جائزة نوبل في الكيمياء لعام 2017 وتصوير الجزيئات الحيوية

د. محمد راغب عيسى

في اليوم الرابع من شهر اكتوبر من عام 2017 تم الاحتفال لتسليم جائزة نوبل في الكيمياء لثلاثة مشاهير في مجالات مختلفة ولكنها التقت معا لتقدم طريقة جديدة سهلة وفعالة لدراسة الجزيئات الحيوية مثل الفيروسات وغيرها بهدف معرفة سلوكها وكيفية التغلب عليها.

تمتاز قصة هذه الجائزة بتسليط الضوء على المشوار الطويل حوالي 40 سنة من إصرار مجموعات البحث المختلفة لتحسين نتائجهم وتطويرها إلى ان تُوّج هذا العمل بالنجاح في سنة 2013. أضف إلى ذلك أن الأساتذة الذين مُنحوا الجائزة لهم خلفيات علمية مختلفة وينتمون لجامعات مختلفة في بلدان مختلفة، وهذا يقدم رسالة واضحة إلى أن التعاون العلمي هو الطريق الأمثل للوصول إلى الهدف. هؤلاء الثلاثة الذين مُنحوا الجائزة في الكيمياء هم:

ريتشارد هندرسون أستاذ في الجزيئات البيولوجية في مختبرات البحث الطبية في جامعة كيمبرج/ بريطانيا.

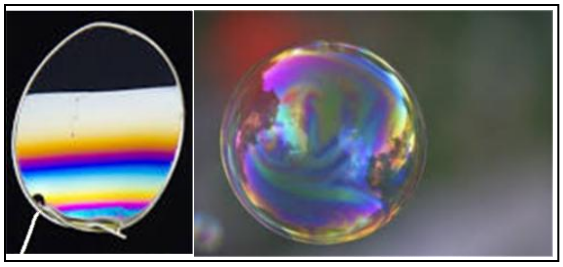
يوشين فرانك أستاذ في جامعة كولومبيا نيويورك / الولايات المتحدة.

جاك دوبوشية أستاذاً فخريا في جامعة لويزيانا في سويسرا.

قبل أن استعرض تفاصيل إنجاز كل منهم، وأثره على نتائج دراسة الجزيئات البيولوجية والتي أدت إلى منحهم الجائزة، لا بد من تسليط الضوء على مبادئ الفيزياء التي لعبت دورا هاما في هذا التطوير.

التداخل Interference

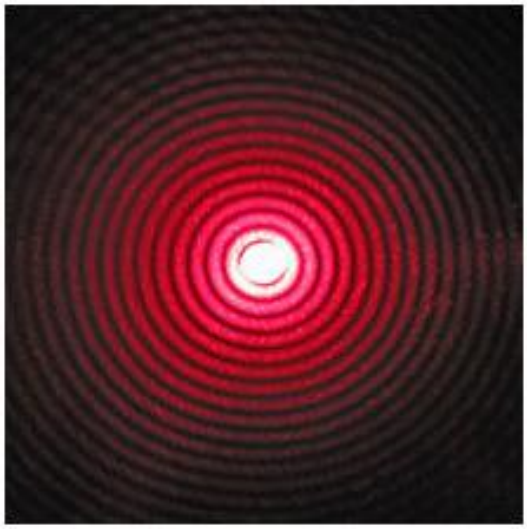
أبسط مثال لتداخل الضوء هو نموذج فقاعة أو غشاء محلول الصابون، انظر شكل (1). لأن ضوء الشمس يشمل بطياته العديد من ألوان الطيف فإن كل موجة من ألوان الطيف سوف تنعكس عن السطح الداخلي أو الخارجي للغشاء، ولأن زاوية الانعكاس تعتمد على اللون (الطول الموجي) ستظهر لدينا حزم مميزة لكل لون. يحدث التداخل (جمع الموجات معا والتي تصل عند موقع مشترك) بين الموجات من نفس اللون والمنعكسة عن السطح الداخلي أو الخارجي للغشاء.



شكل (1): يبين تداخل الضوء بسبب انعكاس الضوء عن السطحين الداخلي والخارجي لسطح الفقاعة أو الغشاء وينتج عن ذلك في الحالتين تحليل الضوء بألوانه المعروفة عند النظر إليهما

الحيود Diffraction

عند اعتراض حزمة ضوئية متجانسة اللون والمنشأ بفتحة ضيقة (أو حاجز رفيع مثل شعرة الرأس أو عائق صغير) فإن الموجات النافذة ستحيد عن مسارها وعند التقائها معا عند مواقع على شاشة ينتج من ذلك صورا متعددة وهو ما يعرف باسم نمط الحُيود Diffraction Pattern، انظر شكل (2). هذه الصور تأخذ شكل الحاجز (الثقب الضيق) الذي يعترض مسار الموجات الساقطة.



الشكل(2) : يبين حيود أشعة الليزر بعد نفاذها من ثُقب ضيق. لاحظ تكون الحلقات المضيئة والمعتمة والناتجة من حُيود شعاع الليزر.

قاعدة

لمشاهدة ظاهرة التداخل أو الحيود يجب أن تتوفر عدة شروط منها:

- الموجات الساقطة لها نفس الطول الموجي.
- أن تكون الموجات متفقة الطور.
- أن تكون ابعاد العائق (الحاجز) من رتبة الطول الموجي للموجات المستخدمة.

هذه الشروط اساسية لتوفير جودة الصور الناتجة.

الشرط الأخير يبين أن موجات الضَّوء (متوسط الطول الموجي من رتبة 5000 أنجستروم) لا تصلح لدراسة الجزيئات الحيوية قيد البحث، وهذا يفسر اختيار الأشعة السينية في بادئ الأمر خلال السبعينات والثمانينات من القرن الماضي. وقد أُضيفت لاحقا أدوات أخرى في تصوير هذه الجزيئات مثل: الرنين المغناطيسي للبروتون NMR، وهي طريقة تستغل سلوك البروتون وخواصه الفيزيائية والتي تمكنها من امتصاص طاقة عند تغير اتجاه مغزل البروتون (أي انقلاب اتجاه المغزل). أما الأداة الثالثة فهي المجهر الإلكتروني، وكما يدل اسمه فهو مجهر لتكوين صور مكبرة لأجسام صغيرة (من رتبة الذرات) باستخدام حزمة الكترونات معجلة في وسط مفرغ. تسلك الإلكترونات في انتشارها كسلوك الموجات، ومن هنا سوف نلاحظ ظاهرة حيود الإلكترونات عند اعتراض مسارها عائق مثل ذرات الجزيء.

الشرط الرئيسي في الطريقة المطوّرة في مجال دراسة الجزيئات الحيوية هو كيفية الحصول على تفاصيل مواقع الذرات في الجزيء وكذلك ملاحظة تفاعل هذا الجزيء مع محيطه.

قوة الفصل

للحصول عل صورة واضحة تبين تفاصيل الجسم المعني، لا بد من توفير شرط قوة فصل عالية.

تعرف قوة الفصل بأصغر مسافة بين مركزي صورتي الحيود عندما تبدو الصورتان منفصلتين في أي جهاز قيد الدراسة.

الطرق الثلاثة السابقة الذكر تعتمد على توزيع الذرات في العينة وهذه الذرات هي العائق الذي سيحدد نمط الحيود فكلما ظهرت صور الذرات المتجاورة متباعدة وواضحة كلما كان تحليل الصورة (قوة الفصل) أعلى وأفضل.

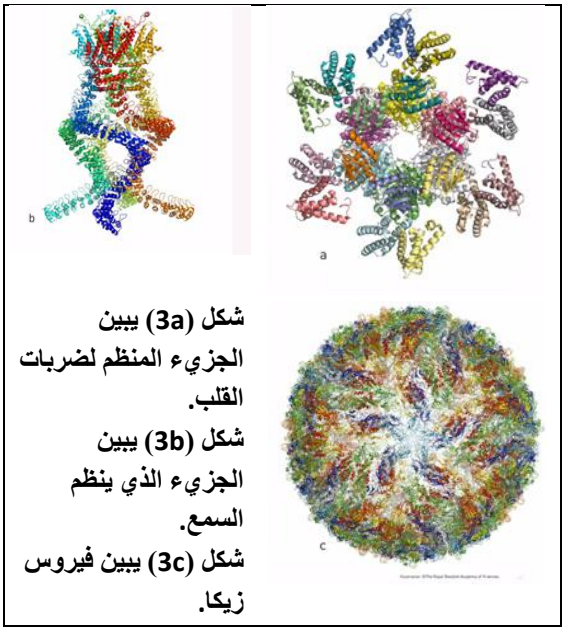
قصة تصوير الحياة على نطاق توزيع الذرات في الجزيء

استخدام المجهر الإلكتروني وعينات مغلفة بماء في حالة زجاجية وتحليل الصورة ببرنامج مخصص لذلك أصبح يعرف بطريقة التصوير باستخدام المجهر الإلكتروني وعينات مغلفة بماء في حالة زجاجية لا بللورية أو

(Cryo-electron microscopy (CEM))

يمكن للباحثين بهذه الطريقة تصوير جزيئات حيوية بقوة فصل من رتبة الذرات المكونة للجزيء. هذه الطريقة نقلت الكيمياء الحيوية نقلة نوعية وادخلتها في مرحلة جديدة ذات افق واسع. خلال السنوات الماضية ظهر كثير من صور الجزيئات الحيوية الهامة في مقالات منشورة كما تبدو في شكل (3) ، ومن أمثلة ذلك: ابر السلمونيلا التي تهاجم الخلايا، البروتين المانح لمقاومة أثر العلاج الكيماوي أو المضادات الحيوية، الجزيئات المركبة التي تحكم ضربات القلب، عملية التمثيل الضوئي وكاشفات تغير الضغط في الأذن والمسببة للسمع. هذه قائمة قصيرة لمئات الجزيئات التي تم دراستها وتصويرها باستخدام طريقة (CEM)

قبل عدة سنوات ظهرت أعراض خطيرة على أطفال حديثي الولادة في البرازيل كان سببها فيروس زيكا الذي يسبب تلف الدماغ لهؤلاء الأطفال. عندها قام الباحثون باستخدام المجهر الإلكتروني والطريقة الجديدة لمعرفة المزيد عن هذا الفيروس، وبعد عدة أشهر من محاولاتهم حصلوا على صور عالية الجودة وذات قوة تحليل أفضل تبرز تفاصيل التوزيع الذري للجزيء. ثم قاموا بالبحث عن جزيئات لها القدرة على تدمير هذا الجزيء كعلاج للمرض. فما هي هذه الطريقة وما هي مراحل تطويرها؟



شكل (3a) يبين الجزيء المنظم لضربات القلب.
شكل (3b) يبين الجزيء الذي ينظم السمع.
شكل (3c) يبين فيروس زيكا.

الصورة مصدر هام للمعرفة

في النصف الأول من القرن العشرين أدرك الباحثون أهمية الجزيئات الحيوية في نشاط الخلية بالرغم من عدم معرفتهم تفاصيل هذه الجزيئات إلى أن تمكن فريق البحث في كيمبريج من الحصول على صور لجزيئات DNA، RNA . هذه الصور لم تكن واضحة لتوفر دراسة تفصيلية لهذه الجزيئات بل أعطت الشكل العام، وكانت أشكالا لولبية. في فترة الثمانينات بدأ استخدام طريقة NMR في تصوير الجزيئات بالتوازي مع تطبيقات الأشعة السينية. الطريقة أظهرت ليس فقط توزيع الذرات في الجزيء بل كيفية حركة هذه الجزيئات وتفاعلها مع جزيئات أخرى. الطريقتان المذكورتان وفرتا معلومات وبيانات لآلاف الجزيئات الحيوية المستخدمة في الأبحاث والتطبيقات الطبية، بالرغم من ذلك فإن كلا الطريقتين مقيدتان بالشروط التي تحد من فعاليتهما في كثير من التطبيقات، فمثلا، طريقة NMR تصلح لعدد قليل من الجزيئات في محلول، وأما التصوير بالأشعة السينية يتطلب تحويل العينة إلى بلورات عالية الجودة وتكون الصور الناتجة باللون الأسود والأبيض في الحالتين كما كان التصوير الضوئي سابقا. هذا التصوير لا يعطي فكرة عن حركة الجزيئات وتفاعلها مع محيطها. أضف إلى ذلك فإنه لا يمكن الحصول على بلورات لجزيئات كثيرة وهامة.

تحول هندرسون إلى مسار جديد

كان موضوع بحث هندرسون لرسالة الدكتوراه في جامعة كيمبرج هو استخدام الأشعة السينية لتصوير البلورات وتطبيقها على بروتين رودوبسين والذي يتواجد في غشاء الخلية. عندما حاول هندرسون عزل هذه الجزيئات عن بيئتها انكمشت وأصبحت غير صالحة للدراسة. عندئذ أيقن هندرسون أنه لا فائدة في الاستمرار في هذه المحاولات. بعد عدة سنوات، قرر ان يستخدم المجهر الإلكتروني لتصوير هذه الجزيئات بالرغم من عدم التفاؤل في جدوى هذه الطريقة من قِبَل باحثين آخرين.

المجهر الإلكتروني والطريقة النفاذة في التصوير

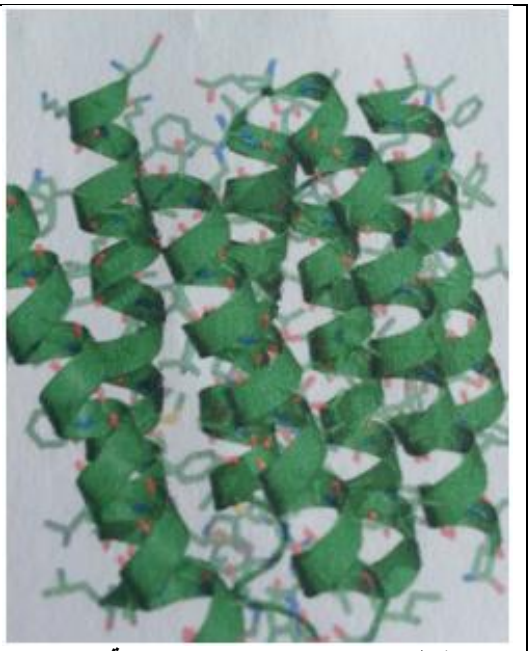
هذه الطريقة تشبه استخدام المجهر الضوئي حيث ترسل حزمة ضوئية على العينة ثم مشاهدة أو تصوير العينة. أما المجهر الإلكتروني فيتم تعجيل وتوجيه إلكترونات نحو العينة في اسطوانة مفرغة ثم تجمع الإلكترونات بكاشف حساس والذي بدوره يُكوِّن صورة العينة. الطول الموجي المرافق للإلكترونات أصغر بكثير من الطول الموجي للضوء وعليه فإن المجهر الإلكتروني سيُظهر تفاصيل دقيقة تُبرِز مواقع الذرات في الجزيء. المشكلة الأولى التي واجهت هندرسون هي جفاف العينة وانكماشها عند وضعها في الأسطوانة المفرغة. مما سبق كان من المتوقع فشل هندرسون في محاولاته، لكن اختياره لبروتين رودوبسين ذي اللون الأرجواني الذي يتواجد في غشاء الخلية، أنقذ مشروعه. ولكن **.... هذا لم يكن كافيا.**

إصرار هندرسون للحصول على نتائجَ أفضل

كما ذكرنا، الجزيء الذي استخدمه هو جزيء رودوبسين الأرجواني اللون والذي يتواجد في غشاء الخلية وله دور رئيسي في التمثيل الضوئي في الخلية، وبدلا من نزع الجزيء من الغشاء كما فعل سابقا، قام بتغطية العينة بسائل جلوكوز ليمنع جفافها ثم خفض كثافة الإلكترونات المتدفقة نحو العينة لتقليل ضررها عليها. أدت تلك الترتيبات إلى حصوله على صورة داكنة للجزيئات سنة 1975 إلا انها لم تُظْهِر معالم الجزيء كما يبين شكل (4)

شكل (4) يبين صورة جزيء رودوبسين سنة 1975

بالرغم من ذلك كانت الصورة الناتجة حافزا للاستمرار في تطوير طريقة تحليل الصورة لأن الجزيئات بدت مرتبة بنمط معين وتنحو باتجاه مشترك. هذا النمط شجع الفريق للاستفادة من المنظومة كمحزوز الحيود وتطبيق قوانينه في طرق تحليل الصورة المُعتَمدة في تصوير البلورات بالأشعة السنية لتحديد مواقع الذرات في كل جزيء. عند تدوير العينة بزوايا مختلفة مع محور اتجاه الإلكترونات تمكن هندرسون من الحصول على صورة الجزيء ثلاثية الأبعاد سنة 1991 كما يبينه شكل(5)



شكل(5) يبين جزيء رودوبسين سنة 1991

الصورة في الشكل تبين زحزحة الجزيء داخل الغشاء سبع مرات خلال مرحلة التصوير. كانت هذه الصورة أفضل صورة للبروتين تم تصويرها في المجهر الإلكتروني في تلك الفترة وكانت قدرة الفصل لمكونات الجزيء سبعة انجستروم. هذه النتيجة نالت إعجاب الكثير من الباحثين، إلا أن هندرسون لم يكتفي بذلك وكان يطمح للحصول على نفس قدرة الفصل بالأشعة السينية وهي من رتبة ثلاثة انجستروم لقناعته التامة أن المجهر الإلكتروني لديه الكثير في هذا المضمار.

الاقتراب من الهدف

سنة 1990 وبعد مرور خمسة عشر عاماً على تصويره الجزيء الحيوي بالمجهر، وبعد ادخال تحسينات على أداء المجهر الإلكتروني وكذلك نجاح مجموعة بحثية أخرى في إعداد برنامج حسابي لاستنتاج نماذج الحيود لجزيء ما، تم وضع صوره ثلاثية الأبعاد لهذا الجزيء. بالإضافة إلى نجاح المجموعة الثالثة في ابتكار طريقة جديدة لتحضير العينات تتناسب وظروف المجهر الإلكتروني كما سنبين ذلك لاحقا. من هنا فقد أثبت هندرسون إمكانية الحصول على صور بالمجهر الإلكتروني بقدرة فصل تضاهي تلك الناتجة باستخدام الأشعة السينية ولكنها تفوقت عليها لإمكانية تصوير جزيئات يصعب تحويلها إلى بلورات.

اعتمد نجاح هندرسون في تصوير بروتين رودوبسين على خواص هذا الجزيء في غشاء الخلية والتي تصطف فيها بانتظام. هذا الوضع لا ينطبق على جميع الجزيئات بشكل عام.

هنا يبرز سؤال آخر..كيف يمكن تعميم التصوير بالمجهر الإلكتروني على أنواع جزيئات مختلفة؟

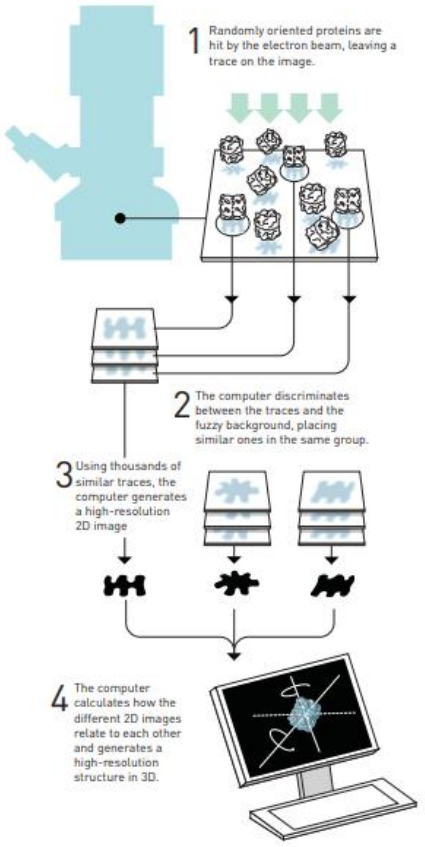
هل يمكن الحصول على تفاصيل ذرات الجزيء حتى لو كانت منظومة الجزيئات موزعة عشوائيا وباتجاهات مختلفة؟ بقي هندرسون واثقا من ذلك بالرغم من تشكك الكثير من مراكز البحث الأخرى.

لنتوقف قليلا لإلقاء الضوء على نشاط الشريكين في الجائزة ودورهما في تحسين أداء المجهر الإلكتروني في تصوير الجزيئات.

طرق تحليل الصور المجهرية وتحويلها إلى صور ثلاثية الأبعاد

عمل يوشين فرانك في دوائر الصحة العامة بنيويورك وكان دوره إعداد برنامج حاسب لتحليل نتائج التصوير بالمجهر الإلكتروني وتحويلها إلى صور ثلاثية الأبعاد.

وضع فرانك خطته سنة 1975 للاستفادة من الصور المتعددة في بعدين وعلى زوايا مختلفة لدمجها معا وتحويلها إلى صورة ثلاثية الأبعاد. استمرت محاولاته هذه أكثر من عشر سنوات حتى تمكن من تنفيذ خطته كما يلي، أنظر الشكل (6).



شكل (6) يبين خطوات فرانك في تحليل الصور من المجهر الإلكتروني.

توجه الإلكترونات نحو جزيئات العينة

والمرتبة عشوائيا لتكوين صورة لها في بعدين وتكرر هذه الخطوة للحصول على صور جديدة يميل مستواها عن اتجاه الإلكترونات بزوايا متعددة.

البرنامج له القدرة على التعرف على نفس الجزيئات في الصور المختلفة وتمييزها عن خلفية الصورة وترتيبها معا في مجموعة واحدة. تكرر الخطوة السابقة آلاف المرات ويقوم الحاسب بإنتاج صورة في بعدين واضحة المعالم لكل جزيء.

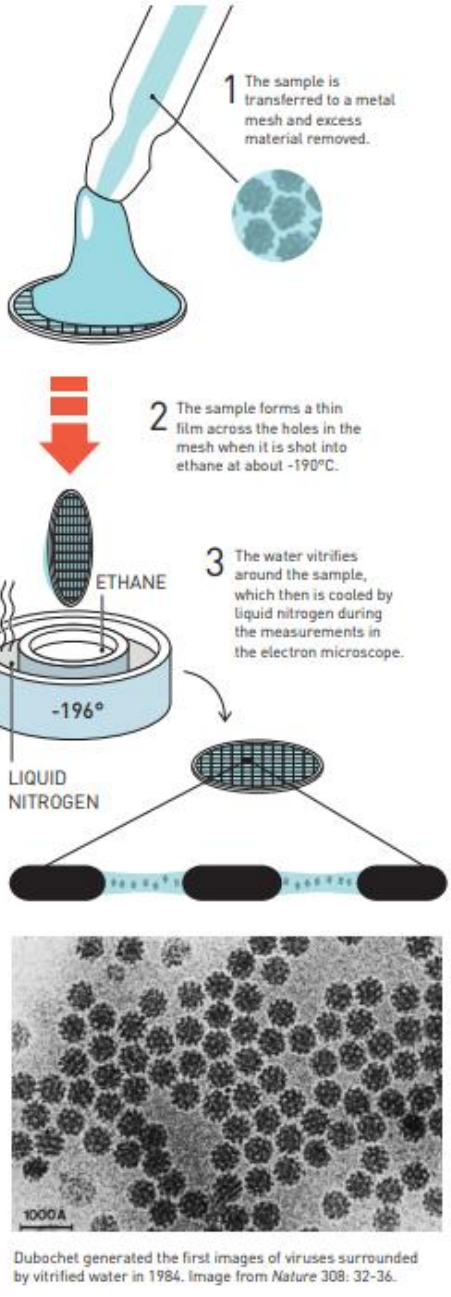
الخطوة الأخيرة يقوم الحاسب بربط العلاقة بين صور نفس الجزيء ولكن على زوايا ميل مختلفة وتكوين صورة واضحة المعالم بثلاثة ابعاد.

تمكن فرانك من نشر دراسته سنة 1981. هذا البرنامج وضع احدى لبنات الطريقة الجديدة لتصوير الجزيئات بالمجهر الإلكتروني ثم تحليل الصور للحصول على صورة ثلاثية الأبعاد.

الماء الزجاجي والتصوير بالمجهر الإلكتروني Cryo-ElectronMicroscopy (CEM)

عند تبريد محلول عينة إلى درجة حرارة النيتروجين السائل (-196 درجة مئوية) ببطء يتحول الماء إلى حالة بلورية وهذا لا يصلح لدراسة تفاصيل الجزيئات، لتجنب هذا الوضع، فكر دوبوشيه بإجراء التبريد المفاجئ في سائل النيتروجين.

وبعد تجربته لم تكن النتيجة موفقة، ولذلك لجأ إلى وضع العينة في سائل ايثين ثم وضع هذا السائل في اسطوانة سائل النيتروجين كما يبين شكل (7) ثم قام بالخطوات التالية:



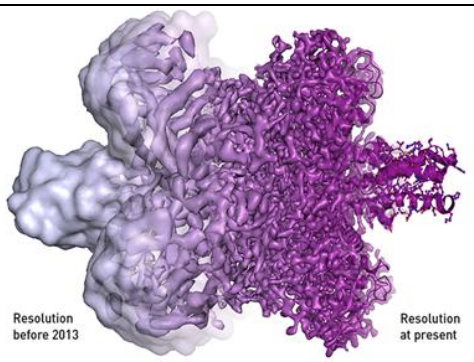
شكل (7) يبين مراحل تصوير العينة بطريقة

بعد تذويب العينة (فيروسات مثلا) في الماء وخلطها جيدا ينشر المحلول على شبكة معدنية (باسخدام قطارة). يتكون غشاء المحلول في فتحات الشبكة ثم تقذف

القطعة الشبكية بسرعة في سائل الأيثين المغمور في سائل النتروجين. بسبب التبريد المفاجئ، يتحول الماء حول العينة إلى غشاء زجاجي يعمل على حماية الفيروسات من التلف أو الجفاف في الغرفة المفرغة في المجهر الإلكتروني. وقد تمكن دوبوشيه نشر أول صورة للعديد من الفيروسات وباستخدام هذه الطريقة سنة 1984

تظهر صور الفيروسات في شكل (7) على أشكال كروية وسداسية ثلاثية الأبعاد ومميزة عن خلفية الصورة الناتجة من جزيئات الماء. وبذلك يكون دوبوشيه قد وضع أسساً واضحة وسهلة لدراسة وتصوير الجزيئات على اختلاف أنواعها باستخدام التبريد المفاجئ للعينة وهو ما يعرف باسم (CEM).

لدراسة جزيء ريبوسوم وتحليل النتائج (CEM)حاول فرانك سنة 1991 باستخدام برنامجه وحصل على صورة ثلاثية الأبعاد ولكن قدرة الفصل فيها كانت من رتبة 40 أنجستروم وتبدو الجزيئات في الصورة دون أي تفاصيل وكأنها قطرات هلامية غير منتظمة كما في شكل (8-أ). لكن اصرار هندرسون على أهمية المجهر الإلكتروني في دراسة الجزيئات دفعه لتحسين ادوات هذا الجهاز بما في ذلك كاشف الإلكترونات المستخدم وكان له ما أراد عندما نجح سنة 2013 في الحصول على صورة لنفس الجزيء الذي درسه فرانك من قبله ولكن بقدرة فصل من رتبة الذرات كما في شكل (8-ب).



شكل (8) يبين التحسن في قدرة الفصل لتصوير الجزيئات اذ تبدو الجزيئات عن اليسار غير واضحة المعالم وهي فترة ما قبل 2013، بينما نفس الجزيئات عن اليمين واضحة المعالم وتمثل سنة 2013

منذ ذلك الحين، أصبحت معالم الخلية قابلة للاستكشاف ويعود ذلك الفضل إلى تطوير أدوات (CEM) بحيث أصبحت الطريقة سهلة وقابلة للتطبيق على جميع الجزيئات. نظرا للتبريد المفاجئ أصبح من الممكن إعادة التصوير للعينه الواحدة ملايين المرات خلال مراحل متنوعة ومن ثم توفير فيديو يبين كيفية تفاعل الجزيء مع جزيئات أخرى، وأصبح بالإمكان تصوير جزيء بروتين غشاء الخلية والذي يستخدم كعنصر تجريبي في تفاعله مع الأدوية أو مع جزيئات أضخم منه. التحسينات التي أدخلها العلماء الثلاثة:هندرسون، دوبوشيه، وفرانك على طريقة دراسة الجزيئات فتحت فرصا ذات افق واسع للجميع، واصبحت دراسة الكيمياء البيولوجية مفتوحة على معالم بلا حدود ومستقبل ينتظر مفاجئات جديدة.

تعليق:

الهدف من هذه المقالة هو تسليط الضوء على المستجدات في المعرفة العلمية. ويبقى الحق العلمي فيها للأساتذة الثلاثة الذين مُنِحوا الجائزة. أشكر ايضا الموقع الإلكتروني الذي وفر التفاصيل والأشكال وأخص بالذكر أكاديمية السويد العلمية.

1- Google photos – soap bubble and light interference.
2-en.wikipedia.org, Single hole laser diffraction pattern.
3-Swedish Academy of Science: www.kva.se

المصادر:
وللمزيد حول الموضوع:

- Cryo-electron microscopy wins chemistry Nobel.
- The science behind the 2017 Nobel prize in chemistry.
- What is Cryo-Electron Microscopy (Cryo-EM)?
- The 2017 Nobel Prize in Chemistry: Cryo-electron microscopy explained.

البريد الإلكتروني للكاتب: mohamad.issa@gmail.com