

التغيرات الموقعية (الجينية)
Point mutation
(الطفرات)

مقدمة

- من المعروف أن توارث الصفات أو إنتقال المعلومات الوراثية في الكائنات الحية يعتمد علي انتقال الجينات المحمولة علي الكروموسومات بمنتهي الدقة من الالباء الي النسل اثناء التكاثر من جيل الي جيل .
- الجينات عبارة عن تتابعات من النيوكليوتيدات أو القواعد النيتروجينية توجد فى سلاسل الـ DNA ويحدث لها تناسخ ونسخ وترجمة لإنتاج البروتينات (التعبير الجينى) ولا بد أن تتم هذه العمليات بصورة صحيحة للمحافظة على بقاء النوع.
- و لتحقيق ذلك تقع المسؤولية الرئيسية على حدوث التزاوجات الصحيحة بين النيوكليوتيدات (خاصية إزدواج القواعد) والمراجعة وتصحيح الأخطاء إذا وجدت Repair & proofreading والتي يقوم بها مجموعة من الإنزيمات التى تعمل على تصحيح هذه الاخطاء وعند حدوث فشل فى إصلاح الـ DNA تنتج الطفرات Mutation.

الطفرة الوراثية

• تعرف الطفرة الوراثية بأنها تغير مفاجئ مستمر في التركيب الوراثي (لا يرجع سببه الي الانعزال او الاتحادات الجديدة) ينشأ عنه اليل جديد والذي يختلف عن الاليل الاصلي في مدي فعله وتأثيره علي التعبير المظهري لصفة معينة وهي تورث من جيل الي جيل.

• تنقسم الطفرات حسب طبيعة نشأتها الي نوعين:

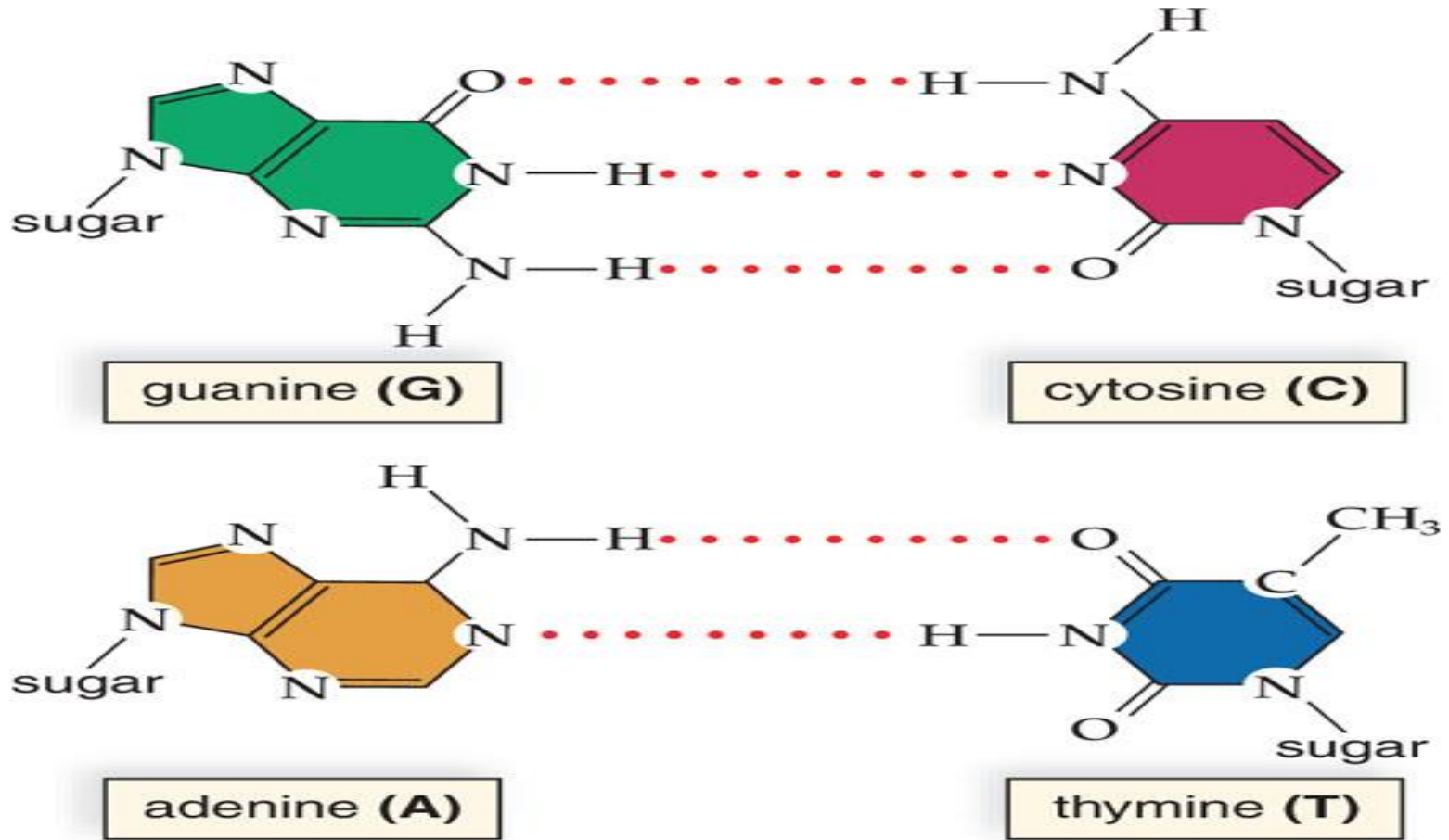
أ- **طفرات تلقائية** (Spontaneous mutation) وهي التي تحدث طبيعيا بدون سبب معلوم وتعاود الظهور بين الحين والآخر ومعدل حدوثها ضئيل يتراوح ما بين واحد في المائة الف الي واحد في العشرة مليون. ويعتمد معدل حدوثها علي الحالة الفسيولوجية والكيموحيوية للخلية.

ب- **الطفرات المستحدثة** (Induced mutation) التي تحدث نتيجة معاملة بالمواد المطفرة مثل الأشعة أو الحرارة أو بعض المواد الكيميائية التي تتفاعل مع المادة الوراثية مثال لذلك أشعة جاما وازايد الصوديوم.

- وقد شوهدت الطفرات في جميع الكائنات مثل عفن الخبز والذرة والانسان وأيضا حشرة الدروسوفيلا التي كان لها الفضل في اكتشاف أثر الاشعة السينية في استحداث الطفرات وقد تم التعرف فيها على المئات من الآليات الطبيعية والتي حدث فيها طفرة علي سبيل المثال (أليات لون العين، قضم الأجنحة، لون الجسم).
- تحدث الطفرة نتيجة تغير في ترتيب القواعد النيتروجينية بالفقد أو الاضافة أو الإستبدال، مما يؤدي إلى تغير في تركيب الجين وبالتالي يتغير تركيب البروتين الذي يُشفر له الجين ويعتمد ثبات تركيب الجين على التزاوج الصحيح بين القواعد .
- يعتمد التزاوج الصحيح بين القواعد على وجود شكل أو تركيب معين لقواعد البيورين و البيريميدين (tautomers) .

التزاوج الصحيح بين القواعد

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



الأساس الجزيئى للطفور

• عندما وصف واطسون وكريك تركيب سلسلة الـ د ن أ المزدوجة وافترضنا التناسخ بالطريقة شبه المحافظة المبني على التزاوج الخاص بالقواعد كان ذلك لتوضيح الانتقال الدقيق للمعلومات الوراثية من جيل لآخر كما أنهما افترضا أيضاً تفسير ميكانيكية الطفور التلقائي .

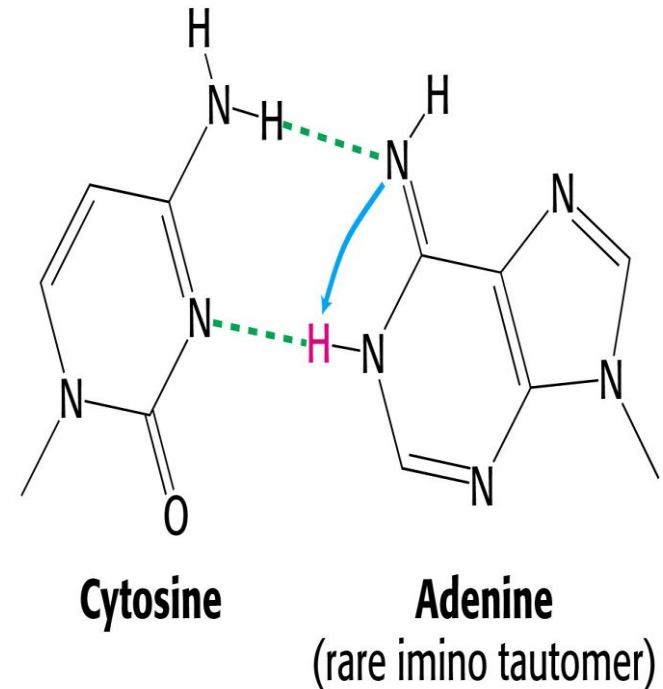
✓ فقد استنتج واطسون وكريك أن تركيب القواعد ليس ثابتاً، فذرات الهيدروجين تستطيع التحرك من وضع أو مكان معين في البيورين أو البيريميدين إلى مكان آخر، مثلاً من مجموعة الأمين إلى حلقة النيتروجين (السيٲوزين والأدينين) أو من حلقة النيتروجين إلى مجموعة الكيتون (ثيامين – جوانين) . وهذا التغير أو التردد الكيمائى يسمى **التبادل المشابه التردد Tautomeric shifts** ورغم أن هذا النظام يعتبر نادراً إلا أنه يعتبر مهماً فى بناء الـ د ن أ حيث أنه يغير أو يبدل نظام ازدواج القواعد المحتمل الحدوث .

التبادل المشابه التردد Tautomeric shifts

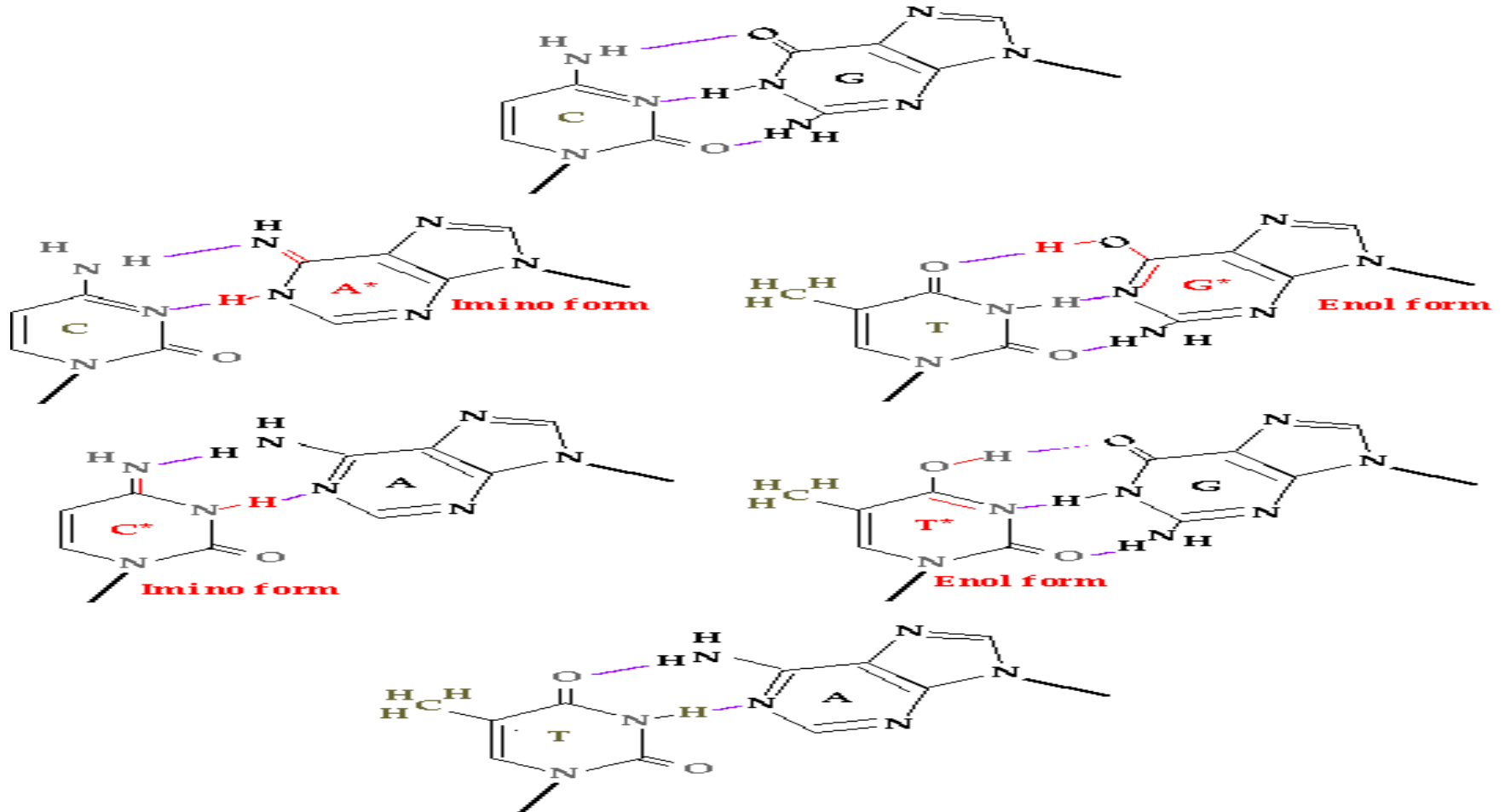
- الشكل الطبيعي الأكثر إستقرارًا هو حالة الأمينو amino للقواعد الأمينية (A ,C) وحالة الكيتون للكواعد الكيتونية (G , T)
- الشكل الغير الطبيعي الأقل إستقرارًا هو الإمينو Imino و الإينول enol إذا وجدت ولم تصح تؤدي لحدوث طفرات.



Figure 19-6 Principles of Biochemistry, 4/e
© 2006 Pearson Prentice Hall, Inc.

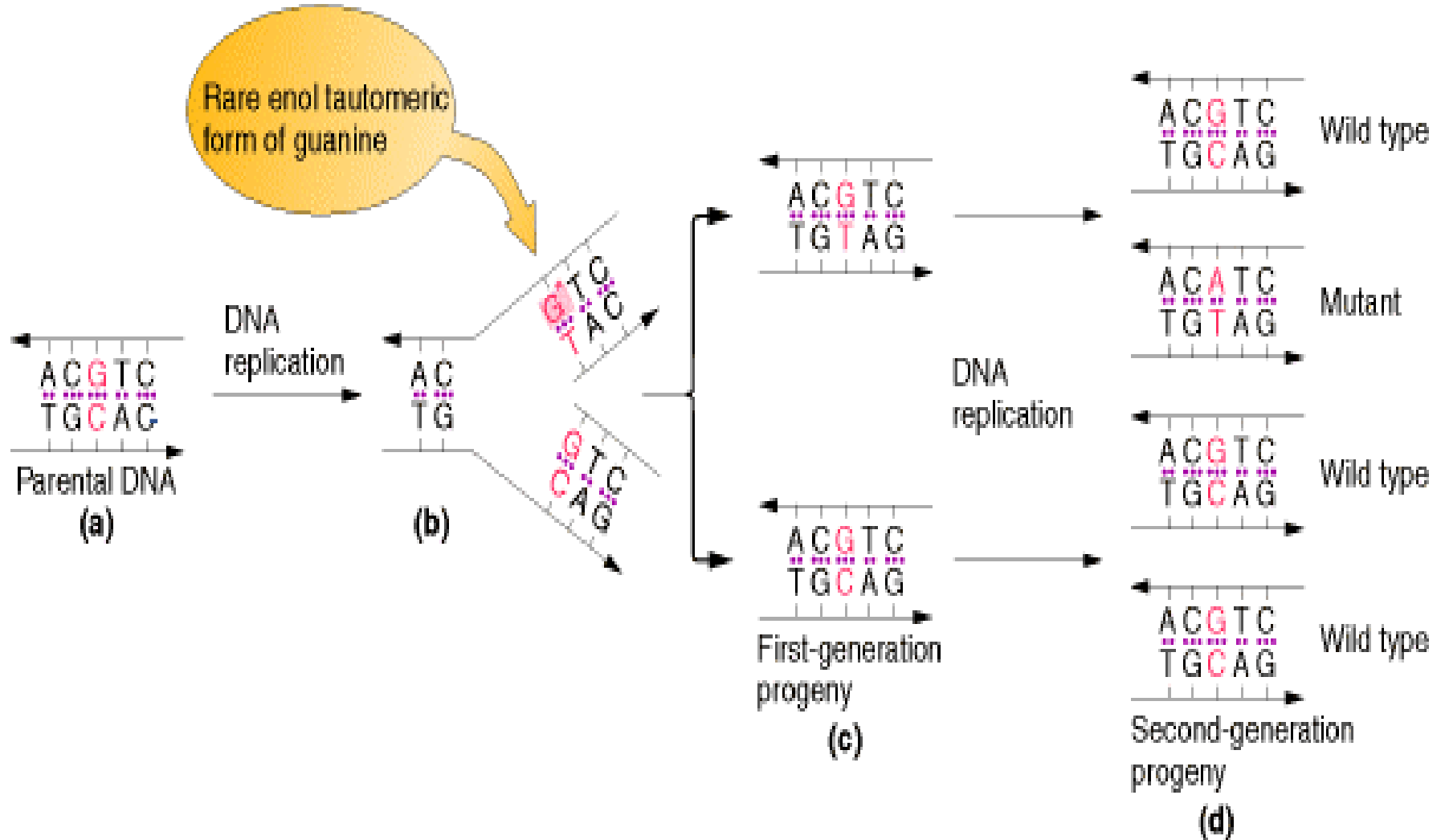


التزاوجات الخاطئة للقواعد نتيجة Tautomeric shifts



عند حدوث التردد فإن القواعد لا تُقيم نفس الروابط الهيدروجينية كالشكل الكيتوني أو الأمينو العادي، وبذلك ترتبط السيتوزين C في الشكل Imino بالأدينين A بدلاً من الجوانين G، كما ترتبط الثايمين T في الشكل enol بالجوانين وليس بالأدينين.

يحدث الطفرات نتيجة التبادل المشابه التردد في قواعد الـ د ن أ عن طريق احلال أو استبدال البيورين في شريط واحد للـ د ن أ بالبيورين الآخر واحلال البيريميدين في شريط واحد للـ د ن أ بالبيريميدين الآخر والاستبدال في مثل هذه الحالة يسمى استبدال أو إحلال متكافئ Transition.



- قد تحدث الطفرة الوراثية أثناء تناسخ DNA أو بعده أو خلال عملية تصحيحه، والتغيرات الأكثر شيوعاً هي الحذف و الإضافة و الاستبدال وإعادة الترتيب لقاعدة أو أكثر، ويمكن تقسيم الطفرات إلى عدة أنواع منها:

✓ الطفرة الموقعية (Point mutation):

- هي التي تنتج من تغير قاعدة أو زوج واحد من النيوكليوتيدات وقد تتكرر عدة مرات ضمن نفس الجين في خيط DNA .
- وتضم الطفرة الموقعية طفرات الاستبدال و طفرات الحذف أو الإضافة كما يلي:

1- طفرات الإستبدال أو الإحلال (Base substitution) :

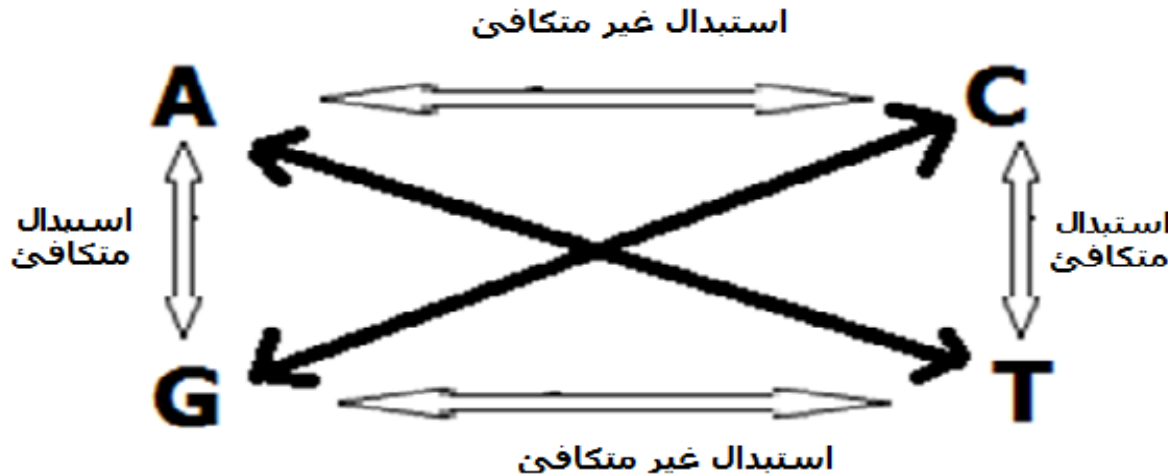
- تحدث هذه الطفرات عندما تُستبدل قاعدة نيتروجينية في سلسلة DNA بأخرى بحيث يحدث تزاوج خاطئ Mismatch بين النيوكليوتيدات ويكون هذا الاستبدال إما متكافئاً (Transition) أو غير متكافئ (Transversion).

الاستبدال المتكافئ:

- يتم استبدال قاعدة نيتروجينية بيورينية أو بيريميديية بقاعدة أخرى مكافئة لها كيميائيا حيث تبقى نسبة أنماط القواعد (بيورينية و بيريميديية) ثابتة داخل خيط DNA.

الاستبدال غير المتكافئ:

- وفيه تستبدل قاعدة بيورين بقاعدة بيريميدين أو العكس، مما يؤدي إلى إختلال في نسبة أنماط القواعد داخل DNA، بالإضافة إلى ذلك تؤدي معظم الاستبدالات غير المتكافئة تزاوجات خاطئة تخل كثيرا بتركيب وتجانس الحلزون المزدوج للـ DNA.



إحلال بيورين لبيورين
أو بيريميدين لبيريميدين

إحلال بيورين لبيريميدين أو بيريميدين لبيورين

تأثير إحلال القواعد على عملية الترجمة

- حدوث الاستبدالات الموقعية يمكن ان يؤدي الى ظهور:

- **طفرات خاطئة المعنى missense mutation**

هي التغير في قاعدة واحدة في مستوى الشفرة بحيث يؤدي إلى تغير في الحمض الأميني لحمض جديد وهذا الحمض الجديد يمكن أن يكون:

✓ مختلف كيميائيا عن الحمض الأميني الأصلي وتسمى طفرات خاطئة غير مرادفة.

...GAG...

AAG

Glu

Lys

- تحدث هذه الطفرة بصفة عامة في إحدى القاعدتين الأولى أو الثانية من الشفرة، واحتمال حدوثها في القاعدة الثالثة ضعيف جدا لأن أغلب الأحماض الأمينية لها أكثر من ثلاث شفرات تختلف فقط في القاعدة الثالثة.

✓ حمض أميني آخر من نفس المجموعة الكيميائية (حمضية، قاعدية، متعادلة) وتسمى طفرات خاطئة مرادفة.

AAA

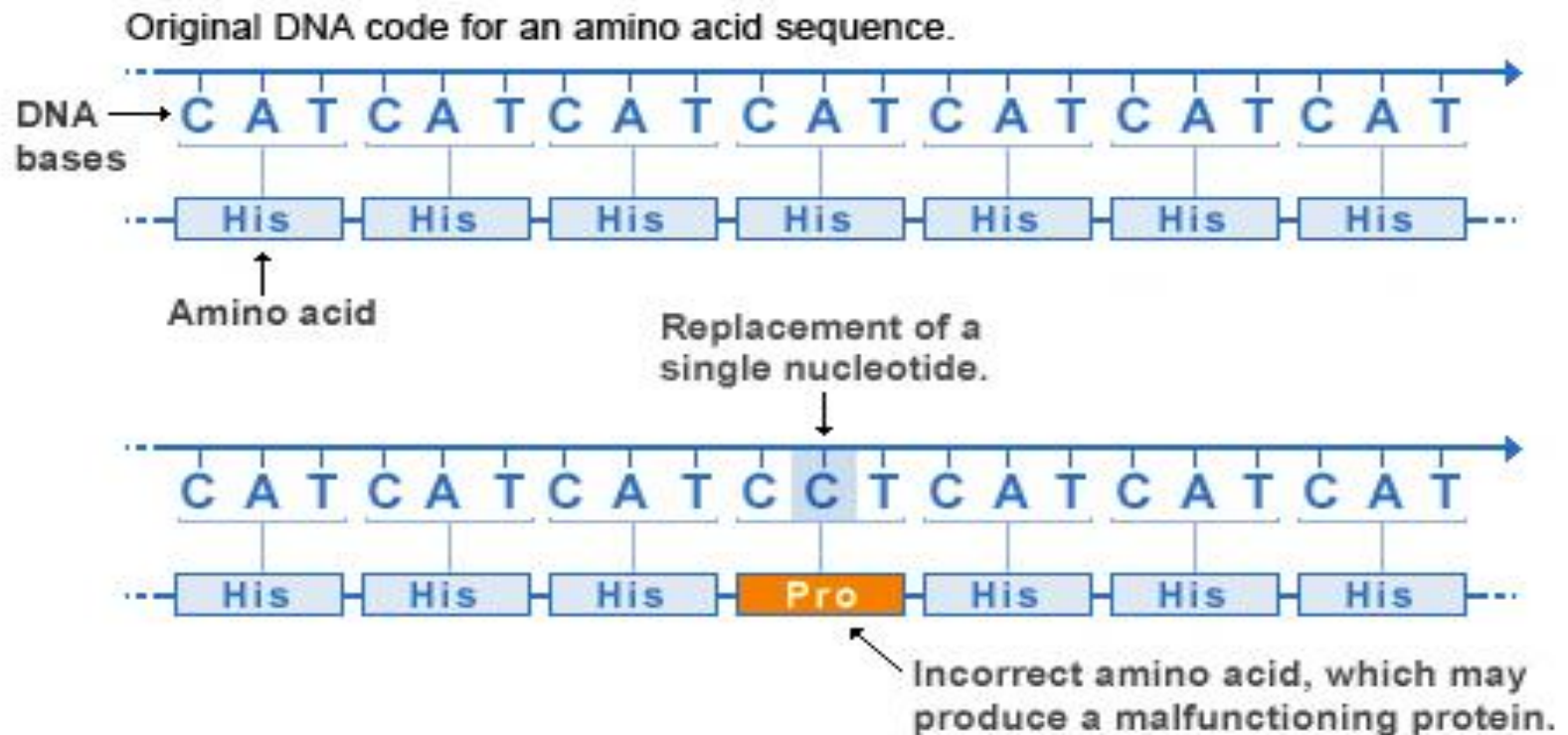
AGA

Lys

Arg

الحمضين الأمينين (Lys, Arg) من مجموعة الأحماض الأمينية القاعدية.

Missense mutation



الشفرات الوراثية

		Second Letter					
		T	C	A	G		
First Letter	T	TTT } Phe TTC } TTA } Leu TTG }	TCT } TCC } Ser TCA } TCG }	TAT } Tyr TAC } TAA Stop TAG Stop	TGT } Cys TGC } TGA Stop TGG Trp	T	C
	C	CTT } CTC } Leu CTA } CTG }	CCT } CCC } Pro CCA } CCG }	CAT } His CAC } CAA } Gln CAG }	CGT } CGC } Arg CGA } CGG }	T	C
	A	ATT } Ile ATC } ATA } ATG Met	ACT } ACC } Thr ACA } ACG }	AAT } Asn AAC } AAA } Lys AAG }	AGT } Ser AGC } AGA } Arg AGG }	T	C
	G	GTT } GTC } Val GTA } GTG }	GCT } GCC } Ala GCA } GCG }	GAT } Asp GAC } GAA } Glu GAG }	GGT } GGC } Gly GGA } GGG }	T	C
						Third Letter	

• الطفرة عديمة المعنى (nonsens):

تؤدي هذه الطفرات إلى تغيير الشفرة لحمض أميني إلى شفرة نهاية الترجمة (Stop codon)

...TGC...

Cys

TGA

stop

• الطفرة الصامتة (Silent mutation):

تحدث بعض الطفرات على مستوى القاعدة الثالثة للشفرة دون أي تأثير على ترجمة الحمض الأميني حيث ينتج نفس الحمض الأميني.

...CCC...

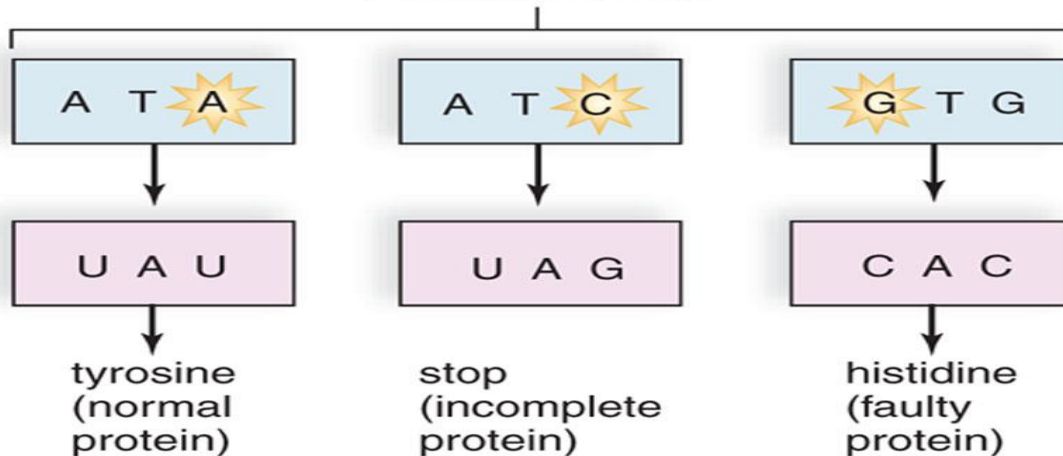
Pro

...CCT...

pro

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Point mutations



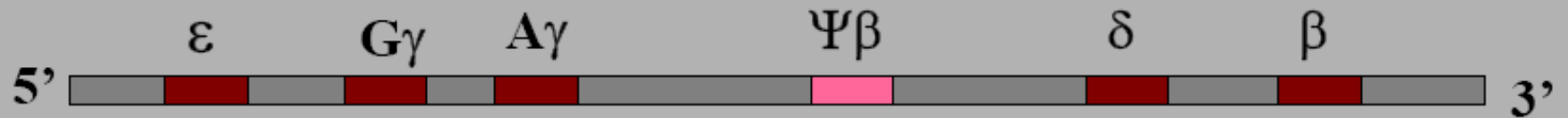
مثال علي استبدال القواعد الهيموجلوبين الطافر

- يوجد الهيموجلوبين في كرات الدم الحمراء وهو المسئول عن نقل الأكسجين من الرئة لأنسجة الجسم المختلفة والهيموجلوبين بروتين معقد يتكون من 4 سلاسل ببتيدية.
- من الامثلة الهيموجلوبين البالغ يتكون من أربع سلاسل ببتيدية $\alpha_2\beta_2$ tetramer يسمى (A) وهو النوع الأكثر شيوعاً (97%).
- كل سلسلة يتحكم فيها جين معين حيث تتكون سلسلة الفا من 141 حامض اميني بينما بيتا وجاما تتكون من 146 حمض اميني. الهيموجلوبين F يوجد في مراحل العمر الاولى وبعد 6 اشهر يحل محله A
- وجد ان هيموجلوبين الخلايا المنجلية $Hb^s\beta$ وهذه الافراد تعاني من انيميا تحليلية خطيرة تؤدي للموت في بعض الحالات لانها توقف نقل الاكسجين لبقية أعضاء الجسم.
- وعند دراسة تتابع الاحماض الامينية في سلسلة **بيتا** لكل من هيموجلوبين A و S وجد ان سلسلة بيتا تختلف في حمض اميني واحد في الموقع **6** في A (حيث يوجد حمض **الجلوتاميك** السالب) أما في S فيوجد حمض **الفالين** المتعادل وأن السلسلة الفا متماثلة تماماً أي ان تغيير حمض يغير في الشكل المظهري .
- تجدر الإشارة بأنه اصبح الان اكثر من 75 نوع مختلف من الهيموجلوبين نتيجة حدوث تغير في الاحماض الامينية .

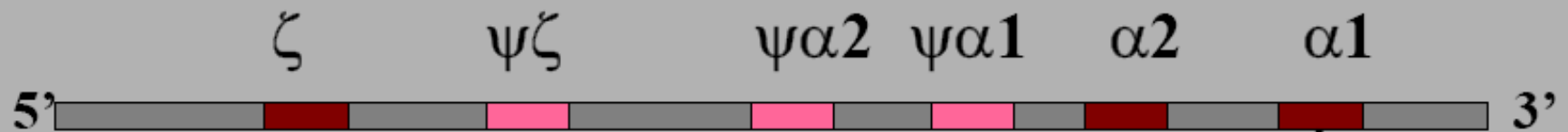
Types of Hemoglobin in adults

Globin genes Chromosome 16 11		Gene product (globin) in RBCs	Tetramers haemoglobin	Name of adult	Conc. in
α	β	α, β -chain	$\alpha_2 \beta_2$	Hb A	96-97
α	δ	α, δ -chain	$\alpha_2 \delta_2$	Hb A ₂	2.3-3.5
α	γ	α, γ -chain	$\alpha_2 \gamma_2$	Hb F	<1.0
α	ϵ	α, ϵ -chain	$\alpha_2 \epsilon_2$	Hb-Gower II	0
ζ	ϵ	ζ, ϵ -chain	$\zeta_2 \epsilon_2$	Hb-Gower I	0
ζ	γ	ζ, γ -chain	$\zeta_2 \gamma_2$	Hb-Portland	0

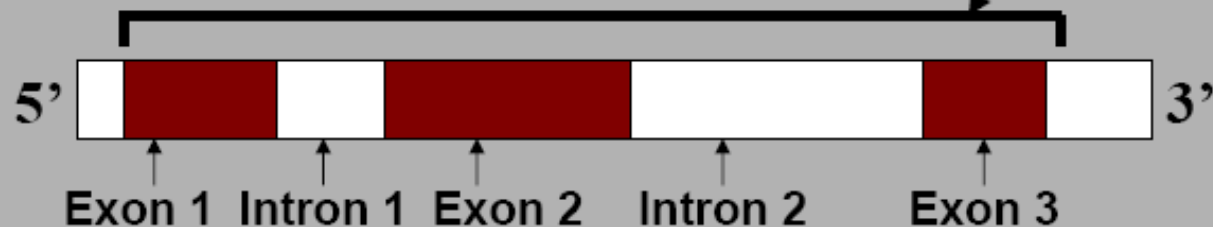
Chromosome 11



Chromosome 16



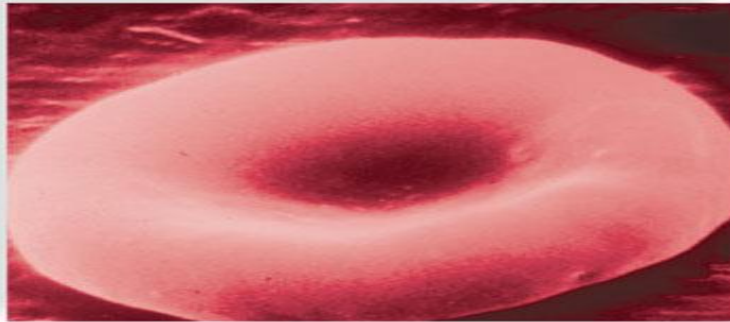
Structure of **each** Globin gene



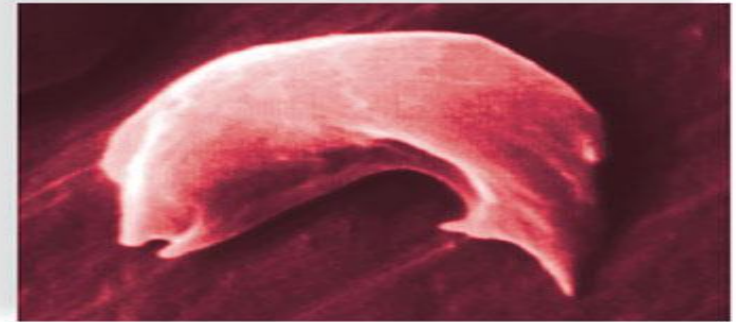
مثال علي استبدال القواعد (الهيموجلوبين الطافر)

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

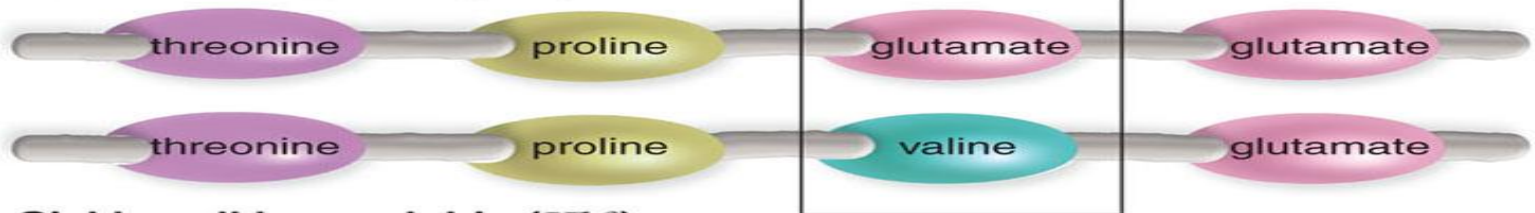
Normal red blood cell



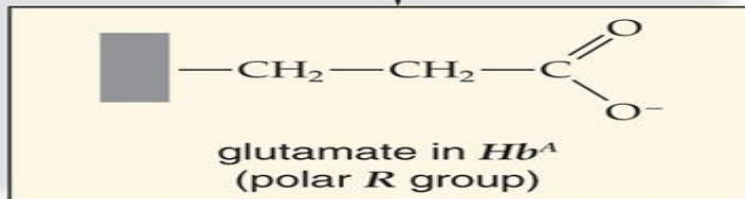
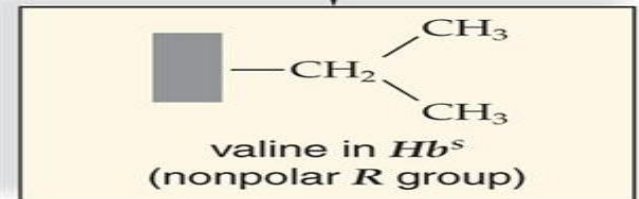
Sickled red blood cell



Normal hemoglobin (Hb^A)



Sickle-cell hemoglobin (Hb^S)

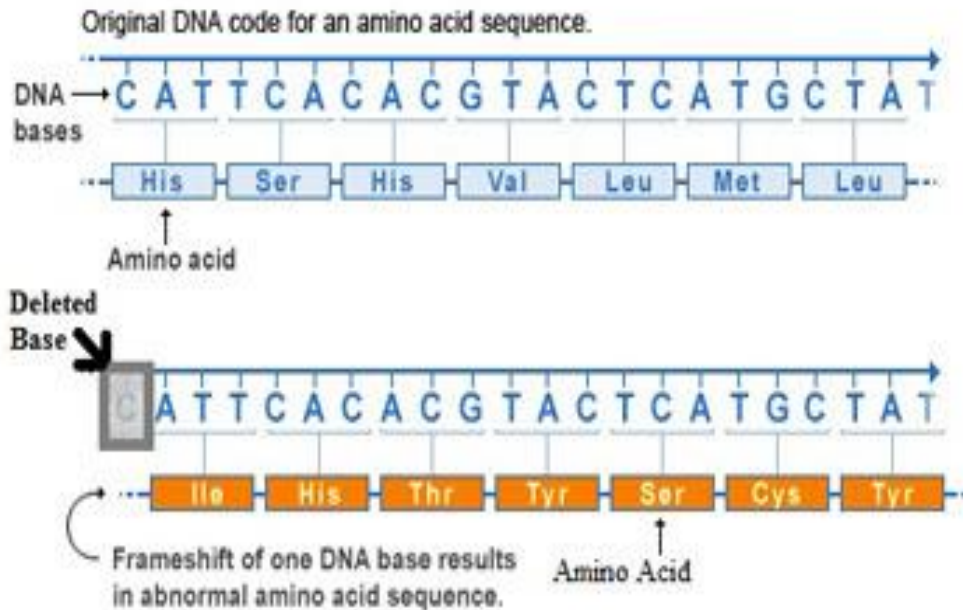
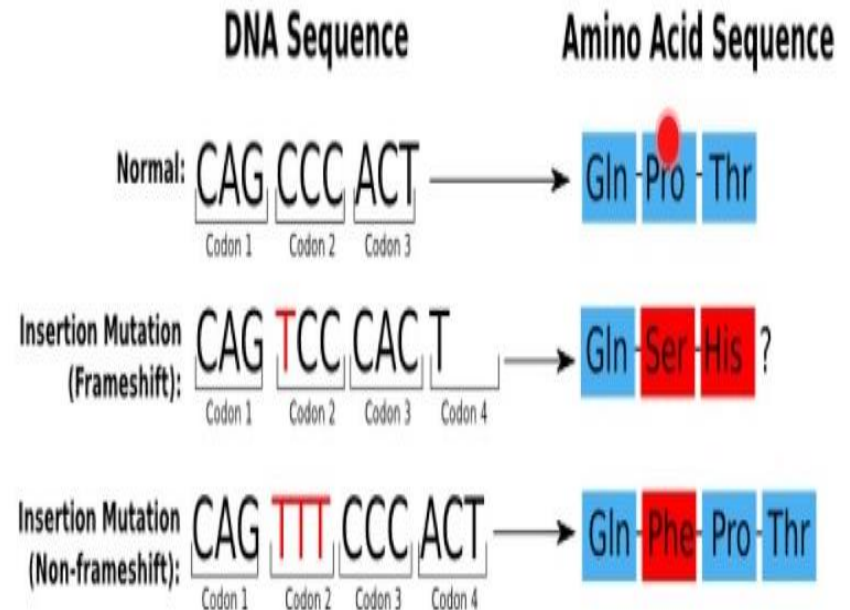


(both): © Stan Flegler/Visuals Unlimited

2- طفرات الحذف والإضافة:

- عندما تضاف قاعدة نيتروجينية في التسلسل النيوكليوتيدي، فإن إطار القراءة سيتغير بالنسبة لجميع الثلاثيات (الشفرات) التي تلي منطقة الإضافة أو الحذف، وهذا يؤدي إلى تغيير كبير في تسلسل الأحماض الأمينية والمكونة للبروتين الناتج، وإذا استمرت عملية الإضافة أو الحذف يؤدي الى **Frameshift mutations**

Frameshift mutation



• وقد وجد ان نسبة كبيرة من الطفرات التلقائية المدروسة في الخلايا بدائية النواة يرجع الي إضافة أو فقد قاعدة واحدة أو اكثر من رجوعها الي احلال القواعد وتكرار كل من الطرز المختلفة للطفرات التلقائي يعتمد علي:

1- دقة جهاز تكرار أو تناسخ الـ DNA

2- الحالة الفسيولوجية والكيموحيوية للخلية.

3- مدي كفاية الميكانيكيات المختلفة التي تتضمن اصلاح الـ DNA التالف.

ميكانيكيات إصلاح المادة الوراثية

DNA Repair Mechanisms

ميكانيكيات إصلاح المادة الوراثية

- يعتبر تعدد ميكانيكيات الإصلاح في الكائنات الحية من الفيروسات وحتى الإنسان مؤشراً لأهمية حفظ الطفرات في كل من الخلايا الجسمية و الجنسية على مستوى معتدل.
- و طرق إصلاح أضرار المادة الوراثية المحتوي على ثنائيات الثيامين التي تم دراستها في بكتيريا القولون *E.coli* هي :

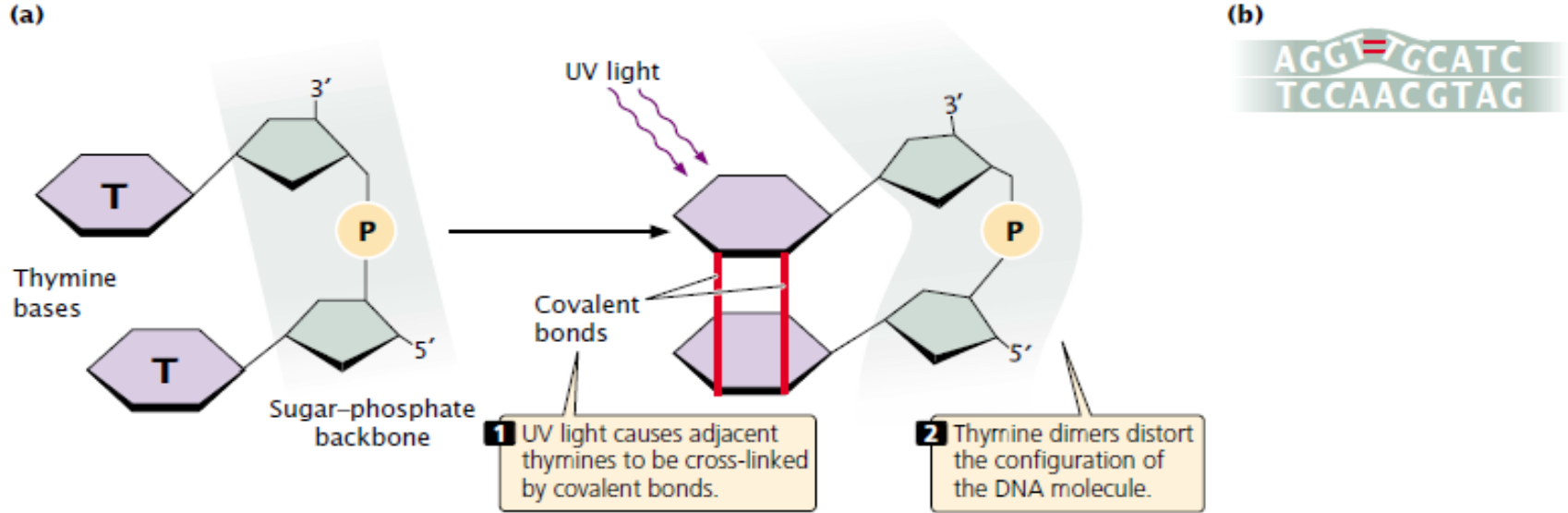
- التفاعل التنشيطي الضوئي **photoreactivation**

- إصلاح بإستئصال **Excision Repair**

- إصلاح ما بعد التناسخ (الاتحادات الجديدة) **Recombination**

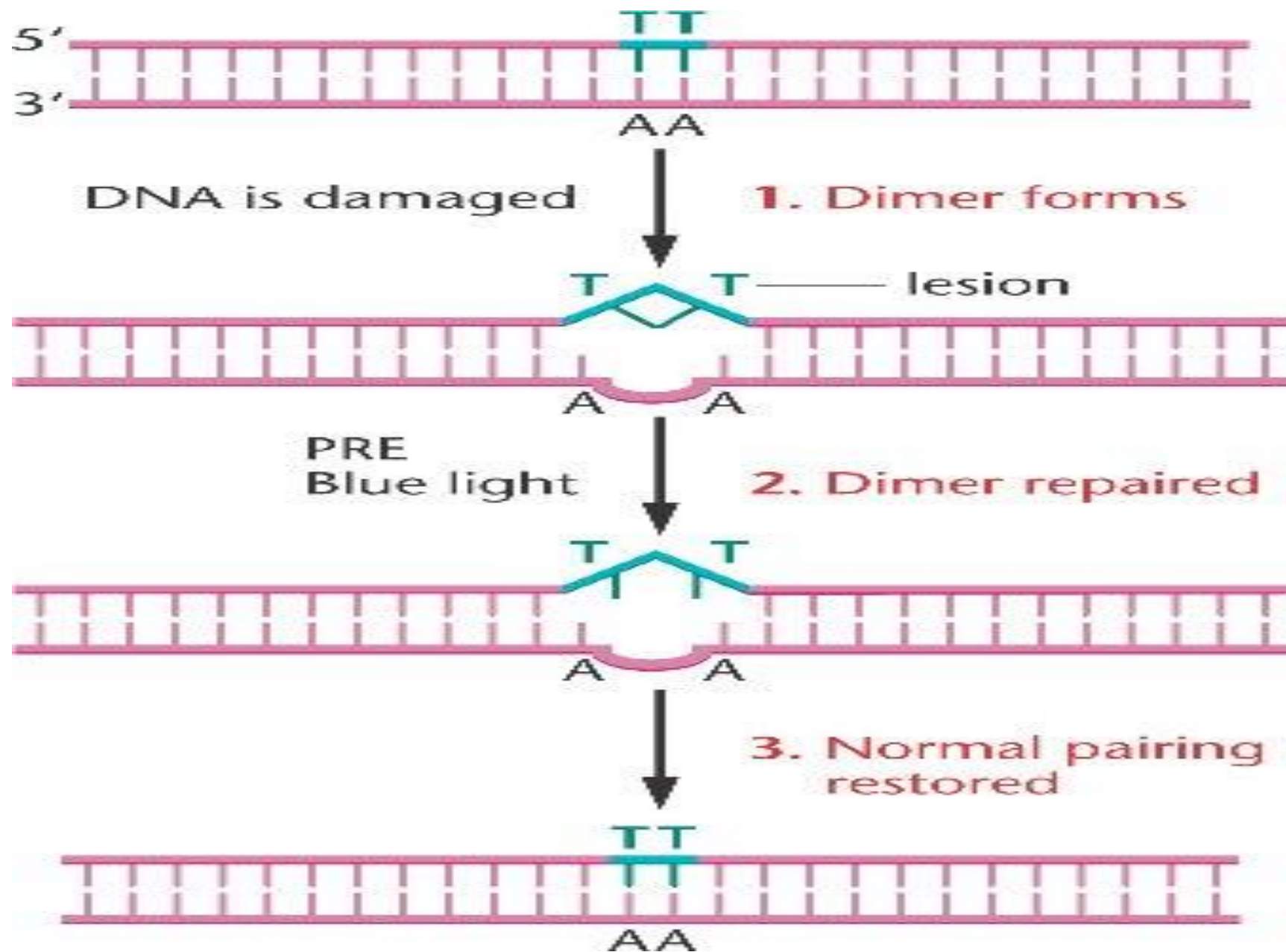
اولاً: التفاعل التنشيطي الضوئي photoreactivation

يتضمن التفاعل التنشيط الضوئي وجود إنزيم يقوم بكسر أو بشق ثنائيات الثيامين مباشرة دون استبعاد أي من النيوكليوتيدات المجاورة ، هذا الإنزيم يعرف بأسم إنزيم الفوتوليز Photolyase والذي يعمل على فصل ثنائيات الثيامين في الظلام ولكنه لا يستطيع أن يحدث كسر للروابط في ثنائيات الثيامين بدون وجود طاقة ضوئية خاصة الضوء المحتوي على الطيف الأزرق ، حيث ينشط الأنزيم ويساعد على حدوث تفاعل ضوئي كيميائي مؤدياً إلى كسر الرابطة بين الثنائيات (ثنائيات الثيامين ، ثنائيات السيتوزين و الثيامين) . ولذلك عند استخدام أشعة UV كمادة مطفرة تجريبية لابد وأن تجري في الظلام حتي تزداد فرص الحصول علي طفرات.

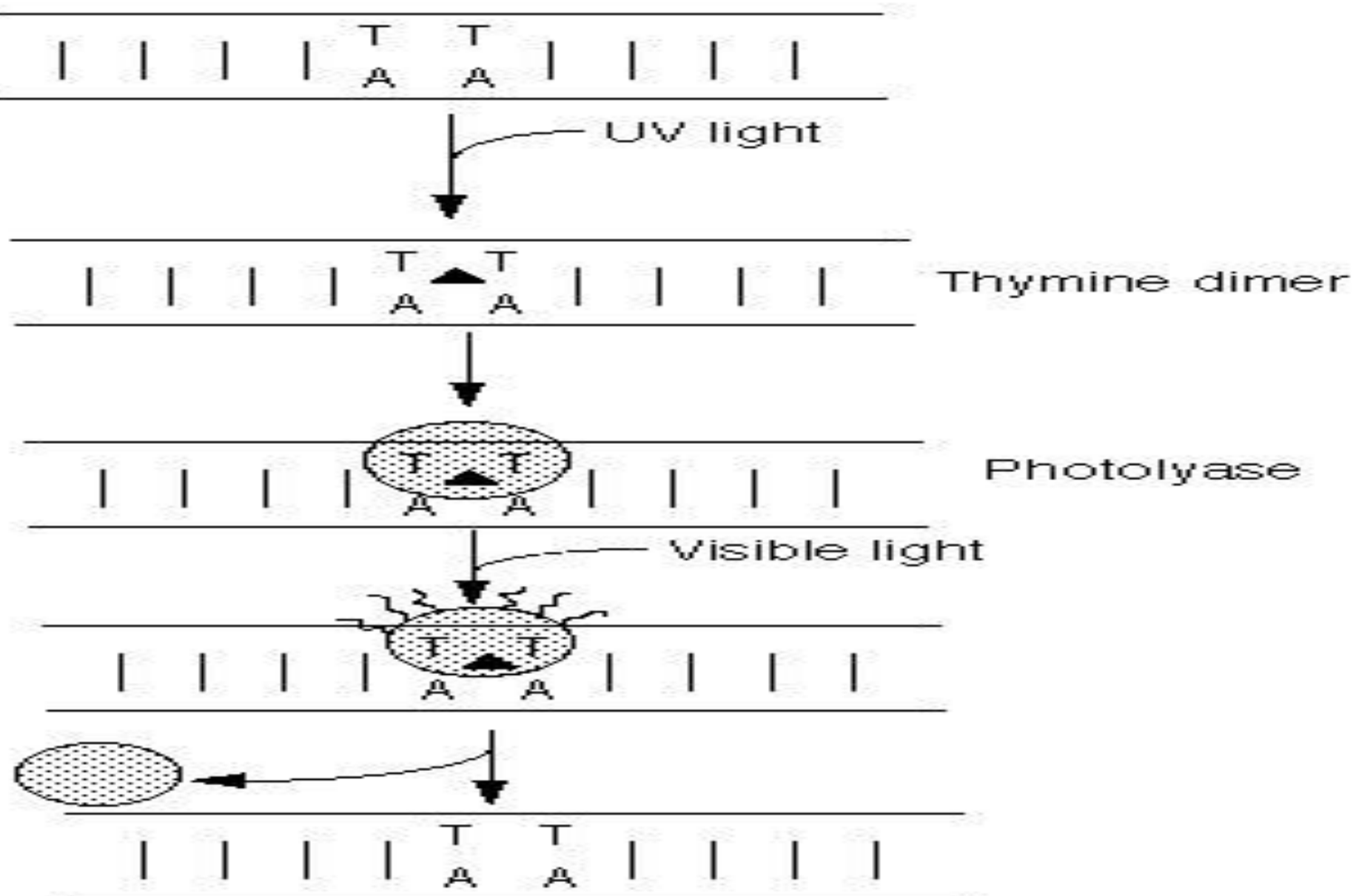


17.24 Pyrimidine dimers result from Ultraviolet light.

(a) Formation of thymine dimer. (b) Distorted DNA.



Photoreactivation Repair



ثانيا: الإصلاح الاستئصالي أو الإزالة excision repair

• هذه العملية تتضمن مجموعة من إنزيمات إندونوكليز endonuclease و إكسونوكليز exonuclease ، DNA polymerase I ، ligase حيث يتم الإصلاح عامةً كما يلي:

(1 حدوث فصل بواسطة انزيم endonuclease بعد التوصل لموقع ثنائيات الثيامين أو الخطأ فيكسر الأنزيم رابطة الفسفوداي استر في العمود الفقري لخيط المادة الوراثية، ثم

(2 يأتي دور انزيم exonuclease وهو يحتمل أن يكون مسئولاً عن النشاط الإكسونيكليزي 5` to 3` حيث يعمل على استبعاد قطعة مجاوره على جانبي الثنائيات ، بعد ذلك

(3 يعمل انزيم DNA polymerase I بسد الفجوة المتكونه بإستخدام الخيط المكمل كقالب ، وتم ملاحظة أنه في الخلايا الطافره للجين المسئول عن تكوين DNA polymerase I تكون كفاءتها في الإصلاح بالاستئصال منخفضة جدا مما يؤكد دور هذا الأنزيم في عملية الإصلاح لملئ الفجوات الصغيرة، ولم يكن لأنزيم بلمرة DNA polymerase III دور نظرا لكبر حجمه ولضرورة ان يظل مرتبطا بشوكة التناسخ النامية لفترة طويلة .

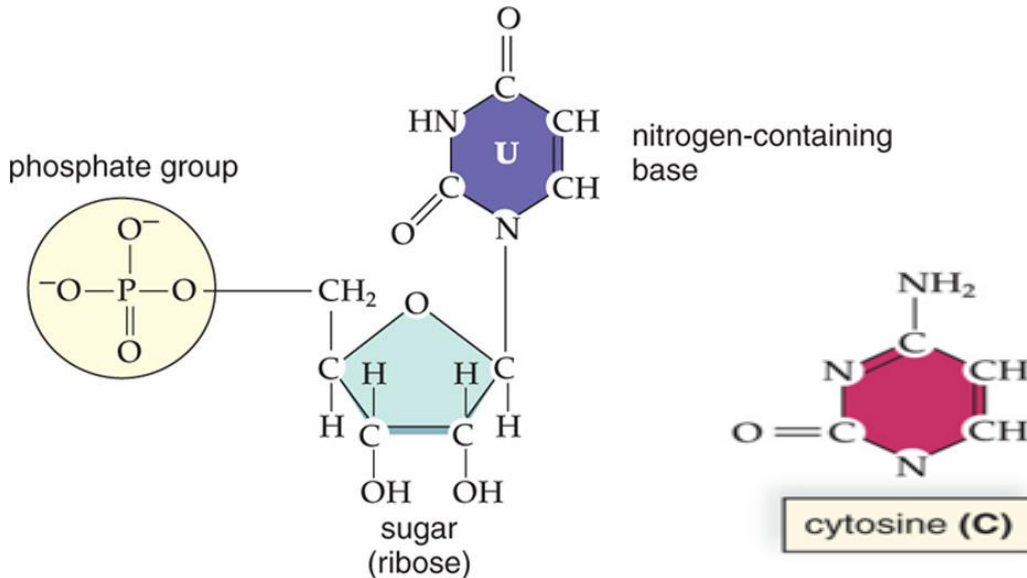
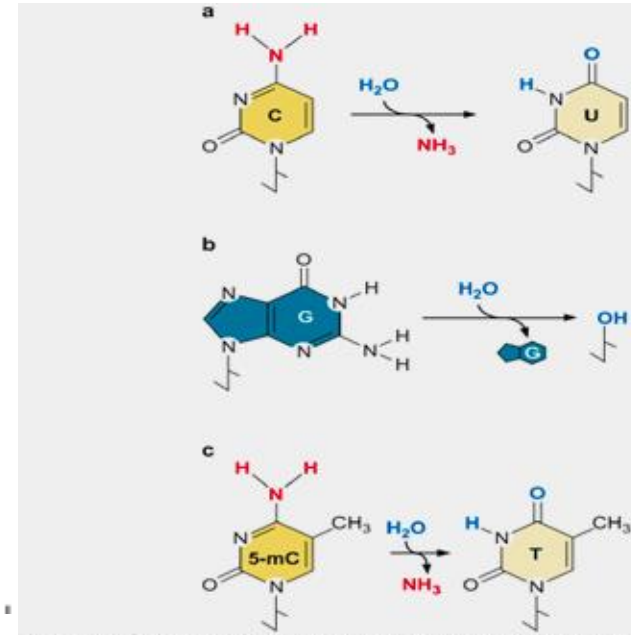
(4 بعد الانتهاء من سد الفجوة يعمل انزيم ligase على لحم الخيط بتكوين رابطة الفسفوداي استر.

• ويمكن تقسيم الإصلاح الاستئصالي الى ثلاثة أنواع:

1- إستئصال القاعدة الخاطئة Base Excision Repair (BER)

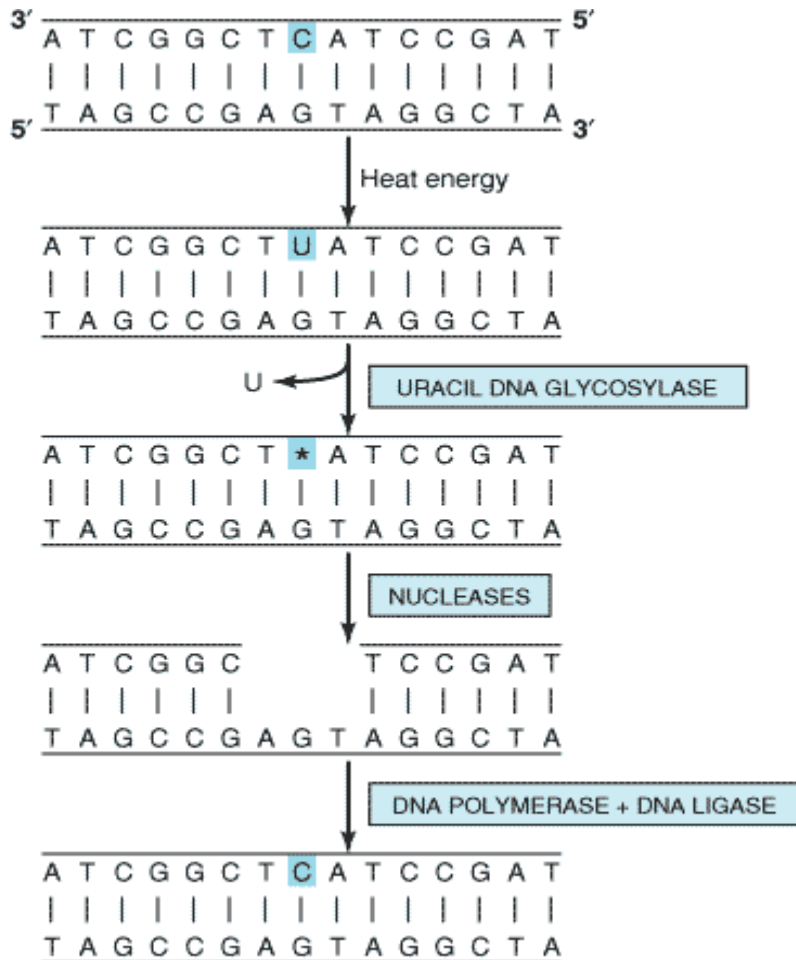
- أكتشف حديثا إنزيم جديد لإصلاح الـ DNA في بكتريا القولون يعرف بأسم يوراسيل دن أ جليكوسيليز Uracil DNA glycosylase وهذا الانزيم يقوم باستبعاد اليوراسيل بكفاءة عالية من الـ دن أ ولهذا أطلق عليه هذه التسمية .
- وهو يكسر الرابطة الجليكوسيدية بين القاعدة والسكر وليس كسر رابطة الفوسفودي استر في سلسلة الـ DNA ولذلك فإن هذا الانزيم يُنتج مواضع خالية من القواعد البيريميدينية وينتج اليوراسيل في الـ دن أ بإزالة الأمين من السيتوزين (ذاتيا- حرارة- بواسطة حمض النيتروز). بالتالي طفرات البكتريا التي ينقصها انزيم يوراسيل دن أ جليكوسيليز تظهر حساسية للمواد التي تزيل مجموعة الأمين مثل حامض النيتروز مشيرة الي أهمية الانزيم في اصلاح هذا النوع من الضرر في الـ دن أ.

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



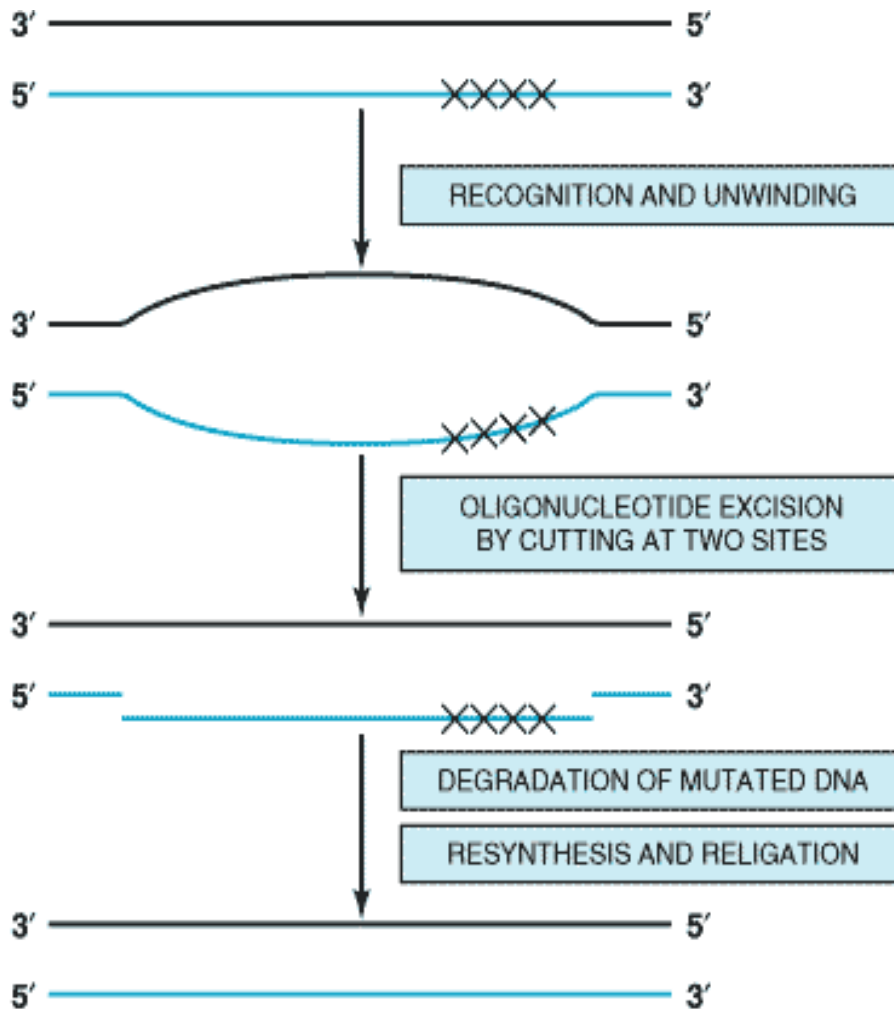
1- إستئصال القاعدة الخاطئة (BER)

Base Excision Repair



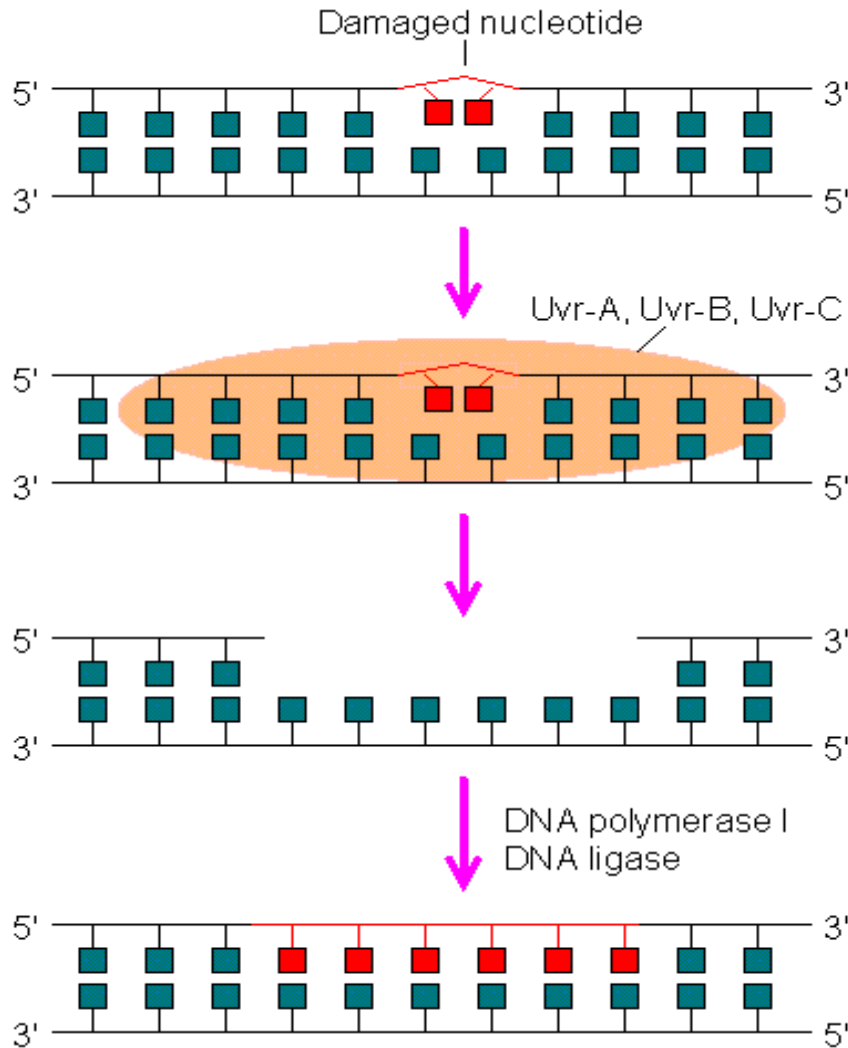
- مثال إنزيم uracil DNA glycosylase يقوم بإزالة اليوراسيل من الـ DNA والتي نشأت ذاتيًا من نزع الأمين من قاعدة السيتوزين.
- يقوم الإندونيوكليز بكسر رابطة الإستر بالقرب من الخطأ وإزالة القليل من القواعد.
- يتم ملئ الفراغ بواسطة إنزيم DNA polymerase.
- ثم سد الفجوات بواسطة الليجيز.

2- إستئصال النيوتيدة الخاطئة Nucleotide excision repair (NER)



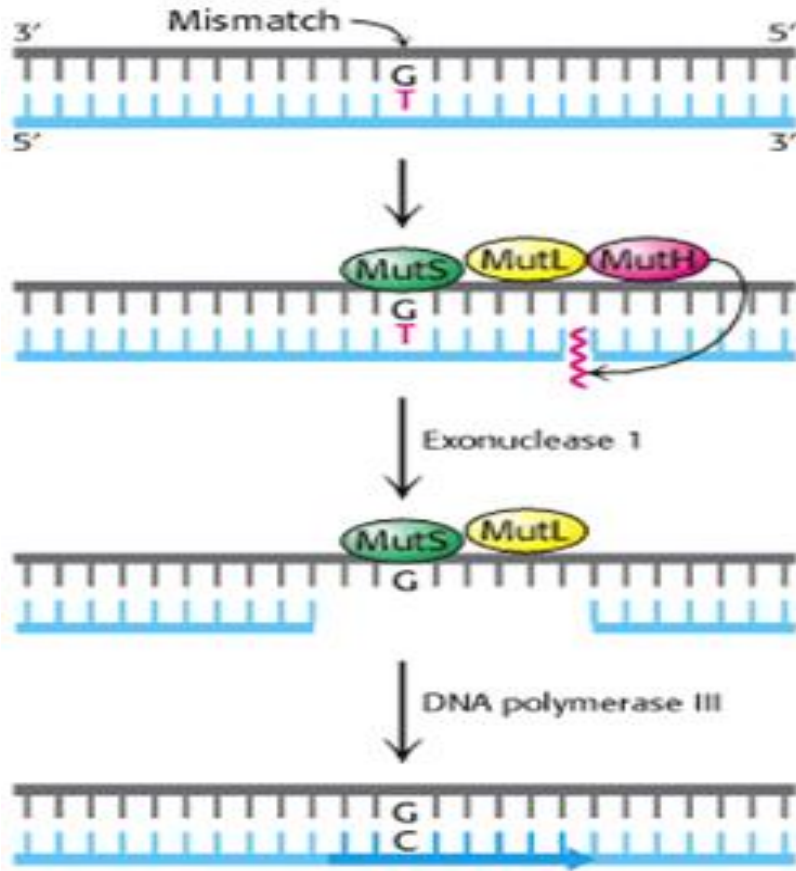
- يتم كسر رابطة الإستر الثالثة للخامسة للطرف 3' و من 21-25 للطرف 5'
- يتم إستبعاد قطعة من الـ DNA بطول 27-29 نيوتيدة.
- يقوم إنزيم البلمرة ببناء النيوتيدات الصحيحة بدلا من الخاطئة ثم يتم إلتحام هذه النيوتيدات بإنزيم الليجيز.

2- إستئصال النيوتيدة الخاطئة Nucleotide excision repair (NER)



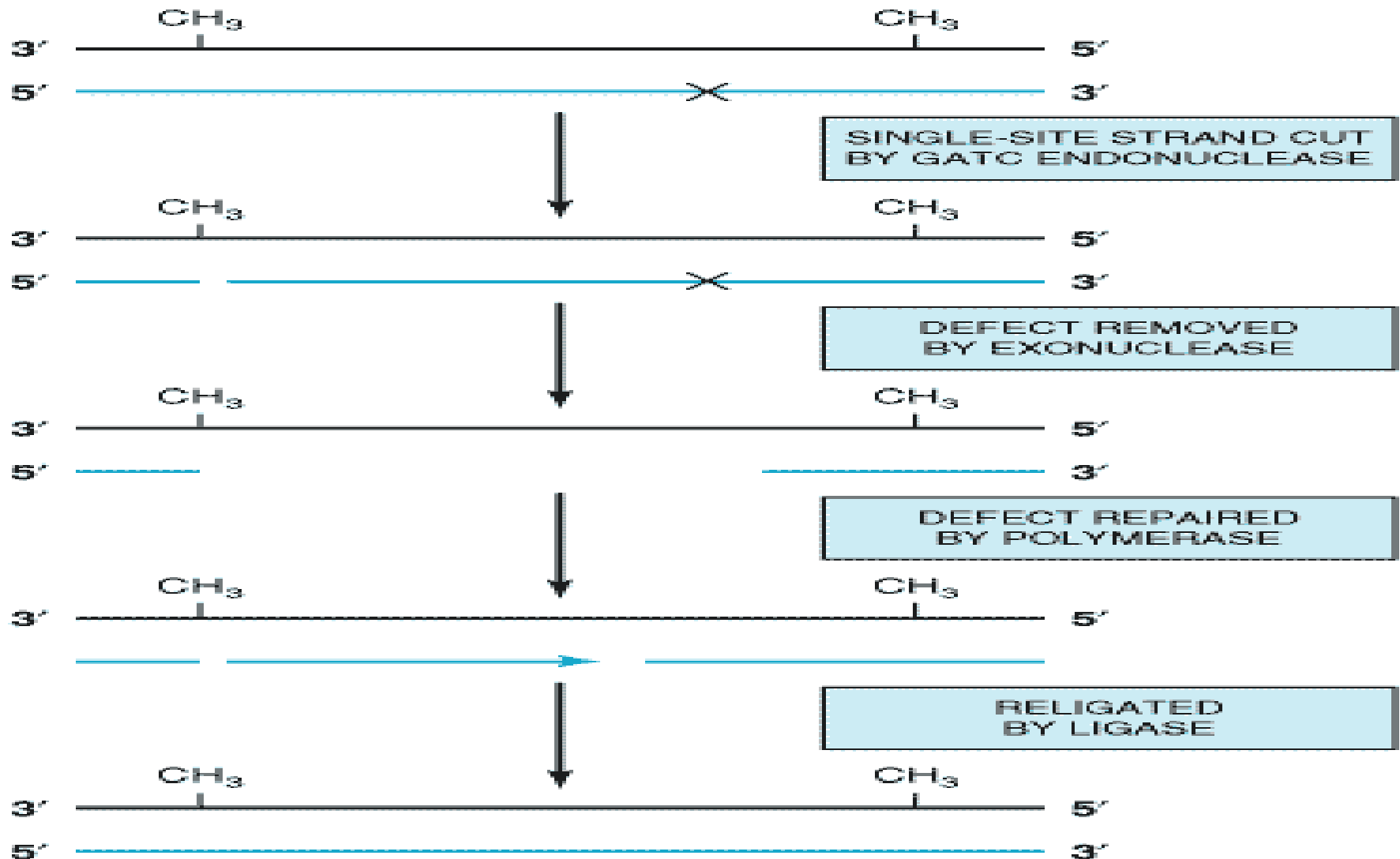
- فى بكتيريا القولون *Escherichia coli* توجد ثلاثة بروتينات متخصصة تسمى UvrA, B and C تتعرف على التتابع الخاطئ وتقوم بكسره.
- يتم إستبعاد هذا الجزء بواسطة بروتين يسمى UvrD والذي يمتلك خاصية الهليكيز مسبباً فجوة يتم ملئها وسد الفجوات.

3- إصلاح التزاوجات الخاطئة Mismatch repair (MMR) E.coli



- "Dam methylase" الذي يستطيع أن يُميثل الأدينين الذي يقع ضمن التتابع GATC في سلسلة القالب بعد تخليق الـ DNA أما الشريط الجديد لا يتم ميثلته، هكذا يمكن أن التمييز بين الشريطين الأصلي و المخلوق حديثا .
- في *E. coli* يتطلب التعرف على الطفرة وفتح أو كسر السلسلة وجود ثلاثة بروتينات (MutS, MutL, and MutH)
- تحدث الإزالة والإستبدال عن طريق polymerase, ligase, and SSBs
- في مميزات النواه يزداد التعقيد حيث يشترك حوالى 6 بروتينات في الخطوات الأولى.

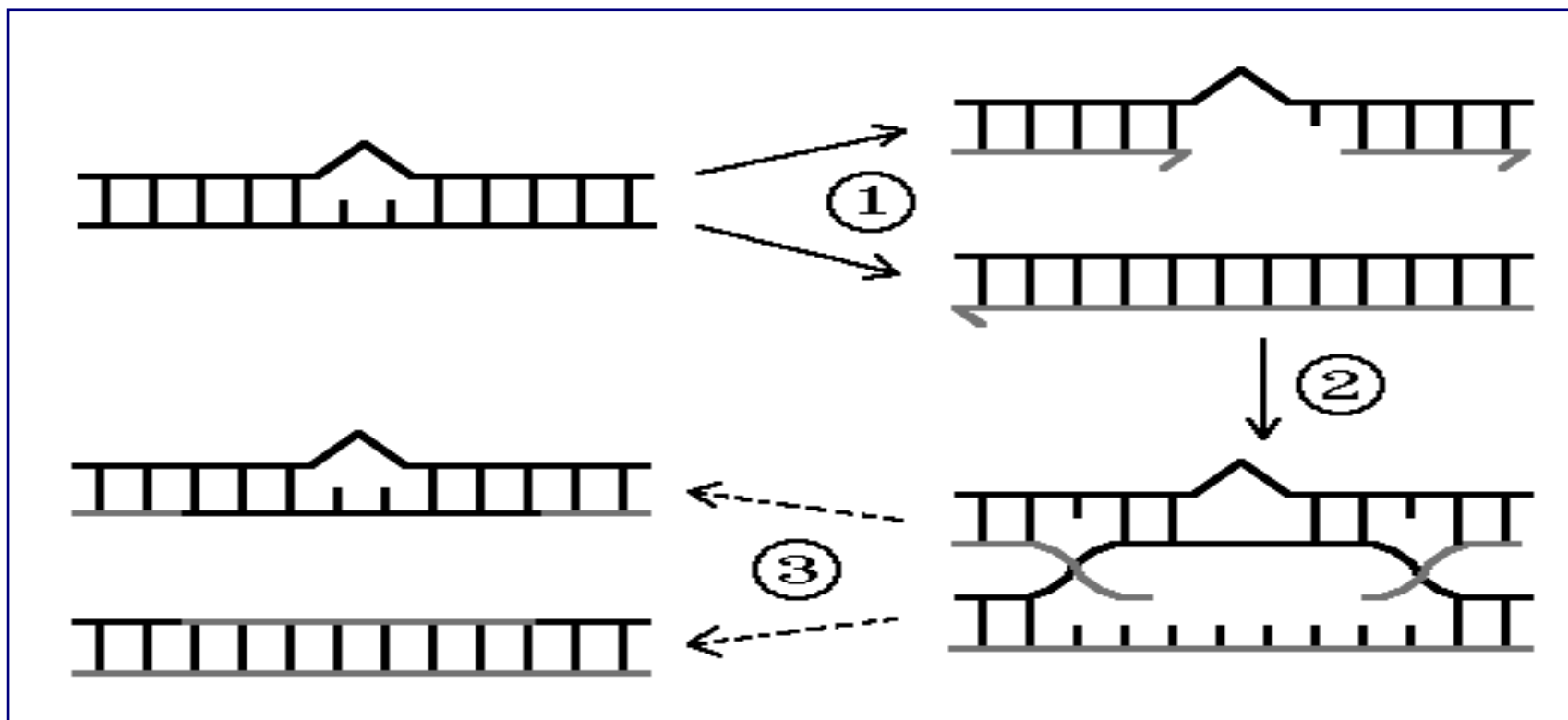
3- إصلاح التزاوجات الخاطئة (Mismatch repair (MMR)



ثالثاً: إصلاح ما بعد التناسخ الإتحادات الجديدة Recombinational repair

تفاصيل هذه العملية غير مؤكدة حتي الآن ولكنها تتضمن بوضوح حدوث تناسخ الكروموسوم التالف ثم يتبع ذلك تكوين تراكيب جديدة.

- عندما يتضاعف جزيء الـ DNA المحتوي علي ثنائيات الثيامين فإنه تتكون فجوات في الخيط المكمل الناشيء مقابل الثنائيات حيث أن الانزيم لا يمكن أن يستخدم الخيط التالف كقالب وبعد فترة تلوؤ ناتجة عن قفل ثنائيات الثيامين يبدأ التكرار مرة أخرى في جانب ثانوي خلف الثنائيات .
- وينتج عن هذه العملية تكوين خيط مزدوج في أحد خيوطه ثنائيات الثيامين وفي الخيط المكمل توجد فجوة فإذا تداخل الكروموسومان الشقيقان من جديد فإن هذه الثنائيات والفجوات تكون في احدي الكروموسومين والقطعة السليمة الغير تالفة تكون في الكروموسوم الآخر والذي سوف يكون فعالاً وظيفياً وينتج خلية حية.
- يحدث تكون لثنائيات الثيامين، أو كسر مستعرض يشمل السلسلتين وما يصاحب الكسر من فقد جزء من الحلزون المزدوج نهائياً، فنجد ان جميع المعلومات الأصلية والمكملة قد فقدت في مكان التلف ، ولا يمكن إسترجاعها إلا عن طريق البحث عن جزء آخر مناظر في جزيء المادة الوراثية منفصل في الخلية نفسها ولكن متطابق مع الجزء التالف، يسمى هذا النوع بالإصلاح الآلي لعملية الإتحادات الجديدة ، وقد يحدث التلف في سلسلة مفردة ، فيتم الإصلاح من السلسلة المكاملة عند مرور شوكة التناسخ، وقد يحدث التلف لكلا السلسلتين في منطقة غير متناسخة فيلجأ للكروموسوم النظير.



شكل يوضح كيف يتم تناسخ المادة الوراثية في حالة تكون ثنائي التيامين اثناء فترة التناسخ واستخدام الكروماتيدة الشقيقة كقالب لإصلاح الخلل