# الفصل الخامس

# الأساس الجزيئ للطفور
# وطرق إصلاح أخطاء التناسخ

حيث أن أمكانات نمو وتمايز أى كائن تتحدد بما يحتويــة جينومــة مــن الجينات، لذلك فإنه يتحتم أن يحدث تغير (طفور) فى المــادة الوراثيــة د. ن. أ لملائمة تطور الكائنات مع البيئة المحيطة بها. إلا أنه من المعروف أن التغيرات التطورية عادة ما تكون نادرة الحدوث. لهــذا يتميــز جــزئ د. ن. أ بالثبــات والاستقرار أثناء تخزينة وتناسخة فى الخلية على مدى الأجيال. حيث أن ذلــك من شأنه المحافظة على بقاء الكائنات ونموها. أن المحتوى الجينى للخلية يترجم عادة إلى آلاف من البروتينات المختلفة والتى قد يؤدى أى تغير فى أى منها إلى أثار ضارة بالخلية والكائن نفسه. وعلى ذلك فإن على الخلية أن تقابل تحد مــن شقين.

**الأول:** لابد أن تكون النظم الأنزيمية الخاصة بتناسخ د. ن. أ فيها دقيقة جداً.

**الثانى:** أن يكون بمقدور الخلية استنباط نظم دقيقة لاصلاح الأخطاء العارضــة التى قد تحدث فى جزئ د. ن. أ أثناء حفظة أو تناسخة.

أن جزئ د. ن. أ عبارة عن مركب عضوى معقد ذو قدرة محدودة على الثبات حيث أنه لايعانى فقط من الاتلاف التلقائى المتمثل فى فقدان بعض القواعد النتروجينية بل أنه معرض ايضا للهجمات الموجهة اليه من الكيماويات الطبيعية (وغير الطبيعية) والاشعاع الذى قد يحطم هيكلة الأساسى أو يحدث تغيرا كيماوياً فى قواعده. معروف أن الطفرات تنشأ بصفة عامة عندما يؤدى التلف الحادث إلى تغيير فى الخواص الشفرية للقواعد. ونظراً لأن قدرة الكائن على احتمال أو مقاومة المعدل الطبيعى للتلف فى المادة الوراثية محدودة. فلابد أن تتواجد فى الخلية ميكانيكيات انزيمية تخصصية لاصلاح الأماكن التالفة فى جزئ د. ن. أ.. وتخصص البكتريا وغيرها من الكائنات نسبة لابأس بها من جينومها لانتاج وتنظيم عمل النظم الانزيمية الاصلاحية بها.

## طبيعة الطفرات:

تتضمن الطفرات التلقائية معظم التغيرات التى قد تحدث فى تتابعات القواعد فى جزئ د. ن. أ إذ نجد أن بعض الطفرات قد يكون لها تأثير طفيف على الناتج النهائى للجين مثل طفرات الحساسية للحرارة Temperature-Sensitive التى تنتج عادة من تغير قاعدة بأخرى.

إلا أن كثير من الطفرات التلقائية قد تقضى على وظيفة الجين تماماً. مثل هذه الطفرات المدمرة والتى يطلق عليها "الطفرات اللاغية" Null Mutations لا تقتصر فقط على تبديل قواعد أو اضافة أو حذف قاعدة ما ولكنها تشمل اضافات أو اقتضابات كبيرة الحجم نسبياً، كما قد تتضمن اعادة ترتيب بعض اجزاء الكروموسوم.

## طفرات تغير القاعدة الواحدة Single Base Mutation:

يعد هذا النوع من الطفرات من أبسط أنواع الطفرات. وترجع اهميتها إلى أن حدوث تغير فى قاعدة واحدة بما ينتج عنه من تغير فى أحد البروتينات يؤثر على دقة تناسخ جزئ د. ن. أ. كما أن هناك العديد من الطفرات الهامة تعطى تأثيرها عن طريق احداث تغييرا فى قاعدة واحدة، هذا بالاضافة إلى أن طفرات تغير القاعدة الواحدة تعتبر حرجة وضرورية بالنسبة للتطور لانها تقوم بتغيير الجينات تدريجياً وبطرق غير حادة وطفيفة بحيث تنتج في النهاية تباين وراثى مفيد للكائن.

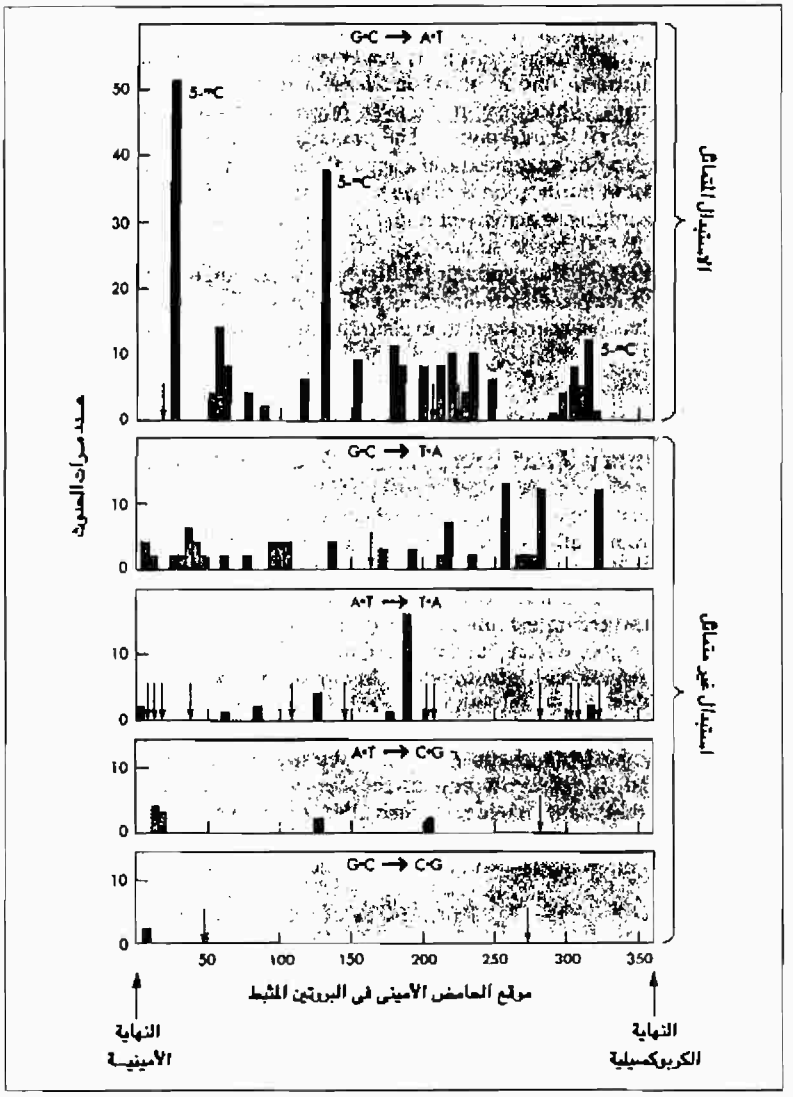
يمكن متابعة أنواع طفرات القاعدة الواحدة التلقائية عن طريق دراسة طفرات ايقاف الترجمة Translation Stop Codon. ففى الجين المنظم لانتاج اللاكتوز والذى يدخل ضمن مكونات أوبرون اللاكتوز فى بكتريا القولون Lactose Operon (I) والمسئول عن انتاج البروتين المثبط لنشاط أوبرون اللاكتوز (وسوف نتناول ذلك بالتفصيل فيما بعد) امكن اثبات أن هذه الطفرات ناتجة عن تغيرات فى قواعد مفردة فى بعض الشفرات الثلاثية التى كانت متطابقة فى الأصل مع شفرة إيقاف النسخ (Nonsense) وذلك فى اثنتان من ثلاث مواضع للقواعد. كما أمكن اثبات أن المثبط الفعال ينتج مرة أخرى من الجين الطافر فى الخلية المحتوية على جين كابت Suppressor (وهو ذلك الجين الذى يسمح بترجمة شفرة الايقاف على أنها شفرة لأحد الأحماض الأمينية (Missense) وبذلك تستمر عملية النسخ وبالتالى الترجمة إلى البروتين المعين).

أظهرت هذه التجارب والتحليلات أن بالامكان الحصول على جميع أنواع التغيرات فى القواعد فى تتابع جزئ د. ن. أ فمثلا طفرة الاستبدال المتماثل Transition تنتج عندما تحل قاعدة بيورينية محل اخرى من نفس المجموعة (G↔A) أو تحل قاعدة بيريميدينية محل أخرى بيريميدينية (G↔T) ونحصل على طفرة الاستبدال المغاير Transversion عندما تستبدل قاعدة بيورينية بقاعدة بيريميدينية أو العكس كما فى الشكل (٥-١).

تبين أن هناك اختلاف فى معدل الطفور بين المواقع المختلفة التى يمكن أن يحدث بها طفور حيث ظهر أن هناك "مواقع ساخنة" (Hot Spots) يحدث بها الطفور بمعدل أعلى بكثير عما فى باقى المواقع الآخرى.

تكون تغيرات القواعد المفردة عادة من النوع العكسى Reversible ويكون معدل الطفرة الرجعية Back Mutation إلى القاعدة الاصلية الطبيعية مماثلا فى المقدار لمعدل التغير الى القاعدة الطافرة. تمثل هذه الحقيقة فرقا جوهرياً للتمييز بين تغير القاعدة المفردة والتغيرات الأكثر شدة مثل الاقتضابات الكبيرة Deletions التى لا يمكن أن تسترجع بالطفور العكسى. وهناك حالة وسطية تتم فى حالة اضافة Insertion or Addition أو حذف Deletion لقاعدة واحدة إذ قد يحدث هنا طفور عكسى ولكن بمعدل أقل بكثير عما فى حالة تغير القاعدة المفردة (طفرات الاسبتدال).

تمثل معظم حالات طفرات الاستبدال هذه حالات فشل نادرة فى عملية تناسخ د. ن. أ وذلك عندما يحدث اضافة النيوكلتيدة غير الصحيحة إلى السلسلة النامية على الرغم من أنها لا تتزاوج طبيعياً مع القاعدة المقابلة على القالب.




الشكل (٥-١): توزيع أنواع الطفرات النقطية التي تؤدي إلى احداث كودون التوقف في جين المنظم المنتج للبروتين المثبط لأوبرون اللاكتوز. ويتبين هنا الأنواع الأربعة لطفرات الاستبدال غير المتماثل Transversion وواحدة من النوعين المحتملين لطفرة الاستبدال المتماثل Transition والتجارب الأخرى تبين أن الاستبدال الاخر المتماثل (AT↔GC) يمكن أن يحدث ايضا تلقائياً. تدل الأسهم الرأسية على مواقع الطفرات المحتملة. السيتوسين المميثل (5 me-C) تعتبر مواقع ساخنة للطفور.

## معدل الخطأ عند اضافة النيوكلتيدات أثناء عملية التناسخ:

حيث أن نظام Lac يكشف حالات طفور القاعدة الواحدة فى أى من ٨٠ موقع محدد فإنه يصبح من اليسير حساب معدل ظهور كل طفرة عند تناسخ د.ن.أ وبالتالى المعدل الذى يخطئ فيه نظام التناسخ فى كل موقع. وجد أن متوسط معدل الخطأ هذا لجميع المواقع الثمانين يكون حوالى $١٠^{-٩}$ لكل دورة تناسخ. ولكن لو أخذنا فى الاعتبار أن البقع الساخنة تعطى طفرات بمعدل يزيد ٢٥ ضعف عن المعدل المتوسط فى حين توجد مواقع أخرى تعطى معدل للطفور أقل بحوالى ٢٥ ضعف عن المتوسط. كما ظهر من حساب طفرات الاستبدال فى مواقع معينة فإن معدل الخطأ بصفة عامة يتراوح بين $١٠^{-٧}$ إلى $١٠^{-١١}$ لكل دورة تناسخ. وعلى الرغم من وجود نظام لتصحيح أخطاء التناسخ Proofreading في البكتريا إلا أن وجود هذا النظام في الخلايا مميزة النواه لم يتحقق بعد.

## طرق التحكم فى مستويات الطفور:

قد يبدو للوهلة الأولى أن تكرار الأخطاء يعكس مباشرة مدى الدقة الموروثة فى تزاوج القواعد AT, GC إلا أنه عندما يتعين على انزيم بلمرة د. ن. أ أن يقوم باضافة $١٠^{٩}$ نيوكلتيدة مثلا فإنه من المتوقع أن يحدث خطأ نادر فى تزاوج قاعدة أو عدد قليل من القواعد أثناء التناسخ. بالاضافة إلى ما يمكن أن يحدثه التغير فى صور التناظر بين القواعد من حدوث تزاوجات خاطئة يصل معدلها أحيانا إلى $١٠^{-٤}$ وهو أعلى بكثير من التكرار الفعلى للطفرة التلقائية. أمكن التغلب على هذه المشكلة عن طريق نشاط انزيم بلمرة د. ن. أ فى تصحيح الأخطاء Proofreading أو المراجعة والتى سبق الاشارة اليها حيث

يؤدى نشاط الهدم الطرفى (3'→5') Exonuclease الموجود ضمن وظائف انزيمات البلمرة الى ازالة القواعد المضافة بالخطأ إلى النهاية النامية للسلسلة الجديدة أولا بأول .

أثبتت دراسات على جزيئات انزيمات البلمرة الطافرة أن معدل الطفور قد يكون محكوما بالعلاقة بين معدل نشاط الهدم الطرفى الخلفى (5'→3') ومعدل نشاط البناء (3'→5') بمعنى أنه اذا انخفضت كفاءة النشاط الهدمى الطرفى (5'→3') ارتفع معدل الطفور بدرجة كبيرة وغير عادية. من جهة أخرى، أذا ارتفعت كفاءة نشاط الهدم الطرفى (5'→3') فسيودى ذلك إلى انخفاض حاد فى معدل الطفور. وعلى الرغم من وجود نظام تصحيح أخطاء التناسخ Proofreading فى البكتريا وغير مميزة النواة ألا أن وجود هذا النظام فى مميزة النواة لم يتحقق بعد.

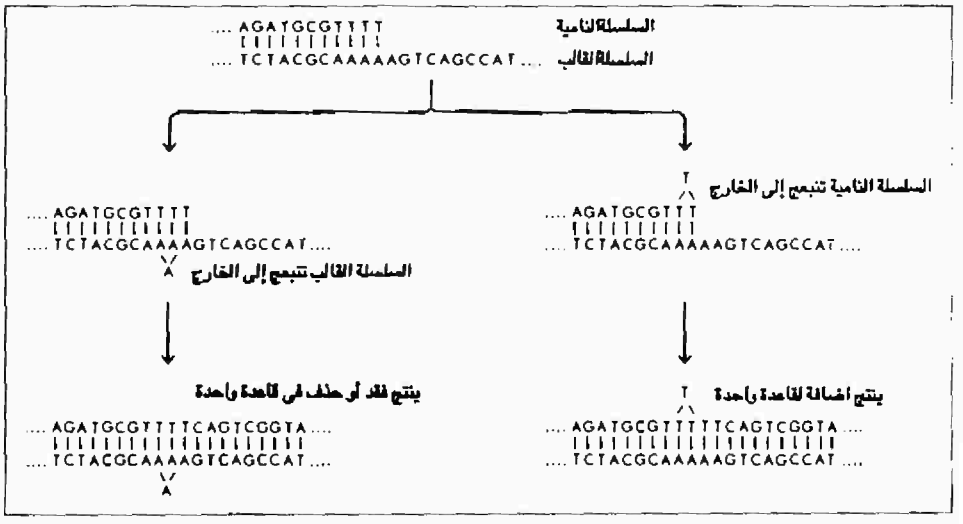
## الجينات المطفرة Mutators:

توجد فى البكتريا بعض الطفرات التى تكون وظيفتها زيادة معدل الطفور فى جينات أخرى ويطلق عليها Mutators. وعموماً فإن هذه الجينات المطفرة تحدث زيادة فى معدل الطفور فى جميع الجينات التى تمت دراستها وبالتالى فلابد أنها تؤثر على البروتينات التى تدخل ضمن ماكينة التناسخ. من أفضل الجينات المطفرة المعروفة فى بكتريا القولون الجين Mut D الذى يؤدى نشاطه إلى حدوث تغيير فى الوحدة E فى انزيم بلمرة د. ن. أ DNA Pol III مما يؤدى إلى انخفاض معدل الهدم الطرفى (5'→3') وتقل كفاءة الانزيم فى التعرف عليه وازالة القاعدة غير الصحيحة التى تضاف إلى النهاية النامية لسلسلة د. ن. أ.

كما أن الجينات المطفرة Mut H و Mut L و Mut S تتدخل فى تركيب ونشاط نوعيات البروتينات التى تعمل فى اصلاح اخطاء التزاوج بين القواعد. وهى العملية التى يقوم أثناءها انزيم بلمرة د. ن. أ بعملية مسح scanning لجزئ د. ن. أ الحديث البناء لاكتشاف القواعد المضافة بالخطأ وتصحيحها.

## نتائج أخطاء الإنزلاق Slippage Errors أثناء التناسخ:

إن أخطاء التناسخ بواسطة انزيم بلمرة د. ن. أ لا تكون عادة مقصورة على تغيرات فى زوج واحد من القواعد اذ يحتمل أن يتم حذف أو اضافة واحدة أو عدد قليل من ازواج القواعد كنتيجة لحدوث إزاحة للقواعد "الانبعاج للخارج" (Looping Out) سواء فى السلسلة القالب (معطية اقتضاب أو حذف) أو فى السلسلة الجديدة النامية (معطية إضافة). تحدث هذه الأخطاء بصفة خاصة عند وجود تتابعات لقواعد مترادفة فى جزئ د. ن. أ ويمكن لهذا الجزء المنبعج (المنزلق) أن يستقر بالتزاوج الطبيعى بين القواعد فى المنطقة التى تلى القاعدة غير المتزاوجة كما فى الشكل (٥-٢).




الشكل (٥-٢): تحدث إضافات أو حذف بسبب الأزاحة (الخطأ) عند النهاية النامية للتناسخ

عندما يجيئ الدور على جزئ د. ن. أ المحتوى على هذا الخطأ لكى يعمل كقالب، فإن الاقتضاب أو الاضافة سيتم نسخها بدقة مما يؤدى فى النهاية إلى تثبيت الطفرة. تؤدى الطفرة الناتجة عن إضافة أو اقتضاب زوج واحد أو عدد قليل من أزواج القواعد الى تغير اطار القراءة داخل بعض التتابعات الشفرة للبروتين مسببة إخلال كامل فى عملية بناء ذلك البروتين. وتسمى هذه الطفرة طفرة تحرك الإطار Frame Shift Mutation وينتج عنها بروتين غير فعال.

## الطفرات الناتجة عن تغيرات كبيرة نسبياً فى تتابعات القواعد:

توجد كثير من الطفرات التى يرتفع فيها عدد القواعد المتغيرة بحيث تشمل إعادة ترتيب كبيرة فى تتابعات هذه القواعد. وتوجد هذه التغيرات فى الطفرات المسئولة عن تدمير وظيفة ونشاط الجين. يمكن اقتطاع أجزاء كبيرة من د. ن. أ والتى قد تصل إلى آلاف النيوكلتيدات من خلال عملية غير طبيعية لنشاط انزيمات الاتحادات الجديدة اثناء عملية العبور أو نتيجة لحدوث أخطاء فى عملية تناسخ سلسلة د. ن. أ القالب.

من جهة أخرى يمكن لبعض أجزاء جزئ د. ن. أ أن تنقلب Inverted من خلال عملية تكوين الاتحادات الجديدة داخل جزئ د. ن. أ أو قد يحدث تبادل بين أجزاء من الكروموسومات غير المتناظرة فى مميزة النواة بحيث يترتب على ذلك أن الجينات القريبة من مكان التبادل لايتسنى تنظيمها بدقة.

وحيث أن الكروموسومات تتميز بالثبات فى تركيبها فإن التغيرات الكروموسومية التلقائية لابد أن تمثل حوادث نادرة.

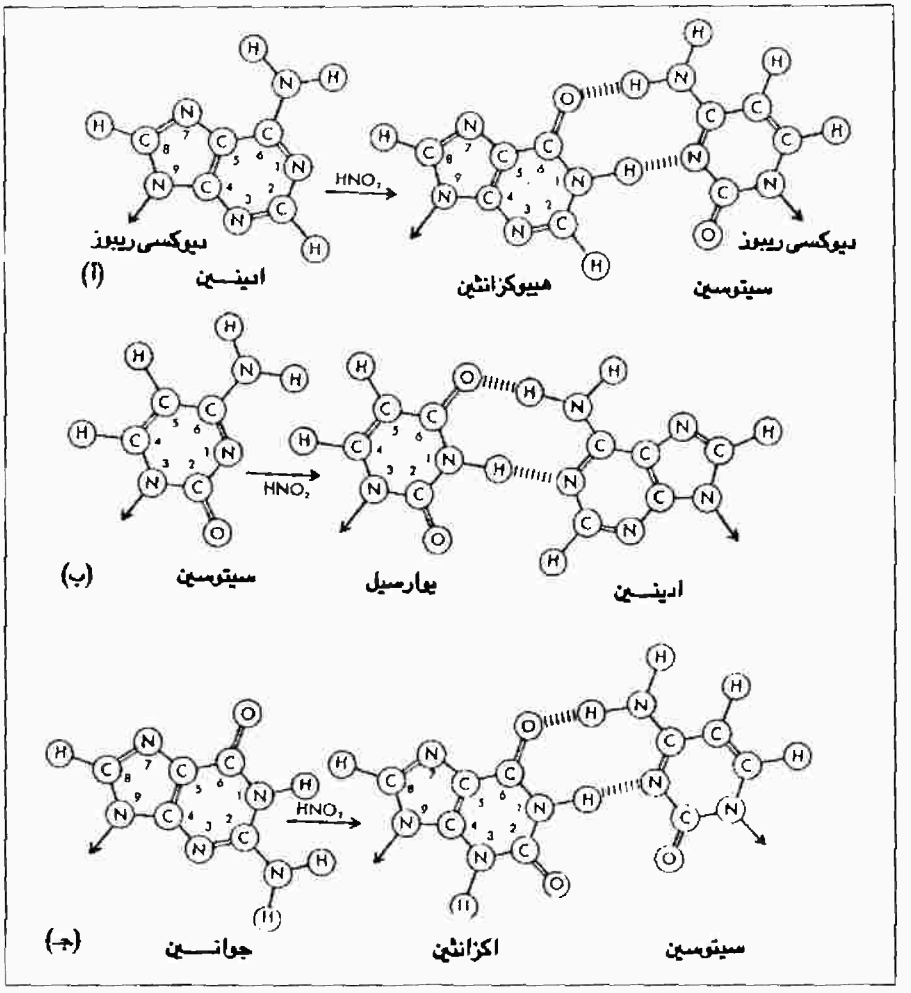
## أهمية دراسة المطفرات الكيماوية:

لاشك أن المطفرات الكيماوية تؤدى إلى زيادة هائلة فى معدل حدوث الطفرات، مما يعنى أنها تتدخل بطريقة مباشرة فى مسارات تناسخ د. ن. أ بالخلية. لذلك يفيد استخدام طافرات بمطفرات معينة فى دراسة أهمية كل من بروتينات ماكينة التناسخ فى عملية بناء د. ن. أ كما أن المطفرات الطبيعية تؤثر على جميع الكائنات بما فيها الانسان.

تمتلك البكتريا والفيروس نظم وراثية خاصة يمكن استخدامها بكفاءة فى دراسة ميكانيكية عمل عدد كبير من المطفرات كما أنها تقدم طرق مباشرة وسهلة لاختبار مدى قدرة أى مادة كيماوية على إحداث الطفور( مطفر كيماوى) بحيث يمكن تجنب استخدامه واستبعاده أو اتخاذ الاحتياطات عند استخدامة.

تعمل المطفرات أما بطريقة مباشرة على جزئ د. ن. أ لتغيير خواص القالب أو عن طريق تخريب عملية التناسخ بحيث تؤدى إلى اضافة القاعدة الخطأ.

تتفاعل الكيماويات النشطة مع د. ن. أ DNA-reactive Chemicals مثل حامض النيتروز ($HNO_2$) أو ناقلات الألكيل أو المؤلكلة Alkylating Agents مثل ميثيل نيتروزو جوانيدين Methyl Nitrosoguanidine مباشرة مع د. ن. أ بحيث تؤثر على القواعد فتغيرها إلى تراكيب كيماوية جديدة. وهذه التراكيب الجديدة (القواعد الجديدة) تتزاوج غالباً بطرق مختلفة عن القواعد الأصلية المشتقة منها. أى أن المطفر قد أدى فى النهاية إلى تغيير فى التتابع الشفرى لجزئ د. ن. أ (الشكل ٥-٣).



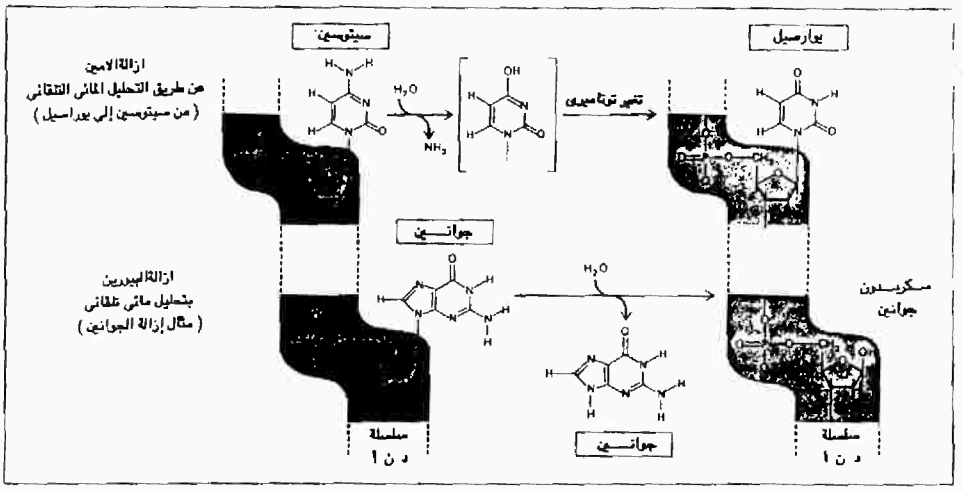

الشكل (٥-٣): عملية أزالة مجموعة الأمين بالأكسدة فى قواعد جزئ د. ن. أ بواسطة حامض النيتروز وتأثيرها على تزاوج القواعد:

أ - يتحول الأدينين الى الهيبوكزانثين الذى يتزاوج مع السيتوسين بدلا من الثايمين.

ب- يتحول السيتوسين الى اليوراسيل الذى يرتبط بالادينين بدلا من الجوانين.

ج - يتحول الجوانين الى الكزانثين الذى يستمر فى الارتباط بالسيتوسين ولكن بـرابطتين هيـدروجينيتين فقط. لا يحتوى الثايمين (واليوراسيل) لجزئ د. ن. أ على مجموعة أمينو لذلك لايحدث بهما تغير.

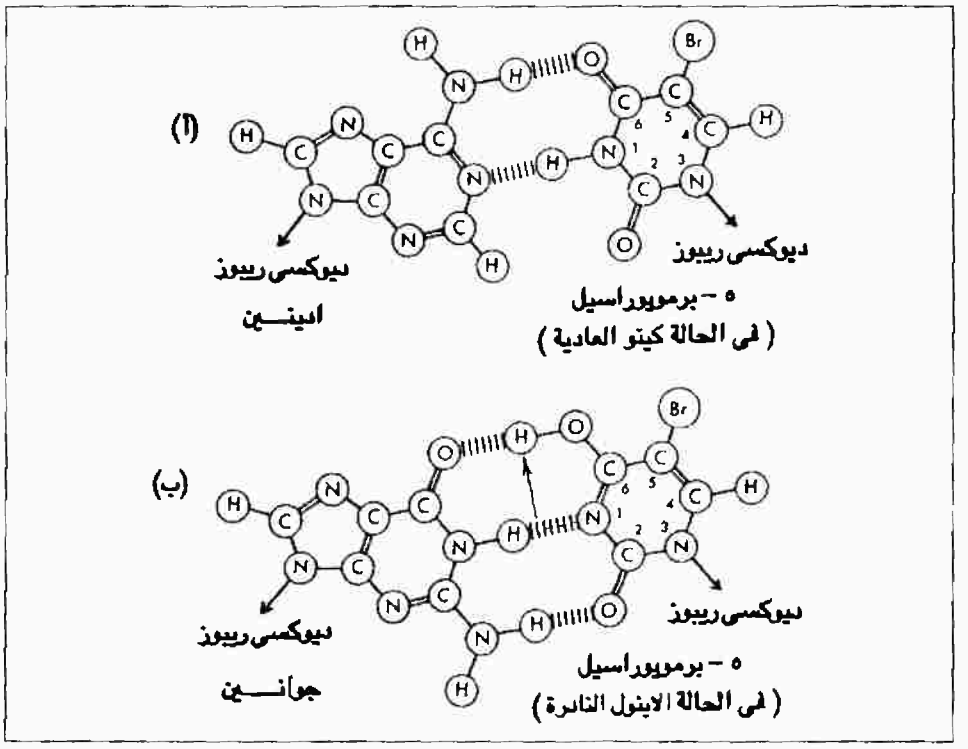
ألا أن بعض القواعد المشتقة لا يمكنها أن تتزاوج بالمرة. ويؤدى التلف أحيانا إلى ازالة القاعدة نهائياً من الهيكل الأساسى لجزئ د. ن. أ كما فى الشكل (٥-٤) وفى هذه الحالة تنشأ الطفرة عندما تحاول ماكينة التناسخ اصلاح الضرر الذى تعرض له جزئ د. ن. أ بطرق خاصة بحيث تؤدى ميكانيكية الاصلاح نفسها إلى احداث طفرات أخرى فيما يعرف بالإصلاح القابل للخطأ Error Prone Repair كما سيأتى بعد .




الشكل (٥-٤): تفاعلان كيماويان يحدثان تلقائياً بكثرة ويؤديان إلى احداث تلف خطير فى تركيب جزئ د. ن. أ فى الخلية، وهما تفاعل أزالة مجموعة الأمين أو ازالة البيورين، ويمثل كل تفاعل بمثال نوعى

توجد مجموعة أخرى من المطفرات تسمى مشابهات القواعد Base Analogs والتى يؤدى تشابهها مع القواعد الطبيعية الى اضافتها بالخطأ كما لو كانت نيوكلتيدات ثلاثية الفوسفات فى سلسلة د. ن. أ أثناء التناسخ الطبيعى. إلا أن تركيبها الشاذ يؤدى إلى تزاوج بين القواعد بطريقة غير صحيحة وغير دقيقة مما يؤدى إلى حدوث أخطاء متكررة أثناء عملية التناسخ.

ومن أمثلة اشباه القواعد ذات التأثير القوى فى أحداث الطفرات مادة 5- Bromouracil وهى مشابهة للقاعدة النيتروجينية الثايمين، يعتقد أن قدرتها الطفرية ترجع إلى أن ذرة الهيدروجين فى الموقع رقم ١ بها ليست ثابتة بدرجة كافية مثل ذرة الهيدروجين المقابلة فى الثايمين بحيث يحدث أحيانا لهذه الذرة أن ترتبط بذرة الأكسوجين المتصلة بذرة الكربون رقم ٦ (الشكل ٥-٥) مما يؤدى إلى تزاوج البروموبوراسيل مع الجوانين.




الشكل (٥-٥): نتائج تزاوج ٥- بروموبوراسيل مع القواعد النيتروجينية

أ - فى الحالة الكيتو العادية وفى وجود ذرة هيدروجين فى الموقع (N) يرتبط البروموبوراسيل بالأدينين.

ب- فى الحالة الاينول النادرة فإن التحرك التوتاميرى لذرة الهيدروجين هذه يحدد التزاوج النوعى مع الجوانين.

توجد مجموعة ثالثة من المطفرات الكياوية تشمل مطفرات تحريك الاطار Frame Shift Mutagens مثل البروفلافين Proflavin الذى يحدث إقتضاب أو حذف أو اضافة لقاعدة واحدة أو أحيانا لعدد قليل من القواعد. تتميز مطفرات تحريك الاطار بأن جزيئاتها مفلطحة ومتعددة الحلقات Polycyclic مما يمكنها من الارتباط بالأسطح المفلطحة للقواعد بطريقة مماثلة لقوى التراص بين القواعد فى الحلزون المزدوج. قد تعمل هذه المطفرات أيضا عن طريق الارتباط بالقواعد المنبعجة إلى الخارج Looping-Out إما فى سلسلة د. ن. أ القالب أو السلسلة الجديدة أثناء عملية بناء الجزئ مما يؤدى إلى تثبيت العروات المنبعجة بحيث تتزايد فرصة حدوث طفرات فى المنطقة المزاحة.

## ميكانيكيات اصلاح الأخطاء فى د. ن. أ:

يمكن للطفرة أن تستمر وتبقى عندما يكون التغير الوراثى الذى أحدثته ليس ضارا أو فى حالات نادرة عندما يكون مفيدا ولكن غالبية الطفرات تكون ضارة ومدمرة ولا تقوى الخلية على احتمالها ولذلك لابد من توفر ميكانيكيات انزيمية متخصصة لاصلاح ما افسدته التغيرات الطارئة.

سبق الاشارة إلى أن بعض القواعد قد تزال منها مجموعات معينة ومثال ذلك ما يحدث لقاعدة السيتوسين عندما تحدث ازالة تلقائية لمجموعة الأمين بها Deamination (الشكل ٥-٤) بحيث تتحول إلى يوراسيل الذى يتزاوج فى د. ن. أ مثل الثايمين مما يؤدى إلى تحول زوج القواعد GC لكى يصبح AT عند تناسخ د. ن. أ وإذا لم يحدث تصحيح سريع لهذه التغيرات فإن قاعدة سيتوسين من كل ١٠٠٠ قاعدة فى الجينوم البشرى يمكن أن تتحول إلى

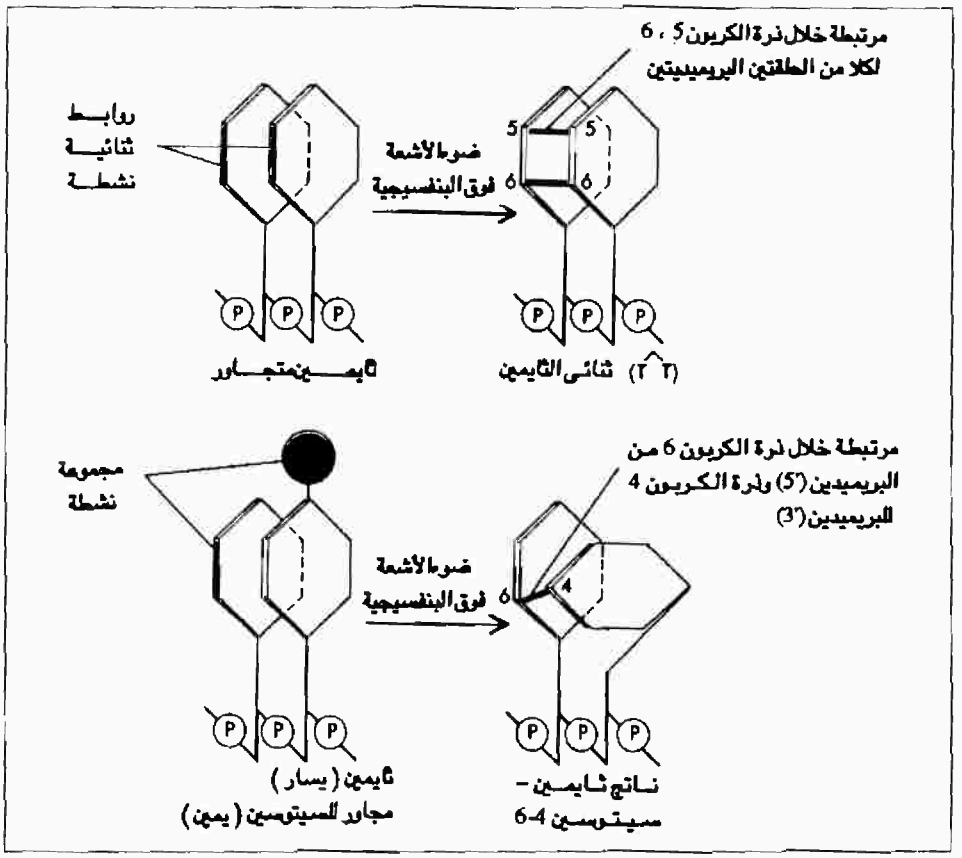
يوراسيل فى فترة حياة الانسان مما يعنى أرتفاع معدل الطفور إلى مستويات لاتحتمل.

كما أن هناك نوع آخر من التغيرات أشد خطورة مثل ذلك الذى يؤدى الى كسر فى الهيكل الأساسى للجزئ (Sugar/Phosphate) أو الذى يحدث تغيرا كبيرا جداً فى أحد القواعد لدرجة أنها تفقد أى شبه أو صلة بأى قاعدة نتروجينية تماماً.

من الطبيعى أن مثل هذه التغيرات الشديدة تحول دون الحصول على التعبير الصحيح للجين، بالاضافة إلى انها تمنع استمرار عملية تناسخ د. ن. أ حيث أن انزيم بلمرة د. ن. أ يتوقف عن البناء عندما يصل إلى تزاوج قواعد خاطئ. وفضلا عن ذلك فإن انكسار الهيكل الأساسى يجعل السلسلة غير صالحة للعمل كقالب.

من التغيرات النموذجية التى تمنع تزاوج القواعد تكون ثنائى بيريميدينى Pyrimidine Dimer. وجد أن الأشعة فوق البنفسجية (200nm) تمتص بشدة بالقواعد ويتراتب على ذلك تفاعل كيماوى ضوئى Photochemical يؤدى إلى الاتحاد بين قاعدتي بيريميدين متجاورتين فى تراكيب غير قابله للتزاوج مثل ثنائى الثايمين كما فى الشكل (٥-٦). يمكن لجزيئات د. ن. أ فى خلايا الجلد المعرضة لأشعة الشمس العادية على سبيل المثال أن تكتسب الآلاف من هذه الثنائيات فى اليوم الواحد. وإذا لم يتم التخلص منها بانزيمات الاصلاح المناسبة فى الخلية ينشأ مرض جلدى يسمى الجفاف الجلدى الملون Xyroderma Pigmentosa الناتج عن خلل وراثى فى الانزيمات المسئولة عن فك الثنائيات وغيرها من الأخطاء التى تحدث بفعل الأشعة فوق البنفسجية.

ويؤدى المكون فوق البنفسجى من آشعة الشمس الى حدوث نسبة عالية من موت وضمور خلايا الجلد ويتسبب فى نمو خلايا سرطانية عديدة فى الأفراد المصابين (الشكل ٥-٧).




الشكل (٥-٦): تكوين ثنائيات البريميدين الناتجة عن التفاعل الضوئى عند التعرض للأشعة فوق البنفسجية

الشكل (٥-٧): التأثيرات المظهرية للمرض الوراثي Xeroderma Pigmentosum
الأفراد الحاملة لهذا المرض تظهر بها أورام جلدية بعد التعرض لضوء الشمس. الأفراد الأصيلة للطفرات الجسمية المتنحية المسئولة عن هذا المرض تكون أقل فعالية فى إصلاح الاخطاء فى DNA الناتجة عن التعرض لضوء الأشعة فوق البنفسجية

## إصلاح طفرات التعرض للاشعة فوق البنفسجية:

## Photoreactivation Repair:

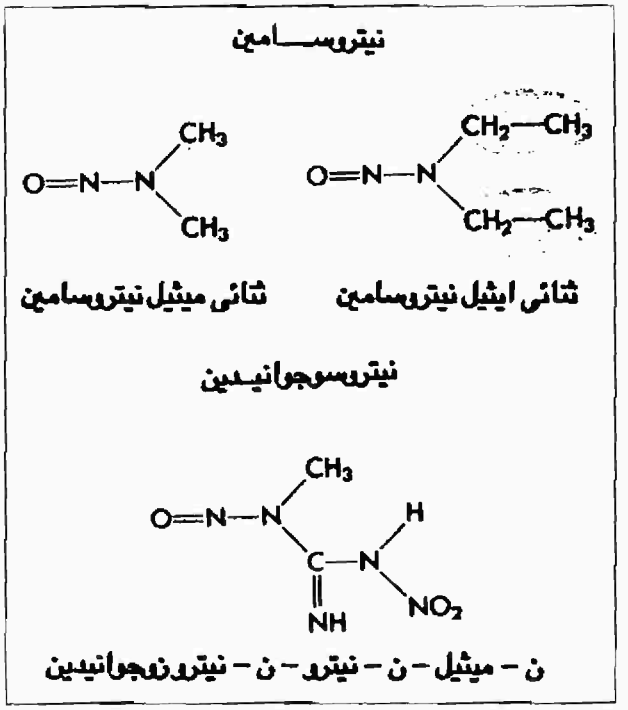
على الرغم من أن معظم التلف فى جزئ د. ن. أ يكون خطيراً وغير قابل للاصلاح إلا أنه يوجد نوعين شائعين من هذه الأضرار أو الأخطاء التى

يمكن اصلاحها مباشرة بواسطة انزيمات متخصصة تقوم بعملية عكسية تمحو بها أثر التغير المتلف.

وُجد أن ثنائيات البريميدين تكون هدفا لانزيم متخصص الذى يرتبط بهذه الثنائيات ويساعد على حدوث تفاعل ضوئى كيماوى أخر مستخدما فى هذه الحالة الضوء العادى مما يؤدى إلى فك ارتباط الثنائيات وتحويلها إلى قواعد بيرميدينية مفردة عادية. وتسمى هذه العملية التفاعل التنشيطى الضوئى Photoreactivation وقد اطلق على هذا الانزيم فى البداية Photolyse ألا أن الدراسات الحديثة أثبتت أن عملية الاصلاح هذه تعتمد على نشاط أنزيمى متخصص يطلق عليه Photoreactivation Enzymue (PRE).

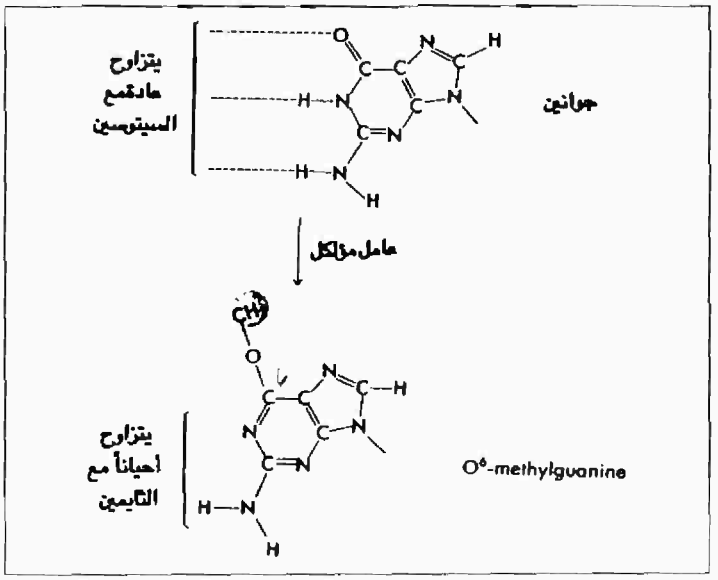
## اصلاح طفرات أضافة الالكيل Alkylation Repair:

قد يحدث التلف أو الضرر فى جزئ د. ن. أ نتيجة لعملية انتقال الالكيل Alkylation حيث تنتقل مجموعة ميثيل أو إيثيل إلى مواقع نشطة فى القواعد أو الى الفوسفات فى الهيكل الاساسى للجزئ. وتشمل الكيماويات المؤلكة نيتروزامين Nitrosamine والمطفر الكيماوى الفعال ميثيل نيتروزوجوانيدين Methtyl- 1- Nitrosoguanidine (الشكل ٥-٨).




الشكل (٥-٨): بعض المطفرات المؤلكلة تظهر مجموعات الألكيل النشطة مظللة

من أكثر القواعد حساسية لعملية نقل الألكيل قاعدة الجوانين التى تتعرض لنقل مجموعة ميثيل Methylation فى ذرة الأوكسوجين المرتبطة بذرة الكربون رقم ٦ وينتج المركب $O^6$-Methylguanine الذى يخطئ كثيراً فى التزاوج بحيث يتزاوج مع الثايمين مما يؤدى إلى تغير الزوج GC إلى AT عند تناسخ د. ن. أ كما فى الشكل (٥-٩). يلاحظ أنه رغم أن النتيجة واحدة إلا أن الاختلال الحادث هنا ينتج عن عملية Methylation فى حين أن نفس النتيجة تحدث عندما يتم ازالة مجموعة الأمين Deamination من قاعدة السيتوسين (كما سبق الاشارة).




الشكل (٥-٩): تفاعل الجوانين بعامل مؤلكل لتكوين $O^6$-Methylguanine

تتم أزالة هـذا الخطـأ أو الـضرر بفعـل انـزيم $O^6$-Methlguanine Methyltransferase الذى يتحكم فى انتاجه الجين (ada). يتعرف هـذا الانـزيم على $O^6$-Methylguanine فى الحلزون ويقوم بإزالة مجموعة الميثيل عن طريق نقلها إلى أحد الأحماض الامينية (Cysteine) الموجودة ضمن تركيب بروتينـات الانزيم نفسه .ومن المحتمل أن هذا الانزيم ينشط أيضا فى أزالة مجاميع الميثيل من الهيكل الفوسفاتى لجزئ د. ن. أ. و تجدر الاشارة هنا إلى أن جزئ الانزيم الذى يشترك فى مثل هذا التفاعل لا يستعيد نشاطه فى ازالة الميثيل مرة أخرى نظراً لبقاء مجموعة الميثيل فى تركيبه نفسه بعد انتهاء التفاعل مما يعنـى أنـه يلزم استهلاك جزئ انزيم جديد كل مرة لإزالة مجموعة ميثيل واحدة.

عند تعريض بكتريا القولون النامية لتركيز منخفض وغير ضار من النيتروزوجواندين فإنها تصبح بعد المعاملة أكثر مقاومة للتأثير المطفر والسام لهذه المادة. يطلق على هذه المقاومة المستحدثة الاستجابة التكيفية Adaptive Response وهى تنتج من ارتفاع مقداره الف ضعف فى محتوى الخلية من انزيم $O^6$-Methylguanine Methyltransferase يصاحبه استحثاث فى إنزيم Glycosylase الذى يزيل القواعد المؤلكلة من الهيكل الأساسى لجزئ د. ن.أ. ويتم وقف استبداء كلا من الانزيمين بطفرات فى الجين ada مما يشير إلى أن نواتج هذا الجين عبارة عن انزيم الترانسفيريز ومنظم موجب للجين نفسه ولانزيم الجليكوسيلز.

## الإصلاح بالاستئصال Excision Repair:

أن تركيب جزئ د. ن. أ من سلسلتين متكاملتين هو الذى يسمح بإصلاح معظم الأخطاء فى د. ن.أ بغض النظر عن طبيعة التغير الكيماوى المصاحب للتلف. إذ أن فقد بعض المعلومات الوراثية من أحد السلسلتين يمكن تعويضه بنسخ هذه المعلومات نفسها من السلسلة المكملة لتجديد المنطقة التى حدث بها التلف. ينطبق هذا بصفة خاصة إذا اقتصر التلف على قاعدة واحدة فى أحدى السلسلتين المتكاملتين.

توجد مسارات متعددة للاصلاح بالاستئصال Excision Repair أو الحذف التى يتم فيها ازالة قاعدة تالفة أو قطعة خاطئة من الهيكل الأساسى. تؤدى جميع هذه المسارات إلى نفس النواتج الوسطية حيث يحدث كسر أو فجوة فى سلسلة أحادية من د. ن.أ فى موقع الضرر مما يهيئ نهاية OH 3 حرة تمكن انزيم بلمرة د. ن.أ DNA Polymerase I من بدء البناء لتتابع جديد يحل محل الجزء

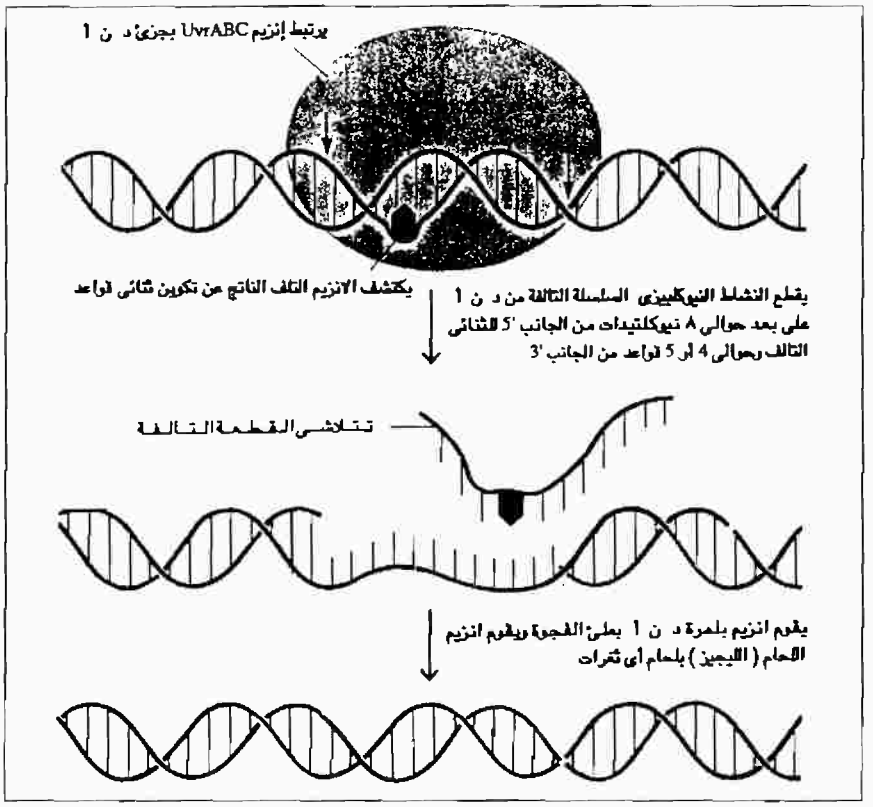
التالف معتمداً فى ذلك على التتابع المقابل فى السلسلة المكملة التى لم يلحقها أى ضرر.

تبين أن الخلايا الطافرة للجين المسئول عن انتاج إنزيم البلمرة DNA poi تكون كفاءتها فى الإصلاح بالاستئصال منخفضة جداً مما يؤكد أن هذا الإنزيم هو الذى يقوم بالدور الأساسى فى هذا النوع من الإصلاح حيث أنه يكون بالكثرة والسرعة اللازمة لملئ الفراغات او الفجوات الصغيرة بكفاءة فى المناطق التالفة المنتشرة على الجزئ والتى يستدعى الأمر إصلاحها بسرعة. فى حين نجد أن إنزيم البلمرة DNA Pol III ولو أن به نشاط Exonuclease 3'→5' إلا أنه نظراً لكبر حجمة وتعقيده ولضرورة أن يظل مرتبطاً بشوكة التناسخ النامية لفترة طويلة ووجوده بعدد قليل نسبياً من النسخ فى الخلية فإنه لا يقوم عادة بهذا الدور.

والإنزيم الآخر الهام فى هذه العملية هو إنزيم الليجيز (اللحام) DNA Ligase الذى يقوم بلحام الأجزاء ببعضها بعد أن ينتهى إنزيم البلمرة من عمله.

فى حالة الأخطاء الناتجة عن التعرض للأشعة فوق البنفسجية وجد أنه، إلى جانب الطفرات التى تحدث فى الجين الخاص بأنزيم Photoreactivation Enzyme والتى تؤدى إلى تعطيل عملية الإصلاح فى بكتريا القولون، أن الطفرات الحساسة للأشعة فوق البنفسجية (وبالتالى تفشل فى إصلاح هذا التلف) تحدث فى ثلاث مواقع وراثية uvrA, uvrB, uvr C وبعكس التنشيط الضوئى السابق الاشارة إليه. نجد أن نظام الإصلاح الذى تشفر له هذه الجينات ليس مختصاً بإصلاح التلف الناتج من الأشعة فوق البنفسجية فقط ولكنه يتعرف على أى تلف شديد ينتج عنه تشوية فى الحلزون المزدوج للجزئ.

تشفر هذه الجينات الثلاث لتحت وحدات Subunits منفصلة لإنزيم واحد وهو إنزيم uvrABC Endonuclease الذى يقوم بإزالة الجزء التالف من د. ن.أعن طريق قطع السلسلة المحتوية على هذا التلف، ويحدث ذلك بأن يقوم الإنزيم بعمل قطع على جانبى الجزء التالف مما يؤدى إلى إزالة ١٢ قاعدة أوليجونيوكلتيدية محتوية على الجزء التالف ويتم ملئ الفجوة الناتجة بإنزيم البلمرة DNA PolI بإضافة نيوكلتيدات مكملة لتلك الموجودة على السلسله السليمة ثم تلحم بانزيم اللحام (الليجيز) كما فى الشكل (٥-١٠).




الشكل (٥-١٠): نظام الإصلاح بالاستئصال للثنائيات وبعض أنواع التلف الكبيرة وذلك بواسطة انزيمات uvr ABC

اتضح حديثاً أن انزيم uvr ABC Endonuclease لا يتعرف على الجزء التالف مباشرة ولكنه يتعرف عليه من خلال الشكل غير الطبيعى لجزئ د. ن. أ ولكن كيف يتم ذلك؟

تبين أن الكسرين اللذين يحدثهما الانزيم يحدثان على نفس الجانب من الحلزون بحيث يبعدان عن بعضهما بمسافة تزيد قليلاً عن دورة كاملة للحلزون فى حين أن التلف يكون أقرب إلى الجهة الآخرى من الحلزون. من الممكن أنه لكى تقترب المواقع النشطة للانزيم بالحلزون فإنه يقوم باحاطة الحلزون لكى يلمس الجانب الاخر مما يؤدى إلى أن تكون المسافة ١٢ قاعدة.

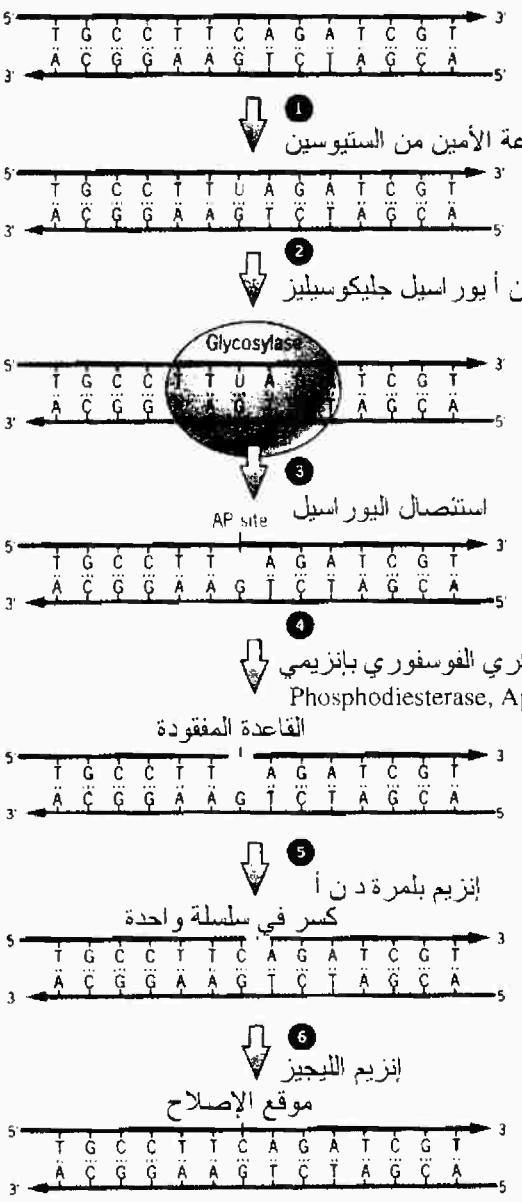
## دور انزيمات الجليكوسيليز DNA Glycosylases فى الاصلاح:

### ( أ ) استئصال قاعدة واحدة: Base Excision Repair

توجد طريقة أخرى لإزالة القواعد التالفة حيث تقوم انزيمات د. ن. أ الجليكوسليز بالتعرف على قاعدة واحدة غير صحيحة وإزالتها من الهيكل الأساسى لجزئ د. ن.أ تاركة ثغرة أو ثقب Hole يطلق عليه موقع AP وهو اختصار لـ Apurine ( أى يفتقر إلى A أو G) أو Apyrimidine (يفتقر إلى C أو T) ثم يتم التعرف على الثقب بواسطة انزيم APendonuclease الذى يكسر الرابطة الفوسفواستيرية الثنائية فى الهيكل الأساسى تاركاً نهاية 3OH يبدأ منها انزيم البلمرة DNA PolI فى البناء لتعويض النيوكلتيدات المفقودة بالإضافه إلى بعض النيوكلتيدات المجاورة.

توجد عدة أنواع مختلفة من إنزيمات د. ن.أ الجليكوسيليز يختص كل منها فى إزالة نوع معين من القواعد غير الطبيعية أو التالفة وعلى الأخص القواعد المميثلة Methylated Bases كما يقوم إنزيم Uracil -DNA Glycosylase

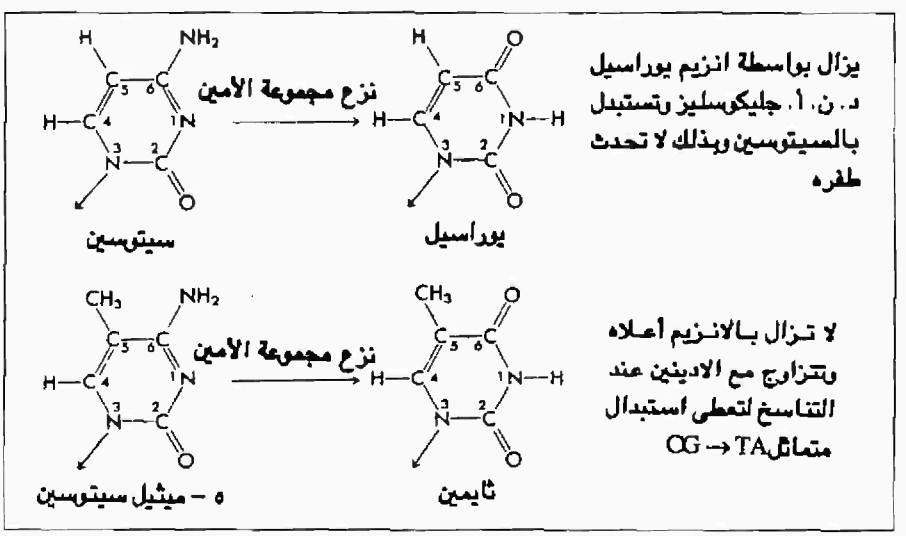
بتصحيح الخطأ الناشئ عن عدم الثبات الطبيعى للسيتوسين حيث أنه يحدث أحياناً عملية نزع تلقائى لمجموعة الأمين من السيتوسين بمعدل منخفض جداً ليعطى يوراسيل. يتعرف الجليكوسيليز على اليوراسيل ويزيله مما يتيح الفرصة لإحلال السيتوسين بإنزيم البلمرة كما فى الشكل (٥-١١).




**الشكل (٥-١١): إصلاح جزئ د ن ا بمسار إستئصال القاعدة الواحدة . يمكن بدء الإصلاح بإستخدام أى من إنزيمات DNAglycosylase المختلفة فى المثال المبين يبدأ uracil DNA glycosylase عملية الإصلاح**

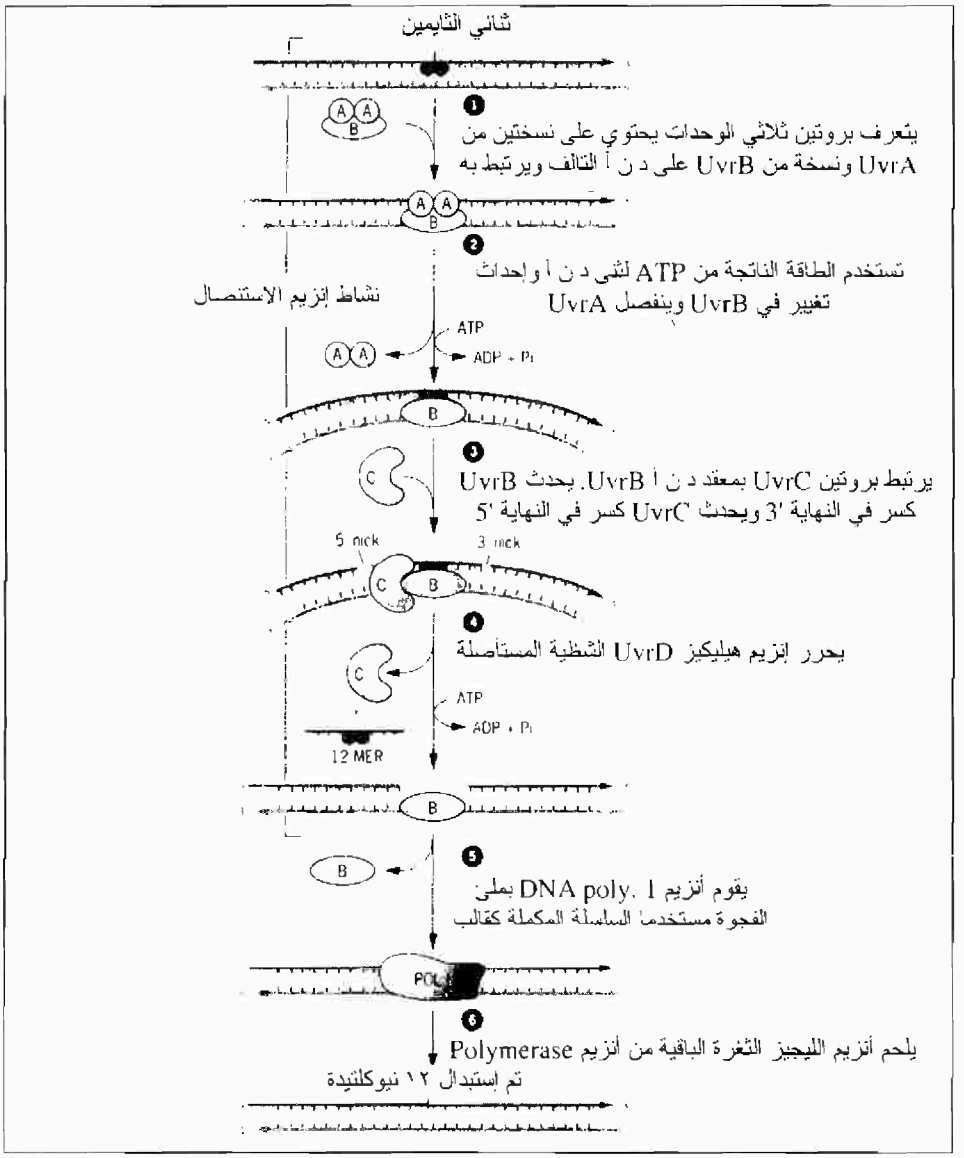
**(ب) استئصال نيوكلتيدة Nucleotide Excision Repair:**

أن النظام الإصلاحى السابق يخفق أو يضعف بشكل ملحوظ إذا كان السيتوسين مميثل على ذرة الكربون رقم ٥ كما يحدث مثلا فى التتابعات المحمية من تأثير انزيمات القطع المحددة (Restriction Endonucleases) (كما سيأتى بعد) يتزاوج السيتوسين المميثل على ذرة كربون 5- Methyl Cytosine طبيعياً أثناء تناسخ د.ن.أ ولا يمكن إزالته بانزيم DNA Glycosylase ولكن عملية إزالة مجموعة الأمين من السيتوسين ينتج عنها ثايمين وليس يوراسيل وحيث أن الثايمين قاعدة طبيعية من قواعد د. ن. أ فإنه لا يمكن إزالتها بانزيم Uracil DNA Glycosylase أو أى انزيم أخر ولكنها تبقى وتتزاوج مع الادينين فى الجيل التالى للخلية مما يؤدى إلى حدوث الطفرة واستمرارها وعلى ذلك فإن 5- Methylcytosine يعتبر بقعة ساخنة للطفرة التلقائية(الشكل ٥-١٢).




الشكل (٥-١٢): الأساس الجزيئى للبقعة الساخنة للقاعدة O- مثيل سيتوسين

مما يستدعى اللجوء الى ميكانيكية أكثر شدة بحيث تؤدى الى استئصال ليس القاعدة المعيبه فقط بل استئصال الهيكل الفوسفوسكرى معها بأكمله. وفى هذا النظام يقوم انزيم فريد فى نشاط الهدم الطرفى الاستئصالى يسمى Excinuclease بأحداث قطع على جانبى النيوكلتيدة المحتويه على القاعدة المعيبة ويتطلب لنشاطة نواتج ثلاث جينات uvrA uvrB ،uvrC بالاضافة إلى نشاط DNA Helicase II (uvrD) يبلغ طول د. ن.أ المستقطع على جانبى القاعدة المراد اصلاحها حوالى ١٢ نيوكليوتيدة ويقوم أنزيم Pol I ببناء الفجوة يلية انزيم ليجيز الذى يقوم بعمل اللحام كما فى الشكل (٥-١٣).



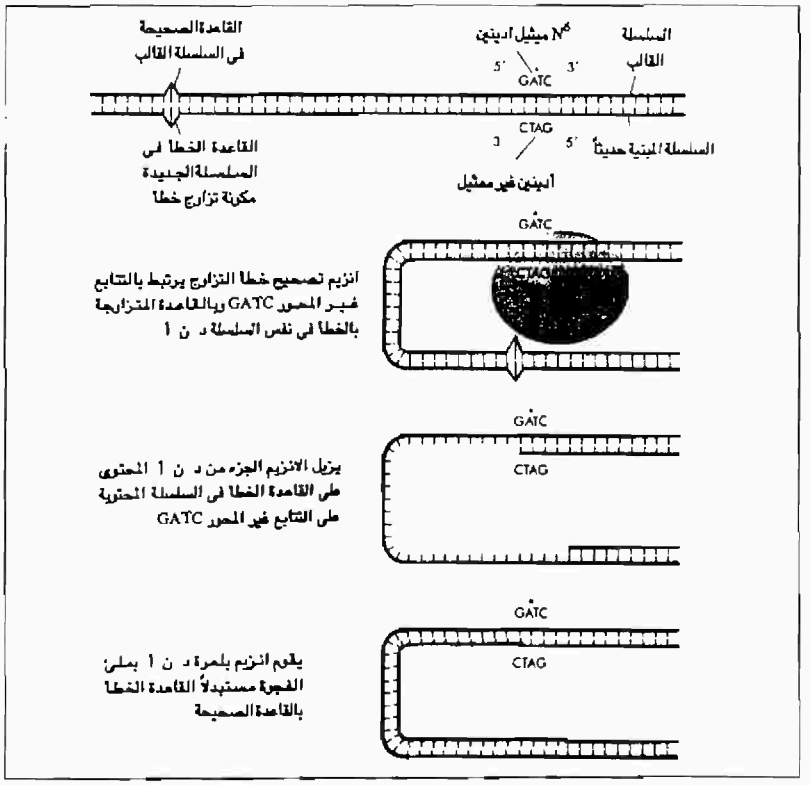

**الشكل (٥-١٣): إصلاح د ن أ بمسار إستئصال النيوكلتيدة الواحدة فى بكتريا القولون . يتطلب نشاط إنزيم Excision nuclease وجود نواتج ثلاث جينات UvrA وUvrB و UvrC يحدث إستئصال النيوكلتيدة فى الإنسان بمسار مشابه فيما عدا أن بروتينات أخرى عديدة تشارك فى العملية كما أنه يتم إستئصال أوليجوبنوكليوتيد طولها٢٩ نيوكليتيدة**

## تصحيح أخطاء عدم المطابقة Mismatch repair:

أن بعض حالات أخطاء التزاوج بين القواعد قد لا يتم اكتشافها بميكانيكية المراجعة Proofreading التى تقوم بها انزيمات البلمرة DNA Polymerase III إذا أن هناك حد أقصى لما يمكن أن تقوم به هذه الانزيمات فى مجال التصحيح حيث يقدر معدل الخطا الطبيعى لها بحوالى $١٠\times١^{-٨}$ أى زوج قواعد خطأ لا يكتشف لكل $١٠^{-٨}$ زوج متناسخ. لذلك اكتشف فى بكتريا القولون أنزيم أخر على جانب كبير من الدقة يقوم باكتشاف الأخطاء المتسربة من عملية المراجعة ويقوم بتصحيح أخطاء ما بعد التناسخ Post-Replication Repair ويسمى انزيم تصحيح عدم المطابقة Mismatch Correction Enzyme والذى ينتج بواسطة الجينات mut S, mut L, mut H. يقوم هذا الإنزيم بعملية مسح Scanning واعادة مراجعة لجزئ د. ن. أ حديث التناسخ ليتعرف على أزواج القواعد غير الصحيحة، ويقوم بإزالة منطقة أحادية السلسلة تحتوى على النيوكلتيدة الخطأ مما يعطى الفرصة لإنزيم البلمرة لإدخال (أو اضافة) القاعدة الصحيحة وملئ الفجوة الناتجة. ولكن برزت مشكلة هامة وهى التعرف على أى من القاعدتين فى الزوج النيوكليتيدى هى الخطأ حيث أن كلاهما مكونان طبيعيان لجزئ د. ن. أ وإذا أزيلت أحدى القاعدتين من هذا الزوج عشوائياً فإن معدل إحتمال أن تزال القاعدة الصحيحة بدلاً من الخطأ يصل إلى ٥٠% وباتالى تكون الطفرة قد استقرت بدلاً من تصحيحها وإزالتها. وللتغلب على هذه المشكلة تبين وجود اشارة خاصة محكومة بتوقيت محدد تقوم بتوجيه عملية إزالة التزاوج الخطأ لتعمل على السلسلة حديثة البناء فقط بحيث يزيل الانزيم الجزء من د. ن. أ المحتوى على القاعدة غير الصحيحة وقد يزيل معها عشرات النيوكلتيدات الصحيحة وذلك من السلسلة المحتوية على التتابع النوعى GATC المجاور لهذه

القاعدة المطلوب إزالتها كما فى الشكل (٥-١٤) وعامل الوقت له أهمية بالغة فى توجيه نشاط انزيم التصحيح للسلسلة المطلوبة حيث أن الأنزيم لا يستطيع التعرف على التتابع الكشاف إذا كان الادينين فى هذا التتابع القصير قد تمت ميثلته إلى $N^6$ Methyladenine بانزيم الميثلة Adenine Methylase المشفر بالجين dam، قبل وصول انزيم التصحيح إليه وبالتالى لا يمكن إزالة القاعدة غير الصحيحة. والمدهش هنا أن معظم تتابعات GATC فى الخلية يحدث بها تحوير من هذا النوع (أى ميثلة الأدينين) بعد تناسخها ولكن بعد فترة قصيرة جداً من التأخير قد لا تزيد عن ثوان أو دقائق قليلة إلا أن هذه الفترة الزمنية الوجيزة تكون كافية لكى يرتبط انزيم التصحيح بهذا التتابع ولذلك فإن الإنزيم لابد أن يتجه إلى سلسلة د. ن. أ الجديده و التى تم بناؤها للتو والتى لم يتحور فيها التتابع الكشاف بعد باضافة مجموعة الميثيل إلى الأدينين بدلا من التوجه إلى السلسلة القالب التى يكون فيها المميثلة قد تمت منذ فترة.

يتعرف انزيم التصحيح هنا ليس فقط على القاعدة الخطأ ولكنه يتعرف ايضاً على بعض الاضافات أو الاقتضابات وبالتالى فإنه يقلل من فرص حدوث طفرات تحرك الإطار بالإضافة إلى طفرات الاستبدال.




الشكل (٥-١٤): نموذج يبين كيف يقوم نظام إصلاح أخطاء عدم التطابق Mismatch فى بكتريا القولون باستبدال قاعدة خاطئة ومتزاوجة بالخطأ فى الحلزون المزدوج لجزئ د. ن. أ.

## تصحيح أخطاء ما بعد التناسخ Post Replication Repair:

### الاصلاح باتحادات جديدة Recombinntional Repair:

عرفنا أن الإصلاح الاستئصالى Excision Repair يستخدم السلسلة المكملة كقالب لإحلال جزء جديد بدلاً من الجزء التالف من د. ن. أ. ولكن يحدث أحياناً أن هذا القالب نفسه لا يكون متوفراً كما يحدث مثلاً عندما تتقابل شوكة التناسخ

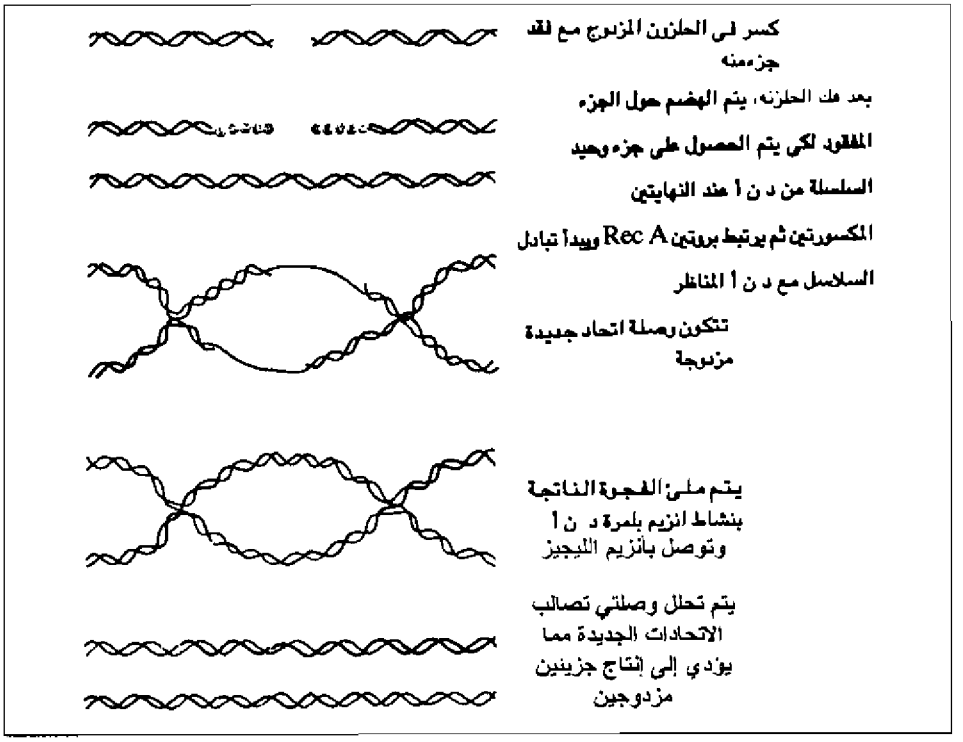
مع منطقة مشوهة أو تالفة (مثل ثنائى البيريميدين) بحيث تنقطع العلاقة بين السلسلتين فى منطقة التشوه قبل أن يتمكن الإصلاح الاستئصالى من الوصول إليها. بالاضافة إلى ذلك إذا كانت كلتا القاعدتين فى الزوج النيوكلتيدى قد تغيرتا كأن ترتبطان تصالبيا Crosslinked بمادة كيماوية مثل العقار المسرطن Mitomycin، فإن أى منهما لا تسطيع أن تستخدم كقالب للأخرى.

ومن جهة أخرى فإن الحلزون المزدوج حين يحدث به كسر مستعرض يشمل السلسلتين ويصاحبه فقد لجزء من الحلزون المزدوج نهائياً مما يؤدى الى صعوبة إصلاح المنطقة التالفة مباشرة بالدقة المطلوبة.

فى جميع هذه الحالات نجد أن جميع المعلومات (التتابعات النيوكلتيدية) الاصلية والمكملة قد فقدت فى مكان التلف ولا يمكن استرجاعها إلا عن طريق البحث عن جزء آخر مناظر فى جزئ د. ن. أ منفصل فى الخلية نفسها ولكنه متطابق مع الجزء التالف. يسمى ذلك بالاصلاح التالى لعملية الاتحادات الجديدة Recombinational Repair، حيث يتوفر دائماً مصدر مناسب لاحتياطى د. ن. أ فى الخلية. فمثلا عندما تترك منطقة تالفة فى قطعة مفردة من د. ن. أ عند مرور شوكة التناسخ فإن د. ن. أ البنوى الآخر سيحمل نفس التتابع. وإذا حدث تلف لكلا السلسلتين فى منطقة غير متناسخة، فإن البكتريا النشطة فى النمو يكون لديها عادة نسخة إضافية أو أكثر من كروموسوماتها يمكن استخدامها فى هذه الحالة. وبديهى أن خلايا مميزة النواة ثنائية المجموعة الكروموسومية سيتوفر لديها نسخ اضافية من د. ن. أ لاستخدامه فى عملية مماثلة للاصلاح.

وجد أن العنصر الأساسى فى عملية التصحيح بالاتحادات الجديدة عبارة عن انزيم يقوم بإعادة الاتحاد Annealing بين تتابعات كل من جانبى المنطقة

التالفة وتلك المكملة لها فى جزئ د. ن. أ السليم وبذلك يحدث التطابق الحـرج الذى يتعرف على الجزء الذى يحمل المعلومات الناقصة. وجد أن هذا النـشاط الانزيمى يتم فى بكتريا القولون عن طريق RecA protein كما فى الشكل رقم (٥-١٥).




الشكل (٥-١٥): نموذج لإصلاح كسر فى الحلزون المزدوج لجزئ د. ن. أ بواسطة نشاط بروتين Rec A

## دور بروتينات الانقاذ .S.O.S فى إصلاح د. ن. أ (الاصلاح القابل للخطأ Eror- prone Repair):

من المعروف أن الخلية يمكنها غالباً تنظيم تعبير الجينات حسب الحاجة لمنتجات هذه الجينات. لذلك فليس مستغرباً أن نجد الكثير من إنزيمات الإصلاح لجزئ د. ن. أ يتم تنشيطها عند الطلب والمتمثل فى حدوث تلف د. ن. أ. وعلى سبيل المثال تنشط إنزيمات ميثيل ترانسفيريز DNA Methyltransferase عند وجود د. ن. أ مؤلكل Alkylated بطريقة غير عادية. ولكن أهم وأكبر مجموعة يتم استبدائها أو "استنفارها" تتكون من مجموعة من الجينات يطلق عليها جينات الانقاذ S.O.S والتى يتم استبدائها عند حدوث تدمير شديد فى جزئ د. ن. أ يؤدى إلى ايقاف بناء د. ن. أ تماماً. من أمثلة أنواع التلف الذى يحفز جينات الانقاذ ذلك التلف الناتج عن تكوين ثنائى البريميدين الذى يحول دون حدوث تزاوج بين القواعد تماماً، بحيث عندما تصل إليه شوكة التناسخ فإنها تتوقف وتتركه ثم تبدأ من جديد بعد مسافة من هذا التشوه الحادث مما يؤدى إلى تكوين فجوة فى د. ن. أ والتى لا يلبث أن يرتبط بها RecA Protein. وفضلاً عن بدء التبادل بين سلاسل د. ن. أ عن طريق الاصلاح بالاتحادات الجديدة فإن الارتباط الحادث بين RecA Protein وبين سلسلة مفردة من د. ن. أ يؤدى إلى حفز RecA Protein لكى يقوم بوظيفة انزيمية مختلفة تماماً عن وظيفة الاتحادات الجديدة وهى: هدم (بالتحليل المائى) للمثبط الخاص بجينات الانقاذ S.O.S (والمعروف باسم مثبط Lex A) وبهذه الطريقة يقوم RecA Protein بتحفيز عملية اصلاح د. ن. أ بكل من طريقة الاتحادات الجديدة بالاضافة الى استبداء نشاط حوالى ١٥ جين من جينات الانقاذ S.O.S نتيجة لتخليصه لها من

البروتين المثبط. والجدول(٥-١) يبين عدد من جينات الانقاذ وملخص لدور كل منها فى الاصلاح.

**الجدول (٥-١) جينات الانقاذ S.O.S ودورها فى اصلاح د. ن. أ**

| اسم الجين | دورة فى اصلاح د. ن. أ |
|---|---|
| **أولاً:** | **جينات معروفة الوظيفة** |
| uvr A<br>urv B<br>urv C | تشفر لانزيم الاستئصال Excision Endonuclease |
| umu D<br>umu C | يشفران للبروتين المطلوب لاصلاح د. ن. أ الناتج من عملية الاصلاح القابل للخطأ Error-Prone Repair ولمعظم مسببات الطفور. |
| sul A | يشفر للبروتين المثبط لانقسام الخلية (ربما لتعطى فرصة زمنية لاصلاح د. ن. أ) |
| **ثانيًا:** | **جينات داخلة فى بناء د. ن. أ ولكن دورها المحدد فى الاصلاح غير معروف.** |
| SSb | ينتج البروتينات المرتبطة بالسلسلة المفردة SSB |
| uvr D | ينتج انزيم هيليكيز II الذى يقوم بفصل السلسلتين أمام شوكة التناسخ |
| him A | يشفر لأحد البروتينات الداخلة فى الاتحادات الجديدة المحددة الموقع |
| Rec N | يدخل فى اصلاح د. ن. أ بالاتحادات الجديدة |
| **ثالثًا:** | **جينات غير معلومة الوظيفة** |
| din A<br>din B<br>din D<br>din F | |

وعلى الرغم من أنه معروف الآن كيف أن مشابهات القواعد وبعض القواعد المُحَورة (المُعدلة) تسبب طفرات من خلال التزاوج غير الصحيح، إلا أنه لم يتضح بعد كيف تنشأ الطفرات عندما تكون القواعد مشوهه وتالفة جداً لدرجة أنها تفقد القدرة على التزاوج تماماً. ولكن هذه الحالة هى أهم العمليات على الأطلاق لأن معظم المطفرات الطبيعية والتالى معظم المسرطنات Carcenogens تعمل على أن تظل الخلايا فى إنتاج سلاسل د. ن. أ بالرغم من غياب القالب بما يحتوية من معلومات وراثية لازمة للتناسخ فى مواقع التلف.

وفى محاولة شبه يائسة من الخلية لاصلاح هذه الاخطاء الكبيرة التى نتجت عن تلف كبير فى سلسلتى د. ن. أ الابوية وعدم وجود قالب سليم للتناسخ فإنها تلجأ إلى تنشيط ما يسمى SOS Repair System أى الاصلاح بإنقاذ ما يمكن انقاذه للهروب من التأثيرات المميته الناتجة من هذا التلف. وفى هذا المسار الانقاذى يؤدى نشاط بروتينات الانقاذ إلى دفع انزيم Pol III إلى الاستمرار فى التناسخ خلال الجزء التالف من القالب بدون توقف عند منطقة التلف وتكون النتيجة تلافى وجود فجوة فى د. ن. أ البنوى الناتج إلا أن ذلك يكون على حساب صحة عملية التناسخ نفسها. حيث تحتوى نواتج التناسخ هذه على اخطاء جسيمة تؤدى إلى زيادة كبيرة فى معدل الطفور ولذلك سمى هذا النوع من الاصلاح- الاصلاح المصحوب (القابل) بالخطأ Error Prone Repair.

## المطفرات الطبيعية وطرق التعرف عليها:

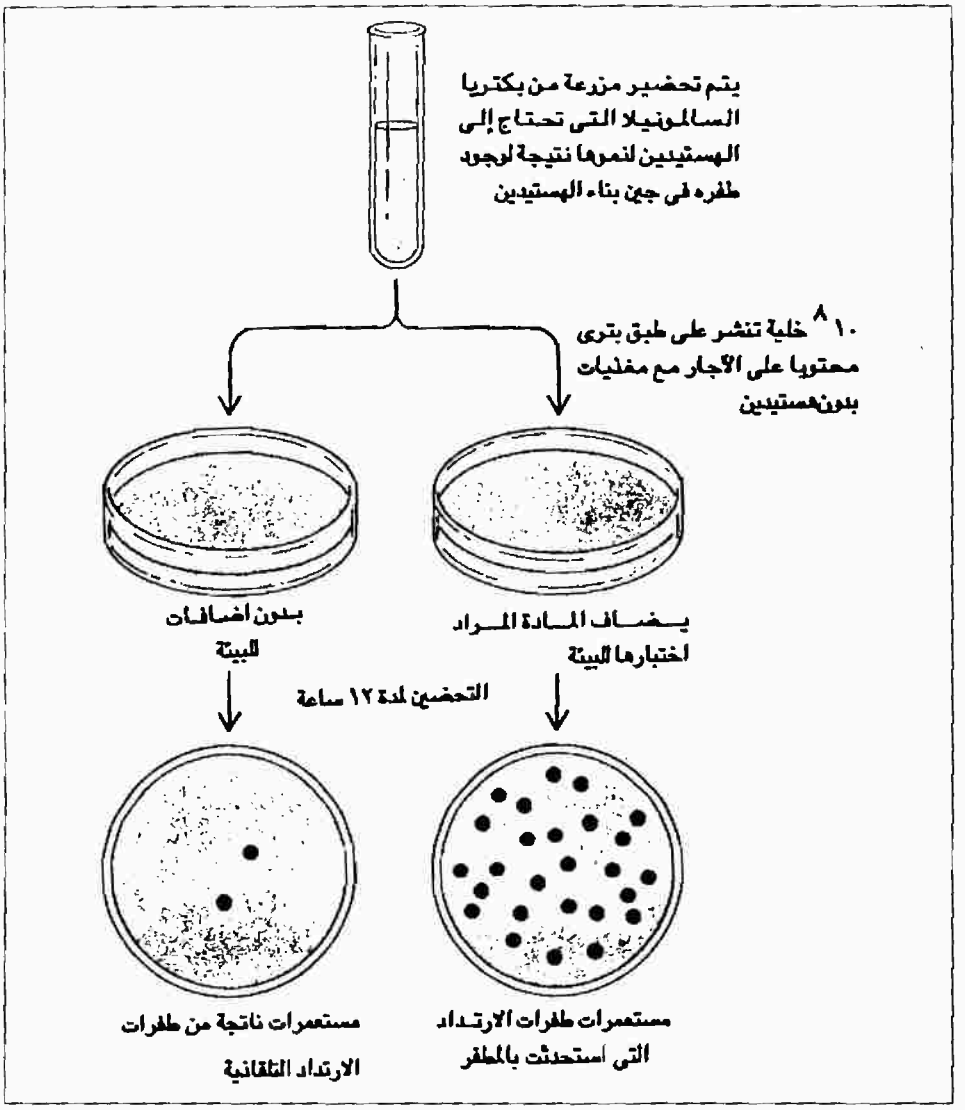
من المهم التعرف على المطفرات وتفادى تعرض الإنسان لها لسببين وهما:

١- أن التغيرات الوراثية العشوائية تكون عادة ضارة للأجيال المقبلة. ولكن حتى الطفرات الجسدية Somatic Mutations أى تلك التى تحدث فى الخلايا اللاجنسية قد تهدد حياة الكائن نفسه. إذ من المعروف أن السرطان ينتج غالباً من طفرات جسدية تؤدى إلى نمو غير منتظم للخلايا.

٢- قد يكون هناك ارتباط بين بعض الأمراض المرتبطة بالشيخوخة مثل تصلب الشرايين Atherosclerosis وبين تراكم د. ن. أ تالف لم يمكن اصلاحه. بل هناك فرضية بأن عملية الشيخوخة بكاملها قد تنتج عن تلف غير عكسى فى د. ن. أ فى الخلايا الجسدية.

ثبت أن معظم المطفرات تكون فى نفس الوقت مسرطنات. وقد تم التوصل إلى طريقة سهلة لتحديد ما إذا كانت مادة ما مسرطنة أم لا وذلك عن طريق استخدام سلالات بكتيرية معينة فى اختبار القدرة الطفرية لهذه المادة، فقد استنبط Ames دكتور إيميز اختبار سمي بأسمه Ames test (الشكل ٥-١٦) وقد استفاد إيميز من عدة خواص مميزة لسلالة من بكتيريا السالمونيلا Salmonella بحيث يسهل قياس معدل الطفور الرجعى Reversion إلى المظهر الوحشى للبكتريا فى طفرة عوز للهستدين. كما أن هذه السلاله تحتوى على بلازميد باستطاعته التعبير بكفاءة عن صور مظهرية مغايرة يحكمها جينين umu C، umu D والتى تكون ضرورية فى حالة ما إذا كان التلف من النوع المطفر. إلا أنه تبين أن معظم المركبات المسرطنة وخاصة النواتج الطبيعية لا تظهر نشاطاً مسرطناً إذا تمت اضافتها مباشرة إلى البكتريا النامية ولكن لابد أن يحدث لها تنشيط أولاً عن طريق التحضين Incubation مع مستخلص من كبد الثدييات. وهى عملية مشابهة لما يحدث فى الطبيعة عندما يتم تمثيل المواد الغريبة فى الكبد.وأثناء عملية التنشيط هذه يتم تحويل المواد المسرطنة إلى

مشتقات محبه للماء تتفاعل بسهولة مع القواعد فى جزئ د. ن. أ. ولكن هل جميع المواد المطفرة الهامة لابد أن تكون بالتالى مسرطنة؟




الشكل (٥-١٦): اختبار إيمز لتقدير المقدرة الطفرية (المسرطنة) لمادة مطفرة على أساس قدرتها على إحداث الطفور الرجعى إلى الطراز الوحشى فى سلالة من بكتريا السالمونيلا المعدلة وراثيا

تبين من الدراسات على الأمراض الوبائية بأن تدخين السجائر من أهم المواد المسرطنة التى تواجه الإنسان وقد تبين من اختبار إيمز أن التدخين مطفر قوى.

كما أن الخطر الكامن لبعض المطفرات من الكيماويات الصناعية مثل Ethylene Dichloride معروف تماماً. وهناك الكثير من ملوثات البيئة قد تكون مسرطنة. ولكن تبين حديثاً أن معظم مصادر المطفرات والمسرطنات تأتى من الإغذية وحتى فى الغذاء العادى مثل الخضروات الشائعة.

إذ أن النبات يقوم بإنتاج مواد سامة للدفاع عن نفسه ضد المفترسات مثل الحشرات ثم يقوم الكبد بتمثيلها بحيث تكون النواتج مطفرات فعالة.كما تبين أن معظم المطفرات تكون مؤكسدات Oxidants مثل شق الأكسوجين Oxygen Radicals الذى يتفاعل مع قواعد د. ن. أ وهناك مصدر غذائى آخر يمكن أن يؤدى إلى الطفور بل وإلى السرطان وهى الدهون التى يتم تمثيلها إلى مؤكسدات نشطة فى الكبد إلا أن الأمل يكمن فى تفادى هذه المخاطر المحتملة عن طريق بعض مضادات التأكسد الطبيعية Antioxidants مثل الجلوتاثيون Glutathione.