Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

التنقية الجزئية لأنزيم السايتدين دي أمينيز في الروؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية Echinococcus granulosus

جنان ايوب صابر [1] ، حسين فاضل حسن [2]

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

[1]Jenan_ayoub@yahoo.com , [2]h.fahel@yahoo.com

تاريخ استلام البحث: 17 / 12 / 2014 تاريخ قبول البحث: 13 / 4 / 2015

الملخص

تضمن البحث عزل وتنقية جزئية لأنزيم السايتدين دي أمينيز(EC.3.5.4.5) من الرؤيسات الاولية بتقنية الترشيح الهلامي وبأستخدام السيفادكس G200 اذ بلغ عدد مرات التنقية لهذا الانزيم تقريبا 27 وبفعالية نوعية 826 نانومول/دقيقة/ملغرام بروتين ووجد ان الوزن الجزيئي للانزيم يساوي تقريبا 82000 دالتون. وتبين ان الاس الهيدروجيني الامثل لأظهار الفعالية الانزيمية هو 7.5عند درجة الحرارة 37 درجة مئوية وله ثابت ميكيلس منتن km بقيمة 0.03 مليمولر للسايتدين. كما اظهرت النتائج ان فعالية أنزيم السايتدين دي أمينيز تثبط بوجود 5_فلوروبوراسيل و5_ثايوبوراسيل والوبيورانول بنسبة تثبيط 24% و18% و20% على التوالي.

الكلمات الدالة : تنقية ، سايتدين دي امينيز ، الروؤيسات الاولية، المشوكة الحبيبية.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

Partial purification of cytidine deaminase from protoscoleces of Echinococcus granulosus

Jenan A.Saber[1] , Husain F. Hassan[2]

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

[1]Jenan_ayoub@yahoo.com , [2]h.fahel@yahoo.com

Received date : 17 / 12 / 2014 **Accepted date : 13 / 4 / 2015**

ABSTRACT

Cytidine deaminase (EC 3.5.4.5) has been partially purified from protoscoleces of Echinococcus granulosus by gel filteration chromatography using Sephadex G200 .The molecular weight of the enzyme determined by gel filteration was about 82000 dalton with specific activity of 826 nmol/min/mg protein and with purification fold of about 27 times . The optimum pH was found to be 7.5 at 37 ^{o}C with km value of 0.03 mM for cytidine . The results indicate that the activity of cytidine deaminase was found to be inhibited by 5_flourouracil , 5_thiouracil and allopurinol with inhibitory percentage of 24 % ,18 % and 20%respectively.

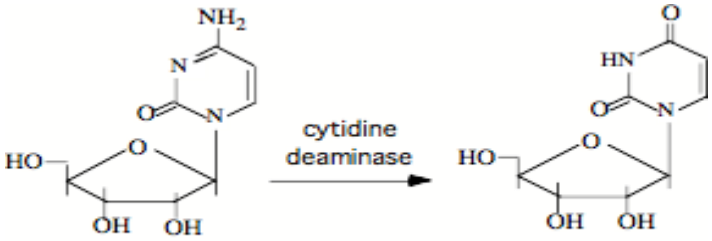
Keywords : *Purification , Cytidine deaminase , Protoscoleces , Echinococcus granulosus*

1. المقدمة (Introduction)

يعد انزيم السايتدين دي امينيز (EC.3.5.4.5) من الانزيمات الرئيسة التي تشارك في عملية التكوين الحيوي للبريميدينات بمسار الانقاذ في الخلايا الحية [1] اذ يحفز ازالة مجموعة الامين من السايتدين وتحويله الى اليوردين كما موضح في الشكل (1). تم دراسة هذا الانزيم في العديد من الاحياء المجهرية [3,2] والاوالي الطفيلية[17,5,4] واللبائن[7,6] واثبتت الدراسات على قابلية هذا الانزيم في نقل نيوكليوسيدات البريميدين كهدف محتمل للمعالجة الكيمياوية بمشتقات السايتدين مثل ازاسايتدين 5_azacytidine وسايتوسين ارابينوسايد Cytosine arabinoside [8]. نظرا لعدم وجود دراسة تفصيلية سابقة لأنزيم السايتدين دي امينيز في الديدان الطفيلية وخصوصا المشوكة الحبيبية Echinococcus

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

granulosus فقد استهدف البحث الحالي على تنقية هذا الانزيم ودراسة خواصه من اجل التعرف على المسار الايضي الذي يسلكه السايتدين في هذه الديدان.



Cytidine **Uridine**

شكل (1): التفاعل المحفز بأنزيم السايتدي دي امينيز[15]

2. المواد وطرق العمل (Material and Methods)

عزل الرؤيسات الاولية (Protoscoleces)

جمعت في الدراسة الحالية نماذج الاكياس العدرية الكبدية من الاغنام المخمجة طبيعيا والتي تم الحصول عليها من مجزرة محافظة كركوك بمساعدة الاطباء البيطريين.بعد جلب الاكياس العدرية الى المختبر غسلت عدة مرات بأستخدام دارئ (PBS) Phosphate buffer solution الحاوي على (0.9 غرام NaCL و 0.2 ملغرام KH_2PO_4 و 1.15 ملغرام Na_2HPO_4 و 0.2 ملغرام KCL و 100 مليلتر من الماء المقطر) للتخلص من المواد العالقة بالكيس ، عقم السطح الخارجي للكيس بالكحول الاثيلي (70 %) . سحب سائل الكيس الحاوي على الرووًيسات الاولية بأستخدام محقنة طبية سعة 10 سم ^{3} ذات ابرة قياس 21G حيث جمع السائل في انابيب اختبار ثم فتح الكيس بأستعمال المقص والملقط وقشط الطبقة المولدة الحاوية على عدد أكبر من الرؤيسات الاولية وقطعت الى قطع صغيرة وغسلت بالوسط M 199 ذات اس هيدروجيني pH 7.2 (1.052 غرام من M199 و 35 ملغرام من $NaHCO_3$ في 100 مليلتر من الماء المقطر) وسحب السائل الى انابيب الاختبار واجريت لها عملية الغسل بالوسط M 199 وعزلت الرووًيسات الاولية بأستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة وكررت عملية الغسل ثلاث مرات وحفظت في درجة حرارة (−20) مئوية لحين الاستعمال[9].

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

تحضير المستخلص الانزيمي

علقت الروؤيسات الاولية في محلول (TSD) الترس Tris–HCL بتركيز 50مليمولر وبأس هيدروجيني pH 7.2 الحاوي على السكروز بتركيز (0.2) مولر والدايثايوثريتول Dithiothretol بتركيز (0.1) مليمولر ، وسحقت وهي داخل حمام ثلجي (4 مئوية) بأستخدام الخلاط الكهربائي Homogenizer لتحويلها الى كتلة متجانسة ومن ثم حطمت الخلايا بطريقة التجميد والتذويب (Freezing and Thawing) بتعريضها الى النتروجين السائل Liquid nitrogen لمدة عشر دقائق والتذويب Thawing عند درجة حرارة 37 مئوية لمدة عشر دقائق وكررت هذه العملية ثلاث مرات لتحويل مستخلص الخلايا الى كتلة متجانسة (مستخلص خام) (Crude extract) Crude homogenate وبعد ذلك اخذ المستخلص الخام وفصل الراسب Pellet من الراشح Supernatant بجهاز النبذ الفوقي المبرد High speed MSE 18 ultracentrifuge عند درجة حرارة 4 مئوية وبسرعة 18000 Xg لمدة نصف ساعة . وقد اذيب الراسب في حجم من محلول الترس (TSD) مساو الى حجم الراشح وتم استخدام الراشح والراسب والمستخلص الخام مصدرا للكشف عن تواجد فعالية الانزيم وحسب تصاميم التجارب .

قياس فعالية انزيم السايتدين دي امينيز

لقد اتبعت الطريقة الموصى بها من قبل[10] مع بعض التحويرات في جميع التجارب التي صممت للكشف عن فعالية انزيم السايتدين دي امينيز . حيث تم حضن مزيج التفاعل assay mixture في حمام مائي water bath وبدرجة (37) مئوية لمدة (3) دقائق اذ بدأ التفاعل الانزيمي بأضافة الانزيم (المستخلص الخام او الراشح) . يعتمد هذا القياس على النقصان في الامتصاصية لكل دقيقة ولمدة (10) دقائق عند الطول الموجي 286 نانوميتر الحاصلة نتيجة تحول السايتيدين كمادة اساس الى اليوريدين حيث كان مزيج التفاعل بحجم نهائي 1 مليلتر مؤلف من :

a) 50 مليمولر محلول منظم ترس Tris–HCL وبأس هيدروجيني pH 7.5 .

b) 1 مليمولر سايتيدين .

c) كمية محددة من مستخلص الانزيم.

ويعبر عن الفعالية النوعية Specific activity بأنها عدد نانومولات المادة الناتجة من تحويل عدد معلوم من نانومولات المادة الاساس / وحدة الزمن (دقيقة) / ملغم بروتين

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

التنقية الجزئية للانزيم

تم تنقية انزيم السايتدين دي امينيز في مستخلص الروؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية Echinicoccus granulosus بأتباع الطريقة الموصى بها من قبل [11] والتي تضمنت :

1_ التجزئة بكبريتات الامونيوم.

2_ كروماتوغرافيا الترشيح الهلامي.

تحضير هلام السيفادكس Sephadex G200

يعلق 2.5 غرام من Sephadex G200 في 250 مليلتر من المحلول المنظم ترس Tris_HCL بتركيز 50 مليمولر وبأس هيدروجيني pH 7.5 ويترك العالق بعد ذلك لمدة (24) ساعة في درجة حرارة 4 مئوية ليركد الى الاسفل ثم يزاح المحلول المنظم ويغسل الهلام بالماء المقطر وبعدها يترك العالق في المحلول المنظم لمدة ساعة لتصل حجم الجزيئات الى الاستقرار.

تعبئة عمود الفصل

استخدم عمود فصل بأرتفاع (70) سم وبقطر (2.2) سم حيث وضعت قطعة صغيرة من الصوف الزجاجي في قعر الانبوب لتعبئته بمادة الهلام من نوع Sephadex G200 المجهزة من شركة LKB الفرنسية حيث سكبت هذه المادة بهدوء على جدران الانبوب لتفادي تكون فقاعات هوائية ، ثم ترك الهلام ليترسب وسحب الماء الزائد منه، كررت هذه العملية حتى استقر الهلام بشكل نهائي بأرتفاع 60 سم. ثم غسل الهلام عدة مرات بالمحلول المنظم ترس Tris – HCL بتركيز 50 مليمولر pH 7.5 . وبذلك اصبح العمود جاهزا للاستخدام.

التجزئة بكبريتات الامونيوم

اخذ الراشح Supernatant (SN) واخضع الى الترسيب التجزيئي بأضافات بطيئة من كبريتات الامونيوم $(NH_4)_2SO_4$ الصلبة مع التحريك الى نسبة 75% درجة تشبع ثم فصل الراسب المتكون بجهاز الطرد المركزي بسرعة 20000g لمدة (15) دقيقة وبدرجة حرارة (4) مئوية ومن ثم تمت اذابة الراسب في المحلول المنظم ترس Tris–HCL بتركيز 50 مليمولر وبأس هيدروجيني pH 7.5.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

الترشيح الهلامي للسيفادكس G200

تم حقن عمود الفصل ب(2) سم^3 من مستخلص انزيم السايتيدين دي امينيز ثم حقن ب(2) سم^3 ايضا من المحلول المنظم ترس لغرض الغسل. تم جمع المحلول المنظم النازل بعد ذلك بمعدل 3سم^3 / عشر دقائق لكل جزء في جامع الاجزاء (Fraction Collector) الذي يعمل على نظام الدقائق وتم تقدير حجم محلول الروغان بدقة وذلك بمتابعة المحتوى البروتيني لكل جزء في جامع الاجزاء بقياس شدة الامتصاص عند الطول الموجي (280) نانوميتر بأستخدام جهاز مطياف الاشعة فوق البنفسجية والمرئية وتم الاستدلال على القمة البروتينية التي تحوي انزيم السايتيدين دي أمينيز من خلال قياس فعاليته, وتم تقدير الوزن الجزيئي للانزيم بالمقارنة مع الاوزان الجزيئية المعلومة للمركبات القياسية.

تقدير الوزن الجزيئي لانزيم السايتيدين دي أمينيز

تم تقدير الوزن الجزيئي التقريبي لانزيم السايتيدين دي امينيز للرؤيسات الاولية بأستخدام تقنية الترشيح بالهلام من خلال المقارنة بين حجوم محلول الروغان لمركبات قياسية معلومة الوزن الجزيئي وحجم محلول الروغان لانزيم السايتيدين دي أمينيز [12].

حيث تم حقن عمود الفصل بثلاثة مركبات قياسية معلومة الوزن الجزيئي وهي كايموتربسينوجين (CHY) Chymotrepsinogen (20800) دالتون ، البومين المصل البقري (BSA) Bovine serum albumin (68000) دالتون ، واللاكتيت ديهيدروجينيز (LDH) Lactate dehydrogenase (144000) دالتون كل على حدة بمقادير وتراكيز معينة وبأضافة كمية ثابتة من المحلول المنظم ترس (7.5 pH 50 مليمولر) لكل مركب.

– تم تقدير تركيز البروتين خلال مراحل استخلاص الانزيم حسب الطريقة المتبعة من قبل[13].

3. النتائج والمناقشة (Results and Discussion)

تم مبدئيا قياس فعالية انزيم السايتدين 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 للانزيم في التجارب اللاحقة والجدير بالملاحظة ان الفعالية النوعية لأي انزيم يمكن الاعتماد عليها في الظروف المثالية ، ولايعتمد عليها في الظروف التمهيدية ، لذا فمن الضروري تنقية الانزيم بغية ايجاد قيم حقيقية تعبر عن نشاط وخواصها النوعية.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

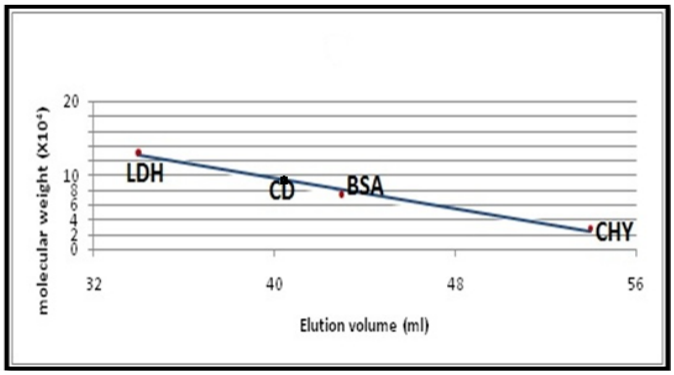
تعد عملية تنقية انزيم السايتدين دي أمينيز وبأية تقنية متيسرة انجازا قيما وذلك لوجود البروتين الخاص بهذا الانزيم بتراكيز واطئة في الخلايا الحية مقارنة بالبروتينات الخاصة بالانزيمات الاخرى وكذلك لمحدودية انواع الهلام من حيث ألفته للالتصاق بجزيئات هذا الانزيم فضلا عن عدم ثبات هذا الانزيم حيث يفقد فعاليته بسرعة كبيرة في غضون 30–60 دقيقة. فقد اتبعت في الدراسة الحالية عدد من خطوات التنقية والتي تضمنت قياس نشاط الانزيم في المستخلص الخام والراشح الناتج عن الطرد المركزي الفائق السرعة وكذلك قياس الفعالية بعد الترسيب بكبريتات الامونيوم ومن ثم قياسها بعد امرار المستخلص بعمود الترشيح الهلامي بأستخدام السيفادكس G200 كوسط لتعليق جزيئات الانزيم. وكنتيجة للخطوتين الاوليتين فقد تم التخلص من العديد 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 . وكما هو موضح في الجدول(1) فأن عملية الترشيح الهلامي ادت الى زيادة محسوسة في فعالية الانزيم وذلك بسبب زيادة نقاوة الانزيم على الرغم من ان عملية الترشيح الهلامي هي مرحلة واحدة من مراحل التنقية الجزئية وان عملية التنقية تتطلب خطوات اخرى لم يتم اجراؤها في الدراسة الحالية. فبعد امرار المستخلص بعمود الترشيح الهلامي تم الحصول على عينات نقية من انزيم السايتدين دي أمينيز وصلت درجة نقاوته الى اكثر من 26 وفعالية نوعية 826 نانومول/ دقيقة /ملغم بروتين . كما حدد الوزن الجزيئي لأنزيم السايتدين دي أمينيز في مستخلص الرؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية بتقنية الترشيح الهلامي على السيفادكس G200 ووجد ان الوزن الجزيئي للأنزيم مساويا تقريبا الى 82000 دالتون الشكل (2) وبذلك يماثل انزيم السايتدين دي أمينيز في مجاميع تصنيفية مختلفة[18,4,2]على الرغم من انه لم يتم لحد الان تنقية انزيم السايتدين دي أمينيز 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 السايتدين دي أمينيز في الديدان الطفيلية التابعة لمجاميع تصنيفية مختلفة.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

Table (1): Purification of Cytidine deaminase of the E.granulosus protoscoleces

Purification step	TotalProtein (mg)	Total activity**	Specifi activity**	Purification fold	Yield%
Crude homogenate	21	649	30.9		100
Supernatant	16.8	598	35.5	1.14	92
$(NH_4)_2SO_4$Precipitation	7.6	556	73.1	2.36	86
Sephadex G200	0.46	380	826	26.73	59

*nanomole/min **nanomole /min /mg protein



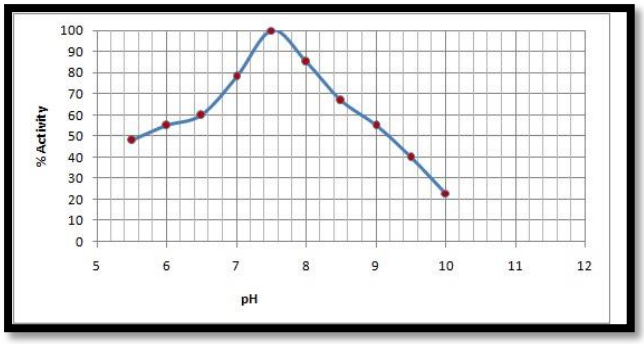
شكل(2) : تقدير الوزن الجزيئي لانزيم السايتدين دي أمينيز في الرووبسات الاولية للمشوكة الحبيبية بأستخدام الترشيح الهلامي للسيفادكس G200.البروتينات القياسية كايموتريسينوجين Chymotrepsinogen (CHY) (20800 دالتون)، مصل البومين البقر Bovine serum albumin(BSA) (68000 دالتون)، لاكتيت ديهيدروجينيز Lactate dehydrogenase (LDH) (144000 دالتون). تم تحديد الحجم الروغاني Elution volume بأستخدام الديكستران الازرق (Blue dextran 2000).

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

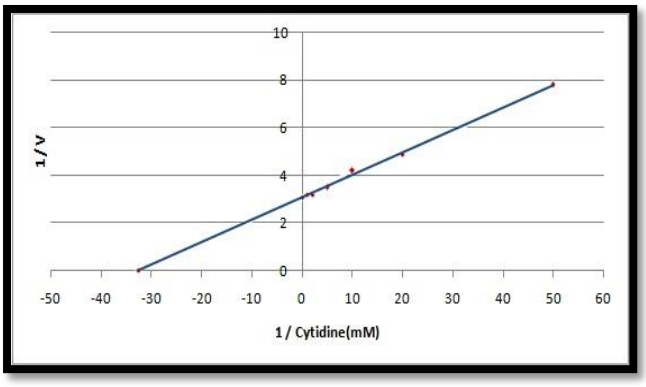
استخدم نوعين من المحاليل المنظمة هما المحلول المنظم ترس Tris–HCL بتركيز 50 مليمولر عند دالات حامضية مختلفة مابين 10_6.8 والمحلول المنظم خلات الصوديوم Sodium acetate بتركيز 50 مليمولر وعند دالات حامضية مختلفة مابين 6.8_5.0 .فوجد ان اعلى نسبة لفاعلية الانزيم كانت عند استخدام المحلول المنظم ترس عند الاس الهيدروجيني 7.5 الشكل (3) .تم قياس فعالية انزيم السايتدين دي أمينيز بوجود تراكيز مختلفة من الانزيم المنقى تراوحت مابين 10–200 مايكروغرام بروتين فلوحظ ان سرعة التفاعل تزداد بزيادة تركيز الانزيم حتى تصل الى اقصى حد لها عند100–200 مايكروغرام بروتين ولذا استخدمت تركيز 50 مايكروغرام بروتين في جميع التجارب اللاحقة .وكذلك قيست فعالية انزيم السايتدين دي أمينيز بدراسة تأثير الزمن 1–60 دقيقة على سرعة التفاعل بأستخدام المحلول المنظم ترس Tris–HCL بتركيز 50 مليمولر وبأس هيدروجيني 7.5 pH و50 مايكروغرام بروتين انزيمي وبدرجة حرارة 37 مئوية واظهرت النتائج فعالية انزيمية خطية Linearity لمدة 10 دقائق والتي سرعان ماتضاءلت تدريجيا بمرور الزمن. وتم ايضا قياس فعالية انزيم السايتدين دي أمينيز عند درجات حرارية مختلفة50_5 مئوية حيث اوضحت النتائج ان الدرجة الحرارية المثلى للانزيم كانت 37 مئوية. وبتطبيق الظروف المثالية المدروسة آنفا، تم حساب نشاط الانزيم لعدد من تراكيز المادة الاساس السايتدين 0.1–20 مليمولر وتم الحصول على ثابت ميكيلز منتن km برسم لينويفر بورك لمقلوب سرعة التفاعل 1 /V مقابل مقلوب تركيز المادة الاساس 1 /S وقد دلت النتائج على ان ثابت ميكيلس منتن للسايتدين الشكل(4) كانت 0.03 مليمولر. والجديربالملاحظة ان قيم الاس الهدروجيني وقيم Km لأنزيم السايتدين دي امينيز للروؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية جاءت مطابقة لقيمة الاس الهيدروجيني 7.2–8.0 pH وقيم Km ($5x10^5$) مولر للانزيم المستخلص من مجاميع بيولوجية مختلفة [20,18,17,15,14].

كما قيست نشاط انزيم السايتدين دي أمينيز المنقى من الرؤيسات الاولية بوجود عدة تراكيز من متناظرات القواعد النيتروجينية ومضادات الديدان حيث تم حضن عينات معلومة من الانزيم بوجود المثبطات لمدة ثلاث دقائق وبعدها تم التحري عن فعالية الانزيم حسب الطريقة الواردة في المواد وطرائق العمل . ويلاحظ من الجدول (2) . ان 5–فلوروبوراسيل والثايوبوراسيل والالوبيورانول سببت انخفاضا في فعالية الانزيم عند التراكيز العالية بنسبة 18–24% في حين لم تسبب البندازول والليفاميزول و 5–أزوبوراسيل اي تثبيط ملحوظ لفعالية انزيم السايتدين دي أمينيز . وعلى العكس سبب 5_ازاسايتدين تثبيطا عاليا في فعالية الانزيم حتى عند التراكيز الواطئة.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849



شكل (3): تأثير الاس الهيدروجيني على نشاط انزيم السايتدين دي أمينيز المنقى من الروؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية



شكل (4): مخطط لينويفر بورك Lineweaver Burk plot لأنزيم السايتدين دي أمينيز المنقى من الروؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

جدول (2): تأثير الكوابت على نشاط انزيم السايتدين دي أمينيز في الروؤيسات الاولية للمشوكة الحبيبية .

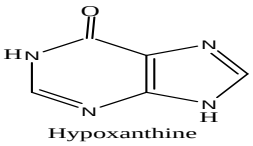
الكوابت	التركيز (مليمولر)	% التثبيط
البندازول	0.01	0.0
Albendazole	0.1	1
	1	2
ليفاميزول	0.01	1
Levamisole	0.1	1
	1	3
5_فلوروبوراسيل	0.01	10
5_Fluoro uracil	0.1	16
	1	24
5_أزوبوراسيل	0.01	2
5_Azouracil	0.1	3
	1	5
5_ثايوبوراسيل	0.01	5
5_Thio uracil	0.1	11
	1	18
الوبيورانول	0.01	4
Allopurinol	0.1	12
	1	20
5_Aza cytidine	0.01	33
	0.1	47
	1	89

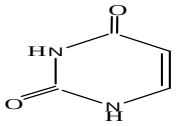
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

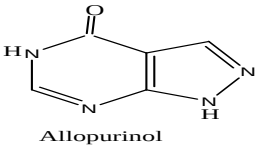
تعد متناظرات البريميدين والبيورين موادا علاجية متخصصة مضادة للاورام السرطانية والفايروسات والبكتريا والاوالي الطفيلية نظرا لتأثيرها المباشر على بعض التفاعلات في مسار ايض بناء النيوكليوتيدات[20,16,3] . وان مبدأ عمل هذه المتناظرات مهم جدا لفهم الادوية المتناظرة حيث يجب ان يتحول المتناظر الى مستوى النيوكليوتيد لغرض اظهار سميته ، وهناك نوعان من سمية المتناظر فأما تثبيط بعض الانزيمات التي تشترك في تركيب البريميدينات او اندماج المتناظر في الحامض النووي بدلا من النيوكليوتيدات الطبيعية . ومن هذه المتناظرات مركب 5–فلوروبوراسيل والذي يعد من البريميدينات المفلورة ومركب 5–ازايوراسيل وكذلك مركب الالوبيورانول الذي يتحول فيه ذرة النيتروجين من الموقع 7 الى الموقع 8 في الحلقة غير المتجانسة للبيورين الشكل (5). يتضح من نتائج هذه الدراسة حصول تأثير تثبيطي لفعالية انزيم السايتدين دي أمينيز من قبل 5–فلوروبوراسيل و 5–ازايوراسيل والالوبيورانول الامر الذي يقود الى الاستنتاج ان هذه المركبات ترتبط مع الانزيم عند الموقع الفعال اما لتنافس المادة الاساس على الاداء الوظيفي للانزيم او ربما تعزز هذه المركبات ايضا من بناء المزيد من جزيئات النيوكليوتيدات الاحادية والثنائية والثلاثية الفوسفيت لتندمج في النهاية مع الحامض النووي لتوقع الفوضى في العمليات الحياتية وتعيق بذلك صنع هذه الجزيئة الحيوية وتؤدي في النهاية الى ايقاف الانقسام وتكاثر الطفيلي . وقد سبق ان اكتشف الامر نفسه في الاوالي الطفيلية [10].

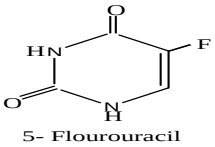
يتضح مما سبق ان التأثير الناتج لمتناظرات البريميدين والبيورين على انزيم السايتدين دي أمينيز ربما يعطي دلالة على الية عمل هذه المتناظرات التي ربما لها علاقة ببناء الاحماض النووية. وقد تؤدي الدراسات الاضافية في هذا المجال ولاسيما الكيمياء الحياتية للديدان الطفيلية الى ايجاد امثلة لأليات اخرى في البحث عن الية مقاومة الادوية لتتوصل الى معلومات اضافية تعزز من الية التفاعل .

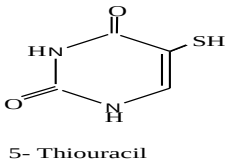
Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849











شكل (5): متناظرات البيورين والبريميدين

المصادر (References)

[1] R.Berens , E.Krug and J.Marr.Purine and Pyrimidine metabolism.***Biochemistry and Molecular Biology of Parasites*** , Acad.press Ltd.,(1995).,pp89_117.

[2] S.Vincenzetti , A.Cambi and A.Vita .***Cytidine deaminase from Escherichia coli***. Protein Exp.Purif.,(1996).8,247_253.

[3] A.Patersen.Metabolism of nucleotides , ***nucleosides &nucleobases in microorganisms*** .(1983).Academic press , London .

[4] B.Jimenez .and W.Osullivan.***Cytidine deaminase from Giardia lamblia*** .J.Parasit ., (1994),24,713_716.

[5] H.Hassan .and G.Coombs .***Purine and Pyrimidine in parasitic protozoa*** .FEMS Microbial.Rev., (1988).54,47-84.

[6] Z. Minic.,S. Landis. and G.Herve .(2002). ***Catabolism of pyrimidine nucleotides in the deep-sea tube worm Riftia pachyptila*** . J.Biol.Chem .,277,127_134

[7] C.Barsotti ,M.Tozzi and Ipata ,P. Purine and Pyrimidine salvage in whole rat brain .Adv.Physiol .Educ.,(2011).35,342_346.

[8] J.Krungkrai ,P. Prapunwatana , and T. Horii. ***Molecular biology and biochemistry of malarial parasite pyrimidine biosynthesis pathway*** .J.Trop.Med.Pub.Health ,(2003) 34,32_34.

[9] J.Smyth.***In vitro culture of Echinococcus*** Spp.In:Proceeding of the 13 th ed .Int.Conger.Hydatidol.Madrid,(1985),84-89.

[10] H.Hassan .and G. Coombs .***Acomparative study of the purine and pyrimidine metabolizing enzymes of arange of trypanosomatids*** .Comp.Biochem.Physiol.,(1986),84 B,217-223

[11] G.Ashely , P.Bartlett.***Purification and properties of Cytidine deaminase from Escherichia***coli.J.Biol.Chem.,(1984).259,13615_13620.

[12] P.Andrews .***Estimation of the molecular weight of proteia by sephadex gel filtration***.Biochem.J.,91,(1962),222-333.

[13] O.Lowery ,N. Rosebrough ,A. Farr , &R. Randall . ***Protein mesurment with the Folin phenolreagent***.J.Biol.Chem.,(1951).193,265-275.

[14] G.Kidder.***Characteristics of cytidine aminohydrolase activity in Trypanosoma cruzi and Crithidia fasiculata*** . J.Protozool .,(1984) 31, 298_300.

[15] H.Hassan.***De novo Pyrimidine nucleotide biosynthesis in Hymenolepis nana***.J.Duhok Univ.,(2009),12,1-5.

Kirkuk University Journal /Scientific Studies (KUJSS)
Volume 10, Issue 4, December 2015 , p.p(119-133)
ISSN 1992 – 0849

[16] A.Faraj.***Effects of some phenothiazine tricyclic derivatives on growth and metabolism of Leishmania donovani PhD Thesis*** , Salahaddin University,Erbil.(2003

[17] منى حسين جانكير . ***تواجد وخواص انزيم السايتدين دي أمينيز في المشعرات المهبلية Trichomonas vaginalis***. مجلة علوم الرافدين ، 4،1_13.(2005).

[18] منى حسين جانكير . ***دراسة فعالية وخواص انزيم السايتدين دي أمينيز المنقى جزئيا من انسجة دودة الارض.*** المجلة القطرية للكيمياء ، 306،215_228.(2008).

[19] ميديا محمد بكر وحسين فاضل حسن. ***أيض البريميدين في بعض الديدان الطفيلية***. مجلة جامعة كركوك، 6 ، 803−815.(2011).

[20] حسين فاضل حس; أسماء عبدالعزيز علي ونعمة علي احمد. ***فسلجة التأثير التثبيطي لبعض متناظرات البيورين على ايض الطور امامي السوط لطفيلي الليشمانيا الجلدية*** .مجلة علوم الرافدين ،8، 17_31 .(2005).

المؤلف

جنان ايوب صابر : بكالوريوس علوم جامعة كركوك/ كلية العلوم / قسم علوم الحياة ، سنة التخرج (2010_2011) سنة القبول في الماجستير (2010_2011) وكانت رسالة الماجستير بعنوان (دراسة انزيمات مسارات انقاذ البريميدينات في المشوكة الحبيبية).