Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

التنقية الجزئية لأنزيم الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية

ايناس احسان رشيد[1] ، حسين فاضل حسن[2]

[1,2]قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة كركوك

inasbayatli89@yahoo.com[1] , hussainfadel@yahoo.com[2]

تاريخ استلام البحث: 8 / 12 / 2014 تاريخ قبول البحث: 13 / 5 / 2015

الملخص

تم تنقية جزئية لأنزيم الادينوسين دي امينيزمن الرؤويسات الاولية بتقنية الترشيح الهلامي وباستخدام السفادكس G100 اذ بلغ عدد مرات التنقية لهذا الانزيم تقريبا (51) بفعالية نوعية 920 نانومول/ دقيقة / ملغرام بروتين ووجد ان الوزن الجزيئي للأنزيم مساوية تقريبا ل 44000 دالتون. وتبين ان الاس الهيدروجيني الامثل لإظهار الفعالية الانزيمية هو(7.2) عند درجة الحرارة 37 مئوية وله ثابت ميكيلس منتن Km بقيمة 0.028 مليمولر للادينوسين. كما اظهرت النتائج ان لانزيم الادينوسين دي امينيز حساسية عالية للتثبيط بالتيوبرسيدين و الفورمايسين آ والكوردسبين بنسبة تثبيط 82% و86% و78% على التوالي.

الكلمات الدالة : تنقية، الادينوسين دي امينيز، الرؤويسات الاولية، المشوكة الحبيبية.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

Partial purification of adenosine deaminase from protoscoleces of *Echinococcus granulosus*

Inas I. Rasheed[1] , Husain F. Hassan[2]

[1,2]Department of Biology / College of Science / University of Kirkuk

inasbayatli89@yahoo.com[1] , hussainfadel@yahoo.com[2]

Received date : 8 / 12 / 2014 **Accepted date : 13 / 5 / 2015**

ABSTRACT

Adenosine deaminase has been partially purified from protoscoleces of E. granulosus by gel filtration chromatography using Sephadex G100. The molecular weight of the enzyme determined by gel filtration was about 44000 dalton with specific activity about 920 nmole / min / mg protein and with purification fold of about 51. The optimum pH was found to be 7.2 at 37 ^{o} C with Km value of 0.028mM for adenosine. The results indicate that adenosine deaminase was extremely sensitive to inhibition by tubercidin, formycin A and cordycepin with inhibitory percentage of 82%, 86% and 78%, respectively.

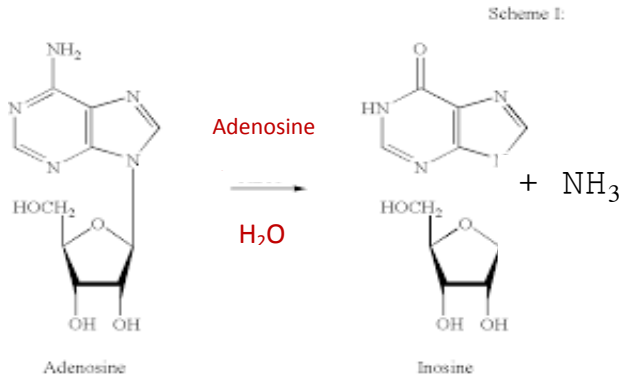
Keywords: *Purification, adenosine deaminase, Protoscoleces, Echinococcus.*

1. المقدمة (Introduction)

يعد انزيم الادينوسين دي امينيز من الانزيمات التي تشارك في عملية تقويض البيورينات بمسار الانقاذ في الخلايا الحية [1]اذ يحفز ازالة مجموعة الامين من الادينوسين وتكوين الاينوسين كما موضح في الشكل (1). اثبتت الدراسات التي اجريت في مختلف انسجة اللبائن على الدور الحاسم الذي يلعبه انزيم الادينوسين دي امينيز في التطور الطبيعي للجهاز المناعي اذ تبين ان مستويات فعاليته تعكس بوضوح مؤشرا مناعيا لتقدير المناعة الخلوية في الامراض التي تتصف بتوالد وتنشيط الخلايا

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

اللمفاوية[3،2].كما تم دراسة هذا الانزيم في الاوالي الطفيلية [4،5] والديدان الطفيلية [7،6] وظهر بانه يختلف عن الانزيم المماثل له في اللبائن اذ انه اكثر حساسية للتثبيط بواسطة متناظرات الادينوسين ولذا من المحتمل ان يكون هدفا للمعالجة الكيمياوية [8،9]. نظرا لعدم وجود معلومات تفصيلية حول انزيم الادينوسين دي امينيز في المشوكة الحبيبية، فقد استهدف البحث الحالي على تنقية هذا الانزيم ودراسة خواصه من اجل التعرف على المسار الايضي الذي يسلكه الادينوسين في هذه الديدان.



شكل (1): التفاعل المحفز بالأنزيم الادينوسين دي امينيز[9].

2. المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)

عزل الرؤويسات الاولية Protoscoleces

استخدمت في الدراسة الحالية اكياس عذرية من اكباد ورئات اغنام مخمجة بصورة طبيعية .تم الحصول عليها من مجزرة كركوك وبإشراف اطباء بيطريين . وعقم السطح الخارجي للكبد والرئة المخمجة باستخدام قطعة مبللة بالكحول الاثيلي بتركيز (70%) ثم سحب سائل الكيس الحاوي على الروؤيسات الاولية باستعمال محاقن بلاستيكية معقمة سعة 10مليلتر في دورق معقم سعة 250 مليلتر ثم فتح الكيس باستعمال المقص والملقط وقشط الطبقة المولدة الحاوية على عدد اكبر من الروؤيسات الاولية وقطعت الى قطع صغيرة وغسلت بالوسط M199 ذات الاس الهيدروجني7.2 pH(1.052 غرام من M199 و35 ملغرام من $NaHCO_3$ في 100 مليلتر من الماء المقطر) في مصفاة معقمة تسمح بمرور الروؤيسات الاولية وبعد ذلك تم

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

ترسيب الروؤيسات الاولية بجهاز الطرد المركزي عند سرعة 3000 g لمدة عشرة دقائق وغسلت ثلاثة مرات بالوسط M199 وفي كل مرة يتم ازالة الراشح ويبقى الراسب الحاوي على الروؤيسات الاولية[10].

تحضير مستخلص الأنزيم

علقت الرؤيسات الاولية في المحلـول المنظم الترس – (Tris–HCl) بتركيز (50) مليمولر وبأس هيدروجيني (pH 7.2) وسحقت بواسطة خلاط كهربائي Homogenizerعند درجة حرارة 4 مئوية ومن ثم حطمت الخلايا بطريقة التجميد والتذويب Freezing and thawing بتعريضها الى النتروجين السائل Liquid Nitrogen لمدة عشرة دقائق والتذويب thawing عند درجة حرارة 37 مئوية لمدة عشر دقائق . كررت هذه العملية ثلاث مرات لتحويل مستخلص الخلايا إلى كتلة متجانسة (مستخلص خام) Crude homogenate ، بعد ذلك تم اخذ المستخلص الخام وفصل الراسب Pellet عن الراشح Supernatant بجهاز الطرد المركزي المبرد الفوقي Ultracentrifuge بسرعة 18000g لمدة نصف ساعة وبدرجة حرارة (4) درجة مئوية. وتمت إذابة الراسب في حجم من المحلول أعلاه مساوٍ إلى حجم الراشح ثم حفظ المستخلص الخام والراشح والراسب بدرجة (20–) مئوية واعتبر مصدرا للأنزيمات في التجارب اللاحقة.

الكشف عن فعالية انزيم الادينوسين دي امينيز Adenosine deaminase

لقد اتبعت الطريقة الموصى بها من قبل Hassan and Coombs[11] مع بعض التحويرات للكشف عن أنزيم الادينوسين دي امينيز،حيث تم حضن وسط التفاعل Assay Mixture وبحجم (1) مليلتر في حمام مائي بدرجة حرارة (37) درجة مئوية لمدة (30) دقيقة وقد بدأ التفاعل الأنزيمي بمجرد إضافة الأنزيم (المستخلص الخام أو الراشح). يعتمد هذا القياس على النقصان في الامتصاصية كل دقيقة ولمدة (10) دقائق عند الطول الموجي 270 نانوميتر نتيجة تحول الادينوسين كمادة اساس الى الاينوسين Inosine حيث كان مزيج التفاعل بحجم نهائي 1مليلترمؤلف من :-

1- 50 مليمولر محلول منظم ترس Tris – HCl بأس هيدروجيني pH 7.2

2- 1 مليمولر ادينوسين

3- كمية محددة من مستخلص الانزيم

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

وتم التعبير عن فعالية الأنزيم Enzyme activity بأنها عدد نانومولات المادة الناتجة من تحويل عدد معلوم من نانومولات المادة الأساس / وحدة الزمن (دقيقة)/ ملغم بروتين.

التنقية الجزئية لأنزيم الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية

تم تنقية انزيم الادينوسين دي امينيز في مستخلص الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية باتباع الطريقة الموصى بها من قبلSingh and Sharma [2] والتي تضمت مايلي :-

1- التجزئة بكبريتات الامونيوم

2- كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي

التجزئة بكبريتات الامونيوم

لقد اخذ الراشح Supernatant (SN) وخضع الى الترسيب التجزيئي بإضافات بطيئة من كبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ الصلبة مع التحريك الى نسبة 70% درجة تشبع ثم فصل الراسب المتكون بجهاز الطرد المركزي بسرعة 20000 g لمدة(15) دقيقة وبدرجة 4 مئوية.

الترشيح الهلامي للسيفادكس G 100

تم حقن عمود الفصل (1.5×50) سنتميتر ب (5) مليلتر من مستخلص انزيم الادينوسين دي امينيز ثم حقن ب (2) مليلتر ايضا من المحلول المنظم ترس لغرض الغسل . وتم جمع المحلول المنظم النازل بمعدل 1 مليلتر / دقيقة لكل جزء في جامع الاجزاء Fractions collector وتم تقدير حجم محلول الروغان وذلك بمتابعة المحتوى البروتيني لكل جزء بقياس شدة الامتصاصية عند الطول الموجي 280 نانوميتر باستخدام مطياف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية . وتم الاستدلال على القمة البروتينية التي تحوي انزيم الادينوسين دي امينيز من خلال قياس فعاليته وتم تقدير الوزن الجزيئي للأنزيم بالمقارنة مع الاوزان الجزيئية المعلومة للمركبات القياسية .

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

تعيين الوزن الجزيئي لأنزيم الادينوسين دي امينيز

تمّ اتباع الطريقة الموصى بها من قبل Andrew [12] لتعيين الوزن الجزيئي لأنزيم الادينوسين دي امينيز بالترشيح الهلامي على عمود السيفادكس G100 وباستخدام البروتينات القياسية ذات الاوزان الجزيئية المعلومة حيث استخدم سايتوكروم C (12400 دالتون) وكايموتريسينوجين Chymotrypsinogen (20800دالتون) والبومين البيض Ovalbumin اميليز (69000 دالتون) والبومين المصل البقري (68000 دالتون) واليوريز (480000 دالتون) كل على حدة بمقدار (2) ملغم لكل منها والتي جرى حقنها على عمود الفصل وتم الروغان بالمحاول المنظم ترس حيث جمعت الاجزاء بحجم 1 مليلتر لكل جزء وقيست شدة الامتصاصية لكل جزء عند 280 نانوميتر لإيجاد حجومهم الروغانية Elution volume (Ve).وقد تم تقدير تركيز البروتين خلال مراحل استخلاص الانزيم حسب الطريقة المتبعة من قبلLowery et al[13] .

3. النتائج والمناقشة : Results & Discussion

تم مبدئيا قياس نشاط انزيم الادينوسين دي امينيز في المستخلص الخام والراسب والراشح والتي تم تحضيرها كما في المواد وطرائق العمل حيث اظهرت النتائج ان الفعالية الانزيمية تقع وبنسبة 100% في الجزء الراشح وهو الجزء الذائب من السايتوبلازم وبذلك اعتبر الراشح كمصدر للأنزيم في التجارب اللاحقة. والجدير بالملاحظة ان الفعالية النوعية لأي انزيم لايمكن الاعتماد عليها الا في الظروف المثالية، لذ فمن الضروري تنقية الانزيم بغية ايجاد قيم حقيقية تعبر عن نشاط الانزيم وخواصها النوعية. تعد عملية تنقية انزيم الادينوسين دي امينيز من اهم الصعوبات التي واجهت ومازالت تواجه كل المهتمين بدراسته بشكله النقي، وان تنقية هذا الانزيم وبأية تقنية متيسرة يعد انجازا قيما، وذلك لان البروتين الخاص بهذا الانزيم يوجد في الخلايا الحية بتراكيز واطئة مقارنة مع البروتينات الخاصة بالأنزيمات الاخرى، وما يزيد الوضع تعقيدا هو ان فعالية هذا الانزيم غير ثابتة حيث يمكن ان تحث (تحت ظروف الحث المعروفة) الى مستويات عالية وتهبط (تحت ظروف التثبيط المعروفة) الى ادنى مستوى لها في غضون (30–60) دقيقة، فضلا عن محدودية انواع الهلام التي يمكن ان تبدي الفة بينها وبين جزيئات الادينوسين دي امينيز الذي يختلف من كائن الى كائن اخر حتى ضمن المجموعة التصنيفية الواحدة من حيث الفته للالتصاق على دقائق الهلام. وفي الدراسة الحالية تم تنقية انزيم الادينوسين دي امينيز من الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية باتباع

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

عدد من خطوات التنقية بوساطة تقنية كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي باستخدام السيفادكس G100 كوسط لتعليق جزيئات الانزيم. وكنتيجة للخطوتين الاوليتين فقد تم التخلص من جزء كبير من البروتينات والمكونات الاخرى الموجودة في المستخلص الخام التي ربما تتداخل او تتأثر مع فعالية الانزيم، الامر الذي مكن البروتين الخاص من الارتباط على محلات الالفة لدقائق الهلام خلال الخطوة الاخيرة. لقد تباينت درجة نقاوة الانزيم (اي خلوه من الشوائب) وقيمها (اي شدة نقاوة الانزيم) مقدرا بالعقدة Fold من محاولة الى اخرى، الا ان افضل النتائج التي تم التوصل اليها حسب هذه الطريقة هي التي يبينها الجدول (1).

Table (1): Summary of the partial purification of the adenosine deaminase of E.granulosus protoscoleces

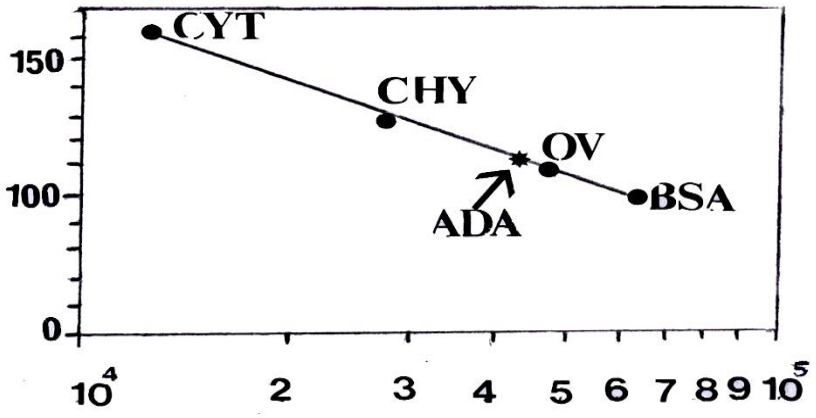
	Total activity*	Total (mg)protein	Specific Activity**	Purification fold	%yield
Crude homogenate	265	14.6	18.1	___	100
Supernatant	218	8.8	24.7	1.36	82
$(NH)_2$ SO_4 precipitation	188	4.96	37.9	2.09	71
Sephadex G100	46	0.05	920	50.82	17

*nmole / min

**nmole /min/mg protein

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

فبعد تمرير المستخلص بعمود الترشيح الهلامي تم الحصول على عينات نقية من الادينوسين دي امينيز وصلت درجة نقاوته الى اكثر من 50 وفعالية نوعية 920 نانومول/ دقيقة / ملغرام بروتين في الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية. وبالمقارنة يتضح ان الفعالية النوعية لهذا الانزيم بعد الترشيح الهلامي زادت بمقدار(50) مرة عن فعاليته من المستخلص الخام. كما حدد الوزن الجزيئي لأنزيم الادينوسين دي امينيز في مستخلص الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية بتقنية الترشيح الهلامي على السيفادكس G100 ووجد ان الوزن الجزيئي للأنزيم مساويا تقريبا الى 44000 دالتون الشكل (2) وبذلك يماثل انزيم الادينوسين دي

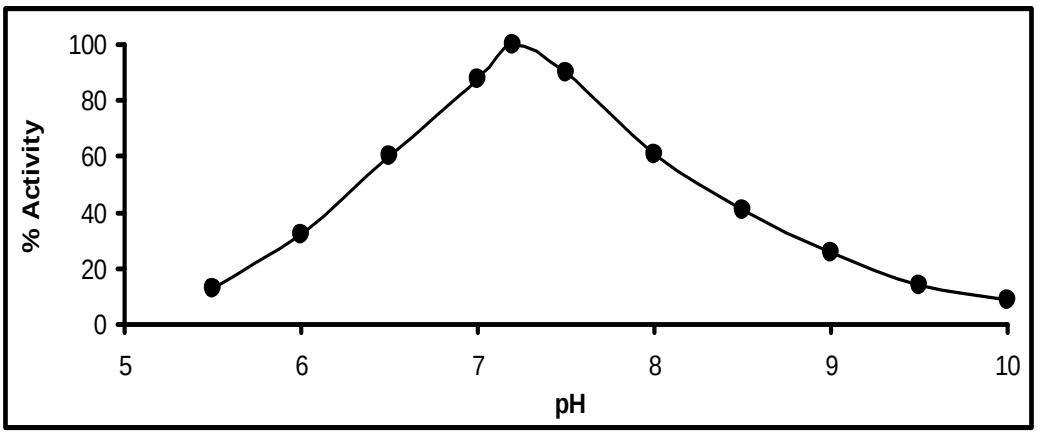


شكل (2): تقدير الوزن الجزيئي لانزيم الادينوسين دي امينيز باستخدام الترشيح الهلامي على السيفادكس100 G . البروتينات القياسية: BSA= Bovine serum albumin ;CYT= Cytochrome; OV= Ovalbumin ; CHY = Chymotrypsinogen *ADA=الادينوسين دي امينيز. تم تحديد الحجم الروغاني (Elution volume) باستخدام الديكستران الازرق (Blue dextran 2000)

على الرغم من انه لم يتم لحد الان تنقية انزيم الادينوسين دي امينيز في الديدان الطفيلية، الا انه يمكن استخدام النتائج التي تم الحصول عليها في الدراسة الحالية كدليل على مستويات الفعالية الانزيمية في خلايا الديدان الطفيلية. مع ذلك تعد الدراسة الحالية اول خطوة لتنقية الادينوسين دي امينيز في الديدان الطفيلية التابعة لمجاميع تصنيفية مختلفة. لقد درس تأثير الزمن على التفاعل المحفز بواسطة انزيم الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية واظهرت النتائج فعالية انزيمية خطية

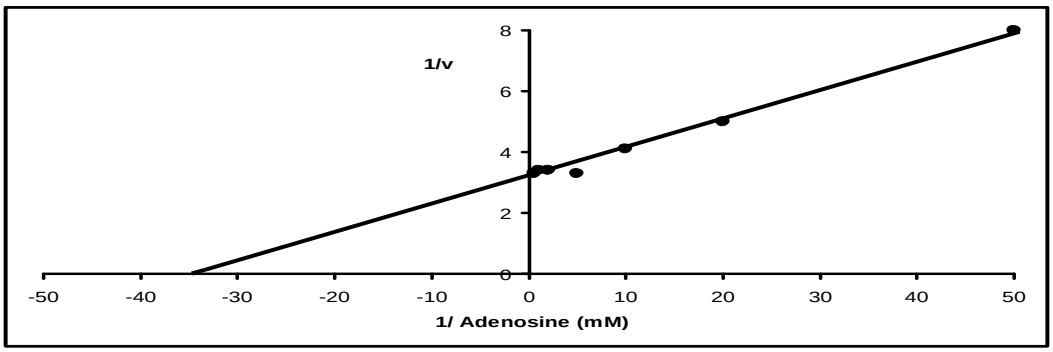
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

Linearity لمدة 10 دقائق والتي سرعان ما تضاءلت تدريجيا بمرور الزمن. كما تم حساب نشاط الانزيم في درجات حرارية مختلفة (5 – 50) درجة مئوية واظهرت النتائج ان الدرجة الحرارية المثلى Optimum temperature هي 37 درجة مئوية. كما درست تأثير الاس الهيدروجيني على التفاعل المحفز بانزيم الادينوسين دي امينيز باستخدام المحلول المنظم خلات الصوديوم بتركيز 50 مليمولر (5.0 – 6.8) pH والمحلول المنظم ترس Tris – HCl بتركيز 50 مليمولر (7.0 _ 10) pH حيث دلت النتائج الشكل (3).



شكل (3): تأثير الاس الهيدروجيني على نشاط انزيم الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية.

على ان درجة الاس الهيدروجيني المثلى لانزيم الادينوسين دي امينيز كانت (7.2) في الرؤويسات الاولية بعد 10 دقائق عند درجة الحرارة 37 مئوية وبتطبيق الظروف المثالية المدروسة انفا، تم حساب نشاط الانزيم لعدد من تراكيز المادة الاساس الادينوسين (0.1 – 20) مليمولر وتم الحصول على ثابت ميكيلس منتن Km برسم لينويفر بورك لمقلوب سرعة التفاعل $\frac{1}{V}$ مقابل مقلوب تركيز المادة الأساس $\frac{1}{S}$ وقد دلت النتائج على ان Km للادينوسين الشكل (4).



Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

شكل (4): مخطط لاينويفربورك Lineweaver Burk plot لانزيم الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبة.

هي 0.028 مليمولر. والجدير بالملاحظة ان قيم الاس الهيدروجيني وقيم Km لانزيم الادينوسين دي امينيز للرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبة جاءت مطابقة لقيمة الاس الهيدروجيني (7.2–8.0) pH وقيم Km(5×10^5) مولر للأنزيم المستخلص من طفيلي الليشمانيا[14]. ويتضح من نتائج البحث الحالي ان هناك اختلاف في درجة الحرارة المثلى لفعالية الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية وطفيلي الليشمانيا. ومن المحتمل ان تكون الدرجة الحرارية المثلى لفعالية الادينوسين دي امينيز بمثابة تكيف الطفيلي للتبدل الذي قد يحصل في درجة الحرارة اثناء تحوله الى طور اخر(الاوالي الطفيلية) او الى الطور البالغ (الديدان الطفيلية) في المضيف ذو الحرارة الجسدية الثابتة Homeothermic host . ولقد درس تأثير عدة تراكيز من المتناظرات البيورين مثل التيوبرسيدين Tubercidin والفورمايسين Formycin Al والكوردسبينCordycepin في نشاط انزيم الادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية حيث تم حضن عينات معلومة من الانزيم بوجود الكوابت لمدة (3) دقائق وبعدها تم التحري عن فعالية الانزيم حسب الطريقة التي تم شرحها في فصل المواد وطرائق العمل. ويلاحظ من الجدول (2). ان للفورمايسين A والتيوبرسيدين والكوردسبين تأثير تثبيطي شديد للفعالية الانزيمية للادينوسين دي امينيز في الرؤويسات الاولية.

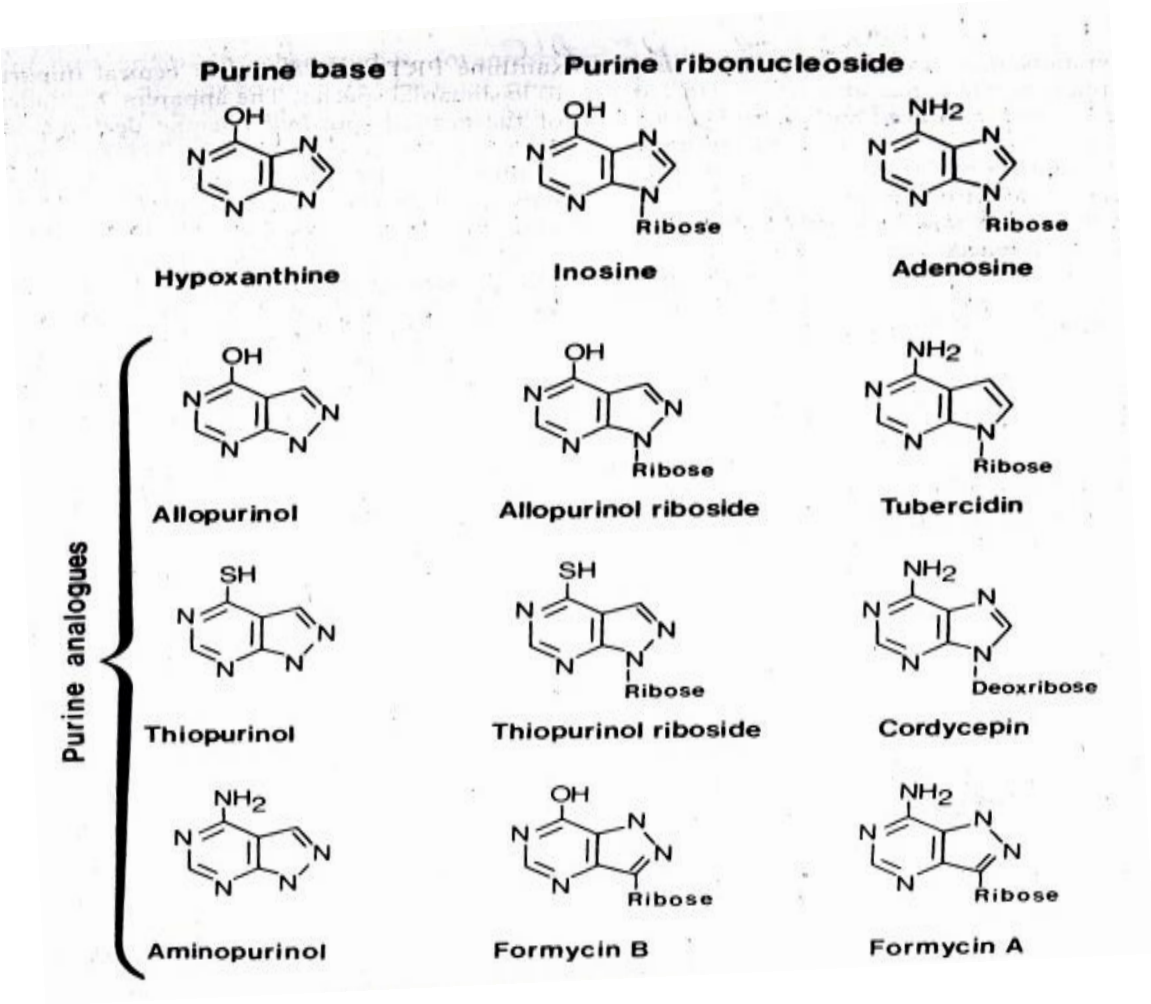
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

جدول (2): تأثير متناظرات البيورين على نشاط انزيم الادينوسين دي امينيز

الكوابت	التركيز (مليمولر)	% التثبيط
Tubercidin تيوبرسيدين	0.01	38
	0.1	67
	1	82
Formycin A فورمايسين ا	0.01	42
	0.1	59
	1	86
Cordycepin كوردسبين	0.01	26
	0.1	61
	1	78

تعد المركبات المتناظرة للبيورين الشكل (5) . مواداً علاجية متخصصة تعمل كأدوية مضادة للأورام والفايروسات والبكتريا والاوالي الطفيلية[15،16] من خلال تأثيرها المباشر على دورة حياة الخلية بتداخلها مع بعض المواقع الأيضية ضمن العمليات الحياتية البنائية للخلية.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849



شكل (5): الصيغ التركيبية لبعض متناظرات القواعد والنيوكليوسيدات البيورينية ذات الفائدة العلاجية[15]

ومن هذه المتناظرات مركب التيوبرسيدين الذي تستبدل فيه ذرة النيتروجين بذرة الكربون عند الموقع (7) ومركب الفورمايسين آ حيث تستبدل فيها ذرة الكربون عند الموقع (8) وذرة النتروجين عند الموقع (9) بذرة النتروجين وذرة الكربون على التوالي ومركب الكوردسبين الذي تستبدل فيه مجموعة الهيدروكسيل بذرة الهيدروجين عند الموقع (3) للسكر دي أوكسي رايبوز. و تمت دراسة تأثير هذه المركبات في الأوالي الطفيلية وظهرت أنها تثبط نمو الملاريا واللشمانيا والتريبانوسوما [17-19] من خلال تثبيط فعالية أنزيمات مسار إنقاذ البيورينات ولذا بات من الضروري دراسة تأثير هذه المركبات بقصد تسليط الضوء على ميكانيكية عملها ودورها في الديدان الطفيلية.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

تدل نتائج هذه الدراسة على امتلاك التيوبرسيدين و الفورمايسين آ والكوردسبين قدرة على التثبيط العالي للفعالية الأنزيمية للادينوسين دي امينيزفي الرؤويسات الاولية للمشوكة الحبيبية ، الأمر الذي يقود إلى الاستنتاج أن هذه المركبات تنافس المادة الأساس للارتباط مع الانزيم عند الموقع الفعال أو تعزز بناء المزيد من النيوكليوتيدات الأحادية والثنائية والثلاثية الفوسفيت لتندمج في النهاية في الحامض النووي الرايبوزي حيث تتداخل مع الحامض النووي الرايبوزي الساعي الذي يشفر بناء البروتين ليعيق بذلك صنع هذه الجزيئة الحيوية ويؤدي في النهاية إلى إيقاف انقسام وتكاثر الطفيلي وقد سبق أن اكتشف الأمر نفسه في الأوالي الطفيلية[20-23].

يتضح مما سبق ان التأثيرالناتج لمتناظرات البيورين على انزيمات مسار الاسترداد ربما يعطي دلالة على الية عمل هذه المتناظرات التي ربما لها علاقة بصنع الاحماض النووية . ومن المحتمل أن تؤدي الدراسات الاضافية في هذا المجال المهمل من الكيمياء الحياتية للديدان الطفيلية الى ايجاد امثلة لاليات اخرى. وان مثل هذا العمل يجب أن يشجع حيث ان البحث في الية مقاومة الادوية يعطي احيانا معلومات اضافية على الية التفاعل.

المصادر (References)

[1] R. Berens, R.Krug and J. Marr. Purine and pyrimidine and expression of adenosine kinase from Leishmaniaand. ***Molecular Biology of Parasites***., 1995,London: Academic.

[2] S. Singh and R. Sharma. ***Purification and characterization of intestinal adenosine deaminase from mice***. Mol. Cell. Biochem,204, (2000),pp.127-134.

[3] C.Barsotti, M.Tozzi and P.I pata. ***Purine and pyrimidine salvage in whole rat brain***. Adv.physiol.Educ. 35, (2011), 342-346.

[4] J. Galazka, B .Striepen and B. Ullman. ***Adenosine kinase from Cryptosporidium parvum***. Mol. Biochem. Parasitol. 149, (2006) ,223-230.

[5] V.Jayaraman, V. Bulus and H. Balaram. ***Crosstalk between purine nucleotide metabolism and mitochondrial pathways in Plasmodium falciparum***. Curr. Sci.102,(2012), 757-766.

[6] S. Suchail , M.Sarciron and A. Petary. ***Purine Metabolism in Echinococcus Multilocularis*** . Comp. Biochem . Physiol.120 B, (1998), 633-637.

[7] S.Ogbodo and J. Emeh. ***Salvage pathway enzyme as chemotherapeutic target for treatment of on chocerciasis***.I. Adenosine aminohydrolase.Biochem.Res,17, (2006) 189-192.

[8] H.Brown and F. Neva. ***Basic clinical parasitology***. Appletion centry-Crofts, 1983,East Nor walk, CT.

[9] P.Tyler, E.Taylor and V.Schramm. ***Synthesis of 5- methylthio coformycin: specific inhibitors for malarial adenosine deaminase***. J. Am. Chem. Soc. 12, (2007), 6872-6879.

[10] H.Ahmed , T. ALHadithi and H.Hassan .***Immunoreactivity of hydatid antigen extracted from heat shock protoscoleces serodiagnosis of human hydatid disease***. Kirkuk Univ, 2009. J. 4, 135-146.

[11] H.Hassan and G.Coombs. ***A comparative study of the purine and pyrimidine metabolising enzymes of a range of trypanosomatids***. Comp. Biochem. Physiol., 84B, (1986), pp.(217-223).

[12] P. Andrews . **Estimation of the molecular weight of protein by sephadex gel-filteration**.J. Biochem.91,(1962),pp .(222-233).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

[13] O.Lowery , N. Rosebrough, A. Farr, and R. Randall. ***Protein measurement with the Folin phenol reagent***. J. Biol. Chem., 193, (1951), pp. 265-275.

[14] A. M. Faraj. ***Effects of some phenothiazine tricyclic derivatives on growth and metabolism of Leishmania donovani***. Salahaddin University, Erbil. , 2003.ph D thesis.

[15] C.Wang. ***Parasite enzymes as potential targets for antiparasitic chemotherapy***. J.Med. Che., 27, (1994),pp. 1-9.

[16] H. Pospisilova, and I. Frebort. ***Aminohydrolases acting on adenine, adenosine and their derivatives***. Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky Olomouc. Czech. Repub. 151, (2007),pp. 3-10.

[17] J.Avila, M.Poleger, A. Avila, and R.Robin. ***Action of pyrazolopyrimidine derivatives on Trypanosoma rangeli culture forms***. Comp. Biochem. Physiol., 83, (1986),pp.291-294.

[18] R.Mccabe, J. Remington , and F.Araujo .***In Vitro and In vivo activities of formycin B against. Trypanosoma cruzi Antimicrob***. Agants. Chemother., 40, (1996),pp. 491-404.

[19] A. Al-Jeboor. ***Effect of some antiparasitic agents and medicinal of plant on Leishmanial and helminthic parasitic***. College of Education, University of Tikrit,2002. ph D thesis

[20] R.Berens, R.Krug and J. Marr. ***Purine and pyrimidine and expression of adenosine kinase from Leishmaniaand Molecular Biology of Parasites***. (1995). London: Academic

[21] J.Biotz, M. Strasser, R. Hartman, C. Jardin, A. and B, Ullman. (2012). ***Unique enzyme in parasite purine metabolism*** J. Biol. Chem. (2012), 287, 76 26- 76 39.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(279-294)
ISSN 1992 – 0849

[22] H.Dovey, J.Mckerrow and C.Wang. ***Action of tubercidin and other adenosine analogs on Schistosoma mansoni Schistosomules***. Mol. Biochem. Parasit. 16, (1985),pp.(185–198).

[23] M. C. Ho, M. B.Cassera, D. C.Madrid, L. M.Ting, P. C.Tyler, K. Kim., S. C.Almo, and V. L Schramm. ***Structural and metabolic specificity of methylthiocoformycin for malarial adenosine deaminases***. Biochemistry 48, (2009),pp. (9618–9626).

المؤلف

إيناس احسان رشيد: الكلية العلوم القسم علوم الحياة جامعة كركوك سنة التخرج 2010–2011 التقدير جيد القبول بالماجستير:2011–2012 سنة تخرج من الماجستير 2014–2015 تخصص الطفيليات.