عنوان رسالة الدكتوراه

النواحي الجزيئية لمسببات ومضادات السرطانات لبعض المركبات الطبيعية من السيانوبكتيريا

الملخص باللغة العربية

تعتبر السيانوبكتيريا ضمن البكتيريا الحقيقية، الغير حقيقية النواة و القادرة على القيام بعملية التمثيل الضوئي، هي ذات انتشار واسع في الطبيعة من أطراف الكرة الأرضية وحتى خط الاستواء. تحتوي السيانوبكتيريا على خلايا متخصصة (Heterocyst) مهمتها تثبيت النتيتروجين الجوي و (Akinetes) لحماية الخلية في الظروف الغير ملائمة لمعيشتها كارتفاع درجة الحرارة أو التغير في درجة الأس الهيدروجيني.

إن قدرة بعض السيانوبكتيريا على إفراز السموم كناتج ثانوي لعملية التمثيل الضوئي قد أكسب هذه الكائنات أهمية إضافية، حيث تعتبر هذه السموم ذات تأثير سلبي على صحة الإنسان والحيوان.

تتنوع السيانوبكتيريا تنوعاً كبيراً من الناحية الشكلية، كما أن السلالات الأنواع التي تتبع نفس النوع تتشابه في شكلها بحيث يصعب على الباحث التفرقة بينها بالفحص المظهري، لذلك، فقد قدم علم الوراثة الجزيئية طرق مختلفة للتمييز بين أنواع السيانوبكتيريا بناء على التنوع الوراثي Genetic diversity.

تم استخدام ستة أنواع من السيانوبكتيريا، مقسمة إلى مجموعتين كالتالي: السيانوبكتيريا المستوردة من خارج المملكة العربية السعودية، وهي سلالات أسترالية:- *Microcystis aeruginosa flos-aquae*, *Anabaena circinalis*, *Nodularia spumigena* and *Cylindrospermopsis raciborskii* وسلالتين من داخل المملكة، *Microcystis sp. Anabaena sp.* الأولى من مدينة الرياض والثانية من جدة.

شملت هذه الدراسة استخدام طريقة حديثة في علم الوراثة الجزيئية يمكن من خلالها مضاعفة كمية المادة الوراثية DNA لتوفير مادة وراثية بكمية كبيرة و كافية لعمل دراسة موسعة دون الحاجة إلى إعادة تنمية الخلايا واستخلاص المادة الوراثية مرة أخرى. هذه الطريقة عُرفت بـمضاعفة المحتوى الوراثي (الجينوم) الكلي Whole Genome Amplification (WGA) .

تم استخدام DNA الناتج من عملية مضاعفة الجينوم الكلي (WGA) في تعريف السيانوبكتيريا و دراسة الاختلافات الوراثية بين أجناسها وأنواعها على المستوى الجزيئي، كذلك لدراسة الخصائص الجينية للسيانوبكتيريا المنتجة للسموم. من أهم تقنيات التعرف على السيانوبكتيريا فيما استخدام الجين الريبوسومي للحمض النووي الريبوزي 16SrRNA، الجين المسئول عن صبغة الفيكوسيانين التي تتميز بها السيانوبكتيريا Phycocyanin Intergenic Spacer (PC-IGS) ، و جين الإنزيم المسئول عن عملية تثبيت النيتروجين Nitrogenase (nif*H*) ،وذلك من باستخدام تقنية سلسلة تفاعل إنزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR) . تم أيضاً دراسة تتابع القواعد النيتروجينية في كل من هذه الجينات السابقة لمزيد من التعريف بالأنواع المختلفة.

تضمنت هذه الدراسة طرق للتفرقة والتمييز بين الأنواع والأجناس المختلفة من السيانوبكتيريا لمعرفة مدى التباين الوراثي، و قد تناول موضوع البحث أربع طرق رئيسية وهي:

Short Tandemly Repeated Repetitive (STRR), Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) and Sequencing.

ولقد أثبتت هذه التقنيات قدرتها على إحداث تباين وراثي بين أنواع السيانوبكتيريا المختلفة مما أعطى كل نوع بصمة وراثية Gene fingerprint خاصة به، وسُميت بـ DNA profile .

ركزت هذه الدراسة على عمل شجرة القرابة Phylogenetic Tree بين الأنواع المدروسة لمعرفة درجة القرابة بينها، ونسبة القواعد النيتروجينية في جين 16SrRNA في كل نوع من الأنواع المختلفة.

تم الكشف كذلك على قدرة السيانوبكتيريا على إنتاج السموم، سواء كانت سموم تستهدف الأعضاء الداخلية ;كالكبد والكلى والقلب (Hepatotoxin) وهي: Microcystin, Nodularin, Cylindrospermopsin أو التي تستهدف الجهاز العصبي (Neurotoxin) وهو Saxitoxin ، وذلك من خلال الكشف عن الجينات التي تلعب دور في تكوين هذه السموم من خلال تقنية :

Polymerase Chain Reaction (PCR). كشف البحث أيضاً عن قدرة السلالة المعزولة من ساحل مدينة جدة على إنتاج أحد أهم سموم السيانوكبتيريا وهو Microcystin حيث أعطت هذه السلالة نتيجة موجبة في اختبار PCR للكشف عن الجين المسئول عن تكوين هذا السم.

كما تم الكشف عن وجود سموم السيانوبكتيريا الأربعة السابقة في عينات تجارية منها، و أيضاً في مزارع السيانوبكتيريا المنتجة لها، وذلك من خلال تقنية الفصل الكروماتوجرافي:

Liquid Chromatography Mass Spectrometry (LC-MS)

تناولت الدراسة الكشف عن محتوى خلايا السيانوبكتيريا ،محل الدراسة، من البلازميدات، عن طريق التعرف على بلازميدات A, B, C, pM1, pM2, pM025 وقد أظهرت النتائج وجود بلازميدات C و pM025, pM2 في بعض السلالات ومقارنتها بالأنواع الأخرى، وتم ذلك باستخدام تقنية : RealTime PCR.