

BIOCHEMICAL AND MOLECULAR GENETIC STUDIES OF THREE ANTI-DEPRESSION DRUGS ON *Saccharomyces cerevisiae*, USING ELECTROPHORESIS OF PROTEIN AND RAPD-PCR TECHNIQUES.

El-Zahrany, Hind A. A.

Biology Dept., Fac. Sci. for Girls, King AbdulAziz Univ., Jeddah, Saudi Arabia

دراسات بيوكيميائية وجزيئية لثلاثة من الأدوية المضادة للاكتئاب على خلايا خميرة الخباز (*Saccharomyces cerevisiae*) باستخدام كل من تقنية الفصل الكهربائي للبروتين وتقنية المضاعفة العشوائية للحامض النووي DNA باستخدام RAPD-PCR

هند على عطية الزهراني

قسم الأحياء - كلية العلوم للبنات - جامعة الملك عبد العزيز - جدة- المملكة العربية السعودية

المخلص ABSTRACT

في هذه الدراسة تم استخدام ثلاثة من الأدوية المضادة للاكتئاب وهي ريسبيردال، سيمبالتا، فافرين، وذلك لمعرفة مدى تأثيرها السمي على التغيير في أنماط حزم البروتين والحامض النووي DNA لخلايا خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* السلالة D7. وذلك باستخدام الفصل الكهربائي polymorphic DNA polymerase chain reaction لأنماط حزم البروتين SDS-PAGE وتقنيات RAPD-PCR أدت المعاملات المختلفة للعقاقير إلى ظهور تغييرات عديدة في أنماط حزم البروتين المفصلة كهربياً شملت تغييرات في كثافة الحزم واختفاء حزم أخرى وظهور حزم جديدة مقارنة بالعينة الضابطة. أدت أيضاً المعاملة بالتركيز العالي من العقار سيمبالتا إلى ظهور تغييرات في أنماط حزم الحامض النووي DNA شملت اختفاء حزمتين ولكن لم تؤدي إلى ظهور حزم جديدة أما العقارين ريسبيردال وفافرين فلم تظهر المعاملة بالتركيزات العالية لهما أي تغيير في حزم الـ DNA مقارنة بالمجموعة الضابطة. يتضح من النتائج التأثير السمي للعقاقير المستخدمة في الدراسة سواء بالنسبة للتركيزات المستخدمة أو بالنسبة لفترات التعريض. الكلمات المفتاحية : مضادات الاكتئاب ، خميرة الخباز ، حزم الحامض النووي الـ DNA ، التأثير السمي للعقاقير.

المقدمة INTRODUCTION

تعتبر الكثير من الأدوية والعقاقير الكيميائية من أهم المؤثرات التي تحدث أثراً جانبياً للإنسان وهذه الآثار يصعب إدراكها إلا بعد تراكم هذه العقاقير والأدوية وتجميعها لتصبح سامه للخلايا الحية وتعرف هذه الظاهرة بظاهرة التجمع البيولوجي Biological magnification، ويتداخل تأثير بعض الأدوية مع بعضها مما يؤثر سلباً على صحة الإنسان وخاصة إذا كان المريض مصاباً بأكثر من مرض (هاتوج - بوران وابودييه - 2003). من العقاقير الشائعة الاستخدام مسكنات الألم ، مضادات الالتهاب ، مضادات للحساسية Antipyretics ، الأدوية الخافضة للحرارة histamine ، المضادات الحيوية Antibiotics والعقاقير المستخدمة في العلاج النفسي Psychotherapy. وقد وجد Poli et al. (2002) أن عقارميجازول يسبب أخطاء لـ DNA الخلايا الليمفاوية للفأر ، حيث توجد علاقة بين الجرعة المعطاة وتلك الآثار التدميرية لـ DNA ولم يسبب حدوث أي طفرات لفطر الخميرة. وكذلك وجد keszenman et al. (2004) أن عقار البليومايسين المستخدم في علاج السرطان يعمل على حدوث تأثير مطفر أو مميت يتمثل في إضعاف أو منع تكوين الـ DNA في خلايا الخميرة (*Saccharomyces cervisiae*) في حين أن المعاملة المسبقة

لخلايا الخميرة بالصدمة الحرارية تؤدي إلى استحداث طفرات مقاومة بفعل هذا العامل المسرطن. كما أثبتت الزهراني (2006) في دراسة مستخدم فيها عقار التجريبتول بتركيز 800 ملجم/لتروفترة تعريض 24 ساعة حدوث انخفاض في عدد الحزم البروتينية وكثافتها بالفصل الكهربائي للبروتينات SDS-PAGE. كما أظهر العقار أن له القدرة على استحداث الطفرات في خلايا الخميرة مما أدى إلى إحداث تغيير في أنماط حزم البروتين المحللة بالفصل الكهربائي للبروتينات. وقد أدت المعاملة بالأوكسيكام إلى انخفاض في معدل حيوية خلايا خميرة وكان للعقار تأثير مطفر حيث ظهرت الطفرة المرتدة في التحول الجيني والعبور الوراثي الجسيمي في خلايا خميرة الخباز السلالة D7 (القتمي, 2008). هذا وقد اتجهت الأبحاث الحديثة إلى دراسة السمية الوراثية للعديد من الأدوية وغيرها من الملوثات البيئية من مواد كيميائية وأسمدة ومبيدات وإشعاعات باستخدام نظم حيوية مختلفة منها الكائنات الدقيقة، واتضح أن استخدام أكثر من نظام يعطي دلالة واضحة للتأثيرات السمية على المستوى البيوكيميائي (Sabir et al., 1995; Salam et al., 1995; Gramatikova, 1989; Ma and Ma 1999; Thoria et al., 2002, Freeman and Hoffmann, 2007 and George et al., 2009).

يهدف هذا البحث إلى دراسة التأثير البيوكيميائي لثلاثة أنواع من العقاقير المضادة للاكتئاب وهي ريسبريدال، سيمبالتا، فافيرين على خلايا خميرة الخباز *Saccharomyces cerevisiae* وتضمنت دراسة التغيير في أنماط حزم البروتين وذلك بطريق الفصل الكهربائي للبروتينات SDS protein electrophoresis بعد كل معاملة ومن ثم دراسة التغيير في أنماط الحامض النووي DNA بطريقة المضاعفة العشوائية لمقاطع متباينة من الحامض النووي، RAPD Random amplified polymeric DNA (RAPD) للمعاملات الأعلى تأثيراً بالعقاقير.

MATERIAL AND METHODS المواد المستخدمة و طرائق البحث

1- بيئات الزرع المستخدمة في الدراسة Culture media

استخدمت بيئة Zimmerman المأخوذة عن Hollander, (1973) لظفر الخميرة *S. cerevisiae* السلالة D7. وتم تحضير المزرعة culture عند درجة حرارة 35°م في مكان مظلم ولفترات مختلفة حسبما تقتضيه التجربة تم ذلك بتحضير معلق من خلايا الخميرة وذلك باستخدام السلالة D7 في 10 مل ماء مقطر وترج جيداً بواسطة جهاز الرج cencopwer mix لضمان انتشار الخلايا في الماء بشكل متساو.

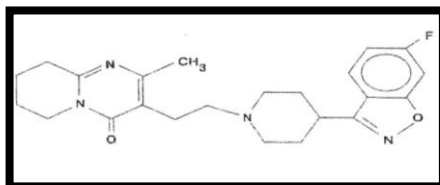
2- العقاقير الطبية المستخدمة في الدراسة :-

الريسبريدال : Risperdal

التركيب الكيميائي والمادة الفعالة : Ingredients

المادة الفعالة هي : الريسبردون (Risperidone) وصيغتها البنائية هي :

(Hardman and Limbird, 2002)

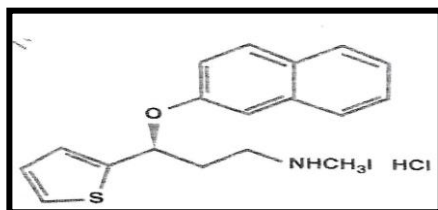


سيمبالتا : Cymbalta

التركيب الكيميائي والمادة الفعالة :

المادة الفعالة هي : الدول وكستين على شكل هايدروكلوريد الدول وكستين (duloxetine

hydre chloride) وصيغتها البنائية :



Master et al. (2003)

فافييرين Faverin :

التركيب الكيميائي والمادة الفعالة :

المادة الفعالة هي : فلوفاوكسامين مالميات (Fluvoxamine maleate) وصيغتها البنائية :

(Master et al.,2003)



3- المعاملة بالعقاقير المختلفة :

تم تجهيز التركيزات 0,002، 0,006، 0,0012 ملجم/مل، 0,06، 0,12، 0,18 ملجم/مل ، 0,2، 0,3، 0,4 ملجم / مل للثلاثة عقاقير وهي الريسبيردال ، السيمبالتا ، الفافييرين على التوالي. وتم ذلك بإذابة ضعف الكمية المراد دراستها من الريسبيردال ، السيمبالتا ، الفافييرين في 10 مل ماء مقطر ثم يؤخذ منه 5 مل فقط ومن معلق خلايا الخميرة 5 مل ولفترات تعريض هي 20،40،60،80 دقيقة ثم يسحب مقدار 1 مل من هذا الخليط وتخفف في 9 مل ماء مقطر ومعقم وترج جيداً بهدف غسل الخلايا وتكرار عملية التخفيف مره أخرى ثم تؤخذ عينة مقدارها 0,5 مل من آخر تخفيف وتضاف لطبق بتري به بيئة الكمال الصلبة وتوزع جيداً بواسطة ساق زجاجية معكوفة الطرف ومعقمة ويعمل 5 مكررات من الأطباق ومن العينة الضابطة ثم تكرر عملية غسل الخلايا والتخفيف كل 20 دقيقة مع مراعاة رج محلول الخميرة والعقار طوال فترة التجربة. وبعد ذلك تحضن الأطباق الناتجة عن التجربة لمدة 72 ساعة عند درجة حرارة 27°م. وتكرر العملية بنفس الطريقة عند كل التركيزات باستخدام العقاقير الثلاثة قيد الدراسة .

4- التحضيرات البيوكيميائية Biochemical preparations:-

أ- فصل البروتينات الذائبة باستخدام تقنية SDS-PAGE ثم فصل البروتين من مزارع الخميرة المعاملة بالتركيزات سابقة التحضير من العقاقير الطبية الثلاثة وذلك لمدد زمنية هي 20، 80 دقيقة بالإضافة إلى العينة الضابطة باستخدام طريقه الفصل الكهربائي للبروتينات الذائبة في الماء باستخدام SDS-PAGE صوديوم دودوسيل سلفيت بولي اكريلاميد جيل الكترولفوريسيس تبعاً لطريق (Laemmli,1970) واستخدم الدليل البروتيني ذو الأوزان الجزيئية 52، 99، 119، 208 KDa لعقار الريسبيردال. والدليل البروتيني ذو الأوزان الجزيئية 28، 36، 55، 72، 95، 130،250 KDa للعقارين السيمبالتا والفافييرين.

ب- المضاعفة العشوائية لمقاطع متباينة من DNA:

Random amplified Polymorphic DNA (RAPD)

تم في هذه التجربة استخلاص الحامض النووي الجينومي في فطر الخميرة المعاملة بعقار الريسبيردال بتركيز 12 ملجم/ لتر، عقار السيمبالتا بتركيز 180 ملجم / لتر ، عقار الفافييرين بتركيز 400 ملجم / لتر وذلك لمدة زمنية 80 دقيقة بالإضافة إلى العينة الضابطة لكل عقار باستخدام kit Qiagene. بعد ذلك تمت المضاعفة العشوائية لمقاطع متباينة من الـ DNA Polymerase Chain Reaction (RCR) وأجري التفاعل في حجم نهائي 25 ميكروليتر واستخدم 10 نانو غرام من الـ DNA و 2 ميكرومول من كل النيوكليوتيدات الأربعة (dATP\ dCTP\ dGTP\ dTTP) و 3 ميكرومول من كل البوادئ و 0,3 وحدة من إنزيم Taq DNA polymerase وأجريت عملية المضاعفة Amplification في جهاز الدوران الحراري Perkin Elmer Applied-9700 وفق البرنامج الحراري التالي : دورة واحدة بدرجة حرارة 94°م لمدة 40 ثانية ، 36°م لمدة دقيقة واحدة ، 72°م لمدة دقيقة واحدة ، ثم تركت العينات لمدة 7 دقائق على حرارة 72°م.

النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION

1. التغيير في أنماط حزم البروتين المفصولة من فطر الخميرة S.cerevisiae باستخدام تقنية SDS- PAGE :

يتضح تأثير العقاقير الطبية الثلاثة الريسبيردال ، السيمبالتا ، والفافييرين المستخدمة في الدراسة على فطر الخميرة S. cerevisiae عند التركيزات 0,002، 0,006، 0,012 ملجم/مل ، 0,2، 0,3، 0,4 ملجم/لتر من معلق خلايا الخميرة - على التوالي- عند الفترات

الزمنية 80:20 دقيقة. حيث أدت المعاملة بالعقاقير الثلاثة إلى إحداث تغيرات في أنماط حزم البروتين عند مقارنتها بالعينة الضابطة، كان أهمها اختفاء بعض الحزم ، ظهور حزم جديدة ، زيادة أو نقص في كثافة بعض الحزم البروتينية وهذه التغيرات لا تعتمد على الزيادة في التركيزات المستخدمة أو في زمن التعريض له. وقد أدت المعاملات إلى اختفاء بعض الحزم البروتينية ذات الأوزان الجزيئية 45:40،26 KDa للعقاقير الريبوسيدال ، السيمبالتا والفافيرين -على التوالي- بعد فصلها باستخدام تقنية SDS-PAGE (الأشكال 3،2،1).

2. التغير في أنماط حزم الحامض النووي DNA المفصول من فطره الخميرة *S.cerevisiae* والمتضاعف باستخدام تقنية Random amplified polymorphic DNA (RAPD):

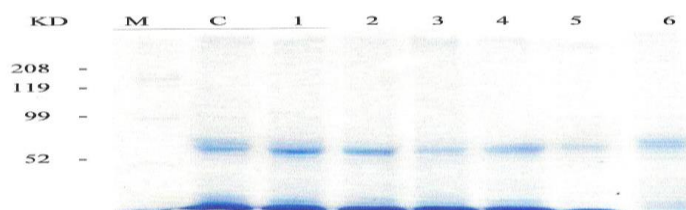
توضح الأشكال 6،5،4 تأثير العقاقير الطبية الثلاثة: الريبوسيدال ، سيمبالتا ، الفافيرين باستخدام التركيزات العالية المستخدمة في الدراسة (0،012 ملجم /مل، 0،18 ملجم/مل، 0،4 ملجم/مل من معلق خلايا الخميرة) ولمدة 80 دقيقة وذلك عند تطبيقها على خلايا خميرة *S. cerevisiae* ، يوضح الشكل (4) تأثير عقار الريبوسيدال على خلايا الخميرة والذي أدى إلى حدوث تغيرات في حزم DNA عند مقارنتها بالعينة الضابطة. وكان عدد البوادي المستخدمة في هذه المعاملة 5 بوادي وعدد الحزم لمعاملة العينة الضابطة يتراوح ما بين 5-1 حزم بأوزان جزيئية تراوحت ما بين 1990-277 زوج قاعدي (bp) حيث أظهر البادئ OPE6 حزمة ذات وزن جزيئي 399 زوج قاعدي (bp) لم تكن موجودة في العينة الضابطة أما البادئ op09 فقد تسبب في اختفاء أربع حزم كانت موجودة في العينة الضابطة ، أوزانها الجزيئية هي : 5181، 1656، 236 ، 955 وقد أدت المعاملة بعقار سيمبالتا إلى حدوث تغييرات في حزم DNA عند مقارنتها بالعينة الضابطة وكان عدد البوادي المستخدمة في هذه المعاملة 5 بوادي وعدد الحزم لمعاملة العينة الضابطة يتراوح ما بين 8-2 بأوزان جزيئية تراوحت ما بين 138-1691 زوج قاعدي (bp) وتراوح عدد الحزم الناتج عن المعاملة بالعقار ما بين 7-2 حزمة وقد أظهر البادئ OPF6 اختفاء حزمتين من DNA أوزانها الجزيئية 506،404 زوج قاعدي أما البادئ OPE2 فقد أظهر اختفاء حزمتين أوزانها الجزيئية 632،529 زوج قاعدي (bp) وأظهر حزمتين ذات وزن جزيئي 946،692 زوج قاعدي (bp) لم تكن موجودة في العينة الضابطة (شكل 5). يوضح شكل6 تأثير عقار الفافيرين على الأوزان الجزيئية لحزم DNA المتضاعف في خلايا خميرة الخباز بعد فصلها باستخدام تقنية RAPD بعد معاملتها بالتركيز 0،4 ملجم/مل من معلق خلايا الخميرة لمدة 80 دقيقة. وأدى العقار إلى حدوث تغيرات في أنماط حزم الـ DNA عند مقارنتها بالعينة الضابطة يتراوح ما بين 6-1 حزم بأوزان جزيئية تراوحت ما بين 1827-245 زوج قاعدي (bp) وعدد الحزم الناتج عن المعاملة بالعقار يتراوح ما بين 6-1 حزم بأوزان جزيئية تراوحت ما بين 1827-245 زوج قاعدي (bp) وكان البادئ (OPF6) قد أظهر اختفاء حزمة من الـ DNA وزنها الجزيئي 1509 زوج قاعدي (bp) وأظهر حزمة ذات وزن جزيئي 1582 زوج قاعدي (bp) لم تكن موجودة في العينة الضابطة

دلت النتائج المتحصل عليها أن عقاقير الريبوسيدال ، سيمبالتا ، فافيرين أوضحت تأثير سمي على خلايا الخميرة وقد تمثل ذلك في التأثيرات السامة على المادة الوراثية RNA ، DNA أو البروتين عن طريق تثبيط تكوينها أو التقليل من محتواها وكميتها في الخلية مما يؤدي إلى انعدام الحيوية حيث تتفق هذه النتائج مع ما وجدته كل من Kurtzman et al. (1980), Staunton and Graffney, (1998), Poli et al., (2002). و توصل Keszenman et al., (2004) إلى ان عقار Bleomycin المستخدم في علاج السرطان يعمل على أضعاف أو منع تكوين الـ DNA في خميرة *S. cerevisiae*. وقد يكون تأثير العقاقير المستخدمة نتيجة التأثير السام أو المطفر على المادة الوراثية وبالتالي على خلايا الكائن الحي ككل مما يشمل حدوث طفرات جينية وعيوب في تكوين الـ DNA ، ومما يؤيد هذه النتيجة أن معاملة خلايا الخميرة *S. cerevisiae* ببعض المواد المطفرة مثل 4-NQO وعقار الميتوتركسيت (MTX) ، AMP بتركيز 2،6 قد أدى إلى حدوث التغيرات الوراثية المذكورة ، تتفق هذه النتائج مع ما وجدته كل من Angela and Rodolf, (1995); Molina et al.(1993); Baleiras et al. (1996); Masneuf et al., (2000) and Fermadez- Espinar et al., (1996) وقد أدت المعاملة للسلسلة D5 للخميرة إلى حدوث طفرات العبور الوراثي الجسمي (Latouche et al.,1997 and Lavalley et al., 1994) نتيجة المعاملة بالعقاقير المضادة للسرطان كما أن الفينبيراثرين استحدث مستوى ضعيف من التحول الجيني والطفرات المرتدة في خلايا الخميرة *S.cerevisiae* (El-Adway et al., 1988). وقد تكون الجرعة المستخدمة من العقاقير هي السبب في استحداث التغيرات الوراثية ، حيث وجد أن زيادة الجرعة من مبيد الملاثيون قد تسببت في زيادة التغيرات الوراثية في ثلاث سلالات من الخميرة *S. cerevisiae* وكان تأثير dimethylamine (DMA) ساماً على السلالة D7 من *S. cerevisiae* حيث وجد أن له نشاط جيني

يتمثل في حدوث التحول الجيني والطفرة المرتدة (Galli et al.,1993). وقد أدت المعاملة بالعقاقير الثلاثة ريسبيردال ، سيمبالتا ، فافيرين بالتركيزات المختلفة إلى إحداث تغييرات في أنماط حزم البروتين مقارنة بالعينات الضابطة وقد شملت هذه التغييرات ظهور حزم جديدة أو اختفاء حزم أخرى وإحداث تغييرات في كثافة حزم البروتين وكذلك أدت المعاملة بالتركيزات الأعلى للعقاقير إلى إحداث تغيير في أنماط حزم الحامض النووي DNA المتضاعف وشملت هذه التغييرات اختفاء حزم أو ظهور حزم جديدة مقارنة بالعينات الضابطة وهذا يتفق مع ما وجدته كل من : Taspinar et al., (2008); Vytautus et al., (2008); Qari, (2009) مما يؤكد التأثير السمي لهذه العقاقير على خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* وإثبات قدرة هذه العقاقير على إحداث تغيير في التركيب الوراثي عند التعرض لها. ويستنتج من هذا البحث ما يلي :-

أدت معاملة خلايا الخميرة بالتركيزات المختلفة من العقاقير الثلاثة ولمدد زمنية 20، 80 دقيقة إلى ظهور تغييرات عديدة في أنماط حزم البروتين المفصولة كهربياً بتقنية SDS-PAGE وتمثلت هذه التغييرات في ظهور حزم جديدة ، اختفاء حزم بروتينية ، زيادة أو نقصان في نسب وكثافة الحزم البروتينية مقارنة بالعينة الضابطة .

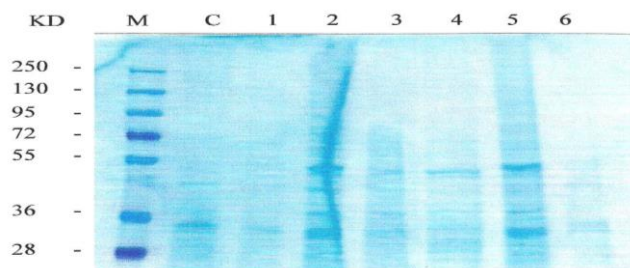
أدت المعاملات بالتركيز الأعلى من العقاقير المستخدمة ولمدد زمنية وصلت إلى 80 دقيقة إلى ظهور تغييرات في أنماط حزم الحامض النووي DNA المفصولة من خلايا الخميرة والمتضاعف باستخدام تقنية RAPD وتمثلت في اختفاء حزم من DNA وظهور حزم جديدة مقارنة بالعينة الضابطة.



شكل 1. التغييرات في أنماط حزم البروتين المفصولة كهربياً من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الريسبيردال.

(M) الدليل البروتيني
(C) العينة الضابطة
العمود (1) : تركيز 0.002 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.
العمود (2) : تركيز 0.002 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة.
العمود (3) : تركيز 0.006 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.
العمود (4) : تركيز 0.006 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة.
العمود (5) : تركيز 0.012 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.

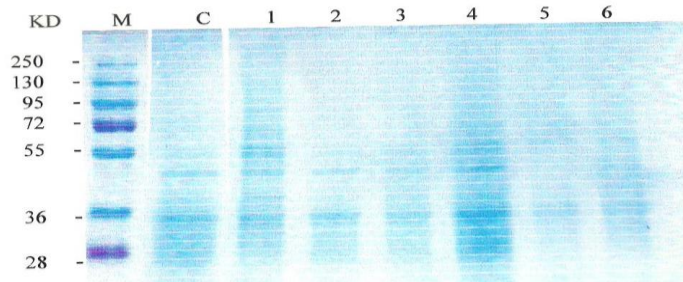
العمود (6) : تركيز
0.012 ملجم/مل
لمدة 80 دقيقة.



شكل 2. التغييرات في أنماط حزم البروتين المفصولة كهربياً من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار سيمبالتا.

(M) الدليل البروتيني
(C) العينة الضابطة
العمود (1) : تركيز 0.06 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.
العمود (2) : تركيز 0.06 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة.
العمود (3) : تركيز 0.12 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.

العمود (4) : تركيز 0.12 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة.
العمود (5) : تركيز 0.18 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.
العمود (6) : تركيز 0.18 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة



شكل 3. التغييرات في أنماط حزم البروتين المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الفلافيريين.

(M) الدليل البروتيني

(C) العينة الضابطة

العمود (1) : تركيز 0.2 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.

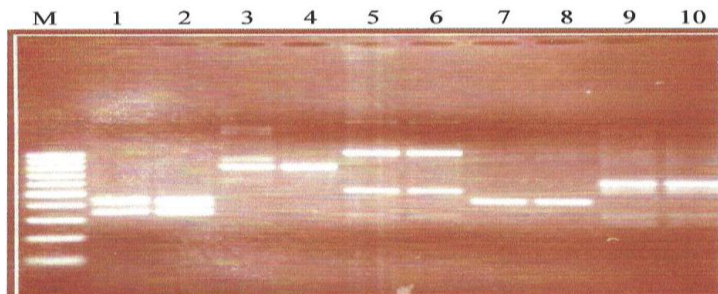
العمود (2) : تركيز 0.2 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة.

العمود (3) : تركيز 0.3 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.

العمود (4) : تركيز 0.3 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة.

العمود (5) : تركيز 0.4 ملجم/مل لمدة 20 دقيقة.

العمود (6) : تركيز 0.4 ملجم/مل لمدة 80 دقيقة



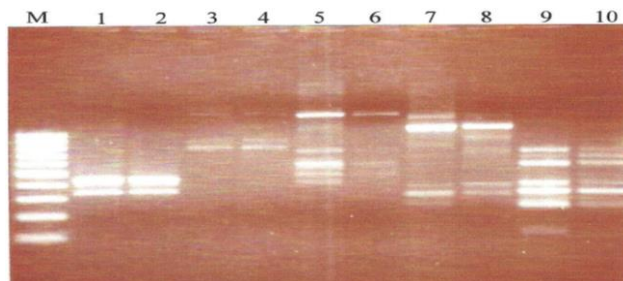
شكل 4. التغييرات في أنماط حزم الحامض النووي DNA المتضاعف و المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الريسبردال بتركيز 0.012 ملجم/مل ولمدة 80 دقيقة.

(M) الدليل القياسي 100pb Ladder

العمود (1): العينة الضابطة للبادئ OP E6

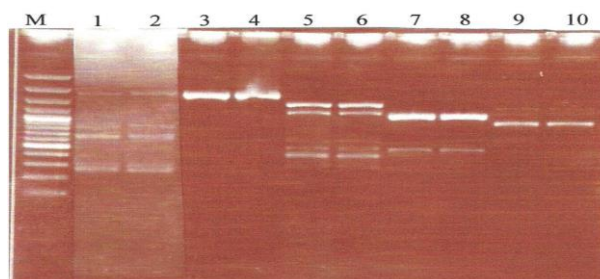
العمود (2): العينة الضابطة OP E6

- العمود (3): العينة الضابطة للباديء OP O9
 العمود (4): العينة الضابطة OP O9
 العمود (5): العينة الضابطة للباديء OP F6
 العمود (6): العينة الضابطة OP F6
 العمود (7): العينة الضابطة للباديء OP A5
 العمود (8): العينة الضابطة OP A5
 العمود (9): العينة الضابطة للباديء OP O2
 العمود (10): العينة الضابطة OP O2



شكل 5. التغييرات في أنماط حزم الحامض النووي DNA المتضاعف و المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار السيمبالتا بتركيز 0.0.18 ملجم/مل ولمدة 80 دقيقة.

- (M) الدليل القياسي 100pb Ladder
 العمود (1): العينة الضابطة للباديء OP E6
 العمود (2): العينة الضابطة OP E6
 العمود (3): العينة الضابطة للباديء OP O9
 العمود (4): العينة الضابطة OP O9
 العمود (5): العينة الضابطة للباديء OP F6
 العمود (6): العينة الضابطة OP F6
 العمود (7): العينة الضابطة للباديء OP E2
 العمود (8): العينة الضابطة OP E2
 العمود (9): العينة الضابطة للباديء OP E20
 العمود (10): العينة الضابطة OP E20



شكل 6. التغييرات في أنماط حزم الحامض النووي DNA المتضاعف و المفصولة كهربيا من خلايا خميره الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الفافريين بتركيز 0.4 ملجم/مل ولمدة 80 دقيقة.

- (M) الدليل القياسي 100pb Ladder
 العمود (1): العينة الضابطة للباديء OP A11
 العمود (2): العينة الضابطة OP A11
 العمود (3): العينة الضابطة للباديء OP B18
 العمود (4): العينة الضابطة OP B18
 العمود (5): العينة الضابطة للباديء OP F6
 العمود (6): العينة الضابطة OP F6
 العمود (7): العينة الضابطة للباديء OP G17

REFERENCES

- الزهراني، هـ. ع. (2006) : دراسات وراثية وسيتولوجية للتأثير المضاد للطفور لبعض المستخلصات النباتية على تقليل التأثير الطفري لبعض الأدوية على نبات الفول وخميرة سكارومييس سيرفيسي . رسالة دكتوراه في الوراثة ، قسم النبات ، كلية التربية للأقسام العلمية بجدة .
- القتمي ، خ. م. (2008): العبور الوراثي الجسمي والتحول الجيني والطفرة المرتدة المستحدثة في فطر خميرة الخباز باستخدام عقار الاوكسيكام ومستخلص نبات الزنجبيل . رسالة ماجستير في الوراثة . جامعة الملك عبدالعزيز .
- هاتوغ - بوران، ع. وأبو دية، م . ح. (2003): علم البيئة. الناشر : دار الشروق للنشر والتوزيع، عمان الأردن. الطبعة الثانية
- Angela, S.Z. and Rodolf, F.1995. Montring of induced chromosomal aberrations in *S.cerevisiae* in agarsoe gels by pulsed field gel electrophoresis. Mutat Res:285-292.
- Baleiras couto. M.M.; Eijsma, B. ; Hofstra, H. ; Uis in't Velt, J.H. and van der vossen, J.M.B.M.1996. Evaluation of molecular typing techniques to assign genetic diversity among *S. cerevisiae* strains. Applied and Environmental Microbiology 62:41-46.
- El-Adawy, R.A.; Abdel-Naby, W.M.; Hassanein, S.H.; Shawky A. S.H. and El-Abidinsalam, A.Z.1988. Mutagenic potentiatly of triazophos, sumithiob, fenepathrin and amitrazin of yeast *S. cerevisiae*. XLX. Annual. Conf. Egypt. Soc, Genet.
- Fernandez-Espinar, M.T.; Esteve-Zarzoso, B.; Querol. A. and Barrio, E. 2000. RFLP analysis of the ribosomal internal transcribed spacers and the 5.8S rRNA gene region of the genus *Saccharomyces*; a fast method for species identification and the differentiation of flor yeasts. Antonie van Leeuwenhoek 78:87-97.
- Freeman, K. M. and Hoffmann, G. R.2007. Frequencies of mutagen-induced coincident mitotic recombination at unlinked loci in *S. cerevisiae*. Mutat.Res., 616:119-132.
- Galli, A.; Paolini, M.; Lattanzi, G.; Gentilli, G. and Bronztti, G. 1993.Genotoxic and biochemical effects of dimethylamine. Mutagen 8(3): 175-178 .
- George, R.; Hoggmann; Matthew V. Ronan; katehyn E. Sylvia and Jason p. Tartag fione .2009. Mutagensis vol. 24 (4):319-329.
- Gramatikova, M. 1989. A study of gamma-ray and Sodium azide mutagenic effect on. Barfeyb. Genetika-I Seleksiya.
- Hardman, J.G. and Limbird, L.E. 2002. The pharm-ecological basis of therapeutics. GOOD MAN & GIL MAN'S. International Edition.
- Hollander, A.1973. Chemical Mutagens Environ. 209-227.
- Keszenman, D.J.; candreva, E.C.; Sanchez, A.G. and Nanes, E. 2004.RaD6, genes involved in heat shock induction of bleomycin resistance in *Saccharomyces cerevisiae*, environ mol mutagen; 16 (Epubaheda of Print) Cultured oral Keratinocytes: clinical implication in betel quid-associated oral Squamous cell carcinoma (OSCC). Carcinog Res. 25(2): 269-76.
- Kurtzman, C. P.; Smiley, M.J. and Johnson, C. j. 1980. Emendation of the genus *Issatchenkia* Kudriavzev and comparison of species by deoxyribonucleic acid reassociation, mating reaction and ascospore ultrastructure. Int J Syst Bacteriol 30:503-513.
- Latouche, G. N.; Daniel, H.M.; Lee, C. C.; Mitchell, T.G.; Sorrell, T.C. and Meyer, W. 1997. Comparison of the use of phenotypic and genotypic

- characteristics for identification of species of the anamorph genus *Candida* and related teleomorph yeast species. J Clin Microbiol 35: 3171-3180.
- Laemmli, U.K. 1970.Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 227:680-685.
- Lavallee, F.; Salvas, Y.; Lamy, S.; Thomasm D. Y.; Degre, R. and Dulau, L. 1994. PCR and DNA fingerprinting used as quality control in the production of wine yeast strains. Am J Enol Vitic 45:86-91.
- Masneuf, I.; Aigle, M. and Dubourdiou, D. 1996. Development of PCR\RFLP method for *S. cerevisiae* and *S. bayanus* identification in enology. FEMS Microbiological Letters 148: 239-244.
- Ma, T.E. and Ma T.H. 1999.The international program on plant bioassays and the report of the follow up study after the hands on workshop in chine. Mutation Res., fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. 426(2):103-106.
- Master F.P.; Beedle, EE.; Findlay, J.; Gallagher P.T; Krushinski, H.; Mitchell, S.; Thompson, D.C; Wallace, L. and Wong, D.T.2003."Duloxetine(Cymbalta), a dual inhibitor of serotonin, of serotonin and norepinephrine reuptake' .Bioorg Med Chem. Lett.13(24): 4477-4480.
- Molina, F.; Jong, S. and Huffman, J. 1993.PCR amplification of the 3' external transcribed and intergenic spacers of the ribosomal DNA repeat unit in three species of *Saccharomyces*. FEMS Microbiological Letters 108:259-264.
- Poli, P.; Aline , M.M.; Buschini, A.; Mortara, R. A.; Northfleet, A.C.;Silva, S.; Rossi, C. and Zucchi, T.M. 2002. Cytotoxic and genotoxic effects of megalzol, an anti-Chagas' disease drug, assessed by different short term tests. Biochem. Pharmacol. 64(11):1617-1627.
- Qari, S.H. 2008. Detection of DNA damage in *Allium cepa* root Cell after exposure to Carbofuran using RAPD.
- Salam. A.Z.E.; De-hondt; Handt, H. A.; Fahmy, M.T.I.; Sossa, S.F.; El- Nagar, T.F.K. and El-Din-Ahmed, E.S.1995.The mutagenicity of nudrin and meothrin on two different eukaryotic system "*Drosophilla*" and "*Yeast*" Annals. Agric. Sci., Cairo. 40 (2): 737-751.
- Sabir, J.S.; Qari, S. H and Baeshin, N.A. 1998.Cytotoxic and genotoxic effects of carbofuran in root meristems of *Vicia faba*. Prceeding of the Congress on Molecular Genetics. Organizd by Ain shams Univ. Cairo, Egypt. 1: 87-94.
- Staunton, M. and Graffney, E.1998. Apoptosis: Basic concepts and potential significance in human cancer. Arch. Pathol. Lab. Med., 122:310-319.
- Taspinar, M.S., Agar G.; Yildirim, M., Sunar, Aksakal, O. and Bozari, S. 2009. Evaluation of selenium effect on cadmium genotoxicity in *Vicia fapa* using RAPD. Journal of food, Agriculture and Enviroment 7 (384):857-860.
- Vytautas, R.; Tatjana, C.; Donatas, Z.; Dainius, B.; Laimute, B. and Stase, D. 2006. Polymorphism of response to cobalt excess in individual *Vicia faba* plants. Environmental and Experiment Botany, 55(3): 221-234.

BIOCHEMICAL AND MOLECULAR GENETIC STUDIES OF THREE ANTI-DEPRESSION DRUGS ON *Saccharomyces cerevisiae*, USING ELECTROPHORESIS OF PROTEIN AND RAPD-PCR TECHNIQUES.

El-Zahrany, Hind A. A.

El-Zahrany, Hind A. A.

Biology Dept., Fac. Sci. for Girls, King AbdulAziz Univ., Jeddah, Saudi Arabia

ABSTRACT

In this study, three anti-depression drugs (Ersberdal, Sambalta, Vavrin) were used to determine their toxic effect on protein pattern and DNA in baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*, strain D7), using polymerase Chain reaction PAGE/SDS and RAPD-DNA techniques. Different treatments resulted several changes in protein bands as compared to the control. The higher concentration of Sambalta resulted to disappeared of two DNA bands whereas, the same concentrations of Ersberdal and Vavrin didn't appeared any changes in DNA bands as compared to the control sample. The results showed toxic effects of drugs used in this study for the concentrations or for periods of exposed.

قام بتحكيم البحث

كلية الزراعة – جامعة المنصورة
كلية الزراعة – جامعة المنصورة

أ.د / خليفة عبد المقصود زايد
أ.د / اشرف حسين عبد الهادي