

الفصل الخامس

الأساس الجزيئى للطفور وطرق إصلاح أخطاء التناسخ

حيث أن أماكن نمو وتمايز أى كائن تتحدد بما يحتوية جينومة من الجينات، لذلك فإنه يتحتم أن يحدث تغير (طفور) فى المادة الوراثية د. ن. أ لملائمة تطور الكائنات مع البيئة المحيطة بها. إلا أنه من المعروف أن التغيرات التطورية عادة ما تكون نادرة الحدوث. لهذا يتميز جزئ د. ن. أ بالثبات والاستقرار أثناء تخزينه وتناسخه فى الخلية على مدى الأجيال. حيث أن ذلك من شأنه المحافظة على بقاء الكائنات ونموها. أن المحتوى الجينى للخلية يترجم عادة إلى آلاف من البروتينات المختلفة والتي قد يؤدي أى تغير فى أى منها إلى أثار ضارة بالخلية والكائن نفسه. وعلى ذلك فإن على الخلية أن تقابل تحد من شقين.

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

الثانى: أن يكون بمقدور الخلية استنباط نظم دقيقة لإصلاح الأخطاء العارضة التى قد تحدث فى جزئ د. ن. أ أثناء حفظة أو تناسخه.

أن جزيء 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 هيكله الأساسى أو يحدث تغيرا كيماوياً فى قواعدده. معروف أن الطفرات تنشأ بصفة عامة عندما يودى التلف الحادث إلى تغيير فى الخواص الشفرية للقواعد. ونظراً لأن قدرة الكائن على احتمال أو مقاومة المعدل الطبيعى للتلف فى المادة الوراثية محدودة. فلا بد أن تتواجد فى الخلية ميكانيكيات انزيمية تخصصية لاصلاح الأماكن التالفة فى جزيء 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 جزيء 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 تغيير القاعدة الواحدة Single Base Mutation:

يعد هذا النوع من الطفرات من أبسط أنواع الطفرات. وترجع أهميتها إلى أن حدوث تغيير في قاعدة واحدة بما ينتج عنه من تغيير في أحد البروتينات يؤثر على دقة تناسخ جزيء د. ن. أ. كما أن هناك العديد من الطفرات الهامة تعطى تأثيرها عن طريق أحداث تغييرا في قاعدة واحدة، هذا بالإضافة إلى أن طفرات تغيير القاعدة الواحدة تعتبر حرجة وضرورية بالنسبة للتطور لأنها تقوم بتغيير الجينات تدريجياً وبطرق غير حادة وطفيفة بحيث تنتج في النهاية تباين وراثي مفيد للكائن.

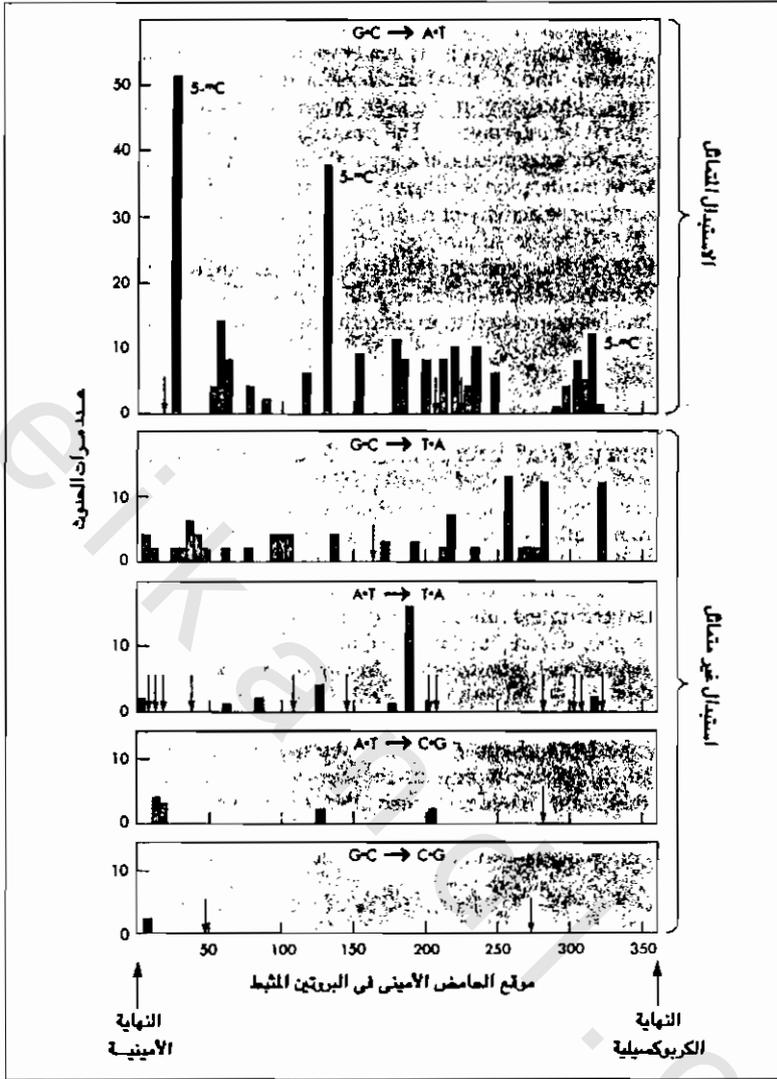
يمكن متابعة أنواع طفرات القاعدة الواحدة التلقائية عن طريق دراسة طفرات إيقاف الترجمة Translation Stop Codon. ففي الجين المنظم لانتاج اللاكتوز والذي يدخل ضمن مكونات أوبرون اللاكتوز في بكتريا القولون Lactose Operon (I) والمسئول عن انتاج البروتين المثبط لنشاط أوبرون اللاكتوز (وسوف نتناول ذلك بالتفصيل فيما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

أظهرت هذه التجارب والتحليلات أن بالإمكان الحصول على جميع أنواع التغيرات فى القواعد فى تتابع جزئ د. ن. أ فمثلا طفرة الاستبدال المتماثل Transition تنتج عندما تحل قاعدة بيورينية محل أخرى 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 الأخرى.

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 جوهريا 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 الاستبدال).

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



الشكل (٥-١): توزيع أنواع الطفرات التلقائية التي تؤدي إلى أحداث كودون التوقف في جين المنظم المنتج للبروتين المثبط لأوبرون اللاكتوز. ويتبين هنا الأنواع الأربعة لطفرات الاستبدال غير التماثل Transversion وواحدة من النوعين المحتملين لطفرة الاستبدال التماثل Transition والتجارب الأخرى تبين أن الاستبدال الأخر التماثل (AT→GC) يمكن أن يحدث أيضاً تلقائياً. تدل الأسهم الرأسية على مواقع الطفرات المحتملة. السيتوسين الميمثل (5 me-C) تعتبر مواقع ساخنة للطفرات.

معدل الخطأ عند اضافة النيوكليوتيدات أثناء عملية التناسخ:

حيث أن نظام Lac يكشف حالات طفور القاعدة الواحدة في أي من ٨٠ موقع محدد فإنه يصبح من اليسير حساب معدل ظهور كل طفرة عند تناسخ د.ن.أ وبالتالي المعدل الذي يخطئ فيه نظام التناسخ في كل موقع. وجد أن متوسط معدل الخطأ هذا لجميع المواقع الثمانين يكون حوالي 10^{-9} لكل دورة تناسخ. ولكن لو أخذنا في الاعتبار أن البقع الساخنة تعطي طفرات بمعدل يزيد ٢٥ ضعف عن المعدل المتوسط في حين توجد مواقع أخرى تعطي معدل للطفرات أقل بحوالي ٢٥ ضعف عن المتوسط. كما ظهر من حساب طفرات الاستبدال في مواقع معينة فإن معدل الخطأ بصفة عامة يتراوح بين 10^{-11} إلى 10^{-10} 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 في مستويات الطفرور:

قد يبدو للوهلة الأولى أن تكرار الأخطاء يعكس مباشرة مدى الدقة الموروثة في تزاوج القواعد AT, GC إلا أنه عندما يتعين على انزيم بلمرة د.ن.أ أن يقوم باضافة 10^9 نيوكليوتيدة مثلا فإنه من المتوقع أن يحدث خطأ نادر في تزاوج قاعدة أو عدد قليل من القواعد أثناء التناسخ. بالاضافة إلى ما يمكن أن يحدثه التغير في صور التناظر بين القواعد من حدوث تزاوجات خاطئة يصل معدلها أحيانا إلى 10^{-4} وهو أعلى بكثير من التكرار الفعلي للطفرة التلقائية. أمكن التغلب على هذه المشكلة عن طريق نشاط انزيم بلمرة د.ن.أ في تصحيح الأخطاء Proofreading أو المراجعة والتي سبق الإشارة إليها حيث

يؤدي نشاط الهدم الطرفي ($3' \rightarrow 5'$) Exonuclease الموجود ضمن وظائف انزيمات البلمرة الى ازالة القواعد المضافة بالخطأ إلى النهاية النامية للسلسلة الجديدة أولاً بأول .

أثبتت دراسات على جزيئات انزيمات البلمرة الطافرة أن معدل الطفور قد يكون محكوماً بالعلاقة بين معدل نشاط الهدم الطرفي الخلفي ($3' \rightarrow 5'$) ومعدل نشاط البناء ($5' \rightarrow 3'$) بمعنى أنه إذا انخفضت كفاءة النشاط الهدمي الطرفي ($5' \rightarrow 3'$) ارتفع معدل الطفور بدرجة كبيرة وغير عادية. من جهة أخرى، إذا ارتفعت كفاءة نشاط الهدم الطرفي ($3' \rightarrow 5'$) فسيؤدي ذلك إلى انخفاض حاد في معدل الطفور. وعلى الرغم من وجود نظام تصحيح أخطاء التناسخ Proofreading في البكتيريا وغير مميزة النواة إلا أن وجود هذا النظام في مميزة النواة لم يتحقق بعد.

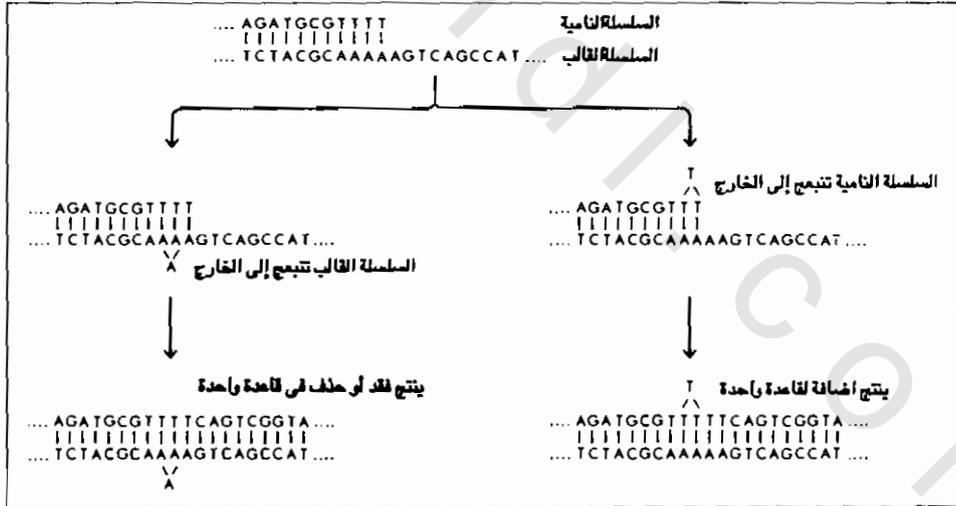
الجينات المطفرة Mutators:

توجد في البكتيريا بعض الطفرات التي تكون وظيفتها زيادة معدل الطفور في جينات أخرى ويطلق عليها Mutators. وعموماً فإن هذه الجينات المطفرة تحدث زيادة في معدل الطفور في جميع الجينات التي تمت دراستها وبالتالي فلا بد أنها تؤثر على البروتينات التي تدخل ضمن ماكينة التناسخ. من أفضل الجينات المطفرة المعروفة في بكتيريا القولون الجين Mut D الذي يؤدي نشاطه إلى حدوث تغيير في الوحدة E في انزيم بلمرة د. ن. أ DNA Pol III مما يؤدي إلى انخفاض معدل الهدم الطرفي ($3' \rightarrow 5'$) ونقل كفاءة الانزيم في التعرف عليه وازالة القاعدة غير الصحيحة التي تضاف إلى النهاية النامية لسلسلة د. ن. أ.

كما أن الجينات المطفرة Mut H و Mut L و Mut S تتدخل في تركيب ونشاط نوعيات البروتينات التي تعمل في اصلاح اخطاء التزاوج بين القواعد. وهى العملية التي 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 تغييرات في زوج واحد من القواعد اذ يحتمل أن يتم حذف أو اضافة واحدة أو عدد قليل من ازواج القواعد كنتيجة لحدوث إزاحة للقواعد "الانبعاث للخارج" (Looping Out) سواء في السلسلة القالب (معطية اقتضاب أو حذف) أو في السلسلة الجديدة النامية (معطية إضافة). تحدث هذه الأخطاء بصفة خاصة عند وجود تتابعات لقواعد مترادفة في جزئ د. ن. أ ويمكن لهذا الجزء المنبجج (المنزلق) أن يستقر بالتزاوج الطبيعي بين القواعد في المنطقة التي تلى القاعدة غير المتزاوجة كما في الشكل (٥-٢).



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

عندما يجيئ الدور على جزئ د. ن. أ المحتوى على هذا الخطأ لكي يعمل كقالب، فإن الاقتضاب أو الاضافة سيتم نسخها بدقة مما يؤدي في النهاية إلى تثبيت الطفرة. تؤدي 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 في عملية بناء ذلك البروتين. وتسمى هذه الطفرة طفرة تحرك الإطار Frame Shift Mutation وينتج عنها بروتين غير فعال.

الطفرات الناتجة عن تغيرات كبيرة نسبياً في تتابعات القواعد:

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

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 في مميزة النواة بحيث يترتب على ذلك أن الجينات القريبة من مكان التبادل لايتسنى تنظيمها بدقة.

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

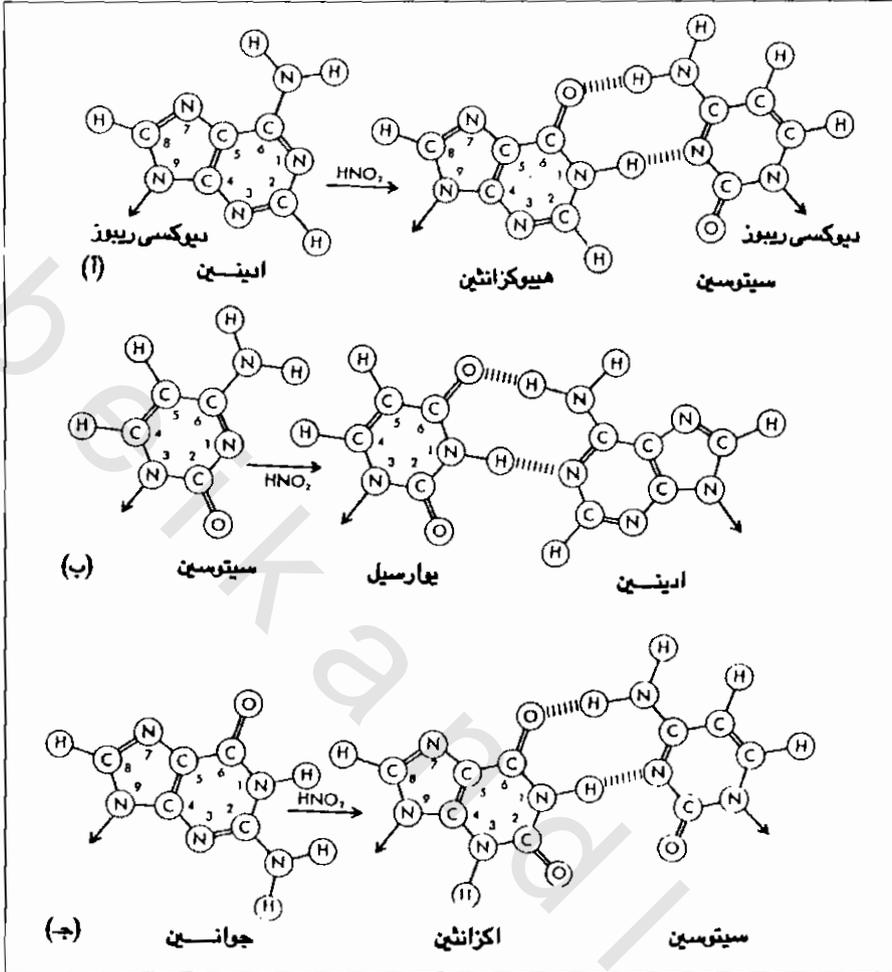
أهمية دراسة المطفرات الكيماوية:

لاشك أن المطفرات الكيماوية تؤدي إلى زيادة هائلة في معدل حدوث الطفرات، مما يعنى أنها تتدخل بطريقة مباشرة في مسارات تناسخ د. ن. أ بالخلية. لذلك يفيد استحداث طافرات بمطفرات معينة في دراسة أهمية كل من بروتينات ماكينة التناسخ في 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 في دراسة ميكانيكية عمل عدد كبير من المطفرات كما أنها تقدم طرق مباشرة وسهلة لاختبار مدى قدرة أى مادة كيماوية على إحداث الطفرور (مطفر كيماوى) بحيث يمكن تجنب استخدامه واستبعاده أو اتخاذ الاحتياطات عند استخدامه.

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

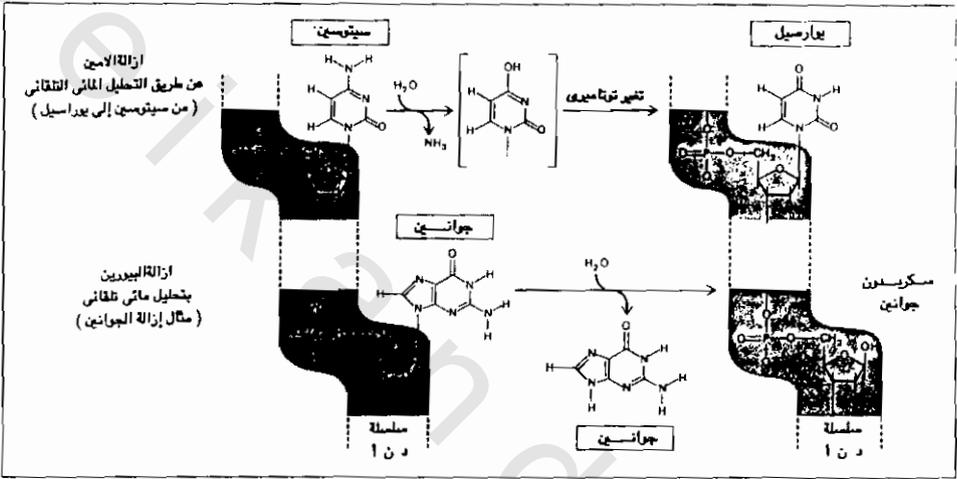
تتفاعل الكيماويات النشطة مع د. ن. أ DNA-reactive Chemicals مثل حامض النيتروز (HNO_2) أو ناقلات الألكيل أو المؤكسدة Alkylating Agents مثل ميثيل نيتروزو جوانيدين Methyl Nitrosoguanidine مباشرة مع د. ن. أ بحيث تؤثر على القواعد فتغيرها إلى تراكيب كيماوية جديدة. وهذه التراكيب الجديدة (القواعد الجديدة) تتزاوج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



الشكل (٥-٣): عملية إزالة مجموعة الأمين بالأكسدة في قواعد جزيء د. ن. أ بواسطة حامض النيتروز وتأثيرها على تزاوج القواعد:

- أ - يتحول الأدينين إلى الهيبيوكزانتين الذي يتزاوج مع السيتوسين بدلا من الثايمين.
- ب - يتحول السيتوسين إلى اليوراسيل الذي يرتبط بالأدينين بدلا من الجوانين.
- ج - يتحول الجوانين إلى الكزانتين الذي يستمر في الارتباط بالسيتوسين ولكن بسرابطين هيدروجينيتين فقط. لا يحتوى الثايمين (اليوراسيل) لجزيء د. ن. أ على مجموعة أمينو لذلك لا يحدث بهما تغير.

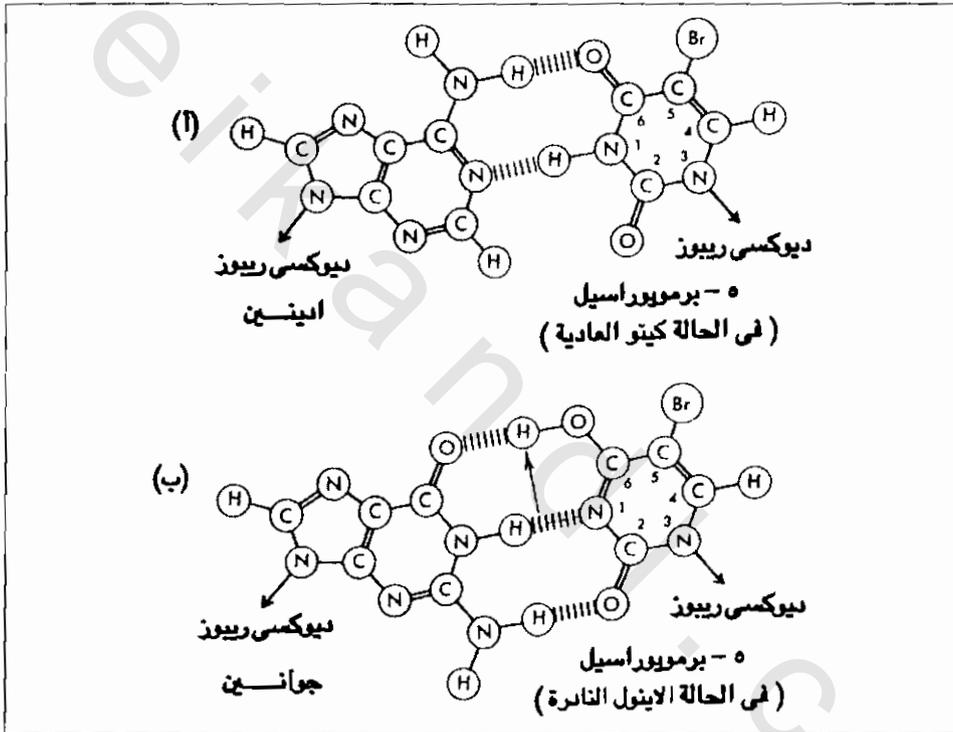
ألا أن بعض القواعد المشتقة لا يمكنها أن تتزاوج بالمرّة. ويؤدى التلف أحيانا إلى ازالة القاعدة نهائياً من الهيكل الأساسى لجزئ د. ن. أ كما فى الشكل (٤-٥) وفى هذه الحالة تنشأ الطفرة عندما تحاول ماكينة التناسخ اصلاح الضرر الذى تعرض له جزئ د. ن. أ بطرق خاصة بحيث تؤدى ميكانيكية الاصلاح نفسها إلى احداث طفرات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



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

توجد مجموعة أخرى من المطفرات تسمى مشابهاً للقواعد Base Analogs والتي يؤدى تشابهها مع القواعد الطبيعية الى اضافتها بالخطأ كما لو كانت نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات فى سلسلة د. ن. أ أثناء التناسخ الطبيعى. إلا أن تركيبها الشاذ يؤدى إلى تزواج 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 الأكسجين المتصلة بذرة الكربون رقم ٦ (الشكل ٥-٥) مما يؤدي إلى تزاوج البروموراسيل مع الجوانين.



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

- أ - فى الحالة الكيتو العادية وفى وجود ذرة هيدروجين فى الموقع (N) يرتبط البروموراسيل بالأدينين.
- ب- فى الحالة الاينول النادرة فإن التحرك التوتاميرى لذرة الهيدروجين هذه يحدد التزاوج النوعى مع الجوانين.

توجد مجموعة ثالثة من المطفرات الكيماوية تشمل مطفرات تحريك الاطار Frame Shift Mutagens مثل البروفلافين Proflavin الذي 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 المنبجعة إلى الخارج Looping-Out إما فى سلسلة د. ن. أ القالب أو السلسلة الجديدة أثناء عملية بناء الجزيء مما يؤدي إلى تثبيت العروات المنبجعة بحيث تتزايد فرصة حدوث طفرات فى المنطقة المزاحة.

ميكانيكيات اصلاح الأخطاء فى د. ن. أ:

يمكن للطفرة أن تستمر وتبقى عندما يكون التغير الوراثة الذى أحدثته نيس ضارا أو فى حالات نادرة عندما يكون مفيدا ولكن غالبية الطفرات تكون ضارة ومدمرة ولا تقوى الخلية على احتمالها ولذلك لابد من توفر ميكانيكيات نزيمة 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 يتزوج فى د. ن. أ مثل الثايمين مما يؤدي 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

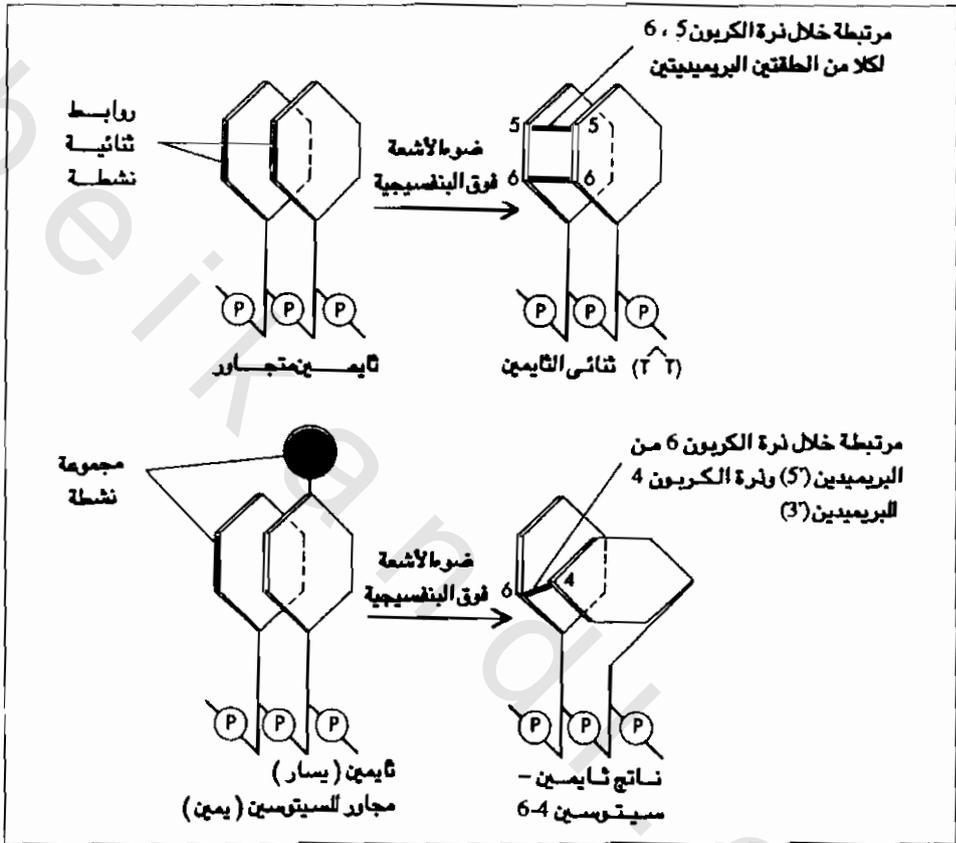
يوراسيل فى فترة حياة الانسان مما يعنى ارتفاع معدل الطفور إلى مستويات لااحتمل.

كما أن هناك نوع آخر من التغيرات أشد خطورة مثل ذلك الذى يودى 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 تزواج قواعد خاطئ. وفضلا عن ذلك فإن انكسار الهيكل الأساسى يجعل السلسلة غير صالحة للعمل كقالب.

من التغيرات النموذجية التى تمنع تزواج القواعد تكون ثنائى بيريميدينى Pyrimidine Dimer. وجد أن الأشعة فوق البنفسجية (200nm) تمتص بشدة بالقواعد ويتراتب على ذلك تفاعل كيمائى ضوئى Photochemical يودى إلى الاتحاد بين قاعدتي بيريميدين متجاورتين فى تراكيب غير قابله للتزواج مثل ثنائى الثايمين كما فى الشكل (5-6). 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 Xyroderna Pigmentosa الناتج عن خلل وراثى فى الانزيمات المسؤولة عن فك الثنائيات وغيرها من الأخطاء التى تحدث بفعل الأشعة فوق البنفسجية.

ويؤدي المكون فوق البنفسجي من أشعة الشمس الى حدوث نسبة عالية من موت وضمور خلايا الجلد ويتسبب في نمو خلايا سرطانية عديدة في الأفراد المصابين (الشكل ٥-٧).



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



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

إصلاح طفرات التعرض للأشعة فوق البنفسجية:

Photoreactivation Repair:

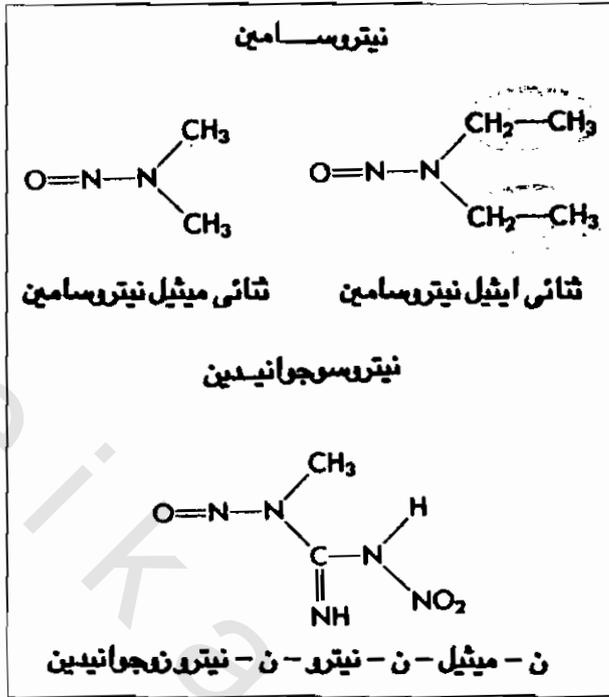
على الرغم من أن معظم التلف في جزيء د. ن. أ يكون خطيراً وغير
قابل للإصلاح إلا أنه يوجد نوعين شائعين من هذه الأضرار أو الأخطاء التي

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 كيمائى آخر مستخدما فى هذه الحالة الضوء العادى مما يؤدى إلى فك ارتباط الثنائيات وتحويلها إلى قواعد بيريميدينية 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 (PRE) Photoreactivation Enzymue.

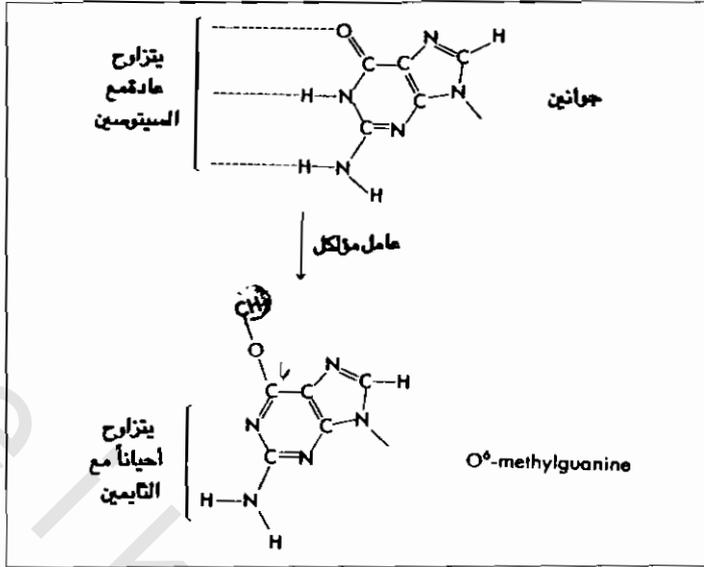
اصلاح طفرات اضافة الالكيل Alkylation Repair:

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 الكيمائيات المؤكدة نيتروزامين Nitrosamine والمطر الكيمائى الفعال ميثيل نيتروزوجوانيديين Methlyl- 1- Nitrosoguanidine (الشكل ٥-٨).



الشكل (٥-٨): بعض المطفرات المؤكدة تظهر مجموعات الألكيل النشطة مظلة

من أكثر القواعد حساسية لعملية نقل الألكيل قاعدة الجوانين التي تتعرض لنقل مجموعة ميثيل Methylation في ذرة الأوكسوجين المرتبطة بذرة الكربون رقم ٦ وينتج المركب O⁶-Methylguanine الذي يخطئ كثيراً في التزاوج بحيث يتزاوج مع الثايمين مما يؤدي إلى تغير الزوج GC إلى AT عند تناسخ د. ن. أ كما في الشكل (٥-٩). يلاحظ أنه رغم أن النتيجة واحدة إلا أن الاختلال الحادث هنا ينتج عن عملية Methylation في حين أن نفس النتيجة تحدث عندما يتم إزالة مجموعة الأمين Deamination من قاعدة السيتوسين (كما سبق الإشارة).



الشكل (٥-٩): تفاعل الجوانين بعامل مؤكل لتكوين O⁶-Methylguanine

تتم إزالة هذا الخطأ أو الضرر بفعل إنزيم O⁶-Methylguanine Methyltransferase الذي يتحكم في إنتاجه الجين (ada). يتعرف هذا الإنزيم على O⁶-Methylguanine في الحلزون ويقوم بإزالة مجموعة الميثيل عن طريق نقلها إلى أحد الأحماض الأمينية (Cysteine) الموجودة ضمن تركيب بروتينات الإنزيم نفسه. ومن المحتمل أن هذا الإنزيم ينشط أيضاً في إزالة مجاميع الميثيل من الهيكل الفوسفاتي لجزئ د. ن. أ. وتجدد الإشارة هنا إلى أن جزئ الإنزيم الذي يشترك في مثل هذا التفاعل لا يستعيد نشاطه في إزالة الميثيل مرة أخرى نظراً لبقاء مجموعة الميثيل في تركيبه نفسه بعد انتهاء التفاعل مما يعنى أنه يلزم استهلاك جزئ إنزيم 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 وهي تنتج من ارتفاع مقداره الف ضعف في محتوى الخلية من انزيم O⁶-Methylguanine Methyltransferase يصاحبه استحداث في إنزيم Glycosylase الذي يزيل القواعد المؤكلمة من الهيكل الأساسي لجزئ د. ن. أ. ويتم وقف استبداء كلا من الانزيمين بطفرات في 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 الذي يسمح بإصلاح معظم الأخطاء في 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 المكلمة لتجديد المنطقة التي حدث بها التلف. ينطبق هذا بصفة خاصة إذا اقتصر التلف على قاعدة واحدة في إحدى السلسلتين المتكاملتين.

توجد مسارات متعددة للإصلاح بالاستئصال Excision Repair أو الحذف التي يتم فيها إزالة قاعدة تالفة أو قطعة خاطئة من الهيكل الأساسي. تؤدي جميع هذه المسارات إلى نفس النواتج الوسطية حيث يحدث كسر أو فجوة في سلسلة أحادية من د. ن. أ في 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

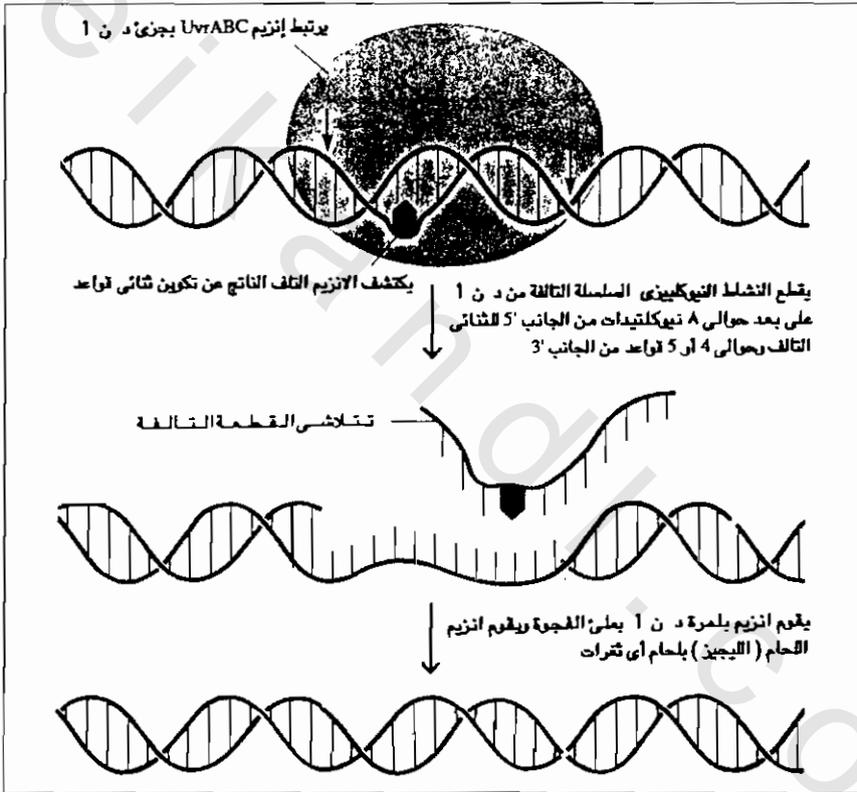
التالف معتمداً في ذلك على التتابع المقابل في السلسلة المكملة التي لم يلحقها أى ضرر.

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

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

في حالة الأخطاء الناتجة عن التعرض للأشعة فوق البنفسجية وجد أنه، إلى جانب الطفرات التي تحدث في الجين الخاص بإنزيم Photoreactivation Enzyme والتي تؤدي إلى تعطيل عملية الإصلاح في بكتريا القولون، أن الطفرات الحساسة للأشعة فوق البنفسجية (وبالتالى تفشل في إصلاح هذا التلف) تحدث في ثلاث مواقع وراثية uvrA, uvrB, uvr C وبعكس التنشيط الضوئى السابق الإشارة 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 في الحلزون المزدوج للجزيء.

تشفر هذه الجينات الثلاث لتحت وحدات Subunits منفصلة لإنزيم واحد وهو إنزيم *uvrABC* Endonuclease الذى يقوم بإزالة الجزء التالف من د. ن.أ عن طريق قطع السلسلة المحتوية على هذا التلف، ويحدث ذلك بأن يقوم الإنزيم بعمل قطع على جانبي الجزء التالف مما يؤدي إلى إزالة ١٢ قاعدة أوليجونيوكلتيديية محتوية على الجزء التالف ويتم ملئ الفجوة الناتجة بإنزيم البلمرة *DNA PolII* بإضافة نيوكليوتيدات مكملة لتلك الموجودة على السلسلة 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 *uvrABC*

اتضح حديثاً أن انزيم uvr ABC Endonuclease لا يتعرف على الجزء التالف مباشرة ولكنه يتعرف عليه من خلال الشكل غير الطبيعي 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 الأخرى من الحلزون. من الممكن أنه لكي تقترب المواقع النشطة للانزيم بالحلزون فإنه يقوم باحاطة الحلزون لكى يلمس الجانب الاخر مما يؤدي إلى أن تكون المسافة ١٢ قاعدة.

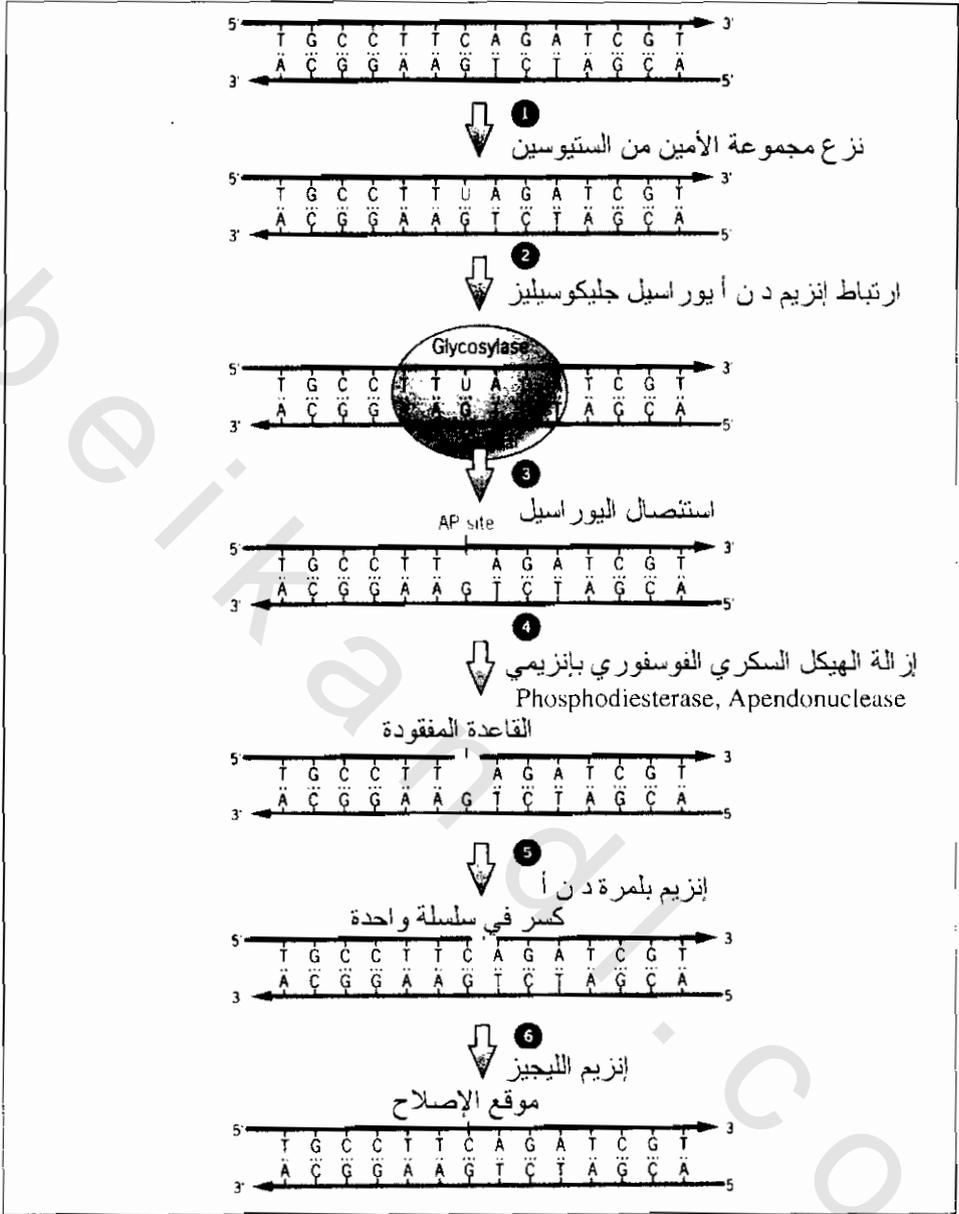
دور انزيمات الجليكوسيليز DNA Glycosylases فى الاصلاح:

(أ) استئصال قاعدة واحدة: Base Excision Repair

توجد طريقة أخرى لإزالة القواعد التالفة حيث تقوم انزيمات د. ن. أ الجليكوسيليز 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 الفوسفوستيرية الثنائية فى الهيكل الأساسى تاركاً نهاية 3OH يبدأ منها انزيم البلمرة DNA PolI فى البناء لتعويض النيوكلييدات المفقودة بالإضافة إلى بعض النيوكلييدات 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

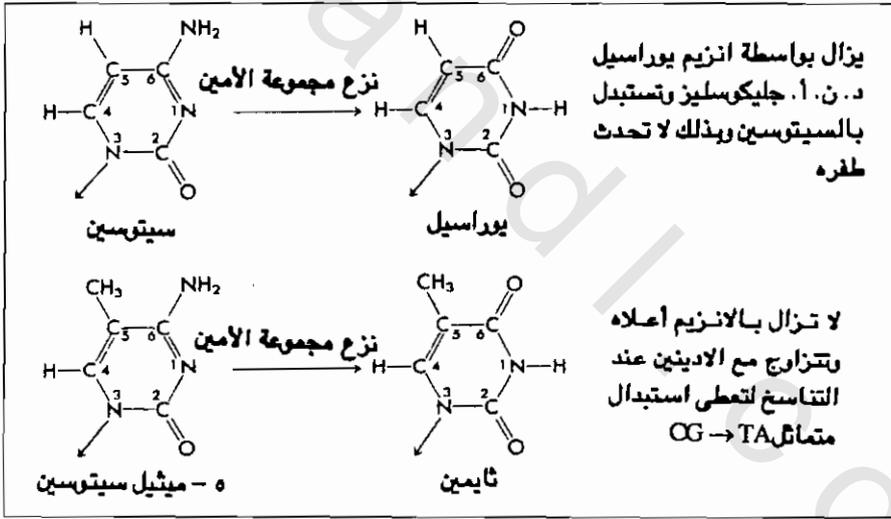
بتصحيح الخطأ الناشئ عن عدم الثبات الطبيعي للسيتوسين حيث أنه يحدث أحياناً عملية نزع تلقائي لمجموعة الأمين من السيتوسين بمعدل منخفض جداً ليعطى يوراسيل. يتعرف الجليكوسيليز على اليوراسيل ويزيله مما يتيح الفرصة لإحلال السيتوسين بإنزيم البلمرة كما في الشكل (٥-١١).



الشكل (٥-١١): إصلاح جزئ دن ايمسار إستئصال القاعدة الواحدة . يمكن بدء الإصلاح باستخدام أى من إنزيمات DNAGlycosylase المختلفة فى المثال المبين يبدأ uracil DNA glycosylase عملية الإصلاح

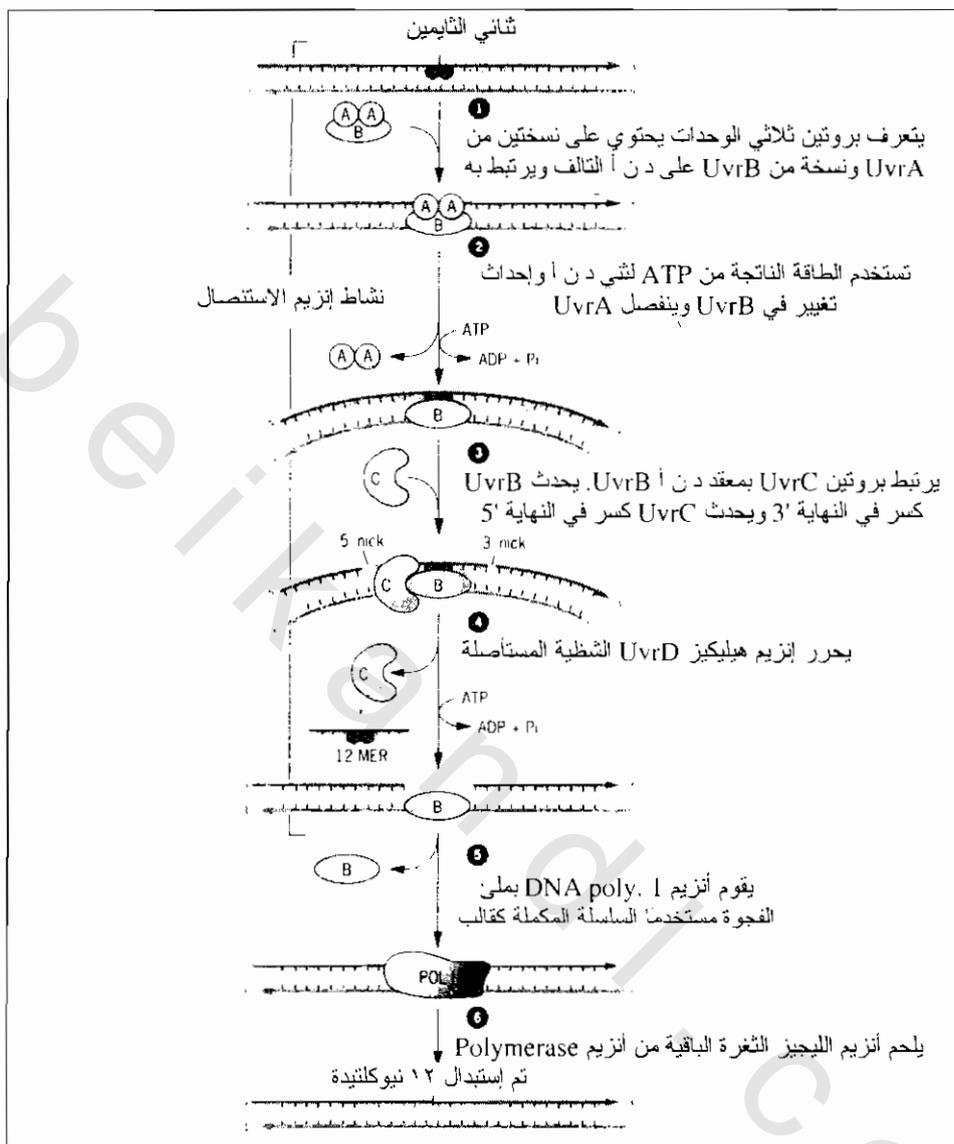
(ب) استئصال نيوكليتيده Nucleotide Excision Repair:

أن النظام الإصلاحي السابق يخفق أو يضعف بشكل ملحوظ إذا كان السيتوسين مميثل على ذرة الكربون رقم ٥ كما يحدث مثلاً في التتابعات المحمية من تأثير انزيمات القطع المحددة (Restriction Endonucleases) (كما سيأتي 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 أي انزيم آخر ولكنها تبقى وتتزاوج مع الأدينين في الجيل التالي للخلية مما يؤدي إلى حدوث الطفرة واستمرارها وعلى ذلك فإن 5-Methylcytosine يعتبر بقعة ساخنة للطفرة التلقائية (الشكل ٥-١٢).



الشكل (٥-١٢): الأساس الجزيئي للبقعة الساخنة للقاعدة O-ميثل سيتوسين

مما يستدعى اللجوء الى ميكانيكية أكثر شدة بحيث تؤدي الى استئصال ليس القاعدة المعيبة فقط بل استئصال الهيكل الفوسفوسكري معها بأكمله. وفي هذا النظام يقوم أنزيم فريد في نشاط الهدم الطرفي الاستئصالي يسمى Excinuclease بأحداث قطع على جانبي النيوكلييدة المحتويه على القاعدة المعيبة ويتطلب لنشاطه نواتج ثلاث جينات *uvrA*, *uvrB*, *uvrC* بالإضافة إلى نشاط DNA Helicase II (*uvrD*) يبلغ طول د. ن.أ. المستقطع على جانبي القاعدة المراد اصلاحها حوالي ١٢ نيوكليوتيدة ويقوم أنزيم *Pol I* ببناء الفجوة بلية أنزيم ليجيز الذي يقوم بعمل اللحام كما في الشكل (٥-١٣).



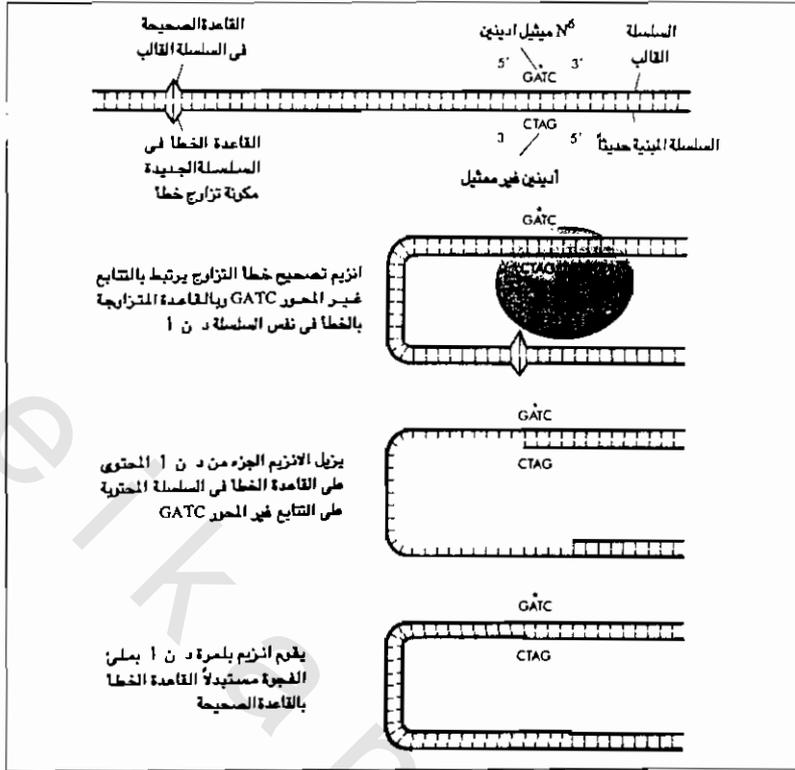
الشكل (٥-١٣): إصلاح دن أ بمسار استئصال النيوكلييدة الواحدة في بكتريا القولون . يتطلب نشاط إنزيم Excision nuclease وجود نواتج ثلاث جينات UvrA و UvrB و UvrC يحدث استئصال النيوكلييدة في الإنسان بمسار مشابه فيما عدا أن بروتينات أخرى عديدة تشارك في العملية كما أنه يتم استئصال أوليجونوكليوتيد طولها ٢٩ نيوكلييدة

تصحيح أخطاء عدم المطابقة Mismatch repair:

أن بعض حالات أخطاء التزاوج بين القواعد قد لا يتم اكتشافها بميكانيكية المراجعة Proofreading التي تقوم بها انزيمات البلمرة DNA Polymerase III إذا أن هناك حد أقصى لما يمكن أن تقوم به هذه الانزيمات في مجال التصحيح حيث يقدر معدل الخطا الطبيعي لها بحوالي 10^{-10} أى زوج قواعد خطأ لا يكتشف لكل 10^9 زوج متناسخ. لذلك اكتشف في بكتريا القولون أنزيم آخر 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 والذي ينتج بواسطة الجينات mut S, mut L, mut H. يقوم هذا الإنزيم بعملية مسح Scanning واعدة مراجعة لجزئ د. ن. أ حديث التناسخ ليتعرف على أزواج القواعد غير الصحيحة، ويقوم بإزالة منطقة أحادية السلسلة تحتوى على النيوكلييدة الخطأ مما يعطى الفرصة لإنزيم البلمرة لإدخال (أو إضافة) القاعدة الصحيحة وملئ الفجوة الناتجة. ولكن برزت مشكلة هامة وهى التعرف على أى من القاعدتين فى الزوج النيوكلييتيدى هى الخطأ حيث أن كلاهما مكونان طبيعيين لجزئ د. ن. أ وإذا أزيلت إحدى القاعدتين من هذا الزوج عشوائياً فإن معدل احتمال أن تزال القاعدة الصحيحة بدلاً من الخطأ يصل إلى ٥٠% وبالتالي تكون الطفرة قد استقرت بدلاً من تصحيحها وإزالتها. وللتغلب على هذه المشكلة تبين وجود إشارة خاصة محكومة بتوقيت محدد تقوم بتوجيه عملية إزالة التزاوج الخطأ لتعمل على السلسلة حديثة البناء فقط بحيث يزيل الإنزيم الجزء من د. ن. أ المحتوى على القاعدة غير الصحيحة وقد يزيل معها عشرات النيوكلييدات الصحيحة وذلك من السلسلة المحتوية على التابع النوعى GATC المجاور لهذه

القاعدة المطلوب إزالتها كما في الشكل (٥-١٤) وعامل الوقت له أهمية بالغة في توجيه نشاط انزيم التصحيح للسلسلة المطلوبة حيث أن الأنزيم لا يستطيع التعرف على التتابع الكشاف إذا كان الأدينين في هذا التتابع القصير قد تمت ميثلته إلى N^6 Methyladenine بانزيم الميثلة Adenine Methylase المشفر بالجين dam، قبل وصول انزيم التصحيح إليه وبالتالي لا يمكن إزالة القاعدة غير الصحيحة. والمدهش هنا أن معظم تتابعات GATC في 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 لكي يرتبط انزيم التصحيح بهذا التتابع ولذلك فإن الإنزيم لا بد أن يتجه إلى سلسلة د. ن. أ الجديدة و التي تم بناؤها للتو والتي لم يتحور فيها التتابع الكشاف بعد باضافة مجموعة الميثيل إلى الأدينين بدلاً من التوجه إلى السلسلة القالب التي يكون فيها الميثلة قد تمت منذ فترة.

يتعرف انزيم التصحيح هنا ليس فقط على القاعدة الخطأ ولكنه يتعرف أيضاً على بعض الاضافات أو الاقتضابات وبالتالي 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 في بكتريا القولون باستبدال قاعدة خاطئة ومتزاوجة بالخطأ في الحلزون المزدوج لجزء د. ن. أ.

تصحيح أخطاء ما بعد التناسخ : Post Replication Repair

الإصلاح باتحادات جديدة : Recombinational Repair

عرفنا أن الإصلاح الاستتصالي Excision Repair يستخدم السلسلة المكتملة 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

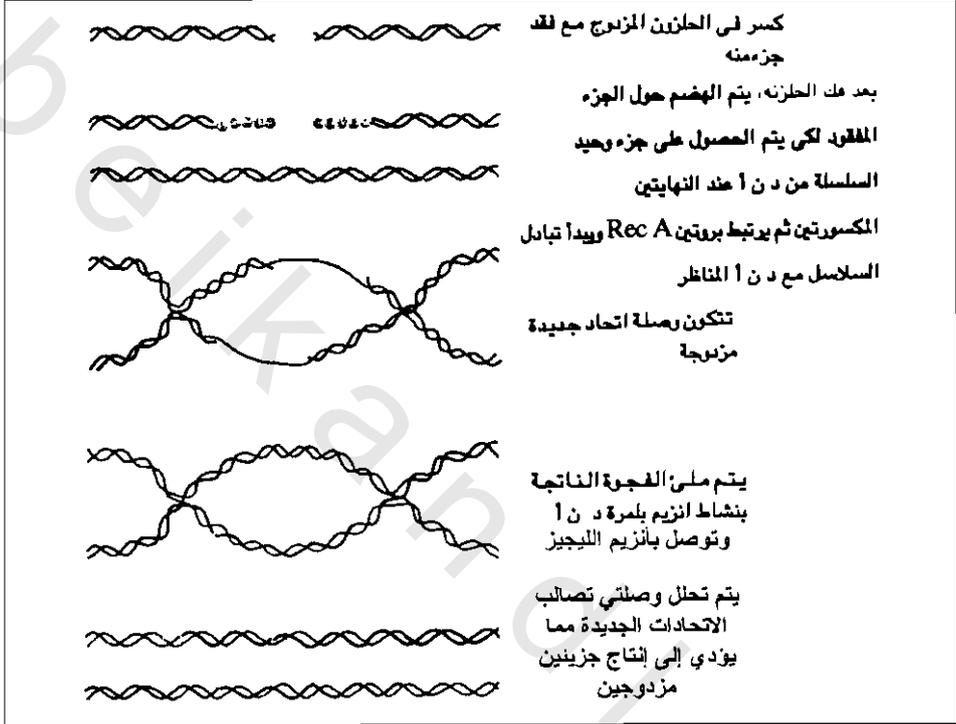
مع منطقة مشوهة أو تالفة (مثل ثنائي البيريميدين) بحيث تتقطع العلاقة بين السلسلتين في منطقة التشوه قبل أن يتمكن الإصلاح الاستتصالي من الوصول إليها. بالإضافة إلى ذلك إذا كانت كلتا القاعدتين في الزوج النيوكليدي قد تغيرتا كأن ترتبطان تصاليباً Crosslinked بمادة كيميائية مثل العقار المسرطن Mitomycin، فإن أى منهما لا تستطيع 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 يؤدي إلى صعوبة إصلاح المنطقة التالفة مباشرة بالدقة المطلوبة.

في جميع هذه الحالات نجد أن جميع المعلومات (التتابعات النيوكليدية) الأصلية والمكتملة قد فقدت في مكان التلف ولا يمكن استرجاعها إلا عن طريق البحث عن جزء آخر مناظر في جزيء د. ن. أ منفصل في الخلية نفسها ولكنه متطابق مع الجزء التالف. يسمى ذلك بالإصلاح التالي لعملية الاتحادات الجديدة Recombinational Repair، حيث يتوفر دائماً مصدر مناسب لاحتياطي د. ن. أ في الخلية. فمثلاً عندما تترك منطقة تالفة في قطعة مفردة من د. ن. أ عند مرور شوكة التناسخ فإن د. ن. أ البنوي الآخر سيحمل نفس التتابع. وإذا حدث تلف لكلا السلسلتين في منطقة غير متناسخة، فإن البكتريا النشطة في النمو يكون لديها عادة نسخة إضافية أو أكثر من كروموسوماتها يمكن استخدامها في هذه الحالة. وبديهي أن خلايا مميزة النواة ثنائية المجموعة الكروموسومية سيتوفر لديها نسخ إضافية من د. ن. أ لاستخدامه في عملية مماثلة للإصلاح.

وجد أن العنصر الأساسي في عملية التصحيح بالاتحادات الجديدة عبارة عن انزيم يقوم بإعادة الاتحاد Annealing بين تتابعات كل من جانبي المنطقة

الثالفة وتلك المكملة لها في جزئ د. ن. أ السليم وبذلك يحدث التطابق الحرج الذي يتعرف على الجزء الذي يحمل المعلومات الناقصة. وجد أن هذا النشاط الانزيمي يتم في بكتريا القولون عن طريق RecA protein كما في الشكل رقم (١٥-٥).



الشكل (١٥-٥): نموذج لإصلاح كسر في الخزون المزوج لجزئ د. ن. أ

بواسطة نشاط بروتين Rec A

دور بروتينات الانقاذ S.O.S. فى إصلاح د. ن. أ (الإصلاح القابل للخطأ Error-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 مؤللك Alkylated بطريقة غير عادية. ولكن أهم وأكبر مجموعة يتم استبدالها أو "استفارها" تتكون من مجموعة من الجينات يطلق عليها جينات الانقاذ S.O.S. والتي يتم استبدالها عند حدوث تدمير شديد فى جزئ د. ن. أ. أ يؤدي إلى إيقاف 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 يؤدي إلى تكوين فجوة فى د. ن. أ والتي لا يلبث أن يرتبط بها RecA Protein. فضلاً عن بدء التبادل بين سلاسل د. ن. أ عن طريق الإصلاح بالاتحادات الجديدة فإن الارتباط الحادث بين RecA Protein وبين سلسلة مفردة من د. ن. أ يؤدي إلى حفز RecA Protein لى 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 إصلاح د. ن. أ بكل من طريقة الاتحادات الجديدة بالإضافة الى استبداء نشاط حوالى ١٥ جين من جينات الانقاذ S.O.S نتيجة لتخليصه لها من

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

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

اسم الجين	دورة فى اصلاح د. ن. أ
أولاً:	جينات معروفة الوظيفة
uvr A uvr B uvr C	تشفر لانزيم الاستئصال Excision Endonuclease
umu D umu C	يشفران للبروتين المطلوب لاصلاح د. ن. أ الناتج من عملية الاصلاح القابل للخطأ Error-Prone Repair ولمعظم مسببات الطفرور.
sul A	يشفر للبروتين المثبط لانقسام الخلية (ربما لتعطى فرصة زمنية لاصلاح د. ن. أ)
ثانياً:	جينات داخلية 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
ثالثاً:	جينات غير معلومة الوظيفة
din A din B din D din F	

وعلى الرغم من أنه معروف الآن كيف أن مشابهاة القواعد وبعض القواعد المُحوّرة (المُعدّلة) تسبب طفرات من خلال التزاوج غير الصحيح، إلا أنه لم يتضح بعد كيف تنشأ الطفرات عندما تكون القواعد مشوهة وتالفة جداً لدرجة أنها تُفقد القدرة على التزاوج تماماً. ولكن هذه الحالة هي أهم العمليات على الإطلاق لأن معظم المطفرات الطبيعية والتالي معظم المسرطنات Carcenogens تعمل على أن تظل الخلايا في إنتاج سلاسل د. ن. أ بالرغم من غياب القالب بما يحتويه من معلومات وراثية لازمة للتناسخ في مواقع التلف.

وفي محاولة شبه يائسة من الخلية لإصلاح هذه الأخطاء الكبيرة التي نتجت عن تلف كبير في سلسلتى د. ن. أ الأبوية وعدم وجود قالب سليم للتناسخ فإنها تلجأ إلى تنشيط ما يسمى SOS Repair System أى الإصلاح بإنقاذ ما يمكن إنقاذه للهروب من التأثيرات المميته الناتجة من هذا التلف. وفي هذا المسار الإنقاذى يؤدي نشاط بروتينات الإنقاذ 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 أخطاء جسيمة تؤدي إلى زيادة كبيرة فى معدل الطفور ولذلك سمي هذا النوع من الإصلاح- الإصلاح المصحوب (القابل) بالخطأ Error Prone Repair.

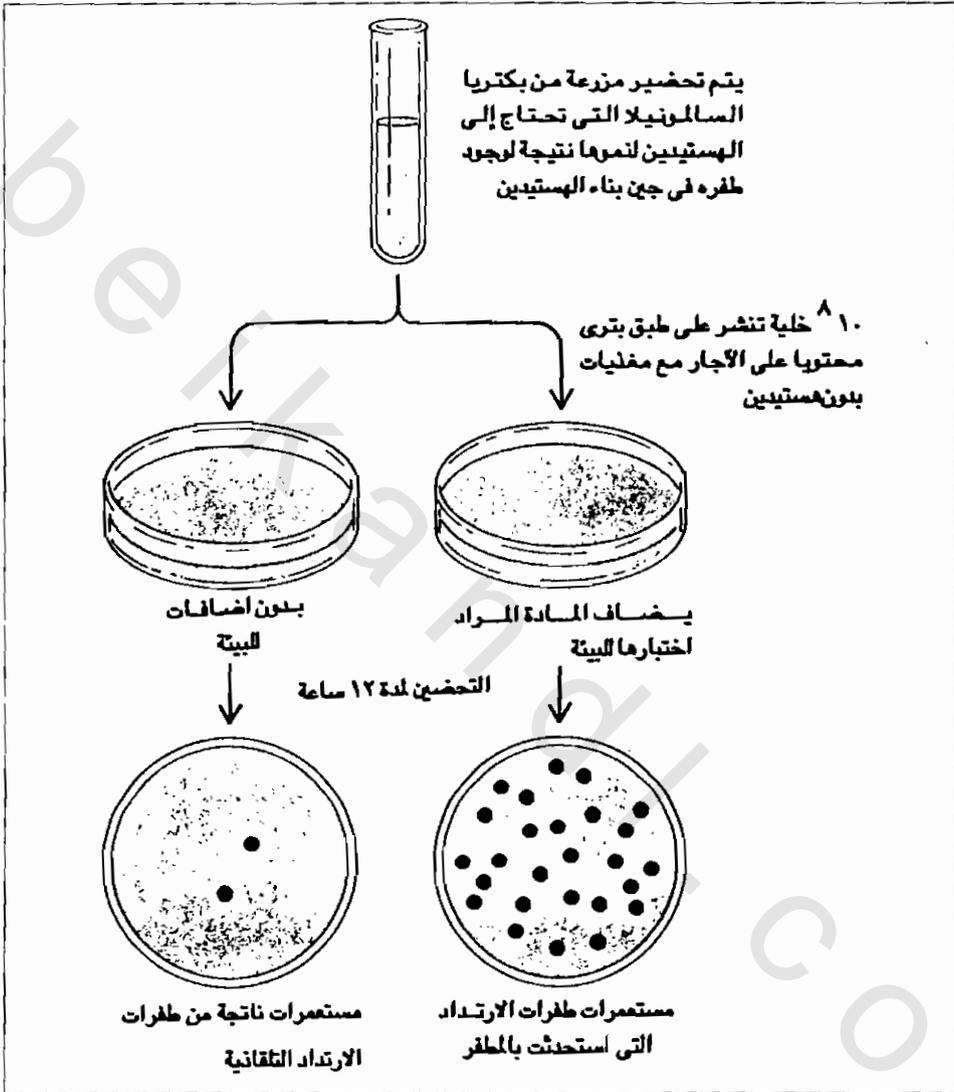
المطفرات الطبيعية وطرق التعرف عليها:

من المهم التعرف على المطفرات وتفاذى 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 السلالة تحتوى على بلازميد باستطاعته التعبير بكفاءة عن صور مظهرية مغايرة بحكمها جينين umu C, umu D والتي 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 في 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 الطفرور الرجعي إلى الطراز الوحشي في سلالة من بكتريا السالمونيلا المعدلة وراثيا

تبين من الدراسات على الأمراض الوبائية بأن تدخين السجائر من أهم المواد المسرطنة التي 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 تأتي من الإغذية وحتى في الغذاء العادي 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 الذي يتفاعل مع قواعد د. ن. أ وهناك مصدر غذائي آخر يمكن أن يؤدي إلى الطفور بل وإلى السرطان وهي الدهون التي يتم تمثيلها إلى مؤكسدات نشطة في الكبد إلا أن الأمل يكمن في تفادي هذه المخاطر المحتملة عن طريق بعض مضادات التأكسد الطبيعية Antioxidants مثل الجلوتاثيون Glutathione.