گیتی نوبری، دکتر طاهره ناجی* (نویسنده مسئول)
* PHD تخصصی بیولوژی، مدیر گروه سلولی ملکولی دانشگاه آزاد واحد علوم دارویی

کدام داده‌های ژنوم می‌توانند ما را در مورد تنظیم بیان ژنی در ژنتیک اوتیسم آموزش بدهند– بخش دوم

اختلال طیف اوتیسم ASD دارای اتیولوژی ژنتیکی است. بررسی های بسیاری برای شناسایی ژن‌های خاص منجر به ریسک ASD با هدف تخصیص کارکرد ژن به یک توصیف پاتولوژیکی مولکولی برای ASD به انجام رسیده‌اند. یک پاتولوژی مولکولی یکپارچه منجر به افزایش چشمگیر درک ما از این مسئله شده است که چه مشکلی در هنگام رشد به وجود می‌آید و می‌تواند منجر به جهت‌گیری‌های پیشگیرانه یا درمانی و یا بیومارکر های تشخیصی شود. ما به بررسی روش‌های نقشه‌برداری ژنتیکی گذشته و حال و بحث در مورد نتایج اصلی می‌پردازیم، که منجر به این فرض می‌شود که تنظیم نادرست بیان پروتئینی یا ژن، می‌تواند در ASD به جای آشفتگی کارکردهای خاص مغز شود. این فرض در صورتی که تصدیق شود، می‌توان نشان دهنده نیاز به روش‌های آزمایشی و تحلیلی جدیدی به منظور درک این اختلالات غیر رشدی، ایجاد بیومارکر ها و یا در نظر گرفتن روش‌های درمانی شود.

در شماره قبل به بحث های ژنتیک ASD، ناهنجاری‌های کروموزومی، سندرم های مونوژنی مرتبط با ASD، مطالعات ارتباطی، مطالعات ارتباط ژن برگزیده و همچنین مطالعات ارتباط ژنوم در این زمینه پرداختیم. در این شماره به ادامه این بحث می پردازیم.

گونه‌های عددی کپی

یک تکنولوژی آرایه که امکانGWAS را داد، امکان شناسایی ریزحذف ها و ریزکپی برداری های کروموزومی که به واسطه کاریوتیپ سازی قابل تشخیص نیستند را می‌دهد. آن‌ها با عنوان CNVها شناسایی می‌شوند و با کسب و یا از دست رفتن DNA بزرگ‌تر از ۱۰۰۰ زوج پایه همراه هستند. چندین CNV مرتبط با ASD شناسایی شد که شامل 16p11.2,7q11.23,15q13.2-q13.3,1q21.1,22q11.2,16 p13.11,Xp22.1 است. درحال حاضر، CNVهای ایجاد کننده ریسک قابل ملاحظه در مورد ASD، در حدود هفت درصد از افراد دارای ASD را شامل می‌شود. به دنبال کشفیات مربوط به CNV، چندین گروه تلاش کردند که فنوتیپ ASD را در حامل‌های CNV با یک ژن خاص در کانون مرتبط سازند.

یک نمونه، شایع‌ترین CNV، با ASD مرتبط است: ریزحذف ها و ریزکپی برداری های ۱۶p۱۱.۱.

این یک ۶۰۰ kb CNV است که دربرگیرنده حدود ۳۰ ژن است. براساس ارتباط ASD و 16p11.2 با اندازه رأس، Golzio و همکارانش به صورت سیستماتیک همولوگ های ژن های کانون 16p11.2 از zebrafish را غربالگری کردند که در صورت بیان مازاد، منجر به میکروسفالی و در صورت کاهش منجر به ماکروسفالی می شد؛ تنها ژنی که به شکل قابل ملاحظه‌ای بر روی اندازه سر در سیستم اثر می‌گذاشت، kctd13 بود. از طرف دیگر، بلنکرلی و همکارانش دریافتند که از دست رفتن عاملیت برای ۲۱/۲۲ ارتولوگ zebraf-ish، می‌تواند باعث فنوتیپ های مغز شود. در نتیجه، آن‌ها به دنبال ژن‌های "حسگری دوز" بودند – ژن هایی که در ۵۰% سطح RNA، به شکل متناظر با از دست رفتن یک کپی ژن در حامل‌های حذف، یک فنوتیپ به مورفولوژی مغز را به دست می‌دهند– و تعیین کردند که aldoaa و kif۲۲ تنها ژن‌هایی هستند که این شاخص‌ها را در مدل zebrafish آن‌ها تعیین می‌کنند. Pucilowska و همکارانش متوجه شدند که مدل موشی حذف ۱۶p۱۱.۲ دارای چندین فنوتیپ مشترک با ناک–اوت دوگانه شرطیErk1/2 می‌شود که شامل کاهش اندازه مغز، کاهش لایه فوقانی و افزایش نرون های لایه عمیق تر، رفتار اضطراب مانند و نقصان حافظه می‌شود. در نتیجه، آن‌ها عنوان می‌کنند که ASD در حذف 16p11.2 ناشی از حذف ژن MAPK3 است.

یک نمونه دیگر، 7q11.23 CNV است که یک کانون 1.4Mb شامل ۲۲ ژن است که وقتی حذف شود، منجر به ایجاد سندرم ویلیامز-بورنخواهد شد و در ارتباط با ASD، دو برابر می شود. آنالیز بیان ژن سلول‌های بنیادین به‌دست‌آمده از بیمار دوبرابر سازی 7q11.23 ASD و افراد WB، نشان می‌دهد که سطح پروتئین GTF21 منعکس‌کننده دوز ژن در هنگام دو برابر و حذف شدن است. یک گروه دیگر که به مطالعه افراد WB با حذف غیرمعمول پرداختند، فنوتیپ واکنش پذیری اجتماعی مرتبط با حذف و دو برابر شدن 7q11.23 را برای FZD9 مشخص کردند.

این مطالعات، دو مسئله را در بررسی‌های کنونی ژنتیک ASD نشان می‌دهند: ۱- فنوتیپ تعریف شده در ASD برای مدل سازی وجود ندارد و درنتیجه، هر مطالعه چیزی را تعریف کرد که محققان آن را یک ویژگی مهم در هر طرح آزمایشی و ژن‌های مختلف نشان داده شده می‌دانند؛ ۲- این امکان وجود دارد که اثرات CNV در ASD محدود به یک ژن مشخص در کانون نباشد. این CNها چندین ژن را در بر می‌گیرند که بیشتر آن‌ها در یک مغز در حال رشد، عملیاتی هستند؛ با این حال هر ژن به صورت منفرد ممکن است برای ایجاد ASD کافی نباشد، چرا که هیچ کدام از ژن‌ها در میان ژن‌های متعدد بازگشت پذیر CNV در مطالعات اخیر اگزون منجر به کنترل اضافه جهش‌های عاملی ناجور-تخمکی مرتبط با ASD نشدند. به علاوه، Doelken و همکارانش یک الگوریتم محاسباتی را ایجاد کردند که مقایسه فنوتیپ میان-گونه ای ژنوم-محور را برای تشخیص ژن‌های برگزیده در اختلالات CNV وراثتی بازگشت پذیر، انجام می‌دهد. آن‌ها دریافتند که تعداد قابل‌ملاحظه‌ای از فنوتیپ های CNV ارتباط نزدیکی با ژن‌های چندگانه در کانون دارند و به علاوه این که تعداد خوشه‌های فنوتیپ برای CNVهای حقیقی به شکل اتفاق بسیار بیشتر از انتظار بود. در نتیجه، چندین ژن در ناحیه CNV می‌توانند منجر به ایجاد فنوتیپ ASD شود.

تعیین دنباله اگزون و اتلاف گونه‌های عاملی

بادستاوردهای GWAS در بررسی ویژگی‌های پیچیده، جامعه علمی روش‌های بهینه این را برای تعیین دنبالهٔ در مقیاس وسیع به‌وجودآورد. همچنین برای کاهش هزینه و در عین حال غنی‌سازی اکتشافات مربوط به گونه‌های بسیار نافذ، نسل بعدی تعیین دنباله به صورت تجربی طراحی شده تا روی اگزوم تمرکز نماید. مطالعات تعیین دنباله اگزون، تعیین‌کننده اثرات گونه‌های تک-نوکلئوتید کدگذاری نوین (SNV) و حذف اینزرشن های نوین برای ASD بوده‌اند. CHD۸ که یک مارپیچ DNA را کدگذاری می‌کند که رونویسی را از طریق مدل سازی مجدد ساختار کروماتین سرکوب می کند، مجموعاً دارای ۱۵ جهش مستقل در گروه ASD است و ژن دارای بیشترین جهش‌های نوین LoF بوده که تا به امروز کشف شده است. سایر ژن‌هایی که به شکل تکرار قضیه منجر به تغییر گونه‌های LoF در مطالعات اگزوم می‌شود، شامل موارد زیر است: ژن‌های که پیش‌تر با سندروم های ژنتیکی مرتبط بودند، مثل ژن DYRK۱A قرار گرفته در ناحیه بحرانی سندروم Down، و ژن PTEN که منجر به ایجاد سندروم مندلی کودن مرتبط با ریسک ASD می‌شود؛ ژن‌های مهم در رشد عصبی مانند NTNG مرتبط با هدایت آکسون، ژن گیرنده گلوتمات GRIN۲۸، ژن های کانال‌های سدیم با گیت ولتاژ SCN۱A و SCN۲A، و ژن‌های دخیل در بیان و تنظیم ژنی، مانند CHD۲ دارای پیوند با chromodomain helicase DNA، ژن MBD۵ دارای پیوند با متیل –CpG، فاکتور های رونویسی TBR۱و POGZ.

برخلاف بیماری کروهن و یا تخریب کولار که در آن اکثریت کانون‌های شناسایی شده دربرگیرنده یک ژن مرتبط با یک مسیریاب عاملیت کلیدی مانند سیستم ایمنی داخلی یا محتمل است، تعداد روزافزونی از ژن‌های دخیل در ریسک ASD مشاهده شده در مطالعات اگزوم، نمی‌توانند پاتولوژی مولکولی را بر اساس کارکردهای شناخته شده شفاف‌سازی کنند. گرایش به مباحث بیولوژیکی معنادار این مطالعات، منجر به پیدایش تحلیل‌های غنی‌سازی مسیر شد. برای تضمین ویژگی‌های یک پارچه در میان ژن‌های ریسکی، روش‌هایی که می‌توانند یک سازماندهی سیستماتیک از این ژن‌ها را ارائه کنند، به طور گسترده مورد استفاده قرار گرفتند، مورد ارزیابی مجموعه‌های ژن‌ها در برابر پایگاه‌های داده موجود اطلاعات بیولوژیکی برای تعیین اینکه آیا برخی فرایندهای بیولوژیکی به شکل نامتناسب پدیدار شده‌اند یا خیر. بسیاری از آنالیزهای مبتنی بر آنتولوژی ژن هم‌اکنون نشان داده‌اند که بیشتر قابلیت تکرار پذیر مرتبط با SNV های ریسک ASD ، تنظیم رونویسی و مدل سازی مجدد

کروماتین بوده اند. به علاوه، مطالعات اخیر نگاه دقیق‌تری به گونه‌های ژنتیکی در ASD از طریق به‌کارگیری یک دنباله کامل ژنوم نموده‌اند. Turner و همکارانش مشاهده کردند که ASD غنی‌سازی قابل ملاحظه جهش‌های مخرب را در نواحی تنظیم CNS جنین در مقایسه با افراد کنترلی نشان می‌دهد. درست همانند اختلالات اولیه مندلی مرتبط با ASD، عملکردهای عمومی تنظیم ژن توسط آخرین تکنولوژی ها نشان می‌شوند.

ASD به عنوان یک اختلال آشفتگی انتقال/رونویسی

در چند دهه گذشته، تلاش‌های چشمگیری برای تعیین پاتولوژی مولکولی ASD در مورد آشفتگی عاملی ویژه انجام شده است. با این حال به جای تمرکز روی یک سطح مقطع دقیق که بتواند یک دورنمای بیولوژیکی را به دست بدهد، بررسی ها شاهد تعداد روزافزونی از ژن‌ها و کارکردهای مربوط به ASD بودند. ما فرض می‌کنیم که این می‌تواند ذاتاً در بیولوژی زیربنای ASD وجود داشته باشد که یک پدیده عمومی است، مانند آشفتگی سطوح انتقال یا رونویسی مطلق: ۱. سندروم های تک-ژنی با افزایش ریسک برای گونه های نوین LoF و ASD دیده می شود، واگزوم همواره روی مدولاتورهای کلیدی RNA و پروتئین اثر می‌گذارند. در نتیجه، جهش‌های کاملاً نافذ می‌توانند روی فاکتور های رونویسی، مدل سازی مجدد کروماتین، سنتز پروتئین و انتقال، اثر بگذارند. از طرف دیگر تنظیم نادرست بیان ژن از گونه‌های عمومی دارای اثرات فردی ضعیف‌تری است، اما تعداد جمعی این پلی مورفیسم ها منجر به عدم تعادل گسترده مشابهی در بیان ژن می‌شود. CNVها می‌توانند نشان‌دهندهٔ یک مدل میانی بین جهش‌های مادرو عمومی باشند ، و نیازمند نا-تنظیمی حداقل چندین ژن به شکل یکباره برای اثرگذاری روی ریسک ASD هستند.

دورنما

کشف نوین گونه‌های ریسکی در اصلاح کننده‌های رونویسی مرتبط با ASD منجر به ایجاد این پرسش شده است: که چگونه جهش ها در این پروتئین‌های عمومی می‌توانند منجر به ایجاد علایم رفتاری خاصی شوند. یکی از مدل‌های احتمالی فرض می‌کند که اختلال در تعادل میان پایداری ترنسکریپتوم مورد نیاز برای تشکیل مدارات نرون و انعطاف‌پذیری ترنسکریپتوم که برای نرمینگی سیناپس مورد نیاز است، وجود دارد.

در یک مغز در حال رشد انسان، مدارات نرون به‌دست‌آمده از هر آرایه سلولی و انواع سلولی ، با یک مورفولوژی متفاوت و ارتباطات پیچیده، نیازمند بیان ژن ثابت نرونی برای حفظ مورفولوژی های ثابت هستند. از طرف دیگر، مدارات و نورون و نرمینگی سیناپس ، که برای یادگیری و حافظه ضروری هستند، نیازمند تغییرات دینامیک ترنسکریپتون می‌باشند. کاهش پایداری و کاهش انعطاف‌پذیری هر دو تحت پشتیبانی هستند؛ الگوهای بیان که معمولاً کورتکس قدامی را از کورتکس گیجگاهی تفکیک می‌کنند در ASD شدیداً کاهش خواهد یافت، به آن معنا که حفظ سطحی ناکافی از پروفایل های بیان پایدار امکان‌پذیر است- به همراه نقصانی در سیناپس که از طریق آنالیز مسیر منجر به کاهش تنظیم دینامیک مشاهده می‌شود.

یک احتمال دیگر آن است که خروجی رونویسی ژنوم در سلول‌های گلیایی و نورونی نامتعادل است و این می‌تواند روی رشد عصبی اثر بگذارد. ژن مدل سازی مجدد کروماتین موش Chd1، از خانواده‌ای مشابه ژن‌های CHD8 و CHD2 شناسایی شده در مطالعات اگزوم، برای رشد اپیبلاست مورد نیاز است. طریق دنباله RNA نرمالسازی شده براساس تعداد سلول‌ها نشان می‌دهد که Chd1 به‌صورت عمومی سطح رونویسی مطلق را تنظیم می‌کند و کاهش متوسط ۲٤% در همه ژن‌های کدگذار و RNAهای غیرکدگذار دارد. در نتیجه، این امکان وجود دارد که نا-تنظیمی بیان ژن در مغز در حال رشد نیز به شکل مشابهی منجر به ASD شود، یعنی از طریق تغییر میزان کلی RNA و یا پروتئینی که یک سلول تولید می‌کند.

ازآنجاکه ناتنظیمی رونویسی در CNS یک پدیده گسترده است، اگر این فرض که حالت بیان عمومی می‌تواند روی ریسک ASD اثر بگذارد، صحیح تلقی شود، مدل سازی ASD نیازمند یک روش بسیار متفاوت نسبت به مدل‌های آزمایشی سنتی خواهد بود که تلاش می‌کنند یک عامل بخصوص، زمان‌بندی رشد و نوع به خصوص سلول را جداسازی کنند. به جای جستجو به دنبال سوزن در انبار کاه، ما باید تمرکز

خودمان را روی شکل کاه قرار دهیم. به جای نقاط زمانی استاتیک ما می‌بایست در مسیرهای رشد و روش‌های رشد جستجو کنیم که در آن می‌توان واکنش به یک ترکیب دینامیک و پیچیده است محرک‌ها را شناسایی کرد و نه حالت‌های تعادلی و آشفتگی‌های منفرد. مطالعات ژنتیکی به موفقیت بیشتر در بررسی ترکیب گونه‌های ریسکی و یا آشفتگی‌های پایین دست رسیدم که بار تجمعی گونه‌های عمومی و یا مسیرهای نامنظم را مدنظر قرار می‌دهند و مدل‌سازی نمرات ریسک ژنتیکی را برای تعیین پدیده کلی در نظر می‌گیرند، مانند نمره گذاری eQTL ها که منجر به تنظیم بالادست و پایین دست بیان ژن در ژنوم می‌شود.

بررسی هادر بیش از ٤٠ سال، نشان داده که تغییرات ژنتیکی وراثتی نقش بزرگی در ریسک ASD ایفا می‌کنند. در میان مطالعاتی که هدف آن‌ها در پاتولوژی مولکولی ASD براساس نتایج ژنتیکی بوده است، بیشتر آن‌ها روی محدود سازی ASD به یک پاتولوژی مولکولی خاص از طریق تلاش برای تعریف یک مدار مغز، نوع سلول، آشفتگی عاملی و بازه رشد بحرانی تمرکز داشته‌اند. در این بازبینی مورد بحث پیرامون مشاهدات پشتیبان تشکیل این فرض پرداختیم که اتیولوژی ژنتیکی ASD باید متعادل نتیجه رونویسی یا انتقال در مغز ارتباط دارد. این مدل یافته‌های متنوع مطالعات مربوط به معماری ژنتیکی ASD مانند گونه‌های نافذ را در پروتئین‌های تنظیم ژن و گونه‌های عمومی را در نواحی غیرکدگذار یکپارچه سازی می‌کند. پیشنهاد می‌کنیم که این مدل از آزمایش مستقیم گرفته تا اکشاف الگوهای ژنتیک و آزمایشی نوین، بیشتر مد نظر قرار بگیرد.

فرم اشتراک ماهنامه شخص‌آزمایشگاهی ۱٤۰۰

نام و نام خانوادگی: ..... رشته/تخصص: ..... کد ملی: .....

نام محل کار: ..... مسئولیت: .....

نشانی: .....

کدپستی: ..... تلفن: ..... فاکس: .....

موبایل: ..... ایمیل: .....

♦ تکمیل تمام موارد فوق الزامی است ♦

اشتراک ۶ ماهه (با پست سفارشی) ۲.۷۰۰.۰۰۰ ریال / اشتراک یکساله (با پست سفارشی) ۵.٤۰۰.۰۰۰ ریال

مبلغ اشتراک یکساله خارج از کشور با پست سفارشی ۵۰۰ دلار است.

لطفاً برای شروع یا تمدید اشتراک، رسید فیش واریزی را همراه با فرم تکمیل شده فوق به شماره زیر واتساپ نمایید.

کارت بانک پاسارگاد به شماره کارت ۷۲۲٤-۸۲۸۷-۲۹۱۰-۵۰۲۲ و شماره حساب ۱-۱۲۰۸٤۲۳٤-۸۰۰۰-۲۰۶ به نام آقای محمود اصلانی

ایمیل: matashkhis@gmail.com تلفن: ۰۹۱۲۷۳۳۳٤۰۷ - ۸۸۹۸۷۵۰۱-۶۶۹۱۰۶۱۶