Review Article

Epigenetic and Cellular Memory

Mahdyie Jadaliha, M.Sc.[1, 2, 3], Maryam Shahhoseini, Ph.D.[1*]

1. Department of Genetics, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran
2. Department of Biotechnology, College of Science, University of Tehran, Tehran, Iran
3. Department of Molecular Systems Biology, Cell Sciences Research Center, Royan Institute for Stem Cell Biology and Technology, ACECR, Tehran, Iran

**** Corresponding Address: P.O.Box: 19395-4644, Department of Genetics, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, ACECR, Tehran, Iran***
Email: m.shahhoseini@royaninstitute.org

Received: 14/Jun/2010, Accepted: 8/Aug/2010

Abstract

It has been stated that cells sometimes have the ability to remember who and what they are! They have this ability, even, though they contain although they have all the necessary genes neededwith which to become all typeskinds of cells. In this regard, the pattern of gene expression must be inherited from one cell generation to the next by mechanisms that lie outside the DNA sequence itself, which is termed cellular memory or epigenetic inheritance.

Developmental biology is under the control of both genetic and epigenetic mechanisms. Studies show that the regulation of chromatin structure by DNA methylation and histone modification is crucial for genome reprogramming during early embryogenesis and gametogenesis, as well as for tissue-specific gene expression and differentiation. Understanding the process of epigenetic reprogramming in development is important for studies of cloning and the clinical application of stem-cell therapy. In the current review we briefly discuss the molecular mechanism of cellular memory, under the control of epigenetic regulation.

Keywords: Cellular Memory, Epigenetic Reprogramming, Development

Yakhteh Medical Journal, Vol 12, No 3, Autumn 2010, Pages: 311-318

اپی‌ژنتیک و حافظه سلولی

مهدیه جدلیها M.Sc.[۱،۲،۳]، مریم شاه‌حسینی Ph.D.[۱*]

۱. پژوهشگاه رویان، پژوهشکده علوم تولیدمثل، جهاد دانشگاهی، گروه ژنتیک، تهران، ایران
۲. دانشگاه تهران، پردیس علوم، گروه بیوتکنولوژی، تهران، ایران
۳. پژوهشگاه رویان، پژوهشکده سلول‌های بنیادی، مرکز تحقیقات علوم سلولی جهاددانشگاهی، گروه زیست‌شناسی سامانه‌های مولکولی، تهران، ایران

* آدرس نویسنده مسئول: ایران، تهران، صندوق پستی: ۴۶۴۴-۱۹۳۹۵، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده علوم تولیدمثل، جهاد دانشگاهی، گروه ژنتیک
پست الکترونیک: Email: m.shahhoseini@royaninstitute.org

دریافت مقاله: ۸۹/۳/۲۴، پذیرش مقاله: ۸۹/۵/۱۷

چکیده

گفته می‌شود که سلول‌ها دارای قابلیت به خاطر سپردن ماهیت خود هستند! این توانایی در حالی است که سلول‌ها تمامی ژن‌های مورد نیاز را جهت تبدیل شدن به انواع سلول‌های مختلف دارا باشند. بدین‌منظور لازم است الگوی بیان ژنی با مکانیسم‌های فراتر از توالی DNA از یک نسل سلولی به نسل بعد از آن به ارث برسد، که این رخداد همان حافظه سلولی یا توارث فراژنی می‌باشد.

زیست‌شناسی تکوین تحت کنترل هم‌زمان مکانیسم‌های ژنتیکی و فراژنتیکی می‌باشد. مطالعات، بیانگر این واقعیت است که تنظیم ساختار کروماتین توسط متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون‌ها، در فرایند بازارایی ژنوم در مراحل اولیه تکوین جنین و در ایجاد سلول‌های زایشی و نیز در طول تمایز در حفظ الگوی بیانی سلول‌ها به صورت بافت - ویژه نقش حیاتی دارد. مطالعه فرایند بازارایی فراژنی در درک هرچه بیشتر مطالعات شبیه‌سازی و کاربردهای بالینی سلول درمانی بسیار مهم و مؤثر خواهد بود. در این مقاله مروری به اختصار، پیرامون مکانیسم مولکولی حافظه سلولی تحت کنترل تنظیمات فراژنی می‌پردازیم.

* کلیدواژگان: حافظه سلولی، بازارایی فراژنی، تکوین

فصلنامه پزشکی یاخته، سال دوازدهم، شماره ۳، پاییز ۸۹، صفحات: ۳۱۸-۳۱۱

مقدمه

هر سلول یک موجود زنده به دلیل داشتن تمامی ژن‌های مورد نیاز در ژنوم خود، توانایی بالقوه تبدیل شدن به انواع سلول‌ها را دارد اما پس از اینکه سلول پرتوان اولیه به یک سلول خاص تمایز می‌یابد، تمایل دارد که وضعیت خود را حفظ کند و از یک نسل به نسل بعد بدون تغییر در نوع سلول، به همان نوع سلول خاص متعهد بماند.

از آنجایی که تفاوت بین سلول‌های مختلف ناشی از الگوی بیان ژنی متفاوت آنهاست، حفظ وضعیت ویژگی هر سلول به معنی حفظ الگوی بیان ژنی از یک نسل سلولی به نسل بعدی است. پس باید مکانیسمی وجود داشته باشد که هر ژن خاص در طی چرخه‌های سلولی متفاوت، الگوی بیان ژنی خود را حفظ کند (به عنوان مثال در ساده‌ترین حالت خاموش یا روشن باقی بماند) که این همان «حافظه سلولی» نامیده می‌شود. پس ژن‌های فعال و غیرفعال باید به گونه‌ای نشان‌دار باشند تا طی همانندسازی DNA در فاز S و همین طور بازارایی شدید ساختار کروماتینی در حین میتوز، ثابت باقی بمانند. البته برخی ژن‌ها که برای بقا و رشد تمامی سلول‌ها مورد نیاز هستند، همواره بیان می‌شوند. برای چنین ژن‌های پایه به نظر می‌آید آنچه که بیان همیشگی آنها را تعیین می‌کند در خود توالی DNA نهفته است اگرچه این گمان قطعی نمی‌باشد. اما در مورد ژن‌های بافت - ویژه که بیشتر ژن‌ها را شامل می‌شود، یک توالی DNA یکسان در برخی سلول‌ها بیان می‌شود که در برخی دیگر این گونه نیست. در نتیجه به ارث رسیدن الگوی بیان ژنی از یک نسل سلولی به نسل دیگر باید از طریق مکانیسمی انجام پذیرد تا فراتر از خود توالی DNA می‌باشد که از آن تحت عنوان توارث فراژنی (Epigenetic Inheritance) یاد می‌شود (۱). در این مقاله مروری سعی شده است به اختصار مکانیسم‌های مولکولی حافظه سلولی که تحت کنترل تنظیمات فراژنی می‌باشند مورد بررسی قرار گیرند.

اپی‌ژنتیک و حافظه فراژنی

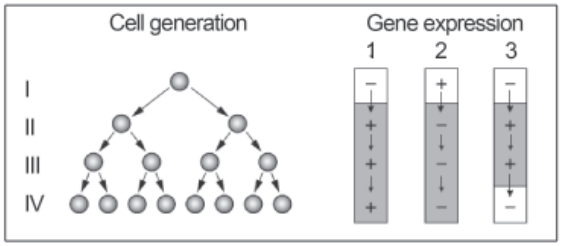
اپی‌ژنتیک به مجموعه‌ای از مکانیسم‌ها و پدیده‌ها گفته می‌شود که فنوتیپ یک سلول را تعیین می‌کند بدون اینکه در ژنوتیپ آن تغییری به وجود آورد. اپی‌ژنتیک از دیدگاه مولکولی شامل گستره‌ای از تغییرات بر روی کروماتین می‌باشد که متیلاسیون DNA (DNA Methylation)، مدیفیکاسیون یا تغییرات شیمیایی هیستون‌ها (Histone Modifications)، جایگزینی واریته‌های هیستونی (Histone Variation) و بازارایی کروماتین (Chromatin Remodeling) از آن جمله‌اند.

سازماندهی فضایی کروماتین در سطوح بالای ساختاری، خود، به عنوان یک عامل کلیدی در تنظیم ژنوم محسوب می‌گردد (۲). ساختار کروماتین با تغییری که در میزان دسترسی پروتیین‌های تنظیمی به جایگاه هدف خود و نیز تمایل اتصال آنها به این نواحی فراهم می‌کند، می‌تواند بر روی عملکرد ژن‌ها تاثیر بگذارد و منجر به القای حالت روشنی یا خاموشی در ژن‌ها گردد (۳). در طی فرایندهای مختلف سلولی اعم از رشد، تکثیر، تمایز، سرطانی شدن و یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی، ساختار کلی کروماتین دست‌خوش تغییرات معنی‌داری می‌گردد که در مجموع نواحی از ژنوم که در آن فرایند خاص می‌بایست فعال باشد در نواحی باز یوکروماتین بازارایی می‌گردد و برعکس نواحی غیرفعال ژنومی در بخش‌های متراکم هتروکروماتینی - که از نظر الگوبرداری غیرفعال هستند - قرار می‌گیرند (۲).

در مجموع می‌توان گفت که این مدیفیکاسیون‌های اپی‌ژنتیکی در هر سلول، پروفایل ویژه‌ای ایجاد کرده و الگوی بیان ژنی خاصی را القا می‌نماید. به عبارت دیگر کروماتین را به نوعی نشان‌دار نموده و نواحی فعال و غیرفعال را متمایز می‌سازد و بدین‌ترتیب با تنظیم بیان ژن به آن سلول ماهیت خاص می‌بخشد. با وجود اینکه پروفایل اپی‌ژنتیکی در طی تمایز سلولی متغیر است، ویژگی بسیار مهم اپی‌ژنتیک، توارثی بودن آن است؛ بدین‌معنی که هر سلول دختری فنوتیپ سلول والدینی خود را دارا می‌باشد (۴).

توارث فراژنی و فرایند تکوین

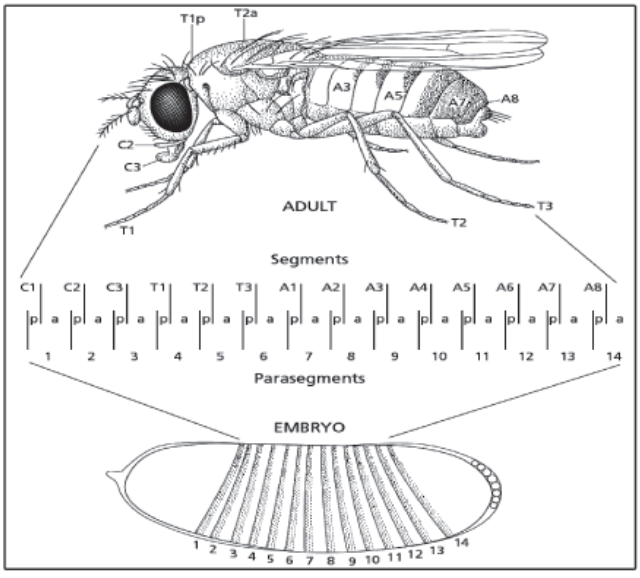
درست است که سلول‌های مختلف در شرایط محیط کشت *(In vitro)* تقسیم می‌شود و سلول‌های بیشتری از نوع خود را تولید می‌کند و در این حین از یک نسل سلولی به نسل بعد الگوی بیان ژنی خود را حفظ می‌نماید ولی گاهی در موجود زنده *(In vivo)* حالت دیگری نیز مشاهده می‌شود. در بدن - که دنیای واقعی سلول‌ها محسوب می‌شود - تولید یک نوع سلول خاص تنها از طریق رشد و تقسیم سلول‌های موجود انجام نمی‌شود بلکه در بسیاری موارد این سلول‌های بنیادی موجود در بافت‌های بالغ هستند که القا می‌شوند تا در مسیر مورد نظر تمایز یابند و سلول مورد نظر را بسازند. مثال بارز آن باز سازی سلول‌های اپی‌تلیالی روده است که از طریق تمایز و مهاجرت سلول‌های بنیادی واقع در عمق بافت صورت می‌گیرد. البته این سلول‌ها در زمانی که قادر به پاسخ به سیگنال‌های تمایزی نباشند (مثلا به دلیل جهش)، یا زمانی که در معرض سیگنال قرار نمی‌گیرند (مثلا هنگامی که در محیط کشت قرار داده می‌شوند)، رشد کرده و بدون این که تمایز یابند تقسیم می‌شوند. در هر صورت وجود نوعی مکانیسم حافظه ژنی ضروری است. هر مرحله در مسیر تمایزی بر اساس مرحله ی قبلی بنا گذاشته می‌شود و در طی مسیر بیان برخی ژن‌ها تغییر می‌کند و برای بسیاری دیگر بدون تغییر باقی می‌ماند که این مطلب با یک مثال فرضی در شکل ۱ توضیح داده می‌شود.



شکل ۱: تغییر و حفظ بیان ژنی هر دو برای تمایز ضروری هستند. سه ژن در شکل نشان داده شده است که هر کدام از نسل اول به دوم الگوی بیانی خود را تغییر می‌دهند. ژن‌های ۱ و ۲ در مراحل بعدی حالت خود را حفظ می‌کنند . ژن ۳ حالت روشن خود را برای دو نسل متوالی حفظ می‌کند و سپس خاموش می‌شود (۱).

سه ژن با شماره‌های ۱ تا ۳ را در نظر می‌گیریم که بیان آنها در هر مرحله از مسیر تمایز با + و - نمایش داده می‌شود. در سلول‌های نسل دوم، ژن ۱ روشن و ژن ۲ خاموش می‌شود و این الگوی بیان در مراحل سوم و چهارم ثابت می‌ماند. در مقابل ژن ۳ در مرحله دوم روشن شده و در مرحله سوم روشن می ماند اما در مرحله چهارم دوباره خاموش می‌شود. فرایند تمایز، نیازمند مکانیسم‌هایی است که بیان ژن را در مرحله مناسب تغییر دهد و این حالت را تا زمان دریافت سیگنال تغییر دهنده دیگر در نسل‌های سلولی مختلف حفظ نماید.

مثال‌های بسیار مناسبی از نقش زیستی حافظه فراژنی وجود دارد که در میان خانواده‌های ژنی بسیار حفاظت شده (Highly Conserved) دیده می‌شود که وظیفه آنها کنترل قرارگیری مناسب بافت‌ها و سلول‌های ویژه در مکان و زمان مناسب درحین فرایند تکوین جنین می‌باشد. این ژن‌ها بیشتر در دروزوفیلا مطالعه شده‌اند ولی همولوگ‌های نزدیک آنها در موجودات دیگر از جمله مهره‌داران یافت می‌شود. بدن مگس سرکه از قطعه‌های مجزا و قابل دیدن تشکیل شده است که هر قطعه با ساختار ویژه‌ای از بدن مثل: سر، پاها، بال‌ها و غیره در ارتباط است. این الگوی قطعه قطعه‌ای در مراحل اولیه تکوین شکل می‌گیرد که به صورت ظاهر شدن یک سری شیار در سطح پیکره جنین قابل تشخیص است (شکل ۲).



شکل ۲: سگمنت‌ها و پاراسگمنت‌ها در مگس سرکه. بیان ژنی در هر پاراسگمنت متفاوت از دیگری است و هر کدام از این بخش‌ها در ادامه قسمت‌های مختلف بدن مگس سرکه را به وجود می‌آورند (۱).

نواحی که توسط این شیارها تعیین می‌گردند، پاراسگمنت (Parasegment) نامیده می‌شوند. جالب‌ترین ویژگی پاراسگمنت‌ها در ارتباط با مبحث موجود این است که در هر پاراسگمنت الگوی بیان ژنی متفاوت می‌باشد. به عبارت دیگر در این الگوی قطعه قطعه‌ای، بیان ژن‌ها در زمان و مکان مناسب منجر به شکل‌گیری کل پیکره موجود خواهد گردید (۱).

بازاریابی برنامه فراژنی (Epigenetic Reprogramming)

همان طور که تا کنون گفته شد در طی تکوین در موجودات پر سلولی، سلول‌ها و بافت‌های مختلف برای چگونگی بیان الگوی ژنی خود برنامه‌های مختلفی را اتخاذ می‌کنند. به عبارت دیگر این تنظیمات فراژنی هستند که در طی تکوین پستانداران با نوعی نشان‌دار کردن، به سلول‌های مختلف الگوی بیان ژنی متفاوت می‌دهند و سبب پایداری الگوی بیان ژنی در سلول‌های یک نوع خاص می‌گردند. در نتیجه در مواقع مورد نیاز، یعنی مراحلی که می‌بایست پتانسیل تکوینی گروه خاصی از سلول تغییر کند، برنامه فراژنی این سلول‌ها به طور سرتاسری در سطح کل ژنوم بازاریابی می‌گردد. اغلب این برنامه‌ها توسط تنظیمات اپی‌ژنتیکی از قبیل متیلاسیون DNA، تغییرات هیستون‌ها و هم‌چنین حضور پروتیین‌های غیرهیستونی که به کروماتین متصل می‌گردند تنظیم می‌شود (۵). باید در نظر داشت که به محض آنکه سلول‌ها تمایز پیدا می‌کنند و از چرخه سلولی خارج می‌شوند این نشان‌ها یا مارک‌های فراژنی تثبیت می‌گردند، اما همان طور که در قبل ذکر شد لازم است در طی مراحل طبیعی تکوین، برخی سلول‌ها تحت بازاریابی وسیع برنامه فراژنی قرارگیرند.

علاوه بر مراحل طبیعی فرایند تکوین، در برخی بیماری‌ها نیز برنامه فراژنی سلول دچار بازاریابی می‌شود (۸-۶). از جمله مواردی که در سلول‌ها بازاریابی فراژنی، چه به صورت طبیعی و غیرطبیعی رخ می‌دهد می‌توان به موارد زیر اشاره کرد:

• در هنگام لقاح، زمانی که نشان‌های مربوط به هر یک از سلول‌های جنسی پاک شده و با نشان‌های جنینی جایگزین می‌شود که این امر در تکوین اولیه جنینی و ایجاد دوباره خاصیت همه توانی یا پرتوانی بسیار حایز اهمیت است، به نحوی که سلول تخم تشکیل شده از سلول‌های جنسی پس از لقاح باید قادر باشد تمامی بافت‌های مورد نیاز جنینی را بسازد.

• در پیش‌ساز سلول‌های جنسی یا سلول‌های جنسی ابتدایی (Primordial Germ Cells; PGCs)، زمانی که خاصیت همه توانی این سلول‌ها دوباره باز می‌گردد تا این توانایی بالقوه را داشته باشند که پس از لقاح یک موجود کامل را تولید نمایند.

• در سلول‌هایی که تمایز زدایی می‌شوند. مانند آنچه در بیماری سرطان رخ می‌دهد که با وقوع بازاریابی، سلول سرطانی شده قدرت تکثیر فوق‌العاده و توانایی تومورزایی می‌یابد (۹).

• در سلول‌هایی که حالت تمایزی خود را تغییر می‌دهند، بدین معنی که از یک حالت تمایزی یا سرنوشت سلولی خاص به یک حالت تمایزی یا سرنوشت سلولی دیگر تبدیل می‌شوند (۳، ۱۳-۱۰).

• در هنگام شبیه‌سازی یا همان فرایند انتقال هسته سلول سوماتیک به اووسیت بدون هسته به منظور کلون کردن یک موجود زنده، که در اینجا نیز بازاریابی برنامه فراژنی به سلول سوماتیک این امکان را می‌دهد تا یک موجود کامل را بسازد (۱۷-۱۴).

• در هنگام ایجاد سلول‌های بنیادی پرتوان القایی که در آن ویژگی پرتوانی به یک سلول سوماتیک بازگردانده می‌شود (۲۱-۱۸).

بازاریابی برنامه فراژنی در طی مراحل طبیعی تکوین پستانداران

از دیدگاه زیست‌شناسی تکوین آنچه برای ما بسیار حایز اهمیت است، همان بازاریابی برنامه فراژنی است که به طور طبیعی در طی فرایند تکوین پستانداران رخ می‌دهد. در طول چرخه زندگی پستانداران تنظیمات فراژنی در دو مرحله اصلی دچار بازاریابی می‌شوند:

۱. در گامت زایی یا فرایند تولید سلول‌های جنسی

۲. در تکوین پیش از لانه‌گزینی جنین (Preimplantation)

در میان تمام سلول‌هایی که بدن یک جاندار را تشکیل می‌دهند، سلول‌های جنسی یا زاینده جایگاه متمایز و ویژه‌ای دارند، چون این سلول‌ها پس از ترکیب با هم می‌توانند به یک موجود کامل دیگر تبدیل شوند. تکوین سلول‌های زاینده هم توسط ژنتیک و هم توسط اپی‌ژنتیک تنظیم می‌گردد (۵، ۲۴-۲۲). در مورد گروه کوچکی از ژن‌ها، مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی می‌توانند نحوه بیان ژن را نه تنها از یک نسل سلولی به نسل بعد بلکه فراتر از سلول، از یک جاندار به نسل بعد از آن دیکته نمایند. ویژگی مهم این ژن‌ها که در اصطلاح Imprinted خوانده می‌شود این است که بیان تک اللی دارند و بیان یا عدم بیان آنها به ماهیت پدری یا مادری بودنشان بستگی دارد. به عنوان مثال در بسیاری از بافت‌های جنین در حال رشد، کپی پدری از ژن Igf2، که یک فاکتور رشد جنینی را کد می‌کند، بیان می‌شود ولی کپی مادری این ژن بیان را ندارد. این تفاوت نمی‌تواند ناشی از خود توالی DNA باشد. از آنجایی که Imprintهای یاد شده در هر بار فرایند انتقال ژن از طریق سلول‌های جنسی مونث یا مذکر پاک شده و از نو ایجاد می‌شود در نتیجه به طور قطع مکانیسم‌های فراژنی در میان هستند که باعث می‌شوند برای مثال یک الل در یک نسل پدری باشد و بیان شود ولی در نسل بعدی مادری بوده و خاموش بماند.

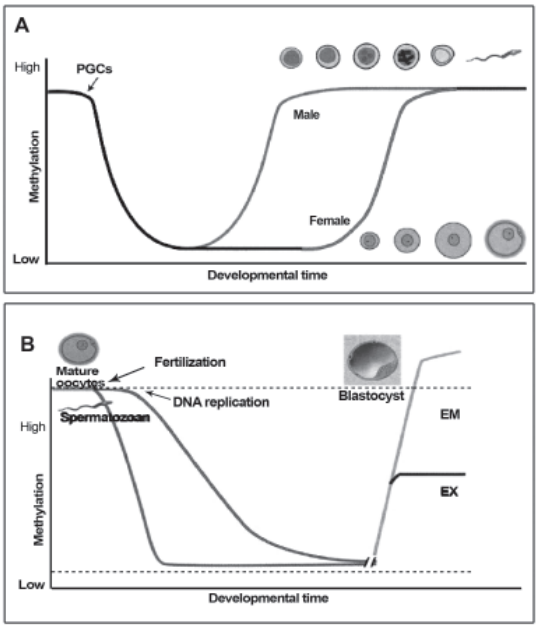
در فرایند گامت‌زایی، سلول‌های جنسی ابتدایی (پیش‌ساز سلول‌های جنسی یا PGCها) که از بافت‌های سوماتیک نشات می‌گیرند، در طی یک مدت زمان طولانی به سلول جنسی بالغ تکوین می‌یابند. در طی این تکوین در کل ژنوم جنینی دمتیلاسیون DNA رخ می‌دهد که بسیار گسترده بوده و ژن‌های Imprinted را نیز در بر می‌گیرد (شکل ۳A).

در پی دمتیلاسیون DNA، ژنوم سلول های جنسی باید از نو متیله شوند و Imprintهای جدید شکل بگیرند که این فرایند در جنس مونث در اووسیت‌های در حال بلوغ تا قبل از تخمک‌گذاری ادامه می‌یابد.

دور دوم بازاریابی در هنگام پیش از لانه‌گزینی جنین اتفاق می‌افتد. در واقع رخداد فرایند لقاح، پیام شروع دور دوم بازاریابی برنامه فراژنی را در تکوین پیش از لانه‌گزینی ارسال می‌کند (۵) (شکل ۳B).

در هنگام لقاح، ژنوم والدینی در مراحل متفاوتی از چرخه سلولی به سر می‌برند و از نظر نشان‌های فراژنی و ساختار کروماتینی بسیار متفاوت هستند. در مورد ژنوم پدری باید گفت که در این زمان، اسپرم به طور کامل بالغ بوده و ژنوم آن نیز تک کپی می‌باشد. از طرف دیگر ژنوم پدری به جای هیستون‌ها با پروتامین‌ها پوشانده شده است و پروتامین‌ها ژنوم پدری را به طور کاملا فشرده در بر گرفته‌اند. این در حالی است که در مورد ژنوم مادری، اووسیت در مرحله متافاز II می‌باشد و ژنوم آن هنوز دو کپی بوده و بر خلاف ژنوم پدری توسط هیستون پوشیده شده است. پس از لقاح، در کروماتین اسپرم پروتامین‌ها با هیستون‌ها به سرعت جا به جا می‌شوند و ژنوم مادری نیز میوز خود را کامل می‌کند. نکته قابل توجه این است که در این فرایند جایگزینی

هیستون‌های H3 و H4 که در کروماتین پدری قرار می‌گیرند، نسبت به هیستون‌های دیگر که از قبل در ژنوم مادری حضور دارند بیشتر استیله می‌باشند (۲۵، ۲۶).

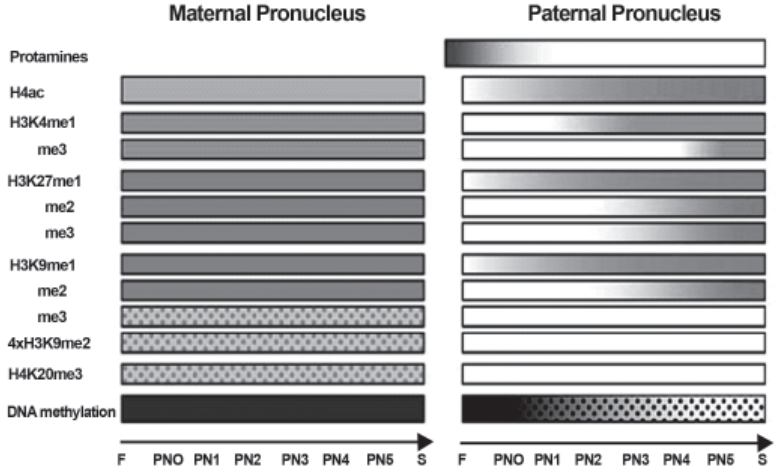


شکل ۳: A) بازارایی برنامه فراژنی در سلول‌های زاینده جنسی. پیش‌سازهای سلول‌های جنسی در مراحل اولیه تکوین دمتیله می‌شوند. متیلاسیون مجدد ژنوم در سلول‌های پیش- اسپرماتوگونی در جنس مذکر و در جنس مونث در بعد از تولد در اووسیت در حال رشد، دوباره ایجاد می‌شوند. B) بازارایی برنامه فراژنی در جنین پیش از لانه‌گزینی. ژنوم پدری (آبی) بلافاصله پس از لقاح به صورت فعال دمتیله می‌شود. ژنوم مادری (قرمز) با یک مکانیسم غیرفعال دمتیله می‌شود که وابسته به همانندسازی DNA می‌باشد. هر دو ژنوم در حدود زمان لانه‌گزینی دوباره متیله می‌شوند ولی سطح و محتوای این متیلاسیون در بافت جنینی (Embryonic; EM) و غیرجنینی (Extraembryonic; EX) متفاوت از هم می‌باشد. در این فرایند ژن‌های Imprinted (خط چین‌ها) چه در حالت متیله و یا غیرمتیله وضعیت خود را حفظ می کنند (۶).

در این جا دو احتمال وجود دارد: اول اینکه این مساله پیامدی غیرفعال بوده و ناشی از این است که هیستون‌هایی که در سیتوپلاسم تخمک وجود دارند به طور گسترده‌ای استیله می‌باشند و در نتیجه هیستون‌هایی که برای جایگزینی پروتامین‌ها در اختیار ژنوم پدری قرار می‌گیرد بیشتر استیله هستند. احتمال دوم این است که این پدیده کاملا فعال رخ می‌دهد و واریته‌های ویژه هیستونی که استیله هستند به طور گزینشی در ساختار کروماتین پدری قرار می‌گیرند.

در هر حال پس از لقاح و پیش از لانه‌گزینی، دور دوم بازارایی برنامه شروع می‌شود و در این زمان ژنوم پدری به صورت فعال، یعنی در حضور عوامل دمتیله کننده خاص، دمتیله می‌شود. حال آنکه دمتیلاسیون ژنوم مادری به طور غیرفعال صورت می‌گیرد که در واقع ناشی از همانندسازی DNA و عدم متیله شدن DNA تازه سنتز شده می‌باشد. نکته دیگر این است که هیستون‌ها در ژنوم پدری از ابتدا فاقد یک سری نشانه‌های اپی‌ژنتیکی هستند که در پیش‌هسته مادری (Maternal Pronucleus) وجود دارد (شکل ۴).

زمانی که ژنوم پدری ساختار هیستونی لازم را به دست آورد، DNA به طور گسترده شروع به دمتیلاسیون می‌کند (۳۲-۲۶). این دمتیلاسیون قبل از اینکه DNA در پیش هسته پدری (Paternal Pro-nucleus) شروع به همانندسازی کند، کامل می‌شود و از این رو به نظر می‌رسد که دمتیلاسیون ژنوم پدری یک فرایند فعال است. DNA ژنوم مادری نیز به طور غیرفعال و هم‌زمان با همانندسازی DNA دمتیله می‌شود و بدین‌ترتیب کل DNA ژنوم جنین در مراحل اولیه چرخه سلولی و قبل از حفره‌زایی جنین دمتیله می‌شود. نکته مهم در این دمتیلاسیون این است که برخلاف بازارایی در هنگام تکوین سلول‌های جنسی، در بازارایی برنامه فراژنی پیش از لانه‌گزینی، ژن‌های Im-printed متیلاسیون خود را حفظ می‌کنند یا به عبارت دیگر این گروه از ژن‌ها از الگوی کلی بازارایی برنامه فراژنومی پیروی نکرده و در این مرحله دمتیله نمی‌شوند. از جمله نواحی دیگر ژنومی که دچار دمتیلاسیون نمی‌شوند، می‌توان به نواحی هتروکروماتینی داخل و اطراف سانترومرها اشاره کرد که این امر یک فرایند مثبت جهت حفظ پایداری طبیعی کروموزوم‌ها می‌باشد (۲۶، ۳۲).



شکل ۴: تغییرات کروماتین رخ داده در حین بازارایی برنامه فراژنی پیش از لانه‌گزینی در پیش هسته‌های پدری و مادری. تغییراتی که رونویسی را تسهیل می‌کنند، به رنگ سبز و آنهایی که بازدارنده می‌باشند به رنگ قرمز نشان داده شده‌اند. شدت سایه نشان دهنده میزان این تغییرات از زمان لقاح (Fertilization; F) و در حین مراحل PN0-PN5 (Pronucleus; PN) تا زمانی که پیش‌هسته‌ها ادغام می‌شوند (Syngamy; S) می‌باشد. متیلاسیون DNA (سیاه) به صورت فعال در مراحل قبل از همانندسازی DNA از بین می‌روند، به جز در نواحی هتروکروماتینی و ژن‌های Imprinted پدری (۵).

پس از این دمتیلاسیون گسترده، دوباره فرایند متیلاسیون انتخابی رخ می‌دهد که تقریبا هم‌زمان با حفره‌زایی، تمایز و تشکیل ساختار بلاستوسیست می‌باشد. بازارایی برنامه فراژنی برای کسب همه توانی، شروع مناسب بیان ژن‌های جنینی و تکوین رده‌های اولیه جنینی ضروری به نظر می‌رسد. مطالعات مقایسه‌ای نشان می‌دهد که بازارایی برنامه در تمام پستاندارانی رخ می‌دهد که تا به حال مورد بررسی قرار گرفته‌اند. ولی دامنه و زمان‌بندی آن متفاوت است که این مطلب با تفاوت‌های قابل ملاحظه‌ای که بین گونه‌های مختلف در طی تکوین پیش از لانه‌گزینی وجود دارد سازگار می‌باشد (۲۹-۲۷، ۳۶-۳۳).

بازارایی برنامه فراژنی در هسته سلول‌های سوماتیک

آزمایشات شبیه‌سازی نشان می‌دهند که اگر هسته یک سلول سوماتیک بالغ را به اووسیتی که هسته آن خارج شده است پیوند بزنیم این هسته سوماتیک می‌تواند به تنهایی فرایند تکوین جنین را آغاز کند؛ به عبارت دیگر سیتوپلاسم یک اووسیت این توانایی قابل توجه را دارد که هسته سلول سوماتیکی بالغ را - که کاملا تمایز یافته است - تمایززدایی نموده و در حقیقت برنامه فراژنی آن را بازارایی نماید و پرتوانی را به آن بازگرداند (۳۷، ۳۸). این مطلب نشان می‌دهد که از طریق Epigenetic Reprogramming می‌توان سرنوشت یک سلول کاملا تمایز یافته و متعهد را باز گرداند. البته فن‌آوری شبیه‌سازی هنوز چندان کارا نیست و غالب جنین‌های تشکیل شده مدت کوتاهی پس از لانه‌گزینی از بین رفته و آنهایی هم که به مرحله تولد می‌رسند، اغلب اختلالات تکاملی داشته و طول عمر کوتاهی دارند (۴۱-۳۹). این امر نشانگر این واقعیت است که بازارایی فراژنی رخ داده در هسته پیوند زده شده در مقایسه با آنچه به طور طبیعی در سلول تخم حاصل از لقاح رخ می‌دهد به صورت ناقص انجام می‌گیرد. حال این سوال مطرح است که در این تنظیم فراژنی ناقص چه عاملی به درستی بازارایی نمی‌شود که منجر به توقف طبیعی فرایند تکوین می‌گردد؟ یکی از عواملی که ابتدا به ذهن می‌رسد طول تلومرهاست که در سلول سوماتیک با گذشت زمان کاهش می‌یابد ولی آزمایشات نشان می‌دهند که طول تلومر می‌تواند در جنین کلون شده به اندازه اولیه برگردد (۴۲). از طرف دیگر مطالعات نشان می‌دهد که دمتیلاسیون گسترده‌ای که قبل از لانه‌گزینی جنین رخ می‌دهد در جنین‌های کلون شده به طور کامل انجام نمی‌شود و متیلاسیون بعدی نیز در مقایسه با جنین‌های طبیعی دیرتر اتفاق می‌افتد (۲۸، ۴۵-۴۳). بازارایی ناقص الگوی متیلاسیون DNA می‌تواند منجر به اختلال در روند فعال‌سازی مجدد ژن‌هایی گردد که در فرایند تکوین جنین حیاتی هستند. از جمله این ژن‌های کلیدی و سرنوشت‌ساز می‌توان به ژن کدکننده فاکتور رونویسی Oct-4 اشاره کرد (۴۶) که به طور اختصاصی در سلول‌های بنیادی و پیش‌ساز سلول‌های جنسی (PGCs) بیان می‌شود و برای حفظ خصوصیات منحصر به فرد این سلول‌ها یعنی ویژگی پرتوانی و خودنوزایی ضروری است (۴۷). بیان غیرطبیعی ژن Oct-4 در جنین‌های کلون شده باعث می‌شود که ژن‌های فرودست آن نیز که برای جنین‌زایی اولیه حیاتی هستند به خوبی بیان نشوند. آنالیز ژن‌های Imprinted نیز نشان می‌دهد که اگرچه اغلب الگوی بیانی ویژه آنها حفظ می‌شود ولی میزان بیان در برخی سلول‌ها و بافت‌ها متفاوت از حالت نرمال است (۴۸). هم‌چنین بیان ناقص ژن‌های Imprinted و Oct-4 منجر به نواقص جفتی می‌گردد که به وفور در حیوانات کلون شده مشاهده می‌شود (۷، ۴۱).

بازارایی برنامه فراژنی در ایجاد سلول‌های بنیادی پرتوان القایی یا IPS

نکته بسیار قابل توجه این است که اخیرا فاکتورهای رونویسی شناسایی شده‌اند که می‌توانند در یک سلول سوماتیک بدون استفاده از سیتوپلاسم اووسیت، حالت پرتوانی القا کنند (۲۱-۱۸، ۴۹) که در اصطلاح به چنین سلولی، سلول بنیادی پرتوان القایی (Induced Pluripotent Stem Cell; IPS) گفته می‌شود. فن‌آوری ساخت سلول‌های IPS زمینه منحصر به فردی را برای شرح مکانیسم‌های مولکولی موثر در فرایند بازارایی فراژنی فراهم می‌کنند. به علاوه، این سلول‌های پرتوان القایی می‌توانند اطلاعات مفیدی پیرامون نقش تنظیمات فراژنی در روند تکوین طبیعی و نیز در بیماری‌های مرتبط در اختیار محققین قرار دهند و در نهایت می‌توان با بهره جستن از این تکنولوژی در راستای کمک به درمان بیماران، امکان سلول درمانی را برای هر شخص را با استفاده از سلول‌های خود بیمار بهبود بخشید.

نتیجه گیری

اگرچه ژنوم هر موجود به واسطه توالی اسیدنوکلیکی آن مشخص می‌شود، ولیکن ویژگی عملکردی آن توسط تنظیمات مختلف فراژنی کنترل می‌شود که در مجموع ژنوم را در داخل فضای سه بعدی هسته به صورت نواحی فعال و غیرفعال یا به اصطلاح یوکروماتین و هتروکروماتین تقسیم‌بندی می‌کند. این سازماندهی فراژنومی ماهیت کاملا دینامیکی دارد به طوری که بسته به وضعیت سلول و در طی فرایندهای مختلف سلولی دچار تغییر و بازارایی می‌گردد. حفظ الگوی بیان ژنی هر سلول که در واقع به واسطه ویژگی منحصر به فرد الگوی فراژنی آن تضمین می‌شود، «حافظه سلولی» نامیده می‌شود که امکان توارث الگوی بیان ژنی یک سلول را به نسل بعد از آن امکان‌پذیر می‌سازد. تنظیمات فراژنی کنترل کننده حافظه سلولی در فرایندهای مهم زیستی چون شکل‌گیری و تکوین جنین، تمایز طبیعی سلول‌های پرتوان جنینی به بافت‌های مختلف و نیز در فن‌آوری‌های نوینی چون شبیه‌سازی موجودات و بازگرداندن خاصیت پرتوانی به سلول‌های تمایز یافته جهت امکان سلول درمانی بیماران بسیار حایز اهمیت می‌باشد.

امید است با شناخت هر چه بیشتر مکانیسم‌های مولکولی کنترل کننده تنظیمات فراژنی بتوان گامی مثبت در جهت شناسایی هر چه دقیق‌تر این فرایندها و بهبود روش‌های تحقیقاتی- درمانی کنونی برداشت زیرا علم در جستجوی مطلق است.

References

1. Turner BM. Chromatin and gene regulation, Molecular mechanisms in epigenetics. London: Blackwell science; 2001; 221-275.
2. Shahhoseini M, Rabbani Chadegani A. An overview to the structure and function of nuclear matrix. Yakhteh. 2009; 10: 232-241.
3. Totonchi M, Shahhoseini M, Momeni Moghadam M, Baharvand H. Epigenetics of stem cells. Yakhteh. 2007; 9: 51-66.
4. Sasaki H, Matsui Y. Epigenetic events in mammalian germ-cell development: reprogramming and beyond. Nat Rev Genet. 2008; 9: 129-140.

5. Morgan HD, Santos F, Green K, Dean W,Reik W. Epigenetic reprogramming in mammals. Hum Mol Genet. 2005; 14 Spec 1: R47-58.
6. Reik W, Dean W, Walter J. Epigenetic reprogramming in mammalian development. Science. 2001; 293: 1089-1093.
7. Rideout WM 3rd, Eggan K, Jaenisch R. Nuclear cloning and epigenetic reprogramming of the genome. Science. 2001; 293: 1093-1098.
8. Surani MA. Reprogramming of genome function through epigenetic inheritance. Nature. 2001; 414: 122-128.
9. Feinberg AP, Tycko B. The history of cancer epigenetics. Nat Rev Cancer. 2004; 4: 143-153.
10. Goodell MA. Stem-cell "plasticity": befuddled by the muddle. Curr Opin Hematol. 2003; 10: 208-213.
11. Hsieh J, Gage FH. Epigenetic control of neural stem cell fate. Curr Opin Genet Dev. 2004; 14: 461-469.
12. Pomerantz J, Blau HM. Nuclear reprogramming: a key to stem cell function in regenerative medicine. Nat Cell Biol. 2004; 6: 810-816.
13. Shahhoseini M, Taei A, Mehrjardi NZ, Salekdeh GH, Baharvand H. Epigenetic analysis of human embryonic carcinoma cells during retinoic acid-induced neural differentiation. Biochem Cell Biol. 2010; 88: 527-538.
14. Dean W, Santos F, Reik W. Epigenetic reprogramming in early mammalian development and following somatic nuclear transfer. Semin Cell Dev Biol. 2003; 14: 93-100.
15. Hochedlinger K, Rideout WM, Kyba M, Daley GQ, Blelloch R, Jaenisch R. Nuclear transplantation, embryonic stem cells and the potential for cell therapy. Hematol J. 2004; 5 Suppl 3: S114-117.
16. Jouneau A, Renard JP. Reprogramming in nuclear transfer. Curr Opin Genet Dev. 2003; 13: 486-491.
17. Kang YK, Lee KK, Han YM. Reprogramming DNA methylation in the preimplantation stage: peeping with Dolly's eyes. Curr Opin Cell Biol. 2003; 15: 290-295.
18. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. Cell. 2007; 131: 861-872.
19. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. Cell. 2006; 126: 663-676.
20. Wernig M, Lengner CJ, Hanna J, Lodato MA, Steine E, Foreman R, et al. A drug-inducible transgenic system for direct reprogramming of multiple somatic cell types. Nat Biotechnol. 2008; 26: 916-924.
21. Wernig M, Meissner A, Foreman R, Brambrink T, Ku M, Hochedlinger K, et al. In vitro reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. Nature. 2007; 448: 318-324.
22. Allegrucci C, Thurston A, Lucas E ,Young L. Epigenetics and the germline. Reproduction. 2005; 129: 137-149.
23. Kimmins S, Sassone-Corsi P. Chromatin remodelling and epigenetic features of germ cells. Nature. 2005; 434: 583-589.
24. Surani MA, Hayashi K,Hajkova P. Genetic and epigenetic regulators of pluripotency. Cell. 2007; 128: 747-762.
25. Adenot PG, Mercier Y, Renard JP, Thompson EM. Differential H4 acetylation of paternal and maternal chromatin precedes DNA replication and differential transcriptional activity in pronuclei of 1-cell mouse embryos. Development. 1997; 124: 4615-4625.
26. Santos F, Hendrich B, Reik W, Dean W. Dynamic reprogramming of DNA methylation in the early mouse embryo. Dev Biol. 2002; 241: 172-182.
27. Beaujean N, Hartshorne G, Cavilla J, Taylor J, Gardner J, Wilmut I, et al. Non-conservation of mammalian preimplantation methylation dynamics. Curr Biol. 2004; 14: R266-267.
28. Dean W, Santos F, Stojkovic M, Zakhartchenko V, Walter J, Wolf E, et al. Conservation of methylation reprogramming in mammalian development: aberrant reprogramming in cloned embryos. Proc Natl Acad Sci USA. 2001; 98: 13734-13738.
29. Fulka H, Mrazek M, Tepla O, Fulka J Jr. DNA methylation pattern in human zygotes and developing embryos. Reproduction. 2004; 128: 703-708.
30. Lane N, Dean W, Erhardt S, Hajkova P, Surani A, Walter J, et al. Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse. Genesis. 2003; 35: 88-93.
31. Mayer W, Niveleau A, Walter J, Fundele R, Haaf T. Demethylation of the zygotic paternal genome. Nature. 2000; 403: 501-502.
32. Oswald J, Engemann S, Lane N, Mayer W, Olek A, Fundele R, et al. Active demethylation of the paternal genome in the mouse zygote. Curr Biol. 2000; 10: 475-478.
33. Rougier N, Bourc'his D, Gomes DM, Niveleau A, Plachot M, Paldi A, et al. Chromosome methylation patterns during mammalian preimplantation development. Genes Dev. 1998; 12: 2108-2113.
34. Beaujean N, Taylor J, Gardner J, Wilmut I, Meehan R, Young L. Effect of limited DNA methylation reprogramming in the normal sheep embryo on somatic cell nuclear transfer. Biol Reprod. 2004; 71: 185-193.
35. Santos F, Dean W. Epigenetic reprogramming during early development in mammals. Reproduction. 2004; 127: 643-651.
36. Young LE, Beaujean N. DNA methylation in the preimplantation embryo: the differing stories of the mouse and sheep. Anim Reprod Sci. 2004; 82-83: 61-78.
37. Wakayama T, Perry AC, Zuccotti M, Johnson KR, Yanagimachi R. Full-term development of mice from enucleated oocytes injected with cumulus cell nuclei. Nature. 1998; 394: 369-374.
38. Wilmut I, Schnieke AE, McWhir J, Kind AJ, Campbell KH. Viable offspring derived from fetal and adult mammalian cells. Nature. 1997; 385: 810-813.
39. Ogonuki N, Inoue K, Yamamoto Y, Noguchi Y, Tanemura K, Suzuki O, et al. Early death of mice cloned from somatic cells. Nat Genet. 2002; 30: 253-254.
40. Tamashiro KL, Wakayama T, Akutsu H, Yamazaki Y, Lachey JL, Wortman MD, et al. Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring. Nat Med. 2002; 8: 262-267.
41. Tanaka S, Oda M, Toyoshima Y, Wakayama T, Tanaka M, Yoshida N, et al. Placentomegaly in cloned mouse concepti caused by expansion of the spongiotrophoblast layer. Biol Reprod. 2001; 65: 1813-1821.
42. Tian XC, Xu J, Yang X. Normal telomere lengths found in cloned cattle. Nat Genet. 2000; 26: 272-273.
43. Bourc'his D, Le Bourhis D, Patin D, Niveleau A,

Comizzoli P, Renard JP, et al. Delayed and incomplete reprogramming of chromosome methylation patterns in bovine cloned embryos. Curr Biol. 2001; 11: 1542-1546.
44. Kang YK, Koo DB, Park JS, Choi YH, Chung AS, Lee KK, et al. Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos. Nat Genet. 2001; 28: 173-177.
45. Kang YK, Park JS, Koo DB, Choi YH, Kim SU, Lee KK, et al. Limited demethylation leaves mosaic-type methylation states in cloned bovine pre-implantation embryos. EMBO J. 2002; 21: 1092-1100.
46. Boiani M, Eckardt S, Scholer HR,McLaughlin KJ. Oct4 distribution and level in mouse clones: consequences for pluripotency. Genes Dev. 2002; 16: 1209-12190.
47. Niwa H, Miyazaki J, Smith AG. Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells. Nat Genet. 2000; 24: 372-376.
48. Inoue K, Kohda T, Lee J, Ogonuki N, Mochida K, Noguchi Y, et al. Faithful expression of imprinted genes in cloned mice. Science. 2002; 295: 297.
49. Hochedlinger K, Plath K. Epigenetic reprogramming and induced pluripotency. Development. 2009; 136: 509-523.