الجزء الأول:الطفرات الجينية

Gene Mutations

مقدمة:

الوظيفة الأساسية للدنا (DNA) هي تخزين المعلومات لتصنيع البروتينات الخلوية. والسمة الأساسية لعملية التعبير الجيني (Gene expression)

هي أن الدنا نفسه لا يتغير عادة، وهذا يسمح له بأن يعمل كوحدة تخزين دائمة.

على أية حال، تحدث الطفرات في حالات نادرة نسبياً.

كلمة طفرة تعني تغير متوارث في المادة الوراثية. وهذا يعني أن تركيب الدنا قد تغير بشكل دائم وأن هذا التغير يستطيع أن يمرر من الخلية الأصلية إلى خلاياها البنوية خلال الانقسام الخلوي. وإن حدث هذا التغير في الخلايا الجنسية، فإنه يمكن وأن يمرر من الآباء إلى نسلهم.

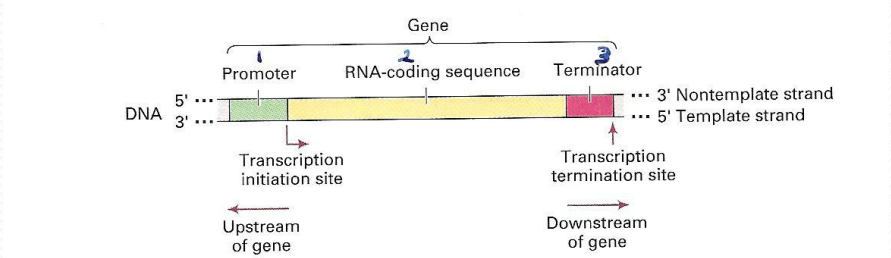
يعتبر موضوع الطفرات من المواضيع المهمة لكل فروع علم الوراثة بما فيها الوراثة الجزيئية و المندلية ووراثة العشائر. لأن الطفرات هي المسؤولة عن التباين الأليلي (allelic variation) الذي يحدد الاختلافات المظهرية المختلفة بين أفراد النوع الواحد.

من ناحية التأثيرات المظهرية للطفرات، الطفرات إما أن تكون مفيدة أو متعادلة أو ضارة:

الجانب الإيجابي: الطفرات ضرورية لاستمرار الحياة ← التباين الذي يساعد الأنواع على التغير والتأقلم لبيئاتها. والطفرات هي أساس التغير التطوري للأنواع (evolutionary change).

الجانب السلبي: الطفرات الجديدة تكون على الأرجح ضارة بالأفراد. فالجينات داخل كل نوع تطورت وبشكل يمكنها من العمل وبطريقة دقيقة. ولهذه الجينات مبدئات promoters / تتابعات مشفرة / منهيات terminators وخلاف ذلك، وكلها تعمل في تناسق كي يتم تعبير هذه الجينات وبشكل دقيق. الشكل (١).

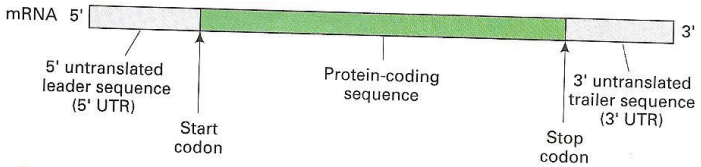
الطفرات العشوائية (random mut.) من المرجح أكثر أنها تعمل على تشويش هذه التتابعات بدلاً من تحسين أدائها. فعلى سبيل المثال، العديد من الأمراض الوراثية في الانسان تنشأ من جينات طافرة. هذا بالاضافة إلى أن أمراضاً مثل سرطان الجلد والرئة (مثلاً) يمكن وأن تنشأ من عوامل بيئية معروف أنها تسبب طفرات في الدنا (DNA). لهذه الأسباب وأسباب عديدة أخرى ، فإن فهم الطبيعة الجزيئية للطفرات يعتبر من المواضيع المهمة في علم الوراثة الحديث.



م - تركيب الجين من ناحية استنساخية (يقسم الى ثلاث مناطق ١ - ٣)

~ FIGURE 13.8

General structure of mature, biologically active mRNA as found in both prokaryotic and eukaryotic cells.



ب- التركيب العام للـ mRNA الناضج النشط حيويا في بدائية وحقيقية النوى

الشكل (١)

الأنواع الرئيسية للطفرات وخصائصها المميزة:

يوضح الجدول رقم (١) الأنواع الرئيسية للطفرات

الأنواع الرئيسية من الطفرات وخصائصها المميزة

Table 7.1

Major types of mutations and their distinguishing features

الجدول (١)

Basis of classification	Major types of mutations	Major features
1- Origin	Spontaneous	Occurs in absence of known mutagen
	Induced	Occurs in presence of known mutagen
2- Cell type	Somatic	Occurs in nonreproductive cells
	Germ-line	Occurs in reproductive cells
3- Expression	Conditional	Expressed only under restrictive conditions (such as high temperature)
	Unconditional	Expressed under permissive conditions as well as restrictive conditions
4- Effect on function	Loss-of-function (knockout, null)	Eliminates normal function
	Hypomorphic (leaky)	Reduces normal function
	Hypermorphic	Increases normal function
	Gain-of-function (ectopic expression)	Expressed at incorrect time or in inappropriate cell types
5- Molecular change	Base substitution	One base pair in duplex DNA replaced with a different base pair
	Transition	Pyrimidine (T or C) to pyrimidine, or purine (A or G) to purine
	Transversion	Pyrimidine (T or C) to purine, or purine (A or G) to pyrimidine
	Insertion	One or more extra nucleotides present
	Deletion	One or more missing nucleotides
6- Effect on translation	Synonymous (silent)	No change in amino acid encoded
	Missense (nonsynonymous)	Change in amino acid encoded
	Nonsense (termination)	Creates translational termination codon (UAA, UAG, or UGA)
	Frameshift	Shifts triplet reading of codons out of correct phase

من هذا الجدول، يتضح أن الفئات من ١ ـ ٥ تلائم أي نوع من الطفرات، بينما تلائم الفئة السادسة تلك الطفرات التي تحدث فقط في المناطق المشفرة للبروتينات من الدنا.

١ـ معظم الطفرات التلقائية (Spontaueous mut.)أحداث عشوائية إحصائيا غير قابلة للتنبؤ بها. ومع ذلك لكل جين معدل تطفر (mutation rate) مميز يُقاس كاحتمال خضوع تتابع دنا معين للتغير في كل جيل.

معدلات التطفر التلقائية يمكن زيادتها من خلال المعاملة بالعوامل الكيميائية المطفرة أو الأشعة ← الطفرات المستحدثة Induced mut.

٢ـ الطفرات الجنسية (Germ-line mut.) :هي تلك الطفرات التي تنشأ في الخلايا التي تنتج في نهاية الأمشاج (الحيوانات المنوية والبويضات) / تورث

الطفرات الجسدية (Somatic mut.): هي تلك الطفرات التي تنشأ في خلايا لا تنتج في النهاية الأمشاج. وفي الكائنات الحية متعددة الخلايا، فإن مثل هذه الطفرات تؤدي إلى كائنات خليطة (Mosaic) وراثياً تحتوي على أنسجة طبيعية وأخرى طافرة/لا تورث في الحيوانات. الشكل (٢).

في النباتات العليا: يمكن إكثار هذه الطفرات غالباً من خلال الوسائل الخضرية (التطعيم Grafting مثلاً).

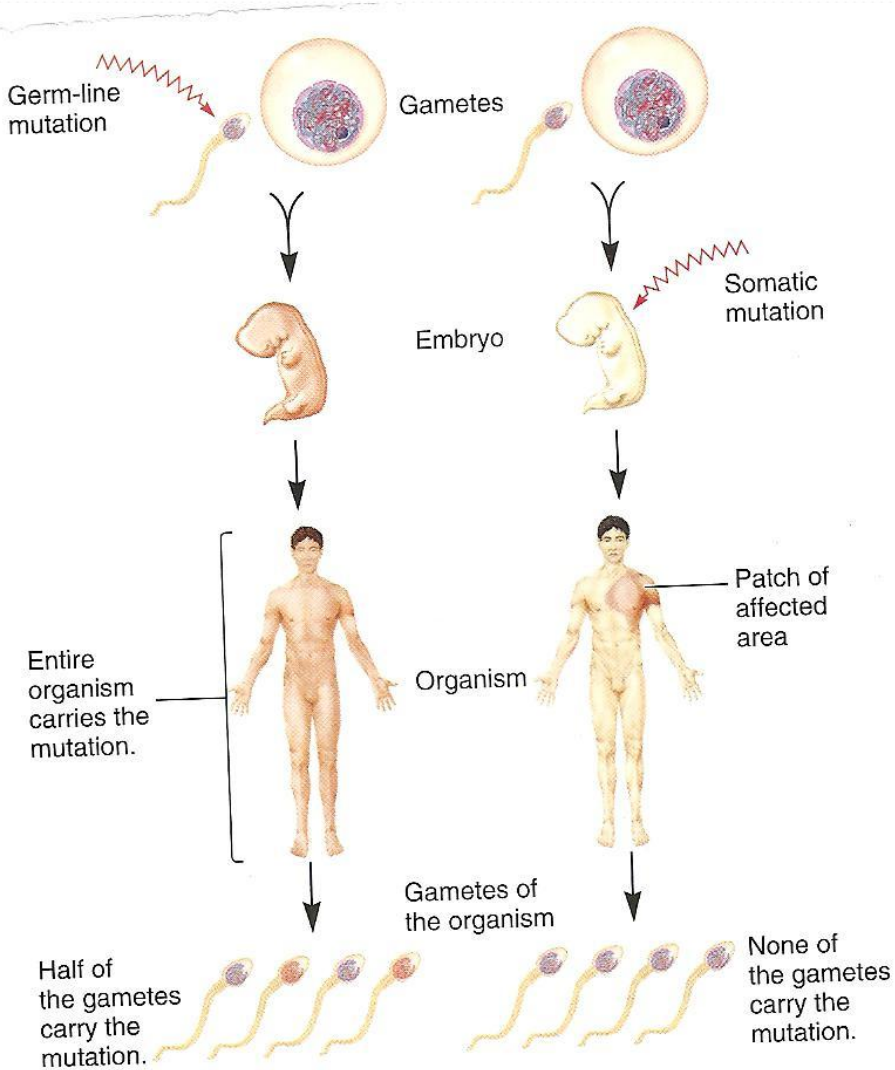


FIGURE 16.4 The effects of germ-line versus somatic mutations.

الشكل (٢)

٣- طفرات ظرفية. Conditional mut ⟵ هي تلك الطفرات التي تؤدي إلى تغيرات في الشكل المظهري (Phenotype) تحت ظروف مقيدة (Restrictive)، لكنها لا تؤدي إلى ذلك تحت ظروف مجيزة (Permissive).

مثالها: الطفرات الحساسه لدرجة الحرارة Temp. sensitive mut.

تعبير هذه الطفرات يعتمد على درجة الحرارة:

ففي الدروسفيلا مثلاً: الظروف المقيدة ↑ ٢٩°م ⟵ طافر

الظروف المجيزة أقل من هذه الدرجة (١٨°م مثلاً)

⟵ شكل طبيعي أو قريب من الطبيعي.

العكس في Cold-sensitive mut.

البروتينات المحتوية على احلالات في الأحماض الأمينية غالباً ماتكون حساسه لدرجة الحرارة

البروتين← ظروف مجيزة← انثناء وشكل ثلاثي نشط وطبيعي تقريباً← شكل طبيعي

البروتين← ظروف مقيدة ← انثناء وشكل ثلاثي غير نشط ← شكل طافر (غير طبيعي)

مثال للتحسس لدرجة الحرارة: القطة السيامية Sianese cat الشكل (٣).

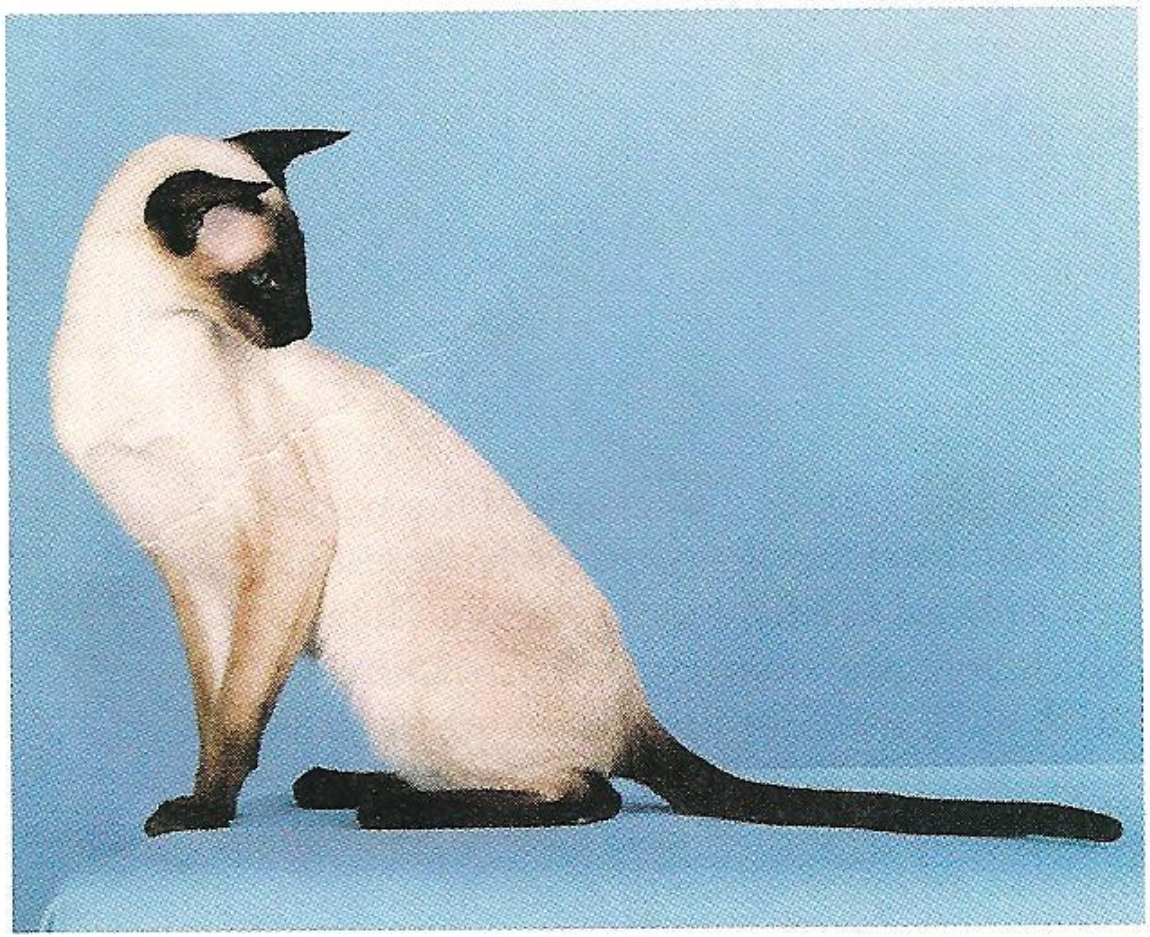


Figure 7.1 A Siamese cat showing the characteristic pattern of pigment deposition. [Courtesy of Chanon.]

الشكل (٣)

٤- الطفرات على أساس تأثيرها على وظيفة الجين:

أ- طفرات مفقدة للوظيفة: Loss-of-function mut.

طفرات ← كبح كامل للجين أو ناتج جيني غير فعال بالكامل / غالباً متنحية

مثالها: انتقاص كل الجين أو جزء منه / استبدال في الأحماض الأمينية ← بروتين غير نشط.

ب- طفرات hypomorphic mut. (Leaky mut)

تغيرات تؤدي إلى خفض مستوى تعبير الجين أو خفض نشاط الناتج الجيني/غالباً متنحية.

مثالها : احلال نيوكليوتيدي ← ↓ مستوى الاستنساخ

احلال أحماض أمينية ← التأثير على وظيفة البروتين

لماذا Leaky؟ لأن مستوى تعبير الجين أو نشاط البروتين يتباين من فرد لآخر.

جـ - طفرات hypermorphic mut.

تغيرات تؤدي إلى زيادة مستوى التعبير الجيني مقارنة بالحالة البرية، والسبب وببساطة هو أن الطفرة تغير من تنظيم الجين← انتاج أكثر من ناتجه.

د- طفرات مكسبة للوظيفة Gain-of-function mut.

تغير من عمل الجين نوعياً (Qualitatively)

جين غير نشط ← طفرة مكسبة للوظيفة جين نشط في نوع من الخلايا أو الأنسجة التي لا يكون فيها هذا الجين نشطاً عادة أو في زمن لا يكون فيه هذا الجين نشطاً خلال التكوين.

تعبير الجين البري في نسيج أو موضع غير طبيعي له تعبير ← Ectopic Expression

٥- التغير الجزيئي: Moleculor change

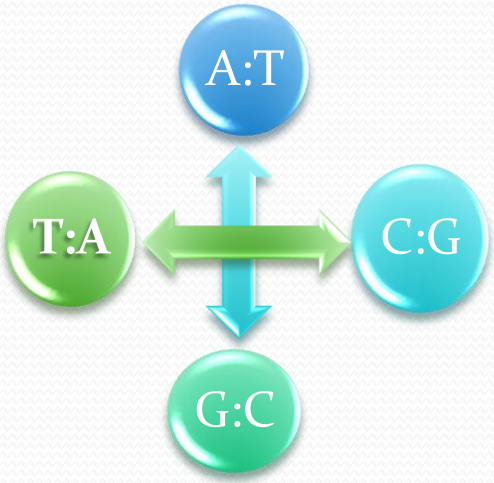
تنشأ الطفرات من تغيرات (احلالات) في تتابع الدنا أو من انتقاصات أو إضافات في هذا التتابع أو إعادة ترتيب (Rearrangement) في تتابعات دنا الجينوم (انحرافات كرموسومية تركيبية) أو زيادة أو نقصان في عدد الكرموسومات (انحرافات كرموسومية عددية).

أ- استبدالات أو احلالات قاعدية Base substitutions

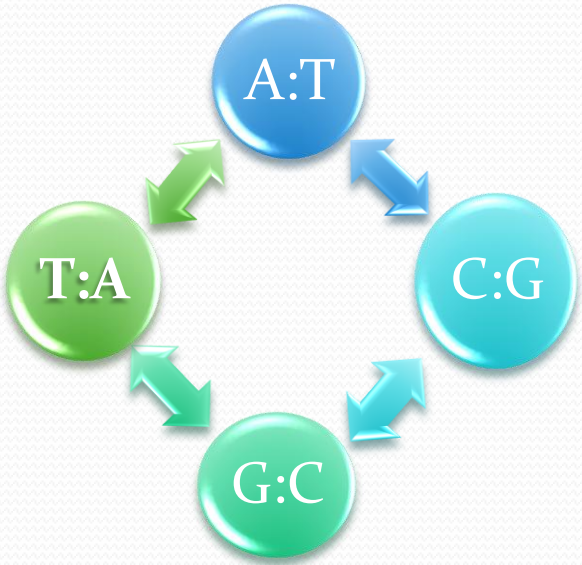
- أبسط أنواع الطفرات
- هناك نوعان منها:

١- Transition (Pyr $\rightleftarrows$ Pyr أو Pur $\rightleftarrows$ Pur)

ومثالها:



٢- Transversion (Pyr $\rightleftarrows$ Pur)



ب- إضافات أو انتقاصات لأزواج القواعد Base- pair insertions or Deletions { indel (insertion-deletion) mutatons}

- أبسطها إضافة أو انتقاص زوج قاعدي واحد

قد تكون الإضافة أو الانتقاص لأكثر من زوج قاعدي واحد في الوقت نفسه.

جـ- طفرات كابتة: Suppressors=suppressor mut.

هي طفرات في مواقع جينية معينة تكبت التأثيرات المظهرية لطفرات في مواقع جينية أخرى.

فمثلاً: طفرة (١) في كائن حي ينمو طبيعياً ← كائن حي بطيء النمو.

طفرة (٢) في الكائن الحي نفسه في موقع آخر ← كائن حي ينمو طبيعيا.

∴ الطفرة الكابتة تعمل على كبت التأثيرات المظهرية لطفرة أخرى/لا تؤدي إلى ارتداد الطفرة الأولى إلى حالتها الطبيعية ولكنها تمحي (تعادل) تأثيرات الطفرة الأولى.

ما الفرق بين الطفرة الكابتة والطفرة المرتدة؟

الطفرة الكابتة تحدث في موقع آخر من الدنا مختلف عن موقع الطفرة الأولى.

هناك نوعان من الطفرات الكابتة:

١- طفرات كابتة داخل الجين نفسه: Intragenic supp.

- موقع الطفرة الثانية (الكابتة) يوجد داخل الجين نفسه الذي حدثت فيه الطفرة الأولى لكن في موقع آخر منه.
- غالباً ما تتضمن تغير في تركيب البروتين يعادل العيب المستحدث في تركيب البروتين الذي سببته الطفرة الأولى.
- يتم عزل هذا النوع من الطفرات للحصول على معلومات تتضمن تركيب ووظيفة بروتين معين. راجع الجدول (٢).

Example of an Intragenic Suppressor Mutation Altering a Nucleotide in the Same Codon as the Original Mutation

	DNA Sequence	mRNA Codon Specified	Amino Acid Coded for
Wild-type condition	5'-CGT-3' 3'-GCA-5'	5'-CGU-3'	Arg
Original mutation	5'-AGT-3' 3'-TCA-5'	5'-AGU-3'	Ser
After suppressor mutation	5'-AGA-3' 3'-TCT-5'	5'-AGA-3'	Arg

الجدول (٢)

٢- طفرات كابتة في جين آخر: Intergenic supp.

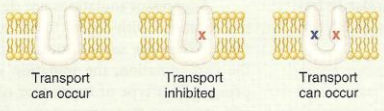
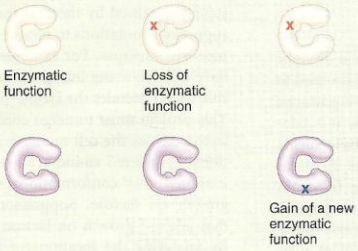
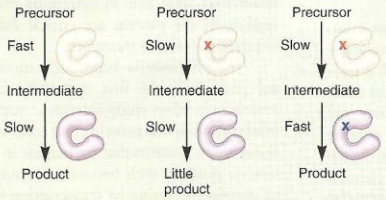
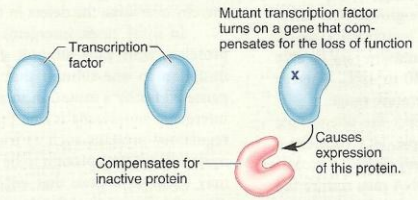
- موقع الطفرة الكابتة يوجد في جين آخر غير جين الطفرة الأولى.
- يتم عزل هذا النوع من الطفرات للحصول على معلومات تتضمن الوظائف المتشابهة أو الفائضة (Redundant) للبروتينات والبروتينات التي تساهم في مسار مشترك والبروتينات متعددة الوحدات وتنظيم تعبير البروتين بعوامل الاستنساخ.

عملها: الطفرة الكابتة تتضمن عادة تغير في تعبير جين معين يعادل فقد الوظيفة الذي سببته طفرة أخرى في جين آخر.

راجع الشكل (٤) للتعرف على أمثلة هذه الطفرات الكابتة.

- قد تتضمن الطفرات الكابتة أحياناً تغيرات في جينات غير تركيبية تساعد الخلية على تحدي الشفرة الوراثية. ومثالها: الـ tRNAs الطافرة الكابتة التي تم التعرف عليها في الكائنات الحية الدقيقة (Microorganisns). وهناك نوعان من طفرات ال tRNAsالكابتة:

Examples of Suppressor Mutations

Type	No Mutation	First Mutation	Second Mutation	Description
Intragenic				A first mutation disrupts normal protein function and a suppressor mutation affecting the same protein restores function. In this example, the first mutation inhibits lactose transport function, and the second mutation restores lactose transport.
Intergenic Redundant function				A first mutation inhibits the function of a protein, and a second mutation alters a different protein to carry out that function. In this example, the proteins function as enzymes.
Common pathway				Two or more different proteins may be involved in a common pathway. A mutation that causes a defect in one protein may be compensated for by a mutation that alters the function of a different protein in the same pathway.
Multimeric protein				A mutation in a gene encoding one protein subunit that inhibits function may be suppressed by a mutation in a gene that encodes a different subunit. The double mutant has restored function.
Transcription factor				A first mutation causes loss of function of a particular protein. A second mutation may alter a transcription factor and cause it to activate the expression of another gene. This other gene encodes a protein that can compensate for the loss of function caused by the first mutation.
				

الشكل (٤)

من طفرات الـ tRNAs الكابتة:

أ- tRNAs كابتة عديمة الحس (Nonsense tRNA supp.):

طفرة (١) في جين تركيبي معين ← كودون إيقاف في هذا الجين.

طفرة (٢) في جين الـ tRNA (في منطقة Anticodon) ← tRNA طافر يستطيع قراءة كودون الإيقاف المستحث بالطفرة الأولى ودمج حمض أميني في هذا الموقع .

ب- tRNA كابتة سيئة الحس (Missense tRNA supp.):

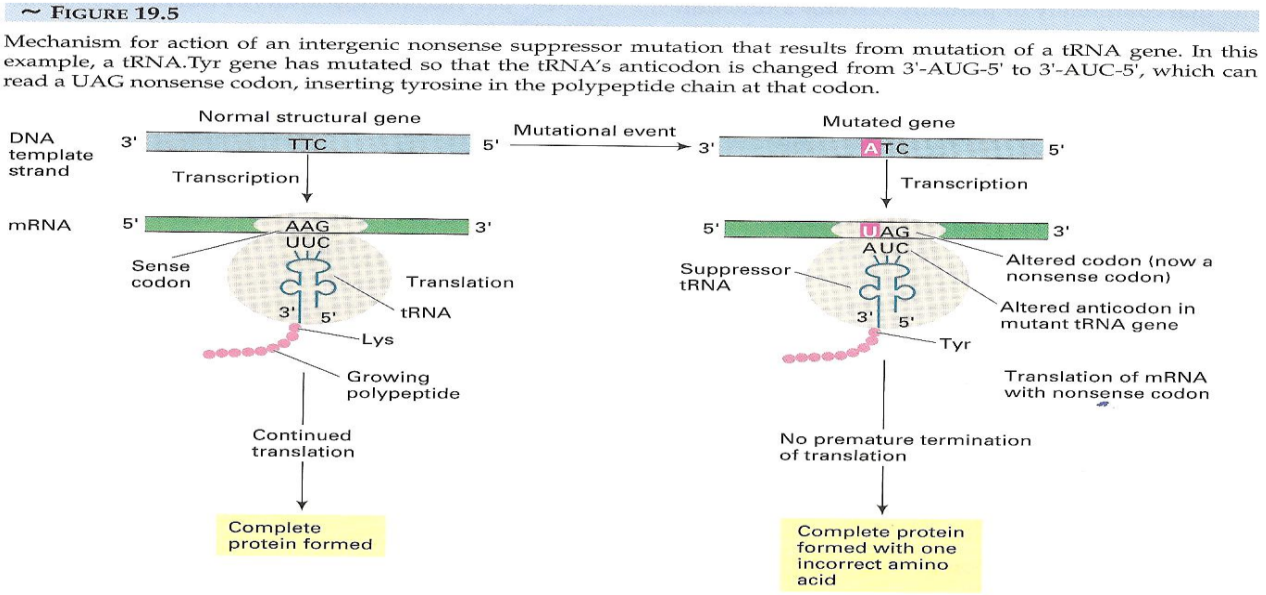
طفرة (١) في جين تركيبي معين ← كودون متغير

طفرة (٢) في جين الـ tRNA (في منطقة Anticodon) ← tRNA طافر يدمج حمض أميني خاطئ مكان الكودون الطبيعي.

- يمكن أن تنتج بواسطة طفرات تحدث في منطقة Anticodon في tRNAs ← tRNAs تميز كودونات خاطئة

أو من طفرات تحدث في الجين المسؤول عن Aminoacyl-tRNA Synthetase التي تعمل على ربط الحمض الأميني الخطأ بالـ tRNA .

السلالات الطافرة للـ Nonsense tRNA supp. يكون نموها غير جيد (Grow poorly)، لأن الـ tRNA supp. قد تكبت أيضاً كودونات إيقاف في جينات طبيعية. راجع الشكل (٦).



الشكل (٥)

٦- تأثير الطفرات على عملية الترجمة: Effect of mut. on translation

أ- التأثير على المنطقة المشفرة من الجين (Coding region):

١- تأثير الاحلالات القاعدية: Base substitutions

*** طفرات صامتة Synonymous mut. = Silent mut.**

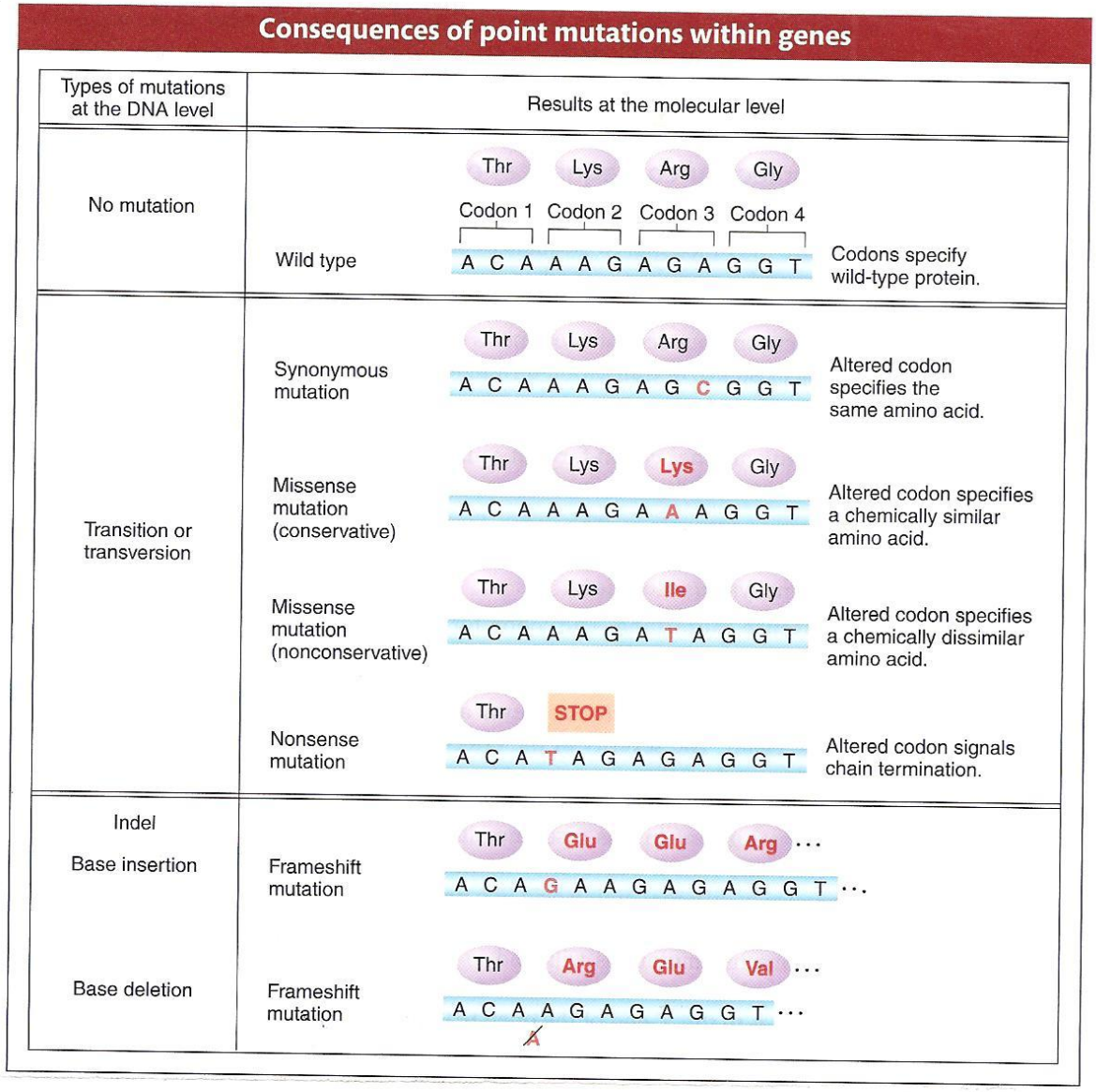
تغير في كودون معين يشفر لحمض أميني معين إلى كودون آخر يشفر للحمض الأميني نفسه، لا تغير في تتابع الأحماض الأمينية في سلسلة الببتيدة العديدة المعينة.

الشكل (٦) والشكل (٧).

*** طفرات سيئة الحس Nonsynonymous mut. = Missense mut.**

تغير في كودون معين يشفر لحمض أميني معين إلى كودون آخر يشفر لحمض أميني آخر، شدة التأثير على الببتيدة العديدة يتباين من حالة إلى حالة:

الشكل (٦) والشكل (٧).


Consequences of point mutations within genes
Types of mutations at the DNA level
Results at the molecular level
No mutation
Wild type
Thr Lys Arg Gly
Codon 1 Codon 2 Codon 3 Codon 4
A C A A A G A G A G G T
Codons specify wild-type protein.
Transition or transversion
Synonymous mutation
Thr Lys Arg Gly
A C A A A G A G C G G T
Altered codon specifies the same amino acid.
Missense mutation (conservative)
Thr Lys Lys Gly
A C A A A G A A A G G T
Altered codon specifies a chemically similar amino acid.
Missense mutation (nonconservative)
Thr Lys Ile Gly
A C A A A G A T A G G T
Altered codon specifies a chemically dissimilar amino acid.
Nonsense mutation
Thr STOP
A C A T A G A G A G G T
Altered codon signals chain termination.
Indel
Base insertion
Frameshift mutation
Thr Glu Glu Arg ...
A C A G A A G A G A G G T ...
Base deletion
Frameshift mutation
Thr Arg Glu Val ...
A C A A G A G A G G T ...
A

الشكل (٦)

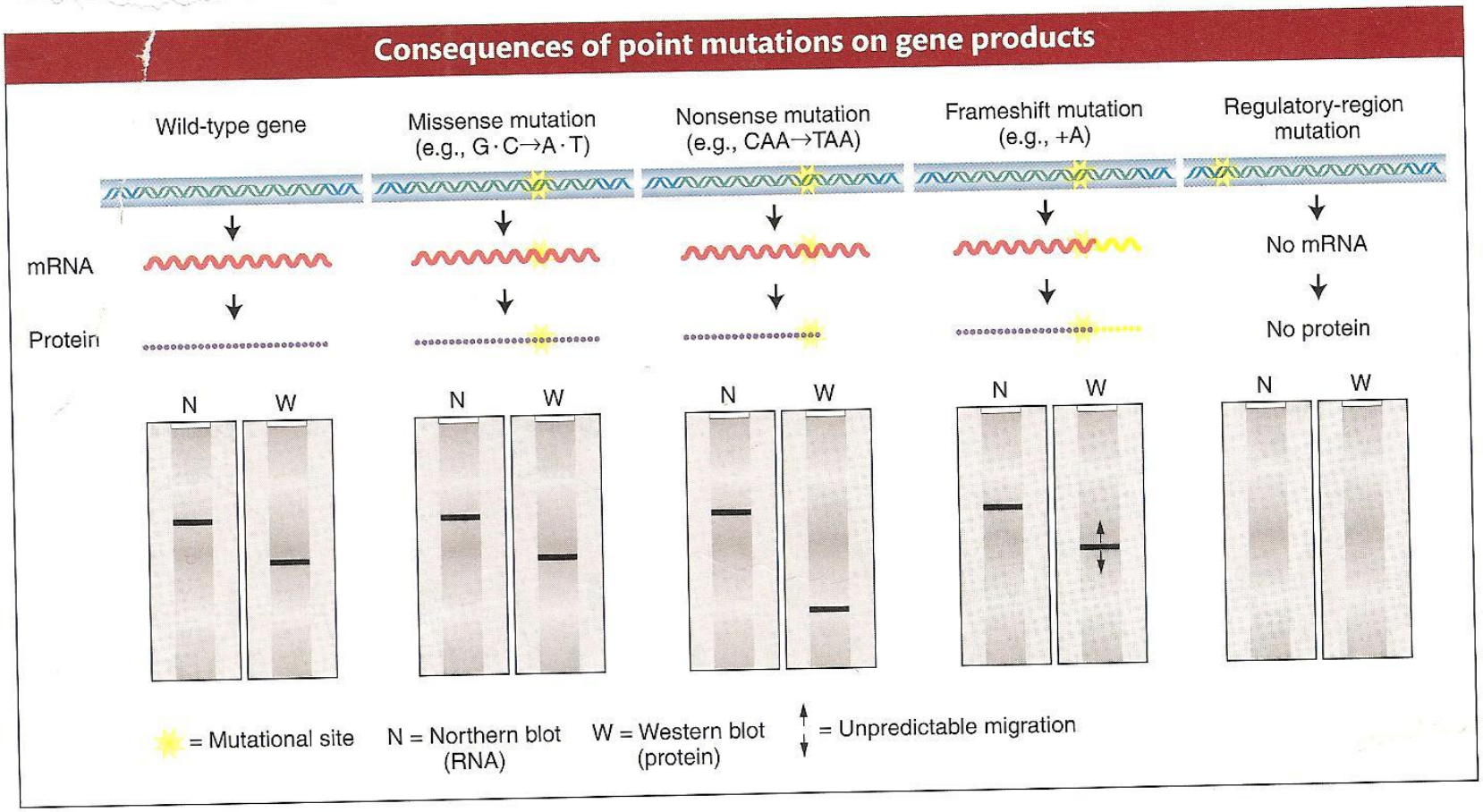


FIGURE 15-4 Point mutations in coding regions can alter protein structure with or without altering mRNA size. Point mutations in regulatory regions can prevent the synthesis of mRNA (and protein).

الشكل (٧)

فعلى سبيل المثال:

طفرة: a.a1 ⟵ a.a2 مشابه كيميائياً للـ a.a1 = إحلال محافظ، والتأثير هنا من المرجح جداً أن لا يغير من تركيب أو وظيفة الببتيدة أو البروتين وبشكل شديد.

طفرة: a.a1 ⟵ a.a2 مختلف كيميائياً عن a.a1 = إحلال غير محافظ، والتأثير هنا من المرجح جداً أن ينتج عنه بروتين متغير التركيب والوظيفة.

- **طفرات عديمة الحس Nonsense mut.**

تغير في كودون معين يشفر لحمض أميني معين إلى كودون إيقاف (Stop codon)

التأثير: إنهاء مبكر لعملية الترجمة ⟵ تأثير شديد على تركيب ووظيفة البروتين

والعديد من هذه الطفرات ⟵ نواتج بروتينية غير نشطة

الشكل (٦) والشكل (٧).

٢- تأثير طفرات تغيير الإطار: Frameshift mut.

- يتكون الـ mRNA من العديد من الكودونات التي تقرأ على شكل ٣ قواعد في الوقت نفسه
- إضافة أو نقصان أي زوج قاعدي في الدنا ⟵ تغيير قراءة إطار الـ mRNA أسفل موقع (down stream) الإضافة أو الانتقاص.
- إضافة أو انتقاص زوج أو زوجين من القواعد ⟵ تغيير تتابع كل الأحماض الأمينية في سلسلة الببتيدة العديدة المعينة أسفل موقع هذا التغير.
- إضافة أو انتقاص ثلاثة أزواج متتالية من القواعد في نفس الوقت ⟵ تغيير حمض أميني واحد فقط. الشكل (٦) والشكل (٧).

باختصار: طفرات تغيير الاطار عادة ⟵ فقدان كامل لتركيب ووظيفة البروتين الطبيعي

ب- التأثير على المنطقة غير المشفرة من الجين (Noncoding region):

التتابعات أو المناطق غير المشفرة من الجين هي أجزاء الجين التي لا تشفر وبطريقة مباشرة للبروتينات، لكنها تلعب دوراً مهماً في التعبير الجيني.

راجع الجدول (٣) للتعرف على أهم هذه التتابعات وتأثير الطفرات عليها

التأثير العام: التأثير على التعبير الجيني (Gene expressim) كما هو موضح في هذا الجدول.

* الطفرات التي تغير من Promoter الجين والتي تؤدي إلى زيادة معدل عملية الإستنساخ (Transcription) تسمى بـــ Up Promoter mut.

* الطفرات التي تغير من Promoter الجين والتي تؤدي إلى خفض معدل عملية الإستنساخ تسمى بـــ Down Promoter mut.

Possible Consequences of Gene Mutations Outside of the Coding Sequence

Sequence	Effect of Mutation
Promoter	May increase or decrease the rate of transcription
Regulatory element/operator site	May disrupt the ability of the gene to be properly regulated
5'-UTR/3'-UTR	May alter the ability of mRNA to be translated; may alter mRNA stability
Splice recognition sequence	May alter the ability of pre-mRNA to be properly spliced

الجدول (٣).

٧- الطفرات الحركية (غير المستقرة): Dynamic mut.

- هناك عدد من أمراض الإنسان الوراثية التي تسببها أشكال غير عادية من الطفرات تعرف بتمدد التكرار ثلاثي النيوكليوتيدات (Trinucleotide repeat Expansion,TNRE). والمصطلح تمدد التكرار ثلاثي النيوكليوتيدات (TNRE) يشير إلى الظاهرة التي يتم فيها ازدياد تتابع متكرر من ثلاث نيوكليوتيدات وبسهولة من جيل لآخر.
- ففي الأفراد الطبيعية تحتوي جينات أو مواقع كرموسومية معينة على مناطق تتضمن تتابعات نيوكليوتيدية تتكرر وبطريقة مترادفة (Tandom repeats). هذه التتابعات تنتقل وبطريقة طبيعية من الآباء إلى نسلهم دون تطفر (زيادة أو نقصان)، إلا أنها في الأشخاص المصابة بالأمراض TNRE تزداد في طولها فوق حجم معين حرج ← وتصبح عرضة للتمدد غالباً في الأجيال المتتالية.

- **مثال : تمدد التتابع النيوكليوتيدي CAG من ١١ مرة إلى ١٨ مرة.**

- هناك على الأقل ١٢ مرضاً يتضمن هذا النوع من الطفرات في الإنسان منها:

١- (SBMA) Spinal and bulbar atrophy

٢- (HD) Huntington disease

٣- (SCAI) Spinocerebellar ataxia

٤- Fragile-x Syndromes (FRAXA و FRAXE)

٥- (DM) Myotonic muscular dystrophy

الجدول (٤).

- في بعض الحالات ، يكون التمدد داخل التتابع المشفر للجين ويتضمن هذا التمدد عادة التكرار CAG ← gln ←

احتواء الببتيدة العديدة أو البروتين المعني على تتابع طويل من هذا الحمض الأميني

← تجمع البروتينات (أو القطع البروتينية)

← تقدم المرض

- في حالات أخرى من أمراض TNRE ، التمدد يوجد في المنطقة غير المشفرة من الجين.

TNRE Disorders

Disease	SBMA	HD	SCA1	FRAXA	FRAXE	DM
Repeat Sequence	CAG	CAG	CAG	CGG	GCC	CTG
Location of Repeat	Coding sequence	Coding sequence	Coding sequence	5'-UTR	5'-UTR	3'-UTR
Number of Repeats in Unaffected Individuals	11–33	6–37	6–44	6–53	6–35	5–37
Number of Repeats in Affected Individuals	36–62	27–121	43–81	>200	>200	>200
Pattern of Inheritance	X linked	Autosomal dominant	Autosomal dominant	X linked	X linked	Autosomal dominant
Disease Symptoms	Neuro-degenerative	Neuro-degenerative	Neuro-degenerative	Mental impairment	Mental impairment	Muscle disease
Anticipation *	None	Male	Male	Female	None	Female

*Indicates the parent in which anticipation occurs most prevalently.

الجدول (٤)

- ففي حالة متلازمتي الكرموسوم – X الهش (Fragile-X) ، يكون التمدد جزراً من CpG

التي تصبح مميثلة ← تغلظ الكروماتين ← كبت أو كبح استنساخ الجين.

- في حالة DM ، افترض الباحثون أن التمددات ثلاثية النيوكليوتيدات ← تغيرات غير طبيعية في تركيب الرنا ← أعراض المرض.

-لأمراض TNRE صفة غير عادية، وهي أن شدة المرض تزداد سوءاً في الأجيال اللاحقة.

وهذا ما يعرف بظاهرة السبق (Anticipation) . لكن هذه الظاهرة لا تحدث في كل هذه الأمراض ، لأنها عادة تعتمد على مصدر انتقال المرض (الأم أم الأب ؟)

ففي حالة HD ، ظاهرة السبق تحدث إذا تم توريث الجين من الأب.

ففي حالة DM ، ظاهرة السبق تحدث إذا تم توريث الجين من الأم.

وهذا يقترح أن مثل هذه الأمراض (TNRE) يمكن وأن تحدث أكثر خلال تكوين البويضات والحيوانات المنوية تبعاً للجين المعين المتورط في ذلك.

- **بشكل عام:**

- **ظاهرة TNRE عبارة عن شكل جديد من الطفرات وهي تحت عناية مركزة من قبل الباحثين**
- **هذه الظاهرة : تثير العديد من الأسئلة في علم الوراثة الجزيئي**

صعوبة تقديم الاستشارة الوراثية وخاصة إذا مررت شدة المرض من الآباء إلى نسلهم.

آلية ظاهرة TNRE (عند مستوى الدنا):

غير مفهومة جيداً ، إلا أن الباحثين يقترحون الآلية الموضحة في الشكل (٨) لظاهرة تمدد ثلاثي النيوكليوتيدات المترادفة وهذه الآلية تسمى Replication slippage

∴ باختصار: تكرار هذه التتابعات الثلاثية داخل الجين المعين ← تغيير التعبير الجيني ↵

أعراض المرض المشاهدة

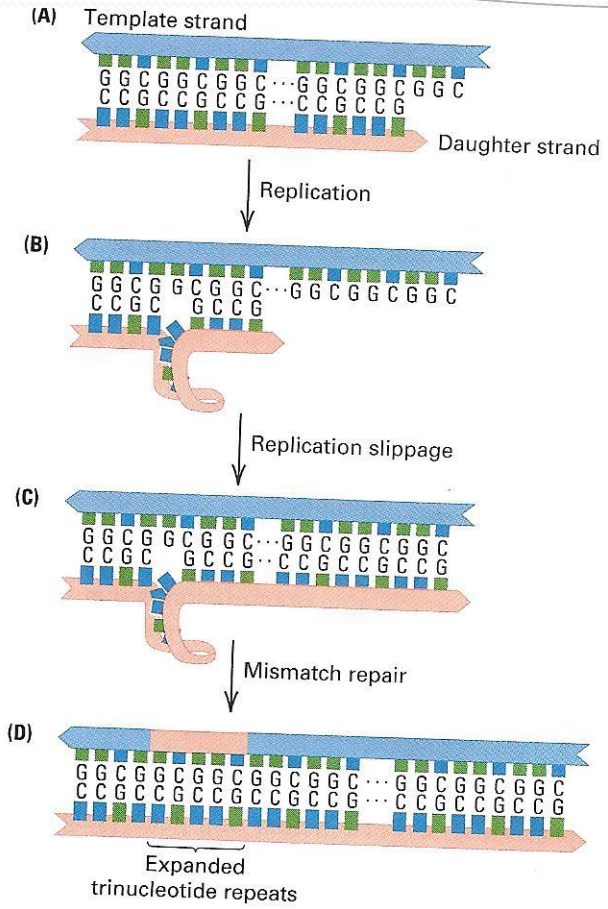


Figure 7.5 Model of replication slippage. (A) A trinucleotide repeat in the act of replication. (B) The 3′ end of the growing strand momentarily "breathes" (detaches from the template) and reanneals to the template at a point upstream from its original location. (C) Continued replication duplicates the region between the points of detachment and reannealing. (D) Mismatch repair of the shorter strand creates a duplex with a trinucleotide expansion.

الشكل (٨)

٨- التغيرات في تركيب الكروموسومات تؤثر على التعبير الجيني:

- عادة، لا يكون للانتقال أو الانقلاب (Translocation or Inversion) أي له تأثير مظهري واضح في الفرد.

إلا أنه في حالات معينة قد يكون له تأثير واضح ← تأثير الموقع Position effect

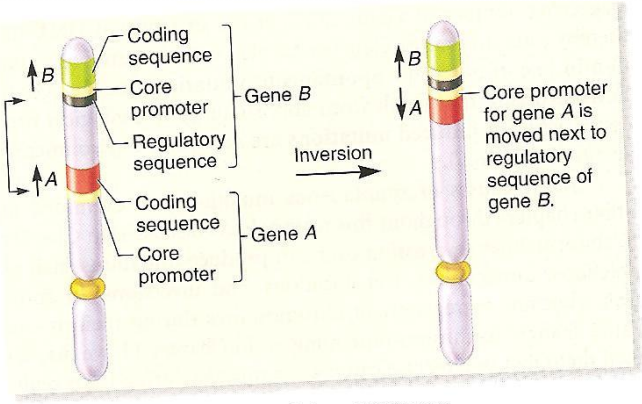
كيف ؟

أ- في بعض الحالات، نقطة الكسر والالتحام في الكروموسوم (Breakpoint) تحدث داخل جين معين

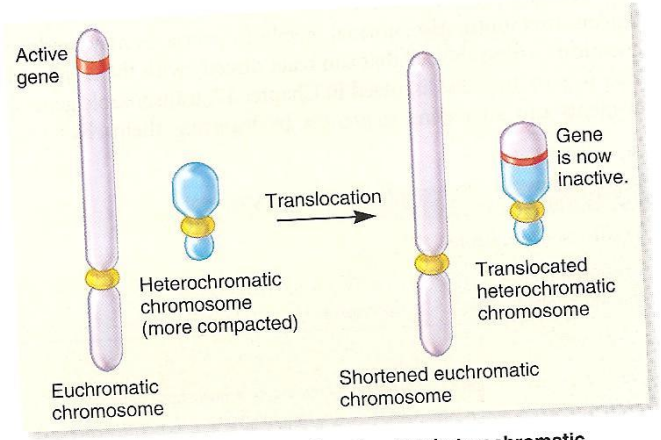
↵ كبح نشاط الجين

ب- في حالات أخرى، لا تأثير على سلامة الجين، لكن تعبير الجين يتغير إذا تم نقله إلى موقع جديد في الكروموسوم ← تغيير في تعبيره أيضاً

راجع الشكل (٩) الذي يوضح آلية تأثيرات الموقع على التعبير الجيني.



(a) Position effect due to regulatory sequences



(b) Position effect due to translocation to a heterochromatic chromosome

FIGURE 16.2 **Causes of position effects.** (a) A chromosomal inversion has repositioned the core promoter of gene *A* next to the regulatory sequences for gene *B*. Because regulatory sequences are often bidirectional, the regulatory sequences for gene *B* may regulate the transcription of gene *A*. (b) A translocation has moved a gene from a euchromatic to a heterochromatic chromosome. This type of position effect prevents the expression of the relocated gene.

الشكل (٩)

٩- مثالات في الإنسان على تأثير الطفرات:

أ- أنيميا الخلايا المنجلية Sickle-cell Anaemia (SCA)

الشكل (١٠).

ب- مثال للطفرة الجسدية في الإنسان

الشكل (١١).

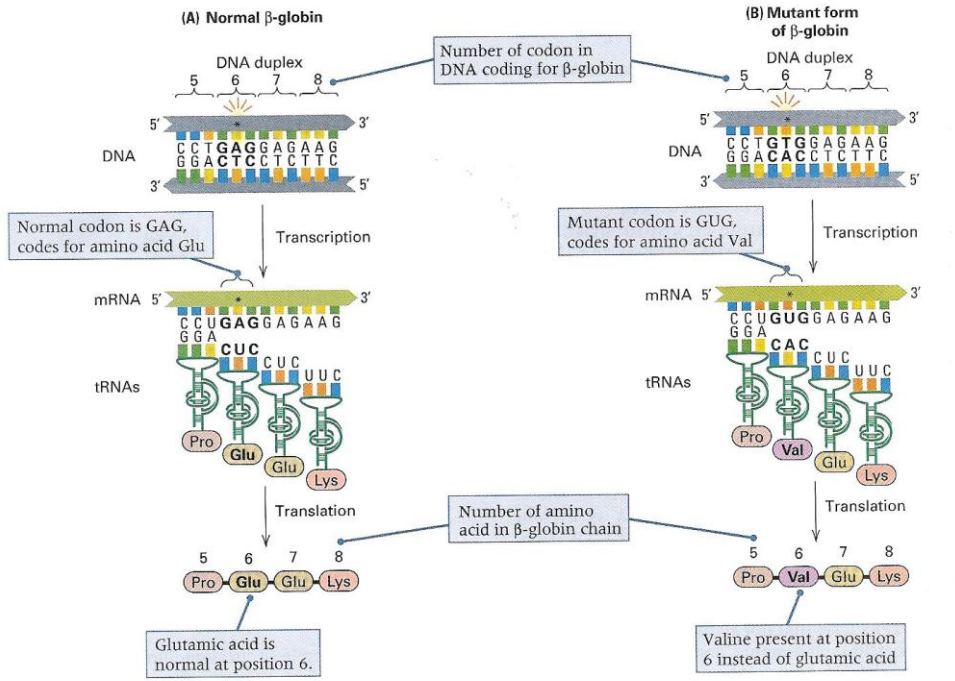


Figure 7.3 Molecular basis of sickle-cell anemia. (A) Part of the DNA in the normal β-globin gene. (B) Mutation of the normal A–T base pair to a T–A base pair results in the codon GUG (valine) instead of GAG (glutamic acid).

الشكل (١٠)

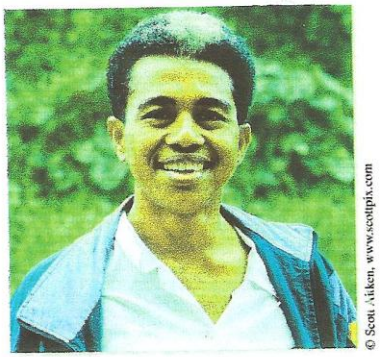


FIGURE 16.5 Example of a somatic mutation.

Genes→Traits This person has a patch of white hair because a somatic mutation occurred in a single cell during embryonic development that prevented pigmentation of the hair. This cell continued to divide to produce a patch of white hair.

الشكل (١١)

الأساس الجزيئي للطفرات The molecular basis of mutations

- تصنف الطفرات كما سبق أن ذكر ذلك إلى:

١- طفرات تلقائية Spontaneous mut.

تغيرات تحدث في تركيب الدنا ناتجة عن انحرافات في العمليات الحيوية التي تحدث داخل جسم الكائن الحي / المسبب ينشأ من داخل الخلايا.

٢- طفرات مستحدثة Induced mut.

تغيرات تحدث في تركيب الدنا ناتجة عن عوامل بيئية / المسبب ينشأ من خارج الخلايا

والجدول رقم (٦) يوضح الأسباب العامة لحدوث الطفرات، والجدول رقم (٧) يوضح العوامل المطفرة الرئيسة وآليات عملها.

أولاً) الطفرات التلقائية :

١- الطفرات التلقائية هي أحداث عشوائية (Random events)

* في القرن التاسع عشر ، كان هناك فرضيتان حول نشوء الطفرات:

أ- فرضية التأقلم الفسيولوجي Physiological adaptation hyp.

الطفرات تحدث بغرض نتيجة لسلوك أو تعرض الكائن الحي لظروف بيئية معينة. معدل التطفر من المفترض أن يكون ثابتاً نسبياً ويعتمد على تعرض الكائن الحي لتلك الظروف.

Causes of Mutations

Common Causes of Mutations	Description
Spontaneous	
Aberrant recombination	Abnormal crossing over may cause deletions, duplications, translocations, and inversions (see Chapter 8).
Aberrant segregation	Abnormal chromosomal segregation may cause aneuploidy or polyploidy (see Chapter 8).
Errors in DNA replication	A mistake by DNA polymerase may cause a point mutation (see Chapter 11).
Toxic metabolic products	The products of normal metabolic processes may be chemically reactive agents that can alter the structure of DNA.
Transposable elements	Transposable elements can insert themselves into the sequence of a gene (see Chapter 17).
Depurination	On rare occasions, the linkage between purines (i.e., adenine and guanine) and deoxyribose can spontaneously break. If not repaired, it can lead to mutation.
Deamination	Cytosine and 5-methylcytosine can spontaneously deaminate to create uracil or thymine.
Tautomeric shifts	Spontaneous changes in base structure can cause mutations if they occur immediately prior to DNA replication.
Induced	
Chemical agents	Chemical substances may cause changes in the structure of DNA.
Physical agents	Physical phenomena such as UV light and X-rays can damage the DNA.

الجدول(٦)

Major agents of mutation and their mechanisms of action

Agent of mutation	Examples	Principal mechanism of mutagenesis
Water	Hydrolysis	Depurination (A or G detached from its deoxyribose sugar)
Oxidizing agent	Nitrous acid	Deamination ($-NH_2 \rightarrow =O$): C → U, 5-MeC → T, A → Hypoxanthine
Base analog	5-Bromodeoxyuridine	Increased rate of base mispairing
Alkylating agent	Ethylmethane sulfonate Nitrogen mustard	Bulky attachments made to side groups on bases
Intercalating agent	Proflavin	Causes topoisomerase II to leave a nick in DNA strand; misrepair results in the insertion or deletion of one or a few nucleotides
Ultraviolet light	Natural sunlight UV lamps	Forms pyrimidine dimers (covalent bonds between adjacent pyrimidines, primarily T) present in the same DNA strand
Ionizing radiation	x rays Radon gas Radioactive materials	Single- and double-stranded breaks in DNA; damage to nucleotides

الجدول(٧)

ب- فرضية أن الطفرات هي أحداث عشوائية : Rand. Mut. Hyp.

وجود التباين الوراثي داخل العشيرة والانتخاب الطبيعي ← التباين المشاهد في فرص بقاء ونجاح تكاثر الكائنات الحية .

طفرات مفيدة = أحداث عشوائية ← تأقلم أفضل ← ↑ فرص بقاء ونجاح التكاثر

تم اختبار هاتين الفرضيتين بالعديد من الدراسات خلال الأعوام ١٩٤٠- ١٩٥٠م

في دراسات بكتيرية أهمها الدراستين التاليتين :

الدراسة الأولى : أجريت بواسطة Luria and Delbruk (Flucuation test)

الهدف: هل الطفرات المقاومة (ton^r) لعدوى الفاج T_1 ترجع إلى حدث عشوائي أم إلى تأقلم بيئي؟

- فرضية التطفر العشوائي : تتنبأ بأن معدل التطفر يعتمد على زمن حدوث الطفرة
  ← تذبذب في عدد البكتيريا المقاومة بين العشائر البكتيرية المختلفة

- فرضية التأقلم الفسيولوجي: تتنبأ بأن معدل التطفر سوف يكون ثابتاً نسبياً بين العشائر المختلفة

نتائج الدراسة : موضحة في الشكل (١٢). وفيه:

- هناك تذبذب كبير في أعداد الطافرات المقاومة للفاج TI داخل بيئات الاستزراع الصغيرة .
- عدد الطافرات ومواقعها ثابت تقريبا داخل بيئات الاستزراع المتحصل عليها من الدورق الكبير. لماذا ؟

الاستنساخ العام : نتائج تلك الدراسة تدعم فرضية أن الطفرات عبارة عن أحداث عشوائية .

الدراسة الثانية : أجريت بواسطة Joshua and Lederberg

التقنية : Replica plating

الهدف : دراسة العلاقة بين الطفرات والظروف البيئية التي تنتجها .

- فرضية التأقلم الفسيولوجي: تتنبأ بأن الطفرات التي تحدث قبل التعرض للفاج T_1 من ناحية المواقع والأعداد =أنماط عشوائية .
- فرضية الحدث العشوائي: تتنبأ بأن الطفرات تحدث قبل التعرض للفاج T1/المواقع والأعداد متماثلة نسبيا.

النتائج: موضحة في الشكل (١٣). ومنه:

النتائج تدعم فرضية أن الطفرات المقاومة (ton^r) حدثت بطريقة عشوائية أثناء نمو البكتيريا في الطبق الأصلي غير المحتوي على الفاج/وجود الفاج في الأطباق الثانوية انتخب الطفرات المقاومة .

الاستنتاج العام: النتائج تدعم فرضية أن الطفرات هي عبارة عن أحداث عشوائية .

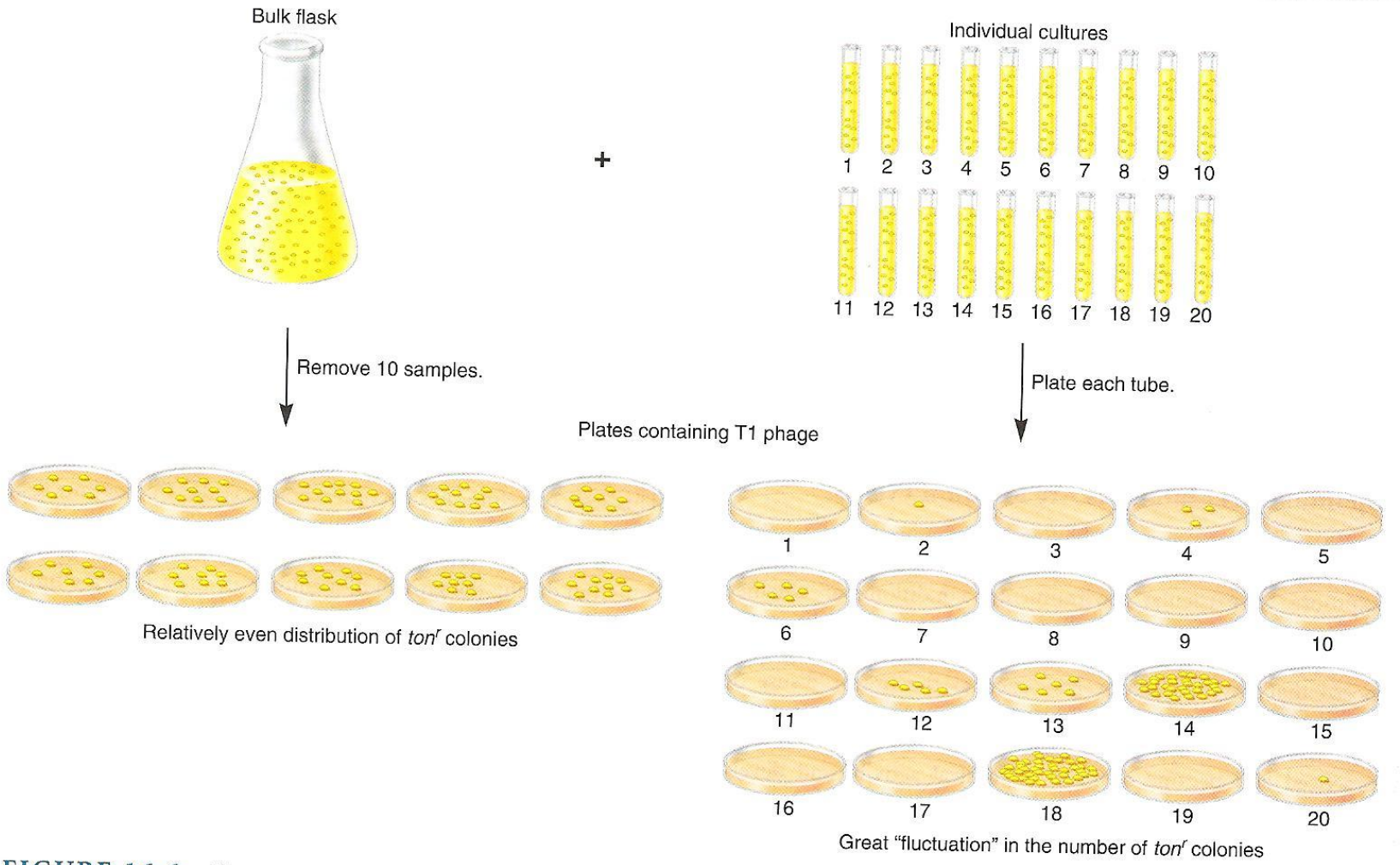


FIGURE 16.6 The Luria-Delbrück fluctuation test.

الشكل(١٢)

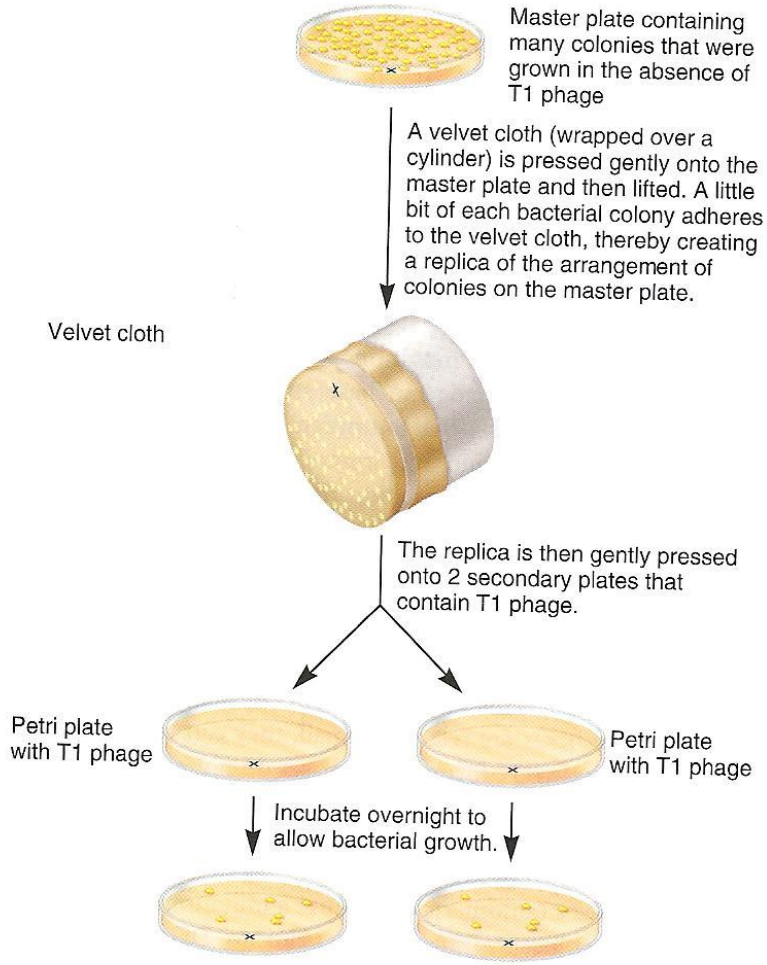


FIGURE 16.7 **Replica plating.** Bacteria were first plated on a master plate under nonselective conditions. A sterile velvet cloth was used to make a replica of the master plate. This replica was gently pressed onto two secondary plates that contained a selective agent. In this case, the two secondary plates contained T1 bacteriophage. Only those mutant cells that are *ton*^{r} (resistant to T1) could grow to form visible colonies. Note: The black x indicates the alignment of the velvet and the plates.

الشكل(١٣)

الطفرات= أحداث عشوائية (يمكن أن تحدث في أي خلية وفي أي جين وفي أي وقت) ولا تتضمن وجوب التعرض لظروف بيئية معينة لحدوثها، لكن الظروف البيئية تنتخب الطفرة المعنية.

الوضع الآن : هل الطفرات أحداث عشوائية بالكامل ؟

الجواب : لا ، معدلات التطفر تتباين تبعاً للأنواع . وحتى داخل الكائن الحي نفسه ، بعض الجينات تتطفر بمعدلات أعلى من جينات أخرى (لماذا؟).

وللموقع الجيني في الجينوم دور مهم في ذلك (لماذا؟).

٢- الطفرات ليست عشوائية فيما يتعلق بموقعها في الجين أو الجينوم :

- هناك تتابعات معينة في الدنا (تدعى بالنقاط ساخنة التطفر Mut. hotspots) تكون أكثر خضوعا للتطفر من تتابعات أخرى . وهذا يشمل :

- التكرارات ثلاثية النيوكليوتيدات غير المستقرة (TNRE)
- العديد من المواقع على طول الجينوم وداخل الجينات. ومثالها: مواقع ميثلة الـ C عالية التطفر عادة والتي تؤدي غالباً إلى GC ← AT . ففي العديد من الكائنات الحية كالبكتيريا والذرة والثدييات ، هناك نسبة صغيرة من قواعد C يتم ميثلتها بواسطة إنزيم خاص في مواقع معينة من الدنا.

أهمية هذه المثيلة ؟ بالضبط ؟ لكن الجينات التي تحتوي على ^{5m}C تكون أقل نشاطاً (ومثالها الكرموسوم –X المكبوح في إنات الثدييات).

القواعد C و ^{5m}C عرضة لفقدان مجموعة الأمين منها :

↓ ↓

U T

ليس دائما مطفراً غالبا مطفر (GC←AT). لماذا؟

إذن مثيلة الـ C مساهم مهم في الطفرات ذات المواقع الساخنة

٣- ما الفرق بين معدل التطفر (Mut. Rate) وتكرار التطفر (Mut. lrequency) ؟

* معدل التطفر= احتمال أن جيناً معيناً سوف يتغير بطفرة جديدة = عدد الطفرات الجديدة في الجين المعين/جيل .

معدل التطفر التلقائي العام:تتراوح قيمته ما بين $١٠^{-٥}$ - $١٠^{-١٠}$ /جيل. ولذلك، فإن الطفرات التلقائية نادرة الحدوث

هل هذا المعدل ثابت ؟ لا، يمكن زيادته بالعوامل المطفرة

وقيمته تتباين وبشدة من نوع لآخر وحتى داخل السلالات المختلفة لنفس النوع. لماذا ؟

* تكرار التطفر = عدد النسخ الطافرة من الجين

العدد الكلي لنسخ الجين في العشيرة

زمن حدوث الطفرة هنا مهم جداً، لأنه يؤثر على عدد الطفرات المشاهدة

تكرار التطفر يعتمد على: معدل التطفر/زمن حدوث الطفرة واحتمالية تمريرها للأجيال التالية. ويمكن زيادة تكرار التطفر فوق معدل التطفر بسبب قوى التطور المختلفة (الانتحاب الطبيعي والانجراف الوراثي) وهو مفهوم مهم في وراثة العشائر .

٤- آليات الطفرات التلقائية: Mechanisms of Spon. mut.

تنشأ الطفرات التلقائية من مصادر متنوعة :

أ- أخطاء في تضاعف الدنا (أخطاء DNA Polys./إحلالات قاعدية/طفرات تغيير الاطار)

ب- تحورات كيميائية تلقائية = أضرار تلقائية = Spon. Lesions

(فقدان مجموعة الأمين / فقدان البيورينات / التلف المؤكسد للقواعد)

ج- الطفرات غير المستقرة (TNRE)

د- العناصر الوراثية المتنقلة = Transposable genetic elements = Transposons

أ- أخطاء في تضاعف الدنا: Errors in DNA repl.

- عملية تضاعف الدنا عملية غير كاملة (Imperfect). فأحياناً الـ DNA Polys تدمج وبطريقة خاطئة نيوكليوتيدات لا تخضع للقاعدة A=T و G=C في الجديلة النامية .

وبالرغم من قدرة هذه الأنزيمات على تصحيح مثل هذه الأخطاء من خلال

$3^- \rightarrow 5^-$ Exonuclease activity

إلا أن هذه الأخطاء قد تستمر بعد التضاعف. وإذا لم يتم إصلاحها ⟵ طفرات.

- التحولات التوتوميرية Tautomeric shifts

- تؤدي إلى تزاوجات خاطئة خلال تضاعف الدنا
- كل قاعدة من قواعد الدنا (A،G،C،T) يمكن وأن توجد في أكثر من شكل كيميائي واحد . وهذه الأشكال تسمى Tautomers= نظائر تركيبية (Structural Isomers) تختلف في مواقع ذراتها وفي الروابط التي توجد بين هذه الذرات.

Taut. Shift= التحول من شكل قاعدي لآخر خلال تضاعف الدنا

- الـ Tautomers المهمة حيوياً :

Keto-enol forms of T/G

Amino-imino forms of A/C

راجع الشكلين (١٤ و ١٥).

من الشكلين السابقين، لاحظ أن التزاوج الخاطئ خلال التضاعف ⟵ Transition

(Pur ⇄ Pur)

⟵ طفرات نقطية غالباً

- طفرات تغيير الاطار : Frameshift mut
- تحدث عندما تلتوي إحدى جديلتي الدنا إلى الخارج وتصبح في غير موضعها الطبيعي (Displaced) خلال التضاعف أو عندما ينزلق DNA Poly خلال التضاعف
- إذا حدث الالتواء في الجديلة القالب خلال التضاعف ⟵ انتقاص في الجديلة النامية

اذا الـ DNA Poly دمج نيو كليوتيدة أو أكثر غير موجودة في جديلة القالب ⟵ إضافة

- طفرات تغير الإطار يمكن أن تحدث في أي موقع في الدنا، لكنها تحدث وبشكل خاص في التتابعات المتكررة. ولذلك، فإن التتابعات المتكررة في الجين تعتبر من النقاط

ساخنة التطفر ⟵ بعض الأمراض الوراثية التي سبق شرحها . الشكل (١٦) والشكل (٨).

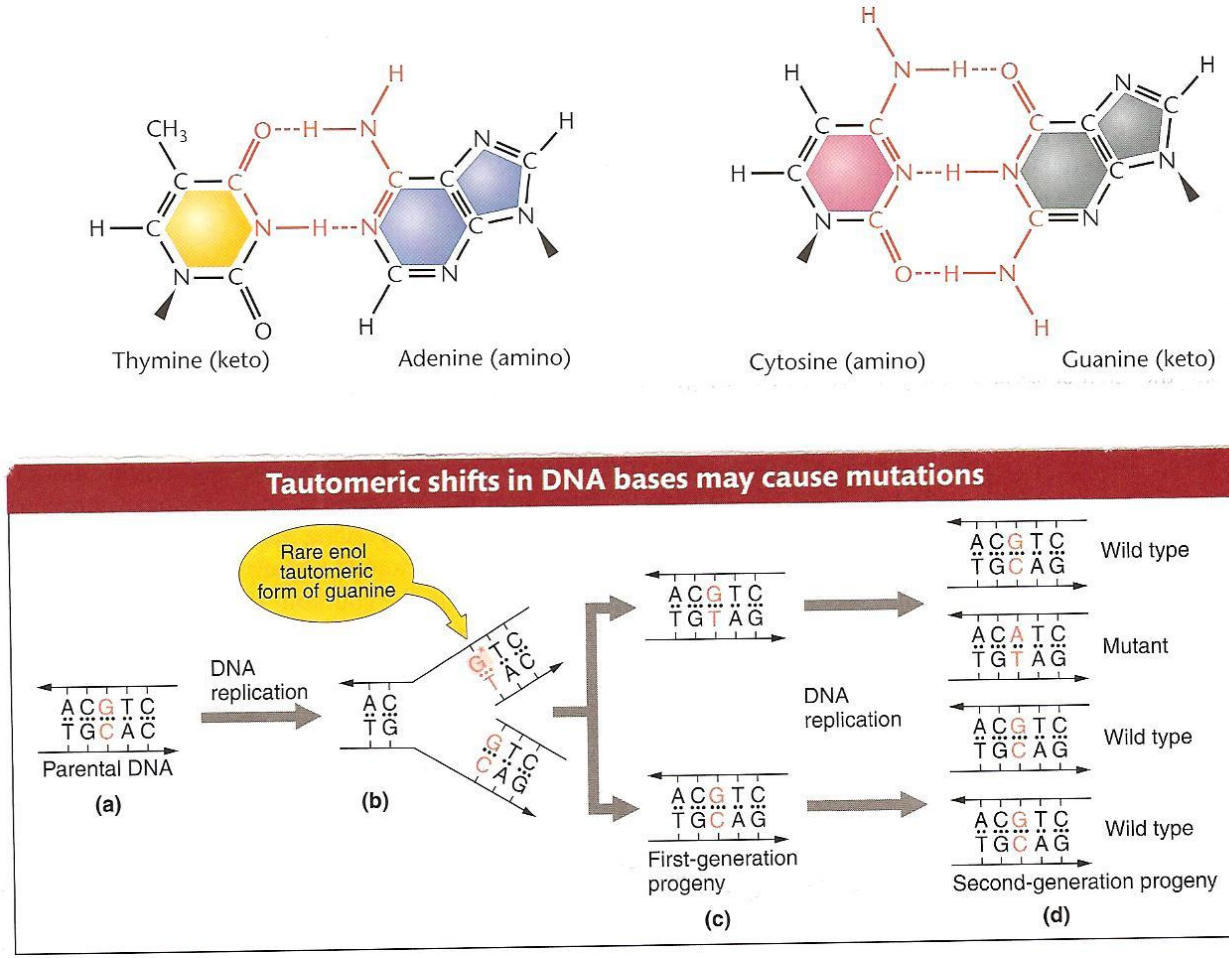
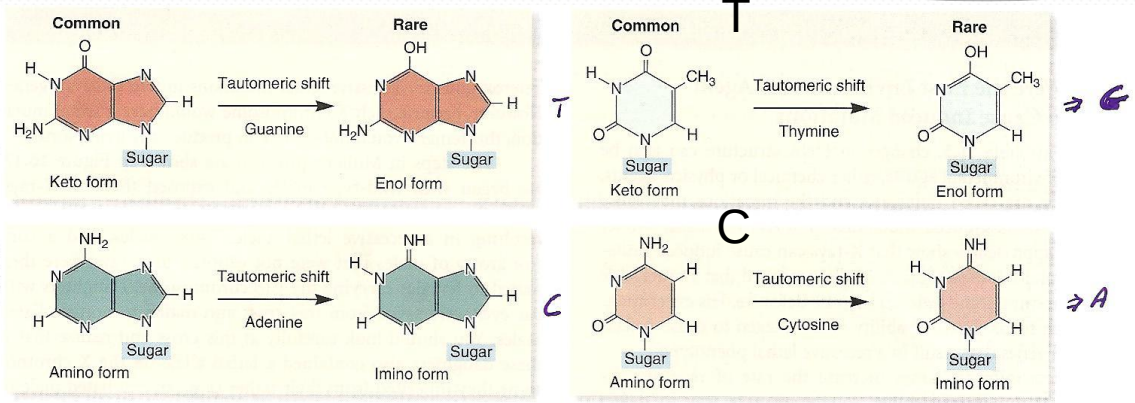
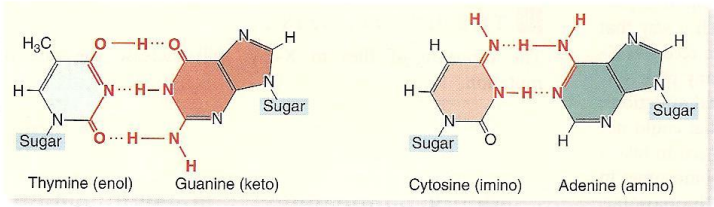


FIGURE 15-9 A tautomeric shift creates a mutation in *some* of the progeny after DNA replication. (a) In the example diagrammed, a guanine residue undergoes a tautomeric shift to its rare enol form (G*) at the time of replication. (b) In its enol form, it pairs with thymine. (c and d) In the next replication, the guanine residue shifts back to its more stable keto form. The thymine residue incorporated opposite the enol form of guanine, seen in part *b*, directs the incorporation of adenine in the subsequent replication, shown in parts *c* and *d*. The net result is a G · C ⟶ A · T mutation. [From E. J. Gardner and D. P. Snustad, *Principles of Genetics*, 5th ed. (c) 1984 by John Wiley & Sons, New York.]

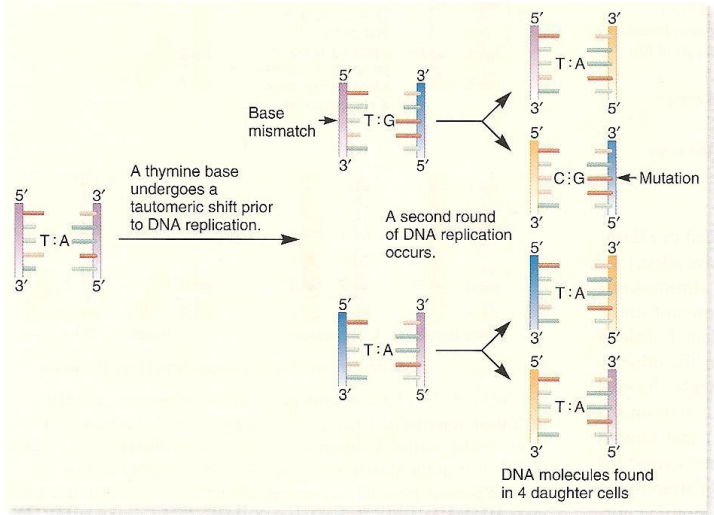
الشكل(١٤)



(a) Tautomeric shifts that occur in the 4 bases found in DNA



(b) Mis–base pairing due to tautomeric shifts



(c) Tautomeric shifts and DNA replication can cause mutation

FIGURE 16.10 Tautomeric shifts and their ability to cause mutation. (a) The common forms of the bases are shown on the left, and the rare forms produced by a tautomeric shift are shown on the right. (b) On the left, the rare enol form of thymine pairs with the common keto form of guanine (instead of adenine); on the right, the rare imino form of cytosine pairs with the common amino form of adenine (instead of guanine). (c) A tautomeric shift occurred in a thymine base just prior to replication, causing the formation of a TG base pair. If not repaired, a second round of replication will lead to the formation of a permanent CG mutation. Note: A tautomeric shift is a very temporary situation. During the second round of replication, the thymine base that shifted prior to the first round of DNA replication is likely to have shifted back to its normal form. Therefore, during the second round of replication, an adenine base will be found opposite this thymine.

الشكل(١٥)

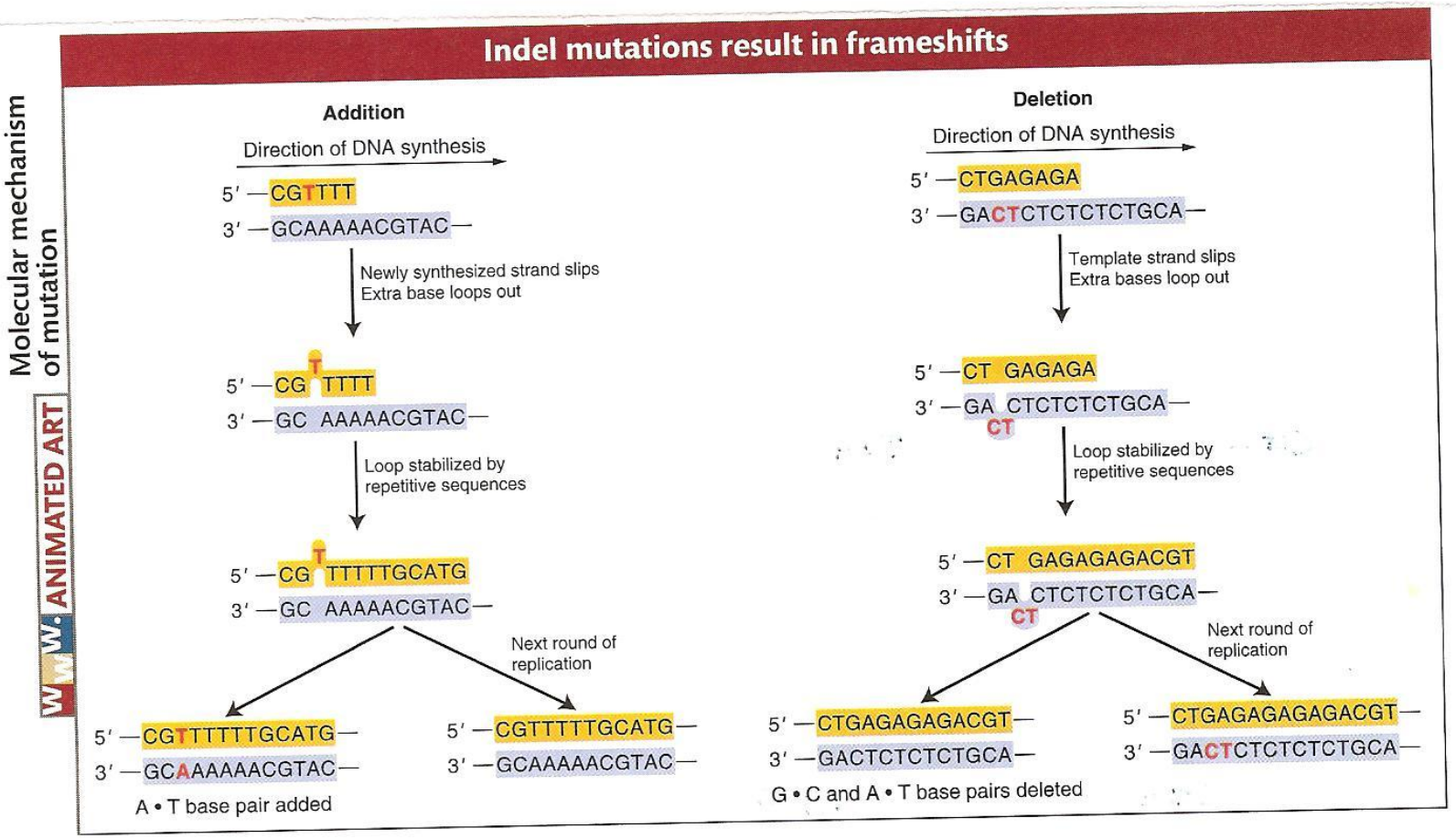


FIGURE 15-10 Base additions and deletions (indel mutations) cause frameshift mutations through the slipped mispairing of repeated sequences in the course of replication.

الشكل(١٦)

ب- تحورات كيميائية تلقائية في القواعد = أضرار تلقائية = تلف قواعد الدنا

- فقدان البيورين : Depurination

- ويعني فقدان A أو G من ds DNA ←—— موقع خالي من A أو G= Apurinic site (AP) في إحدى جديلتي الدنا

- الخلية الثديية المستزرعة تفقد تلقائيا آلاف البيورنيات من مادتها الوراثية يوميا

- إذا لم يتم إصلاح هذه المواقع (AP) وبطريقة صحيحة ←—— طفرات كيف؟ راجع الشكل (١٧).

- فقدان مجموعة الأمين: Deamination

مجموعة الأمين في A و C تتحول إلى مجموعة كيتو (Keto)

C ←—— U (عادة يتم إصلاحه)، وإذا لم يتم إصلاحه (GC→AT)

A ←—— Hypoxanthine إذا لم يتم إصلاحه ←—— (AT→GC) الشكل (١٨).

5mC ←—— T لاجهاز إصلاح ←—— (GC→AT غالباً)

ولذلك، فإن 5mC يعتبر من النقاط ساخنة التطفر في الدنا ؟

جـ- التلف المؤكسد Oxidative damage.

- قد يعاني الدنا، أيضاً، من تلف شديد من النواتج الثانوية (By-products)الناتجة من العمليات الخلوية الطبيعية . ومن هذه النواتج أنواع الأكسجين النشطة (ROS)التي يتم انتاجها وبطريقة طبيعية خلال التنفس الهوائي ومنها ($O.^-$) Superoxide /Hydroxyl radical (.OH)

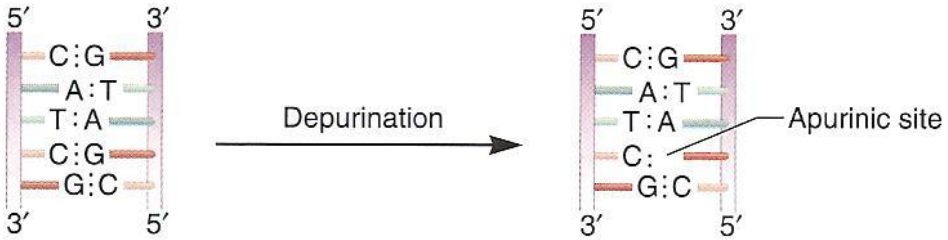
والـ H_2O_2 ← تلف الدنا ← طفرات

والشكل (١٩) يوضح ناتجين من نواتج هذا التلف المؤكسد وهي:

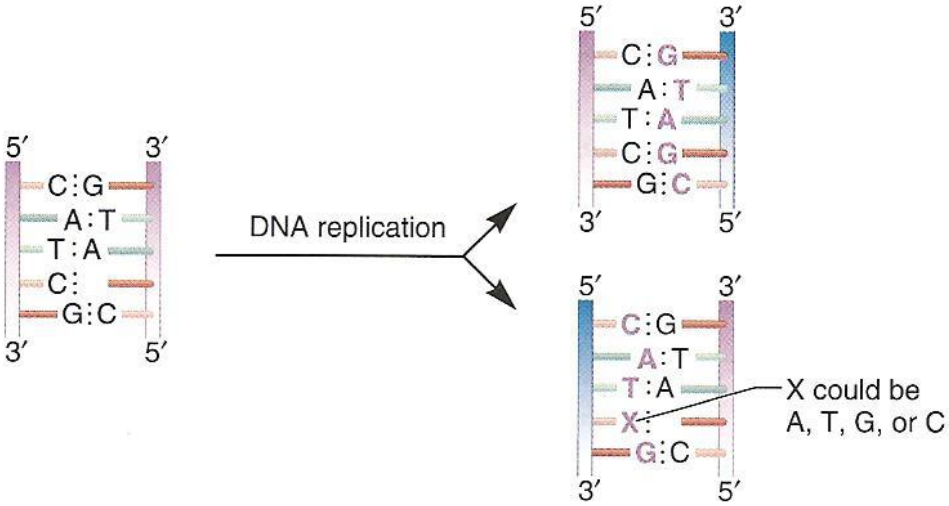
8-OxodG. الذي غالباً ما يتزاوج خطأً مع A ← مستوى عالٍ من AT ← GC

Thym. Glycol. ← إعاقة تضاعف الدنا إذا لم يتم إصلاحه

د- العناصر الوراثية المتنقلة: عوامل محثة للطفرات التلقائية.



(a) Depurination



(b) Replication over an apurinic site

FIGURE 16.8 Spontaneous depurination. (a) The bond between guanine and deoxyribose is broken, thereby releasing the base. This leaves an apurinic site in the DNA. (**b**) If an apurinic site remains in the DNA as it is being replicated, any of the four nucleotides can be added to the newly made strand. Because three out of four (A, T, and G) are the incorrect base, the chance of causing a mutation is 75%.

الشكل(١٧)

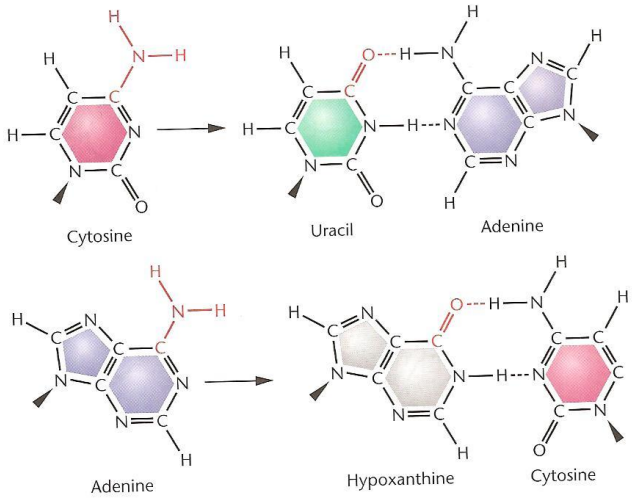
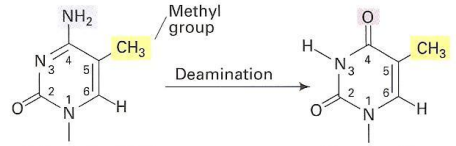


FIGURE 15–4 Deamination of cytosine and adenine, leading to new base pairing and mutation. Cytosine is converted to uracil, which base pairs with adenine. Adenine is converted to hypoxanthine, which base pairs with cytosine.

الشكل(١٨)

Deamination of 5-methylcytosine ($5^{m}C$) to thymine.



Oxygen radicals can damage DNA

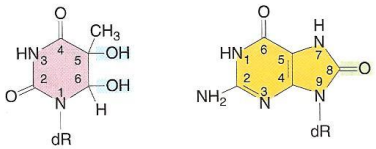


FIGURE 15-11 Products formed after DNA has been attacked by oxygen radicals. Abbreviation: dR, deoxyribose.

الشكل(١٩)

ثانياً) الأساس الجزيئي للطفرات المستحدثة The molecular basis of induced mutations

- تتعرض الكائنات الحية عموما للعديد من العوامل القادرة على تلف الدنا والتسبب في الطفرات. وهذه العوامل تسمى بالعوامل المطفرة (Mutagens). بعض هذه العوامل هي مكونات طبيعية في البيئة التي نعيش فيها (بعض السموم الفطرية/الأشعة الكونية/الأشعة فوق البنفسجية). لكن البعض الآخر هو ملوثات صناعية، أشعة إكس والعديد من المواد الكيميائية بما فيها التي توجد في التبغ.
- الجانب الايجابي: استخدم علماء الوراثة وغيرهم هذه المواد المطفرة لتحليل الجينات والتعرف على وظائفها
- يمكن تقسيم العوامل المطفرة تبعا لآلية تأثيرها إلى الفئات التالية :

١- مشابهات القواعد : Base analogs

- لها تراكيب جزيئية تشبه كثيرا القواعد الطبيعية التي توجد في الدنا .

لماذا مطفرة؟

لأن لها القدرة على التواجد في أكثر من شكل (Tautomers): شكل طبيعي

اندماج أثناء تضاعف الدنا ← احلالات قاعدية

شكل نادر

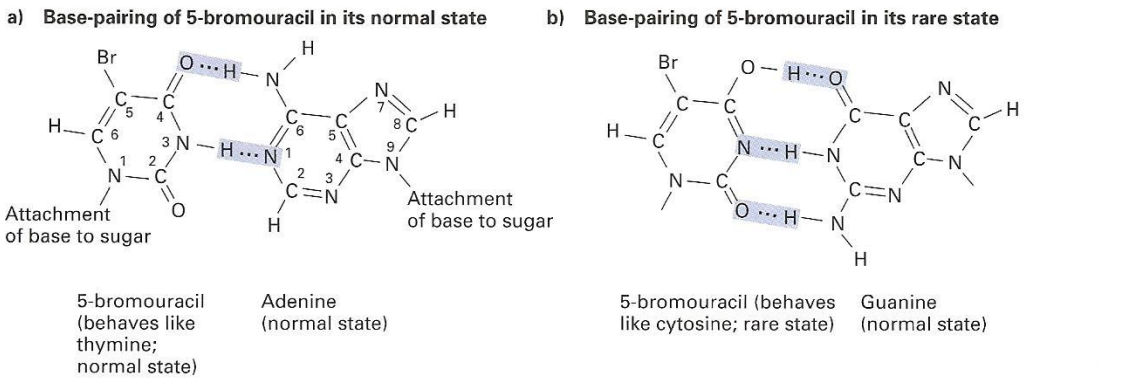
أ- المثال الأول : 5- BU الشكل (٢٠)

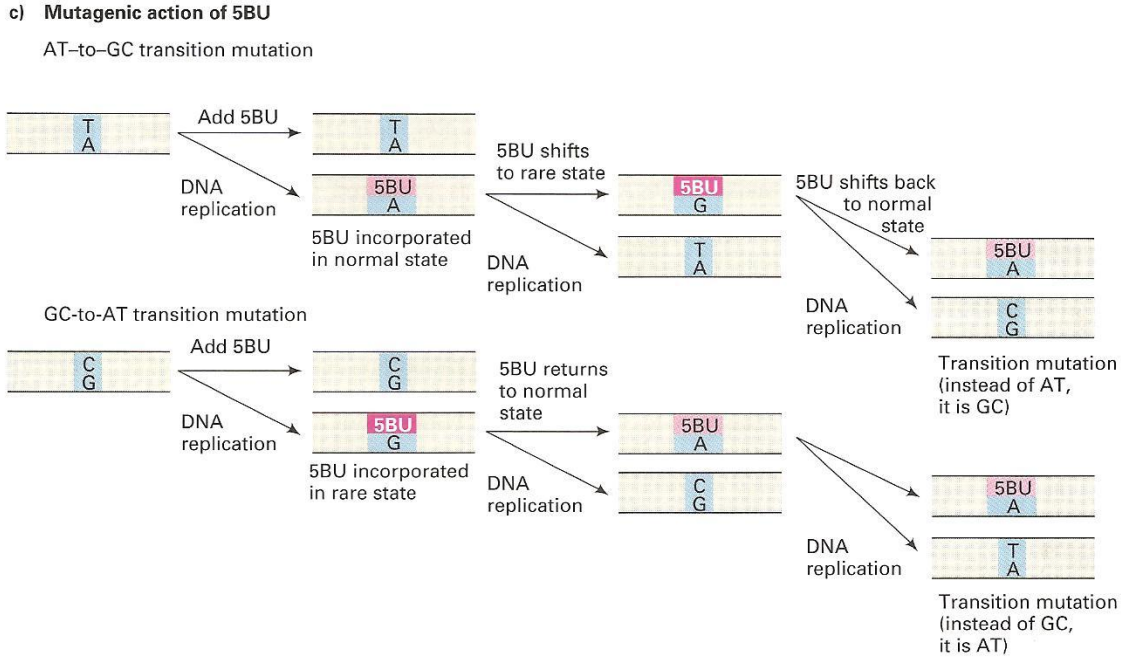
- مشابه للـ T ← يرتبط مع A فقط في شكله الطبيعي
  يرتبط مع G فقط في شكله النادر
- سبب حثه للتطفر : تحوله ما بين الشكلين بعد اندماجه في الدنا خلال التضاعف ← تكرار التطفر
- الطفرات التي يسببها : احلالات $AT \rightleftharpoons GC$
- الطفرات المستحدثة بالمركب يمكن ارتدادها بالمعاملة مرة أخرى بالمركب .
- وجوده في الدنا ← حساسيته للأشعة فوق البنفسجية .
- وجود البروم محل CH_3 ← احتمال تحوله

ب- المثال الثاني : 2AP مشابه للـ A ويستعمل كثيرا في الأبحاث

- آلية عمله : مشابه للـ 5-BU
- 2AP ← شكل طبيعي يرتبط مع T
  شكل نادر يرتبط مع C
- الطفرات التي يسببها : احلالات $AT \rightleftharpoons GC$
- الطفرات التي يستحتها هذا المركب يمكن ارتدادها بالمعاملة مرة أخرى بالمركب أو مع 5-BU
- ليس كل مشابهات القواعد مواد مطفرة، ومثال ذلك Azidothymidine(AZT)المشابه للـ T لكنه غير مطفر . AZT يستعمل كعقار لعلاج مرضى الايدز، كبح تضاعف الفيروس .

Mutagenic effects of the base analog 5-bromouracil (5BU). (a) In its normal state 5BU pairs with adenine. (b) In its rare state, 5BU (indicated by white letters on magenta) pairs with guanine. (c) The two possible mutation mechanisms. 5BU induces transition mutations when it incorporates into DNA in one state, then shifts to its alternate state during the next round of DNA replication.





الشكل(٢٠)

٢- محورات القواعد Base modiliers

وهذا يشمل :

أ- عوامل مزيلة لمجموعة الأمين :Deaminating agents (مؤكسدة)

ومثالها : Nitrous alid(HNO2)

- إزالة مجموعة الأمين من:

G ⟵ Xanthine ⟵ لا طفرات، لأن له نفس خصائص G

C ⟵ U : احلال TA⟶CG خلال تضاعف الدنا وهناك جهاز إصلاح لذلك

A ⟵ Hypoxanthine : GC⟶AT . الشكل (٢١).

الطفرات المستحدثة بالعقار يمكن ارتدادها بالمعاملة مرة أخرى بالمركب أو بأي ممَّ سبق

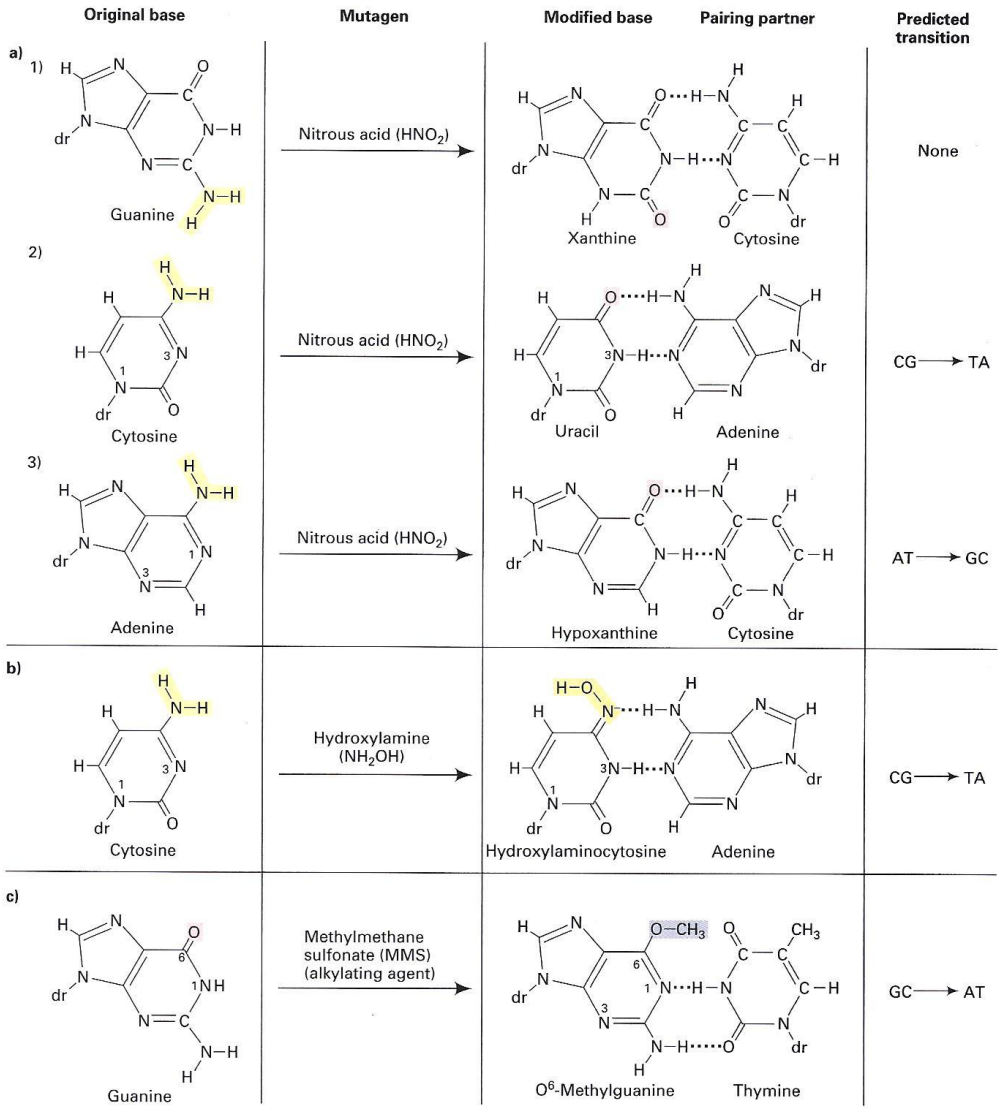
ب- عوامل Hydroxylating agents

ومثالها: Hydroxylamine(NH2OH)

يتفاعل وبشكل خاص مع C ⟵ ارتباط الـ C المتأثرة مع A بدلاً من G

التأثير : TA⟶CG. إذن الطفرات المستحدثة به لا يمكن ارتدادها بالمركب نفسه، لكن يمكن ارتدادها بالمعاملة ب HNO2/2AP/5-BU . الشكل (٢١)

Action of three base-modifying agents. (a) Nitrous acid (HNO_2) modifies (1) guanine, (2) cytosine, and (3) adenine. The cytosine and adenine modifications result in mutations, while the guanine modification does not. (b) Hydroxylamine (NH_2OH) reacts only with cytosine. (c) Methylmethane sulfonate (MMS), an alkylating agent, alkylates guanine. (Note: dr = deoxyribose.)



الشكل(٢١)

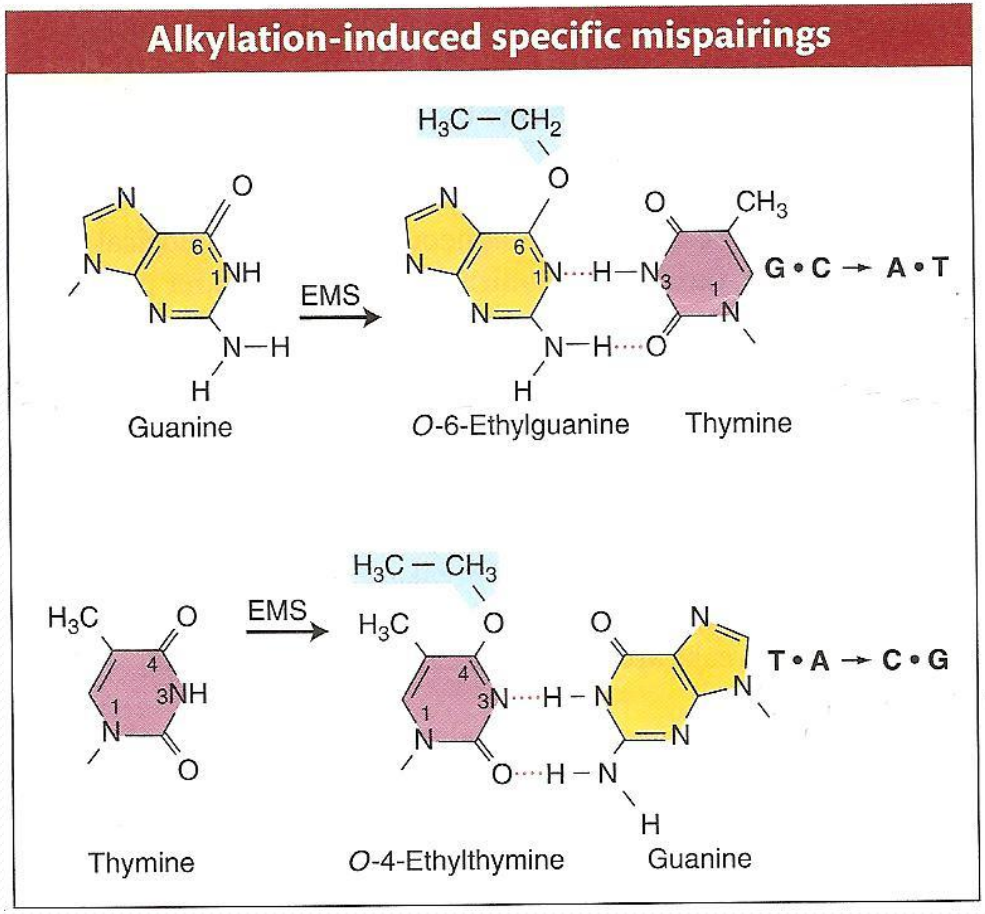
جـ - عوامل مؤلكلة: Alkylating agents

- لا تندمج في الدنا،لكنها تغير من قواعد النيوكليوتيدات⟵ تزاوجات خاطئة
- مثالها: (NG) Nitrosogaunidine/MMS/EMS
- آلية العمل: إضافة مجموعة Alkyl لمواقع عديدة في القواعد الأربع وعلى الأخص

مع G ⟵ O^6 – Alkyl G الذي يتزاوج مع T ليعطي GC⟶AT

مع T ليعطي CG⟶TA الشكل (٢١)

- فاعلة مع بدائية وحقيقية النوى
- يمكن لهذه العوامل أن تحور الـ dNTPs (الوحدات الأساسية لتضاعف الدنا)
- الكلة الـ G ⟵ ممكن ازالته ⟵ AP site ⟵ إصلاح



الشكل (٢١)

FIGURE 15-16 Treatment with EMS alters the structure of guanine and thymine and leads to mispairings.

٣- العوامل الحاشرة Intercalating agents (العوامل المحثة لطفرات تغيير الإطار)

مثالها: ICR-170 /ethidium bromide/ acridine orange/Proflavin

- تشبه أزواج القواعد mimic base pairs ، لكن تحشر نفسها بينها ← إضافة أو انتقاص زوج واحد
- تتداخل مع عمل topoisomerase II ← nicked DNA
- طفرات تغيير الإطار المستحدثة بهذه العوامل يمكن ارتدادها بالمعاملة مرة ثانية بنفس العامل، وهذه الطفرات يمكن إنتاجها خلال تضاعف الدنا أو إصلاحه أو Recombination الشكل (٢٢)

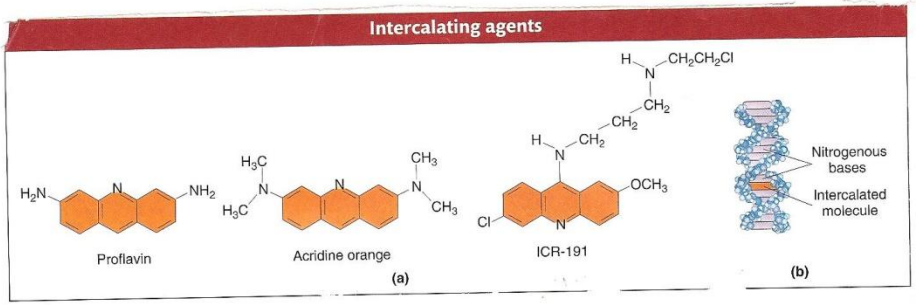
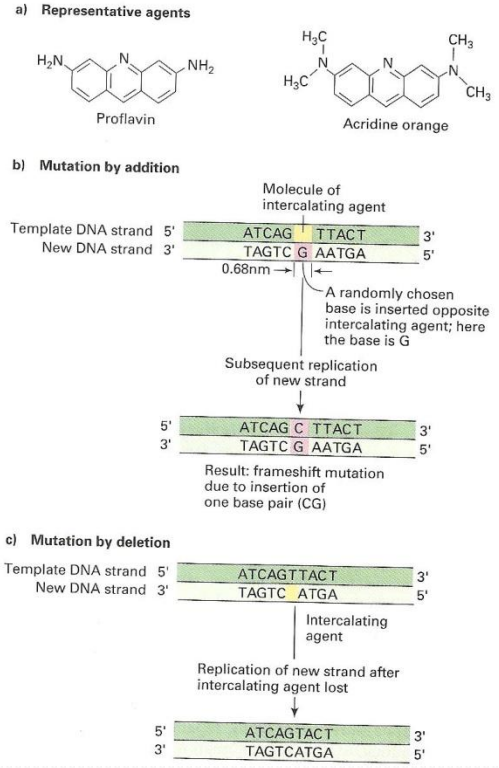


FIGURE 15-17 Structures of common intercalating agents (a) and their interaction with DNA (b). [From L. S. Lerman, "The Structure of the DNA-Acridine Complex," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 49, 1963, 94.]

الشكل (٢٢)

Intercalating mutations. (a) Structures of representative intercalating agents, proflavin and acridine orange: (b) Frameshift mutation by addition, when agent inserts into template strand; (c) Frameshift mutation by deletion, when agent inserts into newly synthesizing strand.



٤- العوامل المتلفة للقواعد: Base damage agents

أ-الأشعة فوق البنفسجية: UV light

أهم تأثيرتها: تكوين ثنائيات البيريميدينات (Pyr. dimers)وخاصة ثنائيات الثايمين (T^T).

الـ C^C و T^C و C^T قد تتكون أيضاً لكنها أقل شيوعاً من T^T

ثنائيات البيريميدينات ← التشويش على الشكل الثلاثي للدنا ← إعاقة تضاعف الدنا

← أخطاء في تتابعاته خلال تضاعفه

إذا كان هذا التأثير مكثف ← قتل الخلايا (تطبيق ذلك؟)

وهناك آليات لإصلاح هذه الأخطاء

-معظم المواد التي تستخدم للوقاية من أشعة الشمس تحتوي على مركبات عضوية تمتص الأشعة فوق البنفسجية مثل Oxybenzone و/أو مواد عاكسة للأشعة مثل Zinc oxide الشكل (٢٣)

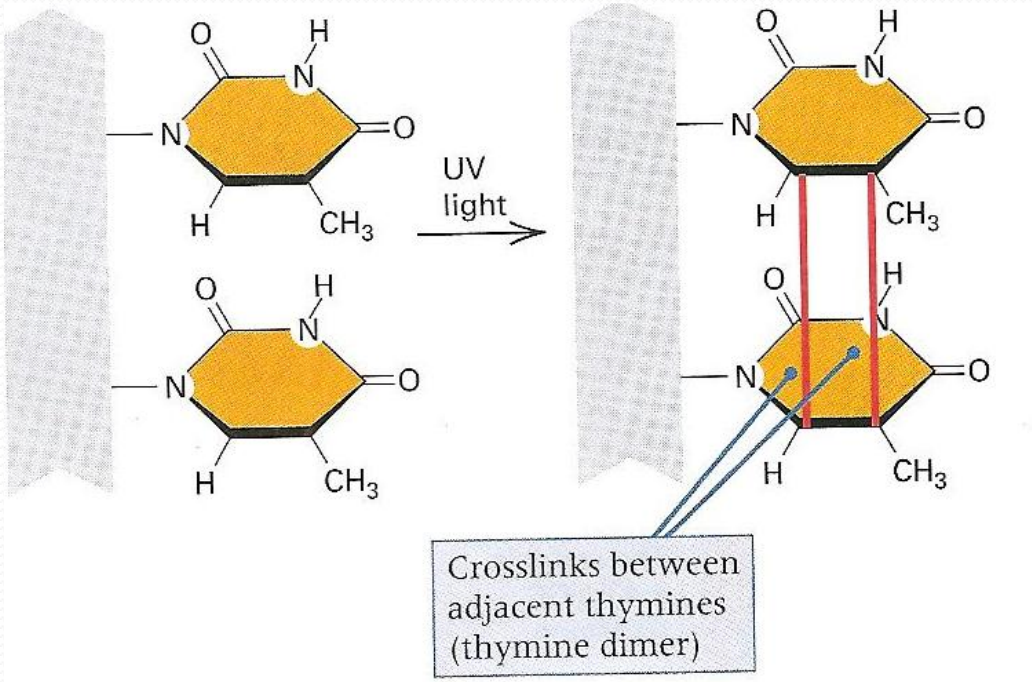


Figure 7.20 (A) Structural view of the formation of a thymine dimer.

الشكل (٢٣)

ب- الأشعة المؤنية: Ionizing radnation

مثالها: أشعة-إكس والجسيمات α و β و γ

- أشعة مؤنية: التفاعل مع الماء أو النسيج الحي ← شوارد حرة نشطة جداً
  ← التفاعل مع الدنا وغيره ← تأثيرات مطفرة ومسرطنة
- أشعة مؤنية: التفاعل مع الدنا أو الكرموسومات بطريقة مباشرة
  ← العديد من التأثيرات (طفرات نقطية/DSBs/SSBs)

- هناك أجهزة للإصلاح لكنها غالباً ← انتقالات/انقلابات/تضاعفات/انتقاصات
- $H_2O_2/O_2^{-}/ {}^{\cdot}OH$ ← تكوين مركبات ترتبط بالقواعد راجع الشكل (١٩) للتعرف عليها (8-OxodG / Thymine glycol)

جـ- الافلاتوكسين: Aflatoxin B1

- مادة مسرطنة فاعلة ترتبط بالـ G في N-7 ← AP site
- يتبع طائفة من المواد الكيميائية المسرطنة التي تسمى Bulky addiction products عندما ترتبط بالدنا
- المثال الآخر على هذه المواد Dioepoxide of benzo (a) pyrene
- كل مركبات هذه الطائفة ← طفرات لكن الآلية ليست دائما واضحة راجع الشكل (٢٤)

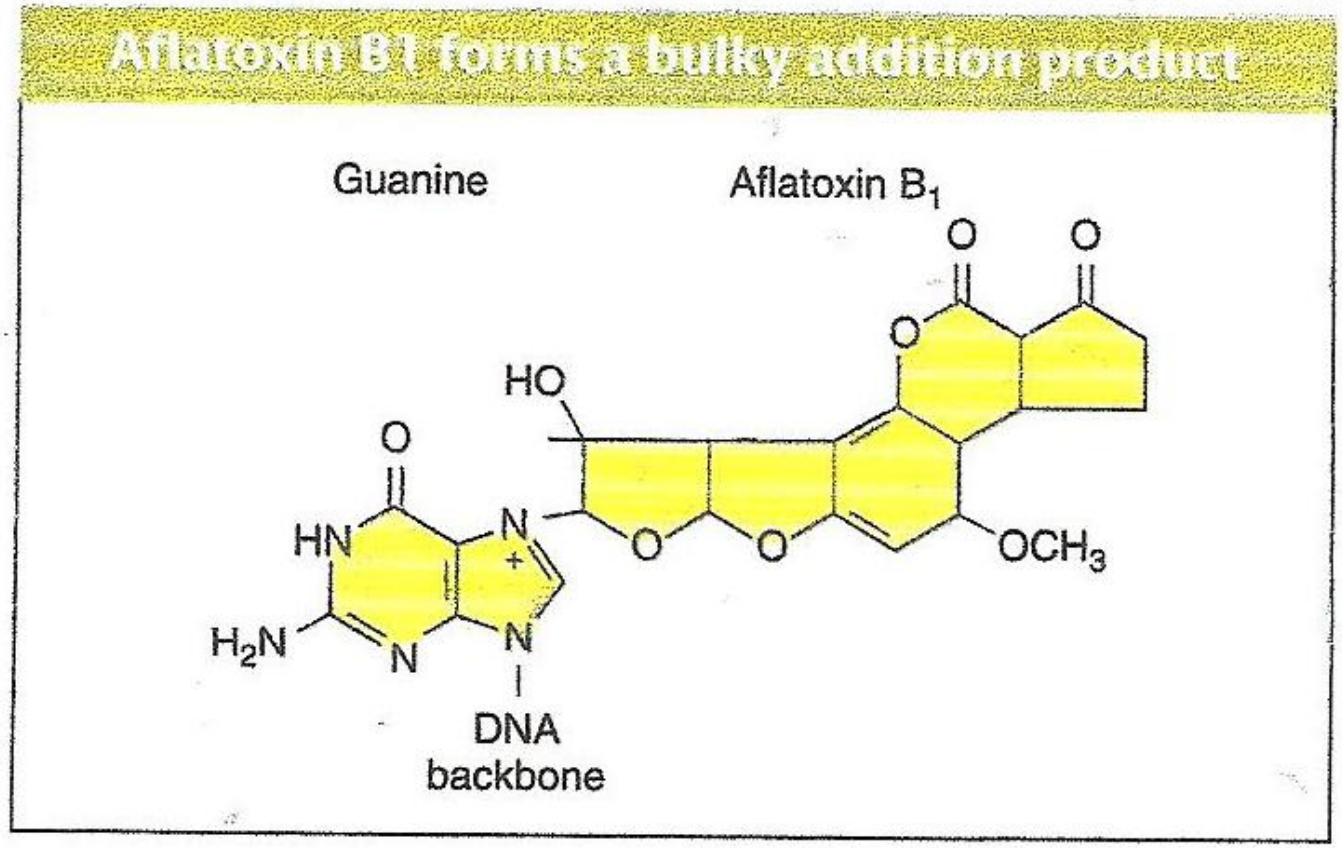


FIGURE 15-19 Metabolically activated aflatoxin B1 binds to DNA.

الشكل (٢٤)

اكتشاف (تعيين/مسح) الطفرات Detection of mutations

- قبل استطاعة الباحثين من دراسة عملية التطفر وبشكل مباشر أو الحصول على كائنات حية طافرة للدراسات الوراثية، لابد وأن يكون هؤلاء الباحثون قادرين على اكتشاف أو تعيين هذه الطافرات.
- سهولة وكفاءة الكائن المستخدم في اكتشاف ذلك تحدد فائدة هذا الكائن الحي في الدراسات الوراثية (فئران/ذبابة الخل/الخمائر).

أ- اكتشاف الطفرات في البكتيريا والفطريات:

- هناك العديد من الوسائل المستخدمة لذلك، ومنها وسائل لاكتشاف الطفرات التغذوية Nutritional mut. باستخدام بيئات استزراع كاملة Complete media وبيئات استزراع منتقصة Minimal culture media.

Prototrophs (+) النمو في بيئات الاستزراع المنتقصة وأيضاً في بيئات الاستزراع الكاملة.

Axotrophs (-) النمو فقط في بيئات الاستزراع الكاملة.

- العديد من الوسائل الحديثة متوفر الآن أيضاً لاكتشاف الطفرات ودراستها دراسة معمقة.

ب- اكتشاف الطفرات في النباتات:

- بالعديد من الوسائل التي منها:

- تحليل المكون الكيموحيوي للنبات
- استزراع الخلايا النباتية في بيئات محددة
- تقنيات Genomics and Reverse Genetics

جـ- اكتشاف الطفرات في الحيوانات:

كما هو الحال مع النباتات+هناك العديد من الاختبارات الوراثية المعدة لهذا الغرض وخاصة في ذبابة الخل وفئران التجارب

د- اكتشاف الطفرات في الإنسان:

- بالعديد من الوسائل، التي منها:

- تحليل سجلات النسب
- تقنيات استزراع الخلايا خارج الجسم *In vitro* cell culture techniques
- تقنيات Genomics and Reverse Genetics

هناك فصل كامل في المرجع رقم (٣) يبحث في هذا الموضوع. الفصل ٢١ الصفحات ٥١٦-٥٤٤

Forward genetic analysis:

يبدأ بعزل الطافرات التي تظهر اختلافات مظهرية للعملية المرغوبة. يلي ذلك تحديد المسارات الجينية وكلونة الجين وإنتاج طافرات أكثر لفهم المسار البيولوجي المعين. وهنا، فإن الطافرات تحدد الوظيفة الطبيعية للجين المعني .

* Reverse genetic analysis:

يبدأ بكلونة الجين البري أو الحصول على الرنا الرسول أو البروتين النقي الطبيعي ←إحداث عملية تطفر موجهة في الموقع الجيني وتحليل الأشكال المظهرية ← ← ← تحديد تأثير الطفرات على الوظيفة الطبيعية للجين ←تحديد وظيفة الجين.

اختبار إيمز: Ames test

- أكثر الاختبارات المستخدمة لتحديد قدرة المركبات الكيميائية على حث الطفرات.
- طور هذا الاختبار بواسطة Bruce Ames في سبعينيات القرن العشرين.
- الاختبار بسيط وسريع ورخيص الثمن وحساس.
- نوع الكائن الحي المستخدم بكتيريا *Salmonella typhimurium*
- الاختبار يستخدم عدة سلالات من هذا الكائن تحتوي على آليلات طافرة للجين المسؤول عن تضييع الحمض الأميني (his) معروف أنها ترتد بواسطة أحداث طفورية إضافية، فمثلا:

هناك اليل طافر يدعى - TA 100 $\xleftarrow[\text{(مرتدة)}]{\text{طفرة احلال}}$ TA 100 +

طفرات تغيير الإطار (مرتدة)

- TA 1538 $\longleftarrow$ TA 1538 +
- TA 1535 $\longleftarrow$ TA 1535 +

وهذه السلالة حساسة للتطفر، لأنها تحتوي أيضاً على تغيرات في جينات إصلاح الدنا.

- هذه السلالات الطافرة لا تستطيع النمو في بيئات استزراع لا تحتوي على هذا الحمض الأميني لكن إن ارتدت ← تستطيع النمو ← مستعمرات
- راجعي الشكل رقم (٢٥).
- لماذا يَستخدم الاختبار مستخلص كبد الجرذ؟

Promutagen ——إنزيمات / كبد——→ mutagen

- لتقدير تكرار التطفر:

حساب عدد المستعمرات النامية في الأطباق

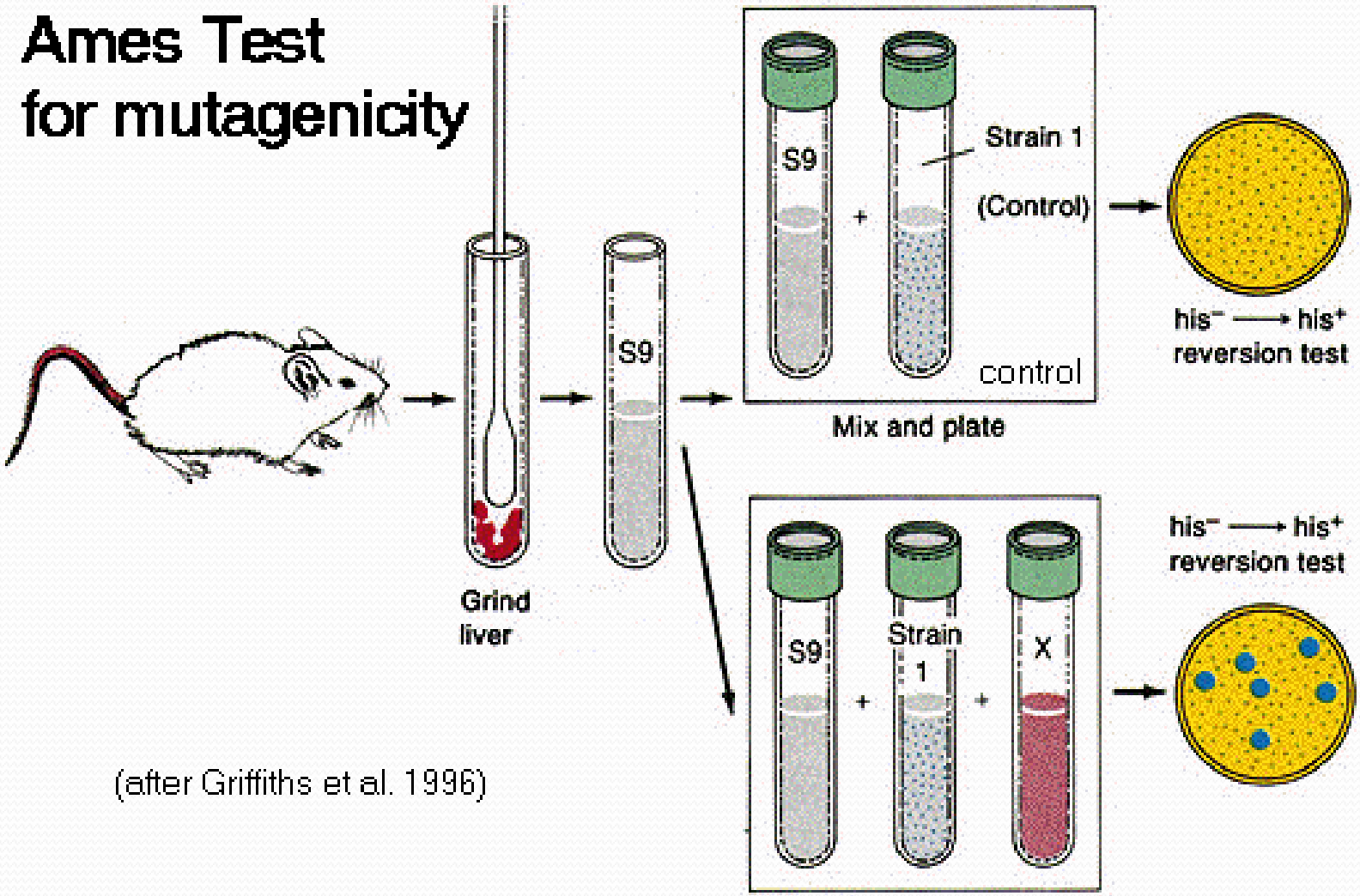
عدد البكتيريا الكلي المستزرع — للأطباق المحتوية على المركب

للأطباق غير المحتوية على المركب (ضابطة)

التكرار = عدد المستعمرات النامية / العدد الكلي للبكتيريا المستزرعة

مقارنة ذلك إحصائياً

Ames Test for mutagenicity



(after Griffiths et al. 1996)

الشكل (٢٥)

- يمكن دراسة قدرة المركبات على حث الطفرات أو السرطان باستخدام العديد من الكائنات الحية (فطريات/نباتات/خلايا مستزرعة)، لكن اختبار إيمز أكثرها شيوعاً.

- الاختبار مفيد كوسيلة مسح أولية، ويستخدم بكثافة عند تطوير أو تصنيع المركبات الكيميائية (في المجال الصناعي أو الطبي وخلافه).

- الاختبار لا يثبت أن المركب مسرطن، لماذا؟

ظاهرة انتقال العناصر الوراثية المتنقلة Transposition

١) العناصر الوراثية المتنقلة: Transposable genetic elements –TEs

عناصر متنقلة Transposons = TEs

- قطع دنا تنتقل بذاتها من موقع لآخر داخل الكرموسومات.
- تسمى أحياناً بالجينات القافزة Jumping genes لأنها قابلة للإنتقال ذاتياً.

Retroposons = Retroelemnents = REs

- نوع من أنواع العناصر الوراثية المتنقلة التي تنتقل أو تتحرك من موقع لآخر من خلال RNAs وسيطة.

تم التعرف على هذه العناصر في البداية بواسطة الباحثة B. McClintock في بداية الخمسينيات من القرن العشرين من خلال دراساتها التقليدية لنبات الذرة. ومنذ ذلك التاريخ، اكتشف علماء الوراثة العديد من أنواع هذه العناصر في العديد من الكائنات الحية كالبكتيريا والفطريات والنباتات والحيوانات والإنسان.

٢) آليات انتقال (تحرك) العناصر الوراثية المتنقلة:

أ) انتقال بسيط أو محافظ

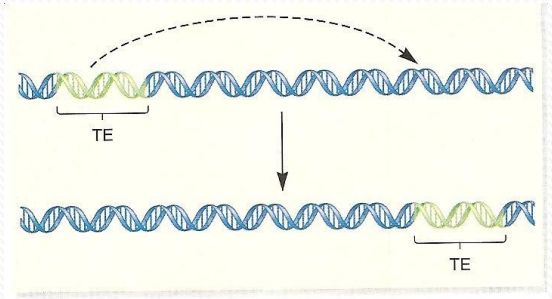
- تحرك أو انتقال العنصر من موقعه الأصلى إلى موقع مستهدف جديد.
- شائعة الانتشار في الأنواع البكتيرية والأنواع حقيقية النوى.
- الآلية تسمى أيضاً بال Cut- and- paste ، لأن العنصر يتم قطعه من موقعه الأصلي ← موقع جديد في الكرموسوم أو الجينوم.

ب) انتقال تضاعفي (RT)

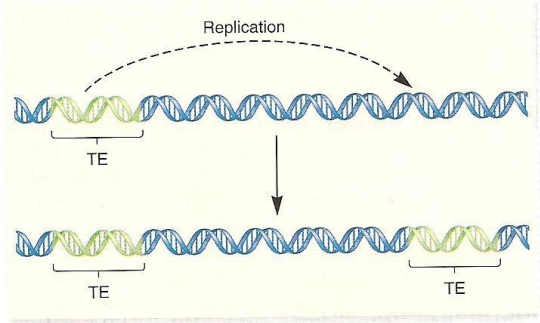
- يتضمن تضاعف العنصر في البداية ثم اندماج النسخة المتضاعفة في موقع آخر من الكرموسوم أو الجينوم.
- غير شائع نسبياً، ويوجد في الأنواع البكتيرية فقط
- أ و ب العنصر ينتقل كـ دنا من موقع لآخر داخل الجينوم وكلاهما = Transposons الشكل (٢٦)

ج) Retrotranspsition

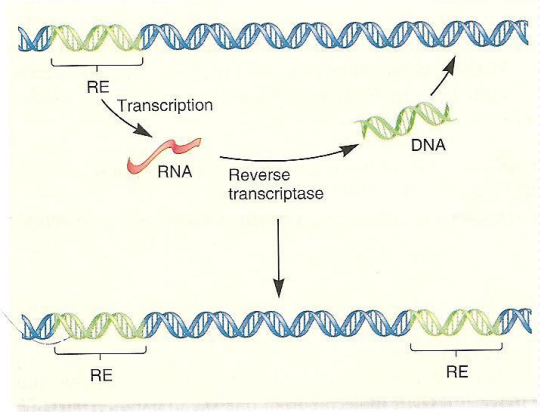
- العنصر ينتقل هنا من خلال RNAs وسيطة.
- شائعة في الأنواع حقيقية النوى.
- = Retroposons أو retrotransposons
- العنصر ← RNA ←dsDNA ← اندماج في الموقع الجديد
- تزداد أعدادها خلال عملية الانتقال مثل ب



(a) Simple transposition



(b) Replicative transposition



(c) Retrotransposition

FIGURE 17.12 Three mechanisms of transposition.

الشكل (٢٦)

٣) لكل نوع من أنواع العناصر المتنقلة نمط مميز من تتابعات الدنا: الشكل (٢٧ أ، ب، ج)

أ- العناصر التي تنتقل أو تتحرك بواسطة الانتقال البسيط:

ومثالها: تتابع الدمج (Insertion sequence – IS) و (Composite transposon - CT)

- كلاهما يحاط بتكرار مباشر DR = تتابعات نيوكليوتيدية متماثلة لها نفس التكرار والاتجاه وتوجد عند نهايتي العنصر.

IS: يوجد وبشكل شائع في البكتيريا

CT: منتشر أيضاً في البكتيريا

- كلاهما يحاط أيضاً بتتابعات معكوسة (IRs) (تتابعات متماثلة أوقريبة من التماثل/لكنها تكون معكوسة الاتجاه)
- IS: تحتوي على جين ← Transposase
- **IC:** تحتوي على جين ← Transposase
  + جين ← مقاومة المضادات الحيوية

أو المعادن السامة الثقيلة الشكل (٢٧-أ)

الإنتقال من خلال التحرك البسيط.

ب- عناصر وراثية تتحرك بالانتقال التضاعفي: Replicative transposons

- لها تنظيم تتابعي مشابه لعناصر الدمج (IS) + جين ← Resolvase.
- الانزيمان Transposase و resolvase ضروريان لتحفيز انتقالها أو تحركها.

ج- العناصر التي تنتقل من خلال وسائط الرنا (Retrotransposons)

تنظيم تتابعات هذه العناصرمتباين جداً ويتم تقسيمها على أساس العلاقة التطورية لتتابعات الفيروسات المسماة بالـ retroviruses = فيروسات مادتها الوراثية هي الرنا ← dsDNA← يندمج في جينومات عوائلها.

هناك نوعان من هذه العناصر:

١- عناصر تشبه الفيروسات المرتدة Viral-like retroelements

- مرتبطة تطورياً بهذه الفيروسات.
- لها القدرة على التحرك إلى مناطق أخرى من الجينوم، وفي معظم الحالات لا تنتج جسيمات فيروسية ناضجة
- تحتوي على تكرارات انتهائية طويلة (LTRs) توجد عند نهايتي كل عنصر+ جين← reverse transcriptase

+ جين ← integrase

الا نزيمان مهمان في عملية تحركها من موقع لآخر الشكل (٢٧- ب)

٢- عناصر لا تشبه الفيروسات المرتدة Nonviral-like retroelements

- أقل شبهاً في تتابعاتها لهذه الفيروسات الشكل (٢٧- جـ).
- قد تحتوي على جين ← reverse transcriptase.
- بعضها مشتق تطورياً من جينات طبيعية توجد في الكائنات الحية حقيقية النوى.

مثالها: عائلة *Alu* (تتابعات متكررة توجد في الإنسان وهي مشتقة من جين مفرد يسمى 7SL RNA gene)

العناصر المتنقلة

عناصر تامة = Autonomous Elements

- **هي عناصر تحتوي على كل المعلومات الضرورية لعملية التحرك.**

عناصرغير تامة = Nonautonomous Elements

- **هي عناصر تفتقد للجين المشفر للـ transposase أو الجين المشفر للـ reverse transcriptase اللازمة لعملية التحرك.**
- **ومثالها العنصر أو الموقع Ds في الذرة المفتقد لجين Transposase ويحتاج للموقع أو العنصر Ac لانتقاله في الجينوم.**

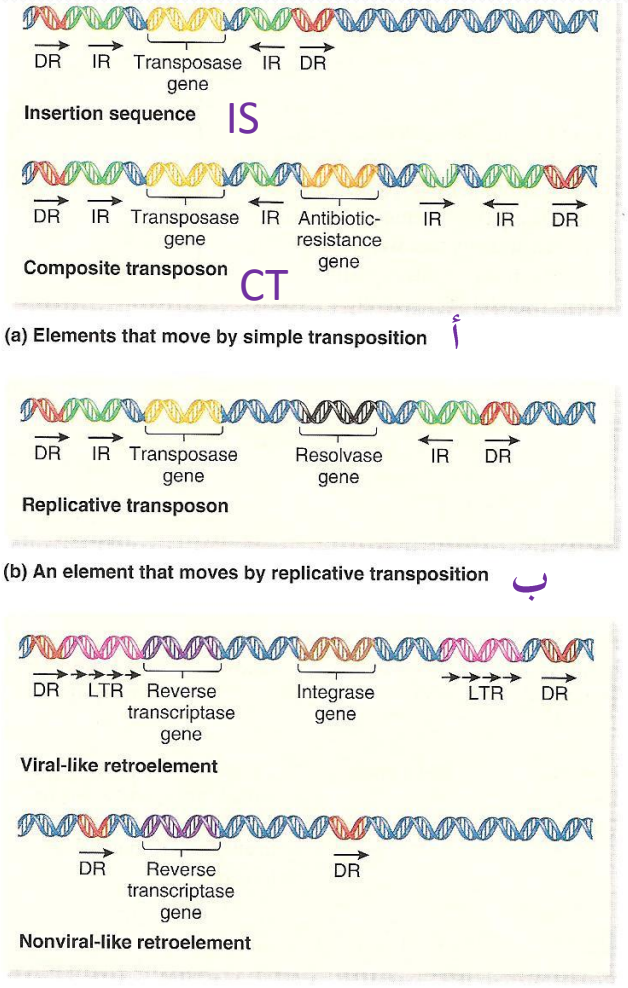


FIGURE 17.13 **Common organizations of transposable elements.** Direct repeats (DRs) are found within the host DNA. Inverted repeats (IRs) are at the ends of most transposable elements. Long terminal repeats (LTRs) are regions containing a large number of tandem repeats.

الشكل (٢٧)

٤) آلية القطع والاندماج للعناصر الوراثية التي تتحرك بالانتقال البسيط:

- **راجعي الشكل (٢٨)**
- **لاحظي أن عملية التحرك والاندماج لا تزيد من عدد العناصر الوراثية المتنقلة وبطريقة مباشرة، إلا أن هذه العملية معروف عنها أنها تؤدي إلى زيادة عدد هذه العناصر في الجينوم. كيف؟ راجعي الشكل (٢٩).**
- **عملية التحرك أو الانتقال تحدث غالباً حول زمن تضاعف الدنا.**
- **بعد عبور شوكة التضاعف المنطقة المحتوية على العنصر ← مشاهدة عنصرين خلف هذه الشوكة**
- **أحد هذين العنصرين قد ينتقل أو يتحرك من موقعه الأصلي إلى منطقة توجد قبل شوكة التضاعف ← ↑ العناصر.**

الشكل (٢٩)

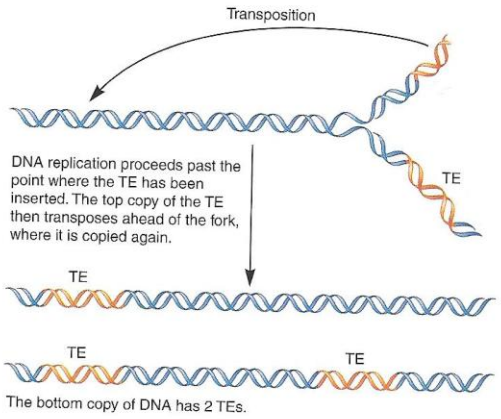


FIGURE 17.15 **Increase in TE copy number via simple transposition.** In this example, a TE that has already been replicated transposes to a new site that has not yet replicated. Following the completion of DNA replication, the TE has increased in number.

الشكل (٢٨)

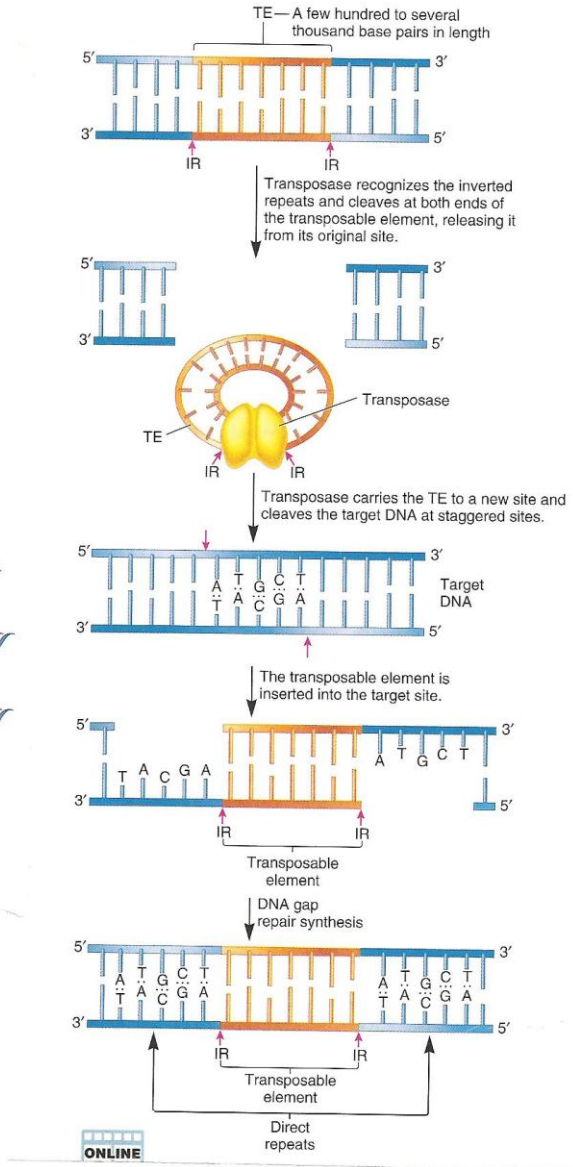


Fig. 17.14. Simple Transposition

٥) تواجد العناصر المتنقلة في الكائنات الحية:

- توصل الباحثون إلى أن العناصر المتنقلة قد أو من المحتمل أن توجد في جينومات كل أنواع الكائنات الحية. والجدول رقم (٨) يصف أمثلة قليلة لمثل هذه العناصر التي تم دراستها بشئ من التفصيل.
- تحتوي جينومات الأنواع حقيقية النوى عادة على تتابعات متكررة متوسطة وعالية التكرار. وفي بعض الحالات، فإن هذه التتابعات المتكررة ترجع إلى تكاثر هذه العناصر: ففي الثدييات على سبيل المثال هناك:

أ- **Long interspersed elements = LINEs**

- يبلغ طول كل منها ما بين ١٠٠٠ - ١٥٠٠ زوج قاعدي وتوجد في ما بين ٢٠٠٠٠ – ١٠٠٠٠٠ نسخة/جينوم.

ب- **Short interspersed elements = SINEs**

- يبلغ طولها حوالي ٥٠٠ زوج قاعدي أو اقل من ذلك. ومن أمثلتها *Alu* الذي يوجد في حوالي مليون نسخة في جينوم الإنسان. أي أن ١٠٪ من جينوم الإنسان يتكون من هذا العنصر. لازال هذا العنصر مستمراً في تكاثره في جينوم الإنسان لكن بمعدل بطئ نسبياً. وفي حوالي ١/٢٠٠ ولادة حية، فإن هذا العنصر يندمج في مواقع جديدة في جينوم الإنسان وفي النادر فإن هذا الاندماج الجديد ← تشويش للجينات ← عيوب مظهرية.

الجدول (٨)

Examples of Transposable Elements

Element	Type	Approximate Length (bp)	Description
Bacterial			
IS1	Insertion sequence	768	An insertion sequence that is commonly found in 5–8 copies in *E. coli*.
Mu	Replicative transposon	36,000	A true virus that can insert itself anywhere in the *E. coli* chromosome. Its name, *Mu*, is derived from its ability to insert into genes and mutate them.
Tn10	Composite transposon	9,300	One of many different bacterial transposons that carries antibiotic resistance.
Tn951	Composite transposon	16,600	A transposon that provides bacteria with genes that allow them to metabolize lactose.
Yeast			
Ty elements	Viral-like retroelement	6,200	A retroelement found in *S. cerevisiae* at about 35 copies per genome.
Drosophila			
P elements	Simple transposon	500–3,000	A transposon that may be found in 30–50 copies in P strains of *Drosophila*. It is absent from M strains.
Copia-like elements	Viral-like retroelement	5,000–8,000	A family of *copia*-like elements found in *Drosophila*, which vary slightly in their lengths and sequences. Typically, each family member is found at about 5–100 copies per genome.
Humans			
Alu sequence	Nonviral-like retroelement	300	A SINE that is abundantly interspersed throughout the human genome.
L1	Viral-like retroelement	6,500	A LINE found in 50,000–100,000 copies in the human genome.
Plants			
Ac/Ds	Simple transposon	4,500	*Ac* is an autonomous transposon found in corn and other plant species. It carries a transposase gene. *Ds* is a nonautonomous version that lacks a functional transposase gene.

- وفرة أو غزارة العناصر المتنقلة تتباين وبشكل واسع في الأنواع المختلفة. وكما هو موضح في الجدول (٩)، فإن هذه العناصر واسعة الانتشار في البرمائيات والثدييات والنباتات الزهرية، لكنها أقل غزارة في الكائنات الحية البسيطة مثل البكتيريا والخمائر(yeasts).
- الأهمية البيولوجية للعناصر المتنقلة في تطورالأنواع بدائية وحقيقية النوى لا تزال موضع جدل:

أ- فطبقاً لفرضية Selfish DNA

- العناصرالمتنقلة موجودة لأنها تحتوي على خصائص تسمح لها بالتكاثر داخل الدنا الكرموسومي للخلايا الحية. فهي تشبه الطفيليات في كونها تعيش داخل الخلايا دون تقديم أي منفعة انتخابية للكائن الحي. فهي تستطيع أن تتكاثر طالما أنها لم تتسبب بأضرار مميتة تؤثر على بقائه.

ب- علماء وراثة أخرون يعتقدون أن معظم أحداث تحرك هذه العناصر ضارة بالكائن.

ولذلك، فإن هذه العناصر كان من المفترض أن تحذف من جينومات الكائنات الحية بالانتخاب الطبيعي لولا أنها قدمت أيضاً بعض المنافع. ولقد اقترح عدد من هذه المنافع ومنها:

الجدول (٩)

Abundance of TEs in the Genomes of Selected Species

Species	Percentage of the Total Genome Composed of Transposable Elements*
Frog (*Xenopus laevis*)	77
Corn (*Zea mays*)	60
Human (*Homo sapiens*)	45
Mouse (*Mus musculus*)	40
Fruit fly (*Drosophila melanogaster*)	20
Nematode (*Caenorhabditis elegans*)	12
Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)	4
Bacterium (*Escherichia coli*)	0.3

*In some cases, the abundance of TEs may vary somewhat among different strains of the same species. The values reported here are typical values.

١ـ وجود العناصر المتنقلة قد يؤدي إلى تباين وراثي أكبر من خلال السماح بالـ Recombination

٢ـ العناصر المتنقلة البكتيرية غالباً ما تحمل جين مقاوم للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة السامة ← ↑بقاء هذه الكائنات

٣ـ ظاهرة تحرك هذه العناصر قد تتسبب في اندماج خرجونات (exons) في التتابعات المشفرة للجينات التركيبية. وهذه الظاهرة تعرف باسم exon shuffling التي تؤدي إلى تطور جينات لها وظائف متنوعة.

- الجدل حول الأهمية البيولوجية للعناصر المتنقلة لا زال مستمراً، لكن من الواضح أن هذه العناصر تستطيع الدخول وبسهولة إلى جينومات الكائنات الحية والتكاثر وبسرعة.

ففي الدروسفيلا على سبيل المثال:

- هناك عنصر يعرف بالعنصر P والذي من المحتمل أنه دخل إلى هذا النوع في الخمسينيات من القرن العشرين ← انتشر في كل عشائر هذا النوع تقريباً وعلى نطاق واسع جداً، وهذا المثال يوضح القدرة الهائلة لهذه العناصر على الولوج إلى عشائر الكائنات الحية.

٦) تأثيرات عملية تحرك العناصر المتنقلة على الكائنات الحية:

- يوضح الجدول (١٠) التأثيرات المتنوعة الممكنة للعناصر المتنقلة على تركيب كرموسومات والتعبير الجيني للكائنات الحية التي تمتلكها.
- العديد من التأثيرات الموضحة في هذا الجدول هي تأثيرات ضارة بالكائن الحي، ولذلك فإن عملية تحرك هذه العناصر من موقع لآخر داخل الجينوم يتم تنظيمها عادةً وبشكل دقيق جداً، وبحيث تحدث فقط في أفراد قليلة تحت ظروف معينة. على أية حال، الأشعة والمواد الكيميائية المطفرة والهرمونات تحفز تحرك هذه العناصر.
- عندما لا يتم تنظيم تحرك هذه العناصر وبشكل دقيق، فإن عملية انتقالها سوف يكون لها تأثيرات ضارة بالكائن الحي. فعلى سبيل المثال:

إناث مفقدة للعنصر P X ذكور محتوية على العديد من العناصر P

↓

نسل خليط يعاني من العديد من العيوب مثل

معدل عالي من العقم والطفرات والكسور الكرموسومية

= تأثير ضار = hybrid dysgenesis

لأن العناصر P قادرة على الاندماج في مواقع متنوعة في الجينوم

الجدول (١٠)

Possible Consequences of Transposition

Consequence	Cause
Chromosome Structure	
Chromosome breakage	Excision of a TE.
Chromosomal rearrangements	Homologous recombination between TEs located at different positions in the genome.
Gene Expression	
Mutation	Incorrect excision of TEs.
Gene inactivation	Insertion of a TE into a gene.
Alteration in gene regulation	Transposition of a gene next to regulatory sequences or the transposition of regulatory sequences next to a gene.
Alteration in the exon content of a gene	Insertion of exons into the coding sequence of a gene via TEs. This phenomenon is called exon shuffling.
Gene duplications	Creation of a composite transposon that transposes to another site in the genome.

٧) العناصر المتنقلة هي الآن وسائل تجريبية مهمة في علم الأحياء الجزيئي:

- الخصائص الفريدة وغير العادية للعناصر المتنقلة جعلتها الآن أداة تجريبية مهمة في علم الأحياء الجزيئي. فالباحثون يقومون الآن بادخال هذه العناصر إلى الخلايا وبطريقة ملائمة لتغيير جين معين.
- إذا اندمج هذا العنصر في الجين المعني ← كبح أو تثبيط وظيفته ← كلونة هذا الجين
- ظاهرة كلونة الجينات باستخدام العناصر المتنقلة تدعى بالـ Transposon tagging وهي عبارة عن تقنية لكلونة الجينات يتم فيها دمج العنصر المتنقل إلى الجين المعني وكبحه ثم كلونته باستخدام عنصر مكمل كمسبار (probe)للتعرف على الجين. راجعي الشكل (٣٠).

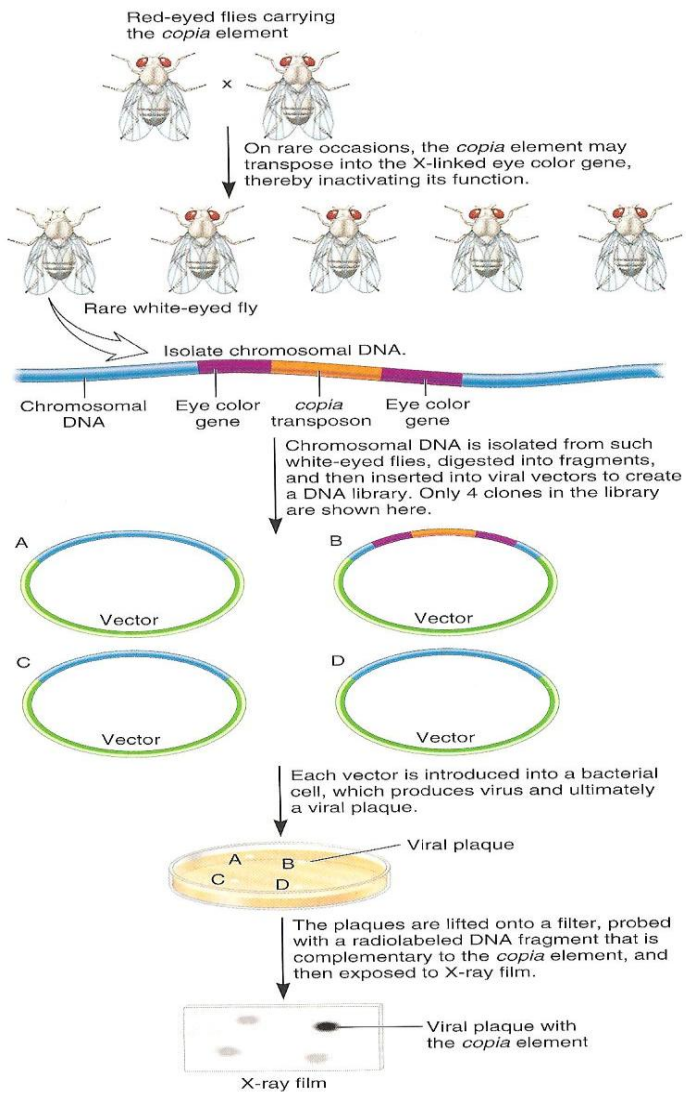


FIGURE 17.18 The procedure of transposon tagging.

Genes→Traits A white-eyed fly may occur due to the insertion of a transposable element into a gene that confers red eye color. As discussed in Chapter 13, the wild-type eye color gene encodes a protein that is necessary for red pigment production. When a TE inserts into this gene, it disrupts the coding sequence and thereby causes the gene to produce a nonfunctional protein. Therefore, no red pigment can be made, and a white-eye phenotype results. In many cases, transposons affect the phenotypes of organisms by inactivating individual genes.

الشكل (٣٠)

تعليق أخير:

إعادة ترتيب قطع الدنا داخل الجينوم = Recombination

إعادة ترتيب متماثل

Homologous recombination

- تبادل للمادة الوراثية بين الكروماتيدات غير الشقيقة خلال الانقسام الميوزي
- تبادل للمادة الوراثية بين الكروماتيدات الشقيقة خلال الانقسام الميتوزي الشكل (٣١).

الأهمية:

- زيادة التنوع الوراثي
- المساعدة في إصلاح الدنا
- ضمان الانعزال الدقيق للكرموسومات

إعادة ترتيب خاص بالموقع

Site-specific recombination

- إعادة ترتيب غير متماثل Nonhomologous recomb.
- تبادل للمادة الوراثية بين قطع الدنا غير المتماثلة عند مواقع خاصة الشكل (٣٢).

الأهمية:

- اندماج جينومات فيروسات معينة في دنا خلية العائل
- ↑ تنوع الأجسام المضادة في الجهاز المناعي للكائن الحي

Transposition

راجعي موضوع العناصر المتنقلة

إعادة ترتيب وراثي = Genetic recombination

إعادة ترتيب للمادة الوراثية في الكائن الحي لانتاج توافيق وراثية جديدة تختلف عن الأصل.

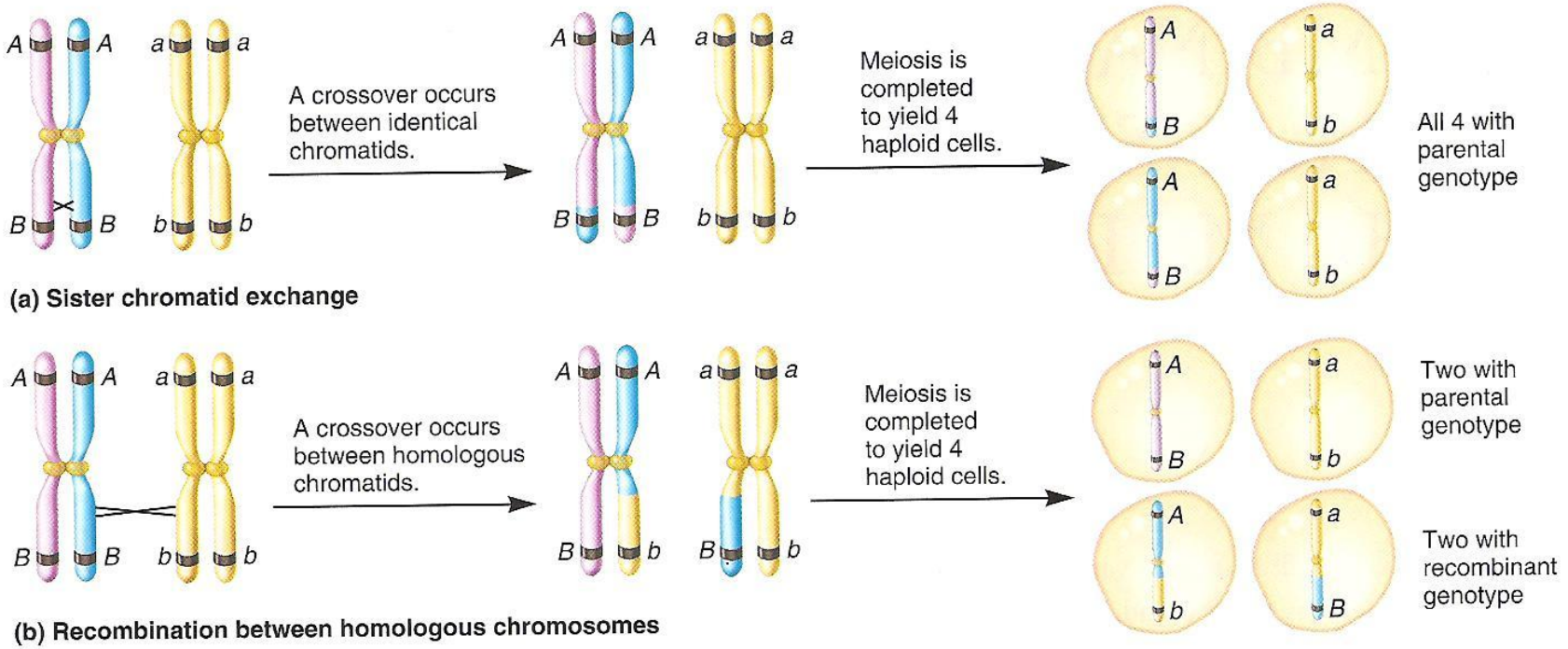


FIGURE 17.1 **Crossing over between eukaryotic chromosomes.** (**a**) Sister chromatid exchange occurs when genetically identical chromatids cross over. (**b**) Homologous recombination can also occur when homologous chromosomes cross over. This form of homologous recombination may lead to a new combination of alleles, which is called a recombinant (or nonparental) genotype.

Genes→Traits Homologous recombination is particularly important when we consider the relationships between multiple genes and multiple traits. For example, if the X chromosome in a female fruit fly carried alleles for red eyes and gray body and its homologue carried alleles for white eyes and yellow body, homologous recombination could produce recombinant chromosomes that carry alleles for red eyes and yellow body, or alleles for white eyes and gray body. Therefore, new combinations of two or more alleles can arise when homologous recombination takes place.

الشكل (٣١)

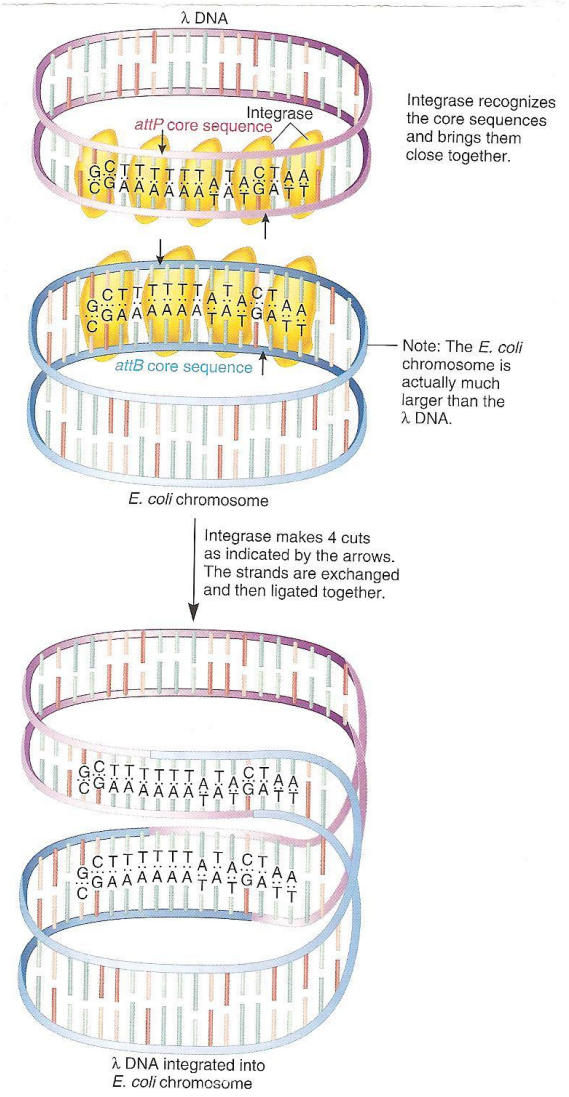


FIGURE 17.8 **The integration of λ DNA into the *E. coli* chromosome.** The core sequence within *attP* in the λ DNA attaches to the core sequence within *attB* in the *E. coli* chromosome. As noted here, the core sequences of *attP* and *attB* are identical to each other and thereby provide recognition sites for site-specific recombination.

الشكل (٣٢)