

ورقة بحثية

اكتشاف جين جديد يساهم في الإصابة بمرض السكري ويؤثر في استقلاب الجلوكوز

جلال تنيرة^{1,2*}، لينا الرفاعي^{2,1}، عبد القادر محمد²

¹ كلية الطب، قسم العلوم الطبية الأساسية، جامعة الشارقة، الإمارات العربية المتحدة
² معهد البحوث للعلوم الطبية والصحية، جامعة الشارقة، الإمارات العربية المتحدة

Email: jtaneera@sharjah.ac.ae *

الملخص

المقدمة وهدف الدراسة: يعد مرض السكري من النوع الثاني مرضًا متعدد العوامل والجينات. وقد تم اكتشاف أكثر من 140 متغيرًا جينيًا وراثيًا مرتبطًا بسببية المرض، ولكنها تفسر فقط 10% من الأسباب الوراثية للسكري. لهذا، تسعى هذه الدراسة إلى استخدام نهج جديد تُحدّد من خلاله جينات جديدة مشاركة في فسيولوجية مرض السكري وإفراز الإنسولين. **طريقة البحث:** تم تحليل بيانات تسلسل الحمض النووي الريبوزي من جزر البنكرياس البشرية جُمعت من 89 متبرعًا. كما أُجريت سلسلة من التجارب الوظيفية في خلايا بيتا الحيوانية (INS-1) من الفئران للتحقق من الدور المحتمل للجين المرشح بما في ذلك تثبيط نشاطه، وإفراز الإنسولين، وحيوية الخلية، وموت الخلية المبرمج، والتعبير الجيني. **النتائج:** قد أظهر تحليل التعبير الجيني التفاضلي لبيانات تسلسل الحمض النووي الريبوزي أن 231 جينًا كان لها تعبير منخفض على نحو ملحوظ في جزر البنكرياس من المتبرعين المرضى بالسكري مقارنة بالأصحاء. وتم خفض عدد الجينات إلى 37 من جراء تطبيق قطع إحصائي أكثر صرامة. ومن بين تلك الجينات، تم اختيار (PPP1R1A) كجين مرشح بسبب ارتباطه القوي مع معدل السكري التراكمي، وتعبيره الجيني المرتفع في جزر البنكرياس البشرية مقارنة بباقي الجينات. وأيضًا، وُجد أن تعبير الجينات الوظيفية المهمة في خلايا بيتا مثل (INS) و(PDX1) و(GLUT2) و(INSR) انخفض على نحو كبير في الخلايا التي تُثبّط فيها نشاط (PPP1R1A). وخلصت الدراسة إلى أن (PPP1R1A) جين منظم لوظيفة خلايا بيتا وإفراز الإنسولين، كما سلط الضوء على قائمة من الجينات التي قد يكون لها دور وتأثير في مرض السكري.

الكلمات المفتاحية: PPP1R1A، جزر البنكرياس البشرية، خلايا (INS-1)، إفراز الإنسولين، تسلسل الحمض النووي الريبوزي، سيرنا.

Title

Identification of a novel gene involved in the pathogenesis of type 2 diabetes and influencing glucose metabolism

Jalal Taneera^{1,2*}, Linah Alrefaei^{1,2}, Abdul Khader Mohammed²

¹ College of Medicine, Department of Basic Medical Sciences, University of Sharjah, UAE

² Research Institute of Medical & Health Sciences, University of Sharjah, UAE

Abstract

Background: Type 2 diabetes (T2D) is a multifactorial polygenic disease with an unclear causative mechanism. Close to 140 genetic variants are associated with T2D, but they only explain 10% of the heritability. **Aim:** In this study, we employed a novel approach to identify novel genes involved in the pathophysiology of T2D and insulin secretion. **Methods:** We analyzed RNA-sequencing data from human pancreatic islets at a global level. Furthermore, we performed a series of functional experiments in rat pancreatic β -cells to validate the potential role of the candidate gene including siRNA silencing, insulin secretion, cell viability, apoptosis, QPCR, and western blot expression of the key molecule in

Received 28 April 2022; accepted 19 May 2022; published 15 June 2022.

© 2022 The Author(s), licensee HBKU Press. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License CC BY 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Cite this as: Taneera J, Alrefaei L, Mohammed A. Identification of a novel gene involved in the pathogenesis of type 2 diabetes and influencing glucose metabolism. Arabian Journal of Scientific Research 2022;1.2. <https://doi.org/10.5339/ajsr.2022.2>

β -cells. Results: Differential expression analysis reveals those 231 genes are significantly ($P < 0.05$) downregulated in diabetic islets compared to nondiabetics. However, the number of genes was restricted to 37 genes by applying a cutoff of ($P < 0.01$). Of these genes, PPP1R1A was selected as a candidate gene due to its strong correlation with HbA1c and high expression in human pancreatic islets. Silencing of PPP1R1A in INS-1 cells was markedly reduced, insulin secretion while cell viability and apoptosis were not affected. In addition, the expression of Insulin, PDX1, GLUT2, and INSR was significantly down-regulated in PPP1R1A-silenced cells. Expression of NEUROD1 and GCK was not affected. **Conclusion:** The study identifies PPP1R1A as a novel regulator of pancreatic β -cell function and insulin secretion. Moreover, it introduces a list of potential genes to be explored for their role in the pathogenesis of T2D.

Keywords: PPP1R1A, human pancreatic islets, INS-1 cells; insulin secretion, RNA sequencing, siRNA silencing.

1- المقدمة

على البشر، إلا أنه في الآونة الأخيرة تم تجاوزها عبر فصل جزر البنكرياس من جثث المتبرعين المخصصة لأغراض الزراعة.

في هذه الدراسة، اتبعنا نهجاً جديداً لاكتشاف جينات مورثة جديدة تساهم في فهم الفيسيولوجيا المرضية لمرض السكري من النوع الثاني، من خلال بناء ومقارنة قاعدة بيانات تسلسل الحمض النووي الريبوزي (RNA-sequencing) من جزر البنكرياس لمتبرعين كانوا يعانون من مرض السكري ومتبرعين أصحاء. أظهرت نتائج تحليل التسلسل النووي الريبوزي أن 130 جيناً مورثاً كان لها مستوى تعبير جيني منخفض على نحو ملحوظ في خلايا المتبرعين المرضى مقارنة بالأصحاء. ومن بين هذه الجينات، تم تحديد واختيار جين يسمى (PPP1R1A) كجين مورث مرشح للمساهمة في الفيسيولوجيا المرضية لمرض السكري من النوع الثاني. وللتحقق من هذه النتيجة، أجريت عدة دراسات وظيفية في المختبر؛ حيث أشارت جميع بيانات الدراسة إلى أن الجين المورث (PPP1R1A) له دور محوري ومباشر في وظيفة خلايا بيتا وإفراز الإنسولين، ومن ثم في فسيولوجية مرض السكري من النوع الثاني.

2- المواد والأساليب البحثية

1-2 جزر لانغرهانز البشرية وقاعدة بيانات تسلسل الحمض النووي

الريبوزي (RNA-sequencing)

تم عزل خلايا جزر لانغرهانز من جثث بشرية شملت 89 متبرعاً من برنامج زرع الجزر الإسكندنافية (www.nordicislets.org).^{10, 11, 13} ومن أصل 89 متبرعاً، نجد منهم: 75 شخصاً صحيحاً غير مصابين بداء السكري، موزعين حسب الجنس إلى 30 أنثى و45 ذكراً، جُلهم من الفئة العمرية ما بين 52-72 سنة. وقد بلغ مؤشر كتلة الجسم لديهم 25.4 ± 2.8 ، وسجل مؤشر السكر التراكمي قيمة $5.5\% \pm 0.4$. أما المتبقون وعددهم 12 شخصاً فكانوا من المصابين بالسكري من النوع الثاني، موزعين حسب الجنس إلى 6 إناث و6 ذكور، وهم ضمن الفئة العمرية ما بين 54-76 سنة، وقُدِّر مؤشر كتلة الجسم لديهم بـ 29.4 ± 3.2 ، ونسبة السكر التراكمي $7.3\% \pm 1.0$. جرت زراعة جزر لانغرهانز المعزولة في المختبر في وسط (CMRL 1066) (ICN Biomedical، الولايات المتحدة الأمريكية) مضافاً إليها 20 ميكروغراماً/مل سيبروفلوكلوكساسين (Bayer Healthcare، ألمانيا)، و0.25 ميكروغرام/مل فوقيزون (GIBCO، الولايات المتحدة الأمريكية)، و50 ميكروغراماً/مل جنتاميسين، و2 ملي مول/لتر ل-غلوتامين، و10 ملي مول/لتر من محلول (HEPES) (Sigma، ألمانيا)، عند درجة حرارة 37° درجة مئوية وبوجود 5% من غاز ثاني أكسيد الكربون. وقد حُصلت جميع الموافقات لإجراء التجارب الحيوانية من لجنتي الأخلاقيات بجامعة أوبسالا وجامعة لوند في السويد. كما حصلنا على بيانات تسلسل الحمض النووي الريبوزي من مجموعات البيانات

يُعد مرض السكري أحد أكثر الأمراض انتشاراً في جميع أنحاء العالم؛ فحسب إحصائيات الاتحاد الدولي للسكري (International Diabetes Federation)، فإن معدل الإصابة به يتزايد على مستوى العالم، ومن المتوقع أن يصاب به أكثر من 550 مليون شخص بحلول عام 2030. ومن المعروف أن مرض السكري له أنواع متعددة، من أشهرها مرض السكري من النوع الأول (T1D)، والسكري من النوع الثاني (T2D) الذي قد تفوق الإصابة به أكثر من 90% من مجموع حالات السكري على مستوى العالم. يتميز السكري من النوع الثاني بزيادة مستوى سكر الدم (الغلوكوز)، بسبب نقص إفراز هرمون الإنسولين من خلايا بيتا (β) في البنكرياس، أو لضعف عمل الإنسولين ومقاومة الخلايا الجسمية له، أو كليهما.¹ يعتبر مؤشر نسبة الخضاب المتسكر أو السكر التراكمي (HbA1c) من أهم القياسات المعتمدة لمراقبة مستوى الغلوكوز في الدم؛ حيث يرتبط ارتفاع مستوى السكر التراكمي بانخفاض إفراز وحساسية الإنسولين، والعكس صحيح.²

وعلى الرغم من أن الآلية المرضية وأسباب داء السكري من النوع الثاني لا تزال غير واضحة تماماً، فإنه من المؤكد أن المرض يتطور نتيجة تفاعل بين الاستعداد الوراثي والعوامل البيئية مثل السمنة والنمط الغذائي الغربي.³ خلال العقود القليلة الماضية، تراكمت المعرفة العلمية عن السكري من النوع الثاني ومسبباته على نحو كبير؛ حيث تم ربط العديد من الاختلافات الجينية بتطور المرض واختلال عمل خلايا بيتا في البنكرياس. ومؤخراً، تمكنت دراسات الارتباط الوراثية (GWAS) على مستوى الجينوم من إظهار وتحديد أكثر من 140 متغيراً وراثياً شائعاً مرتبطاً بالسكري أو مستويات الغلوكوز/الإنسولين.⁴ وعلى الرغم من هذا النجاح، فإن هذه المتغيرات، للأسف، لا تستطيع تفسير سوى 10-15% فقط من الأسباب الوراثية لمرض السكري من النوع الثاني.⁵⁻⁹ ويرجع أحد الأسباب الرئيسة لهذا إلى أن حجم تأثير كل متغير وراثي متواضع جداً.

يتفق العلماء على أنه من المستبعد تحديد كامل المتغيرات الوراثية التي يمكن أن تفسر الخلفية الوراثية الكاملة لمرض السكري من النوع الثاني، لذا فالحاجة ماسة إلى تبني استراتيجية أكثر شمولية تجمع بين كل من معلومات الحمض النووي (DNA) والحمض النووي الريبوزي (RNA) والبروتين (Protein)؛¹⁰⁻¹² بحيث تقوم الاستراتيجيات الجديدة على استخدام الأنسجة ذات الصلة المباشرة بالمرض، كجزر لانغرهانز في البنكرياس، لبناء قاعدة بيانات للتعبير الجيني، ومن ثم دراسة الاختلاف في تلك البيانات لتحديد الجينات التي تقوم بدور فاعل في الإصابة بالمرض، وتلك التي لم يتم التعرف عليها سابقاً.^{10, 11} وتجدد الإشارة هنا إلى أن هذه الاستراتيجيات قد اصطدمت بتحدٍّ بالغ الصعوبة، ألا وهو كيفية الحصول على جزر لانغرهانز البشرية. تعتبر هذه العقبة إحدى أهم المعضلات في أبحاث مرض السكري

المتاحة للجمهور تحت رقم (GSE50398)، وتمت معالجة البيانات باستخدام متوسط مقتطع من القيم (M) وتقديهما على شكل شظايا/ كيلوباز من (Exon Per Million Fragments Mapped, FPKM) أو تحويلها إلى عدد (log2) لكل مليون باستخدام وظيفة (voom edgeR/ limma R-packages) كما هو موضح سابقاً.¹³

2-2 زراعة خلايا بيتا الحيوانية المفردة للإنسولين (INS-1 832/13)

استُخدمت خلايا الفئران (INS-1 832/13) في التجارب المخبرية،¹⁴ وزُرعت في جو رطب على درجة حرارة 37° درجة مئوية، وبوجود غاز الأكسجين بنسبة 95%، وغاز ثاني أكسيد الكربون بنسبة 5%، في وسط (RPMI 1640) (Sigma) الذي يحتوي على مركب د-غلوكوز (11.1 مم)، ومصل جنين البقر بنسبة 10%، و1 مل مولار من محلول (HEPES)، و5 مل من البنسلين/ ستربتومايسين، و2 مل مولار ل-غلوتامين، و1 مل مليم بيروفات الصوديوم، و50 ميكرومولار بيتا-مركابتوايثانول، وجميعها من شركة (Sigma).

3-2 تثبيط نشاط (PPP1R1A) بواسطة الحمض النووي الريبوزي

المتداخل الصغير (سيRNA) (siRNA)

زُرعت خلايا (INS-1) لمدة 24 ساعة، وفي اليوم التالي تم تثبيط نشاط عمل جين (PPP1R1A) باستخدام سيRNA (s133049, Thermo Fisher). ولأغراض التحكم، تم استخدام سيRNA للتحكم الضابط السلبي بحيث يتم إدخالها إلى الخلايا من دون أن تؤثر في أي من جينات الخلايا. ولإدخال السيRNA إلى الخلايا، جرى استخدام (Lipofectamine™ 3000, Invitrogen)، الولايات المتحدة الأمريكية) كما تم وصفه سابقاً في دراستنا السابقة.^{16,14}

4-2 قياس إفراز الإنسولين

لقياس إفراز الإنسولين على الخلايا التي خضعت لتثبيط نشاط جين (PPP1R1A)، جرى أولاً غسل خلايا (INS-1) مرتين باستخدام محلول ملحي متعادل يسمى (SAB) يحتوي على 114 ملي كلوريد الصوديوم، و4.7 ملي كلوريد الصوديوم، و2 ملي فوسفات البوتاسيوم، و1.16 ملي مولار سلفات المغنيسيوم، و20 ملي مولار من (HEPEPS)، و2.5 ملي كلوريد الكالسيوم، و25.5 ملي مولار بيكربونات الصوديوم، و0.2% من مص الأبقار على درجة حموضة 7.2. ثانياً، تم تعريض الخلايا لمحلول (SAB) سعة 2 مل مع 2.8 ملي مولار من الغلوكوز لمدة ساعتين. وبعد ذلك، تُركت الخلايا لمدة ساعة واحدة في 1 مل من محلول (SAB) يحتوي على 2.8 ملي مولار أو 16.7 ملي مولار غلوكوز.¹⁶ وأخيراً، جرى جمع 500 ميكرو لتر من محلول (SAB) عالي ومنخفض الغلوكوز وتخزينه على درجة حرارة 20- درجة مئوية إلى حين قياسه بواسطة فحص الإليزا (ELISA) بحسب إرشادات الشركة المصنعة (Mercodia، السويد).

5-2 تحليل لطخة ويسترن (Western blot analysis)

تم استخلاص البروتين الكلي من الخلايا التي خضعت لتثبيط عمل جين (PPP1R1A) باستخدام مادة (M-PER) (Thermo Fisher Scientific)، الولايات المتحدة الأمريكية) التي تحتوي على كوكتيل مثبط البروتياز. وقد جرى القياس الكمي لتركيز الخلية من البروتين على طريقة برادفورد القياسية (Bio-Rad، الولايات المتحدة الأمريكية). واستُخدم الرحلان الكهربائي الهلامي لـ 12% كبريتات دوديسيل الصوديوم-بولي أكريلاميد (SDS-PAGE)

لفصل 30-50 ميكروغراماً من البروتين ونقلها إلى غشاء النيتروسليلوز (Bio-Rad). واستُخدم مسحوق الحليب منزوع الدسم (5%) لانسداد الغشاء لمدة ساعة واحدة على درجة حرارة الغرفة، والغسيل بواسطة (TBST)، وجرى فحص اللطخة بأجسام مضادة أولية من الغلوبولين المناعي (IgG) ضد الإنسولين (Insulin, Cell signaling, USA)، ومستقبلات الإنسولين من النوعين الأول والثاني (α , β) (INSR)، والبروتين الناقل للغلوكوز (GLUT2)، إضافة إلى بروتين (GCK) و(PDX1) و(β -actin)، وجميعها تم شراؤها من شركة (Abcam) في المملكة المتحدة. وقد جرى ضبط جميع التراكيز ونسبة التخفيف للأجسام المضادة بناءً على إحدى الدراسات السابقة المنشورة.^{16,14}

جرى احتضان الأجسام المضادة الأولية عند 4 درجات مئوية طوال الليل، في حين كان تفاعل الأجسام المضادة الثانوية (مضاد الفأر والأرنب) مع الغشاء عند درجة حرارة الغرفة لمدة ساعة واحدة. واستُخدمت مجموعة (ECL) للكشف عن اللعنان الكيميائي (Bio-Rad، الولايات المتحدة الأمريكية). وجرى قياس كمية نطاق البروتين باستخدام برنامج (Image Lab) الخاص بـ (ChemiDoc™ Touch Gel | Bio-Rad) و(Western Blot) (Imaging System | Bio-Rad). تم استخدام (β -actin) كعنصر تحكم عادي، وحُدّدت قيمة اختبارات التحكم (غير المعالجة) بـ 1.00، وجرى قياس الاختبارات التحقيقية مقارنةً بمجموعة التحكم.

6-2 استخراج الحمض النووي الريبوزي وتفاعل البلمرة المتسلسل

الكمي (qPCR)

بعد مرور 48 ساعة من تثبيط نشاط جين (PPP1R1A) في خلايا (INS-1)، تم فصل الحمض النووي الريبوزي الكلي باستخدام (PureLink™) (RNA Mini Kit). وتم تقييم جودة وكمية الحمض النووي الريبوزي المستخرج من خلال مقياس الطيف الضوئي (NanoDrop-1000). وبعدها تم إجراء النسخ العكسي للحمض النووي الريبوزي بواسطة (cDNA reverse transcription kit) الذي تم شراؤه من شركة (Thermo Fisher). وقد أُجريت جميع تفاعلات البلمرة المتسلسلة الكمية (qPCR) باستخدام تقنية (Taqman) للتعبير الجيني والمصممة مسبقاً من قبل الشركة المصنعة (Thermo Fisher) كما تم وصفها سابقاً في دراستنا المنشورة.^{17,18} وقد استُخدمت الفحوصات التالية: لـ (PPP1R1A) فحص (Rn00575374_m1)، وفحص (Rn00575374_m1) لقياس التعبير الجيني لـ (INS1)، ولقياس جين الإنسولين 1 (INS1) فحص (Rn02121433_g1)، والإنسولين 2 (INS2) فحص (Rn01774648_g1) وجين (MAFA) فحص (Rn00845206_s1) وجين (PDX1) فحص (Rn00755591_m1)، وـ (GCK) فحص (Rn00561265_m1)، ولجين مستقبلات الإنسولين (INSR) فحص (Rn00690703_m1)، وجميعها من شركة (Thermo Fisher). وللتطبيع وحساب التعبير الجيني بطريقة ($\Delta\Delta C_t$)، استخدمنا جين (HPRT, Rn01527840_m1). وقد جرى خلط المزيج على طبق (48-PCR)، وقد أُجري في جهاز (Quantstud). وتم قياس الاختلاف في التعبير الجيني لاحقاً بواسطة البرنامج على أنه ($2^{-\Delta\Delta C_t}$).

7-2 تحليل موت الخلايا المبرمج وصلاحيّة بقاء الخلية بعد تثبيط

نشاط (PPP1R1A)

أُجري تحليل موت الخلايا المبرمج بعد 48 ساعة من تثبيط نشاط (PPP1R1A). وقد تم حصد الخلايا وإعادة مزجها في 500 ميكرو لتر من مادة (Annexin-V (1X)) (BD Biosciences، الولايات المتحدة الأمريكية)

3- النتائج

1-3 اختيار الجينات المرشحة بناءً على تحليل المعلومات الحيوية

قامت الاستراتيجية التي جرى اتباعها في هذه الدراسة، لاختيار الجينات المساهمة في قابلية الإصابة بمرض السكري وارتفاع نسبة الغلوكوز وانخفاض إفراز الإنسولين، على افتراض أن التعبير الجيني لهذه الجينات منخفض في جزر لانغرهانس المستخلصة من متبرعين مرضى بالسكري مقارنةً بالمتبرعين الأصحاء. لذا، تم أولاً بتحليل التعبير التفاضلي للجينات في الجزر البالغ عددها حوالي 18000 عن طريق تقسيم المتبرعين إلى مجموعتين: المجموعة الأولى للمتبرعين الأصحاء، والثانية للمتبرعين المرضى بالسكري. وأظهر التحليل وجود حوالي 231 جيناً تم التعبير عنها تفاضلياً في المتبرعين المصابين بالسكري ($P < 0.05$)، وكان معدل التضاعف للتغيير أكثر من 1. ولخفض عدد الجينات المرشحة من حيث الأهمية، تم اللجوء إلى تطبيق معيار إحصائي للاختيار؛ بحيث كان معدل التغيير للجين أكثر من 1 والدلالة الإحصائية أقل من 0.01 ($P < 0.01$)، ونتج من هذا التضييق خفض عدد الجينات المرشحة إلى 37 جيناً (الجدول 1).

الذي يحتوي على 5 ميكروترات من (Annexin V-FITC) و5 ميكروترات بروبيديوم يوديد (PI) في درجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق. وقد تم تحليل العينات عن طريق قياس جهاز التدفق الخلوي (BD) (FACSAria III) Biosciences، الولايات المتحدة الأمريكية). وقد أُجري تحليل قابلية بقاء الخلية بواسطة فحص بروميد ميثيل ثيازول ديفينيل - تترازوليوم (MTT)، وذلك كما وُصف سابقاً في إحدى دراساتنا المنشورة¹⁷ وحسب إرشادات الشركة المصنعة.

2-8 التحليل الإحصائي

استخدمت الدراسة (edge-R) لحساب التعبير الجيني التفاضلي المعدل حسب كل من العمر والجنس ومؤشر كتلة الجسم في جزر لانغرهانس. وبالنسبة إلى الارتباط المحتمل بين الجينات والارتباط بين التعبير الجيني والأنماط الظاهرية، جرى حساب البيانات بواسطة نموذج اختبار سبيرمان (Spearman's correlation). أما لإفراز الإنسولين وتحليل وتفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (q-PCR) فاستخدمنا اختبار (Student's t-test) المعياري غير مزدوج الذيل. وتم تقديم البيانات على أنها تعني الخطأ المعياري $\pm$ (SEM) ما لم يُنص على خلاف ذلك. وتمت الإشارة إلى الدلالة الإحصائية بواسطة العلامات النجمية ($p < 0.05$, $*p < 0.01$, $***p < 0.001$).

جدول 1: لائحة بأسماء الجينات التي يتفاضل تعبيرها الجيني بين المتبرعين الأصحاء والمتبرعين المرضى بالسكري ولها معدل تغيير أقل من 1، والدلالة الإحصائية أقل من 0.01 ($P < 0.01$).

اسم الجين	قيمة P	متوسط التعبير في جزر البنكرياس لغير المرضى	متوسط التعبير في جزر البنكرياس للمرضى	قيمة التضاعف للتغيير
RASGRP1	0.00010	0.193	0.104	-1.85
SLC5A1	0.00021	0.285	0.162	-1.76
FGF9	0.00023	0.023	0.013	-1.82
CCDC135	0.00024	0.012	0.007	-1.78
TMEM150C	0.00053	0.355	0.211	-1.88
SLC4A8	0.00064	0.222	0.126	-1.76
PLA1A	0.00067	0.105	0.059	-1.79
CACNA1D	0.00078	0.481	0.288	-1.67
FAM105A	0.00081	0.468	0.250	-1.84
MRO	0.00131	0.008	0.004	-1.84
RTDR1	0.00139	0.015	0.009	-1.67
SMAD9	0.00151	0.112	0.061	-1.83
GSTM2	0.00188	0.386	0.226	-1.71
ACVR1C	0.00197	0.086	0.048	-1.38
SEMA3D	0.00199	0.008	0.004	-1.89
ABCB4	0.00203	0.022	0.012	-1.87
CNTN4	0.00235	0.270	0.158	-1.71
SCIN	0.00272	0.292	0.174	-1.68

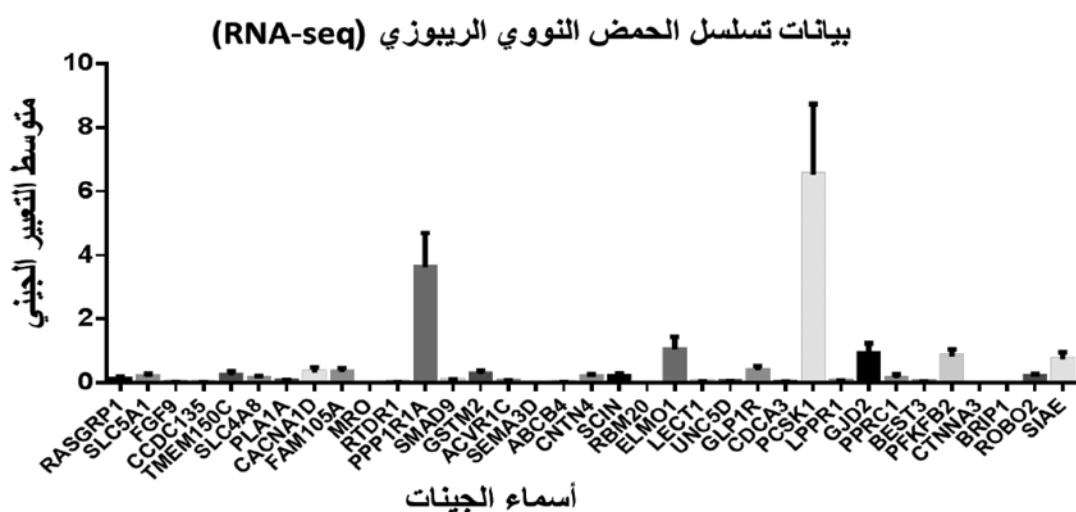
-1.78	0.001	0.002	0.00276	RBM20
-1.72	0.837	1.444	0.00286	ELMO1
-1.67	0.357	0.595	0.00293	C22orf42
-1.87	0.019	0.035	0.00321	LECT1
-1.83	0.032	0.059	0.00379	UNC5D
-1.73	0.309	0.535	0.00497	GLP1R
-1.67	0.015	0.026	0.00513	CDCA3
-1.71	5.131	8.786	0.00555	PCSK1
-1.78	0.047	0.083	0.00597	LPPR1
-1.73	0.743	1.250	0.00614	GJD2
-1.70	0.048	0.084	0.00650	PRC1
-1.83	0.018	0.033	0.00682	BEST3
-1.83	0.595	1.089	0.00711	PFKFB2
-1.67	0.004	0.007	0.00754	CTNNA3
-1.68	0.002	0.003	0.00779	BRIP1
-1.68	0.166	0.279	0.00807	ROBO2
-1.70	0.571	0.974	0.00904	SIAE
-1.74	0.197	0.342	0.00912	C1orf127
-1.72	2.773	4.759	0.00943	PPP1R1A

التعبير الجيني لكل من الجينات المرشحة (37) في خلايا جزر لانغرهانز البشرية باستخدام بيانات تسلسل الحمض النووي الريبوزي. وكما يلاحظ في (الشكل 1)، فإن (PPP1R1A) و (PCSK1) هما الجينان الأعلى تعبيراً مقارنة بمستوى الجينات الأخرى. وبناءً على هذه النتائج، فإنهما كانا المرشحين الأقوى للقيام بالدراسات الوظيفية لتأكيد مساهمتهما في الإصابة ودورهما في إفراز الإنسولين. ولكن مع وجود بعض الدراسات المنشورة سابقاً^{19, 20} التي تؤكد على الدور المهم لـ (PCSK1) في إفراز الإنسولين، فقد تم استبعاده واعتماد (PPP1R1A) كجين مورث مرشح وحيد للتجارب الوظيفية في هذه الدراسة.

ولخفض المزيد من الجينات المرشحة وحصرها في عدد أقل من حيث الأهمية والأولية، جرى تطبيق معايير جديدة للاختيار؛ حيث درسنا، أولاً، مستوى ارتباط التعبير الجيني للجينات المرشحة (37) بمعدل السكري التراكمي (HbA1c) للمتبرعين البالغ عددهم 78 متبرعاً باستخدام اختبار (Spearman's correlation). وكما هو متوقع، أظهر الاختبار ارتباط 28 من أصل 37 جيناً سلبياً بمعدل السكر التراكمي ($P < 0.05$)؛ أي إنه كلما انخفض التعبير لهذه الجينات زاد معدل السكر التراكمي، وكلما زاد التعبير لهذه الجينات انخفض معدل السكر التراكمي، مما يدل على أهمية هذه الجينات في إفراز الإنسولين. وإحصائياً، كان (PPP1R1A) الأكثر ارتباطاً بمعدل السكر التراكمي مقارنة ببقية الجينات (الجدول 2). وثانياً، قمنا بالتحقق من مستوى

جدول 2: قيمة مستوى الارتباط بين معدل السكري التراكمي (HbA1c%) والجينات التي تتفاضل في تعبيرها بين المتبرعين الأصحاء والمتبرعين المرضى بالسكري باستخدام اختبار (Spearman's correlation).

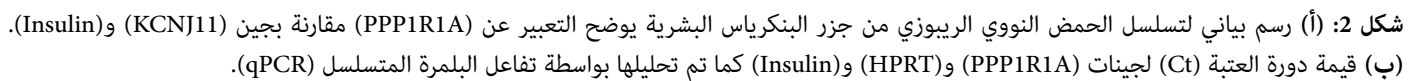
الجين	قيمة P	قيمة R
PPP1R1A	1.7E-07	-0.553
UNC5D	6.0E-07	-0.533
PFKFB2	6.4E-06	-0.489
GLP1R	4.2E-05	-0.449
FAM105A	9.7E-05	-0.429
MRO	9.7E-05	-0.429
SLC4A8	0.0002	-0.412
SMAD9	0.0003	-0.400
FGF9	0.0004	-0.393
BEST3	0.0004	-0.391
RASGRP1	0.0006	-0.385
TMEM150C	0.0006	-0.384
ROBO2	0.0006	-0.381
PCSK1	0.0008	-0.376
ELMO1	0.0008	-0.374
CTNNA3	0.0011	-0.366
CNTN4	0.0014	-0.357
SEMA3D	0.0016	-0.353
CACNA1D	0.0020	-0.347
ACVR1C	0.0034	-0.330
PLA1A	0.0072	-0.304
GJD2	0.0107	-0.289
CCDC135	0.0160	-0.274
LECT1	0.0466	-0.228
BRIP1	0.0511	-0.223
LPPR1	0.1060	-0.186
SCIN	0.1168	-0.180
GSTM2	0.1685	-0.159



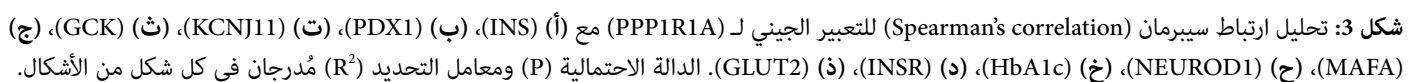
شكل 1: متوسط التعبير الجيني للجينات التي تتفاضل تعبيرها بين المتبرعين الأصحاء والمتبرعين المرضى بالسكري، ولها معدل تغيير أقل من 1، والدلالة الإحصائية أقل من 0.01 ($P < 0.01$) كما تم استخلاصها من بيانات التسلسل للحمض النووي الريبوزي.

والارتباط مع الجينات الوظيفية في خلايا بيتا (β)

بشكل كبير في جزر البنكرياس البشرية. وإضافة إلى ذلك، قمنا بتحليل التعبير الجيني لـ (PPP1R1A) بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (qPCR) في خلايا (INS-1)؛ وهي الخلايا التي سيتم استخدامها بديلاً من الخلايا البشرية للتجارب الوظيفية. وكما هو مبين في (الشكل 2-ب)، فالتعبير الجيني لـ (PPP1R1A) المعبر عنه بواسطة عدد دورات العتبة كان بمستوى مرتفع مقارنةً بالجين المنظم (HPRT) المستخدم في التحليل. فعدد دورات العتبة لكل من (PPP1R1A) و(HPRT) و(INSULIN) بلغ على التوالي 20.8، و21، و15 دورة.



وبعد ذلك مباشرة، بحثنا فيما إذا كان هناك أي ارتباط للتعبير الجيني لـ (PPP1R1A) مع عدد من الجينات الوظيفية المختلفة في خلية بيتا؛ حيث لاحظنا وجود ارتباط إيجابي مهم بين (PPP1R1A) مع كل من (KNCJ11)



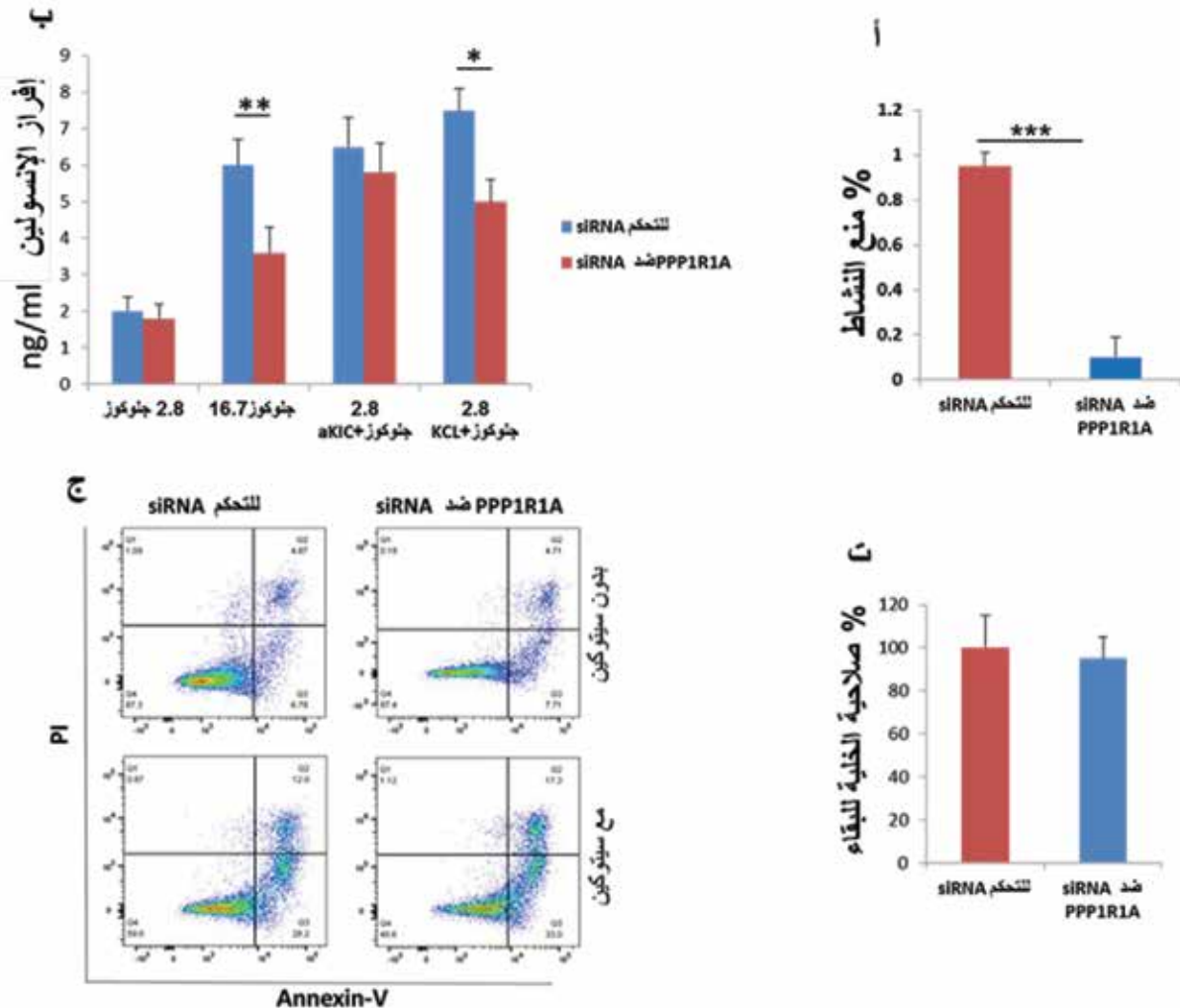
3-3 تأثير تثبيط نشاط (PPP1R1A) في إفراز الإنسولين في خلايا (INS-1)

انخفاضًا كبيرًا في إفراز الإنسولين مقارنة بالخلايا الظابطة ($P < 0.05$) (الشكل 4-ب).

تم تقييم إذا ما كان تثبيط عمل (PPP1R1A) قد أثر في قابلية الخلية للبقاء، ومن ثم أدى إلى انخفاض إفراز الإنسولين. وكما هو مبين في (الشكل 4-ت)، لم تتأثر النسبة المئوية للخلايا القابلة للحياة في الخلايا التي خضعت للتثبيط الجيني مقارنة بخلايا الضبط. وتم تأكيد هذه النتيجة على نحو أكبر من خلال تحليل موت الخلايا المبرمج الذي تم تقييمه بواسطة صبغة الخلايا بمادة (Annexin-V) وقياسها على جهاز التدفق الخلوي والذي أثبت عدم وجود فروق في النسبة المئوية لموت الخلايا المبرمج (موت الخلايا المبرمج المبكر والمتأخر = 6.4% من إجمالي عدد الخلايا) في الخلايا المعالجة مقارنة بـ 6% في الخلايا الظابطة (الشكل 4-ج). علاوة على ذلك، أظهر تحليل مادة البروبيديوم يوديد (PI) الذي يميز الخلايا النخرية من الخلايا المبرمج موتها نسبة صغيرة جدًا من الخلايا النخرية في الخلايا المعالجة (0.4%) مقارنة بـ (0.3%) في الخلايا الظابطة. وإجمالاً، تشير هذه النتائج إلى أن تثبيط عمل (PPP1R1A) في خلايا (INS-1) أدى إلى ضعف إفراز الإنسولين، من دون إحداث أي تأثير في بقاء الخلية أو الموت المبرمج للخلايا.

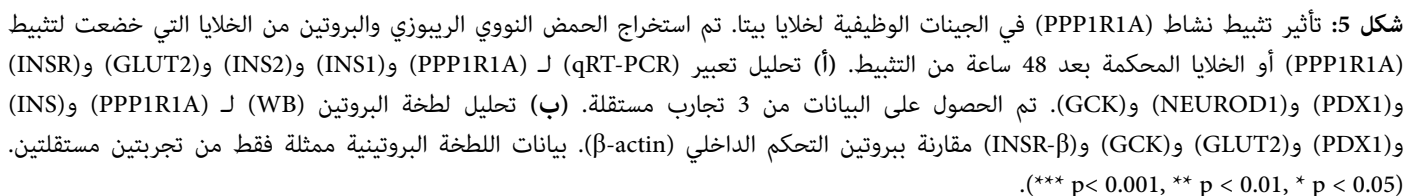
للتحقق من أهمية دور (PPP1R1A) في إفراز الإنسولين المحفز بالغلوكوز، جرت معالجة خلايا (INS-1) مخبريًا بغرض تثبيط نشاط جين (PPP1R1A) باستخدام تسلسلين مختلفين من سيرنا (siRNA). وأظهر تحليل تفاعل البلمرة المتسلسل (qPCR) أن كفاءة تثبيط نشاط جين (PPP1R1A) كانت $90 \pm 7\%$ ($P < 0.001$) مقارنة بالخلايا الظابطة (الشكل 4-أ). كما أظهرت الخلايا التي أوقف فيها عمل (PPP1R1A) انخفاضًا كبيرًا في إفراز الإنسولين عند تحفيزها بالغلوكوز (2.8 ملي مولار) أو في تركيز الغلوكوز المرتفع (16.7 ملي مولار) مقارنة بالخلايا الظابطة ($P < 0.05$) (الشكل 4-ب).

علاوة على ذلك، فإن تحفيز الخلايا التي أوقف فيها عمل (PPP1R1A) بـ 10 ملي (α -KIC) (وهو إفراز يحفز بشكل مباشر التمثيل الغذائي للميتوكوندريا ويعزز تخليق ATP فيها) لمدة ساعة واحدة لم يظهر أي تأثير في إفراز الإنسولين (الشكل 4-ب). بينما أظهرت نتائج تحفيز الخلايا بـ 35 ملي (KCl) (عامل استقطاب للإخراج الخلوي Exocytosis)



شكل 4: تأثير منع نشاط عمل (PPP1R1A) في الإنسولين في خلايا (INS-1). (أ) النسبة المئوية لتثبيط عمل (PPP1R1A) في خلايا (INS-1). (ب) مستوى إفراز الإنسولين عند التحفيز بـ 2.8 ملي مولار من الغلوكوز، و 16.7 ملي مولار من الغلوكوز مع 10 ملي مولار (α -KIC) أو 35 ملي (KCl) لمدة 48 ساعة بعد تثبيط عمل (PPP1R1A). (ت) النسبة المئوية للخلايا القابلة للحياة في الخلايا التي تم تثبيط نشاط (PPP1R1A) فيها كما هو محدد باستخدام مقايصة (MTT) مقارنة بخلايا الضبط. (ج) تقييم موت الخلايا المبرمج في الخلايا التي تم تثبيط نشاط (PPP1R1A) عند تعريضها لخليط من السيروتوكين أو بدون ذلك، بواسطة قياس التدفق الخلوي مقارنة بخلايا الضبط. جميع البيانات من ثلاث تجارب مستقلة. ($p < 0.001$, $** p < 0.01$, $* p < 0.05$).

أظهر تحليل تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (qPCR) لمستوى تعبير الحمض النووي الريبوزي للجينات المسؤولة عن تصنيع بروتين الإنسولين (INS1) و(INS2) انخفاضاً كبيراً ($P < 0.01$; 45~55%)، (PDX1) ($P < 0.05$; 35%)، والجين المسؤول عن نقل الجلوكوز إلى الخلايا (GLUT2) ($P < 0.01$; 50%)،



4- المناقشة

سعت هذه الدراسة إلى توظيف تحليل المقارنة لبيانات تسلسل الحمض النووي الريبوزي من جزر لانغرهانز البشرية من متبرعين أصحاء بمتبرعين مرضى بهدف تحديد بعض الجينات التي تساهم في التغيرات الوظيفية المرضية لداء السكري. وقد جرى مبدئيًا تحديد 37 جينًا مؤثرًا كان لها تعبير منخفض في جزر البنكرياس من المتبرعين المرضى مقارنة بالأصحاء. ومن تلك الجينات تم اختيار (PPP1R1A) كجين وحيد مرشح للتجارب الوظيفية بناءً على أنه كان الأعلى تعبيرًا مقارنةً بمستوى الجينات الأخرى، إضافة إلى أنه كان الأكثر ارتباطًا بنسبة السكر التراكمي. وأظهرت نتائج الدراسة أن (PPP1R1A) يتم التعبير عنه بشكل كبير في جزر البنكرياس البشرية وخلايا بيتا الحيوانية (INS-1)، كما أنه يرتبط بشكل ملحوظ بالعديد من الجينات الوظيفية لخلايا بيتا (الشكل 3). وبرهنت نتائج الدراسة أن تثبيط نشاط (PPP1R1A) أدى إلى انخفاض كبير في إفراز الإنسولين عند تحفيزها بالغلوكوز (الشكل 4) من دون أن يؤثر في قابلية الخلية للبقاء أو زيادة موت الخلايا المبرمج. وأخيرًا، أثبتت الدراسة أن تثبيط نشاط البروتين (PPP1R1A) أدى إلى انخفاض التعبير

الخلايا البشرية والفئران مقارنة بـ (GAD65)، مما يجعله قابلاً للقياس على نحو أفضل في بلازما الدم. وثانيًا، نظرًا إلى أن (PPP1R1A) ليس مستضدًا ذاتيًا لمرض السكري من النوع الأول كـ (GAD65)، فإدًا يمكن استخدامه من دون تدخل من الأجسام المضادة ذاتية التفعيل. لكن تبقى حقيقة أن الجسم يتخلص من (PPP1R1A) على نحو سريع هي إحدى المعضلات المحتملة لاستخدامه.

في إحدى الدراسات السابقة، ومن خلال ربط التعبير الجيني في جزر البنكرياس بإفراز الإنسولين ونسب السكر التراكمي، تمت الإشارة إلى أن التعبير الجيني لـ (PPP1R1A) يرتبط على نحو كبير بإفراز الإنسولين ونسبة السكر التراكمي. وكما بينت الدراسة كذلك فإن التعبير الجيني لـ (PPP1R1A) باستخدام تقنية (Microarray) كان أقل في جزر لانغرهانز المصابة بالسكري مقارنة بالأصحاء.¹⁰

تأتي نتائج هذه الدراسة انعكاسًا وتأكيديًا لما نشر سابقًا،¹⁰ مع فارق أن التكنولوجيا التي استخدمت كانت أكثر تقدمًا ودقة، إضافة إلى أن أعداد المتبرعين في الدراسة كانت أكبر، ما ينعكس إيجابيًا على صحة النتائج المستقاة من هذه الدراسة. وقد أجرينا في هذه الدراسة عدد التجارب المخبرية الوظيفية لإثبات دور (PPP1R1A) في التغيرات الوظيفية المرضية لداء السكري.

ولوحظ في هذه الدراسة أن مستوى التعبير الجيني للمورث (PPP1R1A) كان منخفضًا على نحو كبير في جزر لانغرهانز المنتزعة من المصابين بالسكري مقارنة بالأصحاء. وعلى الرغم من أهمية ودلالة تلك النتائج، يبقى السؤال مطروحًا: هل يُعتبر هذا الانخفاض سببًا في الإصابة بالسكري، أم نتيجة من نتائج ارتفاع مستوى السكر في الدم أو ما يُعرف بسمية السكر؟ فقد أشارت إحدى الدراسات المنشورة²⁴ إلى أن تعريض جزر لانغرهانز البشرية لمستوى مرتفع من الجلوكوز لمدة 24 ساعة أدى إلى زيادة مطردة في التعبير الجيني لـ (PPP1R1A)؛ ما يدل، ولو على نحو غير مباشر، على أن الانخفاض الملاحظ في البروتين (PPP1R1A) في جزر لانغرهانز المصابة بالسكري لم يكن نتيجة لسمية السكر، وإنما الاحتمال الأقرب هو أن يكون سببًا له. ودعمًا لهذه النتيجة، فإن عدم العثور على وجود أي شكل من أشكال تعدد الطرز الجينية مفردة النوكليوتيدات (Single-nucleotide polymorphism, SNP) في تسلسلات جين (PPP1R1A) في قاعدة بيانات (DIAGRAM+) للارتباط بمرض السكري من النوع الثاني²⁴ يعكس أن هذا الجين المورث مرشح لأن يكون له دور في تنظيم وظيفة خلايا بيتا.

وتأكيدًا لنتائج الدراسة الحالية، أظهرت بيانات تحليل إحدى الدراسات²⁵ التي استخدمت بيانات المبادرة المبتكرة لمرض السكري (IMIDIA)، وهي بنك حيوي متعدد المراكز لجزر البنكرياس البشرية وأنسجة البنكرياس من المتبرعين بالأعضاء، وجود 50 جينًا مورثًا (بما في ذلك PPP1R1A) كان لها تعبير منخفض في الجزر المصابة بداء السكري من النوع الثاني. وقد ارتبطت هذه الجينات المورثة الخمسون بمؤشر إفراز الإنسولين المحفز للجلوكوز. كما لوحظ أن تعبير (PPP1R1A) أكثر غزارة بخلايا بيتا المفرزة للإنسولين، بينما كان تعبيره أضعف في خلايا (α) المفرزة للجلوكاغون؛²⁵ مما يدل على أن أي خلل في البروتين (PPP1R1A) قد يؤثر في إفراز الإنسولين.

تظهر الدراسة الحالية أن تثبيط نشاط (PPP1R1A) في خلايا (INS-) (1) قلل من إفراز الإنسولين من دون التأثير في حيوية الخلية أو موت الخلايا المبرمج. كما أظهرت أن انخفاض التعبير في الجينات المحفزة لإفراز الإنسولين مثل (INS-1) و (INS-2) و (PDX-1)²⁶ يدعم أن (PPP1R1A) فاعل مهم في إفراز الإنسولين والتخليق الحيوي.

المثير للاهتمام في هذه الدراسة هو انخفاض التعبير عن (GLUT2)، وهي المستقبلات التي تعمل على امتصاص الجلوكوز إلى خلايا بيتا،^{27, 28} ومن ثم إضافة جزء الفسفور بواسطة (GCK) ثم استقلابه من خلال مسار التحلل،²⁹ ما يؤدي إلى تنشيط التمثيل الغذائي للميتوكوندريا وتوليد (ATP)، والتي بدورها تحفز إفراز الإنسولين. لذا، فإن (GLUT2) فاعل رئيس في آلية استشعار الجلوكوز، والتي تساعد خلايا البنكرياس على الاستجابة للتغيرات الوظيفية في جلوكوز الدم. ومن المؤكد أن أي عيب في استشعار سكر الدم (الجلوكوز) سوف يضعف إفراز الإنسولين، ومن ثم سيسهم في تطور فرط سكر الدم الحاد.^{30, 31} كما تُعد مستقبلات الإنسولين في خلايا بيتا ضرورية للحفاظ على وظيفة الخلية الطبيعية، حيث يمكن أن يؤدي أي عيب فيها إلى انخفاض في تخليق الإنسولين وإفرازه.^{30, 31}

كما أظهرت بيانات الدراسة الحالية انخفاضًا في تعبير (INSR)، إذ أُثبت أن تثبيط نشاطه في خلايا البنكرياس يؤدي إلى انخفاض إفراز ومخزون الإنسولين، إضافة إلى انخفاض التعبير الجيني لـ (PDX1) وكذلك (GLUT2).^{32, 33}

تتمثل أوجه القصور في الدراسة الحالية في أن بياناتها تناولت التعبير عن (PPP1R1A) في جزر لانغرهانز البشرية ككل، ولم تتناول أنواع الخلايا المختلفة في جزر لانغرهانز كخلايا بيتا أو خلايا ألفا. وعلاوة على ذلك، وعلى الرغم من تحقق الدراسة من التعبير الجيني لـ (PPP1R1A) في جزر لانغرهانز البشرية لمرضى السكري أو الأصحاء، فإن الدراسة الحالية لم تمكننا من التحقق من التعبير البروتيني لـ (PPP1R1A)، ما سيدعم على نحو أكبر نتائج الدراسة الحالية.

في الختام، تمثل هذه الدراسة نهجًا جديدًا في تحديد الجينات التي تسهم إسهامًا مباشرًا في تثبيط أو إبطال وظيفة خلايا بيتا من خلال الجمع بين قاعدة المعلومات الحيوية والتحقق من صحة الوظائف في المختبر.

وقد أمكن من خلال هذه الدراسة تحديد واكتشاف (PPP1R1A) باعتباره جينًا مورثًا رئيسيًا يسهم في إفراز الإنسولين، ويقوم بدور فاعل في التغيرات الوظيفية المرضية لداء السكري. إضافة إلى ذلك، سلّطت الدراسة الضوء على مجموعة من الجينات المحتملة بغية استكشاف دورها الوظيفي في خلايا بيتا من خلال دراسات مستقبلية.

شكر وتقدير

يود الباحثون شكر د. معز الإسلام فارس و د. حسن المدهون والسيدة مريم اليماهي للمراجعة والتنقيح اللغوي للبحث.

التمويل

تم دعم هذا العمل بمنحة بحثية رقم (22010901106 و 2001090176)، جامعة الشارقة، الإمارات العربية المتحدة.

تضارب المصالح

يعلن الباحثون عدم وجود تضارب في المصالح.

بيان مجلس المراجعة الأخلاقية

لا ينطبق.

- Ozougwu J, Obimba KC, Belonwu CD, Unakalamba CB. The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*. 2013;4(4):46–57.
- Tankova T, Chakarova N, Dakovska L, Atanasova I. Assessment of HbA1c as a diagnostic tool in diabetes and prediabetes. *Acta Diabetologica*. 2012;49(5):371–378.
- Fuchsberger C, Flannick J, Teslovich TM, Mahajan A, Agarwala V, Gaulton KJ, et al. The genetic architecture of type 2 diabetes. *Nature*. 2016;536(7614):41.
- Xue A, Wu Y, Zhu Z, Zhang F, Kemper KE, Zheng Z, et al. Genome-wide association analyses identify 143 risk variants and putative regulatory mechanisms for type 2 diabetes. *Nature Communications*. 2018;9(1):1–14.
- Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, Goldstein DB, Hindorff LA, Hunter DJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature*. 2009;461(7265):747.
- Lyssenko V, Jonsson A, Almgren P, Pulizzi N, Isomaa B, Tuomi T, et al. Clinical risk factors, DNA variants, and the development of type 2 diabetes. *New England Journal of Medicine*. 2008;359(21):2220–2232.
- Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, Morris AP, Dina C, Welch RP, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nature Genetics*. 2010;42(7):579.
- Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Jonsdottir T, Walters GB, et al. A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes. *Nature Genetics*. 2007;39(6):770–775.
- Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature*. 2007;445(7130):881–885.
- Taneera J, Fadista J, Ahlqvist E, Atac D, Ottosson-Laakso E, Wollheim CB, et al. Identification of novel genes for glucose metabolism based upon expression pattern in human islets and effect on insulin secretion and glycemia. *Human Molecular Genetics*. 2014;24(7):1945–1955.
- Taneera J, Lang S, Sharma A, Fadista J, Zhou Y, Ahlqvist E, et al. A systems genetics approach identifies genes and pathways for type 2 diabetes in human islets. *Cell Metabolism*. 2012;16(1):122–134.
- Dayeh T, Volkov P, Salö S, Hall E, Nilsson E, Olsson AH, et al. Genome-wide DNA methylation analysis of human pancreatic islets from type 2 diabetic and non-diabetic donors identifies candidate genes that influence insulin secretion. *PLoS Genetics*. 2014;10(3):e1004160.
- Fadista J, Vikman P, Laakso EO, Mollet IG, Esguerra JL, Taneera J, et al. Global genomic and transcriptomic analysis of human pancreatic islets reveals novel genes influencing glucose metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(38):13924–13929.
- Taneera J, Dhaiban S, Mohammed AK, Mukhopadhyay D, Aljaibei H, Sulaiman N, et al. *GNAS* gene is an important regulator of insulin secretory capacity in pancreatic β -cells. *Gene*. 2019;715:144028.
- Taneera J, Prasad RB, Dhaiban S, Mohammed AK, Haataja L, Arvan P, et al. Silencing of the *FTO* gene inhibits insulin secretion: An *in vitro* study using GRINCH cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2018;472:10–17.
- Aljaibei H, Mohammed AK, Alkayyali S, Hachim MY, Hasswan H, El-Huneidi W, et al. Genetic variants of the *PLCXD3* gene are associated with risk of metabolic syndrome in the Emirati population. *Genes*. 2020;11(6):665.
- Taneera J, Dhaiban S, Hachim M, Mohammed AK, Mukhopadhyay D, Bajbouj K, et al. Reduced expression of *Chl1* gene impairs insulin secretion by down-regulating the expression of key molecules of β -cell function. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*. 2019;127:1–9.
- Taneera J, Mohammed I, Mohammed AK, Hachim M, Dhaiban S, Malek A, et al. Orphan G-protein coupled receptor 183 (GPR183) potentiates insulin secretion and prevents glucotoxicity-induced β -cell dysfunction. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2020;499:110592.
- Wasserfall C, Nick HS, Campbell-Thompson M, Beachy D, Haataja L, Kusmartseva I, et al. Persistence of pancreatic insulin mRNA expression and proinsulin protein in type 1 diabetes pancreata. *Cell Metabolism*. 2017;26(3):568–575.
- Saikia M, Holter MM, Donahue LR, Lee IS, Zheng QC, Wise JL, et al. GLP-1 receptor signaling increases PCSK1 and β cell features in human α cells. *JCI Insight*. 2021;6(3):e141851.
- Korrodi-Gregório L, Esteves SL, Fardilha M. Protein phosphatase 1 catalytic isoforms: Specificity toward interacting proteins. *Translational Research*. 2014;164(5):366–391.
- Ruchti E, Roach PJ, DePaoli-Roach AA, Magistretti PJ, Allaman I, Ruchti E, et al. Protein targeting to glycogen is a master regulator of glycogen synthesis in astrocytes. *IBRO Reports*. 2016;1:46–53.
- Jiang L, Brackeva B, Ling Z, Kramer G, Aerts JM, Schuit F, et al. Potential of protein phosphatase inhibitor 1 as biomarker of pancreatic β -cell injury in vitro and in vivo. *Diabetes*. 2013;62(8):2683–2688.
- Ottosson-Laakso E, Krus U, Storm P, Prasad RB, Oskolkov N, Ahlqvist E, et al. Glucose-induced changes in gene expression in human pancreatic islets – Causes or consequences of chronic hyperglycemia. *Diabetes*. 2017;66(12):3013–3028.
- Solimena M, Schulte AM, Marselli L, Ehehalt F, Richter D, Kleeberg M, et al. Systems biology of the IMIDIA biobank from organ donors and pancreatectomised patients defines a novel transcriptomic signature of islets from individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2018;61(3):641–657.
- Aramata S, Han SI, Yasuda K, Kataoka K. Synergistic activation of the insulin gene promoter by the β -cell enriched transcription factors MafA, Beta2, and Pdx1. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Gene Structure and Expression*. 2005;1730(1):41–46.
- Van de Bunt M, Gloyn A. A tale of two glucose transporters: How GLUT2 re-emerged as a contender for glucose transport into the human beta cell. *Diabetologia*. 2012;55(9):2312–2315.

28. De Vos A, Heimberg H, Quartier E, Huypens P, Bouwens L, Pipeleers D, et al. Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression. *Journal of Clinical Investigation*. 1995;96(5):2489–2495.
29. Maechler P, Wollheim CB. Mitochondrial glutamate acts as a messenger in glucose-induced insulin exocytosis. *Nature*. 1999;402(6762):685–689.
30. Taneera J, Mussa B, Saber-Ayad M, Dhaiban S, Aljaibaji H, Sulaiman N, et al. Maturity-onset diabetes of the young: An overview with focus on the Middle East. *Current Molecular Medicine*. 2017;17(8):549–562.
31. Thorens B, Guillaum MT, Beermann F, Burcelin R, Jaquet M. Transgenic reexpression of GLUT1 or GLUT2 in pancreatic β cells rescues GLUT2-null mice from early death and restores normal glucose-stimulated insulin secretion. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(31):23751–23758.
32. Wang J, Gu W, Chen C. Knocking down insulin receptor in pancreatic beta cell lines with lentiviral-small hairpin RNA reduces glucose-stimulated insulin secretion via decreasing the gene expression of insulin, GLUT2 and Pdx1. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(4):985.
33. Kulkarni RN, Brüning JC, Winnay JN, Postic C, Magnuson MA, Kahn CR. Tissue-specific knockout of the insulin receptor in pancreatic β cells creates an insulin secretory defect similar to that in type 2 diabetes. *Cell*. 1999;96(3):329–339.