



جامعة الموصل

كلية التربية للعلوم الصرفة

تأثير التوقيت الضوئي وبعض المؤثرات الخارجية في الساعة
البايولوجية للفطر *Neurospora crassa* كنموذج لدراسة
تأثيرها على الانسان

نور ميسر صادق أمين السردار

أطروحة دكتوراه

علوم الحياة

بإشراف

الاستاذ المساعد

الدكتور محمد ابراهيم خليل الطائي

٢٠٢٢م

١٤٤٤هـ

الخلاصة

تم دراسة تأثير الضوء و الظلام وبعض المؤثرات على الساعة البيولوجية للفطر *Neurospora crassa* الذي تم استخدامه كنموذج قياسي في جميع التجارب قيد الدراسة والذي تم الحصول عليه من المركز الوراثي للفطريات Fungal Genetics Stock Center من الولايات المتحدة الامريكية إذ يعد كائنا نموذجيا يستعمل في دراسة الساعة البيولوجية عن طريق تنميته على وسط Vogel's بدرجة حرارة ثابتة ودورات ضوء مختلفة (ضوء مستمر ،التواقت الضوئي/12ساعة ضوء/12ساعة ظلام، ظلام مستمر) مع عدة تراكيز مختلفة من بعض المؤثرات(الميلاتونين و الدوبامين و القهوة و نترات الرصاص الثنائي و كبريتات الزنك و كلوريد الكادميوم و كلوريد الحديد الثنائي) كما تم استخدام انابيب سرعة النمو لدراسة تأثير الضوء والظلام بوجود بعض المؤثرات على الساعة البيولوجية للفطر *N. crassa*. و اجرى الكشف عن اضطرابات الساعة البيولوجية للفطر *N. crassa* باستخدام تقنية (ELISA Enzyme liked Immunosorbent Assay) إذ تم قياس هرمون الميلاتونين وبروتين WC-2 . اضافة الى قياس التعبير الجيني لجينات الساعة البيولوجية للفطر WC-1 و Ccg-16 و RAS باستخدام تقنية Real time PCR technology.

اظهرت النتائج الى انتظام وكثافة النمو عند دورة التواقت الضوئي مقارنة مع الاضاءة ضوء مستمر و ظلام مستمر . كما لوحظ اعلى نمو عند المعاملة بالدوبامين مقارنة بانخفاضه عند المعاملة بالرصاص .

وكما بينت النتائج ارتفاع هرمون الميلاتونين عند الظلام المستمر مقارنة مع الضوء المستمر و التواقت الضوئي ولجميع المؤثرات في حين كان تركيز بروتين WC-2 مرتفعا عند التواقت الضوئي مقارنة مع الضوء المستمر والظلام المستمر ولجميع المؤثرات ايضا.

لقد اشارت نتائج التعبير الجيني الى ارتفاع التعبير الجيني لكل من جينين الفطر WC-1 Ccg-16, عند التواقت الضوئي مقارنة مع الضوء المستمر والظلام المستمر في حين كان التعبير الجيني للجين RAS اعلى عند الضوء المستمر مقارنة بالظلام المستمر والتواقت ضوئي ولجميع المؤثرات

كما تضمنت الدراسة التحري والكشف عن جين الساعة البيولوجية الساعة C/3111T في عينات الدم المصابين بحالات من الارق والقلق باستخدام تقنية RFLP - PCR مع البادئ الخاص بالجين Clock gene و الانزيم القاطع BspI2861 وقياس هرمون الميلاتونين وبروتين الساعة باستخدام تقنية ELISA اضافة لقياس lipid profile اذ تم انتخاب 50 شخصا (40 شخصا مصاباً بالارق و 10 اشخاص اصحاء كعامل سيطرة) .

حيث اظهرت النتائج ثلاثة انواع من الطراز الوراثة طراز وراثي طبيعي متماثل (TT) وطراز وراثي طافر (CC) وطراز غير متماثل (TC).

كما بينت النتائج انخفاض هرمون الميلاتونين وبروتين الساعة عند الطراز الوراثة (TC, CC) مقارنة بارتفاعه عند النمط الوراثة (TT).

كما تم استخدام تقنية Sequencing للكشف عن مدى التشابه والاختلاف في تسلسلات القواعد النروجينية إذ تم تسجيل خمس طفرات في بنك الجينات العالمي National Center For Biotechnology Information اضافة الى تحليل نتائج البلمرة المتعددة باستخدام برنامج MEGAX لتقدير الاختلافات بين عينات الدم للاشخاص المصابين بالارق والاشخاص الطبيعيين.

Abstract

The effect of light, dark and some influences in the biological الساعة of the fungus *Neurospora crassa* was studied, which was used as a standard model in all experiments under study, the fungus isolate was obtained from the fungal Genetics Stock Center from the American United States. Where it is considered a genetic model organism used in the study of the biological الساعة by it is growing on a Vogels medium in with a constant temperature and different light cycles (continuous light, 12 hours light /12 hours dark and continuous darkness) with several different concentrations of stimuli used in the study (melatonin, dopamine, Coffee, lead nitrate, Zinc sulfate, Cadmium chloride, iron chloride) The growth trace tubes were also used to study the effect of light and dark in the presence of some influences in the biological الساعة of *N. crassa*. The detection of circadian disorders of the fungus *N. crassa* was conducted using Enzyme linked Immunosorbent Assay ELISA technique. Where the melatonin hormone and WC - 2 protein were measuring in addition to measuring the gene expression of the genes WC - 1, Ccg - 16 and RAS of the circadian الساعة genes in the fungus using Real time PCR technology. The results showed the regularity and density of growth at the cycle of illumination of 12 hours of light / 12 hours of darkness compared to the illumination of 24 hours of light and 24 hours of darkness , the highest growth was observed when treated with dopamine compared to its decrease When treated with lead.

The results also showed an increase in the hormone melatonin in continuous darkness compared to continuous light, and 12 hours of light / 12 hours of darkness for all effects while the concentration of WC- 2 protein was high at 12 hours of light / 12 hours of darkness compared

with continuous light and continuous darkness and for all influences as well. While as the results of gene expression for fungi genes indicated higher gene expression WC - 1 and Ccg - 16 at light 12 hours light / 12 hour's dark compared with continuous light and continuous darkness, while the RAS gene expression was higher at continuous light compared to continuous darkness / 12 hours light and 12 hours of darkness and for all the influences.

The study also included the investigation and detection of the biological الساعة gene 3111T / C in blood Samples of patients with insomnia using RFLP-PCR technique with the primer of الساعة genes and the restriction enzyme Bsp 12861, the measurement of the hormone melatonin and the الساعة protein using the ELISA technique, in addition to measuring the lipid profile 50 people (40 patients with insomnia and 10 healthy people were elected as control factor). Where the results showed three types of genotype Normal Homozygous (TT) Mutant Homozygous (CC) Hyterozygous (TC). The results also showed decreased in melatonin and الساعة protein in the TC and CC genotypes compared to its increase in the TT genotype. The sequencing technique was also used to detect the extent of similarity and difference in the sequences of nitrogenous bases, where five mutations were recorded in the National center For Biotechnology Information global gene bank. In addition to analyzing the results of sequencing using the MEGAX program to estimate the differences between blood samples of people with insomnia and normal people.

**University of Mosul
College of Education
for Pure Science**



**The Effect of Light synchronization and Some
External Stimuli on the Biological Clock of the
Fungus *Neurospora crassa* as a Model to Study
its Effect on Human**

Noor Maysir Sadiq Amin Al Sardar

**Ph.D. Thesis
Biology**

Supervised by

Assist. Prof.

Dr. Mohammad Ibrahim Khalil Al-Taie

2022 A.D

1444 A.H