهداری باغ؛ ۳) استفاده از ظرفیت‌ها و ارتباطات بین‌المللی در ساخت باغ گیاهشناسی و فعالیت های آن و ۴) کاستن از بروکراسی در فرایند پیشبرد پروژه**، مدلی موفق برای اجرا در سایر مناطق ایران بنا کنیم.

ثبت ملی میراث طبیعی و تنوع زیستی پردیسان

در هنگامی که این مقاله در دست انتشار بود، پیرو گزارش نتایج تحقیقات دانشگاه تهران در کمیسیون سلامت، محیط زیست و خدمات شهری شورای اسلامی شهر تهران در تاریخ ۳ مرداد ۱۴۰۰، ماده واحده‌ای در خصوص ثبت میراث طبیعی پارک طبیعت پردیسان تهیه شد. این طرح به صورت دو فوریتی با اکثریت قاطع نمایندگان در تاریخ ۱۰ مرداد ماه به تصویب رسید. **طبق این مصوبه علاوه بر موظف شدن شهرداری تهران در پیگیری ثبت میراث طبیعی و تنوع زیستی و گیاهی این پارک موارد زیر نیز آمده است:**

۱- **شناسایی آثار مثبت بوستان پردیسان در کاهش پیامدها و تهدیدات محیط زیست در شهر تهران، همچون کاهش کربن و جزایر گرمایی و پایدارسازی اکوسیستم طبیعی محدوده‌های پیرامونی.**

۲- **توجه به تنوع گیاهی منحصر به فرد بوستان طبیعت پردیسان به عنوان گونه‌های شاخص ویژه شهر تهران و حفظ، تکثیر و معرفی ذخایر طبیعی آن در قالب باغ گیاه شناسی .**

۳- **تعیین محدوده‌ها و نواحی احیا و گسترش فضای سبز طبیعی و سازگار با شرایط رویش طبیعی و تهیه نقشه‌های حفاظتی و حدود ثبت ملی میراث طبیعی با همکاری سازمان حفاظت محیط زیست.**

۴- **توجه به حفاظت از محیط طبیعی مناطق همجوار رود دره‌های متصل به محدوده بوستان و رعایت الزامات بهره برداری و ویژگی‌های محیط زیستی متناسب با تنوع زیستی.**

۵- **برنامه ریزی و اقدام مشترک با سازمان‌های ذیربط ذکر شده جهت ارتقای کیفیت محیطی و حفظ شرایط تفرجگاهی طبیعی بدون ایجاد ناپایداری و تهدیدات زیستی و جلوگیری از پروژه‌های نامتجانس و دستکاری در عرصه بوستان طبیعت پردیسان .**

سپاسگزاری

نگارندگان مقاله وظیفه خود می‌دانیم که از جناب آقای دکتر حناچی شهردار محترم تهران و جناب آقای دکتر نیلی ریاست محترم دانشگاه تهران تشکر کرده و تاکید می‌کنند که بدون همراهی و نگاه مثبت آن‌ها آغاز پروژه باغ گیاهشناسی ممکن نبود. از جناب آقای مهندس علی‌محمد مختاری مدیر عامل محترم سازمان بوستان‌ها و فضای سبز تهران و خانم دکتر اخوان معاون محترم آموزش و پژوهش

آن سازمان و آقای آرش میلانی عضو محترم شورای شهر تهران نیز به خاطر حمایت‌ها و همراهی بسیار سپاسگزاریم.

از آقای شیرکوه شکری در تهیه نقشه شکل ۸ تشکر می‌شود.

منابع

Mahdavi P, Akhani H, Van der Maarel E (2013) Species diversity and life form patterns in steppe vegetation along a 3000 m altitudinal gradient in the Alborz Mountains, Iran. Folia Geobotanica 48 (1):7–22.

McHarg L (1975) Pardisan: plan for an environmenal park in Tehran. The Mandala Collaborative/Wallace, McHarg, Roberts and Todd.,

Meyer-Wieser T (2017) Architectural Guide Iran: From the Safavids to the Iranian Revolution. DOM Publishers.

Pourhashemi H (2021) The influence of Persian Garden on modern European landscape architecture. BOKU University, Vienna,.

Primack RB, Miller-Rushing AJ (2009) The role of botanical gardens in climate change research. New Phytol 182 (2):303-313.

The Angiosperm Phylogeny G (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. Bot J Linn Soc 181 (1):1-20

The World's Herbaria,(2021) A Summary Report Based on Data from Index Herbariorum.

Trzyna T (2014) Urban Protected Areas: Profiles and best practice guidelines. Best Practice Protected Area Guidelines Series No. 22, . Gland, Switzerland: IUCN. xiv + 110pp..

آخانی ح (۱۳۹۶) پردیسان؛ پارکی متفاوت در تهران. همشهری,

آخانی ح (۱۳۹۷) بحران کمیت تولید مقاله و بی اخلاقی علمی در ایران. مجله زیست شناسی ایران ۲ (۳. ۴):۳۲-۴۲

شورای اسلامی شهر تهران (۱۳۹۷) برنامه پنج ساله سوم توسعه شهر تهران (۱۳۹۸-۱۴۰۲). http://shoratehranir رده بندی مصوبه (۲/۱۱۸/۹۷/۵)

- پایگاه داده باغ گیاهشناسی ملی https://nbgi.rifr-ac.ir

Akhani H, Mahdavi P, Noroozi J, Zarrinpour V (2013) Vegetation Patterns of the Irano-Turanian Steppe along a 3,000 m Altitudinal Gradient in the Alborz Mountains of Northern Iran. Folia Geobotanica 48 (2):229-255.

Berg RY (1982) Per Wendelbo til minne (1927-1981). Blyttia 40:141-147.

Chen G, Sun WB (2018) The role of botanical gardens in scientific research, conservation, and citizen science. Plant Diversity 40 (4):181-188.

Europe WROf (2017) Urban green spaces: a brief for action. World Health Organization, Regional Office for Europe, Copenhagen

Firouz E (2012) The Memooirs of Eskandar Firouz [Persian Language]. Ibex Publishers, Bethesda

Hill W (1915) The History and Functions of Botanic Gardens. Annals of the Missouri Botanical Garden 2: 185-240.

Lack HW (2000) Botanisches Museum Berlin: Adolf Engler - Die Welt in einem Garten. Prestel-Verlags, München.

Löhne C, Friedrich K, Kiefer I (2009) Natur und Nachhaltigkeit: Innovative Bildungsangebote in Botanischen Gärten, Zoos und Freilichtmuseen Naturschutz und Biologische Vielfalt 78 78 . Bundesamt für Naturschutz, Bonn-Bad Godesberg.

- پایگاه داده باغ گیاهشناسی کیو https://www.kew.org
- پایگاه داده باغ گیاهشناسی برلین https://www.bgbm.org
- پایگاه داده مرکز پژوهشی گیاهشناسی باغ ارم، دانشگاه شیراز https://eramgarden.shirazu.ac.ir
- پایگاه داده باغ‌های گیاهشناسی جهان https://tools.bgci.org

Complicated legacies: The human genome at 20.

Brad Wible

Science, 5 February 2021, VOL 371 ISSUE 6529

سالگرد تولد ژنگان انسان

میراث دشوار: ژنگان انسان در بیست سالگی

وحیده حسن زاده*

دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی

چکیده

امروزه، میلیون‌ها نفر به اطلاعات ژنگانی خود دست‌یافته‌اند. ارائه مستقیم خدمات ژنگانی به متقاضیان و تکمیل آن‌ها با داده‌های بزرگ دیگر، پیش‌نویس ژنگان انسان را که به‌درستی در فوریه ۲۰۰۱ به‌عنوان یک دستاورد استثنائی جشن گرفته شد، هر چه بیشتر پیش‌پاافتاده و معمولی می‌کند. اما چنین پیشرفت‌های عملی و فنیِ قابل‌توجهی بدون گام‌های اشتباه و دردسرهای فزاینده نبوده است. مجله ساینس (*Science*) از متخصصان زیر خواسته است تا به ما در بررسی اینکه چگونه به اینجا رسیدیم و به کدام سمت باید برویم (یا نرویم)، کمک کنند.

کلیدواژگان: ژنگان، طرح ژنگان انسان، میراث ژنگان انسان

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: hassanzadeh@khayam.ut.ac.ir

فرهنگ به‌اشتراک‌گذاری سریع داده‌ها، مطرح‌تر از همیشه

توسط کاترین ماکسون جونز و رابرت کوک دیگان

به‌اشتراک‌گذاری داده‌ها می‌تواند جان انسان‌ها را نجات دهد. "اصول برمودا" برای علنی کردن داده‌ها میراث اصلیِ تولید نخستین توالی DNA مرجعِ انسانی در قالب طرح ژنگان انسان است (۱). از سال های ۱۹۹۰ به این سو، این اصول به سنگ محکی برای علمِ باز[1] تبدیل شده است.

در فوریه ۱۹۹۶، مجریان طرحِ ژنگان انسان در برمودا گرد هم آمدند تا درباره افزایش مقیاسِ تولید توالی DNA مرجعِ ژنگان انسان بحث کنند. با توضیحاتی، کنسرسیوم توافق

[1] open science

کرد که تمام مراکز توالی یابی، داده‌های خود را طی ۲۴ ساعت به‌صورت برخط منتشر کنند.

نمونه‌های دیگری از به‌اشتراک‌گذاری داده‌ها، پیش از چاپ، وجود داشت اما در اغلب موارد- مانند بانک داده پروتئین- به‌اشتراک‌گذاری داده‌ها پیش از چاپ، به جمع کوچکی از کاربران محدود می‌شد و گاهی دانشمندان حتی پس از چاپ مقاله نیز از انتشار داده‌ها مضایقه می‌کردند (۲). در آن زمان، خواسته اصول برمودا مشخص بود: تمام توالی‌هایی که بودجهٔ تولید آن‌ها توسط طرح ژنگان انسان تامین می‌شد می‌بایست طی ۲۴ ساعت به صورت برخط در اختیار همگان قرار گیرد. اما اجرای این سیاست هیچ ساده نبود و چالش‌های پیش‌روی طرح ژنگان انسان در آن زمان، اکنون به‌اشتراک‌گذاری داده‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۳).

اصول برمودا به حمایت نیاز داشت و این حمایت از طرف جان سولستون[1] و رابرت واترستون[2] فراهم شد؛ کسانی که پیشتر داده‌های زیست‌شناسی *کانورابدیتیس الگانس*[3] را به‌اشتراک‌گذاشته بودند و برای این ایدهٔ مترقی یک سابقهٔ عملی داشتند. شرایط هم مهم بود و در ابتدا انتشار داده‌ها طی ۲۴ ساعت صرفا در حد یک خواسته باقی ماند و به یک شرط جدی تبدیل نشد. با این انعطاف پذیری امکان شرکت مراکز کوچک در طرح ژنگان انسان فراهم و طرح با سیاست‌های ناسازگار آن زمان در کشورهای آلمان، فرانسه، ژاپن و ایالات متحده آمریکا وفق داده شد.

اما در نهایت این سیاست باید اجرا می‌شد. رهبران طرح ژنگان انسان نامه‌های قاطع و صریحی برای سرمایه‌گذاران فرستادند، از آن‌ها خواستند تا سیاست‌های خود را با اصول برمودا همساز کنند و آن‌ها را به اخراج از کنسرسیوم توالی‌یابی بین‌المللی در صورت عدم توجه به این خواسته تهدید کردند.

از آن زمان تا کنون، اصول برمودا با جوامع علمی مختلفی سازگار شده و برای بسیاری دیگر منبع الهام بوده است (۴). به‌عنوان نمونه، به‌اشتراک‌گذاری سریع داده‌ها در بحران کنونیِ کروناویروس سرنوشت‌ساز بوده است. ژنگان کروناویروسِ سندروم حادِ تنفسی ۲ (SARS-CoV-2) خیلی سریع شناسایی، توالی آن در تاریخ ۱۰ ژانویه ۲۰۲۰ منتشر و سپس مرحله تولید واکسن و تست‌های تشخیصی آغاز شد. کنسرسیوم COVID-19 HGI[4] – که به بررسی نقش عوامل ژنتیکی میزبان در استعداد به ابتلا به COVID-19 و شدت بروز بیماری می‌پردازد- داده‌ها را به‌سرعت و برای همگان در بستر GISAID[5]- طرحی که در سال ۲۰۰۶ برای به‌اشتراک‌گذاری داده‌های مربوط به ویروس آنفلونزا شکل گرفت- منتشر کرد (۵،۶).

طبیعتاً، همه داده‌ها را نمی توان به‌اشتراک‌گذاشت. به‌عنوان نمونه، داده های پزشکیِ افرادی را که قابل شناسایی هستند نمی‌توان همانند نمونه‌های استفاده شده در تولید توالی ژنگان مرجع تلقی کرد. جوامع علمی بسیاری مانند کنسرسیوم‌های متفاوتی که بر روی آلزایمر تحقیق می‌کنند، آزمایش‌های "علم باز" در انستیتو عصب شناسی مونترال[6] و انستیتو ماریو نگری[7] و کنسرسیوم ژنگان شناختی ساختاری[8] استراتژیِ به‌اشتراک‌گذاری داده‌ها را پیش از چاپ با موفقیت اتخاد کرده اند.

طرح ژنگان انسان توقع را بالا برد. ارزش‌های اصلی طرح، علم باز و جریان سریع داده‌ها، همچنان پابرجاست و ضرورت به‌اشتراک‌گذاری سریع داده‌ها در زیست‌پزشکی به آن‌ها دامن زده است.

عدم تنوع مانع دست‌یابی به وعده *علم ژنگان* می‌شود

توسط چارلز روتیمی، شانیکا کالیه و امی بتلی

اگر ما در آینده نزدیک، همچنان، عمدتا بر افراد اروپایی‌تبار تمرکز کنیم، اثر فراگیر و بلندمدت ژنگان شناختی انسانی لطمه خواهد دید و از درک تاریخچه و زیست‌شناسی انسان باز خواهیم ماند (۷). گرچه، همه ما یک جد مشترک و اخیر در آفریقا داریم و تفاوت‌های ژنتیکی بین دو فرد کم است (0.1%)، با این حال این تفاوت یعنی سه میلیون نقطه که در آن ژنگان فرد می‌تواند متفاوت باشد. توزیع این واریانت‌های ژنتیکی انسانی تصادفی نیست. مدت‌ها تصور می‌شد که ژنگان افراد با جد متفاوت و از مناطق جغرافیایی مختلف، با هم متفاوت است. با این حال، ژنگان شناختی عمدتا بر ژنگان اروپایی‌تبارها متمرکز بوده است و این

[1] John Sulston
[2] Robert Waterston
[3] *Caenorhabditis elegans*

[4] COVID-19 Host Genetics Initiative
[5] Global Initiative on Sharing All Influenza Data
[6] Montreal Neurological Institute
[7] Mario Negri Institute
[8] Structrual Genomics Consortium

احتمالا به دلیل دسترسی محققان به داده‌های زیاد و خوب توصیف شده از اروپایی‌تبارها، کنار گذاشته‌شدن و محروم‌کردن محققان کم‌نماینده توسط شبکه‌های دانشگاهی و تحقیقاتی (۸) و نبود انگیزه برای چاپ یا سرمایه‌گذاری در ژنگان شناختی افراد متنوع در مقیاس بزرگ بوده است. اما اکنون تنوع و نمایندگی از حوزه تحقیق تخصصی به یک آگاهی گسترده در ژنگان شناختی ارتقاء یافته است.

با گسترش این آگاهی، حوزه ژنگان شناختی باید با درک و اطلاع رسانی درباره معنای این نتایج دست‌وپنجه نرم‌کند؛ ۱) دو آفریقایی در آفریقای زیرصحرایی احتمالا همان‌قدر از نظر ژنتیکی با هم متفاوت‌اند که با یک فرد اروپایی یا آسیایی‌تبار؛ ۲) زیر مجموعه‌ای از واریانت‌های ژنتیکی انسانی تنها در جمعیت‌های آفریقایی یافت می‌شود؛ زیرا معدود انسان‌هایی که حدود صد هزار سال پیش آفریقا را ترک کردند تنها حامل برخی از تغییرات ژنتیکی بودند که در آن زمان وجود داشت؛ ۳) محیط زیست آفریقا اثر خود را بر ژنگان انسان گذاشته است (به‌عنوان نمونه، واریانت های ژنی که افراد را به نارسایی کلیه مستعد می کند)؛ تاثیراتی که، در سراسر جهان، تنها در افرادی دیده شده است که جد آن‌ها در نواحی خاصی از آفریقا می‌زیسته است (۹).

به طور مشابه، واریانت‌های ژنتیکی انسانی نیز وجود دارند که از نظر تاریخچه‌ای با ارزش و در سلامت انسان حائز اهمیت هستند و در جمعیت‌های آفریقایی نادرند یا دیده نمی شوند. به‌عنوان نمونه، نواحی از ژنگان با DNA باستانی–نتیجهٔ آمیزش بین خویشاوندان قدیمی انسان (مانند نئاندرتال ها) در آسیا، اروپا و آمریکا–عملکردهای زیستی چون استعداد به دیابت و عفونت‌های ویروسی دارند (۱۰). بنابراین، برای اینکه فناوری‌های حاصل از ژنگان شناختی و رویکردهای بالینی و بهداشت عمومی، بدون تشدید نابرابری‌های بهداشتی، برای همگان به کار گرفته شود، باید افراد با اجداد مختلف و از مناطق جغرافیایی متفاوت در مطالعات وارد شوند.

دانشمندان با اولویت‌دادن هر چه بیشتر به جمعیت‌های متنوع در تحقیقات ژنگان شناختی به این شکاف‌ها واکنش نشان می دهند. برنامه‌هایی چون TOPMed، All of Us، ICDA[1]، H3Africa[2]، MVP[3]، GenomeAsia و کنسرسیوم جهانی COVID در افزایش تنوع و مشارکت هر چه بیشتر محققان سهیم بوده است. تنوع محققان ژنگان شناختی به توجه دائمی نیاز دارد. به‌عنوان نمونه، برنامه H3Africa، برای هر طرح، بودجه‌ای جهت آموزش و ایجاد زیرساخت در نظر گرفته است و برای اولویت‌دادن به ظرفیت‌سازی طرح کلی فراهم می‌کند. جامعه ژنگان شناختی باید در آنالیزها و نتیجه گیری‌ها به نمونه‌های متنوع بها دهد و منابعی را برای ظرفیت‌سازی و حذف موانع از مسیر ایجاد نیروی کار متنوع اختصاص دهد (۱۱).

زیست‌شناسی الگوریتمی: رها از قید و بند

توسط هالام استیونز

طی چند هفته بی‌امان در میانه سال ۲۰۰۰، جیم کنت[4]، یک دانشجوی فوق لیسانس در دانشگاه کالیفرنیا در سانتا کروز اولین نرم‌افزار را برای سرهم‌کردن ژنگان ایجاد کرد. الگوریتم GigAssembler میلیون‌ها قطعه توالی DNA را که در آزمایشگاه‌های سراسر دنیا تولید شده بود، کنار هم چید و به معنای واقعیِ کلمه ژنگان انسان را ساخت. تقریبا در همان زمان، شرکت Celera Genomics شرکت Paracel را که در اصل برای جمع‌آوری اطلاعات نرم‌افزار طراحی می کرد، خریداری کرد. شرکت Paracel مالک سخت‌افزار و نرم‌افزاری بود که به‌طور خاص برای مطابقت متن طراحی شده بود (TRW Fast Data Finder) و به‌سرعت برای پیداکردن ژن‌ها در ژنگان وفق داده شدند.

سردرآوردن از حروف در هم‌ریختهٔ ژنگان مستلزم جست‌وجوی سریع و دقیق یک توالی خاص در یک فضای بسیار بزرگ بود. این امر به اشکال جدیدی از آموزش و تخصص رشته‌ای نیاز داشت. فیزیک‌دانان، ریاضی‌دانان و دانشمندانِ علوم کامپیوتر روش‌هایی را همچون برنامه‌ریزی خطی، درهم‌سازی[5] و مدل‌های پنهان مارکوف در زیست‌شناسی وارد کردند. از سال ۲۰۰۵، گسترش توالی یابی نسل بعد[6] گنجینه فزاینده‌ای از داده‌ها را ایجاد کرده است که به الگوریتم‌های سریع‌تر برای نمایه‌سازی و جست‌وجو نیاز داشت. زیست‌شناسی روش‌های "داده‌های بزرگ" را از صنعت (به‌عنوان نمونه Hadoop) به‌عاریه‌گرفته است اما در پیش‌راندن مرزهای

[1] International Common Disease Alliance

[2] Human Heredity and Health in Africa (H3Africa)
[3] Million Veteran Program
[4] JimKent
[5] hashing
[6] next-generation sequencing

تحقیقاتِ علوم کامپیوتر نیز سهیم بوده است (به‌عنوان نمونه تبدیل باروز–ویلر[1]) (۱۲).

ادغام بیوانفورماتیک و زیست‌شناسیِ محاسباتی حول الگوریتم‌ها باعث ایجاد اشکال نهادیِ تازه و بازارهای جدیدی برای زیست‌پزشکی شده است. زیست‌شناسی داده‌محور که از آمار نیرو می گیرد مجموعهٔ صنعتی–پزشکی نوظهوری را شکل داده است که تشخیص و درمان شخصی و دقیق را نوید می‌دهد. خطوط لوله الگوریتمی که ژنوتیپ یک فرد را با داده‌های مرجع مقایسه می‌کند، طیفی از پیش بینی‌ها را درباره سلامت و خطر فرد در آینده ارائه می‌کند. شرکت‌هایی مانند ۲۳ و من[2] که با استفاده از الگوریتم‌ها مستقیما به متقاضیان خدمات ژنگان شناختی ارائه می‌دهند، به ما وعدهٔ زندگی سالم‌تر، شادتر و طولانی‌تری می‌دهند.

دردسترس قرارگرفتن داده‌های ژنگانی افراد چالش اساسی برای حریم خصوصی، مالکیت داده‌ها و سوگیری الگوریتمی محسوب می‌شود (۱۵–۱۳) و اگر نمی‌خواهیم ژنگان شناختی به خدمتکاری برای "سرمایه‌داری نظارتی" بدل شود، باید به این چالش‌ها بپردازیم (۱۶). بسیاری از شرکت‌های فناوری، با استفاده از یادگیری ماشین در حال ترکیب داده‌های زیستی افراد با سایر اشکال داده‌هایِ شخصی هستند (کجا می‌روند، چه می‌خرند، با چه کسانی معاشرت می کنند و چه می پسندند). مدت‌هاست امید به ژنگان شناختی با ترس از اینکه ژنگان ممکن است اطلاعات زیادی درباره ما افشا کند و ما را در معرض اشکال جدیدی از تبعیض، تقسیم اجتماعی یا کنترل قراردهد، کاهش‌یافته است. زیست‌شناسی الگوریتمی با دقت فزاینده‌ای بدن ما را به تصویر می‌کشد و پیش بینی می‌کند اما زیست‌پزشکی را نیز به مدار غول‌های فناوریی نزدیک‌تر می‌کند که گرد هم می‌آیند و تلاش می‌کنند از داده‌ها پول بسازند.

ارزش پزشکی دقیق[3] و استطاعت استفاده از آن

توسط کاترین فیلیپس، جرون جانسن و کریستوفر ویانت

بحث‌ها دربارهٔ پزشکی دقیق که از اطلاعات ژنتیکی برای انتخاب مداخله‌های پزشکی استفاده می‌کند، عمدتا بر این پرسش متمرکز است که آیا افراد استطاعت استفاده از پزشکی دقیق را خوهند داشت یا خیر؟ (۱۷) اما تمرکز تنها بر استطاعت و نه بر ارزش پزشکیِ دقیق خطر امتناع از استفاده از فناوری‌هایی را به‌دنبال دارد که ممکن است به مراقبت‌های بهداشتی موثرتر بینجامند. ارزش پزشکیِ دقیق را می توان با نتایج بهداشتیِ به دست آمده به ازای هر دلار هزینه شده برای یک مداخله اندازه گیری کرد اما با توجه به هزینه بالای این نوع پزشکی، آیا ما استطاعت استفاده از آن را خواهیم داشت؟ در حالت ایده آل، یک مداخله بر اساس پزشکیِ دقیق هم باید به‌صرفه باشد و هم نتایج بهتری به‌دست دهد اما اغلب، مراقبت‌های بهداشتی بهتر با هزینه‌های بالاتر به دست می‌آید و پزشکی دقیق استثنایی به این قاعده نیست. با تمایز بهتر میان استطاعت استفاده از پزشکی دقیق و ارزش آن و با در نظرگرفتن نحوه پرداختن به هر دو معیار، سریع‌تر می توان به پزشکی دقیقِ ارزشمند و قابل‌دسترس دست یافت.

به‌طور کلی ادبیات علمی معلوم نکرده است که پزشکی دقیق ارزش کمی دارد یا افراد استطاعت استفاده از آن را نخواهند داشت اما همچنین نشان نداده است که پزشکی دقیق نوشدارویی برای کاهش هزینه‌های مراقبت بهداشتی است و یا همیشه به مراقبت‌های بهتری می‌انجامد (۱۷). درک ارزش و استطاعت استفاده از پزشکی دقیق مستلزم جمع‌آوری مدارکی درمورد هزینه‌های کلی، نتایج و همچنین جبران هزینه‌های بالقوه است اما به‌دست‌آوردن این داده‌ها دشوار است؛ زیرا نتایج سودمند با گذشت زمان به دست می‌آیند اما هزینه‌ها پیش‌پرداخت می‌شوند (۱۸). به علاوه، پزشکی دقیق به دلیل مداخله‌های دنباله‌دار می تواند پیامدهای مهمی نه تنها برای بیماران بلکه برای اعضای خانواده دارای همان بیماری ژنتیکی داشته باشد. از آزمایش‌های نوظهور پزشکی دقیق می توان برای غربالگری جمعیت‌های بزرگ استفاده کرد. این آزمایش‌ها شامل توالی‌یابی ژنگان همهٔ زاده‌ها، آزمایش بیوپسی مایع برای غربالگیری سرطان در ویزیت‌های عادی و اولیه و آزمایش برای پیش بینی بیماری آلزایمر در بزرگسالان می‌شود. این مداخله‌های پزشکی می‌توانند بسیار سودمند باشند اما احتمالا مستلزم هزینه‌های اولیه بالایی خواهند بود. پیچیدگی دیگر این است که بسیاری از مداخله‌های پزشکی دقیق چند ژن را که به چند بیماری مربوط می‌شوند اندازه

[1] Burrows-Wheeler Transform
[2] 23andMe
[3] precision medicine

گیری می‌کند و انواع بیشماری از ارزش را همچون ارزش شخصی این اطلاعات برای بیماران فراهم می‌کند (۱۹).

روش‌های بسیاری برای تلفیق استطاعت استفاده از پزشکی دقیق و ارزش آن ایجاد شده است اما آنالیزهای هزینه-کارایی اغلب تاثیر بودجه را بررسی نمی کند و این می تواند به نتیجه گیری‌های ناقص و متناقض منجر شود (۲۰). اما ارزیابی‌هایی مانند ارزیابی موسسه بررسی بالینی و اقتصادی[1] که همزمان ارزش و استطاعت استفاده از پزشکی دقیق را در نظر می‌گیرد بیشتر توسط تصمیم‌گیرندگان پذیرفته می‌شود (۲۱). توجه فزاینده به استطاعتِ استفاده از پزشکی دقیق در کنار ارزش آن، بیش از آنکه پیامد پیشرفت‌های روش شناختی باشد، نتیجه افزایش تمرکز بر نحوهٔ تضمین مراقبت‌های بهداشتی پایدار و کارآمد (و اراده سیاسی برای این کار) است. یکی از پیامدهای مثبت این امر افزایش تحقیق برای تعریف بهتر و کمی‌یابی استطاعت و ارزش با توجه به داده‌های موجود است.

پزشکی دقیق با ما خواهد ماند. اما تنها در صورتی ظرفیت بالقوه آن بالفعل می‌شود که هم بسیار ارزشمند و هم دردسترس باشد.

پایان درهم‌تنیدگی نژاد و ژنتیک

توسط دوروتی رابرتز

به‌دنبال انتشار توالی ژنگان انسان برای نخستین بار، محققان چیزی را تایید کردند که بسیاری از دانشمندان دهه‌ها پیش آن را پذیرفته بودند: نژاد یک تقسیمِ طبیعی انسان نیست که در ژن‌ها نوشته شده باشد بلکه یک سازه اجتماعی است (۲۲،۲۳). اما نقشهٔ ژنگان انسان، به جایِ منسوخ کردن مفهوم نژاد، سبب شد دانشمندان به تفاوت‌های ژنتیکی بر اساس نژاد دوباره علاقه‌مند شوند. انتشار مطالعات ژنتیکی جدید در تارنماهای برتری‌طلبان سفیدپوست باعث شد در سال ۲۰۱۸ انجمنِ آمریکایی ژنتیک انسان بیانیهٔ دیگری صادر و ادعای خلوص نژاد بر اساس ژنتیک را رد کند و آن‌ها را "بی‌معنا از نظر علمی" بخواند. این در حالی است که بسیاری از ژنتیک‌دانان حتی نمی‌دانند مفهوم زیستی نژاد چگونه برای حمایت از نژاد پرستی ابداع شد. هیچ یک از این اظهارات از جست‌وجو برای یافتن تفاوت‌های ژنتیکی بین نژادها و توضیحات ژنتیکی برای نابرابری‌های نژادی متفاوت جلوگیری نکرد. این امر به نوبهٔ خود باعث سردرگمی مبرمِ عموم در مورد ژنتیک و نژاد شده است.

اکنون زمان جدا کردن نژاد از ژنتیک و تلاش در مسیر رسیدن به درک کاملا جدیدی از یگانگی و گوناگونی انسان فرا رسیده است. دو رویکرد عمومی برای کمک به هدایت سوال‌های پژوهشی نوآورانه و روش‌هایی که دیگر بر طبقه‌بندی نژادیِ ابداعی متکی نیستند، وجود دارد. نخست، محققان ژنتیک باید از استفاده از نژاد به‌عنوان یک متغیر زیستی که می‌تواند تفاوت‌ها در بهداشت، بیماری و پاسخ به درمان را توضیح دهد، دست کشند (۲۴). برخورد با نژاد به‌عنوان یک عامل خطرِ زیستی، این حقیقت را که چگونه نژادپرستیِ ساختاری تاثیرات زیستی به‌جا می‌گذارد و در جمعیت‌های نژادی به نابرابری‌های بهداشتی می‌انجامد، پنهان می‌کند. اپی‌ژنتیک برای تحقیق درباره مسیری که از طریق آن شرایطِ اجتماعی نابرابر پیامدهای بهداشتیِ متفاوت ایجاد می‌کند، مدل‌های نویدبخشی پیشنهاد می‌کند. اما محققان باید محتاط باشند تا فرایندهای اپی‌ژنتیکی مضر، ابدی و اجتناب‌ناپذیر به‌نظرنرسند و توجه را از نابرابری‌های ساختاری، که در وهله اول مسئله را ایجاد کرده اند، منحرف نکنند (۲۵).

دوم، محققان ژنتیک نباید برای مطالعات ژنتیک انسان تنها از استاندارد اروپایی و سفید استفاده کنند و در عوض دامنه وسیع‌تری از گوناگونی ژنتیکی انسان را مطالعه کنند. به‌عنوان نمونه، نتایج طرح‌هایی که به گسترش پایگاه‌های داده ژنتیکی با DNA از گروه‌هایی در قاره آفریقا اختصاص یافته، نشان داده است که این جمعیت‌ها از نظر ژنتیکی از تمام جمعیت‌های روی زمین متنوع‌تر هستند و این افسانه را که نژاد متمایزی به نام سیاه وجود دارد، رد می‌کند (۲۶). هدفِ ایجاد تنوع در تحقیقات زیست‌پزشکی نباید یافتن تفاوت‌های ژنتیکیِ ذاتی بین گروه‌های نژادی باشد بلکه باید دادن دسترسیِ برابر به منافعِ شرکت در تحقیقات اخلاقی و با کیفیت بالا (مانند کارآزمایی های بالینی) به افراد از جمعیت‌های نژادی و فراهم کردن منابع غنی‌تری برای دانشمندان جهت درک زیست‌شناسی انسان باشد. از این طریق، تحقیقات ژنتیکی می‌تواند به تشخیص‌ها و درمان‌های شخصی شدهٔ بیشتری منجر شود که دیگر بر تصمیم‌های پزشکی ناویژه، مطلقا بر اساس نژاد بیمار، بستگی ندارد.

[1] The Institute for Clinical and Economic Review (ICER)

حریم خصوصی ژنتیکی در دنیای پس از COVID

توسط دینا زیلینسکی و یانیو ارلیک

در سال ۲۰۰۷، ژنگان تنها دو نفر کاملا توالی‌یابی شده بود: کرگ ونتر[1] و جیمز واتسون[2]. امروزه بیش از ۳۰ میلیون نفر به داده‌های ژنگانی باجزئیات خود دسترسی دارند. عادی شدن داده‌های ژنگانی به، پیوستن دوباره خانواده‌ها با یکدیگر، مقابله با نژادپرستی و افزایش دانشِ ژنتیکی کمک کرده است (۲۸، ۲۷) اما همچنین امکان نظارت در مقیاس وسیع را نیز فراهم کرده است. همبستگی واریانت‌های DNA بین خویشاوندان دور به این معناست که با پایگاه‌های داده نسبتا کوچک می توان بخش بزرگی از جمعیت را، از جمله جمعیتی را که در پایگاه داده موجود نیست، شناسایی کرد (۲۹). بالا بودن ابعاد داده‌های DNA و عدم تعادلِ پیوستگی به این معناست که تلاش‌ها برای پنهان‌کردنِ داده‌های فردی با یکی‌کردن ژنوم‌ها یا سانسورکردن بخشی از ژنگان احتمالا به طور غیرمنتظره‌ای با شکست روبرو می‌شود (۳۰) و با ظهور ژنگان شناختی کاربردی و تارنماهای شخصِ سوم که به شرکت‌کنندگان در تحقیقات اجازه بارگذاریِ داده‌های ژنگانی شخصی را می‌دهند، جمع‌آوری و دسترسی به داده‌های DNA هر روز آسان‌تر می‌شود (۳۱).

پیش بینی ما این است که همه‌گیری COVID-19 به نظارت ژنتیکی شتاب خواهد داد. مردم احتمالا شاهد نظارت بر بیماری‌های عفونی، سواب‌کشیدن در بدو ورود و هنگام عبور از مرزها از جمله در فرودگاه‌ها خواهند بود. دولت‌ها می توانند از زیر ساخت‌هایی که برای کنترل همه‌گیری شکل گرفته‌اند برای ایجاد یک پایگاه داده DNA از همه کسانی که وارد کشور می‌شوند، استفاده کنند. چنین پایگاه‌های داده‌ای می‌تواند بخش قابل‌توجهی از جمعیت کشورِ فرد بازدیدکننده را شناسایی کند؛ زیرا بازشناسایی ژنتیکیِ با ارتباطات فامیلی تسهیل می‌شود. اما نظارت گسترده به تلاش‌های دولت محدود نخواهد شد. با افزایش اندازهٔ پایگاه‌های داده ژنتیکی شخص سوم، اساساً هر کسی با مهارت‌های فنی مناسب خواهد توانست افراد را شناسایی کند.

پیامدهای نظارت ژنتیکی فراگیر چیست؟ جنبه مثبت آن این است که سازمان‌های اجرای قانون می‌توانند تقریبا همه پرونده‌های تجاوز جنسی را فیصله دهند. طی بازرسی‌های امنیتی در فرودگاه‌ها می‌توان هویت‌های جعلی را آشکار کرد و بدین‌ترتیب با قاچاق انسان و جاسوسی مقابله کرد. اما همین فناوری ممکن است برای هدف‌قراردادن اقلیت‌ها یا مخالفان سیاسی مورد استفاده قرارگیرد.

همگراییِ این کاربردها موکد این واقعیت است که باید با این ابرقدرت‌های جنایی جدید با احتیاط پیش‌رفت. از لحاظ فنی، یک گزینه برای محدودکردن یکچنین باز شناسایی‌هایی ایجاد یک دنباله است که تلاش برای ردیابیِ تبار را به یک هویت جعلی منتهی کند. اما لازم است این روش و روش‌های دیگر با یک رویکرد اخلاقی بررسی شود. فراتر از اقدامات فناورانه‌ای که برای خنثی‌کردن سوءاستفاده‌ها باید در نظرگرفت، این حوزه به رهنمودهایی برای استفاده از فناوری‌های نظارت ژنتیکی نیاز دارد. سیاست موقتی که توسط وزارت دادگستری ایالات متحده آمریکا چیده شده است، یک گام مهم است. این سیاست استفاده بازپرسان جنایی را از پایگاه‌های داده ژنتیکیِ شخص سوم به تحقیقات درباره جرائم خشونت‌آمیز و تنها به مکان‌هایی محدود می‌کند که در آن‌ها از افراد برای چنین جست‌وجوهایی رضایت آگاهانه دریافت شده است (۳۲). بحث‌های عمومی و باز برای شکل‌دهی بیشتر به سیاست‌ها و انتظارات جهت استفاده از قدرت انقلابِ ژنگانی به نفع عموم ضروری است.

فرهنگِ نوظهور در ژنگان شناختی بومیان

توسط نانیبا گاریسون و استفانی روسو کارول

باوجود پیشرفت‌های قابل‌توجه در تحقیقات ژنگان شناختی در دو دههٔ گذشته، بومیان به‌طور باورنکردنی در این تحقیقات حضور کم‌رنگی داشته‌اند. برای مطالعه بیماری‌ها، صفات پزشکی و خاستگاه جمعیت‌های انسانی نمونه‌های زیستی از بومیان جمع‌آوری شده است اما بسیاری از مطالعات برای شرکت‌کنندگان یا جوامع آن‌ها سودی نداشته است. حتی برخی تحقیقات با تقویت کلیشه‌های تحقیرآمیز و زیان‌آور یا با به‌چالش‌کشیدن باورهای فرهنگی به این جوامع آسیب رسانده‌اند. بدون روابط سازنده، جوامع بومی ممکن است از نتایج تحقیقات در زمینه‌هایی

[1] Craig Venter
[2] James Watson

چون پزشکی دقیق و فارماکوژنومیکس سودی نبرند و نابرابری‌های بهداشتی برطرف نشود. در نتیجه، بسیاری از بومیان بدون بحث‌های وسیع و توافق‌هایی برای تضمین اینکه نتایج تحقیقات منفعت‌هایی برای شخص و جامعه او خواهد داشت و بدون دانستن اینکه چه اتفاقی برای نمونه‌ها خواهد افتاد و چگونه استفاده خواهند شد، برای شرکت در تحقیقات ژنگانی مردد هستند (۳۳). محققان بومی در حال ایجاد راهنماهایی برای پرداختن به دغدغه‌ها هستند تا مسیر را برای تحقیقات عادلانه‌تر وسودمندتری که با حقوق و منافع بومیان همسو هستند، هموار کنند (۳۴).

پژوهش‌های همسو با فرهنگ می‌توانند باعث افزایشِ مشارکتِ بومیان در تحقیقات ژنگان شناختی شوند. برنامه کارآموزیِ تابستانی برای بومیان در ژنگان شناختی (SING[1]) به دانشمندان و اعضای جامعه بومیان آموزش می‌دهد و برای آنان ظرفیت‌سازی می‌کند تا بر اساس منافعِ جوامع خود اولویت‌های تحقیقاتی را مشخص کنند. این برنامه کنسرسیوم SING را نیز ترغیب کرده است تا برای تعهد به تحقیقات اخلاقی یک چارچوب ایجاد کند (۳۵). مرکز اخلاقِ تحقیقات ژنگانی بومیان[2] از تحقیقاتی حمایت می‌کند که توسط بومیان در زمینه ذخیره‌سازی زیستی و پزشکی دقیق انجام می‌شود و حقوق حاکمیت و اولویت‌های فرهنگی و اخلاقی جوامع بومی را در نظر می‌گیرد. در کانادا، طرح ژنوم‌های خاموش[3]، با همکاری بومیان و مشاوران فرهنگی، در حال ایجاد کتابخانه‌ای از واریانت‌های DNA از افراد بومی‌تبار[4] است. در نهایت، در نیوزلند، چارچوب ته ارا تیکا[5] که توسط مائوری‌ها ایجاد شده است، روابط، طراحی پژوهش، مسئولیت فرهنگی اجتماعی، عدالت و برابری را به‌عنوان منافع اصلی در تحقیقات ژنگانی اخلاقی روی مردم مائوری مدنظر قرار می‌دهد (۳۶).

اصول CARE[6] برای حاکمیت داده‌های بومیان (منفعت جمعی، اختیار کنترل، مسئولیت و اخلاق)، با پذیرفتن نیاز به حمایت از حقِ تعیین سرنوشت و حقوق جمعی در قالب علم باز، مکمل اصولِ FAIR[7] (قابلیت یافت شدن، قابلیت دستیابی، تعامل پذیری و قابلیت استفاده مجدد) است؛ اصولی که داده ها را ماشین‌خوان و در چند بستر قابل‌استفاده می‌کند (۳۸، ۳۷). کاربستِ توامان اصول CARE و FAIR رهبری و نوآوری بومیان را تقویت می‌کند، به حاکمیت مشارکتی منجر می‌شود و با در نظرگرفتن ارزش‌ها و حقوق بومیان فرصت‌هایی برای اعتمادسازی و پاسخگویی ایجاد می‌کند. به‌عنوان نمونه، ایجاد استانداردهای داده و استفاده از فراداده‌هایی[8] که توسط جامعه بومیان تعریف شده‌اند، این امکان را فراهم می کند تا داده‌ها، ضمن اینکه مفید واقع می‌شوند، محفوظ بمانند. فرادادها به اجزای بادوام و پایدار اطلاعات ژنگانی تبدیل می‌شوند و برای کاربردهای آتی راهنماهایی فراهم می‌کنند؛ راهنماهایی برای تعیین اینکه کدام مرجع، به چه منظورهایی و به نفع چه کسانی می‌تواند اجازه استفاده از داده‌ها را بدهد (۳۷، ۳۴).

تمرکز بیشتر بر حقوق و منافع از یک طرف و تعهد و امکانات بیشتر از طرف دیگر می تواند به کاهش سوگیری و انجام تحقیقات سودمندتر و مناسب‌تری برای همگان بینجامد.

خطر چند ژنی در یک دنیای متنوع

توسط پیلار اوسوریو

نمرهٔ خطر چندژنی[9] یک فن نوظهور است که اثرات کوچک چندشکلی‌های ژنتیکی در ژنگان فرد را به صورت یک نمره محاسبه می‌کند. نمرهٔ خطر چندژنی را می‌توان برای هر فنوتیپی که داده‌های همراهی در کل ژنوم[10] آن در دسترس است، به‌دست آورد. این نمره معمولا با جمع کردن اندازهٔ اثرِ وزنی آلل‌ها به‌دست می‌آید (۳۹). در پزشکی و بهداشت عمومی از نمرات خطر چندژنی برای انتخاب درمان، بررسی عوامل خطر دیگر یا انگیزه‌ای برای تغییر رفتار استفاده می‌شود. استفاده یا عدم‌استفاده از نمرهٔ خطر چندژنی در پزشکی به عواملی چون قابلیتِ عمل بر اساس اطلاعات خطر، فراتر از آنچه الگوریتم‌های بالینی فراهم می‌کنند، در دسترس بودن فناوری اطلاعات برای محاسبهٔ نمرهٔ خطر چندژنی در محیط‌های بالینی و در

[1] Summer Internship for Indigenous Peoples in Genomics
[2] The Center for the Ethics of Indigenous Genomic Research (CEIGR)
[3] Silent Genomes
[4] Indigenous Background DNA Variants Library (IBVL)
[5] Te Ara Tika
[6] CARE (Collective Benefit, Authority to Control, Responsibility, and Ethics)
[7] FAIR (Findability, Accessibility, Interoperability and Reusibility)
[8] meta data
[9] polygenic risk scores
[10] genome-wide association data

دسترس بودن ابزارها برای پشتیبانی از تصمیم بستگی دارد. در حال حاضر، نمرهٔ خطر چند ژنی برای فنوتیپ‌های پزشکی پیچیده‌ای چون فشارخون، چاقی‌مفرط، دیابت، افسردگی، اسکیزوفرنی و بیماری قلبی کرونری سودمندی متوسطی نشان داده است.

نمرهٔ خطر چندژنی تلاقی پیچیدهٔ نژاد و یک نیا را در ژنگان شناختی برجسته می‌کند. یک آنالیز جدید نشان می‌دهد که در ۲۶ مطالعه گذشته، نمرات خطر چندژنی برای افراد با اجداد عمدتا اروپایی بسیار بهتر از افراد با اجداد عمدتا آفریقایی یا آسیای جنوبی به کار آمده است (۴۱، ۴۰). برای بسیاری از گروه‌ها (به‌عنوان نمونه آسیای جنوب شرقی و جزایر اقیانوس آرام) به اندازه کافی داده برای ارزیابی موفقیت وجود نداشت. محققان علت این امر را حضور کم‌رنگ افراد غیر اروپایی و اقلیت های قومی/نژادی در مجموعه داده‌هایی می‌دانند که از آن‌ها برای ایجاد نمرهٔ خطر چندژنی استفاده می‌شود.

در واکنش به قدرت پیش‌بینیِ افتراقیِ نمرهٔ خطر چندژنی، پژوهشگران به‌طور خاص برای افراد با نیای عمدتاً افریقایی نمرهٔ خطر چندژنی ایجاد کرده‌اند و محققان ژنگان اکنون می‌پرسند آیا لازم است برای هر گروه قومی، با توجه به نیای آن‌ها، یک نمرهٔ خطر چندژنی ایجاد کرد؟ (۴۲) این پیشرفت‌ها در حالی رخ می‌دهد که محققان نژاد خواستار توقف استفاده از "انجام به نژادی[1]" در پزشکی هستند (۴۳). توجه درخور به اثرات ژنتیکیِ جد بر نمرهٔ خطر چندژنی به‌راحتی می تواند به یک تمرکز نا آگاهانه بر نژاد منجر شود و به‌نادیده گرفته‌شدن این واقعیت بینجامد که نابرابری‌های اجتماعی بهداشت را شکل می‌دهند و نژاد یک جایگزین ناقص برای جد است. جامعه برای ایجاد و اجرای نمرات خطر چندژنی برای جوامع متفاوت به یک رویکرد چندرشته‌ای نیاز دارد. در غیر این صورت، نمرات خطر چندژنی مختص جد ممکن است به تصور اشتباه مردم در مورد نژادهای انسانی به‌عنوان گروه‌هایی متمایز از نظر ژنتیکی جان تازه‌ای دهد و این دیدگاه نادرست را تقویت کند که، عمدتاً ژنتیک مسئول توزیع صفت بین گروه‌های قومی/ نژادی است (۳۹). چنین باورهایی اساس ادعای برتری‌طلبی سفیدپوستان و اقدامات پزشکی نژادپرستانه است. بی‌عدالتی در علم نه تنها زمانی رخ می‌دهد که برخی گروه‌های انسانی در مطالعات وارد نمی‌شوند (۴۴) که ورود نامناسب افراد نیز نوعی بی‌عدالتی طلقی می‌شود.

خطرات نظارت ژنگانی و راه توقف آن

توسط ایو مورو و مایا وانگ

استفاده از پروفایل‌یابی DNA برای اجرای قانون در موارد فردی به شناسایی مظنونان و تبرئه بی‌گناهان کمک کرده است. اما با حفظ نمونه‌های ژنتیکی به‌شکل پایگاه‌های داده ملی DNA، که در دو دههٔ گذشته همه جا سربرآورده‌اند، سوال‌های حقوق بشری مهمی مطرح شده است. تصمیم‌های دوران‌ساز دادگاه‌ها در اروپا و ایالات متحده آمریکا محدودیت‌هایی برای جمع‌آوری و حفظ داده در پایگاه‌های داده DNA تعیین کرده است؛ محدودیت‌هایی چون منحصرکردن حفظِ طولانی مدت پروفایل‌های DNA به افرادی که برای یک جنایت بازداشت یا محکوم شده‌اند.

اما این تصمیمات با مقررات جامعِ مورد نیاز بسیار فاصله دارند. حق حریم خصوصی از حقوق بنیادین بشر است. در تمام دنیا، جمع‌آوری، استفاده و حفظ DNA، بدون مقررات، به شکلی از نظارت ژنگانی تبدیل شده است. کویت قانونی را برای تعیین پروفایل DNA تمام جمعیت کشور به تصویب رساند که سپس لغو شد. در چین، پلیس زیر عنوان یک برنامه بهداشتی، مرتبا، به جمع‌آوری نمونه‌های خونی از جمعیت زین جیانگ[2] مبادرت کرد و مسئولین در حال ایجاد یک پایگاه داده DNA از کروموزم Y تمام مردان کشور هستند. مقام‌ها در دولت تایلند در حال ایجاد یک پایگاه داده ژنتیکی از اقلیت مسلمان هستند (۴۵). دولت ایالات متحده آمریکا، تحت سیاست‌هایی که توسط دولت‌های قبلی تعیین شد، از همه مهاجران در مرز مکزیک، از جمله پناهجویان، نمونه‌های ژنتیکی جمع‌آوری کرده است.

با ارزان‌تر شدن فناوری و افزایش نظارت، خطر حادِ نظارت ژنگانی فراگیر نه تنها در حکومت‌های خودکامه بلکه در دموکراسی‌هایی با حقوق متزلزل نیز وجود دارد. اما از دست‌دادن استقلال و آزادی اجتناب‌ناپذیر نیست. دولت‌ها باید قوانین نظارتی را بهسازی کنند و قوانینی برای حفاظت از حریم خصوصی تدوین کنند که به شدت

[1] race correction or ethnic adjustment

[2] Xinjiang

جمع‌آوری، استفاده و حفظ DNA و سایر شناسه‌های زیست‌سنجی را کنترل می‌کند (۴۶). آن‌ها باید فعالیت‌هایی را که با استانداردهای بین المللی حقوق بشر مانند قانونی‌بودن، متناسب‌بودن و ضرورت همخوانی ندارند، ممنوع کنند. دولت‌ها باید یک نظام بین المللی و هماهنگ از قوانین کنترل صادرات و نیز تحریم‌هایی مشابه سند ماگنیتسکی[1] در ایالات متحده آمریکا برای مسئول‌شمردن کسب و کارهایی که بی‌پروا این فناوری را برای نظارت ژنگانی تامین می کنند و یا به فروش می رسانند، ایجاد کنند.

سردبیران و ناشران مجلات باید صدها مقاله را که در آن‌ها پروفایل DNA تعیین شده است و از نظر اخلاقی مشکوک هستند، دوباره ارزیابی کنند؛ به‌عنوان مثال، مقالاتی که در آن‌ها نیروهای پلیسی که در آزار اقلیت‌های مطالعه شده دخیل بوده‌اند، به‌عنوان نویسنده ذکر شده‌اند (۴۷) یا مقالاتی که فاقد رضایت مناسب یا تایید اخلاقی هستند (۴۸). گرچه موارد اندکی از بازپس گیری مقاله وجود دارد (۴۸، ۴۷)، این ارزیابی‌ها نباید به کنترل اداری رضایت آگاهانه و اسناد تایید اخلاقی محدود شود: آن‌ها باید اصول اخلاقی پایه مانند نیکوکاری، عدم زیان‌باری، استقلال، عدالت و صداقت را نیز در نظر بگیرند. جامعه علمی نباید با اجرای قانون در کشورهای ناقض استانداردهای حقوق بشر به‌ویژه پلیس و ارتش چین همکاری کند.

منابع

1. E . S. Lander *et al*., *Nature* 409, 860 (2001).
2. B. J. Strasser, *Isis* 102, 60 (2011).
3. K. M. Jones, R. A. Ankeny, R. Cook-Deegan, *J. Hist. Biol.* 51, 693 (2018).
4. National Human Genome Research Institute, *NHGRI Genomic Data Sharing (GDS) Policy: Data Standards* (2020).
5. N. L. Yozwiak, S. F. Schaffner, P. C. Sabeti, *Nature* 518, 477 (2015).
6. "Benefits of sharing" [editorial], *Nature* 530, 129 (2016).
7. A. R. Bentley, S. Callier, C. N. Rotimi, *J. Community Genet.* 8, 255 (2017).
8. T. A. Hoppe *et al*., *Sci. Adv.* 5, eaaw7238 (2019).
9. G. N. Nadkarni *et al*., *N. Engl. J. Med.* 379, 2571 (2018).
10. Y. Luo, *Nature* 587, 552 (2020).
11. E. D. Green *et al*., *Nature* 586, 683 (2020).
12. H. Stevens, *Biosocieties* 11, 352 (2016).
13. D. Grishin, K. Obbad, G. M. Church, *Nat. Biotechnol.* 37, 1115 (2019).
14. L. Bonomi, Y. Huang, L. Ohno-Machado, *Nat. Genet.* 52, 646 (2020).
15. K. Ferryman, M. Pitcan, *Fairness in Precision Medicine* (Data & Society, 2019).
16. S. Zuboff, *The Age of Surveillance Capitalism: The Fight for a Human Future at the New Frontier* (Profile, 2019).
17. D. M. Cutler, *JAMA* 323, 109 (2020).
18. K. A. Phillips, M. P. Douglas, D. A. Marshall, *JAMA* 324, 2029 (2020).
19. E. Faulkner *et al*., *Value Health* 23, 529 (2020).
20. A. Towse, J. A. Mauskopf, *Value Health* 21, 249 (2018).
21. S. D. Pearson, *Value Health* 21, 258 (2018).
22. J. L. Graves Jr., *The Emperor's New Clothes: Biological Theories of Race at the Millennium* (Rutgers Univ. Press, 2001).
23. D. Roberts, *Fatal Invention: How Science, Politics, and Big Business Re-Create Race in the Twenty-First Century* (New
Press, 2012).
24. M. Yudell, D. Roberts, R. DeSalle, S. Tishkoff, *Science* 351, 564 (2016).
25. D. E. Roberts, O. Rollins, *Annu. Rev. Sociol.* 46, 195 (2020).
26. M. C. Campbell, S. A. Tishkoff, *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 9, 403 (2008).
27. A. Panofsky, J. Donovan, *Soc. Stud. Sci.* 49, 653 (2019).
28. J. S. Roberts *et al*., *Publ. Health Genomics* 20, 36 (2017).
29. Y. Erlich, T. Shor, I. Pe'er, S. Carmi, *Science* 362, 690 (2018).
30. D. R. Nyholt, C.-E. Yu, P. M. Visscher, *Eur. J. Hum. Genet.* 17, 147 (2009).
31. S. C. Nelson, D. J. Bowen, S. M. Fullerton, *Am. J. Hum. Genet.* 105, 122 (2019).
32. J. Kaiser, *Science* 10.1126/science.aaz6336 (25 September 2019).
33. R. Taitingfong *et al*., *J. Am. Med. Inform. Assoc.* 27, 1987 (2020).
34. M. Hudson *et al*., *Nat. Rev. Genet.* 21, 377 (2020).
35. K. G. Claw *et al*., *Nat. Commun.* 9, 2957 (2018).
36. M. Hudson *et al*., *He Tangata Kei Tua—Guidelines for Biobanking with Māori* (Te Mata Hautū Taketake—Māori & Indigenous Governance Centre, Univ. of Waikato, 2016).
37. S. R. Carroll *et al*., *Data Sci. J.* 19, 43 (2020).
38. M. D. Wilkinson *et al*., *Sci. Data* 3, 160018 (2016).
39. N. A. Rosenberg *et al.*, *Evol. Med. Public Health* 2019, 26 (2019).
40. L. Duncan *et al*., *Nat. Commun.* 10, 3328 (2019).
41. A. R. Martin *et al*., *Am. J. Hum. Genet.* 100, 635 (2017).
42. National Human Genome Research Institute, *Genomic Medicine XII: Genomics and Risk Prediction*, Executive Summary (2019); www.genome .gov/sites/default /files/media/files/2019-07/GMXII_Executive_Summary .pdf.
43. D. E. Roberts, *Lancet* 397, 17 (2021).
44. A. R. Martin *et al*., *Nat. Genet.* 51, 584 (2019).
45. UN Committee on the Elimination of Racial Discrimination, Letter to the Permanent Representative of Thailand to the United Nations Office (15 May 2015); https://bit.ly/39VxGJe.
46. Forensic Genetics Policy Initiative, *Establishing Best Practices for Forensic DNA Databases* (2017); https://bit.ly/3iasJzL.
47. D. Zhang *et al*., *Int. J. Legal Med.* 10.1007/s00414-019-02049-6 [retracted] (2019).
48. X. Pan *et al*., *Int. J. Legal Med.* 134, 2079 [retracted] (2020).

[1] The U.S. Magnitsky Act

Heritability

Stephen M. Downes and Lucas Matthews

Stanford Encyclopedia of Philosophy (2019)

وراثت‌پذیری

عطا کالیراد*

آلمان، توبینگن، موسسه ماکس پلانک

چکیده

دانشنامه فلسفه استنفورد (SEP: *Stanford Encyclopedia of Philosophy*)، پایگاهی است برخط که به مدد دانشگاه استنفورد در ربع‌قرن اخیر به انتشار مقالات فلسفه و مدخل‌های در باب موضوعات فلسفی اختصاص یافته‌است. نظریه تکامل زیستی داروین، یکی از ستون‌های خیمه زیست‌شناسی مدرن، از بدو انتشار در قالب منشأ گونه‌ها در ۱۸۵۹ میلادی نقطه آغاز بحث‌های فلسفی فراوان بوده‌است و از همین رو مداخلِ پرشماری در دانشنامه فلسفه استنفورد به این این نظریه و موضوعات مرتبط اختصاص دارند. مدخل زیر یکی از همین مدخل‌های تکاملی است که مبحث دشوار «وراثت‌پذیری (Heritability)» می‌پردازد. فهم وراثت‌پذیری پیش‌شرط درک چگونگی دگرگونی صفات از نسلی به نسل دیگر و چگونگی و میزان اثر انتخاب بر توزیع صفات از نسلی به نسل است و کژفهمی در این خصوص می‌تواند به عقایدهای ناراستی در باب تفاوت ژنتیکی میان جمعیت‌های گونه انسان بیانجامد. نویسندگان این مدخل Stephen M. Downes و Lucas Matthews به خوبی شالوده نظری وراثت‌پذیری و اهمیت آن در نظریه تکامل زیستی را تبیین کرده و دشواری اندازه‌گیری آن در جمعیت‌های طبیعی را هویدا می‌کند.

کلیدواژگان: وراثت پذیری، توارث، نسل

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: ata.kalirad@tuebingen.mpg.de

مقدمه

صفتی وراثت‌پذیر، در ساده‌ترین تعریف، صفتی از صفات فرزند است که وضعیت آن به وضعیت آن صفت در والد فرزند شبیه‌تر است تا وضعیت آن صفت در فردی که به صورت تصادفی از جمیعت انتخاب شود. توارث[1] و یا وراثت[2] پیش از آنکه به مفهوم کلیدی در نظریه تکامل بدل شود موضوع مطالعاتی نظام‌مند بود. پیش‌تشکیلی[3] یکی از نظریه‌های وراثت ذی‌نفوذ در قرن ۱۸ و اوایل قرن نوزدهم بود. این نظریه خوانش‌های مختلفی داشت که بر اساس آنان، موجود به شکلی خُرد اما کامل از نسلی به نسل دیگر انتقال می‌یابد؛ از این منظر، تکوین صرفاً افزایش ابعاد این موجود خُرد است. تبیین‌های بعدی از وراثت قائل به این باور بودند که موجودات صفاتی را از والدینشان به ارث می‌برند که در پاسخ به محیط در والدین پدید آمد؛ این باور در قرن نوزدهم غالب بود و عموماً لامارک را مبدع آن می‌پندارند. گرچه داروین گه‌گاه از برخی از آراء لامارک پشتیبانی می‌کرد، او آشکارا تغییر طی تکامل را ناشی از اثر انتخاب طبیعی بر صفات ارثی متنوع می‌دانست و از این دیدگاه دفاع می‌کرد. ابطال تجربی وراثت صفات اکتسابی به دست وایسمان[4]، راه را بر درآمیختن نظریات داوین و مِندل در باب ماهیت وراثت گشود. مطالعه نظام‌مند وراثت در قرن نوزدهم بر ژن به عنوان واحد وراثت متمرکز بود[5]. امروزه دو مکتب در مطالعات وراثت غالب اند: ژنتیک جمعیت و ژنتیک مولکولی. مفهوم اندازه‌گیری کمّی صفت در ژنتیک جمعیت زاده شد و سنجش وراثت‌پذیری در ژنتیک رفتار رواج دارد (پلومین و همکاران ۱۹۹۰ و پلومین و همکاران ۱۹۹۷؛ برای نقد ژنتیک رفتار و تحلیل وراثت‌پذیری ر.ک. پانوفسکی ۲۰۱۴، تابری ۲۰۱۴ و تیلور ۲۰۱۴). این باور که آنچه به ارث می‌رسد مجموعه است از

[1] Inheritance
[2] Heredity
[3] Preformationism

[4] August Friedrich Leopold Weismann (1834 - 1914)

[5] انبوهی از آثار مفید در باب تاریخ وراثت وجود دارد:
Keller (2002), Griesemer (1994), Morange (1998), Moss (2003), Sapp (2003), Sarkar (1998), Wade (1992), Winther (2000; 2001) and contributors to Buerton et al. (eds.) (2000)

دنا، یا اطلاعات موجود در توالی دنا، از زیست‌شناسی مولکولی سرچشمه می‌گیرد.

بحث‌های فلسفی در باب وراثت غالباً به صحت روش‌های بررسی وراثت‌پذیری می‌پردازند. در این مدخل، مفهوم وراثت‌پذیری، روش‌های متفاوت برای اندازه‌گیری وراثت‌پذیری یک صفت، و مسائل فلسفی زاده این روش‌ها معرفی می‌شوند.

۱- دشواری‌های واژه‌شناختی

واژه «وراثت‌پذیر» به صفتی اشاره دارد که اشکال متنوعی از آن در جمعیت وجود دارند و شباهت حالت این صفت میان والد و فرزند بیش از شباهت آن میان دو فرد که به صورت تصادفی از جمعیت انتخاب شوند می‌باشد. ما خصوصیات بسیاری، منجمله باورهای دینی و اگر بخت بلندی داشته‌باشیم ثروت را از والدین خود به ارث می‌بریم. صفات ارثی مورد نظر زیست‌شناسان صفاتی هستند که از منظر زیستی به شکلی قابل اعتماد از نسلی به نسل بعد به ارث می‌رسد. داروین (۱۸۵۹ [۱۹۶۸])، محروم از علم ژنتیکی که بعدها پدید آمد، به بحث در باب وراثت صفات در سطح فنوتیپ (رخ‌نمود) پرداخت. داروین نشان داد که انتخاب طبیعی از میان اشکال متنوع صفات وراثتی، مانند قامت، وزن، رنگ پوشش، و سایر صفات یک جاندار، دست به انتخاب می‌زند. اغلب بحث‌های معاصر در باب وراثت به صفاتی که در چارچوب ژنتیکی به ارث می‌رسند محدود می‌شود. مفهوم «وراثت‌پذیری» به منظور «اندازه‌گیری کمی بخت انتقال یک صفات زیستی از والد به فرزند» پیشنهاد شد (فلدمن، ۱۵۱). غالباً وراثت‌پذیری را به مدد تحلیل آماری پیچیده، آزمایش دقیق، و یا ترکیبی از این دو بررسی می‌شود.

بحث در باب وراثت‌پذیری راه را بر مغشوش‌کردن ساز وکارهای مسئول تکوین فرد با ساز و کارهای مسئول انتقال صفت از نسلی به نسل دیگر می‌گشاید. واحد متعارف وراثت در زیست‌شناسی ژن است. ژن‌ها مهم‌ترین جزء سببی در تکوین صفات یک موجود نیز قلمداد می‌شوند. روش‌هایی که برای مطالعه وراثت‌پذیری از ژنتیک جمعیت به عاریه گرفته‌شده‌اند هیچ اطلاعاتی در باب ساز و کارهایی که در تکوین صفات فرد نقش دارند در اختیار ما قرار نمی‌دهند. علمای ژنتیک جمعیت، الگوهای وراثت صفات از جمعیتی به جمعیت نسل بعد را مطالعه می‌کنند. زیست‌شناسان مولکولی توالی رمزگذار دنا و پروتئین‌های تولیدشده توسط این توالی در طی تکوین موجود را شناسایی می‌کنند. همکاری زیست‌شناسان مولکولی و متخصصان ژنتیک جمعیت می‌توان توصیفی هم‌سو در باب ژنی خاص را به دست داده و الگوی وراثت و نقش آن ژن در تکوین را هویدا کند. برای مثال، متخصصان ژنتیک پزشکی الگوی وراثتی یک بیماری را در یک خانواده مشاهده می‌کنند و براساس این مشاهده فرض می‌کنند که ژن (یا تعدادی ژن) وجود دارد که به تکوین این صفت در انسان می‌انجامد. تحلیل مولکولی شاید به کشف توالی رمزگذار ژن پروتئین بیانجامد که در بروز علائم بیماری مورد بحث نقش دارد. در نهایت، روش‌های ژنتیک جمعیت، مانند تحلیل وراثت‌پذیری، را می‌توان در خصوص ساز و کارهایی که به دست زیست‌شناسان مولکولی کشف شد به کار برد.

۲- وراثت‌پذیری و ژنتیک جمعیت

قوانین وراثت صفات گسسته از نسلی به نسل دیگر را مرهون ژنتیک مندلی هستیم. برای مثال، مندل در قالب آزمایش بر روی جمعیتی از نخودهاو الگوی وراثت پوست دانه صاف یا چروکیده در این موجودات را کشف کرد. صفات گسسته با صفات پیوسته یا کمّی متفاوت اند. بلندی قامت در انسان و شمار برگ‌های درخت صفاتی پیوسته اند. تنوع صفات پیوسته به صورت طیفی است که می‌توان در قالب توزیع نرمال، به شکل زنگوله، تصویر کرد. غالب بحث‌های فلسفی در باب وراثت و وراثت‌پذیری از مطالعات در مورد صفات پیوسته سرچشمه می‌گیرد.

می‌توان با بررسی فنوتیپ‌ها به بررسی صفات کمّی یا پیوسته پرداخت. برای مثال، اگر گیاهان با قامت‌های متفاوتی در جمعیتی از گیاهان وجود داشته‌باشند می‌توان پرسید که چه میزان از این تنوع از ژن‌ها ناشی می‌شود. می‌توان با روشی آماری به نام تحلیل واریانس، نسبتی از تنوع در یک صفت که ناشی از ژن‌هاست را مشخص کرد. پس از این تحلیل، فرمول ساده عددی بین صفر تا یک را به دست می‌دهد که همان وراثت‌پذیری صفت مورد بررسی است. از مثالی ساده برای توصیف مفاهیم اصلی در اندازه‌گیری وراثت‌پذیری بهره می‌گیرم.

محیط الف	محیط ب	قامت ناشی از ...
قامت همسان ب = ۴ فوت و ۲ اینچ	قامت همسان الف = ۶ فوت و ۲ اینچ	ژن‌هاست.
قامت همسان ب = ۵ فوت و ۸ اینچ	قامت همسان الف = ۵ فوت و ۸ اینچ	ژن‌ها و اثر محیط است.
قامت همسان ب = ۶ فوت و ۲ اینچ	قامت همسان الف = ۴ فوت و ۲ اینچ	تماماً ناشی از اثر محیط است.

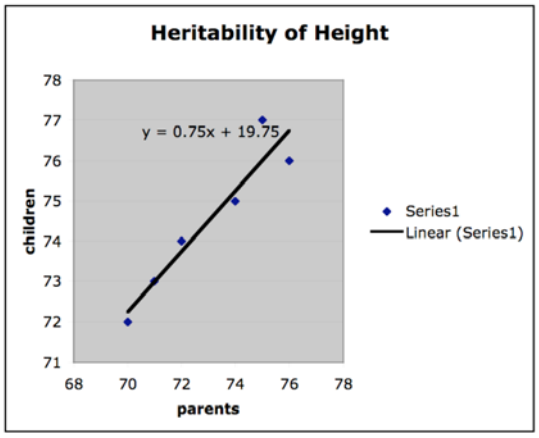
پیش از تحلیل واریانس و نقش آن در اندازه‌گیری وراثت‌پذیری، فهم مفهوم عمومی وراثت‌پذیری راه‌گشا خواهد بود. اگر یک صفت وراثت‌پذیری بالایی داشته باشد، تفاوت این صفت در میان افراد یک جمعیت را می‌توان به ژنتیک نسبت داد. یکی از روش‌های تخمین وراثت‌پذیری را مثالی خیالی توضیح می‌دهد: تصور کنید که دو دانش‌آموز از یک کلاس درس را انتخاب می‌کنیم. قامت دانش‌آموز الف ۶ فوت و ۲ اینچ (حدود ۱۸۸ سانتی‌متر) و قامت دانش‌آموز ب ۴ فوت و ۲ اینچ (۱۲۷ سانتی‌متر) است. برای کشف نقش ژن‌ها بر قامت، می‌توان از رو هر یک از این دانش‌آموزان همسانی بسازیم و همسان یک دانش‌آموز را محیط پرورش دانش‌آموز دیگر قرار دهیم و به انتظار رشد همسان‌ها بنشینیم (جدول فوق).

دومین سناریو در جدول فوق محتمل‌ترین نتیجه چنین آزمایشی است. واضح است که نمی‌توان از روی انسان‌ها همسان ساخت (یا محیطی که در آن رشد کردند را وفادارانه بازسازی کرد). اما می‌توان چنین آزمایش‌هایی را بر روی گیاهان و موجودات آزمایشگاهی دیگر انجام داد و نتایج این آزمایش‌ها به فهم ما از نقش ژن‌ها در تنوع فنوتیپ یک صفت یاری خواهند کرد.

در انسان وراثت‌پذیری را می‌توان با مقایسه شباهت فنوتیپ صفات در دوقلوها تخمین زد (ر.ک. بخش چهار برای بحث دقیق‌تر در این باب). مطالعه دوقلوها با این فرض‌ها انجام می‌شود که دوقلوهای تک‌تخمی (یکسان) ژن‌ها و محیطی یکسان دارند اما دوقلوهای دوتخمی (ناهمسان) تنها در نیمی از ژن‌ها مشترک‌اند اما در محیطی یکسان پرورش می‌یابند. برای هر صفتی، مثلاً قامت، می‌توان نتیجه‌گرفت که:

اگر وراثت‌پذیری بالا و غالب تنوع ناشی از ژن‌ها باشد، دوقلوهای همسان از نظر قامت به یکدیگر شبیه‌تر خواهند بود تا دوقلوهای ناهمسان.
اگر وراثت‌پذیری اندک باشد و تنوع در قامت تا حد زیادی ناشی از محیط، آنگاه تفاوت قامت دوقلوهای همسان با ناهمسان تفاوتی نخواهد داشت.

در نهایت می‌توان با یافتن شیب خط رگراسیون (وایازش) میان مقادیر کمی صفت در فرزندان در برابر مقادیر همین صفت در والدین، میزان وراثت‌پذیری صفت را تخمین زد. اگر شیب این خط یک باشد، این تنوع این صفت در این جمعیت ژنتیکی است و اگر صفر باشد وراثت نقشی در تنوع این صفت در جمعیت بازی نمی‌کند. اگر تنوع افراد ناشی از تنوع ژن‌های آنان باشد، فرزندان باید به والدین خود شباهت داشته باشند. وراثت‌پذیری همواره عددی بین یک و صفر است. نمودار زیر میانگین قامت والدین و میانگین قامت فرزندان آن والدین را برای جمعتی کوچک نشان می‌دهد.



شکل ۱

شیب خط رگراسیون در این نمودار ۰٫۷۵ است که از وراثت‌پذیری بالا حکایت دارد. (با توجه کرد که از نمود از تخمین وراثت‌پذیری جنبه آموزش دارد و در عمل برای دستیابی به نتایج سودمند شرایط مهمی در باب ماهیت جمعیت و محیط مربوط باید برقرار باشد.)

تا اینجا روش‌های شهودی برای اندازه‌گیری وراثت‌پذیری را بررسی کردیم. مشکل اینجاست که این روش‌ها تمامی بازیگرانی در نظر نمی‌گیرند که در تولید تنوع صفات کمی در یک جمعیت نقش دارند. اگر به مثال تنوع قامت در جمعیتی کوچک از انسان‌ها بازگردیم، درخواهیم یافت که در اغلب نمونه‌های که توزیع صفت در جمعیت را به خوبی نمایش می‌دهند، قامت به شکلی کم و بیش نرمال توزیع شده‌است. واریانس قامت میانگین توان دوم تفاوت میان هر قامت و میانگین جمعیت است. واریانس در فنوتیپ یا ورایانس فنوتیپی را با علامت V_p نشان می‌دهند. (از اینجا تا پایان این بخش، روشی خاص را برای نمایش معادله‌های لازم برای تبیین روابط وراثت‌پذیری پیش خواهیم گرفت. ما با معادله (۱) ساده‌ترین شکل معادله‌های مربوط را نشان می‌دهیم. معادله‌های ساده‌ای مانند معادله (۱) به ندرت در عمل به کار می‌آیند اما در مقدمه‌ای ابتدایی در باب ژنتیک رفتار سودمندند. معادله‌های بعدی در رشته معادله‌ها زیر صورت دقیق‌تری به این معادله‌ها می‌دهد. متخصصین ژنتیک جمعیت صورت‌های معادله (۱′) را می‌پذیرند اما معادله (۱) را خیر.)

$$1: V_P = V_G + V_E$$

معادله (۱) یعنی تنوع فنوتیپی ناشی تنوع ژن‌ها به علاوه تنوع ناشی از محیط موجودا زنده است. متخصصین ژنتیک رفتار و روان‌شناسان وراثت‌پذیری را اینگونه تعریف می‌کنند: وراثت‌پذیری نسبت واریانس فنوتیپی است که می‌توان به واریانس ژنوتیپی نسبت داد: یعنی وراثت‌پذیری برابر است با $\frac{V_G}{V_P}$ (زیست‌شناسان گه‌گاه از «محیط‌پذیری» نیز صحبت می‌کنند که برابر است با $\frac{V_E}{V_P}$.)

این صورت از وراثت‌پذیری را وراثت‌پذیری در معنای وسیع می‌خوانند (H^2) که «نسبت تفاوت فنوتیپی ناشی از همه منابع واریانس ژنتیکی» را منعکس می‌کند (پلومین ۱۹۹۰، ۲۳۴). وراثت‌پذیری در معنای محدود (h^2) یعنی «نسبت واریانس فنوتیپی که تنها از واریانس ژنتیکی انباشتی[1] ناشی می‌شود» (پلومین ۱۹۹۰، ۲۳۴).

$$2: H^2 = \frac{V_G}{V_P}$$

$$3: h^2 = \frac{V_A}{V_P}$$

«واریانس ژنتیکی انباشتی (V_A) تنوع میان افراد است که از انباشت اثر ژن‌ها ناشی می‌شود» (فریمَن و هِرون، ۲۰۶). برای مثال، تنوع در قامت جاندران می‌توان از اثر چند دگره (الل) در یک جایگاه ناشی شود به صورتی که که هر دگره سبب افزایش قامت شود. به معنای دقیق‌تر، دگره الف نیم واحد به قامت جاندار می‌افزاید، دگره ب نیز نیم واحد، و قس علی هذا. وریانس چیرگی (V_D) در تضاد با واریانس انباشتی است. در واریانس چیرگی، اگر دو دگره (الف و ب) قامت جاندار را مشخص می‌کنند، جانداری با دو گره الف یک واحد قامت دارد، جانداری با دگره الف و دگره ب قامتی برابر با ۲ واحد، اما جاندارای با دو دگره الف نیز ۲ واحد ارتفاع دارد. واریانس ژنتیکی کل (V_G) جمع تمامی واریانس ژنتیک است و در ساده‌ترین شکل این چنین است:

$$4: V_G = V_A + V_D$$

معادله V_P که تاکنون تنها به آن اشاره شد این است:

$$1': V_P = V_A + V_D + V_E$$

اما این معادله نیز تصویر بسیار ساده‌ای ارائه می‌دهد و همچنان نیازمند شاخ و برگ بیشتری است. واریانس فنوتیپی می‌تواند از برهمکنش ژن‌ها، همان واریانس روایستایی (V_I)، نیز ناشی شود. روایستایی زمانی رخ می‌دهد که اثر دگره یک جایگاه بر فنوتیپ به دگره‌ها در یک و چندین جایگاه دیگر وابسته باشد. میانکنش ژن و محیط نیز می‌تواند به واریانس فنوتیپی بیافزاید ($V_{G\times E}$) (ر.ک. تَبری ۲۰۱۴ برای بحث مبسوط در باب میانکنش ژن ومحیط). این میانکنش زمانی رخ می‌دهد که اثر محیط بر ژنوتیپ های مختلف متفاوت باشد. نهایتاً، واریانس فنوتیپی می‌تواند تحت تأثیر هم‌بستگی غیرتصادفی ژنوتیپ‌ها و محیط، که هم‌وردایی (کوواریانس) ژن و محیط خوانده

[1] Additive genetic variance

می‌شود ($COV(G,E)$)، نیز قرار گیرد. برای نمونه، اگر ژنوتیپ یک گیاه به تولید گیاه بلندقامت منجر شود و این گیاه، تمایل به محیط‌های انباشته از مواد غذایی داشته باشد و با رشد ریشه یا پراکنش دانه‌ها خود را به این محیط برساند، و گیاه با ژنوتیپ کوتاه‌قامت به محیط فقیر از منظر مواد غذایی تمایل داشته باشد، واریانس صفت بلندی قامت افزایش خواهد یافت. رابطه عکس به کاهش واریانس خواهد انجامید (فوتویما ۱۹۹۸). با در نظر گرفتن موارد فوق، معادله ما دگرگون می‌شود:

$$1': V_P = V_A + V_D + V_E + V_I + COV(G,E)$$

و

$$4': V_G = V_A + V_D + V_I$$

پیش‌فرض بسیاری از تکامل‌دانان این است که V_I، $V_{G\times E}$ و $COV(G,E)$ عموماً اثر اندکی دارند و مهم‌ترین جزء واریانس از منظر تکاملی V_A است. در نتیجه زیست‌شناسان اغلب علاقه به تخمین وراثت‌پذیری در معنای محدود (h^2) دارند. در مقابل، روانشناسان و متخصصان ژنتیک رفتار عموماً به تخمین وراثت‌پذیری در معنای وسیع آن تمایل دارند. روانشناسان علاقه به فهم سهم ژن‌ها در صفات روان‌شناختی انسان دارند اما تکامل‌دانان از وراثت‌پذیری برای پیش‌بینی و اندازه‌گیری واکنش یک صفت به انتخاب طبیعی سود می‌برند. معادله مربوط

$$5: h^2 = \frac{R}{S}$$

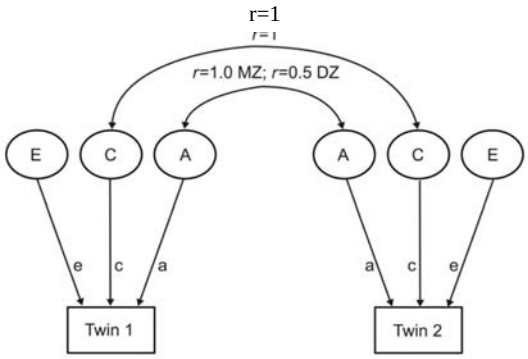
است که در آن R پاسخ به انتخاب و S تفاضل انتخابی[1] است. در بستر این بحث، این وراثت‌پذیری را وراثت‌پذیری بالفعل می‌خوانند.

بحث فلسفی در باب اندازه‌گیری وراثت‌پذیری اغلب از تخمین H^2 در ژنتیک رفتار و روانشناسی منشأ می‌گیرد. قسمت اعظم این بحث با انتشار مقاله‌ای به قلم لیئونتین در ۱۹۷۴ آغاز شد، لیئونتین استدلال کرد که تحلیل واریانس نمی‌توان میزان سهم ژن‌ها در واریانس یک صفت را مشخص کند. پیش از ورود به این مسأله و بحث‌های مرتبط، نخست به جزئیات بیشتری در باب چگونگی اندازه‌گیری وراثت‌پذیری در انسان می‌پردازیم.

[1] Selection differential

۳- اندازه‌گیری وراثت‌پذیری از گالتون تا GWAS

فرانسیس گالتون مروج نفسیری از توصیف داروین از وراثت بود که آشکارا قائل به بنیانی درونی و مادی برای وراثت صفات بود. گالتون تمایز میان سرشت و محیط را مطرح کرد و استدلال کرد که صفاتی ناشی از سرشت محصول وراثت مواد زیستی اند. او نخستین کسی بود که مطالعه دوقلوها را به عنوان راهی برای فهم نقش سرشت (یعنی ژن‌ها)، در برابر محیط (یعنی پرورش)، پیشنهاد کرد (بربریج ۲۰۰۲، و همچنین ر.ک. کرانفِلدِر ۲۰۱۸). آثار متقدم گالتون شالوده پارادایمی در ژنتیک رفتار را پی‌افکند: مطالعه دوقلوها و خانواده. در پژوهش بر روی گیاهان و سایر موجودات زنده، می‌توان سرشت ژنتیکی و محیط را به شیوه‌ای نظام‌مند تغییر داد تا سهم نسبی ژن‌ها و محیط را در صفات فنوتیپی بررسی کرد. روش همسنگ این رویکرد در دسترس متخصصان ژنتیک رفتار انسان، آزمایش دوقلوها است (برای مثال ر.ک. شَفنِر ۲۰۱۶). با بررسی شباهت‌ها و تفاوت‌ها میان گروه‌هایی که در محیط‌های یکسان پرورش‌یافته اند و از نظر ژنتیکی خویشاوند هم اند، پژوهش‌ها بر روی دوقلوها و اعضای خانواده امکان پژوهش علمی در باب سرچشمه‌های واریانس که به ژنتیک یا محیط می‌توان نسبت داد را فراهم می‌آورد. روش غالب در این حوزه مدل آماری ACE است (تصویر زیر).



مدل مبتنی بر تجزیه عوامل است که واریانس فنوتیپی (مربع‌ها در شکل بالا) را به سه جزء نهفته تقسیم می‌کند (دوایر در شکل بالا). نخستین جزء نهفته (A) نشان‌دهنده واریانس ژنتیکی انباشتی است و شباهت و تفاوت میان دوقلوها را منعکس می‌کند، از آنجا که تقریباً ۱۰۰ درصد توالی دنا بین دوقلوهای یکسان (MZ) مشترک است و،

همانند خواهران و برداران تنی، تقریباً ۵۰ درصد توالی دنیا بین دوقلوهای ناهمسان (DZ) مشترک. جزء C نشان‌دهنده محیط «مشترک» است، همان واریانس محیطی مشترک بین دوقلوهایی که در کنار یکدیگر پرورش‌یافتند. برای مثال، از آنجا که دوقلوهای همسان و ناهمسان در کنار هم پرورش می‌یابند، هم‌بستگی میان محیاط مشترک آنان برابر با یک است. در نهایت، E نشان‌دهنده واریانس محیطی «خاص» یا غیرمشترک است که متغیرهای محیطی متفاوت در مقایسه دوقلوها را منعکس می‌کند. در عمل، این جزء تنوع در محیطی خارج از خانه دوقلوهاست که در لوای E جای می‌گیرد، مانند حالتی که دوقلوها در مؤسسات مختلفی تحصیل می‌کنند و یا وقایع متفاوتی در زندگی هر یک رخ می‌دهد.

فَلکُنِر مدل ACE در عمل نمود بصری شالوده ریاضی تخمین وراثت‌پذیر، که «فرمول فَلکُنِر [1]» خوانده می‌شود، در قالب بررسی مسیرهاست (فَلکُنِر و مَک‌کِی ۱۹۹۸). این فرمول از آمار اندازه‌گیری‌شده جمعیت استنباط می‌شود: همبستگی فنوتیپی دوقلوهای همسان و ناهمسان. برای هر فنوتیپ، همبستگی میان دوقلوهای همسان (r_{MZ}) غالباً از همبستگی میان دوقلوهای ناهمسان (r_{DZ}) بیشتر است. شاید عجیب به نظر نیاید که دوقلوهای همسان از دوقلوهای ناهمسان به یکدیگر شبیه‌تر اند. شباهت ژنتیکی بیشتر به شباهت فنوتیپی بیشتر منجر می‌شود. در نتیجه، وراثت‌پذیری در معنای محدود و کمّی به صورت شهودی تفاوت میان همبستگی دوقلو همسان و ناهمسان تلقی می‌شود: تفاوت بیشتر یعنی وراثت‌پذیری بیشتر. از سوی دیگر، اگر تفاوت اندکی میان همبستگی میان دوقلوهای همسان و ناهمسان باشد واریانس آن صفت چندان به ژنتیک مربوط نیست و وراثت‌پذیری اندکی نیز تخمین زده خواهد شد.

فرمول فَلکُنِر از این مشاهده ساده آغاز می‌شود که دو جزء از سه جزء مدل در دوقلوهای همسان یکسان است: صد درصد ژن‌ها و صد درصد محیط در میان این دوقلوهای مشترک است. در نتیجه، هم‌بستگی میان دوقلوهای همسان حاصل جمع A و C است:

$$r_{MZ} = A + C$$

بر همین اساس، صد در صد محیط دوقلوهای ناهمسان یکسان است اما تنها نیمی از ژن‌های در میان این دوقلوها مشترک است. بنابراین، هم‌بستگی میان دوقلوهای ناهمسان برابر با جمع نیمی از واریانس ژنتیکی انباشتی و محیط مشترک است:

$$r_{DZ} = \frac{A}{2} + C$$

با توجه به این تعاریف، فرمول فَلکونِر امکان تخمین وراثت‌پذیری بر اساس تفاوت میان هم‌بستگی دوقلوهای همسان و ناهمسان را می‌دهد:

$$r_{MZ}\text{-}r_{DZ} = A\text{-}\frac{A}{2} + C\text{-}C$$

$$r_{MZ}\text{-}r_{DZ} = A\text{-}\frac{A}{2} \therefore A = 2(r_{MZ}\text{-}r_{DZ})$$

پس از تعریف وراثت‌پذیری در معنای محدود، می‌توان فرمول‌های مورد نیاز برای تخمین C مشترک را استنباط کرد:

$$r_{DZ} = \frac{A}{2} + C$$

$$r_{DZ} = \frac{r_{MZ}\text{-}C}{2} + C$$

$$2r_{DZ} = r_{MZ}\text{-}C + 2C$$

$$2r_{DZ} = r_{MZ} + C$$

$$\therefore C = 2r_{DZ}\text{-}r_{MZ}$$

در مرحله آخر، محیط غیرمشترک را می‌توان بر مبنای این پیش‌فرض که ورایانس کل در صفت حاصل شباهت ژنتیکی، محیط مشترک، و محیط غیرمشترک است محاسبه کرد:

$$A + C + E = 1$$

$$[2(r_{MZ}\text{-}r_{DZ})] + [2(r_{MZ}\text{-}r_{DZ})] + E = 1$$

$$r_{MZ} + E = 1$$

$$\therefore E = 1 - r_{MZ}$$

این مثال را در نظر بگیرید: در مطالعه دوقلوها، در بررسی قامت افراد، هم‌بستگی $r_{DZ} = 0.95$ و $r_{MZ} = 0.55$ تخمین زده‌شدند. با این اطلاعات و با استفاده از روش‌های ابتدایی

[1] Falconer's formula

ژنتیک کمّی می‌توان واریانس را به واریانس‌ها ناشی از اشتراک ژن‌ها و محیط تجزیه کرد:

$$A = 2(r_{MZ}\text{-}r_{DZ})$$

$$A = 2(0.95 - 0.55)$$

$$A = 2(0.4) = 0.8$$

گرچه این رویکرد از منظر فلسفی جنجال‌آفرین است (به دلایل در بخش‌های دیگر این مدخل بحث می‌شود)، نتیجه این محاسبه نشان می‌دهد که هشتاد درصد واریانس در بلندی قامت را در این جمعیت از دوقلوها می‌توان به تفاوت‌های ژنتیکی نسبت داد. برای تخمین محیط نامشترک (C)، فرمول‌هایی که پیش‌تر استنباط کردیم را به خاطر آورید:

$$C = 2r_{DZ}\text{-}\, r_{MZ}$$

$$C = 2(0.55)\text{-}\, 0.95 = 0.15$$

در مرحله آخر، واریانس کل قامت که می‌توان به محیط غیرمشترک نسبت داد:

$$E = 1 - r_{MZ}$$

$$E = 1 - 0.95 = 0.05$$

در این مثال، هشتاد درصد واریانس در ارتفاع را می‌توان به اثر انباشتی ژن‌ها ($A = 0.8$)، پانزده درسد به محیط مشترک ($C = 0.15$)، و پنج درصد را به محیط غیرمشترک ($E = 0.05$) نسبت داد.

پژوهش در باب وراثت‌پذیری در شرف تحول بزرگی است. برای یک قرن، وراثت‌پذیری در معنای «سنتی» آن، با بررسی دوقلوها و خانواده‌ها، تخمین زده می‌شد و از بحث در باب واحدهای زیربنایی انتقال اطلاعات ژنتیکی دوری می‌شد. این رویکرد سنتی از فرض‌های زمخت پژوهش‌های دوقلوها و اعضای خانواده و مدل ACE ناشی می‌شود: حدود صد در صد مواد ژنتیکی دوقلوهای همسان مشترک است و نیمی از این مقدار میان دوقلوهای ناهمسان. تنها پس از کشف ساختار مارپیچ دوگانه دنا توسط واتسون و کریک، تخمین موشکافانه وراثت‌پذیری با در نظر گرفتن جزئیات زیستی ماده وراثتی ممکن شد. از زمان کشف ساختار دنا پیشرفت‌های بسیاری رخ داده، مانند تحلیل پیوستگی و بررسی ژن‌های نامزد، اما شمار اندکی از این پیشرفت‌ها برای فهم رویکردهای اخیر به منظر تخمین وراثت‌پذیری ضروری اند.

نخست، تمامی رویکردهای مدرن برای تخمین وراثت‌پذیری بر داده‌های تجربی چندریختی‌ها تک‌نوکلئوتیدی[1] (SNP) مبتنی است. در عمل، واحد بنیادی تفاوت‌های ژنتیکی میان افراد همین چندریختی‌های هستند. با انکه 99% توالی ژنتیکی میان انسان‌ها یکسان است، تفاوت میان آن‌ها در چندریختی‌های تک‌نوکلئوتیدی نهفته است. تراشه‌های SNP به پژوهشگران اجازه می‌دهد تا با نمونه خون یا بزاق مجموعی وسیعی از چندریختی‌های چند نوکلئوتیدی یک فرد را بیابند. نسخه‌های اولیه این چیپ‌ها امکان یافتن 500,000 دگره در ژنگان را فراهم می‌آورند؛ فن‌آوری‌های اخیری امکان یافتن میلیون‌ها دگره را می‌دهند. با تولید تراشه‌های سریع و ارزان در طی دهه اخیر، می‌توان شمار بسیاری از تفاوت‌های خرد دنایی میان افراد یافت. این توانایی راه را بر رویکردی جدید برای تخمین وراثت‌پذیری می‌گشاید. پژوهش‌های همبستگی در سرتاسر ژنگان[2]، با اتکا به مجموعه پرشماری از رویکردها، هم‌بستگی آماری میان دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی و هزاران فنوتیپ، از صفات فیزیکی (مانند قامت، وزن، نمایه توده بدن، و امثالهم) تا صفات رفتاری و روانی (مانند ضریب هوش، شیزوفرنی، افسردگی، و امثالهم). به دلایل تاریخی، پژوهش‌های همبستگی در سرتاسر ژنگان در قالب پژوهش‌ها نمونه–شاهد[3] انجام می‌شوند: نگاشت SNP از جمعیت افرادی که در صفتی مشترک هستند (اختلال کم‌توجهی–بیش‌فعالی[4] یا تخریب مولکولی) استخراج می‌شود و با نگاشت جمعیت شاهدی که فاقد صفت مورد نظر است مقایسه می‌شود. اگر به طور میانگین جمعیت دارای صفت مورد نظر از نظر ژنتیکی شبیه باشند، پژوهش همبستگی در سرتاسر ژنگان دگره‌های که از نظر آماری ربط قابل توجهی با صفت مورد نظر دارند را مشخص می‌کند.

پژوهش‌های همبستگی در سرتاسر ژنگان دگره‌هایی که از نظر آماری با صفات مورد مطالعه هم‌بسته‌اند را می‌یابد. پس از قریب به یک قرن از پژوهش‌های دوقلوها و خانوادها که از وراثت‌پذیری نسبتاً بالای صفات حکایت داشتند، در ابتدای انتظار می‌رفت که پژوهش‌های همبستگی

[1] Single Nucleotide Polymorphisms
[2] Genome Wide Association Studies (GWAS)
[3] case-control
[4] ADHD

در سرتاسر ژنگان ژن‌های اندکی که اثر زیادی بر این صفت‌ها دارند را بیابد. از منظر نتایج پژوهش‌های همبستگی در سرتاسر ژنگان مأیوس‌کننده بوده‌اند. گرچه مطالعات بر دوقلوها ۵۰٪ واریانس کل در توانایی‌های شناختی را به تفاوت‌ها ژنتیکی نسبت می‌دهد، دگره‌های مربوط با این صفت هر یک اغلب کم‌تر از ۰٫۴٪ واریانس کل را توضیح می‌دهد.

با افزودن اثر تمامی دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی مهمی که توسط پژوهش‌های همبستگی در سرتاسر ژنگان می‌توان به سادگی میزان واریاس فنوتیپی قابل توجیه (که گه‌گاه h^2_{GWAS} خوانده می‌شود) را افزایش داد. نخستین مورد استفاده از این روکرد نیز نتایج دلسردکننده‌ای در پی داشت. ویدون و همکارانش (۲۰۰۸) به بررسی همبستگی در سرتاسر ژنگان صفت قامت پرداختند و ۲۰ دگره یافتند که در مجموع ۳ درصد واریانس فنوتیپی در این صفت را توضیح می‌داد. این نتایج ضعیف پژوهشگران این حوزه را به مطالعات وسیع‌تر و بهتر که توان کافی برای شناسایی دگره‌های دارای اثر اندک را دارد کشاند. داده بیشتر یعنی دگره بیشتر و دگره بیشتر یعنی واریانس قابل توجیه بالاتر و افزایش h^2_{GWAS}. حتی با جمع‌کردن اثر صدها دگره، واریانس قابل توجیه به مدد پژوهش‌های همبستگی در سرتاسر ژنگان همچنان بسیار اندک است. برای نمونه، وراثت‌پذیری ضریب هوش در رویکردهای سنتی پنجاه درصد تخمین زده می‌شود اما بزرگترین پژوهش همبستگی در سرتاسر ژنگان که تاکنون در باب ضریب هوشی به انجام رسیده کم‌تر از ۵ درصد واریانس کل در این صفت را توجیه می‌کند (پلومین و فن اِستام ۲۰۱۸).

یَنگ و همکاران (۲۰۱۵) به منظور افزایش واریانس فنوتیپی قابل توجه روش تحلیل ژنگان صفت پیچیده[1] را، که اکنون وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی (h^2_{SNP}) خوانده می‌شود، پدید آوردند. در حالیکه وراثت‌پذیری در رویکرد سنتی بر اساس شباهت‌های ژنتیکی کلی میان خویشاوندان تخمین زده می‌شد، وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی بر اساس شباهت ژنتیکی دقیق میان افراد غیرخویشاوند اندازه گرفته می‌شود. وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی اکنون خانواده بزرگی از روش‌های آماری بسیار پیچیده به منظور بیشینه‌کردن نسبت واریانس فنوتیپی قابل توجیه با دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی مشاهده‌شده یا استنباط شده است. وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی خصوصیات انگشت‌شماری جالب توجهی دارد. نخست، به جای محدود کردن تحلیل به دگره تک‌نوکلئوتیدی که از صافی سخت‌گیرندهٔ مبتنی بر حد مشخصی از p عبور می‌کنند، وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی با تحلیلی مجموعه کامل دگره‌ها در هر نمونه – شامل دگره‌هایی که به صفت مورد مطالعه مربوط نیستند- تخمین زده می‌شود. از این منظر، وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی از منظر زیستی بدیهی نیست. دوم، وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی بر فرض انباشت خطی اثر دگره‌ها مبتنی است. سوم، وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی منعکس‌کننده حد کنونی واریانس کل برای هر فنوتیپی است که قابل توجیه با دگره‌ها هستند. بنابراین، به عنوان نمونه، اگر امتیاز پلی‌ژنتیک تا حد امکان پیش‌بینی‌پذیر باشد، برابر با وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی خواهد بود.چهارم، برای تمامی صفات رفتاری، وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی همواره از وراثت‌پذیری دوقلوها پایین‌تر است. تفاوت میان وراثت‌پذیری دوقلوها و وراثت‌پذیری دگره تک‌نوکلئوتیدی را گه‌گاه مسأله وراثت‌پذیری گُم می‌خوانند، مسأله‌ای در بخش پنجم این مدخل بحث می‌کنیم.

۴- مسائل فلسفی

ناشی از مطالعات دوقلوها و تحلیل وراثت‌پذیری

مجادله در باب صحت معیارهای وراثت‌پذیری در دهه ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ میلادی داغ‌تر از همیشه بود. در دهه ۱۹۷۰، بحث در باب ضریب هوش و نژاد شعله‌کشید (جدالی که در دهه ۱۹۹۰ میلادی و با انتشار اثر هِرنستین و موری – ۱۹۹۴- دوباره شدت گرفت) و در اواخر دهه ۱۹۷۰ و اوایل دهه ۱۹۸۰، جامعه‌زیست‌شناسی (سوسیوبیولوژی) محل نقد شدید واقع شد. هواداران سرشت ارثی ضریب هوشی و جامعه‌زیست‌شناسان صفات رفتاری انسان و ژن‌ها را به هم ربط می‌دادند. متخصصان علم وراثت در مجادله در باب ضریب هوشی آشکارا بر تحلیل دوقلوها، همانند آنچه که پیش‌تر بحث شد، متکی بودند. منتقدان جامعه‌زیست‌شناسی و وراثت‌پذیری ضریب هوشی، زیست‌شناسان، فلاسفه، علمای علم اجتماعی، و بسیاری از فعالان سیاسی و اجتماعی چپ‌گرا را شامل می‌شود (برای

[1] Genome Complex Trait Analysis (GCTA)

تاریخ این بحث ر.ک. گولد (۱۹۸۰)، پال (۱۹۹۸)، و سِگِرستراله (۲۰۰۰)).

نقطه آغاز نقد بسیاری از فلاسفه بر تحلیل وراثت‌پذیری به مقاله لیئونتین (۱۹۷۴) در باب تحلیل واریانس است. (شایان ذکر است که این مقاله تاحدی عامیانه است و بهتر است آن را تلاش لیئونتین برای ترسیم فهم رایج این موضوع در میان ژنتیک‌دانان جمعیت آن دوره برای عموم انگاشت. استدلال‌هایی دقیقی که لیئونتین به آن‌ها اشاره دارد را می‌توان در آثاری چون لِیزِر (۱۹۷۴)(و بعدها در کِمپ‌ثورن (۱۹۷۸)) یافت و نسخه‌های متقدم این استدلال‌ها را می‌توان در هاگبن (۱۹۳۳) و آثار آر. اِی. فیشر یافت.) لیئونتین مدعی است که معادله 1 دقیق‌ترین تصویر از نقش عوامل مختلف در تنوع فنوتیپی را به دست می‌دهد. او در ادامه استدلال می کند که V_I، $V_{G\times E}$،و $\mathrm{COV}(G,E)$ را نمی‌توان ناچیز انگاشت. در واقع، بر اساس استدلال او، این متغیرها بخش جدایی‌ناپذیر از واریانس یک صفت هستند. در نتیجه، تقسیم واریانس فنوتیپی بین ژن‌ها و محیط چندان آسان نیست و روش معمول تحلیل واریانس نمی‌تواند تخمین‌هایی سودمند و مفید از h_b^2 و h^2 به دست دهد. لیئونتین به این نکته نیز اشاره می‌کند که هوادران معیارهای وراثت‌پذیری به اشتباه وراثت‌پذیری را به فرد و نه جمعیت، نسبت می‌دهند. به علاوه، او استدلال می‌کند که «حدود واکنش[1]» تصویری دقیق‌تر از رابطه میان ژن‌ها، محیط، و فنوتیپ‌ها ترسیم می‌کند. حد واکنش نموداری است که فنوتیپ پیوسته (کمّی) ژنوتیپ‌ها را به عنوان تابعی از محیط ترسیم می‌کند. فلاسفه و زیست‌شناسان بسیاری نقد لیئونتین بر تحلیل واریانس را بسط داده و پیراستند (ر.ک. بلاک ۱۹۹۵، کیچر ۱۹۸۵، سارکار ۱۹۹۸، سوبر ۱۹۸۸، نورث‌کات ۲۰۰۶) و اغلب با نتایج او دال بر دشواری اندازه‌گیری وراثت‌پذیری و برتری حدود واکنش برای بررسی میانکنش ژن و محیط هم‌داستان هستند.

لیئونتین بعدها افزود که (۲۰۰۶): «هدف مقاله ۱۹۷۴ تبیین این نکته بود که چرا تجزیه آماری تنوع مشاهده‌شده در فنوتیپ به واریانس مرتبط با تنوع در خویشاوندی ژنتیکی، به جای واریانس مربوط به تفاوت‌های محیطی، در واقع علت ژنتیکی را از علت محیطی تمیز نمی‌دهد» (۲۰۰۶، ۵۳۶). او می‌افزاید که پیشرفت‌های حوزه ژنتیک مولکولی «تحلیل دقیق مولکولی زنجیره علّی میان جایگزینی نوکلئوتیدها و تکوین و عملکرد سلول را ممکن کرده‌است.» (لیئونتین، ۲۰۰۶، ۵۳۶). (سوبر (۱۹۸۸) نیز بر این جنبه از نقد لیئونتین بر تحلیل واریانس تأکید کرده بود.) لیئونیتن فهم خود از علیت ژنتیکی را آشکارا بیان می‌کند: زنجیره علی از رشته دنا تا محصول پروتئینی که در درون سلول‌های موجود زنده رخ می‌دهد. رأی او این است که روش‌های آماری ژنتیک جمعیت و ژنتیک رفتاری به تنهایی از پس هویداکردن علل ژنتیکی در قالب تعریف او بر نمی‌آیند. ما در بخش پنجم، از منظرGWAS و روش‌های «مولکولی» دیگر برای اندازه‌گیری وراثت‌پذیری به این مسأله دوباره می‌پردازیم.

یک پاسخ به این قسم انتقاد، تأکید بر احتیاط در کاربست مقیاس‌های وراثت‌پذیری و اشاره دوباره به نظر لیئونتین است که این اندازه‌گیری‌ها اطلاعاتی در باب صفات افراد به دست نمی‌دهند (ر.ک. پلومین و همکاران ۱۹۹۰؛ ۱۹۹۷، هَمِر و کُپلَند ۱۹۹۸). این پاسخ از منظر کیچر (۱۹۸۵) کافی نیست و از نظر او بسیاری از متخصصان ژنتیک رفتار و روان‌شناسان این اندازه‌گیری‌ها را چنان توصیف می‌کنند که گویی با تحلیل وراثت‌پذیری اجزای ژنتیکی از صفات رفتاری انسان را کشف کرده‌اند. پاسخ دیگر این استدلال است که استنباط حد واکنش برای صفت پیچیده انسانی تقریباً ناممکن است و در نتیجه این رویکرد در میان روش‌های کشف علل ژنتیکی صفات در انسان جایی ندارد. خود لیئونتین از این دشواری پرده برداشت. حد واکنش برای صفتی خاص را می‌توان در جاندارانی که امکان دستورزی فراگیر ژن‌نمود و محیط را می‌دهد مشخص کرد. لیئونتین نخستین پژوهش‌ها در باب واکنش لارو *Drosophila* به دمای محیط را مطالعات پیشگام در مشخص‌کردن حد واکنش می‌پندارد. دشواری از آنجا نشأت می‌گیرد که ژن‌های مربوط به اغلب صفات انسان، به ویژه صفات رفتاری، و دامنه محیطی مربوط به این صفات مشخص نیست. این پاسخ لزوماً حمله لیئونتین به مقیاس‌های اندازه‌گیری وراثت‌پذیری را دفع نمی‌کند، چراکه در مواردی می‌توان حد واکنش را به شیوه‌ای موثق استنباط کرد و در این موارد، در قیاس با تحلیل متعارف

[1] Norms of reaction

واریانس، اطلاعات بیشتری از روابط میان ژن‌ها ومحیط به دست آورده‌ایم. افزون بر این، تلاش برای تجزیه آزمایشگاهی نقش واریانس ژنتیکی در ورایانس محیطی با همان دشواری‌ها در انسان روبرو می‌شود که تلاش برای تولید حدود واکنش. مثال‌های بخش ۲ از این جهت ساختگی اند که یافتن ژن‌نمودها و محیط‌هایی که به ورایانس در صفات انسان می‌انجامد دشوار است. اجماع فعلی میان فلاسفه زیست‌شناسی این است که تحلیل وراثت‌پذیری ما در خصوص علل ژنتیکی صفات انسان به کژراهه می‌انجامد؛ پیرسون (۲۰۰۷) اما محتاطانه از سودمندی تبیینی این رویکرد دفاع کرده‌است. اُمری‌تال نیز با کاربست احتمال به تحلیل وراثت‌پذیری از وراثت‌پذیری نیمچه دفاع کرد. او این روکرد را در مواردی که هیچ میانکنشی بین ژن و محیط فرض نمی‌شود (۲۰۰۹) و در مواردی که این میانکنش وجود دارد (۲۰۱۱) پیش گرفت. آثار سِساردیچ (۱۹۹۳ و ۲۰۰۵) نقطه مقابل اجماع در ضدیت با وراثت‌پذیری و حمایت میان‌دار و محتاطانه پیرسون از وراثت‌پذیری است. سساردیچ قویاً از تحلیل وراثت‌پذیری حمایت کرده و منتقدان تحلیل وراثت‌پذیری را به باد انتقاد می‌گیرد. در پایان، پژوهش بر حدود واکنش (برای مثال ر.ک. پیگلیوچی ۲۰۰۱) از آن زمان که لیئونتین به این روش اشاره کرد رای او در باب اطلاعاتی که این تحلیل‌ها به دست می‌دهند را تقویت کرده‌است.

اجماعی در غالب حوزه‌ها (مانند فلسفه زیست‌شناسی، زیست‌شناسی تکاملی، روان‌شناسی، و ژنتیک رفتاری) وجود دارد مبنی بر اینکه مقیاس‌های وراثت‌پذیری (به ویژه h_b^2) تنها کارکردی محدود دارند. اجماع در میان فلاسفه زیست‌شناسی بر این است که وراثت‌پذیری وسیع راهگشا نیستند، البته این اجماع منتقدان اندکی دارد (برای مثال سِساردیچ ۱۹۹۳ و ۲۰۰۵، پیرسون ۲۰۰۷ و تال ۲۰۰۹ و ۲۰۰۱). (مفهوم اجتماع در معنای روزمره بکار رفته و می‌توان از روش‌های پژوهش در باب علم و فلسفه آزمایشی سود برد تا درستی این ادعا در باب اجماع را سنجید.) کاپلان (۲۰۰۰) مقدمه‌ای بر وراثت‌پذیری و کاربرد آن در ژنتیک رفتاری را ارائه داد. بررسی پیچیده (و دشوار از منظر فنی) استدلال‌های ضد وراثت‌پذیری را می‌توان در سَرکار (۱۹۹۸) یافت. فِریمَن و هِرون (۱۹۹۸) تحلیل واضح از دشواری‌های پیش‌روی هواداران رابطه میان ضریب هوش و نژاد در استفاده از مقیاس‌های وراثت‌پذیری را به دست می‌دهند (فهم این تحلیل نیازمند آشنایی با آمار است). بلاک (۱۹۹۵) تصویری کلی از استدلال‌ها بر علیه استفاده از مقیاس‌های وراثت‌پذیری در پژوهش در باب ضریب هوش و نژاد ارائه می‌کند. دفاع از مقاله لیئونتین (۱۹۷۴) در انتقاد از استفاده از تحلیل واریانس در بررسی نقش ژن‌ها در شکل‌گیری صفات افراد را می‌توان در سوبر (۱۹۸۸) یافت و نورث‌کات (۲۰۰۶) تحلیلی سودمند از آثار لیئونتین و سوبر نگاشت. تَبری (۲۰۱۴) و تیلور (۲۰۱۴) با غور در باب مجادلات سرشت در برابر محیط به نقد بی‌مهابای تحلیل وراثت‌پذیری می‌پردازند.

اثر اخیر سِساردیچ نقدی است بر آنان که استدلال‌های به سیاق لیئونتین را علیه تحلیل وراثت‌پذیری ارائه می‌کنند. او به حمله به منتقدان مطالعه وراثت‌پذیری از این رویکرد دفاع می‌کند. او ایراد خود از این انتقادات را چنین جمع‌بندی می‌کند: «شگفت‌آور است که فلاسفه در جدل [بر سر وراثت‌پذیری] به دلیلی نامشخص کنجکاوی ذهنی و ذکاوت تحلیلی اندکی از خود به نمایش می‌گذراند» (۲۰۰۵، ۹)؛ چراکه «آنان سراسیمه استدلال‌های ضد وراثت‌باوری را که اندکی محتمل می‌نمایند را پذیرفته‌اند» و «اغلب اطلاعات ناچیزی در باب حقایق علمی مقدماتی حوزه‌ای که در آن به مطالعه می‌پردازند دارند» (۲۰۰۵، ۹). نقد سساردیچ جدلی است و روش‌های تازه وراثت‌پذیری را به خوانندگان فیلسوف معرفی نمی‌کند، بلکه عقاید پیشینی چون باورهای ینسِن را که یکی از اهداف اصلی نقد لیئونتین بود را تکرار می‌کند. چند پاسخ پرجوش و خروش به کتاب سساردیچ یافت می‌شود (به عنوان مثال بررسی‌های تَبری در ۲۰۰۶ و ۲۰۰۹) و گری اوفتِدال (۲۰۰۵) نقاط افتراق اصلی میان سساردیچ و لیئونتین را روشن می‌کند.

یکی از نقاط افتراق میان پیروان لیئونتین و سساردیچ ناچیزی یا سترگی $V_{G\times E}$ و دیگر اجزای واریانس است. این مسأله صرفاً فلسفی نیست از منظر آزمایشگاهی نیز مورد بررسی قرار گرفته است. تَبری (۲۰۰۹ و ۲۰۱۴) توجهات

را به پژوهشی طولی[1] توسط کاسپی و مافیت جلب می‌کند که آثار $G\times E$ در طی مطالعه طولی بر اختلال‌های رفتاری ضد اجتماعی در انسان انجام داده تا شاهدی هم‌سو با آراء لیئونتین ارائه دهد. داگلاس والستِن نیز در بخش اعظمی از مطالعات آزمایشگاهی خود به این مسأله پرداخته است (والستِن ۱۹۹۰ آراء نظری او را جمع‌بندی می‌کند و واستِن و گاتفرید ۱۹۹۷ بررسی نسبتاً جامعی از آزمایش‌های مرتبط بر جانوران است). به علاوه، تصور کوواریانس ژن–محیط ($\mathrm{COV}(G,E)$) به عنوان جزئی از وراثت‌پذیری برخی را به اشتباه به نسبت‌دادن آثار محیطی بر رخ‌نمود به ژن‌ها کشانده‌است. دیکنز و فلین (۲۰۰۱) با مثالی در باب توانایی در بازی بسکتبال به این مسأله می‌پردازند. آنان استدلال می‌کنند که اگر این توانایی وراثت‌پذیری بالای داشته‌باشد، باز هم جزء محیطی قابل‌توجهی در رابطه با این صفت وجود خواهد داشت. بر طبق توصیف این دو، در صورت جدی گرفتن کوواریانس ژن–محیط ، این مسأله قابل توضیح است. همانطور که گیاهان بلند قامتی که در بخش دوم ذکر کردیم می‌توانند برخلاف گیاهان کوتاه‌قامت سر از محیط‌های انباشته از مواد مغذی درآورند، ورزشکاران نیز اغلب در محیط‌های قرار می‌گیرند که توانایی ورزشی آنان را بهبود می‌بخشد. همانگونه که دیکنز و فلین متذکر می‌شوند، دوقلوهای همسانی که بلندقامت و ورزشکارند، منجمله دوقلوهایی که در بدو تولد از هم جدا می‌شوند، می‌توانند والدینی بسکتبالی داشته‌باشند و یا در مدرسه و یا دانشگاه به تمرین بسکتبال گمارده شوند. در این شرایط توانایی ورزشی فرد افزایش می‌یابد اما نباید این افزایش را به ژن‌های مربوط به بلندی قامت و ورزشکاری نسبت داد چراکه محیط اثر ژرف بر رخنمود دارد.

جالب است که فلاسفه زیست‌شناسی، که قاطبه توجه خود را به زیست‌شناسی تکاملی معطوف می‌کنند، منتقد وراثت‌پذیری اند. وراثت‌پذیری جزء اصلی تغییر تکاملی است و تحلیل وراثت‌پذیری، به ویژه در چارچوب مفهوم وراثت‌پذیری حقیقی (ر،ک. معادله ۵) جزئی مهم از چارچوب نظری زیست‌شناسی تکاملی است. حملات نقادانه به وراثت‌پذیری در بستر بحث در باب ژن‌ها در برابر محیط زیست و دلواپسی در باب جبرگرایی ژنتیکی پدید آمد (به عنوان مثال ر.ک. تَبری ۲۰۱۴) و بهتر است آن را به مثابه نقد ژنتیک رفتار در روان‌شناسی نگریست. فلاسفه علاقه روزافزونی به بررسی نقادانه مفهوم وراثت‌پذیری در بستر تکاملی دارند. مفهوم وراثت‌پذیری حقیق مختصراً توسط سمیر اوکاشا (۲۰۰۶) (هم‌چنین ر.ک. داونز ۲۰۱۰) و سوبر (۲۰۰۸) بحث شده است. تا این اواخر، بحث مبسوط در باب رابطه میان وراثت‌پذیری و سایر مفاهیم کلیدی در نظریه تکامل تیول زیست‌شناسان تکاملی بود (به عنوان مثال لینچ و والش ۱۹۹۸ و رایس ۲۰۰۴). مقاله مروری پیتر ویشار و همکارانش (۲۰۰۸) مقدمه‌ای سودمند در باب بسیاری از آثار این حیطه است. دعاوی رادیکالی در باب وراثت‌پذیری و وراثت توسط فلاسفه ارائه ودفاع شده است، منجمله این دعوی که تکامل بدون وراثت ممکن است (برای مثال ر.ک. اِرنشاو–وایت ۲۰۱۲ و بورات ۲۰۱۳). تمرکز بر وراثت‌پذیری در بستر نظریه تکامل زمینی حاصل‌خیز برای پژوهشی فلسفی است و بررسی نقش وراثت‌پذیری در چارچوب تبیین شرایط تکامل به سبب انتخاب طبیعی توسط بورات (۲۰۱۴) شاهدی است بر این مدعا.

۵- وراثت‌پذیری گُم و مسائل فلسفی مرتبط ناشی از GWAS

ابداع روش‌های جایگزینی برای تخمین وراثت‌پذیری (مانند GWAS و وراثت‌پذیری تک‌نوکلئوتیدی) مشکلی را پدید آورده که عموماً «مسأله وراثت‌پذیری گُم» خوانده می‌شود. ژنتیک‌دانان رفتار توجه ویژه‌ای به این مسأله داشته‌اند و فلاسفه علم وزیست‌شناسی نیز تا حدی به آن پرداخته‌اند. در ظاهر این مشکل از تفاوت عددی میان تخمین‌های سنتی وراثت‌پذیری و تخمین وراثت‌پذیری بر مبنای تک‌نوکلئوتید در رابطه با همان صفت ناشی می‌شود. برای مثال، وراثت‌پذیری ضریب هوشی بر مبنای مطالعه دوقلوها و خانواده‌ها بین ۰٫۵ تا ۰٫۷ تخمین زده می‌شود اما وراثت‌پذیری همین صفت بر مبنای تک‌نوکلئوتیدها از ۰٫۲۵ بیشتر نیست (پلومن و فون استام ۲۰۱۸). این تفاوت در صفات پیچیده رفتاری بیشتر است.

از زمانی که مار (۲۰۰۸) اصطلاح «وراثت‌پذیری گم‌شده» را وضع‌کرد، آماردانان و ژنتیک‌دانان در باب این مسأله بسیار نگاشته‌اند. تقریباً در تمامی این آثار، نویسندگان به توضیح‌های محتمل برای این مسأله پرداخته و راه‌حل‌های

[1] مطالعه طولی (longitudinal study) به مطالعه‌ای اطلاق می‌شود که بر یک گروه در طول زمان انجام پذیرد.

مبتنی بر فن‌آوری و روش‌های نو را پیش‌کشیده‌اند که باید فاصله عددی میان تخمین‌های وراثت‌پذیری سنتی و مبتنی بر تک‌نوکلئوتیدها را کاهش دهد. توضیح چرایی این تفاوت اغلب به ناتوانی صورت معمول GWAS در یافتن تأثیرات ژنتیکی که ناگزیر بخش جدایی‌ناپذیر از مطالعه دوقلوها و خانواده‌ها هستند می‌پردازد. جالب توجه است که این نویسندگان به میانکنش‌های غیر خطی میان دگره‌های ژنتیکی (میانکنش $G\times G$ یا روایستایی) متوسل می‌شوند. روایستایی میان دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی به این معناست که اثر یک دگره تک‌نوکلئوتیدی در حضور دگره‌ای دیگر تغییر می‌کند (برای مثال افزایش یا کاهش می‌یابد) و این میانکنش‌ها فرض انباشت اثر ژن‌ها، پیش‌فرض تخمین وراثت‌پذیری مبتنی بر دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی، را نقض می‌کند. بر همین روال، میانکنش ژن و محیط و وراثت فراژنی نیز برای توضیح وراثت‌پذیری گم‌شده ارائه شده‌اند (زوک و همکاران ۲۰۱۲). اثر دگره‌های خاص یا گروه‌هایی از دگره‌ها می‌تواند در محیط‌های متفاوت افزایش، کاهش، و یا حتی پنهان شود و این قسم میانکنش‌ها نیز فرض انباشت آثار ژنتیکی را نقض می‌کند. بخشی از وراثت‌پذیری گم‌شده را می‌توان به وجود دگره‌های نادر و پرنفوذ نسبت داد؛ دگره‌های که تنها با بررسی نمونه‌های پرشمار قابل شناسایی اند (زوک و همکاران ۲۰۱۴). (برای بررسی ژرف‌تر تبیین‌ها و راه‌حل‌های ارائه‌شده در باب وراثت‌پذیری گُم ر.ک. اریک ترکهایمِر (۲۰۱۱ و ۲۰۱۲) و متیوز و ترکهایمر (در دست انتشار).)

مسأله وراثت‌پذیری نمونهٔ جدال میان دور روش علمی به ظاهر سازگار است که به نتایج متضاد ختم می‌شوند دو از این رو پیامدهایی را برای فلسفه علم در پی دارند. بورات و لو (۲۰۱۷) به یکی از پیامدهای پرداختند و استدلال می‌کنند که وراثت‌پذیری گُم در خلال دو گام مکمل تا حد زیادی «حل» می‌شود. از سوی دیگر، بورات و لو به این نکته اشاره می‌کنند که تفاوت عددی میان روش‌های متفاوت تخمین وراثت‌پذیری با کاهش تخمین‌های سنتی، که مدت‌ها تخمین‌هایی خوش‌بینانه قلمداد می‌شده‌اند، کاهش خواهد یافت. از سوی دیگر، بورات و لو استدلال می‌کنند که با روش‌های دیگر تخمین وراثت‌پذیری بر مبنای دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی که میانکنش‌های غیر خطی و عوامل فراژنی را نیز در بر بگیرند، عواملی که به ادعای آنان در GWASلحاظ نمی‌شوند، این تفاوت عددی بیش از پیش کاهش می‌یابد.

در مقالب، متیوز و ترکهایمر (در دست انتشار) استدلال می‌کنند که مسأله وراثت‌پذیری گُم بیش از اینها دشوار است و راه‌حل در افق هویدا نیست. تحلیل این دو به معرفی مسأله وراثت‌پذیری گُم توسط مار، که در باب دشواری ژرف‌تر پیش‌روی متخصصان ژنتیک رفتار در تبیین، فهم، پیش‌بینی دقیق روابط درهم‌تنیده میان تفاوت‌های ژنتیکی و تفاوت‌های رفتاری پیچیده مانند شیزوفرنی، افسردگی، و هوش نیز بحث کرد، می‌پردازد. متیوز و ترکهایمر توصیفی سه‌وجهی از مسأله ارائه می‌دهند که در آن تفاوت عددی میان وراثت‌پذیری سنتی و مبتنی بر دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی تنها به مثابه جنبه کمی و مستقلی از مسأله‌ای چندوجهی توصیف می‌شود. به نظر آنان، دو وجه دیگر مسأله پیش‌بینی (دشواری پیش‌بینی دقیق رخ‌نمودهای رفتاری پیچیده براساس ژن‌نمود مولکولی) و ساز-و-کار (دشواری یافتن روایت‌های معنادار علّی که تفاوت‌های ژنتیکی مولکولی را به تفاوت‌های رفتارهای پیچیده نسبت دهد) هستند. گرچه اغلب متخصصان ژنتیک رفتار، هم‌سو با بورات ولیو، تلاش‌های خود را به تفاوت‌های عددی میان روش‌های متفاوت تخمین وراثت‌پذیری معطوف کرده‌اند، متیوز و ترکهایمر متذکر می‌شود که حل این مسأله آماری به پیش‌برد پیش‌بینی یا تبیین وراثت‌پذیری رفتارهای انسان کمکی نخواهد کرد.

ابداع GWAS و تخمین وراثت‌پذیری بر مبنای دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی روحی دوباره در پرسش‌های کهن در باب روابط علی می‌دمد. پژوهشگران این حوزه از چند دشواری مفهومی که به تشکیک در باب علی بودن آنچه دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی یا GWAS هویدا می‌کنند می‌انجامد آگاهند. جان دوپره GWAS را به عنوان یکی از چند رویکرد تلاشی رو به رشد برای یافتن همبستگی میان تفاوت‌های ژنتیکی و رخ‌نمودی طبقه‌بندی می‌کند. او بر این باور است که GWAS «از انبوه داده‌های ژنتیکی در دسترس در باب جمعیت‌های انسانی برای یافتن هم‌بستگی‌هایی با پیامد پزشکی – بیماری‌های فیزیولوژیک و روان‌شناختی- استفاده می‌کند» (۲۰۱۳، ۲۸۵). دوپره در ادامه اظهار می کند که «همان طور که همه افراد درگیر در این حوزه

آگاهند، این رویکرد را به زحمت بتوان پویشی در پی علت کافی انگاشت. در بهترین حالت، GWAS سرنخ‌هایی در باب فرآیندهای علی پیچیده درگیر در آسیب‌شناسی [بیماری مورد مطالعه] به دست می‌دهد.» (۲۰۱۳، ۲۸۶) برخی از پژوهشگران این حوزه بیش از توصیف دوپره در باب علت بی‌پروا هستند (برای مثال ر.ک. پلومین ۲۰۱۸). یکی از مسأله مشهور در حوزه ژنتیک جمعیت، فراپیوستگی[1]، به سبب هم‌بستگی غیرتصادفی دگره‌های ژنتیکی در جایگاه‌های مختلف رخ می‌دهد. پژوهشگران GWAS اقرار دارند که بسیاری از دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی مورد مطالعه با دگره‌های پرشماری دیگر فراپیوسته هستند. از این رو سرشت راستین دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی، به مثابه دگره‌های علی یا صرفاً دگره‌های فراپیوسته با دگره‌های علی (شاید به سبب رانش ژنی) ،هنوز مشخص نیست.

شواهد قوی دال بر حساسیت روش‌های کنونی GWAS به ناهمگنی جمعیتی[2] نیز وجود دارد. از آنجا که جمعیت انسان داراری زیرگروه‌های قومی یا فرهنگی با فراوانی متفاوت دگره‌های است، ناهمگنی جمعیتی احتمالا یافتن دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی اشتباه از طریق GWAS را افزایش می‌دهد. نه تنها شواهدی دال بر ناهمگنی جمعیتی در میان گروه‌های با نیاکان زیست‌جغرافیایی متفاوت (اروپاییان، آسیایی‌ها، آفریقایی‌ها) وجود دارد بلکه در درون این گروه‌ها نیز ناهمگنی وجود دارد. به عنوان مثال، افراد دارای نیاکان اروپا هم پاریسی‌ها را شامل می‌شود و هم مهاجرین انگلیسی.

شاید بزرگترین سد در مقابل تفسیر علی وراثت‌پذیری مبنی بر دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی بی‌معنایی زیستی آن باشد. وراثت‌پذیری تک‌نوکلئوتیدی بر مبنای دگره‌های ژنتیکی موجود بر یک آرایه SNP تعریف شده‌است و بخش اعظم این دگره‌های از منظر آماری بی‌اهمیت اند. به علاوه، گرچه وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی جنبه دیگری از واریانس رخ‌نمودی «تبیین‌شده» با تفاوت‌های ژنتیکی است، وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی به کشف روایت‌های زیستی و یا رفتارشناختی معناداری منجر نشده که الکوهای نوکلئوتیدی را به الگوهای رفتاری پیچیدی در انسان به صورت علی پیوند دهند. از منظر جاج پِرل و دانا مکِنزی، GWAS یکی از « نمونه‌ای اصیل از روش‌های کلان‌داده است که به پژوهشگران امکان شخم‌زدن آماری تمامی ژنگان را در پی یافتن ژن‌هایی که بر حسب اتفاق در افرادی با بیماری خاص بیشتر یافت می‌شوند را می‌دهد» (۲۰۱۸، ۳۳۹ – ۳۴۰). این دو در ادامه متذکر می‌شوند «باید به واژه همبستگی در GWAS دقت کرد. این روش علت را اثبات نمی‌کند و تنها ژن‌های همبسته با بیماری خاص در نمونه خاص از افراد را می‌یابد» (۳۴۰). این دو این نکته این مدخل را نیز تکرار می‌کند که روش‌های GWAS سدی برای تلاش در پی استنباط علیت هستد.

۶- نظری به آینده

مطالعه وراثت‌پذیری تاریخچه‌ای دراز و پربار دارد. بسیاری از پیشرفت‌های علمی در این حوزه روش‌های تخمین وراثت‌پذیری را بهبود داده‌اند و هر یک از این پیشرفت‌ها موضوع تحلیل فلسفی بوده‌اند. در سال‌ها اخیر، رویکردهای تجربی به منظور مطالعه و تخمین وراثت‌پذیری، به ویژه به سبب معرفی GWAS، آرایه دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی، و وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی، عمیقاً دگرگون شده است. فلاسفه بیش از پیش به این دگرگونی‌ها توجه می‌کنند. در صف اول این جدال مسأله علیت وجود دارد که پیش‌تر ذکر کردیم: آیا دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی علی اند؟ بورات (در شرف انتشار) در چارچوبی مداخله‌گرانه به این مسأله می‌پردازد اما هنوز بیشتر باید به این موضوع پرداخت. از منظر روش‌شناختی، وراثت‌پذیری دوقلوها و دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی بسیار متفاوت اند. تحلیل فلسفی بیشتر در باب سرشت وراثت‌پذیری و بررسی موشکافانه تمایز میان وراثت‌پذیری دوقلوها و وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی نیاز است. افزون بر استدلال‌های فلسفه له و علیه تفسیر علی دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی و وراثت‌پذیری، علم‌ورزان نیز استدلال‌های خود را مطرح کرده و اغلب روش‌های آماری پیچیده را برای یافتن روابط علی در ژنتیک انسان کافی می‌پندارند. فلاسفه می‌توان به شیوه سازنده به این روش‌ها ـ به ویژه

[1] linkage disequilibrium

[2] (population stratification) به معنای وجود زیرجمعیت‌های متمایز در یک جمعیت است.

تصادفی‌سازی مِندِلی[1]-، با نیم نگاهی به هم‌سوکردن چارچوب مبسوط فلسفی با چنین توصیف‌های متفاوتی از علت، بپردازند.

همانگونه که پیش‌تر بحث شد، پیشرفت روش تخمین وراثت‌پذیری بر مبنای دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی به مسأله‌ای نو و جالب منجر می‌شود: وراثت‌پذیری گم‌شده. گرچه متیوز و ترکهایمر (در شرف انتشار) به پیامدهای وراثت‌پذیری گم‌شده در رابطه با جدال بر سر کثرت‌گرایی علمی اشاره کرده‌اند، به نظر ما پیامدهای این مسأله وسیع‌تر خواهد بود. مطالعه فلسفی در این باب مطمئناً پربار خواهند بود.

در پایان باید در نظر داشت که وراثت‌پذیری رابطه انکارناپذیری با اخلاق زیستی دارد. با توجه نقش کلیدی تخمین وراثت‌پذیری در دوقلوها در بحث بر سر علم و نژاد در دهه ۷۰ تا دهه ۹۰ میلادی، پیشرفت وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی نیازمند بحث دوباره است. همانند وراثت‌پذیری دوقلوها، وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی اکنون برای بررسی پرسش‌های کهن و جنجال‌آفرین در باب شالوده ژنتیکی تفاوت‌های نژادی در رابطه به هوش و قابلیت‌های شناختی به کار می‌رود. ظاهراً از آنجا که وراثت‌پذیری دوقلوها و وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی از منظر مفهومی و روش‌شناختی متمایز اند، بررسی دوباره مشروعیت پژوهش‌ها در باب تفاوت گروه‌ها با اتکا به وراثت‌پذیری دگره‌های تک‌نوکلئوتیدی توسط فلاسفه و علم‌ورزان ضروری است.

منابع

1. Beurton, P. J., R. Falk, *et al*. (eds.), 2000. *The Concept of the Gene in Development and Evolution*, Cambridge: Cambridge University Press.
2. Block, N., 1995. "How heritability misleads about race," *Cognition*, 56: 99–128.
3. Bourrat, P., 2013. "From survivors to replicators: Evolution by natural selection revisited," *Biology and Philosophy*, 29: 517–538.
4. ——, 2014. "How to read heritability in the recipe approach to natural selection," *British Journal for the Philosophy of Science*, 66: 883–903
5. ——, forthcoming. "Causation and SNP Heritability," *Philosophy of Science*.

[1] روشی که با استفاده از چندشکلی ژنتیکی در رابطه با ژن‌های دارای کارکرد مشخص به یافتن رابطه علّی این ژن‌ها با بیماری خاص می‌پردازد (Mendelian randomization).

1. Bourrat, P. and Lu, Q., 2017. "Dissolving the Missing Heritability Problem," *Philosophy of Science*, 84: 1055–1067.
2. Burbridge, D., 2001. "Francis Galton on Twins, Heredity and Social Class," The British Journal for the History of Science, 34: 323–340.
3. Darwin, C., 1859 [1968]. *The Origin of Species*, London: Penguin Books.
4. Dickens, W.T. and Flynn, J.R., 2001. "Heritability Estimates Versus Large Environmental Effects: The IQ Paradox Resolved," *Psychological Review*, 108: 346–369.
5. Downes, S.M., 2010. "Moving past the levels of selection debates: Review of Samir Okasha, *Evolution and the Levels of Selection*, Oxford, Oxford University Press (2006)," *Biology and Philosophy*, 25: 417–423.
6. Dupré, J., 2013. *Processes of Life*, Oxford: Oxford University Press.
7. Earnshaw-White, E., 2012. "Increasingly Radical Claims about Heredity and Fitness," *Philosophy of Science*, 79: 396–412.
8. Feldman, M. W., 1992. "Heritability: Some Theoretical Ambiguities," *Keywords in Evolutionary Biology*, E. A. Lloyd and E. Fox Keller (eds.), Cambridge, Harvard University Press, 151–157.
9. Freeman, S. and J. C. Herron, 1998. *Evolutionary Analysis*, Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall.
10. Futuyma, D., 1998. *Evolutionary Biology*, Sunderland, MA: Sinauer.
11. Gould, S. J., 1996 [1981]. *The Mismeasure of Man*, New York: W.W. Norton.
12. Griesemer, J. R., 1994. "Tools for Talking: Human nature, Weismannism, and the interpretation of genetic information," *Are Genes Us? The Social Consequences of the New Genetics*, C. F. Cranor (ed.), New Brunswick: Rutgers University Press.
13. Hamer, D. and P. Copeland, 1998. *Living with Our Genes*, New York: Doubleday.
14. Herrnstein, R. J. and C. Murray, 1994. *The Bell Curve*, New York: Free Press.
15. Hitchcock, C. (ed.), 2004. *Contemporary Debates in the Philosophy of Science*, Oxford: Blackwell.
16. Hogben, L., 1933. *Nature and Nurture*, New York: W.W. Norton.
17. Hull, D.L., 1981. "Units of Evolution: A metaphysical essay," *The Philosophy of Evolution*, R.Jensen and R.Harre (eds.), Brighton: Harvester.
18. Kaplan, J., 2000. *The Limits and Lies of Human Genetic Research*, London: Routledge.
19. Keller, E.F., 2000. "Decoding the Genetic Program: Or, some circular logic in the logic of circularity," *The Concept of the Gene in Development and Evolution*, P. J. Beurton, R. Falk and H. Rheinberger (eds.), Cambridge: Cambridge University Press: 159–177.
20. ——, 2002. *The Century of the Gene*, Cambridge, MA: Harvard University Press.
21. Kempthorne, O., 1978. "Logical, Epistemological and Statistical Aspects of Nature Nurture Data Interpretation," *Biometrics*, 34: 1–23.
22. Kitcher, P., 1985. *Vaulting Ambition: Sociobiology and the Quest for Human Nature*, Cambridge, MA: MIT Press.
23. Kronfeldner, M., 2018. *What's Left of Human Nature*, Cambridge, MA: MIT Press.
24. Layzer, D., 1974. "Heritability Analyses of IQ Scores: Science or Numerology?" *Science*, 183: 1259–1266.
25. Lewontin, R., 1974. "The analysis of variance and the analysis of causes," *American Journal of Human Genetics*, 26: 400–411.

26. Lewontin, R. C., 2006. "Commentary: Statistical Analysis or Biological Analysis as Tools for Understanding Biological Causes." *International Journal of Epidemiology*, 35: 536–37.

27. Lynch, M. and B. Walsh, 1998. *Genetics and Analysis of Quantitative Traits*, Sunderland, MA: Sinauer.

28. Maher, B., 2008. "The case of the missing heritability," *Nature*, 456: 18–21.

29. Matthews, L. and Turkheimer, E., forthcoming. "Across the great divide: pluralism and the hunt for missing heritability," *Synthese*, first online 10 December 2019; doi: 10.1007/s11229-019-02205-w

30. Moss, L., 2003. *What Genes Can't Do*, Cambridge, MA: MIT Press.

31. Northcott, R., 2006. "Causal efficacy and the analysis of variance," *Biology and Philosophy*, 21: 253–276.

32. Odling-Smee, F. J., K. N. Laland, *et al*., 2003. *Niche Construction: The neglected process in evolution*, Princeton: Princeton University Press.

33. Oftedal, G., 2005. "Heritability and Genetic Causation," *Philosophy of Science*, 72: 699–709.

34. Okasha, S., 2006. *Evolution and the Levels of Selection*, Oxford: Oxford University Press.

35. Panofsky, A., 2014. *Misbehaving Science: Controversy and the development of behavior genetics*, Chicago: University of Chicago Press.

36. Paul, D. B., 1998. *The Politics of Heredity*, Albany: SUNY Press.

37. Pearl, J. and MacKenzie, D., 2018. *The Book of Why*, New York, NY: Basic Books.

38. Pearson, C., 2007. "Is heritability explanatorily useful?" *Studies in History and Philosophy of Biological and Biomedical Sciences*, 38: 270–288.

39. Pigliucci, M., 2001. *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*, Baltimore: Johns Hopkins University Press.

40. Plomin, R.,2018. *Blueprint: How DNA makes us who we are*, Cambridge, MA: MIT Press.

41. Plomin, R., J. C. DeFries, et al., 1990. *Behavioral Genetics: A Primer*, New York: W.H.Freeman.

42. Plomin, R., J. C. DeFries, et al., 1997. *Behavioral Genetics*, New York: W.H. Freeman.

43. Plomin, R. and von Stumm, 2018. "The new genetics of intelligence," *Nature Reviews. Genetics*, 19: 148–159.

44. Rice, S., 2004. *Evolutionary Theory: Mathematical and Conceptual Foundations*, Sunderland, MA: Sinauer.

45. Robinson, M. R., Wray, N. R., Visscher, P. M., 2014. "Explaining additional genetic variation in complex traits," *Trends in Genetics*, 30: 124–132.

46. Sarkar, S., 1996. "Biological Information: A skeptical look at some central dogmas of molecular biology," *The Philosophy and History of Molecular Biology: New Perspectives*, S.Sarkar (ed.), Dordrecht: Kluwer, 187–231.

47. ——, 1998. *Genetics and Reductionism*, Cambridge: Cambridge University Press.

48. Segerstråle, U., 2000. *Defenders of the Truth: The Battle for Science in the Sociology Debate and Beyond*, Oxford: Oxford University Press.

49. Sesardic, N., 1993. "Heritability and Causation," *Philosophy of Science*, 60: 396–418.

50. ——, 2005. *Making Sense of Heritability*, Cambridge: Cambridge University Press.

51. Shaffner, K., 2016. *Behaving: What's genetic, what's not, and why should we care?* New York, NY: Oxford University P ress.

52. Sober, E., 1988. "Apportioning Causal Responsibility," *Journal of Philosophy*, 85: 303–318.

53. ——, 2008. *Evidence and Evolution: The logic behind the science*, Cambridge: Cambridge University Press.

54. Tabery, J., 2006, "Fueling the (In)Famous Fire," (A Review of *Making Sense of Heritability*, by Neven Sesardic, 2005), *Metascience*, 15(3): 605–609.

55. ——, 2009a, "Interactive Predispositions," *Philosophy of Science*, 76: 876–888.

56. ——, 2009b, "Making Sense of the Nature-Nurture Debate" (Review of Neven Sesardic, *Making Sense of Heritability*), *Biology and Philosophy*, 24: 711–723.

57. ——, 2014. *Beyond Versus: The Struggle to Understand the Interaction of Nature and Nurture*, Cambridge, MA: MIT Press.

58. Tal, O., 2009, "From Heritability to Probability," *Biology and Philosophy*, 24: 81–105.

59. ——, 2011, "The impact of gene-environment interaction and correlation on the interpretation of heritability," *Acta Biotheoretica*, 60: 225–237.

60. Taylor, P., 2014, *Nature-Nurture? No: Moving the Sciences of Variation and Heredity Beyond the Gaps*, Arlington, MA: The Pumping Station.

61. Turkheimer, E., 2011, "Still Missing," *Research in Human Development*, 8: 227–241.

62. ——, 2012, "Genome Wide Association Studies of Behavior are Social Science," *Philosophy of Behavioral Biology* (Boston Studies in the Philosophy of Science: 282), K. Plaisance and T. Reydon (eds.), Dordrect: Springer, 43–63.

63. Visscher, P.M., Hill, W.G. and Wray, Naomi. R., 2008. "Heritability in the genomics era: concepts and misconceptions," *Nature Reviews Genetics*, 9: 255–266.

64. Wade, M. J., 1992. "Heritability: Historical Perspectives," *Keywords in Evolutionary Biology*, E. A. Lloyd and E. Fox Keller (eds.), Cambridge, MA: Harvard University Press, 149–150.

65. Wahlsten, D., 1990. "Insensitivity of the analysis of variance to heredity-environment interaction," *Behavioral and Brain Sciences*, 13: 109–120.

66. Wahlsten, D., and Gottlieb, G., 1997. "The invalid separation of effects of nature and nurture: Lessons from animal experimentation," in R. J. Sternberg and E. L. Grigorenko (eds.), *Intelligence, Heredity and Environment*, Cambridge: Cambridge University Press, 163–192.

67. Weedon M.N. and Frayling, T.N., 2008. "Reaching new heights: insights into the genetics of human stature," *Trends in Genetics*, 24: 595–603.

68. West-Eberhard, M. J., 2003. *Developmental Plasticity and Evolution*, Oxford: Oxford University Press.

69. Williams, G. C., 1966. *Adaptation and Natural Selection*, Princeton: Princeton University Press.

70. ——, 1992. *Natural Selection: Domains, Levels and Challenges*, New York: Oxford University Press.

71. Winther, R., 2000. "Darwin on Variation and Heredity," *Journal of the History of Biology*, 33: 425–455.

72. ——, 2001. "August Weismann on Germ-Plasm Variation," *Journal of the History of Biology*, 34: 517–555.

73. Yang, J. et al., 2015. "Genetic variance estimation with imputed variants finds negligible missing heritability for human height and body mass index," *Nature Genetics*, 47: 1114–1120.

74. Yang, J., Visscher, P.M. et al., 2010. "Common SNPs explain a large proportion of the heritability for human height," *Nature Genetics*, 42: 565–569.

Genes from The Junkyard

Levy A.

Nature, Vol5.74, 17, 314, October 2019

ژنهایی از پستوخانه

نازنین عندلیب*

تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی

دانشمندان سال‌ها فکر می‌کردند، ژن‌های جدید بر اثر تکامل و سرهم‌بندی ژن‌های قدیمی ظاهر می‌شوند. اما معلوم شده است که انتخاب طبیعی بسیار خلاقانه‌تر عمل می‌کند. آدام لِوی (Adam Levy)

چکیده

بر خلاف دیدگاه کلاسیک که ژنهای جدید صرفاً از ژنهای قبلی تکامل می‌یابند، کشفیات جدید نشان می‌دهد که منبع ژنهای جدید می‌تواند به شکل *De novo* از توالی های غیررمزگذار هم به وجود آیند. برآوردها نشان می‌دهند که حدود ۱۰ درصد ژنها از طریق *De novo* ساخته می‌شوند. این یافته‌ها دیدگاه مرسوم تکامل ژنها را توسعه می‌بخشد و نشان می‌دهد که تشکیل ژنهای جدید در طول تکامل انعطاف‌پذیرتر از آن است که قبلاً تصور می‌شد. اینکه ژنهای جدید می‌توانند از توالی‌های تکراری، زمانی موسوم به Junk DNA پدید آیند نقش تازه‌ای برای این توالی‌های غیررمزگذار تأیید می‌کند. ایجاد ژنهای جدید از این راه گویی موجودات حامل آنها را برای سازگاری با محیط کارآتر می‌سازد و نشان می‌دهد که ژنگان موجودات تا چه اندازه پویاست.

کلیدواژگان: DNA آشغال، تکامل ژنها، ژنهای ازنو

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: Andalib2727@ut.ac.ir

در اوج زمستان، دمای آب در اقیانوس منجمدشمالی پوشیده از یخ به زیر صفر درجه می‌رسد. این دما، به اندازه کافی برای یخ‌زدن اکثر ماهی‌ها کافی است، اما در روغن‌ماهی (Codfish) این اتفاق نمی‌افتد. یک پروتئین ویژه در خون و بافت‌های این نوع از ماهی‌ها، با پیوستن به بلورهای کوچک یخ، رشد آن‌ها را متوقف می‌کند.

خصوصیت روغن‌ماهی یک معما بود تا اینکه هله تسندبالسرود (Helle Tessand Baalsurd)، زیست‌شناس تکاملی درصدد حل آن برآمد. بالسرود و همکارانش در دانشگاه اسلوو (Oslo) در مورد ژنگان روغن‌ماهی‌اطلسی (*Gadus morhua*) و نزدیک‌ترین خویشاوند آن‌ها مطالعه کردند تا بتوانند ژن‌های ضدیخ‌زدگی را ردیابی کنند. هیچ نتیجه‌ای به‌دست نیامد. بالسرود، کسی که اولین بار این موضوع را مطالعه کرد، نگران بود که شاید کمبود خواب وی در ایامی که مادر شده بود باعث شد که خیلی از بدیهیات را از دست داده باشد.

سپس او در اثر مطالعاتی که انجام داد به این نتیجه رسید که ژن‌ها همیشه از ژن‌های موجود، تکامل یافته و این همان موردی است که زیست‌شناسان مدت‌ها تصورمی‌کردند. در عوض، برخی ژن‌ها از گستره‌ی ژنگان که رمزگذار مولکول‌های عملکردی نیستند، ساخته شده‌اند. زمانی‌که او دوباره ژنگان ماهی را مطالعه کرد به نکات [جالبی] دست‌یافت: ظاهراً پروتئین ضدیخ‌زدگی که برای بقای روغن‌ماهی ضروری است از حذف‌شدن ایجاد شد (۱). در این مرحله سایر محققین هم به نتیجه‌ی مشابه دست‌یافتند (۲).

روغن‌ماهی یک مشارکت خوبی ایجاد کرد. در پنج سال گذشته، محققان نشانه‌های زیادی از ژن‌های جدید ازنو (*De novo*) را در دودمان‌های مختلف که شامل موجودات الگو مانند مگس‌میوه، موش، گیاهان زراعی مهم و انسان بود را بررسی کردند. بعضی از این ژن‌ها در مغز، بافت بیضه و بعضی دیگر در سرطان‌های مختلف بیان می‌شوند.

ژن‌های ازنو (*de novo*) حتی باعث تجدیدنظر در برخی بخش‌های نظریه تکامل شدند. به‌صورت مرسوم نظر براین

بود که ژن‌های جدید به‌صورت تصادفی از ژن‌های موجود بر اثر مضاعف‌شدن، ترکیب و یا شکستن از یکدیگر ایجاد می‌شوند، اما اکنون بعضی از محققین تصور می‌کنند، ژن‌های ازنو می‌توانند تا حدودی متداول باشند: مطالعات نشان داد، حداقل یک دهم از ژن‌ها به‌طریق ازنو ساخته می‌شوند و مطالعات دیگر نشان داد، ایجاد ژن‌های ازنو بیشتر از ژن‌هایی است که از طریق مضاعف‌شدن ایجاد می‌شوند. ایجاد [ژن ازنو] مرزهای ساخت یک ژن را از بین برد و نشان دادکه ماده اولیه برخی ژن‌های جدید در DNA غیررمزگذار وجود دارد (Birth of a gene).

یونگ ژانگ (Yong Zhang) محقق در زمینه ژنتیک در مؤسسه جانورشناسی آکادمی علوم چین در پکن (Beijing) و کسی که نقش ژن‌های از نو را در مغز انسان مطالعه کرده است می‌گوید: توانایی موجودات برای به‌دست‌آوردن ژن‌های جدید از طریق از نو گواه "انعطاف‌پذیری تکامل برای ساختن موارد به ظاهر غیرممکن را ممکن کرد".

اما محققان هنوز نتوانسته‌اند چگونگی ایجاد قطعی ژن از طریق از نو را شناسایی کنند و هنوز پرسش‌هایی در مورد چگونگی و پیدایش چندباره ایجاد این ژن‌ها باقی‌مانده است. درحال‌حاضر، دانشمندان تعجب می‌کنند زمانی‌که مواد اکثر ژن‌ها از قبل وجود دارد، چرا تکامل منجربه ایجاد مشکل در ساخت ژن‌ها از طریق حذف‌کردن (scratch) می‌شود. چنین سئوالات پایه‌ای نشان می‌دهد که چقدر در زمینه‌ی این رشته بی‌تجربه هستیم. بالسرود می‌گوید: "شما لازم نیست به‌سال‌های قبلی که تکامل ژن‌ها از طریق ازنو وجود داشت برگردید"

افزوده‌های جدید

پیش از دهه‌ی ۱۹۷۰، متخصصان ژنتیک، تکامل را یک روند کاملاً محافظه‌کارانه می‌دانستند. سوسومی اوهنو (Susumu Ohno) می‌گوید: "به معنای دقیق هیچ‌چیز در تکامل ازنو ایجاد نمی‌شود و هر ژن جدید باید از ژن‌های موجود ساخته شود" و فرضیه‌ای را مطرح کرد که اکثر ژن‌ها به‌روش مضاعف‌شدن تکامل می‌یابند (۳).

مضاعف‌شدن ژن‌ها زمانی اتفاق می‌افتد که اشتباه در روند همتاسازی DNA منجربه ایجاد چندین نمونه از ژن شود. در نسل‌های مختلف نسخه‌ها دچار جهش و واگرایی (Diverge) شده، و در نهایت مولکول‌های مختلف رمزگذاری و هر کدام عملکرد خاص خود را نشان‌دادند. از دهه ۱۹۷۰، باتوجه به‌اینکه ژن‌های موجود می‌توانند شکسته و یا به‌صورت جانبی بین گونه‌ها منتقل شوند، محققان نمونه‌های دیگری از چگونگی اثر تکامل در بازسازی ژن‌ها پیداکردند. همه این فرآیندها مرسوم بود: ماده اصلی آن رمز موجود در ماشین مولکولی می‌باشد.

اما ژنگان‌ها فقط حاوی ژن‌ها نیستند: در حقیقت فقط درصد کمی از ژنگان انسان به‌طور مثال دارای ژن‌های رمزگذار می‌باشد. در کنار بخش‌هایی از DNA [که دارای ژن‌های رمزگذار است] به‌نظر بخش‌هایی مسموم به Junk DNA وجود دارد که فاقد هرگونه عملکرد است. برخی از این بخش‌ها بدون اینکه در واقع دارای ژن‌های رمزگذار باشد، دارای ویژگی‌های مشترکی با ژن‌های رمزگذار پروتئین هستند: به‌عنوان مثال این نواحی دارای کدون ۳ حرفی هستند که در سلول می‌تواند به پروتئین تبدیل شود.

دانشمندان در اوایل سدهٔ ۲۱ دریافتند، بخش‌های غیر رمزگذار DNA دارای رمزهای عملکردی برای پروتئین‌ها هستند. تعیین توالی ژنتیکی تا آن‌جا پیشرفت کرد که محققان توانستند کل ژنگان خویشاوندان نزدیک را با یکدیگر مقایسه کنند؛ شواهدی به‌دست آمد که ژن‌ها در طی تکامل به‌سرعت ازبین می‌روند و آیا ژن‌ها به همین سرعت نیز می‌توانند به‌وجودآیند یا خیر.

در سال ۲۰۰۶ و ۲۰۰۷، دیویدبیگن (David Begun)، متخصص ژنتیک تکامل در دانشگاه کالیفرنیا برای اولین بار مقاله‌ای در مورد ژن‌های ویژه ازنو به وجود آمده مگس میوه منتشر کرد (۴، ۵). مطالعات او نشان داد که این ژن‌ها بیشتر در ارتباط با تولیدمثل در مگس‌های نر بود. بیگن نشان داد [این ژن‌ها] در بیضه‌ها و غدد مایع نطفه ای[1] بیان شد و به‌نظر می‌رسد که نیروی تکامل در انتخاب جنسی و تولید ژن‌ها بسیار تعیین‌کننده بود.

اندکی قبل از آن، مارآلبا[2] متخصص ژنتیک تکاملی در مؤسسه تحقیقاتی پزشکی بیمارستان دلمار[3] در بارسلونا[4] اسپانیا[5] نشان‌داد هر چه ژن جدیدتر باشد از نظر تکامل سرعت رشد آن بیشتر است (۶).

[1] - Seminal fluid gland
[2] - Mar Alba
[3] - del Mar
[4] - Barcelona
[5] - Spain

او گمان کرد، چنین نتیجه‌ای به این دلیل باشد که مولکول‌های رمزگذاری شده توسط ژن‌های جوان کمتر اصلاح می‌شوند و نیاز به‌تنظیم بیشتری دارند و در نتیجه ژن‌های ازنو ایجاد و این ژن‌های ازنو عملکرد ژن‌های قدیمی را که از آن تکامل یافته‌اند را ندارند. آلبا و بیگن خاطرنشان کردند که انتشار کارهای اولیه آن‌ها در این زمینه چالش‌برانگیز بود. آلبا می‌گوید: "بدبینی بسیاری وجود داشت. شگفت‌آوراست که چگونه اوضاع تغییر کرده‌است".

مطالعات بسیاری برای شناخت ژن‌های ازنو انجام شده‌است. برای مثال ژنی در گیاه رشادی‌گوش‌موشی[1] یا *آرابیدوپسیس‌تالیانا*[2] نشاسته تولید و همچنین ژنی ازنو در مخمر به رشد سلول‌ها کمک می‌کند. درک آنچه که این ژن‌های ازنو برای میزبان خود انجام می‌دهند و این‌که چرا این ژن‌ها در اثر تکامل، از [ژن‌هایی که از] مواد موجود براثر حذف‌شدن ایجاد می‌شوند سودمندتر است، به ایجاد آن‌ها کمک می‌کند. بیگن می‌گوید: "اگر ما متوجه عملکرد ژن‌های ازنو نشویم، نمی‌توانیم عملکرد آن‌ها را درک کنیم".

ژنهای در نوبت

مطالعه ژن‌های ازنو در واقع مطالعه‌ی بخشی از ژنتیک و بخشی از یک آزمایش است. آن–روکساندرا کارونیس[3] در دانشگاه پیتسبورگ[4] پنسیلوانیا[5] می‌پرسد: "چرا رشته ما تا این اندازه دشوار است؟ به‌خاطر فلسفی بودن موضوع است". در قلب این سئوال، سئوالی وجود دارد که کارونیس یک دهه است می‌پرسد: ژن چیست؟

به بخشی از توالی DNA یا RNA ژن گفته می‌شود که یک مولکول عملکردی رمزگذاری کند. بااین‌حال، ژنگان مخمر دارای صدهاهزار توالی است که به‌صورت قالب خواندن باز[6] شناخته می‌شوند و از نظر تئوری می‌توانند به پروتئین‌ها ترجمه شوند، اما متخصصان ژنتیک تصور می‌کنند که این ژن‌ها یا خیلی کوتاه هستند و یا بسیار متفاوت از رمزهای شناخته‌شده برای موجودات مرتبط که بتوانند عملکردهای احتمالی داشته باشند.

زمانی‌که کارونیس برای پروژهٔ مقطع دکتری قالب‌های باز خواندن در مخمر را مطالعه کرد، شک کرد که همه‌ی این بخش‌ها غیرفعال باشند. در مطالعه‌ای (۷) که در سال ۲۰۱۲ منتشرشد، وی بررسی‌کرد که آیا این قالب‌های باز خواندن دقیقا مانند ژن‌ها به RNA رونویسی شده و آیا به پروتئین ترجمه می‌شوند یا خیر، اگرچه مشخص نیست که آیا این پروتئین‌ها برای مخمر مفید باشند و این‌که آیا این پروتئین‌ها در سطح کافی برای عملکرد ترجمه می‌شوند. کارونیس می‌گوید: "بنابراین ژن چیست؟ نمی‌دانم". اگرچه آنچه که او فکر می‌کرد بدان دست یافته "موادخام و مخزنی برای تکامل بود".

خیلی از این به‌اصطلاح ژن‌ها یا همان چیزی که کارونیس و همکارانش ژن‌های اولیه[7] نامیدند، توالی‌های بلند و دستورالعمل‌های لازم بسیاری برای تبدیل DNA به پروتئین را دارند و خیلی شبیه به ژن‌ها می‌باشند. ژن‌های اولیه می‌توانند یک زمینه‌ی آزمایش مناسبی در تکامل برای تبدیل مواد غیر رمزگذار به ژن‌های واقعی فراهم‌آورند. اوئیف مک لیزاگت[8] که در مورد تکامل مولکولی در کالج ترینیتی[9] دوبلین[10] کار می‌کند، پیشنهاد کرد: "این مانند راه‌اندازی محصول خود در نسخه بتا است[11]".

برخی از محققان فراتر از مشاهده به‌منظور بیان مواد غیر رمزگذار، موجودات را دست‌کاری کردند. مایکل ناپ[12] و همکارانش در دانشگاه اوپسالا[13]، سوئد[14] نشان‌دادند که، وارد کردن[15] و بیان تصادفی در *E.coli* قالب‌های باز خواندنی ایجاد می‌کند که می‌تواند مقاومت باکتری را در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها با ایجاد یک توالی که یک پپتید تولید می‌کند، ۴۸ برابر افزایش دهد (۸).

با استفاده از روشی مشابه، دیتارد تاوتز[16] و گروه او در مؤسسه زیست‌شناسی تکاملی ماکس‌پلانک[17] در پلوون[18] آلمان نشان دادند که نیمی از توالی‌ها رشد باکتری را کند و به‌نظر می‌رسد که یک چهارم آن رشد باکتری را سرعت

1 - Thala cress
2 - Arabidopsis thaliana
3 - Anne-Ruxandra Carvunis
4 - Pittsburgh
5 - Pennsylvania
6 - Open reading frames (ORFs)

7 - Proto-gene
8 - Aoife McLysaght
9 - Trinity
10 - Dublin
11 – عرضه آگاهانه یک محصول ناتمام با اشکالات شناخته‌شده و اشکالات ناشناخته برای کاربران
12 - Micheal Knopp
13 - Uppsala
14 - Sweden
15 - Insert
16 – Diethard Tautz
17 - Max Planck
18 - Plon

می‌بخشد (۹) که البته در مورد این نتایج بحث‌هایی وجود دارد. چنین مطالعاتی نشان می‌دهد که پپتیدهای حاصل از توالی‌های تصادفی می‌توانند به‌طرز شگفت‌انگیزی کارآیی و عملکرد داشته باشند.

جوآنا ماسال[1] زیست‌شناس تکاملی از دانشگاه آریزونا[2] در در توکسون[3] می‌گوید: اما توالی‌های تصادفی DNA می‌توانند برای پپتیدهایی که "واکنش‌پذیر، نامطلوب، مجتمع" و انجام کارهای نامناسب دارند، هم رمز داشته باشند. بیان این توالی‌ها در سطوح پایین می‌تواند به انتخاب طبیعی کمک کند تا بخش‌هایی را که احتمالاً مناسب نیستند و پروتئین‌هایی را که با تاخوردگی‌های نامناسب ایجاد می‌کنند از بین برده و بنابراین آنچه در یک گونه باقی‌می‌ماند نسبتاً بی‌خطر است.

آلبا می‌گوید: "ایجاد ژن از مناطق غیر رمزگذار می‌تواند مزایایی نسبت به سایر روش‌های تولید ژن داشته باشد که در تمام اجداد دیده می‌شوند؛ در مقابل، ژن‌های ازنو، مولکول‌های کاملاً متفاوتی تولید می‌کنند که قرار دادن آن‌ها را در شبکه‌های کاملاً تثبیت‌شده‌ی ژن‌ها و پروتئین‌ها دشوار می‌کند. اما این نوع از پروتئین‌ها همچنین می‌توانند برای برخی از کارهای جدید مناسب‌تر باشند. به‌عنوان مثال، یک ژن تازه ایجادشده می‌تواند به موجود کمک کند تا به تغییر شرایط محیط خود پاسخ دهد. این مورد در روغن‌ماهی دیدشده‌است. حدود ۱۵ میلیون سال پیش با خنک‌شدن نیمکره‌ی شمالی، پروتئین ضدیخی [در این نوع ماهی] ایجاد شد تا بتواند شرایط محیط را تحمل کند.

نرخ زایش

محققان به توالی‌های گسترده برای موجودات خویشاوند نزدیک نیاز دارند تا بتوانند ژن‌های ازنو موجودات را ردیابی کنند. یک نوع برنج از یکی از گیاهان زراعی در یک جزیره گرمسیری در جنوب چین در گرمای طاقت‌فرسای هانیای[4] با وجود شرایط بسیار دشوار، به‌خوبی رشد کرد. مانیدان لانگ[5] متخصص ژنتیک تکاملی از دانشگاه شیکاگو[6] ایلینویز[7] می‌گوید: "این وحشتناک و خیلی گرم است. شما می‌توانید تخم‌مرغ خود را در شن بپزید".

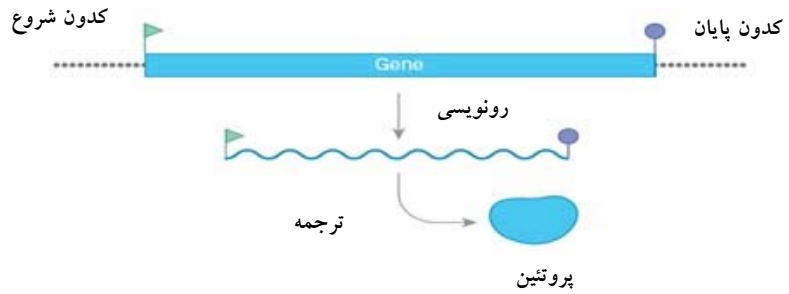
گروه لانگ می‌خواستند بدانند که چه تعداد ژن ازنو در سویه برنج‌دانه (*اوریزا ساتیوا*[8]) به‌وجودآمده‌است و این ژن‌ها چه پروتئین‌هایی را می‌توانند تولیدکنند. بنابراین گروه او ژنگان آن‌ها را براساس خویشاوندی گروه‌بندی کردند و با استفاده از یک برنامه، مناطقی که حاوی ژن در اکثر گونه‌ها بود و همچنین مناطقی که حاوی ژن‌هایی بود که در برخی وجود نداشت را انتخاب کردند. این فرصتی فراهم کرد تا محققان DNA غیر رمزگذاری را که ژن مورد نظر از آن ایجاد شده شناسایی کنند و مسیر حرکت آن‌ها را به‌عنوان یک ژن پی‌گیری نمایند. آن‌ها همچنین مجموع تعداد ژن‌های ازنو را که در سویه ظاهر شد را گزارش دادند، ۱۷۵ ژن در طی ۳/۴ میلیون سال تکامل (۱۰)، (در همان زمان، ۸ برابر ژن‌های حاصل از مضاعف‌شدن).

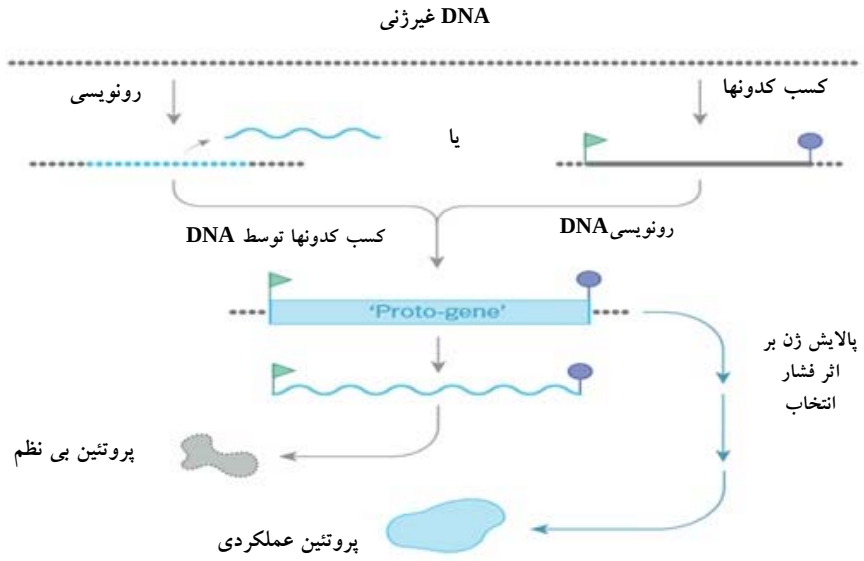
این مطالعه یکی از بزرگ‌ترین مشغله‌های این رشته است: چگونه یک ژن ازنو را واقعاً تشخیص دهیم. پاسخ‌ها بسیار متفاوت و رویکردها در حال پیشرفت است. به‌عنوان مثال در مطالعه اولیه ۱۵ ژن ازنو را در کل پستانداران کشف کردند (۱۱)؛ در تلاش‌های بعدی فقط ۶۰ مورد را در انسان شناسایی کردند (۱۲). یک گزینه برای یافتن ژن‌های ازنو، به‌کار بردن برنامه‌ای برای جستجوی ژن‌های مشابه در گونه‌های خویشاوند است. اگر ژنی مشخص نشد، ممکن است به‌روش ازنو ایجاد شده باشد. اما عدم یافتن خویشاوندی به‌معنای نبودن هیچ‌گونه خویشاوندی نیست. ژن ممکن است در طول مسیر ازبین‌رفته و یا شکل آن بسیار دورتر از خویشاوند خود باشد. مطالعه برنج با شناسایی اکید قطعات DNA غیر رمزگذار که به ژن‌های ازنو تبدیل شدند، این موضوع را تحقق بخشید.

در طول سال‌های تکامل –چندین سال قبل از میلیون‌ها سال تکامل برنج– تشخیص بین یک ژن ازنو و ژنی که به‌سادگی از نیاکانش جدا شده بسیار دشوار بود، تاویز می‌گوید: بنابراین تعیین تعداد مطلق ژن‌هایی که ازنو ایجاد شده‌اند از ژن‌هایی که از مضاعف شدن به‌وجودآمده‌اند "یک سئوال تقریباً غیر قابل پاسخ است".

[1] - Joanna Masal
[2] - Arizona
[3] - Tucson
[4] - Hainan
[5] - Manyuan Long
[6] - Chicago
[7] - Illinois

[8] - *Oryza sativa japonica*





کلودیو کازیلا[1]، متخصص ژنتیک تکاملی در دانشگاه A&M تگزاس[2] در کالج استیشن[3]، برای نشان دادن میزان تنوع نتایج مختلف، از روش‌های جایگزین برای تجزیه و تحلیل دوباره‌ی نتایج مطالعات قبلی استفاده کرد و ۴۰٪ از ژن‌های پیشنهادی از راه ازنو تأیید نشدند (۱۳). از نظر کازیلا، این نشان‌دهنده‌ی نیاز به استانداردسازی آزمون است. درحال‌حاضر او می‌گوید: "به‌نظر می‌رسد کار بسیار دشوار باشد". شمارش ژن‌های ازنو در ژنگان انسانی هم با همان تبعات جدی همراه است. با شناسایی ژن‌های ازنو، محققان می‌توانند به‌مطالعه‌ی نقش آن‌ها در سلامتی و بیماری بپردازند.

ژانگ و همکاران دریافتند که یک ژن منحصربه‌فرد در مغز افراد مبتلا به بیماری آلزایمر (Alzheimer) در سطح بالایی بیان می‌شود (۱۴) و مطالعات پیشین (۱۵) نسخه‌های خاصی از این ژن را وابسته به نیکوتین معرفی کرد. از نظر ژانگ، تحقیقات در مورد ژن‌های ازنو مرتبط با مغز انسان بسیار دلهره‌آور است. او می‌گوید: "ما می‌دانیم که آن‌چه ما را انسان ساخته، مغز ماست".

بنابراین برای هموارشدن راه در مطالعات آینده، پیشنهاد می‌کند که باید از کیت‌های ژنتیکی برای مطالعه تکامل مغز استفاده شود. ژانگ همچنین پیشنهاد می‌کند، محققان می‌توانند با استفاده از کیت‌های ژنتیکی و به روش آزمایش ارگانوئیدهای (سلول‌های کشت‌شده که به‌عنوان یک اندام مدل استفاده می‌شود) انسان بررسی را انجام دهند.

[1] - Claudio Casola
[2] - Texas
[3] - Station

از ژن‌های ازنو می‌توان برای درک بهتر سرطان نیز استفاده کرد. یکی از این ژن‌ها که در انسان و شامپانزه‌ها وجود دارد، با مدل‌های موشی پیشرفت سرطان نوروبلاستوما رابطه دارد (۱۶). یک نوع از سرطان انسانی که به‌وسیله ویروس پاپیلوما (Papillomavirus) ایجاد می‌شود شامل ژنی است که در شکل‌های غیر سرطانی دیده نمی‌شود (۱۷).

خصوصیات بسیاری از ژن‌های ازنو مشخص نشده، بنابراین اهمیت بالقوه این [ژن‌ها] در فرآیند سلامت و بیماری مشخص نیست. کارونیس می‌گوید: "مدتی طول خواهد کشید تا بفهمیم که [این ژن‌ها] تا چه اندازه به سلامت انسان و همچنین تا چه اندازه به منشأ گونه انسان کمک می‌کند".

اگرچه ژن‌های ازنو به‌صورت معما باقی‌مانده، اما وجود آن‌ها یک چیز را روشن می‌کند: تکامل می‌تواند به‌راحتی چیزی را از هیچ پدید آورد. کازیلا می‌گوید: "یکی از زیبایی‌های کار با ژن‌های ازنو، این است که نشان می‌دهد ژنگان تا چه اندازه پویا است".

تولد یک ژن

دانشمندان مدت‌ها تصور می‌کردند که تکامل ژن‌های جدید به‌روش کپی‌برداری اشتباه، باهم آمیختن و یا جداشدن از ژن‌های موجود انجام می‌شود. اکنون نمونه‌های بسیاری نشان می‌دهد که ژن‌ها به‌صورت ازنو از بخش‌های غیر رمزگذار ژنگان نیز ایجاد می‌شوند.

ژنها چطور کار می کنند

بخشی از DNA که دارای رمز برای مولکول‌های مفید است، ژن‌گفته می‌شود. برای تولید پروتئین، DNA به‌صورت RNA رونویسی و سپس به پروتئین ترجمه می‌شود. توالی سه حرفی به‌نام کدون‌ها (رمزه‌ها) تعیین‌کننده‌ی بخشی از RNA هستند که ترجمه می‌شوند.

ساختن یک ژن از طریق ازنو

ژن‌ها می‌توانند به‌روش رونویسی کدون‌های موجود در بخش غیر رمزگذار DNA به‌همان ترتیب گفته‌شده تکامل یابند. در ابتدا محصول این ژن‌های اولیه ممکن است ناکارآمد و ناقص باشند.

منابع

1- Baalsrud, H. T. et al. Mol. Biol. Evol. 35, 593–606 (2018).

2- Zhuang, X. Creating sense from non-sense DNA: de novo genesis and evolutionary history of antifreeze glycoprotein gene in northern codfishes (gadidae). PhD thesis, Univ. Illinois Urbana-Champaign (2014).

3- Ohno, S. Evolution by Gene Duplication (Springer, 1970).

4- Begun, D. J., Lindfors, H. A., Thompson, M. E. & Holloway, A. K. Genetics 172, 1675–1681 (2006).

5- Begun, D. J., Lindfors, H. A., Kern, A. D. & Jones, C. D. Genetics 176, 1131–1137 (2007).

6- Albà, M. M. & Castresana, J. Mol. Biol. Evol. 22, 598–606 (2005).

7- Carvunis, A.-R. et al. Nature 487, 370–374 (2012).

8- Knopp, M. et al. mBio 10, e00837-19 (2019).

9- Neme, R., Amador, C., Yildirim, B., McConnell, E. & Tautz, D. Nature Eco. Evol. 1, 0127 (2017).

10- Zhang, L. et al. Nature Ecol. Evol. 3, 679–690 (2019).

11- Toll-Riera, M. et al. Mol. Biol. Evol. 26, 603–612 (2009).

12- Wu, D.-D., Irwin, D. M. & Zhang, Y.-P PLoS Genet. 7, e1002379 (2011).

13- Casola, C. Genome Biol. Evol. 10, 2906–2918 (2018).

14- Li, C.-Y. et al. PLoS Comput. Biol. 6, e1000734 (2010).

15- Wang, D., Ma, J. Z. & Li, M. D. Pharmacogenomics J. 5, 166–172 (2005).

16- Suenaga, Y. et al. PLoS Genet. 10, e1003996 (2014).

17- Willemsen, A., Félez-Sánchez, M. & Bravo, I. G. Genome Biol. Evol. 11, 1602–1617 (2019).

Closing on a complete human genome

Michael Eisenstein

Nature, Vol 590, 25 February 2021

بستن ژنگان کامل انسان

پیشرفت در زمینهٔ فناوری توالی‌یابی به‌معنی این است که دانشمندان در آستانه دستیابی به نقشهٔ کامل ژنگان انسان هستند.

نازنین عندلیب*

تهران، دانشگاه تهران، پردیس علوم، دانشکده زیست شناسی

چکیده

با توپوگرافی پیچیده و متنوع ژن‌ها و توالی‌های تنظیم‌کننده، ژنگان انسان اغلب به یک منظره تشبیه می‌شود. اما از بسیاری از جهات، ژنگان نه به یک منظرهٔ چشم‌نواز بلکه شبیه به یک بزرگراه بیابانی با وسعت و تکرار زیاد است.

کلیدواژگان: ژنگان کامل، ژنگان انسان

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: Andalib2727@ut.ac.ir

سانترومر کروموزوم را در نظر بگیرید که دو بازوی پُر از ژن‌ها به‌هم می‌پیوندد. سانترومر شامل هزاران توالی α-Satellite تقریباً یکسان است – واحدهای ۱۷۱ جفت بازی که به‌گونه‌ای سازماندهی شده‌اند که از پایداری کروموزوم‌ها و تقسیم سلولی مطمئن شود. دو دهه پس از انتشار پیش‌نویس ژنگان انسان، این ویژگی‌ها و سایر ویژگی‌های چالش‌برانگیز DNA به‌عنوان نقاط ناشناخته در اطلس کروموزومی ما همچنان توالی‌یابی نشده باقی‌مانده بود. تا همین چندسال پیش، برخی از محققان از یافتن آن‌ها ناامید بودند.

بت سالیوان[1]، محقق سانترومر در دانشگاه دوک[2] در دورهام[3]، کارولینای شمالی[4]، در سال ۲۰۱۴ در گفتگویی با کارن میگا[5]، محقق ژنگان در دانشگاه کالیفرنیا[6]، سانتاکروز[7] چنین نقل می‌کند:

"اگر اتفاق جدی در فن‌آوری رخ ندهد، مدت زمان زیادی در این نقطه خواهیم بود". اما آن اتفاق افتاد: و آن توسعه روش‌های توالی‌یابی که می‌توانند بخش‌های طولانی از DNA را بدون وقفه بخوانند، اکنون میگا و همکارانش در انجمن تلومرتاتلومر (T2T)[8]، آماده‌اند تا ادیسه ۲۰ ساله را که با انتشار اولین توالی پیش‌نویس آغاز شد، به‌پایان رسانند. هدف آن‌ها تولید نقشه ژنگان برای هر کروموزوم است که توالی آن را از انتها یک تلومر (عناصر با توالی تکراری در دو انتهای کروموزوم‌ها) تا تلومر دیگر مشخص شود. میگا می‌گوید: "انجام این‌کار، فقط با هدف انجام دادن آن نبود، بلکه من فکر می‌کنم یک زیست‌شناسی بسیار جالب در آن‌جا وجود دارد". اما برای یافتن آن، باید دنیای ژنگانی را توالی‌یابی کرد، که با به‌معرض گذاشتن کامل این مناطق ژنگانی، که هنوز درک چندانی از آن وجود ندارد.

گیر افتادن در میانهٔ کروموزوم‌ها

انتشار اولین پیش‌نویس ژنگان انسان در ۲۰ سال قبل در چنین ماهی (۱)، یک موفقیت بزرگ بود. اما نقاط ابهام بسیاری وجود داشت. دانشمندان برنامه ژنگان انسان، تعداد زیادی توالی کوتاه DNA کروموزومی به‌دست آوردند که این توالی‌ها با توالی‌های همسایه همپوشانی داشته و به‌صورت توالی‌های بزرگ‌تر Contig ها گردهم‌آوری شد. در حالت ایده‌آل، هر کروموزوم به‌صورت یک واحدcontig نمایش داده می‌شود، اما اولین پیش‌نویس شامل ۱۲۴۶ قطعه بود.

از آن زمان به‌بعد، دانشمندانی که به‌عنوان بخشی از انجمن مرجع ژنگان[9] کار می‌کنند، اجتماعی تشکیل دادند که در

[1] -Bet Sullivan
[2] - Duke
[3] -Durham
[4] -North Carolina
[5] -Karen Miga
[6] -California
[7] -Santa Cruz
[8] - Telomere to Telomere

[9] -Genome Reference Consortium (GRC)

این اجتماع بر گردهم‌آوری و بررسی [توالی‌ها] پرداخته و قطعات اشتباه و با اطلاعات ناکافی را با استفاده از تجزیه و تحلیل توالی‌ها شناسایی کردند. جدیدترین نسخه از ژنگان انسان در سال ۲۰۱۳ به نام GRCh38 منتشر شد و از آن به بعد به‌صورت مکرر قسمت‌هایی به‌آن اضافه‌شده‌است. اما هنوز ۱۰-۵٪ از ژنگان که شامل سانترومرها، مجموعه بزرگی از ژن‌های رمزگذار توالی‌های RNA که پروتئین‌های اندامک‌ها را تولید می‌کنند و در ریبوزوم‌ها وجود دارند ناشناخته باقی‌مانده است.

این مجموعه در نسخه‌های طولانی و تکراری ژن‌ها وجود دارند. آدم فیلیپی[1] که در زمینه بیوانفورماتیک در مؤسسه تحقیقاتی ملی ژنگان انسان در بتسدا[2]، مریلند[3] در آمریکا به‌صورت مشترک با انجمن T2T کار می‌کند، می‌گوید: "هنوز هم بخش بزرگی از شکاف‌ها بسته نشده‌است و از طرفی طراحی نقشه ژنگان به‌دلیل حضور مکرر قطعات DNA تقریباً یکسانی که قطعات تکراری نامیده می‌شوند و محصول نوآرایی‌های قدیمی کروموزومی است به‌سختی انجام می‌شود".

این بخش‌های چالش‌برانگیز تلاش در جهت گردهماوری ژنگان را دچار اشکال می‌کند. به همین دلیل اکثر توالی‌یابی‌ها با روش‌های خوانش کوتاه انجام شد. [یکی از این روش‌ها] برنامه‌ای است که توسط شرکت زیست‌فن‌آوری ایلومینا[4] در سان دیگو[5]، کالیفرنیا تجاری‌سازی شد.

کروموزوم های انسانی تصویربرداری شده با میکروسکوپ الکترونی

[1] -Adam Phillippy
[2] -Bethesda
[3] -Meryland
[4] -Illumina
[5] -San Diego

در توالی‌یابی به‌روش ایلومینا داده‌های دقیقی به‌دست می‌آید، اما به‌طور معمول [در این روش] فقط می‌توان توالی چندصد باز را همزمان می‌توان خواند و در نتیجه برای توالی‌های طولانی و توالی‌های مبهم مناسب نیست.کریستن هاو[6] که در زمینه زیست‌شناسی محاسباتی در مؤسسه ولکام سانگر[7] در هینکستون[8] انگلستان کار می‌کند، همچنین یکی از افراد انجمنGRC، می‌گوید: "گردهماوری ژن‌ها معمولاً آسان است، اما هرچیز دیگری که در فضای بین ژن‌ها قرار دارد و دارای تکرار زیاد باشد قابل گردهماوری نیست".

پُر کردن شکاف‌ها

با دو روش خوانش طولانی می‌توان به از بین رفتن این شکاف‌ها نزدیک شد. شرکت زیست‌فناوری پسفیک بیوساینس[9] در ملوپارک[10]کالیفرنیا از یک سیستم جالبی استفاده کرد. در این سیستم صدهاهزار و یا حتی میلیون‌ها رشته‌ی DNA موازی و هزارها باز به‌صورت مستقیم خوانش می‌شود. در روش دیگر که توسط شرکت انگلیسی اکسفورد نانوپور تکنولوژی[11] تجاری شد، در این روش رشته‌های نخ‌مانند DNA از میان پروتئین‌هایی با منافذ کوچک و یا در حد نانو عبور داده، خوانش ده‌ها تا صدهاهزار باز به‌وسیله اندازه‌گیری تغییرات نامحسوس جریان الکتریکی نوکلئوتیدهای عبور کرده از میان کانال پروتئینی انجام می‌شود.

وقتی‌که روش پسفیک بیوساینس در سال ۲۰۱۰ و روش اکسفورد نانوپور در سال ۲۰۱۴ برای اولین بار ارائه شدند، نسبت به روش ایلومینا که برای هرخوانش دقتی بیش از ۹۹٪ داشت، دارای خطا بودند. به‌طوری‌که فیلیپی می‌گوید: "نسبت خطا در روش خوانش پسفیک بیوساینس ۲۰-۱۵ درصد است".

توالی‌یاب‌های نانوحفره‌ای نسل اول، در خوانش بازها خطای بیشتر از ۳۰٪ نشان دادند. اما عملکرد آن‌ها به‌طور پیوسته پیشرفت کرد و به‌وسیله این روش‌ها می‌توان رشته‌هایی با طول بیشتر خوانده شود. فیلیپی می‌گوید: "۳ یا ۴ سال گذشت و اکنون می‌توانیم طول‌هایی بیشتر از ۱۰۰

[6] -Kerstin Howe
[7] -Wellcome Sanger
[8] -Hinxton
[9] -Pacific BioScience
[10] - MeloPark
[11] -Oxford Nanopore technology

کیلوباز را بخوانیم و این زمانی بود که من و کارن انجمن T2T را راه‌اندازی کرده بودیم".

این انجمن در اوایل سال ۲۰۱۹ تأسیس شد و هدف آن تولید کیفیت بالا و گردهماوری انتها تا انتهای هر کروموزوم انسانی بود. بیشتر از ۱۰۰ متخصص توالی‌یابی و ژنگانی از سراسر جهان ثبت‌نام کردند که بسیاری از این افراد کسانی بودند که قبلاً به‌صورت فعال در تجزیه و تحلیل خواندن بازها شرکت داشتند.

دو مقاله در مورد کار آنها در سال ۲۰۱۸ منتشر شد. در یکی (۲) از مقالات متولوز[1]، زیست‌شناس محاسباتی در دانشگاه ناتینگهام[2] انگلستان و همکاران اولین گردهم‌آوری کامل ژنگان انسانی را با استفاده از داده‌های روش اکسفورد نانوپور توصیف کردند. از داده‌های به‌دست آمده‌ی قبلی با خوانش طولانی روش ایلومینا برای اصلاح خطای خروجی داده‌های روش نانوپور استفاده شد. اما لوز و همکاران حدود ۹۰٪ برنامه GRCh38 را با دقت ۹۹/۸٪ فقط با استفاده از داده‌های روش نانوپور پوشش دادند و این در حالی‌بود که ده‌ها شکاف بزرگ در ژنگان مرجع وجود داشت.

در دومین مطالعه (۳)، مگان و گروه تحقیقاتی آن، سانترومر کروموزوم Y انسان را که کوچکترین کروموزوم است دوباره گردهماوری کردند. آن‌ها با توافق با یکدیگر توالی با کیفیت بالا را به‌وسیله‌ی تعداد زیادی خوانش طولانی در سراسر ناحیه ایجاد و به‌راحتی خطاهای تصادفی را شناسایی و حذف کردند. میگا می‌گوید: "در واقع ما می‌توانیم از تمام طول سانترومر عبور کنیم"، اما در آن جا مرحله هنوز کار خیلی سختی است- فقط به الگوها نگاه و آن‌ها را به‌هم وصل می‌کنیم".

اول تکمیل کار

چنین موقعیت‌هایی نشان داد که هدف T2T دست‌یافتنی است. برای ساده‌تر شدن کار، برروی رده‌ی سلولی CHM13 مشتق از تومور، با ژنگانی شامل دو مجموعهٔ کروموزومی یکسان، تمرکز شد. و به‌این ترتیب پیچیدگی ژنگان دیپلوئیدی شامل ژنگانهای متمایز والدی از بین رفت.

[1] -Mathew Loose
[2] -Nattingham

در اواخر سال ۲۰۲۰ اولین مجموعه کامل گردهماوری کروموزوم‌های X (۴) و ۸ (به‌عنوان پیش‌چاپ) (۵) منتشر شدند. برای توالی‌یابی قطعات دو کروموزوم که طول آن‌ها بیش از ۷۰۰۰۰ باز است، محققان روش اکسفورد نانوپور را که در هر خوانش بیش از یک میلیون باز را انجام می‌دهد به‌کارگرفتند.

فیلیپی می‌گوید: "با استفاده از این روش‌ها، امّا با دقت کمتر، ما قادر به نمایش ستون فقرهٔ اصلی کروموزوم‌ها از تلومر تا تلومر بودیم." سپس دانشمندان انجمن T2T داده‌های خوانش با روش‌های ایلیومینا[3] و پسفیک بیوساینس[4] را برای کامل کردن گردهم‌آوری استفاده کردند. کردند. گلینس لوگسدون[5]، دانشجوی پسا دکتری دانشگاه واشینگتن[6] در سیاتل[7] و اولین نویسنده مقاله در مورد کروموزوم ۸ می‌گوید که روش‌های متفاوت توالی‌یابی، تناقض‌های روشنی دارند. برای مثال، دانشمندان T2Tپی‌برده‌اند که با روش‌های شیمیایی پسفیک بیوساینس می‌توان مناطق غنی از بازهای گوانین ژنگان را بررسی کنند، در حالی‌که در روش نانوپور بعضی اوقات در تکرارهای طولانی از این نوکلئوتیدها خطا ایجاد می‌شود. لوگسدون می‌گوید: "اگر یک مجموعه از داده دارای نقصی باشد که با داده‌های مجموعه دیگر این نقص جبران شود، پس این دو روش به‌خوبی مکمل یکدیگر هستند".

تکمیل و بررسی نتایج به ابزارهای ویژه و توسعه یافته توسط محققان، از جمله فیلیپی و زیست‌شناس محاسباتی پاول پوزنر[8] در دانشگاه کالیفرنیا، سان‌دیگو نیاز دارد. این تیم عملکرد محتاطانه داشت. فیلیپی می‌گوید: "ما فقط قصد داشتیم که دو توالی با طول ۷۰۰۰ باز و ۱۰۰٪ یکسان را به‌هم به‌چسبانیم. به‌محض ورود خطا به مجموعه، رفع آن بسیار دشوار است". اما با احتیاط‌های لازم، امکان تولید مجموعه‌هایی با دقت ۹۹/۹۹٪ در سطح نوکلئوتید امکان‌پذیر شد.

کار اولیه کروموزوم X (۴)، از مطالعات پیشین سانترومر این کروموزوم که در سطح ساختاری به‌خوبی انجام شد، استفاده‌کردند. سالیوان[9] می‌گوید: "ما روش‌های مولکولی

[3] Illumina
[4] Pasific Biosiences
[5] -Glennis Logsdon
[6] -Washington
[7] -Seattle
[8] -Pavel Pevzner
[9] -Sullivan

متعددی به‌کار بردیم تا اطمینان حاصل شود که اندازه‌ی آرایه‌های α-satellite گردهم‌آوری شده با اطلاعات توالی‌یابی منطبق است. در مجموع، من با توجه به نتایج اعتبارسنجی انجام شده از مطالعه اول تحت تأثیر قرار گرفتم".

محققان همچنین با روش‌های نقشه‌برداری، مانند روشی که توسط شرکت زیست‌فن‌آوری بیونانوژنومیک[1] در سان‌دیگو سان‌دیگو کالیفرنیا ساخته‌شده، امکان اندازه‌گیری توالی‌های فاصله‌گذارDNA کروموزومی را فراهم‌آوردند.

تکمیل نشدن در راه است

با وجود موقعیت‌های به‌دست آمده، پیشنهاد انجمن T2T برای کروموزوم ۸ و X کاری دشوار و سخت بود. اما پیشرفت‌ها در این مدت تلاش‌های اعضای تیم را بی‌نتیجه نگذاشت.

ابزارهای پسفیک بیوساینس فرآیندی موسوم به توالی‌یابی مشترک حلقوی[2] را پشتیبانی کرده و در آن هر رشته از DNA به حلقه‌های بسته‌ای تبدیل می‌شود که بارها و بارها قابل خوانش هستند. با مقایسه این خوانش‌های مکرر، محققان می‌توانند خطاهای تصادفی را حذف کرده و در نتیجه نتایجی با دقت بسیار حاصل شود.

نسخه‌های اولیه CCS برپایه چند هزار باز بنا نهاده شد و به‌همین دلیل استفاده از این روش در گردهم‌آوری ژنگان محدود شد. اما در سال ۲۰۱۹، این شرکت روند جدیدی اتخاذ کرد (۶) که در آن نتایج دقیقی تولید شد؛ در حال حاضر خوانش‌هایی با بیش از ۲۰۰۰۰ باز و با دقت بیش‌از ۹۹٪ انجام می‌شود. پوزنر می‌گوید: "اکنون ما می‌توانیم اغلب سانترومرها را مطابق با خوانش درست گردهم‌آوری کرده و به هیچ کمک دیگری نیاز نیست". همچنین او اضافه می‌کند که الگوریتم‌های تنظیم‌شده‌ی خوبی مورد نیاز است که با چنین داده‌هایی کارکنند.

پوزنر بازسازی سانترومر را با درست کردن یک پازل آسمان آبی روشن مقایسه می‌کند که در آن تمام قطعات در ابتدا غیرقابل تشخیص هستند. او می‌گوید: "ابرهای نامرئی کمی درآن‌جا وجود دارند که می‌تواند قطعات مختلف پازل را از هم متمایز کند". یافتن این ابرها، ساختار پازل را نشان می‌دهد و از همین رویکرد برای گردهم‌آوری سانترومرها استفاده شد، تشخیص تفاوت نامحسوس توالی می‌تواند منجربه گردهم‌آوردن یک الگوریتم برجسته شود.

مجموعهٔ این رویکردها با خوانش طولانی نانوپور به‌طور مشخص سبب سرعت بخشیدن برنامه T2T شد. لوگسدون گزارش می‌دهد که خوانش طول صدهزار باز یک کار عادی است. فیلیپی می‌گوید: "انجام هریک از برنامه‌های کروموزوم X و ۸ یک سال بیشتر طول کشید. اما بعدازآن توانستیم تمام کروموزوم‌های باقی‌مانده را در مدت‌زمان دو ماه به‌پایان برسانیم. اکنون پایان روشنی دیده می‌شود". مگا می‌گوید: "ما آرایش سانترومری تمام کروموزوم‌ها به‌غیر از کروموزوم ۹ را به‌دست‌آوردیم". او می‌گوید، سانترومر این کروموزوم حجیم بوده و از ۲۷ میلیون باز تشکیل شده و یک چالش مهم در مورد این سانترومرایجادشده‌است. همچنین این گروه در حال کامل کردن ژن‌های تکراری RNA ریبوزومی هستند. اما انجمن در حال حاضر اطلاعات خود را در GitHub به‌اشتراک می‌گذارد، میگا پیش‌بینی می‌کند که انتشار کامل ژنگان رده سلولی CHM13 امسال تمام می‌شود.

در حال حاضر نتایج خوبی از داده‌ها به‌دست‌آمده است. لوگسدون و دیگران برای تعیین الگوهای اصلاح شیمیایی DNA که برعملکرد کروموزومی تأثیر می‌گذارد، توالی‌یابی نانوپور را به‌کاربردند. میگا می‌گوید: "اکثر سانترومرها متیله هستند اما این متیلاسیون به‌صورت یک شیب در تمام سانترومر دیده می‌شود". این شیب متیلاسیون به‌نظر می‌رسد که محل کینه‌تکور[3] را نشان می‌دهد. کینه‌تکور یک یک ساختار مهم سانترومری است که در تقسیم DNA در طول تقسیم سلولی نقش دارد. لوگسدون امیدوار است که با استفاده از این یافته‌ها سانترومرها کمینه‌ای را برای کروموزوم‌های ساختگی مهندسی کند.

انجمن T2T کار نسبتاً کوچکی در نظم‌دهی ژن‌های گسترده و پیچیدهٔ رمزگذار ناحیهٔ متغیر آنتی‌بادی‌ها و گیرنده‌های سطح سلول‌های ایمنی T انجام دادند. پوزنر می‌گوید: "این مناطق بسیار تکرارشونده بود و گردهم‌آوری آن‌ها بسیار دشوار است. از امروز، ما فقط دو مرجع برای این مناطق داریم". توانایی دستیابی و مشخص کردن این مناطق

[1] -Bionano Genomics
[2] -Circular Consensus Sequencing (CCS)
[3] -Kinetochore

ژنگانی چالش‌برانگیز می‌تواند منجربه درک پاسخ ایمنی به عفونت‌ها و واکسن‌ها شود.

پایان یک آغاز

همان‌طوری‌که ساخت ژنگان یک چالش بود، یک واحد سراسری از ژنگان برای محقق، بدون در نظرگرفتن ژنگان افراد مختلف و مقایسه آن‌ها، ارزش محدودی دارد. برای افزایش کارآرایی، در اواخر سال ۲۰۲۰، انجمن T2T کاری نزدیک و موازی با انجمن مرجع تمام ژنوم انسانی[1] آغاز کردند. در سال ۲۰۱۹، HRPC با هدف جایگزینی GRCh38 با ژنگان مرجع برای به‌دست‌آوردن دامنه تنوع انسانی بیشتر، براساس کل داده‌های ژنگان با حداقل ۳۵۰ نفر راه‌اندازی شد. توبیاس مارشال[2] زیست‌شناس محاسباتی و یکی از اعضای انفورماتیک در مؤسسه ماکس پلانک[3] ساربروکن[4] آلمان می‌گوید: "با عادی‌تر شدن پزشکی ژنگانی، سوگیری‌های مربوط به اصل و نسب افراد کنار گذاشته می‌شوند.

یوتاسوزوکی[5] یک همکار تحقیقاتی در آزمایشگاه، زیست‌شناس محاسباتی شینیچی‌موریشیت[6] در دانشگاه توکیو[7]، از توالی‌یابی پسفیک بیوساینس برای بررسی سانترومر ۳۶ نفر افراد ژاپنی و سایر مناطق جهان استفاده کرده‌است (۷). سوزوکی می‌گوید: "فقط در جمعیت ژاپنی، تقریباً در هر نمونه‌ای که بررسی کردیم، سانترومرهای مختلفی را می‌بینیم. فقط یک مرجع و یا حتی فقط یک مرجع برای جمعیت کافی نیست".

موریشیتا در پی بررسی صدها سانترومر انسانی است و خاطر نشان می‌سازد که ده‌ها همراهی بیماری‌های مرتبط با تغییرات ژنگانی در این مناطق وجود دارد. او می‌گوید: "اشتباه در تکرارهای سانترومری، سبب از بین‌رفتن تغییر ساختاری آن‌ها می‌شود که این تغییرات ساختاری می‌تواند پایداری و ثبات آن‌ها را تحت‌تأثیر قرار دهد. دراین‌مورد، فیلیپی فرصتی برای درک بهتر اصلاح ژن‌های RNA ریبوزومی در بیماری‌های مرتبط با ماشین تولید پروتئین سلولی به‌دست‌آورد.

امّا ابتدا، محققان باید نحوهٔ به کارگیری فرآیند T2T را در ژنگان دیپلوئیدی بررسی کنند. تعیین اینکه کدام توالی در کدام نسخه از کروموزوم‌ها وجود دارد، مستلزم آن است که توالیهای دانشمندان و منحصربه‌فرد کافی را در طول ژنگان شناسایی کنند تا گردهم‌آوری صحیح قطعات پیوسته به هم (contings) را هر رشته DNA در نواحی اَبَرتکراری مانند سانترومرها فراهم سازند. لوگسدون، ایشلر[8] و همکاران در پیش‌چاپ نتایج کروموزوم ۸، امکان بازسازی مناطق سانترومری شامپانزه‌ها و انسان را، در شرایط بسیار متمایز کروموزوم‌ها از نظر ژنگان، توصیف می‌کنند. موریشیتا می‌گوید: "برای طی تمام مسیر توالی ناحیهٔ سانترومری ژنگان‌های دیپلوئید، به‌خوانش‌های طولانی و بسیار دقیق‌تری نیاز داریم".

در حال حاضر، بیشتر تلاش‌های ژنگانی بالینی بر روی ژن‌های شناخته‌شده متمرکز است تا بتوان یک رویکرد سریع و مقرون به‌صرفه برای تجزیه و تحلیل ژنگان به‌دست‌آورد. اما پیشگامان این زمینهٔ جدید ژنگان پزشکی، انتظار دارند که تجزیه و تحلیل‌های جامع درنهایت به‌یک استاندارد تبدیل شود، اگرچه احتمالاً، با توجه به گوناگونی‌های این نواحی گریزان از نقشه‌یابی صحیح در اثرات بالینی، هزینه زیادی متحمل خواهند شد. میگا می‌گوید: "اگر فرزندم بیمار شود و می‌دانستم که می‌توانم ۱۰۰٪ ژنگان را با خوانش طولانی به‌دست‌آورم، حاضر به پرداخت این تفاوت می‌بودم".

منابع

1- International Human Genome Sequencing Consortium. Nature 409, 860-921 (2001).

2- Jain, M.et al. Nature Biotechnol. 36, 338-345 (2018).

3- Jain, M.et al. Nature Biotechnol. 36, 321-323 (2018).

4- Miga, K. H. et al. nature 585, 79-84 (2020).

5- Logsdon, G. A. et al. Preprint at bioRxiv http://doi, org/10.1101/2020.09.08.285395 (2020).

6- Wenger, A. M. et al. Nature biotechnol. 37, 1155-1162 (2019).

7- Suzuki, Y., Myers, E. W. & Morishita, S. Sci. Adv. 6, eabd9230 (2020).

[1] -Human Pangenome Reference Consortium (HRPC)
[2] - Tobias Marschall
[3] - Max planck
[4] - Saarbruken
[5] - Yuta Suzuki
[6] - Shinichi Morishita
[7] - Tokyo

[8] - Eichler

Engineering circular RNA for potent and stable translation in eukaryotic cells.

Wesselhoeft R. Alexander et al.

Nature communications (2018) 9:2629

مهندسی RNA حلقوی به منظور ترجمه قوی و پایدار در سلول‌های یوکاریوتی

ارد قویمی و سعید امین زاده*

تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، پژوهشکده زیست فناوری صنعت و محیط زیست، گروه مهندسی زیست فرایند

چکیده

RNA پیک (mRNA) پتانسیل گسترده ای برای استفاده در سیستم های بیولوژیکی دارد. با این حال، یک محدودیت اساسی در استفاده از آن، نیمه عمر نسبتاً کوتاه آن در این سیستم‌ها است. در اینجا ما RNA حلقوی (circRNA) اگزوژنی (با منشا خارجی) را توسعه دادیم تا مدت زمان بیان پروتئین از RNA یی با طول کامل را، افزایش دهیم. نخست، ما یک اینترون خود پیرایشگر (self-splicing intron) را طوری طراحی کردیم تا به وسیله یک طراحی منطقی (rationally designing) به کمک توالی های موجود که به نحو موثری اسپلایسینگ کمک می‌کنند، در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*)، دامنه گسترده ای از توالی های با طول تا 5kb را، حلقوی سازد. در ادامه ترجمه پروتئین کاربردی از این circRNAها را در سلول‌های یوکاریوتیک به حداکثر می رسانیم و در خواهیم یافت که circRNAهای مهندسی شده که به وسیله کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (high performance liquid chromatography) تخلیص شده‌اند کیفیت بالای تولید پروتئین را از نظر مقدار پروتئین تولید شده وهمچنین پایداری تولید پروتئین، فراهم می‌کنند. این یکی اولین مطالعاتی است که از circRNA اگزوژن برای بیان قوی و پایدار پروتئین در سلولهای یوکاریوتی استفاده کرده است و نشان داده که circRNA، جایگزین مناسب (و امید بخشی) برای mRNA های خطی می‌باشد.

کلیدواژگان: RNA حلقوی، ترجمه قوی و پایدار، سلول‌های یوکاریوتی

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: aminzade@nigeb.ac.ir

اخیراً RNA های حلقوی (circRNAها) اندوژن متعلق به سلول های یوکاریوتی به دلیل شیوع و دامنه گسترده عملکردهای بالقوه بیولوژیکی، توجه بیشتری را به خود جلب کرده اند (۱). اکثر circRNAهایی که طبیعت یافت می‌شوند از طریق پیرایش برگشتی[1] تولید می‌شوند (۲، ۳ و۴) و به نظر میرسد به عنوان RNAهای غیررمزگذار عمل می‌کنند(۱, ۵, ۶). با این حال، نشان داده شده است که برخی از circRNAهای درون‌زاد *دروزوفیلا* و انسان رمز پروتئین هستند (۷ و ۸). cricRNAهای درون‌زاد، علاوه بر داشتن توانایی بالقوه رمزگذاری پروتئین‌ها، فاقد انتهاهای آزاد مورد نیاز برای تخریب وابسته به اگزونوکلئاز هستند. این امر cricRNAها را در برابر مکانیسم‌های تجزیه RNA مقاوم می‌کند و در مقایسه با mRNAهای خطی همتای آن‌ها، عمر آن‌ها را طولانی‌تر می‌کند (۲ و ۹). به همین دلیل است که حلقوی شدن ممکن است پایداری mRNAهایی را که عموماً از نیمه عمر کوتاه آسیب می‌بینند، فراهم سازد (۱۰ و ۱۱) و بنابراین حلقوی کردن mRNA ممکن است کارایی کلی mRNA های برون‌زاد (اگزوژن) را برای کاربردهای مختلف بهبود بخشد (۱۲).

تلاش‌های قبلی برای افزایش پایداری mRNA شامل استفاده از: مناطق غیرقابل ترجمه(UTR) مانند نواحی موجود در mRNA بتا گلوبین طبیعی، آنالوگ‌های کلاهک (cap) متیل گوانوزینه برای محافظت از mRNA در برابر تجزیه کلاهک توسط دِکپینگ آنزیم‌ها[2]، مدیفیکیشن یا اصلاح نوکلئوزید ها و بهینه سازی کدون می‌باشد. این استراتژی ها پیشرفت اندکی در پایداری RNA به همراه داشته‌اند (۱۰, ۱۳-۱۶) لذا رویکردهای جایگزین مثل حلقوی کردن RNA برا تثبیت پایداری آن مطلوب است. با این حال، حلقوی شدن کارآمد RNA طویل "رونویسی

[1] Backsplicing

[2] Decapping Enzymes

شده در شرایط *In vitro* [1](IVT)"، تخلیص circRNA ، و بیان کافی پروتئین از circRNA موانع مهمی در این پروسه هستند که باید بر طرف شوند. در این مطالعه، ما یک رویکرد مهندسی برای تولید circRNAهای برون‌زاد ارائه کردیم تا بیان پروتئین در سلول‌های یوکاریوتی به صورت قوی و پایدار صورت پذیرد.

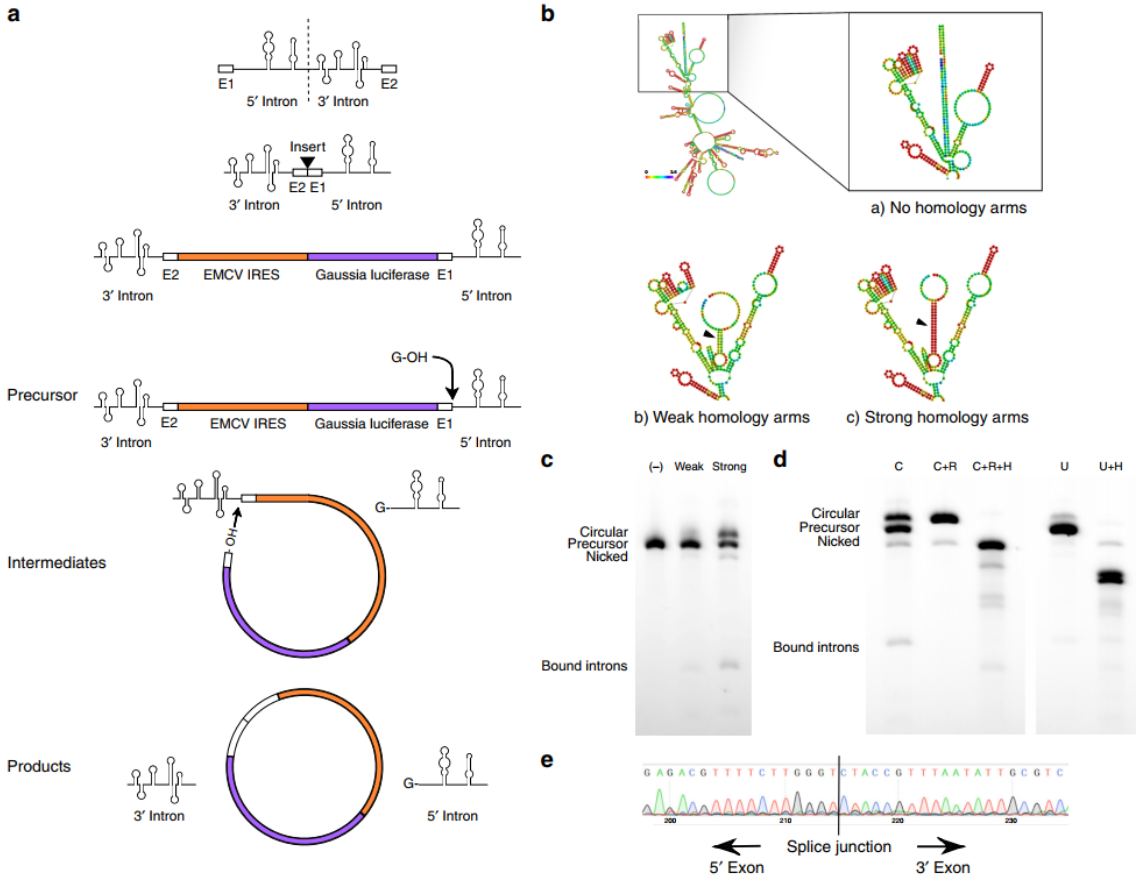
نتایج

حلقوی سازی RNA طویل به کمک هومولوژی. سه استراتژی کلی برای حلقوی شدن RNA برون‌زاد وجود دارد: ۱. روش‌های شیمیایی با استفاده از بروماید سیانوژن یا یک عامل متراکم کننده، ۲. روش های آنزیمی مبتنی بر RNA و DNA لیگاز ها، و ۳. روش های ریبوزیماتیک با استفاده از خودپیرایشی اینترون‌ها (۱۷-۱۹). یک روش ریبوزیماتیک که از اینترون‌های کاتالیتیک گروه I پس و پیش شده[2] استفاده می‌کند گزارش شده که بیشتر برای حلقوی سازی RNAهای طولانی مناسب است و فقط به افزودن GTP و Mg^{2+} به عنوان کوفاکتور نیاز دارد(۱۷). این استراتژی اسپلاسینگ پس و پیش شدن اینترون-اگزون (PIE[3])شامل احاطه شدن ترکیبی از بخشی از اگزون های دو طرف، توسط توالی نیمه های اینترون می‌باشد(به عبارتی در این استراتژی جایگاه اینترون و اگزون جابه جا می‌شود-مترجم)(۲۰). در شرایط آزمایشگاهی، این ساختارها متحمل دو واکنش ترنس استریفیکیشن می‌شوند که مشخصه اینترون‌های کاتالیتیک گروه ۱ هستند؛ اما از آنجا که حالا اگزون ها (در مرکز دو اینترون) ادغام شده‌اند، با اتصال '۵ به '۳ به صورت حلقه، برش خورده و جدا می‌شوند(۱۷) (شکل a.۱). ما با استفاده از این استراتژی به عنوان نقطه شروع برای ایجاد RNA حلقوی رمزگذار پروتئین، یک توالی ۱,۱ کیلوبازی شامل تمام طول IRES[4] (جایگاه میانی یا درونی ورود ریبوزوم) یک ویروس انسفالومیوکاردیت[5](EMCV) ، یک پیام (یا توالی) گائسیا لوسیفراز[6] (GLuc)، و دو ناحیه کوتاه مربوط به ۲ قطعه اگزون (قطعات اگزون ۱ و اگزون ۲) ساختار PIE را بین اینترون‌های '۳ و '۵ از اینترون‌های کاتالیتیک گروه I پس و پیش شده[7] مربوط به ژن تیمیدیلات سنتاز[8] (Td) فاژ T4 وارد کردیم(۲۱) (شکل a.۱ و داده های تکمیلی ۱).

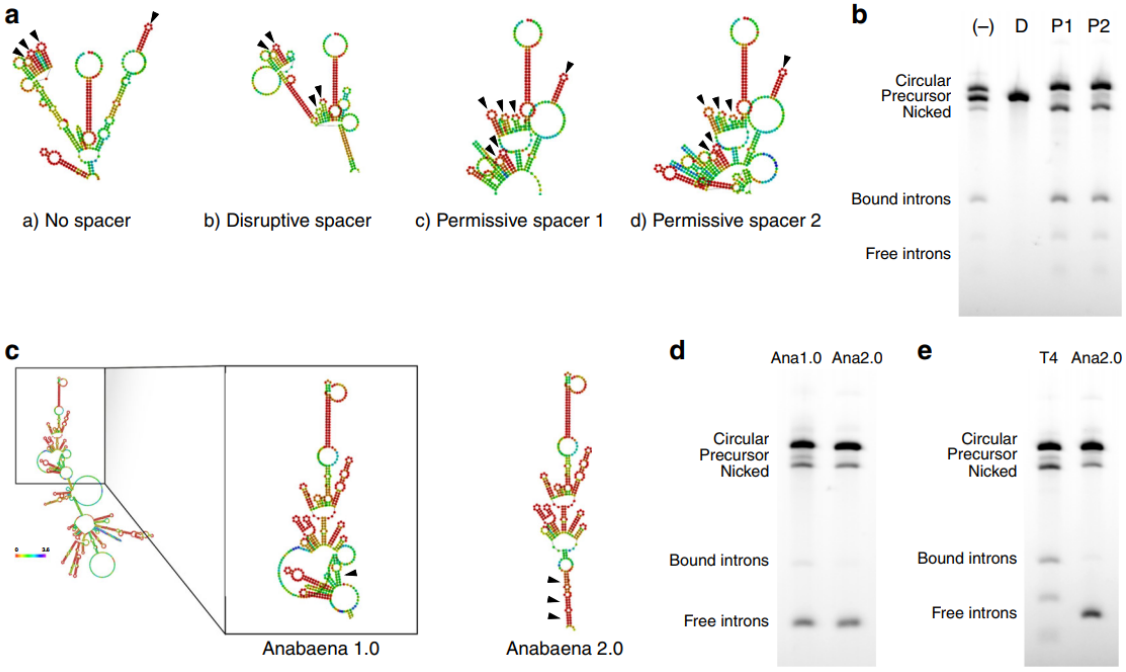
RNA پیش‌ساز با رونویسی به روش run-off سنتز شد و سپس در حضور یونهای منیزیم و GTP برای شروع حلقوی سازی حرارت داده شد، این عمل همان‌طور که پیشتر برای حلقوی سازی RNAهای کوتاهتر استفاده شده بود، برای این واکنش نیز ضروری است(۲۱). با این حال با این روش موفق نشدیم محصولات پیرایش شده را به دست آوریم. ما حدس میزنیم این امر به علت مداخله نواحی طولانی بین جایگاه‌های پیرایش است، ممکن است این نواحی طولانی بینابینی توانایی جایگاه‌های پیرایش را در تعامل با یکدیگر کاهش داده و امکان تشکیل یک مجموعه پایدار را پایین آورد و در نتیجه باعث کاهش کارایی فرآیند پیرایش شود. در واقع، در حالت طبیعی ناحیه مداخله‌گر بین جایگاه‌های پیرایش '۳ و '۵ (ناحیه اینترونی طبیعی) از اینترون‌های گروه I به طور متوسط ۳۰۰-۵۰۰ نوکلئوتید طول دارد(۲۲)، در حالی که ناحیه (بینابینی یا) مداخله‌گر فعلی در RNA مهندسی شده که ساختیم، دو تا چهار برابر بیشتر طول دارد. بنابراین ما بازوهای هومولوگ[9] به طول ۹ (ضعیف) و ۱۹ (قوی) نوکلئوتید طراحی کردیم که در ناحیه ناحیه '۳ و '۵ RNA پیش‌ساز مکمل بودند تا بتوانند جایگاه‌های پیرایش '۳ و '۵ را به هم نزدیک کنند (شکل b.۱، اطلاعات تکمیلی ۱).
افزودن این بازوهای مکمل باعث افزایش کارایی فرآیند پیرایش از ۰ به ۱۶٪ برای بازوهای با هومولوژی ضعیف و ۴۸٪ برای بازوهای با هومولوژی قوی شد که با ناپدید شدن باند RNA پیش‌ساز ارزیابی می شود (شکل c.۱). برای اطمینان از این‌که محصول اصلی پیرایش شدهٔ حلقوی شده است، ما واکنش اسپلایسینگ را با RNase R تیمار کردیم(شکل d.۱، اطلاعات تکمیلی شکل a.۱). محصول واکنش پیرایشی تیمار شده با Rnase R در محل تقاطع جایگاه پیرایشی توالی یابی شده و اگزونهای متصل شده را نشان می‌دهد، همچنین واکنش پیرایشی تیمار شده با RNaseR به همراه RNase H هدایت شده، یک تک باند را تولید کرد که بر خلاف دو باند حاصل از هضم RNA پیشساز خطی هضم شده با RnaseH به تنهایی بود (شکل

[1] In Vitro Transcribed
[2] Permuted : پرمیوت در اینجا به جا به جا شدن جایگاه اینترون و اگزون اشاره دارد (مترجم).
[3] Permuted Intron-Exon
[4] Internal Ribosome Entry Site: جایگاه درونی ورود ریبوزوم
[5] EncephaloMyoCarditis Virus
[6] Gaussia luciferase
[7] Permuted group I catalytic Pntron
[8] Thymidylate Synthase
[9] homology arms

۱. d و e، اطلاعات تکمیلی شکل ۱.a). این داده ها نشان می دهد که circRNAها محصول اصلی این واکنش‌های اسپلایسینگ هستند و اینکه الکتروفورز ژل آگارز امکان جداسازی ساده و مؤثر محصولات اسپلایسنگ حلقوی از مولکول های پیش ساز خطی، حلقه های شکسته(برش خورده)، حد واسط های پیرایشی و اینترون های جدا شده را فراهم می آورد.



شکل ۱ – پیرایش اینترون–اگزون پس و پیش شده و افزودن بازوهای دارای هومولوژی. **a** شکل شماتیک طراحی ساختار PIE -permuted intron) (exon و مکانیسم پیرایش. اینترون کاتالیتیک گروه I از ژن Td فاژ T4 به گونه ای جدا شده است تا عناصر ساختاری ضروری برای تاب‌خوردگی ریبوزیم را حفظ کند. قطعه اگزون ۲ به بالادست قطعه اگزون ۱ متصل شده است، و یک ناحیه کدینگ به طول تقریبی ۱٫۱ کیلوباز بین تقاطع ۲ اگزون وارد می‌شود. طی فرآیند پیرایش، گروه هیدروکسیل از نوکلئوتید گوانوزین در یک واکنش ترنس استریفیکیشن در جایگاه پیرایش '۵ شرکت می‌کند. نیمه '۵ اینترون برش می‌خورد و گروه هیدروکسیل آزاد شده انتهایی، در واکنش ترنس استریفیکیشن دوم در جایگاه پیرایش '۳ شرکت می‌کند. در نتیجه این امر، ناحیه دخولی به همراه اگزون‌ها حلقوی شده و اینترون '۳ حذف می‌شود. **b** پیش بینی شکل تا خوردگی RNA از ساختار ثانویه RNA پیش ساز برای طراحی بازوی هومولوگ. رنگ‌ها احتمال جفت شدن بازها را نشان می‌دهند، رنگ قرمز احتمال بالاتر را نشان می‌دهد. بدون بازوهای همسانی، هیچ جفت‌شدگی بازی بین انتهای مولکول پیشساز پیش بینی نمی‌شود. **c** ژل آگارز که اثر بازوهای هومولوژیک را بر پیرایش نشان می‌دهد. همان‌طور که نشان داده شده است، RNA حلقوی گویا با وزن مولکولی بالاتری نسبت به RNA پیش‌ساز حرکت می کند. (–): بدون هومولوژی. ضعیف: بازوهای هومولوگ ضعیف، ۹ نوکلئوتید. قوی: بازو های هومولوگ قوی، ۱۹ نوکلئوتید. **d** ژل آگارز تایید کننده حلقوی شدن ساختار. RNA C:پیشساز (با بازو های همسان) که در معرض شرایط حلقوی شدن قرار گرفته است. C+R: لاین C که در معرض هضم با RNase R قرار گرفته است. C+R+H: لاین C+R که در معرض هضم با RNase H هدایت شده با الیگونوکلئوتید قرار گرفته است.U: RNA پیش‌ساز که در شرایط حلقوی شدن قرار نگرفته است. U+H: لاین U که با RNase H هدایت شده با الیگونوکلئوتید تیمار شده است. **e** خروجی توالی Sanger حاصل از RT-PCR نمونه گرفته شده از لاین C + R ران شده در شکل (d) در محل نقطه اتصال پیرایش (splice junction) به تصویر کشیده شده است.



شکل ۲ – طراحی فاصله‌گذار و پیرایش با استفاده از اینترون اتوکاتالیتیک آنابنا. **a** پیش بینی ساختار ثانویه RNA پیش‌ساز و نحوه تا خوردگی آن در پی طراحی فاصله‌گذار. ساختارهای ثانویه که به طور بالقوه در عملکرد ریبوزیم دخیل هستند توسط فلش‌های سیاه مشخص شده اند. **b** ژل آگارز که اثر فاصله‌گذارها را بر عملکرد پیرایش نشان می‌دهد. (–): بدون فاصله‌گذار. D: فاصله‌گذار مختل کننده. P1: فاصله‌گذار سازگار ۱. P2: فاصله‌گذار سازگار۲. **c** پیش بینی تاخوردگی ساختار ثانویه RNA پیش‌ساز برای طراحی نواحی هومولوژی داخلی. عدم وجود هومولوژی قابل توجه داخلی (آنابنا ۱,۰) و ارائه هومولوژی داخلی (آنابنا ۲,۰) که با فلش های سیاه نشان داده شده است. حباب پیرایش به عنوان ناحیه ای بین بازوهای هومولوژی و مناطق هومولوژی داخلی که حاوی ریبوزیم پیرایشی است، نشان داده شده است. **d** ژل آگارز که اثر هومولوژی داخلی را روی پیرایش نشان می‌دهد. **e** ژل آگارز که واکنش پیرایش فاژ T4 بهینه شده را با واکنش پیرایشی آنابنا بهینه شده مقایسه می‌کند. نیمه اینترون‌های آنابنا طول تقریباً برابر دارند و در مقایسه با نیمه اینترون های فاژ T4 علیرغم بازوهای هومولوژی قوی تر، احتمالاً بعد از پیرایش، کمتر کنار هم می‌مانند.

توالی‌های فاصله‌گذار[1] کارایی حلقوی سازی را بهبود می‌بخشند. به منظور بهبود بیشتر کارایی تولید circRNAهای حاصل از خودپیرایشی RNA پیش‌ساز، عوامل دیگری را در نظر گرفتیم که ممکن است در حلقوی سازی موفقیت آمیز مؤثر باشند.

جایگاه پیرایش سرِ ۳' PIE[2] مجاور IRES است و از آنجا که هر دو توالی دخولی ساختار بسیار سخت و با ثباتی دارند(انعطاف پذیری کمی دارند)، ما فرض کردیم که توالی درون IRES ممکن است، یا به صورت پروگرزیمالی درسرِ ۳' و یا دیستالی در سرِ ۵'، در تاخوردگی مربوط به عمل پیرایش ریبوزیم، تداخل ایجاد کند. برای اینکه اجازه دهیم این ساختارها به طور مستقل تا بخورند، بین جایگاه پیرایش سر ۳' PIE و IRES، که پیش بینی می کردیم در پیرایش تداخل ایجاد کند، یک سری فاصله‌گذار طراحی کردیم (شکل a.۲ ، داده های تکمیلی ۱). "فاصله‌گذارهای سازگار[3]" برای حفظ ساختارهای ثانویه موجود در توالیهای اینترون طراحی شده اند که ممکن است برای فعالیت ریبوزیم مهم باشند، در حالی که " فاصله‌گذارهای مختل کننده[4]" برای ایجاد اختلال در توالی در هر دو نیمه اینترون، خصوصاً نیمه '۵ طراحی شده اند. افزودن توالی‌های فاصله‌گذار سازگار طراحی شده باعث می شوند که کارایی پیرایش از ۴۶ تا ۸۷٪ (P1 و P2) افزایش یابد، در حالی که افزودن یک توالی فاصله‌گذار مختل کننده فرآیند پیرایش را کاملا مختل می‌کند(شکل b.۲). این ساختار

[1] spacer
[2] Permuted Pntron-Exon

[3] Permissive spacers
[4] disruptive spacer

اصلاح شده، شامل بازوهای هومولوگ و فاصله‌گذارهای با طراحی منطقی، توانست RNAیی را به طول ۵ کیلوباز را حلقوی سازد (شکل اطلاعات تکمیلی b.۱).

اینترون کاتالیزوری آنابنا[1] انتخاب مناسب‌تری برای حلقوی سازی است. ما همچنین استفاده از جایگزینی گروه I اینترون کاتالیزوری مربوط به pre-tRNA Anabaena بررسی کردیم(۲۰). در اینجا همان روش های بهینه سازی را که برای افزایش کارایی واکنش پیرایش اینترون فاژ T4 پس و پیش شده استفاده کردیم، به کار بردیم. جالب اینجاست که طی این بهینه‌سازی‌های متوجه شدیم که تغییر اینترون کاتالیزوری T4 به اینترون کاتالیزوری آنابنا ممکن است منجر به ضعیف شدن یک کشش کوتاه بر هومولوژی درونی بین IRES و انتهای '۳ ناحیه کدینگ، شود که این امر خود ممکن است به شکل‌گیری حباب پیرایش جدا شونده کمک کند(شکل c.۲ ، شکل a.۳). تقویت هومولوژی داخلی نهایی، با استفاده از اینترون پس و پیش شده کاتالیزوری Anabaena، بازده اسپلایسینگ را از ۸۴ به ۹۵ درصد افزایش داد (شکل۲. c، d ، داده های تکمیلی ۱). ما همچنین دریافتیم که استفاده از اینترون کاتالیزوری Anabaena منجر به کاهش ۳۷٪ circRNA برش خورده در مقایسه با اینترون کاتالیزوری T4می شود (شکل ۲. d، e). با توجه به افزایش کارآیی پیرایش و بازده circRNA سالم، ثابت شد سیستم PIE آنابنا مهندسی شده نسبت به سیستم T4 PIE کارایی بهتری دارد(شکل e.۲ ، شکل a.۲ داده‌های تکمیلی).

توالی های اتوکاتالیتیک با نواحی رمزگذار سازگار هستند. هومولوژی داخلی بین اگزون ۲ و توالی کد کننده GLuc باعث شده سیستم PIE بهینه شده آنابنا با نواحی بینابینی غیر–GLuc مداخله کننده ناسازگار باشد. بر اساس درکمان از پارامترهایی که بر کارایی پیرایش اینترون های گروه ۱ کاتالیتیک پس و پیش شده اثر می‌گذارند و به منظور سازگاری ساختار circRNA با حلقوی شدن کارآمد طیف وسیعی از توالی های RNA بینابینی طویل، دوباره یک جفت توالی فاصله‌گذار جدید، طراحی کردیم. این توالی‌های فاصله‌گذار با سه اولویت مهندسی شدند: (۱) با توالی‌های پروگزیمال اینترون و IRES غیر هومولوگ بوده و فاقد ساختار سخت[2] باشند. (۲) ساختار های ثانویه اینترون و IRES جدا باشند و بنابراین هر عنصر قادر به عملکرد و تاخوردگی مستقل از دیگری باشند و (۳) به منظور پیشروی یک جایگاه برای تشکیل حباب پیرایش شامل توالی‌های کناری اینترونی کاتالیتیک به وسیله مناطق دارای هومولوژی، دارای یک منطقه مکمل فاصله‌گذار – فاصله‌گذار باشند(شکل a.۳ ، اطلاعات تکمیلی ۱). ما همچنین بازوهای هومولوگ در انتهای '۳ و '۵ مولکول پیش‌ساز RNA قرار دادیم. در ادامه بین این توالی ها، IRES یک ویروس EMCV، و همچنین نواحی رمزگذار ۵ پروتئین مختلف شامل گائسیا لوسیفراز (GlLuc) (طول کل: ۱۲۸۹ نوکلئوتید)، فایرفلای لوسیفراز[3](۲۳۴۸نوکلئوتید)، eGFP(۱۴۵۱نوکلئوتید)، اریتروپویتین انسان (۱۳۱۳نوکلئوتید) و اندونوکلئازCas9 (۴۹۳۴نوکلئوتید) را درج کردیم. ما قادر به حلقوی کردن هر در هر پنج توالی RNA بودیم(شکل b.۳ ، اطلاعات تکمیلی ۱). راندمان حلقوی سازی با ساختار طراحی شده مرحله به مرحله ما (شکل e۲) مطلوب بود و دخول های مختلف بسیار تکرار پذیر بود، اما همچنان به اندازه قطعه دخولی وابسته بود، با RNA های طولانی حلقوی‌سازی کندی رخ می‌دهد (شکل تکمیلی a.۳). علاوه بر این دریافتیم که circRNA های طویل در حضور یون های منیزیم بیشتر مستعد شکستگی و برش هستند، و در نتیجه انباشت circRNA شکسته در طی و پس از رونویسی آزمایشگاهی و هضم با RNase R رخ می‌دهد که این در نهایت باعث کاهش بازده کلی و خلوص نمونه تیمار شده Rnase R می‌شود (شکل ۳. b، c ، شکل تکمیلی a.۳). با این وجود RNase R قادر به هضم کامل اینترون های مقاوم آنابنا نیست(شکل b۳ ، باندهای پایینی) و یا گاه حلقه های نادری که تقریباً ۱٫۰۷٪ از واکنش های اسپلایسینگ را شامل می‌شوند دیده می‌شوند(شکل b۳ ، باند های ضعیف).

circRNA اگزوژن به طور مؤثر ترجمه شده است. نشان داده شده است که circRNA درون‌زاد ممکن است مقادیر کمی از پروتئین را تولید کند(۷). به عنوان ابزاری برای ارزیابی توانایی تولید پروتئین از circRNAهای مهندسی شده، محصولات پیرایشی هضم شده با RNase R هر

[1] Anabaena: سیانوباکتر رشته‌ای

[2] unstructured

[3] Firefly luciferase

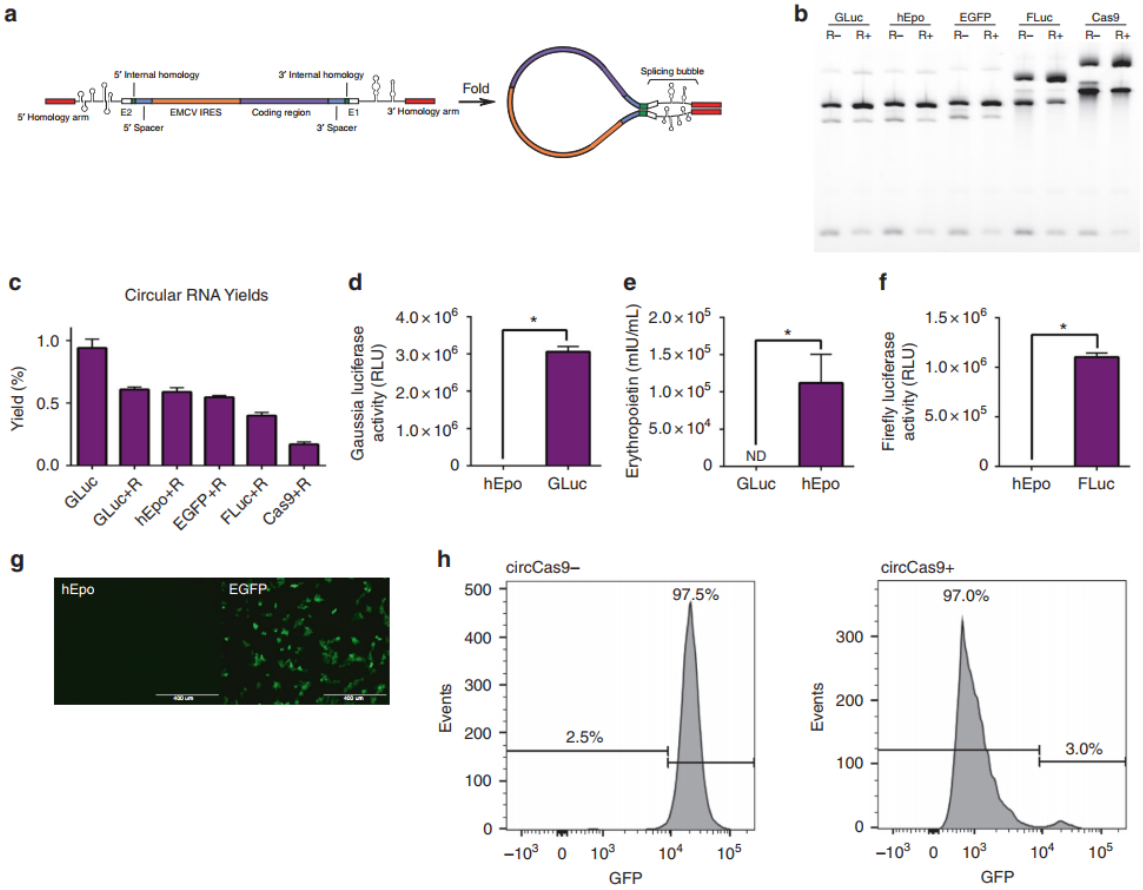
ساختار را به سلول‌های کلیوی جنینی انسان (HEK293) انتقال دادیم. انتقال circRNA گائسیا لوسیفراز (GLuc) یا فایرفلای لوسیفراز، منجر به تولید بالای پروتئین عملکردی شد که توسط لومینسانس اندازه گیری می شود (شکل‌های ۳. D، F). به همین ترتیب، توانستیم اریتروپوئیتین انسانی حاصل از انتقال circRNA اریتروپویتین را در محیط کشت سلولی تشخیص دهیم، و همچنین توانستیم فلوئورسانس eGFP حاصل از انتقال circRNA مربوط به eGFP را نیز مشاهده کنیم (شکل ۳ e، g). کو-ترانسفکشن circRNA مربوط به Cas9 با sgRNA هدایت شده بر ضد GFP به سلولهای HEK293 بیان کننده GFP، منجر به کاهش فلوئورسانس در ۹۷٪ از سلولها در مقایسه با کنترلی که فقط sgRNA داشت، شد(شکل ۳ h ، شکل تکمیلی ۳ , d e). از آنجا که هضم با RNase R در واکنشهای اسپلایسینگ همواره کامل نیست و RNA پیشساز شامل IRES عملکری است، یک جهش حذف جایگاه پیرایش در ساختار GLuc را برای اندازه گیری سهم احتمالی ناخالصی‌ها در بیان پروتئین ایجاد کردیم. هنگامی که مقادیر مساوی از واکنش‌های پیرایش هضم شده به واسطه RNase-R ترانسفکت شدند، این جهش حذف جایگاه پیرایش یک سطح پروتئین به سختی قابل ردیابی رو تولید می‌کند(شکل تکمیلی ۳. b، c).

توالی IRES مربوط به CVB3 در ساختار circRNA عملکرد بهتری دارد. برای تثبیت circRNA اگزوژن به عنوان یک جایگزین قابل اعتماد برای فناوری mRNA خطی موجود، مطلوب است که بیان پروتئین به حداکثر برسد. ترجمه مستقل از Cap با واسطه IRES می تواند سطوح مختلفی از کارآیی را بسته به بافت سلولی نشان دهد و معمولاً وقتی که mRNA خطی دو-سیسترونی باشد، کمتر از ترجمه وابسته به Cap کارایی دارد(۲۳). به طور مشابه، دم polyA باعث تقویت و بهبود بهره وری در شروع ترجمه در mRNA خطی از طریق پروتئین های اتصال پلی آدنیلات می شود(۲۴, ۲۵). با این حال کارایی توالی های مختلف IRES و دخول دم polyA در ساختار circRNA تا کنون بررسی نشده است. ما IRES مربوط به EMCV را با توالی UTR '۵ چندین نسخه ویروسی، که به طور بالقوه یا قطعی، حاوی IRES های شناخته شده هستند، و همچنین چندین توالی IRES دیگر، جایگزین کردیم(داده های تکمیلی ۱، شکل تکمیلی شکل ۴.a)(۲۶). بر این اساس دریافتیم که IRES مربوط به کوکساکی ویروس B3[1] (CVB3) ۱,۵ برابر کاراتر از IRES مربوط به EMCV متداول سازگار با سلولهای HEK293 است(شکل ۴a). از آنجا که ساختارهای ثانویه، و به ویژه ناحیه کدینگ که مستقیماً در ادامه IRES است، نزدیک به IRES هستند(پروگزیمالند)، پتانسیل ایجاد اختلال در تاخوردگی و شروع ترجمه IRES را دارند. در ادامه همچنین توالی‌های IRES ویروسی منتخبی را در ساختار فایر فلای لوسیفراز آزمایش کردیم. در حالی که همچنان CVB3 IRES از همه انواع دیگر IRES برتر بود، کارآیی چندین IRES دیگر، که مهمترین آنها IRES مربوط به پولیوویروس[2] است، به طرز چشمگیری تغییر یافت(شکل ۴.a). پس از این آزمایش، بررسی کردیم که آیا اضافه کردن یک توالی polyA داخلی یا یک فاصله‌گذار polyAC به عنوان کنترل به توالی IRES، که نشان داده بود توانایی بالاتر بردن تولید پروتئین را از سطح پیش زمینه از circRNA مهندسی شده دارد، می‌تواند بیان پروتئین را تغییر می دهد. ما دریافتیم که هر دو توالی، بیان را در تمام سازه ها بهبود بخشیده اند، احتمالاً این امر ناشی از جداسازی بیشتر با یک توالی غیر ساختاری، بین شروع توالی IRES و تقاطع جایگاه پیرایش اگزون-اگزون است، که پیش بینی می‌شود برای ایجاد یک ساختار پایدار کمک می‌کند(شکل ۴.b ، شکل تکمیلی ۴.b). این فاصله مازاد ممکن است ممانعت فضایی اتصال عامل شروع به ساختارهای IRES را کاهش دهد. در مورد EMCV و IRESهای پولیوویروس، توالی‌های با فاصله‌گذار پلی A بیان بیشتری نسبت به آن‌هایی داشتند که با فاصله‌گذار پلی AC اصلاح شده بودند. این ممکن است نشان دهد که اجتماع پروتئین های متصل شونده پلی آدنیلات می‌تواند راندمان IRES را افزایش دهد. پس از انتخاب مؤثرترین ساختار polyA یا polyAC برای هر IRES ، ما اثر IRES را در انواع مختلف سلول‌ها از جمله آدنوکارسینوم دهانه رحم انسانی[3] (HeLa) ، سرطان ریه انسان[4] (A549) و سلولهای بتای نامیرای پانکراسی موش[5] (Min6) بررسی کردیم. ما دریافتیم که اثر IRES بسته به نوع سلول متفاوت است، اما IRES مربوط به CVB3 در همه انواع تست شده بهتر

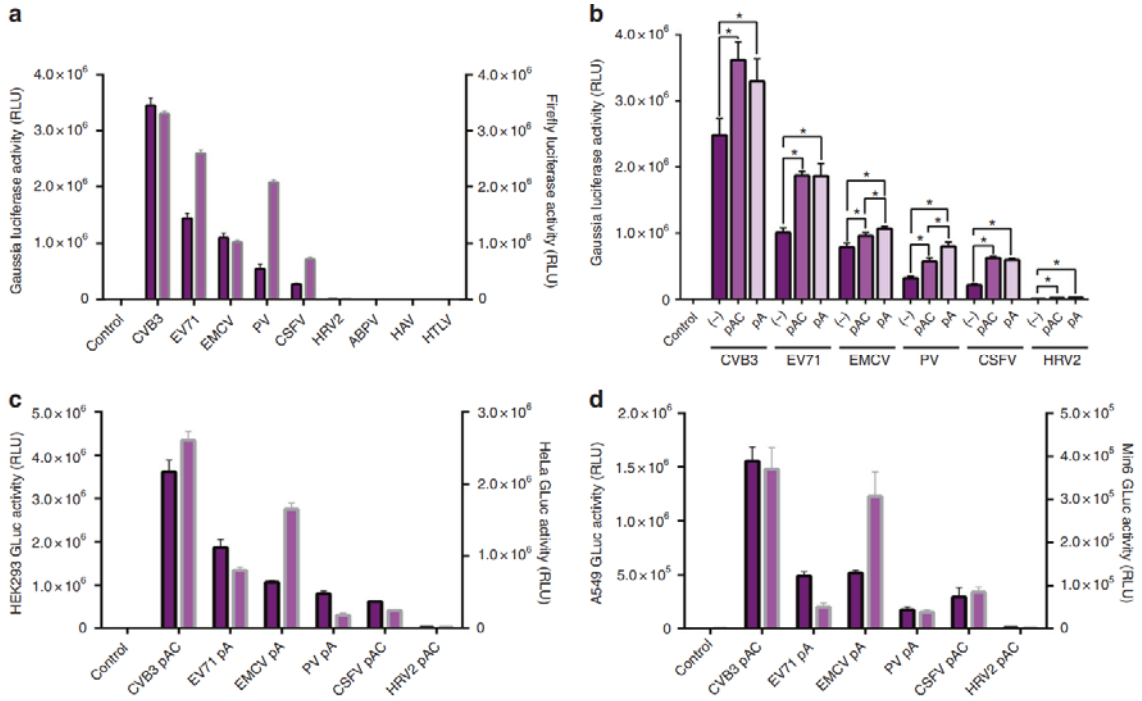
[1] CoxsackieVirus B3
[2] Poliovirus
[3] Human cervical adenocarcinoma
[4] human lung carcinoma
[5] immortalized mouse pancreatic beta cells

بود(شکل ۴. c، d). حذف توالی های پروگزیمال یا دیستال نسبتاً کوتاه CVB3 IRES منجر به از دست رفتن چشمگیر بیان پروتئین می شود (شکل تکمیلی ۴.c).

circRNA های حاصل از پیرایش می‌توانند با HPLC تخلیص شوند. خلوص circRNA حاصله یکی از عوامل ضروری دیگر برای به حداکثر رساندن تولید پروتئین از circRNA و جلوگیری از پاسخ ایمنی سلولی ذاتی است. نشان داده شده است که حذف dsRNA توسط HPLC، فعال سازی و پاسخ سیستم ایمنی بدن را از بین می برد و ترجمه IVT mRNA (In Vitro-Transcribed) اصلاح شده توسط نوکلئوزید خطی را بهبود می بخشد(۱۶).



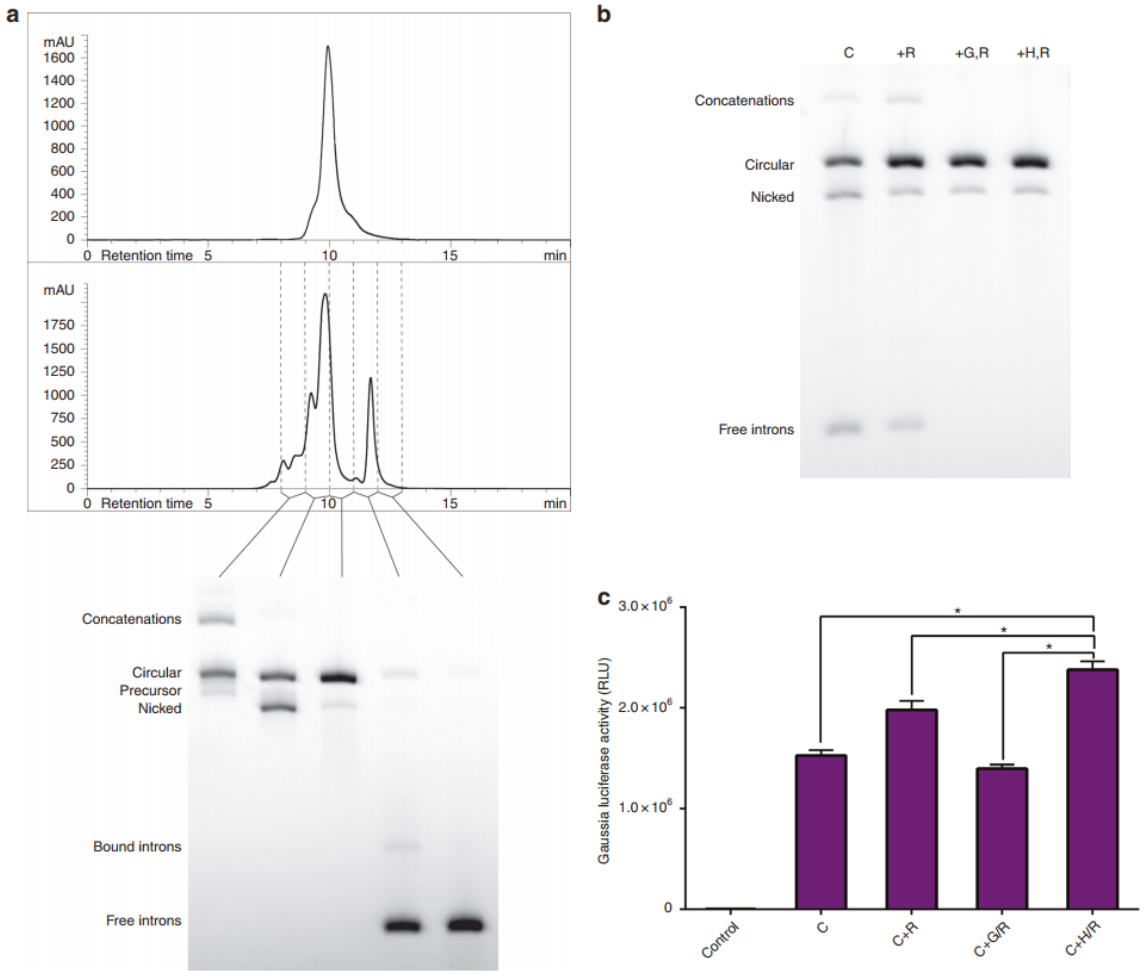
شکل ۳ – بررسی تاثیر حلقوی شدن و ترجمه برای یک طیف از circRNAهای کدکننده پروتئین تولید شده از RNA پیشساز مهندسی شده **a**. de novo طرح نشان‌دهنده طراحی عناصر مهندسی شده RNA پیشساز خودپیرایش. **b** ژل آگارز پیشسازهای RNA شامل IRESیک ویروس انسفالومیوکاردیت(EMCV)، و همچنین نواحی کدینگ ۵ پروتئین مختلف شامل گائسیا لوسیفراز (GlLuc) (طول کل: ۱۲۸۹ نوکلئوتید)، فایرفلای لوسیفراز (۲۳۴۸نوکلئوتید)، eGFP (۱۴۵۱نوکلئوتید)، اریتروپویتین انسان (۱۳۱۳نوکلئوتید) و اندونوکلئاز Cas9 (۴۹۳۴نوکلئوتید) پس از حلقوی‌سازی و حلقوی سازی مجدد درفقدان Rnase R (−R). circRNAها با تخریب RNAهای خطی به کمک تجزیه با RNase R (+R)، غنی می‌شوند. **c** بازده تقریبی circRNAها حاصل از تیمار ۲۰ میکروگرم محصول پیرایش با RNase R ، که توسط اسپکتروفتومتری ارزیابی شده است (۳ تکرار). **d** لومینسانس در سوپرناتانت سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با circRNA کدکننده برای GLuc (۴ تکرار). **e** بیان اریتروپویتین انسانی در سوپرناتانت سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی (تلقیح) با circRNA کدکننده hEpo که توسط ساندویچ (فاز جامد)ELISA ارزیابی شده است(۴ تکرار). **f** لومینسانس در لیز سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترانسفکشن(تلقیح) با CircRNA رمزگذار FLuc (۴ تکرار). **g** فلورسانس GFP در سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترانسفکشن(تلقیح) با circRNA کدکننده EGFP (اسکیل بار: ۴۰۰ میکرومتر). **h** آنالیز FACS(دسته بندی سلول های فعال فلوئورسنس) نشان دهنده کاهش GFP در سلول های HEK293-EF1a-GFP ۴ روز پس از ترا آلائی با sgGFP به تنهایی (circCas9−) و یا به همراه circRNA رمزگذار Cas9 (circCas9 +)، نشانگر ظاهر جمعیتی از سلولهای GFP منفی است. (تمام داده های ارائه شده به عنوان میانگین + SD، * p <0.05 (آزمون t Welch))



شکل ۴ – کارایی IRES در سلول ها و ساختارهای توالی‌های مختلف. **a** لومینسنس در سوپرناتانت سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با circRNA حاوی پنلی از توالی‌های ویروسی UTR IRES '۵ در ساختار های GLuc (ستون سمت چپ، بنفش تیره با حاشیه سیاه) و FLuc (ستون سمت راست، بنفش روشن با حاشیه خاکستری). **b** لومینسنس در سوپرناتانت سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با circRNA حاوی یک توالی پلی A(۳۰) یا یک توالی فاصله‌گذار پلیAC(۳۰) اضافه شده که IRES را از محل (تقاطع) پیرایش جدا (یا دور) می‌کند. (-): بدون فاصله‌گذار. PAC: فاصله‌گذار ۳۰ نوکلئوتیدیشامل ادنوزین‌ها و سیتوزین‌ها. PA: فاصله‌گذار ۳۰ نوکلئوتیدی واجد آدنوزین‌ها. **c** لومینسنس سوپرناتانت سلول‌های HEK293 (ستون سمت چپ، بنفش تیره با حاشیه سیاه) و سلول‌های HeLa (ستون سمت راست، بنفش روشن با حاشیه خاکستری) ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با موثرترین IRES circRNAهایی که در (b) تعیین شده اند. **d** لومینسنس سوپرناتانت سلول های A549 (ستون سمت چپ، بنفش تیره با حاشیه سیاه) و سلول های Min6 (ستون راست، بنفش روشن با حاشیه خاکستری) ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با موثرترین IRES circRNA هایی که در (b) تعیین شده اند (کلیه داده‌های ارائه شده به عنوان میانگین + SD، n = 4، $p < 0.05$ * (آزمون t Welch)).

با این حال، هیچ روش دقیقی برای تخلیص circRNAها از محصولات جانبی IVT و واکنش‌های حلقوی سازی که ممکن است شامل dsRNAها و تری فسفات-RNAهایی باشند (درگیرکنندهٔ حسگرهای RNA و القای واکنش ایمنی سلولی)، گزارش نشده است(۱۶). با این حال در حالی که اجتناب کامل از circRNA شکسته[1] به دلیل تجزیه خفیف در طی پردازش غیرقابل تحقق بود، توانستیم با استفاده از استخراج ژل برای مقادیر اندک و جداسازی بر حسب اندازه با HPLC برای مقادیر بیشتر محصولات پیرایش، به خلوص قابل ملاحظه ای (۹۰٪ حلقوی، ۱۰٪ شکسته) دست یابیم(شکل ۵. a، b). در هر دو مورد، تخلیص را با استفاده از تیمار RNase R انجام دادیم تا بیشتر RNA بریده شده و شکسته را از بین ببریم. هنگامی که بیان پروتئین محصولات پیرایش هضم شده با RNase-R را که در آنها circRNA با استفاده از استخراج از ژل یا HPLC تخلیص شده مقایسه کردیم، فهمیدیم که تخلیص با استفاده از HPLC روشی بهتر نسبت به تخلیص با RNAse R به تنهایی است (شکل ۵. b، c).

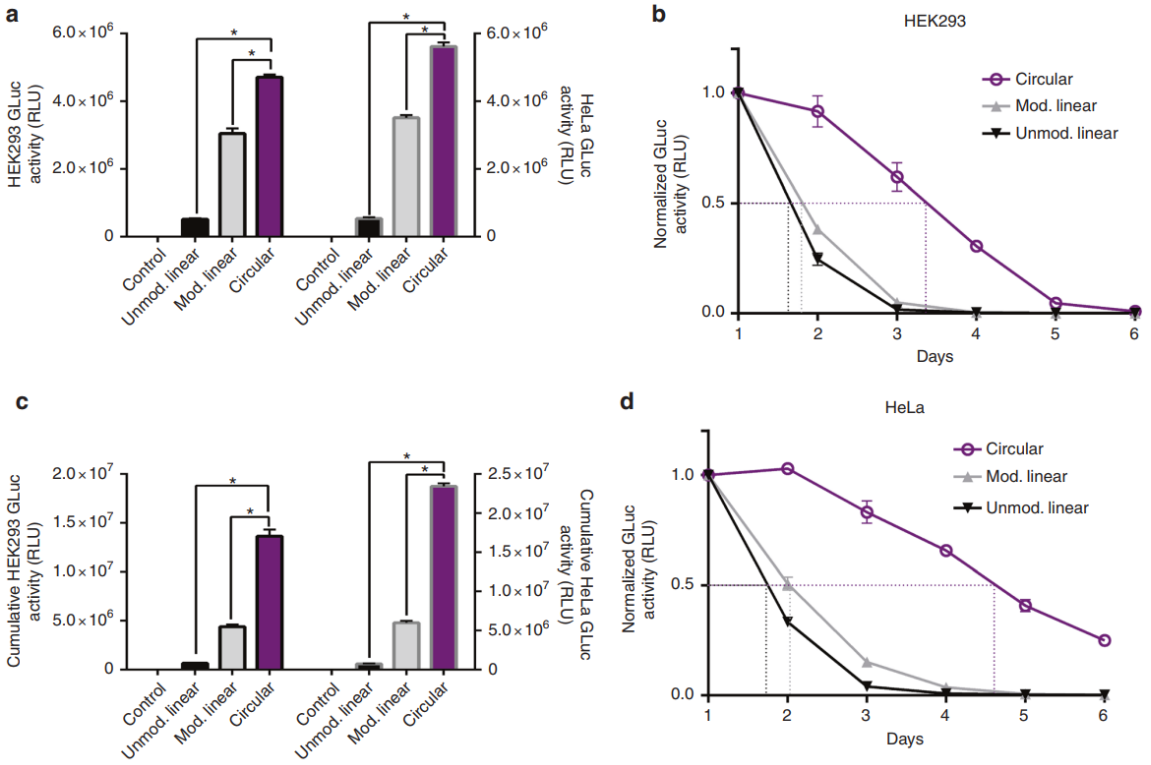
[1] nicked



شکل ۵ – تخلیص circRNA حاصل از پیرایش با استفاده از HPLC. **a** کروماتوگرام HPLC از GLuc RNA خطی (بالا) و محصول پیرایش CVB3-GLuc-pAC (وسط). قطعات گردآوری شده ژل آگارز (پایین). **b** ژل آگارز CVB3-Gluc-pAC با روشهای مختلف تخلیص شد. C: واکنش پیرایش. +R: واکنش پیرایش تیمار شده با Rnase R. +G,R: محصول واکنش پیرایش از ژل استخراج شده و سپس با Rnase R تیمار شده. +H,R: محصول واکنش پیرایش با HPLC تخلیص شده و سپس با Rnase R تیمار شده. **c** لومینسانس در سوپرناتانت سلول‌های HEK293 ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با محصولات پیرایش CVB3-GLuc-pAC تخلیص شده با روش‌هایی که در شکل b اشاره شده است(داده های ارائه شده به عنوان میانگین + SD، n = 4، * p <0.05 (آزمون t Welch)).

تولید پروتئین circRNA با mRNA خطی قابل رقابت است. تا کنون مشخص نبوده که آیا کارایی ترجمه سلولی circRNA برون‌زاد با mRNA خطی متناظر آن قابل مقایسه است، و آیا تولید پروتئین circRNA تفاوت‌هایی در پایداری دارد یا خیر. با استفاده از circRNA مهندسی شده تخلیص شده با HPLC، ثبات و عملکرد circRNA کد کننده گائسیا لوسیفراز (CVB3-GLuc-pAC) با مقادیر یکسان از mRNA خطی GLuc که کلاهک ۵' متیل گوانوزین و دم پلی A ۳' اصلاح نشده دارد و همچنین مقادیر یکسان از mRNA خطی GLuc یک نوکلئوزید تجاری مدیفای شده (متعلق به کمپانی Trilink) (با نوکلئوزیدهای اصلاه شده سودو یوریدین و ۵-متیل سیتوزین) مقایسه کردیم. تولید پروتئین که توسط لومینسانس ۲۴ ساعت پس از تراآلائی مورد ارزیابی قرار گرفت نشان داد که circRNA معادل ۸۱۱,۲٪ پروتئین بیشتری نسبت به mRNA خطی اصلاح نشده در این زمان اولیه در سلول‌های HEK293 تولید می‌کند (شکل ۶.a). جالب توجه است، circRNA همچنین ۵۴,۵٪ پروتئین بیشتر از mRNA اصلاح شده تجاری تولید

می‌کند. این نشان می‌دهد که اصلاحات نوکلئوزید برای تولید پروتئین قوی از circRNA ضروری نیست. نتایج مشابهی در سلولهای HeLa (شکل a.۶) و با استفاده از circRNA بهینه کد کننده برای پروتئین اریتروپویتین انسانی در مقایسه با mRNA خطی اصلاح شده با ۵- متوکسی یوریدین به دست آمد (شکل تکمیلی ۵. a، b). داده های لومینسانس گرد آوری شده طی ۶ روز نشان داد که تولید پروتئین از circRNA نسبت به mRNA خطی در سلول‌های HEK293 بیشتر است، با circRNA نیمه عمر تولید پروتئین ۸۰ ساعت است، در حالی که نیمه عمر تولید پروتئین از mRNA خطی اصلاح نشده و اصلاح شده حدود ۴۳ تا ۴۵ ساعت است(شکل b.۶). با توجه به افزایش بیان یا پایداری، circRNA همچنین پروتئین بسیار بیشتری از هر دوی mRNAهای خطی اصلاح نشده و اصلاح شده در طول عمر خود تولید می‌کند، در حالی که حتی در جایی که بیان اولیه ضعیف ترباشد (در اطلاعات تکمیلی) فنوتیپ پایدارتری را نشان می‌دهد (شکل c.۶ ، شکل تکمیلی c.۶). در سلولهای HeLa، circRNA نیمه عمر تولید پروتئین ۱۱۶ ساعت را به نمایش گذاشت، در حالی که نیمه عمر تولید پروتئین از mRNA خطی اصلاح نشده و اصلاح شده به ترتیب تقریبا ۴۴ و ۴۹ ساعت بود(شکل d.۶).



شکل ۶ – کارایی ترجمه از circRNA در مقایسه با mRNA خطی. **a** لومینسانس سوپرناتانت سلول‌های HEK293 (چپ، خط بیرونی سیاه) و سلول‌های HeLa (راست، خط بیرونی خاکستری) ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با circRNA CVB3-GLuc pAC یا mRNA خطی ژن Gluc اصلاح شده یا اصلاح نشده (n = 4 HEK293, n = 3 HeLa). **b** لومینسانس سوپرناتانت سلول‌های HEK293 از ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی با circRNA کدکننده CVB3-GLuc-pAC یا mRNA خطی ژن GLuc – اصلاح شده با متوکسی یوریدین یا اصلاح نشده که تا مدت ۶ روز ادامه می‌یابد (۴ تکرار). **c** لومینسانس تجمعی نسبی بیش از ۶ روز توسط سلول‌های HEK293 (چپ، خط بیرونی سیاه) و سلولهای HeLa (راست، خط بیرونی خاکستری) ترآلوده شده با circRNA کدکننده CVB3-GLuc-pAC یا mRNA خطی ژن GLuc اصلاح شده یا اصلاح نشده (n = 4 HEK293, n = 3 HeLa). **d** لومینسانس در سوپرناتانت سلول‌های HeLa از ۲۴ ساعت پس از انتقال با circRNA رمزگذار CVB3-GLuc-pACیا mRNA خطی ژن GLuc – اصلاح شده که به مدت ۶ روز ادامه می یابد (۳ تکرار). (کلیه داده های ارائه شده به عنوان میانگین + SD، $p < 0.05$ * (آزمون t Welch))

در اینجا نیز افزایش قابل ملاحظه تولید پروتئین توسط circRNA در طول عمر آن، در مقایسه با هر دو mRNA های خطی اصلاح نشده و اصلاح شده دیده می‌شود(شکل ۶c). ما این بیان افزایش یافته یا با ثبات را حتی در یک پیش‌ساز circRNA کلاهک دار و پلی آدنیله شده، حاوی کلیه توالی‌های جانبی نیز مشاهده نکردیم (شکل تکمیلی ۶.a ،b).

بحث

دستیابی به تولید پروتئین پایدار از mRNA برون‌زاد یک هدف دیرینه در بیوتکنولوژی mRNA است. تلاش های قبلی برای افزایش پایداری mRNA پیشرفت های اندکی داشته است(۱۰, ۱۳–۱۶). امکان سازگاری RNA حلقوی به منظور افزایش پایداری mRNA به علت کارایی پایین تولید circRNAها، دشواری تخلیص circRNAها و بیان ضعیف پروتئین توسط آن‌ها تا کنون نادیده گرفته شده است. در واقع، این ها موانعی هستند که باید پیش از ارزیابی کامل ثبات تولید پروتئین از circRNA به طور کامل برطرف شوند. پیش از این، سیستم مبتنی بر اینترون کاتالیتیک گروه ۱ پس و پیش شده برای حلقوی کردن طیف گسترده ای از توالی های RNA کوتاه در شرایط آزمایشگاهی استفاده شده است؛ گزارش شده است که کارآیی حلقوی سازی در RNA های بین ۵۸ و ۱۲۴ نوکلئوتید به ۹۰٪ می‌رسد(۲۰, ۲۱). RNAهای طولانی تر (حداکثر تا ۱,۵ کیلوباز) به تازگی با استفاده از همین روش حلقوی شده اند، اما بازده circRNA های مربوط به این ساختار ها گزارش نشده است (۲۷). سیستم مبتنی بر اینترون کاتالیتیک گروه ۱ پس و پیش شده مهندسی شده که در اینجا شرح داده شده، اجازه می‌دهد توالی هایی به طول حتی تا ۵ هزارباز حلقوی شوند، که به‌طور قابل توجهی طویل‌تر از توالی‌های قبلاً گزارش شده است. علاوه بر این، ما می توانستیم کارایی حلقوی سازی را، برای طیف وسیعی از نواحی رمزگذار دخولی با ترکیب توالی متنوع، تقریباً به ۱۰۰٪ برسانیم. همچنین نشان دادیم که circRNA بهینه سازی شده، قادر به تولید مقادیر زیادی پروتئین است و همچنین می‌تواند با استفاده از HPLC به طور موثری تخلیص شود. سرانجام، نشان دادیم که circRNA می تواند مقادیر بیشتری از پروتئین را مدت زمان طولانی‌تر نسبت به RNAهای خطی (اصلاح‌نشده و اصلاح‌شده) مورد استفاده در این مطالعه، تولید کند. این شواهد نشان می‌دهد که circRNA دارای پتانسیل مناسبی برای جاگزینی mRNA در بیان پایدار پروتئین است. با این حال، باید کار بیشتری انجام شود تا به طور کامل پتانسیل‌های استفاده از circRNA در کاربردهای درمانی و غیر درمانی از جمله بهینه سازی بیشتر ترجمه پروتئین از circRNA و یک مطالعه جامع در مورد کارآیی ترجمه و پایداری circRNA در سایر انواع و بافتهای سلولی بررسی شود. برش و شکست circRNA های طویل مشاهده شده طی فرآیند تولید circRNAها (شکل ۲.a تکمیلی) که احتمالاً توسط اتوهیدرولیز به واسطه منیزیم(۲۸)، انجام می‌شود، به طور قابل توجهی بازده پیرایش را کاهش می‌دهد و نقص دیگری است که نیاز به بهبود دارد. circRNA های طویل‌تر با توجه به اندازه‌شان فرصت بیشتری برای اتو هیدرولیز پیدا می‌کنند. این تخریب برای circRNA نسبت به RNA خطی مشهودتر است زیرا تنها یک برش در circRNA به صورت یک تک باند بر روی ژل آشکار می شود، در حالی که تک برش های RNA خطی به شکل اسمیر در طیف وسیعی از وزنهای مولکولی پخش می‌شود. این پدیده در شکل ۳.b ، چاهک ۷ (FLuc، R–، و همچنین چندین چاهک دیگر) قابل مشاهده است. دو باند اصلی در این چاهک وجود دارد، باند بالایی نشان دهنده circRNA دست نخورده است در حالی که باند اصلی پایین نشان دهنده circRNA برش خورده است. هیچ اسمیری اطراف باند circRNA دست نخورده دیده نمی‌شود، در حالی که اسمیر در اطراف باند circRNA برش خورده قابل مشاهده است. باند circRNA برش خورده نشان دهنده برش های منفردی است که در موقعیتهای تصادفی در یک circRNA برش نخورده اتفاق می افتد، در حالی که اسمیری که از آن باند منشا می‌یابد، نشان دهنده برش های اضافی است که در موقعیتهای تصادفی در circRNA خطی شده رخ می‌دهد؛ بنابراین این برش باعث شکل‌گیری محصولات با وزن های مولکولی مختلف می شود. انتظار نداریم که برش circRNA، چالشهایی فراتر از چالش های حفظ پایداری RNA خطی در محلول و در طول پردازش، ایجاد کند.

اخیراً نشان داده شده است که تراآلائی سلول‌ها با circRNA برون زاد منجر به فعال شدن محصولات ژن ضد ویروسی

مانند OAS، PKR و RIG-I می‌شود و احتمالاً RIG-I مؤلفه اصلی مسئول پاسخ سلول در برابر circRNA است(۲۷). در ادامه ما مراتب آماده سازی circRNA خود را برای بررسی این که پاسخ سیتوکینی IFN-α و IL-6 در سلول‌های A549 نسبت به گروه کنترل ناترا آلوده مشاهده کردیم، اگرچه این پاسخ با پاسخ مربوط به mRNA های خطی اصلاح نشده قابل مقایسه بود (شکل تکمیلی شکل a۷). همچنین یک القاء ۳۰ برابری از IFN-β1 و یک القاء ۳ برابری از رونوشت های RIG-I پس از ترا آلائی سلول‌های HeLa با circRNA، در مقایسه با ترا آلائی مُک[1] (شکل تکمیلی b.۷) انجام شد. مشاهده کردیم اثر القای ۳ برابری mRNAی RIG-I به طور قابل توجهی کمتر از القا ۵۰۰ برابری بود که توسط چن و همکاران در سلول های HeLa (۲۷) گزارش شده است و برای سرکوب ترجمه پروتئین و پایداری بیان پروتئین از circRNA در این محتوای سلولی کافی نبود (شکل d.۶). تفاوت‌های مشاهده شده در فعال سازی RIG-I را می توان به تفاوت در ساختار طراحی و روش‌های تخلیص circRNA نسبت داد. برای سرکوب بیشتر یک پاسخ ایمنی در مقابل circRNA، روش‌هایی مانند اصلاح نوکلئوزید به طور بالقوه می‌تواند در طراحی circRNA گنجانیده شود(۱۳, ۱۶). همچنین تجزیه و تحلیل بیشتری برای بررسی ایمنی زایی circRNA اگزوژن در زمینه کارکردهای بالقوه، مورد نیاز است.

سرانجام، نشان دادیم که در شرایط آزمایشگاهی، circRNA با استفاده از یک واکنشگر ترا آلائی لیپیدی کاتیونی به خوبی سلول‌های هدف منتقل می شود. با این حال، تحقیقات تکمیلی در مورد ابزار مناسب برای تحویل circRNA در شرایط *in vitro* و *in vivo* مورد نیاز است.

روش‌ها

کلونیگ و جهش زایی. توالی رمزگذار پروتئین، گروه I اینترون‌های خودپیرایشی و توالی‌های IRES به روش شیمیایی سنتز شدند (Integrated DNA Technologies) و در یک حامل پلاسمیدی خطی شده با PCR که حاوی توالی پروموتری RNA T7 پلیمراز است توسط روش گیبسون اسمبلی و با استفاده از کیت اسمبلی NEBuilder HiFi DNA (متعلق به شرکتNew England Biolabs) کلون شده‌اند. نواحی فاصله‌گذار، بازوهای هومولوگ و سایر تغییرات جزئی با استفاده از کیت جهش زایی هدفمند Q5 (Biolabs New England) ایجاد شدند. پرایمرهای استفاده شده در فایل جداگانه ای ارائه شده اند.

طراحی circRNA و تخلیص آن. ساختار RNA با استفاده از RNAFold پیش بینی شد(۱۸). mRNA خطی ژن Gluc اصلاح شده از Trilink Biotechnologies خریداری شد و شامل ناحیه کدینگ GLuc بهینه سازی شده، و یک منطقه اختصاصی مصنوعی 5' UnTranslated Region، و یک آلفا گلوبین 3′ untranslated region، یک کپ، یک دم پلی A ۱۲۰ نوکلئوتیدی و جایگزینی کامل یوریدین و سیتوزین در کل mRNA با pseudouridine و ۵ متیل سیتوزین است. mRNA ژن hEpo اصلاح شده نیز از بیوتکنولوژی Trilink تهیه شد و از نظر ساختاری با mRNA Trilink Gluc یکسان بود، به جز اینکه با ۵-methoxyuridine اصلاح شده و منطقه رمزگذار برای اریتروپویتین انسانی اصلاح شد. RNA خطی اصلاح نشده شامل یک ناحیه رمزگذار GLuc یا hEpo بود اما مناطق خاص ترجمه نشدنی(UTR) را شامل نمی‌شد. پیش سازهای mRNA خطی اصلاح نشده یا circRNA با رونویسی در شرایط in vitro از یک الگوی DNA پلاسمیدی خطی با استفاده از یک کیت سنتز RNA با بازده بالا T7 (Biolabs New England) ساخته شدند. پس از رونویسی در شرایط *in vitro* ، واکنش دهنده‌ها به مدت ۲۰ دقیقه تحت تیمار DNase I (New England Biolabs) قرار گرفتند. پس از تیمار با DNase، mRNA خطی اصلاح نشده با استفاده از کیت کیلن آپ رونویسی MEGAclear (Ambion) با ستون تخلیص شد. سپس RNA به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۰°C گرم شد و بلافاصله به مدت ۳ دقیقه روی یخ قرار گرفت و پس از آن RNA با استفاده از mRNA cap-2′-O methyltransferase (NEB) و آنزیم کپینگ واکسینیا (NEB)، تحت دستورالعمل سازنده، کلاهک گذاری شد. با استفاده از*E. coli* PolyA Polymerase (NEB) مطابق دستورالعمل سازنده، دم‌های پلی آدنوزین به رونوشت خطی اضافه شدند و mRNA کاملاً پردازش شده با ستون تخلیص شد. برای circRNA، پس از تیمار با DNase، GTP تا غلظت نهایی ۲ میلی مولار اضافه شد و سپس واکنش دهنده‌ها در ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه گرم شدند. سپس RNA به روش ستونی تخلیص شد.

[1] Mock transfection: عبارت است ترانسفکشن بدون دی ان ای به منظور بررسی اثر بالقوه ترنسفکشن(مترجم)

در بعضی موارد، RNA خالص شده به صورت مجدد تحت شرایط حلقوی شدن قرار گرفت:RNA به مدت ۵ دقیقه تا ۷۰°C گرم شد و سپس بلافاصله به مدت ۳ دقیقه در یخ قرار گرفت و پس از آن GTP به غلظت نهایی ۲ میلی مولار به همراه بافر شامل منیزیم (50mM Tris-HCl, 10 mM MgCl2, 1 mM DTT, pH 7.5; New England Biolabs) اضافه شد. در مرحله بعد RNA به مدت ۸ دقیقه تا ۵۵°C گرم شد و سپس با ستون تخلیص شد. برای تغلیظ CircRNA، 20 میکروگرم RNA در آب رقیق شد (۸۶ میکرولیتر نهایی) و سپس در ۶۵°C به مدت ۳ دقیقه گرم شد و در نهایت و به مدت ۳ دقیقه روی یخ سرد شد. ۲۰واحد RNase R و ۱۰ میکرولیتر از بافر ۱۰ × RNase R(Epicenter) اضافه شد، و واکنش در ۳۷°C به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد. ۱۰ واحد RNase R دیگر نیز در میانه واکنش اضافه شد. RNA هضم شده با RNase با ستون تخلیص جدا شد. RNA روی ژل‌های آگارز ۲٪ E-gel EX2 (Invitrogen) روی iBase E-gel (Invitrogen) با استفاده از برنامه E-gel EX 1-2٪ جدا و تفکیک شد. لدر(ssRNA (NEB به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. ما با استفاده از دیگر سیستم‌های ژل آگارز قادر به جداسازی مناسب circRNA نبودیم. باندها با استفاده از transillumination نور آبی مشاهده شدند و با استفاده از ImageJ کمّی شدند. تصاویر ژل آگارز پردازش نشده در شکل تکمیلی ۸ موجود است. تصاویر ژل آگارز پردازش نشده از جمله لدر های مربوط به ژل‌های شکل های ۱ و ۲، در شکل تکمیلی ۹ موجود است. برای استخراج ژل، باند های مربوط به circRNA از ژل خارج شدند و سپس با استفاده از کیت استخراج RNA ژل Zymoclean (Zymogen) استخراج شدند. برای کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا، ۳۰ میکروگرم RNA در ۳ درجه سانتیگراد به مدت ۳ دقیقه گرم شد و سپس به مدت ۳ دقیقه روی یخ قرار گرفت. RNA از طریق ستون جداسازی بر اساس اندازه ۴٫۶× 300mm میلی متر با اندازه ذرات ۵ میکرومتر و اندازه منافذ ۲۰۰ (Sepax Technologies ؛ تعداد قطعه: P-4630215980) بر روی HPLC سری ۱۱۰۰ Agilent در بافر TE RNase-free (۱۰ میلی متر تریس، ۱ میلی متر EDTA، pH: 6) با سرعت جریان ۰٫۳ میلی لیتر در دقیقه ران شد. RNA با جذب اشعه ماوراء بنفش در ۲۶۰ نانومتر نوری تشخیص داده شد، اما بدون این که تحت تابش اشعه ماوراء بنفش قرار گیرد، جمع آوری شد. قطعات RNA حاصله با آمونیوم استات ۵ مولار رسوب داده شدند، مجدد در آب حل شدند و سپس در بعضی موارد با RNase R همان طور که در بالا توضیح داده شد تیمار شدند.

آنالیز برش با RNase H. واکنش‌های پیرایشی circRNA با RNase R غنی می‌شوند و سپس با ستون، تخلیص می‌شوند و در ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه با حضور یک پروب DNA (داده های تکمیلی ۱) در مقدار اضافی پنج برابر مولار، گرم می‌شوند و سپس در دمای اتاق aneal خواهند شد. واکنش دهنده‌ها با RNase H (Biolabs) در بافر واکنش ارائه شده به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد تیمار می شوند. RNA پس از هضم از ستون شسته می‌شود.

رونویسی معکوس و سنتز cDNA. برای توالی یابی مجاورت محل پیرایش، circRNA حاصل از واکنش‌های پیرایش با RNase R تغلیظ شده و سپس برای تخلیص با ستون در ۶۵°C به مدت ۵ دقیقه گرم شدند و به مدت ۳ دقیقه روی یخ سرد شدند تا ساختار ثانویه استاندارد را ایجاد کنند. واکنش رونویسی معکوس با Superscript IV (Invitrogen) انجام شد، همان طور که توسط سازنده با استفاده از یک پرایمر اختصاصی برای یک ناحیه داخلی circRNA توصیه شده است. محصول PCR برای توالی یابی با استفاده از Q5 پلیمراز (New England Biolabs) و یک جفت پرایمر پوشاننده اسپلایس جانکشن سنتز شد.

کشت بافت و ترا آلائی. سلول‌های HEK293، HEK293-GFP، HeLa و (ATCC) A549 در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و ۵٪ CO2 در محیط کشت اصلاح شده Eagle Dulbecco (گلوکز ۴۵۰۰ میلی گرم در لیتر) با ۱۰٪ سرم جنین گاوی(hiFBS، Gibco) غیرفعال شده با حرارت و پنی سیلین / استرپتومایسین کشت داده شدند. سلولهای HEK293 و HeLa برای مایکوپلاسما منفی آزمایش شدند. به محیط Min6 (هدیه ای از گوردون C. وایر، مرکز دیابت Josos) علاوه بر این با ۵٪ hiFBS، 20 میلی مول HEPES (گیبکو) و محلول بتا-مرکاپتواتانول ۵۰ میکرومولار (BioRad) اضافه شد. سلول‌ها هر ۲-۳ روز پاساژ داده شدند. برای کلیه مجموعه‌های داده‌های circRNA ارائه شده در شکل ۲ به جز Cas9، 40-100 ng از محصولات پیرایش تیمار شده RNase R یا circRNA های تخلیص شده با HPLC به صورت معکوس به ۱۰،۰۰۰ سلول / HEK293

100 میکرولیتر در هر چاهک از یک پلیت ۹۶ تایی با استفاده از لیپوفکتامین MessengerMax منتقل شدند. برای Cas9، 100 نانوگرم از sgRNA رونویسی شده در شرایط in vitro، به صورت معکوس به تنهایی، و همراه با ۱۵۰ نانوگرم محصول پیرایش Cas9 تیمار شده با RNase با استفاده از MessengerMax به ۵۰،۰۰۰ سلول HEK293-GFP 500uL / در هر چاهک از یک پلیت ۲۴ چاهکی منتقل شد. برای کلیه مجموعه داده های RNA ارائه شده در شکل ۳، مقادیر مساوی از هر RNA (معادل ۴۰ تا ۸۰ نانوگرم بسته به طول RNA) به طور معکوس به ۱۰،۰۰۰ سلول HEK293 ، HeLa یا A549 / 100 UL در هر چاهک پلیت ۹۶ چاهکی منتقل شدند. برای آزمایشاتی که بیان پروتئین در نقاط زمانی مختلف مورد بررسی قرار گرفت، محیط ها در زمان های مشخص به طور کامل حذف و جایگزین شدند. سلول‌های Min6 در پلیت‌های ۹۶ چاهکه بین ۶۰-۸۰٪ ترانسفکت شدند. اندازه نمونه ها بر اساس آزمایشات پایلوت برای تعیین واریانس سنجش و به حداقل رساندن مصرف واکنش دهنده‌ها به نحوی که بتواند تفاوت معنی دارو قابل تشخیصی ایجاد کند، انتخاب شدند.

آنالیز بیان پروتئین. برای سنجش لومینسانس، سلول‌ها و محیط‌ها ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی گردآوری شدند. برای تشخیص لومینسانس از لوسیفراز گائسیا، ۱۰-۲۰ میکرولیتر از محیط کشت بافت به یک پلیت صاف و سفید با دیوار صاف (کورنینگ) منتقل شد. ۲۵ میکرولیتر از معرف BioLux Gaussia Luciferase (New England Biolabs) شامل تثبیت کننده به هر نمونه اضافه شد و میزان لومینسانس بر روی یک میکروپلیت ریدر 200Pro Infinite (Tecan) پس از ۴۵ ثانیه اندازه گیری شد. برای تشخیص لومینسانس از Firefly لوسیفراز، ۱۰۰ میکرولیتر از معرف Bruc-Glo Luciferase (Promega) به هر چاهک اضافه شد، و مخلوط به مدت ۵ دقیقه انکوبه شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت و مخلوط معرف لوسیفراز به یک صفحه صاف و کف دیواره سفید منتقل شده و همان طور که در بالا توضیح داده شد، لومینسانس اندازه گیری شد. فلوئورسانس GFP ۲۴ ساعت پس از ترا آلائی شناسایی شد و تصاویر با استفاده از یک تصویرگر سلول EVOS FL (Invitrogen) گرفته شد. اریتروپویتین توسط ساندویچ فاز جامد ELISA (R&D Systems) اساساً مطابق دستورالعمل سازنده تشخیص داده شد به جز سوپرناتانت سلولی که ۲۴ ساعت بعد از ترا آلائی استفاده شد و نمونه ها قبل از استفاده ۱: ۲۰۰ رقیق شدند. Interferon-α و interleukin 6 با روش ایمونوآسی Fireplex (Abcam) تشخیص داده شدند.

فلوسایتومتری. خاموشی GFP با واسطه CRISPR-Cas9 با فلوسیتومتری جریان ۹۶ ساعت پس از ترا آلائی تشخیص داده شد. سلولهای کنترل HEK293-GFP و HEK293 در محیط اصلاح شده Dulbecco (۴۵۰۰ mg / L گلوکز) با ۱۰٪ سرم جنینی گاو و پنی سیلین / استرپتومایسین تریپسینه شدند و به حالت تعلیق درآمدند. سلولها سپس دو بار در بافر FACS (PBS، 5٪ سرم جنینی گاو غیر فعال شده با گرما) شسته شدند و در بافر FACS حاوی Sytox Blue Dead Cell Stain (ترمو فیشر) طبق دستورالعمل های سازنده، یا بافر FACS به تنهایی برای GFP و کنترل های خالی دوباره تعلیق شدند. فلوئورسانس برای ۱۰۰۰۰ رویداد بر روی یک فلوسیتومتر جریان BD FACS Celesta (BD Biosciences) تشخیص داده شد. داده ها در Flowjo (Flowjo LLC) تجزیه و تحلیل شد.

رونویسی معکوس و qPCR. در مجموع ۵۰،۰۰۰ سلول HeLa با ۲۰۰ نانوگرم از GLuc circRNA یا mRNA خطی اصلاح شده به طور معکوس تراآلوده شدند. سلولها شسته شدند و RNA پس از ترا آلائی با استفاده از کیت RNeasy Mini Plus (Qiagen) طبق دستورالعمل های سازنده، ۲۴ ساعت بعد، برداشت و تخلیص شدند. سنتز cDNA رشته اول از RNA کل با کیت رونویسی معکوس cDNA با ظرفیت بالا با استفاده از هگزامرهای تصادفی انجام شد (ترمو فیشر علمی). پرایمرهای TaqMan اختصاصی ژن به عنوان Assay-on-Demand از (Thermo Fisher Scientific)، GAPDH (Hs99999905_m1)، DDX58 (Hs01061436_m1) ، IFN-β1 (Hs01077958_s1) خریداری شدند. واکنش qPCR با استفاده از ابزار LightCycler 480 Probe Master Mix (Roche) و ابزار LightCycler 480 (Roche) انجام شد. برای هر نمونه، واکنش real-time PCR به صورت دوتایی انجام شد و میانگین مقادیر چرخه آستانه(Ct) به دست آمده برای محاسبات بیشتر با استفاده از روش مقایسه Ct مورد استفاده قرار گرفت. سطح بیان ژن با سطح بیان ژن هاوس کیپینگ GAPDH نرمالایز شد.

محاسبات آماری. تجزیه و تحلیل آماری نتایج با استفاده از آزمون t زوج و بدون زوج Welch انجام شد، با فرض واریانس نابرابر. اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد که $P < 0.05$. برای کلیه مطالعات، داده های ارائه شده نماینده یک آزمایش مستقل است.

منابع

1. Barrett, S.P. & Salzman, J. Circular RNAs: analysis, expression and potential functions. *Development* **143**, 1838-1847 , (2016).
2. Chen, L.-L. & Yang, L. Regulation of circRNA biogenesis. *RNA biology* **12**, 381-388 , (2015).
3. Jeck, W.R. & Sharpless, N.E. Detecting and characterizing circular RNAs. *Nature biotechnology* **32**, 453-461 , (2014).
4. Wang, Y. & Wang, Z. Efficient backsplicing produces translatable circular mRNAs. *Rna* **21**, 172-179, (2015).
5. Hansen, T.B. et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges. *Nature* **495**, 384-388 , (2013).
6. Li, Z. et al. Exon-intron circular RNAs regulate transcription in the nucleus. *Nature structural & molecular biology* **22**, 256 , (2015).
7. Legnini, I. et al. Circ-ZNF609 is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis. *Molecular cell* **66**, 22-37. e29 , (2017).
8. Pamudurti, N.R. et al. Translation of circRNAs. *Molecular cell* **66**, 9-21. e27 , (2017).
9. Enuka, Y. et al. Circular RNAs are long-lived and display only minimal early alterations in response to a growth factor. *Nucleic acids research* **44**, 1370-1383 , (2016).
10. Kaczmarek, J.C., Kowalski, P.S. & Anderson, D.G. Advances in the delivery of RNA therapeutics: from concept to clinical reality. *Genome medicine* **9**, 60 , (2017).
11. Fink, M., Flekna ,G., Ludwig, A., Heimbucher, T. & Czerny, T. Improved translation efficiency of injected mRNA during early embryonic development. *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists* **235**, 3370-3378, (2006).
12. Ferizi, M .et al. Stability analysis of chemically modified mRNA using micropattern-based single-cell arrays. *Lab on a Chip* **15**, 3561-3571, (2015).
13. Holtkamp, S. et al. Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells. *Blood* **108**, 4009-4017 , (2006).
14. Kuhn, A. et al. Phosphorothioate cap analogs increase stability and translational efficiency of RNA vaccines in immature dendritic cells and induce superior immune responses in vivo .*Gene therapy* **17**, 961-971, (2010).
15. Presnyak, V. et al. Codon optimality is a major determinant of mRNA stability. *Cell* **160**, 1111-1124 , (2015).
16. Kariko, K., Muramatsu, H., Ludwig, J. & Weissman, D. Generating the optimal mRNA for therapy: HPLC purification eliminates immune activation and improves translation of nucleoside-modified, protein-encoding mRNA. *Nucleic acids research* **39**, e142-e142 , (2011).
17. Petkovic, S. & Müller, S. RNA circularization strategies in vivo and in vitro. *Nucleic acids research* **43**, 2454-2465 , (2015).
18. Beaudry, D. & Perreault, J.-P. An efficient strategy for the synthesis of circular RNA molecules. *Nucleic acids research* **23**, 3064 , (1995).
19. Micura, R. Cyclic Oligoribonucleotides (RNA) by Solid-Phase Synthesis. *Chemistry–A European Journal* **5**, 2077-2082 , (1999).
20. Puttaraju, M. & Been, M. Group I permuted intron-exon (PIE) sequences self-splice to produce circular exons. *Nucleic acids research* **20**, 5357-5364 , (1992).
21. Ford, E. & Ares, M. Synthesis of circular RNA in bacteria and yeast using RNA cyclase ribozymes derived from a group I intron of phage T4. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**, 3117-3121 , (1994).
22. Vicens, Q., Paukstelis, P.J., Westhof, E., Lambowitz, A.M. & Cech, T.R. Toward predicting self-splicing and protein-facilitated splicing of group I introns. *Rna* **14**, 2013-2029 , (2008).
23. Borman, A.M., Le Mercier, P., Girard, M. & Kean, K.M. Comparison of picornaviral IRES-driven internal initiation of translation in cultured cells of different origins. *Nucleic acids research* **25**, 925-932. (1997).
24. Imataka, H., Gradi, A. & Sonenberg, N. A newly identified N-terminal amino acid sequence of human eIF4G binds poly (A)-binding protein and functions in poly (A)-dependent translation. *The EMBO journal* **17**, 77489-480 , (1998).
25. Kahvejian, A., Svitkin, Y.V., Sukarieh, R., M'Boutchou, M.-N. & Sonenberg, N. Mammalian poly (A)-binding protein is a eukaryotic translation initiation factor, which acts via multiple mechanisms. *Genes & development* **19**, 104-113 (2005).
26. Weingarten-Gabbay, S. et al. Systematic discovery of cap-independent translation sequences in human and viral genomes. *Science* **351** (2016).
27. Chen, Y.G. et al. Sensing self and foreign circular RNAs by intron identity. *Molecular cell* **67**, 228-238. e225 (2017).
28. Li, Y. & Breaker, R.R. Kinetics of RNA degradation by specific base catalysis of transesterification involving the 2 ‘-hydroxyl group. *Journal of the American Chemical society* **121**, 5364-5372(1999).

مقدمه‌ای بر توالی‌یابی نسل جدید و کاربردهای آن

مینا امین[۱]، الهه محمودی[۱*] و مهرداد زینلیان[۲]

[۱] کاشان، دانشگاه کاشان، دانشکده شیمی، گروه زیست شناسی سلولی و مولکولی

[۲] اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی

چکیده

تعیین توالی DNA از مهم‌ترین روش‌ها در زیست‌شناسی است که توسط آن می‌توان ترتیب قرار گرفتن نوکلئوتیدها را در یک قطعه از DNA مشخص کرد. چندین روش متفاوت در تعیین توالی DNA وجود دارد که روش‌های قدیمی‌تر، مانند روش Sanger زمان‌بر و پرهزینه است و لذا محققان برای کاهش هزینه‌های توالی‌یابی و توان عملکردی بالا روش های جدیدتر توالی-یابی را ابداع کرده اند؛ امروزه توالی‌یابی را می‌توان به سه نسل تقسیم‌بندی کرد. روش های نسل جدید قادر به توالی‌یابی سریع و همزمان قطعات بزرگ DNA است. به کمک روش های نسل جدید می‌توان توالی‌یابی کل ژنگان، توالی‌یابی مناطق هدف، تعیین توالی از نو و سرهم‌بندی، تعیین توالی RNA و تغییرات وراژنتیکی را بررسی کرد. با توجه به اینکه هر روش از توالی‌یابی نسل جدید معایب و مزایایی دارند، از این رو مهم‌ترین امر در زمینه روش های توالی‌یابی این است که محققین بر اساس ویژگی‌های طرح پژوهشی خود، مناسب‌ترین روش توالی‌یابی را از نظر کارایی انتخاب کنند.

کلیدواژگان: تعیین توالی DNA، نسل بعدی توالی یابی، روش سَنگِر، روش ماکسام-گیلبرت، توالی‌یابی موازی بزرگ، توالی یابی تک مولکول.

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۱۵۵۹۱۳۰۴۲، پست الکترونیکی: e.mahmoodi_kh@kashanu.ac.ir

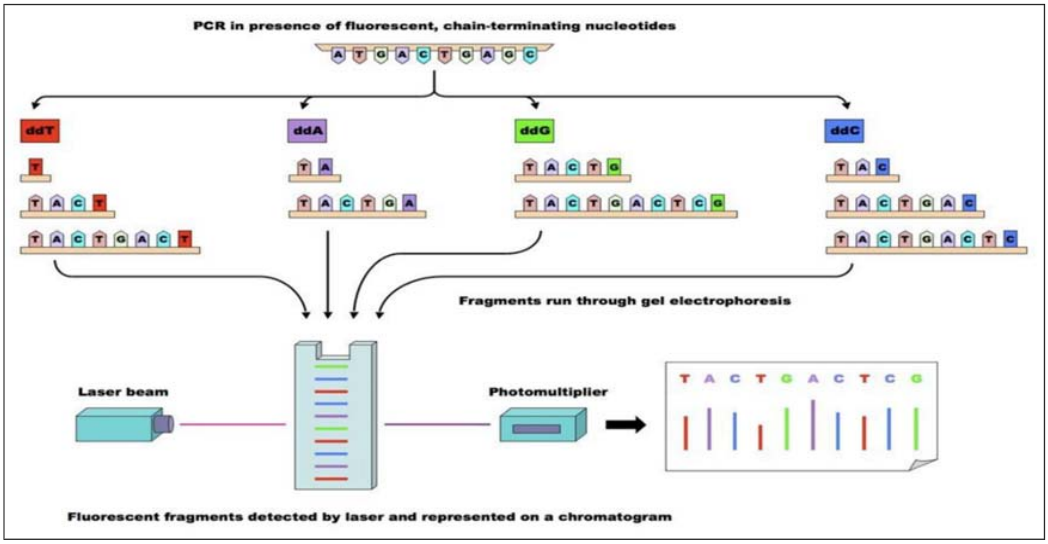
مقدمه

تعیین توالی ژنتیکی از اوائل دهه ۱۹۷۰ همواره مورد توجه دانشمندان و محققان علوم زیستی، زیست شناسی مولکولی و ژنتیک پزشکی، علوم جانوری و گیاهی بوده، روش‌های متنوعی برای این منظور ابداع شده است. توالی‌یابی نوکلئوتیدی تعیین ترتیب قرارگیری نوکلئوتیدها (A, T, C, G) در یک قطعه دزکسی‌ریبونوکلئیک‌اسید (DNA) یا ریبو-نوکلئیک‌اسید (RNA) است. روش‌های متنوع توالی یابی مستقیم و یا غیر مستقیم می توانند توالی نوکلئوتیدها را مشخص کنند. تعیین توالی نوکلئوتیدی بخش جدایی ناپذیری از علوم و تحقیقات پایه زیست شناسی است و در علوم پزشکی، ژنتیک، زیست فناوری، تشخیص‌های جنایی و پزشکی قانونی، زیست شناسی سیستمی، ویروس‌شناسی، باکتری‌شناسی و تشخیص طبی بیماری‌های ژنتیکی پیش و پس از تولد کاربرد دارد.

پیشرفت چشمگیر و بسیار سریع در تعیین توالی که با تکنولوژی مدرن به دست آمد، زمینه یافتن توالی کامل (ژنگان) موجودات گوناگون شامل ژنگان انسان و سایر جانوران، گیاهان و گونه‌های ویروسی و باکتری را فراهم کرد. روش‌های قدیمی توالی‌یابی بسیار پیچیده و وقت‌گیر بوده‌اند و در طول زمان از شروع آن در اوائل دهه ۱۹۷۰ تاکنون دائماً تغییر یافته‌اند و روشهای نسل جدید توالی یابی (NGS= new generation sequencing) توالی ها بسیار ساده‌تر و به مراتب سریع‌تر و دقیق‌تر انجام پذیرند. بر پایهٔ پیشرفت ها سه نسل توالی یابی معرفی شده است: نسل اول توالی‌یابی از ۱۹۷۷ تا ۲۰۰۷ (روش سنگر، ماکسام – گیلبرت)، نسل دوم توالی‌یابی از ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۳ (Massive parallel sequencing) و نسل سوم توالی‌یابی از ۲۰۱۲ تا کنون، روش تک مولکول (Single molecule sequencing) است. یکی از نخستین نمونه‌های تعیینِ توالی کامل، تعیین توالی RNA مربوط به ژنگان باکتریوفاژ MS2 بود که در دانشگاه GHENT بلژیک بین سال‌های ۱۹۷۲ و ۱۹۷۶ انجام شد، این موضوع نقطه عطف توالی‌یابی ژن‌ها بود(۱).

نسل اول توالی‌یابی

اولین نسل از تکنولوژی توالی‌یابی توسط سنگر و ماکسام - گیلبرت بنیان نهاده شد که به ترتیب بر اساس سنتز توالی و ایجاد برش در توالی بودند. تا قبل از سال ۲۰۰۸ روش سنگر در پژوهش‌های زیستی روش غالب بود.



شکل ۱- توالی‌یابی بخشی از DNA توسط روش سنگر: نمونه در بردارنده DNA تک رشته را با تقسیم به ۴ بخش یکسان و به درون چهار لوله آزمایش مختلف انتقال داده، سپس همه‌ی مواد مورد نیاز برای همانندسازی نیز به درون هر لوله اضافه می‌شود. این قطعات بر روی ژل پلی‌آکریل‌آمید سوار می‌شوند(۱).

چهار برچسب رنگی استاندارد فلوئورسنت که هر رنگ آن به یکی از ۴ باز شرکت‌کننده در ساختمان DNA بود با استفاده ازالکتروفورز مویرگی به عنوان روشی برای شناسایی اتوماتیک بازها به صورت تجاری توسط شرکتهای Applied Biosystems، Life Technologies و Beckman Coulter عرضه می‌شود. کاربرد دی‌دئوکسی نوکلئوزیدتری‌فسفات در روش سنگر به عنوان ختم دهنده زنجیر DNA است. روش کلاسیک ختم رشتهٔ در حال سنتز نیاز به DNA تک رشته‌ای همچون الگو، آغازگر و DNA پلیمراز، دی‌دئوکسی‌نوکلئوزیدتری‌فسفات و نوکلئوتیدهای تغییر یافته (dideoxyNTPs) برای ختم ساخته شدن رشته DNA دارد. (شکل ۱) بنیان این روش، به کارگیری نوکلئوتیدهای ویژه ای به نام ddNTPs (dideoxynucleotids) بوده که فاقد گروه OH بر روی کربن ′۳ خود هستند و اگر در ساختار یک اسید نوکلئیک قرار گیرند این زنجیره دیگر بلندتر نخواهد شد (۱ و ۲).

توالی‌یابی بر اساس روش ماکسام-گیلبرت، بر پایه هضم شیمیایی بوده و نیازی به پلیمریزاسیون قطعه مورد نظر ندارد و یک فسفات رادیواکتیو به انتهای ′5 از DNA دو رشته اضافه می شود (شکل ۲) (۴ ,۳)؛ نخستین پروژه‌ی توالی‌یابی کامل ژنگان انسان (ژنگان کریگ ونتر) در سال ۲۰۰۷ به وسیله‌ی روش توالی‌یابی سنگر به اتمام رسید.

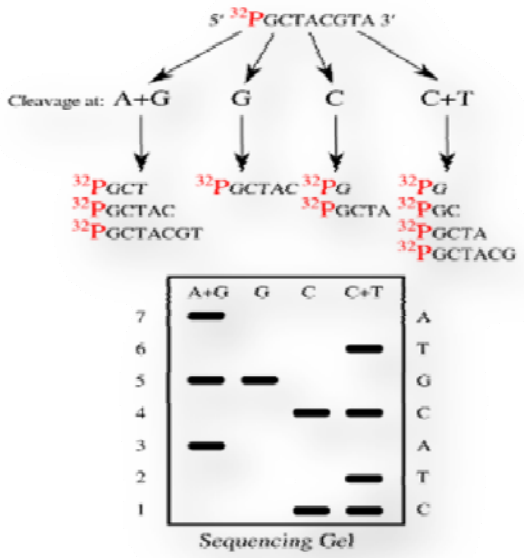
گرچه اکنون دیگر روش غالب توالی‌یابی بر روی بسترهای NGS انجام می‌شود اما هنوز به خاطر صرفه جویی در هزینه ها در پروژه‌هایی که هدف توالی‌یابی یک توالی مشخص از DNA است مانند تشخیص بیومارکرها، آنالیز مسیرها، کاربردهای تشخیصی بالینی، از بستر CE سنگر استفاده می‌شود.

نسل دوم توالی یابی

این نسل شامل چهار روش به شرح زیر است:

روش pyrosequencing، روش Semiconductor Sequencing (Ion Torrent) ، روش illumine و روش ABI (Applied Biosystems) .

نسل دوم توالی‌یابی توسط دستگاه Roche 454 و تحت عنوان پایروسیکوئنسینگ به بازار معرفی شد. Roche 454 از امولسیون PCR جهت تکثیر کلون وار توالی هدف استفاده می‌کند. ماشین توالی‌یابی شامل تعداد فراوانی از چاهک-هایی با حجمی در مقیاس پیکولیتر بود که هر کدام از این چاهک ها در درون خود دارای یک گویچه کوچک و آنزیم‌های توالی‌یابی هستند (شکل۳). پایروسکوئنسینگ از آنزیم لوسیفراز که نور تولید می‌کند جهت تشخیص بازهای تازه سنتز شده در DNA استفاده می‌کند (۵ و۶).



شکل۲- توالی‌یابی به روش ماکسام-گیلبرت: ابتدا فسفات 5' یا 3 انتهایی نشان‌دار می‌شود، سپس به وسیله‌ی اندونوکلئازهای برشی، DNA به دو قطعه ی نامساوی تبدیل می‌شود که هر یک دارای یک فسفر نشاندار است. در مرحله بعد، دو رشته از هم جدا می‌شوند و قطعات توسط الکتروفورز از هم جدا می شوند. در نهایت به روش شیمیایی خاصی نوکلئوتیدها را جدا و توالی DNA را تعیین می‌کنند(۲).

توالی‌یابی به وسیله‌ی ایلومینا از طریق خاتمه‌دهنده برگشت پذیر است، ایلومینا از تکثیر خوشه‌ای توالی هدف بر روی یک سطح جامد استفاده می‌کند (شکل ۴، الف و ب). توالی‌یابی با استفاده از افزودن چهار نوع نوکلئوتید که هرکدام با یک رنگ فلوئورسنت ویژه نشانه گذاری شده، دارای بازهای خاتمه دهنده قابل بازگشت هستند (شکل ۴، ج). برخلاف روش پایروسکوئنسینگ در روش ایلومینا سنتز DNA در هر مرحله تنها با افزودن یک نوکلئوتید صورت می‌گیرد. بعد از ثبت تصاویری که بر اثر افزوده شدن بازهای فلوئورسنت به DNA ایجاد شده اند، فلوئوروفور به همراه خاتمه دهنده‌های قابل بازگشت به کمک مواد شیمیایی از DNA شسته شده، شرایط برای آغاز دور بعدی مهیا می‌شود (۹،۱۰).

شرکت های Applied Biosystem/Life Technologies' SOLiD technology واکنش اتصال برای توالی یابی را با استفاده از پروب‌هایی به کار می گیرند که از همه‌ی اولیگونوکلئوتیدهای محتمل مربوط به یک توالی با طول ثابت، بر اساس محل توالی نشانه‌گذاری شده‌اند (شکل ۵). اولیگو نوکلئوتیدها بعد از قرار گرفتن درکنار یکدیگر به هم متصل می‌شوند. اتصال دلخواه قطعات به وسیله لیگاز منجر به ثبت موقعیت توالی‌ها می‌شود. DNA به صورت کلون وار بر روی گوی‌های فلزی کوچک درون امولسیون PCR تکثیر می‌یابد به نحوی که هر گویچه فقط نسخه های یک قطعه از DNA را دارند. سپس گویچه ها روی اسلایدهای شیشه ای قرار می‌گیرند و توالی‌شان تعیین می شوند. توالی ها از نظر طول و کمیت توالی یابی با روش ایلومینا قابل مقایسه هستند(۱۱، ۱۲).

روش Semiconductor Sequencing (Ion Torrent)، از تغییرات pH ، رها شدن یون H^+ به هنگام سنتز رشته تازه در محیط، برای شناسایی نوکلئوتیدها استفاده می‌شود و در پایان مهره های فلزی دربرگیرنده بیش از یک میلیون DNA تک رشته‌ای به درون ریزچاهک‌هایی انتقال می‌یابد؛ در زیر این چاهک‌ها یک حسگر فوق حساس یونی تعبیه شده است که سریعاً تغییرات pH را ثبت می‌کند و در پایان این تغییرات به صورت یک پیک در نمایشگر آشکار می-شود. چون در این روش نیز در هر مرحله نوکلئوتیدهای همانند و شناخته شده به مخلوط واکنش افزوده می‌شود، می‌توان بر اساس تولید این پیک، توالی DNA را هنگام سنتز به دست آورد (شکل۶)(۱، ۷ و ۸).

انواع روش‌های مربوط به نسل دوم توالی‌یابی از نظر حجم کارایی، طول خوانش و هزینه از یکدیگر متفاوت‌اند. این روش‌ها عموماً از نظر حجم کاری پربازده تلقی می‌شوند

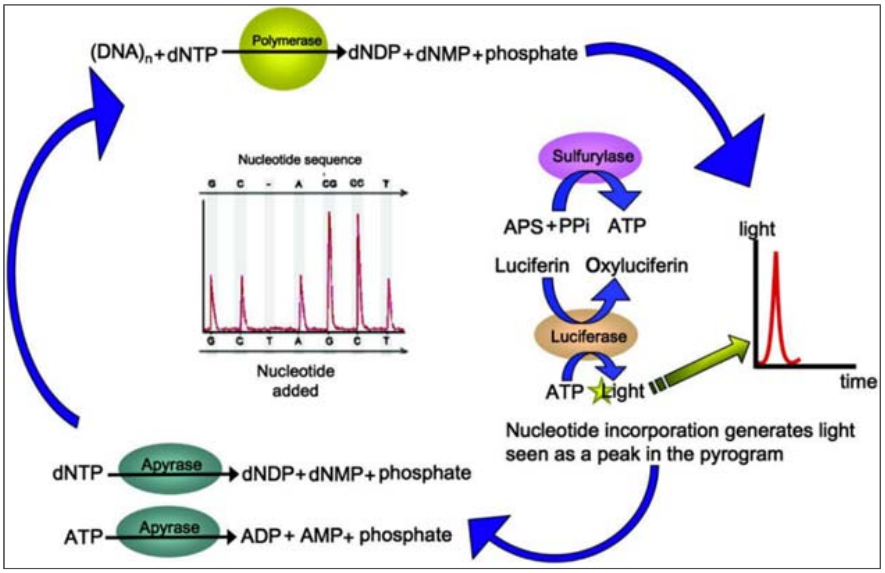
اما قیمت دستگاه‌های آن‌ها بسیار گران و در محدودهٔ نیم تا یک میلیون دلار است. ثبت و خوانش سیگنال‌ها در هر دو روشی که از نشانگرهای فلوئورسنت یا تجزیه پیرو فسفات استفاده می‌کنند نیازمند ردیاب های نوری است. بسترهای نسل دوم توالی‌یابی گرچه دربسیاری از کاربردهای پژوهشی موفق بوده اند اما ردیاب های هزینه بالا، به خاطر سختی آماده سازی نمونه ها و مواد شیمیایی (نشانگذاری فلوئورسنت و واکنش‌های آنزیم سوبسترایی) پیچیدگی کار با ردیاب های نوری و محدودیت طول خوانش دچار محدودیت هایی هستند.

نسل سوم تکنولوژی توالی‌یابی

گرچه روش‌ها و ابزارهای نسل دوم بسیار ارزان و بازدهی بالا دارند ولی در تمامی مراحل باید پیش از ورود به مرحله توالی‌یابی تعداد رشته ها به اندازه ای افزایش یابد که سیگنال برامده قابل ردیابی باشد. این موضوع علاوه بر افزودن به زمان کل فرآیند باعث خطا در توالی‌یابی می‌شود، بنابراین حذف این روش باعث مرتفع شدن این مشکلات خواهد شد. در نسل سوم که توالی‌یابی تک مولکول نامیده شده است، نیازی به افزایش شمار نسخه ها پیش از مرحله توالی‌یابی نیست و مستقیماً پس از آماده‌سازی نمونه ها مرحله توالی‌یابی آغاز می‌شود بنابراین اندازه خطا بسیار پایین است(۱۳).

این نسل شامل روش: (Heliscope (Helicos Single molecule sequencing devi ، روش (SMRT (Single Molecule Real Time یا Pac Bio sequencing و روش Nanopore Sequencing است.

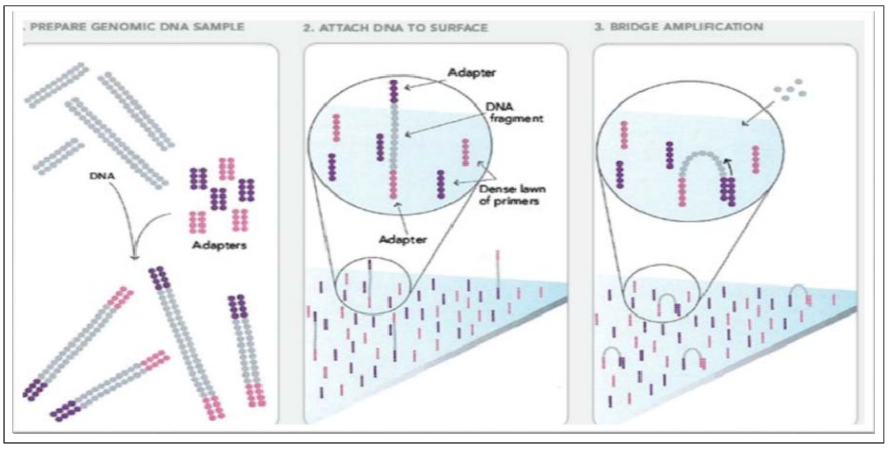
(PacBioRS) یک روش توالی‌یابی تک پلیمراز- تک ملکول به صورت Real time است که می‌تواند 1000 bp را بخواند. هر تراشه دارای یک حالت صفر موجی است (zero-modo waveguide; ZMW) که نانوساختارها را به منافذ ۱۰۰ نانومتری هدایت می‌کند که درون آنها DNA پلیمراز سنتز توالی نوکلئوتیدهای متصل به فسفر نشان دار شده با فلوئوفور انجام می‌دهد. علاوه بر مشخص شدن توالی DNA، نشان دادن سرعت اتصال نوکلئوتید ها ممکن است در آینده به اطلاعات اپی‌ژنتیکی (مانند الگوی متیلاسیون) رشته های DNA کمک کند.



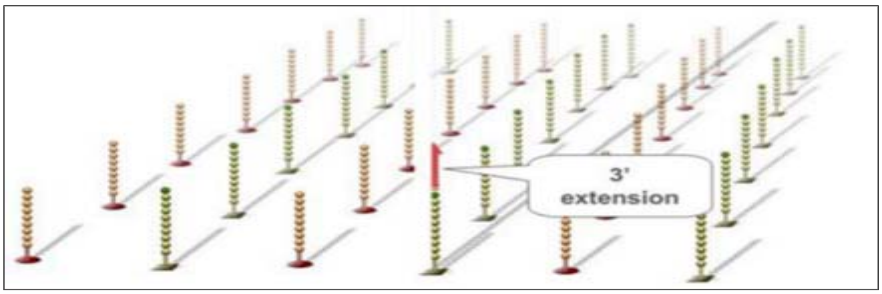
شکل ۳- پایروسکوئنسینگ: این روش براساس ساطع شدن نور استوار است. به طوری که با وارد شدن نوکلئوتید همسان به رشته روبرو گروه پیروفسفات آزاد شده به همراه آدنوزین فسفوسولفات (APS) موجود در مخلوط واکنش در تولید ATP استفاده می شود که این سیگنال نوری به صورت یک پیک ثبت می‌شود که بر پایهٔ آن، توالی DNA در هنگام سنتز به دست می‌آید، توالی رشته الگو براساس نوکلئوتید اضافه شده تعیین می‌شود (۹).

این قالب توانایی توالی‌یابی mRNA را نیز داراست که این کار با جایگزین کردن ریبوزوم به جای DNA پلیمراز صورت می‌گیرد (شکل ۷)؛ چنین وسیله‌ای با چنین ساختاری بسیار گران خواهد بود (۱،۵،۱۳) .

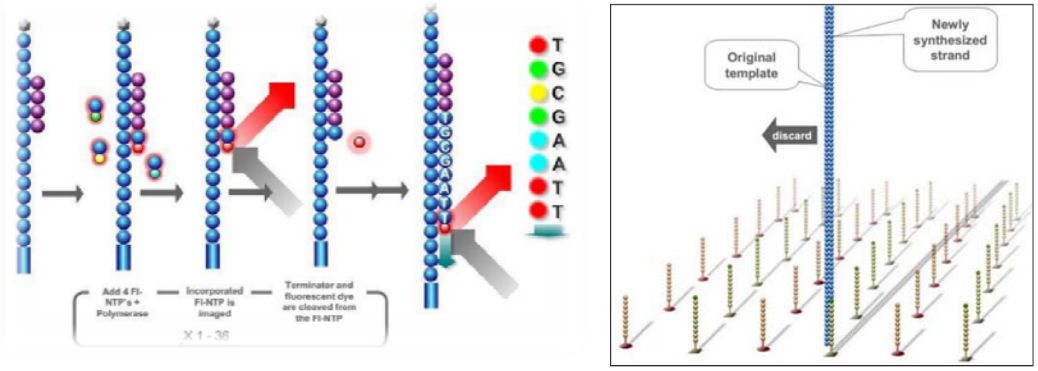
الف



ب

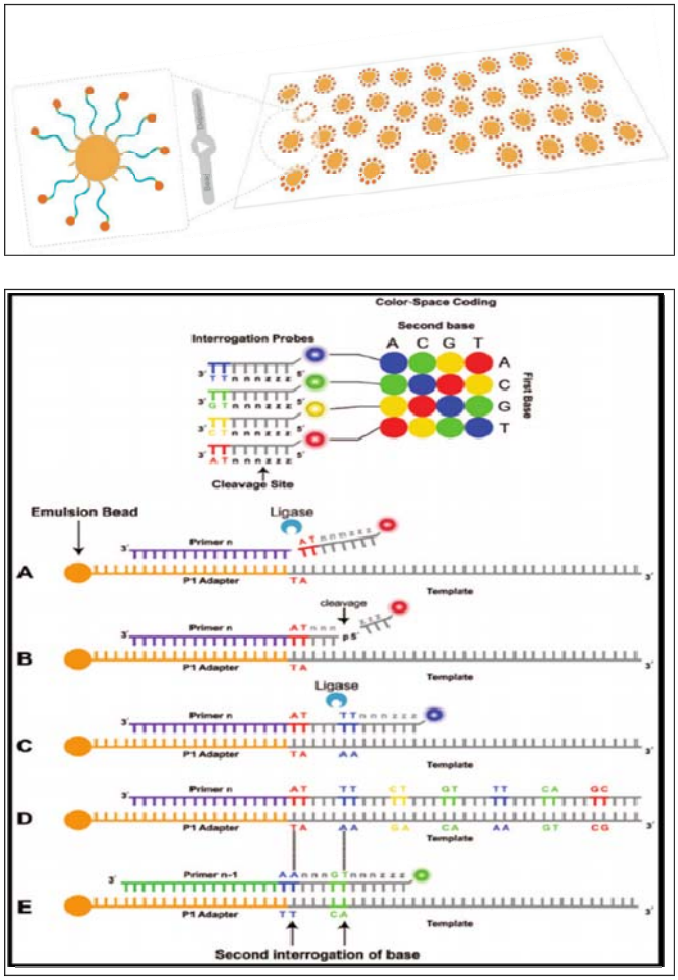


ج



شکل ۴- مراحل روش illumine

الف: تکنیک illumine: قبل از تک رشته ای شدن، به دو سمت قطعات DNA آداپتور متصل می‌شود. سپس این قطعات تک رشته ای شده، به صورت تصادفی بر روی یک سطح جامد توزیع می‌شوند که این سطح جامد به طور متراکم با توالی‌های مکمل آداپتور پوشیده شده است؛ ب: تکثیر خوشه‌ای توالی هدف بر روی یک سطح جامد، پرایمرها از طرف گروه فسفات '۵ به تراشه متصل شده اند لذا ناحیه هیدروکسی '۳ آن آزاد است؛ ج: آغاز عمل پلیمراز و رها شدن فلوروفرهای متصل به نوکلئوتید و ردیابی نور آزاد شده



شکل ۵- روش ABI (Applied Biosystems): این روش بر پایه پیوستن پروب‌های الیگونوکلئوتیدی نشاندار شده با ۴ رنگ مختلف فلوئورسانس (قرمز، آبی، نارنجی و سبز) استوار است. هر پروب جایگاه دو باز را در زنجیره مشخص می‌کند. هر کدام از این دانه‌ها که حاوی یک قطعه DNA تک رشته این است، در درون یک قطره آب در امولسیون روغن قرار می‌گیرند و واکنش PCR جهت تکثیر قطعه DNA درون این میکرورآکتور انجام می‌شود (۱۲).

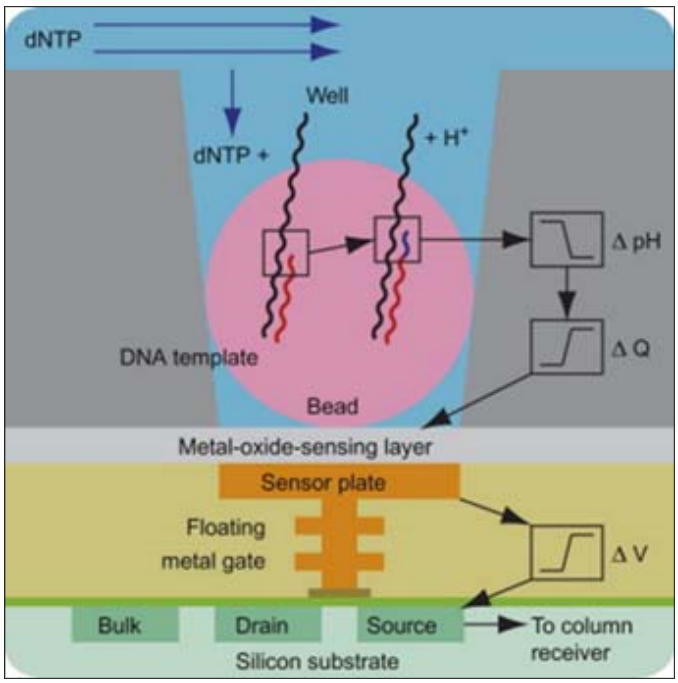
ژنومیکس کامل، یک روش ترکیبی از توالی‌یابی با بالاترین توان ورودی را در میان سومین نسل توالی‌یابی از خود نشان داده است. در این روش از چرخه های تکثیر توالی-های کوچک DNA در جایی که نانوتوپ (nanoball) نامیده می‌شود، استفاده می‌شود. این روش اجازه می‌دهد که تعداد زیادی از نانوتوپ‌های DNA در هر مرحله توالی‌یابی شوند که این کار با هزینه کمی صورت می‌گیرد. این روش به طور موفقیت آمیزی در کاربردهای بالینی توالی‌یابی ژنگان نظیر توالی‌یابی ژنگان کامل مورد استفاده قرار می‌گیرد. با این حال، خواندن نقشه‌های توالی‌های کوتاه در پایگاه داده ژنومیک رفرنس به خصوص در آنالیز DNA تومور می-تواند مشکل باشد. شاید پرکاربردترین و کم هزینه‌ترین روش در تشکیل ماشین ژنگانی شخصی[1] (PGM) یک ابزار ضروری در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی و بالینی آینده باشد (۱).

شیمی توالی‌یابی در حقیقت با تکنولوژی جریان یون و آزاد شدن پروتون در طی اتصال هر نوکلئوتید توسط DNA پلیمراز مرتبط می‌باشد. در روش ریزآرایه[2] میکرو چاهک های انفرادی به DNA پلیمراز اجازه می‌دهد تا به صورت توده ای قطعات DNA هدف را تکثیر کند. در زیر هر

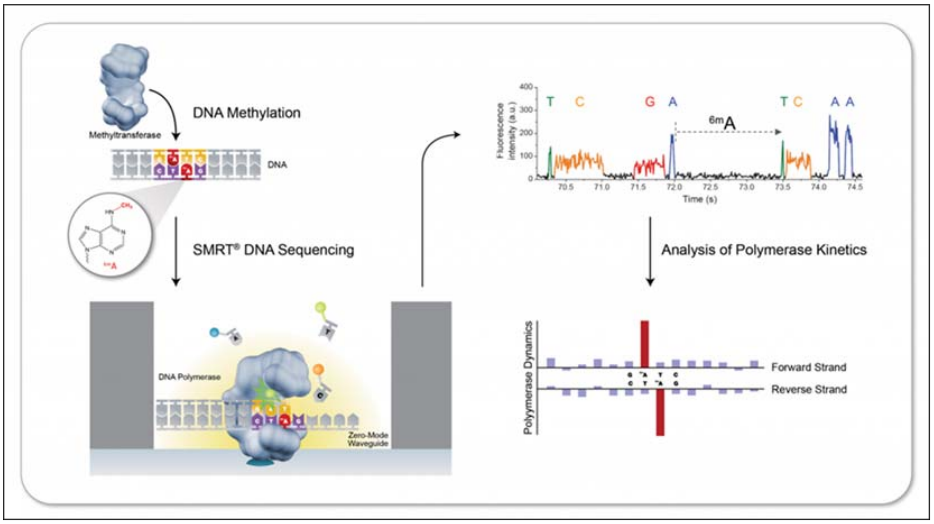
[1] Personal genomic machine
[2] .Microarray

میکرو چاهک ترانزیستور حساس به جریان یونی (ISFET)تغییرات pH ناشی از آزاد سازی پروتون را شناسایی کرده و تغییر پتانسیل (DV) با اندازه گیری مستقیم وقایع اتصال نوکلئوتید ثبت می‌شود (شکل ۸)؛ این سیستم نیازی به نشانه‌گذاری نوکلئوتید ها ندارد و هیچ شناساگر نوری مورد نیاز نیست. گنجایش توالی‌یابی PGM جریان یونی برای کمتر از K100 برای پروژه‌های تحقیقی با مقیاس کم یا ازمایشگاه‌های تشخیص بالینی کافی می‌باشد (۱۳،۱۴ .) ورود آن به بازار متکی به شروع NGS به عنوان کالایی با کاربردهای بالینی و زیست پزشکی می‌باشد. به عنوان یک ویژگی مشترک در سایر سیستم ها، آن اداپتورها بارکدی چند گانه دارند که اجازه تست‌های پویای چندین نمونه را می‌دهد. سایزهای تراشه‌های موجود (۳۱۴–۳۱۸) و 10-1000 MB اطلاعات توالی در هر ران می‌باشد. از آنجایی که عملیات جریان یونی موجود یک فرایند فشرده است اخیراً اتوماسیون با آماده‌سازی کتابخانه (کیت آماده-سازی توالی‌یابی یک مرحله‌ای کتابخانه) جهت تسهیل فرایند در دسترس قرار گرفته است. محدودیت‌ها شامل طول خواندن کوتاه (100-200 bp) و مشکلات فنی در خواندن از طریق توالی‌های تکراری زیاد و هوموپلیمرها می‌باشد که اخیراً در بهبود بخشیدن آن تحقیقاتی صورت گرفته است (۱).

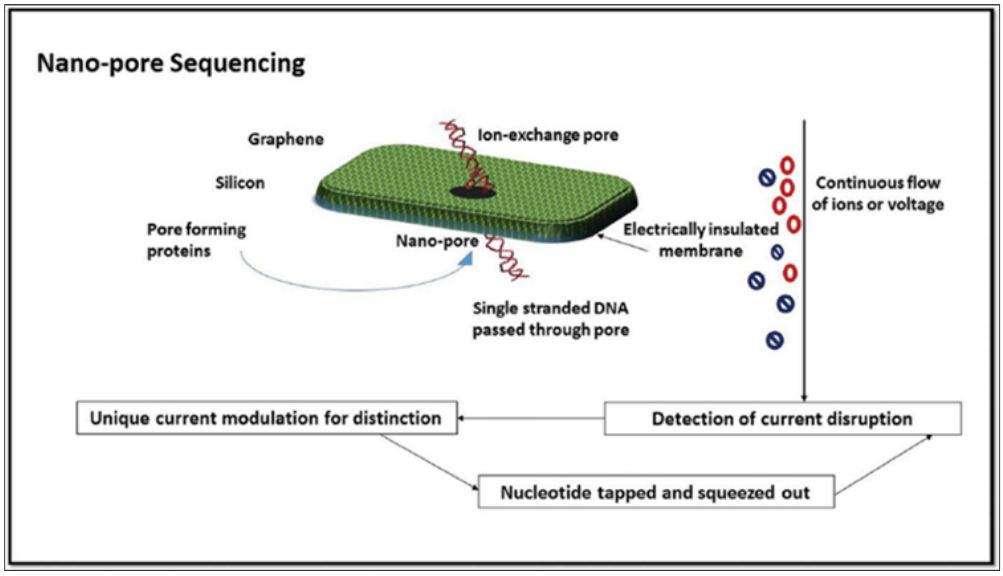
تکنیک Heliscope (Helicos Single molecule sequencing devi) : این تکنولوژی از توالی‌یابی تک مولکول واقعی بهره می‌برد. قطعات DNA به همراه دم پلی A بر روی سطح یک محبس ثابت می‌گردند و به دنبال آن توالی‌یابی بر اساس افزایش طول قطعه به کمک شستشو های چرخه ای با استفاده از نوکلئوتیدهای نشاندار شده با فلوئورسنت صورت میگیرد (شکل ۹)؛ اگرچه خوانش‌ها کوتاه هستند پیشرفت‌های اخیر در این روش منجر به افزایش دقت خوانش از طریق هوموپلیمرها شده است و همچنین امکان توالی‌یابی RNA را نیز فراهم ساخته است (۵ و ۱۳)



شکل ۶- روش (Semiconductor Sequencing (Ion Torrent: در این روش، از تغییرات pH به هنگام سنتز رشته تازه در محیط برای توالی یابی استفاده می‌شود و در پایان مهره های فلزی در برگیرنده بیش از یک میلیون DNA تک رشته به درون ریزچاهک‌هایی انتقال می‌یابد که در زیر این چاهک‌ها یک حسگر فوق حساس یونی تعبیه شده است و در پایان این تغییرات pH به صورت یک پیک در نمایشگر آشکار می‌شود (۱).



شکل ۷- تکنیک SMRT (Single Molecule Real Time) یا Pac Bio sequencing : تعیین توالی همزمان با سنتز، مخلوطی از نوکلئوتیدها که هر کدام با رنگ خاصی نشاندار شده‌اند به همراه سایر عوامل مورد نیاز برای پلیمریزاسیون جهت تعیین توالی به داخل هر یک از این چاهک‌ها افزوده می‌شوند(۱۳.)



شکل ۸- روش Nanopore Sequencing، از یک غشاء بسیار نازک که حاوی کانال‌هایی به قطر ۱ الی ۵/ ۲ نانومتر می باشد بهره می برد که در دو سمت این کانال‌ها، ۲ الکترود تعبیه شده است. این امر منجر به ایجاد یک جریان یونی در درون این کانال‌ها می‌شود. زمانی که DNA به صورت تک رشته‌ای از درون این سوراخ‌های بسیار ریز عبور می‌نماید، بر پایه میزان مقاومت هر یک از نوکلئوتیدها، جریان یونی تغییر می‌یابد و این تغییرات توسط دستگاهی ثبت می‌گردد (۱۴).

کاربردهای متنوع NGS

تکنیک NGS کاربردهای متنوعی را مقدور می‌سازد و به محققان اجازه می‌دهد تا هر نوع موضوعی را در ارتباط با ژنگان، ترانسکریپتوم و اپی‌ژنگان مرتبط با هر موجودی مورد سوال قرار دهند. برنامه تعیین توالی تا حد زیادی از طریق آماده‌سازی کتابخانه‌های توالی و از طریق آنالیز داده دیکته شده‌است که اساساً مرحله تعیین توالی واقعی بدون تغییر باقی‌مانده است. تعدادی کیت آماده‌سازی کتابخانه استاندارد وجود دارد که پروتکل‌هایی را برای تعیین توالی کل ژنگان، mRNA، نواحی مورد هدف از قبیل اگزوم‌ها،

نواحی انتخاب شده اختیاری، نواحی متصل به پروتئین و غیره پیشنهاد می‌کنند. بسیاری از محققان برای رسیدن به اهداف خاص، پروتکل‌های جدیدی را برای جداسازی نواحی خاصی از ژنگان را که مرتبط با یک عملکرد زیست‌شناختی خاص است را توسعه داده‌اند.

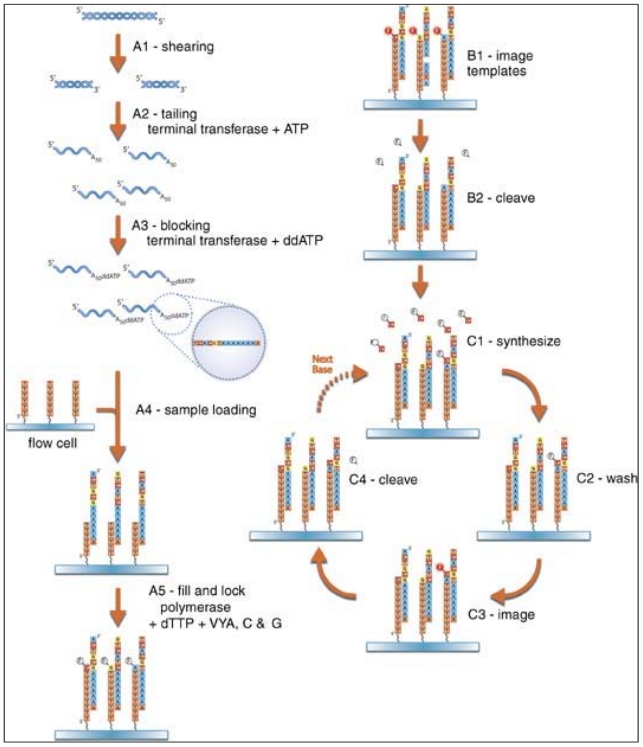
کاربردهای متنوع NGS

۱) توالی‌یابی ژنگان کامل

در این روش کل توالی ژنگان یک موجود (ژنگان هسته‌ای به همراه DNA میتوکندریایی در سلول‌های جانوری و DNA کلروپلاست در سلول‌های گیاهی) تعیین می‌شود. نخست دست یافتن به واریانت های ژنتیکی که افراد بیمار را نسبت به دیگر افراد جامعه به یک بیماری حساس می‌کند، به عنوان یک مشکل مورد توجه بوده است، با دست‌یابی به روش های NGS و توالی‌یابی کل ژنگان از راه آن توانایی بررسی واریانت-هایی با فراونی پایین‌تر و بر روی تعداد افراد بیشتری فراهم شده است(۱,۱۵)

۲) توالی‌یابی مناطق هدف

باید توجه داشت که توالی‌یابی NGS روش بهینه و فراگیرتری برای آنالیز ژنگان است، اما این روش در بسیاری از نقاط در دسترس نیست. بنابراین توالی‌یابی یک سری از توالی‌های خاص که جهش یا تغییرات دیگر در آنها موجب بیماری می‌شود مورد توجه قرار گرفته است، در این روش به جای توالی‌یابی کل ژنگان تنها اگزون‌های نمونه (معمولاً انسان) توالی-یابی می‌شوند. اهمیت این روش عمدتاً به دلیل ارزان بودن آن نسبت به توالی‌یابی کل ژنگان می‌باشد. مجموعه تمامی اگزون‌های ژنگان انسان تنها معادل ۱ درصد کل ژنگان آن می‌باشد؛ از طرفی بیش از ۸۰ درصد از جهش‌های بیماری‌زا در این نقاط اتفاق می-افتد. لذا در بسیاری از بیماری‌های ژنتیکی بهتر است به جای whole genome sequencing از exome sequencing استفاده شود.



شکل ۹- روش Heliscope، با به کارگیری آنزیم ترمینال ترنسفراز به انتهای ′۳ این قطعات تک رشته، دزوکسی‌آدنوزین‌تری‌فسفات را اضافه کرده تا یک دم پلی dA ایجاد شود. جهت تعیین توالی، نوکلئوتیدهای ختم دهنده برگشت‌پذیر که همگی توسط یک رنگ فلوئورسانس نشاندار شده‌اند به همراه آنزیم پلیمراز به این صفحات افزوده می‌شوند تا فرآیند تعیین توالی بر پایه تکثیر آغاز گردد (۱۳).

امروزه از فرم های گوناگون NGS برای Exome sequensing در بیماری‌هایی که چندین ژن ناهمسان مستعد برای جهش دارند و یا بدون نقاط Hot spot برای جهش هستند، استفاده می‌شود که می توان به مواردی مانند بیماری‌های نقص ایمنی و سرطان‌هایی مانند کلورکتال و یا سینه اشاره کرد (۱،۱۶).

۳) تعیین توالی از نو و سرهم بندی[1]

توالی‌یابی از نو، به معنای تولید نخستین توالی ژنومی یا ترانسکریپتومی برای موجوداتی که داده‌ی ژنتیکی اندکی از آنها در اختیار داریم می باشد، این نوع توالی‌یابی به عنوان توالی‌یابی RNA شناخته شده است که در سال ۲۰۰۷ توالی‌یابی ژنگان پیچیده و هتروزیگوت انگور با به‌کارگیری ترکیب روش‌های Sanger و پایروسکوئنسینگ انجام شده است و برای نخستین بار توالی‌های خوانده شده با روش‌های Sanger و NGS از ژنگان پیچیده‌ی یوکاریوتی با موفقیت سرهم بندی شدند(۱,۱۷)

۴) تعیین توالی RNA

یکی از کاربردهای مهم NGS، توالی‌یابی RNA کل است؛ با به‌کارگیری این روش امکان بررسی تمام انواع مختلف نسخه های موجود در سلول اعم از RNAرمزگذار و غیررمزگذار وجود دارد، به منظور توالی‌یابی RNA پس از تبدیل این مولکول بهcDNA بیشتر از تکنولوژی‌های توالی‌یابی ۴۵۴ و Illumina استفاده می‌شود. با استفاده از RNA-Seq می‌توان در زمان بسیار اندک به پروفایل بیانی کلیه ژن‌های ارگانیسم به صورت کمی و با هزینه اندک دست یافت (ترنسکریپتوم). در این روش تنها به RNA کل نیاز است و بقیه مراحل آزمایش توسط کمپانی انجام می‌شود. این روش مزایای بسیاری نسبت به روش منسوخ Microarray دارد. در این روش علاوه بر اندازه‌گیری کمی بیان ژن‌ها، تعیین توالی نیز صورت می‌گیرد. بر خلافreal-time PCR نیازی به طراحی پروب و یا پرایمر نیست. دقت این نوع ترنسکریپتومیکس به مراتب بیشتر از Microarray است. و از همه مهم‌تر هزینه آن بسیار مقرون به صرفه‌تر است. حتی در مقایسه با real time PCR اگر تعداد ژن‌های کاندید حدوداً بیش از ۱۰ عدد باشد روش RNA-Seq ارزانتر (و البته سریعتر، بسیار ساده تر و حجم داده‌ی دریافتی بسیار بیشتر) خواهد بود. توالی‌یابی RNA در بیماری‌هایی مانند سرطان‌ها در زمینه‌ی شناسایی بیان یک آلل خاص یا یک رونوشت به هم متصل که به طور اختصاصی در سلول سرطانی وجود دارد، از اهمیت بالایی برخوردار است و به عنوان مثال اتصال ژن‌ها به هم و ایجاد رونوشت‌های ادغام شده از ویژگی‌های بسیاری از سرطان‌های خونی و سرطان‌های بافت‌های نرم است و از این رونوشت‌ها می‌توان به عنوان نشانگرهای تشخیصی و کمک کننده به تعیین نوع درمان نیز استفاده نمود که با توجه به کارامدی NGS در تعیین توالی RNA کل میتوان از آن به عنوان یک ابزار مناسب در تشخیص و کمک کننده در درمان یاد کرد (۱،۱۸).

۵) بررسی تغییرات اپی ژنتیک

ارتباط بین پروتئین و DNA یک برهمکنش بیولوژیک است که نقش عمده ای در قابل دسترس بودنDNA و تنظیم بیان ژن‌ها دارد. برای بررسی پروفایل پروتئین‌های متصل شده به DNA در مقیاس ژنومی و همچنین تغییرات پروتئین‌های هیستونی و نوکلئوزوم‌ها، از تکنیک combining chromatin immunoprecipitatiom استفاده می‌شود. به این ترتیب که پس از رسوب‌دهی ایمونوکروماتین و تفکیک پروتئین‌ها، DNA به کمک روش NGS توالی‌یابی می-شود (۱،۱۹).

۶) توالی‌یابی اسیدهای نوکلئیک آزاد در خون و سایر مایعات بدن

بررسی وجود DNA و RNA آزاد در مایعات بدن به ویژه در خون، یک رویکرد جدید تشخیصی و پیش آگهی دهنده در زمینه‌ی بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان و یا تشخیص‌های پیش از تولد در بیماری-های تک ژنی و یا کوروموزومی است. در گذشته با جداسازی این اسیدهای نوکلئیک، مشکل بزرگ بررسی آن‌ها در درجه‌ی اول میزان پایین آنها و سپس

[1] . Denovo sequencing and assembly

نشان‌دار کردن آنها تنها با یک سری از تغییرات و جهش‌های خاص در این اسیدهای نوکلئیک آزاد بود، اما امروزه می‌توان با استفاده از توالی‌یابی کل DNA یا RNA موجود در این مایعات به روش NGS به راحتی هر گونه مشکلی را تشخیص داد(۲۰).

۷) آنالیز جمعیت میکروبی

با استفاده از NGS، متاژنومیکس که به مطالعه جمعیت میکروبی گفته می‌شود بسیار سریعتر و عملی‌تر شده است. در این روش کل DNA از نمونه محیطی (آب، خاک، سطح بدن انسان و موجودات و غیره) استخراج و بقیه مراحل توسط کمپانی جهت تعیین توالی کل ژنگان‌های موجود (متاژنگان) انجام می‌شود. یک روش مناسب و ایده آل برای تعیین توالی ژنگان‌های ویروسی، باکتریایی و مخمر است و در حال حاضر مقادیر زیادی از داده‌های در دسترس از NGS به کشف جدید اتصال رونوشت‌ها، انواع جهش‌ها و تعاملات پاتوژنی منجر شده است. برای مثال NGS موفق به شناسایی ژنگان *E. coli* O104:H4 شده است. همچنین NGS قادر است کل ژنگان و ارتباطات فنوتیپی را در بین ارگانیسم‌های نزدیک و مکانیسم‌های ژنتیکی را بررسی کند. این روش جدید متاژنومیکس امکان شناسایی ویروس‌های غیر منتظره بیماری زا و ویروس‌های جدید انسانی را دارد(۱).

بحث و نتیجه گیری

اختراع NGS دانشمندان را قادر ساخت تا سیستم‌های بیولوژیکی را در سطوحی مطالعه کنند که هرگز امکان پذیر نبود. با پیشرفت تکنولوژی، تعدادی از روش‌های ابتکاری آماده‌سازی نمونه و الگوریتم‌های آنالیز داده، دامنه وسیعی از کاربردهای علمی را فراهم ساخت تا محققان در تعدادی از حوزه های بیولوژیک که تاکنون پاسخی به آنها داده نشده بود به کشفیات جذابی دست پیدا کنند. داده‌های خروجی NGS با نرخی بیش از ۲ برابر نسبت به زمان اختراع آن در حال افزایش بوده است. در سال ۲۰۰۲، یک توالی‌یابی واحد می‌توانست حداکثر حدود ۱ گیگا باز (Gb) داده تولید کند اما در سال ۲۰۱۱ این نرخ به حدود یک ترا باز (Tb) داده در یک توالی‌یابی رسیده است.

NGS با این قابلیت حجم بالایی از داده‌های توالی را تولید می‌کند و محققان را قادر می‌سازد تا به سرعت و طی چند ساعت یا چند روز از یک ایده به کل مجموعه داده‌های یک موضوع برسند. محققان در حال حاضر می‌توانند توالی ژنگان ۵ نفر را در یک دور تعیین کنند و داده‌ها را در یک هفته و با هزینه‌ای کمتر برای هر ژنگان تولید کنند. اگر مقایسه کنیم، اولین ژنگان انسان با تکنولوژی CE حدود ۱۰ سال وقت نیاز داشت تا توالی‌یابی شود، بعلاوه به سه سال تجزیه و تحلیل نیاز داشت. مفهوم تکنولوژی NGS اساساً شبیه به CE است، بازهای قطعات کوچک DNA بوسیله سیگنال‌های منتشر شده در زمان سنتز هر قطعه از روی رشته DNA الگو تشخیص داده می‌شوند. NGS این فرایند را به جای یک یا تعداد کمی از قطعات DNA، با میلیون‌ها واکنش موازی انجام می‌دهد. این پیشرفت، تعیین توالی سریع مناطق بزرگی از جفت بازهای DNA در سراسر ژنگان را مقدور ساخته است. در پایان روش‌های متفاوت توالی‌یابی را نسبت به یکدیگر مقایسه می‌کنیم:

روش / ویژگی	Sanger	Solid	Illumina	454	Ion semiconductor	Single molecule real time sequencing
طول خوانش (bp)	۹۰۰-۴۰۰	۵۰-۳۵	۲۵۰-۵۰	۷۰۰	۲۰۰	۲۹۰
میزان صحت	٪۹۹,۹	٪۹۹,۹	٪۹۸	٪۹۹,۹	٪۹۸	٪۸۷
مقدار خوانش در هر دوره (Run)	نامحدود	۱,۲ تا ۱,۴ میلیون	بیش از ۳ میلیون	۱ میلیون	بیش از ۵ میلیون	۳۵-۷۵۰۰۰
زمان هر دوره	۳ ساعت و ۲۰ دقیقه	۱ تا ۲ هفته	۱ تا ۱۰ روز	۲۴ ساعت	۲ ساعت	۲ ساعت و ۳۰ دقیقه
مزایا	خواندن توالی های بلند، بسیار پرکاربرد	هزینه کمتر	پرقدرت، بازده بالا	سریع، خوانده توالی های بلند	سریع، هزینه کمتر	سریع، خواندن توالی های بلند
معایب	بسیار گران و غیر کاربردی برای پروژه های توالی یابی بزرگ	آهسته تر از روش های دیگر	مجهز و خیلی گران	خطاهای هموپلیمری، بسیار گران قیمت حتی در یک دوره	خطاهای هموپلیمری	گران، بازده کم

منابع

1. Hui, P. (2014). Next Generation Sequencing: Chemistry, Technology and Applications, Topics in Current Chemistry, Vol. 336, PP. 1-18.
2. Brown, T. A. (2010). Gene cloning and DNA analysis: an introduction, 6nd Edition, Wily –Black well press, New Jersey, United States, PP. 165- 84.
3. Heather, J. M., Chain, B. (2016). The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA, Genomics, Vol. 107, No. 1, PP. 1-8.
4. Gaastra, W. (1985). Chemical cleavage (maxam and gilbert) method for DNA sequence determination, Methods in molecular biology, Vol. 2, PP. 333-341.
5. Ansorge, W. J. (2009). Next-generation DNA sequencing techniques, New Biotechnology, Vol. 25, No. 4, PP. 195-203.
6. Huse, S. M., Huber, J. A., Morrison, H. G., Sogin, M. L., Welch, D. M. (2007). Accuracy and quality of massively parallel DNA pyrosequencing, Genome Biology, Vol. 8, No. 7, PP. 143.
7. Escalante, A. E., Barbolla, L. J., Ramírez-Barahona, S., Eguiarte, L. E. (2014). The study of biodiversity in the era of massive sequencing, Revista Mexicana de Biodiversidad, Vol. 85, No. 4, PP. 1249-1264.
8 Gupta, A. K., Gupta, U. D. (2014). Next Generation Sequencing and Its Applications, Animal Biotechnology, PP. 345-367.
9. Mardis, E. R. (2008). The impact of next-generation sequencing technology on genetics, Trends in genetics, Vol. 24, No. 3, PP. 133-141.
10. Anderson, M. W., Schrijver, I. (2010). Next Generation DNA Sequencing and the Future of Genomic Medicine, Genes, Vol. 1, PP. 38-69.
11. Diaz-Sanchez, S., Hanning, I., Pendleton, S., D'Souza, D. (2013). Next-generation sequencing: The future of molecular genetics, Poultry Science, Vol. 92, No. 2, PP. 562–572.
12. Mardis, E. R. (2008). Next-generation DNA sequencing methods, Annual review of genomics and human genetics, Vol. 9, PP. 387-402.
13. Gupta, P. K. (2008). Single-molecule DNA sequencing technologies for future genomics research, Trends in biotechnology, Vol. 26, No. 11, PP. 602-611.
14. Pareek, C. S., Smoczynski, R., Tretyn, A. (2011). Sequencing technologies and genome sequencing, Journal of applied genetics, Vol. 52, No. 4, PP. 413-435.
15. Kaiser, J. (2008). DNA sequencing. A Plan to Capture Human Diversity in 1000 Genomes, Science, Vol. 319, No. 5862, PP. 395.
16. Xuan, J., Yu, Y., Qing, T., Guo, L., Shi, L. (2013). Next-generation sequencing in the clinic: promises and challenges, Cancer Letters, Vol. 340, No. 2, PP. 284-295.
17. Ossowski, S., Schneeberger, K., Clark, R. M., Lanz, C., Warthmann, N., Weigel, D. (2008). Sequencing of natural strains of Arabidopsis thaliana with short reads, Genome research, Vol. 18, No. 12, PP. 2024-2033.
18. Pease, J., Sooknanan, R. (2012). A rapid, directional RNA-seq library preparation workflow for Illumina[reg] sequencing. Nature Methods, Vol. 9, No. 310. PP. 1-2.
19. Furey, T. S. (2012). ChIP-seq and beyond: new and improved methodologies to detect and characterize protein-DNA interactions, Nature Reviews Genetics, Vol. 13, No. 12, PP. 840-852.
20. Forshew, T., Murtaza, M., Parkinson, C., Gale, D., Tsui, DW., Kaper, F., et al. (2012). Noninvasive identification and monitoring of cancer mutations by targeted deep sequencing of plasma DNA, Science translational medicine, Vol. 4, No. 136, PP. 136-168.

مروری بر ابزار کریسپر برای ویرایش ژنگان

زهرا ایراندوست[۱]، زهرا مرحمتی[۱] و سیدمحسن دهنوی[۲*]

۱- تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه زیست‌شناسی گیاهی

۲- تهران، دانشگاه شهید بهشتی، دانشکده علوم و فناوری زیستی، گروه زیست‌شناسی سلولی-مولکولی

چکیده

کریسپر چندین دهه پیش از آنکه به عنوان سیستم ایمنی باکتریایی و پس از آن به عنوان ابزاری قدرتمند با قابلیت برنامه‌ریزی مجدد برای هدف‌گیری ژن معرفی شود، به سادگی به عنوان یک واحد تکراری در DNA پروکاریوتی شناخته شده بود. فناوری ویرایش ژن کریسپر دارای پروتئین‌های همراه Cas است که فعالیت اندونوکلئازی دارند و می‌توانند DNA مورد نظر را طبق دستوری که gRNA به آن‌ها می‌دهد برش بزنند. در ویرایش ژن از روش‌های HDR و NHEJ و ویرایش باز نیز استفاده می‌شود که در بین آن‌ها، ویرایشگرهای باز امروزه مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند؛ زیرا می‌توانند وراژنگان (epigenome) را بدون شکستن DNA ویرایش کنند. کریسپر را به طور کلی به کلاس‌های I و II تقسیم می‌کنند. لازم به ذکر است که کریسپر هنوز چالش‌های فنی زیادی دارد و ممکن است مدت زمان زیادی طول بکشد تا یک ابزار کریسپر بی‌نقص تولید شود. در این مقاله به توضیح محدودیت‌های ادغام ژن، عملکرد کلی سیستم کریسپر و هم‌چنین موارد استفاده از آن پرداخته شده است.

کلیدواژگان: کریسپر، CISPR Cas9، RNA، ویرایش ژنگان (genome)، ژن، DNA

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: mo_dehnavi@sbu.ac.ir

مقدمه

ژنگان‌های ارگانیسم‌های یوکاریوتی مرکب از بیلیون‌ها پایگاه DNA هستند. کشف آنزیم‌های گزین‌بُر (restriction enzymes) در سال ۱۹۷۰ که معمولاً محافظت‌کننده باکتری‌ها در برابر فاژها است، نقطه عطفی بود که در نهایت باعث چندین تحول کلیدی از اواسط تا اواخر دهه ۱۹۸۰ شد. نخستین بار دانشمندان موفق به دستکاری DNA با انجام آزمایش در لوله‌های آزمایشگاهی شدند. هر چند این تلاش‌ها منجر به بسیاری از اکتشافات زیست‌مولکولی و ژنتیکی شد، توانایی برای ایجاد تغییرات دقیق در DNA سلول‌های زنده یوکاریوتی چندین دهه بعد به دست آمد (۱). مطالعات اولیه اختلال در ژن هدف در سلول‌های مخمر یوکاریوتی (۲) توسط کپچی[۱] و اسمیتیس[۲] در سلول‌های پستانداران انجام شد (۱) و نشان دادند که سلول‌های پستانداران می‌توانند یک کپی اگزوژن از DNA را به درون ژن خودی از طریق فرایندی به نام «نوترکیب ژنی» ادغام کنند (۱). اینگونه ادغام ژن در ژنگان هدف قدرت بی‌سابقه‌ای برای توصیف نقش‌های عملکردی ژن‌های نمونه فراهم می‌کرد (۳). با این حال، این روش محدودیت‌های زیادی داشت؛ از جمله آنکه میزان ادغام خودبه‌خودی کپی اگزوژن DNA بسیار کم بوده و میزان این ادغام وابسته به نوع و سطح سلولی بود. نهایتاً این رویکرد می‌توانست باعث یکپارچه‌سازی تصادفی از کپی اگزوژن در محل ژنگانی شود (۴). پس از آن محققان به دنبال روش‌های دیگری برای غلبه بر محدودیت‌های ادغام ژن بودند که در ادامه به آن‌ها اشاره خواهد شد. در این مقاله، با بهره‌گیری از مطالعات اخیر، نگاه علمی مختصری به کارآمدترین روش ویرایش ژنگان شده است و ارتقای این روش و موارد استفاده از آن بحث و معرفی شده است.

توسعه ابزارهای ویرایش ژنگان و محدودیت‌های آن

یکی از پیشرفت‌های اولیه در زمینه ویرایش ژنگان از این واقعیت حاصل شد که معرفی یک برش‌دهنده‌ی دو رشته‌ی DNA (DSB) در یک مکان هدف منجر به افزایش دفعات ادغام ژن هدف می‌شود (۵، ۶). بدین منظور محققان از آنزیم‌های اندونوکلئاز برش‌دهنده مثل کاتر cutter I-SceI ۱۸ bp برای توضیح ویژگی‌های خاص DSBها در ژنگان موش استفاده کردند (۶). با وجود اینکه مگانوکلئازها

[1] Capecchi
[2] Smithies

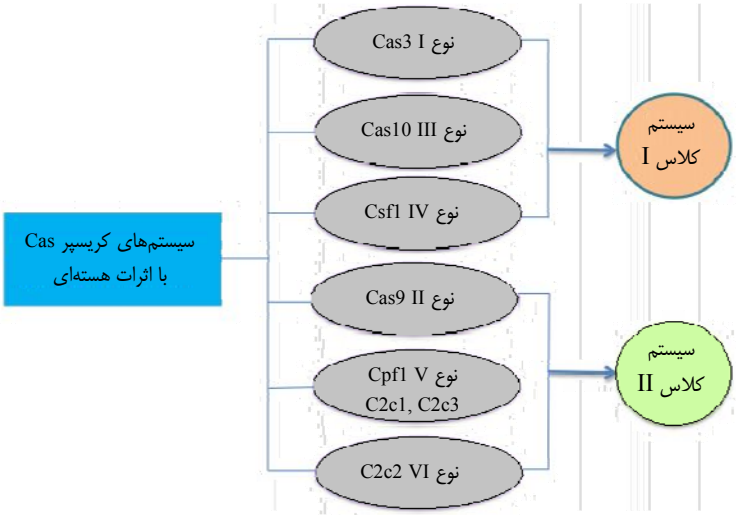
(اندونوکلئازی که امتداد طولانی‌تری –از ۱۴ تا ۴۰ جفت باز DNA– را تشخیص می‌دهد) کارایی ویرایش ژن را افزایش می‌دهند، این روش به دو شکل عمده محدود می‌شود. اولاً هریک از مگانوکلئازهایی که در طبیعت یافت می‌شوند توالی شناخت منحصربه‌فردی دارند؛ بنابراین احتمال پیداکردن مگانوکلئازهای موردنظر کم است. دوماً اکثر DSBها با مکانیسم ترمیم NHEJ[1] ترمیم می‌شوند. بدین ترتیب، نه تنها ممکن است الگوی DNA اگزوژن تعریف شده در DSBها موجود نباشد، بلکه ممکن است مکانیسم تعمیر NHEJ نیز به‌طور تصادفی قطعات DNA را در مکان‌های شکسته شده وارد یا حذف کند (۷). محققان برای غلبه بر چنین چالش‌هایی مهندسی مجدد مگانوکلئازهای طبیعی موجود را مجدداً تغییر داده و مشخصات آن را برای هدف قرار دادن اختصاصی DNA تغییر دادند (۱). بدین منظور، کشف و استفاده از پروتئین زینک‌فینگر[2] یوکاریوتی عصر جدیدی را در هدف‌گیری و ویرایش ژنگان آغاز کرد. زینک‌فینگرها پروتئین‌های کوچک تنظیم‌شده توسط یون روی هستند که با روش مشخصی به توالی DNA متصل می‌شوند. هر مدل روی، یک دنباله با ۳ جفت بازDNA را تشخیص می‌دهد (۸). بنابراین، بر خلاف مگانوکلئازها می‌توان چندین زینک‌فینگر را در یک کمپلکس بزرگ‌تر ادغام کرد تا به پیوند اختصاصی DNA برسند. پس از نشان‌دادن ساختار زینک فینگر، محققان شروع به ساخت پروتئین هسته‌ای قابل برنامه‌ریزی با تلفیق پروتئین‌های زینک فینگر با دامنه شکاف DNA از اندنوکلئاز *Fok I* کردند (۹). این آنزیم محدودکننده برخلاف بسیاری از آنزیم‌های محدودکننده‌ی دیگر *Fok I* قادر به تشخیص DNA و ایجاد شکاف در آن بود. با دانستن این موضوع محققان دامنه تشخیص توالی DNA *Fok I* را حذف کرده و تنها دامنه شکاف DNA را با مدل‌های پروتئین زینک فینگر ادغام کردند. نکته مهم دیگر آن است که *Fok I* برای شکافتن DNA نیاز به همگن‌سازی محل هدف دارد. بنابراین طراحی دو مدل زینک‌فینگر جداگانه که دو مکان مجاور در کنار یکدیگر را هدف قرار می‌دهند، به *Fok I* اجازه همگن‌سازی داده و منجر به شکستن رشته DNA در محل‌های هدف می‌شود. هسته‌های زینک‌فینگر نشان دادند که نوترکیبی‌های هدف نه تنها در ارگانیسم‌های نمونه بلکه در سلول‌های انسانی به‌طور قابل‌توجهی افزایش یافته است (۱۰, ۱۱). افزایش راندمان در طراحی زینک‌فینگرها، قابلیت ویرایش ژنگان در بخش‌های ویژه‌ی هدف‌گیری شده در سلول‌های زنده را به شدت افزایش می‌دهد و درها را به روی کاربردهای درمانی ابزار ویرایش ژنگان می‌گشاید. درحالی‌که ZFNها به عنوان یک ابزار مهندسی ژنگان هیجان قابل‌توجهی ایجاد کردند، این کشف که پروتئین‌های فعال‌کننده‌ی رونویسی (TALEN) از باکتری‌های زانتوموناس[3] می‌توانند به‌طور خاص یک واحد باز را به جای سه واحد باز شناسایی کنند (۱۲, ۱۳)، الهام‌بخش هیجان بیشتر در مورد این پروتئین‌ها بود. همـانند زینک‌فینگرها، ترکیب کیمریک[4] *Fok I* DNA و TALE ماژول در محل شکستگی به عنوان یک نوکلئاز مؤثر قابل برنامه‌ریزی به نام TALEN عمل می‌کنند (۱). هرچند TALENها برای انتخاب هدف در مقایسه با ZFNها انعطاف‌پذیری و کارآمدی خارج از هدف پایین‌تری دارند، اما ساخت ماژول‌های TALE و دامنه اندونوکلئاز وقت گیر است (۱۴).

معرفی کریسپر

دشواری در همانندسازی و مهندسی پروتئین‌های ZFN و TALEN تا حدودی مانع از پذیرش این ابزار توسط جامعه‌ی علمی شده و منجر به تحول کریسپر[5] در این زمینه‌ها شده است. فناوری ویرایش ژن کریسپر از پروتئین اندونوکلئاز تشکیل شده است که می‌تواند DNA مورد نظر را طبق برنامه‌ای که RNA راهنما (gRNA) به آن می‌دهد برش بزند. لازم به ذکر است که کریسپر چندین دهه پیش از آنکه به عنوان سیستم ایمنی باکتریایی و پس از آن به عنوان ابزاری قدرتمند با قابلیت برنامه‌ریزی مجدد برای هدف‌گیری ژن معرفی شود، به سادگی به عنوان یک واحد تکراری عجیب و غریب در DNA پروکاریوتی شناخته شده بود.

کریسپر به‌طور منظم و در فواصل کوتاه مساوی‌الطرفین بین توالی‌های تکراری DNA قرار دارد.

[1] non-homologous end joining :NHEJ
[2] zinc finger (ZFN)
[3] xanthomonas
[4] chimeric fusion
[5] CRISPER



شکل ۱- انواع سیستم‌های کریسپر (۲۵)

اگرچه نام کریسپر دیرتر ابداع شد (۱۵)، اما این توالی‌های تکراری در ابتدا در *اشریشیاکلی*[1] توسط ناکاتا[2] و همکاران معرفی شده بود (۱۶). جالب آنکه برخلاف تکرارهای پشت سرهم معمول در ژنگان، گروه‌های تکراری کریسپر توسط توالی‌های غیر تکراری DNA که حدفاصل[3] نامیده می‌شوند از هم جدا شده بودند. توالی‌یابی ژنگانی فاژها و تجزیه و تحلیل‌های کامپیوتری از توالی‌های ژنگانی، محققان را متوجه ویژگی‌های کلیدی توالی‌های تکراری کریسپر و عناصر حدفاصل کرد. توالی کریسپر در بیش از ۴۰٪ باکتری‌های توالی‌یابی شده و ۹۰٪ آرکی‌ها وجود دارد (۱۷) و عناصر کریسپر در مجاورت چندین ژن به خوبی محافظت شده به نام ژن‌های همراه کریسپر قرار دارند (۱۵، ۱۸). شواهد کلیدی آزمایشگاهی در مورد عملکرد بالقوه‌ی سیستم‌های کریسپر حاصل کار هوروات[4] و همکارانش است. آن‌ها نشان دادند که باکتری‌های *استرپتوکوکوس ترمو فیلوس*[5] بعد از حمله‌ی ویروسی، حدفاصل‌های جدید جدید ناشی از توالی ژنگان فاژ را در ژنگان خود ادغام می‌کنند (۱۹). حدود نیمی از باکتری‌ها ژن‌های لازم برای ایمنی CRISPR-Cas را در خود دارند که با رمزگذاری توالی‌های کوتاه، DNA را به صورت CRISPR (تکرارهای خوشه ای که به طور منظم و کوتاه تکرار می‌شوند) در ژنگان خود ادغام می‌کنند (۲۰). به علاوه، توالی حدفاصل کریسپر ویژگی هدف‌گیری آنزیم‌های Cas را که در برابر فاژ دفاع می‌کنند مشخص می‌کند. یک سال بعد از این کشف مهم، محققان نشان دادند که فعالیت آنزیم Cas توسط کریسپر RNA (crRNA)های کوچک رونویسی شده از روی توالی‌های حدفاصل مشخص می‌شود (۲۱) و می‌تواند انتقال افقی DNA را از پلاسمیدهای باکتریایی مسدود کند (۲۲).

انواع سیستم‌های کریسپر

سیر تکاملی بین پروکاریوت‌ها و عناصر ژنتیکی متحرک محیطی مثل فاژها چندین سال جریان داشته است. در این مبارزه، انواع پاسخ‌های دفاعی از نوع کریسپر به عنوان مکانیسم دفاعی باکتری‌ها جهت بقا حاصل شده است. این سیستم‌های کریسپر بر اساس ساختار ژن‌های مرتبط با کریسپر طبقه‌بندی می‌شوند (۱۸, ۲۳, ۲۴) که به‌طور معمول در مجاورت توالی‌های کریسپر قرار دارند.

با توجه به شکل بالا، به‌طور کلی کریسپر را به دو کلاس طبقه‌بندی می‌کنند که هر کدام حاوی چندین نوع کریسپر است. کلاس I حاوی کریسپرهای نوع یک و سه است که در آرکی‌ها وجود دارد و کلاس II حاوی کریسپرهای نوع دو، چهار، پنج و شش است. کریسپرهای نوع دو و پنج می‌توانند برای ویرایش DNA استفاده شوند؛ در حالی که کریسپر نوع چهار برای ویرایش RNA استفاده می‌شود (۲۶).

[1] Escherichia coli
[2] Dr. Nakata' s group
[3] spacer sequences
[4] Horvat
[5] Streptococcus thermo- philus

تحول کریسپر به عنوان ابزاری در زمینه ویرایش ژنگان

حضور چندین دستاورد مهم راه را برای تبدیل سیستم‌های کریسپر به فناوری ویرایش ژنگان باز می‌کند. یکی از این دستاوردها آن است که توالی‌های اکتسابی حد فاصل در مناطقی به نام PAMs[1] بسیار شبیه به یکدیگر بوده و این توالی برای عملکرد سیستم کریسپر بسیار حیاتی است (۲۷). در میان پروتئین‌های Cas کشف شده، Cas9 و Cas12a (که به عنوان Cpf۱ نیز شناخته می‌شوند) در ویرایش ژن و تنظیم رونویسی مورد استفاده می‌گیرند. برنامه Cas9 و Cas12a بسیار ساده است و می‌توانند از طریق جفت شدن باز واتسون–کریک بین ژن هدف و gRNA به DNA مورد هدف هدایت شوند (۲۸).

Cas9 تنها پروتئینی است که در *اس ترموفیلوس*[2] فعالیت DNA کاتالیزوری دارد (۲۹). چارپنتیر[3] و همکاران مکانیسم پیدایش حیات دو RNA کوتاه مورد نیاز برای فعالیت Cas9 را مشخص کردند (۳۰). سیکسنیس[4] و همکارانش نشان دادند که کریسپر *اس ترموفیلوس* قادر به بازگرداندن تداخل در *E coli* است (۳۱). کریسپر به عنوان یک ابزار زیست‌فناوری می‌تواند آنزیم Cas9 را یا به منظور هدف قراردادن توالی DNA در باکتری‌ها به طور همزمان بازسازی کند و یا چندین gRNA را به یک مکان ژنتیکی منفرد هدایت کند تا اثربخشی ویرایش یا تنظیم رونویسی را تقویت کند (۳۲, ۳۳).

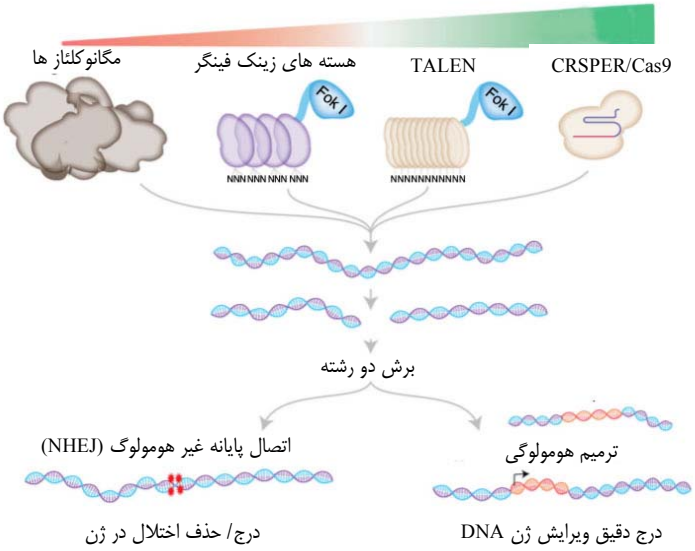
سیستم کریسپر اندوژن دو RNA کوتاه را تعمیر می‌کند: crRNA بالغ و crRNA تعامل. crRNA مرکب از قسمتی‌هایی است که یکی از آن‌ها به عنوان رهبر و دیگری به عنوان جفت پایه همراه با tracrRNA عمل می‌کند. هر دوی crRNA و tracrRNAs‌ها نیازمند به کمپلکس پروتئین RNA-Cas9 هستند که می‌توانند از طریق مهندسی ژنتیک تشکیل یک sgRNA (تک gRNA) دهند؛ در حالی‌که مواردی که برای Cas۱۲a است، صرفاً از یک crRNA تشکیل شده است. پس از تشکیل یک مجموعه ریبونوکلئوپروتئین با یک gRNA، Cas9 یک شکست دو جداره را در مجاورت PAM انجام می‌دهد. توالی‌ای از DNA که برای شناسایی مورد هدف است، بین اندونوکلئازهای متفاوت قرار می‌گیرد و ایجاد شکستگی بین دو رشته برنامه‌های ویرایش ژنگان را امکان پذیر می‌کند (۲۸, ۳۲).

فرآیندهای تعمیر درون سلولی

مگانوکلئازها آنزیم‌های محدودکننده مهندسی‌شده‌ای هستند که بخش‌های طویل توالی‌های DNA را تشخیص می‌دهند. برخلاف تشخیص پروتئین – DNA در ZFNها و TALEN ها، جفت‌شدن ساده‌ی بازهای DNA-RNA و توالی‌های PAM کریسپر معین را هدف قرار می‌دهد. تمام این ابزارها باعث ایجاد شکستگی محل اتصال DNA دو رشته‌ای می شوند که توسط مکانیسم های درون‌سلولی تعمیر می‌شود.

همان‌طور که در شکل ۲ مشخص است، NHE نوعی فرآیند تعمیر است که بدون DNA الگو هدایت می‌شود و در نتیجه اغلب باعث جهش ایندل می‌شود. این فرایند برای فرسایش ژن‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. در مقابل، HDR با طول مشخصی از بازوهای هومولوگ DNAهای اهداکننده برای تصحیح توالی هدف مورد نظر استفاده می‌شود (۳۴). HDR باعث جایگزینی توالی یا درج نوکلئوتید طراحی‌شده در سایت هدف می‌شود (۳۵). هر مرحله از چرخه سلولی فرآیند ترمیم متفاوتی دارد. HDR محدود به چرخه‌های سلولی S و G2 است (۳۶)؛ در حالی‌که NHEJ در کل دوره چرخه سلولی کاربرد دارد. اصلاح ژن با استفاده از HDR به علت بازدهی کم آن رضایت‌بخش نیست و اصلاح ژن با استفاده از NHEJ نیز به علت عملکرد تصادفی آن بسیار سخت است. (۳۷). ابزار دیگری با عنوان دِآمیناز قابل برنامه‌ریزی یا ویرایشگر باز جایگزین مناسبی برای رفع محدودیت‌های ابزارهای پیشین است. ویرایشگر باز با استفاده از Cas9 کاتالیستی غیرفعال (dCas9 with D10A and H840A mutation) یا نیکاز Cas9 (nCas9 with D10A mutation) با دآمیناز ترکیب شده و گروه‌های آمین C (۳۸) و A (۳۹) را هیدرولیز می‌کند. ویرایشگرهای باز سیتیدین (CBEs) و ویرایشگرهای باز آدنین (ABEs) توسط دو گروه توسعه داده شده‌اند تا بدون شکستن DNA دو رشته‌ای، C را به T و A را به G تغییر دهند. اگرچه ویرایشگر باز راندمان تبدیل نسبتاً بالایی را نشان می‌دهد، در حال حاضر تبدیل C به T و A به G تنها توسط CBE و ABE امکان‌پذیر است.

[1] protospacer-adjacent motifs
[2] S. thermophilus
[3] charpentier
[4] siksnys



شکل ۲- اساس و قاعده‌ی کلی فناوری‌های ویرایش ژنگان. آنزیم‌های مگانوکلئازها (Meganokleas)، زینک فینگرها، TALENها و غیره باعث ایجاد شکستگی در محل اتصال DNA دو رشته‌ای می‌شوند که با روش‌های NHEJ یا HDR (HDR: homology-directed repair) تعمیر می‌شود (۱).

توسعه‌ی ابزارهای جایگزین برای تبدیل C به A یا T به A شانس بیشتری را برای اصلاح DNA در مقیاس یک نوکلئوتیدی فراهم می‌کند. طی گزارشات اخیر مشخص شده است که CBE دارای اثرات خارج از هدف غیرقابل پیش‌بینی در روش مستقل از gRNA می‌باشد و همچنین در اصلاح RNA سلولی نیز دخیل است. ویرایش غیر اختصاصی باز توسط CBE و ABE از نظر فعالیت‌های خارج از هدف و مورد هدف، با جایگزین‌کردن آنزیم دآمیناز با APOBEC3A انسانی یا جهش‌های انتخابی در پروتئین‌های APOBEC و tadA-tadA بهبود یافته است.

آنزیم‌های اصلی CRISPR-Cas و مهندسی مجدد آن‌ها

در طی سال‌های گذشته، بیش از ۱۰ پروتئین CRISPR/Cas به منظور ویرایش ژن مورد استفاده مجدد قرار گرفته‌اند (جدول ۱) که در بین آن‌ها، پروتئین‌های تازه کشف‌شده‌ای مانند Cpf1 از AsCpf1[1] و LbCpf1[2] بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. برخلاف Cas9 بومی که نیاز به دو RNA کوتاه جداگانه دارد، Cpf1 به‌طور طبیعی به یک sgRNA نیاز دارد. به‌علاوه، DNA را در محل‌های هدف ′3 سطح پایین از توالی PAM به‌صورت متناوب برش می‌دهد و به جای تولید انتهای صاف مانند انتهای Cas9، یک برآمدگی′5 درج می‌کند (به جدول ۱ توجه شود).

Cas9هایی که به طور طبیعی یافت می‌شوند پروتئین‌های بزرگی هستند که محدودیت‌های خاصی را در زمان بسته‌بندی آن‌ها و رسیدن به انواع سلول‌های متفاوت از Lenti یا AAV[3] ایجاد می‌کند. انواع کوچک Cas9 پتانسیل‌های درمانی خوبی دارند؛ چرا که بر محدودیت‌های بسته‌بندی AAV غلبه کرده‌اند. به این منظور، کشف ۱۰۸۲ آمینواسید Cas9 از NmCas9[4] (۴۰) و ۱۰۵۳ امینو اسید Cas9 از SaCas9[5] (۴۱, ۴۲) و ۹۸۴ امینو اسید از CjCas9[6] (۴۳) قدم‌های روبه‌جلوی نسبت به این هدف است. لازم به ذکر است که برای مبادله پروتئین‌های کوچک Cas9 به توالی PAM پیچیده‌تری نیاز است.

[1] Acidaminococcus
[2] Lachnospiraceae bacterium

[3] AAV:Adeno Associated virus
[4] Neisseria meningitides
[5] Staphylococcus aureus
[6] Campylobacter jejuni

جدول ۱- آنزیم‌های اصلی CRISPR-Cas که به طور طبیعی شکل گرفته‌اند (۱).

منابع	محل برش	اندازه‌ی توالی راهنمای sgRNA	توالی PAM	اندازه	
(۳۳ ,۳۲)	~ 3bp 5′ of PAM	20bp	NGG	1368	spCas9
(۴۴)	~ 3pb 5′ of PAM	20bp	NGG	1629	FnCas9
(۴۵)	~ 3pb 5′ of PAM	21bp	NNGR RT	1053	SaCas9
(۴۰)	~ 3bp 5′ of PAM	24bp	NNNNG ATT	1082	NmCas9
(۴۱ ,۳۳)	~ 3bp 5′ of PAM	20bp	NNAGA AW	1121	St1Cas9
(۴۱ ,۳۳)	~ 3bp 5′ of PAM	20bp	NGGNG	1409	St3Cas9
(۳۸)	~ 3bp 5′ of PAM	22bp	NNNNACAC	984	CjCas9
(۴۶ ,۳۸]	19/24bp 3′ of PAM	24bp	TTTV	1307	AsCPf1
(۴۶ ,۳۸]	19/24bp 3′ of PAM	24bp	TTTV	1228	LbCpf1
(۲۶]		28bp	RNA هدف‌گذاری شده	ارتولوگ چندجانبه	Cas13

به عنوان مثال، SaCas9 به یک توالی ۵′-NNGRRT-3′ PAM احتیاج دارد؛ درحالی‌که CjCas9 به یک توالی-5 NNNNACAC-3′ PAM نیاز دارد. ازاین‌رو، پروتئین‌های کوچک Cas9 در مقایسه با پروتئین‌های SpCas9 از محدوده‌ی هدف‌گذاری و انعطاف‌پذیری نسبتاً محدودتری در تعیین ژنگان برخوردارند.

کاوش در سیستم‌های مختلف کریسپر نیاز به فهم و توصیف گسترده پروتئین‌های Cas جدید دارد. تلاش‌های زیادی برای مهندسی مجدد پروتئین‌های Cas9 انجام شده است که عمدتاً دارای سه هدف اصلی هستند: ۱-کاهش اندازه‌ی نوکئازهای Cas9 ۲- افزایش صحت و درستی و ۳- گسترش دامنه هدف‌گذاری انواع Cas9. با توجه به اینکه سیستم‌های کریسپر به عنوان یک سیستم دفاعی در برابر ویروس‌های غالباً جهش یافته هستند، برای باکتری‌ها یک سیستم کریسپر با دقت کمتر می‌تواند مفیدتر باشد. محققان در مطالعات اولیه از ابزارهای جایگزین مرتبط با تنوع ژنگان برای درک هدف‌گیری اختصاصی CRISPR-Cas9 استفاده کردند. بدین منظور، از سرکوب سیستم ایمنی کروماتین و تعیین توالی با بازدهی بالا (ChIPSeq) برای ترسیم نقشه بخش‌های اتصال DNA از SpCas9 کاتالیستی غیرفعال در موجود زنده استفاده نمودند. لازم به ذکر است که تجزیه و تحلیل دقیق اتصال‌های غیر هدف نشان می‌داد که این سیستم در بخش‌های انتهایی PAM عدم قطعیت‌هایی را نشان می‌دهد (۱). با این حال، تنها تعداد محدودی از بخش‌های اتصالی خارج از هدف که در داخل بدن شکافته شده‌اند نشانگر الزاماتی با دقت کمتر برای اتصال Cas9-DNA در مقابل شکستن DNA است. ازآنجاکه اتصال Cas9 مستلزم شکستن DNA نیست، روش‌های جایگزین برای مطالعه شکستن DNA در مقیاس ژنگان با استفاده از انواع Cas9 بکار گرفته شده‌است. اگرچه مقایسه‌ی دقیق روش‌های نقشه‌برداری مختلف فراتر از محدوده‌ی ذکر شده است، توجه به این نکته الزامی است که هر یک از این روش‌ها دارای مزایا و محدودیت‌های منحصر به فرد هستند. بنابراین تعیین یک فرایند بازرسی صحیح که نقشه‌برداری از کلیه‌ی بخش‌های قطع و اتصال DNA را با واسطه CRISPR-Cas9 انجام دهد، هنوز به صورت یک چالش باقی‌مانده است و به پارامترهای مختلفی مانند توالی‌های رهبر، نوع sgRNA سلول و روش‌های ارسال sgRNA/Cas9 وابسته است. به موازات این رویکردها برای ارزیابی اثرات غیرهدف این سیستم، تلاش‌های زیادی جهت افزایش ویژگی‌های هدف سیستم‌های CRISPR-Cas9 به‌واسطه‌ی مهندسی مجدد انواع spCas9های موجود انجام شده‌است. منظور از اثرات غیرهدف، تغییر بخشی از DNA است که مدنظر نبوده است (۴۷, ۴۸). تلاش‌های مرتبط با کاهش اثرات خارج از هدف به طور کلی در دو مسیر ۱) ایجاد روشی برای تشخیص

اثرات خارج از هدف و ۲) مهندسی سیستم CRISPR به منظور افزایش دقت آن صورت می‌گیرد.

در یک مطالعه، محققان جهش نقطه‌ای خاصی را شناسایی کردند که به‌طور قابل‌توجهی ویژگی SpCas9 را افزایش می‌داد. به همین ترتیب، ساختارهای منطقی منجر به ایجاد انواع Cas9 با ویژگی منحصر به فرد می‌شد. یکی از ساده‌ترین راه‌ها برای افزایش ویژگی هدف‌گذاری تغییر روش تحویل کمپلکس Cas9-sgRNA است. در مقابل ارسال بر پایه‌ی پلاسمید، ارسال مستقیم از Cas9-sgRNA به عنوان یک کمپلکس ریبونوکلئوپروتئین (RNP) که منجر به فعالیت زودگذرتر Cas9 می‌گردد، باعث کاهش اثرات غیر هدف می‌شود (۱). به‌علاوه، مورد هدف قراردادن پی در پی یک جایگاه با دو sgRNAی جداگانه، با بکار بردن نیکاز nCas9 یا غیرفعال کردن کاتالیستی Cas9 ادغام شده با DNA، اساساً باعث از هم گسیختگی حوزه Fok1 و کاهش فعالیت خارج از هدف WTCas9 می‌شود. کمپلکس‌های gRNA می‌توانند مکان ژنتیکی را با فاصله ۵ نانومتری تشخیص داده و به هم متصل کنند و منجر به اتصال خارج از هدف شوند. مقیاس‌بندی تعداد gRNAهای درون سلول باعث افزایش این اثرات خارج از هدف می‌شود.

استراتژی‌های موجود برای کاهش اتصالات خارج از هدف

خوشبختانه، استراتژی‌های متعددی برای کاهش اتصال خارج از هدف وجود دارد؛ از جمله، اصلاح مستقیم gRNA با کم کردن فضا که به وسیله کوتاه‌کردن انتهای یکی از عناصر tracrRNA انجام می‌شود، یا اندونوکلئاز Cas9 جهش‌یافته که به عنوان نیکاز عمل می‌کند. این عملکرد باعث کاهش اثرات خارج از هدف به اندازه ۱۵۰۰ برابر در رده‌های سلولی می‌شود (۴۹). dCas9 همچنین می‌تواند با حوزه‌های هسته FokI FuxI (که به طور قابل توجهی ویرایش اختصاصی هدف را در مقایسه با نوع تهاجمی Cas9 بهبود می‌بخشد) ادغام شود. تا زمانی که این روش نیاز به دو RNA رهبر جداگانه دارد که کروماتین در فاصله تقریبی مشخصی از مبدأ قرار بگیرد، احتمال اطلاعات خارج از هدف به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. به موازات این روش‌ها، روش وادار کردن Cas9 با استفاده از مولکول‌های کوچک شیمیایی، نوری، تنظیم آلوستریک[1] وابسته به لیگاند برای کنترل فعالیت‌های زمانی و فضاییِ کمپلکس Cas9/sgRNA باعث افزایش دقت هدف‌گیری می‌شود. (۵۰ و ۵۱).

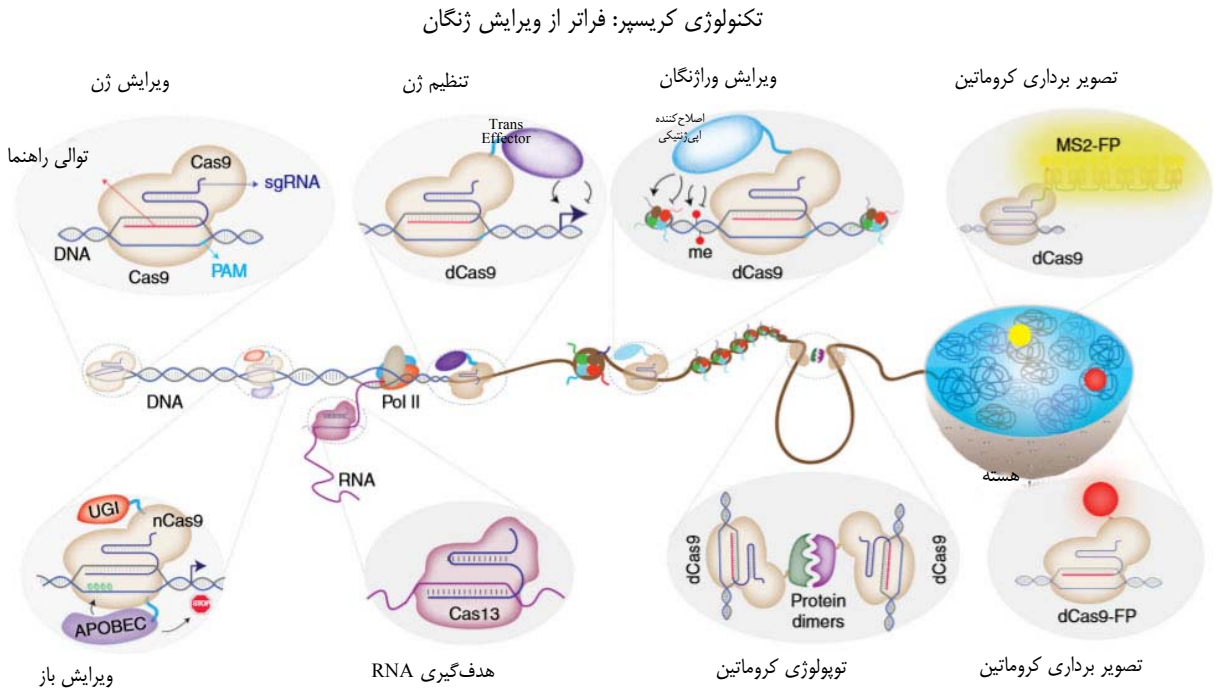
کاربردهای مختلف کریسپر cas9

به علت ویژگی‌هایی همچون انعطاف‌پذیری و غیرشکننده بودن این سیستم، کریسپر به یک ابزار همه‌کاره تبدیل شده‌است که نه تنها در مطالعات تغییر و ویرایش ژنگان، بلکه در بسیاری از فعالیت‌های مربوط به دستکاری ژنگان و کروماتین نیز قابل استفاده است. حوزه کاربردهای دیگر ممکن است بسیار گسترده باشد، زیرا با وجود آن که deadCas9 نمی‌تواند DNA را برش دهد، می‌تواند به توالی مورد نظر هدایت شود.

همان طور که در شکل ۳ نشان داده شده است، درحالی‌که WT Cas9 ویرایش ژنگان را از طریق فعالیت DNA برش‌خورده‌ی قابل هدایت امکان‌پذیر می‌کند، آنزیم‌های Cas9 دارای اختلال کاتالیستی برای دستیابی به تنظیم ژن هدف، ویرایش وراژنگان، تصویربرداری از کروماتین و دستکاری توپولوژی[2] کروماتین، مجدداً تنظیم شده‌اند. به‌علاوه، از آنزیم نیکاز Cas9 با اختلال کاتالیستی به عنوان بستری برای ویرایش باز و بدون شکستن دو رشته DNA استفاده شده است. علاوه بر هدف قرار دادن DNA توسط پروتئین‌های Cas، سیستم جدید کریسپر Cas که RNA را هدف قرار می‌دهد نیز توصیف شده است.

CRISPR-Cas9 دارای دو حوزه کاتالیستی HNH و RuvC می‌باشد که با هم نقش واسطه DNA DSBs را بازی می‌کنند (۵۲). هرکدام از این حوزه‌های کاتالیستی یک رشته DNA را برش می‌دهند. در نتیجه DSBها به توالی PAM در مکان‌های هدف‌گذاری شده نزدیک می‌شوند. به ویژه، جهش نقطه‌ای در هر کدام از این حوزه‌ها در آنزیم نیکاز اعمال می‌شود، درحالی‌که جهش در هر دو حوزه D10A و H840A for SpCas9 سبب از بین بردن کامل فعالیت برش DNA می‌شود (۳۲).

[1] ligand-dependent allosteric regulatin
[2] topology



شکل ۳- کاربرد اصلی فناوری کریسپر Cas در ویرایش ژنگان (۱).

تکامل نسل دوم ابزار ویرایش ژنگان-کریسپر

برخلاف WTCas9 که با ایجاد DSB و ایندل[1] تصادفی در مکان‌های هدف نتیجه می‌دهد، ابزارهای نسل دوم ویرایش ژن این توانایی را دارند که بدون ایجاد DSB، DNA یک واحد باز را به دیگری تبدیل کنند. همان‌طور که ذکر شد، ویرایشگرهای باز مستقیماً می‌توانند C را به T و A را به G تبدیل کنند. اخیراً از این ویرایشگرها برای تغییر کد ژنتیکی و معرفی کدون‌های پایان استفاده می‌شود که در آن می‌توان با ویرایش C به T در کدون‌های(CGA (Arg، CAG (Gln) و CAA (Gln)، کدون‌های(TGA (opal، TAG (amber) یا TAA STOP (ochre) را به ترتیب ساخت (۵۳, ۵۴, ۵۵). علاوه بر آنزیم آدنوزین دِآمیناز APOBEC، محرک آنزیم آدنوزین دآمیناز AID با آنزیم dCas9 ترکیب شده است. قابل ذکر است در صورت عدم وجود UGI در این کمپلکس، کمپلکس dCas9–AID به یک عامل قدرتمند موضعی موتاژنیک[2] تبدیل می‌شود که به عنوان یک ابزار غربالگر کاربردی[3] عمل می‌کند (۱).

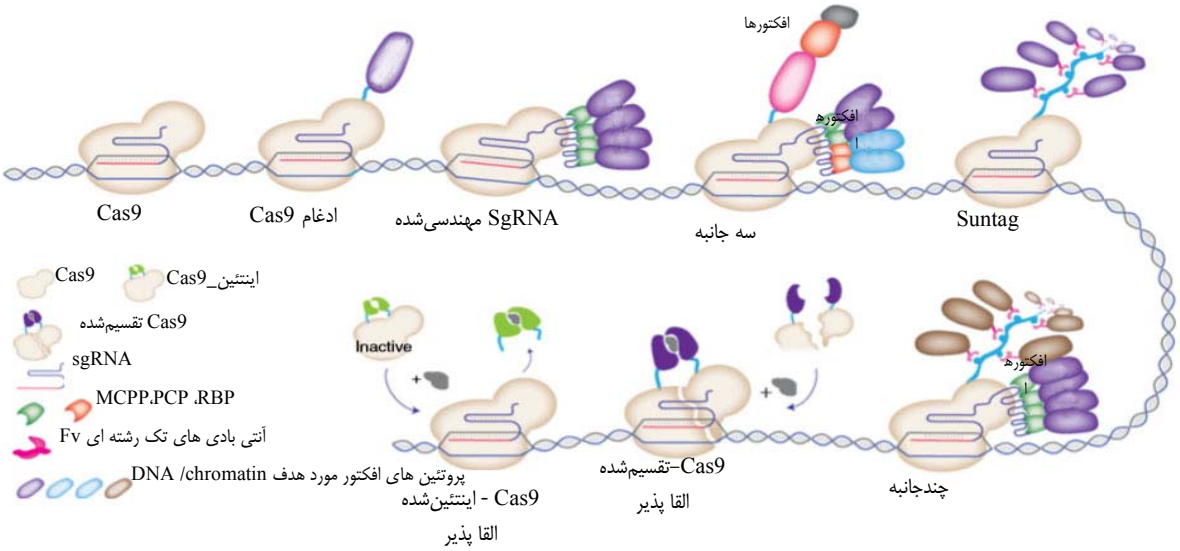
چگونگی عملکرد کریسپر در بیان ژن

بلافاصله بعد از اثبات اینکه WT Cas9 می‌تواند به عنوان یک اندونوکلئاز قابل برنامه‌ریزی برای ویرایش ژن استفاده شود، محققان از dCas9 به‌طور خاص برای تنظیم بیان ژن بهره‌گیری کردند. dCas9 به توالی DNA هدف اتصال محکمی ایجاد می‌کند که با فعالیت سایر پروتئین‌های اتصالی DNA مانند فاکتورهای رونویسی درون‌ژنی و RNA پلیمراز II مداخله می‌کند (۵۵).

[1] Indel

[2] mugtagenic

[3] gain of function screening tool



شکل ۴- استراتژی‌های مختلف جذب پروتئین‌های افکتور به بخش مورد نظر با استفاده از ظرفیت اتصال DNA قابل هدایت RNA از کمپلکس Cas9-sgRNA(۱).

در این رویکرد، فعالیت اتصال‌دهنده‌ی dCas9 می‌تواند رونویسی بیان ژن را از طریق فرایند مسدودکردن سرکوب[1] می‌کند (۵۵). پروتئین‌های افکتور می‌توانند مستقیماً از طریق یک اتصال‌دهنده‌ی پپتیدی به Cas9 فعال یا Cas9 غیرفعال کاتالیسی متصل شوند. قابل ذکر است، ترکیب شدن یک کمپلکس قوی سرکوبگر مثل KRAB[2] با dCas9 منجر به تشکیل یک سرکوبگر ژن قوی‌تر و خاص‌تر از dCas9 می‌شود (۵۶). پروتئین‌های زینک فینگر شامل KRAB بزرگ‌ترین خواننده‌ی سرکوبگرهای رونویسی در پستانداران را تشکیل می‌دهند (۵۷). علاوه بر این، داربست sgRNA می تواند به گونه‌ای ساخته شود که حاوی چندین آپتامر RNA باشد که به طور خاص به پروتئین‌های متصل-کننده‌ی(RBP) RNA شناخته شده مانند MCP یا PCP متصل می‌شوند (شکل ۴). پروتئین‌های افکتور می‌توانند از طریق ادغام شدن با RBP به محل مورد هدف هدایت شوند. رویکرد SunTag از یک آرایه پپتیدی تکراری از داربست پروتئینی برای جذب چندین نسخه از یک آنتی‌بادی ادغام شده با پروتئین افکتور استفاده می‌کند (۵۸).

استراتژی‌های شیمیایی القایی امکان کنترل موقت فعالیت Cas9 یا Cas9 ادغام شده با پروتئین‌های افکتور را فراهم می‌کنند. در تقسیم Cas9، هر نیمی از پروتئین Cas9 می‌تواند القاشده باشد تا یک کمپلکس عملکردی را بسازد. در نظریه اینتئین-Cas9، قطعه پروتئین اینتئین[3] می‌تواند به‌طور شیمیایی القاشده باشد تا از Cas9 خارج شده و منجر به فعال‌شدن آن شود. این تنظیم‌کننده‌های رونویسی، پروتئین‌های سرکوبگر همراه[4] مثل KAP-1[5] و پروتئین‌های خواننده اپی‌ژنتیکی مثل HP1[6] را برای سرکوب ژن جذب می‌کنند (۵۹). سرکوب ژن به‌واسطه‌ی KRAB تا حدودی با برنامه‌ریزی مجدد اپی‌ژنتیکی موضعی تغییرات هیستونی و با کاهش در H3 استیلاسیون[7] و افزایش در H3 K9me3[8] سرکوب ژن پیش‌برنده همراه[9] است (۶۰). در راستای این یافته‌ها، کمپلکس ترکیب dCas9-KRAB منجر به کاهش دسترسی کروماتین و افزایش سطح‌های H3K9me3 در هر دو ژن هدف پیش‌برنده همچون تقویت‌کننده‌های دیستال[10] می‌شود. برخلاف سرکوب ژن واسطه‌ی dCas9-KRAB، استفاده از پلتفرم‌های هدف dCas9 به منظور جذب فعال‌کننده‌های رونویسی قوی منجر به القای بیان ژن می‌شود.

[1] KD:knocks down
[2] Kruppel-associated Bo

[3] intein protein segment
[4] co-repressor
[5] KRAB-box-associated protein-1
[6] Heterochromatin protein1(HP1)
[7] H3-acetylation
[8] H3 lysin 9 trimethylation (H3K9me3)
[9] gene promoters
[10] distal

در مطالعه‌ای توسط Adli در سال ۲۰۱۸، dCas9 را با VP64 که از چهار نسخه‌ی پشت سر هم از یک حوزه‌ی انتقال ۱۶ امینواسید طولانی VP16 از ویروس ساده هرپس تشکیل شده است، ترکیب شد (۶۱) و استراتژی فعال‌سازی ژن واسطه‌ی dCas9-VP64 توسط تعدادی از پلتفرم‌های فعال‌سازی نسل دوم بر پایه‌ی کریسپر بهبود یافت (۶۲). علاوه بر این، محققان dCas9 را با یک کمپلکس سه جانبه ای فعال‌ساز که از پروتئین‌های VP64، P65 و Rta (VPR) تشکیل شده است، ترکیب کردند تا به بیان ژن برسند (شکل ۴) (۶۳). P65 یک دامنه‌ی فعال‌سازی رونویسی از فاکتور رونویسی NF-κB پستانداران است، در حالیکه Rta[1] در ویروس *اپستین بار*[2] است (۶۴). نکته‌ی قابل توجه آن است که علاوه بر اتصال مستقیم به dCas9، دامنه‌های افکتور می‌توانند به داربست sgRNA نیز جذب شوند. برای این رویکردها داربست sgRNA به‌گونه‌ای طراحی‌شده است که شامل واحدهای RNA مثل آپتامرهای هیرپین MS2[3] است که می‌تواند به پروتئین‌های مخصوص اتصالی RNA مانند پروتئین پوششی باکتریوفاژ (MCP) متصل شود (۶۵, ۶۶). محققان از داربست مهندسی شده sgRNA-MS2 برای جذب ترکیب VP64–MCP (۶۷) یا کمپلکس فعال‌سازی انتقال (P65-HSF1 HSF1[4] شوک حرارتی فعال کننده رونویسی) (۵۸) برای فعال کردن بیان ژن از یک مکان اندوژنی استفاده کردند. در رویکردی دیگر به نام SAM[5]، علاوه بر کمپلکس ترکیبی dCas9-VP64، ترکیب MCP با P65-HSF1 از طریق داربست مهندسی‌شده‌ی sgRNA جذب قسمت موردنظر می‌شود (۶۸). اکنون که رویکردهای مختلفی برای القای ژن در مکان‌های ویژه موجود است، یک چالش برای کشف یک رویکرد ایده آل وجود دارد که راه‌حل آن احتمالاً به نوع و موقعیت سلول بستگی دارد. با این حال، تجزیه و تحلیل استراتژی‌های متنوع فعال‌سازی ژن مبتنی بر dCas9 در بین گونه‌های مختلف (چندین دسته‌ی انسانی، موش و سلول‌های پرواز) نشان می‌دهد که استاندارد سیستم‌های VPR, SAM و Suntag از استاندارد VP64 بالاتر بوده و اگرچه رویکردهای SAM توانمندی بیشتری نشان می‌دهند (۶۹)، اختلاف زیادی در

[1] Rta :R transactivative
[2] Epstein-Bar
[3] MS2 hairpin aptamers
[4] HSF1: heat shock transcription activator
[5] SAM: synergitic activation medistor

القای بیان ژن نسبت به حالت اولیه[6] در نقطه‌ای خاص از لوکوس دارند. تحریک بیان بخش‌های اندوژنی مزایای بیشتری نسبت به بیان اگزوژنی دارد. کنترل دقیق زمانی و مکانی بر پویایی بیان ژن بخش هدف از پتانسیل درمانی بسیار خوبی برخوردار است. انعطاف‌پذیری رویکرد کریسپر به محققان این امکان را می‌دهد تا روش‌های مختلفی را برای دستیابی به این هدف اتخاذ کنند. هدف‌گذاری القایی کریسپر از طریق اپتوژنتیک[7] و مولکول‌های کوچک از پیشرفت‌های قابل توجهی در رویکردهای بیان ژن باواسطه‌ی کریسپر برخوردار هستند (۱).

حوزه‌های عملکردی کریسپر

برخلاف اپی‌ژنتیک که بر مکانیسم دلالت دارد، وراژنگان می‌تواند همه‌ی تغییرات بعد از ترجمه و سایر ویژگی‌های کروماتین را همراه با عناصر نظارتی در ژنگان توضیح دهد. تلاش اخیر در زمینه‌ی وراژنگان در مقیاس بزرگ‌تر مثل دانشنامه عناصر DNA (ENCODE) و کنسرتیوم[8] نقشه‌برداری نقشه‌برداری از وراژنگان (REMC) باعث شد نقشه‌برداری از تغییرات کروماتین از روی DNA و پروتئین هیستون موجود در میان ژنگان در انواع خطوط مختلف سلولی مثل انواع ابتدایی سلول و بافت ترسیم شود (۷۰, ۷۱). متیلاسیون DNA یکی از مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی است که به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌است. قابل توجه است که در گیاهان و ارگانیسم‌های دیگر، متیلاسیون DNA در سه زمینه مختلف CG (or CPG)، CHG و CHH (H is A, T, or C) وجود دارد؛ درحالی‌که در سیستم‌های پستانداران، متیلاسیون DNA غالباً در کربن پنجم باقیمانده سیتوزین (۵-متیل سیتوزین) CpG اتفاق می‌افتد (۷۲). دی نوکلئوتید DNMT3A و DNMT3B دو آنزیم متیل ترانسفراز DNA هستند که متیلاسیون DNA de novo را کاتالیز می‌کنند (۷۳). متیلاسیون ۵ سیتوزین DNA در عناصر تنظیم‌کننده پروموتور یا دیستال معمولاً با سرکوب رونویسی همراه است. متیلاسیون DNA Aberrant در تعدادی از بیماری‌های آسیب‌شناختی از جمله سرطان نقش دارد. در این مورد، برخی از مولکول‌های کوچک مهارکننده اپی‌ژنتیک در سطح کلی متیلاسیون DNA مانند ۵-آزاسیتیدین را هدف

[6] Fold change
[7] optogenetics
[8] Consortium

قرار می‌دهند (۷۴). این مولکول‌های کوچک که از قبل در حال استفاده بالینی بوده‌اند، کل ژنگان را هدف قرار می‌دهند؛ بنابراین حالت کروماتینی محل‌هایی را که به صورت اپی‌ژنتیکی طبیعی باشند، تغییر می‌دهند. ابزارهای ویرایش اپی‌ژنتیکی که به‌طور خاص مکان‌هایی را تنظیم می‌کنند که به‌طور غیرقانونی تنظیم شده‌اند، از پتانسیل درمانی بسیار خوبی برخوردار هستند و به سرعت در حال توسعه هستند. برای دستیابی به اثبات این اصل، محققان از سیستم dCas9 برای هر دو نشانگر متیلاسیون DNA و متیلاسیون DNA اندوژن در محل مورد نظر استفاده کردند که هدف آن‌ها انتقال متیلاسیون DNA به یک مکان مشخص بود. آن‌ها dCas9 را با حوزه کاتالیزوری DNA متیل ترانسفراز یوکاریوتی DNMT3 (۱) یا DNA متیل ترانسفراز پروکاریوتی MQ3 ادغام کردند (۵۳) که در هر دو استراتژی، رسوب قابل توجهی از متیلاسیون DNA و بیان ژن تغییریافته در محل مورد نظر مشاهده شد. به علاوه، جذب هدفمند اجزای اضافی ابزار اپی‌ژنتیکی سرکوبگر مانند KRAB-ZNF، DNMT3L و کمپلکس‌های پلی‌کربن باعث تقویت بیشتر استحکام متیلاسیون DNA و سرکوب ژن پایدار در طولانی مدت می‌شود (۱). همچنین با استفاده از مدل سلول‌های بنیادی جنینی بدون DNA متیل ترانسفراز[1]، مطالعه‌ای نشان داد که DNA متیل ترنسفراز ترکیب‌شده با dcas9 تأثیراتی سراسری در بخش‌هایی خارج از محدوده‌ی هدف می‌گذارد که از روی تأثیرات باقی‌مانده از متیلاسیون غیر وابسته به sgRNA و نحوه انتقال آن مشخص می‌شود. لازم به ذکر است با وجود افزایش کلی در متیلاسیون DNA که به فراوانی مایع ترانسفراز dCas9 آزاد هسته‌ای نسبت داده می‌شد با تأثیر محدود بر بیان ژن همراه بود (۷۵).

پروتئین‌ها در تنظیم اپی‌ژنتیک پویا نقش مهمی را ایفا می‌کنند. تعدادی از گروه‌های تحقیقاتی با استفاده از dCas9 هدایت‌پذیر به عنوان پلتفرمی برای جذب دامنه‌های کاتالیزوری پروتئین‌های TET، دستیابی دمتیلاسیون در محل‌های خاص DNA را مورد هدف قرار دادند. کمپلکس همجوشی dCas9-TET1 منجر به ناهمسانگردی DNA در حداکثر ۹۰٪ دی نوکلئوتیدهای موضعی CpG و افزایش قابل توجه در بیان mRNA در بخش‌های هدف شد.

[1] DNA methyltransferase-deficient

آنزیم‌های Cas نیز می‌توانند با ایجاد پیوند میان اندونوکلئاز با پروموتورهای القاکننده نور یا شیمیایی به صورت انتخابی، باعث کاهش سمیت یا افزایش قابلیت برنامه‌ریزی شوند (۷۶, ۷۷). به نظر می‌رسد در آینده نزدیک استراتژی‌هایی به منظور فعال‌سازی پروتئین‌های ضد CRISPR تدوین شود تا بتواند عملکردهای اندونوکلئاز «خاموش» را غیرفعال کند. سایر استراتژی‌ها برای کنترل فعالیت CRISPR-Cas بر تغییراتی در ساختار sgRNAها تکیه می‌کنند (۷۸). gRNA ها یا به صورت شرطی و کاملاً فعال هستند که توسط سوئیچ‌های ترمینال RNA غیرفعال می‌شوند و یا کاملاً غیرفعال هستند که توسط یک ماشه RNA «روشن» می‌شوند (۷۹). این استراتژی فعالیت CRISPR-Cas قابل برنامه‌ریزی در داخل بدن را در باکتری‌ها و سلول‌های انسانی نشان خواهد داد. محققان نشان دادند که چنین ابزارهایی به‌طور مشخص بیان ژن‌های مورد نظر را دستکاری می‌کنند. با این حال، هرچند بیان بیش از حد کمپلکس‌های ترکیب اپی‌ژنتیک ممکن است در سطح پایین باشد، اما اثر اپی‌ژنتیکی سراسری ژنگان، همان‌طور که برای کمپلکس ترکیب dCas9–DNMT3A ذکر شده است، هنوز مشخص نشده است. به همین منظور، رویکردهای جدید مانند جذب القایی مبتنی بر Fkbp/Frb برای ویرایش وراژنگان توسط Cas9 (FIRE–Cas9) ممکن است با جذب تنظیم‌کننده‌های کروماتین درون ژنی، دقت بالاتری را در ویرایش اپی‌ژنتیکی ایجاد کند (۸۰). شناسایی ارتباط بین علائم اپی‌ژنتیکی و بیان ژن هدف اصلی در زیست‌شناسی کروماتین است. تاکنون، ابزارهایی که ما را قادر به تغییر وراژنگان می‌کنند موجود هستند و مرحله‌ی بعدی استفاده از این ابزارها برای توصیف بهتر عناصر تنظیمی و حالات سلول‌هاست. به همین منظور، محققان تاکنون از ابزارهای ویرایش ژنگان مبتنی بر Cas9 برای تعدادی از اهداف جالب مانند غربال‌گری سراسری با بازدهی بالا برای توصیف عملکرد تقویت‌کننده‌های دیستال (۸۱)، برنامه‌نویسی مجدد هدفمند از مشخصات سویه (۸۲، ۸۳)، تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القایی و معکوس دوره‌ی کمون HIV استفاده کرده‌اند (۸۴).

روش‌های انتقال ژن به درون سلول

همان‌طور که پیش‌تر بیان شد، اولین قدم برای ویرایش ژنگان تهیه‌ی اجزای CRISPR شامل Cas یا مشتقات

Cas، gRNA و در صورت لزوم DNAهای اضافه است. این اجزا سپس به درون سلول منتقل خواهند شد و انتقال‌دهنده های آن‌ها به درون سلول غالباً به دو دسته‌ی وکتورهای ویروسی و وکتورهای غیر ویروسی تقسیم می‌شوند. انتقال غیر ویروسی شامل ریز تزریق، الکتروپوریشن[1] و یا استفاده از مواد شیمیایی است (۸۵). بسته به سیستم انتقال‌دهنده اجزای ویرایش ژنگان می‌تواند اشکال متنوعی از DBA، RNA و یا RNP باشد. کیت و ابزار گوناگون برای هر یک از روش‌های انتقال ایجاد شده است. با این حال، جهت ژن‌درمانی درون سلولی در اکثر اوقات به سیستم انتقال ویروسی متکی هستیم و AAVها به عنوان وکتور ویروسی پیشنهاد شده‌اند. با این حال برای یک انتقال مؤثر، در اندازه‌ی ژن بارگذاری شده (4.5 kb) محدودیت وجود دارد؛ به این دلیل که بیشتر پروتئین‌های Cas شناخته‌شده سنگین هستند. برای مثال، SpCas9 ۱۳۶۸ تا امینو اسید دارد و بسته‌بندی آن با gRNA کد کننده‌ی DNA در یک ذره AAV بسیار مشکل است. این چالش از دو طریق مورد بررسی قرار گرفته شده است. در روش اول، جستجو برای اورتولوگ‌های سبک‌تر Cas در آرکی‌ها و باکتری‌ها که شامل NmCas9 (1082 aa)، SaCas9 (۱۰۵۳ aa)، CjCas9 (984 aa) و ScCas9 هستند، در چندین سروتیپ بارگذاری شده و به درون سلول حمل می‌شوند (۴۳, ۸۶, ۸۷). Cas14 می‌تواند به عنوان یک Cas سبک مورد استفاده قرار گیرد؛ چراکه می‌تواند فعالیت شکافنده‌ی dsDNA را حفظ کند (۸۸). در روش دیگر، SpCas9 سنگین به N-Cas9 (2–573 aa) و C-Cas9 (574–1368 aa) تقسیم شده و هریک به طور جداگانه در یک AAV بارگذاری می‌شود و Cas9 بازسازی-شده با موفقیت به داخل سلول‌های بدن منتقل می‌شود. ابزار ویرایش ژنگان نه تنها شامل برش‌دهنده‌ی dsDNA است، بلکه ویرایشگرهای باز و تنظیم‌کننده‌های ژن مبتنی بر dCas نیز برای CRISPRi و CRISPRa استفاده می‌شوند. حالت دوم به آن معناست که افزایش بیشتر در اندازه‌ی کامل ژن اجتناب‌ناپذیر است. گرچه مدل‌های ادغام‌شده با تنظیم‌کننده‌های Cas در سیستم وکتور ویروسی AAV مورد آزمایش قرار نگرفته اند؛ اما پیشرفت‌های فنی فاز جدیدی را ارائه می‌دهند که در آن ابزارهای ویرایش ژنگان با استفاده از سیستم‌های وکتور ویروسی و بدون نگرانی از اندازه منتقل می‌شود.

[1] Electroporation

پاسخ‌های ایمنی

به طور کلی، ابزارهای کریسپر با ترکیب زیست مولکول‌های مشتق‌شده از پروکاریوت‌ها در سلول‌های بدن یوکاریوت‌ها عمل می‌کنند. این مسئله این نگرانی را ایجاد می‌کند که مواد خارجی باعث سمّیت سلول‌ها و واکنش‌های ایمنی بدن شوند. اما در حقیقت، محققان از تجزیه و تحلیل‌های نمونه‌های خونی دریافتند که ۷۹٪ افراد مورد آزمایش دارای آنتی‌بادی علیه SaCas9 و ۶۵٪ دارای آنتی‌بادی علیه SpCas9 بودند (۸۹). دو ارتولوگ SaCas9 و SpCas9 از اس اورئوس[2] و اس پیوژنز[3] که در محیط‌های انسانی شیوع دارند و مستعد تماس با سیستم ایمنی بدن انسان هستند، ارتولوگ‌هایی از Cas هستند که به منظور ژن درمانی مورد مطالعه‌ی گسترده قرارگرفته‌اند. گروه '5–فسفات انتهایی gRNA در انسان سبب بروز پاسخ ایمنی می‌شود (۹۰). اصلاح آن به گروه '5–هیدروکسیل به عنوان راهی برای جلوگیری از پاسخ‌های نامطلوب بیولوژیکی پیشنهاد شده است.

نتیجه‌گیری

کریسپر در زمینه ویرایش ژنگان متحول شده است؛ زیرا اگر بیش از ابزار ویرایش ژنگان کارایی نداشته باشد، به همان اندازه قدرتمند است. به علاوه، استفاده از آن بسیار ساده‌تر و انعطاف‌پذیرتر است. حضور چندین دستاورد مهم راه را برای تبدیل سیستم‌های CISPR به فناوری ویرایش ژنگان باز می‌کند که از جمله آن‌ها این است که توالی‌های اکتسابی حدفاصل در مناطقی به PAM بسیار شبیه به یکدیگر هستند و این توالی برای عملکرد کریسپر بسیار حیاتی است. NHEJ درکل چرخه سلولی کاربرد دارد، ولی به علت عملکرد تصادفی آن دقت کافی برای کارهای دقیق را ندارد؛ درحالی‌که HDR مربوط به چرخه‌های سلولی S و G2 است. به علت این محدودیت‌ها، ویرایشگرهای باز که شامل CBE و ABE هستند و می‌توانند بدون شکستن DNA، C را به T و A را به G تغییر دهند، بیشتر مورد توجه قرار گرفتند. کریسپر دارای اثرات خارج از هدف است که

[2] S. aureus
[3] S. pyogenes

برای غلبه بر این مشکل، محققان با شناسایی یک جهش نقطه‌ای خاص که ویژگی spCas را به طور قابل توجهی افزایش می‌داد، سبب ایجاد انواع Cas9 با ویژگی‌های منحصر به فرد شدند. یکی دیگر از راه‌های کاهش اثرات خارج از هدف تغییر به روش CAS9-sgRNA است. مورد هدف قرار دادن پی در پی یک جایگاه فعال با ۲ تا sgRNA جداگانه با استفاده از nCas9 یا غیرفعال سازی کاتالیستی Cas9 ادغام شده با DNA نیز اساساً باعث از هم گسیختگی حوزه Fok1 و کاهش فعالیت خارج از هدف WTCas9 می‌شود. علاوه بر این‌ها روش‌های مهندسی پروتئین Cas9 با تلاش‌هایی به منظور افزایش ویژگی هدف‌گذاری روی داربست sgRNA انجام شد. هم‌چنین راهکارهایی به منظور غلبه بر محدودیت‌های موجود در انتقال ژن‌های بزرگ و سنگین نیز بیان شد و در آخر عوامل ایجادکننده پاسخ ایمنی در طی استفاده از این ابزار و راه‌های غلبه بر آن نیز به طور مختصر بررسی شد.

منابع

1. Adli, M., The CRISPR tool kit for genome editing and beyond. Nature communications, 2018. 9(1): p. 1-13.
2. Rothstein, R.J., [12] One-step gene disruption in yeast. Methods in enzymology, 1983. 101: p. 202-211.
3. Capecchi, M.R., Altering the genome by homologous recombination. Science, 1989. 244(4910): p. 1288-1292.
4. Lin, F., K. Sperle, and N. Sternberg, Recombination in mouse L cells between DNA introduced into cells and homologous chromosomal sequences. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1985. 82(5): p. 1391-1395.
5. Rudin, N., E. Sugarman, and J.E. Haber, Genetic and physical analysis of double-strand break repair and recombination in Saccharomyces cerevisiae. Genetics, 1989. 122(3): p. 519-534.
6. Rouet, P., F. Smih, and M. Jasin, Introduction of double-strand breaks into the genome of mouse cells by expression of a rare-cutting endonuclease. Molecular and cellular biology, 1994. 14(12): p. 8096-8106.
7. Jeggo, P., 5 DNA Breakage and Repair, in Advances in genetics. 1998, Elsevier. p. 185-218.
8. Klug, A. and D. Rhodes. Zinc fingers: a novel protein fold for nucleic acid recognition. in Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology. 1987. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
9. Kim, Y.-G., J. Cha, and S. Chandrasegaran, Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996. 93(3): p. 1156-1160.
10. Bibikova, M., et al., Stimulation of homologous recombination through targeted cleavage by chimeric nucleases. Molecular and cellular biology, 2001. 21(1): p. 289-297.
11. Porteus, M.H. and D. Baltimore, Chimeric nucleases stimulate gene targeting in human cells. Science, 2003. 300(5620): p. 763-763.
12. Boch, J., et al., Breaking the code of DNA binding specificity of TAL-type III effectors. Science, 2009. 326(5959): p. 1509-1512.
13. Moscou, M.J. and A.J. Bogdanove, A simple cipher governs DNA recognition by TAL effectors. Science, 2009. 326(5959): p. 1501-1501.
14. Gaj, T., C.A. Gersbach, and C.F. Barbas III, ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. Trends in biotechnology, 2013. 31(7): p. 397-405.
15. Jansen, R., et al., Identification of genes that are associated with DNA repeats in prokaryotes. Molecular microbiology, 2002. 43(6): p. 1565-1575.
16. Ishino, Y., et al., Nucleotide sequence of the iap gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in Escherichia coli, and identification of the gene product. Journal of bacteriology, 1987. 169(12): p. 5429-5433.
17. Mojica, F.J., et al., Biological significance of a family of regularly spaced repeats in the genomes of Archaea, Bacteria and mitochondria. Molecular microbiology, 2000. 36(1): p. 244-246.
18. Maeder, M.L., et al., CRISPR RNA–guided activation of endogenous human genes. Nature methods, 2013. 10(10): p. 977-979.
19. Barrangou, R., et al., CRISPR provides acquired resistance against viruses in prokaryotes. Science, 2007. 315(5819): p. 1709-1712.
20. Marraffini, L.A. and E.J. Sontheimer, Self versus non-self discrimination during CRISPR RNA-directed immunity. Nature, 2010. 463(7280): p. 568-571.
21. Brouns, S.J., et al., Small CRISPR RNAs guide antiviral defense in prokaryotes. Science, 2008. 321(5891): p. 960-964.
22. Marraffini, L.A. and E.J. Sontheimer, CRISPR interference limits horizontal gene transfer in staphylococci by targeting DNA. science, 2008. 322(5909): p. 1843-1845.
23. Haft, D.H., et al., A guild of 45 CRISPR-associated (Cas) protein families and multiple CRISPR/Cas subtypes exist in prokaryotic genomes. PLoS computational biology, 2005. 1(6).
24. Makarova, K.S., et al., Evolution and classification of the CRISPR–Cas systems. Nature Reviews Microbiology, 2011. 9(6): p. 467-477.
25. Khan, S., et al., CRISPR/Cas9: the Jedi against the dark empire of diseases. Journal of biomedical science, 2018. 25(1): p. 29.
26. Abudayyeh, O.O., et al., C2c2 is a single-component programmable RNA-guided RNA-targeting CRISPR effector. Science, 2016. 353(6299): p. aaf5573.
27. Deveau, H., et al., Phage response to CRISPR-encoded resistance in Streptococcus thermophilus. Journal of bacteriology, 2008. 190(4): p. 1390-1400.
28. Zetsche, B., et al., Cpf1 is a single RNA-guided endonuclease of a class 2 CRISPR-Cas system. Cell, 2015. 163(3): p. 759-771.
29. Garneau, J.E., et al., The CRISPR/Cas bacterial immune system cleaves bacteriophage and plasmid DNA. Nature, 2010. 468(7320): p. 67-71.
30. Deltcheva, E., et al., CRISPR RNA maturation by trans-encoded small RNA and host factor RNase III. Nature, 2011. 471(7340): p. 602-607.
31. Sapranauskas, R., et al., The Streptococcus thermophilus CRISPR/Cas system provides immunity

in Escherichia coli. Nucleic acids research, 2011. 39(21): p. 9275-9282.

32.Jinek, M., et al., A programmable dual-RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. science, 2012. 337(6096): p. 816-821.

33.Gasiunas, G., et al., Cas9–crRNA ribonucleoprotein complex mediates specific DNA cleavage for adaptive immunity in bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2012. 109(39): p. E2579-E2586.

34.Wright, W.D., S.S. Shah, and W.-D. Heyer, Homologous recombination and the repair of DNA double-strand breaks. Journal of Biological Chemistry, 2018. 293(27): p. 10524-10535.

35.McVey, M. and S.E. Lee, MMEJ repair of double-strand breaks (director's cut): deleted sequences and alternative endings. Trends in Genetics, 2008. 24(11): p. 529-538.

36.Zhao, X., et al., Cell cycle-dependent control of homologous recombination. Acta biochimica et biophysica Sinica, 2017. 49(8): p. 655-668.

37.Eid, A., S. Alshareef, and M.M. Mahfouz, CRISPR base editors: genome editing without double-stranded breaks. Biochemical Journal, 2018. 475(11): p. 1955-1964.

38.Komor, A.C., et al., Programmable editing of a target base in genomic DNA without double-stranded DNA cleavage. Nature, 2016. 533(7603): p. 420-424.

39.Gaudelli, N.M., et al., Programmable base editing of A• T to G• C in genomic DNA without DNA cleavage. Nature, 2017. 551(7681): p. 464-471.

40.Hou, Z., et al., Efficient genome engineering in human pluripotent stem cells using Cas9 from Neisseria meningitidis. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013. 110(39): p. 15644-15649.

41.Ran, F.A., et al., In vivo genome editing using Staphylococcus aureus Cas9. Nature, 2015. 520(7546): p. 186-191.

42.Friedland, A.E., et al., Characterization of Staphylococcus aureus Cas9: a smaller Cas9 for all-in-one adeno-associated virus delivery and paired nickase applications. Genome biology, 2015. 16(1): p. 257.

43.Kim, E., et al., In vivo genome editing with a small Cas9 orthologue derived from Campylobacter jejuni. Nature communications, 2017. 8: p. 14500.

44.Hirano, H., et al., Structure and engineering of Francisella novicida Cas9. Cell, 2016. 164(5): p. 950-961.

45.Mojica, F.J., J. García-Martínez, and E. Soria, Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. Journal of molecular evolution, 2005. 60(2): p. 174-182.

46.Yamano, T., et al., Crystal structure of Cpf1 in complex with guide RNA and target DNA. Cell, 2016. 165(4): p. 949-962.

47.Zuo, E., et al., Cytosine base editor generates substantial off-target single-nucleotide variants in mouse embryos. Science, 2019. 364(6437): p. 289-292.

48.Jin, S., et al., Cytosine, but not adenine, base editors induce genome-wide off-target mutations in rice. Science, 2019. 364(6437): p. 292-295.

49.Ran, F.A., et al., Double nicking by RNA-guided CRISPR Cas9 for enhanced genome editing specificity. Cell, 2013. 154(6): p. 1380-1389.

50.Guilinger, J.P., D.B. Thompson, and D.R. Liu, Fusion of catalytically inactive Cas9 to FokI nuclease improves the specificity of genome modification. Nature biotechnology, 2014. 32(6): p. 577.

51.Tsai, S.Q., et al., Dimeric CRISPR RNA-guided FokI nucleases for highly specific genome editing. Nature biotechnology, 2014. 32(6): p. 569-576.

52.Nishimasu, H., et al., Crystal structure of Cas9 in complex with guide RNA and target DNA. Cell, 2014. 156(5): p. 935-949.

53.Lei, Y., et al., Targeted DNA methylation in vivo using an engineered dCas9-MQ1 fusion protein. Nature communications, 2017. 8(1): p. 1-10.

54.Moon, S.B., J.-H. Ko, and Y.-S. Kim, Recent advances in the CRISPR genome editing tool set. Experimental & molecular medicine, 2019. 51(11): p. 1-11.

55.Qi, L.S., et al., Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. Cell, 2013. 152(5): p. 1173-1183.

56.Gilbert, L.A., et al., CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes. Cell, 2013. 154(2): p. 442-451.

57.Urrutia, R., KRAB-containing zinc-finger repressor proteins. Genome biology, 2003. 4(10): p. 231.

58.Konermann, S., et al., Genome-scale transcriptional activation by an engineered CRISPR-Cas9 complex. Nature, 2015. 517(7536): p. 583-588.

59.Friedman, J.R., et al., KAP-1, a novel corepressor for the highly conserved KRAB repression domain. Genes & development, 1996. 10(16): p. 2067-2078.

60.Groner, A.C., et al., KRAB–zinc finger proteins and KAP1 can mediate long-range transcriptional repression through heterochromatin spreading. PLoS genetics, 2010. 6(3).

61.Wysocka, J. and W. Herr, The herpes simplex virus VP16-induced complex: the makings of a regulatory switch. Trends in biochemical sciences, 2003. 28(6): p. 294-304.

62.Cheng, A.W., et al., Multiplexed activation of endogenous genes by CRISPR-on, an RNA-guided transcriptional activator system. Cell research, 2013. 23(10): p. 1163-1171.

63.Chavez, A., et al., Highly efficient Cas9-mediated transcriptional programming. Nature methods, 2015. 12(4): p. 326-328.

64.Hardwick, J.M., et al., The Epstein-Barr virus R transactivator (Rta) contains a complex, potent activation domain with properties different from those of VP16. Journal of virology, 1992. 66(9): p. 5500-5508.

65.Sugiyama, T. and D. Nakada, Translational control of bacteriophage MS2 RNA cistrons by MS2 coat protein: polyacrylamide gel electrophoretic analysis of proteins synthesized in vitro. Journal of molecular biology, 1968. 31(3): p. 431-440.

66.Peabody, D.S., The RNA binding site of bacteriophage MS2 coat protein. The EMBO journal, 1993. 12(2): p. 595-600.

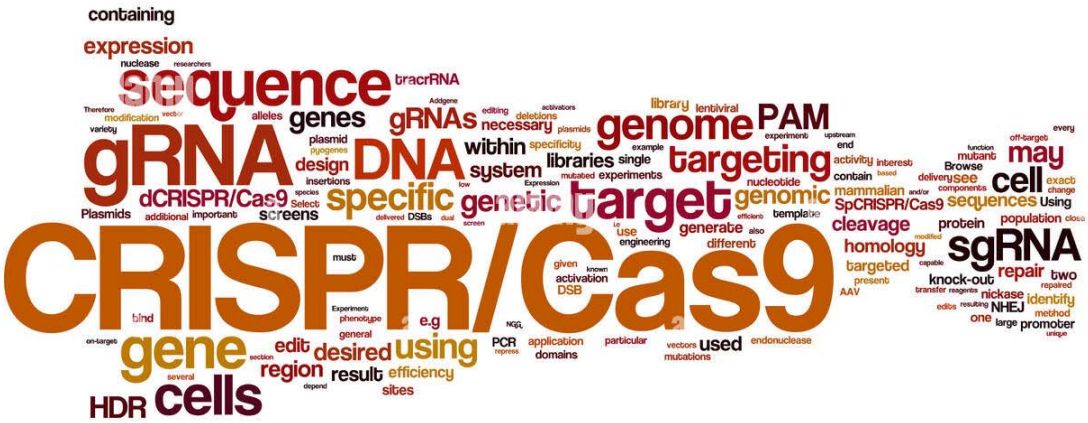
67.Zalatan, J.G., et al., Engineering complex synthetic transcriptional programs with CRISPR RNA scaffolds. Cell, 2015. 160(1-2): p. 339-350.

68.Tanenbaum, M.E., et al., A protein-tagging system for signal amplification in gene expression and fluorescence imaging. Cell, 2014. 159(3): p. 635-646.

69.Chavez, A., et al., Comparison of Cas9 activators in multiple species. Nature methods, 2016. 13(7): p. 563-567.

70.Qu, H. and X. Fang, A brief review on the Human Encyclopedia of DNA Elements (ENCODE) project. Genomics, proteomics & bioinformatics, 2013. 11(3): p. 135-141.

71. Bernstein, B.E., et al., The NIH roadmap epigenomics mapping consortium. Nature biotechnology, 2010. 28(10): p. 1045-1048.
72. Razin, A. and A.D. Riggs, DNA methylation and gene function. Science, 1980. 210(4470): p. 604-610.
73. Okano, M., et al., DNA methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. Cell, 1999. 99(3): p. 247-257.
74. Kaminskas, E., et al., FDA Commentary. The oncologist, 2005. 10: p. 176-182.
75. Galonska, C., et al., Genome-wide tracking of dCas9-methyltransferase footprints. Nature communications, 2018. 9(1): p. 1-9.
76. Polstein, L.R. and C.A. Gersbach, A light-inducible CRISPR-Cas9 system for control of endogenous gene activation. Nature chemical biology, 2015. 11(3): p. 198-200.
77. Jensen, E.D., et al., Transcriptional reprogramming in yeast using dCas9 and combinatorial gRNA strategies. Microbial cell factories, 2017. 16(1): p. 46.
78. Nakamura, M., et al., Anti-CRISPR-mediated control of gene editing and synthetic circuits in eukaryotic cells. Nature communications, 2019. 10(1): p. 1-11.
79. Hanewich-Hollatz, M.H., et al., Conditional guide RNAs: Programmable conditional regulation of CRISPR/cas function in bacterial and mammalian cells via dynamic RNA nanotechnology. ACS central science, 2019. 5(7): p. 1241-1249.
80. Braun, S.M., et al., Rapid and reversible epigenome editing by endogenous chromatin regulators. Nature communications, 2017. 8(1): p. 1-8.
81. Klann, T.S., et al., CRISPR–Cas9 epigenome editing enables high-throughput screening for functional regulatory elements in the human genome. Nature biotechnology, 2017. 35(6): p. 561.
82. Chakraborty, S., et al., A CRISPR/Cas9-based system for reprogramming cell lineage specification. Stem cell reports, 2014. 3(6): p. 940-947.
83. Balboa, D., et al., Conditionally stabilized dCas9 activator for controlling gene expression in human cell reprogramming and differentiation. Stem cell reports, 2015. 5(3): p. 448-459.
84. Bialek, J.K., et al., Targeted HIV-1 latency reversal using CRISPR/Cas9-derived transcriptional activator systems. PloS one, 2016. 11(6).
85. Lino, C.A., et al., Delivering CRISPR: a review of the challenges and approaches. Drug delivery, 2018. 25(1): p. 1234-1257.
86. Ibraheim, R., et al., All-in-one adeno-associated virus delivery and genome editing by Neisseria meningitidis Cas9 in vivo. Genome biology, 2018. 19(1): p. 137.
87. Li, A., et al., A self-deleting AAV-CRISPR system for in vivo genome editing. Molecular Therapy-Methods & Clinical Development, 2019. 12: p. 111-122.
88. Karvelis, T., et al., PAM recognition by miniature CRISPR-Cas14 triggers programmable double-stranded DNA cleavage. bioRxiv, 2019: p. 654897.
89. Charlesworth, C.T., et al., Identification of preexisting adaptive immunity to Cas9 proteins in humans. Nature medicine, 2019. 25(2): p. 249-254.
90. Kim, S., et al., CRISPR RNAs trigger innate immune responses in human cells. Genome research, 2018. 28(3): p. 367-373.



توسعه ساختار آموزش زیست شناسی با استفاده از نقشه های مفهومی

حسین فراست*

تهران، دانشگاه فرهنگیان، گروه علوم پایه

چکیده

بهره‌گیری از نقشه مفهومی به شکل یک ابزار دو یا چند بعدی دارای طرح به عنوان یک روش آموزشی مهم از مهارت های مهم معلمان است که ارتباط، روابط و توالی مفاهیم را به شیوه‌ای روشن ارائه می‌دهد. این مطالعه قابلیت اجرا و استفاده از نقشه مفهومی را در تدریس مباحث زیست شناسی نشان می‌دهد. بدین منظور موضوعاتی از مباحث زیست شناسی انتخاب و قابلیت تدریس آنها با استفاده از انواع نقشه‌های مفهومی معمولی و ویژه در آموزش درس زیست شناسی بیان شده است. جامعه آماری شامل تمام کتابهای زیست شناسی در مقطع متوسطه دوم رشته علوم تجربی است. روش تحقیق در این پژوهش توصیفی و با استفاده از مطالعات اسنادی، محتوی سایت های فراهم کننده راه حل های آموزشی و استفاده از تجربیات شخصی انجام شده است. یافته های این پژوهش نشان می دهد نقشه‌های مفهومی معمولی (شامل شش نوع اصلی عنکبوتی، سلسله مراتبی، جریانی، چرخه ای، جدولی و سیستمی) و نقشه های مفهومی ویژه (شامل سه نوع مناظر تصویری، سه یا چند بعدی و ماندالا) قابلیت اجرا در آموزش زیست شناسی را دارد. نتایج پژوهش ها حاکی از آن است که ارائه آموزش مبتنی بر نقشه مفهومی در مقایسه با روش‌های مرسوم می تواند در درک و کاربست مطالب تأثیر مثبتی داشته باشد. از طرفی به دلیل تنوع موضوعات علمی، استفاده از شیوه‌های متفاوت نقشه‌های مفهومی باعث بهبود فعالیت های یاددهی- یادگیری شده، کارآیی و اثربخشی نظام آموزشی را افزایش خواهد داد.

کلیدواژگان: نقشه مفهومی، یادگیری ، تدریس زیست شناسی.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: Hussein.Farasat@gmail.com

مقدمه

نقشه مفهومی و ترسیم آن، یکی از روش‌های سازماندهی محتوی دروس آموزشی است و ابزاری مفید برای بهبود بخشیدن به یادگیری معنادار و پردازش اطلاعات است. نقشه‌های مفهومی با ارائه نمایی کامل از محتوی آموختنی به یادگیرندگان کمک می‌کند تا از جزئیات درس درک بهتری داشته، پردازش اطلاعات را تسهیل کنند. نقشه برداری مفهومی به طور مکرر در ادبیات به عنوان ابزاری توصیف شده است که می تواند پشتیبانی و یادگیری دانش آموزان را در کلاس های علوم تقویت کند (کینچین، ۲۰۰۱) و به فراگیران کمک می کند تا ایده های پیچیده را درک کنند (ولدامانول، ۲۰۲۰). نقشه مفهومی یک ابزار کمک‌آموزشی است که ارتباط، روابط و توالی مفاهیم را به شیوه‌ای واضح ارائه می‌کند. این کار گسترش و تعمیق دانش، طریقه درک روابط و رسیدن از یک رابطه به رابطه ای دیگر را به شاگردان می‌آموزد (داوسون[1]، ۱۹۹۳).

در نقشه مفهومی، مفاهیم و اطلاعات به‌گونه‌ای سازمان یافته در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. درمجموع، نقشه های مفهومی به فراگیران اجازه می دهد تا به طور عمیق درباره موضوعات علمی فکر کنند و از آنچه می آموزند درک بهتر و سازماندهی شده تری داشته باشند و ذخیره سازی و بازیابی اطلاعات برای فراگیران کارآمدتر باشد. نقشه های مفهومی ابزار قابل دسترسی برای معلمان به شمار می آیند چرا که آنها اطلاعاتی را برای درک بهتر دانش آموزان فراهم می کنند. معلمان می توانند امتحان کنند که یک دانش آموز از طریق مشاهده نقشه مفهومی چه میزان موضوع علمی را درک کرده است (یو وین[2]، ۲۰۰۵).

آموزش مراحل و به کارگیری استفاده از نقشه مفهومی توسط معلمان، دانش آموزان و دانشجویان می تواند علاوه بر جمع بندی مطالب، تسهیل یادسپاری و پرورش خلاقیت، یادگیری مستقل و تفکر انتقادی را در فراگیران سبب می شود (لوک، ۲۰۱۴). توسعه و رشد انسانی نیازمند

[1] Dawson

[2] Yue Yin

خلاقیت و تغییر الگوهای معمولی ذهن است. برای ارتقای خلاقیت در تدریس و ایجاد انگیزه در فراگیران تکنیک‌های متفاوتی وجود دارد که یکی از آنها استفاده از نقشه های مفهومی است. بهترین محیط برای استفاده از نقشه های مفهومی محیط های آموزشی به ویژه مدرسه و دانشگاه است. هدف از انجام این پژوهش معرفی برخی از مباحث زیست شناسی با قابلیت آموزش آنها از راه نقشه مفهومی، و سپس معرفی مدل هایی برای استفاده از نقشه های مفهومی در آموزش درس زیست شناسی است.

بیان مسئله و ضرورت تحقیق

استفاده از نقشه مفهومی به عنوان راهبردی آموزشی نخستین بار توسط نواک[1] در اوایل دهۀ ۱۹۸۰م آغاز شد. نقشه مفهومی برگرفته از مفهوم پیش‌سازمان‌دهنده نظریه یادگیری معنادار کلامی آزوبل[2] است که در آن بر نقش دانش قبلی فراگیر بر یادگیریهای معنادار بعدی تأکید بسیار می شود. براساس نظریه آزوبل مهمترین عامل مؤثر در یادگیری، یادگیریهای قبلی هستند. یادگیری معنادار زمانی رخ می‌دهد که شخص آگاهانه دانش جدید را به مطالبی که از پیش می‌دانسته است، ربط دهد. زمانی که یادگیری معنادار رخ می‌دهد، در کل ساختار شناختی تغییراتی به وجود می‌آید که آن هم سبب تغییر مفاهیم موجود و هم تغییر ارتباطهای موجود میان آنها می‌شود. به همین جهت است که یادگیری معنادار از یادداری و قدرت تعمیم بیشتری نسبت به یادگیری غیرمعنادار یا حفظی برخوردار است که به آسانی و سریع فراموش می‌شود. در یادگیری غیرمعنادار اطلاعات صرفاً بدون ارتباط با ساختار شناختی به حافظه سپرده می‌شود.

کتاب‌های درسی یکی از عمده‌ترین شکل‌های ارائه آموزش در تمام سطوح تحصیلی است. در تعیین میزان یادگیری، توانایی یادآوری محتوای کتاب‌های درسی، تعیین نکته‌های اصلی و برقرار کردن ارتباط بین این نکته‌ها اهمیت زیادی دارد. نقشه های مفهومی می توانند ذاتاً در آموزش اهمیت ویژه ای داشته باشند. یکی از رویکردهای جدید آموزشی که ارتباط بسیار نزدیک با فلسفه ساخت‌گرایی دارد استفاده از نقشه مفهومی در مرحله‌های مختلف آموزش، از طرح و تهیه محتوی و برنامه درسی گرفته تا مرحله اجرا و ارزشیابی آنهاست (مارنگوس[3]، ۲۰۰۰).

تنوع گرایش های مختلف زیست‌شناسی از جمله بیوسیستماتیک جانوری و گیاهی، فیزیولوژی جانوری و گیاهی، بیوشیمی، ژنتیک و میکروبیولوژی و بالا بودن حجم اطلاعات در هر یک از این گرایش ها یک مشکل عمده در آموزش و یادسپاری آنها قلمداد می شود. از طرفی بیشترین محتوای آموزشی مربوط به هر یک از این گرایش ها در کتاب های درسی هر دوره آموزشی در سطح دانش متمرکز شده است (مهدیان و همکاران، ۲۰۰۲). با توجه به این که در طی هر دوره آموزشی معمولا از فراگیر انتظار می رود که حجم زیادی از مطالب را به خاطر بسپارد نداشتن فرصت کافی برای مطالعه می تواند باعث ایجاد استرس در میان فراگیران شود (بخشی و محمدی، ۲۰۰۲). در این موارد است که نقشه مفهومی می تواند به عنوان یک ابزار کمک‌آموزشی ارتباط، روابط و توالی مفاهیم را به شیوه‌ای واضح ارائه کند تا طیف وسیعی از محتوای آموزشی در قالب یک نمودار به فراگیر ارائه شده و امکان یادگیری، یادسپاری و یادآوری مطالب تسهیل شود. نقشه برداری مفهومی فعالیتی است که در کلاس زیست شناسی کاربردهای بی شماری دارد، از جمله می توان به استفاده از آن در برنامه ریزی ، آموزش ، تجدید نظر ، و ارزیابی ، و بهبود نگرش دانش آموزان و معلمان اشاره کرد (هوای[4]، ۱۹۹۷؛ کینچین[5]، ۲۰۰۰).

در این مطالعه انواع نقشه‌های مفهومی معمولی و ویژه در تدریس زیست شناسی بررسی می شود و مثال های قابل اجرا مربوط به کتاب های زیست شناسی در رشته علوم تحربی ارائه می شود تا زمینه برای ایجاد یادگیری معنادار و پایه‌ریزی تفکر انتقادی و پیشرفت تحصیلی بیشتر در دانش‌آموزان با استفاده از انواع نقشه های مفهومی مهیا شود و میزان اثر بخشی استفاده از نقشه های مفهومی به صورت اسنادی مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

روش پژوهش

روش این پژوهش توصیفی و با استفاده از مطالعات دوره متوسطه است که برای گردآوری اولیه استفاده شده است. برخی از روش ها از مطالب تارنماهای معتبر ارائه دهنده

[1] Novac
[2] Ausubel
[3] Marangos
[4] Huai
[5] Kinchin

استراتژی های آموزشی، مقالات و مجلات گرفته شده‌اند. در مواردی تجربیات شخصی نویسنده که در کلاس های درس مورد استفاده قرار گرفته است، نیز ارائه شده است. بدین منظور بخش هایی از محتوی آموزشی به نقشه های مفهومی تبدیل و روش های مختلف آن معرفی شد. این مطالعه در مورد مباحث زیست شناسی انجام شده است و جامعه آماری مشـتمل بر تمام کتابهای زیست در مقطع دوم متوسطه در رشته زیست شناسی یعنی کتاب های زیست شناسی دهم، یازدهم و دوازدهم است. با توجه بـه ماهیت موضوع پژوهش و بـه دلیل محدود بـودن جامعه آماری از نمونه گیری صرفه نظر شده و کل جامعه آماری برای نمونه در نظر گرفته شده است.

مراحل طراحی نقشه مفهومی

برای طراحی نقشه مفهومی، یادگیرنده در یک فرایند فعال قرار گرفته که شامل مراحل زیر می شود.

۱- یادگیرنده مفاهیم کلی را تشخیص داده و آنها را در بالای نقشه قرار می دهد.

۲- یادگیرنده مفاهیم اختصاصی مرتبط با مفهوم کلی را در امتداد هم قرار می دهد.

۳- یادگیرنده با استفاده از کلماتی، بین کلمات کلی و اختصاصی ارتباط برقرار می کند و مدرس یا یادگیرنده به جستجوی ارتباطاتی می گردد که بتواند مفاهیم را به یکدیگر مرتبط سازد.

۴- در نهایت نقشه مفهومی به صورت دستی و یا برنامه های کامپیوتری طراحی می شود. از نرم افزارهای ویژه شامل CMap Tools Get Smart, Paint، Smart Ideas Visual Mind, می توان جهت تهیه نقشه مفهومی استفاده کرد.

نتایج

در بخش یافته ها مواردی از تجربیات شخصی نویسنده که در کلاس های درس مورد استفاده قرار گرفته است، ارائه شده است. بدین منظور بخش هایی از محتوی آموزشی به نقشه های مفهومی تبدیل و با ارائه مثال هایی از کتاب های درسی زیست شناسی روش های مختلف استفاده از آنها معرفی شده است. در این بخش انواع نقشه مفهومی به دو دسته کلی معمولی و ویژه تقسیم و مدل های مختلف آنها بیان شده است (http://classes.aces.uiuc.edu/ACES100/Mind/c-m2.html). نقشه مفهومی در واقع روشی است که از ابزارهای گرافیکی مانند نمودارها، تصویر و جدول برای ارائه روابط بین مفاهیم استفاده می شود. با توجه به اینکه نقشه مفهومی معمولاً به عنوان زبان مدل سازی یکپارچه[1] شناخته می شود به همین دلیل در این مطالعه برای کمک به تبیین دانش علمی و تدریس درس زیست شناسی با استفاده از نقشه مفهومی مدل های تجربی ارائه شده است.

انواع نقشه

مفهومی قابل استفاده در آموزش زیست شناسی:

الف: نقشه‌های مفهومی معمولی

۱ - نقشه مفهومی شبکه‌ای یا عنکبوتی[2]: که در آن یک موضوع محوری یا عامل مشترک در مرکز نقشه قرار دارد و موضوع‌های فرعی حول این مرکز گسترش می‌یابند (شکل ۱).

۲ - نقشه مفهومی سلسله مراتبی[3]: که در این نقشه مفهومی، اطلاعات در یک ترتیب نزولی از لحاظ اهمیت ارائه می‌شوند. اطلاعات و مفاهیم اصلی در بالا یا سمت راست قرار می‌گیرند و مفاهیم جزئی در پایین یا سمت چپ گسترش می‌یابند (نمودار ۲).

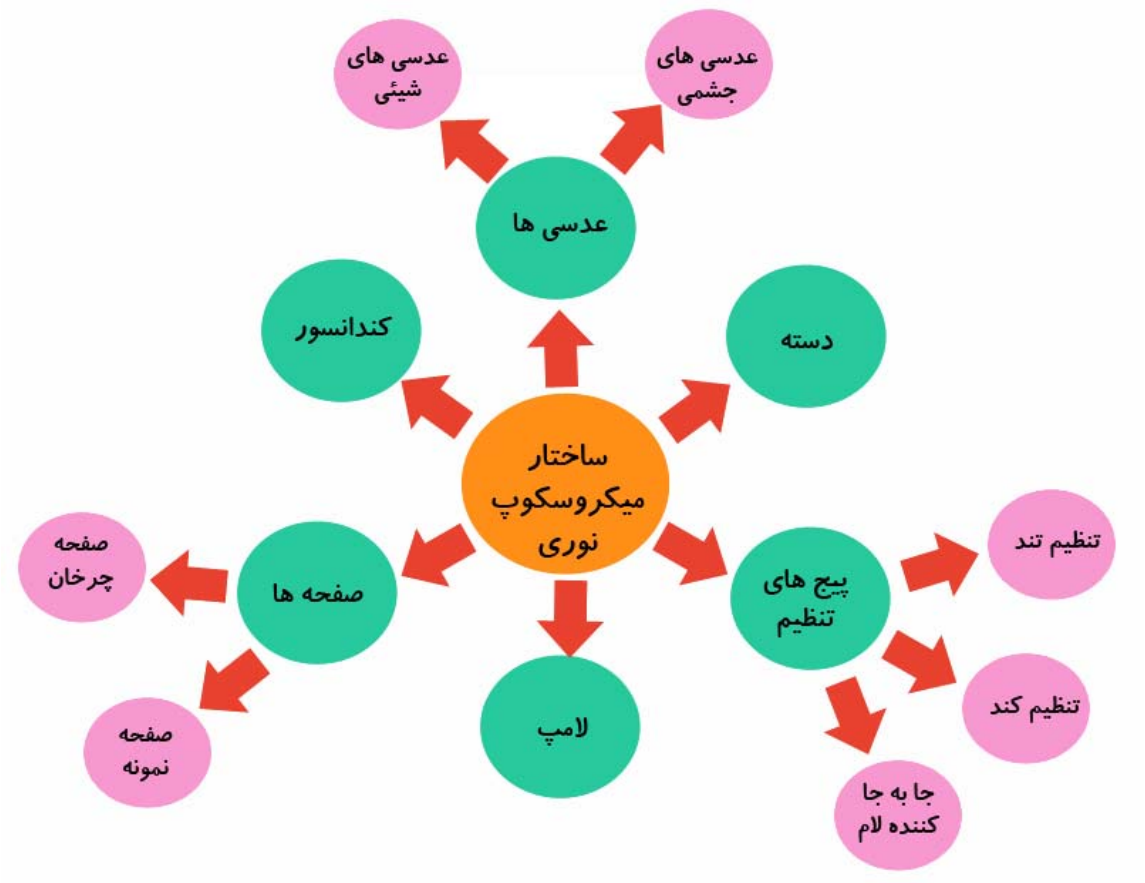
۳ - نقشه مفهومی جریانی یا خطی[4]: که در این نقشه مفهومی، مفاهیم یا مراحل انجام فرایند به صورت متوالی یا خطی نشان داده می‌شوند (شکل ۳).

۴ - نقشه مفهومی چرخه ای یا گردشی: که در این نقشه مفهومی، مفاهیم یا مراحل انجام فرایند به صورت یک چرخه بیان می شود و تفاوت آن با حالت جریانی در این است که ابتدا و انتهای مسیر به یکدیگر متصل می‌شوند (شکل ۴).

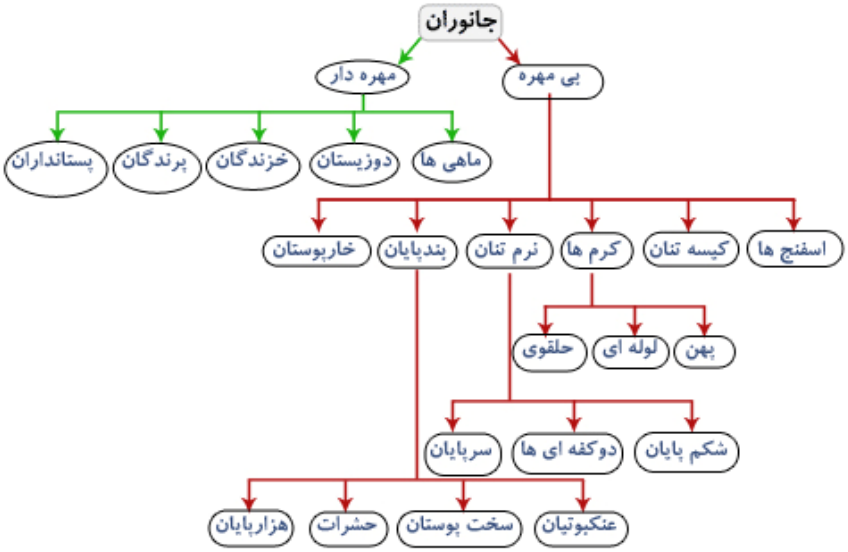
۵ - نقشه مفهومی سیستمی[5]: این نقشه مفهومی، مشابه با با نقشه مفهومی **جریانی یا خطی** است که ورودی یا خروجی هایی به آن اضافه شده است. این نقشه مفهومی

[1] Unified Modeling Language
[2] Spider
[3] Hierarchy
[4] Flowchart
[5] System

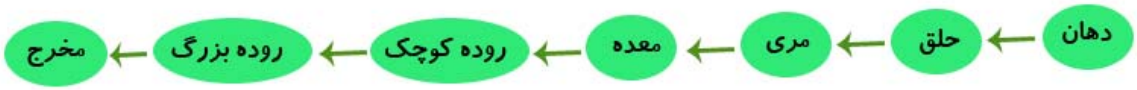
تحت عنوان فرایندی یا چرخه ای نیز معرفی می شود (نمودارهای ۴).



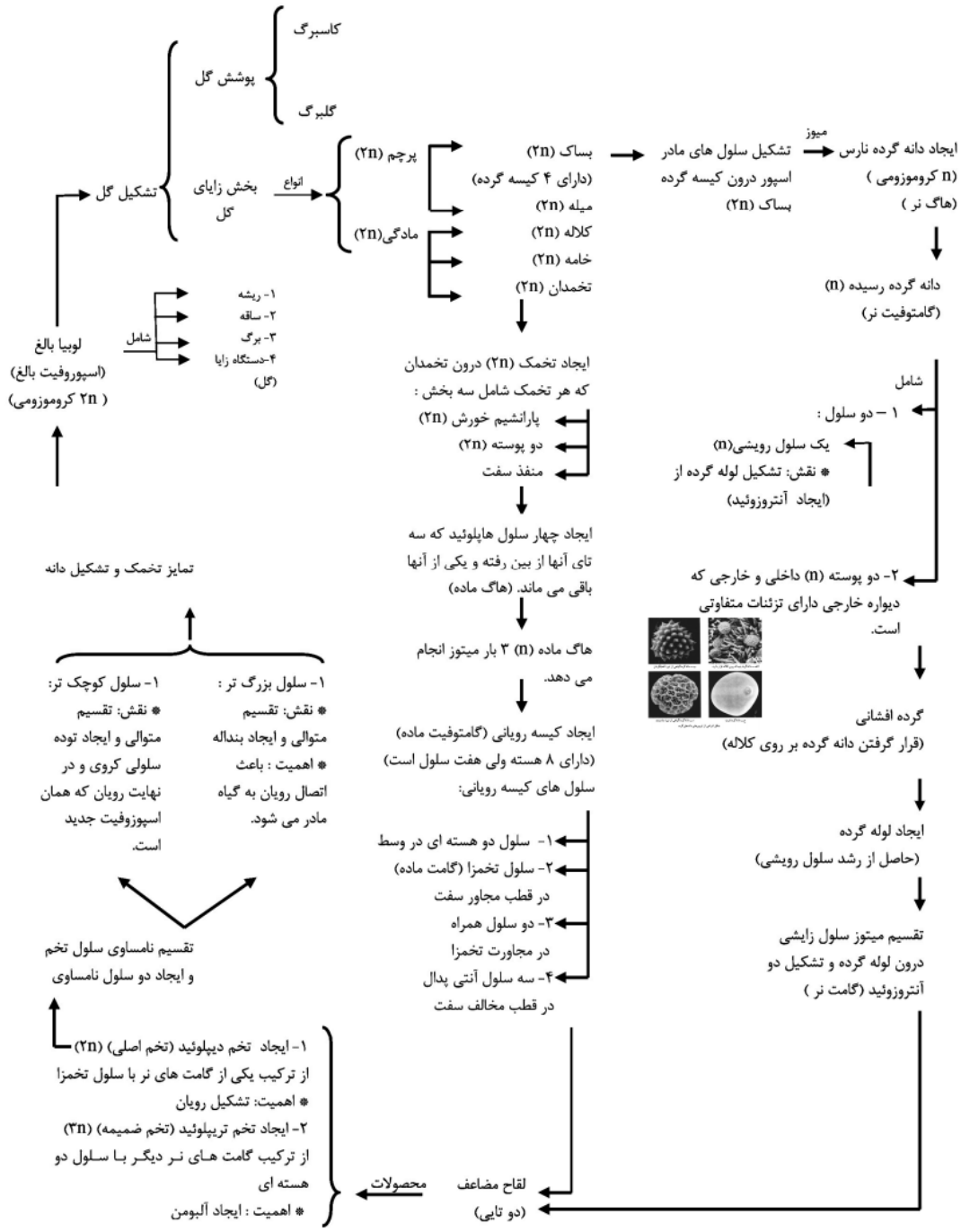
شکل ۱- نقشه مفهومی شبکه‌ای یا عنکبوتی مربوط به آموزش ساختار میکروسکوپ.



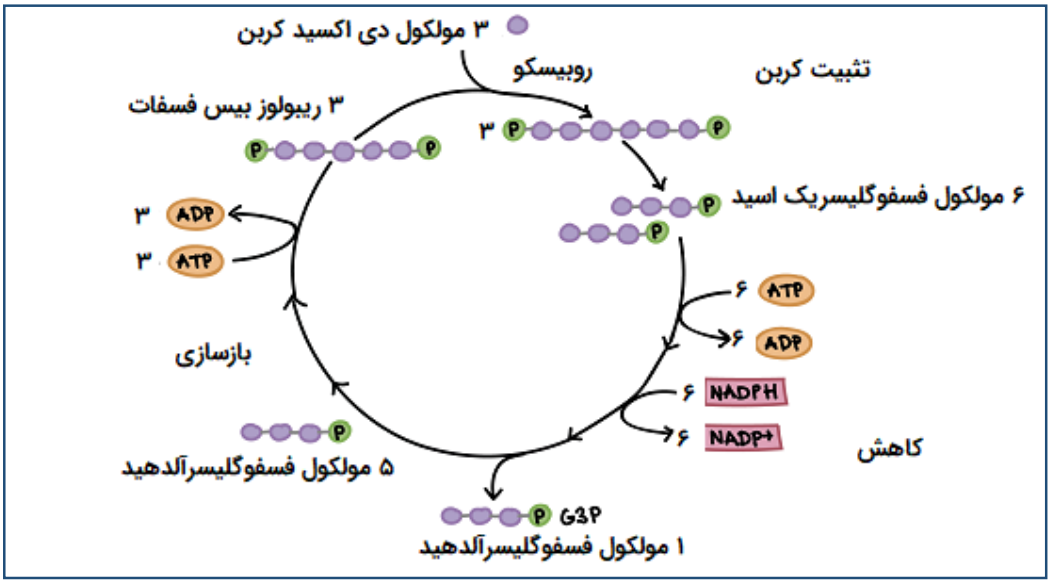
شکل ۲- نقشه مفهومی سلسله مراتبی مربوط به انواع گیاهان.



شکل ۳- نقشه مفهومی جریانی: الف: جریانی(خطی). ترتیب بخش های مختلف لوله گوارش انسان



شکل ۴- نقشه مفهومی چرخه ای یا گردشی. چرخه زندگی نهاندانگان (لوبیا).



شکل ۵- نقشه مفهومی فرایندی در مورد واکنش های کالوین در گیاهان (به ورودی و خروجی در چرخه دقت کنید).

مرحله تقسیم	تعداد کروموزوم	تعداد سانترومر	تعداد کروماتید	تعداد DNA	تعدا د رشته پلی نوکلئوتید
پروفاز میتوز	۲n	۲n	۴n	۴n	۸ n
متافاز میتوز	۲n	۲n	۴n	۴n	۸ n
آنافاز میتوز	۴n	۴n	۴n	۴n	۸ n
تلوفاز میتوز	۲n	۲n	۲n	۲n	۴ n
پروفاز I، متافاز I، و آنافاز I	۲n	۲n	۴n	۴n	۸ n
تلوفاز I	n	n	۲n	۲n	۴ n
پروفاز II، و متافاز II	n	n	۲n	۲n	۴ n
آنافاز II	۲n	۲n	۲n	۲n	۴ n
تلوفاز II	n	n	n	n	۲ n

شکل ۶- نقشه مفهومی جدولی: مربوط به محاسبه تعداد کروموزوم ها، تعداد سانترومر، تعداد کروماتید، تعداد DNA و تعداد رشته های پلی نوکلئوتیدی در مراحل مختلف تقسیم میتوز و میوز.

۶ – نقشه مفهومی جدولی:

در این نقشه مفهومی، حجم متفاوتی از اطلاعات و مفاهیم در قالب یک جدول بیان می شود و ارتباط شاخص های در متن جدول مشخص می شود (شکل ۶).

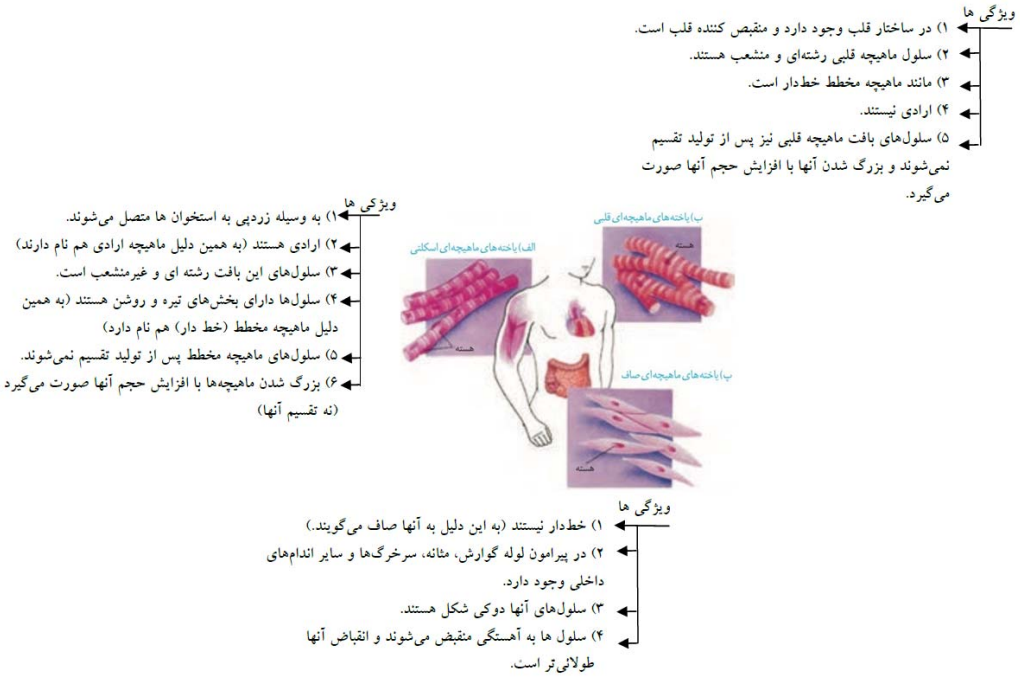
ب: نقشه های مفهومی ویژه:

نقشه های مفهومی ویژه که به میزان کمتری در مباحث زیست شناسی دبستان مورد استفاده قرار می گیرد شامل فرمت های زیر است:

۱ – **نقشه مفهومی مناظر تصویری**[1]: این نقشه ها اطلاعات را در قالب منظره ارائه می دهند.

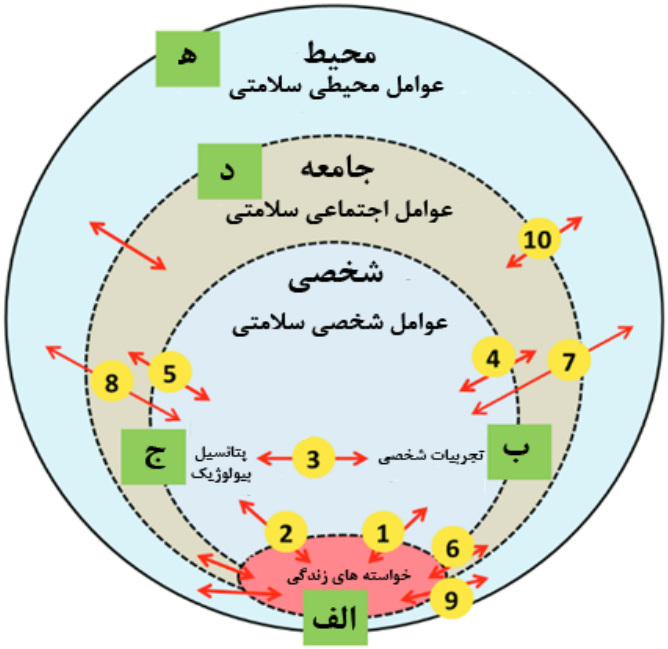
۲ – **نقشه های مفهومی سه/چند بعدی**[2]: این نقشه مفهومی جریان یا وضعیت اطلاعات یا منابعی که بسیار پیچیده هستند را به صورت یک نقشه دو بعدی ساده توصیف می کند.

[1] Picture Landscape Concept Map
[2] Multidimensional/ 3-D Concept Map



شکل ۷- نقشه مفهومی تصویری، انواع یاخته های ماهیچه ای بدن و ویژگی های آنها.

شکل ۸- نقشه های مفهومی سه بعدی از هرم مواد غذایی



شکل ۹- نقشه مفهومی ماندالا مربوط به ۵ مؤلفه مؤثر بر سلامتی و ۱۰ رابطه پیچیده آنها (بیرچر و هان(Bircher and Hahn)، ۲۰۱۶)

۳ - نقشه مفهومی ماندالا[1]: ماندالا پیکربندی هندسی از نمادها است که اطلاعات در قالبی از اشکال هندسی در هم تنیده ارائه می شوند. در این نقشه مفهومی تمامیت و الگویی از ساختار باعث ایجاد جلوه های دیداری قانع کننده می شود که رابطه های مربوطه را معطوف مشاهده کننده می کند.

بحث و نتیجه گیری

وقتی دانش آموزان با مفاهیم جدید علمی آشنا می شوند ، شروع به یک روند شناختی از ساختن معنا می کنند و به صورت آگاهانه یا ناخودآگاه این موارد جدید را با دانش قبلی خودشان ادغام می کنند. نقشه های مفهومی یک نمای گرافیکی منحصر به فرد را ارائه می دهد تا دانش آموزان چطور مفاهیم و اطلاعات جدید را به یکدیگر متصل و ترکیب کنند. نقشه مفهومی می تواند به وسیله معلم یا فراگیر ترسیم شود. تقسیم بندی های متفاوتی از نقشه های مفهومی وجود دارد. به عنوان مثال بر اساس مطالعات باران[2] و همکاران، ۲۰۱۶ به طور خلاصه نقشه‌های مفهومی معمولی را در چهار گروه اصلی عنکبوتی (شبکه ای)، سلسله مراتبی، فلوچارتی و سیستمی نشان دادند. به طور کلی یک نقشه مفهومی به توسعه دهندگان آن کمک می کند تا طرح کلی موضوع را تجسم کنند و درک و شناسایی جزئیات برای فراگیرن آسان تر شود. این امر به ویژه برای فراگیرانی می تواند بسیار مهم باشد که غالباً روی یک موضوع خاص تمرکز می کنند و به طور بالقوه تازه کار هستند.

نقشه مفهومی می تواند در **تدوین ساختار آموزش زیست شناسی**، به عنوان یک ابزار کمک‌آموزشی ارتباط، روابط و توالی مفاهیم را به شیوه‌ای واضح ارائه کند. با استفاده از روش تهیه نقشه مفهومی می‌توان حجم وسیعی از محتوای آموزشی را در قالب یک یا چند نقشه مفهومی به صورت ساده‌تر نشان دهند و با اتلاف وقت کمتر نسبت به روش های سنتی در مدارس با سازماندهی اطلاعات در ذهن دانش‌آموزان، آن‌ها را در رسیدن به سطوح عالی تفکر انتزاعی و حل مسئله یاری دهند.

نقشه های مفهومی این قابلیت را دارد تا مطالب گسترده زیست شناسی در گرایش های مختلف را به صورت نقشه های خلاصه سازی نمود. این قابلیت می تواند امکان یادگیری، یادسپاری و یادآوری مطالب را تسهیل کند.

[1] Mandala Concept Map
[2] Baran

استفاده از راهبردهای نوین آموزشی از جمله شیوه ترسیم نقشه‌های مفهومی عوامل گوناگونی مانند علاقه و رغبت معلم به استفاده از این راهبردها، میزان آگاهی و اطلاعات قبلی، احساس نیاز، حجم مطالب درسی، اهداف و محتوای آموزشی، امکانات و شرایط فیزیکی محیط‌های آموزشی در تدریس مؤثر است .

با توجه به تفاوت در سبک‌های یادگیری دانش‌آموزان و تفاوت‌های فردی در آنان، استفاده از ترسیم انواع متفاوت نقشه های مفهومی به هر دانش‌آموز کمک می‌کند تا از عملکردهای شناختی سطح بالا مانند تحلیل، ترکیب و ارزشیابی به‌طور مداوم استفاده کند. استفاده از انواع متفاوت نقشه های مفهومی می تواند شیوه‌های نادرست فکری دانش آموزان را اصلاح و بهترین راهبرد یادگیری را با توجه به موقعیت یادگیری‌اش انتخاب کند.

بر اساس سایر مطالعات مزایای زیر را می توان برای استفاده از نقشه مفهومی در تدریس درس زیست شناسی برای دانش آموزان و معلمان مطرح کرد:

۱- تفکر در مورد ارتباط میان اصطلاحات علمی که آموخته می شوند.

۲- سازماندهی کردن افکار و نشان دادن روابط بین مفاهیم کلیدی با یک روش قابل ترسیم

۳- افزایش تأمل و درک دانش آموزان

۴- با توجه به این که دانش‌آموزان برای بیان مطالب علاقه زیادی به استفاده از نقشه مفهومی دارند و به راحتی از آن استفاده می‌کنند، اگر در درک صحیح آنها از مفاهیم درس ایرادهای وجود داشته باشد در همان زمان تدریس می توان را رفع کرد.

۵- نکته مهمی که در ارتباط با یادگیری دانش‌آموزان وجود دارد، تأثیر زیاد نقشه‌های مفهومی در درک بهتر ارتباط بین مفاهیم به ویژه در زمان ترسیم نقشه‌ها توسط دانش‌آموزان است. از این رو پیشنهاد می شود یکی از تکالیفی را که می‌توان پس از پایان درس و هنگام ارزشیابی پایانی از دانش آموزان خواست این است که مطالب درس را با نقشه‌های مفهومی متنوع مورد نظر خود توضیح دهند.

۶- اگر برای تدریس و نیز ارزشیابی رسم نقشه‌های مفهومی به‌صورت گروهی انجام شود، مشارکت دانش آموزان در ترسیم نقشه‌های مفهومی و درک و یافتن ارتباط بین مفاهیم درس زیست شناسی افزایش یافته و در نتیجه یادگیری مفاهیم و مطالب آسان‌تر و عمیق تر شود. برای کار می توان، یکی از دانش‌آموزان را مسئول نوشتن روی تخته کلاس قرار داد و دیگران به‌صورت گروه‌های چندنفره با بحث و تبادل نظر در تکمیل نقشه مفهومی با کمک هم، به ارتباط‌های موجود بین مفاهیم و نقش آن‌ها پی می‌بردند.

در جمع بندی مطالب می توان گفت که نقشه‌های مفهومی در یادگیری نقش و ارتباط مفاهیم متنوع با یکدیگر، به ویژه در درس زیست شناسی، بسیار مؤثرند و زمانی که خود دانش‌آموزان به‌صورت فردی و گروهی به تکمیل و یافتن ارتباط‌های موجود بین مفاهیم و اطلاعات درس با رسم نقشه‌ها می‌پردازند، مطلب را آسان‌تر و عمیق‌تر یاد می‌گیرند. برنامه درسی مبتنی بر نقشه مفهومی نسبت به برنامه‌های مرسوم درسی مزایای بسیار دارد. استفاده از آن موجب افزایش نمرات دانش‌آموزان در آزمونهای پیشرفت تحصیلی می شود (فراسر و ادواردز[1]، ۱۹۸۵). مطالعات مصری و همکاران (۱۳۹۸) نشان داد که تأثیر استفاده از نقشه‌های مفهومی بر پیشرفت تحصیلی دانش‌آموزان، بیشتر از روش‌های معمول است و بیشترین تأثیر استفاده از این نقشه‌ها، در روش ساخت انفرادی آن‌ها توسط دانش‌آموزان و کمترین تأثیر آن، در روش ارائه نقشه مفهومی معلم ساخته به هنگام تدریس است. نگاهی دقیق تر به گزاره ها در یک نقشه مفهومی با روش ساخت انفرادی می تواند سطح درک دانش آموزان را نشان دهد. به عنوان مثال، ارتباط بین دو مفهوم غیر مرتبط می تواند نشان دهنده تصورات ساده دانش آموزان و مشاهدهٔ عدم ارتباط مفاهیم مرتبط مبیّن این است که هنوز درک قوی از ارتباط میان مفاهیم اتفاق نیافتاده است. در گیر کردن دانش آموزان در بیش از یک مورد می تواند نشان دهد که به چه میزان گزاره ها کیفیت دانش آموزان در طول دوره آموزش بهبود می یابد. بر این اساس ، معلمان می توانند به سرعت شکافهای یادگیری را ببینند و برنامه های درسی را بر

[1] Fraser & Edwards

اساس اطلاعاتی که از نقشه های مفهومی دانش آموزان دریافت می کنند، اصلاح کنید. در رویکردهای نوین یادگیری، با درگیر کردن دانش‌آموزان در فعالیت‌های یادگیری فردی و یا گروهی زمینه برای یادگیری فراهم می آید و دانش‌آموزان خود متناسب با نیاز و علاقه، دانش لازم را به‌دست می‌آورند.

پیشنهادها

۱ – آشنایی بیشتر دبیران و مدرسین در رابطه با کاربرد نقشه‌های مفهومی در قسمت‌های مختلف تدریس (طراحی، برنامه‌ریزی، تدریس و ارزشیابی) و انواع آن‌ها

۲ – آشنایی بیشتر دبیران و مدرسین با بسته‌های نرم‌افزاری

۳ – قابل دسترس برای طراحی و ترسیم نقشه‌های مفهومی با رایانه .

۴ – اجرای عملی و طراحی نمونه‌هایی از تدریس با انواع نقشه‌های مفهومی در گروه های آموزشی و مجازی دبیران.

۵ – قرار دادن یک نقشه مفهومی در ابتدای هر بخش از کتاب زیست شناسی در مورد عنوان‌ها و زیرعنوان‌های مورد بحث.

۶ – استفاده از نقشه‌های مفهومی ناقص در تکالیف دانش آموزی به صورت فردی یا گروهی .

منابع

بخشی، ح؛ محمدی، م. (۱۳۸۱). بررسی عوامل تنش زا در دانشجویان دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان. مجله ایرانی آموزش در علوم پزشکی، ۲ (۲).

جواد مصرآبادی، دکتر اسکندر فتحی آذر و نگار استوار . (۱۳۸۴). اثربخشی ارائه، ساخت فردی و ساخت گروهی نقشه مفهومی به عنوان یک راهبرد آموزشی. فصلنامه نوآوری های آموزشی. ۱۳.

مصری، طیبه؛ سراب، ناهید؛ علیزاده، حمیده. (۱۳۹۸). ترسیم نقشه های مفهومی در آموزش فیزیک و تأثیر آن بر پیشرفت تحصیلی دانش آموزان. رشد آموزش فیزیک.

مهدیان، مهرداد؛ منیری، رضوان؛ وکیلی، زریچهر؛ رمضانی، یداله. (۱۳۸۱). ارزیابی اهداف یادگیری گروههای آموزشی دانشگاه علوم پزشکی کاشان . مجله ایرانی آموزش در علوم پزشکی. ۲ : ۳۸-۲۸.

Baran, S. W., Johnson, E. J., Stephens, M. A. & Kehler, A. (2016). Development of electronic learning courses for surgical training of animal research personnel. https://www.researchgate.net/publication/26761493.

Bircher, J. & Hahn, E.G. (2016). Applying a complex adaptive system's understanding of health to primary care [version 2]. F1000Research 2016, 5:1672 (doi : ۱۰,۱۲۶۸۸/f1000research.9042.2). https://doi.org/10.12688/f1000research.9042.2.

Dawson, C. (1993). Chemistry in concept. Education in Chemistry, 30, 73-75.

Lok, W. F. (2014). The effect of concept mapping in learning physical chemistry among students of Perak Matriculation College. In J. T. Leach, N. J. Ahmad & S. Tahir (Eds.), *Learning Science and Mathematics in the Classroom: Case Studies of Successful Practices* (pp. 78-88). Penang, Malaysia: SEAMEO RECSAM.

Fraser, K., & Edwards, J. (1985). The Effects of Training in Concept Mapping on Student Achievement in Traditional Classroom Tests. Research in Science Education, 15(1), 158-165.

Huai, H. (1997). concept mapping in Learning biology: Theorical review on cognative and learning styles. Journal of Interactive Learning Reseach. 48-38,8.

Kinchin, I. K. (2000). Concept mapping in biology, Journal of Biological Education, 34:2, 61-68, DOI: 10.1080/00219266.2000.9655687

Kinchin, I. K. (2001): If concept mapping is so helpful to learning biology, why aren't we all doing it?, International Journal of Science Education, 23:12, 1257-1269.

Marangos, J. (2000). The effectiveness of: collaborative problem solving.

Novak, J.D. (1991). Clarify with concept maps. The Science Teacher, Vol. 58. No.7, PP. 45-49.

Woldeamanuel, Y. W., Abate, N. T., Berhane, D. E. (2020). Effectiveness of Concept Mapping Based Teaching Methods on Grade Eight Students' Conceptual Understanding of Photosynthesis at Ewket Fana Primary School, Bahir Dar, Ethiopia. EURASIA Journal of Mathematics, Science and Technology Education, 2020, 16(12), em1918 ISSN:1305-8223 (online). OPEN ACCESS. https://doi.org/10.29333/ejmste/9276.

Yue Yin. (2005). Using Concept Maps in the Science Classroom. Teaching Strategies. https://www.researchgate.net/publication/234617838.

مروری بر تاثیرات تغییرات اقلیم بر بوم‌سازگان‌های مانگرو

نسترن دلفان* و مهدی قدرتی شجاعی

نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، گروه زیست‌شناسی دریا

چکیده

تغییرات اقلیمی و اجزا مختلف آن مانند افزایش سطح آب دریاها، افزایش دما، تغییرات غلظت دی‌اکسیدکربن جو، تغییر الگوهای چرخه‌های اقیانوسی، تغییرات روند بارندگی‌ها و وقوع طوفان‌ها، بر سلامت بوم‌سازگان مانگروها تاثیر می‌گذارند . این تهدیدات همچنین شامل فرسایش، جاری شدن سیل، امواج سهمگین و در برخی مناطق سونامی است. از بین تمام این عوامل، افزایش نسبی سطح آب دریا بزرگترین تهدید برای بوم‌سازگان مانگرو به شمار می‌آیند. اگرچه تا به امروز اثرات این تهدید نسبت به تاثیرات ناشی از دخالت انسان مانند آلودگی و تخریب جنگل‌ها ناچیز است. ارزش اقتصادی سالانه مانگروها بر اساس ارزش محصولات و خدماتی که ارائه می‌دهند، بین ۲۰۰ هزار تا ۹۰۰ هزار دلار در هر هکتار تخمین زده شده است .مانگروها دارای عملکردهای منحصربه فردی هستند که کاهش سطح پوشش آن‌ها و یا اختلال در سلامت آن‌ها تهدید بزرگی برای بوم‌سازگان های ساحلی به شمار می‌آید. از بین رفتن مانگروها موجب کاهش کیفیت آب، کاهش تنوع زیستی، از بین رفتن مکان‌های تخم‌ریزی و نوزادگاهی آبزیان و حذف محصولات و خدماتی می‌شود که به انسان ارائه می‌دهند. تخریب جنگل‌های مانگرو همچنین می‌تواند مقادیر زیادی کربن ذخیره شده در رسوبات آنها را آزاد کند و در نتیجه با افزایش دی‌اکسیدکربن جو گرمایش جهانی و سایر روندهای تغییرات اقلیمی را تشدید کند.

کلیدواژگان: بوم‌سازگان مانگرو، تغییرات اقلیمی، افزایش سطح آب دریا، سواحل

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: D_nastaran@modares.ac.ir

مقدمه

بوم‌سازگان مانگرو در طول سواحل جنوبی ایران از استان خوزستان تا باهوکلات در استان سیستان و بلوچستان پراکنده‌اند. دو گونه گیاه مانگرو با نام حرّا (*Avicennia marina*) و چندل (*Rhizophora mucronata*) در سواحل ایران وجود دارند. علی‌رغم اهمیت زیست‌شناختی و اقتصادی- اجتماعی بالای بوم سازگان مانگرو، تهدیداتی وجود دارند که سلامت و پایداری این بوم‌سازگان حساس را تحت تاثیر قرار می‌دهند. عوامل تنش‌زای انسانی در کنار پدیده تغییر اقلیم دو عامل اصلی بروز آلودگی‌ها، آبزی‌پروری و ساخت اسکله در محدوده جنگل ها جز مهم‌ترین تهدیداتی است که این بوم‌سازگان‌ها در ایران با آن مواجه‌اند. در کنار این تهدیدات اجزای مختلف تغییرات اقلیم مانند افزایش سطح آب دریاها و افزایش دما بر سلامت بوم‌سازگان مانگروها تاثیر می‌گذارند. به سبب بالا بودن دما و شوری آب در خلیج فارس، درختان مانگرو در این منطقه در بالاترین حد تحمل فیزیولوژیک خود زندگی می کنند. بنابراین تغییرات اقلیم می تواند آثار زیان‌بار زیادی بر آن‌ها داشته باشد. با این فرض، در این مطالعه اجزای مختلف تغییرات اقلیمی بررسی و اثرات آن بر روی جنگل های مانگرو ارائه خواهد شد.

تهدیدات تغییرات اقلیمی

افزایش سطح آب دریا

افزایش سطح آب دریا یکی از قطعی‌ترین پیامدهای گرمایش جهانی است که امروزه با آن مواجه هستیم. تحقیقات مختلف افزایش ۲۲-۱۲ سانتی‌متر سطح آب دریاها را در طول قرن بیستم را بیان کرده‌اند. مدل‌های اقلیمی مختلف یک روند افزایشی با شتاب بالا را در دهه‌های آینده بیان می‌کنند (۱ و ۲). در مجموع افزایش جهانی سطح آب دریاها از سال ۱۹۸۰ تا پایان قرن بیست و یکم (۲۰۹۹-۲۰۹۰) حدود ۰/۱۸ تا ۰/۵۹ متر خواهد بود (۲). با این حال تغییرات سطح آب دریا در هر منطقه وابسته به شرایط مختلفی مانند ساختارهای زمین‌ساختی[1]، ساختارهای هیدرودینامیکی و نرخ رسوب‌گذاری است(۳).

[1] Tectonic

در واقع نرخ رسوب‌گذاری مانگروها می‌تواند چگونگی مقابله آن‌ها در برابر تغییرات سطح آب دریا را تعیین کند (۴) به این ترتیب که:

۱ – اگر افزایش ارتفاع رسوب در جنگل‌های مانگرو بیش از نرخ افزایش سطح آب دریا باشد، درختان خشکی به سمت جنگل‌های مانگرو پیش‌روی می‌کنند و باعث عقب‌نشینی درختان مانگرو خواهند شد. اما در مقابل مناطق جزرومدی[1] و نهرهای مانگرو[2] نیز احتمالا در سمت دریا رشد می‌کنند که اجازه گسترش در سطح را به مانگروها می‌دهند. ۲ – اگر نرخ رسوب‌گذاری در مانگروها با نرخ افزایش سطح آب دریا برابر باشد، جنگل مانگرو به حیات خود ادامه می‌دهد و در طول این دوره پایدار خواهد بود. ۳ – اگر نرخ رسوب‌گذاری در مانگروها کمتر از نرخ افزایش سطح آب دریا باشد، قسمتی از جنگل که به سمت دریا است غرقاب شده و از بین خواهد رفت.

بنابراین مقاومت و انعطاف‌پذیری مانگروها نسبت به تغییرات سطح آب دریا همچنین تحت تاثیر چهار عامل اصلی قرار می‌گیرد:

الف. نرخ تغییرات سطح آب دریا نسبت به سطح رسوبات مانگرو آسیب‌پذیری مانگروها را تعیین می‌کند (۵ و ۶). ب. ترکیب‌بندی گونه‌های مانگرو بر پاسخ‌های مانگروها تاثیرگذار است. زیرا نواحی دارای پوشش متفاوت گیاهی مانگرو دارای نرخ متفاوتی تغییرات در ارتفاع سطح رسوب است (۷). ج. جغرافیای طبیعی محیط شامل شیب زمین بالادست نسبت به زمینی که مانگرو در حال حاضر ان را اشغال کرده است و نیز موانع موجود در سمت زمین بر گسترش مانگروها تاثیرگذار خواهد بود (۸). د. اثرات تجمعی تمام عوامل تنش‌زا نیز انعطاف‌پذیری و مقاومت مانگروها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۹).

تغییرات الگوی بارندگی

نتایج تحقیقات نشان می‌دهند که نرخ بارش‌ها، در پاسخ به گرمایش جهانی تا سال ۲۰۵۰ میلادی، ۲۵ درصد افزایش پیدا خواهد کرد، با این وجود این میزان افزایش در مقیاس‌های محلی توزیع متفاوتی دارد و ممکن است بیش‌تر یا کم‌تر از مقدار پیش‌بینی شده باشد (۱۰ و ۱۱). تغییر الگوهای بارندگی ممکن است تاثیر بسزایی بر رشد مانگروها و ساختارهای هوایی آن‌ها داشته باشد (۱۲ و ۱۳). مدل‌های اقلیمی منطقه‌ای پیش‌بینی می‌کنند که بارندگی‌ها در مناطق خاصی مانند آمریکای مرکزی و استرالیا در زمستان کاهش می‌یابد (۱۱). کاهش بارندگی نه تنها ممکن است منجر به کاهش ورودی آب شیرین به مانگروها شود، بلکه سبب کاهش ورود آب شیرین به آب‌های زیرزمینی نیز می‌شود که به احتمال زیاد شوری رسوبات را افزایش خواهد داد. افزایش شوری رسوب باعث افزایش نمک در بافت‌های مانگرو می‌شود که احتمالا موجب کاهش بهره‌وری، کاهش رشد و بقای نهال مانگروها خواهد شد. به علاوه افزایش شوری رسوب باعث می‌شود که ترکیب‌بندی گونه‌ها به سمت گونه‌هایی که تحمل شوری بالاتری دارند، تغییر کند (۱۴).

کاهش بارندگی همراه با افزایش تبخیر در مناطق خشک، احتمالا منجر به کاهش مساحت و تنوع مانگروها خواهد شد و در نهایت موجب تبدیل جنگل‌های مانگروها به دشت‌های نمکی بدون پوشش گیاهی می‌شود (۱۳). در مناطقی مانند نواحی شمالی عرض‌های میانی در زمستان و جزایر اقیانوس آرام در عرض ۱۷ درجه شمالی که افزایش بارندگی در اثر تغییرات اقلیمی پیش‌بینی شده است (۱۱) احتمالا مساحت مانگروها، تنوع و نرخ رشد آن‌ها احتمالا افزایش می‌یابد (۱۴). حداکثر رشد مانگروها در شوری کم اتفاق می‌افتد (۱۵ و ۱۶). بنابراین اگر بارندگی افزایش یابد و شوری رسوب را کاهش دهد، نرخ رشد مانگروها در بعضی از گونه‌ها احتمالا افزایش می‌یابد (۱۲). در استرالیا در مناطقی که بارندگی بیش‌تری دارد، مانگروها ارتفاع بلندتر و تولید و تنوع بیش‌تری دارند (۱۴). در منطقه ساندار‌بانس[3] هندوستان، گونه‌های مانگرو مانند *Heritiera fomes* و *Nypa fruticans* به تدریج از ناحیه مرکزی ناپدید می‌شوند، که به علت قطع کامل ورودی آب شیرین، ناشی از خشک شدن رودخانه[4] در اثر رسوب‌گذاری زیاد است.

رویدادهای بالا آمدن آب

طی دهه‌های آینده فراوانی و تکرار رویداد بالا آمدن آب

[1] Tidal flat
[2] Creek
[3] Sundarbans
[4] Bidyadhari

دریاها بیش از یک ارتفاع معین نسبت به معیارهای ثابت، افزایش می‌یابد. این امر احتمالا یکی دیگر از نتایج تاثیرات تغییرات اقلیمی در سطح منطقه‌ای است که از طریق تغییر در طوفان‌ها و یا ایجاد امواج سهمگین پدید می‌آید. (۱۷). تجزیه و تحلیل‌های ساعتی برای بررسی سطح آب دریا در ۱۴۱ ایستگاه توزیع شده در سطح جهان برای دهه‌های اخیر نشان داد که از سال ۱۹۷۵ تا کنون افزایش شدید سطح آب دریا در جهان مشاهده شده است (۱۷). افزایش ارتفاع و تکرار رویداد بالا آمدن آب می‌تواند موقعیت و سلامت بوم‌سازگان‌های ساحلی را تحت تاثیر قرار دهد و خطری برای توسعه ساحلی و امنیت انسان‌ها باشد. شدت رویداد بالا آمدن آب دریا بر موقعیت و سلامت مانگروها نیز از همان طریقی که طوفان‌ها این بوم‌سازگان را تحت تاثیر قرار می‌دهند، مانند تغییر در ارتفاع رسوبات تاثیرگذار است (۳).

طوفان‌ها

انجمن بین‌دولتی تغییرات اقلیمی[1] پیش‌بینی کرده است که احتمالا در طول قرن بیست و یکم شدت توفندها[2] افزایش خواهد یافت (۱۱ و ۲). همچنین پیش‌بینی می‌شود که تکرار، ارتفاع و شدت خیزاب‌ها[3] نیز افزایش یابد. یکی از عواقب افزایش شدت و تکرار طوفان‌ها، آسیب به بوم‌سازگان‌های مانگرو از طریق مرگ و میر درختان است. علاوه بر این طوفان‌ها می‌توانند ارتفاع رسوب مانگروها را از طریق تغییر فرسایش خاک، رسوب‌گذاری و تراکم رسوب تحت تاثیر قرار دهند. مناطقی که دارای مرگ و میر انبوهی از درختان باشند و یا نهال‌ها و درختان کمی باقی‌مانده باشد ممکن است تغییر دائمی بوم‌سازگان را تجربه کنند، زیرا احیا از طریق جوانه‌زنی به دلیل تغییر ارتفاع رسوب و تغییر در هیدرولوژی بوم‌سازگان اتفاق نخواهد افتاد (۵).

دما

دما مهمترین عامل محدود کننده رشد و پراکنش مانگروها است. بین سال‌های ۱۹۰۶ تا ۲۰۰۵ میانگین دمای سطحی کره زمین ۰/۴۴ درجه سانتی‌گراد افزایش داشته است (۲). روند خطی گرمایش جهانی در ۵۰ سال گذشته، تقریبا دو برابر ۱۰۰ سال گذشته بوده است. از سال ۱۹۸۰ تا پایان قرن بیست و یکم (۲۰۹۹–۲۰۹۰)، حدود ۱/۱ تا ۶/۴ درجه سانتی‌گراد تغییر دما پیش‌بینی شده است (۲). انتظارمی رود افزایش دمای سطحی آب دریاها، مانگروها را به صورت زیر تحت تاثیر قرار دهد (۱۲ و ۱۴):

الف. تغییر در ترکیب‌بندی گونه‌ها. ب. تغییر در الگوهای رشد (برای مثال تغییر در زمان گلدهی و میوه‌دهی). ج. افزایش بهره‌وری مانگروها در جایی که افزایش دما از یک آستانه بالایی تجاوز نمی‌کند. د.توسعه مانگروها به عرض‌های جغرافیایی بالاتر.

مانگروها بر اساس میزان تحمل نسبت به گرما به سه گروه تقسیم‌بندی شده‌اند (۱۸): ۱) گونه‌های مقاوم در برابر سرما که معمولا گستره دمایی وسیعی را می‌توانند تحمل کنند (مانند *Kandelia candel*، *Avicennia marina* و *Aegiceras corniculatum*)؛ ۲) گونه‌هایی که تحمل سرما را ندارند و گستره دمایی محدودی را می‌توانند تحمل کنند (مانند *Rhizophora mucronata*، *R. apiculata*، *Lumnitzera littorea*، *Nypa fruticans* و *Pemphis acidula*)؛ و ۳) گونه‌های گرمادوست که آنها هم گستره وسیعی از دما را می‌توانند تحمل کنند (مانند *R. stylosa*، *Bruguiera sexangula*، *B. gymnorrhiza*، *Excoecaria agallocha* و *Acrostichum aureum*) (۱۹) (شکل ۱).

علی‌رغم عدم اطمینان در مورد اینکه چگونه تغییرات دمایی روی ترکیب‌بندی یا الگوهای فصلی تولید مثلی و گلدهی گونه‌ها مانگرو تاثیرخواهد داشت، افزایش سطح آب دریا و دمای هوا به احتمال زیاد به نفع مانگروهایی است که در عرض‌های جغرافیایی بالاتر زندگی می‌کنند و در حال حاضر محدودیت توزیع دارند. چرا که باعث خواهد شد که تنوع گونه‌ای آنها و تولید لاشبرگ و مواد مغذی آنها افزایش یابد که باعث ظهور درختانی با اندازه بزرگ‌تر در این نوع بوم‌سازگان می‌شود (۲۰). افزایش دما ممکن است از طریق تغییر الگوهای فصلی تولید مثل و تغییر طول زمان بین گلدهی و افتادن پروپاگیول‌های بالغ، بر روی مانگروها تاثیر گذار باشد (۲۱ و ۱۴). انتظار می‌رود که تغییر دمای رسوبات به همان مقداری که دمای سطح آب دریا افزایش می‌یابد، افزایش یابد. هرچند تغییرات در دمای رسوب عموما بسیار کمتر از دمای هواست که از ظرفیت بالای رسوبات مرطوب برای حفظ گرما ناشی می‌شود (۲۱).

[1] IPCC
[2] Tropical cyclone
[3] Storm surge

بنابراین حتی اگر دمای رسوب افزایش یابد، احتمالا تاثیر منفی بر مانگروها نخواهد داشت (۲۱). همچنین افزایش دمای رسوب احتمالا باعث افزایش نرخ رشد و تکثیر باکتری‌هایی می‌شود که به افزایش نرخ چرخه مواد مغذی (از طریق تجزیه میکروبی) کمک می‌کنند.

غلظت دی‌اکسیدکربن جو

غلظت دی‌اکسیدکربن جو حدود ۳۵ درصد نسبت به قبل از دوران صنعتی شدن بیش‌تر شده است. این مقدار از ۲۸۰ ppmv (Parts per million by volume) در سال ۱۸۸۰ به ۳۷۹ ppmv در سال ۲۰۰۵ رسیده است (۲). انتشار گاز دی‌اکسیدکربن نیز در دهه‌های اخیر افزایش داشته است. میانگین انتشار گاز دی‌اکسیدکربن از ۰/۴ ± ۶/۴ $GtC\ a^{-1}$ در دهه ۹۰ میلادی به ۰/۳ ± ۷/۲ $GtC\ a^{-1}$ در سال‌های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۵ رسیده است (۳). یکی از اثرات مستقیم افزایش دی‌اکسیدکربن می‌تواند افزایش تولید در برخی گونه‌های مانگرو باشد (۱۲، ۲۲ و ۲۳). از این رو پاسخ متابولیکی مانگروها به افزایش دی‌اکسیدکربن جو احتمالا می‌تواند افزایش نرخ رشد و تنظیمات موثرتر در مقابل از دست رفتن آب باشد (۲۱ و ۲۴). با این وجود دو برابر شدن غلظت دی‌اکسیدکربن تاثیر کمی روی نرخ رشد مانگروها در مناطق تحت شوری شدید دارد (۲۲). ولی این اثر در مناطقی که شوری کمتری دارند بیشتر است. با این حال تمام گونه‌ها پاسخ مشابهی به افزایش غلظت دی اکسیدکربن ندارند و عوامل دیگری مانند دما، شوری، مواد مغذی و رژیم جزرومدی نیز روی پاسخ مانگروها به افزایش دی‌اکسیدکربن جو تاثیرگذار است (۱۲).

الگوهای جریان‌های اقیانوسی

انجمن بین‌دولتی تغییرات اقلیمی (Intergovernmental Panel on Climate Change) گزارش داده است که در حال حاضر شواهد شفافی در مورد تغییر جریان‌های اقیانوسی وجود ندارد (۲۵). با این حال مشاهداتی از یک روند طولانی تغییرات گرما و شوری در مقیاس منطقه‌ای وجود دارد که به تغییر در جریان‌های اقیانوسی منجر خواهد شد (۲۵ و ۲۶). تغییر در الگوهای جریان‌های سطحی اقیانوسی ممکن است روی پراکندگی پراپاگیول‌های مانگروها و ساختار ژنتیکی جمعیت‌های مانگرو و به دنبال آن روی ساختار جوامع مانگرو تاثیرگذار باشد (۲۷).

شکل ۱- گونه‌های مانگرو خلیج فارس و خلیج عمان. الف: گونه چندل (*Rhizophora mucronata*)، گونه که تحمل سرما را ندارد و محدوه کوچکی از دما را می‌تواند تحمل کند. ب: گونه حرا (*Avicennia marina*)، گونه مقاوم در برابر سرما که توانایی تحمل گستره وسیعی از دما را دارد.

پاسخ بوم‌سازگان مجاور

سطح زیر پوشش و سلامت صخره‌های مرجانی، علفزارهای دریایی، مصب‌ها و سواحل ممکن است تحت تاثیر تغییرات اقلیمی (مانند افزایش دما، تغییرات دمای فصلی و اسیدی شدن اقیانوس‌ها) قرار بگیرند (۲۸ و ۲۹). مانگروها از نظر عملکردی با بوم‌سازگان‌های مجاور خود در تعامل هستند (۳۰). از بین رفتن بوم‌سازگان ساحلی مجاور به علت تغییرات اقلیمی و یا دیگر منابع تنش‌زا ممکن است سلامت مانگروها را نیز به خطر اندازد. برای مثال مانگروهای جزایر کم ارتفاع و آتل‌ها که بخشی از رسوب خود را از تولیدات صخره‌های مرجانی تامین می‌کنند، نرخ رسوب‌گذاری کمتری در برابر افزایش سطح آب دریا دارند و در صورتی که صخره‌های مرجانی در اثر تغییرات اقلیمی تولید کمتر داشته باشد، بوم‌سازگان‌های مانگرو مجاور بیشتر در معرض خطر خواهند بود (۳).

پاسخ‌های انسانی به تغییرات اقلیمی

پاسخ‌های انسان به تغییرات اقلیمی می‌تواند تاثیر این تغییرات را روی بوم‌سازگان‌های مانگرو تشدید کند. برای مثال افزایش ساخت و سازهای دریایی مانند دیوارهای دریایی و دیگر سازه‌های کنترلی فرسایش در نزدیکی بوم‌سازگان مانگرو به عنوان یک تهدید محسوب می‌شود. زیرا مانع گسترش این بوم‌سازگان در زمان افزایش سطح آب دریا خواهد شد. همچنین در مناطقی که بارندگی کم و دمای هوا زیاد باشد ممکن است استخراج آب‌های زیرزمینی برای رفع تقاضای آب آشامیدنی و کشاورزی افزایش یابد. افزایش استخراج آب‌های زیرزمینی در حالی که سطح آب دریاها نسبت به بستر مانگروها در حال افزایش است باعث آسیب‌پذیری مانگروها می‌شود. زیرا با برداشت بی‌رویه از آب‌های زیرزمینی، سطح ایستابی آب سقوط خیلی زیادی خواهد داشت و به این ترتیب آب دریا اجازه نفوذ به آب‌های زیرزمینی را پیدا می‌کند (۳۱). همچنین عمق کم سطح ایستابی آب شور باعث می‌شود که آب شیرین ذخیره شده در گودال‌ها و آبگیرها لب‌شور شده و موجب افزایش شوری سطح رسوب در طبیعت شود. شور شدن رسوب باعث می‌شود که تنوع گونه‌ای و بهره‌وری مانگروها کاهش پیدا کند. در کنار این عوامل منحرف کردن آب‌های سطحی از مانگروها یا سایر بوم‌سازگان‌های ساحلی باعث کاهش بهره‌وری مانگروها خواهد شد (۳۲). علاوه بر این تخریب جنگل‌های مانگرو توسط انسان باعث می‌شود مقادیر زیادی کربن‌دی‌اکسید ذخیره شده در رسوبات این بوم‌سازگان آزاد شود، که افزایش دی‌اکسیدکربن جو باعث تشدید گرمایش جهانی و سایر روندهای تغییرات اقلیمی خواهد شد (۳۳).

نتیجه‌گیری

مانگروها دارای عملکردهای منحصربه فردی هستند که کاهش سطح پوشش آن‌ها و یا اختلال در سلامت آن‌ها تهدید بزرگی برای بوم‌سازگان‌های ساحلی به شمار می‌آید. از بین رفتن مانگروها موجب کاهش کیفیت آب، کاهش تنوع زیستی، از بین رفتن مکان‌های تخم‌ریزی و نوزادگاهی آبزیان و حذف محصولات و خدماتی می‌شود که به انسان ارائه می‌دهند (۶). ارزش اقتصادی سالانه مانگروها بر اساس ارزش محصولات و خدماتی که ارائه می‌دهند، بین ۲۰۰ هزار تا ۹۰۰ هزار دلار در هر هکتار تخمین زده شده است (۳۴). اثرات افزایش سطح آب دریاها احتمالا بخش قابل توجهی از پیش‌بینی‌های آینده در مورد از دست رفتن مانگروها را به خود اختصاص می‌دهند. مطالعه آسیب‌شناسی مانگروها نسبت به تغییرات نسبی سطح آب دریا، به ویژه برای مناطقی که بوم‌سازگان مانگرو آن با سرعت بالا آمدن فزایندهٔ سطح آب دریا هماهنگ نیست، ضروری به نظر می‌رسد. همچنین اینکه آیا روند افزایش سطح آب طولانی مدت است یا به صورت دوره‌ای و همچنین آیا این پدیده جهانی است یا منطقه‌ای باید مطالعه شود (۵، ۸ و ۷). بر اساس تحقیقی که در جزایر منطقه اقیانوس آرام صورت گرفته است، سالانه حدود ۲ درصد کاهش مساحت مانگروها به دلیل افزایش سطح آب دریا در این منطقه اتفاق می‌افتد (۳۵). بر اساس همین اطلاعات محدود، افزایش نسبی سطح آب دریا می‌تواند یکی از دلایل اصلی کاهش مساحت مانگروها بر اثر تغییرات اقلیمی در آینده باشد. علاوه به افزایش سطح آب دریا، از دیگر عواملی که در آینده باعث کاهش مساحت مانگروها در مناطق خشک مانند خلیج‌فارس خواهد شد، افزایش شوری ، کاهش ورودی آب شیرین و همچنین افزایش دما بیش از آستانه تحمل بوم‌سازگان مانگرو است (۳۶). متوسط نرخ سالانه از دست رفتن مانگروها بر اثر تنش‌های انسانی حدود ۲-۱ درصد در سال بوده است به طور که در نیم قرن گذشته حدود ۵۰ درصد مانگروهای جهان بر اثر قطع جنگل‌ها و آسیب‌های دیگر از بین رفته‌اند (۳۶). بنابراین برای حفاظت از این

بوم‌سازگان‌های با ارزش باید تاثیرات تغییرات اقلیمی را با در نظر گرفتن تنش‌های ناشی از دخالت انسان به طور همزمان بررسی کرد.

منابع

1- Thomas, R., Rignot, E., Casassa, G., Kanagaratnam, P., Acuña, C., Akins, T., & Manizade, S. 2004. Accelerated sea-level rise from West Antarctica. *Science, 306*(5694), pp. 255-258.

2- 2- Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Alley, R. B., Berntsen, T., Bindoff, N. L., & Heimann, M. 2007. Technical summary.

3- Gilman, E. L., Ellison, J., Duke, N. C., & Field, C. 2008. Threats to mangroves from climate change and adaptation options: a review. *Aquatic botany, 89*(2), pp. 237-250.

4- McIvor, A. L., Spencer, T., Möller, I., & Spalding, M. 2013. The response of mangrove soil surface elevation to sea level rise. *Natural Coastal Protection Series: Report 3. Cambridge Coastal Research Unit Working Paper 42. ISSN* pp.2050-7941.

5- Cahoon, D. R., Hensel, P. F., Spencer, T., Reed, D. J., McKee, K. L., & Saintilan, N. 2006. Coastal wetland vulnerability to relative sea-level rise: wetland elevation trends and process controls. In *Wetlands and natural resource management*, pp. 271-292. Springer, Berlin, Heidelberg.

6- Gilman, E., Ellison, J., & Coleman, R. 2007. Assessment of mangrove response to projected relative sea-level rise and recent historical reconstruction of shoreline position. *Environmental monitoring and assessment, 124*(1-3), pp.105-130.

7- McKee, K. L., Cahoon, D. R., & Feller, I. C. 2007. Caribbean mangroves adjust to rising sea level through biotic controls on change in soil elevation. *Global Ecology and Biogeography, 16*(5), pp.545-556.

8- Gilman, E., Ellison, J., Sauni, I., & Tuaumu, S. 2007. Trends in surface elevations of American Samoa mangroves. *Wetlands Ecology and Management, 15*(5), pp.391-404.

9- Pilkey, O. H., & Cooper, J. A. G. 2004. Society and sea level rise. *Science, 303*(5665), pp.1781-1782.

10- Walsh, K. J., & Ryan, B. F. 2000. Tropical cyclone intensity increase near Australia as a result of climate change. *Journal of Climate, 13*(16), pp. 3029-3036.

11- Houghton, J. T., Ding, Y. D. J. G., Griggs, D. J., Noguer, M., van der Linden, P. J., Dai, X., & Johnson, C. A. 2001. *Climate change 2001: the scientific basis*. The Press Syndicate of the University of Cambridge.

12- Field, C. D. 1995. Impact of expected climate change on mangroves. In *Asia-Pacific Symposium on Mangrove Ecosystems*, pp. 75-81. Springer, Dordrecht.

13- Snedaker, S. C. 1995. Mangroves and climate change in the Florida and Caribbean region: scenarios and hypotheses. *Hydrobiologia, 295*(1-3), pp. 43-49.

14- Ellison, J. C. 2000. How South Pacific mangroves may respond to predicted climate change and sea-level rise. In *Climate change in the South Pacific: impacts and responses in Australia, New Zealand, and small island states* pp. 289-300. Springer, Dordrecht.

15- Burchett, M. D., Field, C. D., & Pulkownik, A. 1984. Salinity, growth and root respiration in the grey mangrove, Avicennia marina. *Physiologia Plantarum, 60*(2), pp.113-118.

16- Clough, B. F. 1984. Growth and salt balance of the mangroves Avicennia marina (Forsk.) Vierh. and Rhizophora stylosa Griff. in relation to salinity. *Functional Plant Biology, 11*(5), pp. 419-430.

17- Woodworth, P. L., & Blackman, D. L. 2004. Evidence for systematic changes in extreme high waters since the mid-1970s. *Journal of Climate, 17*(6), pp.1190-1197.

18- Li, M. S., & Lee, S. Y. 1997. Mangroves of China: a brief review. *Forest Ecology and Management, 96*(3), pp. 241-259.

19- Zhang, R. T., & Lin, P. 1984. Studies on the flora of mangrove plants from the coast of China. *J. Xiamen Univ.(Nat. Sci.), 23*, pp. 232-239.

20- Edwards, A. J. 1995. *Impact of climate change on coral reefs, mangroves and tropical seagrass ecosystems* pp. 209-234. Lewis Publishers, Boca Raton, FL, USA.

21- UNEP United Nations Environment Programme .1994. Assessment and monitoring of climatic change impacts on mangrove ecosystems. UNEP regional seas reports and studies. Report No. 154. UNEP, Nairobi.

22- Ball, M. C., Cochrane, M. J., & Rawson, H. M. 1997. Growth and water use of the mangroves Rhizophora apiculata and R. stylosa in response to salinity and humidity under ambient and elevated concentrations of atmospheric CO2. *Plant, Cell & Environment, 20*(9), pp.1158-1166.

23- Komiyama, A., Ong, J. E., & Poungparn, S. 2008. Allometry, biomass, and productivity of mangrove forests: A review. *Aquatic Botany, 89*(2), pp. 128-137.

24- Farnsworth, E. J., Ellison, A. M., & Gong, W. K. 1996. Elevated CO 2 alters anatomy, physiology, growth, and reproduction of red mangrove (Rhizophora mangle L.). *Oecologia, 108*(4), pp. 599-609.

25- Bindoff, N. L., Willebrand, J., Artale, V., Cazenave, A., Gregory, J. M., Gulev, S., & Shum, C. K. 2007. Observations: oceanic climate change and sea level.

26- Gregory, J. M., Dixon, K. W., Stouffer, R. J., Weaver, A. J., Driesschaert, E., Eby, M., ... & Kamenkovich, I. V. 2005. A model intercomparison of changes in the Atlantic thermohaline circulation in response to increasing atmospheric CO2 concentration. *Geophysical Research Letters, 32*(12).

27- Lovelock, C. E., & Ellison, J. C. 2007. Vulnerability of mangroves and tidal wetlands of the Great Barrier Reef to climate change.

28- Harvell, C. D., Mitchell, C. E., Ward, J. R., Altizer, S., Dobson, A. P., Ostfeld, R. S., & Samuel, M. D. 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science, 296*(5576), pp. 2158-2162.

29- Mydlarz, L. D., Jones, L. E., & Harvell, C. D. 2006. Innate immunity, environmental drivers, and disease ecology of marine and freshwater invertebrates. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst., 37*, pp. 251-288.

30- Mumby, P. J., Edwards, A. J., Arias-González, J. E., Lindeman, K. C., Blackwell, P. G., Gall, A.,& Wabnitz, C. C. 2004. Mangroves enhance the biomass of coral reef fish communities in the Caribbean. *Nature, 427*(6974), pp. 533.

31- Fletcher, C. H., Mullane, R. A., & Richmond, B. M. 1997. Beach loss along armored shorelines on Oahu, Hawaiian Islands. *Journal of Coastal Research*, pp. 209-215.

32- Krauss, K. W., Allen, J. A., & Cahoon, D. R. 2003. Differential rates of vertical accretion and elevation change among aerial root types in Micronesian mangrove forests. *Estuarine, Coastal and Shelf Science, 56*(2), pp. 251-259.

33- Kristensen, E., Bouillon, S., Dittmar, T., & Marchand, C. 2008. Organic carbon dynamics in mangrove ecosystems: a review. *Aquatic botany, 89*(2), pp. 201-219.

34- Wells, S., & Ravilious, C. 2006. *In the front line: shoreline protection and other ecosystem services from mangroves and coral reefs* (No. 24). UNEP/Earthprint.

35- Gilman, E. L., Ellison, J., Jungblut, V., Van Lavieren, H., Wilson, L., Areki, F., ... & Kilman, M. 2006. Adapting to Pacific Island mangrove responses to sea level rise and climate change. *Climate Research*, 32(3), pp. 161-176.

36- Alongi, D. M. 2015. The impact of climate change on mangrove forests. *Current Climate Change Reports, 1*(1), pp. 30-39.

تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی صندوق حمایت از پژوهشگران (کد طرح: ۹۷۰۰۰۳۲۷) انجام شده است.

مروری بر اهمیت ماکروجلبک‌ها در صنعت آبزی پروری (با تاکید بر ماهیان)

رضوان تمدنی، وحید مرشدی* و محمد صراف

بوشهر، دانشگاه خلیج فارس، پژوهشکده خلیج فارس

چکیده

افزایش قیمت آرد ماهی و همچنین کاهش دسترسی به آن موجب شده تا طی سالیان گذشته جستجو برای جایگزین‌های مناسب گیاهی به سرعت در حال توسعه باشد. در این میان ماکروجلبک ها به دلیل سهولت پرورش و قیمت مناسب جایگزین مناسبی محسوب می‌شوند. ماکروجلبک ها به عنوان مکمل‌های غذایی به منظور افزایش سلامتی و عملکرد رشد و تغذیه بسیاری از گونه‌های ماهیان دریایی، آب شیرین و ماهیان زینتی استفاده می‌شوند. اکثر مطالعات صورت گرفته نیز نتایج قابل قبولی را در استفاده از ماکروجلبک‌ها به عنوان جایگزین نسبی آرد ماهی گزارش کرده‌اند. نتیجه بررسی‌ها نشان می‌دهد هرچند در پرورش برخی گونه‌ها مانند *شانک قرمز* (*Pagrus major*)، *سی بأس اروپایی* (*Dicentrarchus labrax*) و *سی بأس آسیایی* (*Lates calcarifer*) استفاده از تا حد ۱۰ درصد آرد جلبک باعث افزایش عملکرد رشد و تغذیه گردیده اما در استفاده بیشتر آر آرد جلبک در جیره غذایی برخی گونه‌ها تفاوت بین تیمارها مشاهده نشد و حتی تاثیرات منفی داشته است. بنابراین به نظر می‌رسد پژوهش‌های بیشتری در این زمینه مورد نیاز است.

کلیدواژگان: آبزی پروری، ماکروجلبک، جیره ماهی، خلیج فارس

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: v.morshedi@gmail.com

مقدمه

آبزیان یکی از منابع اصلی غذای انسان به شمار می‌روند (آیولا[1]، ۲۰۱۰). در حال حاضر سرانه مصرف جهانی آبزیان ۲۰ کیلوگرم برآورد شده است که تقریباً نصف آن توسط آبزیان پرورشی تأمین می‌شود (فائو[2] ، ۲۰۱۶). از طرفی با توجه به پیشرفت صنعت آبزی پروری در دهه‌های اخیر، بخش مهمی از صید جهانی جهت تولید آرد و روغن ماهی به عنوان مواد اولیه در ساخت جیره غذایی آبزیان پرورشی، اختصاص یافته است. با توجه به افزایش تقاضای جهانی برای تولید آرد و روغن ماهی و برآورد میزان تولید آبزی پروری با رشد سالانه ۶/۵ درصد تا سال ۲۰۲۵، پیش بینی می‌شود در مدت زمان کوتاهی، آبزی پروری تمام مصارف آرد و روغن ماهی تولید شده را به خود اختصاص خواهد داد (کولینز[3] و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، پیش بینی شده است که در آینده به دلیل کاهش ذخایر دریاها و افزایش قیمت آرد و روغن ماهی، توسعه صنعت آبزی پروری تا حد زیادی محدود خواهد شد و در نتیجه حفظ وضعیت و پایداری صنعت آبزی پروری تنها با استفاده از این منابع، دشوار خواهد شد (بوراوویی[4] و همکاران، ۲۰۱۱). بنابراین هر نوع جایگزین نمودن این ماده گران قیمت (آرد ماهی) حتی در درصدهای پایین، می‌تواند تأثیر معنی‌داری در کاهش قیمت غذا و محصول تولیدی داشته باشد. متاسفانه به دلایل متعدد در بسیاری از موارد، صید آبزیان بی‌کیفیت در دستور کار کارخانه‌های تولید کننده آرد ماهی قرار گرفته است (هاردی[5]، ۱۹۹۹)، و در نتیجه استفاده از منابع جایگزین در غذای آبزیان باید مورد توجه و بحث قرار بگیرد.

صنعت پرورش گیاهان آبزی و به طور ویژه جلبک‌های دریایی به سرعت در حال رشد است. در حال حاضر این جلبک‌ها در ۵۰ کشور جهان پرورش داده می‌شوند و در بین گروه‌های آبزیان پرورشی، جلبک‌های دریایی با حجمی حدود ۲۷ میلیون تن بیشترین سهم را به خود اختصاص داده است (فائو، ۲۰۱۶). در میان مواد مغذی، میزان پروتئین و چربی عامل مهمی است که آن‌ها را به عنوان مکمل ایده آل برای جیره غذایی آبزیان تبدیل می‌کند. پروتئین یکی از گران‌ترین و مهم‌ترین مواد تشکیل دهنده جیره غذایی آبزیان است. میزان پروتئین ماکروجلبک ها در محدود ۵ تا ۴۰ درصد وزن خشک (در موارد

[1] Ayoola, A.A.
[2] FAO
[3] Collins, S.A.
[4] Bouraoui, L.
[5] Hardy, R.W.

معدودی بیش از ۴۰ درصد) گزارش شده است. در حالی که میزان چربی آن‌ها تنها بین ۲ تا ۵ درصد وزن خشک ثبت شده است. با وجود سطح پایین چربی کل، بخش زیادی از این منابع چربی شامل اسیدهای چرب غیراشباع است که برای رشد و نمو آبزیان بخصوص در دوران لاروی و بچه ماهی ضروری به نظر می‌رسد. علاوه بر موارد مذکور وجود ویتامین‌ها، مواد معدنی، رنگ دانه‌ها، آنتی اکسیدان و برخی از پلی ساکاریدها با قابلیت اتصال به مواد معدنی نقش مهمی در تعادل تغذیه‌ای و بهبود رشد در جیره‌های حاوی ماکروجلبک دارد (تیواری و تروی[1]، ۲۰۱۵). اکثر مطالعات صورت گرفته نتایج قابل قبولی را در استفاده از ماکروجلبک‌ها به عنوان جایگزین نسبی آرد ماهی گزارش کرده‌اند. تحقیقات مختلف نشان داده است که حوزه تأثیر استفاده از ماکروجلبک ها در جیره غذایی آبزیان به گونه جلبک مورد استفاده، گونه ماهی مورد مطالعه و هم چنین سطح جایگزینی بستگی دارد (پریرا[2] و همکاران، ۲۰۱۲).

اهمیت ماکروجلبک ها

کشت جلبک‌های دریایی می‌تواند به عنوان یک فعالیت اقتصادی و سودآور به خصوص برای جوامع ساحلی باشد؛ چرا که چرخه تولید آن کوتاه، نیاز به سرمایه گذاری کم و تکنولوژی پرورش آن نسبتاً ساده است. از طرفی ماکروجلبک ها در زیستگاه طبیعی خود یعنی در دریاها و اقیانوس‌ها به فراوانی رشد می‌کنند. از طرف دیگر آب‌های کم عمق قسمت‌های ساحلی در سراسر جهان غنی از مواد غذایی و آلودگی‌ها می‌باشد که ناشی از فعالیت‌های اکوسیستمی نظیر جریان‌های ساحلی و گردش آب از پایین به بالا (upwelling) و یا ناشی از فعالیت‌های کشاورزی و تخلیه فاضلاب در سواحل است. پرورش جلبک در این نواحی می‌تواند به عنوان یک فعالیت دوستدار محیط زیست موجب جذب این مواد مغذی باشد. علاوه بر موارد مذکور، پرورش جلبک‌های دریایی برخلاف فعالیت‌های کشاورزی که در خشکی صورت گرفته و نیاز به حجم بالای آب شیرین دارد، بدون نیاز به آب شیرین می‌تواند کاهش فشار بر منابع آبی و تولیدات کشاورزی را به همراه دارد (تیواری و تروی، ۲۰۱۵). تقریباً ۳۰۰ گونه از جلبک‌های دریایی در جنوب کشور شناسایی شده است که در دسته‌های جلبک قرمز (Rhodophytes)، جلبک قهوه‌ای (Phaeophytes) و جلبک سبز (Chlorophytes) طبقه بندی شده‌اند (قرنجیک و آبکنار، ۱۳۷۹). مهم‌ترین جلبک‌های دریایی پرورشی جهان عبارت‌اند از: Echeuma spp.، Saccharina spp.، Gracilaria spp.، Undaria spp. و Porphyra spp.. از جمله خصوصیات بارز و مهم جلبک‌ها که موجب اهمیت کاربرد آنها به عنوان مکمل یا یکی از اقلام اصلی در جیره غذایی آبزیان شده عبارت‌اند از: غنی بودن آنها از مواد فعال زیستی، پروتئین و کربوهیدرات‌ها که از اجزاء مهم غذایی در انسان و حیوانات هستند. از سوی دیگر جلبک‌ها حاوی درصد بالایی از اسیدهای چربی هستند که استفاده از آنها در جیره غذایی آبزیان بسیار با اهمیت و حیاتی است (ناکاگاوا[3] و مونت گومری[4]، ۲۰۰۷).

ماکرو و میکروجلبک‌ها به عنوان مکمل‌های غذایی به منظور افزایش سلامتی و عملکرد تغذیه‌ای بسیاری از گونه‌های ماهیان پرورشی استفاده می‌شوند (گوری[5] و همکاران، ۲۰۱۱). ماکروجلبک‌ها در مقایسه با میکروجلبک‌ها پروتئین کمتری دارند، با این حال تأثیر استفاده از آن‌ها به لحاظ بهبود رشد، سوخت‌وساز چربی‌ها و بهبود کیفیت گوشت قابل توجه بوده است (واصف[6] و همکاران، ۲۰۰۱). همچنین ماکروجلبک ها حاوی پروتئین، کربوهیدرات (نشاسته، گلوکز، قندها و پلی ساکاریدهای غیر قابل هضم همچون آگار، کارآژینان و آلژینات)، چربی (گلیسرول و اسیدهای چرب سری n-3 (امگا-۳) و n-6 (امگا-۶) با خاصیت ضد باکتریایی، ضد ویروسی و ضد قارچی، ویتامین‌های ضروری (A، B_1، B_2، B_6، B_{12}، C، E، بیوتین، فولیک اسید و پنتوتنیک اسید)، مواد معدنی (فسفر، روی، آهن، کلسیم، سلنیوم و منگنز) و همچنین آنتی اکسیدان‌ها هستند (کومار و همکاران، ۲۰۰۸). رنگ پوست یا گوشت ماهیان از ویژگی‌های مهم در صنعت آبزی پروری است که موجب ایجاد ظاهری جذاب و در نتیجه جلب رضایت مصرف کننده می‌شود. از این نظر وجود رنگدانه های طبیعی در ماکروجلبک ها و استفاده از آن در جیره غذایی ماهی می‌تواند رنگ موثری در گوشت و پوست ایجاد کند (تیواری و تروی، ۲۰۱۵). بهبود رشد،

[1] Tiwari, B. K., & Troy, D. J.
[2] Pereira, R.
[3] Nakagawa, H.
[4] Montgomery, W.L.
[5] Guroy, D.
[6] Wassef, E.A.

مصرف غذا، عملکرد کبد، متابولیسم چربی، فعالیت‌های فیزیولوژیک، پاسخ‌های استرس، مقاومت در برابر بیماری و کیفیت گوشت در جیره‌های حاوی ۵-۱٪ ماکروجلبک گزارش شده است. همچنین برخی گزارش‌ها اضافه کردن مخلوطی از ماکروجلبک‌های دریایی را در جیره به جای استفاده از یک گونه ماکروجلبک توصیه کرده‌اند که در نتیجه بهبود عملکرد رشد و طعم بهتر ماهی را به همراه دارد (ناکاگاوا و مونت‌گومری، ۲۰۰۷).

با وجود موارد مذکور در تأیید ارزش تغذیه‌ای بالای ماکروجلبک ها و تاثیرات مثبت آن بر سلامت آبزیان و انسان باید عنوان کرد جلبک‌ها دارای چالش‌های خاصی نیز هستند و قبل از استفاده از آن‌ها در جیره‌های غذایی آبزیان یا انسان جانب احتیاط باید رعایت شود. به عنوان مثال در میان بیش از ۲۰۰ هزار گونه جلبک تنها کمتر از ۲۰ درصد آن‌ها به عنوان جلبک‌های غیرسمی گزارش شده‌اند. بسیاری از گونه‌های جلبک حاوی فلزات سنگین (جیوه، سرب و آرسنیک) بوده و در برخی موارد غلظت آن‌ها از محیط اطراف نیز بالاتر می‌رود. همچنین برخی گونه‌های جلبک با قابلیت تولید سم نیز گزارش شده است که با تولید سموم بیوژنیک و متابولیت های ثانویه ممکن است اختلالات عصبی را در موجود میزبان ایجاد کند (تیواری و تروی، ۲۰۱۵).

ترکیبات بیوشیمیایی ماکروجلبک ها

ترکیب بیوشیمیایی ماکروجلبک ها بین گونه‌ها، فصل برداشت، زیستگاه رشد و شرایط محیطی به میزان قابل توجهی متفاوت است. حتی در یک منطقه جغرافیایی کوچک، سرعت رشد و ترکیبات بیوشیمیایی ممکن است بسته به فصل برداشت، نور خورشید، شوری، عمق، جریان آب محلی در ماکروجلبک ها متفاوت باشد. گزارش‌ها نشان داده است که ترکیب بیوشیمیایی جلبک‌ها حتی می‌تواند در جنس‌های مشابه جلبک تفاوت‌های چشمگیر داشته باشند. ترکیب بیوشیمیایی برخی ماکروجلبک ها در جدول ۱ آورده شده است (اورلند[1] و همکاران، ۲۰۱۹).

ماکروجلبک ها حاوی مقادیر بالای مواد معدنی (۱۰ تا ۵۰ درصد وزن خشک) ضروری شامل کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سدیم و همچنین عناصر کمیاب (مس، منگنز، روی و آهن) می‌باشند که نقش مهمی در ساخت بافت‌های موجودات و به عنوان کوفاکتور در تنظیم بسیاری از واکنش‌های حیاتی دارد.

جدول ۱- ترکیب بیوشیمیایی برخی ماکروجلبک ها

ترکیب شیمیایی	جلبک قهوه‌ای[a]	جلبک سبز[b]	جلبک قرمز[c]
رطوبت	۹۴۰-۶۱۰	۹۲۰-۷۸۰	۹۱۰-۷۲۰
پروتئین خام	۱۶۸-۲۴	۳۵۲-۳۲	۳۷۶-۶۴
چربی خام	۹۶-۳	۲۸-۳	۱۲۹-۲
پلی ساکارید	۶۱۰-۳۸۰	۶۵۰-۱۵۰	۶۶۰-۳۶۰
خاکستر	۴۵۰-۱۵۰	۵۵۰-۱۱۰	۴۲۲-۱۲۰

* مقادیر بر حسب گرم بر کیلوگرم

a- مقادیر برای گونه‌های خاص جلبک قهوه ایی می‌باشد که شامل: *Laminaria*، *Saccharina*، *Fucus*، *Ascophyllum*, *Alaria*, *Pelvetia* and *Undaria* spp.

b- مقادیر برای گونه‌های خاص جلبک سبز که شامل : *Cladophora*, *Enteromorpha Ulva*, *spp*

c- مقادیر برای گونه‌های خاص جلبک قرمز می‌باشد که شامل: *Palmaria*, *Chondrus*, *Porphyra*, *Vertebrata*, *Vertebrata*,

جلبک‌ها به دلیل دارا بودن پلی ساکاریدهای سطحی سلولی (مانند آگار، کارگینان، آلژینات و سلولز) قادر به جذب مواد معدنی از محیط هستند و بر همین اساس میزان مواد معدنی در ماکروجلبک ها ممکن است چندین برابر بیشتر از عناصر مشابه موجود در اکوسیستم است. میزان عناصر معدنی در ماکروجلبک ها نیز بسته به جنس جلبک، تغییرات فصل، موقعیت جغرافیایی، شدت نور می‌تواند متفاوت باشد (تیواری و تروی، ۲۰۱۵).

ماکروجلبک ها مقادیر نسبتاً اندکی چربی دارند ولی چربی‌ها به دلیل داشتن اسیدهای چرب غیراشباع اهمیت بالای دارند. اسیدهای چرب ایکوزهگزانوئیک اسید (EPA) و دکوزا پنتانوئیک اسید (DHA) به دلیل کاربردهای فراوان در جیره غذایی تمام مراحل زندگی آبزیان شامل لاروی، بچه ماهی، ماهی پرواری و مولد و همچنین کاربردهای دارویی جز مهم‌ترین اسیدهای چرب چند غیراشباع (HUFA) در نظر گرفته می‌شوند. تحقیقات نشان می‌دهد که وجود اسیدهای چرب چند غیراشباع در روغن ماهی از مصرف فیتوپلانکتون ها توسط زئوپلانکتون ها و از طریق زنجیره غذایی دریایی حاصل می‌شود. بنابراین تحقیقات در

[1] Overland, M.

زمینه استفاده مستقیم از ماکروجلبک ها در جیره غذایی آبزیان به منظور ارتقاء سطح اسیدهای چرب چندغیراشباع در ماهیان شروع شده است. لی و همکاران (۲۰۰۹) افزایش سطح اسیدهای چرب چند غیراشباع را همراه با افزایش وزن و مصرف جیره غذایی ماهی حتی با مقادیر بسیار پایین (۱ تا ۱,۵ درصد) در گربه ماهی گزارش شده است. با این حال، نتایج مطالعات نشان می‌دهد با توجه به پایین بودن سطح EPA در جلبک‌های دریایی نمی‌توان از آن‌ها به عنوان جایگزین اسیدهای چرب چند غیراشباع در جیره ماهیان استفاده کرد (تیواری و تروی، ۲۰۱۵).

محتوی پروتئین و آمینو اسید ماکروجلبک ها

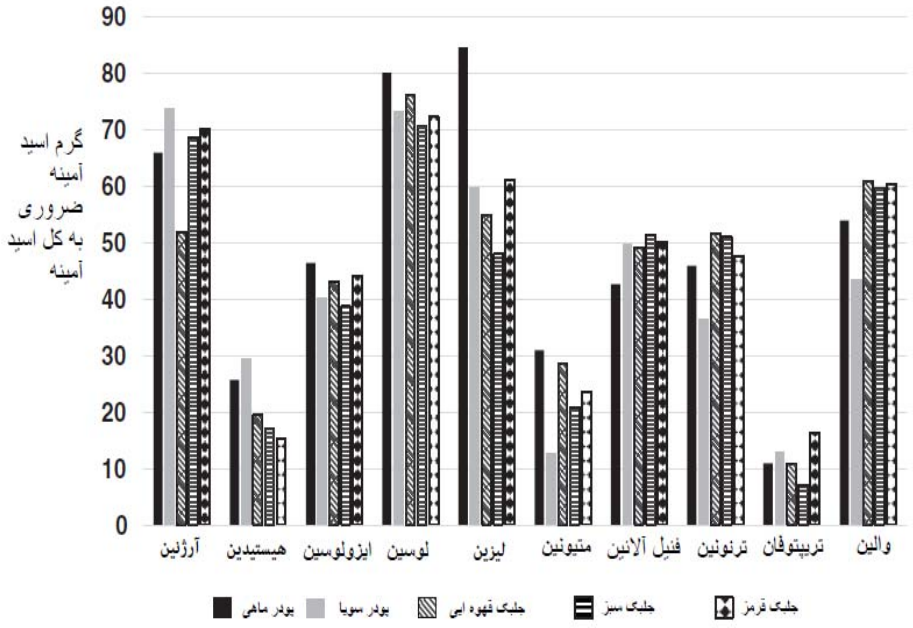
میزان پروتئین موجود در ماکروجلبک ها در دامنه بین ۵ تا ۴۰ درصد وزن خشک است و در فصول و گونه‌های مختلف نیز نوسان پیدا می‌کند. عموماً بالاترین میزان پروتئین در طول زمستان و اوایل بهار و کمترین مقدار آن نیز در تابستان و اوایل پاییز به دست می‌آید. به طور کلی جلبک‌های قرمز محتوای پروتئین ماکروجلبک قهوه‌ای به طور کلی کم است (معمولاً کمتر از ۱۵۰ گرم بر کیلوگرم ماده خشک) در حالی که ماکروجلبک سبز و به خصوص ماکروجلبک قرمز دارای محتوای پروتئینی بالاتری است (گارسیا وکئرو و هاییز، ۲۰۱۶). برخی از ماکرو جلبک‌های قرمز، مانند پورفیرا (*Porphyra* sp.)، سطح پروتئینی قابل مقایسه با پودر سویا دارند (اسمیت و همکاران، ۲۰۱۰). مقایسه نتایج متفاوت پروتئین ماکروجلبک ها در مطالعات انجام گرفته می‌تواند ناشی از روشهای مختلف اندازه گیری باشد. نیتروژن در پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چندین ترکیبات آلی مانند کلروفیل یافت می‌شود. علاوه بر این، ماکروجلبک ها خود نیز حاوی مقادیر قابل توجهی از نیتروژن غیر پروتئینی معدنی (به عنوان مثال آمونیاک، نیترات و نیتریت) می‌باشند. روش‌های اسپکتروسکوپی (طیف سنجی) اغلب برای تعیین پروتئین استفاده می‌شود، اما بسیاری از پروتئین‌های ماکروجلبک ها می‌تواند استخراج و حاوی چندین ماده رنگی باشند که ممکن است روی اندازه گیری تأثیر بگذارد (آنجل و همکاران، ۲۰۱۶). با این حال برای اهداف تغذیه‌ای، تجزیه و تحلیل اسید آمینه از جلبک باید انجام شود. موضوع چالش برانگیز دیگر در مورد میزان پروتئین ماکروجلبک ها به هضم کامل پروتئین جلبک توسط آبزیان یا سایر موجودات برمی گردد. با وجود میزان بالای پروتئین در ماکروجلبک ها، همه بخش‌های پروتئینی جلبک دارای اهمیت بیولوژیک نیستند؛ چرا که حدود ۱۰ درصد از پروتئین خام شامل پروتئین‌های غیرحقیقی مثل آمین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و دیواره‌های سلولی حاوی نیتروژن است. پروتئین ماکروجلبک ها دارای همه اسیدهای آمینه از جمله گلیسین، آرژینین، آلانین و گلوتامیک اسید می‌باشند. میزان اسیدهای آمینه ضروری ماکروجلبک ها با میزان نیاز پروتئینی اعلام شده توسط سازمان‌های فائو و بهداشت جهانی قابل مقایسه است (اورلند و همکاران، ۲۰۱۹). یک مقایسه کلی در نسبت بین اسیدهای آمینه ضروری در پودر ماهی، پودر سویا، جلبک قرمز جلبک سبز و جلبک قهوه ایی در نمودار ۱ آورده شده است (اورلند و همکاران، ۲۰۱۹).

محتوی کربوهیدرات ماکروجلبک ها

کربوهیدرات‌ها زیست مولکول‌هایی هستند که از اتم‌های کربن، هیدروژن و اکسیژن تشکیل شده‌اند و به سه شکل مونوساکارید، الیگوساکارید و پلی ساکارید تقسیم بندی می‌شوند. ماکروجلبک ها امروزه به عنوان منبعی غنی از کربوهیدرات‌ها در صنایع مختلف استفاده می‌شوند. در بین جلبک‌های قرمز *Gracilaria* sp. و *Hypnea* sp. به دلیل دارا بودن پلی ساکارید هایی همچون آگار و کاراگینان (با استفاده‌های متعدد دارویی) بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته است. از طرفی جلبک‌های سبز و قهوه‌ای حاوی مقادیر قابل توجهی از پلی ساکاریدها و دیگر کربوهیدرات‌ها هستند که در جدول ۲ آمده است. ماکروجلبک ها به علت داشتن مقادیر بالای پلی ساکارید غیرقابل هضم معمولاً به عنوان منابع مناسب فیبر شناخته می‌شوند (۳۰ تا ۶۰ درصد وزن خشک). در میان فیبرها هیدروکلوئیدها مانند آلژینات، آگار، کاراگینان، فوکویدان و لامینارین به میزان زیادی در جلبک‌ها وجود دارند. فیبر معمولاً به کربوهیدرات‌های غیرقابل هضم غذا نسبت داده می‌شود. این ترکیبات به صورت دست نخورده از دستگاه گوارش عبور کرده و در انتهای روده تخمیر خواهند شد. بخشی از پلی ساکاریدها که از دیواره سلولی عبور کرده و در آب نیز محلول‌اند به عنوان فیبر محلول و بخشی که از

ابتدای دستگاه گوارش عبور کرده و به انتهای روده می‌رسد فیبر نامحلول اطلاق می‌شود که اولی منجر به افزایش وزیسکوزیته در روده و دومی منجر به افزایش حجم مدفوع و کاهش زمان انتقال آن می‌شود. بنابراین زمانی که ماکروجلبک در جیره غذایی استفاده می‌شود فیبر بخش مهمی از آن می‌باشد.

در جدول ذیل اورلند و همکاران (۲۰۱۹) نشان داده‌اند که به طور متوسط فیبر محلول، فیبر نامحلول و فیبر کل در گونه‌های جلبک‌های قرمز کمتر از انواع سبز و قهوه‌ای است (اورلند و همکاران، ۲۰۱۹). میزان پلی ساکارید جلبک‌ها تحت تأثیر چندین فاکتور مختلف شامل زیستی، فیزیکی و محیطی قرار دارد به عنوان مثال زمان برداشت، گونه‌های جلبک و دستورالعمل و شیوه استخراج پلی ساکارید ممکن است میزان و ساختار آن را تحت تأثیر قرار دهد. این مسئله تأثیر قابل توجهی بر عملکرد و خواص پلی ساکاریدها می‌گذارد (هولدت (Holdt, S.L.) و کرن، ۲۰۱۱).



نمودار۱- مقایسه کلی در نسبت بین اسیدهای آمینه ضروری در پودر ماهی، پودر سویا، جلبک قرمز جلبک سبز و جلبک قهوه ایی

جدول ۲- محتوی کربوهیدرات و پلی ساکارید در ماکروجلبک ها (اورلند و همکاران، ۲۰۱۹)

ماده شیمیایی تشکیل دهنده a	جلبک قهوه ایی	جلبک سبز	جلبک قرمز
انواع پلی ساکاریدها	آلژینات، لامینارین، فوکوئیدان، سلولز، منیتال	الوان، مانن، گالاکتان، نشاسته، سلولز، لیگنین	کاراجینان، آگار، گلوکان، سلولز، لیگنین، فونوران
انواع مونو ساکارید ها	گلوکز، گالاکتوز، فوکوز، زایلوز، ارونیک اسید، مونوریک اسید، گولورونیک اسید، گوکونوریک اسید	مانوز، رامنوز ، گلوکوز، زایلوز، اوریک اسید، گلوکورونیک	گلوکوز، گالاکتوز، آگارز
فیبر کل	۱۷۰-۶۹۰	۲۹۰-۶۷۰	۱۵۰-۵۹۰
فیبر محلول	۲۵۷-۳۷۰	۱۷۰-۲۴۰	۸۰-۳۷۰
فیبر نامحلول	۴۷-۴۰۰	۱۶۰-۱۹۰	۸۰-۲۷۰

* مقادیر بر حسب گرم در کیلوگرم a مقادیر بر حسب جلبک‌های خاص قرمز، قهوه ایی و سبز

کاربرد ماکرو جلبک‌ها در جیره ماهیان

از دهه ۱۹۶۰ تا کنون تحقیقات زیادی به منظور دستیابی به منابع پروتئینی ارزان قیمت جهت تغذیه جمعیت انسانی در حال رشد و نیز تغذیه حیوانات از جمله آبزیان صورت گرفته است. از آنجایی که آرد ماهی فراوانترین و در عین حال گرانترین منبع پروتئین حیوانی در تولید جیره غذایی طیور، دام‌های پرورشی و آبزیان است، بازارهای جهانی همیشه به دنبال یک منبع جایگزین مناسب بوده‌اند (فراز د آرودا و همکاران، ۲۰۰۷). منابع گیاهی و جانوری جایگزین برای آرد ماهی مانند آرد سویا، آرد کتان، آرد گلوتن ذرت، آردهای اسکوئید، میگو، استخوان و گوشت، آرد هیدرولیز شده پر، خون و ضایعات طیور در تحقیقات متعددی به منظور جایگزینی جزئی یا کامل با آرد ماهی مورد بررسی قرار گرفته‌اند؛ اما حتی این منابع پروتئینی برای صنعت رو به رشد آبزی پروری کافی نخواهند بود (رانگاچاریولو و همکاران، ۲۰۰۳). با وجود تحقیقات گسترده‌ای که انجام شده، تا کنون منبع پروتئین جانوری یا گیاهی مناسب که بتواند بصورت کامل جایگزین آرد ماهی شود، گزارش نشده است. همانطور که گفته شد، کاهش وابستگی به آرد ماهی امری ممکن است، اما جایگزینی کامل آرد ماهی با سایر جایگزین‌ها بدون تأثیر بر عملکرد رشد ماهی و میگو، امری غیر ممکن است (ماکار و همکاران، ۲۰۱۶). در ارتباط با جایگزینی آرد ماهی با پروتئین‌های گیاهی مانند سویا، کلزا، ذرت و... در جیره آبزیان پرورشی، تحقیقات گسترده‌ای در دنیا صورت گرفته و نتایج ارزشمند و سطوح بهینه متفاوتی نیز گزارش شده است. در این میان بیشتر تحقیقات در ارتباط با جایگزینی آرد ماهی با آرد سویا بوده و در مورد دیگر پروتئین‌های گیاهی از جمله جلبک‌های دریایی، تحقیقات کمتری صورت گرفته است. از سوی دیگر، کمبودهای موجود در پروفیل اسیدهای آمینه و وجود برخی مواد ضد تغذیه‌ای (Anti-nutrients) در اکثر محصولات کشاورزی دامنه استفاده از آنها را محدود می‌سازد و امروزه محققین با استفاده از تکنولوژی بدنبال حذف این عوامل ضد تغذیه‌ای هستند (هاردی، ۱۹۹۹).

استفاده از آرد جلبک دریایی در غذای دام و آبزیان، اولین بار در سال ۱۹۶۰ در کشور نروژ بوده است که از جلبک‌های قهوه‌ای خشک و آسیاب شده در غذای آبزیان استفاده شد. همچنین مصطفی و همکاران در سال ۱۹۹۵ بعد از نروژی‌ها اهمیت ماکروجلبک‌ها را به عنوان اقلام غذایی در جیره ماهیان مطرح کردند. پس از آن چندین مطالعه به منظور استفاده از ماکروجلبک‌های دریایی (سارگاسوم، پورفیرا، اولوا، گراسیلاریا و پادینا) در جیره غذایی آبزیان انجام گرفت که تعدادی از آن‌ها در ذیل اشاره خواهد شد.

مرشدی و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کرده‌اند که گنجاندن *گراسیلاریا پالویناتا* (*Gracilaria pulvinata*) در جیره غذایی *سی بأس آسیایی* (*Lates calcarifer*) بر پارامترهای خون و ایمنی اثرگذار بوده ولی بر ترکیب لاشه ماهی تأثیر نداشت. در این مطالعه رژیم غذایی حاوی ۳٪ *گراسیلاریا پالویناتا* (*Gracilaria pulvinata*) بر عملکرد رشد، ترکیب بدن و پارامترهای سلامت ماهی اثر بهتری را نشان داد (مرشدی و همکاران، ۲۰۱۸). در مطالعه دیگر روی سی بأس آسیایی، با جایگزینی ماکروجلبک های *Kappaphycus alvarezii*، *Eucheuma denticulatum* و *Sargassum polycystum* در سطح ۵٪، اختلاف معنی داری در پارامترهای رشد دیده نشد (شپاوی و زمری، ۲۰۱۶). مطالعه سولر ویلا و همکاران (۲۰۰۹) نیز نشان داده است که میزان ماکروجلبک قرمز پورفیرا (*Porphyra dioica*) اثر منفی روی رشد ماهی قزل آلای رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) در سطح ۱۵ درصد داشته است اما در سطح ۱۰ درصد جایگزینی ماکروجلبک پورفیرا بدون تأثیر منفی بر روی عملکرد رشد و تغذیه، ترکیب لاشه ماهی و رنگ گوشت ماهی را از نظر میزان رنگدانه بهبود بخشید. همچنین فام و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کرده‌اند که استفاده از ۶ ٪ پودر ماکروجلبک *هیزیکیا فسیفرم* (*Hizikia fusiformis*) در جیره غذایی ماهی کفشک زیتونی (*Paralichthys olivaceus*) عملکرد رشد را در مقایسه با بقیه تیمارها (سطوح صفر، ۲ و ۴٪) افزایش داد. نتایج مطالعه واصف و همکاران (۲۰۰۵) روی دو ماکروجلبک *الوا لاکتوکا* (*Ulva lactuca*) و پیتروکلادیا کاپیلاسیا (*Pterocladia capillacea*) نشان داده است که استفاده ۵ درصدی از دو ماکروجلبک مذکور در جیره غذایی ماهی سی بأس (*Dicentrarchus labrax*) باعث بهبود رشد و افزایش بقا شد. همچنین نتایج پژوهش مصطفی و همکاران (۱۹۹۵) روی ماهی شانک قرمز (*Pagrus major*) نشان داد که تغذیه با سه نوع ماکروجلبک

اسکوفیلوم نودوسوم (*Ascophyllum nodosum*)، *پوفیرا یزونسیس* (*Porphyra yezoensis*)، *الوا پرتوسا* (*Ulva pertusa*) به میزان ۵٪ باعث بهبود رشد شد. در اکثر تحقیقات انجام گرفته، جایگزینی ماکروجلبک به میزان ۱۰-۵ درصد نقشی مثبت و تاثیرگذار داشته و در سطوح بالاتر از این مقدار عملکرد رشد و تغذیه ماهیان به صورت منفی و قابل توجهی تحت تأثیر قرار می‌گرفت (پریرا و همکاران، ۲۰۱۲) و این روند در مطالعات گوناگون گزارش شده (حسن و چکرابارتی، ۲۰۰۹) و علت آن کاهش قابلیت هضم پروتئین و چربی به دلیل خاصیت ضد تغذیه‌ای پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای محلول (Non-Starch Polysaccaride) در جلبک‌ها ذکر شده است که میزان آن با افزایش درصد ماکروجلبک در جیره غذایی، افزایش می-یابد. پلی ساکاریدهای غیر نشاسته‌ای با مانع شدن از فعالیت آنزیم‌های گوارشی یا با اتصال به اسیدهای صفراوی، موجب کاهش هضم و جذب نوترینت ها می‌شوند.

نتیجه گیری

از آنجا که تغذیه نقش مهمی در رشد آبزیان دارد، استفاده از جیره غذایی مناسب می‌تواند نقش بسزایی در تأمین نیازهای غذایی آبزی ایفا کند. به طور کلی ماکروجلبک ها پتانسیل بالایی برای استفاده به عنوان مکمل یا ماده اولیه در جیره غذایی آبزیان و سایر حیوانات دارند. با این حال استفاده تجاری از آن‌ها به دسترسی اولیه بیشتر به محصول خام آن و کیفیت محصول از نظر ترکیب بیوشیمیایی دارد. علاوه بر این استفاده از پتانسیل بالقوه ماکروجلبک‌های دریایی در جیره آبزیان به هزینه‌های درگیر در تولید، برداشت و فرآوری آنها پیش از استفاده در جیره‌های غذایی آبزیان در مقایسه با محصولات کنونی استفاده شده در جیره‌ها بستگی دارد. از این نظر عوامل محدود کننده‌ای که باعث کاهش و حتی مانع هضم و مصرف ماکروجلبک ها توسط آبزیان می‌شود را باید در تحقیقات مختلف شناسایی کرده و اثرات تغذیه‌ای و فیزیولوژیک آن‌ها در دراز مدت مورد ارزیابی قرار گیرد. اکثر مطالعات صورت گرفته نتایج قابل قبولی را در استفاده از ماکروجلبک‌ها به عنوان جایگزین نسبی آرد ماهی (به میزان حداکثر ۱۰ درصد) گزارش کرده‌اند. با این حال نتایج تحقیقات نشان داده است که حوزه تأثیر استفاده از ماکروجلبک‌ها در جیره غذایی آبزیان به گونه جلبک مورد استفاده، گونه ماهی مورد مطالعه و هم چنین سطح جایگزینی بستگی دارد و باید برای هر کدام از گونه‌های ماهیان پرورشی نوع و میزان استفاده از جلبک مورد مطالعه قرار گیرد.

منابع

۱. قرنجیک، ب.م.، آبکنار، ع. م. ۱۳۷۹. "شناسایی جلبک‌های دریایی سواحل استان سیستان و بلوچستان. "مجله علمی شـیلات ایـران، سال نهم، شماره ۱، صفحه ۳۷- ۴۸.

2. Ayoola, A.A. 2010. Replacement of Fish Meal with Alternative Protein Source in Aquaculture Diets. M.Sc. Thesis, North California State University, North Carolina, USA.

3. Angell, A. R., Mata, L., de Nys, R., & Paul, N. A. 2016. The protein content of seaweeds: a universal nitrogen-to-protein conversion factor of five. Journal of Applied Phycology, 28(1): 511-524.

4. Bouraoui, L., Sánchez-Gurmaches, J., Cruz-Garcia, L., Gutiérrez, J., Benedito-Palos, L., Pérez-Sánchez, J., & Navarro, I. 2011. Effect of dietary fish meal and fish oil replacement on lipogenic and lipoprotein lipase activities and plasma insulin in gilthead sea bream (*Sparus auratus*). Aquaculture Nutrition, 17: 54–63.

5. Collins, S.A., Shand, P.J., & Drew, M.D. 2011. Stabilization of linseed oil with vitamin E, butylated hydroxytoluene and lipid encapsulation affects fillet lipid composition and sensory characteristics when fed to rainbow trout. Animal Feed Science and Technology, 170: 53-62.

6. FAO. (2016). The State of World Fisheries and Aquaculture 2016-Meeting the sustainable development goals: FAO Rome, Italy.

7. Ferraz de Arruda, L., Borghesi, R., & Oetterer, M. 2007. Use of Fish Waste as Silage - A Review. Brazilian Archives of Biology and Technology, 50: 879-886.

8. Garcia-Vaquero, M., & Hayes, M. 2016. Red and green macroalgae for fish and animal feed and human functional food development. Food Reviews International, 32(1): 15-45.

9. Güroy, D., Güroy, B., Merrifield, D.L., Ergün, S., Tekinay, A.A., & Yiğit, M. 2011. Effect of dietary Ulva and Spirulina on weight loss and body composition of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), during a

starvation period. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 95: 320–327.

10. Hasan, M.R., & Chakrabarti, R. 2009. Use of Algae and Aquatic Macrophytes as Feed in Small-Scale Aquaculture: A Review. Food and Agriculture Organization of the United.

11. Holdt, S.L., & Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: functional food applications and legislation. Journal of Applied Phycology, 23: 543–597.

12. Hardy, R.W. 1999. Aquaculture's rapid growth requirements for alternative protein sources. Feed Management Journal, 50: 25-28.

13. Kumar, C.S., Ganesan, P., Suresh, P.V., & Bhaskar, N. 2008. Seaweeds as a source of nutritionally beneficial compounds- a review. Journal Food Science Technology, 45:1‑13.

14. Li, M. H., Robinson, E. H., Tucker, C. S., Manning, B. B., & Khoo, L. 2009. Effects of dried algae *Schizochytrium* sp., a rich source of docosahexaenoic acid, on growth, fatty acid composition, and sensory quality of channel catfish *Ictalurus punctatus*. Aquaculture, 292: 232-236.

15. Makkar, H.P.S., Tran, G., Heuze, V., Giger-Reverdin, S., Lessire, M., Lebas, F., & Ankers, Ph. 2016. Seaweeds for livestock diets: a review. Animal Feed Science and Technology, 212:1–17.

16. Morshedi, V., Nafisi Bahabadi, M., Sotoudeh, E., Azodi, M., & Hafezieh, M. 2018. Nutritional evaluation of *Gracilaria pulvinata* as partial substitute with fish meal in practical diets of barramundi (*Lates calcarifer*). Journal of Applied Phycology, 30(1): 619-628.

17. Mustafa. G., Wakamatsufa. S., Takeda. T., Umino. T., & Nakagawa. H. 1995. Effects of algae meal as feed additive on growth, feed efficiency, and body composition in red sea bream. Fisheries Science, 61(1): 25-28.

18. Nakagawa, H., & Montgomery, W.L. 2007. Algae. In: H. Nakagawa, M. Sato, Gatlin III D. M. (eds), Dietary supplements for the health and quality of cultured fish. Cabi International, Cambridge, USA, pp. 133–167.

19. Overland. M., Mydland, L.T., & Skrede, A. 2019. Marine macroalgae as a source of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. Norwegian University of Life Sciences, 99(1): 13-24.

20. Pereira, R., Valente, L.M.P., Sousa-Pinto, I., & Rema, P. 2012. Apparent nutrient digestibility of seaweeds by rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Algal Research, 1: 77–82.

21. Pham, M. A., Lee, K. J., Lee, B. J., Lim, S. J., Kim, S. S., Lee, Y. D., & Lee, K. W. (2006). Effects of dietary *Hizikia fusiformis* on growth and immune responses in juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). Asian-Australasian journal of animal sciences, 19(12), 1769-1775.

22. Rangacharyulu, P.V., Giri, S.S., Paul, B.N., Yashoda, K.P., Rao, R.J., Mahendrakar, N.S., Mohanty, S.N., & Mukhopadhyay, P.K. 2003. Utilization of fermented silkworm pupae silage in feed for carps. Bioresource Technology, 86: 29–32.

23. Shapawi, R., & Zamry, A.A. 2016. Response of Asian seabass, *Lates calcarifer* juvenile fed with different seaweed-based diets. Journal of Applied Animal Research, 44 (1): 121-125.

24. Smith, J.L., Summers, G., & Wong, R. 2010. Nutrient and heavy metal content of edible seaweeds in New Zealand. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 38: 19–28.

25. Soler-Vila, A., Coughlan, S., Guiry, M.D., & Stefan, K. 2009. The red algae *Porphyra dioicaas* a fish-feed ingredientfor rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on growth, feed efficiency, and carcass composition. Journal of Applied Phycology, 21: 617–624.

26. Tiwari, B. K., & Troy, D. J. 2015. Seaweed sustainability. Academic Press. Elsevier Science. p 472.

27. Wassef, E.A., Elmasry, M.H., & Mikhail, F.R. 2001. Growth enhancement and muscle structure of striped mullet, *Mugil cephalus* L., fingerlings by feeding algal meal-based diets. Aquaculture Research, 32: 315–322.

مورینگا اولیفرا، درخت معجزه

فاطمه ولایتی پور[۱و۲]، فاطمه فتوحی چاهوکی[۱]، سیدعبدالحمید انگجی[۲] و سعید امین زاده[۱]*

[۱] تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، پژوهشکده زیست فناوری صنعت و محیط زیست، گروه مهندسی زیست فرایند

[۲] تهران، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی و مولکولی

Botanical Name: *Moringa oleifera* Lamarck
Synonyms: Moringa pterygosperma Gaertner; Moringa zeylanica Pers.; Guilandina moringa L.
Kingdom: Plantae
Order: Brassicales
Family: Moringaceae
Genus: Moringa
Species: M. oleifera[1]

شکل ۱ – (a) دانه‌ها. (b) برگ‌ها. (c) روغن دانه. (d) غلاف خشک. (e) گل‌ها. (f) ریشه‌ی مورینگا اولیفرا

چکیده

مورینگا اولیفرا که درجنوب ایران به نام گزروغنی شناخته می‌شود درختی است که تقریباً در تمام کمربند گرمسیری زمین می‌روید و گنجینه‌ای غنی از مواد معدنی، ویتامین‌ها، پروتئین‌ها و آنتی اکسیدانت ها می‌باشد که موجب تمایز این درخت و مطرح شدنش در جوامع علمی شده است. تمام بافت‌های این درخت از جمله برگ، غلاف، دانه و ... قابل خوردن و دارای خواص چشمگیری هستند به طوری که آن را رفع کننده‌ی سوء تغذیه و غذای مهم در زمان قحطی می‌دانند. برای قرن‌ها مردم بومی به صورت سنتی از *مورینگا* برای تغذیه، درمان، مراقبت‌های پوستی و تهیه‌ی آب آشامیدنی بهره می‌بردند. علاوه بر خواص درمانی و تغذیه‌ای، *مورینگا* کاربردهای صنعتی و خواص دیگری نیز دارد. *مورینگا اولیفرا* با تمام خصوصیات منحصر به فردش توانسته لقب "درخت معجزه" را ازآن خود کند. در این مقاله تلاش شده است تا مروری مختصر بر خواص و فواید این گیاه فراهم شود.

کلیدواژگان: *مورینگا اولیفرا*، آنتی اکسیدانت، درخت معجزه

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: aminzade@nigeb.ac.ir

مورینگا تنها جنس از خانواده‌ی Moringaceae و دارای گونه‌های متعددی است شامل:

M. borziana ؛ (Ethiopia و Kenya) *M. rivae* ؛ (Kenya) *M. arborea* Kenia) *M. longituba* ؛ (Somalia) *M. pygmaea* ؛ (Kenia و Somalia) ؛ (Ethiopia و Kenya) *M. stenopetala* ؛ (Somalia و Ethiopia ، Namibia) *M. ovalifolia* ؛(Madagascar و Ethiopia) *M. ruspoliana* *M. hildebrandtii* ؛(Madagascar) *M.drouhardii* ؛ (Angola و Arabia و Horn of Africa و Red sea) *M. peregrine* ؛ (Madagascar) (sub-Himalayan tracts of *M. oleifera* ؛(India) *M. concanensis* ؛ Northern India) (۱ و ۲).

گونه‌ی *Moringa oleifera Lam* (syns. *Moringa pterygosperma Gaertn*) مورد بیشترین مطالعه و کاربرد قرار گرفته است و معمولاً نام مورینگا به آن اتلاق می‌شود. سایر گونه‌ها از لحاظ علمی تقریباً ناشناخته مانده‌اند.

مورینگا اولیفرا نسبتاً باریک و با شاخه‌های افتاده و چتری شکل است، با طول تقریبی ۱۰ متر اما معمولاً به طور سالیانه یک متر یا کمتر بریده می‌شود تا مجدد رشد کند و غلاف‌ها و برگ‌هایش در دسترس بمانند. *مورینگا* بسته به آب و هوا، شاخ و برگ همیشه سبز یا برگ ریز[1] دارد. *مورینگا اولیفرا* در مناطق گرمسیر با آب و هوای گرم و خشک، نیمه خشک و همچنین مرطوب، با بارش سالیانه ۷۶۰ تا ۲۵۰۰mm (۲)، دمای ۲۵ تا ۳۵ °C و pH بین ۵ تا ۹ رشد می‌کند، هرچند تا دمای ۴۸°C نیز دوام می‌آورد و

[1] evergreen or deciduous

دارای ریشه‌ی اصلی گره داری است که علت مقاومت بالای آن به شرایط خشکی می‌باشد (۳). این گونه قابل کشت در هر نوع خاک به جز خاک رس سنگین و اشباع از آب می‌باشد. *مورینگا* یک درخت گرده افشان[1] است و تنوع بالایی در فرم و محصولاتش دارد (۲). گرده افشانی گل‌ها از طریق حشرات صورت می‌گیرد. گل‌ها و میوه‌ها (غلاف‌ها) می‌توانند دو بار در سال تولید شوند و در برخی مناطق گل دهی و میوه دهی در تمام سال رخ می‌دهد. غلاف‌ها ابتدا به رنگ سبز روشن، باریک و نازک هستند و سپس سبز تیره و سخت می‌شوند و متناسب با ژنوتیپ خود به طول ۱۲۰cm می‌رسند. در حالی که بیشتر آن‌ها صاف هستند برخی موجدار و با پیچ و تاب‌اند. در برش عرضی ، اکثر آن‌ها مستعطیل شکل اما تعدادی مثلثی شکل و برخی گرد هستند. دانه‌های کاملاً بالغ و خشک شده توسط پوسته‌ی چوبی سبکی با سه باله‌ی کاغذی احاطه می‌شوند (۱). کیک دانه‌ی *مورینگا* به عنوان یک محصول جانبی از فشرده شدن دانه‌ها برای گرفتن روغن، به دست می‌آید و برای تصفیه‌ی آب آشامیدنی برای انسان و حیوانات استفاده می‌شود.

امروزه *مورینگا اولیفرا* به طور گسترده در کشورهای آفریقایی، عربی، آسیایی، شرق میانه، آمریکای جنوبی و جزایر کارائیب واقیانوس آرام کشت می‌شود و درحال گسترش در سایر نواحی است. هند بزرگترین تولید کننده‌ی *مورینگا* با تولید سالانه‌ی ۱,۱ تا ۱,۳ میلیون تن با عرضه‌ی میوه از مساحت ۳۸۰ km^2 می‌باشد (۱).

مطالعات سیتوژنتیکی نشان می‌دهد *مورینگا اولیفرا* یک دیپلوئید حقیقی با سایز ژنگان ۱,۲ پیکوگرم(۴) و $2n = 14$ می‌باشد (۵). از ۲۸۵۷ مقاله‌ی علمی در مورد مورینگا اولیفرا که در بانک‌های اطلاعاتی اولیه وجود دارند تنها ۱۲ مقاله شامل بررسی‌های ژنتیکی بر اساس نشانگرهای مولکولی هستند و تنها توالی ۷۷ قطعه‌ی RNA و DNA در بانک اطلاعاتی NCBI nucleotide در دسترس است و این نشان می‌دهد که جای کار بسیاری برای مطالعات ژنتیکی و کاربرد بالقوه‌ی آن دربرنامه ریزی‌های پرورش و بهسازی دارد (۲).

[1] cross-pollinated tree

خواص *مورینگا اولیفرا*

طبق گزارش سازمان غذا و کشاورزی، حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد جمعیت جهان، به ویژه در کشورهای در حال توسعه، برای جلوگیری و درمان بیماری‌ها به داروهای گیاهی وابسته هستند ، و حدود ۲۵ درصد از داروهای سنتتیک از گیاهان دارویی تولید می‌شوند. مورینگا به عنوان غذای مهم در زمان قحطی در نظر گرفته می‌شود و می‌تواند سوء تغذیه را برطرف کند (۳). مورینگا مغذی‌ترین گیاه کشف شده است و دارای ترکیباتی کمیاب و غنی از مواد معدنی، پروتئین‌ها، آمینو اسیدها، آنتی اکسیدانت ها، ترکیبات ضد پیری و ضد التهاب است که در تغذیه و درمان استفاده می‌شود (۶).

مورینگا اولیفرا با نام‌های دیگری نظیر 'horse-radish' tree (به علت طعم ریشه‌ها) ، 'drumstick' tree (به علت شکل غلاف‌ها) و ben oil tree (به علت مقدار بالای بهنیک اسید[2]) نیز شناخته می‌شود؛ منبعی طبیعی و غنی از پروتئین، پروتئین، کلسیم، آهن، ویتامین C و کاروتینوئید می‌باشد و بهره گیری از آن درنواحی درحال توسعه و مناطقی که از سوء تغذیه رنج می‌برند مناسب است (۱). درواقع کشت آن در کشورهای در حال توسعه و تقریباً تمام کمربند گرمسیری زمین متمرکز شده است. رشد سریع، نیاز کم به آب و خواص فراوان تمام اجزای *مورینگا اولیفرا* این گیاه را متمایز کرده و لقب "درخت معجزه[3]" یا "موهبت طبیعی[4]" را به آن اختصاص داده است. از گذشته‌های دور قبیله‌های هندی، یونانیان و رومیان باستان از خواص درمانی و تغذیه‌ای آن بهره می‌برده‌اند. از این درخت برای تهیه‌ی سبزیجات و علوفه، دارو، گیاه زینتی، حصار زنده[5]، چسب، ادویه‌ی غذا، ریون[6] و خمیر کاغذ نیز بهره می‌برند(۵).

خواص برگ‌ها، ریشه و گل‌ها

برگ‌ها مغذی‌ترین بخش گیاه و غنی از پروتئین، مواد معدنی، بتا کاروتن و ترکیبات آنتی اکسیدانت هستند که اغلب مورد نیاز مردم کشورهای توسعه نیافته یا درحال توسعه‌اند. در طب سنتی این برگ‌ها برای درمان بسیاری از

[2] behenic acid
[3] miracle tree
[4] natural gift
[5] live fencing
[6] rayon

بیماری‌ها مصرف می‌شوند از جمله: مالاریا، حصبه، بیماری‌های انگلی، آرتروز، ورم، زخم، بیماری‌های پوستی، بیماری‌های تناسلی، دیابت و فشار خون. همچنین موجب تحریک شیردهی و تقویت سیستم ایمنی نیز می‌شود. می‌توان برگ‌ها را به صورت خام، خشک شده یا عصاره‌ی دم کرده مصرف کرد (۲). هر گرم از برگ‌های تازه‌ی *مورینگا اولیفرا* حاوی هفت برابر ویتامین ث نسبت به پرتقال، چهار برابر ویتامین آ نسبت به هویج، چهار برابر کلسیم نسبت به شیر، سه برابر پتاسیم نسبت به موز و دو برابر پروتئین نسبت به ماست می‌باشند که این میزان در برگ‌های خشک مورینگا حتی بیشتر هم می‌شود. برگ‌های خشک *مورینگا* حاوی ده برابر ویتامین آ نسبت به هویج، هفده برابر کلسیم نسبت به شیر، پانزده برابر پتاسیم نسبت به موز، بیست و پنج برابر آهن نسبت به اسفناج و نه برابر پروتئین نسبت به ماست می‌باشند اگر چه ویتامین ث آن‌ها کاهش می‌یابد. پودر برگ *مورینگا* در زنان باردار موجب بهبود کم خونی، افزایش وزن نوزادان در هنگام و همچنین در مادران شیرده ، باعث افزایش تولید شیر می‌شود به همین سبب به *مورینگا* بهترین دوست مادران نیز گفته می‌شود (۶). *مورینگا* می‌تواند به عنوان یک تقویت کننده‌ی رشد گیاهی طبیعی به کار رود؛ درواقع برگ‌ها غنی از زآتین[1] (هورمون گیاهی متعلق به گروه سیتوکینین) هستند. عصاره‌ی برگ‌ها می‌تواند رشد گیاه را تحریک کرده و بازده محصولات را افزایش دهد (۱). پوسته‌ی درخت[2] را درآب جوشانده و در الکل غوطه ور می‌کنند تا نوشیدنی به دست آورند و عصاره آن می‌تواند برای درمان دل درد، زخم معده و کمک به هاضمه، ضعف بینایی، درد مفاصل، دیابت، آنمی و فشار خون ، دندان درد، بواسیر و اختلالات رحمی مصرف شود. عصاره ریشه خاصیت درمانی برای دندان درد و دفع کرم روده و تقویت قوای جنسی دارد. گل‌ها برای تولید ترکیبات تقویت قوای جنسی ، درمان التهاب و درد عضلات، تشنج، تومور و بزرگی طحال استفاده می‌شوند (۲).

خواص دانه

دانه‌ها به صورت خام، بوداده، پودر و حتی خیسانده شده برای چای مصرف می‌شوند و در زمینه‌های درمانی، آرایشی، مکمل غذایی و تیمار آب (رسوب ناخالصی‌های آب) کاربرد دارند(۱). فراتر از بحث تغذیه و درمان، روغن دانه‌های *مورینگا* قابل خوردن بوده و دارای ترکیبات اسید چرب با کیفیت بالا مانند اسید اولئیک می‌باشد و مقاومت قابل توجهی در برابر اکسیداسیون دارد. این روغن به عنوان پایه‌ای برای لوازم آرایشی و بهداشتی و مراقبتی پوست و مو استفاده می‌شود و پس از ترانس استریفیکاسیون یک نامزد خوب برای تولید بیودیزل می‌باشد (۲). با توجه به افزایش نیاز به انرژی و مشکلات مرتبط با سوخت‌های فسیلی، توسعه و پیشرفت سوخت‌های جایگزین و تجدیدپذیر دارای اهمیت هستند. بیودیزل ها می‌توانند بدون تولید هیچگونه سولفور و ترکیبات آروماتیک و با تولید مونوکسید، هیدروکربن و ریز ذرات کمتر، جایگزین سوخت‌های مشتق از نفت شوند. بیودیزل تولید شده از روغن دانه *مورینگا* یک محصول نسل دوم است (به این معنی که در رقابت مستقیم با زمین‌های زراعی موجود و محصولات غذایی نیست) و همچنین *مورینگا* می‌تواند در زمین‌های پست نیز رشد کند، مطالعات پیشنهاد می‌کنند که بیودیزل *مورینگا*، حتی در مقایسه با بیودیزل مشتق از روغن‌های گیاهی سایر گونه‌ها، جایگزین قابل قبول و مناسب‌تری برای سوخت‌های فسیلی است (۲). متیل استرهای *مورینگا اولیفرا*[3] که از روغن دانه تهیه می‌شوند با مشخصات عمده و اصلی استانداردهای بیودیزل آلمان، اروپا و ایالات متحده مطابقت دارند (۳). عصاره‌ی برگ و همچنین عصاره‌ی دانه فعالیت حشره کشی علیه لارو و بالغ *Trigoderma granarium* نشان دادند و می‌توانند میزان انتشار و شیوع قارچ‌ها بر دانه‌های بادام زمینی را کاهش دهند.

نقش برجسته‌ی *مورینگا* در تصفیه آب

تأمین آب آشامیدنی سالم و مناسب برای مصرف انسان، امروزه یک مشکل عمده و با اهمیت در کشورهای در حال توسعه و توسعه یافته شده است (۷). تیمار آب شامل تصفیه و ضد عفونی کردن آن می‌باشد. مواد شیمیایی مورد نیاز آن شامل: نمک‌های آلومینیوم[4] برای کوآگولاسیون[5]، پلی الکترولیت‌ها برای کمک به انعقاد، lim برای شیرین کردن آب[6] و اصلاح pH، و کلر برای ضدعفونی کردن؛ باید

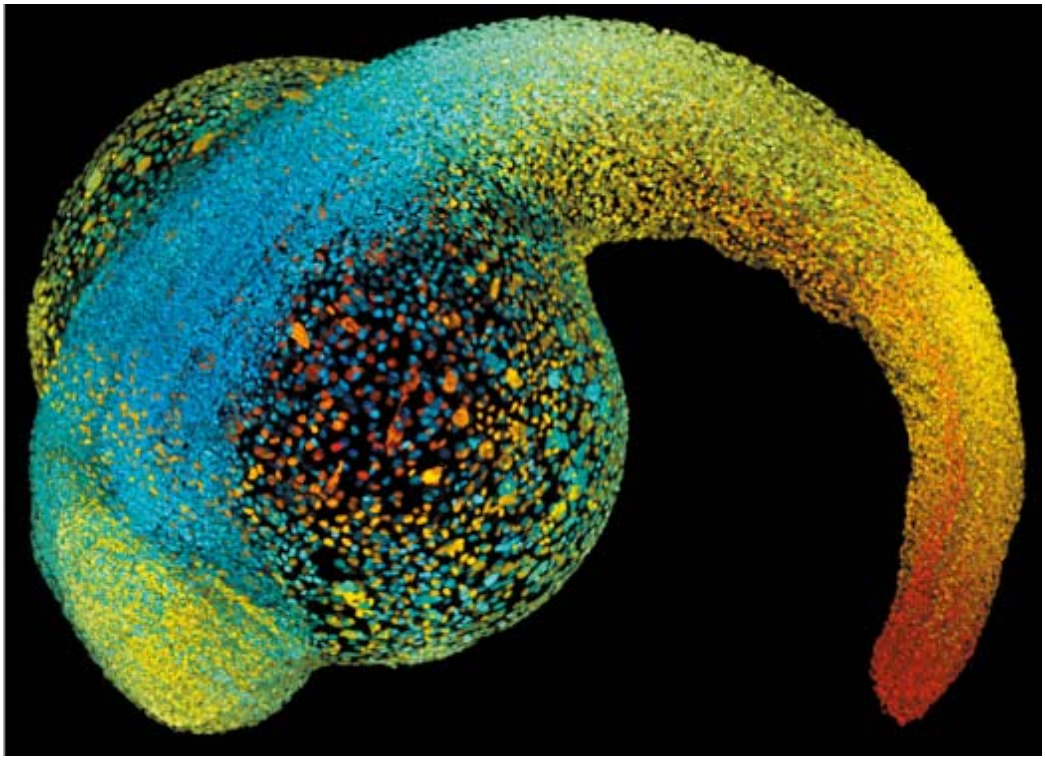
[1] zeatin
[2] barks
[3] MOME
[4] alum
[5] coagulation
[6] softening

باید با ارز خارجی کمیاب وارد شوند. در چنین شرایطی ترکیبات محلی به عنوان جایگزین مورد توجه و بررسی قرار می‌گیرند (۱). استفاده‌ی سنتی از دانه‌های *مورینگا* اولیفرا برای تیمار آب خانگی به خوبی در نواحی روستایی مشخصی در سودان و غرب آسیا شناسایی شده است، این درخت در اطراف رود نیل به *شجره الرواق* یا *درخت زلال* مشهور است، و از آن جهت خالص سازی و کاهش کدورت آب استفاده می‌شود (۱). کوآگولاسیون تا کنون پرکاربردترین فرآیند در حذف عوامل کدورت و گل آلودگی در آب بوده است. کدورت و گل آلودگی آب اغلب حاصل حضور ذرات با بار منفی و ساختار کلوئیدی مانند ترکیبات خاک رس[1] و ارگانیسم‌های میکروسکوپی می‌باشد که تصفیه آن نیازمند تسریع نرخ ته نشینی و رسوب گذاری است. به این منظور ذرات دارای شارژ مثبت برای خنثی سازی بار منفی کلوئیدها استفاده می‌شوند (۷) نمک‌های آلومینیوم رایج‌ترین کواگولانت های سنتتیک هستند که در سراسر جهان برای تیمار فاضلاب استفاده می‌شوند (۱). به نظر می رشد این نمک‌ها ریسک ابتلا به آلزایمر را افزایش می‌دهند. همچنین ضدعفونی کردن آب با مواد شیمیایی مانند کلر و محصولات جانبی آن‌ها احتمالاً با افزایش ریسک بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و بیماری‌های مادر زادی همراهی دارد. اگر چه چنین میزان ریسک‌هایی پایین است اما نمی‌تواند نادیده گرفته شود(۷). ناخالصی‌های کلوئیدی و ریز در آب ، دارای یک پایداری ضد کوآگولاسیون[2] هستند که به دلیل حضور لایه‌ی هیدرات یا یک میدان الکتریکی مضاعف در اطراف ذره‌ها می‌باشد. این پایداری ضد کوآگولاسیون ناخالصی‌ها می‌تواند با حرارت دادن، منجمد کردن، افزودن الکترولیت‌هایی به آب یا استفاده از یک میدان مغناطیسی، مختل شود. ذرات فعال در دانه‌های *مورینگا اولیفرا* نیز پلی الکترولیت شناخته شدند (۱). پودر دانه‌ی *مورینگا* می‌تواند برای تصفیه آب به کار برده شود و جایگزین ماده‌ی شیمیایی و خطرناک آلومینیوم سولفات شود (۸). پودر حاصل از خشک شدن و خرد شدن دانه‌های *مورینگا*، پس از افزودن به آب، خاصیت فلوکولاسیون و آنتی میکروبال نشان داده است و روشی ارزان و در دسترس برای خالص سازی آب فراهم می‌کند (۹). عملکرد کواگولانت بین نمک آلومینیوم و مورینگا تقریباً یکسان است. محصولات جانبی انعقاد با مورینگا غیر سمی، زیست تخریب پذیر و محیط زیست دوست‌اند و برخلاف نمک آلومینیوم پس از تیمار آب، pH و رسانایی آب به طور قابل توجهی تغییر نمی‌کند (۱۰). تنها مانع استفاده از مورینگا برای تیمار آب و فاضلاب، تأمین منابع کافی از دانه به نظر می‌رسد. راه حل این مشکل می‌تواند کشت وسیع درخت *مورینگا* در کشورهای گرمسیری درست مانند چای و قهوه باشد؛ دو محصول پر سود که تنها در نواحی گرمسیری رشد می‌کنند اما در سراسر جهان مصرف می‌شوند.کلون کردن ژن نیزمیتواند جایگزین احتمالی اما پر هزینه‌ای باشد (۱۰).

[1] clay minerals
[2] anticoagulation

منابع

1. Bichi, M.H.,(2013) *A review of the applications of Moringa oleifera seeds extract in water treatment.* Civil and Environmental Research. **3**(8): p. 1-10.
2. Leone, A., A. Spada, A. Battezzati, A. Schiraldi, J. Aristil, and S. Bertoli,(2015) *Cultivation, genetic, ethnopharmacology, phytochemistry and pharmacology of Moringa oleifera leaves: an overview.* International journal of molecular sciences. **16**(6): p. 12791-12835.
3. Saini, R.K., I. Sivanesan, and Y.-S. Keum,(2016) *Phytochemicals of Moringa oleifera: a review of their nutritional, therapeutic and industrial significance.* 3 Biotech. **6**(2): p. 203.
4. Ohri, D. and A. Kumar,(1986) *Nuclear DNA amounts in some tropical hardwoods.* Caryologia. **39**(3-4): p. 303-307.
5. Muluvi, G.M., J. Sprent, N. Soranzo, J. Provan, D. Odee, G. Folkard, J. McNicol, and W. Powell,(1999) *Amplified fragment length polymorphism (AFLP) analysis of genetic variation in Moringa oleifera Lam.* Molecular Ecology. **8**(3): p. 463-470.
6. Mahmood, K.T., T. Mugal, and I.U. Haq,(2010) *Moringa oleifera: a natural gift-A review.* Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. **2**(11): p. 775.
7. Suarez, M., J. Entenza, C. Doerries, E. Meyer, L. Bourquin, J. Sutherland, I. Marison, P. Moreillon, and N. Mermod,(2003) *Expression of a plant-derived peptide harboring water-cleaning and antimicrobial activities.* Biotechnology and Bioengineering. **81**(1): p. 13-20.
8. Gassenschmidt, U., K.D. Jany, T. Bernhard, and H. Niebergall,(1995) *Isolation and characterization of a flocculating protein from Moringa oleifera Lam.* Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects. **1243**(3): p. 477-481.
9. Shebek, K., A.B. Schantz, I. Sines, K. Lauser, S. Velegol, and M. Kumar,(2015) *The flocculating cationic polypetide from Moringa oleifera seeds damages bacterial cell membranes by causing membrane fusion.* Langmuir. **31**(15): p. 4496-4502.
10. Ndabigengesere, A., K.S. Narasiah, and B.G. Talbot,(1995) *Active agents and mechanism of coagulation of turbid waters using Moringa oleifera.* Water research. **29**(2): p. 703-710.



Life force

Amber Dance

Nature, Vol 589, 14 January 2021Nature, Vol 589, 14 January 2021

مطالعات روی رویان‌ها (embryos)، مانند این گورخرماهی، نقش نیرو در زیست‌شناسی را روشن کرده است.

نیروی حیات

دانشمندان درک خود را از نقش نیروهای مکانیکی در بدن، از رویان (embryo) تا فرد بالغ پیش می برند (امبر دنس).

ربابه لطیف*

سمنان، دانشگاه فرزانگان سمنان

چکیده

در ابتدا، جنین جلو یا عقب، سر و دم ندارد . یک گوی ساده از سلول ها است که بزودی شروع به تغییراتی می کند. مجموعه های سلولی به شکل صفحات سلولی به سبک اوریگامی تا می شوند و اندامهای اولیه را می سازند. هیچ یک از اینها نمی تواند بدون نیروهایی که حیوان در حال رشد را تحت فشار قرار می دهندنمی توانند شکل یابند. حتی در خال بلوغ سلول های یک ارگانیسم به فشار و کشیدن – توسط یکدیگر و از طرف محیط – ادامه می دهند. نحوه شکل گیری بدن و بافت ها «یکی از مهم ترین و هنوز ناشناخته ترین سؤالات زمان ما» برای زیست شناسان است. برای دهه‌ها، زیست‌شناسان با تمرکز بر مطالعه ژن‌ها و سایر مولکول‌های زیستی بدن به کمک ابزار تجزیه و تحلیل در دسترس برای مطالعه این سیگنال‌ها، به نیروهای مکانیکی دخیل بسیار کمتر توجه کرده اند.

کلیدواژگان: رشد جنین، نیروهای مکانیکی، حرکات سلولی، شکل زائی

* مترجم مسئول، پست الکترونیکی: Latif@fgusem.ac.ir

در ابتدای تکوین، رویان فاقد بخش جلو و عقب و سر و دم است. یک کره سلولی ساده است. اما خیلی زود، توده صاف شروع به تغییر می‌کند. مایعات در وسط کره یک استخر ایجاد می‌کنند. سلول‌ها به شکل سیال روان می‌شوند تا موقعیت خود را در پیکر آینده به دست آورند. صفحات سلولی به سبک اریگامی دچار چین‌خوردگی می‌شوند و قلب، روده و مغز را می‌سازند.

هیچ‌یک از این فرایندها بدون نیروهایی که جانور در حال رشد را تحت فشار قرار داده، خم می‌کنند و شکل می‌دهند، اتفاق نمی‌افتد. حتی وقتی فرد به بلوغ برسد، سلولهای آن همچنان به فشار و کشیده شدن توسط یکدیگر و از سوی محیط پاسخ می‌دهند. اِمی شایر[1]، زیست‌شناس تکوینی، که در مورد ریخت‌زایی در دانشگاه راکفلر[2] در شهر نیویورک مطالعه می‌کند، می‌گوید: هنوز هم در عصر کنونی، نحوه شکل‌گیری بدن و بافت‌ها «یکی از مهمترین مسائلی است که هنوز به درستی درک نشده است». برای دهه‌ها، زیست‌شناسان روی روش‌هایی که ژن‌ها و سایر مولکول‌های زیستی بدن را شکل می‌دهند متمرکز شده‌اند، به طور عمده به این دلیل که ابزارهای مطالعه این سیگنال‌ها به راحتی در دسترس بوده و به طور پیوسته در حال بهبود است. نیروهای مکانیکی بسیار کمتر مورد توجه قرار گرفته‌اند. خاویر تِرپات[3]، زیست‌شناس مکانیکی در موسسه مهندسی زیستی کاتالونیا در بارسلونا، اسپانیا، می‌گوید: در نظر گرفتن ژن‌ها و مولکول‌های زیستی به تنهایی «مانند این است که شما سعی کنید کتابی را فقط با نیمی از حروف الفبا بنویسید».

در طی ۲۰ سال گذشته، دانشمندان بیشتری به اهمیت مکانیک در مراحل مختلف تکوین اندام‌ها و موجودات زنده توجه داشته‌اند. پژوهشگران شروع به شناسایی سازوکارهایی کرده‌اند که سلولها از طریق آنها نیروها را حس می‌کنند، واکنش نشان می‌دهند و نیرو ایجاد می‌کنند. آنها این کار را با اختراع ابزارها و ترفندهای مخصوص، ترکیب لیزر و میکروپیپت، ذرات مغناطیسی و میکروسکوپ‌های خاص انجام داده‌اند. بیشتر پژوهشگران در حال کاوش سیگنالهای مکانیکی با استفاده از سلولها یا بافت‌های کشت شده در یک ظرف هستند. اما گروه‌هایی در حال مطالعه جانوران کامل هستند و گاهی اوقات آنها از آنچه در بافت‌های مجزا ظاهر می‌شود، اصولی متفاوت می‌یابند. رابرت مایر[4] زیست‌شناس تکوینی در کالج دانشگاهی لندن، می‌گوید: این مطالعات درزیوه (*in vivo*) با چالش‌های زیادی – مانند اندازه‌گیری نیروهای بسیار کوچک در بافت‌های پیچیده – روبروست، اما آنها برای درک نقش نیرو در شکل‌گیری حیات مهم هستند.

تعداد اندکی از دانشمندان مصمم شروع به پرداختن به این چالش‌ها کرده‌اند، آنها نیروهای مهمی را مشاهده کرده‌اند که از اولین مراحل رویانی تا بیماریهایی که در اواخر زندگی ایجاد می‌شوند، زیست شناسی را شکل می‌دهند. در نهایت، این اطلاعات ممکن است به دانشمندان کمک کند تا به راه حل‌های بهتری برای مشکلاتی مانند ناباروری یا سرطان دست پیدا کنند.

توماس لکوئیت[5]، زیست‌شناس تکوینی در موسسه زیست‌شناسی تکوینی مارسی در فرانسه می‌گوید: «نیروها در هر جایی که شکلی باید تشکیل شود، عمل خواهند کرد».

از ابتدا قوی

قبل از اینکه رویان بتواند شکل بگیرد، باید تقارن توده توپی سلولی را بشکند. دانشمندان با درک کنترل‌های ژنتیکی و شیمیایی این فرآیند، اکنون بینش بیشتری درباره مکانیک این فرآیند به دست آورده‌اند. زیست‌شناس Jean-Léon Maître در موسسه کوری[6] در پاریس می‌گوید: «کم کم تصویر کلی از نقش نیروهای مکانیکی در تکوین در حال ظاهر شدن است». به عنوان مثال، در هنگام ایجاد بخش‌های جلو، عقب، سر و دم در رویان پستانداران، خصوصیات فیزیکی مانند فشار مایعات و تراکم سلولی مهم است.

گروه Maître بررسی کرد که چگونه توده توپی سلولی اولیه در مراحل بسیار ابتدایی تکوین موش، یک حفره بزرگ و پر از مایع به نام حفره داخلی (lumen) ایجاد می‌کند. با پر شدن این حفره، سلول‌هایی که به جنین تبدیل خواهند شد در یک طرف به سمت یکدیگر فشرده می‌شوند. این اولین رویداد شکننده تقارن، تضمین می‌کند که رویان به درستی

[1] Amy Shyer
[2] Rockefeller
[3] Xavier Trepat
[4] Roberto Mayor
[5] Thomas Lecuit
[6] Curie

در دیواره رحم جای گیرد و همچنین کنترل می‌کند که کدام طرف رویان پشت و کدام طرف شکم باشد. آنچه مشخص نبود چگونگی ایجاد و تعیین موقعیت حفره داخلی رویان بود («فشار برای تکوین» را ببینید).

وقتی آنها از روند تکوین با جزئیات تصویربرداری کردند، تیم Maître به نکات غیر منتظره دست پیدا کرد. Maître می‌گوید: «ما این حباب‌های کوچک را دیدیم، این حباب‌های کوچک پر از آب در بین سلول‌ها تشکیل می‌شوند. آنها موقتی هستند – اگر به اندازه کافی سریع عکس نگیرید نمی‌توانید آنها را ببینید». مایع موجود در داخل این حباب‌ها از مایع اطراف رویان ناشی می‌شود (۱) که در اثر غلظت بالاتر مولکول‌های آب در خارج، مجبور به ورود می‌شود. سپس، تیم Maître مشاهده کرد که آب هر حباب، احتمالاً از فاصله بین سلول‌ها، به عقیده Maître، به داخل یک حفره داخلی بزرگ می‌ریزد.

پژوهشگران با مشاهده پروتئین‌های متصل کننده سلول‌ها به هم در فضای بین سلولی، چگونگی این اتفاق را تأیید کردند (۲). با ظاهر شدن حباب‌ها، به نظر می‌رسد این پروتئین‌های متصل کننده از هم جدا می‌شوند به طوری که سلولها از هم فاصله می‌گیرند. سلولهایی که پروتئین متصل کننده کمتری دارند، آسانتر از هم جدا می‌شوند.

Maître می‌گوید، این اولین مشاهده‌ای است که نشان می‌دهد مایع تحت فشار می‌تواند با قطع پیوندهای بین سلولی، رویان را شکل دهد. چرا رویان برای ساختن خود سلولها را از هم جدا می‌کند؟ وی می‌گوید: «قطعاً این فرآیند ناکارآمد و پرخطر به نظر می‌رسد». بهترین حدس او این است که این سازوکار به این دلیل تکامل نیافته است که بهترین راه حل برای حل مشکل است، بلکه به دلیل اینکه «به اندازه کافی مطلوب» است تکامل یافته است. او امیدوار است که درک بیشتر از مکانیک رویان، که توسط تیم وی روی سلولهای انسانی در حال پژوهش است، بتواند به کلینیک‌های لقاح آزمایشگاهی کمک کند تا مشخص کند کدام رویان‌ها برای بارداری موفقیت آمیز کاشته شوند.

«مثل این است که شما بخواهید با نیمی از حروف الفبا کتاب بنویسید.»

در مراحل بعدی تکوین، رویان‌ها تقارن خود را به شکل دیگری بازسازی می‌کنند و سر از دم متمایز می‌شود. Otger Campàs، زیست فیزیکدان از دانشگاه کالیفرنیا، سانتا باربارا، روند رشد دم در جنین‌های گورخرماهی (*Danio rerio*)(۳) را بررسی کرد. گروه وی نیروهای درگیر در این فرآیند را با تزریق قطرات روغن حاوی نانوذرات مغناطیسی در فضاهای بین سلولی اندازه‌گیری کرد. سپس پژوهشگران از یک میدان مغناطیسی برای تغییر شکل قطرات استفاده کردند و توانستند چگونگی واکنش بافت‌ها به فشار را اندازه‌گیری کنند.

آنها دریافتند که نوک دم در حال رشد در حالتی است که فیزیکدانان آن را «مایع» می‌نامند – سلولها آزادانه حرکت می‌کنند و اگر فشار داده شوند بافت به راحتی تغییر شکل می‌دهد.

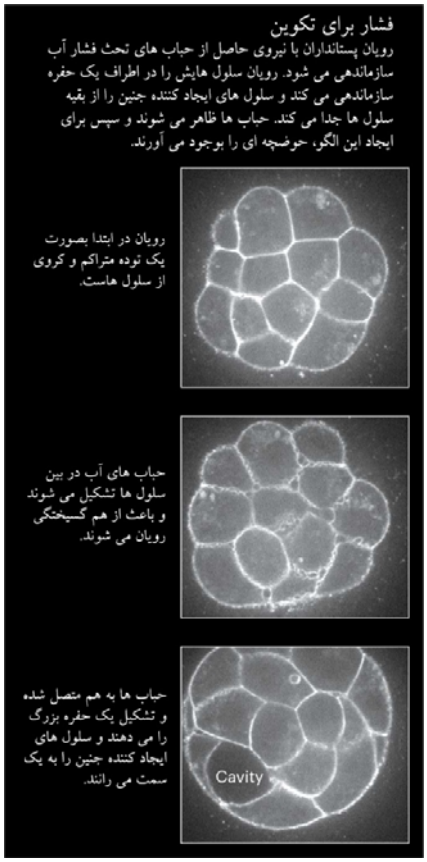
دانشمندان دریافتند با افزایش فاصله از انتهای دم، سفتی بافت بیشتر می‌شود. Campàs می‌گوید: «ما فهمیدیم که بافت سفت می‌شود، اما سازوکار آن را نفهمیدیم».

هیچ چیزی در بین سلول‌ها وجود نداشت که باعث سفتی شود – هیچ مولکولی یک ماتریکس ساختاری ایجاد نمی‌کرد – اما هنگامی که پژوهشگران فضای بین سلول‌ها را اندازه گیری کردند، فهمیدند که فاصله بین سلول‌ها در نوک نرم دم زیاد بوده، اما به سمت سر فاصله بین آنها کمتر است (۴). با تراکم و نزدیک شدن سلولها به هم، بافت سفت می‌شود. Campàs مرحله تغییر را با دانه‌های قهوه‌ای که بسته بندی شده مقایسه می‌کند: دانه ها آزادانه به درون کیسه سرازیر می‌شوند، اما چنان محکم بسته‌بندی می‌شوند که کیسه پر شده مانند آجر به نظر می‌رسد.

وی قصد دارد بررسی کند که آیا این سازوکار در تشکیل سایر ساختارهای رویانی مانند جوانه‌های اندام‌های حرکتی نیز نقش دارد.

ساختن قلب و ذهن

هنگامی که طرح کلی ساختار رویان در حال تکوین مشخص شود اندام‌ها شروع به تشکیل شدن می‌کنند.



تیموتی ساندرز[1]، زیست‌شناس تکوینی در دانشگاه ملی سنگاپور می‌گوید: «اساساً، ما اطلاعات ناچیزی درباره اندام‌های داخلی داریم» (او متذکر شد که دستگاه گوارش، یک مورد استثناء است).

این شروع یک تغییر است. به عنوان مثال، گروه ساندرز، تشکیل قلب در رویان‌های مگس سرکه را بررسی کرد. وقتی دو تکه بافت کنار هم قرار می‌گیرند و یک لوله را تشکیل می‌دهند که در نهایت به قلب تبدیل می‌شود، فرآیند مهمی اتفاق می‌افتد. هر قطعه شامل دو نوع سلول عضلانی قلب است. برای تکوین قلب سالم، قطعه‌ها باید درست به هم وصل شوند، سلول‌های مشابه باید به هم متصل شوند. ساندرز می‌گوید: «ما اغلب شاهد عدم انطباق بودیم که بعدا اصلاح می‌شد». «چه چیزی باعث اصلاح می‌شود؟»

معلوم شد نیرویی از درون سلولهای قلب است. پروتئینی به نام میوزین II، پروتئینی مشابه با پروتئین انقباضی سلولهای عضلانی، شناسایی شد که در طی فرایند اتصال از وسط هر سلول به حاشیه آن جابجا می‌شود. شائو ژانگ[2] دانشجوی تحصیلات تکمیلی – که اکنون در حال آماده شدن برای پسادکتری در دانشگاه کالیفرنیا، سانفرانسیسکو است – این سوال را مطرح کرد که آیا میوزین ممکن است نیرویی ایجاد کند که سلولهای جفت شده را بِکِشد و اتصالات اشتباه را قطع کند.

ژانگ برای آزمایش نظریه خود، سلولهای متصل شده را با لیزر جدا کرد. سلولها از هم دور می‌شدند، مانند یک باند لاستیکی محکم که با قیچی بریده می‌شود. ساندرز می‌گوید: «ما توانستیم پس زدن زیبایی را ببینیم». اما هنگامی که گروه پژوهشی سلول‌های فاقد میوزین II را جدا کرد، «هیچ اتفاقی نیفتاد». میوزین، مانند انگشتانی که یک نوار لاستیکی را می‌کشد، نیرویی را ایجاد می‌کند که باعث پارگی اتصالات سلولی می‌شود(۵). سلول‌های به اشتباه متصل شده به هم، اتصالاتشان شکسته می‌شود، فرصت دیگری برای یافتن شریک مناسب خواهند داشت.

همان طور که پژوهشگران دانشگاه کمبریج، انگلیس، در رویان‌های قورباغه چنگال‌دار *Xenopus* کشف کردند، تکثیر سلولی ساده می‌تواند سلول‌ها را برای سازمان‌یابی مناسب نیز هدایت کند. گروه پژوهشی زیست فیزیکدانی به نام کریستیان فرانزا[3] از قبل می‌دانست هنگامی که چشم و مغز به هم متصل می‌شوند، نورون‌های چشم آکسون‌های – زائده‌های دراز نورونی برای تماس نورون‌ها با یکدیگر – خود را در امتداد مسیری ارسال می‌کنند که توسط سفتی بافت مغز مشخص می‌شود. آکسون‌های چشم بافت‌های نرمتر را به سمت هدف در مغز در حال تکوین دنبال می‌کنند (۶).

برای تعیین زمان و چگونگی شکل‌گیری این مسیر، گروه پژوهشی، میکروسکوپی مخصوص ساخت که با آن می‌توانستند فرآیند در حال انجام را در داخل بدن مشاهده کنند و همزمان سفتی بافت را با یک کاوشگر کوچک اندازه‌گیری کنند (۷) . فرانزا که سرپرستی موسسه فیزیک پزشکی و مهندسی ریز بافت‌ها در دانشگاه Erlangen-Nuremberg در آلمان را نیز به عهده دارد،

[1] Timothy Saunders

[2] Shaobo Zhang
[3] Kristian Franze

می‌گوید آنها دیدند که شیب سفتی حدود ۱۵ دقیقه قبل از رسیدن آکسون‌ها برای دنبال کردن آن ظاهر می‌شود.

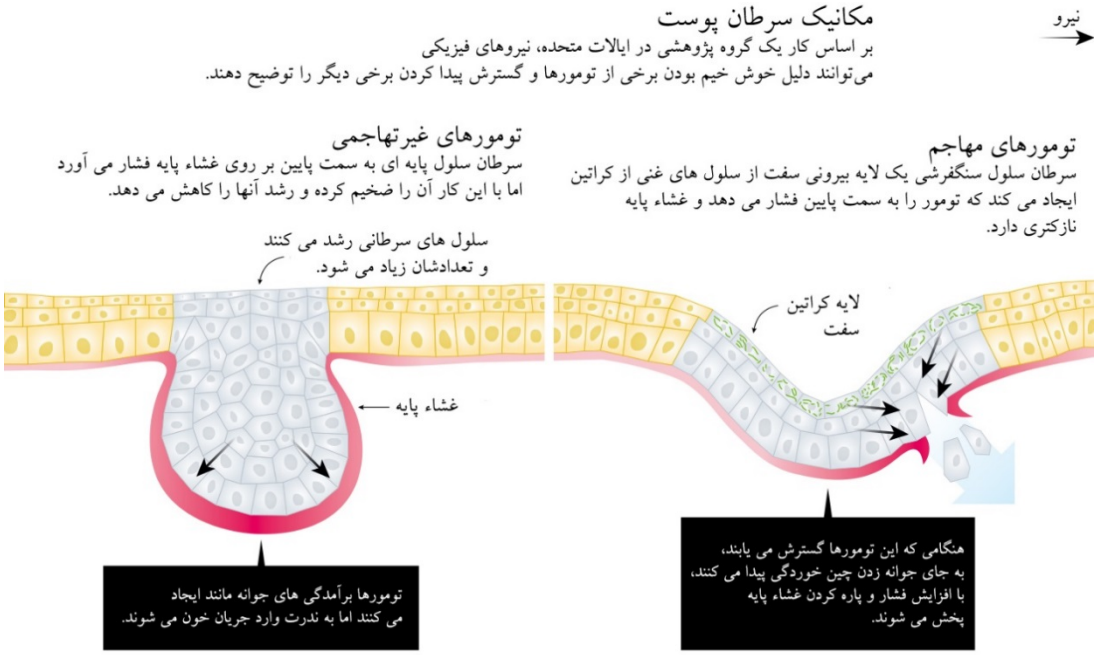
چگونه شیب ایجاد می‌شود؟ مانند دم در حال تکوین گورخرماهی‌ها، بافت سفت مغز قورباغه دارای تراکم بیشتری از سلول ها است. هنگامی که گروه پژوهشی تقسیم سلولی را در رویان‌های در حال تکوین متوقف کرد، شیب سفتی هرگز ظاهر نشد - و آکسون‌ها نمی‌توانستند راه خود را پیدا کنند. به نظر می‌رسد بسته شدن فضا با سلول‌ها راهی سریع و موثر برای هدایت مسیرهای ارتباطی در سیستم عصبی باشد.

فشار مداوم

جانوران کاملاً تکوین یافته نیز در هنگام رشد و یا برای مبارزه با بیماریها باید با نیروها درگیر باشند. به عنوان مثال، هنگامی که حجم بدن افزایش می‌یابد، پوست برای پوشاندن آن رشد می‌کند. جراحان برای ترمیم پستان، هنگامی که پوست بیشتری برای پوشاندن کاشت طراحی شده مورد نیاز است، از این مزیت استفاده می‌کنند. ابتدا، آنها یک «بالون» را وارد کرده و آن را به تدریج در طی چند ماه با محلول نمکی پر می‌کنند تا پوست کشیده شود، تا زمانی که پوست جدید به اندازه کافی رشد کند تا در جراحی دوم استفاده شود.

اما سلول‌های پوست چگونه به این فشار پاسخ می‌دهند و تکثیر می‌شوند؟ زیست‌شناس سلول‌های بنیادی، Mariaceleste Aragona، که به عنوان پژوهشگر پسا دکتری در دانشگاه Libre de Bruxelles در بلژیک همراه با Cédric Blanpain کار می‌کند، به این سوال پاسخ داد. وی گلوله‌ای از هیدروژل با ویژگی انبساط خودبخودی را در زیر پوست موش قرار داد (۸). همزمان با جذب مایعات توسط هیدروژل، تا حجم نهایی ۴ میلی لیتر، پوست در اطراف آن کشیده شد. در روز اول کاشت هیدروژل، Aragona مشاهده کرد که سلول‌های بنیادی در زیر لایه خارجی پوست شروع به تکثیر می‌کنند و سلول‌هایی را تولید می‌کنند که می‌تواند به پوست جدید متمایز شود.

اما همه سلولهای بنیادی در پاسخ به این کشش تکثیر پیدا نکردند. فقط گروهی از سلول‌های بنیادی، که قبلاً شناسایی نشده بود، شروع به تولید سلولهای بنیادی جدید کرد. Aragona می‌گوید: «ما هنوز نمی‌دانیم چرا»؛ او اکنون در دانشگاه کپنهاگ است. Blanpain اضافه کرد که شناسایی این سیستم می‌تواند منجر به ایجاد روش‌هایی برای رشد پوست به منظور جراحی ترمیمی یا ترمیم زخم شود.



خصوصیات مکانیکی بافت‌ها در رشد غیر طبیعی سلول مانند سرطان نیز نقش دارند. تِرپات می‌گوید: «تومورهای توپر از بافت‌های طبیعی سفت‌ترند». به گفته وی، دلیل آن وجود شبکه تارهای رشته‌ای به نام ماتریکس خارج سلولی اضافی در اطراف سلول‌ها و همچنین سلول‌های سرطانی در حال تکثیر است.

تِرپات می‌افزاید: «سفتی باعث بدخیمی سلول‌های سرطانی می‌شود» و همچنین می‌گوید که اگر دانشمندان بتوانند دلیل آن را بفهمند، ممکن است بتوانند درمان‌هایی را طراحی کنند که این خصوصیات فیزیکی را تغییر داده و خطر سرطان را کم کنند.

«ما این حباب‌های کوچک را دیدیم، این حباب‌های کوچک آب در بین سلول‌ها تشکیل می‌شوند.»

در یک مطالعه مرتبط، پژوهشگران دانشگاه راکفلر نیروهای مکانیکی را شناسایی کرده‌اند که دلیل خوش خیم بودن برخی از سرطان‌های پوست و بدخیم بودن برخی دیگر را توضیح می‌دهد.

سلولهای بنیادی پوست باعث ایجاد دو نوع مختلف از سرطان می‌شوند: سرطان سلول پایه‌ای، که به طرف پوست گسترش نمی‌یابد و سرطان سلول سنگفرشی مهاجم. این سلول‌های سرطانی فشاری به سمت پایین به غشاء پایه زیرین، لایه‌ای از پروتئین‌های ساختاری که لایه های خارجی پوست را از بافت زیرین جدا می‌کند، وارد می‌کنند.

تومور خوش خیم سلول پایه به ندرت غشای پایه را پاره می‌کند، اما نوع تهاجمی‌تر سرطان پوست اغلب غشاء پایه را پاره می‌کند تا به رگ‌های خونی برسد و وارد قسمت‌های دیگر بدن می‌شود («مکانیک سرطان پوست» را ببینید).

Elaine Fuchs و Vincent Fiore زیست‌شناسان سلول‌های بنیادی با مطالعه روی پوست موش دریافتند که سرطان خوش‌خیم غشای پایه را ضخیم‌تر و نرمتر کرده است و در حالی که به سمت پایین فشرده می‌شود سلول‌های تومور را مانند یک دستکش در خود جای داده است. اما تومور تهاجمی غشای پایه را نازکتر می‌کند.

نیروی ایجاد شده از بالا به آزاد شدن تومورهای مهاجم کمک می‌کند. سرطان سلول سنگفرشی یک لایه سفت از سلول‌های پوستی تمایز یافته به نام مروارید کراتینه (keratin pearl) ایجاد می‌کند. با فشار دادن از بالا، مروارید کمک می‌کند تا تومور با پاره کردن غشای پایه‌ای نازک، مانند خروج مشت از شیشه، از آن عبور کند (۹).

Fuchs می‌گوید: قبل از این کار، پژوهشگران تصور می‌کردند که سلول‌های تمایز یافته پوست، آنهایی که دارای هویت ثابت هستند، نمی‌توانند نیروی مکانیکی تولید کنند. او می‌گوید: «به نظر من این یافته، شگفت‌انگیز است». در مرحله بعدی، Fuchs و Fiore قصد دارند چگونگی درک سلول‌ها از این نیروهای مکانیکی را مطالعه کنند و بررسی کنند که چگونه آنها نیرو را به برنامه‌ای برای بیان ژن تبدیل می‌کنند که ممکن است غشای پایه را ضخیم‌تر کند یا باعث ایجاد تمایز شود. Alan Rodrigues، زیست‌شناس تکوینی در دانشگاه راکفلر، می‌گوید این سوال که چگونه نیروها و ژن‌ها به هم پیوند خورده‌اند مهم است. این موضوع فقط به سرطان پوست مربوط نیست. او می‌گوید: «سوال مهم در مکانیک، فکر کردن به چگونگی ارتباط آن با مولکول‌ها است».

دیگران نیز در حال بررسی این ارتباط هستند. Lecuit می‌گوید: «فقط این نیست، شما می‌دانید، ژن‌ها همه کارها را انجام می‌دهند یا مکانیک همه کاره است. بحث درباره این دو موضوع در آینده جالب خواهد بود».

منابع

1- Schliffka, M. F. et al. Preprint at bioRxiv https://doi.org/10.1101/2020.09.10.291997 (2020).

2- Dumortier, J. G. et al. Science 365, 465–468 (2019).

3- Serwane, F. et al. Nature Methods 14, 181–186 (2017).

4- Mongera, A. et al. Nature 561, 401–405 (2018).

5- Zhang, S., Teng, X., Toyama, Y. & Saunders, T. E. Curr. Biol.30, 3364–3377 (2020).

6- Koser D. E. et al. Nature Neurosci. 19, 1592–1598 (2016).

7- Thompson, A. J. et al. eLife 8, e39356 (2019).

8- Aragona, M. et al. Nature 584, 268–273 (2020).

9- Fiore, V. F. et al. Nature 585, 433–439 (2020).

استرس اکسیداتیو و بیماری‌های انسانی

زینب سادات سیدی

کاشان، دانشگاه کاشان، گروه بیوتکنولوژی

چکیده

بدن انسان به هر دو نوع گونه اکسیدان (رادیکال آزاد) و آنتی اکسیدان‌ها برای متابولیسم نرمال، انتقالات سیگنالی و نظم فعالیت-های سلولی احتیاج دارد. رادیکال‌های آزاد می‌توانند برای بدن مفید (لازم) یا مضر (سمی) باشند. در حقیقت آن‌ها دارای نقش دوگانه‌ای هستند. بدن انسان دارای مکانیسم آنتی اکسیدانی برای مبارزه با رادیکال‌های آزاد است. وجود تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان‌ها، برای عملکرد فیزیولوژیک بدن لازم است. به هم خوردن تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و آنتی اکسیدان‌ها، استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود. این مقاله یک مطالعه مروری است. از این رو مطالب مرتبط با موضوع، با استفاده از منابع معتبر علمی جمع آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. استرس اکسیداتیو می‌تواند غشاهای سلولی و ساختارهای مهم سلولی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، دئوکسی ریبونوکلئوتید (DNA) و کربوهیدرات‌ها را تغییر دهد. استرس اکسیداتیو یکی از عوامل مؤثر در بروز بسیاری از بیماری‌ها است. در این مقاله، مروری بر آسیب‌های وارده به بدن، توسط استرس اکسیداتیو و ارتباط آن با بیماری‌های انسانی مانند بیماری‌های قلبی و عروقی، سکته مغزی، دیابت، نفروپاتی دیابتی، پارکینسون، هانتینگتون، آلزایمر، اوتیسم، سرطان و پدیده‌های دیگری مانند پیری می‌پردازیم.

کلیدواژگان: آنتی اکسیدان‌ها، استرس اکسیداتیو، بیماری‌ها، سلامتی، رادیکال‌های آزاد

نویسنده مسئول: seyedi3080@gmail.com

مقدمه

استرس اکسیداتیو: پیروزی رادیکال‌های آزاد بر دفاع آنتی-اکسیدانی بدن و یا به عبارتی به هم خوردن تعادل بین تخریب سلولی توسط رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی اکسیداتی بدن، استرس اکسیداتیو نامیده می‌شود. در حقیقت نوعاً به حمله‌های زیستی به ارگانیزم‌های بدن استرس اکسیداتیو اطلاق می‌شود. بدن انسان به هر دو نوع گونه اکسیدان و آنتی اکسیدان برای متابولیسم نرمال، انتقالات سیگنالی و نظم فعالیت‌های سلولی احتیاج دارد. بنابراین هر سلول شرایطی را برای ایجاد حالت هموئوستازی بین گونه‌های اکسیدان و آنتی اکسیدان ایجاد می‌کند. استرس اکسیداتیو ممکن است با آسیب زدن به اجزا مهم سلولی مانند پروتئین‌ها، DNA و لیپیدهای غشایی باعث مرگ سلولی شود. هم‌چنین استرس اکسیداتیو در فرایندهای فیزیولوژیک و پاتولوژیک مانند آسیب DNA، تکثیر، چسبندگی سلول و بقا آن دخالت دارد (۱, ۲).

رادیکال‌های آزاد: رادیکال‌های آزاد در خارجی ترین لایه ی خود دارای الکترون جفت نشده و شدیداً واکنشگر هستند که می‌توانند واکنش‌های زنجیری را با برداشت یک الکترون از مولکول دیگر به منظور تکمیل لایه خارجی خود آغاز کنند و با مولکول‌ها و اتم‌های مجاور برای رسیدن به حالت پایدار واکنش دهند. آن‌ها تنها زمان کوتاهی پایدار هستند. رادیکال‌های آزاد به دو دسته کلی رادیکال‌های فعال اکسیژن و نیتروژن تقسیم می شوند (۳ و ۴).

۱-رادیکال‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species, ROS) : در سیستم‌های زیستی، رادیکال‌های آزاد اکسیژن از مهم‌ترین رادیکال‌های تولید شده هستند. با توجه به ساختمان الکترونی اکسیژن، که احیای آن با افزودن یک الکترون در هر زمان مساعدت می‌شود، باتولید رادیکال‌های اکسیژن به آسیب سلولی می انجامد. انتقال مرحله به مرحله الکترون‌ها به اکسیژن مولکولی منجر به تولید آنیون‌های سوپر اکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و نهایتاً رادیکال‌های هیدروکسیل آزاد (OH^0) می‌شود. از جمله منابع داخلی مانند میتوکندری، فلاوین‌ها، آدرنالین ، دوپامین، پراکسی زوم‌ها، نوتروفیل، ماکروفاژ، ائوزینوفیل، آنزیم‌های اکسیداز، پروکسیداز و کمپلکس سیتوکروم P450، NADH و منابع خارجی مانند اشعه، پرتوهای نوری،

ترکیبات شیمیایی دود سیگار و الکل در ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن نقش دارند (۵ و ۶).

۲- رادیکال های فعال نیتروژن (Reactive Nitrogen Speices, RNS): نیتریک اکسید (۷) به عنوان یک گونه‌ی رادیکال‌های فعال نیتروژن، از اکسیداسیون L- آرژینین به L- سیترولین توسط آنزیم نیتریک اکسید سنتتاز وابسته به NADPH تشکیل می‌شود، که این رادیکال دارای قدرت انتشار بالا و هم‌چنین به عنوان یک پیامبر ثانویه است. نیتریک اکسید پس از تولید با رادیکال سوپر اکسید به سرعت واکنش می‌دهد ورادیکال‌های قوی نیتریت ($ONOO^-$) و هیدروکسیل را تولید می‌کند (۸). لازم به ذکر است که رادیکال‌های آزاد علیرغم مضر بودن، می‌توانند نقش‌های فیزیولوژیک مهمی را در بدن ایفا کنند. مثلا گلبول‌های سفید در عمل فاگوسیتوز از رادیکال‌های آزاد استفاده می‌کنند و میکروب‌های به دام افتاده را از بین می‌برند. هم‌چنین نیتریک اکساید تولیدی در سلول‌های آندوتلیوم عروق خونی باعث گشادی عروق و در نتیجه کاهش فشار خون می‌شوند (۹).

آنتی اکسیدان‌ها: آنتی اکسیدان‌ها مواد احیا کننده‌ای هستند که در داخل و خارج سلول یافت می‌شوند و توانایی واکنش با گونه‌های رادیکال آزاد را دارند و تولید رادیکال‌های آزاد توسط آن‌ها کنترل می‌شود (۱۰). در واقع آنتی اکسیدان‌ها مکانیسم‌های دفاعی بدن در برابر رادیکال‌های آزاد هستند. آنتی اکسیدان‌ها نقش مهمی را در حذف رادیکال‌های آزاد و در ایجاد تعادل بین واکنش‌های اکسایش و کاهش دارند.

انواع آنتی اکسیدان‌ها: آنتی اکسیدان‌های آنزیمی مانند سوپر اکسید دیسموتاز،کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز، ویتامین‌های محلول در آب و چربی مانند ویتامین C و E ، مواد معدنی مانند سلنیوم، منگنز، مس و روی، پروتئین‌هایی مانند آلبومین، سرولوپلاسمین، ترانسفرین، هاپتوگلوبولین، فلاونوئیدها و فیتوکمیکال‌ها هستند (۷ و ۱۱)، سوپر اکسید دیسموتاز یک متالوپروتئین است که اولین آنزیم در دفاع آنتی اکسیدانی برای کاهش گونه‌های اکسیژن فعال است، بدین صورت که رادیکال سوپر اکسید توسط این آنزیم با تشکیل دو ترکیب اکسیداتیو کم خطرتر پراکسید هیدروژن و اکسیژن حذف می‌شود. کاتالاز فراوان‌ترین آنزیم آنتی اکسیدانی حاوی آهن است که در طی دو مرحله پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن مولکولی تبدیل می‌کند. گلوتاتیون پراکسیداز باعث احیا پراکسید هیدروژن و هیدروپراکسیدهای لیپیدی به آب و الکل می‌شود. در طی این مرحله گلوتاتیون این آنزیم، به گلوتاتیون دی سولفید اکسید می‌شود و در مرحله آخر توسط آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز احیا می‌شود (۷, ۱۲). ویتامین C فعال (اسید آسکوربیک) به عنوان مهم‌ترین آنتی اکسیدان محلول در آب، در سیتوزول و مایع خارج سلولی قرار دارد. این ویتامین تشخیص دهنده قوی برای پراکسید هیدروژن، گونه‌های فعال اکسیژن و هیدروژن پراکسید تشکیل شده در محیط‌های آبی است و به عنوان یک ماده‌ی احیا کننده عمل کرده، به دهیدرو آسکوربیک اسید تبدیل می‌شود. اسید آسکوربیک به عنوان دهنده‌ی معادل‌های احیاء کننده اکسید می‌شود. در بسیاری از روندهای مشارکتی اسید آسکوربیک به طور مستقیم مشارکت ندارد بلکه برای حفظ یک کوفاکتور فلزی در حالت احیا شده لازم است. این کوفاکتور فلزی در مونو اکسیژنازها مس و در دی اکسیژنازها آهن است (۱۳). ویتامین E (آلفا توکفرول) با خاصیت آنتی اکسیدانی خود، اولین سد دفاعی در برابر پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده ی موجود در فسفولیپیدهای غشایی سلولی و تحت سلولی می باشد، این ویتامین از طریق تبدیل رادیکال آزاد اسید چرب پراکسیل به هیدروپراکسی سبب توقف انتشار آسیب ناشی از رادیکال آزاد می‌شود (۱۴).

هنگامی که تعادل بین آنتی اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد از بین برود، استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود که در این صورت بیومولکول‌های حیاتی بدن مانند DNA آسیب وارد شده و تجمع این آسیب‌ها باعث تغییر در انتقال پیام و بیان ژن، تغییر و جهش و در نهایت مرگ سلولی می‌شود. سلول‌ها با مجموعه‌ای از پاسخ‌های زیستی مانند توقف در چرخه سلولی، رونویسی از ژن، شروع مسیرهای انتقال و تعمیر DNA به عدم تعادل چرخه اکسیداسیون و احیا پاسخ می‌دهند و این تغییرات باعث نکروز، پیری یا آپوپتوز می‌شود و یا ممکن است سلول زنده مانده، تکثیر یابد (۱۵ و ۱۶). حمله رادیکال‌های آزاد به اجزا مهم سلولی مانند لیپیدها، DNA، پروتئین و کربوهیدرات‌ها باعث تغییر در ساختار و عملکرد آن‌ها می‌شود (۱۷).

لیپیدها: رادیکال‌های آزاد باعث پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شوند و با اثر بر تخریب نظم و ترتیب قرار گرفتن لایه‌های لیپیدیی غشا، غیر فعال کردن رسپتورها و آنزیم‌های غشایی، نفوذ پذیری غشا را افزایش می‌دهند. در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدهای آندروژن غشایی در اثر رادیکال‌های آزاد، تولید محصولات سمی است که به عنوان پیامبر ثانویه در سلول رفتار می‌کنند، این ترکیبات مانند malondialdehyde (MDA)، 4- hydroxynonenal (4- HNE)، انواع 2- alkenal و Isoprostanes هستند که اثرات سمی برای سلول دارند (۱۸).

DNA : رادیکال‌های آزاد، از چند راه باعث ایجاد تغییراتی در DNA می‌شوند. این راه‌ها عبارتند از تخریب بازهای سازنده ساختمان DNA، شکست رشته های تک و یا دو رشته‌ای DNA، تغییر نوکلئوتیدهای پورین و پیریمیدینی یا تغییرات باند بین قند و باز، جهش‌ها، حذف یا جانشینی و کراس لینک با پروتئین است. تشکیل 8-OH-G به عنوان یکی از آسیب‌های DNA به خوبی شناخته شده است، که با استرس اکسیداتیو در ارتباط است و به عنوان یک نشانگر زیستی برای شناسایی سرطان‌ها است. در ناحیه پروموتر ژن‌ها شامل توالی برای اتصال عوامل رونویسی است. این نواحی غنی از بازهای GC است که می‌تواند عاملی برای حمله اکسیدان ها باشد. تشکیل 8-OH-G در نواحی اتصال عوامل رونویسی، باعث تغییر بیان ژن‌ها می‌شود. علاوه بر 8-OH-G، 8,5-cyclo-2- deoxyadenosine (cyclo-dA)، هم مانع از رونویسی ژن‌های دارای جعبه TATA در سلول می-شوند. جعبه TATA با پروتئین‌های آغازگر رونویسی متصل می‌شود و در نتیجه DNA خم می‌شود و رونویسی آغاز می‌شود، اما به دلیل حضور cyclo-dA اتصال جعبه TATA به پروتئین مختل می‌شود (۱۹). هم‌چنین استرس اکسیداتیو باعث بی ثباتی مناطق ریز ماهواره‌ای DNA می‌شود. یون-های فلزی فعال ردوکس، رادیکال‌های هیدروکسیل، بی ثباتی مناطق ریز ماهواره‌ای را افزایش می‌دهند. شکست رشته های تک DNA توسط رادیکال‌های آزاد، می‌تواند توسط سلول‌ها تحمل شود اما شکست های دو رشته‌ای DNA به وسیله اشعه‌های یونیزه کننده، بر بقای سلول اثرات جبران ناپذیری دارد. متیلاسیون در جزایر CpG در DNA به عنوان یکی از مکانیسم‌های اپی ژنتیک شناخته شده است که می‌تواند باعث خاموش شدن ژن‌ها شود. اکسیداسیون ۵-متیل سیتوزین به ۵-هیدروکسی متیل یوراسیل می‌تواند از طریق واکنش‌های deamination/oxidation تیامین یا واسطه‌های ۵-هیدروکسی متیل سیتوزین انجام شود (۲۰, ۲۱).

پروتئین‌ها : اینکه ترکیبات ROS می‌توانند ترکیبات سلولی را مورد هدف قرار دهند به خوبی شناخته شده است. طبق مطالعات انجام شده در این زمینه، ROSها می‌توانند با چندین واحد اسید آمینه، در محیط *in vitro* واکنش دهند. این ترکیبات با اکسیداسیون شاخه‌های جانبی اسیدهای آمینه و چارچوب اصلی پروتئین باعث آسیب در این ماکرومولکول‌ها می‌شوند. آنیون هیدروکسیل عامل اصلی در ایجاد اکسیداسیون پروتئین‌هاست که با اکسیداسیون پیوند دی سولفید پپتیدهای سیستئین دار، باعث پیوند بین تیول پروتئین و تیول مولکول‌های با وزن مولکولی کمتر مثل گلوتاتیون شده و در نهایت فعالیت پروتئین از بین می‌رود. اسید آمینه‌های سیستئین و متیونین در پروتئین‌ها، نسبت به اکسیداسیون بیشتر حساس هستند. اکسیداسیون گروه‌های سولفیدریل و رزیدوهای متیونین در پروتئین‌ها باعث تغییرات در ساختار پروتئین، باز شدن پروتئین و تخریب آن نقش دارند. آنزیم‌هایی که در جایگاه فعال خود فلز دارند، بیشتر در معرض اکسیداسیون هستند که باعث عدم فعالیت آنزیم می‌شوند. در برخی موارد ممکن است اکسیداسیون خاصی در پروتئین ایجاد شود، برای مثال متیونین به متیونین سولفوکسید، فنیل آلانین به تیروزین، گروه‌های سولفوهیدریل به باندهای دی سولفید و گروه-های کربوکسیل به زنجیره‌های جانبی پروتئین‌ها وارد شوند. اشعه گاما، اکسیداسیون کاتالیزورهای فلزی، HOCL و اُزُن می‌توانند باعث تشکیل گروه‌های کربوکسیل شوند (۲۱).

کربوهیدرات‌ها: کربوهیدرات‌ها توسط رادیکال‌های آزاد مانند OH^0 مورد حمله قرار می‌گیرند. یک پروتون به طور تصادفی توسط رادیکال آزاد OH^0 از یکی از اتم‌های کربن جدا می‌شود و تولید یک رادیکال مرکزی کربن می‌کند. این فرایند باعث شکست زنجیره کربنی در مولکول‌هایی مانند هیالورونیک اسید می‌شود. هم‌چنین تولید اکسی رادیکال‌ها، باعث فعالیت نوتروفیل‌ها در فرایند التهاب در مایع سینوویال مفصلی می‌شود که می تواند به آرتریت روماتوئید بیانجامد (۱۷).

بیماری‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو: بسیاری از بیماری‌های انسان بر اثر استرس اکسیداتیو به وجود آمده یا اینکه خود بیماری باعث پدید آمدن استرس اکسیداتیو می-شود. در ادامه به ارتباط استرس اکسیداتیو با برخی از بیماری‌های انسانی می‌پردازیم.

بیماری‌های قلبی و عروقی: تکثیر و التهاب عروق با هم رابطهٔ نزدیکی دارند. تکثیر بیش از حد سلول‌های عروقی نقش مهمی را در آسیب بیماری انسداد عروقی دارد. رادیکال‌های آزاد نقش برجسته‌ای در ایجاد بیماری قلبی و عروقی دارند. ترکیبات ROS، منجر به اکسیداسیون لیپو پروتئین‌های با چگالی کم می‌شوند، که این خود باعث تجمع پلاک‌ها شده و کلید اصلی در آسیب زایی آترواسکلروز است. اکسیداسیون LDL، منجر به اختلال عملکرد سلول‌های آندوتلیال شده و می‌تواند باعث رشد، مرگ و آپوپتوز سلول شود. بنابراین رادیکال‌های آزاد در نارسایی احتقانی قلب دخالت دارند (۲۲).

سکته مغزی: بیماری‌های عروقی مغز به عنوان شایع‌ترین اختلال ناتوان کننده نورولوژیک در جهان است (۲۳). در بیماران دچار سکته مغزی و مرگ مغزی عصبی، میزان رادیکال‌های آزاد ناشی از منابع مختلف از جمله گزانتنین اکسیداز، سیکلواکسیژناز، التهاب سلول‌ها و میتوکندری، افزایش می‌یابد. زنجیره انتقال الکترون میتوکندری، در جریان ایسکمی و رپریفیوژن و هم‌چنین سایر منابع تولید کننده رادیکال آزاد تغییر می‌کند. بیان شده است که نیتریت اکسید ایجاد شده در آندوتلیوم عروق خونی در جریان ایسکمی مغزی، می‌تواند باعث تولید رادیکال‌های آزاد شود. سوپر اکسید و هیددروکسیل تولید شده با لیپیدهای غیر اشباع غشای سلولی واکنش داده و تولید رادیکال‌های پراکسید لیپید، هیدروپراکسید لیپید و محصولاتی مانند مالون دی آلدئید می‌کند. تراکم سلول‌های خونی مانند نوتروفیل‌ها، مونوسیت‌ها و ماکروفاژها که در جریان رپریفیوژن رخ می‌دهد هم می‌تواند استرس اکسیداتیو را بیشتر تحریک کند (۲۲, ۲۴).

دیابت: دیابت شیرین به عنوان یکی از شایع‌ترین اختلالات متابولیسم شناخته شده است. این بیماری با افزایش قند خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها، پروتئین‌ها و کمبود نسبی یا مطلق انسولین همراه است، در جهان ۵/۲-۳ درصد از مردم دچار بیماری دیابت هستند. دیابت نوع ۲ بیش از ۹۰ درصد از افراد دیابتی را تشکیل می‌دهد (۲۵, ۲۶). استرس اکسیداتیو می‌تواند در روند سرعت بخشیدن به عوارض بالینی افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ ارتباط داشته باشد. در طی متابولیسم هوازی، رادیکال-های آزاد تولید می‌شوند و در روند کشمکش بین رادیکال-های آزاد و سیستم آنتی اکسیدانی بدن، ممکن است، سطح آنتی اکسیدان‌ها کاهش یابد و در نتیجه پاکسازی ناقص رادیکال‌های آزاد، لیپیدها، قندها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک اکسیده شوند که در نهایت این عوامل باعث پیامدهای گسترده پاتولوژیک در دیابت شود (۲۷). اتواکسیداسیون قندها یکی دیگر از عوامل دیابت است که باعث ایجاد استرس اکسیداسیون می‌شود. ترکیباتی با ساختمان آلفا – هیدروکسی آلدئیدی (مثل گلوکز) می-توانند به فرم انولی در آمده و با احیای عناصر واسطه و سپس اکسیژن باعث تولید رادیکال اکسیژن گردند. هم چنین بر اثر افزایش گلوکز خون با اتصال قند به پروتئین‌ها، ترکیباتی پدید می آیندکه در تولید رادیکال‌های آزاد نقش دارند. هم‌چنین در اثر اختلال در میزان تولید NADPH، سطح گلوتاتیون احیا کاهش یافته و به دنبال آن فعال شدن راه پلی یال اتفاق می‌افتد، که می‌تواند باعث کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی شود .

نفروپاتی (آسیب کلیه) دیابتی: آسیب کلیه دیابتی یک عارضه جدی دیابت شیرین است که در کشورهای توسعه یافته گسترش پیدا کرده است. استرس اکسیداتیو و عوامل التهابی نقش مهمی را در توسعه و پیشرفت نفروپاتی در بیماران دیابتی دارند (۲۸). قشر مغز و هیوکامپ بیشتر از سایر مناطق مغز دچار استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از هیپرگلیسمی می‌شوند. هیپر گلیسمی از طریق مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و با تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث القای استرس اکسیداتیو می‌شود و به دنبال آن با افزایش انواع رادیکال-های آزاد، مرگ برنامه ریزی شده سلولی ایجاد می‌شود که خود باعث مرگ نورون‌ها در مغز می‌شود. هم‌چنین با افزایش سیتوکاین‌های التهابی در مغز، نورون‌ها آسیب می-بینند (۲۹, ۳۰) و از طرفی دیگر با پراکسیده شدن لیپیدها، انواعی از میانجی‌های عصبی مانند گلوتامات، سیتوکروم C و افزایش کلسیم داخل سلولی منجر به آسیب و تخریب نورون‌ها می‌شود. در نهایت هیپرگلیسمی مزمن باعث

آسیب در کلیه می‌شود و به دنبال آن با افزایش اوره خون عملکرد سلول‌های عصبی مغز تاثیر گرفته و باعث اختلال در اعمال شناختی می‌شود (۳۱, ۳۲).

بیماری‌های تحلیل برنده عصبی: استرس اکسیدایو با بیماری‌هایی که با تحلیل سیستم عصبی همراه هستند ارتباط دارد؛ این بیماری‌ها شامل پارکینسون، هانتینگتون و آلزایمر هستند. بیماری‌های تحلیل برنده عصبی بر بخش-های مختلف مغز تاثیر می‌گذارند. تغییر عملکرد میتوکندری، آسیب به واسطه استرس اکسیداتیو، وجود غیر طبیعی پروتئین‌ها و پروتئازوم‌ها، تغییر متابولیسم آهن، التهاب و مرگ نورون‌ها از جمله مواردی هستند که در این بیماری‌ها اتفاق می‌افتد. عدم حذف پروتئین‌های اکسید شده توسط پروتئازوم‌ها منجر به تجمع غیر طبیعی پروتئین در سلول شده که تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن را به دنبال دارد. این رادیکال‌های آزاد می‌توانند موجب آسیب به میتوکندری، افزایش میزان یون کلسیم، مهار فعالیت پروتئازوم و در نهایت تخریب و مرگ نورون‌ها می‌شوند.

پارکینسون: بیماری پارکینسون بعد از آلزایمر یکی از شایع‌ترین بیماری نورودژنراتیو است. لرزش در حالت استراحت، کندی حرکت (Bradykinesia)، سختی عضلات و سختی در شروع حرکت از نشانه‌های بارز این بیماری و عامل اختلالات حرکتی و تخریب‌گر در سیستم عصبی است (۳۳). عواملی مانند استرس اکسیداتیو، تخریب DNA، کاهش گلوتاتیون و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در ایجاد این بیماری نقش دارند. استرس اکسیداتیو علاوه بر تخریب نورون‌های دوپامینرژیک، در عملکرد فسفریلاسیون اکسیداتیو اختلال ایجاد کرده و باعث کاهش انرژی و مرگ سلول می‌شود (۳۴, ۳۵). یکی از عوامل ژنتیکی موثر در ایجاد این بیماری جهش در ژن *PARK2* است که پروتئین پارکین را رمزگذاری می کند. این پروتئین یکی از اجزا کمپلکس یوبی کوئیتین E3 لیگاز است که در مسیر پروتئازوم نقش دارد. بسیاری بر این باورند که تغییرات در این ژن باعث استرس اکسیداتیو می‌شود. هم‌چنین کمبود این پروتئین به دلیل استرس اکسیداتیو، موجب آسیب به میتوکندری و در نهایت تحلیل عصبی می‌شود. با کاهش یوبی کوئیناسیون عامل سرکوبگر رونویسی میزان آن بالا رفته، موجب کاهش بیان مولکول تنظیم کننده عملکرد میتوکندری می‌شود. با ایجاد نقص در مسیر پیام‌رسانی این مولکول مهم، میتوکندری دچار نقص عملکرد شده و در نهایت تحلیل عصبی روی می‌دهد (۳۶, ۳۷).

بیماری هانتینگتون: این بیماری نسبتا نادر بوده و ارث اتوزومی بارز دارد. ویژگی‌های بالینی آن شامل اختلالات شناختی، حرکتی و روانی است. اخیرا آسیب‌های القا شده به دلیل استرس اکسیداتیو در این بیماران بیشتر مورد توجه قرار گرفته است، افزایش تکرارهای سه نوکلئوتیدی CAG در ژن کد کننده پروتئین هانتینگین (Htt) است که باعث تغییر شکل فضایی پروتئین شده و نهایتاً در سیتوپلاسم و هسته تجمع می‌یابد (۳۸). این پروتئین جهش یافته با اتصال به غشای خارجی میتوکندری موجب اختلال در کمپلکس‌های I و II شده، بدین ترتیب با تولید رادیکال-های آزاد، سبب مختل نمودن تولید ATP می‌شود. هم‌چنین این ژن جهش یافته در استقرار میتوکندری درون آکسون نیز نقش ایفا کرده و باعث اختلال در قرارگیری میتوکندری‌ها می‌شود (۳۶).

آلزایمر: این بیماری نورودژنراتیو پیش رونده است که باعث از دست رفتن یکپارچگی نورون‌ها، از بین رفتن نورون‌ها و سیناپس‌ها و در نهایت اختلال حافظه و کاهش شناخت می‌شود (۳۹). پروتئین‌های پیش ساز آلزایمر در خارج سلول توسط آنزیم‌های بتا و گاما سکرتاز تحت پردازش و برش قرار گرفته و باعث به وجود آمدن ساختاری به نام پلاک‌های بتا آمیلوئیدی می‌شود. این پلاک‌ها موجب هیپرفسفریلاسیون پروتئینی به نام tau می-شوند. این پروتئین در داخل نورون‌ها در سازماندهی میکروتوبول‌ها و شکل‌دهی سلول نقش دارد. با فسفریله شدن، این پروتئین از میکروتوبول‌ها جدا شده و درون سلول تجمع می‌یابد. تجمع این پروتئین‌ها به همراه پلاک-های بتا آمیلوئیدی یکی از عوامل ایجاد آلزایمر است. مطالعات نشان داده‌اند که پلاک‌های بتا آمیلوئیدی باعث القای استرس اکسیداتیو می‌شود (۴۰). بدین صورت که تجمع پلاک‌های بتا آمیلوئیدی می‌تواند با اکسیداسیون زنجیره‌های جانبی کربوهیدرات لیپیدهای غشایی شده، که این امر تجزیه ساختار طبیعی غشای سلولی را در پی داشته و در نهایت باعث تخریب و لیز سلولی می‌شود (۴۱).

اوتیسم: اوتیسم یک اختلال رشد است که در سه سال اول زندگی ظاهر می‌شود. این بیماری با تاثیر بر روی مغز کودک، رفتارهای اجتماعی و مهارت ارتباط بر قرار کردن

را مختل می‌کند. فاکتورهای محیطی و ژنتیکی نقش مهمی در بروز این بیماری دارند. استرس اکسیداتیو به عنوان میانجی بین دو عامل محیط و ژنتیک در بروز این بیماری نقش مهمی دارد (۴۲). با توجه به اینکه مغز کودکان در مقایسه با بزرگسالان دارای ظرفیت آنتی اکسیدانی کمتری است، بیشتر در معرض استرس اکسیداتیو قرار می‌گیرند. به طور کلی مغز به دلیل نیاز به مقادیر بالای لیپید، آهن و انرژی و هم‌چنین ظرفیت آنتی اکسیدانی کمتر برای خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، در برابر استرس اکسیداتیو آسیب پذیرتر است (۱ و ۴۳). ازجمله دلایل ایجاد استرس اکسیداتیو در بیماران اوتیسمی، افزایش میزان ۸-هیدروکسی گوانوزین در سطح DNA (۴۴)، افزایش ۳-نیترو تیروزین در سطح پروتئین‌ها و در نهایت از دست دادن عملکرد پروتئین و تجمع و تجزیه آن‌ها (۴۵)؛ کاهش سطح ترانسفرین و سرولوپلاسمین که در نتیجه آن متابولیسم غیر طبیعی آهن و مس در پاتولوژی اوتیسم نقش دارد (۴۶).

سرطان: ترکیبات ROS به دلیل تعامل و واکنش رادیکال-های آزاد با DNA می‌توانند باعث فعال شدن مراحل آغازی، پیشبرد و پیشرفت مواد سرطان زا شوند. این ترکیبات با اثر تخریب و آسیب که بر روی اجزا DNA مانند بازها و قندهای دئوکسی ریبوز دارند، باعث جهش در ژن‌ها شده و ایجاد سرطان می‌کنند (۴۷ و ۴۸). نتیجهٔ این جهش‌ها، تبدیل پروتوانکوژن به انکوژن‌ها و تغییر بیان آن‌ها است که منجر به افزایش تکثیر سلولی و در نهایت تبدیل یک سلول عادی به یک سلول تکثیر شونده بدخیم می‌شود. رادیکال‌های آزاد با اثر بر القای رونویسی، القای مسیرهای انتقال پیام، ایجاد خطا در همانندسازی و عدم ثبات ژنتیکی در ایجاد سرطان نقش دارند. اگرچه انواعی از سرطان‌ها وجود دارد، اما یک ارتباط مستقیم بین سایز تومور خوش‌خیم و مقدار تولیدات DNA اکسید شده (۸-اکسو گوانین)، وجود دارد. درک این فرایند از نظر تبدیل تومور خوش‌خیم به بدخیم حائز اهمیت است. در سلول-های سرطانی، سطح بالایی از استرس اکسیداتیو می‌تواند آپوپتوز و یا حتی نکروز را ایجاد کند در حالی که سطح پایین استرس اکسیداتیو می‌تواند نقش تحریکی در تقسیم سلولی و پیشبرد رشد تومور ایفا کند. هم‌چنین رادیکال‌های آزاد می‌توانند باعث پراکسیداسیون غشای سلولی شوند. متابولیت‌های حاصل از پراکسیده شد لیپیدها، مالون دی آلدئید، ۴- هیدروکسی نونئال و آکرولین می‌باشند که با اتصال به پروتئین‌ها و تغییر در عملکرد آن‌ها موجب مهار آنزیمی و تغییر در ساختار گیرنده سلولی شده و در نهایت ایجاد سرطان می‌کند (۲۲ و ۴۹).

پیری: در رابطه با تئوری فرایند پیری، نظریه‌های زیادی وجود دارد. یکی از برجسته‌ترین نظریه‌های پیری، نظریه رادیکال آزاد است که عموماً پذیرفته شده است (۵۰). این نظریه با توجه با افزایش رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های آن با افزایش سن و پیری پشتیبانی و حمایت می‌شود. این فرضیه بیان می‌کند که رادیکال‌های آزاد در بدن باعث آسیب اکسیداتیو به اجزا سلولی می‌شود که در نتیجه آن تغییر در عملکرد سلول، آسیب بافتی و عملکرد اندام‌ها می‌شود و در نهایت منجر به مرگ می‌شود. هم‌چنین این فرضیه با توجه به فرضیه رابطه معکوس میزان متابولیسم و طول عمر نیز حمایت و پشتیبانی می‌شود (۵۱, ۵۲). هم-چنین این تئوری به وسیله شواهد تجربی که نشان می‌دهد با افزایش سن آسیب اکسیداتیو به DNA، پروتئین و لیپیدها افزایش می‌یابد، نیز حمایت و پشتیبانی می‌شود. بنابراین رادیکال‌های آزاد که باعث ایجاد استرس اکسیداتیو می‌شود با بالا رفتن سن افزایش یافته و زمینه ایجاد بیماری‌های دیگر را نیز فراهم می‌کند (۵۳).

منابع

1. Ono H, Sakamoto A, Sakura N. Plasma total glutathione concentrations in healthy pediatric and adult subjects. Clinica chimica acta. 2001;312(1):227-9.
2. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. Journal of gerontology. 1956;11(3):298-300.
3. Aghadavod E, Nasri H. What are the molecular mechanisms of oxidant and antioxidant compounds? Annals of Research in Antioxidants. 2016;1(1).
4. Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. Oxidative medicine and cellular longevity. 2013;2013.
5. Salmaninejad A KP, Shakoori A. Oxidative stress: development and progression of breast cancer. Tehran University Medical Journal. 2017;75:1-9.
6. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant. Free radical research communications. 1990;9(1):1-32.
7. Gomes EC, Silva AN, Oliveira MRd. Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. Oxidative medicine and cellular longevity. 2012;2012.
8. Stamler JS, Singel DJ, Loscalzo J. Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. SCIENCE-NEW YORK THEN WASHINGTON-. 1992;258:1898-.
9. Soleimani H, Ranjbar A, Baeeri M, Mohammadirad A, Khorasani R, Yasa N, et al. Rat plasma oxidation status after Nigella sativa L. botanical treatment in CCL4-treated rats. Toxicology mechanisms and methods. 2008;18(9):725-31.

10. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of botany. 2003;91(2):179-94.
11. Mak S, Newton GE. The oxidative stress hypothesis of congestive heart failure: radical thoughts. Chest. 2001;120(6):2035-46.
12. Aldini G, Yeum K-J, Niki E, Russell RM. Biomarkers for antioxidant defense and oxidative damage: John Wiley & Sons; 2011.
13. Jourkesh M, Sadri I, Sahranavard A, Ojagi11 A, Dehganpoori M. The Effects of two different doses of Antioxidant Vitamin C supplementation on bioenergetics index in male college student. Journal of American Science. 2011;7(6).
14. Najafzadeh H, Razijalali M, Morovvati H, Navvabi L. Evaluation the effect of cimetidine, estradiol and vitamin E on myoglobinuric renal toxicity in rats. Am Eurasian J Toxicol Sci. 2011;3(3):177-83.
15. Rahman T, Hosen I, Islam MT, Shekhar HU. Oxidative stress and human health. Advances in Bioscience and Biotechnology. 2012;3(07):997.
16. Tan S, Wood M, Maher P. Oxidative stress induces a form of programmed cell death with characteristics of both apoptosis and necrosis in neuronal cells. Journal of neurochemistry. 1998;71(1):95-105.
17. Sharma N. Free radicals, antioxidants and disease. Biology and Medicine. 2014;6(3):1.
18. Devasagayam T, Boloor K, Ramasarma T. Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. Indian journal of biochemistry & biophysics. 2003;40(5):300-8.
19. Marietta C, Gulam H, Brooks P. A single 8, 5′-cyclo-2′-deoxyadenosine lesion in a TATA box prevents binding of the TATA binding protein and strongly reduces transcription in vivo. DNA repair. 2002;1(11):967-75.
20. Jackson AL, Chen R, Loeb LA. Induction of microsatellite instability by oxidative DNA damage. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1998;95(21):12468-73.
21. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. World Allergy Organization Journal. 2012;5(1):9.
22. Al-Dalaen S, Al-Qtaitat A. Review article: oxidative stress versus antioxidants. American journal of bioscience and bioengineering. 2014;2(5):60-71.
23. Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC, Mecocci P. Potential markers of oxidative stress in stroke. Free Radical Biology and Medicine. 2005;39(7):841-52.
24. Ozkul A, Akyol A, Yenisey C, Arpaci E, Kiylioglu N, Tataroglu C. Oxidative stress in acute ischemic stroke. Journal of Clinical Neuroscience. 2007;14(11):1062-6.
25. Soleiman FA, Pahlavani N, Rasad H, Sadeghi O, Gohari MR. The Relationship between Inflammation, Oxidative Stress, and Metabolic Risk Factors in Type 2 Diabetic Patients. Iranian Journal of Diabetes & Obesity (IJDO). 2013;5(4).
26. Mahmoodnia L, Aghadavod E, Beigrezaei S, Rafieian-Kopaei M. An update on diabetic kidney disease, oxidative stress and antioxidant agents. Journal of renal injury prevention. 2017;6(2):153.
27. Nourooz-Zadeh J, Hafizi GA, Khadem Ansari MH, Kayvan Pajoh K. Oxidative stress indecies in uncomplicated type 2 diabetic patients. Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences. 2006;11(2):22-8.
28. Aghadavod E, Khodadadi S, Baradaran A, Nasri P, Bahmani M, Rafieian-Kopaei M. Role of oxidative stress and inflammatory factors in diabetic kidney disease. KIDNEY DISEASES. 2016.
29. Zenker J, Ziegler D, Chrast R. Novel pathogenic pathways in diabetic neuropathy. Trends in neurosciences. 2013;36(8):439-49.
30. Maritim A, Sanders a, Watkins J, 3rd. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. Journal of biochemical and molecular toxicology. 2003;17(1):24-38.
31. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. The international journal of biochemistry & cell biology. 2007;39(1):44-84.
32. Gandhi S, Abramov AY. Mechanism of oxidative stress in neurodegeneration. Oxidative medicine and cellular longevity. 2012;2012.
33. Jankovic J, Aguilar LG. Current approaches to the treatment of Parkinson's disease. Neuropsychiatric disease and treatment. 2008;4(4):743.
34. Schwarting R, Huston J. Behavioral and neurochemical dynamics of neurotoxic meso-striatal dopamine lesions. Neurotoxicology. 1997;18(3):689-708.
35. Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models. Neuron. 2003;39(6):889-909.
36. Moszczynska A, Yamamoto BK. Methamphetamine oxidatively damages parkin and decreases the activity of 26S proteasome in vivo. Journal of neurochemistry. 2011;116(6):1005-17.
37. Siddiqui A, Rane A, Rajagopalan S, Chinta SJ, Andersen JK. Detrimental effects of oxidative losses in parkin activity in a model of sporadic Parkinson's disease are attenuated by restoration of PGC1alpha. Neurobiology of disease. 2016;93:115-20.
38. Mota SI, Costa RO, Ferreira IL, Santana I, Caldeira GL, Padovano C, et al. Oxidative stress involving changes in Nrf2 and ER stress in early stages of Alzheimer's disease. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease. 2015;1852(7):1428-41.
39. Waltz JA, Knowlton BJ, Holyoak KJ, Boone KB, Back-Madruga C, McPherson S, et al. Relational integration and executive function in Alzheimer's disease. Neuropsychology. 2004;18(2):296.
40. Ahmadi J, Jahanbazi Jahan Abad A, Barahimi A, Atashi A. Introduction of Long Non-Coding RNAs as Novel Biomarkers in Central Nervous System Disorders. The Neuroscience Journal of Shefaye Khatam. 2015;3(3):98-112.
41. Völkel W, Sicilia T, Pähler A, Gsell W, Tatschner T, Jellinger K, et al. Increased brain levels of 4-hydroxy-2-nonenal glutathione conjugates in severe Alzheimer's disease. Neurochemistry international. 2006;48(8):679-86.
42. Chaste P, Leboyer M. Autism risk factors: genes, environment, and gene-environment interactions. Dialogues in clinical neuroscience. 2012;14(3):281.
43. Perry SW, Norman JP, Litzburg A, Gelbard HA. Antioxidants are required during the early critical period, but not later, for neuronal survival. Journal of neuroscience research. 2004;78(4):485-92.
44. Melnyk S, Fuchs GJ, Schulz E, Lopez M, Kahler SG, Fussell JJ, et al. Metabolic imbalance associated with methylation dysregulation and oxidative damage in children with autism. Journal of autism and developmental disorders. 2012;42(3):367-77.
45. Ghezzi P, Bonetto V. Redox proteomics: identification of oxidatively modified proteins. Proteomics. 2003;3(7):1145-53.
46. McGinnis WR. Oxidative stress in autism. Alternative Therapies in Health and Medicine. 2004;10(6):22.
47. Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement 1, 2. Free Radical Biology and Medicine. 2002;32(11):1102-15.
48. Klaunig JE, Kamendulis LM. The role of oxidative stress in carcinogenesis. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2004;44:239-67.
49. Rao CSS, Kumari DS. Changes in plasma lipid peroxidation and the antioxidant system in women with breast cancer. International Journal of Basic and Applied Sciences. 2012;1(4):429-38.
50. Harraan D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. 1955.
51. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science (New York, NY). 1996;273(5271):59.
52. Ku H-H, Brunk UT, Sohal RS. Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. Free Radical Biology and Medicine. 1993;15(6):621-7.
53. Kowald A, KIRKWOOD TB. Accumulation of defective mitochondria through delayed degradation of damaged organelles and its possible role in the ageing of post-mitotic and dividing cells. Journal of theoretical biology. 2000;202(2):145-60.

صرع زائی: سازوکارهای ایجاد تشنج و صرع

رضا مقدسی[۱]، احمد علی معاضدی[۱] و زهره قطب الدین[۲]

[۱] **ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی**

[۲] **ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه**

چکیده

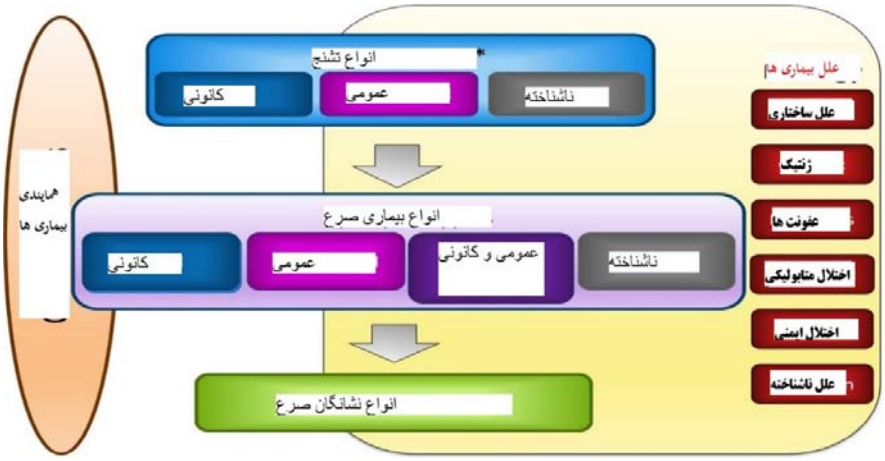
بیماری صرع، سومین اختلال نورولوژیک از نظر شیوع است که بیش از۷۰ میلیون نفر از مردم جهان(در حدود۱٪) به آن مبتلا هستند (۱). صرع (Epilepsy)، مجموعه‌ای از اختلالات نورولوژیک مزمن با علائم ناهمگون است که حملات تشنجی خودبخودی عود کننده و مکرر مشخصه مهم آن است. تشنج (Seizure)، به علائم یا نشانه‌های گذرائی گفته می‌شود که در نتیجهٔ افزایش فعالیت غیرمعمول و هم زمان، در نورون‌های بخشی از مغز رخ می دهد (۱و۲). تشنج، تا زمانی که به حالت مزمن تبدیل نشود، صرع نامیده نمی شود (۲). ساز وکار ایجاد و توسعه صرع، تا امروز به خوبی شناخته نشده است. صرع‌زائی (Epileptogenesis) به *شکل پذیری* (Plasticity) پیچیده مغز گفته می‌شود که به دنبال جراحت و خونریزی در مغز ایجاد می‌شود. به دنبال این تغییرات در مغز سالم، *تشنج های مکرر* ایجاد می شود (۹). صرع‌زائی، فرایندی آرام است، که چند ماه تا بروز تشنج های خودبخودی طول می‌کشد (۱۰). با استفاده از مطالعات بالینی بر روی انسان، به تنهائی، نمی‌توان سازوکارهای پیچیده، صرع‌زائی و تشنج را شناسائی کرد. لذا، استفاده از مدل‌های جانوری مناسب، ضروری به نظر می رسد (۵). در این مقاله سعی می‌شود، ضمن معرفی انواع صرع، فرایند صرع‌زائی و سازوکار ایجاد صرع مورد بررسی قرار گیرد.

کلیدواژگان: صرع، تشنج، صرع‌زائی، هیپوکامپ

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۵۱۸۸۷۳۶۶ ، پست الکترونیکی: dr.moghaddasi52@gmail.com

صرع

بیماری صرع مجموعه‌ای از تشنج‌های راجعه خودبه‌خودی ناگهانی و غیربرانگیخته است (۱). بر اساس آخرین یافته-های علمی و با توجه به تظاهرات بالینی و کانون تشنج در مغز، اتحادیه بین المللی مقابله با صرع در سال ۲۰۱۷ این بیماری را به انواع زیر تقسیم کرده‌است: صرع کانونی (Focal Epilepsy) یا صرع کوچک (Petit Mal Epilepsy)، صرع منتشر (Generalized Epilepsy) یا صرع بزرگ (Grand Mal Epilepsy)، صرع کانونی-منتشر (Combined Generalized & Focal Epilepsy) و صرع با منشا نامشخص (Unknown Epilepsy) (۲, ۳).



شکل ۱- انواع صرع بر اساس تقسیم‌بندی اتحادیه جهانی مقابله با تشنج در سال ۲۰۱۷ (۳).

صرع بزرگ

صرع بزرگ با تخلیه نورونی بیش از حد در تمام نواحی مغز، قشر مغز، بخش‌های عمقی‌تر مخ و حتی ساقه مغز مشخص می‌شود. همچنین تخلیه‌هایی تا نخاع نیز انتقال پیدا می‌کنند و گاهی موجب تشنج عمومی تونیک در سراسر بدن می‌شوند و به دنبال آن در نزدیکی پایان حمله، انقباضات تونیک عضلانی و سپس اسپاسمی متناوب به تشنج تونیک–کلونیک به وجود می‌آید. در جریان حمله، فرد غالباً زبان خود را گاز می‌گیرد یا «می بلعد»، و ممکن است در نفس کشیدن مشکل داشته باشد، تا حدی که گاهی دچار سیانوز هم می‌شود. همچنین سیگنال‌هایی که از مغز به احشاء فرستاده می‌شوند موجب دفع ادرار و مدفوع خواهند شد (۴).

حملات معمول صرع بزرگ از چند ثانیه تا ۴–۳ دقیقه طول می‌کشند. ویژگی دیگر آنها تضعیف تمام دستگاه عصبی پس از حمله است (Postseizure depression). به این معنا که فرد برای یک تا چندین دقیقه پس از پایان حمله تشنجی در حالت بهت باقی می‌ماند و غالباً پس از آن دچار خستگی شده و برای چند ساعت به خواب می رود. در حیوانات آزمایشگاهی و حتی در انسان، می توان با تجویز یک محرک عصبی از قبیل داروی پنتیلن تترازول (Pentylenetetrazol) یا هیپوگلیسمی ناشی از انسولین و حتی با عبور جریان الکتریکی متناوب از مغز مانند ماکزیمال‌شوک یا کیندلینگ الکتریکی می توان صرع بزرگ را به وجود آورد. به این ترتیب ظاهراً یک حمله صرع بزرگ نه تنها شامل فعال شدن غیرطبیعی تالاموس و قشر مغز می‌شود، بلکه در جریان آن بخش‌های زیرتالاموسی دستگاه فعال کننده مغز در ساقه مغز نیز فعال می‌شوند (۴).

بیشتر افراد مبتلا به صرع بزرگ استعداد ارثی دارند. عوامل صرع‌زا عبارت اند از: محرک‌های هیجانی قوی، آلکالوز ناشی از تهویه زیاد، داروها، تب، صداهای بلند و نورهای متناوب. در افراد غیرمستعد ژنتیکی برای ابتلا به صرع نیز برخی ضایعات تروماتیک مغز موجب تحریک‌پذیری بیش از حد مغز و ارسال سیگنال‌هایی به دستگاه فعال‌کننده مغز و ایجاد صرع بزرگ می‌شوند(۴).

تصور می‌رود علت افزایش بیش از اندازه فعالیت نورونی در جریان یک حمله صرع بزرگ، فعال شدن همزمان و دسته جمعی چندین مسیر نورونی نوسان‌کننده در سراسر مغز باشد. ظاهراً عامل اصلی متوقف‌کننده حملات بعد از چند دقیقه، خستگی نورونی است. فاکتور دوم، احتمالاً مهار فعال توسط نورون‌های مهاری است که آنها نیز در جریان حمله فعال می‌شوند (۴).

صرع کوچک

صرع کوچک تقریباً همیشه دستگاه تالاموسی– قشری فعال کننده مغز را درگیر می‌سازد. این نوع صرع معمولاً توسط دوره‌های ۳ تا ۳۰ ثانیه‌ای عدم هوشیاری (با کاهش هوشیاری) مشخص می‌شود که در طی این مدت فرد انقباضات عضلانی تیک‌مانند معمولاً در سر دارد که به ویژه به صورت پلک زدن می‌باشد؛ به دنبال آن فرد هوشیاری خود را به دست آورده و فعالیت قبلی خود را از سر می‌گیرد. این توالی کلی، سندرم غیاب (absence syndrome) یا صرع غیاب نام دارد. ممکن است فرد در مدت چندین ماه تنها یک حمله داشته باشد و یا در موارد نادر ممکن است تعداد سریعی از حملات یکی پس از دیگری روی دهند. در معمول‌ترین آنها، بیماری در اواخر کودکی ظاهر می‌شود و سپس تا سن۳۰ سالگی ناپدید می‌شود. گاهی یک حمله صرع کوچک مقدمه یک حمله صرع بزرگ می‌شود (۴).

ویژگی امواج مغزی در صرع کوچک یک طرح قله و گنبد می‌باشد. این طرح را می توان از تمام یا بخش اعظم قشر مغز ثبت کرد که نشان می‌دهد که حملات، قسمت زیاد یا اعظم سامانه فعال کننده تالاموسی– قشری مغز را در بر می‌گیرند. در واقع مطالعات حیوانی این احتمال را مطرح می‌کنند که صرع کوچک ناشی از: ۱) نوسان نورون‌های مشبک مهاری تالاموس(که نوروترانسمیترگاما آمینوبوتیریک اسید را ترشح می‌نمایند) و ۲) نورون‌های تحریکی تالاموسی– قشری و قشری–تالاموسی است (۴).

صرع کانونی تقریباً هر بخش موضعی از مغز، از نواحی محدود قشر مغز تا ساختمان‌های عمقی تر مخ و ساقه مغز را مبتلا می‌سازد. اکثر اوقات صرع کانونی به دلیل ضایعات عضوی محدود و یا اختلال‌های عملکردی به وجود می‌آید، مثلاً ۱) بافت جوشگاهی در مغز که بافت نورونی مجاور را تحت کشش قرار می‌دهد، ۲) یک تومور که یک ناحیه مغزی را تحت فشار قرار می‌دهد، ۳) یک ناحیه

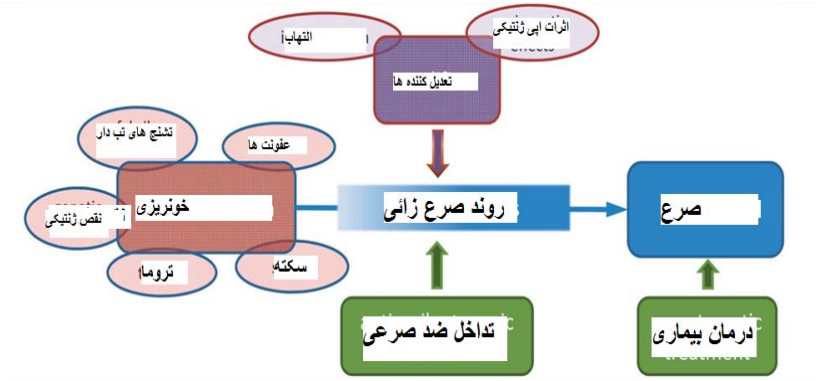
تخریب شده بافت مغز، یا ۴) مدارهای موضعی که به طور مادرزادی مختل شده‌اند (۴).

ضایعاتی از این قبیل می‌توانند موجب تولید تخلیه‌های فوق العاده سریع در نورون‌های محدودی در مغز شوند؛ هنگامی که فرکانس این تخلیه‌ها به بیش از چند صد بار در هر ثانیه می‌رسد، امواج همزمان در نواحی قشری مجاور منتشر می‌شوند. این وضعیت احتمالاً از مدارهای نوسانی موضعی ناشی می‌شوند که به تدریج نواحی مجاور قشر مغز را به سمت منطقه تخلیه صرع بسیج می‌کنند. این فرآیند با سرعت چند میلی متر در دقیقه تا چند سانتی متر در ثانیه در نواحی مجاور گسترش می‌یابد. زمانی که چنین موج تحریکی‌ای به قشر حرکتی می‌رسد، موجب «رژه» پیشرونده‌ای از انقباضات عضلانی در طرف مقابل بدن می‌شود که شایع‌ترین شکل آن از ناحیه دهان شروع شده و به تدریج به طرف پاها پایین می‌رود، اما ممکن است در جهت معکوس نیز حرکت کند. این نوع صرع، صرع جکسونی نام دارد. حمله صرع کانونی ممکن است به یک ناحیه واحد از مغز محدود بماند. اما خیلی از موارد، سیگنال‌های قوی ازکانون قشری مغز، بخش مزانسفالیک دستگاه فعال کننده مغز را با چنان شدتی تحریک می‌کنند که منجر به بروز یک حمله صرع بزرگی نیز می‌شوند. نوع دیگر صرع کانونی، نوع موسوم به حمله سایکوموتور است. این تشنج ممکن است موجب بروز دوره کوتاهی از فراموشی، حمله خشم غیر طبیعی، اضطراب، ناراحتی یا ترس ناگهانی، و یا یک لحظه تکلم نامفهوم یا زمزمه یک عبارت بی‌معنی تکراری شود. گاهی اوقات بیمار نمی‌تواند کارهایی را که موقع حمله انجام داده به یاد بیاورد، اما گاهی نیز فرد از آنچه انجام می‌دهد آگاه است اما نمی‌تواند جلوی آن را بگیرد. این نوع حملات بیش از همه لیمبیک مغز را درگیر می‌کنند، مثلاً درگیری هیپوکامپ، آمیگدال، و بخش‌هایی از قشر گیجگاهی (۵).

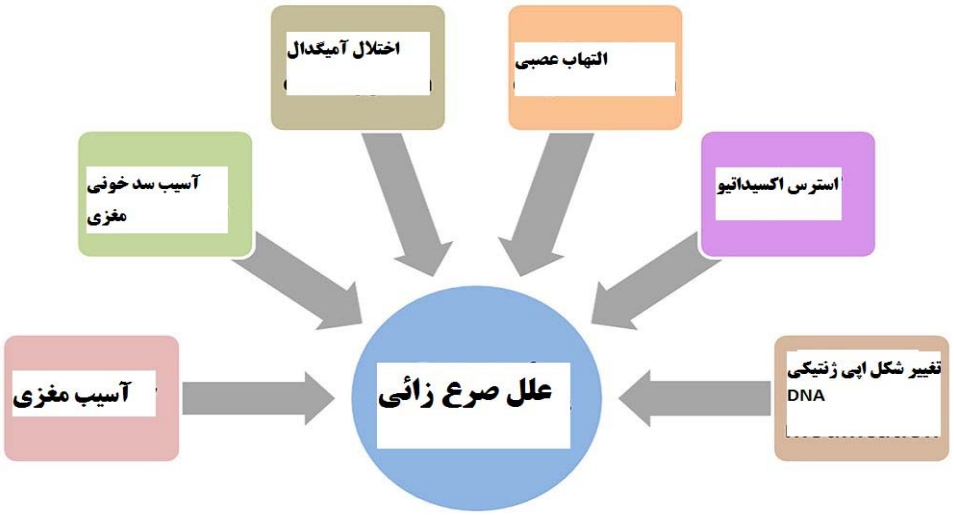
علل‌شناسی (Etiology) تشنج و صرع

در حالت معمولی فعالیت الکتریکی هم‌زمان در مغز رخ نمی‌دهد. در تشنج‌های صرعی، بر اثر مشکلات ساختاری یا عملکردی مغز، گروهی از نورون‌ها به طور غیرطبیعی، بیش از حد و هماهنگ فعالیت می‌کنند. در نتیجه، موجی از دپولاریزاسیون (معروف به جابجائی دپولاریزاسیون حمله-ای) در نورون‌ها ایجاد می‌شود. در ابتدا، به دلیل تاثیر نورون‌های مهاری و اثرات مهاری آدنوزین، نورون‌ها در مقابل فعالیت شدید مقاومت می‌کنند. ایجاد صرع، ناشی از کاهش مقاومت نورون‌های تحریک‌شده است. بنابراین، مناطق خاصی به نام کانون تشنج ایجاد می‌شود (۶).

سازوکار دیگر ایجاد صرع، تنظیم افزایشی مدارهای تحریک یا تنظیم کاهشی مدارهای مهاری بعد از ضربه به سر(تروما) می‌باشد، که صرع ثانویه نامیده می‌شوند و طی فرایندی به نام روند ایجاد تشنج رخ می‌دهند. ناتوانی سد خونی-مغزی نیز می‌تواند مکانیزم علی باشد، زیرا ممکن است باعث ورود مواد از خون به مغز شود (۷).



شکل ۲- روند صرع‌زائی. پس از یک آسیب اولیه (مانند ضربه یا سکته مغزی)، صرع مزمن در طول یک دوره پنهان بدون تشنج ایجاد می‌شود. این فرآیند اپی‌لپتوژنزیس یا صرع‌زائی است. صرع‌زائی توسط عوامل متعددی، که بعضی از آنها مانند جمله مکانیسم‌های التهابی و اپی‌ژنتیک هنوز شناسایی نشده‌اند، ایجاد و حفظ می‌شود (۸).



شکل ۳- عوامل موثر در ایجاد صرع (۹)

به طور کلی، تشنج در اثر برهم خوردن توازن طبیعی تحریک و مهار در دستگاه عصبی مرکزی ایجاد می‌شود. با توجه به ویژگی‌های متعددی که تحریک‌پذیری نورونی را کنترل می‌کنند، جای شگفتی نیست که روش‌های متفاوت و پرشماری برای برهم زدن این توازن طبیعی و در نتیجه علل متفاوت و پرشماری برای تشنج و صرع، یا هر دو، وجود داشته باشند (۵).

اختلالات متابولیک مانند عدم توازن الکترولیتی، هیپوگلیسمی یا هیپرگلیسمی، نارسایی کلیوی و نارسایی کبدی در هر سنی تشنج ایجاد می‌کند. اختلالات درون‌ریز، اختلالات خونریزی‌دهنده، بسیاری از بیماری‌های سامانه لیمبیک نیز در طیف سنی گسترده‌ای سبب ایجاد تشنج می‌شوند. انواع گوناگونی از داروها نیز سبب ایجاد تشنج می‌شوند (۵).

با وجود نظریات مختلف درباره صرع‌زایی، مکانیزم دقیق آن بسیار ناشناخته است. لذا کشف روش‌های درمانی جدید بسیار دشوار می‌نماید. اما اطلاعات زیادی وجود دارد که آسیب مغزی، اختلالات سد خونی_مغزی، استرس اکسیداتیو، تغییر اپی‌ژنتیکی DNA و آسیب آمیگدال باعث افزایش احتمال صرع‌زایی می‌شوند (۹).

علل ژنتیکی صرع

مهم‌ترین پیشرفت اخیر در پژوهش‌های صرع، شناسایی جهش‌های ژنتیکی مرتبط با انواع گوناگون سندرم‌های صرعی است. اگر چه اکثر جهش‌هایی که تا به امروز شناسایی شده‌اند سبب ایجاد اشکال نادری از صرع می‌شوند، ولی کشف آنها به پیشرفت‌های بسیار مهمی در مفهوم صرع‌زایی منجر شده است. برای مثال، به نظر می‌رسد که بسیاری از صرع‌های ارثی و نهان زاد (اشکال نسبتاً «خالص» صرع که تشنج آنها اختلال فنوتیپی قلمداد شده و سایر ساختار و عملکردهای مغز طبیعی است) به دلیل جهش‌هایی است که بر عملکرد کانال یونی تأثیر می‌گذارند. لذا این سندرم‌ها، بخشی از گروه بزرگ‌تر کانالوپاتی‌ها به شمار می‌روند که سبب ایجاد اختلالات حمله‌ای مانند آریتمی‌های قلبی، آتاکسی دوره‌ای، ضعف دوره‌ای، میگرن همی‌پلژیک خانوادگی می‌شوند. در نقطهٔ مقابل، امروزه ثابت شده است که جهش‌های ژنی مشاهده شده در صرع‌های علامت‌دار (اختلالاتی که در آنها، سایر ناهنجاری‌های نورولوژیک مانند اختلال شناختی به طور هم زمان با تشنج وجود دارند)، با مسیرهایی مرتبط‌اند که بر رشد و نمو دستگاه عصبی مرکزی یا هومئوستاز نورونی تأثیر می‌گذارند. جهش‌های نوپدید می‌توانند بخش قابل ملاحظه‌ای از این سندرم‌ها را توجیه کنند (به ویژه سندرم‌هایی که در اوایل دوران کودکی آغاز می‌شوند). یکی از چالش‌های کنونی، شناسایی ژن‌های مستعدکنندهٔ متعددی است که زمینهٔ شکل‌های شایع‌تر صرع‌های نهان‌زاد هستند. نتایج مطالعات اخیر حکایت از آن دارند که **جهش‌های کانال یونی** و انواع گوناگون تعداد رونویسی می توانند

عامل ایجادکننده در زیر مجموعه‌ای از این بیماران باشند (۵).

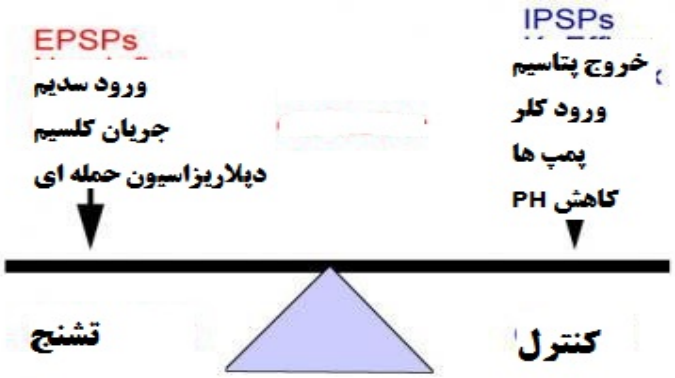
سازوکارهای آغاز و انتشار تشنج

فعالیت تشنجی کانونی در ناحیهٔ متمایزی از قشر مغز آغاز و به آهستگی به نواحی اطراف گسترش می‌یابد. علامت مهم تثبیت تشنج، معمولاً تولید موضعی منحنی نیزه‌ای ناشی از شلیک همزمان تعداد زیادی از نورون‌های تحریکی است. این وضعیت باعث همزمانی تکانه‌های تحریکی در ناحیهٔ وسیع قشری می‌شود. فعالیت تکانه‌ای نورون‌های منفرد (جابجایی دپلاریزاسیون حمله‌ای) در نتیجه دپلاریزاسیون طولانی مدت غشای نورونی و جریان ورودی کلسیم خارج سلولی است؛ که باعث بازشدن کانال‌های سدیمی وابسته به ولتاژ، جریان ورودی Na^+ و تولید پتانسیل‌های عمل تکراری می‌شود. به دنبال آن، بسته به نوع سلول، پس‌پتانسیل هیپرپلاریزه با واسطهٔ گیرنده‌های GABA یا کانال‌های پتاسیمی رخ می‌دهد. تکانه‌های همزمان حاصل از تعداد کافی نورون‌ها، سبب تخلیه موسوم به تخلیهٔ نیزه‌ای در ثبت‌های الکتروفیزیولوژیکی می‌شوند. سپس موج اولیه و گسترشی تشنج، تضعیف شده و در نهایت توسط هیپرپلاریزاسیون طبیعی متوقف می‌شود. سپس در اثر فعال‌سازی پیش‌خورد نورون‌های مهاری، نوعی مهار محیطی ایجاد می‌شود. با فعال‌سازی کافی نورون‌های اطراف از طریق سازوکارهای سیناپسی و غیرسیناپسی فعال شده و به کار گرفته می‌شوند (شکل۲) (۵).

(۱) افزایش K^+ خارج سلولی، که سبب سرکوب هیپرپلاریزاسیون و دپلاریزاسیون نورون‌های مجاور می‌شود؛ (۲) تجمع Ca^{2+} در پایانه‌های پیش‌سیناپسی، که سبب افزایش آزادسازی ناقلین عصبی می‌شود؛ (۳) فعال سازی زیر واحد NMDA در اثر دپلاریزاسیون، که سبب جریان ورودی بیشتر Ca^{2+} و فعال‌سازی نورونی می‌شود؛ و (۴) تغییرات اُسمولاریتهٔ بافتی و تورم سلولی. فعالیت تعداد کافی نورون‌ها سبب انتشار جریان‌های تحریکی به مناطق مجاور از طریق اتصالات قشری موضعی و به مناطق دورتر از طریق رابط‌هایی مانند جسم پینه‌ای می‌شوند (۵).

با توجه به عوامل متعدد موثر بر تحریک‌پذیری نورون‌ها، سازوکارهای زیادی نیز برای تغییر تمایل نورون به فعالیت تکانه‌ای وجود دارند. **سازوکارهای درونی نورون** شامل تغییر در قابلیت هدایت کانال‌های یونی، ویژگی‌های پاسخ-دهی گیرنده‌های غشایی، بافرکردن سیتوپلاسمی، سامانه-های پیامبر ثانویه و بیان پروتئین ناشی از رونویسی ژن، ترجمهٔ ژن و اصلاح پس از ترجمه می باشند. **سازوکارهای بیرونی نورون** شامل تغییر در میزان یا نوع ناقل عصبی، اصلاح گیرنده‌ها توسط یون‌های خارج سلولی و سایر مولکول‌ها و ویژگی‌های زمانی و مکانی درون داده-های سیناپسی و غیرسیناپسی می باشند. یاخته های غیر نورونی، مانند آستروسیت‌ها و اُلیگودندروسیت‌ها، نقش مهمی در بسیاری از این سازوکارها برعهده دارند (۵).

برخی علل خاص شناخته شدهٔ تشنج، توسط همین سازوکارها توجیه می شوند. برای مثال خوردن اتفاقی **اسید دوموئیک** (آنالوگ گلوتامات) سبب ایجاد تشنج عمیق از طریق فعال‌سازی مستقیم گیرنده‌های تحریکی در سرتاسر دستگاه عصبی مرکزی می شود.



شکل ۴- **عوامل ایجاد کننده و کنترلی تشنج (۱۰)**

پنی سیلین (کاهش دهنده آستانهٔ تشنج در انسان) در حیوانات آزمایشگاهی نوعی ترکیب تشنج‌زای قوی است و سبب کاهش شدت مهار، از طریق آنتاگونیزه کردن اثر گابا در گیرندهٔ خود می شود. سازوکارهای پایهٔ سایر عوامل برانگیزانندهٔ تشنج مانند محرومیت از خواب، تب، محرومیت از الکل، هیپوکسی، و عفونت به خوبی درک نشده است. ولی احتمالاً شامل اختلالات مشابهی در تحریک پذیری نورونی هستند. به همین ترتیب، عوامل درون‌زادی که آستانهٔ تشنج یک فرد را تعیین می کنند نیز می توانند با این ویژگی‌ها در ارتباط باشند (۵).

اطلاعات ما در بارهٔ سازوکارهای مسئول آغاز و انتشار اکثر تشنج‌های منتشر (از جمله انواع تونیک – کلونیک، میوکلونیک و آنونیک) هنوز اندک بوده و بیانگر درک محدود ما از اتصالات مغز در سطح سامانهی است. البته اطلاعات ما دربارهٔ خاستگاه تخلیه‌های نیزه و موج منتشر در تشنج غیاب، بیشتر است. به نظر می رسد اینها با ریتم-های نوسانی در ارتباط‌اند که به طور طبیعی در حین خواب و توسط مدارهای رابط بین تالاموس و قشر مغز تولید می‌شوند. این رفتار نوسانی، شامل تعامل بین گیرنده‌های $GABA_B$، کانال‌های Ca^{2+} نوع T و کانال‌های K^+ واقع در داخل تالاموس است. نتایج مطالعات فارماکولوژیک حکایت از آن دارند که دستکاری این گیرنده‌ها و کانال‌ها سبب ایجاد تشنج غیاب می شود و شواهد مناسبی وجود دارند که نشان می دهند شکل‌های ژنتیک از صرع غیاب با جهش‌هایی در اجزای این سامانه مرتبط می باشند (۵).

صرع‌زایی[1]

صرع‌زایی، به معنی تغییر شکل شبکهٔ عصبی طبیعی و تبدیل آن به شبکه‌ای که به طور مزمن تحریک‌پذیری بیش از حد دارد (۱۱) می‌باشد. به عبارت دیگر، مجموعه‌ای از وقایع که یک شبکه عصبی طبیعی را به شبکه‌ای تحریک-پذیر تبدیل می‌کند (۱۲). در اغلب موارد تأخیری چندماهه تا چندساله بین آسیب اولیهٔ دستگاه عصبی مرکزی (مانند تروما، سکتهٔ مغزی یا عفونت) و نخستین تشنج وجود دارد. به نظر می‌رسد این آسیب، آغازگر فرآیندی باشد که به تدریج آستانهٔ تشنج در ناحیه مبتلا را کاهش می‌دهد تا تشنج خودبخودی رخ دهد. در بسیاری از اشکال ژنتیکی و نهان‌زاد صرع، صرع‌زایی احتمالاً تحت تأثیر رویدادهایی قرار دارد که تنظیم آنها ماهیتی رشد و نموی دارد (۵).

بر اساس نتایج مطالعات آسیب شناختی بر روی هیپوکامپ بیماران مبتلا به صرع لوب گیجگاهی برخی از اشکال صرع‌زایی، با تغییرات ساختمانی در شبکه‌های نورونی مرتبط هستند. برای مثال، در بسیاری از بیماران دچار صرع لوب گیجگاهی متوسط[2] ، نورون‌ها به صورت بسیار انتخابی از بین می‌روند. این وضعیت باعث مهار نورون‌های تحریکی اصلی در شکنج دندانه‌ای می‌شوند. به علاوه، شواهدی وجود دارد که در پاسخ به از بین رفتن نورون‌ها، سازماندهی مجدد یا جوانه زدن نورون‌های باقی مانده رخ می‌دهد، به نحوی که بر تحریک‌پذیری شبکه تأثیر می‌گذارد. برخی از این تغییرات را می‌توان در حیوانات آزمایشگاهی دچار آسیب تروماتیک به مغز یا تشنج الکتریکی طولانی مشاهده کرد (۱۱). بنابراین، آسیب اولیه با ایجاد ناحیه‌ای بسیار کانونی و محدود از تغییرات ساختمانی سبب تحریک‌پذیری بیش از حد موضعی می-گردد. این تحریک‌پذیری موضعی موجب تغییرات ساختمانی بیشتری می‌شود که در گذر زمان پیشرفت کرده تا آن که ضایعهٔ کانونی، سبب ایجاد تشنج آشکار می‌شود. به مرور زمان تغییرات بلند مدت در ویژگی‌های درونی و بیوشیمیایی یاخته‌های این شبکه (مانند تغییرات مزمن در عملکرد گیرندهٔ گلوتامیت یا گابا) ایجاد می‌شود. نتایج مطالعات اخیر نشان داده است که القای آبشارهای التهابی نیز می‌تواند از عوامل بسیار مهم در این فرآیندها باشد (۵).

سازوکار ایجاد و توسعه صرع، تا امروز به خوبی شناخته نشده است. صرع‌زائی، تغییرات شکلی پیچیده مغز می‌باشد که به دنبال جراحت و خونریزی در مغز ایجاد می‌شود. به دنبال این تغییرات در مغز سالم، تشنج‌های مکرر ایجاد می-شود. فرضیهٔ اخیر دربارهٔ صرع‌زائی دارای ۳ مرحله است: ۱) حادثهٔ جرحی یا ایجاد زخم اولیّه، ۲) دورهٔ تأخیر و ۳) دورهٔ مزمن همراه با تشنج‌های خودبخودی. صرع‌زائی، فرایندی آرام است، که چند ماه تا بروز تشنج‌های خودبخودی طول می‌کشد. زمان مورد نیاز برای وقوع تشنج (دورهٔ تأخیر) این شانس را می‌دهد که افراد در معرض خطر صرع شناسایی شوند. آسیب و التهاب عصبی نقش محوری در ابتلا به صرع دارند (۱۳).

[1] Epileptogenesis

[2] Mesial temporal lobe epilepsy (mTLE)

منابع

1. Fisher RS, Cross JH, French JA, Higurashi N, Hirsch E, Jansen FE, Lagae L, Moshé SL, Peltola J, Roulet Perez EJE: Operational classification of seizure types by the International League Against Epilepsy: Position Paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. 2017, 58(4):522-530.

2. Havasimehr M, Saffarzadeh F, Divanbeigi A, Karimzadeh FJTUMJTP: A review on the animal models of seizure. 2018, 76(2):79-89.

3. Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshé SLJE: ILAE classification of the epilepsies: position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. 2017, 58(4):512-521.

4. Hall JE: Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book: Elsevier Health Sciences; 2015.

5. Lowenstein DH: Seizures and Epilepsy. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine, 20e*. MC GRAW-HILL; 2017.

6. Hammer GD, McPhee SJ: Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine 8E: McGraw Hill Professional; 2018.

7. Jerome Engel J: Epilepsy: A Comprehensive Textbook. Lippincott: Williams & Wilkins; 2007.

8. Lerche HJB: New hope for the treatment of epilepsy. 2015, 138(2):240-242.

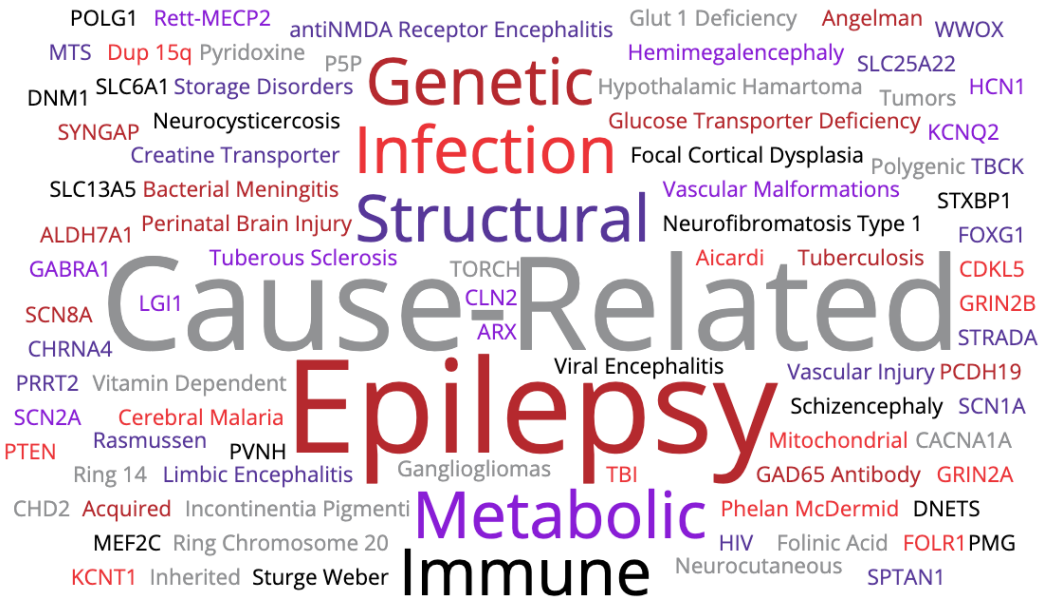
9. Paudel YN, Shaikh MF, Chakraborti A, Kumari Y, Aledo-Serrano Á, Aleksovska K, Alvim MKM, Othman I: HMGB1: A Common Biomarker and Potential Target for TBI, Neuroinflammation, Epilepsy, and Cognitive Dysfunction. 2018, 12.(۶۲۸)

10. Ochoa JG, Riche WJeJ: Antiepileptic drugs: an overview. 2004.

11. Bragin A, Wilson CL, Engel JJEbr: Increased afterdischarge threshold during kindling in epileptic rats. 2002, 144(1):30-37.

12. Bromfield EB, Cavazos JE, Sirven JI: Basic mechanisms underlying seizures and epilepsy. 2006.

13. Sato MJP, Neurosciences C: Kindling: an experimental model of epilepsy. 1982, 36(4):440-441.



Genetic control of meiosis in plants.

Simanovsky, S. A. and Yu. F. Bogdanov

***Russian Joural of Genetics* 2018. 54(4): 389-402.**

کنترل ژنتیکی میوز در گیاهان

اسد معصومی اصل* و سید ایمان آشتی

یاسوج، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت واصلاح نباتات

چکیده

ژن‌های کنترل‌کننده پیشروی میوز و بی‌تاثیر بر پیشروی میتوز در گیاهان، در ذرت و *آرابیدوپسیس* به طور گسترده مطالعه شده اند. این‌ها شامل ژن‌های کنترل‌کننده تمایز سلول‌های سومایی به سلول‌های اسپورزا و ژن‌های شروع میوز، ژن‌های رمزگذار پروتئین‌های اختصاصی میوز در کروموزوم‌ها و کمپلکس‌های سیناپتونمال، ژن‌های پروتئین‌های واسطه و آنزیم‌های نوترکیبی میوزی DNA و کراسینگ اور و ژن‌های کنترل‌کننده رفتار خاص میوزی سانترومرها و روند دو تقسیم میوزی هستند. تعداد زیادی از این ژن‌ها همسانه‌سازی و در سطح مولکولی مطالعه شده اند. مطالعه روی ژن‌های میوز در برنج فعالانه در حال توسعه است در حالی‌که مطالعات روی ژن‌های مربوطه در جو، چاودار، گوجه فرنگی و گندم هگزاپلوئید پیشرفت کمتری دارند. برای شناسایی ژن‌های میوز، از جهش‌زاهای شیمیایی و درجی، تجزیه و تحلیل ژنتیکی و سیتولوژیکی، مطالعات ژنگانی و پروتئومیک، روش‌های ژنتیک معکوس و بیوانفورماتیک استفاده می‌شود.

کلیدواژگان: ژن، میوز، جهش، نوترکیبی، پروتئین‌ها، تمایز، کمپلکس سیناپتونمال

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: masoumiasl@yu.ac.ir

مقدمه

ژن‌هایی که پیشروی میوز را کنترل می‌کنند روی میتوز بی‌تأثیر بوده و طی چرخه سلول‌های سومایی گیاهان خاموش هستند. این ژن‌ها برای اولین بار در دهه ۱۹۳۰ و در جریان توسعه ژنتیک ذرت توسط "بیدل" کشف شدند. بیدل جهش‌های نهفته Polymitotic در ذرت را کشف کرد که منجر به تقسیم میتوزی زودهنگام پس از میوز ۲ شده و از سیناپس کروموزومی جلوگیری می‌کنند. بعدها، ژن‌های فعال در میوز در چندین گونه از گیاهان تک لپه و دو لپه کشف شدند. این مطالعات در سال ۱۹۷۵ در اتحاد جماهیر شوروی با استفاده از سوپر مغناطیس‌ها توسعه یافت. پس از سال ۱۹۸۲، مطالعات روی این موضوع در روسیه و امریکا و پس از سال ۱۹۹۹، در ایالات متحده ادامه یافت و مهمترین این ژن‌ها مورد مطالعه قرار گرفتند. در اواخر دهه ۱۹۹۰، ابتدا در بریتانیای کبیر و سپس در سایر کشورها، مطالعات فشرده ای روی ژن‌های میوزی *آرابیدوپسیس تالیانا*[1] آغاز شد که تا به امروز ادامه دارد. بررسی کنترل ژنتیکی میوز در گندم آلوپلی‌پلوئید و سایر آلوپلی‌پلوئیدها نتایج مهمی در خصوص درک پدیده دیپلوئید شدن آلوپلی‌پلوئیدها به دست داد. در این مقاله اطلاعات موجود در مورد ژن‌های مسئول وقایع اصلی سلول‌های میوزی و ژن‌های ورود به میوز، پایان نوترکیبی میوزی، دو تقسیم میوز و تشکیل اسپور هاپلوئید ارائه می‌شود. علاوه بر این، مقایساتی روی ژن‌های میوزی گونه‌های مهم زراعی یعنی برنج، چاودار، گندم و گوجه فرنگی انجام می‌شود.

۱- تشکیل و تمایز سلول میوزی: چرخه زندگی گیاهان از دو مرحله اسپوروفیتی و گامتوفیتی تشکیل شده و انتقال بین این دو مرحله با کمک میوز انجام می‌شود. گیاهان برخلاف جانوران، سلول‌های زایشی از پیش

[1] Arabidobsis thaliana

تعیین شده ندارند و سلول‌های میوزی گیاهی از سلول-های سومایی متمایز می‌شوند. در ذرت، جهش *mac1* شناسایی شده که تعادل بین سلول‌های میوزی و سومایی اطراف آن را مختل می‌کند، یعنی محدودیت تعداد سلول-هایی که قادر به ورود به تقسیم میوز هستند را حذف می‌کند. هم در بساک و هم در تخمک جهش‌یافته‌های *mac1*، تعداد بیش از حد سلول‌های میوزی و فقدان سلول‌های سومایی مشاهده می‌شود. در بساک‌های *mac1*، در طول میکروسپورزایی توقف پیشروی میوز در مراحل مختلف مشاهده می‌شود. گفته شده دلیل این امر عدم وجود لایه سلولی سومایی طبیعی (سلول‌های تاپتال) در بساک‌ها است چرا که این لایه‌های سلولی باید برای سلول‌های میوزی غذا تامین کنند. در طول میکروسپورزایی، در هر یک از تخمک‌های mac1، به جای اینکه یک سلول میوزی (همانند گیاهان طبیعی) وارد میوز شود، یک تا پنج الی شش سلول میوزی تشکیل می‌شود که همه آنها به سلول‌های مادری مگاسپور تبدیل شده و میوز انجام می‌دهند. در نتیجه چندین سلول میوزی مگاسپور تشکیل می‌شوند که پس از میوز، وارد میتوز شده و رشد غیر طبیعی تخمک‌ها ادامه می‌یابد. در تخمک جهش‌یافته‌های *mac1*، که حاوی چندین مگاسپور است، یک سلول چند هسته ای حاوی ده‌ها هسته تشکیل می‌شود که این تخمک‌ها معمولاً عقیم هستند. مشخص شده که پروتئین MAC1 ذرت، اورتولوگ پروتئین TDL1A برنج و پروتئین TPD1 *آرابیدوپسیس* است. در برنج، این پروتئین‌ها با پروتئین MSP1 و در *آرابیدوپسیس* با پروتئین EMS1/EXS برهمکنش دارند. پروتئین‌های MSP1 و EMS1/EXS گیرنده‌های پروتئین‌کینازی هستند که در سطح بیرونی سلول قرار داشته و در جمع‌آوری اطلاعات از سلول‌های مجاور نقش دارند. پیشنهاد شده که این مسیر پیام‌رسانی به تعیین سرنوشت سلول‌های میوزی آینده و تعادل بین سلول‌های بساک و تخمک کمک می‌کند. در *آرابیدوپسیس*، سایر شرکت‌کنندگان احتمالی این مسیر پیام‌رسانی یعنی پروتئین‌های AMS، MS1 و MYB103 نیز یافت شده اند. در جهش‌یافته‌های *ams*، تشکیل بساک و میوز به طور عادی پیش می‌رود، اما میکروسپورها و سلول‌های تاپتال بلافاصله پس از تکمیل میوز دچار استحاله می‌شوند. در جهش‌یافته‌های *ms1*، میکروسپورها پس از رها شدن از تترادها از بین می‌روند. ژن *MYB103* فقط در سلول‌های تاپتال بیان شده و برای تشکیل لایه تاپتوم با شکل ظاهری منظم و نیز در میکروسپورزایی طبیعی لازم است. ژن‌های *AMS*، *MS1* و *MYB103* هم پس از به اوج رسیدن بیان ژن *EMS1/EXS* فعال می‌شوند. در جهش‌یافته‌های *mel1*، سلول‌های میوزی ناقص وارد تقسیم میوز می‌شوند ولی تقسیم آنها در لپتوتن متوقف شده و انقباض بیشتر کروموزوم رخ نمی‌دهد. ژن *MEL1* تقسیم سلول‌های پیش اسپوری را تنظیم و تغییرات ساختاری کروموزوم‌ها را احتمالاً با سرکوب بیان ژن و قبل از میوز انجام می‌دهد.

۲- ورود به میوز: پس از تمایز سلول‌های میوزی، تشکیلات چرخه سلولی باید از تقسیم میتوزی به تقسیم میوزی تغییر یابند. ژن *AM1* نقش مهمی در شروع میوز ذرت دارد. آلل‌های متعدد ژن جهش‌یافته *am1* بصورت گام به گام عمل می‌کنند. سلول‌های میوزی جهش‌یافته-های *am1-1* وارد میوز نمی‌شوند. در هر دو سلول میوزی نر و ماده، به جای تقسیم میوزی تقسیمی مشابه تقسیم میتوزی انجام می‌گیرد و پس از دو یا سه تقسیم همزمان، سلول‌ها دچار استحاله می‌شوند. در تخمک‌ها، آلل *am1-1* علاوه بر همان عمل، به سلول‌ها اجازه می‌دهد که وارد اینترفاز پیش‌میوزی شوند ولی از پیشروی آن جلوگیری می‌کند. علاوه بر آلل *am1-1*، سه مورد از چهار آلل جهش‌یافته ژن *AM1* همانند *am1-1*، باعث انجام تقسیم میتوزی شده یا از نمو سلول در مرحله اینترفاز پیش میوزی جلوگیری می‌کنند. آلل *am1-pra1* نیز اجازه می-دهد تا اسپوروسیت‌ها وارد مرحله پروفاز ۱ شوند اما انتقال از لپتوتن به زیگوتن و بیشتر اوقات به پاکیتن را متوقف می‌کند. در نتیجه عملکرد آلل *am1-PraI* در اوایل پروفاز، یک ساختار کروموزومی مشابه لپتوتن معمولی شکل می‌گیرد، اما ساختار "دسته گل" یا bouquet تشکیل نمی‌شود. ژن *AM1* در گیاهان تک لپه از نظر اثر، مشابه ژن *SWI1* دولپه‌ای‌ها در آرابیدوپسیس است. ژن‌های

MS5/TDM و *TAM* می‌توانند به عنوان تنظیم‌کننده چرخه سلولی میوزی فعالیت کنند. سرنوشت سلول میوزی و شروع تقسیم میوز باید قبل یا در طی مرحله سنتز پیش-میوزی مشخص شود زیرا بارگیری هیستون‌ها، کوهسین-ها و کاندنسین‌های خاص میوز در این مرحله در حال انجام است. این واقعیت‌ها نشان می‌دهند که کنترل شروع میوز قبل از تنظیم میوزی و انسجام کروماتید خواهری رخ می‌دهد.

۳- ایجاد انسجام در کروماتید خواهری: انسجام کروماتید خواهری در ذرت تحت کنترل ژن *AFD1* است. بروز جهش *afd1* در لپتوتن آغاز می‌شود. این جهش سازمان کروموزومی معمول در پروفاز ۱ را مختل می‌کند و لذا در طول متافاز ۱، انسجام کروماتید خواهری در سانترومرها رخ نداده و در نتیجه تفکیک کروماتید خواهری در آنافاز ۱، بیشتر از کروموزوم‌های غیرهومولوگ می‌باشد. پروتئین AFD1 برای جذب پروتئین‌های سیناپتونمال کمپلکس (SC) و تشکیل عناصر جانبی آنها ضروری است. علاوه بر این، این پروتئین در نواحی سانترومری کروموزوم در متافاز ۱ و آنافاز ۱ باقیمانده و کروماتیدهای خواهری را از عدم تفکیک در مرحله تفکیک کروموزوم‌های هومولوگ در اولین تقسیم میوز محافظت می‌کند. در کروموزوم‌های میتوزی یوکاریوت‌ها کمپلکس کوهسین شامل پروتئین‌های SMC1 و SMC3 و دو پروتئین SCC1/RAD21 و SCC3/PSC3 می‌باشند که زمینه ایجاد حلقه‌ای متشکل از پروتئین SMC نگهدارنده کروماتیدهای خواهری در کنار هم را فراهم می‌کند. مجموعه ای از جهش‌های آللی در ژن *AFD1* ذرت ایجاد شده اند. بررسی این جهش‌یافته‌ها نشان داد که تشکیل محورهای پروتئینی کروموزوم (AE) در لپتوتن به میزان بیان ژن *AFD1* بستگی دارد و در حالت هوموزیگوت آلل‌های *afd1-1*، *afd1-2* و *afd1-3*، محورهای کروموزومی در پروفاز ۱ تشکیل نمی‌شوند. با این‌حال، هوموزیگوت‌های آلل جهش‌یافته *afd1-4* با حضور محورهای کروموزومی در لپتوتن و تشکیل ساختار "دسته گل" مشخص می‌شوند. مطالعه جهش-یافته‌های آلل‌های مختلف نشان داد که ژن *AFD1*، شروع تشکیل AE را کنترل نمی‌کند ولی فرآیندهای طویل شدن، بلوغ و تبدیل آنها به عناصر جانبی کمپلکس‌های سیناپتونمالی در طول سیناپسیس کروموزوم‌های هومولوگ را کنترل می‌کند. دخالت احتمالی پروتئین SYN1 در جفت شدن کروموزوم نیز گزارش شده است. بیان آنالوگ‌های REC8 گیاهی خاص میوز نیست. شاید، این‌حالت نتیجه عدم وجود سلول‌های جنسی از پیش تعیین‌شده در گیاهان باشد. در چاودار، جهش *mei8* شناسایی شد. جهش‌یافته‌های *mei8* بواسطه انقباض نامساوی کروماتین در طول کروموزوم‌های میوزی مشخص می‌شوند. این جهش روی سیناپسیس کروموزوم‌های هومولوگ و تشکیل دوک هیچ تاثیری ندارد، بلکه فقط روی انقباض کروموزوم‌های میوزی تأثیر دارد. پیشنهاد شده که جهش *mei8* می‌تواند منجر به نقص در یکی از اجزای کوهسین یا کمپلکس کندانسین فعال در میوز چاودار شود. جهش *mei10* نیز باعث انقباض بیشتر کروموزوم می‌شود که در مراحل مختلف میوز موجب توقف تقسیم می‌شود.

۴- تشکیل ساختار "دسته گل": در گیاهان انتقال از لپتوتن به زیگوتن بواسطه تشکیل خوشه تلومری روی غشای هسته و تشکیل ساختار "دسته گل" کروموزومی مشخص می‌شود. در ذرت، جهش *pam1* شناسایی شده که نقش آن ایجاد اختلال در شکل‌گیری ساختار "دسته گل" است. در جهش‌های *pam1*، تلومرها به طور معمول به غشای هسته متصل شده و چندین دسته تلومری تشکیل می‌شود. بررسی تعدادی دیگر از جهش‌های ذرت نشان داد که جفت شدن کروموزوم‌ها در آنها مختل شده ولی "دسته گل" کروموزومی وجود دارد، لذا گفته شده که تشکیل "دسته گل" و جفت شدن کروموزوم‌ها فرآیندهای مستقلی هستند. در چاودار، جهش *sy1* شناسایی شده که یکی از ویژگی‌های آن اختلال در تشکیل "دسته گل" است. در مراحل مشابه زیگوتن و پاکی‌تن (میوز طبیعی)، در جهش‌های *sy1* سیناپس کروموزوم‌های هومولوگ رخ نمی‌دهد.

۵- نوترکیبی میوزی: بسیاری از ژن‌های گیاهی بسیار مهم دخیل در نوترکیبی میوزی در مراحل زیر شناسایی شده اند.

تشکیل DNAهای دو رشته ای (لپتوتن). نوترکیبی میوزی با شکستن DNAهای دورشته‌ای (DSBs) آغاز می‌شود. در حال حاضر، در ذرت ژنی که بتواند در این فرآیند شرکت کند، شناسایی نشده است. پروتئین SPO11-1 آرابیدوپسیس نیز برای شروع نوترکیبی میوزی ضروری است. پروتئین AtPRD1 که برای تشکیل DSBها در *آرابیدوپسیس* ضروری است، شناسایی شد.

تعمیر DSB در لپتوتن- زیگوتن. اعمال پروتئین‌های MRE11 و RAD50 در *آرابیدوپسیس* مطالعه شده و ثابت شده که کمپلکس MRX برای پردازش DSB ضروری است اما برای تشکیل آنها ضروری نیست. پردازش DSB منجر به ایجاد DNA با انتهای تک رشته ای می‌شود که پروتئین‌های خاصی به آنها متصل می‌شوند (RAD51 و DMC1) و جستجوی هومولوگی را فعال می‌کنند. در ذرت، دو هومولوگ RAD51A و RAD51B شناسایی شده که در جهش‌یافته‌های مضاعف این ژن‌ها، فنوتیپ منحصر به فردی مشاهده می‌شود که شامل جفت شدن، سیناپسیس و تشکیل کیاسماتا بین کروموزوم‌های غیر هومولوگ است. این یافته‌ها به اهمیت RAD51 در تشخیص هومولوگی بین کروموزوم‌ها در طول ترمیم DNA در چرخه سلولی میوزی ذرت اشاره دارد. ویژگی فنوتیپی جهش‌یافته‌های مضاعف *rad51* ذرت مشابه جهش‌یافته‌های *ph* گندم است. بعلاوه، در ذرت ژن *PHS1* شناسایی شده که یک ژن منحصر به فرد دخیل در شروع سازوکارهای باز شدن رشته DNA است.

مراحل نهایی نوترکیبی میوزی در زیگوتن-پاکیتن. در گیاهان از تعمیر DSB حداقل دو نوع محصول مختلف یعنی CO (کراسینگ اورها) و NKO (بدون کراسینگ آور) بوجود می‌آیند. COهای نوع ۱ بواسطه وجود تداخل مشخص می‌شوند در حالی‌که COهای نوع ۲ توسط توزیع مستقل در طول بی‌والنت‌ها مشخص می‌شوند. نسبت این دو نوع CO خاص هر گونه است. در گیاهان وجود دو نوع CO برای اولین بار پیش‌بینی و در حال حاضر با شناسایی و توصیف ژن *Mus81* و هومولوگ پروتئین ZMM در آرابیدوپسیس تأیید شد. در جهش-یافته‌های پروتئین ZMM، وقایع اولیه نوترکیبی مختل نمی‌شوند و سیناپسیس نیز به طور قابل توجهی تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. با این وجود، سرکوب شدیدی روی تشکیل COها وجود دارد. در ژنگان *آرابیدوپسیس*، دو ژن *Mus81* وجود دارند. ثابت شده که یکی از این ژن‌ها در ترمیم DNA نقش داشته و در تشکیل ۹ درصد از COهای میوزی مشارکت دارد.

۶- جستجوی هومولوژی، جفت شدن و سیناپسیس کروموزوم‌های هومولوگ: مهمترین موضوع در مطالعه میوز، بررسی پدیده‌های مولکولی دخیل در شناسایی و جفت شدن کروموزوم‌های هومولوگ است. عواملی مانند شکل ظاهری کروموزوم، توزیع توالی‌های نوکلئوتیدی خاص در DNA و پروتئین‌های متصل به DNA می‌توانند در شناخت کروموزوم‌های هومولوگ نقش داشته باشند، اما سازوکارهای مولکولی این فرآیند پیچیده خیلی کم مطالعه شده است. با خوشه‌بندی تلومرها روی غشای هسته، تشکیل ساختار "دسته گل" و ردیف شدن کروموزومی می‌توان از انطباق موقعیت نسبی مکان‌های هومولوگ در هسته اطمینان حاصل کرد، اما شناسایی مکان‌های هومولوگ و جذب متقابل آنها باید سازوکار مولکولی داشته باشد. جستجوی متقابل مکان‌های ژنی هومولوگ با نوترکیبی همبستگی زیادی دارد. در حقیقت، نوترکیبی می‌تواند روشی برای جستجوی هومولوژی در گیاهان باشد. پروتئین RAD51 در فرآیند شناسایی متقابل و جفت شدن کروموزوم‌های هومولوگ نقش دارد. جهش‌یافته‌های *pam1* و *dsy1* موارد استثنایی هستند که در آنها توزیع RAD51 با سیناپس مختل شده کروموزوم‌های هومولوگ همراه است. در ذرت، ژن منحصر به فرد *PHS1* وظیفه بارگذاری آنزیم‌های نوترکیبی روی کروموزوم‌ها را دارد. ژن *PHS1* پروتئینی را رمزگذاری می‌کند که با پروتئین‌های شناخته شده در موجودات دیگر

شباهت قابل توجهی ندارد. در چاودار نیز جهش *sy3* از تکمیل سیناپس در پروفاز ۱ جلوگیری می‌کند.

۷- سرهم بندی کمپلکس‌های سیناپتونمالی (SC): فرآیند برهمکنش کروموزوم‌های هومولوگ در چهار مرحله انجام می‌شود: جستجوی هومولوژی، انطباق سیناپتیک، جفت شدن و سیناپسیس، یعنی سرهم بندی SC. تشکیل SC مرحله نهایی و تعیین‌کننده در برهمکنش کروموزوم‌های هومولوگ است. تشکیل ناقص سیناپتونمال کمپلکس شایع‌ترین نقص در جهش‌یافته‌های میوزی است. به عنوان مثال، در جهش‌یافته‌های *syn1* *آرابیدوپسیس* و *afd1* ذرت، در نبود یک جزء اصلی کمپلکس کوهسین (یعنی REC8)، سرهم بندی SC اتفاق نمی‌افتد. این وضعیت نشاندهنده وابستگی شروع سرهم بندی SC به انقباض مناسب کروماتید خواهری است. ژن‌هایی که پروتئین‌های ساختاری اجزای SC را رمزگذاری می‌کنند، به طور مستقیم روی سرهم بندی SC تأثیر می‌گذارند. تا به امروز، این جهش‌های ژنی در ذرت ناشناخته مانده اند، اما در آرابیدوپسیس و برنج شناسایی شده اند. در جهش‌یافته‌های *asy1*، سیناپسیس کروموزوم-های هومولوگ در پروفاز ۱ مختل شده است. اخیرا، هومولوگ این ژن در برنج (*PAIR2*) شناسایی شد. جهش‌یافته‌های *asy1* آرابیدوپسیس فنوتیپ سیتولوژیکی بدون سیناپسیس دارند، اما با داشتن کیاسماتای منفرد شناسایی می‌شوند. فنوتیپ برجسته‌تر جهش‌یافته‌های *pair2* برنج فقدان سیناپسیس است. یکی از خصوصیات جهش‌یافته‌های چاودار بدون سیناپسیس (یعنی *sy9*)، اختلال در بارگیری پروتئین ASY1 روی محورهای کروموزوم است. علاوه بر این، در چاودار جهش منحصر به فرد *mei6* توصیف شده که باعث نقص در ساختار عناصر جانبی SC می‌شود. پیشنهاد شده که چنین ناهنجاری‌هایی یا ناشی از تغییرات ساختاری پروتئین‌های تشکیل‌دهنده عناصر جانبی SC و یا ناشی از خطاهای موجود در خود- سرهم بندی این پروتئین‌ها است. در *آرابیدوپسیس*، دو ژن *ZYP1a* و *ZYP1b* توصیف شده اند که اجزای عنصر مرکزی SC (CE) را رمزگذاری می‌کنند. هر دو پروتئین فقط در پروفاز ۱ حضور دارند. ثابت شده که بارگذاری پروتئین AtZYP1 در محور کروموزوم برای شروع نوترکیبی ضروری است. با نبود هر دو پروتئین AtZYP1a و AtZYP1b، میوز به تاخیر می‌افتد و جفت شدن و سیناپس کروموزوم‌ها در اکثر سلول‌های میوزی رخ نمی‌دهد. در غیاب هر دو پروتئین AtZYP1، کیاسماتای بین کروموزوم‌های هومولوگ و غیرهومولوگ تشکیل می‌شود، یعنی عدم وجود ZYP1 در *آرابیدوپسیس*، امکان نوترکیبی بین نواحی کروموزومی غیرهومولوگ را فراهم می‌کند. در جهش‌یافته‌های *dsy2*، تعداد DSBهای هسته سلول میوزی و تعداد کانون‌های پروتئین نوترکیب RAD51 به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد و سیناپسیس کروموزوم‌ها به طور کامل رخ نمی-دهد. ثابت شده که DSY2 نه تنها در تشکیل DSB مشارکت دارد بلکه به عنصر مرکزی عناصر جانبی SC نیز می‌پیوندد.

۸-جفت شدن کروموزوم‌ها و سیناپسیس در پلی پلوئیدها: در گندم نان، ژن *Ph1* شناسایی شده که جفت شدن کروموزوم‌های هومولوگ را هماهنگ می‌کند و لذا در پاکی‌تن، فقط بی‌والنت‌های کروموزوم‌های هومولوگ مشاهده شوند. در جهش‌یافته‌های *ph1* اینکار مختل می-شود زیرا بسیاری از مولتی والنت‌ها تا زمان متافاز ۱ حفظ می‌شوند. با این‌حال، این آلل وحشی مانع از برهمکنش کروموزوم‌های غیرهومولوگ (هومیولوگ) در غیاب یک جفت هومولوگ در دورگ‌های گندم-چاودار نمی‌شود. این‌حالت نشان می‌دهد که جدایی بین هومولوگ‌ها و هومیولوگ‌ها بلافاصله رخ نمی‌دهد بلکه بعد از شروع مرحله جفت شدن کروموزوم‌ها اتفاق می‌افتد. با توجه به این مسئله، ژن *Ph1* برای ممانعت از جفت شدن نادرست ضروری است.

۹- باز شدن انقباض کروماتید خواهری و عملکرد پروتئین‌های شوگوشین: باز شدن انقباض کروماتید خواهری در یوکاریوت‌ها توسط آنزیم سپاراز انجام می-شود که به طور اختصاصی پروتئین RAD21/REC8 را شکسته و منجر به باز شدن حلقه پیچیده کوهسین می-

شود. باز شدن انقباض کروماتین خواهری در اواخر پروفاز ۱ برای جدا شدن مناسب کروموزوم‌های هومولوگ در تقسیم کاهشی ضروری است. آنزیم سپاراز در گیاهان مطالعه نشده است. با این‌حال، در *آرابیدوپسیس* برخی از اجزای رایج آبشار واکنشی که برای باز شدن انقباض لازم هستند، شناخته شده اند. به عنوان مثال، ژن *ASK1* در *آرابیدوپسیس* شناسایی شده است. جهش‌یافته‌های *ask1-1* پیشروی متافاز ۱ عادی دارند اما تفکیک کروموزوم‌ها در آنافاز ۱ آنها مختل می-شود. بررسی دوک تقسیم نشان داد که در جهش‌یافته‌ها دوک‌ها آسیب ندیده‌اند. بنابراین، ناهنجاری‌های آنافاز ۱ در جهش‌یافته‌های *ask1-1* شامل عدم تفکیک هومولوگ‌ها همراه با دوک تقسیم سالم است. پروتئین REC8 گیاهی موجود در نواحی پری‌سنتریک کروموزوم توسط پروتئین‌های خاصی بنام شوگوشین‌ها (SGO) از برش نابهنگام محافظت می‌شود. در میوز طبیعی ذرت، پروتئین ZmSGO1 از مرحله لپتوتن تا تلوفاز ۱ در نواحی پری سنتریک کروموزوم حضور دارد ولی در جهش‌یافته‌های *zmsgo1*، این پروتئین حضور ندارد که منجر به از بین رفتن زودهنگام انقباض در محل سانترومر کروماتید خواهری در متافاز ۱ می‌شود. در آرابیدوپسیس و برنج، پروتئین‌های شوگوشین AtSGOL1، AtSGOL2 و OsSGO1 شناسایی شده اند.

۱۰- ورود به میوز ۲: در *آرابیدوپسیس*، پروتئین OSD1 شناسایی شده که ورود به تقسیم دوم میوز را کنترل می-کند. در جهش‌یافته‌های *osd1-1* و *osd1-2*، اولین تقسیم میوزی عادی است اما تقسیم دوم میوز رخ نمی‌دهد. نتیجه میوز غیرعادی در چنین جهش‌یافته‌هایی، دیادهای دیپلوئیدی میکرو و مگاسپورهاست. در یک آزمایش دشوار، محققان *آرابیدوپسیس*، با استفاده از تلاقی‌های متوالی، ژن‌های *osd1*، *rec8* و *spo11-1* را در یک ژنوتیپ ترکیب کردند. در جهش‌یافته‌های سه گانه بدست آمده، میوز به طور کامل جایگزین میتوز شد. ژنوتیپ جهش-یافته *spo11-1/rec8/osd1*، MiMe (میتوز به جای میوز) نامیده شد. اخیرا، با استفاده از جهش در میوز، برنج با ژنوتیپ MiMe بدست آمده است.

نتیجه‌گیری

تا امروز، در مجموع ۳۹ ژن ویژه میوز در ذرت، ۲۸ ژن در برنج و حدود ۸۰ ژن در *آرابیدوپسیس* شناسایی شده است. مقایسه ژن‌های میوزی غلات، ذرت و برنج با ژن-های گیاه آرابیدوپسیس نشان می‌دهد که مجموعه ای از ژن‌ها با بروز فنوتیپی مشابه در میوز وجود دارند. این ژن-ها شامل *MAC1* ذرت، *TDL1* برنج، *TPD1* *آرابیدوپسیس*، *AM1* ذرت، *SWI1*، *AFD1/ZmREC8* و *SYN1/AtREC8*، *ASY1* *آرابیدوپسیس* و *PAIR2* برنج و دیگر ژن‌ها هستند. جهش در این ژن‌ها منجر به ناهنجاری‌های مشابه در ساختار و رفتار کروموزوم‌ها در طی میوز می‌شود. بررسی بیوانفورماتیکی می‌تواند تفاوت‌های موجود در ساختار داخلی ژن‌ها و مناطق تنظیمی آنها را تشخیص دهد. علاوه بر این، مطالعات ترانسکریپتوم امکان تشخیص تفاوت‌ها در سطح بیان ژن در مراحل مختلف میوز و نیز تشخیص تفاوت‌ها در سطح پیرایش‌های منعکس شده را دارند.

منابع

1. Beadle, G.W., A gene for supernumerary mitosis during spore development in *Zea mays*, *Science*, 1929, vol. 50, pp. 406–407.
2. Beadle, G.W., Genetic and cytological studies of a Mendelian asynaptic in *Zea mays*, *Cornell Agric. Exp. Sta. Mem.*, 1930, vol. 129, pp. 1–23.
3. Rhoades, M.M., Genetic control of chromosomal behavior, *Maize Genet. Coop. Newslett.*, 1956, vol. 30, pp. 38–48.
4. Golubovskaya, I.N., Genetic control of meiosis, *Int. Rev. Cytol.*, 1979, vol. 58, pp. 247–290.
5. Golubovskaya, I.N., Meiosis in maize: *mei*-genes and conception of genetic control of meiosis, *Adv. Genet.*, 1989, vol. 26, pp. 149–192.
6. Kaul, M.L. and Murthy, T.G., Mutant genes affecting higher plant meiosis, *Theor. Appl. Genet.*, 1985, vol. 70, no. 5, pp. 449–466.
7. Hamant, O., Ma, H., and Cande, W.Z., Genetics of meiotic prophase I in plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2006, vol. 57, pp. 267–302.
8. Mercier, R. and Grelon, M., Meiosis in plants: ten years of gene discovery, *Cytogenet. Genome Res.*, 2008, vol. 120, no. 34, pp. 281–290.

9. Cande, W.Z., Golubovskaya, I., Wang, C.J.R., et al., Meiotic genes and meiosis in maize, in *Handbook of Maize*, New York: Springer-Verlag, 2009, pp. 353–375.

10. Cande, W.Z., Freeling, M., and Golubovskaya, I., the life of a geneticist studing meiosis, *Genetics*, 2011, vol. 188, pp. 491–498.

11. Bogdanov, Yu.F., A talented researcher of the genetic control of meiosis: to the 75th anniversary of I.N. Golubovskaya, *Vavilov. Zh. Genet. Sel.*, 2014, vol. 18, no. 2, pp. 228–234.

12. Golubovskaya, I.N., Avalkina, N.A., and Sheridan, W.F., Effect of several meiotic mutations on female meiosis in maize, *Dev. Genet.*, 1992, vol. 13, pp. 411–424.

13. Golubovskaya, I.N., Grebennikova, Z.K., Avalkina, N.A., et al., The role of *ameiotic 1* gene in the initiation of meiosis and subsequent meiotic events in maize, *Genetics*, 1993, vol. 135, pp. 1151–1166.

14. Golubovskaya I.N., Avalkina N.A., Sheridan W.F., New insight into the role of the maize *ameiotic I* locus, *Genetics*, 1997, vol. 147, pp. 1339–1350.

15. Sheridan, W.F., Avalkina, N.A., Shamrov, I.I., et al., The *mac1* gene: controlling the commitment to the meiotic pathway in maize, *Genetics*, 1996, vol. 142, pp. 1009–1020.

16. Sheridan, W.F., Golubeva, E.A., Abrhamova, L.I., et al., The *mac1* mutation alters the developmental fate of the hypodermal cells and their cellular progeny in the maize anther, *Genetics*, 1999, vol. 153, pp. 993–941.

17. Golubovskaya, I.N., Harper, L.C., Pawlowski, W.P., et al., The *pam1* gene is required for meiotic bouquet formation and efficient homologous synapsis in maize (*Zea mays* L.), *Genetics*, 2002, vol. 162, pp. 1979–1993.

18. Golubovskaya, I.N., Hamant, O., Timofejeva, L., et al., Alleles of *afd1* dissect REC8 functions during meiotic prophase I, *J. Cell Sci.*, 2006, vol. 119,pp. 3306–3315.

19. Hamant, O., Golubovskaya, I., Meeley, R., et al., A REC8-dependent plant Shugoshin is required for maintenance of centromeric cohesion during meiosis and has no mitotic functions, *Curr. Biol.*, 2005, vol. 15, no. 10, pp. 948–954.

20. Pawlowski, W.P., Golubovskaya, I.N., and Cande, W.Z., Altered nuclear distribution of recombination protein RAD51 in maize mutants suggests the involvement of RAD51 in meiotic homology recognition, *Plant Cell*, 2003, vol. 15, no. 8, pp. 1807–1816.

21. Pawlowski, W.P., Golubovskaya, I.N., Timofejeva, L., et al., Coordination of meiotic recombination, pairing, and synapsis by *PHS1*, *Science*, 2004, vol. 303, pp. 89–92.

22. Pawlowski, W.P., Wang, C.-J.R., Golubovskaya, I.N., et al., Maize *AMEIOTIC1* is essential for multiple early meiotic processes and likely required for the initiation of meiosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2009, vol. 106, no. 9, pp. 3603–3608.

23. Wang, C.-J.R., Nan, G.-L., Kelliher, T., et al., Maize *multiple archesporial cells 1* (*mac1*), an ortholog of rice *TDL1A*, modulates cell proliferation and identity in early anther development, *Development*, 2012, vol. 139, no. 14, pp. 2594–2603.

24. Glover, J., Grelon, M., Craig, S., et al., Cloning and characterization of *MS5* from *Arabidopsis*: a gene critical in male meiosis, *Plant J.*, 1998, vol. 15, no. 3, pp. 345—356.

25. Caryl, A.P., Armstrong, S.J., Jones, G.H., et al., A homologue of the yeast *HOP1* gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asy1*, *Chromosoma*, 2000, vol. 109, nos. 1–2, pp. 62–71.

26. Motamayor, J.C., Vezon, D., Bajon, C., et al., *Switch* (*swi1*), an *Arabidopsis thaliana* mutant affected in the female meiotic switch, *Sex. Plant Reprod.*, 2000, vol. 12, no. 4, pp. 209–218.

27. Osakabe, K., Yoshioka, T., Ichikawa, H., et al., Molecular cloning and characterization of *RAD51-like* genes from *Arabidopsis thaliana*, *Plant Mol. Biol.*, 2002, vol. 50, pp. 71–81.

28. Higgins, J.D., Sanchez-Moran, E., Armstrong, S.J., et al., The *Arabidopsis* synaptonemal complex protein ZYP1 is required for chromosome synapsis and normal fidelity of crossing over, *Genes Dev.*, 2005, vol. 19, pp. 2488–2500.

29. Mercier, R., Vezon, D., Bullier, E., et al., SWITCH1 (SWI1): a novel protein required for the establishment of sister chromatid cohesion and for bivalent formaRUSSIAN JOURNAL OF GENETICS Vol. 54 No. 4 2018 GENETIC CONTROL OF MEIOSIS IN PLANTS 399 tion at meiosis, *Genes Dev.*, 2001, vol. 15, no. 14, pp. 1859–1871.

30. Mercier, R., Armstrong, S.J., Horlow, C., et al., The meiotic protein SWI1 is required for axial element formation and recombination initiation in *Arabidopsis*, *Development*, 2003, vol. 130, no. 14, pp. 3309–3318.

31. Zamariola, L., De Storme, N., Vannerum, K., et al., SHUGOSHINs and PATRONUS protect meiotic centromere cohesion in *Arabidopsis thaliana*, *Plant J.*, 2014, vol. 77, no. 5, pp. 782–794.

32. Nonomura, K.-I., Miyoshi, K., Eiguchi, M., et al., The *MSP1* gene is necessary to restrict the number of cells entering into male and female sporogenesis and to initiate anther wall formation in rice, *Plant Cell*, 2003, vol. 15, no. 8, pp. 1728–1739.

33. Nonomura, K.I., Nakano, M., Murata, K., et al., An insertional mutation in the rice *PAIR2* gene, the ortholog of *Arabidopsis ASY1*, results in a defect in homologous chromosome pairing during meiosis, *Mol. Genet. Genomics*, 2004, vol. 271, no. 2, pp. 121–129.

34. Nonomura, K., Morohoshi, A., Nakano, M., et al., A germ cell–specific gene of the *ARGONAUTE* family is essential for the progression of premeiotic mitosis and meiosis during sporogenesis in rice, *Plant Cell*, 2007, vol. 19, pp. 2583–2594.

35. Wang, M., Tang, D., Wang, K., et al., OsSGO1 maintains synaptonemal complex stabilization in addition to protecting centromeric cohesion during rice meiosis, *Plant J.*, 2011, vol. 67, no. 4, pp. 583–594.

36. Luo Q., Li Y., Shen Y. et al. Ten years of gene discovery for meiotic event control in rice, *J. Genet. Genomics*, 2014, vol. 41, no. 3, pp. 125–137.

37. Sosnikhina, S.P., Fedotova, Y.S., Smirnov, V.G., et al., Meiotic mutants of rye *Secale cereale* L.: 1. Synaptic mutant *sy1*, *Theor. Appl. Genet.*, 1992, vol. 84, nos. 7–8, pp. 979–985.

38. Sosnikhina, S.P., Fedotova, Y.S., Smirnov, V.G., et al., The study of genetic control of meiosis in rye, *Russ. J. Genet.*, 1994, vol. 30, no. 8, pp. 1043–1056.

39. Sosnikhina, S.P., Mikhailova, E.I., Tikholiz, O.A., et al., Meiotic mutations in rye *Secale cereale* L., *Cytogenet. Genome Res.*, 2005, vol. 109, nos. 1–3, pp. 215–220.

40. Sosnikhina, S.P., Mikhailova, E.I., Tikholiz, O.A., et al., Genetic collection of meiotic mutants of rye *Secale cereale* L., *Russ. J. Genet.*, 2005, vol. 41, no. 10, pp. 1071–1080. https://doi.org/10.1007/s11177-005- 0202-x.

41. Sosnikhina, S.P., Mikhailova, E.I., Tikholiz, O.A., et al., Expression and inheritance of a desynaptic phenotype with impaired homologous synapsis in rye, *Russ. J. Genet.*, 2007, vol. 43, no. 10, pp. 1193–1200. https://doi.org/10.1134/S1022795407100146.

42. Sosnikhina, S.P., Mikhailova, E.I., Tsvetkova, N.V., et al., Impairment of homologous chromosome synapsis in meiosis in rye *Secale cereal*e L. caused by a recessive mutation of the *sy18* gene, *Russ. J. Genet.*, 2009, vol. 45, article 1385.

43. Lovtsyus, A.V., Dolmatovich, T.V., Mikhailova, E.I., et al., Obtaining double mutants for synaptic genes *sy1* and *sy9* in rye and their study by means of molecular cytogenetic methods, *Vestn. S.-Peterb. Univ., Ser. 3: Biol.*, 2009, vol. 3, no. 4, pp. 47–56.

44. Mikhailova, E.I., Lovtsyus, A.V., and Sosnikhina, S.P., Some features of meiosis key events in rye and its synaptic mutants, *Russ. J. Genet.*, 2010, vol. 46, no. 10, pp. 1210–1213. https://doi.org/10.1134/S1022795410100170.

45. Bogdanov, Y.F., Fedotova, Y.S., Sosnikhina, S.P., et al., Bar- and thorn-like abnormalities in synaptonemal complex of a mutant rye, *Genome*, 1998, vol. 41, no. 2, pp. 284–288.

46. Mikhailova, E.I., Sosnikhina, S.P., Kirillova, G.A., et al., Nuclear dispositions of subtelomeric and pericentromeric chromosomal domains during meiosis in asynaptic mutants of rye (*Secale cereale* L.), *J. Cell Sci.*, 2001, vol. 114, no. 10, pp. 1875–1882.

47. Jenkins, G., Mikhailova, E.I., Langdon, T., et al., Strategies for the study of meiosis in rye, *Cytogenet. Genome Res.*, 2005, vol. 109, pp. 221–227.

48. Mikhailova, E.I., Phillips, D., Sosnikhina, S.P., et al., Molecular assembly of meiotic proteins Asy1 and Zyp1 and pairing promiscuity in rye (*Secale cereale* L.) and its synaptic mutant *sy10*, *Genetics*, 2006, vol. 174, no. 3, pp. 1247–1258.

49. Phillips, D., Mikhailova, E.I., Timofejeva, L., et al., Dissecting meiosis of rye using translational proteomics, *Ann. Bot.*, 2008, vol. 101, no. 6, pp. 873–880.

50. Malyshev, S.V., Dolmatovich, T.V., Voilokov, A.V., et al., Molecular genetic mapping of the *sy1* and *sy9* asynaptic genes in rye (*Secale cereale* L.) using microsatellite and isozyme markers, *Russ. J. Genet.*, 2009, vol. 45, no. 12, pp. 1444–1449. https://doi.org/ 10.1134/S1022795409120060.

51. Golubtsov, S.V., Sosnikhina, S.P., Iordanskaya, I.V., et al., Semisterile meiotic mutant *sy11* with heterologous chromosome synapsis in rye *Secale cereale* L., *Russ. J. Genet.*, 2010, vol. 46, no. 6, pp. 682–688. https://doi.org/10.1134/S1022795410060086.

52. Dolmatovich, T.V., Malyshev, S.V., Sosnikhina, S.P., et al., Mapping of meiotic genes in rye (*Secale cereale* L.): Localization of *sy18* mutation with impaired homologous synapsis using microsatellite markers, *Russ. J. Genet.*, 2013, vol. 49, no. 4, pp. 411–416. https://doi.org/ 10.1134/S1022795413040030.

53. Dolmatovich, T.V., Malyshev, S.V., Sosnikhina, S.P., et al., Mapping of meiotic genes in rye (*Secale cereale* L.): localization of *sy19* mutation, impairing homologous synapsis, by means of isozyme and microsatellite markers, *Russ. J. Genet.*, 2013, vol. 49, no. 5, pp. 511–516. https://doi.org/10.1134/S1022795413030058.

54. Simanovsky, S.A., Matveevsky, S.N., Iordanskaya, I.V., et al., Spiral cores of synaptonemal complex lateral elements at the diplotene stage in rye include the ASY1 protein, *Russ. J. Genet.*, 2014, vol. 50, no. 10, pp. 1107–1111. https://doi.org/10.1134/S1022795414100111.

55. Havekes, F.W.J., de Jong, J.H., Heyting, C., et al., Synapsis and chiasma formation in four meiotic mutants of tomato (*Lycopersicon esculentum*), *Chromosome Res.*, 1994, vol. 2, no. 4, pp. 315–325.

56. Havekes, F.W., de Jong, J.H., and Heyting, C., Comparative analysis of female and male meiosis in three meiotic mutants of tomato, *Genome*, 1997, vol. 40, no. 6, pp. 879–886.

57. Qiao, H., Offenberg, H.H., and Anderson, L.K., Altered distribution of MLH1 foci is associated with changes in cohesins and chromosome axis compaction in an asynaptic mutant of tomato, *Chromosoma*, 2012, vol. 121, no. 3, pp. 291–305.

58. Lundqvist, U., Franckowiak, J.D., and Konishi, T., New and revised descriptions of barley genes, *Barley Genet. Newslett.*, 1997, vol. 26, pp. 22–516.

59. Barakate, A., Higgins, J.D., Vivera, S., et al., The synaptonemal complex protein ZYP1 is required for imposition of meiotic crossovers in barley, *Plant Cell*, 2014, vol. 26, no. 2, pp. 729–740.

60. Colas, I., Macaulay, M., Higgins, J.D., et al., A spontaneous mutation in MutL-Homolog 3 (HvMLH3) affects synapsis and crossover resolution in the barley desynaptic mutant des10, *New Phytol.*, 2016, vol. 212, no. 3, pp. 693–707.

61. Feldman, M., The effect of chromosome 5B, 5D, and 5A on chromosomal pairing in *Triticum aestivum*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1966, vol. 55, pp. 1447–1453.

62. Martinez-Perez, E., Shaw, P., and Moore, G., The *Ph1* locus is needed to ensure specific somatic and meiotic centromere association, *Nature*, 2001, vol. 411, pp. 204–207.

63. Jenkins, G. and Jimenez, G., Genetic control of synapsis and recombination in *Lolium* amphidiploids, *Chromosoma*, 1995, vol. 104, no. 3, pp. 164–168.

64. Moore, G., Meiosis in allopolyploids—the importance of “Teflon” chromosomes, *Trends Genet.*, 2002, vol. 18, no. 9, pp. 456–463.

65. Ma, H., Molecular genetic analyses of microsporogenesis and microgametogenesis in flowering plants, *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2005, vol. 56, pp. 393–434.

66. Feng, X. and Dickinson, H.G., Packaging the male germline in plants, *Trends Genet.*, 2007, vol. 23, no. 10, pp. 503–510.

67. Zhao, X., de Palma, J., and Oane, R., et al., OsTDL1A binds to the LRR domain of rice receptor kinase MSP1, and is required to limit sporocyte numbers, *Plant J.*, 2008, vol. 54, no. 3, pp. 375–387.

68. Yang, S.-L., Jiang, L., Puah, C.S., et al., Overexpression of *TAPETUM DETERMINANT1* alters the cell fates in the Arabidopsis carpel and tapetum via genetic interaction with *EXCESS MICROSPOROCYTES1/ EXTRA SPOROGENOUS CELLS*, *Plant Physiol.*, 2005, vol. 139, no. 1, pp. 186–191.

69. Canales, C., Bhatt, A.M., Scott, R., et al., EXS, a putative LRR receptor kinase, regulates male germline cell number and tapetal identity and promotes seed development in *Arabidopsis*, *Curr. Biol.*, 2002, vol. 12, no. 20, pp. 1718–1727.

70. Zhao, D.Z., Wang, G.F., Speal, B., et al., The *EXCESS MICROSPOROCYTES1* gene encodes a putative leucine-rich repeat receptor protein kinase that controls somatic and reproductive cell fates in the *Arabidopsis*

anther, *Genes Dev.*, 2002, vol. 16, no. 15, pp. 2021–2031.

71. Sorensen, A.-M., Krober, S., Unte, U.S., et al., The *Arabidopsis ABORTED MICROSPORES* (*AMS*) gene encodes a MYC class transcription factor, *Plant J.*, 2003, vol. 33, no. 2, pp. 413–423.

72. Wilson, Z.A., Morroll, S.M., Dawson, J., et al., The *Arabidopsis MALE STERILITY1* (*MS1*) gene is a transcriptional regulator of male gametogenesis, with homology to the PHD-finger family of transcription factors, *Plant J.*, 2001, vol. 28, no. 1, pp. 27–39.

73. Higginson, T., Li, S.F., Parish, R.W., *AtMYB103* regulates tapetum and trichome development in *Arabidopsis thaliana*, *Plant J.*, 2003, vol. 35, no. 2, pp. 177–192.

74. Holmes, R.J. and Cohen, P.E., Small RNAs and RNAi pathways in meiotic prophase I, *Chromosome Res.*, 2007, vol. 15, no. 5, pp. 653–665.

75. Golubovskaya, I.N., Grebennikova, Z.K., and Avalkina, N.A., Novel mei gene allele *ameiotic 1* (*am1*) in maize and the problem of genetic control of meiosis initiation in higher plants, *Genetika* (Moscow), 1992, vol. 28, no. 3, pp. 137–146.

76. Siddiqi, I., Ganesh, G., Grossniklaus, U., et al., The *dyad* gene is required for progression through female meiosis in *Arabidopsis*, *Development*, 2000, vol. 127, pp. 197–207.

77. Azumi, Y., Liu, D., Zhao, D., et al., Homolog interaction during meiotic prophase I in *Arabidopsis* requires the *SOLO DANCERS* gene encoding a novel cyclin-like protein, *EMBO J.*, 2002, vol. 21, no. 12, pp. 3081–3095.

78. Stevens, R., Grelon, M., Vezon, D., et al., A *CDC45* homolog in *Arabidopsis* is essential for meiosis, as shown by RNA interference-induced gene silencing, *Plant Cell*, 2004, vol. 16, no. 1, pp. 99–113.

79. Wang, Y., Magnard, J.-L., McCormick, S., et al., Progression through meiosis I and meiosis II in *Arabidopsis* anthers is regulated by an A-type cyclin predominately expressed in prophase I, *Plant Physiol.*, 2004, vol. 136, no. 4, pp. 4127–4135.

80. Kaur, J., Sebastian, J., and Siddiqi, I., The *Arabidopsis-mei2-like* genes play a role in meiosis and vegetative growth in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 2006, vol. 18, no. 3, pp. 545–559.

81. Strich, R., Meiotic DNA replication, *Curr. Top. Dev. Biol.*, 2004, vol. 61, pp. 29–60.

82. Haering, C.H., Lowe, J., Hochwagen, A., et al., Molecular architecture of SMC proteins and the yeast cohesin complex, *Mol. Cell*, 2002, vol. 9, no. 4, pp. 773–788.

83. Ishiguro, K. and Watanabe, Y., Chromosome cohesion in mitosis and meiosis, *J. Cell Sci.*, 2007, vol. 120, no. 3, pp. 367–369.

84. Bai, X., Peirson, B.N., Dong, F., et al., Isolation and characterization of *SYN1*, a *RAD21*-like gene essential for meiosis in *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 1999, vol. 11, no. 3, pp. 417–430.

85. Cai, X., Dong, F., Edelmann, R.E., et al., The *Arabidopsis* SYN1 cohesin protein is required for sister chromatid arm cohesion and homologous chromosome pairing, *J. Cell Sci*., 2003, vol. 116, pp. 2999–3007.

86. Chelysheva, L., Diallo, S., Vezon, D., et al., AtREC8 and AtSCC3 are essential to the monopolar orientation of the kinetochores during meiosis, *J. Cell Sci.*, 2005, vol. 118, no. 20, pp. 4621–4632.

87. Hirano, T., Condensins: universal organizers of chromosomes with diverse functions, *Genes Dev.*, 2012, vol. 26, no. 15, pp. 1659–1678.

88. Mainiero, S. and Pawlowski, W.P., Meiotic chromosome structure and function in plants, *Cytogenet. Genome Res.*, 2014, vol. 143, nos. 1–3, pp. 6–17.

89. Fedotova, Yu.S., Gadzhieva, S.A., and Bogdanov, Yu.F., Expression at the ultrastructural level of the meiotic mutation *mei10* compact chromosomes in rye plants, *Dokl. Akad. Nauk.*, 1995, vol. 243, no. 4, pp. 570–572.

90. Mikhailova, E.I., Tolkacheva, A.V., Mal'tseva, A.L., et al., A search for meiosis-specific proteins in rye *Secale cereale* L. and mutants of the Peterhof genetic collection, *Khromosoma 2015* (Chromosome 2015) (Proc. Int. Conf.), Novosibirsk, 2015.

91. Bhatt, A.M., Canales, C., and Dickinson, H.G., Plant meiosis: the means to in, *Trends Plant Sci.*, 2001, vol. 6, no. 3, pp. 114–121.

92. Anderson, L.K. and Stack, S.M., Recombination nodules in plants, *Cytogenet. Genome Res.*, 2005, vol. 109. nos. 1–3, pp. 198–204.

93. Grelon, M., Vezon, D., Gendrot, G., et al., AtSPO11-1 is necessary for efficient meiotic recombination in plants, *EMBO J.*, 2001, vol. 20, no. 3, pp. 589–600.

94. Hartung, F. and Puchta, H., Molecular characterization of homologues of both subunits A (SPO11) and B of the archaebacterial topoisomerase 6 in plants, *Gene*, 2001, vol. 271, no. 1, pp. 81–86.

95. Stacey, N.J., Kuromori, T., Azumi, Y., et al., *Arabidopsis* SPO11-2 functions with SPO11-1 in meiotic recombination, *Plant J.*, 2006, vol. 48, no. 2, pp. 206–216.

96. Keeney, S., Mechanism and control of meiotic recombination initiation, *Curr. Top. Dev. Biol.*, 2001, vol. 52, pp. 1–53.

97. Jolivet, S., Vezon, D., Froger, N., et al., Non conservation of the meiotic function of the Ski8/Rec103 homolog in *Arabidopsis*, *Genes Cells*, 2006, vol. 11, no. 6, pp. 615–622.

98. De Muyt, A., Vezon, D., Gendrot, G., et al., AtPRD1 is required for meiotic double strand break formation in *Arabidopsis thaliana*, *EMBO J.*, 2007, vol. 26, no. 18, pp. 4126–4137.

99. Borde, V., The multiple roles of the Mre11 complex for meiotic recombination, *Chromosome Res.*, 2007, vol. 15, no. 5, pp. 551–563.

100. Puizina, J., Siroky, J., Mokros, P., et al., Mre11 deficiency in *Arabidopsis* is associated with chromosomal instability in somatic cells and Spo11-dependent genome fragmentation during meiosis, *Plant Cell*,

2004, vol. 16, no. 8, pp. 1968–1978. 101. Bleuyard, J.-Y., Gallego, M.E., and White, C.I., Meiotic defects in the *Arabidopsis rad50* mutant point to conservation of the MRX complex function in early stages of meiotic recombination, *Chromosoma*, 2004, vol. 113, no. 4, pp. 197–203.

102. Shinohara, A. and Shinohara, M., Roles of RecA homologues Rad51 and Dmc1 during meiotic recombination, *Cytogenet. Genome Res.*, 2004, vol. 107, nos. 3–4, pp. 201–207.

103. Rey, M.-D., Calderon, M.C., and Prieto, P., The use of the *ph1b* mutant to induce recombination between the chromosomes of wheat and barley, *Front. Plant Sci.*, 2015, vol. 6:160. doi 10.3389/fpls.2015.00160

104. Li, J., Harper, L.C., Golubovskaya, I., et al., Functional analysis of maize *RAD51* in meiosis and doublestrand break repair, *Genetics*, 2007, vol. 176, no. 3, pp. 1469–1482.

105. Li, W., Chen, C., Markmann-Mulisch, U., et al., The *Arabidopsis AtRAD51* gene is dispensable for vegetative development but required for meiosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2004, vol. 101, no. 29, pp. 10596–10601.

106. Couteau, F., Belzile, F., Horlow, C., et al., Random chromosome segregation without meiotic arrest in both male and female meiocytes of a *dmc1* mutant of *Arabidopsis*, *Plant Cell*, 1999, vol. 11, no. 9, pp. 1623–1634.

107. Siaud, N., Dray, E., Gy, I., et al., Brca2 is involved in meiosis in *Arabidopsis thaliana* as suggested by its interaction with Dmc1, *EMBO J.*, 2004, vol. 23, no. 6, pp. 1392–1401.

108. Kerzendorfer, C., Vignard, J., Pedrosa-Harand, A., et al., The *Arabidopsis thaliana* MND1 homologue plays a key role in meiotic homologous pairing, synapsis and recombination, *J. Cell Sci.*, 2006, vol. 119, pp. 2486–2496.

109. Mezard, C., Vignard, J., Drouaud, J., et al., The road to crossovers: plants have their say, *Trends Genet.*, 2007, vol. 23, no. 2, pp. 91–99.

110. Lynn, A., Soucek, R., and Borner, G.V., ZMM proteins during meiosis: crossover artists at work, *Chromosome Res.*, 2007, vol. 15, no. 5, pp. 591–605.

111. Copenhaver, G.P., Housworth, E.A., and Stahl, F.W., Crossover interference in *Arabidopsis*, *Genetics*, 2002, vol. 160, no. 4, pp. 1631–1639.

112. Hartung, F., Suer, S., Bergmann, T., et al., The role of AtMUS81 in DNA repair and its genetic interaction with the helicase AtRecQ4A, *Nucleic Acids Res.*, 2006, vol. 34, no. 16, pp. 4438–4448.

113. Berchowitz, L.E., Francis, K.E., Bey, A.L., et al., The role of *AtMUS81* in interference-insensitive crossovers in *A. thaliana*, *PLoS Genet.*, 2007, vol. 3, no. 8.

114. Anderson, L.K., Lohmiller, L.D., Tang, X., et al., Combined fluorescent and electron microscopic imaging unveils the specific properties of two classes of meiotic crossovers, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 2014, vol. 111, no. 37, pp. 13415–13420.

115. Franklin, A.E., McElver, J., Sunjevaric, I., et al., Three-dimensional microscopy of the Rad51 recombination protein during meiotic prophase, *Plant Cell*, 1999, vol. 11, no. 5, pp. 809–824.

116. Bass, H.W., Bordoli, S.J., and Foss, E.M., The *desynaptic* (*dy*) and *desynaptic1* (*dsy1*) mutations in maize (*Zea mays* L.) cause distinct telomere-misplacement phenotypes during meiotic prophase, *J. Exp. Bot.*, 2003, vol. 54, no. 380, pp. 39–46.

117. Loidl, J., The initiation of meiotic chromosome pairing: the cytological view, *Genome*, 1990, vol. 33, no. 6, pp. 759–778.

118. Caryl, A.P., Armstrong, S.J., Jones, G.H., et al., A homologue of the yeast *HOP1* gene is inactivated in the *Arabidopsis* meiotic mutant *asy1*, *Chromosoma*, 2000, vol. 109, nos. 1–2, pp. 62–71.

119. Hollingsworth, N.M., Goetsch, L., and Byers, B., The *HOP1* gene encodes a meiosis-specific component of yeast chromosomes, *Cell*, 1990, vol. 61, no. 1, pp. 73–84.

120. Zetka, M.C., Kawasaki, I., Strome, S., et al., Synapsis and chiasma formation in *Caenorhabditis elegans* require HIM-3, a meiotic chromosome core component that functions in chromosome segregation, *Genes Dev.*, 1999, vol. 13, no. 17, pp. 2258–2270.

121. Grishaeva, T.M. and Bogdanov, Yu.F., Conservation and variability of synaptonemal complex proteins in phylogenesis of eukaryotes, *Int. J. Evol. Biol.*, 2014:856230.

122. Lee, D.V., Kao, Y., Ku, J., et al., The axial element protein DESYNAPTIC2 mediates meiotic doublestrand break formation and synaptonemal complex assembly in maize, *Plant Cell*, 2015, vol. 27, pp. 2516–2529.

123. Borner, G.V., Kleckner, N., and Hunter, N., Crossover/noncrossover differentiation, synaptonemal complex formation, and regulatory surveillance at the leptotene/zygotene transition of meiosis, *Cell*, 2004, vol. 117, no. 1, pp. 29–45.

124. Yang, M., Hu, Y., Lodhi, M., et al., The *Arabidopsis SKP1-LIKE1* gene is essential for male meiosis and may control homologue separation, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1999, vol. 96, no. 20, pp. 11416–11421.

125. Cromer, L., Jolivet, S., Horlow, C., et al., Centromeric cohesion is protected twice at meiosis, by SHUGOSHINs

at anaphase I and by PATRONUS at interkinesis, *Curr. Biol.*, 2013, vol. 23, no. 21, pp. 2090–2099.

126. D'Erfurth, I., Jolivet, S., Froger, N., et al., Turning meiosis into mitosis, *PLoS Biol.*, 2009, vol. 7, no. 6. e1000124

127. Mieulet, D., Jolivet, S., Rivard, M., et al., Turning rice meiosis into mitosis, *Cell Res.*, 2016, vol. 26, no. 11, pp. 1242–1254.

128. Lambing, C., Franklin, F.C.H., and Wang, C.-J.R., Understanding and manipulating meiotic recombination in plants, *Plant Physiol.*, 2017, vol. 173, no. 3, pp. 1530–1542.

129. Bogdanov, Yu.F., Variation and evolution of meiosis, *Russ. J. Genet.*, 2003, vol. 39, no. 4, pp. 363–381. https://doi.org/10.1023/A:1023345311889.

130. Zhou, A. and Pawlowski, W.P., Regulation of meiotic gene expression in plants, *Front. Plant Sci.*, 2014, vol. 5.

131. Stassen, N.Y., Logsdon, J.M., Vora, G.J., et al., Isolation and characterization of rad51 orthologs from *Coprinus cinereus* and *Lycopersicon esculentum*, and phylogenetic analysis of eukaryotic recA homologs, *Curr. Genet.*, 1997, vol. 31, pp. 144–157.

132. Grishaeva, T.M. and Bogdanov, Yu.F., Evolutionary conservation of recombination proteins and variability of meiosis-specific proteins of chromosomes, *Russ. J. Genet.*, 2017, vol. 53, no. 5, pp. 542–550. https://doi.org/10.1134/S1022795417040081.

معرفی و نقد کتاب

"رفتار، بوم‌شناسی و تکامل سیکلیدماهیان" تألیف ماریا ای. آباته و دیوید نواکس (۲۰۲۱) به بهانه ارائه گزارش‌های مختلف پیرامون اثرات منفی گونه‌های سیکلید (تیلاپیا) در آب‌های داخلی ایران

علیرضا رادخواه* و سهیل ایگدری

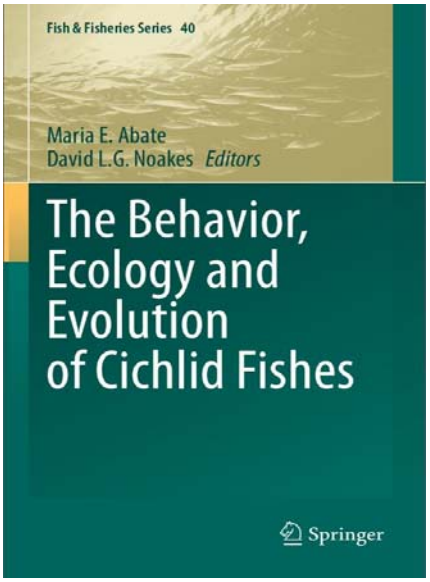
ایران، کرج، دانشگاه تهران، دانشکده منابع طبیعی، گروه شیلات

چکیده

امروزه توسعه فعالیت‌های آبزی‌پروری موجب انتقال بسیاری از گونه‌های پرورشی به کشورهای مختلف شده است. کشور ایران با توجه به قرارگیری در یک موقعیت جغرافیایی ویژه و با توجه به توسعه این فعالیت‌ها در معرض هجوم گونه‌های غیربومی و مهاجم قرار گرفته است. با توجه به اعطای مجوزات مختلف برای توسعه پرورش ماهیان تیلاپیا از سوی سازمان شیلات در ایران و از طرف دیگر، پیامدهای اکولوژیکی این ماهیان غیربومی و مهاجم بر اکوسیستم‌های داخلی ایران، لازم است که اطلاعات جامعی از این گروه ماهیان برای جامعه علمی و مدیران بخش‌های محیطزیست و شیلات کشور فراهم شود تا این اطلاعات در تصمیم‌گیری‌های مدیریتی مورد بهره‌برداری قرار گیرد. با توجه به این مسئله، نویسندگان این مقاله تصمیم گرفتند که کتابی را که مدتی پیش توسط انتشارات بین المللی اسپرینگر در سال ۲۰۲۱ در رابطه با سیکلیدماهیان منتشر شده است، معرفی نمایند. عنوان کتاب مورد نظر " رفتار، بوم‌شناسی و تکامل ماهیان سیکلید" می‌باشد که از از زوایای مختلف به بررسی ویژگی‌های زیستی، بوم-شناختی و تکاملی سیکلیدماهیان پرداخته است. این مقاله کتاب مورد نظر را با توجه به جامعیتی که در موضوع مورد نظر دارد، به‌عنوان یک رفرنس جامع و معتبر در زمینه سیکلیدماهیان (تیلاپیا) برای جامعه علمی و مدیران کشور پیشنهاد می‌نماید.

واژگان کلیدی: سیکلیدماهیان، تیلاپیا، اثرات بوم‌شناختی، تکامل، رفتارشناسی ماهیان

*نویسنده مسئول؛ پست الکترونیکی: alirezaradkhah@ut.ac.ir



بسیاری از سیکلیدماهیان، به‌ویژه تیلاپیا، از منابع غذایی مهم به‌شمار می‌روند. علاوه بر این، این خانواده شامل بسیاری از ماهی‌های محبوب آکواریومی آب شیرین از جمله آنجل (*Pterophyllum scalare*)، اُسکار (*Astronotus ocellatus*) و دیسکاس (*Symphysodon discus*) هستند که توسط علاقه‌مندان نگهداری می‌شوند. سیکلیدها به‌طور ویژه از تنوع بالایی در دریاچه‌های بزرگ آفریقا برخوردارند و از طرف دیگر، برای مطالعات گونه‌زایی در مباحث تکاملی بسیار مهم شناخته می‌شوند (Salzburger *et al.*, 2005). بر اساس گزارش‌های به‌دست آمده، بسیاری از سیکلیدهایی که خارج از محدوده طبیعی خود وارد اکوسیستم‌های آبی سایر کشورها شدند، به‌عنوان گونه‌های بیگانه و مهاجم شناخته شدند (GSMFC, 2007).

این مسئله در مورد گونه‌هایی از سیکلیدماهیان که به ایران راه یافته‌اند، کاملاً صادق است و به یکی از معضلات و موضوعات داغ در حوزه محیطزیست کشور تبدیل شده است.

تاکنون، شش گونه از سیکلیدماهیان از آب‌های داخلی ایران گزارش شده است که از جمله آن‌ها، چهار گونه از ماهیان تیلاپیا شامل تیلاپیای آبی (*Oreochromis aureus*)، تیلاپیای نیل (*O. niloticus*)، تیلاپیای زیلی (*Coptodon zillii*) و سیکلیدماهی گورخری (*Amatitlania nigrofasciata*) به‌واسطه نظرات کارشناسان محیطزیست، ماهی‌شناسی و متخصصین بوم‌شناسی کشور به‌عنوان گونه-های غیربومی و مهاجم در کشور مطرح شده‌اند (Radkhah and Eagderi, 2021). گونه‌های مورد نظر به دلیل برخورداری از برخی ویژگی‌های خاص، از جمله تحمل طیف وسیعی از شرایط محیطی، توانایی تکثیر سریع در محیط‌های مختلف، رژیم غذایی گسترده، کاهش جمعیت برخی از ماهیان بومی از طریق رقابت برای آشیان‌سازی، رقابت با سایر گونه‌های آبزی به‌دلیل رفتار تهاجمی و انتقال انگل‌ها و سایر عوامل بیماری‌زا به‌عنوان گونه‌های مهاجم در ایران و جهان شناخته شده‌اند (رادخواه و ایگدری، ۱۴۰۰). تاکنون، مطالعات متعددی پیرامون اثرات بوم‌شناختی گونه‌های معرفی شده تیلاپیا در نقاط مختلف جهان انجام شده است که نتایج آن‌ها در قالب‌های گوناگون از جمله کتب، مقاله، گزارش‌ها، یادداشت‌های علمی و غیره انتشار یافته است.

یکی از کتاب‌های جدیدی که اخیراً در زمینه سیکلیدماهیان توسط انتشارات بین‌المللی اسپرینگر چاپ شده است، تحت عنوان "The Behavior, Ecology and Evolution of Cichlid Fishes" می‌باشد. این کتاب که توسط ماریا ای. آباته و دیوید اِل.جی. نواکس[1] مورد ویراستاری قرار گرفته است (شکل ۱)، با همکاری جمع کثیری از محققین و دانشمندان در حوزه‌های مختلف شامل اکولوژی، تکامل و رفتارشناسی آبزیان تدوین شده است. مطالعه کتاب مورد نظر و اهمیت اطلاعات آن در کشورهای مختلف، تیم تحقیقاتی ما را واداشت تا یک نقد و بررسی پیرامون این کتاب فراهم سازیم. کتاب حاضر شامل ۲۱ فصل می‌باشد که در اینجا به‌طور جداگانه و مختصر هر فصل مرور می-گردد.

فصل‌های اول و دوم به‌طور کلی به تحقیقات انجام گرفته در مورد سیکلیدماهیان در طی سال‌های گذشته اشاره می-کنند. فصل ۲ به‌طور ویژه به بررسی تاریخچه زیست-شناسی و تکاملی سیکلیدماهیان در طی ۲۰۰ سال گذشته می‌پردازد و وضعیت آن‌ها را از ابتدا از گونه‌های ساکن در آمریکای جنوبی و آفریقا تا پژوهش‌های زیست‌شناسان در قرن ۲۱ بررسی می‌کند. فصل ۳ به منشا، تنوع ژنتیکی و خصوصیات اکولوژیکی سیکلیدماهیان آفریقایی می‌پردازد. در این فصل، در ابتدا به تنوع گونه‌ای سیکلیدماهیان در قاره آفریقا و چگونگی سازگاری آنها اشاره می‌شود و سپس مکانیسم‌های گونه‌زایی این ماهیان مورد تمرکز قرار می‌گیرد. در بخشی از این فصل به اهمیت حفاظت از تنوع ژنتیکی ماهیان آفریقایی اشاره می‌شود که از دیدگاه اکولوژیکی از اهمیت بسیار بالایی برخوردار هستند. فصل ۴ به‌عنوان یک فصل موردی به بررسی گونه‌زایی در سیکلیدماهیان و تنوع و ویژگی‌های اکولوژیکی آن‌ها در حوضه رودخانه کنگو[2] می پردازد. در این فصل، در ابتدا فهرستی از گونه های موجود سیکلیدماهیان در حوضه رودخانه کنگو ارائه می‌گردد. در ادامه با بررسی ویژگی‌های محیطی و ژئوهیدرولوژیکی رودخانه کنگو، دلیل تنوع بالای سیکلیدماهیان در این حوضه شرح داده می‌شود. در بخشی از این فصل به یکی از گونه‌های مهم سیکلیدماهیان در رودخانه کنگو یعنی *Lamprologus lethops* پرداخته می شود. این گونه با توجه به سازگاری‌های ویژه‌ای (از جمله چشم‌های کاهش یافته و بدون رنگدانه) که اتخاذ نموده است، قابلیت زیست در رودخانه کنگو را پیدا کرده است. در فصل ۴ به مباحث فایلوژنتیک مولکولی در مورد سیکلیدماهیان رودخانه کنگو پرداخته می‌شود و سپس به دو مقوله بسیار مهم شامل کلونیزاسیون (Colonization) و هیبریداسیون (Hybridization) اشاره می شود. لازم به ذکر است که کلونیزاسیون به‌معنای اشغال یک زیستگاه یا قلمرو توسط یک جامعه بیولوژیکی یا یک آشیان اکولوژیکی توسط یک جمعیت واحد از یک گونه است. کلونیزاسیون بیولوژیکی به همه گونه‌ها، از میکروب‌ها –از جمله

[1] Maria E. Abate and David L.G. Noakes

[2] Congo River

باکتری‌ها و قارچ‌ها- تا موجودات پیچیده‌تر مانند جانوران و گیاهان مربوط می‌شود (Onofri, 2011).

هیبریداسیون نیز یک فرآیند بیولوژیکی است که به‌عنوان اختلاط دو گونه مجزا و در عین حال از نظر تاکسونومیک نزدیک به هم تعریف می‌شود، که ممکن است عمیقاً بر ساختار ژنتیکی، بقای طولانی مدت و تکامل گونه تأثیر بگذارد (Gompert and Buerkle, 2016).

در فصل ۵ روی سیکلیدماهیان نئوتروپیکال تمرکز می‌شود. این گروه از سیکلیدها که بیشتر از ۵۰۰ گونه دارند، اغلب در مرکز و جنوب آمریکا پراکنش یافته‌اند. در ابتدای این فصل، نویسنده دورنمایی از وضعیت گذشته و حال سیکلیدهای نئوتروپیکال ارائه می‌دهد، سپس، به تنوع تاکسونومیک و پراکنش جغرافیایی این ماهیان در منطقه نئوتروپیکال اشاره می‌کند. در بخش دیگری از این فصل نیز تنوع ریختی و بوم‌شناختی سیکلیدهای نئوتروپیکال مورد بررسی قرار می‌گیرد که با ارائه تصاویر مناسب از گونه‌های ماهی بسیار جالب بحث شده است. در ادامه، وضعیت تکاملی ماهیان به‌طور جداگانه در دو منطقه آمریکای شمالی و آمریکای مرکزی مورد مطالعه قرار می‌گیرد. در پایان این فصل به بررسی واگرایی[1] بین جمعیت‌های رودخانه‌ای و دریاچه‌ای پرداخته می‌شود که در قالب یک سوال مهم مطرح می‌شود. فصل ۶ به بررسی سازگاری سیمپتریک و آلوپتریک در سیکلیدهای ساکن دریاچه های نیکاراگوئه می‌پردازد. در این مطالعه پس از معرفی سیکلیدماهیان حاضر در هر کدام از دریاچه های نیکاراگوئه، به گونه‌زایی آلوپتریک و سیمپتریک (Allopatric and sympatric speciation) این ماهیان و تنوع شکلی بین آنها اشاره می‌شود. در این بخش به مباحثی همچون تکامل موازی پرداخته می‌شود و روند تغییرات عملکردی ماهیان از جمله تغییرات تغذیه‌ای مورد مطالعه قرار می‌گیرد.

در فصل ۷ به‌عنوان یک فصل مهم، نگارندگان به بررسی تاثیر عوامل انسانی بر جوامع ماهی سیکلید در دریاچه‌های ویکتوریا، کیوگا و نابوگابو در قاره آفریقا پرداختند. در این فصل، اطلاعاتی از کاهش جمعیت گونه‌های بومی *Oreochromis* و *Lates niloticus* در دریاچه های مذکور ارائه گردید. نویسندگان شکار و صید بی‌رویه ماهیان، تغییر شرایط محیطی و زیستگاهی، به‌ویژه یوتریفیکاسیون، کاهش اکسیژن و کاهش شفافیت آب را به‌عنوان عوامل استرس‌زای انسانی بیان نمودند. فصل ۸ روی پاسخ‌های سریع تکاملی در سیکلیدها و سازگاری ژنتیکی مورفولوژیکی آنها تمرکز می‌کند. در این فصل، نگارندگان در قالب یک مطالعه موردی به بررسی پاسخ‌های تکاملی در گونه *Haplochromis pyrrhocephalus* می‌پردازند و خصوصیات ژنتیکی، ریخت‌شناسی و تغذیه‌ای آن در در گذر زمان مورد مطالعه قرار می‌دهند. فصل ۹ روی شناسایی و حفاظت از ماهیان تیلاپیا در قرن ۲۱ تاکید می‌کند. در این فصل، در ابتدا گونه‌های تیلاپیا معرفی می‌شود و سپس، ویژگی‌های ریخت‌شناسی آنها با تکیه بر مطالعات گذشته مرور می‌شود. در بخش مهمی از این فصل، نویسندگان روی تهدیدات و فرصت‌های مطرح پیرامون حفاظت از ماهیان تیلاپیا تمرکز می‌کنند. در ادامه، روش‌های جدید برای ارزیابی زیستی[2] جمعیت‌های تیلاپیا معرفی می‌شود که شامل DNA زیست‌محیطی می‌باشد.

فصل ۱۰ به معرفی سیکلیدهای معرفی شده به قاره امریکا می‌پردازد و علاوه بر بررسی ویژگی‌های بوم شناختی به پراکنش و تاثیرات منفی آنها نیز اشاره می‌کند. مطالعات گذشته نشان داده است که جابه‌جایی ماهیان در بین زیستگاه‌های مختلف ممکن است به‌واسطه مداخلات انسانی و برای اهداف گوناگون از جمله آبزی‌پروری صورت گیرد (Radkhah and Eagderi, 2021). با توجه به این مسئله، بخش قابل توجهی از سیکلیدهای معرفی شده به آمریکا با هدف توسعه آبزی‌پروری به این قاره راه یافتند، اما در ادامه، اثرات اکولوژیکی منفی‌ای بر اکوسیستم های جدید برجای گذاشتند، به‌طوری که بر طبق گزارشات مستند سازمان‌ها و نهادهای مسئول در قاره آمریکا، سیکلیدماهیان معرفی شده موجب کاهش قابل توجه ماهیان بومی از جمله سیکلیدهای بومی شدند. این اثرات منفی به‌طور ویژه در مورد معرفی گونه‌های تیلاپیا به آب‌های داخلی ایران نیز در گزارشات مختلف مطرح شده است. از این‌رو، مطالعه فصل ۱۰ می‌تواند تجربیات حاصل از معرفی سیکلیدماهیان به قاره آمریکا و اثرات اکولوژیکی منفی آن را برای خوانندگان آشکار سازد. مسلماً کسب اطلاع از این تجربیات می‌تواند برای مسائل زیست‌محیطی مطرح در ایران از جمله تصمیم‌گیری در مورد پرورش یا عدم

[1] Divergence

[2] Biomonitoring

پرورش ماهیان تیلاپیا بسیار راهگشا و کمک کننده باشد. متاسفانه یکی از نواقص مدیریتی که در بخش دولتی کشور وجود دارد عدم استفاده از نظرات کارشناسان و متخصصین در حوزه‌های محیطزیست و شیلات می‌باشد که متاسفانه از سوی مدیران و سیاستگذران کشور در اعصار مختلف مورد بی‌توجهی قرار گرفته است.

فصل ۱۱ روی اکولوژی بصری تکامل در سیکلیدماهیان تمرکز می‌کند. در این فصل، نگارندگان در ابتدا به بررسی چشم سیکلیدماهیان از نظر فیزیولوژیکی می‌پردازند و سپس اکولوژی بصری این ماهیان و ارتباط آن با عوامل محیطی مانند شفافیت آب را مورد مطالعه قرار می‌دهند. مطالعه تکامل در اکولوژی بصری این ماهیان می‌تواند در مورد گونه‌هایی که در زیستگاه‌های بدون حضور نور زیست می‌کنند و چشم آنها به اصطلاح کور است (مانند گونه‌ی *Lamprologus lethops*)، بسیار جالب باشد. در فصل ۱۲، نویسندگان به مطالعه سیستم خط جانبی در سیکلیدماهیان می‌پردازند. نکته قابل توجه در این فصل، در ابتدا ارائه اطلاعات دقیق و مفصل از فیزیولوژی سیستم خط جانبی در سیکلیدها به‌همراه تصاویر جالب و مفید و سپس بررسی مکانیسم‌های رفتاری ماهیان شامل عملکرد شنا و تغذیه با توجه به فیزیولوژی خط جانبی می‌باشد. در واقع، در فصل ۱۲ سیستم خط جانبی سیکلیدها از جنبه آناتومیکی تا رفتاری به‌طور کامل مورد مطالعه قرار گرفته است. فصل ۱۳ به‌طور ویژه پیرامون سیکلیدماهیانی که تولید صوت می‌کنند، نگاشته شده است. در بخش ابتدایی این فصل، فهرستی از گونه‌های مختلف سیکلید که قادر به تولید صوت هستند، ارائه می‌گردد. در ادامه، مکانیسم تولید صوت و دلایل آن مرور می‌شود که در این ماهیان اغلب برای جلب جنس مخالف و رفتار پرخاشگرانه صورت می‌گیرد. در بخشی از این فصل، نویسندگان به بررسی ویژگی‌های مورفولوژیکی ارگان‌های دخیل در تولید صوت می پردازند و علاوه بر این، الگوی آکوستیک سیکلیدماهیان را در شرایط مختلف بررسی می‌نمایند.

در فصل ۱۴، نگارندگان تکامل شنوایی سیکلیدها و مورفولوژی عملکردی و نقش عوامل اکوآکوستیک را بررسی می‌کنند. آنها اظهار داشتند سیکلیدها تنوع قابل‌توجهی در ساختارها و توانایی‌های شنوایی دارند؛ به‌طوری‌که در ابتدای این فصل، به مورفولوژی گوش داخلی و کیسه شنای سیکلیدها و توانایی‌های شنوایی آنها پرداخته می‌شود و سپس روی تکامل شنوایی سیکلیدها تمرکز می‌شود. اگرچه این تحقیقات در نوع خود قابل توجه هستند، اما با این حال، بسیاری از تحقیقات انجام شده در این زمینه فاقد دیدگاه‌های اکولوژیکی و فیلوژنتیکی هستند.

فصل ۱۵ به مراقبت والدینی در سیکلیدماهیان می پردازد. در این فصل، استراتژی‌های مراقبت والدینی که شامل تولید گامت، آماده‌سازی آشیان[1] و دفاع هستند، مورد مطالعه قرار می‌گیرند. نگارندگان اذعان می‌نمایند که مراقبت‌های والدینی سیکلیدها می‌تواند به صورت نگهبانی از بستر و پرورش دهانی (Mouthbrooder) انجام گیرد. پرورش دهانی پدیده‌ای است که در آن ماهی والد، فرزندان خود برای مدت طولانی در دهان نگه می‌دارد. اگرچه این رفتار توسط جانوران مختلف مانند قورباغه داروین انجام می‌شود، اما ماهی‌ها از متنوع‌ترین موجوداتی هستند که پرورش دهانی دارند (Helfman *et al*., 1997). در فصل ۱۵ بیان می‌شود که برخی از گونه‌های سیکلید، مراقبت دووالدینی و برخی نیز تک‌والدینی (مراقبت نر یا ماده) دارند که هر کدام از این موارد به‌صورت جداگانه مورد بحث قرار می گیرد و مثال هایی از گونه‌های مختلف ارائه می‌شود.

فصل ۱۶ سیکلیدماهیان را به‌عنوان مدلی برای مطالعه رفتارهای اجتماعی و تکامل مورد توجه قرار می‌دهد. نویسندگان بیان می‌کنند که امکان بررسی رفتارهای تکاملی و اجتماعی سیکلیدها به‌دلیل نگهداری آسان آن‌ها در آکواریوم‌ها و محیط‌های پرورشی وجود دارد. در فصل ۱۶، در ابتدا یافته‌های مختصری از تنوع سیستم‌های اجتماعی سیکلیدها در تحقیقات محققان ابتدایی ارائه و سپس به مطالعات جدید پیرامون این موضوع پرداخته می‌شود.

فصل ۱۷ روی نوروبیولوژی[2] رفتار اجتماعی سیکلیدها تمرکز می‌کند. در این فصل، اطلاعات مختصری از ویژگی‌های مغز و فعل و انفعلات بین آن و رفتارهای اجتماعی سیکلیدها ارائه می‌شود. در فصل ۱۸ اکولوژی تنفسی سیکلیدماهیان مور بحث قرار می‌گیرد. در این فصل، نگارندگان به شرایط هیپوکسیک[3] در محیط‌های آبی اشاره می‌کنند و استراتژی‌های سیکلیدماهیان برای بقا در این شرایط را متذکر می‌شوند که شامل واکنش‌های رفتاری به

[1] Nest Preparation
[2] Neurobiology
[3] Hypoxic

هیپوکسی، افزایش جذب اکسیژن از طریق مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و کاهش تقاضای اکسیژن می‌باشد. همچنین، نگارندگان به تاثیرات هیپوکسی روی رشد، هماوری و تولیدمثل ماهیان اشاره می‌کنند.

فصل ۱۹ به‌صورت موردی روی بوم‌شناسی تغذیه سیکلیدماهیان در دریاچه تانگانیکا (Lake Tanganyika) تمرکز می‌کند. دریاچه تانگانیکا که به‌عنوان قدیمی‌ترین دریاچه در قاره آفریقا شناخته می‌شود، دارای حدود ۲۵۰ گونه سیکلید است که تنوع گونه‌ای، ساختارهای شبکه غذایی و مکانیسم‌های هم‌زیستی آن‌ها در این فصل تشریح می‌شود. فصل ۲۰ به بررسی الگوهای تکامل تروفیک در سیکلیدها می‌پردازد. در این فصل، نویسندگان سازگاری و انعطاف‌پذیری ماهیان را در سطوح مختلف شامل فنوتیپیک، ژنتیک، عملکردی و تکاملی مطالعه می‌نمایند. فصل ۲۱ به‌عنوان فصل نهایی این کتاب، تحقیقات ژنومیک و فیلوژنتیک انجام شده در رابطه با سیکلیدماهیان از گذشته تا حال را مورد بررسی قرار می‌دهد. در این فصل، تغییرات ژنتیکی ماهیان از مرحله جنینی تا بالغی مورد تمرکز قرار می‌گیرد و علاوه بر این، چگونگی سازگاری سیکلیدها با توجه به این تغییرات ژنومیک توضیح داده می‌شود.

مرور مطالب ارائه شده در کتاب حاضر نشان می‌دهد که این کتاب می‌تواند به‌عنوان یک منبع ایده‌آل و جامع در زمینه سیکلیدماهیان مطرح شود و جهت بهره‌برداری توسط اقشار مختلف جامعه علمی از متخصصین شیلات و آبزی-پروری گرفته تا دانشجویان و محققان ماهی‌شناسی، زیست شناسی و بوم‌شناسی کشور مورد استفاده قرار گیرد. از همه مهم‌تر، با توجه به درج اطلاعات جدید از اثرات منفی معرفی گونه‌های سیکلید در بسیاری از کشورهای مختلف، به‌نظر می‌رسد که این یافته‌ها می‌تواند برای مدیران و سیاستگذران کشوری که بیشتر به اهداف اقتصادی توجه دارند و به مفهوم توسعه پایدار اعتقاد چندانی ندارند، مفید باشد.

منابع

رادخواه، ع. و ایگدری، س. ۱۴۰۰. تیلاپیا تهدیدکننده فرصت‌های آبزی‌پروری. آماده انتشار برای وبسایت خبری. ۲ صفحه.

Gompert, Z. and Buerkle, C.A. 2016. What, if anything, are hybrids: enduring truths and challenges associated with population structure and gene flow. Evolutionary Applications, 9(7): 909-923. DOI: 10.1111/eva.12380.

GSMFC. 2007. Gulf States Marine Fisheries Commission. Fact sheet for *Oreochromis mossambicus* (Peters, 1852). Gulf States Marine Fisheries Commission. Accessed on 11 February 2006.

Helfman, G., Collette, B. and Facey, D. 1997. The diversity of fishes. Blackwell Science, Malden, MA. 528 p.

Onofri, S. 2011. Colonization (Biological). In: Gargaud M. et al. (Eds) Encyclopedia of Astrobiology. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/978-3-642-11274-4_144

Radkhah, A.R. and Eagderi, S. 2021. Ecological consequences of tilapia species on fish biodiversity of Iran and challenges arising from their introduction. Iranians Journal of Ichthyology, 8(4): 342-350.

Salzburger, W., Mack, T., Verheyen, E. and Meyer, A. 2005. Out of Tanganyika: Genesis, explosive speciation, key-innovations and phylogeography of the haplochromine cichlid fishes. BMC Evolutionary Biology, 5(17): 17. DOI: 10.1186/1471-2148-5-17

معرفی کتاب

دلارام اسلیمی اصفهانی، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی

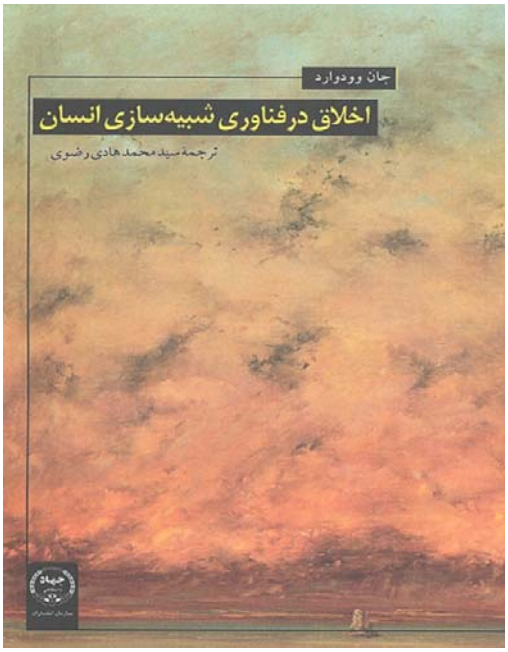
هزار مغز، نظریه جدیدی برای هوش
تألیف: جف هاکینز
ترجمهٔ: قاسم کیانی
سال چاپ: ۱۴۰۰
انتشارات: مازیار

کتاب *هزار مغز، نظریه جدیدی برای هوش* نوشته جف هاکینز به ترجمه قاسم کیانی مقدم از انتشارات مازیار در سال جاری منتشر شده است. کتاب به کار مغز می پردازد و اینکه مجموعه سلولهای آن چگونه چیزی به عنوان هوش ،که هنوز چون معما می ماند، را پدید می آورد.الگوبرداری هایی که در ابداع هوش مصنوعی کاربرد دارند.

نویسنده کتاب، جف هاکینز، بنیانگذار شرکت نومنتا برای پژوهش علوم اعصاب و نیز موسسه علوم اعصاب رد وود است که پژوهشهایی در مورد نوقشر مغز و نظریه های کلان مغز دارد. وی عضو فرهنگستان ملی مهندسی و صاحب تالیفات پرفروشی است. در این اثر جف هاکینز نظریه ای از هوش ارائه می دهد که به درک ما از مغز و نیز آینده هوش مصنوعی کمک می کند و دیدگاه ما را از این قلمرو نوظهور، که سیطره آن بر زندگی امروز و فردای ما آشکار است، متحول می سازد. هوش پدیده ای پیچیده است که همچنان مورد مطالعه متخصصین مغز و اعصاب است و الگوبرداری از کار آن تحت لوای هوش مصنوعی بی شک بسیار سخت و پیچیده است. بخش نخست این اثر به نظریه هزا رمغز می پردازد، اینکه "وقتی فکر می کنید در سرتان چه می گذرد و باهوش بودن جه معنایی دارد". در بخش دوم هوش ماشینی و تحولات ناشی از آن در سده بیست و یکم مورد توجه است، اینکه هوش مصنوعی امروزه جندان هم با هوش نیست و برای ساختن ماشین های واقعا هوشمند چه باید کرد. و اینکه نگرانی واقعی نه تسلط هوش ماشینی بلکه نحوه استفاده ار آن توسط انسانهاست که خطر اصلی به شمار می رود. در بخش سوم کتاب به موقعیت انسان از دیدگاه مغز اختصاص دارد و اینکه مدل مغز از جهان در ذهن ما مدلی از خود ماست و اینکه این مدل مغزی خودساخته می تواند درست نباشد. در این بخش تصریح می شود که ترک و حذف باورهای نادرست کاری دشوار بوده، و ترکیب این باورها با هیجانات بدوی ما تهدیدی برای بقای بلند مدت ماست.

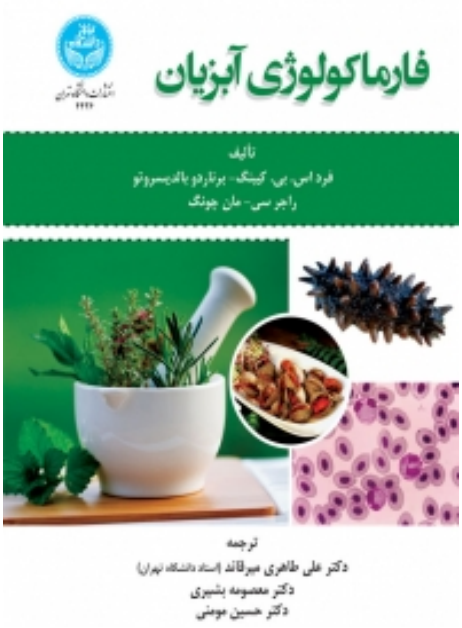
در فصل های نهائی کتاب نویسنده به تفاوت های بین انتخاب های های مبتنی بر ساخت زیست شناختی (حاصل وجود زیستی و مبتنی بر کارکردهای ژنی به عنوان ارگانیسم بیولوژیک) و ساخت مبتنی بر گونه ای باهوش (وَرای وجود زیستی و برمبنای هوش منحصر به وجود انسانی که به آن شهرت داریم) می پردازد. اینکه در تعارضات بین خودِ زیستی با رفتارهای بدوی و خودِ برآمده از هوش و دانش و فناوری- و هوش مصنوعی- چه انتخاب و روش هایی برای حفظ و بقای زندگی در پیش بگیریم از نظرپردازهای هیجان انگیز *هزارمغز* است.

برای دیدن و خرید این اثر و اثار دیگر انتشارات مازیار می‌توانید به وبگاه این انتشاراتی پرسابقه به آدرس www.mazyarpub.ir مراجعه کنید.



اخلاق در فناوری شبیه سازی انسان
تألیف جان وودوارد
ترجمه سید محمد هادی رضوی
سال چاپ: ۱۳۹۸
انتشارات: جهاد دانشگاهی

کتاب حاضر مقوله شبیه سازی را از جنبه های مختلف علم اخلاق مورد توجه قرار داده است و می‌تواند آغاز مناسبی برای محققان و دانشجویان باشد که به مباحث اخلاق در حوزه فناوری، به ویژه فناوری شبیه سازی علاقه دارند. این کتاب ۱۲ فصل دارد. اخلاق در باب فناوری شبیه‌سازی انسانی، شبیه سازی تولید مثل اخلاقی است، شبیه سازی تولید مثل غیر اخلاقی است، شبیه سازی درمانی می تواند جان انسانها را نجات دهد، شبیه سازی درمانی غیر اخلاقی است، شبیه سازی انسان غیر قابل اجتناب است، شبیه سازی انسان ها شاید غیرممکن باشد، تمامی روش‌های شبیه‌سازی انسان غیر اخلاقی است و باید ممنوع شود، شبیه سازی انسان نشان دهنده نبود احترام به طبیعت است، شبیه‌سازی انسانی غیر ضروری است، شبیه‌سازی انسانی منجر به باز تعریف مفهوم خانواده خواهد شد، بحث شبیه‌سازی انسان از دو جانب صدمه دیده است؛ اغراق و داستان‌های علمی و تخیلی عناوین فصل های این کتاب است.



فارماکولوژی آبزیان
تألیف: برناردو بالدیسروتو، راجر سی – مان چونگ، فرد اس.بی.کیبنگ
ترجمه: حسین مومنی، علی طاهری میرقائد، معصومه بشیری
سال چاپ: ۱۴۰۰
انتشارات: دانشگاه تهران

در این کتاب مطالبی درباره‌ی مقدمه‌ای بر کالبدشناسی و فیزیولوژی گونه‌های جانوری مهم آبزیان در آبزی‌پروری مقدمه کلی بر فارماکولوژی آبزیان عوامل ضدمیکروبی عوامل ضدانگل دستکاری جنسی و کمک به تخم‌ریزی ضد دردی، بیهوشی و یوتانایز در حیوانات آبزی بازگو گردیده است.