J.Agric.Chem. and Biotech.,Mansoura Univ.,Vol. 2 (12): 283 - 292, 2011

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

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 الكهربي 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

الملخصABSTRACT

في هذه الدراسة تم استخدام ثلاثة من الأدوية المضادة للاكتئاب وهى رسبيردال، 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 الكهربي polymorphic DNA-polymerase chain reaction لأنماط حزم البروتين SDS-PAGE وتفاعلات RAPD-DNA أدت المعاملات المختلفة بالعقاقير إلى ظهور تغييرات عديدة في أنماط حزم البروتين المفصولة كهربياً شملت تغيرات في كثافة الحزم واختفاء حزم أخرى وظهور حزم جديدة مقارنة بالعينة الضابطة. أدت أيضاً المعاملة بالتركيز العالي من العقار سيمبالتا إلى ظهور تغيرات 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 الإكتئاب ، خميرة الخباز ، حزم الحامض النووى الـ DNA ، التأثير السمى للعقاقير.

المقدمة INTRODUCTION

تعتبر الكثير من الأدوية والعقاقير الكيميائية من أهم المؤثرات التي تحدث آثاراً جانبية 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 وابوديه - ٢٠٠٣). 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 (٢٠٠٦) في دراسة مستخدم فيها عقار التجريتول بتركيز ٨٠٠ ملجم/لتروفترة تعريض ٢٤ ساعة حدوث انخفاض في عدد الحزم البروتينية وكثافتها بالفصل الكهربي 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 الكهربي 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 الجسمي في خلايا خميرة الخباز السلالة D7 (القثمي, ٢٠٠٨). 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 (Gramatikova,1989; Salam *et al*.,1995; Sabir *et al*. 1998; Ma and Ma 1999; Thoria *et al*., 2002, Freeman and Hoffmann, 2007 and George *et al*., 2009).

يهدف هذا البحث إلى دراسة التأثيرالبيوكيميائي لثلاثة أنواع من العقاقيرالمضادة للاكتئاب وهى ريسبيردال، سيمبالتا ، فافيرين على خلايا خميرة الخباز *Saccharomyces cervisiae* وتضمنت دراسة التغيير في أنماط حزم البروتين وذلك بطريق الفصل الكهربي للبروتينات SDS protein electrophoresis بعد كل معاملة ومن ثم دراسة التغيير في أنماط الحامض النووي DNA بطريقة المضاعفة العشوائية لمقاطع متباينة من الحامض النووى,, Random amplified polymeric DNA (RAPD) للمعاملات الأعلى تأثراً بالعقاقير.

المواد المستخدمة و طرائق البحث MATERIAL AND METHODS

١- بيئات الزرع المستخدمة في الدراسة Culture media

استخدمت بيئة Zimmerman المأخوذة عن Hollander,(1973) لفطر الخميرة *S. cerevisiae* السلالة D7. وتم تحضين المزرعة culture عند درجة حرارة ٣٥°م في مكان مظلم ولفترات مختلفة حسبما تقتضيه التجربة تم ذلك بتحضير معلق من خلايا الخميرة وذلك باستخدام السلالة D7 في ١٠ مل ماء مقطر وترج جيداً بواسطة جهاز الرج cencopwer mix لضمان انتشار الخلايا في الماء بشكل متساو .

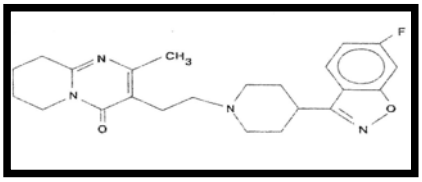
٢- العقاقير الطبية المستخدمة في الدراسة :-

الريسبردال Risperdal :

التركيب الكيميائي والمادة الفعالة : Ingredients

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

(**Hardman and Limbird, 2002**)

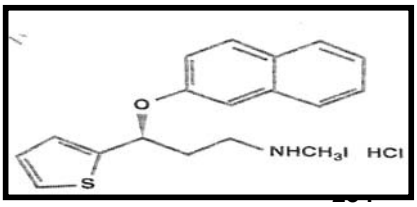


سيمبالتا Cymbalta :

التركيب الكيميائي والمادة الفعالة :

المادة الفعالة هي : الدول وكستين على شكل هايدروكلوريد الدول وكستين (dulextine hydre chloride) وصيغتها البنائية :

Master *et al*. (2003)

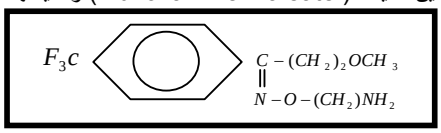


فافيرين Faverin :

التركيب الكيميائي والمادة الفعالة :

المادة الفعالة هي : فلوفوكسامين ماليات (Fluvoxamine maleate) وصيغتها البنائية :

(**Master *et al*.,2003**)



٣- المعاملة بالعقاقير المختلفة :

تم تجهيز التركيزات ٠,٠٠٢، ٠,٠٠٦، ٠,٠٠١٢ملجم/مل ،٠,٠٦، ٠,١٢، ٠,١٨ملجم/مل ، ٠,٢، ٠,٣، ٠,٤ ملجم / مل للثلاثة عقاقير وهي الرسبيردال ، السيمبالتا ، الفافيرين على التوالي. وتم ذلك بإذابة ضعف الكمية المراد دراستها من الرسبيردال ، السيمبالتا ، الفافيرين في ١٠ مل ماء مقطر ثم يؤخذ منه ٥ مل فقط ومن معلق خلايا الخميرة ٥ مل ولفترات تعريض هى ٤٠،٢٠،٦٠،٨٠ دقيقة ثم يسحب مقدار١مل من هذا الخليط وتخفف في ٩ مل ماء مقطر ومعقم وترج جيداً بهدف غسل الخلايا وتكررعملية التخفيف مره أخرى ثم تؤخذ عينة مقدارها ٠,٥ مل من آخر تخفيف وتضاف لطبق بتري به بيئة الكمال الصلبة وتوزع جيداً بواسطة ساق زجاجية معكوفة الطرف ومعقمة ويعمل ٥ مكررات من الأطباق ومن العينة الضابطة ثم تكررعملية غسل الخلايا والتخفيف كل ٢٠ دقيقة مع مراعاة رج محلول الخميرة والعقار طوال فترة التجربة. وبعد ذلك تحضن الأطباق الناتجة عن التجربة لمدة ٧٢ ساعة عند درجة حرارة ٢٧°م. وتكررالعملية بنفس الطريقة عند كل التركيزات باستخدام العقاقير الثلاثة قيد الدراسة .

٤- التحضيرات البيوكيميائية Biochemical preparations:-

أ- فصل البروتينات الذائبة باستخدام تقنية SDS-PAGE ثم فصل البروتين من مزارع الخميرة المعاملة بالتركيزات سابقه التحضير من العقاقير الطبية الثلاثة وذلك لمدد زمنية هى ٢٠ ،٨٠ دقيقة بالإضافة إلى العينة الضابطة باستخدام طريقه الفصل الكهربي للبروتينات الذائبة فى الماء بإستخدام SDS-PAGE صوديوم دودوسيل سلفيت بولي اكريلاميد جيل الكتروفوريسيس تبعاً لطريق Laemmli,(1970) واستخدم الدليل البروتيني ذو الأوزان الجزيئية KDa 52, 99, 119, 208 لعقار الريسبيردال. والدليل البروتيني ذو الأوزان الجزيئية KDa 28, 36, 55, 72, 95, 130,250 للعقارين السيمبالتا والفافيرين.

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 ١٢ ملجم/ لتر، عقار السيمبالتا بتركيز ١٨٠ ملجم / لتر ، عقار الفافيرين بتركيز ٤٠٠ ملجم / لتر وذلك لمدة زمنية ٨٠ 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 ٢٥ ميكروليتر واستخدم١٠ نانو غرام من الـ DNA و٢ ميكرومول من كل النيوكلتيدات الأربعة (dTTP\dATP\dCTP\dGTP) و٣ ميكرومول من كل البوادىء و٠,٣ 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 ٩٤°م لمدة ٤٠ ثانية ، ٣٦°م لمدة دقيقة واحدة ، ٧٢°م لمدة دقيقة واحدة ، ثم تركت العينات لمدة ٧ دقائق على حرارة ٧٢°م.

النتائج والمناقشة RESULTS AND DISCUSSION

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

يتضح تأثير العقاقير الطبية الثلاثة الريسبيردال ، السيمبالتا ، والفافيرين المستخدمة في الدراسة على فطر الخميرة *S. cerevisiae* عند التركيزات ٠,٠٠٢، ٠,٠٠٦، ٠,٠١٢ملجم/مل ، ٠,٠٦، ٠,١٢، ٠,١٨ملجم/مل ، ٠,٢، ٠,٣، ٠,٤ملجم/لتر من معلق خلايا الخميرة - على التوالي- عند الفترات

الزمنية ٨٠،٢٠ دقيقه. حيث أدت المعاملة بالعقاقير الثلاثة إلى إحداث تغيرات في أنماط حزم البروتين عند مقارنتها بالعينة الضابطة، كان أهمها أختفاء بعض الحزم ، ظهور حزم جديدة ، زيادة أو نقص في كثافة بعض الحزم البروتينية وهذه التغيرات لا تعتمد على الزيادة في التركيزات المستخدمة أو فى زمن التعريض له. وقد أدت المعاملات إلى اختفاء بعض الحزم البروتينية ذات الأوزان الجزيئية ٤٥،٤٠،٢٦ KDa للعقاقير الريسبيردال ، السيمبالتا والفافيرين -على التوالي- بعد فصلها باستخدام تقنية SDS-PAGE (الأشكال ٣،٢،١).

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

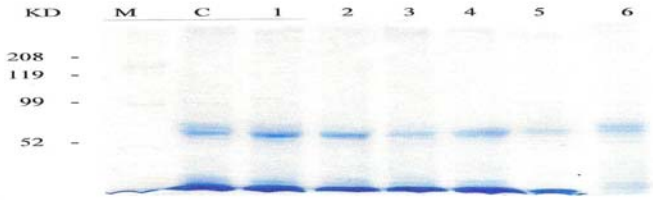
توضح الأشكال ٦،٥،٤ تأثير العقاقير الطبية الثلاثة: الريسبيردال ، سيمبالتا ، الفافيرين باستخدام التركيزات العالية المستخدمة في الدراسة (٠,٠١٢ملجم /مل، ٠,١٨ملجم/مل،٠,٤ ملجم/مل من معلق خلايا الخميرة) ولمدة ٨٠ دقيقة وذلك عند تطبيقها على خلايا خميرة *S. cerevisiae* ، يوضح الشكل (٤) تأثير عقار الريسبيردال على خلايا الخميرة والذى أدى إلى حدوث تغيرات في حزم DNA عند مقارنتها بالعينة الضابطة. وكان عدد البوادئ المستخدمة في هذه المعاملة ٥ بوادئ وعدد الحزم لمعاملة العينة الضابطة يتراوح ما بين ١-٥ حزم بأوزان جزيئية تراوحت ما بين ٢٧٧-١٩٩٠ زوج قاعدي (bp) حيث أظهر البادئ OPE6 حزمة ذات وزن جزيئي ٣٩٩ 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 هى : ٥١٨١, ١٦٥٦, ٢٣٦ , ٩٥٥وقد أدت المعاملة بعقار سيمبالتا إلى حدوث تغييرات فى حزم DNA عند مقارنتها بالعينة الضابطة وكان عدد البوادىء المستخدمة في هذه المعاملة ٥ بوادىء وعدد الحزم لمعاملة العينة الضابطة يتراوح ما بين ٢-٨ بأوزان جزيئية تراوحت ما بين ١٦٩١-١٣٨زوج قاعدي (bp) وتراوح عدد الحزم الناتج عن المعاملة بالعقار ما بين ٢-٧ حزمة وقد أظهر البادئ OPF6 اختفاء حزمتين من DNA أوزانها الجزيئية ٥٠٦،٤٠٤ زوج قاعدي أما البادئ OPE2 فقد أظهر اختفاء حزمتين أوزانها الجزيئية ٦٣٢،٥٢٩ زوج قاعدي (bp) وأظهر حزمتين ذات وزن جزيئي ٩٤٦،٦٩٢ قاعدي (bp) لم تكن موجودة في العينة الضابطة (شكل ٥). يوضح شكل٦ تأثير عقار الفافيرين على الأوزان الجزيئية لحزم DNA المتضاعف في خلايا خميرة الخباز بعد فصلها باستخدام تقنية RAPD بعد معاملتها بالتركيز ٠,٤ملجم/مل من معلق خلايا الخميرة لمدة ٨٠ دقيقة. وأدى العقار إلى حدوث تغيرات في أنماط حزم الـ DNA عند مقارنتها بالعينة الضابطة يتراوح ما بين ١-٦ حزم بأوزان جزيئية تراوحت ما بين ٢٤٥-١٨٢٧ زوج قاعدي (bp) وعدد الحزم الناتج عن المعاملة بالعقار تراوح ما بين ١-٦ حزم بأوزان جزيئية تراوحت ما بين٢٤٥-١٨٢٧ زوج قاعدي (bp) وكان البادئ (OPF6) قد أظهر اختفاء حزمة من الـ DNA وزنها الجزيئي ١٥٠٩ زوج قاعدي (bp) وأظهر حزمة ذات وزن جزيئي ١٥٨٢ زوج قاعدي (bp) لم تكن موجودة في العينة الضابطة .

دلت النتائج المتحصل عليها أن عقاقيرالريسبيردال ، سيمبالتا ، فافيرين أوضحت تأثير سمي على خلايا الخميرة وقد تمثل ذلك في التأثيرات السامة على المادة الوراثية DNA , RNA أو البروتين عن طريق تثبيط تكوينها أو التقليل من محتواها وكميتها في الخلية مما يؤدي إلى انعدام الحيوية حيث تتفق هذه النتائج مع ما وجده 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 فى تكوين الـ DNA ، ومما يؤيد هذه النتيجة أن معاملة خلايا الخميرة *S. cerevisiae* ببعض المواد المطفرة مثل 4-NQO وعقار الميثوتركسيت (MTX) ، AMP بتركيز ٢,٦ قد أدى إلى حدوث التغيرات الوراثية المذكورة ، تتفق هذه النتائج مع ما وجده كل من : Angela and Rodolf, (1995); Molina *et al.*(1993); Baleiras *et al*. (1996); Masneuf *et al*., (1996) and Fermadez- Espinar *et al.,* (2000) وقد أدت المعاملة للسلالة D5 للخميرة إلى حدوث طفرات العبور الوراثي الجسمي (Latouche *et al*.,1997 and Lavallee *et al*., 1994) نتيجة المعاملة بالعقاقير المضادة للسرطان كما أن الفينيبيراثرين استحدث مستوى ضعيف من التحول الجيني والطفرات المرتدة في خلايا الخميرة *S.cerevisiae* (El-Adway *et al*., 1988). وقد تكون الجرعة المستخدمة من العقاقيرهي 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 تغيرات في أنماط حزم البروتين مقارنة بالعينات الضابطة وقد شملت هذه التغيرات ظهور حزم جديدة أو اختفاء حزم أخرى وإحداث تغيرات في كثافة حزم البروتين وكذلك أدت المعاملة بالتركيزات الأعلى للعقاقير إلى إحداث تغييرفي أنماط حزم الحامض النووي DNA المتضاعف وشملت هذه التغيرات اختفاء حزم أو ظهور حزم جديدة مقارنة بالعينات الضابطة وهذا يتفق مع ما وجده كل من : Qari, (2008), Vytautus *et al*., (2008); Taspinar *et al*., (2009) مما يؤكد التأثير السمي لهذه العقاقيرعلى خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* وإثبات قدرة هذه العقاقيرعلى إحداث تغيير فى التركيب الوراثى عند التعرض لها. ويستنتج من هذا البحث ما يلى :-

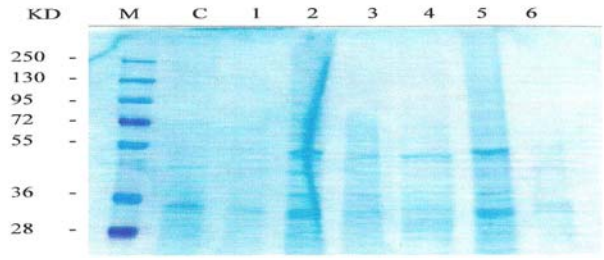
أدت معاملة خلايا الخميرة بالتركيزات المختلفة من العقاقير الثلاثة ولمدد زمنية ٢٠ ،٨٠ دقيقة إلى ظهور تغيرات عديدة في أنماط حزم البروتين المفصولة كهربياً بتقنية SDS-PAGE وتمثلت هذه التغيرات في ظهور حزم جديدة ، اختفاء حزم بروتينية ، زيادة أو نقصان فى نسب وكثافة الحزم البروتينية مقارنة بالعينة الضابطة .

أدت المعاملات بالتركيز الأعلى من العقاقير المستخدمة ولمدد زمنية وصلت إلى ٨٠ دقيقة إلى ظهور تغيرات في أنماط حزم الحامض النووي DNA المفصولة من خلايا الخميرة والمتضاعف باستخدام تقنية RAPDوتمثلت في اختفاء حزم من DNA وظهور حزم جديدة مقارنة بالعينة الضابطة.



شكل ١. التغييرات فى أنماط حزم البروتين المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الريسبردال.

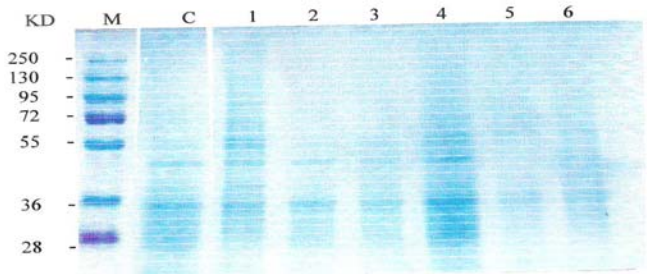
(M) الدليل البروتينى (C) العينة الضابطة
العمود (١) : تركيز ٠.٠٠٢ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٢) : تركيز ٠.٠٠٢ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.
العمود (٣) : تركيز ٠.٠٠٦ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٤) : تركيز ٠.٠٠٦ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.
العمود (٥) : تركيز ٠.٠١٢ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٦) : تركيز ٠.٠١٢ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.



شكل ٢. التغييرات فى أنماط حزم البروتين المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار سيمبالتا.

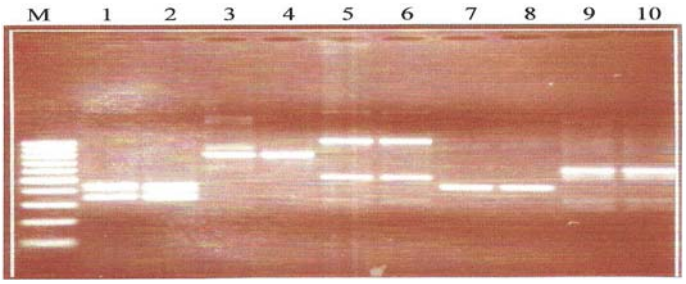
(M) الدليل البروتينى
(C) العينة الضابطة
العمود (١) : تركيز ٠.٠٦ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٢) : تركيز ٠.٠٦ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.
العمود (٣) : تركيز ٠.١٢ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٤) : تركيز ٠.١٢ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.

العمود (٥) : تركيز ٠.١٨ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٦) : تركيز ٠.١٨ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة



شكل ٣. التغييرات فى أنماط حزم البروتين المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الفافريين.

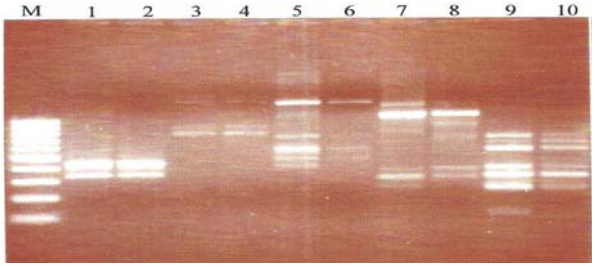
(M) الدليل البروتينى
(C) العينة الضابطة
العمود (١) : تركيز ٠.٢ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٢) : تركيز ٠.٢ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.
العمود (٣) : تركيز ٠.٣ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٤) : تركيز ٠.٣ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة.
العمود (٥) : تركيز ٠.٤ ملجم/مل لمدة ٢٠ دقيقة.
العمود (٦) : تركيز ٠.٤ ملجم/مل لمدة ٨٠ دقيقة



شكل ٤. التغييرات فى أنماط حزم الحامض النووى DNA المتضاعف و المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الريسبردال بتركيز ٠.٠١٢ ملجم/مل ولمدة ٨٠ دقيقة.

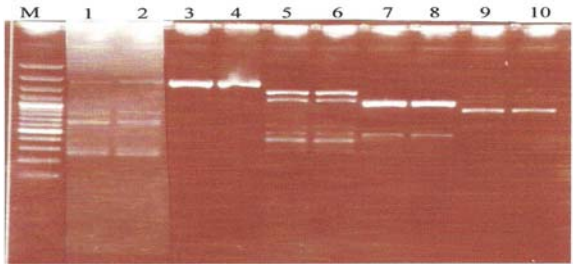
(M) الدليل القياسى **100pb Ladder**
العمود (١): العينة الضابطة للبادىء **OP E6**
العمود (٢): العينة الضابطة **OP E6**
العمود (٣): العينة الضابطة للبادىء **OP O9**

العمود (٤): العينة الضابطة OP O9
العمود (٥): العينة الضابطة للبادىء OP F6
العمود (٦): العينة الضابطة OP F6
العمود (٧): العينة الضابطة للبادىء OP A5
العمود (٨): العينة الضابطة OP A5
العمود (٩): العينة الضابطة للبادىء OP O2
العمود (١٠): العينة الضابطة OP O2



شكل ٥. التغييرات فى أنماط حزم الحامض النووى DNA المتضاعف و المفصولة كهربيا من خلايا خميرة الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار السيمبالتا بتركيز ٠.٠.١٨ ملجم/مل ولمدة ٨٠ دقيقة.

(M) الدليل القياسى 100pb Ladder
العمود (١): العينة الضابطة للبادىء OP E6
العمود (٢): العينة الضابطة OP E6
العمود (٣): العينة الضابطة للبادىء OP O9
العمود (٤): العينة الضابطة OP O9
العمود (٥): العينة الضابطة للبادىء OP F6
العمود (٦): العينة الضابطة OP F6
العمود (٧): العينة الضابطة للبادىء OP E2
العمود (٨): العينة الضابطة OP E2
العمود (٩): العينة الضابطة للبادىء OP E20
العمود (١٠): العينة الضابطة OP E20



شكل ٦. التغييرات فى أنماط حزم الحامض النووى DNA المتضاعف و المفصولة كهربيا من خلايا خميره الخباز *S. cerevisiae* بعد معاملتها بعقار الفافريين بتركيز ٠.٤ ملجم/مل ولمدة ٨٠ دقيقة.

(M) الدليل القياسى 100pb Ladder
العمود (١): العينة الضابطة للبادىء OP A11
العمود (٢): العينة الضابطة OP A11
العمود (٣): العينة الضابطة للبادىء OP B18
العمود (٤): العينة الضابطة OP B18
العمود (٥): العينة الضابطة للبادىء OP F6
العمود (٦): العينة الضابطة OP F6
العمود (٧): العينة الضابطة للبادىء OP G17
العمود (٨): العينة الضابطة OP G17

العمود (٩): العينة الضابطة للبادىء OP Z13
العمود (١٠): العينة الضابطة OP Z13

REFERENCES

الزهراني ،هـ . ع . (٢٠٠٦) : دراسات وراثية وسيتولوجية للتأثير المضاد للطفور لبعض المستخلصات النباتية على تقليل التأثير الطفري لبعض الأدوية على نبات الفول وخميرة سكارومايسس سيرفيسي . رسالة دكتوراه في الوراثة ، قسم النبات ، كلية التربية للأقسام العلمية بجدة .

القثمي ، خ. م. (٢٠٠٨): العبور الوراثي الجسمي والتحول الجيني والطفرة المرتدة المستحدثة في فطرخميرة الخباز باستخدام عقار الاوكسيكام ومستخلص نبات الزنجبيل . رسالة ماجستير في الوراثة . جامعة الملك عبدالعزيز .

هاتوغ - بوران، ع. وأبو دية، م . ح. (٢٠٠٣): 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, feneprathrin 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 Selektsiya.

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, geneis involved in heat shock induction of bleomycin resistance in *Saccharomyces cerevisiae*, environ mol mutagen; 16 (Epubaheda of Print) Cultured oral Kerathinocytes: 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 telemorph 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 Dubourdieu, 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 interganic 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 megazol, 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*. Praceeding 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 TECHNIGUES.

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

أ.د / خليفه عبد المقصود زايد — كلية الزراعة – جامعة المنصورة

أ.د / اشرف حسين عبد الهادى — كلية الزراعة – جامعة المنصورة