۱۰۲۲۹۸

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده علوم پایه

پایان نامه کارشناسی ارشد

رشته ژنتیک

مطالعه عملکرد ژن *ITPA* در سلول های سرطانی CML (K-562)

نگارش

یاسمین دانایی

۱۳۸۷ /۲/ ۵

استاد راهنما

دکتر مهرداد بهمنش

استاد مشاور

دکتر مجید صادقی زاده

تیر ۸۶

انشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پایه

بسمه تعالی

آیین‌نامهٔ چاپ پایان‌نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

مادهٔ ۲ در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند

«کتاب حاضر حاصل پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشد/رسالهٔ دکتری نگارنده در رشتهٔ زیست شناسی - گرایش است که در سال ۸۹ در دانشکدهٔ علوم پایه دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر سیروس بهشتی ، مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر مجید صادق زاده و مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر ——— از آن دفاع شده است.»

مادهٔ ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادهٔ ۴- درصورت عدم رعایت مادهٔ ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ‌شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس ، تادیه کند.

مادهٔ ۵- دانشجو تعهد و قبول می‌کند درصورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادهٔ ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه‌شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادهٔ ۶- اینجانب یاسمین وزیری دانشجوی رشتهٔ زیست شناسی گرایش مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: یاسمین وزیری
تاریخ و امضا: ۸۹/۸/۱

بسمه تعالی

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان‌نامه خانم **یاسمین دانایی** رشته **زیست‌شناسی(ژنتیک)** تحت عنوان: «**مطالعه عملکرد ژن ITPA در سلولهای سرطانی CML(K-562)**» را از نظر فرم و محتوا بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجهٔ کارشناسی‌ارشد مورد تائید قرار دادند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبهٔ علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	آقای دکتر مهرداد بهمنش	استادیار	
۲- استاد مشاور	آقای دکتر مجید صادقی‌زاده	دانشیار	
۳- استاد ناظر داخلی	آقای دکتر سیدجواد مولی	دانشیار	
۴- استاد ناظر خارجی	آقای دکتر محمدتقی اکبری	استادیار	
۵- نماینده تحصیلات تکمیلی	آقای دکتر سیدجواد مولی	دانشیار	

۱۰۲۲۹۸

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم و همسر همیشه همراه و یاورم

به پاس تمام رنج ها، تلاش ها و حمایت های بیدریغشان

تقدیر و تشکر صمیمانه از

استاد ارجمند جناب آقای **دکتر مهرداد بهمنش**، که در کلیه مراحل انجام این تحقیق مرا از راهنمایی‌های ارزشمند خود بهره‌مند ساختند.

استاد ارجمند جناب آقای **دکتر مجید صادقی زاده** که این مقطع تحصیلی خود را مدیون او هستم.

اساتید ارجمند **دکتر سید جواد مولی** و جناب آقای **دکتر محمد تقی اکبری** که زحمت داوری این پایان‌نامه را متقبل شده‌اند.

اساتید ارجمندم آقای دکتر سامان حسینخانی و سرکار خانم دکتر سارا غروی که با راهنمایی های خود مرا مورد لطف قرار دادند.

دوستان عزیزم در دانشگاه تربیت مدرس:
خانم‌ها: هلن دیداری، هاله وثقی، افسانه ملک زاده، سارا امیری، زهرا حاج ابراهیمی، نرگس تفرشی، مهشید ملکوتیان، نسیم هاتفی و نازیلا نورایی
آقایان: محمدرضا گل بار، احسان فراشاهی، رحمان امام زاده، محمدرضا گل محمدی، بابک بخشی نژاد

چکیده

به نظر می رسد که اینوزین تری فسفاتاز (ITPA) یک تنظیم کننده کلیدی همگانی برای برخی از نوکلئوتید های پورینی غیر طبیعی سلول باشد. این آنزیم نوکلئوتید های سه فسفاته اینوزین و گزانتین که در اثر دآمیناسیون بازهای پورین بوجود می آیند را به شکل مونوفسفات آنها تجزیه می کند. ITPA با عمل آنزیمی خود از تجمع ITP ممانعت بعمل می آورد و احتمال مشارکت نوکلئوتید های اینوزین بالقوه جهش زا را در ساختمان اسید های نوکلئیک کاهش می دهد. ارتولوگ های ITPA در تمام سلسله های موجودات یافت شده است. در بررسی ها نشان داده شده که نقص در ITPA منجر به سطوح افزایش یافته ITP می گردد که ممکن است تحت شرایطی مانند استرس سلولی مضر باشد.

روش معمول برای ارزیابی فعالیت آنزیمی پروتئین ITPase استفاده از روش HPLC است، اما این روش پیچیده، گران و وقت گیر است، بنابراین به عنوان یک روش مرسوم برای سنجش فعالیت آنزیم دارای مشکلاتی است. در این مطالعه، یک روش جدید، سریع، دقیق و حساس را بر اساس روش لوسیفراز برای ارزیابی فعالیت ITPase ارائه می دهیم. بدین ترتیب در فاز اول این تحقیق القا بیان پروتئین نوترکیب hITPase انجام شد و فعالیت hITPase نوترکیب با روش لوسیفراز ارزیابی گردید.

همچنین در مطالعات انجام شده مشخص گردیده که رده سلولی (K-٥٦٢) CML ناپایداری ژنتیکی دارد و از آنجاییکه بی نظمی ها در عملکرد ژن *ITPA* می تواند احتمال وقوع جهش را در مواد ژنتیکی سلول ها افزایش دهد، از این رو نقش ژن *ITPA* به عنوان فاکتوری برای افزایش ناپایداری ژنتیکی در این رده سلولی مورد بررسی قرار گرفته است. در فاز دوم تحقیق بیان ITPA در رده سلولی K-٥٦٢ بررسی شد. برای ارزیابی این موضوع cDNAحاصل از رده سلولی K-٥٦٢ توسط پرایمر های اختصاصی ژن ITPA تکثیر گردید. در بررسی این توالی دو شکل از cDNA ژن ITPA در رده سلولی K-٥٦٢ یافت گردید، یکی به واریانت ١ ژن ITPA شباهت داشت و دیگری یک حذف را در بخشی از اگزون ١ و ٢ در بر می گرفت. به نظر می رسد این حذف شدگی در نتیجه یک پردازش ناشناخته و یا پردازش غیر طبیعی در این شکل جدید از cDNAایجاد شده باشد.

بنابراین به نظر می رسد که عملکرد ژن *ITPA* از روند طبیعی در سلول های K-٥٦٢ پیروی نکرده و فعالیت پروتئینی آن را می توان به عنوان یکی از فاکتور های وقوع جهش و عدم پایداری ژنتیکی در این سلول ها در نظر گرفت.

فهرست مطالب

فصل اول: مقدمه ۱

۱- کلیات و مروری بر مطالعات گذشته ۲

۱-۱ سرطان: ۲

۱-۱-۱ ناپایداری ژنتیکی: ۳

۱-۱-۲ لوسمی مزمن میلوئیدی: ٤

۱-۲ DNA و آسیب به آن: ٥

۱-۳ انواع جهش ها و عوامل ایجاد کننده آنها: ٥

۱-۳-۲ عوامل جهش زای فیزیکی: ۷

۱-۳-۲ عوامل جهش زای شیمیایی: ۸

۱-٤ عوامل اکسید کننده: ۹

۱-٤-۱ رادیکال های فعال اکسیژن: ۹

۱-٤-۲ رادیکال های فعال نیتروژن RNS: ۱۳

۱-٥ اکسیداسیون نوکلئوتیدهای آزاد و قدرت جهش زایی آنها: ۱۷

۱-٦ ترمیم DNA: ۱۹

۱-٦-۱ ترمیم آسیب به مولکول DNA: ۲۰

۱-٦-۲ ترمیم بازهای اکسید شده در سطح مخزن نوکلئوتیدی: ۲۲

۱-۷ دآمیناسیون اکسیداتیو نوکلئوتیدها و پیامدهای بیولوژیکی آن: ۲٤

۱-۸ ژن ITPA: ۲٦

۱-۸-۱ عملکرد آنزیم ITpase: ۲۷

۱-۸-۲ ارتولوگ پروتئین ITPase در جانداران مختلف: ۲۸

۱-۸-۳ تشکیل ITPA: ۲۹

۱-۸-٤ جهش در ژن *ITPA* و اختلال در عملکرد آنزیم ITPase: ۳۰

۱-۸-٥ ارزیابی فعالیت آنزیم فعالیت ITpase: ۳۲

۱-۹ لومینسانس: ۳۳
۱-۱۰ فرضیه ها و هدف از مطالعه: ۳۵
فصل دوم: مواد و روش ها ۳۶
۲-۱ محلول ها و بافرها: ۳۷
۲-۲ طرز تهیه محلول ها و بافرهای مورد نیاز در الکتروفورز: ۳۸
۲-۳ طرز تهیه بافر ها و محلول های مورد نیاز در ژل SDS-PAGE: ۳۹
۲-٤ محیط کشت باکتری ٤۱
۲-٥ پلاسمید حاوی ژن hITPA: ٤۳
۲-٥-۱ پلاسمید pET-32a (+): ٤۳
۲-٥-۲ تکثیر کردن پلاسمید pET-32a و pET-32a + hITPA: ٤٤
۲-٥-۳ اسپکتروفتومتری: ٤۷
۲-٥-٤ الکتروفورز ژل آگارز: ٤۸
۲-٦ بیان پروتئین: ٥۰
۲-٦-۱ غلظت سنجی پروتئینی: ٥۲
۲-٦-۲ بررسی بیان پروتئین نوترکیب با استفاده از ژل SDS-PAGE: ٥۲
۲-۷ اندازه گیری فعالیت آنزیمی پروتئین نوترکیب ITPase : ٥٥
۲-۷-۱ مرحله اول: ٥٥
۲-۷-۲ مرحله دوم: ٥٦
۲-۷-۳ مرحله سوم: ٥۷
۲-۸ کشت سلولهای CML(K-562): ٥۸
۲-۹ بررسی بیان ژن hITPA در سطح RNA در رده سلولی CML(K-562): ٥۸
۲-۹-۱ واکنش رونویسی معکوس: ٦۱
۲-۱۰ طراحی پرایمر ٦۳
۲-۱۰-۱ آماده سازی پرایمرهای PCR: ٦٥
۲-۱۱ واکنش PCR: ٦٥

۲-۱۱-۱ طراحی واکنش PCR: ۶۵
۲-۱۱-۲ عکسبرداری از ژل آگارز: ۶۷
۲-۱۲ استخراج DNA از ژل آگارز: ۶۷
۲-۱۳ کلون کردن قطعه حاصل از تکثیر ژن hITPA: ۶۸
۲-۱۳-۱ انجام واکنش الحاق محصول PCR با پلاسمید pTZ57R: ۶۹
۲-۱۳-۲ ترانسفورماسیون محصول الحاق به باکتری *E. coli DH5α* : ۷۰
۲-۱۳-۳ انتخاب کلون: ۷۱
۲-۱۴ روش کلونی PCR: ۷۱
۲-۱۵ هضم آنزیمی: ۷۲
۲-۱۵ تعیین توالی ژن hITPA: ۷۳
فصل سوم:نتایج: ۷۴
۳-۱ تکثیر پلاسمید pET-32a+hITPA و پلاسمید pET-32a: ۷۵
۳-۲ بیان پروتئین نوترکیب hITPA در سیستم pET با استفاده از حامل بیانی pET-32a: ۷۶
۳-۳ ارزیابی فعالیت آنزیم hITPase نوترکیب با استفاده از روش لومینسانس: ۷۹
۳-۴ بررسی بیان ژن hITPA با استفاده از تکنیک RT-PCR: ۸۰
۳-۴-۱ تعیین دمای مناسب Annealing برای پرایمر GAPDH: ۸۱
۳-۵ تکثیر ژن hITPA: ۸۲
۳-۶ استخراج cDNA ژن hITPA از ژل: ۸۳
۳-۷ کلون کردن محصول PCR حاصل از تکثیر ژنhITPA در پلاسمید pTZ57R/T: ۸۴
۳-۷-۱ بررسی کلونی های سفید با استفاده از Colony PCR: ۸۴
۳-۷-۲ هضم تک آنزیمی کلونی های شماره ۳ و ۴: ۸۸
۳-۸ بررسی نتیجه تعیین توالی در کلونی های نوترکیب ۳ و۴: ۸۹
فصل چهارم: بحث ۹۱
۴-۱ ضرورت انجام پروژه: ۹۲
۴-۲ بیان پروتئین نوترکیب hITPase و ارزیابی فعالیت آنزیم با استفاده از روش لومینسانس: ۹۶

٤-٣ بررسی بیان ژن hITPA در سطح RNA: ٩٧
٤-٤ شناسایی توالیهای نوکلئوتیدی cDNA ژن hITPA: ١٠٢
٤-٥ بررسی توالی اسیدآمینه ای hITPase: ١٠٣
٤-٦ بررسی ساختار پروتئین hITPase: ١٠٦
٤-٧ پیشنهادات: ١١١
منابع و ماخذ: ١١٢
ضمیمه الف ١١٦
ضمیمه ب ١١٨

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱- کلیات و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ سرطان[1]:

سرطان سالیانه حدود ۱/۵ از مرگ و میرها را در آمریکا باعث می شود. در دنیا هر ساله از هر ۱۰۰۰۰۰ انسان بین ۱۰۰ تا ۳۵۰ نفر به دلیل سرطان از بین می روند. سرطان در اثر نقص در سیستم هایی که رشد و تکثیر سلول ها را کنترل می کنند، ایجاد می شود. در طی رشد طبیعی، سیستم های پیچیده کنترل کننده مواد ژنتیکی تعادل بین تولد و مرگ سلولی را در پاسخ به پیام های رشد[2]، پیام های بازدارنده رشد[3] وپیام های مرگ[4] سلولی تنظیم می کنند. فقدان سیستم های تنظیم کننده سلولی که منجر به ایجاد سرطان می گردد عمدتا ناشی از آسیب های ژنتیکی می باشد (۵۹).

---

[1] Cancer

[2] Growrth Signals

[3] Growth-inhibiting Signals

[4] Death Signals

۱-۱-۱ ناپایداری ژنتیکی[1]:

اکثریت سرطان های بشری علائم افزایش میزان جهش ها[2] را نشان می هند: به این دسته از سرطان ها از نظر ژنتیکی ناپایدار گفته می شود. این ناپایداری می تواند به اشکال گوناگون باشد. برخی سلولهای سرطانی نقص در ترمیم موضعی آسیب های DNA و یا نقص در تصحیح اشتباهات ایجاد شده در طی فرآیند همانندسازی[3] را دارند. این آسیب ها عمدتا از نوع جابجایی بازها است. این سلول ها مایلند جهش های نقطه ای بیشتر و کوچکتری را کسب کنند درنتیجه توالی DNA این سلول ها نسبت به سلول های طبیعی بیشتر دچار تغییر می شود. بعضی دیگر از سلول های سرطانی در حفظ تمامیت کروموزوم های خود مشکل دارند، بنابراین ناهنجاری های گسترده تری[4] را در کاریوتیپ[5] از خود نشان می دهند. از دیدگاه تکاملی انتظار می رود ناپایداری ژنتیکی ایجاد سرطان را به جلو[6] بیندازد، همانطور که این امر احتمال کسب جهش هایی را که یک سلول را به طرف بدخیمی[7] می برد افزایش می دهد. به نظر می رسد، ناپایداری ژنتیکی درپیشرفت سرطان نقش داشته باشد. تومورهای مختلف حتی از یک بافت مشخص، می تواند انواع متفاوتی از ناپایداری ژنتیکی را نشان دهند که این ناپایداری، در اثر جهش در یک ژن یا چندین ژن بخصوص که محصول آنها برای

---

1 Genetics Instability

2 Mutations

3 Replication

4 Gross Abnormalities

5 Karyotype

6 Promote

7 Malignancy

حفاظت ژنوم از تغییرات لازم است ایجاد می شود. در واقع فقدان پایداری ژنتیکی یک عامل اصلی در سرطان محسوب می شود (۱).

۱-۱-۲ لوسمی مزمن میلوئیدی [1]:

لوسمی مزمن میلوئیدی یکی از انواع شایع سرطان خون است که در اثر افزایش چشمگیر سلول های میلوئیدی[2] در مغز استخوان[3] بوجود می آید و مطالعات بسیاری بر روی آن صورت گرفته است. ناپایداری ژنتیکی در این سرطان نقش بسزایی دارد. در بیشتر از ٪۹۰ از موارد در سلولهای بیماران CML کروموزوم فیلادلفیا[4] دیده می شود که در اثر جابجایی دو طرفه[5] بین بازوهای بلند کروموزوم ۹ و ۲۲ بوجود می آید. در نتیجه این جابجایی یک ژن دورگه[6] غیر طبیعی *Bcr-Abl* تولید می شود که این ژن قادر به کد[7] نمودن یک پروتئین غیر طبیعی بنام BCR-ABL-Tyrosine-Kinase می باشد که باعث افزایش غیر عادی گلبولهای سفید خون می گردد. رده سلولی K-562 در سال 1970 از خانمی بیمار که تغییر شدید و ناگهانی علایم بالینی[8] را در جریان لوسمی مزمن میلوئیدی داشت جداسازی شد. کرومزوم فیلادلفیا و ژن هیبریدی *Bcr-Abl* در این سلولها دیده می شود. علاوه بر آن سایر ناهنجاریهای کروموزومی از قبیل تریزومی[9] کروموزوم ۸ (۸+) و کروموزوم ١٤ (١٤+)، دو

---

[1] Chronic Myelogenous Leukemia (CML)

[2] Myeloid Cells

[3] Bone Marrow

[4] Philadelphia Chromosome

[5] Reciprocal Translocation

[6] Hybrid

[7] Encode

[8] Blast Crisis

[9] Trisomy

برابر شدن[1] کروموزوم (1q) وحذف[2] کروموزوم ۵ (5q) و بسیاری انواع دیگر از اشتقاق ها[3] در این رده سلولی گزارش شده است که بیانگر عدم پایداری مواد ژنتیکی در این رده سلولی می باشد (۳۸).

۱-۲ DNA و آسیب به آن:

DNA ماده ژنتیکی سلول است و برای ذخیره اطلاعات ژنتیکی سلول مورد نیاز است. اگرچه DNA یک مولکول پیچیده بسیار پایدار است، اما حتی در شرایط طبیعی، سلول در معرض تغییرات خود به خودی که منجر به جهش ها می گردد، قرار می گیرد. ژنوم نهادی پویا دارد به طوریکه در طول زمان در نتیجه تجمع تغییراتی که در مقیاس کم توسط جهش ها ایجاد می گردد، تغییر می کند. هر نوع آسیب احتمالی به DNA می تواند منجر به تغییراتی و یا بعبارتی جهش در پروتئین هایی شود که توسط DNA کد می شوند و این تغییرات ممکن است به غیر فعال شدن کامل پروتئین بیانجامد، بنابراین برای بقاء هر سلول و یا حتی برای بقاء موجود کامل حیاتی است که DNA دست نخورده باقی بماند. از این سو در تمامی موجودات زنده سیستم های حفاظتی برای حفظ تمامیت ماده توارثی شکل گرفته است (۱ و ۹).

۱-۳ انواع جهش ها و عوامل ایجاد کننده آنها:

جهش ها ممکن است در سطح یک جفت باز و یا در سطح وسیع (کروموزوم) رخ دهند (۱).

---

[1] Duplication

[2] Deletion

[3] Derivatives

جهش هایی که یک جفت باز را تغییر می دهند، جهش نقطه ای[1] می نامند. تغییر در یک جفت باز ممکن است یکی از سه جهش زیر را باعث شود (۹):

جهش با معنی اشتباه[2]، این جهش منجر به جابجایی یک اسید آمینه با اسید آمینه دیگر می شود.

جهش بی معنی[3]، در این جهش رمز پایان[4] جایگزین رمز اسید آمینه می شود و خاتمه زود هنگام ترجمه[5] اتفاق می افتد.

جهش تغییر چارچوب[6]، این جهش باعث تغییر در چارچوب خواندن می شود[7] و اسید آمینه های دیگری به جای اسید آمینه اولیه در هنگام ترجمه به پروتئین، ایجاد می شوند.

جهش هایی که در سطح وسیع تر رخ می دهند باعث ناهنجاری هایی[8] در ساختار و یا تعداد کروموزوم می گردند. جهش ها به طور خودبه خودی در اثر ناپایداری بازهای پورین[9] و پریمیدین[10] و یا اشتباهات حین همانندسازی بوجود می آیند و یا زمانیکه موجود زنده در معرض عوامل محیطی مشخص نظیر اشعه ماورابنفش[11] (UV) تشعشعات یونیزه کننده[12] و سایر عوامل سرطان زای[13] فیزیکی وشیمیایی قرار گیرد القا می شوند (۱).

---

1 Point Mutation
2 Missense Mutation
3 Nonsense Mutation
4 Stop codon
5 Translation
6 Frameshift Mutation
7 ORF: Open Reading Frame
8 Abnormalities
9 Purine
10 Pyrimidine
11 Ultra Violet (UV)
12 Ion Radiations
13 Carcinogens

۱-۳-۱ عوامل جهش زای فیزیکی[1]:

اشعه ماورابنفش (UV):

اشعه UV دایمری شدن[2] دو باز پریمیدین مجاور را به ویژه اگر هر دو تیمین[3] باشند باعث می شود. معمولا دایمر ایجاد شده در ساختمان DNA منجر به ایجاد جهش هایی از نوع حذف شدن می گردد (۹).

تشعشعات یونیزه کننده:

اثرات متنوعی بسته به نوع و شدت اشعه بر روی DNA دارند. اشعه های یونیزان جهش های متفاوتی از جمله جهش نقطه ای، اضافه شدن و یا حذف شدن را باعث می شوند. برخی انواع تشعشعات یونیزه کننده به طور مستقیم بر روی DNA اثر می گذارند، بقیه به طور غیر مستقیم با تحریک کردن تشکیل مولکول هایی نظیر سوپر اکسید در سلول عمل می کنند (۹).

تغییرات حرارتی شدید[4]:

پیوند گلیکوزیدی بین باز و قند مولکول DNA اگر چه نسبتا پایدار است با این وجود طی فرآیند خود به خودی و تحت تاثیر تغییرات شدید دمایی در معرض شکسته شدن قرار می گیرند. این امر باعث تشکیل جایگاه های بدون باز پورین و یا باز پریمیدین AP[5] در ساختمان DNA می گردد. در سلولهای پستانداران تخمین زده می شود که روزانه در هر سلول در حدود ۱۰۰۰۰ جایگاه AP، در

---

[1] Physical Mutagens

[2] Dimerization

[3] Thymine

[4] Heat

[5] Apurinic/Apyrimidinic (AP)

اثر هیدرولیز[1] باز پورین ایجاد می شود. در حالیکه جایگاه AP ایجاد شده توسط هیدرولیز باز پریمیدین بطور قابل ملاحظه ای کمتر و روزانه در هر سلول حدود ۵۰۰ جایگاه AP می باشد. از آنجایی که جایگاه های AP مانع عمل همانندسازی شده و یا الگوبرداری[2] می شوند، در صورت ترمیم نشدن برای سلول کشنده می باشند (۹).

۱-۳-۲ عوامل جهش زای شیمیایی[3]:

عوامل آلکیله کننده[4]:

این عوامل باعث ایجاد جهش نقطه ای در DNA می شوند. مواد شیمیایی مثل اتیل متان سولفونات[5] و دی متیل نیتروز آمین[6] گروه های آلکیل را به نوکلئوتیدهای سازنده مولکول DNA اضافه می کنند. اثر آلکیله شدن به موقعیت نوکلئوتیدی که دچار تغییر می شود و نوع گروه آلکیلی که اضافه می شود، بستگی دارد. آلکیله شدن همچنین می تواند همانندسازی را با تشکیل اتصال های عرضی[7] بین دو رشته مولکول DNA متوقف کند و یا با اضافه کردن گروه های آلکیل بزرگ از پیشرفت همانندسازی ممانعت کند (۹).

عوامل وارد شونده[8] به ساختمان DNA:

---

[1] Hydrolysis

[2] Transcription

[3] Chemical Mutagens

[4] Alkylating Agents

[5] Ethylmethane Sulfonate (EMS)

[6] Dimethyl nitrose amine

[7] Cross Links

[8] Intercalating Agents

این دسته از عوامل معمولا جهش اضافه شدن نوکلئوتید را ایجاد می کنند. به عنوان مثال از مهترین عوامل جهش زای این گروه می توان اتیدیوم برماید[1] را نام برد که برای دیدن DNA در روش الکتروفورز استفاده می شود. این ماده وقتی در معرض اشعه ماورابنفش قرار می گیرد نمایان می شود. اتیدیوم برماید و سایر عوامل وارد شونده به ساختمان DNA، مولکول های مسطحی هستند بین جفت بازها در مارپیچ دوتایی DNA[2] وارد شوند، کمی مارپیچ را باز کرده و از این رو فاصله بین جفت باز های مجاور را افزایش می دهند. از این رو وجود این عوامل باعث اختلال در روند همانندسازی و الگوبرداری می شود (۹).

۱-٤ عوامل اکسید کننده[3]:

آسیب هایی که در اثر عوامل اکسیدکننده ایجاد می شوند، از مهمترین آسیب هایی می باشند که به DNA وارد می شوند. عوامل گوناگونی این آسیب ها را ایجاد می کنند (۹).

۱-٤-۱ رادیکال های فعال اکسیژن[4]:

رادیکال های فعال اکسیژن (ROS)، مولکولهای کوچک و بسیار فعال حاوی اکسیژن می باشند. یک رادیکال آزاد[5]، یک اتم، مولکول یا ترکیبی است که به دلیل ساختار مولکولی یا اتمی خود ناپایدار می باشد. به طوریکه آنها با سایر مولکولها، اتمها یا حتی الکترون های منفرد واکنش می دهند تا یک ترکیب پایدار ایجاد کنند. در طی این مرحله رادیکالهای اکسیژن متفاوت بعنوان تولیدات حد واسط

---

[1] Ethidium bromide

[2] Double Helix

[3] Oxidative Agents

[4] Reactive-Oxygen Species

[5] Free Radical