دراسات جزيئية على بعض جينات دورة الخلية في خميرة الخباز المعاملة بنباتات الحرمل والكركم

إعداد

غدي اسامة عوض العباسي

إشراف

أ. د/ ندى حسن التواتي القرشي

د/ ناريمان عبد المنجي حسن

المستخلص العربى

استهدفت الدراسة تقييم السمية الوراثية لأحد النباتات الطبية المستخدمة في الطب الشعبي في المملكة العربية السعودية وهو نبات الحرمل (الرازي) من خلال معرفة قدرة المستخلص المائي لأوراق نبات الحرمل على إحداث الطفرات وتأثيره على الجهاز الوراثي فى خميرة الخبازى ودراسة تاثير مستخلص الكركم على مقاومة نبات الحرمل المطفر. تم الحصول على ١١ طفرة من طفرات العوز الغذائي بمعاملة خميرة الخبازي بالتركيزالشعبي المتداول من المستخلص المائي لأوراق نبات الحرمل عند الفترات الزمنية صفر ، ٣٠ ، ٦٠ دقيقة واظهرت النتائج انخفاض النسبة المئوية للبقاء بزيادة الفترة الزمنية للتعريض وزيادة نسبة طفرات العوز الغذائي بزيادة الفترة الزمنية مما يدل على التاثير المطفر لنبات الحرمل. وبإستخدام طريقة التفريد الكهربي للبروتينات أمكن التميز بين الطفرات بناء على الوزن الجزيئى لكل بروتين واظهرت النتائج إختلافات واضحة بين الطفرات وأمكن تحديد التأثير الطفري للمستخلص المائي لأوراق نبات الحرمل وأيضا التأثير المقاوم للطفور بإستخدام مستخلص الكركم وذلك بمعاملة الخميرة بخليط من كلا المستخلصين. وأظهرت نتائج التفريد الكهربي للبروتينات على الخليط وايضا تحليل نتائج RAPD باستخدام بادئين عشوائين هما OPY-02، OPA-11 وجود بعض الحزم البروتينية لمستخلص الكركم وقطع الـ DNA واختفائهم فى الحرمل بينما ظهرت في الخليط وفى الخلايا الغير معاملة مما يدل على إختفاء الاثر الطفوري للحرمل نتيجة المعاملة بالكركم. تم تصميم بادئات متخصصة امكنها تحديد وجود اثنين من الجينات التى تتحكم فى دورة الخلية فى الخميرة وهما CDC5، CDC9 ومن مقارنة التتابعات النيكلوتيدية فى الخميرة المعاملة بالحرمل ومقارنتها بالكركم فقد اظهر الحرمل ٩ تغييرات واستبدالات فى القواعد النيكلوتيدية مقابل ١٢ نتيجة المعاملة بالكركم بواقع ٥ مقابل ٨ فى CDC5، 4 فى الحرمل مقابل ٤ فى الكركم CDC9 مما يظهر تأثير مستخلص أوراق الحرمل المطفر وايضا الكركم المضاد للطفور على الجينات الثلاثة. ودلت النتائج على ان التأثير السام للحرمل قد أختفى نتيجة فعل الكركم حيث اظهر المخلوط تشابة مع الخلايا الغير معاملة بعدد ٢٦ تشابه مقارنة بعدد ٩ تغيرات نتيجة الحرمل وقام مسحوق الكركم بتعديل وإصلاح الأضرار الوراثية التي أحدثتها المعاملة بمستخلص أوراق الحرمل السام. وتوصى الدراسة باستخدام مخلوط الحرمل ومسحوق الكركم معا كعلاج يجب استخدامه فى الطب الشعبى فى المملكة العربية السعودية وباقى الدول لتفادى الاثار الوراثية الضارة من استخدام الحرمل بصورة منفردة.

Molecular studies on some cell cycle genes of Saccharomyces cerevisiae treated with *Rhazya stricta* and *Curcuma longa* extracts

By

Ghadi Osama A. Alabbasi

Supervised By

Prof . Dr . Nada Hassan tawate

Prof. Dr. Nariman Abdel-Mongy Hassan Aly

Abstract

The aim of the present study is to determine the genetic responses of *Saccharomyces cerevisiae* treated with the aqueous extract of *Rhazya stricta* leaves (mutagenic) that commonly used in folk medicine in Saudi Arabia and the aqueous extract of *Curcuma longa* powder (antimutagenic) as well as their mixture for 30 and 60 min for each treatment. Genetic toxicity of aqueous extract of *R. stricta* revealed 11 auxotrophic mutants with reduction in survival percentages by increasing the duration of treatments. No mutants were obtained with aqueous extracts of *C. longa* and *R* x *C* mixture. SDS-PAGE analysis of *S. cerevisiae* total proteins characterized each mutant with distinctive bands. Mutagenic effects of *R. stricta* mutants were determined by the presence of protein bands while they were absent in the control. The results of protein and RAPD analyses using two primers; OPY-02 and OPA-11 indicated that some distinctive protein bands and amplified fragments that affected by *R. stricta* were recovered by *Curcuma* and *R. stricta* mutagenic effects were no more existed in the mixture. Two designed primers were detected the cell cycles genes CDC5 and CDC9. Analysis of nucleotide sequences revealed the effects of Razya extract in the three genes. A total of 9 base-pair substitutions were obtained using Razya treatment versus 12 for Curcuma, whereas 5 nucleotides were changed by Razya in CDC5 vs. 8 by Curcuma, 4 by Razya vs. 4 by Curcuma in CDC9. Restoration of the nucleotide base-pair in the three genes was high in the mixture comparing with the treatment of toxic Razya; 26 vs. 9. The antimutagenic Curcuma in the mixture showed high ability to recover and restore the three cell cycle genes in *S.cerevisiae* to their normal functions and growing the cells normally until completing their cell cycles after treatment of the Razya toxic species. Therefore, the present study recommend to adding anticancer *Curcuma longa* to *Rhazya stricta* in a mixture to use as traditional folk medicine in Saudi Arabia and other countries.