بررسی نسلها در ساختار ژنتیک طول عمر دروزوفیلاملانوگاستر

دکتر مرتضی همت *

خلاصه

سابقه و هدف: طول عمر و تلاش برای افزایش آن در انسان و یا کاهش آن در موجودات بیماری‌زا، مورد توجه بسیاری از محققین و از جمله محققین علم ژنتیک می‌باشد. نتایج حاصل از اکثر مطالعات به عمل آمده، نشانگر عدم توجه به شناسایی عوامل ژنتیک کنترل کننده طول عمر و یا عدم دقت در کنترل عوامل محیطی موثر می‌باشد. از این رو این تحقیق با استفاده از روشی متفاوت و در جهت شناسایی دقیق ساختار ژنتیک طول عمر بر روی دروزوفیلاملانوگاستر طی سال‌های ۷۷-۱۳۷۶ در دانشگاه شهرکرد انجام گرفت.

مواد و روشها: در این تحقیق تجربی (Experimental) از دو رده دروزوفیلاملانوگاستر با طول عمر زیاد (میانگین ۳۹/۵ روز) و طول عمر کم (میانگین ۳۰/۸ روز) به عنوان والدین P_1 و P_2 و هم چنین نسل‌های F_1 و F_2 و یک کراسهای B_1 و B_2 حاصل از آمیزشهای مختلف استفاده گردید. شناسایی و محاسبه فراسنج‌های ژنتیک کنترل کننده طول عمر، با به کارگیری روش واریانس حداقل مربعات متوازن شده و با استفاده از میانگین طول عمر نسل‌های مختلف انجام گرفت. هم چنین نتایج حاصل با استفاده از آزمون Chi-Square و t-test مورد قضاوت قرار گرفتند.

یافته‌ها: از ۶ فراسنج ژنتیک کنترل کننده طول عمر در الگوی کامل، ۵ فراسنج از جمله میانگین نسلها (m)، اثر افزایشی (d)، غالبیت (h) و هم چنین اثرات متقابل دو جانبه ژنی غیر آلل از قبیل افزایشی×افزایشی (i) و غالبیت×غالبیت (l) اثر معنی داری ($P<0/001$) را نشان دادند. هم چنین $X^2_{(1)}=0/3120$ و $0/75>P>0/25$ صحت و کامل بودن الگوی ۵ فراسنجی را مورد تایید قرار داد.

نتیجه گیری: با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، ژن‌های هسته‌ای کنترل ژنتیک طول عمر در دروزوفیلاملانوگاستر را به عهده دارند که تاثیر خود را به صورت افزایشی (d)، غالبیت (h) و اثرات متقابل دو جانبه ژنهای غیر آلل ([i] و [l]) نشان می‌دهند. هم چنین اثرات متقابل سه جانبه ژنی و یا عوامل سیتوپلاسمی دخالت موثری در ژنتیک طول عمر ندارند. بنابراین، تحقیق بیشتر در مورد ژن‌های هسته‌ای کنترل کننده این صفت پیشنهاد می‌گردد.

واژگان کلیدی: طول عمر ، دروزوفیلاملانوگاستر ، ساختار ژنتیک ، نسل

* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهرکرد ، دانشکده علوم

مقدمه

مطالعه و تحقیق در مورد طول عمر و تلاش برای طولانی کردن آن در انسان و یاکاهش آن در موجودات بیماری‌زا از دیرباز مورد توجه محققین زیادی بوده است. اگر چه نتایج حاصل از این تحقیقات بسیار مهم و قابل استفاده است ، در همه آنها به چگونگی کنترل ژنتیکی توجه بسیار کمی شده است. برای مثال قابلیت وراثت طول عمر در دروزوفیلاملانوگاستر ۰/۱۳۳ تا ۰/۴۴۲ (۱،۲) ، در نماتودها ۰/۳-۰/۲ (۳) و در موش ۰/۳۶-۰/۲۱ (۴) برآورد گردیده ولیکن این تحقیق‌ها اطلاعات بسیار کمی را در رابطه با ترکیب ژنتیکی طول عمر به همراه دارد. علاوه بر آن، در اغلب آزمایش‌هایی نیز که حاوی اطلاعات ژنتیکی بیشتری بوده، به کنترل اثرات محیطی توجه کافی نشده است. برای مثال کنترل وراثت طول عمر در موش توسط یک ژن (۵) و طول عمر در دروزوفیلاملانوگاستر را مربوط به تعداد محدودی ژن (۶) گزارش نموده‌اند. از طرف دیگر، یک آزمایش متفاوتی دو شکل کنترل ژنتیکی هسته‌ای و خارج هسته‌ای را در مورد طول عمر پیشنهاد نموده است (۷). به هر حال همه این مطالعات به دخالت چند ژن محدود در کنترل طول عمر اشتراک نظر دارند، اگر چه هیچ یک نمایانگر ساختار ژنتیک طول عمر در موجودات نمی‌باشند.

یکی از روشهای آنالیز ژنتیک صفات، روش آنالیز واریانس حداقل مربعات متوازن شده (۸) می‌باشد که کنترل ژنتیک صفات کمّی را در قالب فراسنج‌های غالبیت و افزایشی اعمال شده توسط لوکوسهای مربوط بیان می‌نماید. در این روش ترکیب ژنتیکی نسلهای مختلف حاصل از آمیزشها، میانگین و واریانس مورد انتظار مربوط به خود را خواهند داشت و در این رابطه نسلهای در حال و تفرقه مانند F_2 ، F_3 یک کراسها بسیار مورد استفاده خواهند بود. هم چنین یکی دیگر از مزایای این روش کنترل دقیق بر اثرات محیطی موثر می‌باشد. از این رو در جهت تکمیل مطالعات قبلی و برطرف نمودن کاستی‌های آنها و شناسایی دقیق ساختار ژنتیک طول عمر، این تحقیق با استفاده از روش مذکور بر روی دروزوفیلاملانوگاستر و طی سال‌های ۷۷-۱۳۷۶ در دانشگاه شهرکرد انجام گرفت.

مواد و روشها

تحقیق به روش تجربی (Experimental) و با استفاده از دو رده انتخابی از دروزوفیلاملانوگاستر با طول عمر زیاد (میانگین ۳۹/۵ روز) و طول عمر کم (میانگین ۳۰/۸ روز) به عنوان ژنوتیپهای والدینی P_1 ، P_2 در دانشگاه شهرکرد صورت پذیرفت. این دو ژنوتیپ به دنبال یک آزمایش مقدماتی از بین تعدادی رده مجزا شده از یک جمعیت دروزوفیلاملانوگاستر (۹) انتخاب گردیدند که چندین سال در محیط مجزا نگه داری می‌شدند. بنابراین این دو رده می‌تواند برای تعداد زیادی از آللهای تعیین کننده طول عمر متفاوت بوده و در این آزمایش مورد استفاده قرار گیرند. این دو رده جهت ایجاد نسلهای F_1 و F_2، یک کراسها به طور متقابل آمیزش داده شدند. به این ترتیب ۱۴ نسل (P_1) و از P_2، دو نسل F_1، دو نسل F_2 چهار نسل B_{25} و چهار نسل B_2 هر نسل ۵ تکرار تولید شدند. همه آزمایشات در حرارت ۰/۵±درجه سانتی‌گراد انجام گردیدند. حشرات در لولهٔ آزمایش حاوی محیط کشت آرد و مخمر تکثیر شدند. جهت کاهش اثرات محیطی کلیهٔ نسلها به طور همزمان مورد بررسی قرار گرفتند.

محیط‌های حاوی حشرات روزی یک بار مورد بررسی قرار گرفته و به دنبال مرگ هر حشره مربوط به هر

نسل و خارج ساختن آن از محیط ، طول عمر آنها بر حسب روز ثبت گردیدند. پس از مرگ کلیه حشرات، میانگین طول عمر مربوط به هر نسل محاسبه شد. جهت یافتن الگوی ژنتیکی متناسب با این صفت از روش Fisher و همکاران استفاده گردید (۱۰). الگوی مورد استفاده در این روش می‌تواند در برگیرنده حاصل اثرات کلیه لوکوسهای کنترل کننده صفت به صورت فراسنج‌های و در میانگین اثر متقابل(m)، اثر افزایشی (d) ، اثر غالبیت (h) صورت وجود اثرات متقابل ژنهای غیرآلل ، اثر متقابل (i) افزایشی × افزایشی، اثر متقابل (j) افزایشی در غالبیت و P_1 بوده و (l) غالبیت× غالبیت باشد (۱۱). در این الگو فراسنج میانگین سایر (m) رده‌های هموزیگوس $2P_1$ فراسنج‌ها، با توجه به تفاوت از این میانگین قابل محاسبه می‌باشند. از این رو میانگین نسلها به ترتیب زیر قابل تعریف می‌باشند:

$$P_1 = m + (d) + (i)$$

$$P_2 = m - (d) + (i)$$

$$F_1 = m + (h) + (l)$$

$$F_2 = m + \frac{1}{2}(h) + \frac{1}{2}(l)$$

$$B_1 = m + \frac{1}{2}(d) + \frac{1}{2}(h) + \frac{1}{4}(i) + \frac{1}{4}(l)$$

$$B_2 = m - \frac{1}{2}(d) + \frac{1}{2}(h) + \frac{1}{4}(i) - \frac{1}{4}(j) + \frac{1}{4}(l)$$

هم چنین فراسنج‌های ژنتیک به صورت زیر از معادلات ذکر شده قابل اندازه‌گیری هستند :

$$m = \frac{1}{2}P_1 + \frac{1}{2}P_2 + 4F_2 - B_1 - 2B_1 - 2B_2$$

$$(d) = \frac{1}{2}P_1 - \frac{1}{2}P_2$$

$$(h) = 6B_1 + 6B_2 - 8F_2 - F_1 - 1\frac{1}{2}P_1 - 1\frac{1}{2}P_2$$

$$(i) = 2B_1 + 2B_2 - 4F_2$$

$$(j) = 2B_1 - P_1 - 2B_2 + P_2$$

$$(l) = P_1 + P_2 + 2F_1 + 4F_2 - 4B_1 - 4B_2$$

به این ترتیب کلیه فراسنج‌ها و انحراف معیار آنها در وضعیت الگوی کامل (حاوی ۶ فراسنج) تخمین زده شد و سپس موارد معنی دار آن در الگوی جدید قرار گرفتند. تخمین فراسنج‌ها و انحراف معیار آنها به روش واریانس حداقل مربعات متوازن شده (۸) انجام گردید و با استفاده از t-test مورد قضاوت آماری قرار گرفتند. سپس میزان صحت مدل جدید با استفاده از آزمون آماری Chi-Square و مقایسه میانگین‌های مشاهده شده از نسلها و میانگین‌های حاصل از فراسنج‌های ژنتیک تعیین گردید.

یافته‌ها

مقایسه نتایج حاصل از آمیزش‌های متقابل در بین ژنوتیپهای والدینی و نسلهای F_1 ، F_2 و بک کراسها هیچگونه تفاوت وابسته به جنس معنی داری را بین رده‌ها نشان ندادند. به همین دلیل از نتایج حاصل از آمیزشهای متقابل میانگین گرفته شد. جدول (۱) نمایانگر میانگین و انحراف معیار مربوط به ژنوتیپ‌های والدینی ، F_1 ، F_2 و بک کراسها می‌باشد.

جدول ۱ـ تعداد نمونه‌ها و میانگین طول عمر به همراه انحراف معیار آنها در هر نسل در شهرکرد طی سال ۱۳۷۶

نسل	تعداد نمونه‌ها	میانگین طول عمر و انحراف معیار آنها
P_1	۱۶۰	۳۹/۵±۱/۴
P_2	۱۶۰	۳۰/۸±۱/۲
F_1	۳۱۰	۴۲/۱±۰/۹
F_2	۳۱۰	۴۱/۲±۰/۶
B_1	۶۱۰	۳۹/۳±۰/۸
B_2	۶۱۵	۳۴/۳±۰/۷

یک بررسی مقدماتی از این ارقام عدم صحت کاربری یک الگوی ساده حاوی فراسنج‌های افزایشی (d) و غالبیت (h) را نشان می‌دهد. به عبارت دیگر به کارگیری فراسنج‌های حاصل از اثر متقابل ژنهای غیرآلل ، از قبیل (i) ، (j) و (l) در مدل اجتناب ناپذیر می‌باشد. از این رو کلیه فراسنج‌ها (شش فراسنج) و انحراف معیار آنها با استفاده از یک الگوی کامل محاسبه گردیدند. این نتایج در قسمت چپ جدول (۲) خلاصه شده است. هم چنین استفاده از t-test در همان جدول نشان می‌دهد که ۵ فراسنج از ۶ فراسنج موجود و از جمله دو فراسنج مربوط به اثر متقابل ژنهای غیر آلل (l) و (i) معنی‌دار می‌باشند (P< ۰/۰۰۱) . از این رو به نظر می‌رسد مدلی که فاقد فراسنج مربوط به اثر متقابل افزایشی×غالبیت باشد، متناسب با ارقام حاصل از نسل‌های مختلف است. با استفاده از این الگو و روش واریانس حداقل مربعات متوازن شده (۸) ، ۵ فراسنج ژنتیک کنترل کننده طول عمر و انحراف معیار آنها محاسبه و با استفاده از t-test مورد قضاوت آماری قرار گرفت که در سمت راست جدول (۲) نمایش داده شده است. رجوع به جدول توزیع t نشان داد که هر ۵ فراسنج کنترل کننده صفت در سطح P< ۰/۰۰۱ معنی دار می‌باشند. این ۵ فراسنج شامل میانگین (m) ، اثر افزایشی (d) ، اثر غالبیت (h) و فراسنج‌های حاصل از اثر متقابل ژنهای غیر آلل ، از جمله افزایشی × افزایشی (i) و غالبیت× غالبیت (l) بودند (جدول ۲).

جدول ۲-توزیع ارزش فراسنج‌های ژنتیک و انحراف معیار آنها در الگوی کامل و ۵ فراسنجی (P>** ۰/۰۵ بی‌معنی و P< ۰/۰۰۱ معنی‌دار) در شهرکرد طی سال ۱۳۷۶

ارزشها / فراسنج‌ها	الگوی کامل	نتیجه آزمون t ارقام P	الگوی ۵ فراسنجی	نتیجه آزمون t ارقام P
m	۵۰/۷۵±۳/۳۹	P<۰/۰۰۱	۵۳/۸۳±۰/۱۳۲	P<۰/۰۰۱
(d)	۴/۳۵±۰/۹۰	P<۰/۰۰۱	۴/۶۳±۰/۶۵۲	P<۰/۰۰۱
(h)	-۳۵/۵۵±۸/۴۹	P<۰/۰۰۱	-۳۸/۳۶±۰/۴۵	P<۰/۰۰۱
(i)	-۱۷/۶±۳/۲۶	P<۰/۰۰۱	-۱۸/۵۶±۰/۷۴۶	P<۰/۰۰۱
(j)	۱/۳±۲/۷۴	P<۰/۰۵		
(l)	۲۴/۹±۵/۴۸	P<۰/۰۰۱	۲۶/۶۶±۰/۴۷۹	P<۰/۰۰۱

ارزش فراسنج (i) مربوط به لوکوسهای کنترل کننده صفت منفی است، در حالی که ارزش فراسنج (l) مربوط به این لوکوسها مثبت می‌باشد. در ضمن ارزش مثبت (l) در مقایسه با ارزش منفی (h) نشانگر اهمیت بسیار کم دخالت هتروزیس در این صفت می‌باشد چون میزان دخالت هتروزیس با توجه به (h)+(l)> (d)+(i) تعیین می‌گردد (۸). از طرف دیگر گستردگی ژنها و اثر متقابل آنها باعث منفی شدن فراسنج‌های (i) و (h) گردیده است. هم چنین منفی بودن فراسنج (i) در والدین باعث کاهش ارزش (d)+(i) شده است.

صحت الگوی ۵ فراسنجی با استفاده از آزمون آماری Chi-Square و مقایسه میانگین های مشاهده شده از نسل‌های مختلف با میانگین‌های حاصل از فراسنج‌های m,(d),(h),(i),(l) و دستیابی به X^2 =۰/۳۱۲۰ و ۰/۷۵>p>۰/۲۵ مورد قضاوت و تایید قرار گرفت (جدول ۳).

جدول ۳ـ آزمون صحت الگوی ژنتیک الگوی ۵ فراسنجی در شهرکرد طی سال ۱۳۷۶

نسل	وزن	مدل					میانگین	
	$(=1/V_X)$	m	(d)	(h)	(i)	(l)	مشاهده شده	مورد انتظار
P۱	۰/۴۵۳۲	۱	۱	۰	۱	۰	۳۹/۵	۳۹/۹
P۲	۰/۷۱۳۸	۱	-۱	۰	۱	۰	۳۰/۸	۳۰/۶
F۱	۱/۱۸۸۱	۱	۰	۱	۰	۱	۴۲/۱	۴۲/۰
F۲	۲/۵۰۶۳	۱	۰	$\frac{1}{2}$	۰	$\frac{1}{4}$	۴۱/۲	۴۱/۳
B۱	۱/۶۴۳۷	۱	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	۳۹/۳	۳۹/۰
B۲	۲/۱۸۲۵	۱	$-\frac{1}{2}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$	۳۴/۳	۳۴/۴
$X^2_{(1)}$=۰/۳۱۲۰۰		/۷۵>P>۰/۲۵						

ارزش X^2 بیانگر عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین میانگین مشاهده شده و مورد انتظار و صحت الگو می‌باشد.

بحث

این تحقیق نشان داد که فراسنج‌های ژنتیک کنترل کننده طول عمر در دروزوفیلاملانوگاستر منحصراً از نوع افزایشی، غالبیت و اثر متقابل دو جانبه ژنهای غیر آلل (افزایشی× افزایشی و غالبیت × غالبیت) می‌باشند. هم‌چنین صحت الگوی ۵ فراسنجی بیانگر این مطلب است که عواملی مانند اثرات متقابل سه جانبه ژنی و دیگر عوامل پیچیده از قبیل عوامل سیتوپلاسمی در کنترل ژنتیک طول عمر دخالت موثری ندارند.

طبق نظریه Yonemura و همکاران (۷) وراثت طول عمر در دروزوفیلاملانوگاستر از نوع وراثت چندژنی (Polygenic) می‌باشند. در ضمن ، علاوه بر عوامل ژنتیک هسته‌ای عوامل غیرهسته‌ای نیز در کنترل صفت دخالت دارند. از طرف دیگر Goodrich (۵) منحصراً دخالت یک ژن هسته‌ای را در کنترل طول عمر موثر می‌داند.

محققین مذکور طی آزمایشات خود به کنترل عوامل محیطی توجه لازم را مبذول نداشته‌اند و این در حالی است که Hemmat و همکاران (۱۳،۱۴،۱۵،۱۶ ، ۹، ۱۲) اثر عوامل محیطی مانند حرارت ، غذا و غیره را در طول عمر دروزوفیلاملانوگاستر تعیین کننده می‌دانند.

در این تحقیق سعی گردید با تثبیت حرارت محیط و غذای کافی تا حد زیادی اثرات محیطی را کنترل نمود. در ضمن، طول عمر کلیه نسلها به طور هم زمان و در شرایط محیطی یکسان مورد بررسی قرار گرفت. به هر

حال نتایج حاصل از این تحقیق اگر چه مؤید نظریه وراثت چندژنی در کنترل طول عمر می‌باشد، تاثیر هر گونه عوامل ژنتیکی غیرهسته‌ای را مردود می‌داند.

در بسیاری از تحقیقات مربوط به ژنتیک طول عمر، روشهای مورد استفاده قادر به توجیه ساختار ژنتیک طول عمر در موجودات نبوده‌اند. برای مثال فقط قابلیت وراثت طول عمر را محاسبه نموده (۱،۲،۳،۴) و یا وراثت تک ژنی و یا چند ژنی بودن صفت را مشخص نموده‌اند (۵،۶)، در حالی که روش واریانس حداقل مربعات متوازن شده (۸) در این تحقیق قادر به محاسبه کلیه فراسنج‌های ژنتیک حاصل از فعالیت‌های ژنی و کنترل کننده صفت بوده است.

نتایج حاصل از این تحقیق نمایانگر کنترل ژنتیک طول عمر توسط تعدادی ژن هسته‌ای می‌باشد. بنابراین، مطالعه ساختار ژنتیک طول عمر موجودات مختلف و از جمله انسان و هم چنین شناسایی کروموزومها و لوکوسهای مربوط به این گونه ژنها پیشنهاد می‌گردد. در این صورت علم مهندسی ژنتیک در آینده‌ای نه چندان دور قادر به افزایش و یا کاهش طول عمر موجودات مختلف خواهد بود.

تشکر و قدردانی

از شورای پژوهشی دانشگاه شهرکرد به دلیل تصویب و تامین هزینه طرح و از خانم جوزدانی کارشناس محترم دانشگاه به خاطر زحمات ایشان در طول این تحقیق تشکر می‌گردد.

References:

1. Maynard SJ. Sex- linked inheritance of longevity in Drosophila subobscura. J Genet. 1959; 59: 227-235.
2. Tantawy AO. Rakha FA. Studies on natural population of Drosophila IV. Genetics variances of and correlations between four characters in D. melanogaster and D. simulance. Genetics. 1964; 50: 1349-1355.
3. Johnson TE. Wood WB. Genetic analysis of life span in Caenorhabditis elegans. Proc Natl Acad Sci (USA). 1982; 79: 6603-6607.
4. Storer JB. Longevity and gross pathology at death 22 inbred mouse strains. J Gerontol. 1966; 21: 404-409.
5. Goodrick CL. Life - span and the inheritance of longevity of inbred mice. J Gerontol. 1975; 30: 257-263.
6. Luckinbill LS. Reed AH. Koestawanf S. Localizing genes that differ senescence in Drosophial Melanogaster. Heredity. 1988; 60: 367-374.
7. Yonemura I. Motoyama T. Hasekura H. Boettcher B. Cytoplasmic influence on the

expression of nuclear genes affecting life span in Drosophila melanogaster. Heredity. 1991; 66: 256-264.

8. Mather K. Jinks JL. Biet genetics. 3rd ed. London: Chapman and Hall; 1982: 512-532.
9. Hemmat M. Eggleston P. Competitive interactions in Drosophila melanogaster: recureent selection for aggression and response. Heredity. 1988; 60: 126-137.
10. Fisher RA. Immer FR. Tedin O. The genetical interpretation of statistics of the third degree in the study of quantitative ingeritance. Genetics. 1932; 17: 107-124.
11. Jinks JK. Morley Jones R. Estimation of the components of heterosis. Genetics. 1958; 43: 223-234.
12. Hemmat M. Genetic analysis of competititive abilities in four genotypes of Drosophila melanogaster. 1- Diallel analysis. Basic sci J. Isfahan University. 1998; 10: 47-56.
13. Hemmat M. Eggleston P. Competitive interactions in Drosophila melanogaster: genetic variation for interference through media conditioning . Heredity. 1988; 61: 347-354.
14. Hemmat M. Eggleston P. Analysis of competitive interactions in triocultures of Drosophila melanogaster. Heredity. 1990; 64: 215-222.
15. Hemmat M. Eggleston P. The biometrical genetics of competitive parameters in Drosophila melanogaster. Heredity. 1990; 64: 223-231.
16. DeMiranda JR. Hemmat M. Eggleston P. The competition diallel and the exploitation and interfernce components of larval competition in Drosophila melanogaster. Heredity. 1991; 66: 333-342.