اصول بیوشیمی پزشکی

جلد اول

برای دانشجویان علوم پزشکی

اعضای هیئت علمی مولف:

(به ترتیب حروف الفبا)

دکتر معصومه اکملی

دکتر علی اکبر اوجی

دکتر عاطفه ثقه الاسلام

دکتر مژگان راستی

دکتر زهره مصطفوی پور

دکتر پونه مکرم

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

دکتر محمود وصال

ویراستاری علمی و تدوین:

دکتر علی اکبر اوجی

دکتر احمد مرآت

دانشگاه علوم پزشکی شیراز

دانشکده پزشکی- گروه بیوشیمی

با همکاری مرکز مطالعات و توسعه آموزش پزشکی

CamScanner

فصل ۱

بیوشیمی و اندامک های سلول

دکتر پونه مکرم

CamScanner

۱-۱ مقدمه

دانش بیوشیمی، مولکول ها و واکنش های شیمیایی سلول ها و موجودات زنده را مورد بررسی قرار می دهد. بنا براین ارتباط نزدیکی بین بیوشیمی و علوم پزشکی وجود دارد. به بیان دیگرسلامتی بر اساس هماهنگی بین واکنش های بیوشیمیایی در بدن قابل تعریف است و ناهنجاری در ملکول های زیستی و ناهماهنگی بین واکنش های بیوشیمیایی در بدن موجب بیماری می گردند. به کار گیری آزمایش ها و روش های بیوشیمیایی جایگاه مهمی درتشخیص عوامل ایجاد بیماری ها و ارائه درمان مناسب دارند. برای مثال بیماری فنیل کیتون اوری با استفاده از روش های بیوشیمی تشخیص داده می شود. از زمانی که بر اساس مطالعات بیوشیمیایی اساس مولکولی این بیماری مشخص گردید، شیرخواران مبتلا را روی رژیم غذایی با فنیل آلانین کم قرار می دهند. این روش درمان مانع بروز عقب افتادگی ذهنی در کودکان مبتلا می گردد. متقابلاً مطالعه جنبه های گوناگون سلامتی و بیماری موجب گشایش دریچه های جدیدی در بیوشیمی شده است. مطالعه هموگلوبین در گلبول قرمز داسی شکل خون و سایر بیماری های هموگلوبین کمک شایانی به آگاهی از ساختمان و عملکرد پروتئین ها نموده است. جدول ۱ - ۱ فهرستی ازروش های بیوشیمیایی که کاربرد وسیعی در پزشکی بالینی دارند می باشد.

امروزه مرزهای سنتی بین علوم زیستی شکسته شده و بیوشیمی به زبان بین این علوم تبدیل شده است.

دانش پژوهان علوم پایه پزشکی نیز علاقه ویژه ای به بیوشیمی دارند. شناخت ملکول های تشکیل دهنده پیکره میکرو ارگانیسم ها ونیز آگاهی از چگونگی سوخت و ساز آنها اساس دانش بشر در زمینه کنترل رشد این جانداران، مکانیسم های بیماری زایی آنها و ساختن آنتی بیوتیک ها می باشد. از طرفی بیوشیمی در اشکال ساده تر حیات، غالبا از شباهت بسیاری با بیوشیمی انسان برخورداراست. به عنوان مثال، نظریه تنظیم فعالیت های ژن ها و آنزیم ها درانسان از مطالعات انجام گرفته بر روی کپک های نان و باکتری ها منشاء گرفته است. همچنین نتایج بدست آمده از مطالعه ژن های ویروسی که عامل برخی انواع سرطان در جانوران می باشند دانش بشر را درمورد چگونگی سرطانی شدن سلولهای انسان گسترش داده اند.

بیوشیمی اسیدهای نوکلئیک، ساختار علم ژنتیک را تشکیل می دهد و به کارگیری روشهای ژنتیکی برای روشن شدن بسیاری از زمینه های بیوشیمی اجتناب ناپذیر است. فیزیولوژی که عبارت از مطالعه عملکرد بدن است تقریباً به طور کامل با بیوشیمی هم پوشانی دارد. در بیوشیمی روش های

شیمیایی متعددی به کار گرفته می شود که بسیاری از این روش ها بطور وسیعی توسط دانشمندان ایمنی شناسی نیز مورد استفاده قرار می گیرند.

فارماکولوژی و داروسازی، پایه در دانشی دقیق از بیوشیمی و فیزیولوژی دارند. اغلب داروها توسط آنزیم ها متابولیزه می شوند و آثار متقابل پیچیده در بین داروها به بهترین شکل از دیدگاه بیوشیمی شناخته شده اند. سموم بر واکنش های بیوشیمیایی اثر می گذارند که این موضوع مربوط به فصل های گسترده ای از دانش سم شناسی می گردد. روشهای بیوشیمیایی بطور فزاینده ای در تشخیص های پاتولوژی مانند التهاب، آسیب سلولی و سرطان نیز مورد استفاده قرار می گیرند.

مطالعات بیوشیمیایی، بسیاری از جنبه های سلامتی و بیماری را روشن ساخته اند. امروزه تحقیقات بیوشیمیایی جایگاه مهمی در تغذیه و طب پیشگیری نیز دارند. برای مثال: انسان ها برای برقراری وضعیت سلامتی باید انواعی از مولکول های آلی مانند ویتامین ها و یا اسیدهای چرب غیر اشباع را مصرف کنند. کمبود ویتامین C و یا D به ترتیب باعث بروز آسکوربوت و ریکتز می گردد. روشن سازی نقش های کلیدی ایفا شده توسط ویتامین ها و مشتقات بیولوژیک فعال آنها در سلول های حیوانی و انسان، از اهداف اصلی دانشمندان بیوشیمی و متخصصین تغذیه بوده است. همچنین مصرف روغن ماهی که غنی از اسیدهای چرب غیر اشباع می باشد منجر به کاهش سطح پلاسمایی کلسترول و کاهش میزان بیماری تصلب شرائین می گردد.

جدول ۱-۱ روش های بیوشیمیایی با کاربرد متنوع در پزشکی

کاربرد	مثال
۱- روشن ساختن علل اصلی بیماری ها	نشان دادن ناهنجاری ژنتیکی در بیماری هانتینگتون
۲- پیشنهاد درمان منطقی بیماری	تجویز غذاهای حاوی مقادیر کم فنیل آلانین به کودکان مبتلا به فنیل کتون یوریا
۳- کمک به تشخیص بیماری	استفاده از آنزیم کراتین کیناز (CK) در تشخیص سکته قلبی
۴- انجام آزمایش های غربال گری	اندازه گیری فعالیت آنزیم گلوکز -۶ فسفات دهید روژناز در نوزادان به منظور تشخیص بیماری فاویسم
۵- کمک به کنترل وضعیت بیماری ها	استفاده از غلظت پلاسمایی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز (ALT) در کنترل بیماری هپاتیت

وجود هسته حقیقی، سلول های یوکاریوت را از پروکاریوت متمایز می سازد.
سلول هایی که آزادانه زندگی می کنند و سلول هایی که در ساختمان جانداران پر سلولی قرار دارند بترتیب در دو گروه پروکاریوت ها (prokaryotes) و یوکاریوت ها (eukaryotes) شناخته می شوند. در یوکاریوت ها، محتویات هسته بوسیله غشایی از سیتوپلاسم سلول جدا می شود، در صورتی که پروکاریوت ها فاقد چنین غشا جدا کننده ای می باشند. این تفاوت یعنی وجود و عدم وجود هسته حقیقی یک اختلاف عمده است. از تفاوت های دیگر می توان نبودن اندامک ، هیستون - نوکلئوزوم و اینترون در پروکاریوت ها در مقایسه با یوکاریوت ها را نام برد. همچنین ژنوم اکثر پروکاریوت ها یک مولکول DNA حلقوی است در حالیکه ژنوم یوکاریوت ها در کروموزوم ها سازمان می یابد. پروکاریوت ها یک نوع در حالی که یوکاریوت ها سه نوع آنزیم RNA پلیمر از دارند. ریبوزوم ها در پروکاریوت ها سبک تر (حدود 70S) از یوکاریوت ها (حدود 80S) می باشند. تمامی سلول های گیاهی و جانوری یوکاریوت هستند در صورتی که باکتری ها، جلبک های سبز- آبی و میکوپلاسماها، در زمره پروکاریوت می با شند.

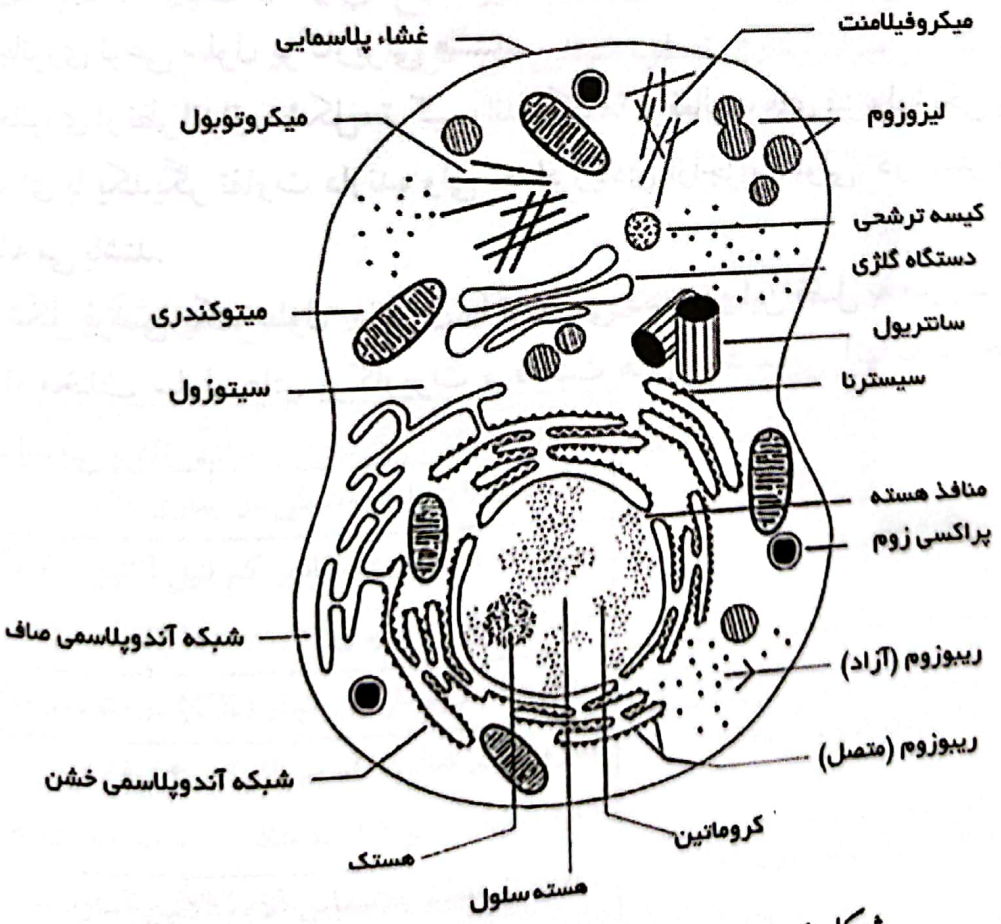
۲-۱ سلول های جانوری و انواع آنها:

سلول های جانوری نوعی سلول یوکاریوتی هستند.
سلول های جانوری از نظر اندازه، شکل، ترکیب اندامک ها و فعالیت های فیزیولوژیکی به صورت قابل ملاحظه ای با یکدیگر تفاوت دارند، ولی تعداد زیادی ازاجزاء سلولی در بیشتر سلول های جانوری مشابه می باشند.
شکل۱ - ۱ شکل فرضی یک سلول جانوری را نشان می دهد. در این فصل به صورت خلاصه به توضیح اجزاء مختلف سلول های یوکاریوت و فعالیت های بیوشیمیایی آنهاکه در جدول ۲-۱ خلاصه شده اند می پردازیم.

CamScanner

جدول ۲-۱ اجزاء مختلف سلول های یوکاریوت و وظایف هر یک از آنها

اجزاء سلولی	فعالیت زیستی
هسته	سنتز و ترمیم DNA و سنتز RNA
هستک	پردازش RNA و سنتز ریبوزوم
غشاء پلاسمایی	۱- شکل و حرکت سلول ۲- شناسایی مولکولهای کوچک و بزرگ از طریق گیرنده ها ۳- انتقال یون ها و مولکول ها
شبکه اندوپلاسمی	سنتز پروتئین و لیپیدها برای غشاء و اندامک ها و واکنش های سم زدای
دستگاه گلژی	تغییرات پس از ترجمه پروتئین ها و کمک به خروج آنها
میتوکندری	۱- واکنش های زنجیره تنفسی سلولی و تولید ATP ۲- انجام اکسیداسیون لیپیدها و برخی واکنش های اکسیداسیون کربوهیدرات ها، سنتز اوره و هیم (Heme)



شکل ۱-۱. نمودار یک سلول جانوری و اجزاء مختلف آن

غشا پلاسمایی (Plasma Membrane) علاوه بر فعالیت های زیستی گوناگون محتویات درون سلول را از بیرون جدا می نماید .

محتویات سلول (سیتوپلاسم واندامک های سیتوپلاسمی) به وسیله غشاء محدود کننده ای که غشاء پلاسمایی (Plasma membrane)، غشاء سلولی (Cell membrane) یا پلاسمالما (plasmalemma) خوانده می شود از محیط اطراف جدا می گردند. بنابراین تمام موادی که وارد سلول میگردند و یا از آن خارج می شوند باید از غشاء پلاسمایی عبور نمایند. اگر چه غشاء پلاسمایی ممکن است نقش غیر فعالی را در تبادل بعضی از مولکول های خیلی کوچک (مانند O_2 ، CO_2) بین سلول و محیط اطرافش بازی کند ولی عبور بسیاری از مواد بوسیله فعالیت های دائم پروتئین های غشاء تسهیل میگردد. درموارد زیادی، عبور از غشاء بوسیله شرکت فعال مولکول هایی واقع در درون غشاء باصرف مقدار زیادی انرژی حاصل می گردد. در میان تمام سلول های گیاهی و جانوری، غشاء هیچ کدام به اندازه گلبول های قرمز خون پستانداران (اریتروسیت ها) مورد مطالعه قرار نگرفته اند. زیرا غشاء گلبول های قرمز خون نسبتا به راحتی قابل استخراج بوده و نتایج مطالعه اریتروسیت ها غالبا برای تمام سلول ها تعمیم داده می شود. که البته بنظر نمی رسد این تعمیم همواره صحت داشته باشد.

غشاء اریتروسیت از پروتئین، لیپید و کربوهیدرات تشکیل شده است که نه تنها رفت و آمد کلیه مواد بین سلول و محیط پیرامونش را کنترل می نماید بلکه دارای یک اسکلت پروتئینی است که شکل مقعرالطرفین آنرا حفظ می نماید. این غشاء در بسیاری از اعمال دیگر نظیر ارتباط بین سلولی نیز دارای نقش می باشد. در سلول های برخی از بافت ها، بواسطهٔ تغییر شکل قسمت هایی از غشاء پلاسمایی تعداد زیادی زوائد انگشت مانند به نام میکرو ویلی (Microvilli) بوجود می آیند. این ساختار سطح تماس سلول را به نحو قابل ملاحظه ای افزایش داده و در نتیجه سرعت عبور مواد از طریق غشاء پلاسمایی بیشتر می شود. زمانی که تعداد زیادی از سلولها در ارتباط نزدیکی با یکدیگر باشند (برای مثال در یک بافت) معمولا اتصالاتی بین غشا پلاسمایی سلول های هم جوار بوجود می آید، که ممکن است به صورت اتصالات فشرده (Tight junctions)، دسموزوم ها (Desmosomes) ویا اتصالات فاصله (Gap junctions) دیده شوند. غشاء پلاسمایی نسبت به عبور آزادانه بیشتر مواد غیر قابل نفوذ بوده و بسیاری از مواد برای عبور از غشاء نیاز به گیرنده ها و ناقل های اختصاصی دارند. غشاء همچنین در برون ریزی (Exocytosis) و درون بری (Endocytosis) ماکرومولکول ها نقش دارد.

CamScanner

بخش آبی سیتوپلاسم را سیتوزول می نامند

سیتوزول حاوی آنزیم های مربوط به فرآیند های مختلف سلول از جمله انجام قسمتی از متابولیسم ماکرومولکول ها می باشد. برای مثال آنزیم هایی که دراکسیداسیون گلوکزبه اسید پیرووبک نقش دارند در سیتوزول موجود می باشند.

شکل دهی به سلول و اعمال حرکتی آن و انتقال درون سلولی مولکول های درشت توسط اسکلت سلولی و شبکه میکروترابکولار(Cytoskeleton & Microtrabecular Lattice) صورت می گیرد .

در سیتوپلاسم بسیاری از سلول ها اجزاء اسکلت سلولی و شبکه میکروترابکولار انشعاب یافته هستند. اسکلت سلولی شبکه ای از پروتئین هایی خاص می باشد که به صورت دسته هایی از فیلامنت های نازک، فیلامنت های بینابینی، فیلامنت های ضخیم و میکروتوبول ها سازمان یافته اند. این ساختار در شکل دهی به سلول و همچنین در اعمال حرکتی سلولها و تغییر شکل سلولی به هنگام میتوز و قراردادن هر سلول در جای خود و انتقال درون سلولی مولکولهای درشت دارای نقش می باشد. عناصر تشکیل دهنده اسکلت سلولی بوسیله شبکه ای از ساختارهای ظریف تر نخ مانندی که شبکه میکروترابکولار نامیده می شوند به یکدیگر متصل گردیده اند. از پروتئین های این شبکه پروتئینی که اسکلت سلولی را می سازد می توان به اکتین اشاره نمود که یک پروتئین کروی غیر پلیمریزه بوده (G-actin) و پس از پلیمریزه شدن تشکیل فیلامنتی به نام فیلامنت اکتین (F-actin) را می دهد. اکتین به همراه میوزین در انقباض سلولهای ماهیچه ای نقش دارند. پروتئین های α و β توبولین مهمترین پروتین های تشکیل دهنده میکروتوبول ها بوده و میکروتوبول ها بزرگترین رشته اسکلت سلولی می باشند. میکروتوبول ها خود در حرکت های سلولی و نقل و انتقالات داخل سلولی دخالت دارند. ارتباط این میکروتوبول ها با برخی پروتئین ها مثل دای نین (Dynein) باعث حرکت مژک ها و حرکت وزیکول ها در میتوز سلولی میشود.

از داروهای ضد میتوز مانند کلشیسین (Colchicine) و تاکسول (Taxol) برای جلوگیری از دپلیمریزاسیون و پلیمریزاسیون میکروتوبول ها استفاده می شود که در درمان بیماری هایی مانند نقرس و سرطان تجویز می شوند .

شبکه آندوپلاسمی (Endoplasmic Reticulum) جایگاه سنتز پروتئین ها و لیپید های موجود در اکثر اندامک های سلول می باشد .

در سیتوپلاسم اکثر سلولهای جانوری، شبکه گسترده ای از کانال ها یا سیسترن های (Cisternae) محدود به غشاء سلول وجود دارد که مجموعاً شبکه آندوپلاسمی (endoplasmic reticulum=ER) خوانده می شود. غشاءهای شبکه آندوپلاسمی تا غشاء خارجی هسته ادامه پیدا می کند. غشاءهای شبکه آندوپلاسمی، سیتوپلاسم را به دو فاز تقسیم می کند، یک فاز لومنی (lumen) یا فضای داخل سیسترنی (intra cisternal space) و دیگری فاز هیالوپلاسمی (hyaloplasmic) یا سیتوزول (cytosol). فاز لومنی از موادی که درون سیسترن ها محصور شده اند تشکیل می گردد، لیکن سیتوزول، غشاءهای شبکه را در بر گرفته است. در یک سلول جانوری سطح غشاءهای شبکه آندوپلاسمی ممکن است ۱۰ برابر بیشتر از سطح غشاء پلاسمایی خود سلول باشد. تعداد زیادی از ذرات کوچک که ریبوزوم نامیده می شوند در سیتوزول موجود بوده که یا به سطح سیتوزولی غشاءهای شبکه آندوپلاسمی اتصال داشته و یا به صورت آزاد در سیتوزول پراکنده اند. کار ریبوزم ها سنتز پروتئین های سلول می باشد.

شبکه آندوپلاسمی خشن (Rough ER)

شبکه آندوپلاسمی با ریبوزوم های متصل به آن را شبکه آندوپلاسمی خشن یا ناهموار (RER) می نامند. سیسترن های این نوع از شبکه آندوپلاسمی عمدتا پهن و صفحه مانند هستند. شبکه آندوپلاسمی خشن در سنتز پروتئین دخالت دارد. ریبوزوم ها سنتز پروتئین ها را در سیتوزول آغاز کرده وبا ادامه سنتز پروتئین ها، مجموعه پروتئین –ریبوزوم به RER متصل می گردد.پس از آن مسیر انتقال پروتئین به سوی مقصد نهایی با عبور از ER انجام می گردد.قسمتی از پروتئین های سنتز شده در شبکه آندو پلاسمی باقی می مانند ، مابقی یا ترشحی هستند و یا اینکه به دیگراندامک های سلول می پیوندند. لذا تعدادی از این پروتئین ها بر اساس عملکرد شان دچارتغییرات پس از ترجمه می گردند. البته بخش اعظم تغییرات در دستگاه گلژی اتفاق می افتد ولی مشاهده شده که در لومن RER نیز آنزیم ها یی وجود دارند که واکنش های تغییرات پس از ترجمه را در پروتئین ها کاتالیز می نمایند.از جمله این تغییرات ایجاد پیوند های دی سولفیدی مناسب برای پایداری ساختمان پروتئین وتاخوردگی (Folding) صحیح آن به کمک پروتئین هایی خاص در ER از جمله پروتئین های خانواده HSP70 (Heat Shock Protein 70) می باشد. گلیکوزیلاسیون (اتصال واحدهای کربوهیدرات به نیتروژن شاخه جانبی آسپاراژین) پروتئین هایی که تاخوردگی صحیح دارند و نیز برش پروتئین ها در زمره سایر تغییرات پس از ترجمه پروتئین ها در ER می باشند.

در واقع شبکه اندوپلاسمی بخشی از سیستم حمل و نقل در یوکاریوت ها می باشد و قسمتی از تغییرات اولیه پروتئین ها در جهت دسته بندی نهایی در دستگاه گلژی را به عهده دارد.

شبکه آندوپلاسمی صاف یا هموار (Smooth ER)

قسمتی از شبکه آندوپلاسمی که فاقد ریبوزوم می باشد شبکه آندوپلاسمی هموار یا صاف (SER) نام دارد و معمولا غشاءهای آن ایجاد شبکه ای از لوله های منشعب و درهم پیچیده را می نماید. شبکه اندوپلاسمی هموار عمدتا در سنتز لیپیدها و استروئید ها شرکت می کند. SER در بعضی اعمال دیگر از قبیل سم زدایی (Detoxification) داروها، متابولیسم کربوهیدرات ها و استروئید ها، تنظیم غلظت کلسیم و اتصال گیرنده هابه پروتئین های غشاء سلول نیزنقش دارد. سنتز کلسترول و همچنین بسیاری از واکنشهای سنتز هورمون های استروئیدی در SER صورت می گیرد. شبکه آندوپلاسمی هموار منبع عمده ذخیره یون کلسیم در سلول بوده و نقش مهمی در تنظیم غلظت Ca^{2+} در سیتوزول دارد. درغشاء آندوپلاسمی پمپ های پروتئینی ویژه ای یون کلسیم را از سیتوزول به درون فضای سیسترنی منتقل نموده و در آنجا ذخیره می نمایند. بنابراین غلظت یون Ca^{2+} در این فضا چندین برابر غلظت Ca^{2+} در سیتوزول می باشد. وظیفه اصلی این نوع شبکه آندو پلاسمی صاف که در ماهیچه مخطط و اسکلتی وجود دارد تنظیم سطح کلسیم می باشد که در فرایند انقباض عضله موثر است.

اعمال شبکه آندوپلاسمی

سلولهای مختلف دارای نسبتهای متفاوتی از شبکه های اندوپلاسمی هموار و ناهموار می باشند. سلول هایی که شدیدا درگیر در سنتز پروتئین می باشند مانند سلول های پانکراس دارای نسبت بالایی از RER هستند. ولی سلول هایی که وظیفه سنتز استروئیدها را بعهده دارند مانند سلول های بافت کورتکس آدرنال که هورمون های استروئیدی را سنتز می نمایند عمدتا دارای شبکه اندوپلاسمی از نوع SER می باشند. شبکه آندوپلاسمی اعمال بیوشیمیایی متفاوتی در سلول انجام می دهد . از جمله:

- **شرکت در متابولیسم قندها:** آنزیم گلوکز ۶ – فسفاتاز در سطح داخلی یا سطح لومنی غشاء شبکه آندوپلاسمی قرار دارد که گروه فسفات را از کربن شماره ۶ گلوکز جدا می کنند. گلوکز به فضای درونی شبکه و گروه فسفات به سوی سیتوزول هدایت می‌شوند. همچنین با وجود آنزیم گلیکوزیل ترانسفراز در شبکه آندوپلاسمی بخشی از گلیکوزیلاسیون پلی‌پپتیدها و لیپیدها در این محل صورت می گیرد.

- **شرکت در متابولیسم لیپیدها:** تعدادی از آنزیم های سنتز اسید های چرب در شبکه آندوپلاسمی بخصوص شبکه آندوپلاسمی صاف وجود دارد که تری گلیسریدها، گلیکولیپیدها و استروئیدها را می‌سازند. همچنین آنزیم های تجزیه کننده چربی ها نیز در ER وجود دارد.

- **پایدارنمودن ساختمان دوم و چهارم پروتئین وتاخوردگی صحیح پروتئین و دخالت در متابولیسم پروتئین ها:** بسیاری از پروتئین ها در ER در پایداری و ایجاد تاخوردگی صحیح پروتئین های سنتز شده در ER نقش دارند. همچنین در قسمت درونی شبکه آندوپلاسمی آنزیم های پپتیداز و آنزیم های اکسید کننده اسیدآمینه هائی مانند سرین اکسیداز شناخته شده اند. مرحله اول گلیکوزیلاسیون یا انتقال الیگوساکاریدها به پروتئین در شبکه آندوپلاسمی صورت می گیرد. این شبکه با داشتن ریبوزوم در سنتز پروتئین ها بخصوص پروتئینهای ترشحی نقش دارد. عمل افزودن سولفات به پروتئینها و یا لیپیدها در شبکه آندوپلاسمی و دستگاه گلژی صورت می گیرد.

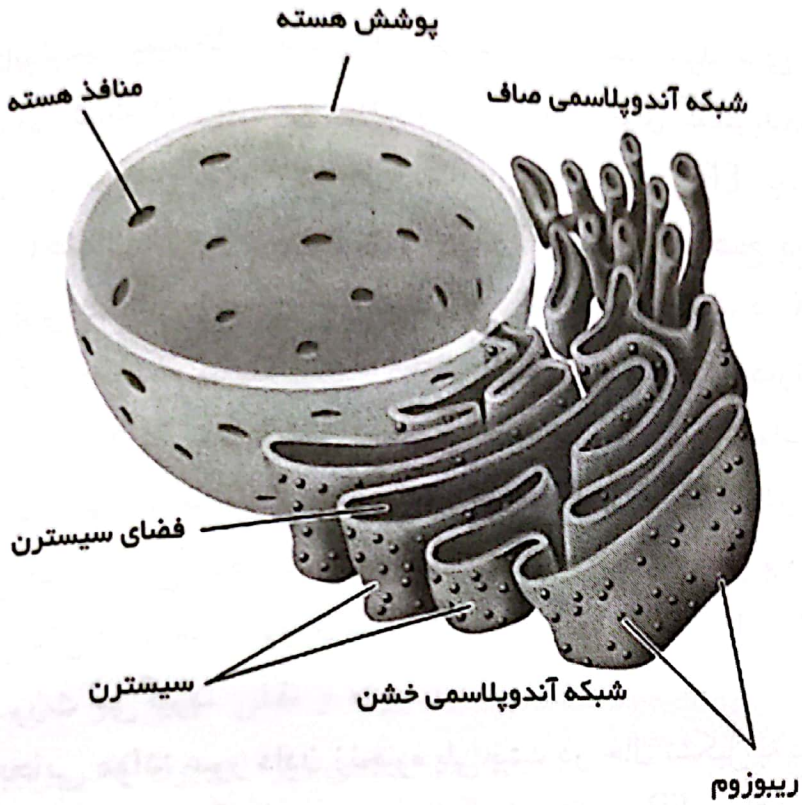
- **شرکت در جابجایی مواد:** عبور دادن زنجیره پلی پپتید در حال تشکیل به درون شبکه، پمپ کلسیم به درون شبکه، عبور دادن گلوکز به درون شبکه از وظایف ER می‌باشد.

عمل سم زدایی: الحاق UDP- گلوکورونیک اسید به متابولیت های سمی آنها را بی‌خطر می کند. سموم ابتدا بوسیله سیتوکروم P 450 کبدی هیدروکسیله می‌شوند که به این ترتیب حلالیت آنها در فاز آبی بالا می‌رود. سپس به منظور دفع در کبد به اسید گلوکورونیک وصل می‌شوند.

تجزیه هموگلوبین خون :شبکه آندوپلاسمی سلول های کبدی در جداسازی گروه هم از هموگلوبین نقش دارد.

غیر اشباع کردن اسیدهای چرب: تبدیل مولکول های آب گریز به مولکول‌های آب دوست، تغییر در استروئیدها و فعال کردن کارسینوژن‌ها از واکنش های اکسیداسیون شبکه آندوپلاسمی است. یکی دیگر از اعمال شبکه آندوپلاسمی ذخیره مواد در شبکه SER می‌باشد.

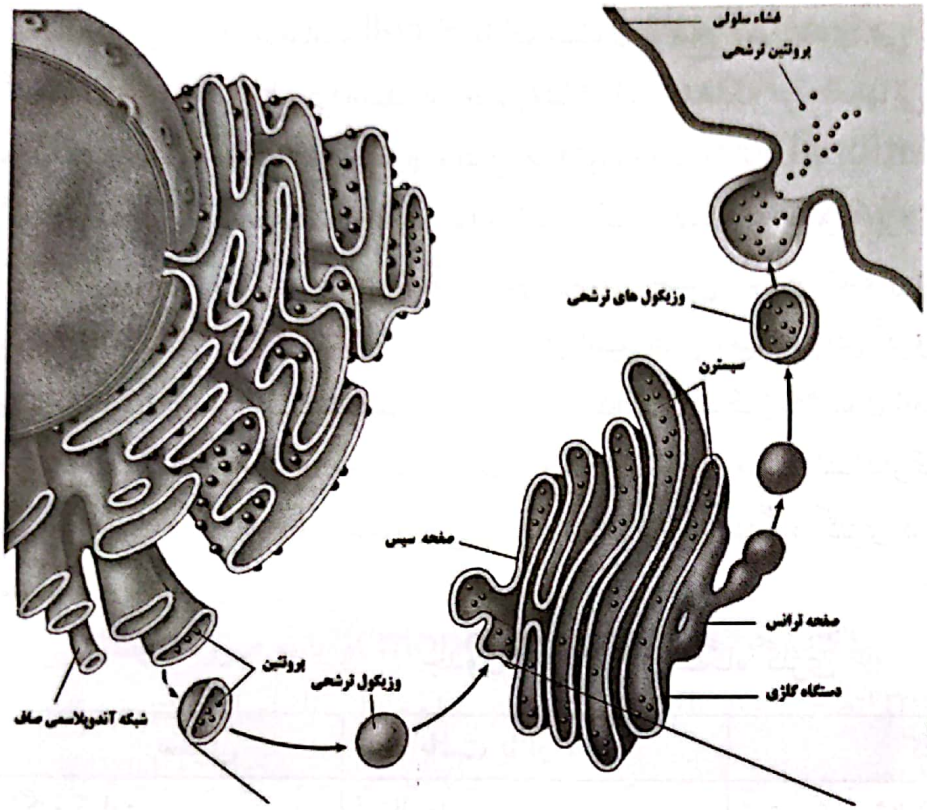
CamScanner



شکل ۲-۱. شبکه آندوپلاسمی خشن و صاف

دستگاه گلژی (Golgi Apparatus) جایگاه پردازش و بسته بندی درشت مولکول هایی مانند پروتئین ها و لیپید ها ست.

این اندامک از کیسه هایی صاف و پهن (Cisternae) تشکیل شده که اغلب بصورت ردیف های موازی در کنار یکدیگر دسته شده اند. به این دسته ها دیکتیوزم (Dictyosome) گفته می شود. در اطراف دستگاه گلژی غالبا وزیکول هایی (Vesicles) با اندازه های مختلف دیده می شوند که بعضی از آنها از کناره های خود دستگاه گلژی جدا شده اند. دستگاه گلژی در سال ۱۸۹۸ توسط کامیلو گلژی برای اولین بار توصیف شد و آن را دستگاه شبکه ای داخلی (Internal Reticular Apparatus) سلول نامید که بعدا به افتخار وی نام آن به دستگاه گلژی تغییر یافت (شکل۳-۱). منشاء درون سلولی دستگاه برای سال ها موضوع بحث برانگیزی بوده است. عموما چهار منبع برای ایجاد این اندامک پیشنهاد می شود که عبارتند از: وزیکول هایی که از شبکه اندوپلاسمی جدا می شوند، وزیکول هایی که از غشاء خارجی پوشش هسته منشاء می گیرند، وزیکول هایی که از بخش های به درون کشیده شده غشاء پلاسمایی تشکیل می گردند وتقسیم دستگاه های گلژی که قبلا در سلول موجود بوده اند. البته نظریه ای که منشاء دستگاه گلژی را شبکه آندوپلاسمی دانسته بیشترمورد قبول محققین می باشد.



شکل ۳-۱ . دستگاه گلژی

دستگاه گلژی اعمال بیوشیمیایی متفاوتی را در سلول انجام می دهد. از جمله:

بسته بندی مواد ترشحی: ونیز پردازش پروتئین هایی که توسط ریبوزوم های متصل به شبکه آندوپلاسمی سنتز می شوند که شامل گلیکوزیلاسیون، فسفریلاسیون، سولفاسیون و پروتئولیز انتخابی است.

سنتز بعضی از پلی ساکاریدها: از جمله گلیکوز آمینو گلیکان ها یا پلی ساکارید های بلند بدون شاخه(Glycosaminoglycans) که در سنتز پروتئوگلیکان ها ی ماتریکس خارج سلولی استفاده می گردند.

تفکیک پروتئین هایی که برای مقاصد و مکان های مختلف سنتز شده اند: در دستگاه گلژی تعدادی مارکر به پروتئین ها اضافه می شود که مقصد نهایی پروتئین را مشخص تر می کند. برای مثال اضافه شدن مانوز ۶- فسفات به پروتئین هایی که مقصدشان لیزوزم است.

تکثیر عناصر جدید غشایی برای غشاء پلاسمایی و پردازش مجدد اجزای غشاء پلاسمایی که در خلال آندوسیتوز به داخل سلول راه می یابند.

انواع گوناگون پروتئین هایی که در شبکه آندوپلاسمی خشن ساخته می شوند از طریق وزیکول های انتقال دهنده به دستگاه گلژی راه یافته و پس از پردازش و دسته بندی به مقصد نهایی خود انتقال می یابند. مکانیزم این پردازش برای سه دسته از پروتئین ها که شامل ترشحی، غشایی و آنزیم های لیزوزمی است به خوبی روشن شده است.

CamScanner

در بعضی از سلول ها مانند B cell ها که مسئول ترشح آنتی بادی می باشند نقش برجسته دستگاه گلژی در ترشح سلولی می باشد. همچنین نشان داده شده که مرحله نهایی تکمیل سنتز گلیکوپروتئین هایعنی پردازش پس از ترجمه پروتئین ها (Posttranslational Processing) دردستگاه گلژی اتفاق می افتد. نشان داده شده است که گلیکوزیلاسیون پروتئین ها (اضافه شدن مواد کربوهیدرات به پروتئین ها)درشبکه آندوپلاسمی خشن شروع شده و در دستگاه گلژی ادامه می یابد. در دستگاه گلژی گلیکوزیلاسیون روی اسید های آمینه دارای گروه هیدروکسیل مانند سرین و تیروزین یا اکسیژن لیپیدها صورت می گیرد که O- گلیکوزیلاسیون نامگذاری می گردد. در واقع دستگاه گـــلژی مانند اداره پست عمل نموده وعامل اصلی نشاندارکردن، دسته بندی و انتقال ماکرومولکول ها در داخل سلول می باشد. اعمال ویژه دستگاه گلژی در جدول ۳-۱ خلاصه شده است.

جدول۳-۱ اعمال دستگاه گلژی

سلول	بافت یا ارگان	کار بخصوص کلژی
اگزوکراین	لوزالمعده	ترشح زیموژن (پروتئازها، لیپازها، کربوهیدرازها و نوکلئازها)
سلول گابلت	بافت پوششی روده	ترشح موکوس و زیموژن
سلول های فولیکل	غده تیروئید	پیش ساز تیروگلوبولین
سلول های پلاسما	خون	ایمونوگلوبولین ها
غدد سمپاتیک، سلولهای شوان	بافت عصبی	واکنش های سولفاسیون
سلول های آندوتلیال	رگ های خونی	واکنش های سولفاسیون
سلول های کبدی	کبد	ترشح لیپید
غدد حبابی	پستان	ترشح پروتئین های شیر
سلول های غده برونر	روده ها	سنتز و ترشح موکوپلی ساکاریدها
قرنیه	چشم پرندگان	ترشح کلاژن

میکروزوم ها (Microsomes) در حالت عادی در سلول وجود ندارند.
هنگامی که بافت ها و سلولها درآزمایشگاه به منظور انجام کارهای تحقیقاتی خرد و شکسته می شوند، میکروزوم ها به صورت وزیکول هایی از شبکه اندوپلاسمی مشتق می گردند. میکروزوم‌ها را به روش سانتریفیوژافتراقی (Differential Centrifugation) می توان جدا نمود.

از میکروزم ها میتوان بعنوان یک مدل اندوپلاسمیک رتیکولوم جهت مطالعه واکنش های بیوشیمیایی این اندامک استفاده کرد. میکروزوم ها به علت وجود سیتوکروم P450 دارای رنگ قهوه ای مایل به قرمز می باشند. از میکروزوم ها جهت مطالعات مسیرهای متابولیسم مولکول های زیستی و داروهایی استفاده میشود که به نظر می رسد واکنش های آنها در شبکه آندوپلاسمیک انجام می پذیرد.

ریبوزوم ها (Ribosome) از پروتئین و rRNA ساخته شده اند .

هر ریبوزوم از دو زیر واحد تشـــکیل شده است زیر واحد بزرگ و زیر واحد کوچک که بوسیله یون های Mg^{2+} به یکدیگر متصل می باشند. RNA و پروتئین هایی خاص اجزای تشکیل دهنده این زیر واحدها هستند. از نظر ساختمانی ریبوزم های یوکاریوتی بزرگتر از انواع پروکاریوتی می باشند. ریبوزوم ها یا به صورت جدا و پراکنده در سیتوزول (monosome)و یا به صورت چند تایی (polysome) که به mRNA اتصال دارند یافت می شوند. ریبوزوم ها محل اصلی سنتز پروتئین می باشند و در سلول هایی که سنتز پروتئین فعال دارند مانند سلولهای کبد و پانکراس فراوان دیده می شوند.

میتوکندری ها(mitochondria) بعنوان نیروگاه سلولی جایگاه اصلی مصرف اکسیژن و تولید ATP هستند.

این اندامک های وزیکولار دارای دو غشاء هستند. یکی غشاء خارجی که یکنواخت بوده و دیگری غشا داخلی که بواسطه تا خوردگیهای زیادی که کریستا (Cristae) نامیده می شوند دارای سطح به مراتب بیشتری می باشند . فضای بین کریستاها را ماتریکس (Matrix) میتوکندری می نامند. ماتریکس میتوکندری مملو از پروتئین ها ، لیپیدها، RNA، DNA، ریبوزوم ها و آنزیم های مختلف می باشد.

میتوکندری ها در فعالیتهای متابولیکی متعددی شرکت دارند. از جمله قسمت هایی از متابولیسم کربوهیدراتها (اکسیداسیون اسید پیرورویک و سیکل کربس (TCA))و لیپیدها که طی آن انرژی تولید می گردد (سنتز ATP).

غشاء خارجی میتوکندری به دلیل وجود پروتئینی به نام پرین ها (Porin) قابلیت تراوایی نسبتا زیادی دارد. پرین هـای میتوکندری در عبـور مولکول های کوچک از غشـاء خـارجـی و تنظیم ATP میتوکندری و تراوش کلسیم در میتوکندری نقش دارند.

در این غشاء آنزیم های منوآمینواکسیداز (Monoamine Oxidase) وتیوکیناز اسید چرب (Fatty acid thiokinase) قرار دارند.

غشاء داخلی تراوایی کمتری داشته و دارای تعداد زیادی چین خوردگی به سمت ماتریکس است. آنزیم های زنجیره انتقال الکترون (زنجیره تنفسی) بر روی این غشاء قرار دارند. لازم به ذکر است که در جریان سوختن موادی مانند کربوهیدرات ها و اسیدهای چرب در سلول ها، تعدادی الکترون از اتم های کربن این مواد برداشته می شوند. این الکترون ها به زنجیره تنفسی راه یافته و در این مسیر بیوشیمیایی نهایتاً به اکسیژن تنفسی منتقل شده و آنرا به آب احیاء می نمایند. از این نقل و انتقال الکترون ها درزنجیره تنفسی انرژی آزاد می گردد. بخشی از این انرژی به صورت انرژی شیمیایی ATP ذخیره شده و بخش دیگر به صورت حرارت دفع می گردد. هر چه فعالیت تنفسی سلول بیشتر باشد تعداد چین خوردگی های غشاء داخلی نیز بیشتر است. اکثر واکنش های انرژی خواه سلولی به وسیله مصرف مستقیم و یا غیر مستقیم ATP انجام می گیرند. این ترکیب پرانرژی با تبدیل شدن به ADP و گاهی AMP انرژی مورد نیازواکنش های انرژی خواه را تامین می نماید. سه راه اصلی تولیدATP ، این منبع حیاتی انرژی شیمیایی در سلول ها عبارتند از:

۱- تولید ATP از طریق فرایند گلیکولیز در سیتوزول سلول ها

۲- تولید ATP در میتوکندری. میتوکندری ها اغلب به عنوان نیروگاه سلولی معرفی می شوند.

۳- تولید ATP در کلروپلاست های گیاهان با استفاده از انرژی خورشیدی در گیاهان.

علاوه بر نقش مهمی که میتوکندری در تامین انرژی شیمیایی به صورتATP به عهده دارد، در کارهای مهم دیگری از قبیل: اکسیداسیون اسید چرب و دیگر لیپیدها، طویل نمودن زنجیره هیدروکربنی اسیدهای چرب، سنتزبرخی پروتئین های میتوکندری (بعضی از زیر واحدهای سیتوکروم ها) وهمچنین سنتز هیم (heme) در سلول های جانوری نقش دارد. نحوه توزیع میتوکندری در سلول ها نیز متفاوت است و عمدتاً در قسمت هایی از سلول که از نظر متابولیکی فعال هستند تراکم بیشتری دارند. ماتریکس و فضای بین غشایی، همچنین غشاء های خارجی و داخلی حاوی آنزیم های گوناگونی می باشند که در جدول ۴-۱ خلاصه شده است.

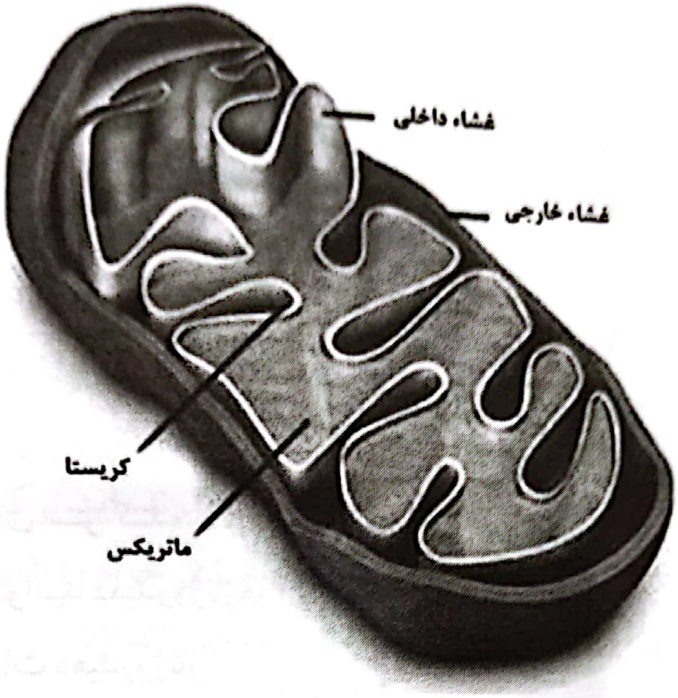
جدول ۴-۱ آنزیم های موجود درمیتوکندری

غشایی خارجی
مونوآمین اکسیداز
تیوکینازهای اسید چرب
فضای بین غشایی
آدنیلات کیناز
نوکلئوزید دی فسفوکیناز
غشاء داخلی
آنزیم های زنجیره تنفسی
آنزیم های سنتز کننده ATP
آلفا- کتواسید دهیدروژنازها
سوکسینات دهیدروژناز
D- بتا هیدروکسی بوتیرات دهیدروژناز
ماتریکس
کمپلکس پیروات دهیدروژناز
سیترات سنتاز
ایزوسیترات دهیدروژناز
مالات دهیدروژناز
گلوتامات دهیدروژناز
آنزیم های مسیر اکسیداسیون اسید چرب

میتوکندری حاوی DNA حلقوی بوده که کدژنتیکی آن با DNA کروموزومی متفاوت است. همانندسازی در DNA میتوکندری جدا از همانندسازیDNA هسته و تقسیم سلول می باشد. DNA موجود در میتوکندری همان نقش DNA هسته ای را در سلول های یوکاریوت ایفا می کند یعنی تولید و سنتز tRNA ، RNA و mRNA اختصاصی برای میتوکندری. ولی سیستم ژنتیکی میتوکندری بدون نیاز به سیستم ژنتیکی هسته نمی تواند عمل نسخه برداری و ترجمه را انجام دهد. حتی بدون دریافت کمک از هسته (آنزیم های مورد نیاز) قادر به همانند سازی نیز نمی باشد.

CamScanner

همچنین میتوکندری های نوساز عمدتا با رشد و تقسیم میتوکندری هایی که قبلا در سلول وجود داشته اند حاصل می گردند. فرایند تقسیم میتوکندری ها طی پرو سه ای شبیه تقسیم دوتایی انجام می پذیرد.



شکل ۴-۱. ساختمان میتوکندری

سلول های پروکاریوت مانند باکتری ها و جلبک های سبز و آبی فاقد میتوکندری می باشند.

آنزیم های لیزوزم ها ومیکروبادی ها (Lysosomes& Microbodies) قادر به هیدرولیز ماکرومولکول ها می باشند.

بسیاری از سلول ها دارای ساختارهای وزیکولی خاصی می باشند که عموما کوچکتر از میتوکندری بوده و لیزوزوم نامیده می شوند. لیزوزم ها به وسیله یک غشاء یک لایه پوشیده شده اند و محتوی انواع مختلفی از آنزیم های هیدرولیتیک بوده که قادر به هضم و تجزیه پروتئین ، اسید نوکلئیک، پلی ساکارید و مواد دیگر می باشند. لیزوزم ها فقط در سلول های حیوانی دیده شده و بر اساس همین قابلیت لیزکنندگی (هیدرولیز پیوندها) نام گذاری شده اند. در جدول ۵-۱ آنزیم های هیدرولاز لیزوزمی که قادر به هیدرولیز سوبستراهائی از قبیل پروتئین ها ، پلی ساکاریدها ، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها هستند معرفی شده اند. هیدرولازهای لیزوزمی در pH اسیدی حداکثر فعالیت خود را دارند و این اسیدیته توسط پروتئین های غشاء لیزوزوم که یون H^+ را به درون آن پمپ می کنند پایدار می ماند. نقائص ارثی در سطح بسیاری از آنزیم های لیزوزم شناخته شده اند که منجر به طیف وسیعی از بیماری های ارثی با عنوان بیماری های لیزوزمی (Lysosomal Diseases) می گردند.

جدول ۵-۱ آنزیمهای هیدرولاز لیزوزومی

آنزیم	سوبسترا
پروتنازها و پپتیدازها	
کاتپسین A, B, C, D و E	پروتئین ها و پپتیدهای گوناگون
کلاژناز	کلاژن
آریل آمیداز	آریل آمیدها
پپتیداز	پپتیدها
نوکلئازها	
اسیدریبونوکلئازو اسید دی اکسی ریبونوکلئاز	DNA،RNA
فسفاتازها	
اسید فسفاتاز	مونواسترهای فسفات
فسفودی استراز	اولیگونوکلئوتیدها، فسفودی استرها
فسفاتیدیک اسید فسفاتاز	فسفاتیدیک اسیدها
آنزیم های اثر کننده بر زنجیره های کربوهیدراتی ،گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدها	
بتا-گالاکتوزیداز	بتا- گالاکتوزیدها
استیل هگزوزآمینیداز	استیل هگزوآمینیدها، سولفات هپارین
بتا-گلوکوزیداز	بتا- گلوکوزیدها
آلفا- گلوکوزیداز	گلیکوژن
آلفا – مانوزیداز	آلفا- مانوزیدها
سیالیداز	مشتقات سیالیک اسید
آنزیم های اثر کننده بر گلیکوز آمینوگلیکان ها	
لیزوزیم	موکوپلی ساکاریدها، دیواره سلولی باکتری‌ها
هیالورونیداز	هیالورونیک اسید، کندروئیتین سولفات
بتا- گلوکورونیداز	پلی ساکاریدها، موکوپلی ساکاریدها
آریل سولفاتاز A و B	آریل سولفات ها، سولفات سربروزید، کندروئیتین سولفات
آنزیم های اثر کننده بر لیپیدها	
فسفولیپازها	لسیتین، فسفاتیدیل اتانول آمین
استراز	استرهای اسید چرب
اسفنگومیلیناز	اسفنگومیلین

مواد خارج سلولی که توسط عمل آندوسیتوز به صورت واکوئل هایی که آندوزم نامیده می شوند به درون سلول راه پیدا می کنند، با یک یا چند لیزوزم اولیه ادغام و پس از هضم مواد موجود در آنها ممکن است بوسیله عمل اگزوسیتوز از سلول دفع گردند. این نوع هضم مواد آندوسیتوز شده را هتروفاژی می گویند. طی فرایند دیگری به نام اتوفاژی، قطعاتی که از اجزاء سلول جدا شده اند، به درون لیزوزم ها راه یافته و هضم می گردند. این فرایند که جزئی از فعالیت های طبیعی سلول محسوب می گردد در بافت هایی که در حال تحلیل و یا بازگشت به حالت اولیه خود می باشند بسیار چشمگیر است برای مثال دگردیسی (Metaphoresis) در حشرات و تغییرات رحم پس از وضع حمل در پستانداران. بعضی از اعمال لیزوزم ها به اختصار در جدول ۶-۱ اشاره شده است.

جدول ۶-۱ اعمال لیزوزوم

۱- لیز و تجزیه ارگانل ها در خلال تمایز سلولی و دگردیسی.
۲- تصفیه قسمت‌های زائد، فرسوده، آسیب دیده و همچنین پروتئین های تغییر ماهیت یافته. برای مثال نابود کردن اریتروسیت های مسن و سلول های مرده و حل کردن لخته های خونی.
۳- دفاع در مقابل باکتری های مهاجم و ویروس ها توسط ماکروفاژهائی که در جریان خون وجود دارند.
۴- کراتینی کردن پوست.
۵- ترشح هیدرولازها توسط اسپرم برای نفوذ به داخل تخمک در خلال عمل لقاح.
۶- هضم زرده در طی رشد جنینی.

امروزه لیزوزم ها به عنوان یک اندامک مستقل شناسایی شده و بر مبنای محتویات آنزیمی آنها مثلاوجود مقادیر زیاد اسید فسفاتاز در آنها شناسایی می شوند. اما پراکسی زم ها، گلی اکسی زم ها و اندامک های وزیکولار دیگری که مربوط به آنها می شوند را جمعا میکروبادی می نامند.

آنزیم های اکسیداتیو نقش مهمی در عملکرد گلی اکسی زوم ها (Glyoxysomes) و پراسکی زوم ها (Peroxisomes) دارند.

این اندامک های کوچک که به تعداد کم در بسیاری از سلول ها وجود دارند بوسیله یک غشاء یک لایه احاطه شده اند. پراکسی زوم ها از نظر ساختمانی شبیه لیزوزوم می باشند. آنزیم های اکسیدانیو که اختصاصا در پراکسی زوم ها وجود دارند آنزیم های تجزیه کننده اسیدهای چرب به خصوص اسید های چرب با زنجیره بلند وشاخه جانبی مانند (Phytanic acid, Pristanic acid) و اسیدهای آمینه می باشند.

لذا از ویژگی های بارز این اندامک تولید پراکسید هیدروژن در آنها می باشد که در صورت تجمع بوسیله یک آنزیم تجزیه کننده H_2O_2 بنام کاتالاز (Catalase) تجزیه می گردد. همچنین این اندامک نقش مهمی در اکسیداسیون بعضی از مواد مانند، فنل، اسید فرمیک و اتانول با استفاده از آب اکسیژنه به عهده دارد (واکنش های زیر). آنزیم های موجود در پراکسی زوم ها بوسیله ریبوزوم ها ی آزاد سنتز گشته و در سیتوزول آزادانه حضور دارند و به آهستگی توسط پراکسی زوم های موجود در سلول گرفته می شوند.

واکنش های اکسیداتیو در پراکسی زوم

تولید آب اکسیژنه : $RH_2 + O_2 \rightarrow R + H_2O_2$

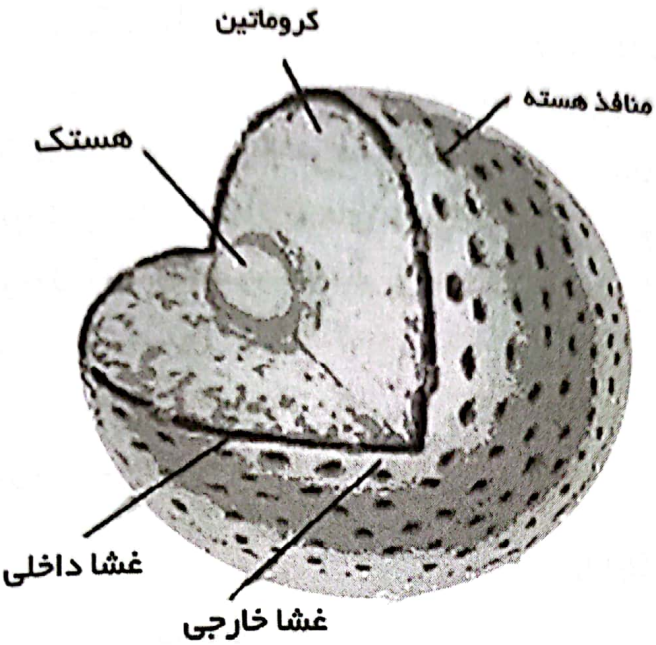
مصرف آب اکسیژنه : $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ و یا $H_2O_2 + R'H_2 \rightarrow R' + 2H_2O$

هسته (Nucleous) حاوی اطلاعات ژنتیکی سلول می باشد.

هسته ساختار درشتی است که غالبا در نزدیک مرکز سلول قرار دارد و محتویات آن بوسیله دو غشاء که بر روی هم پوشش هسته نامیده می شوند از سیتوزول جدا گشته است. در محل های متعددی غشاء خارجی و داخلی برای بوجود آوردن منافذ هسته، در یکدیگر ادغام شده اند.

از طریق این منافذ ، سیتوزول و محتویات هسته با یکدیگر ارتباط دارند. در این نقاط سیتوپلاسم و نوکلئو پلاسم به یکدیگرمتصل اند و ورود و خروج mRNA و پروتئین ها و ریبوزم و غیره از هسته به سیتوزول انجام می گیرد. غشاء خارجی پوشش هسته دارای ریبوزم هایی می باشند که به سطح هیالوپلاسمی آن متصل اند. این غشاء ممکن است با غشاء شبکه آندوپلاسمی نیز اتصال داشته باشد. بین دو غشاء پوشش هسته فضایی وجود دارد که به آن فضای پیش هسته ای (Prenuclear) گفته می شود. این فضا از طریق شبکه آندوپلاسمی می تواند با محیط خارج سلولی ارتباط داشته باشد. غشاء خارجی پوشش هسته، شبکه آندوپلاسمی خشن و غشاء پلاسمایی در بعضی مناطق به یکدیگر پیوسته اند.

هسته حاوی ساختار ژنتیکی سلول (DNA کروموزومی، پروتئین های کروموزومی و غیره) می باشد. در هسته DNA محکم به دور پروتئین های هیستونی پیچیده و کروماتین را به وجود می آورد. در هسته ممکن است اجسام متراکم کوچکی که فاقد غشاء هستند و هستک نامیده می شوند مشاهده گردند. تعداد هستک ها بین یک تا چندین عدد متغیر است. هستک محلی برای سنتز RNA ریبوزومی و همچنین تشکیل ریبوزوم ها می باشد.

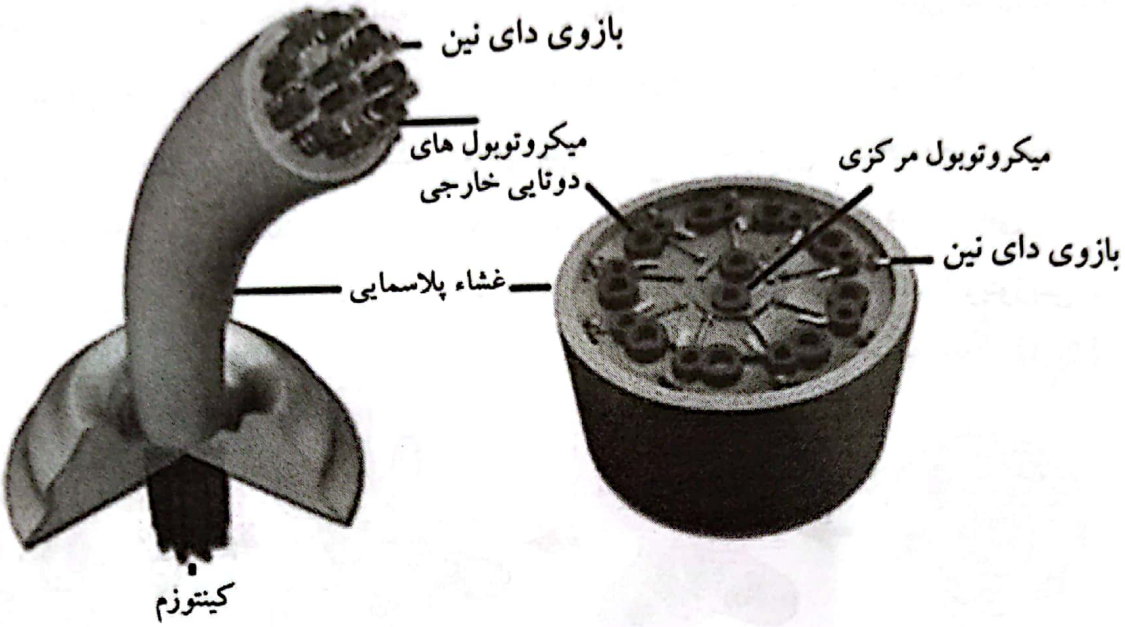


شکل ۵-۱ ساختمان هسته

پروتئین دای نین (Dynein) در اعمال حرکتی تاژک و مژک نقش موثر دارد.

بسیاری از سلول هایی که به صورت آزاد زندگی می کنند دارای زائده های حرکتی می باشند که از سطح سلول به خارج امتداد یافته و به آنها بر حسب مورد تاژک (Flagellum) یا مژک (Cilium) گفته می شود. تاژک ها با ساختار های متفاوت در باکتری ها، آرکیاها و یوکاریوت‌ها مشاهده می شوند. تفاوت تاژک و مژک در تعداد و اندازه آنها می باشد عموما تاژک ها به تعداد کم و با طولی زیاد هستند در صورتی که تعداد مژک ها بسیار زیاد و اندازه آنها کوتاه می باشد. سلول‌های بافت های جانوران پر سلولی نیز ممکن است دارای مژک باشند که در این گونه سلول ها عمل زائده ها حرکت دادن موادی است که با سلول در ارتباط می باشند، نه حرکت خود سلول. برای مثال در انسان، جدار سلول های مجاری تنفسی با مژک پوشیده شده است که با حرکات ضربانی خود موکوس را به منظور راندن به سمت گلو هدایت می کند. هر تاژک و مژک بوسیله غشاء پلاسمایی پوشش داده می شود و درون آن، دسته های میکروتوبولی با ترتیب خاص از پایه ای که جسم بازال یا کینتوزم (Basal body or Kinetosome) نامیده می شود تا انتهای زائده امتداد یافته اند. مژک ها ساختار غالب در یوکاریوت ها می باشند (شکل۶-۱). هرمژک شامل دسته ای از فیبر ها به نام آکسونم (Axoneme) می باشد. هر آکسونم حلقه ای است متشکل از ۹جفت میکروتوبول که در اطراف دومیکروتوبول مرکزی قرار دارند. فیلامنت های میکروتوبول ها شامل دو پروتئین اصلی آلفا و بتا توبولین می باشند.

البته در ساختمان ۱۱ میکروتوبول تعدادی پروتئین اتصالی از جمله دای نین و نکسین (Nexin) نیز وجود دارند.

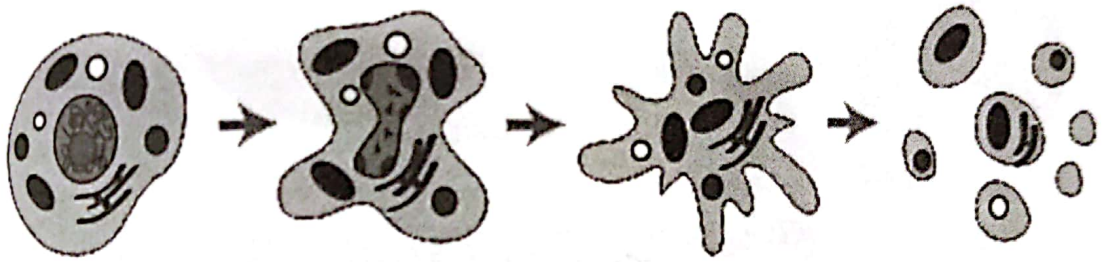


شکل ٦-١ ساختمان مژک

۳-۱ آپوپتوزیس یا مرگ برنامه ریزی شده (Apoptosis)

سلول های بدن کم و بیش در حال ریزش و رویش (Turn over)هستند. فاکتورهای رشد (Growth factors) عواملی هستند که پیام بقاء رشد و تکثیر را به سلول ابلاغ می نمایند. اما عوامل و شرایطی نیز پیام اضمحلال و مرگ را به سلول می رسانند. مرگ برنامه ریزی شده سلول یا آپوپتوزیس به معنی برگ ریزان، از ارکان اصلی حیات می باشد. در این روند با یک برنامه معین، پیکره سلول پاره پاره شده و جذب سلول های ریزه خوار مجاور می گردد. اهمیت زیستی این پدیده در ایجاد توازن مطلوب بین ریزش و رویش سلول ها در یک بافت می باشد. با افزایش آپوپتوزیس ریزش و مرگ سلول ها افزایش یافته و بافت به سمت کوچک شدن و اضمحلال میل می کند. ولی با مهار آپوپتوزیس سلول ها رو به تکثیر و رویش نهاده وبافت رشد می نماید. بنابراین مهار غیر عادی آپوپتوزیس، از جمله می تواند به سرطان منجر گردد. در حالیکه افزایش کنترل نشده آپوپتوزیس می تواند در بروز بیماری های مربوط به تخریب سلول ها ی عصبی مانند آلزایمر و پارکینسون دخالت داشته باشد. اهمیت دیگر پدیده آپوپتوزیس این است که از ورود سلول هایی که دارای کروموزوم های شکسته و معیوب هستند به فاز میتوز جلوگیری نموده، همچنین مانع تکثیر لنفوسیت هایی می شود که بر علیه ملکول های خودی آنتی بادی ترشح می نمایند. بنابراین اختلال در روند آپوپتوزیس، می تواند به بیماری های خود ایمنی منجر گردد.

از دیگر اهمیت های زیستی آپوپتوزیس، نقش آن در توسعه و تکامل جنینی است. سلول هایی که نقش زیستی خود را در دوران جنینی ایفا نموده اند و بایستی محو گردند وارد مسیر آپوپتوزیس شده و حذف می شوند. ناپدید شدن دم در جنین قورباغه و از بین رفتن پرده های بین انگشتان در جنین انسان، نمونه هایی از این دست می باشند.عواملی که پیام ورود به روند آپوپتوزیس را به سلول ابلاغ می نمایند ممکن است از بیرون و یا از درون سلول منشا گرفته باشند. عواملی بیرونی که باعث شروع آپوپتوزیس می شوند شامل برخی پروتیین هایی می گردند که در سلول های ایمنی بیوسنتز می شوند. اما در شرایطی مثلا فقدان فاکتورهای رشد در پیرامون سلول ویا بروز شکستگی در کروموزوم ها، ماشه روند آپوپتوزیس توسط عواملی از درون سلول کشیده می شود.



سلول طبیعی　　متراکم شدن　　پاره پاره شدن　　اجسام آپاتوزی

منابع:

۱- Cell and Molecular biology, 3ed edition, by Philip Sheeler and Donald E. Bianchi, May 2009.

۲- Harper's Biochemistry, 26th edition, R.K.Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes and V.W. Rod well, Appleton &lange, USA,2009.

۳- Molecular and cell biology, 6th edition, by Harvey Lodish et at al. 2008.

۴-Autophagy and apoptosis dysfunction in neurodegenerative disorders Ghavami S, Shojaei S, Yeganeh B, Ande SR, Jangamreddy JR, Mehr-pour M, Christoffersson J, Chaabane W, Moghadam AR, Kashani HH, Hashemi M, Owji AA, Los MJ Prog Neurobiol. 2014 ;112:24-49

تارنما:

http://www.abnova.com/support/resources/Apoptosis.asp

فصل ۲

آب، اسید و باز و سیستم بافری

دکتر معصومه اکملی

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

- ساختمان آب، پیوندهای هیدروژنی و خواص ویژه آب را توضیح دهید.
- اهمیت آب بعنوان حلال ترکیبات را بیان کنید.
- یونیزاسیون آب، ثابت یونیزاسیون آب و حاصلضرب یونی آب را تعریف کنید.
- مفاهیمی مانند pH و pK_a را درک نمایید.
- اهمیت و کاربرد رابطه هندرسن - هاسلباخ را توضیح دهید.
- اسیدها و بازهای ضعیف و بافرهای فیزیولوژیکی را بشناسید.

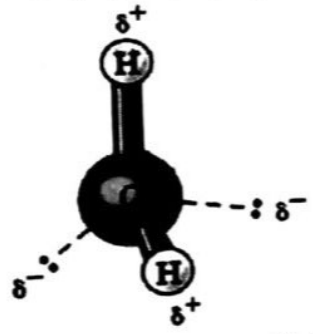
Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

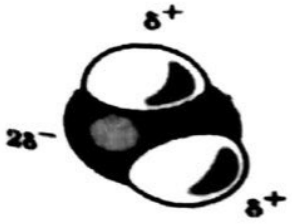
آب بعد از هوا مهم ترین ماده ی مورد نیاز موجودات زنده است و زندگی و سلامت همه ی موجودات زنده اعم از انسان ها، گیاهان و جانوران به وجود آن بستگی دارد . آب که بیش از سه چهارم کره ی زمین را فراگرفته است از فراوانترین ترکیبات در بدن موجودات زنده بوده و بیش از ۷۰ درصد وزن آن را تشکیل می‌دهد. آب محیطی است که در آن کلیه فرایندهای زیستی شامل سوخت و ساز و انتقال مواد صورت می‌گیرد. از آنجا که پیشرفت درست این فرایند ها معمولا به خواص اسیدی و بازی آب وابسته هستند، بنابراین محیط های آبی درموجود ات زنده دارای ترکیباتی هستند (سیستم های بافری) که آن محیط ها را در برابر تغییرات نامناسب اسیدی و بازی مقاوم می نمایند. ماده حیات بخش آب از ترکیب دو عنصر گازی شکل و قابل انفجار یعنی اکسیژن و هیدروژن پدید می آید. پروردگار مهربان در قرآن مجید می فرماید : " و جعلنا من الماء کل شیء حی". در این فصل ابتدا به اختصار ساختمان آب و خواص فیزیکی و شیمیایی آن بررسی می گردد، سپس خواص اسیدی و بازی آب و سیستم های بافری شرح داده می شوند.

۱-۲ آب یک مولکول قطبی دارای خواص ویژه است.

آب مولکول کوچکی با وزن مولکولی ۱۸ می باشد که در درجه حرارت اتاق بصورت مایع است. در صورتیکه موادی مانند NH_3 ، CH_4 و SH_2 که وزن مولکولی کم و در حدود آب دارند، در درجه حرارت اتاق بصورت گاز می باشند. مولکول آب چهار وجهی نامنظمی است که اکسیژن در مرکز آن قرار دارد (شکل ۱-۲). اکسیژن بعلت دارا بودن نیروی الکترونگاتیو می تواند زوج الکترونی را به سمت خود کشیده و دارای بار جزئی(δ یا partial charge) منفی شود و بدین ترتیب هیدروژن ها دارای بار جزئی مثبت شوند. این وضعیت، مولکول آب را بصورت دو قطبی (Dipolar) در می آورد در صورتی که آب، مولکولی بدون بار است (شکل ۲-۲). در مقایسه با حلال های دیگر آب دارای خواص ویژه ای است از جمله اینکه نقطه جوش، نقطه ذوب و گرمای تبخیر بیشتر از حلال های دیگر دارد. خواص ویژه آب به علت توانایی مولکول های آب در تشکیل پیوندهای هیدروژنی با یکدیگر و همچنین یونیزاسیون ناچیز آن می باشد. بدین ترتیب آب بعنوان یک حلال مناسب برای یون ها و بسیاری از مولکول های آلی عمل می نماید.



شکل ۱-۲ ساختمان چهاروجهی مولکول آب



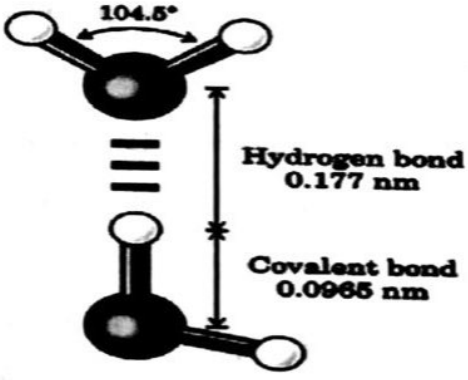
شکل ۲-۲ ساختمان دو قطبی مولکول آب

Scanned by CamScanner

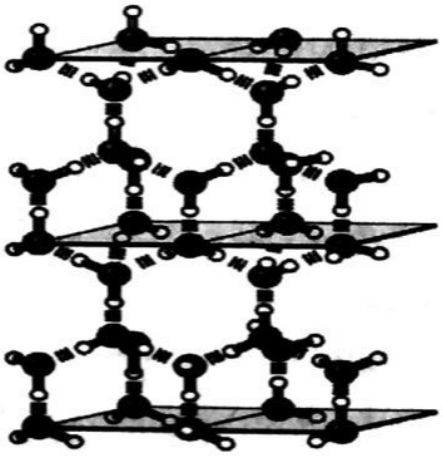
Scanned with CamScanner

۲-۲ پیوند های هیدروژنی درساختمان وخواص آب نقش مهمی دارند.

پیوند هیدروژنی از دسته پیوندهای ضعیف است که بین یک اتم الکترونگاتیو مانند (O و N) و یک اتم هیدروژن که به یک اتم الکترونگاتیو متصل است ایجاد می شود. معمولا اکسیژن یا نیتروژن که دارای زوج الکترونی تنها هستند به عنوان گیرنده هیدروژن (Hydrogen acceptor) و اتم بسیار الکترونگاتیو دارای هیدروژن، بعنوان دهنده هیدروژن (Hydrogen donor) عمل می نمایند. طول پیوند هیدروژنی حدود ۰/۱۸ نانومتر است که از لحاظ اندازه بین پیوندهای کووالانسی و واندروالسی است (شکل۳-۲). هر ملکول آب توانایی تشکیل حداکثر چهار پیوند هیدروژنی با چهار مولکول آب اطراف خود را دارد که ایجاد یک شبکه کریستالی منظم می نماید (ساختمان یخ شکل ۴-۲). در درجه حرارت اتاق و یا گرمای محیط انرژی جنبشی حاصل از حرکت مولکول های آب موجب شکستن تعدادی از پیوندهای هیدروژنی می شود. بطور متوسط هر ملکول آب در حالت مایع با ۳/۴ مولکول آب پیوند هیدروژنی برقرار می کند. در حالت مایع پیوندهای هیدروژنی بین مولکول های آب در حال شکستن و تشکیل مجدد هستند. اگر در محیطی که از مولکول های دو قطبی آب تشکیل شده است، یون های مثبت و منفی وجود داشته باشند (مثل Na و Cl) نیروی جاذبه بین این یون ها کم می شود و کشش بین آب ویون ها برقرار می گردد. بنابراین واکنش های متقابل یونی در محیط های قطبی مانند آب کم است. با این توضیحات آب بعلت دارا بودن خاصیت دو قطبی حلال مناسبی در داخل و خارج سلول در سیستم های بیولوژیک می باشد.



شکل۳-۲ پیوند هیدروژنی



شکل۴-۲ ساختمان یخ

Scanned by CamScanner

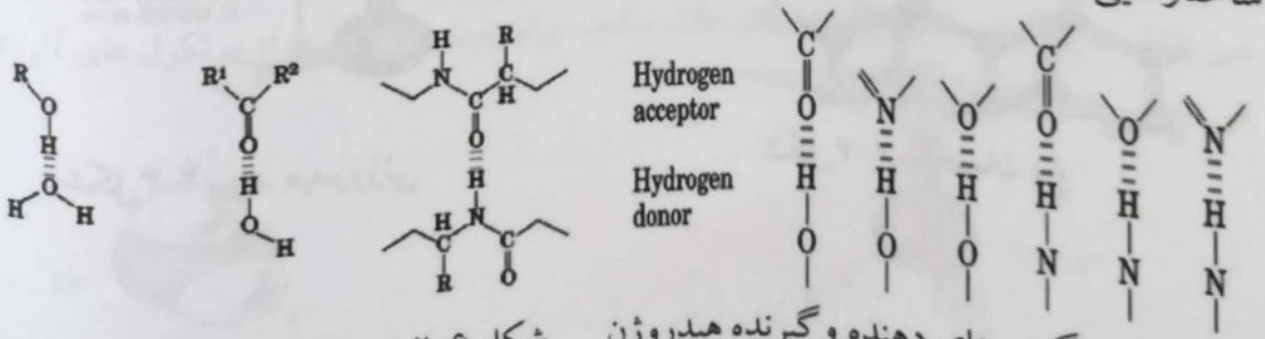
Scanned with CamScanner

۳-۲ آب به عنوان حلال مناسبی برای ترکیبات مختلف شناخته شده است.

قدرت انحلال مواد در آب به تشکیل پیوندهای هیدروژنی با موادی که در آن حل می شوند وهمچنین دوقطبی بودن آب بر می گردد. پیوندهای هیدروژنی فقط مختص آب نیستند. گروه های دهنده و گیرنده هیدروژن در مولکول ها فراوان هستند(شکل۵ - ۲). مولکول هایی که بتوانند به میزان کافی با آب پیوند هیدروژنی تشکیل دهند در آب حل می شوند وبه این مولکول ها آب دوست (Hydrophil) می گـــویند. هر چه تعداد گـــروه های قطبی مانند OH- (الکل ها)، NH_2 - (آمین ها)، - COO - (استرها) و C = O - (کتون ها) در یک ملکول بیشتر باشد، خاصیت هیدروفیل و حلالیت آن در آب بیشتر است. پروتئین ها در ساختمان خود گروه هائی دارند که باهم تشکیل پیوند هیدروژنی داده اند ولی در محیط آبی بعضی از پیوندهای موجود بین گروه های مختلف مولکول های پروتئین شکسته شده و با آب پیوندهای هیدروژنی برقرار می نمایند و در آن حل می شـــوند (شکل ۶-۲). مـــوادی مثل هیدروکـــربن های خـــطی (Aliphatic) و یا حلقوی (Aromatic) قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با آب نیستند و لذا در آب حل نمی شوند. این ترکیبات را آب گریز(Hydrophobe) می نامند.

گازهای غیر قطبی مانند N_2، O_2 و CO_2 در آب حلالیت بسیار کمی دارند، لذا انتقال O_2 و CO_2 در خون نیاز به ملکول های انتقال دهنده دارد. انحلال یون هایی مانند کلراید و سدیم(Na^+ و Cl^-) در آب بعلت ایجاد یون های هیدراته آنها است. مولکول های آب از طرف اکسیژن (دارای بار منفی)، یونهای Na^+ و از طرف هیدروژن (با بار مثبت)، یونهای Cl^- را احاطه می نمایند و بدین ترتیب یون های با بار مخالف را از هم دور نموده و موجب انحلال کلرورسدیم می گردند .

مواد آمفی پاتیک مولکول هایی هستند که در ساختمان خود دارای یک قسمت قطبی (هیدروفیل) و یک قسمت غیرقطبی (هیدروفوب) هستند(مثل اسید های چرب). در محیط های آبی قسمت های قطبی با آب پیوند هیدروژنی برقرار نموده و قسمت های غیر قطبی از آب دور شده و با یکدیگر پیوندهـــای واندروالسی برقـــرار نموده و خود را از آب پنهـــان می نمایند. بدین ترتیب ساختارهایی مانند غشاء دو لایه تشکیل می گردند.



شکل ۵-۲. گروه های دهنده و گیرنده هیدروژن

شکل ۶-۲. نمونه های پیوند هیدروژنی

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

۲-٤ انحلال مواد در آب موجب تغییرات خواص کولیگاتیو(Colligative) آن می شود.

انحلال مواد در محیط های آبی موجب بهم خوردن نظم موجود در ساختمان آب و تغییرات در خواص ویژه آن می گردد. خواص ویژه ای که تحت تأثیر یک عامل تغییر می نماید خواص colligative نامیده می شوند و شامل نقطه انجماد (Freezing point)، نقطه جوش (Boiling point)، فشار بخار(Vapor pressure) وفشار اسمزی(Osmotic pressure) می باشند. در نتیجه حل شدن مواد در آب نقطه انجماد و فشار بخار آب کاهش یافته ولی فشار اسمزی و نقطه جوش آن افزایش می یابد. تغییرات مربوط به خواص کولیگاتیو آب اهمیت بیولوژیکی دارد ازجمله موجب بقاء وادامه حیات موجودات آبزی در نقطه انجماد آب می شود و یا با ایجاد فشار اسمزی در عروق از خروج آب از رگ ها و انسداد عروق جلوگیری می نماید.

۲-۵ مولکول آب بصورت جزئی یونیزه می گردد.

مولکول آب اگرچه پایدار است ولی تا حدودی تمایل به یونیزه شدن دارد و در نتیجه پروتون (H^+) ویون هیدروکسیل(OH^-) تولید می نماید (واکنش زیر).

$$H_2O \leftrightarrow H^+ + OH^-$$

H^+ درواکنش با یک مولکول دیگر آب، بصورت یون هیدرونیوم وجود دارد.

$$H_2O + H_2O \leftrightarrow H_3O^+ + OH^-$$

بنابراین مولکول آب هم مثل یک اسید پروتون می دهد وهم مانند یک باز پروتون می گیرد. واکنش های فوق تعادلی بوده و ثابت تعادل(Keq) واکنش بصورت زیر نوشته می شود.

$$K_{eq} = [H^+][OH^-] / [H_2O]$$

در معادله فوق [H_2O] غلظت مولی آب تجزیه نشده است. بعلت ناچیز بودن یونیزاسیون آب، مقدار آب تجزیه نشده برابر با مقدار آب تام فرض شده و برابر با $\frac{۱۰۰۰}{۱۸}$ یا ۵/ ۵۵ مولار می باشد. رابطه فوق بصورت حاصلضرب یونی آب (Ion product یا K_w) نوشته می شود.

$$K_w = [H^+][OH^-] = K_{eq} \times 55.5 = 1 \times 10^{-14}$$

K_w در محیطهای آبی همیشه ثابت است. یعنی اگر H^+ زیاد شود OH^- کم می شود و یا برعکس. بنابراین با افزودن H^+ یا OH^- به محیط آبی رابطه فوق همچنان برقرار است.

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

در آب خالص و در ۲۵°C از فرمول فوق $[H^+] = [OH^-] = 10^{-7}\ M$ بدست می آید.
K_w وابسته به درجه حرارت است مثلا" در ۳۷°C در محیط آبی رابطه زیر برقرار است.

$$[H^+][OH^-] = 2.5 \times 10^{-14}$$

یعنی $[H^+] = [OH^-] = 1.6 \times 10^{-7}\ M$ است. $[H^+]$ و $[OH^-]$ غلظت های درحالت تعادل هستند. با توجه به مقادیر کم $[H^+]$ و $[OH^-]$ در سیستم های بیولوژیکی از pH استفاده می شود.
طبق تعریف pH عبارت از منفی لگاریتم غلظت H^+ می باشد.

$$pH = -\log[H^+]$$

در مایعات مختلف بدن معمولا" pH درمحدوده ۸ -۶/۵ تغییر می نماید که آنرا محدوده pH فیزیولوژیک می گویند. مثلا pH خون برابر۷/۴ می باشد که به آن pH فیزیو لوژیک می گویند.

۲-۶ اسیدها و بازهای ضعیف بصورت جزیی تفکیک می گردند .

طبق تعریف Bronsted-Lowry اسیدها دهنده پروتون (proton donor) و بازها گیرنده پروتون (proton acceptor) هستند. اسیدهای قوی به آنیون های مربوطه و پروتون تفکیک می گردند. مثلا اسید کلریدریک در غلظت های کم بطور کامل تجزیه می گردد و تولید H^+ و Cl^- می نماید، لذا غلظت $[H^+]$ برابر غلظت HCl فرض می شود.

بازهای قوی بازهایی هستند که در غلظت های کم بطور کامل در محیط آبی تفکیک می شوند و تولید OH^- می نمایند. OH^- قویترین گیرنده پروتون است که در واکنش با H^+ تولید آب می نماید.
در سیستم های بیولوژیک معمولا" با اسیدها و بازهای قوی مواجه نمی شویم. در مایعات بدن (داخل و خارج سلولی) اسیدها و بازهای ضعیف وجود دارند که بصورت جزیی تفکیک می شوند. بنابراین واکنش تفکیک یک اسید ضعیف بصورت واکنش تعادلی زیراست.

$$HA \leftrightarrow H^+ + A^-$$

در واکنش فوق ضریب ثابت تعادل (Equilibrium constant) یا (Dissociation constant) به صورت K_a نشان داده می شود.

$$K_a = [H^+][A^-] / [HA]$$

در معادله فوق [HA] غلظت اسید مزدوج و $[A^-]$ غلظت باز مزدوج است. با اسیدهای ضعیف دیگری هم بصورت HA^+ یا HA^- ممکن است برخورد کنیم که واکنش های تفکیک یونی آنها بصورت زیر می باشد .

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

$$HA^{+} \leftrightarrow H^{+} + A$$

$$HA^{-} \leftrightarrow H^{+} + A^{2-}$$

هرچه K_a بزرگتر باشد اسید قویتر است و H^+ بیشتری تولید می کند. برای نشان دادن قدرت اسیدی از رابطه زیر استفاده می شود.

$$pK_a = - \log K_a$$

هرچه K_a عدد بزرگتری باشد pk_a عدد کوچکتری است که نمایانگر تمایل بیشتربرای از دست دادن پروتون وقدرت اسیدی بیشتر است.

۲-۷ معادله هندرسن ها سلباخ (Henderson-Hasselbalch) برای تعیین pH بافرها (تامپون ها) بکار می رود.

برای محاسبه pH یک اسید ضعیف می توان معادله واکنش تجزیه یک اسید ضعیف را به صورت زیر نشان داد .

$$HA \longleftrightarrow H^{+} + A^{-}$$

اگر $K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$ باشد در این معادله [$\bar{A}$] غلظت باز مزدوج (conjugate base) و [HA] غلظت اسید تجزیه نشده یا اسید مزدوج (conjugate acid) می باشد. اگر از دو طرف معادله لگاریتم گرفته شود رابطه زیر بدست می آید.

$$\log K_a = \log([H^+] \times [A^-]/[HA])$$

و پس از آن

$$\log K_a = \log[H^+] + \log[A^-]/[HA]$$

اگر جای $\log [H^+]$ و $\log K_a$ عوض شود معادلات زیر بدست می آید.

$$-\log [H^+] = - \log K_a + \log[A^-]/[HA]$$

یا

$$pH = pK_a + \log[A^-]/[HA]$$

معادله فوق معادله هندرسن هاسلباخ نامیده می شود که در مورد محلول اسیدهای ضعیف و نمک آنها (بافرها یا تامپون ها) کاربرد وسیعی دارد.

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

چند مثال:

الف- اسید فرمیک:

$$HCOOH \longleftrightarrow H^+ + HCOO^-$$

$pK_a=3.75$ و $pH = 3.75 + \log [HCOO^-] / [HCOOH]$

ب - یون آمونیوم :

$$NH_4^+ \leftrightarrow H^+ + NH_3$$

$pK_a=9.25$ و $pH = 9.25 + \log [NH_3] / [NH_4^+]$

بنابراین pH یک اسید ضعیف مشخص فقط بستگی به نسبت(اسید مزدوج/ باز مزدوج) دارد چون pk_a عدد ثابتی است.

با استفاده ازمعادله هندرسن- هاسلباخ می توان منحنی تیتراسیون یک اسید ضعیف را رسم کرده و تفسیر نمود. یعنی اگر مقادیرحجمی مشخصی از یک باز قوی به حجم معینی از یک اسید ضعیف با غلظت معین اضافه شود و بعد از هربار افزودن pH اندازه گیری شود می توان یک منحنی موسوم به منحنی تیتراسیون را براساس مقادیر pH در مقابل تعداد اکی‌والان باز افزوده شده ترسیم نمود (شکل۷-۲) .

یک اکی والان اسید یا باز برابر وزنی از اسید یا باز است که به ترتیب بتواند یک مول H^+ (یک گرم H^+) ویا یک مول OH^- (۱۷ گرم OH^-) تولید نماید.

ج- اسید استیک:

$$CH_3COOH \leftrightarrow H^+ + CH_3COO^-$$

(ثابت یونیزاسیون) $$K_a=\frac{[H^+]\,[CH3COO^-]}{[CH3COOH]}$$

مثلا اگر ۱۰۰ میلی لیتر اسید استیک ۱M را در یک بشر بریزیم، جهت خنثی کردن کامل آن می‌توان ۱۰۰میلی لیتر NaOH یک مولار را در یک بورت ریخته و قطره قطره به اسید اضافه نمود. مقادیر pH را پس از افزودن حجم های معین سود بدست آورده و سپس منحنی تیتراسیون را بر اساس مقادیر pH (محورyها) در مقابل مقادیر اکی والان سود (محورxها) رسم نمود. جهت رسم منحنی ابتدا pH محلول اسید استیک ۱M قبل از افزودن سود محاسبه می گردد. pk_a اسید استیک برابر۴/۷۶ است بنابراین :

$$k_a = 10^{-4.76} = 10^{0.24} \times 10^{-5} = 1.74 \times 10^{-5}$$

یـا در صورتیکه از 4.76 آنتـی لگاریتـم گـرفته شود مقدار $k_a= 1.74 \times 10^{-5}$ بدست می آید.

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

از روی K_a و با استفاده از معادله تفکیک اسید ضعیف غلظت H^+ محاسبه می گردد.

$$ka = 1.74 \times 10^{-5} = [H^+]\,[CH_3COO^-] / [CH_3COOH]$$

به علت یونیزاسیون ناچیز اسید ضعیف غلظت اسید تجزیه نشده معادل ۱ مولار در نظر گرفته می شود لذا :

$$[H^+] = [CH_3COO^-] = (1.74 \times 10^{-5})^{1/2}$$

$$[H^+] = 4.17 \times 10^{-3} \quad \text{یا}$$

$$pH = -\log [H^+] = -\log 4.17 \times 10^{-3} = 2.38 \quad \text{پس}$$

قبل از اضافه کردن سود pH=۲/۳۸ است اما هنگامی که NaOH اضافه می شود یونهای OH^- با H^+ واکنش می دهند وتولید آب می نماید، لذا نسبت [CH3COO⁻] / [CH3COOH] افزایش می یابد وطبق معادله هندرسون- هاسلباخ، pH نیز زیاد می شود. با افزودن مقادیربیشترسود pH بافر نیز زیادتر می شود. در وسط منحنی (mid point) پس از افزودن نیم اکی والان سود، ۵۰ درصد اسید تجزیه شده است و نسبت [CH3COO⁻] /[CH3COOH] برابر یک اســـــت یعنی غلظت اسید و باز مزدوج برابر است. در این نقطه براساس معادله هندرسون- هاسلباخ pH برابر pK_a می باشد.

$$pH = pK_a + \log [CH_3COO^-] / [CH_3COOH]$$

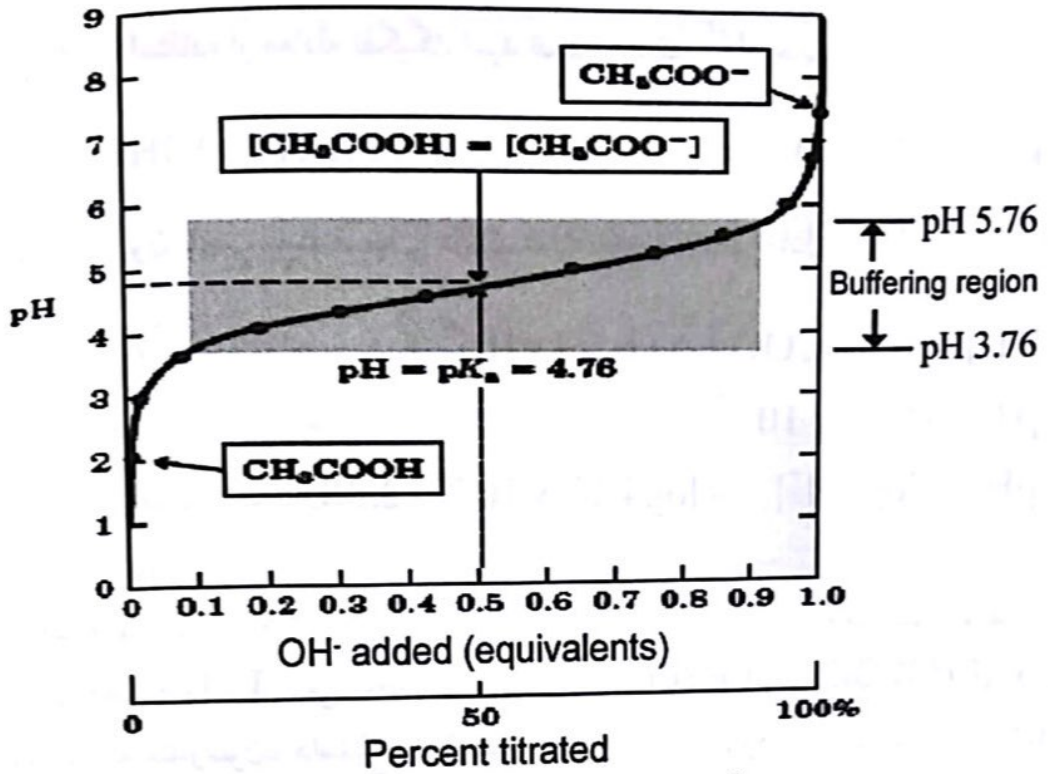
$$pH = pK_a + \log 1$$

$$pH = 4\ 76 + 0 \qquad \text{بنابراین} \qquad pH = pK_a = 4\ 76$$

یعنی در $pK_a = pH$ غلظت اسید و باز مزدوج برابر است. بعد از اضافه کردن ۰/۵ اکی والان دیگر سود، تمامی ملکول های اسید استیک خنثی شده شکل اصلی مولکول آنیون $CH3COO^-$ است. از منحنی تیتراسیون می توان pk_a یک اسید ضعیف را محاسبه نمود. اگر به شکل منحنی توجه شود دیده می شود که در ابتدا و انتهای منحنی تغییرات pH دربرابر اضافه کردن حجم معینی از سود زیاد است ولی در نزدیک pk تغییرات pH کمتر است و حداقل تغییرات pH در pK_a می باشد. به عبارتی در محدوده pH های نزدیک به pK_a به ازاء اضافه کردن اسید یا باز مقاومت در مقابل تغییرات pH دیده می شود. این محدوده را محدوده بافری می گویند که معادل $pK_a \pm 1$ است و بیشترین مقاومت در $pH = pK_a$ مشاهده می گردد. این مطلب در بحث مربوط به بافرها بیشتر توضیح داده خواهد شد.

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner



شکل ۷-۲. منحنی تیتراسیون اسید استیک

۸-۲ بافرها (تامپون ها) درتنظیم pH مایعات بیولوژیک نقش دارند.

مخلوط اسیدهای ضعیف و نمک های آنها یا بازهای ضعیف و نمک های آنها سیستم های بافری (Buffers) را تشکیل می دهند. pH محلول های بافری در اثر اضافه کردن اسید و یا باز تغییرات قابل ملاحظه ای نمی کند.

رابطه هندرسن - هاسلباخ کاربرد زیادی جهت تهیه محلول های بافری و یا محاسبه pH آن ها دارد. مکانیسم عمل بافرها در مقابل تغییرات pH بدین صورت است که با اضافه شدن اسید قوی (H^+)، باز مزدوج با آن ترکیب شده و تولید اسید ضعیف (HA) می نماید و درصورتی که باز قوی (OH^-) اضافه گردد با اسید ضعیف ترکیب و تولید باز ضعیف (A^-) می نماید.

با توجه به اینکه تغییرات pH با زندگی سلول سازگار نیست بنابراین بافرهای فیزیولوژیک موجود هستند که در تنظیم pH مایعات و یا بافت های جانداران نقش دارند. از بافرها برای کنترل pH محیط کشت میکروارگانیسم ها و یا تنظیم pH بسیاری از واکنش ها در لوله آزمایش نیز استفاده می شود.

برای انتخاب بافر مناسب باید به مقدار pK اسید ضعیف توجه نمود. مناسب ترین بافر، بافری است که pk اسید ضعیف آن به pH مورد نظر نزدیکتر باشد. حداکثر مقاومت بافری در pH=pKa است. مثلا برای کار کردن در pH = ۵ می توان از بافر استات (pK = ۴/۷۶) استفاده نمود.

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

بافرهای مهم فیزیولوژیکی بدن عبارتند از:

۱- بافر فسفات: اسید فسفریک(H_3PO4) براساس واکنش های زیر تجزیه می شود. لذا دارای سه pK می باشد.

$$H_3PO_4 \overset{pK_1}{\leftrightarrow} H_2PO_4^- + H^+ \overset{pK_2}{\leftrightarrow} HPO_4^{2-} + H^+ \overset{pK_3}{\leftrightarrow} PO_4^{3-} + H^+$$

$H_2PO_4^- \leftrightarrow HPO_4^{2-} + H^+$ فرم بافری فسفات درسیستم های فیزیولوژیک مربوط به می باشد که دارای pK_a = ۶/۸۶ است و نقش اساسی در تنظیم pH در داخل سلول (intracellular) دارد.

۲- بافر بی کربنات: (H_2CO_3, HCO_3^-) براساس واکنش زیر نقش اساسی در تنظیم pH پلا سما (extracellular) دارد.

$$CO_2 + H_2O \leftrightarrow H_2CO_3 \overset{pK_1}{\leftrightarrow} H^+ + HCO_3^- \overset{pK_2}{\leftrightarrow} H^+ + CO_3^{2-}$$

انحلال گاز CO_2 در خو ن ایجاد اسید کربنیک (H_2CO_3, pK_1=۶/۱) نموده که در اثر تفکیک، H^+ و HCO_3^- تولید می کند. در شرایط فیزیولوژیک غلظت بیکربنات و اسید کربنیک در خون بترتیب ۲۵ و ۱/۲۵ میلی مولار بوده و نسبت $[HCO_3^-] / [H_2CO_3]$ برابر ۲۰ است، لذا pH خون در محدوده ۷/۴ حفظ می گردد. pH خون بر اساس روابط ذیل بدست می آید.

$$pH = pK_1 + \log HCO_3^- / H_2CO_3$$

$$pH = 6.1 + \log \frac{25}{1.25} \qquad pH = 6.1 + \log 20 = 6.1 + 1.3 = 7.4$$

۳- پروتئین ها: علاوه بر بافرهای فسفات و بیکربنات پروتئین ها نیزدر تنظیم pH داخل و خارج سلولی نقش دارند. نقش بافری پروتئین ها بعلت وجود گروه های قابل تفکیک با pK_a های مشخص (مربوط به اسیدهای آمینه سازنده) می باشد.

۴- بافر آمونیاک: با pk_a= ۹/۲۵ براساس واکنش زیر در تنظیم pH ادرار نقش دارد.

$$NH_4^+ \leftrightarrow NH_3 + H^+$$

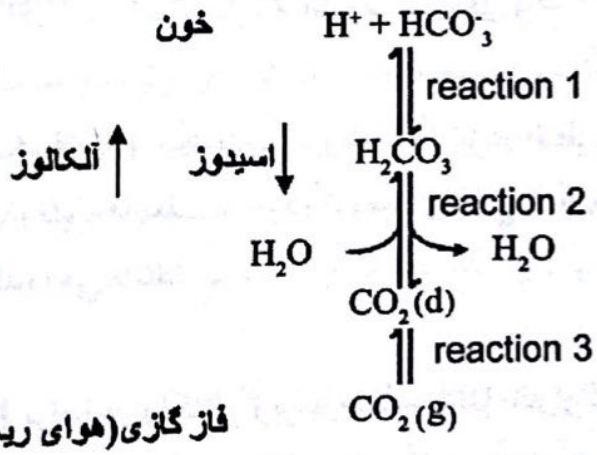
Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

pH طبیعی خون برابر با ۷/۴ می باشد و محدوده تغییرات آن ۷/۴۵-۷/۳۵ می باشد. کاهش pH خون کمتر از ۷/۳۵ اسیدوز و افزایش آن بیشتر ا ز ۷/۴۵ آلکالوز نامیده می شود. بدن به کمک عوامل تنظیم کننده شیمیایی مانند بافر بیکربنات، عملکرد کلیه ها (از طریق تغییر در باز جذب بیکربنات و یا دفع اسید) وعمل ریه ها (از طریق افزایش و یا کاهش دفع CO_2) در مقابل تغییرات pH مقاومت می کند (حاشیه ۱-۲).

حاشیه ۱ -۲ بافر بیکربنات و سیستم ریوی در تنظیم pH خون نقش دارند

در حیوانات ریه ها و بافر بیکربنات نقش مهمی در تنظیم pH خون دارند. H_2CO_3 موجود در پلاسمای خون بر اساس واکنش های شکل زیر با گاز CO_2 در کیسه های هوایی و HCO_3^- خون در تعادل می باشد. در شرایط فعالیت شدید عضلانی یا به هر علت که تولید H^+ زیاد شود (اسیدوز)، H^+ با بیکربنات خون ترکیب شده و منجر به تولید و افزایش اسید کربنیک پلاسما می گردد. در نتیجه جهت تعادل واکنش ها به نحوی پیش می رود که منجر به افزایش تبدیل بیکربنات خون به CO_2 خون و افزایش دفع CO_2 از ریه ها گردد. این عمل از طریق افزایش سرعت تنفس انجام شده و در نتیجه سیستم ریوی با دفع گاز CO_2 از اسیدی شدن pH خون جلوگیری می نماید. عکس این حالت در شرایط افزایش pH خون (آلکالوز) اتفاق می افتد. در این حالت جهت مقابله با افزایش pH واکنش های تعادلی در جهتی پیش می روند که منجر به افزایش تبدیل CO_2 خون به اسید کربنیک گردند. این عمل از طریق کاهش سرعت تنفس و انحلال CO_2 در خون انجام شده و در نتیجه CO_2 بیشتری در خون به اسید کربنیک تبدیل می گردد.



سیستم بافری بی کربنات خون

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

سئوالات چند گزینه ای:

۱- کدامیک از گزینه های زیر سیستم بافری اصلی خون را تشکیل می دهد؟

الف $HCO_3^- + CO_3^{2-}$

ب $H_2PO_4^- + HPO_4^{2-}$

ج $H_2CO_3 + HCO_3^-$

د $NH_4^+ + NH_3$

ه $CH_3COOH + CH_3COO^-$

۲- در صورتیکه pK اسید استیک مساوی ۴/۶ باشد pH محلولی که دارای یک مول استات سدیم و ۰/۱ مول اسید استیک است برابر است با :

الف ۴/۶

ب ۵/۶

ج ۳/۶

د ۶/۶

۳- با استفاده از کدامیک از روابط زیر pH یک محلول بافری رامیتوان بدست آورد؟

الف $pH= pK + \log [HA]/[A^-]$

ب $pK =pH+\log[A^-]/[HA]$

ج $pH =pK+\log[A^-]/[HA]$

د $pH=pK -\log[A^-]/[HA]$

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

مسائل :

۱- pH محلول های زیر را با توجه به $[H^+]$ در آنها محاسبه کنید:

1) $[H^+] = 0.00456$

$pH = -\log (4.56 \times 10^{-3})$

$= -(\log 4.56 + \log 10^{-3})$

$= -(0.659 - 3)$

$pH = -0.659 + 3 = 2.34$

2) $[H^+] = 10^{-4}$ M HCl $\longrightarrow$ $pH = 4$

3) $[H^+] = 2m$ M HCl $\longrightarrow$ $pH = 2.7$

۲- $[H^+]$ را در محلول های زیر با pH های داده شده حساب کنید.

1) $pH = 5.3$

$\log [H^+] = -5.3$ $\quad -\log [H^+] = pH = 5.3$

$[H^+] = 10^{-5.3} = 10^{0.7} \times 10^{-6} = 5.01 \times 10^{-6}$

2) $pH = 7.4 \longrightarrow [H^+] = 3.98 \times 10^{-8}$

3) $pH = 6.6 \longrightarrow [H^+] = 2.5 \times 10^{-7}$

4) $pH = 1.5 \longrightarrow [H^+] = 3.2 \times 10^{-2}$

۳- pH و $[H^+]$ محلول ۰/۰۰۲M اسید نیتریک را حساب کنید.

$[H^+] = 0.002 = 2 \times 10^{-3}$

$pH = -\log [H^+] = -\log (2 \times 10^{-3}) = -(\log 2 + \log 10^{-3}) = -0.3 + 3 = 2.7$

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

۴- pH و $[H^+]$ محلول هیدروکسید پتاسیم ۰/۰۰۴M را حساب کنید.

$pOH = -\log (4 \times 10^{-3}) = -(\log 4 + \log 10^{-3}) = -0.6 + 3 = 2.4$

$pH + pOH = 14$, $pH = 14 - 2.4 = 11.6$ $[H^+] = 10^{-12} \times 10^{0.4} = 2.5 \times 10^{-12}$ M

۵- $[H^+]$ و pH محلول ۳×۱۰^{-۴} M اسید سولفوریک را حساب کنید.

چون اسید سولفوریک دو پروتون دارد. $[H^+] = 2 \times 3 \times 10^{-4} = 6 \times 10^{-4}$

$pH = -\log (6 \times 10^{-4}) = -\log 6 - \log 10^{-4} = -0.78 + 4 = 3.2$

۶- pH یک لیتر محلولی که دارای یک مول استات سدیم و ۰/۱ مول اسید استیک است را حساب کنید. pK = ۴/۶ را برای اسید استیک منظور نمائید.

$pH = pK + \log [salt]/[Acid]$

$pH = 4.6 + \log 1/0.1$

$pH = 4.6 + \log 10 = 4.6 + 1 = 5.6$

۷- برای ساختن یک لیتر محلول ۰/۱ مولار بافر استات با pH = ۵ چند مول استات سدیم و چند مول اسید استیک لازم است. برای اسید استیک pK=۴/۶ است.

$pH = pK + \log [salt] / [Acid]$

$5 = 4.6 + \log [salt]/[Acid]$

$\log[salt]/[Acid] = 0.4$

$\text{Antilog } 0.4 = 2.5$

چون غلظت بافر ۰/۱ مولار می باشد بنابراین $[Salt]+[Acid] = ۰/۱$ است. از طرفی $[Salt]/[Acid] = ۲/۵$ و یا $[Salt] = ۲/۵ [Acid]$ در نتیجه $[Acid]+[Acid] = ۰/۱$ $[Acid] = 0.1/3.5 = .029$ و تعداد مول ۲/۵ می باشد. بنابراین تعداد مول $[Salt] = ۰/۱ - 0.029 = ۰/۰۷۱$ است.

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

۸- ۴۹ml از یک محلول دارای ۱meq (یک میلی اکی والان گرم) استات سدیم و ۱meq (یک میلی اکی والان گرم) اسید استیک است. pH محلول را حساب کنید. pK = ۴/۶ را برای اسید استیک منظور نمائید.

$$pH = pK_a + \log [S]/[A] = 4.6$$

چون [S] و [A] با هم مساویند پس:

$$\log [S]/[A] = \log 1/1 = 0$$

$$pH = pK_a = 4.6$$

Scanned by CamScanner

Scanned with CamScanner

فصل ۳

اسیدهای آمینه و پروتئین ها

دکترمعصومه اکملی

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

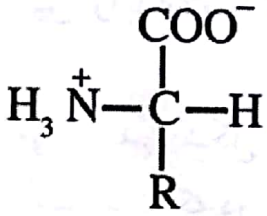
- ساختمان شیمیایی اسیدهای آمینه را بشناسید.
- انواع اسیدهای آمینه قطبی وغیرقطبی، گوگرددار، شاخه دار، آروماتیک، اسیدی و بازی را بشناسید.
- pH ایزوالکتریک را تعریف کنید.
- pH ایزوالکتریک اسیدهای آمینه را محاسبه کنید.
- پیوند پپتیدی را تعریف کنید و ماهیت آن را بشناسید.
- ساختمان اول یک پروتئین را تعریف کنید.
- ساختمان های فضایی پروتئین شامل ساختمان دوم و انواع آن، ساختمان سوم و ساختمان چهارم را تعریف کنید.
- نیروهایی را که باعث حفظ و نگهداری ساختمان های فضایی پروتئین می شوند بشناسید.
- اهمیت بالینی ساختمان پروتئین ها را بشناسید.
- ساختار و اهمیت بالینی برخی از پروتئین های ساختمانی مانند کلاژن، الاستین و کراتین را بدانید.
- ساختمان فضایی هموگلوبین و میوگلوبین را به اختصار بشناسید.

Scanned by CamScanner

پروتئین ها فراوان ترین ماکرومولکول های بیولوژیکی هستند که درتمام سلول ها و اجزاء سلولی یافت می شوند. واحد ساختمانی پروتئین ها اسیدهای آمینه می باشند که از طریق اتصال کووالانتی به یکدیگر متصل هستند. پروتئین ها دارای تنوع زیادی می باشند. انواع مختلف پروتئین ها با اندازه‌های متفاوت از پپتیدهای نسبتا کوچک تا پلیمرهای بزرگ ممکن است در یک سلول وجود داشته باشند. نام پروتئین ها از کلمه یونانی proteus به معنی اولین یا جلوترین گرفته شده است. تمام پروتئین ها، شامل پروتئین های موجود در باکتری ها تا پیچیده ترین اشکال حیات از ۲۰ نوع اسید آمینه ساخته شده اند. قبل از پرداختن به ساختمان و نقش پروتئین ها ابتدا ساختمان اسیدهای آمینه و انواع آنها بررسی می شود.

۱-۳- اسیدهای آمینه دارای ویژگی های ساختمانی مشترک هستند .

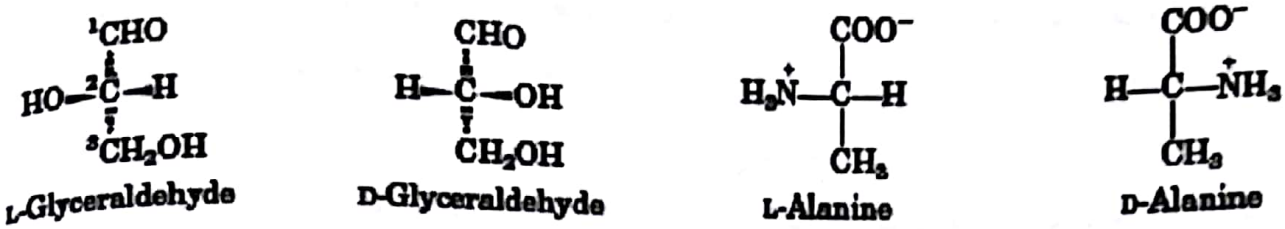
اسیدهای آمینه موجود در ساختمان پروتئین ها از نوع آلفا- آمینو اسید هستند. اسیدهای آمینه حداقل دارای یک گروه کربوکسیل (-COOH) و یک گروه آمینی ($-NH_2$) هستند. یعنی دارای یک عامل آمین متصل به کربن آلفا (α) می باشند. اولین کربن متصل به عامل کربوکسیل کربن آلفا نام دارد. همچنین یک اتم H و یک زنجیره جانبی (R) به کربن آلفا متصل می باشند (شکل ۱-۳). ساختمان زنجیره جانبی در اسیدهای آمینه مختلف متفاوت است.



شکل ۱-۳. ساختمان عمومی یک اسید آمینه

گروه α-COOH در اسیدها ی آمینه مختلف دارای pKa کمتر از ۷ (حدود ۲) و گروه $\alpha-NH_3^+$ دارای pK_a بیشتر از ۷ (بین۱۰-۹) می باشند. لذا در pH فیزیولوژیک گروه -COOH بصورت COO^- و گروه آمینی بصورت NH_3^+ وجود دارند. بنابراین در pH های نزدیک به خنثی اسیدهای آمینه دارای هر دو بار مثبت و منفی بوده و بصورت یون دوگانه یا زویتریون (Zwitterion) در می آیند. زویتریون ها یون هایی هستند که دارای بار مثبت و منفی برابر می باشند. تمام اسیدهای آمینه آلفا بجز گلیسین (Glycine) حداقل یک کربن نامتقارن (Chiral center) دارند و مانند گلیسرآلدئید به فرم های D و L وجود دارند(شکل ۲ - ۳) که تصویر آینه ای یکدیگر می باشند (به بخش۲-۴ مبحث کربوهیدرات ها مراجعه شود).

Scanned by CamScanner



شکل ۲-۳. ایزومرهای فضایی در آلفا - آمینواسیدها

اسیدهای آمینه در ساختمان پروتئین های طبیعی به فرم L هستند. یعنی گروه آمینی مانند گروه OH- در L - گلیسر آلدئید در سمت چپ قرار دارد. بنابراین اسیدهای آمینه به استثنای گلیسین دارای ایزومرهای نوری هستند. در اسید آمینه گلیسین زنجیره جانبی یک اتم H است.

۲-۳ اسیدهای آمینه براساس زنجیره جانبی دسته بندی می شوند.

تفاوت اسیدهای آمینه براساس ساختمان زنجیره جانبی می باشد. این تفاوت از نظر ساختمان، اندازه، بار الکتریکی و حلالیت در آب می باشد. در کتاب های مختلف اسیدهای آمینه با روش های مختلف دسته بندی شده اند. در یک نوع دسته بندی که در جدول ۱-۳ آمده است اسیدهای آمینه به ۵ گروه تقسیم می شوند. اسیدهای آمینه با علائم اختصاری سه حرفی (سه حرف اول اسم) و یا یک حرفی نشان داده می شوند. مثلا آلانین را با علامت Ala و یا A مشخص می نمایند.

گروه اول : شامل ۷ اسید آمینه زیر می باشند. (شکل ۳-۳)

۱- گلیسین (Gly) کوچک ترین اسید آمینه است که در آن R یک اتم H است .

۲- آلانین (Ala) همولوگ Gly است که یک CH_2 بیشتراز آن دارد.

۳- والین (Val)

۴- لوسین (Leu)

۵- ایزولوسین (Ile)

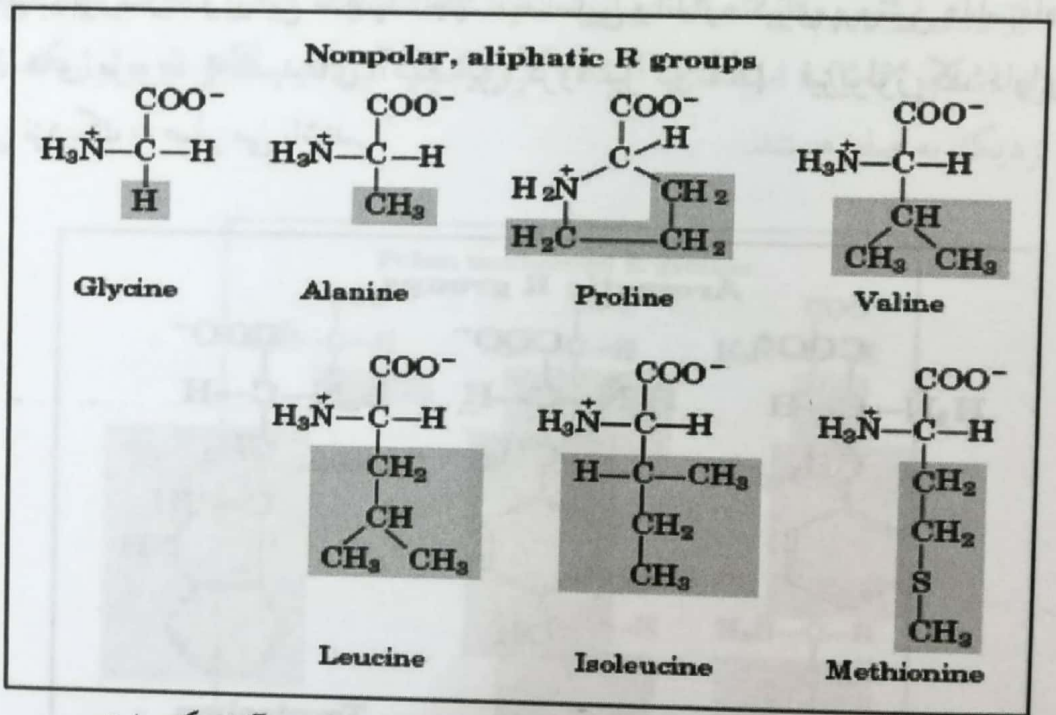
۶- متیونین (Met) اسید آمینه گوگرد دار است و ۵ کربن دارد. در ساختمان متیونین گروه $-S-CH_3$ (Methyl thio) وجود دارد.

۷- پرولین (Pro) یک اسید آمینه حلقوی است که شاخه جانبی آن ($-CH_2-CH_2-CH_2-$) به گروه آمینی متصل شده و تشکیل یک حلقه را می دهد.

Scanned by CamScanner

جدول ۱-۳ دسته بندی اسیدهای آمینه

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r	pK_a values: pK_1 (—COOH)	pK_2 ($—NH_3^+$)	pK_R (R group)	pI
Nonpolar, aliphatic R groups						
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74
Aromatic R groups						
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89
Polar, uncharged R groups						
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87
Cysteine	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65
Positively charged R groups						
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76
Negatively charged R groups						
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22



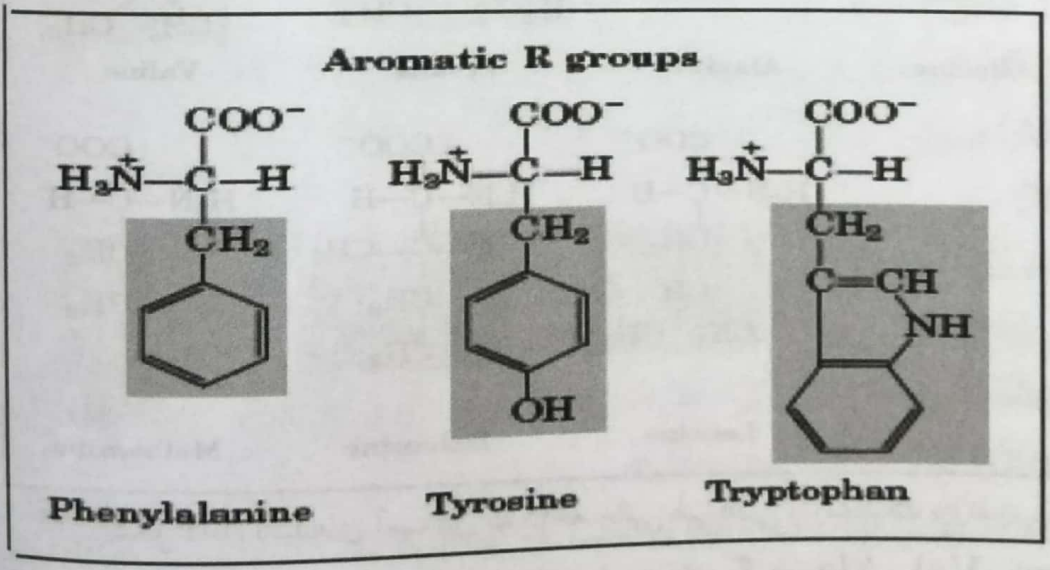
شکل۳-۳. اسیدهای آمینه ای که شاخه جانبی غیر قطبی و آلیفاتیک دارند

در ساختمان پروتئین ها زنجیره های جانبی مربوط به اسیدهای آمینه Ile ,Leu ,Val ,Ala از طریق میان کنش های هیدروفوبیک یا آبگریز(Hydrophobic interactions) در کنار یکدیگر قرار می گیرند و سبب پایداری ساختمان پروتئین می شوند.

Scanned by CamScanner

Leu, Ile و Val از اسیدهای آمینه شاخه دار (Branched chain) هستند. زنجیره جانبی در اسید آمینه گلیسین بعلت کوچکی در واکنش های آبگریز شرکت نمی نماید. زویتریون های مربوط به اسیدهای آمینه این گروه در pH فیزیولوژیک دارای بار کلی الکتریکی (Net charge) نزدیک به صفر می باشند.

گروه دوم: اسیدهای آمینه ای هستند که زنجیره جانبی آنها آروماتیک، نسبتا غیر قطبی و آبگریز بوده و درمیان کنش های آبگریز شرکت دارند (شکل ۴-۳). این دسته شامل اسیدهای آمینه فنیل آلانین (Phe)، تیروزین (Tyr) و تریپتوفان (Trp) می باشند. فنیل آلانین دارای شاخه فنیل است. تیروزین مشتقی از فنیل آلانین است که در موقعیت پارا در حلقه آروماتیک دارای گروه OH- است و می تواند در پیوندهای هیدروژنی شرکت نماید. در ساختمان تریپتوفان حلقه ایندول (Indole) وجود دارد. ایندول یک حلقه بنزنی است که به یک حلقه پیرول (حلقه ۵ ضلعی آروماتیک دارای N) متصل است. OH- حلقه فنلی در تیروزین دارای pK = ۱۰/۱ است که در pH های بالاتر یونیزه می شود. وجود گروه های قطبی در تیروزین و تریپتوفان موجب قطبیت نسبی این دو اسید آمینه می گردد. تریپتوفان، تیروزین و تا حدودی فنیل آلانین در طول موج ۲۸۰ نانومتر (محدوده ماوراء بنفش) جذب نور دارند و از این خاصیت جهت شناسایی و اندازه گیری پروتئین ها استفاده می شود. زویتریون های مربوط به اسیدهای آمینه این گروه نیز در pH فیزیولوژیک دارای بار کلی الکتریکی نزدیک به صفر می باشند.

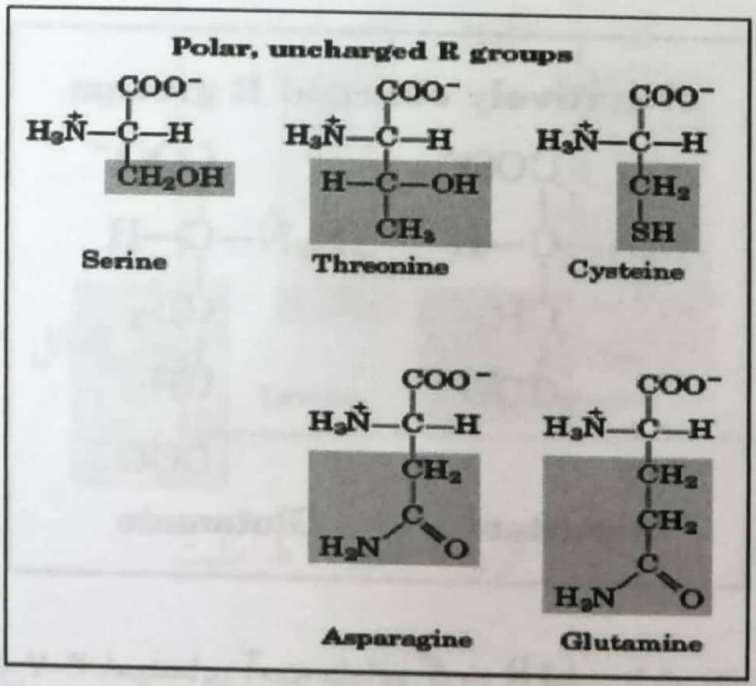


شکل ۴-۳. اسیدهای آمینه دارای گروه R آروماتیک

Scanned by CamScanner

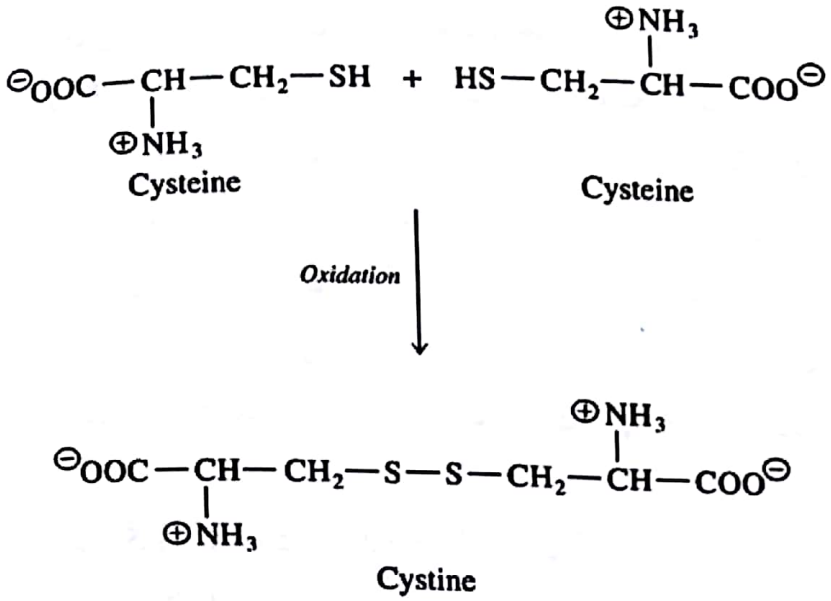
گروه سوم : اسیدهای آمینه ای هستند که زنجیره جانبی قطبی و محلول در آب دارند اما در pH فیزیولوژیک فاقد بار الکتریکی هستند و شامل اسیدهای آمینه سرین (Ser) ، ترئونین (Thr). سیستئین (Cys)، اسپاراژین (Asn) و گلوتامین (Gln) می باشند (شکل ۵-۳). اسیدهای آمینه سرین و ترئونین دارای گروه OH- در زنجیره جانبی هستند. ترئونین همولوگ سرین است و در ساختمان سیستئین گروه تیول یا سولفیدریل (SH-) وجود دارد که دارای $pk_a = ۸/۳$ می باشد. اسیدهای آمینه اسپاراژین و گلوتامین دارای گروه آمیدی ($H_2N-\overset{O}{\overset{\|}{C}}$) در زنجیره جانبی می باشند و به ترتیب مشتقات آمیدی دو اسید آمینه اسید اسپارتیک (Asp) و اسید گلوتامیک (Glu) محسوب می شوند.

اسید آمینه سیستئین در این گروه از دسته اسیدهای آمینه گوگرد دار است و قدرت تشکیل پیوندی به‌نام پیوند دی سولفیدی (-S-S-) درون یک زنجیره پلی پپتیدی (intramolecular) یا بین دو رشته پلی پپتیدی (intermolecular) متفاوت دارد. هنگامیکه دو Cys مجاور هم قرار بگیرند گروه های SH- آنها اکسید شده، اتم H را از دست داده و پیوند دی سولفیدی ایجاد می شود. پیوندهای دی سولفیدی نقش مهمی در پایداری ساختمان فضایی پروتئین ها ایفا می کنند. دو اسید آمینه سیستئین متصل بهم را Cystine می نامند. Cystine دارای کد ژنتیکی نیست چون بعد از سنتز پروتئین ها بر روی ریبوزوم، از اتصال دو اسید آمینه Cysteine که در کنار هم قرار می گیرند ایجاد می شود (شکل ۶-۳). اسیدهای آمینه گروه سوم نیز در pH فیزیولوژیک دارای بار الکتریکی نزدیک به صفر هستند.



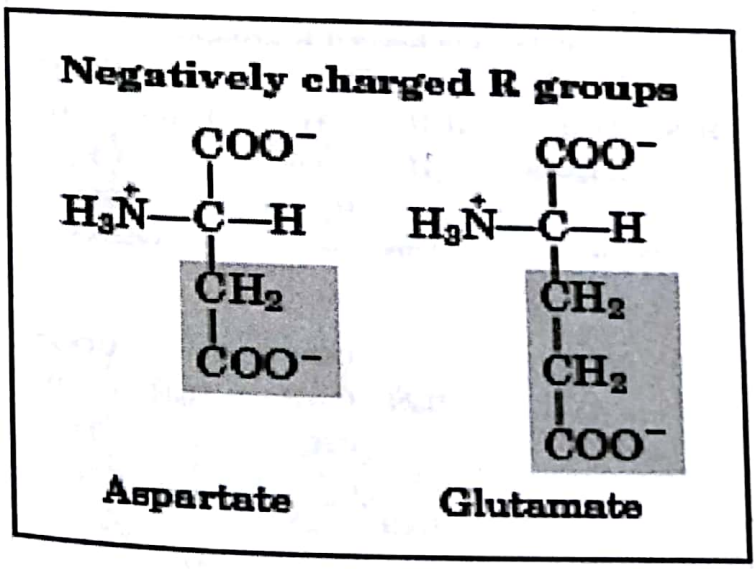
شکل ۵-۳. اسیدهای آمینه دارای گروه R قطبی

Scanned by CamScanner



شکل ۶-۳ .اتصال دو سیستئین از طریق پیوند دی سولفیدی (-S-S-) وتشکیل سیستین

گروه چهارم: اسیدهای آمینه ای که زنجیره جانبی آنها دارای بار منفی است. در این دسته دو اسید آمینه اسید گلوتامیک (Glu) و اسید اسپارتیک (Asp) وجود دارد که گروه های کربوکسیل در زنجیره جانبی این دو اسید آمینه دارای pK_a های بترتیب ۴/۲۵ و ۳/۶۵ می باشند. بنابراین در pH فیزیولوژیک عمدتا به صورت COO^- بوده و در نتیجه بار کلی هر کدام از اسیدهای آمینه Asp و Glu نزدیک به یک بار منفی می باشد(شکل۷-۳).

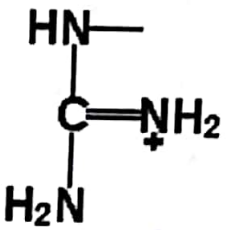


شکل۷-۳ .اسیدهای آمینه دارای گروه R قطبی با بار منفی

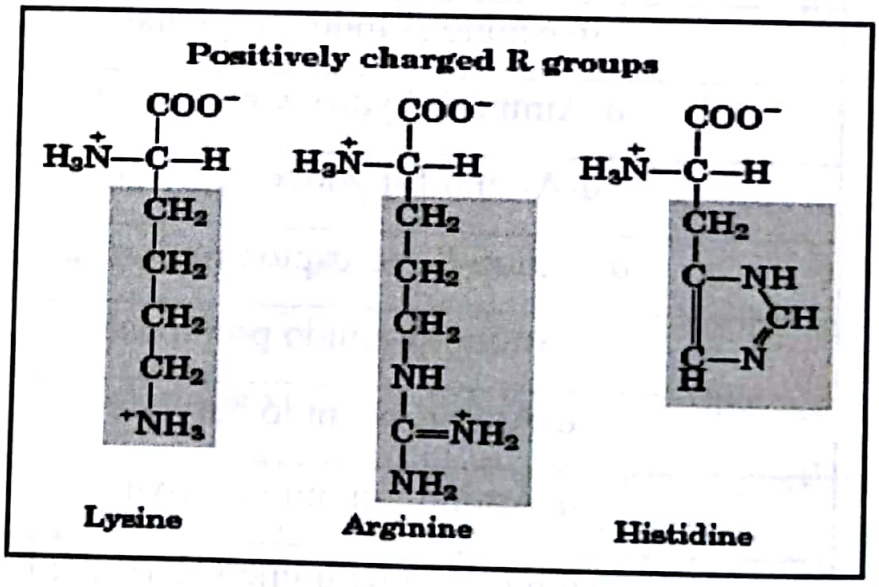
Scanned by CamScanner

گروه پنجم: اسیدهای آمینه ای هستند که زنجیره جانبی آنها دارای بار مثبت است (شکل ۸-۳). در این دسته سه اسید آمینه بنام های لیزین (Lys)، آرژنین (Arg) و هیستیدین (His) قرار می گیرند. زنجیره جانبی لیزین یک زنجیره هیدروکربنی ۴ کربنه است که کربن انتهایی ۶ آن (کربن اپسیلون ، ε) دارای گروه آمینی است. آرژنین دارای یک زنجیره جانبی سه کربنه است که به آن گروه گوانیدین متصل است (شکل ۹-۳) .هیستیدین مشتقی از propionate است که کربن β در ساختمان آن دارای گروه ایمیدازول (Imidazole) می باشد. گروه ایمیدازول یک حلقه آروماتیک ۵ ضلعی است که دارای دو نیتروژن است. اسیدهای آمینه گروه پنجم بعلت وجود گروه های آمینی در زنجیره جانبی و دارا بودن pK های بالاتر از۷ در pH فیزیولوژیک دارای بار کلی مثبت می باشند. در زنجیره های جانبی اسیدهای آمینه این گروه، اتم های نیتروژنی وجود دارند که قادر به پذیرش یون H^+ می باشند. بنابراین به آنها اسیدهای آمینه بازی گفته می شود. بدین ترتیب زنجیره های جانبی Lys ، Arg و His دارای این ویژگی بوده و دارای pK_a نسبتا بالا می باشند. مثلا pK_a زنجیره جانبی در Arg برابر ۱۲ /۴۸ است. اسیدهای آمینه بازی در pH فیزیولوژیک عمدتا به شکل پروتون دار خود وجود داشته و دارای بار مثبت می باشند.

نام شیمیایی اسیدهای آمینه درحاشیه ۱-۳ نوشته شده است.



شکل ۹-۳. گروه گوانیدین



شکل ۸-۳. اسیدهای آمینه دارای گروه R قطبی با بار مثبت

Scanned by CamScanner

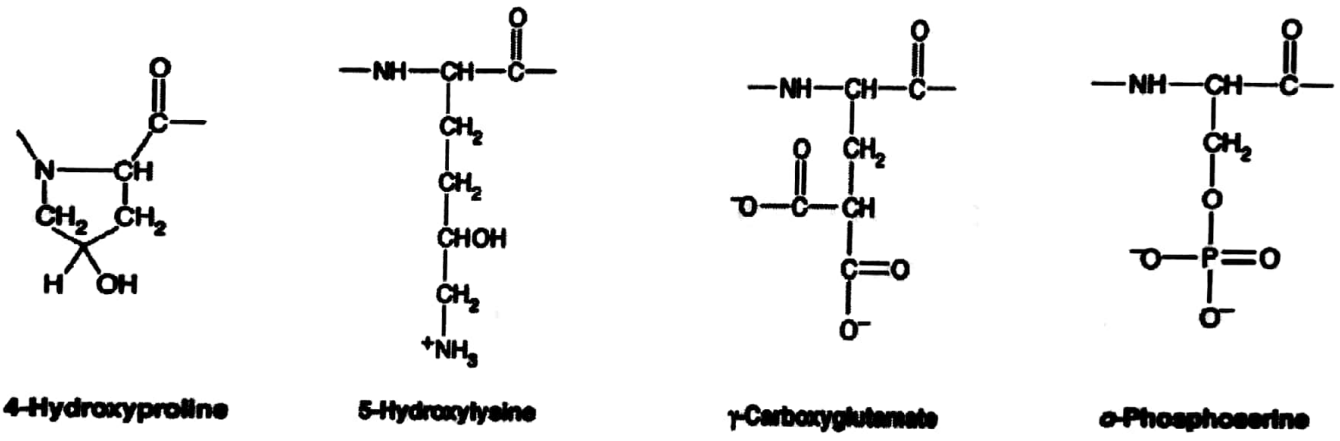
حاشیه ۱-۳ نام شیمیایی اسید های آمینه

اسید آمینه	نام شیمیائی
Glycine	α –Amino acetic acid
Alanine	α – Amino propionic aid
Valine	α - Amino isovalericd acid
Leucine	α – Amino isocaproate
Isoleucine	α –Amino- β- Methyl valerate
Methionine	α –Amino-γ-Methylthio butyrate
Proline	Imino acid
Pheny alanine	α-Amino-β-Phenyl propionate
Tyrosine	α-Amino –β-parahydroxy phenyl propionate
Tryptophan	α-Amino-β-Indol propionate
Serine	α-Amino-β-hydroxy propionate
Theronine	α-Amino-β-hydroxy butyrate
Cysteine	α-Amino-β-mercapto propionate
Asparagene	α-Amino-β-amido propionate
Glutamine	α-Amino-γ-amido butyrate
Lysine	α-Amino-ε-amino caproate
Arginine	α-Amino – δ-guanidine valeric acid
Histidine	α-Amino-β-Imidazole propionate
Aspartic acid	α-Amino succinic acid
Glutamic acid	α-Amino glutaric acid

Scanned by CamScanner

۳-۳ گاهی در ساختمان پروتئین ها اسیدهای آمینه تغییر یافته (Modified amino acids) و غیر معمول وجود دارند.

این گروه اسیدهای آمینه ای هستند که در ساختمان بعضی از پروتئین ها وجود دارند و از تغییر یافتن اسیدهای آمینه استاندارد حاصل می گردند لذا دارای کد ژنتیکی نیستند. زنجیره های جانبی این گروه در شکل ۱۰-۳ دیده می شود و شامل ۴- هیدروکسی پرولین و ۵- هیدروکسی لیزین می شوند که درساختمان کلاژن وجود داشته و از هیدروکسیلاسیون اسیدهای آمینه پرولین و لیزین حاصل می گردند. ۴-کربوکسی گلوتامات که در ساختمان پروترومبین (فاکتور انعقادی خون) وجود دارد از اضافه شدن یک گروه COOH - به کربن ۴ اسید گلوتامیک حاصل می شود. فسفوسرین نیز که در نتیجه اضافه شدن گروه فسفات به گروه OH- اسید آمینه Ser حاصل می شود و در ساختمان برخی از پروتئین ها بوجود می آید از دیگر اسید های آمینه تغییر یافته می باشد.



شکل ۱۰-۳. اسیدهای آمینه تغییر یافته

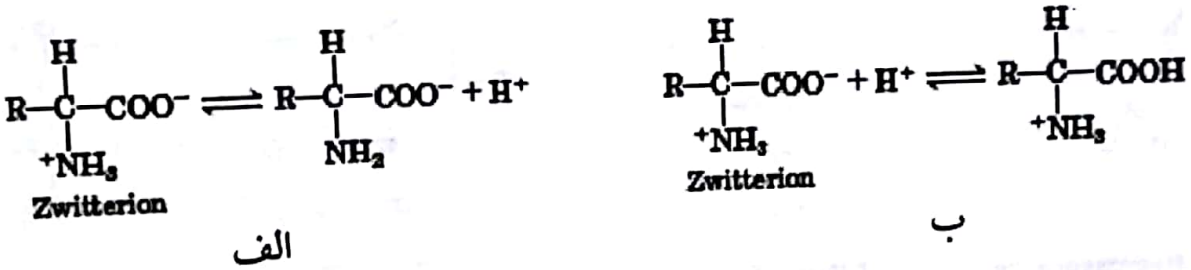
۳-٤ اسیدهای آمینه به دو دسته ضروری و غیر ضروری دسته بندی می شوند.

تعدادی از اسید های آمینه در بدن ساخته نمی شوند و باید توسط غذا تامین شوند که اسیدهای آمینه ضروری (Essential یا Indispensable) نامیده می شوند و شامل اسیدهای آمینه آرژنین - هیستیدین - ایزولوسین - لوسین- لیزین - متیونین- فنیل آلانین - ترئونین- تریپتوفان و والین می باشند. His و Arg جزو اسیدهای آمینه ضروری در دوران کودکی هستند. بقیه اسیدهای آمینه که در بدن ساخته می شوند غیر ضروری (Nonessential یا Dispensable) نامیده می شوند. هر دو دسته اسیدهای آمینه ضروری و غیر ضروری برای سنتز پروتئین ها لازم هستند.

Scanned by CamScanner

۳-۵ اسید های آمینه آمفولیت هستند.

آمفولیت مولکولی است که هم گروه اسیدی و هم گروه بازی داشته باشد یعنی هم بعنوان دهنده پروتون (اسید) و هم بعنوان گیرنده پروتون (باز) عمل می کند. اسیدهای آمینه با دارا بودن گروههای قابل یونیزه با pk های بیشتر و کمتر از ۷ آمفولیت بوده و دارای خواص دو گانه (آمفوتری) هستند. مثلا گلیسین در ساختمان خود یک α-COOH با pK = ۲ /۳۴ و یک α-NH_3^+ با pK = ۹ /۶ دارد بنابراین در pH = ۷ گروه آمینی بعنوان باز و گروه کربوکسیل بعنوان اسید عمل می کند. گلیسین با دارا بودن این خواص دوگانه (خواص آمفوتری) یک آمفولیت است. اسید آمینه گلیسین در pH نزدیک به خنثی بصورت زویتریون (Zwitterion) وجود دارد (شکل ۱۱-۳). یک زویتریون در محیط با pH بیشتر از pK گروه آمینی خود، بصورت اسید (دهنده پروتون) عمل کرده و دارای بار کلی منفی می شود (شکل ۱۱-۳الف). درصورتی که در محیط با pH کمتر از pK گروه کربوکسیل خود، بصورت باز (گیرنده پروتون) عمل نموده و کاملاً پروتونه می گردد و دارای بار کلی مثبت می شود (شکل ۱۱-۳ب).



الف ب

شکل ۱۱-۳. واکنش های اسیدی (الف) و بازی (ب) اسیدهای آمینه

۳-۶ منحنی تیتراسیون اسید های آمینه تعداد گروه های قابل یونیزه را نشان می دهد.

با اضافه نمودن تدریجی NaOH به یک اسید آمینه کاملا پروتونه شده وبا برداشت و خنثی کردن پروتون آن می توان آنرا تیتر نمود و منحنی تیتراسیون آن را رسم کرد. شکل ۱۲-۳ منحنی تیتراسیون اسیدآمینه گلیسین را نشان می دهد. واکنش تیتراسیون بشرح زیر است.

$$\underset{\text{(فرم ۱)}}{NH_3^+ - CH_2 - COOH} \xrightarrow{pK_1} \underset{\text{(فرم ۲)}}{NH_3^+ - CH_2 - COO^-} \xrightarrow{pK_2} \underset{\text{(فرم ۳)}}{NH_2 - CH_2 - COO^-}$$

بار کلی(+) NaOH بار کلی(۰) NaOH بار کلی (-)

Scanned by CamScanner

Glycine دارای دو پروتون قابل تیتر یکی مربوط به گروه α-COOH و دیگری مربوط به گروه $\alpha-NH_3^+$ است. برای خنثی نمودن کامل پروتون های آن نیاز به اضافه کردن دو اکی والان سود است. منحنی تیتراسیون گلیسین شبیه تیتراسیون دو اسید ضعیف است که به یکدیگر متصل هستند. گلیسین در pH =۱ کاملاً پروتونه (فرم۱) و دارای بارکلی ۱+ است وپس از افزودن ۰/۵ اکی والان سود یعنی در $pH = pK_1 = ۲/۳۴$ ، ۵۰ درصد مولکول ها بار۱+ (فرم۱) و ۵۰ درصد مولکول ها بار صفر (فرم۲) دارند. بعد از اضافه کردن ۱ اکی والان سود نزدیک به ۱۰۰ درصد مولکول ها بصورت Zwitterions (فرم۲) بوده و دارای بار کلی صفر هستند (pH = ۶) . بعد از اضافه کردن ۱/۵ اکی والان سود یعنی در $pH = pK_2 = ۹/۶$ ، ۵۰ درصد به فرم ۲ با بار کلی صفر و ۵۰ درصد به فرم ۳ با بار کلی ۱- می باشد. در پایان تیتراسیون بعد از اضافه کردن ۲ اکی والان سود، نزدیک به ۱۰۰ درصد ملکول ها به فرم ۳ و دارای بار کلی ۱ - می باشند (pH=۱۱/۶) .

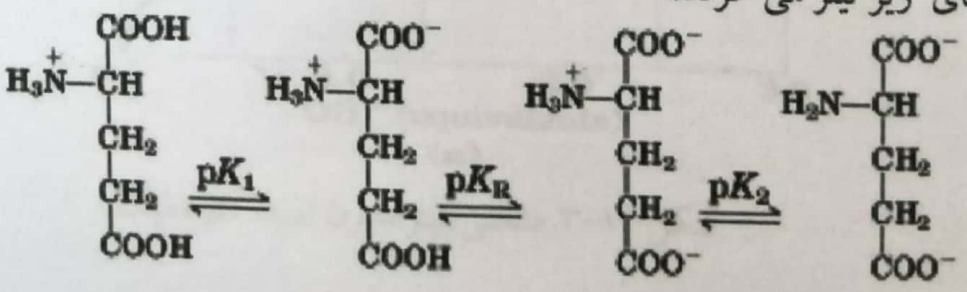
pH های فوق با استفاده از معادله هندرسن – ها سلباخ بدست می آیند مثلا :

$$pH = pK_a + \log [\text{فرم ۳}] / [\text{فرم ۲}] = ۹/۶ + \log {}^{۱۰۰}/_{۱} = ۹/۶+۲ = ۱۱/۶$$

پس گلیسین در pH های برابر ۲/۳۴ و ۹/۶ دارای حداکثر قدرت بافری است. در نقطه عطف منحنی در pH = ۵/۹۷ نزدیک به ۱۰۰ درصد مولکول ها دارای بار کلی صفرهستند. به این pH که در آن اسید آمینه داری بار کلی صفر است نقطه ایزوالکتریک (IP) گفته می شود. در مورد اسیدهای آمینه ای که دارای یک pK اسیدی و یک pK بازی هستند نقطه ایزوالکتریک برابر است با :

$$pI = \frac{PK_1+PK_2}{۲} = \frac{۹/۶+۲/۳۴}{۲} = ۵/۹۷$$

در این pH اسید آمینه در میدان الکتریکی بی حرکت بوده و به سمت قطب مثبت یا منفی حرکت نمی کند. شکل های ۱۳-۳ و ۱۴-۳ بترتیب تیتراسیون اسیدهای آمینه اسید گلوتامیک و هیستیدین را نشان می دهند. برای تیتراسیون یک اسید آمینه از فرم کاملاً پروتونه اسید آمینه شروع کرده و pK های اسید آمینه به ترتیب افزایش مرتب می شوند. مثلا فرم کاملا پروتونه اسید گلوتامیک بر اساس واکنش های زیر تیتر می گردد.

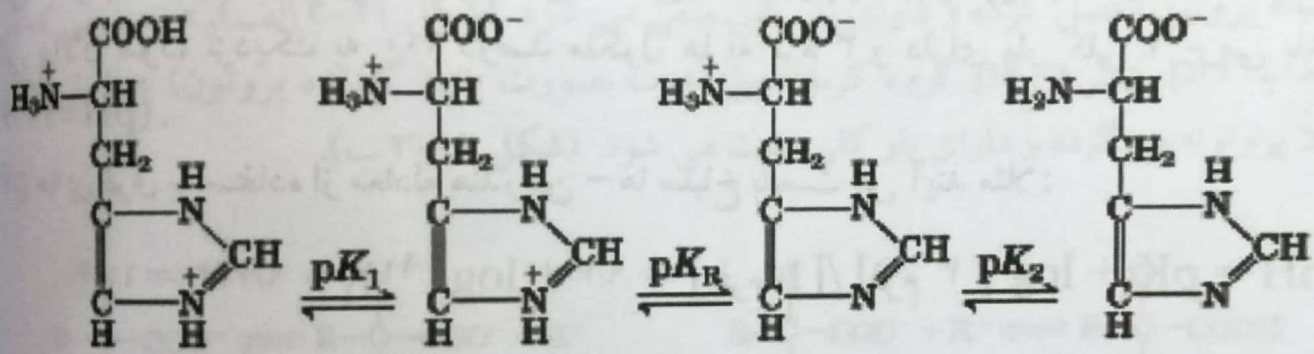


Scanned by CamScanner

Pk_1 و pK_2 بترتیب مربوط به گروه های α-COOH و $\alpha\text{-}NH_3^+$ است و pK_R مربوط به -COOH زنجیره جانبی است. نقطه ایزوالکتریک میانگین pK های اسیدی و بازی مربوط به فرم دارای بارالکتریکی صفر است که برای یک اسید آمینه اسیدی میانگین Pk_1 و pK_R می باشد.

$$pI = \frac{pK_1 + pK_R}{۲} = \frac{۲/۱۹+۴/۲۵}{۲} = ۳/۲$$

واکنش تیتراسیون یک اسید آمینه بازی مثل هیستیدین براساس واکنش های زیراست و مانند مثال قبل pK های اسید آمینه به ترتیب افزایش مرتب می شود.

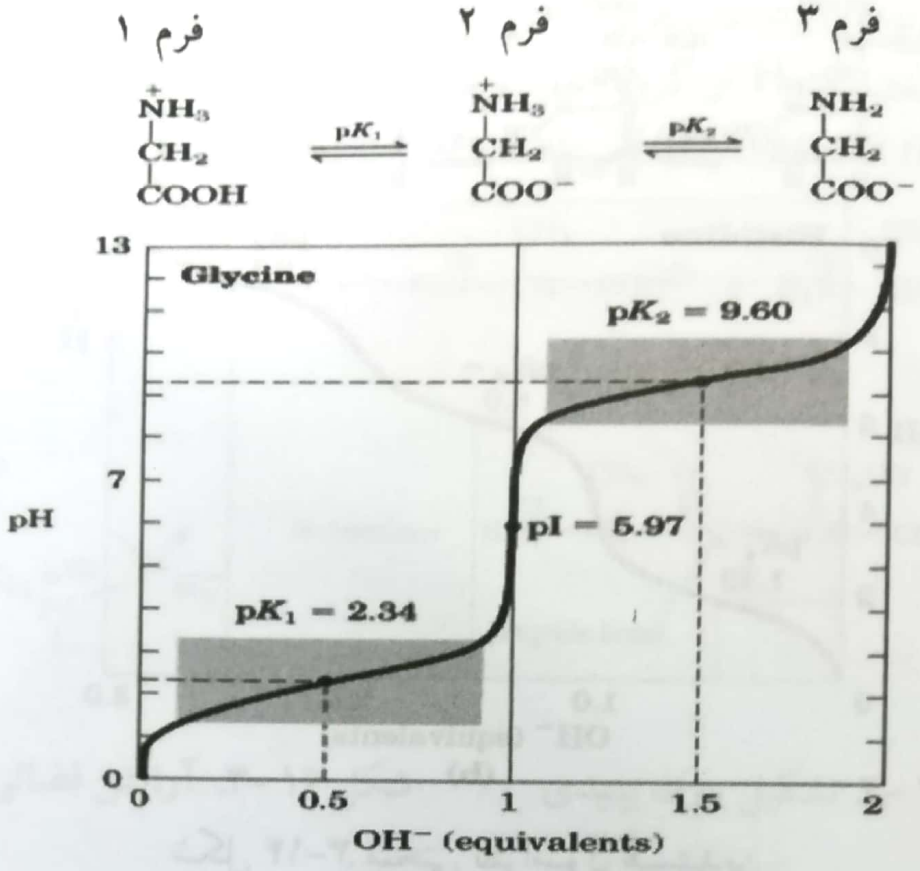


نقطه ایزوالکتریک هیستیدین میانگین pK گروه ایمیدازول (pK_R) و pK بازی (pK_2) می باشد.

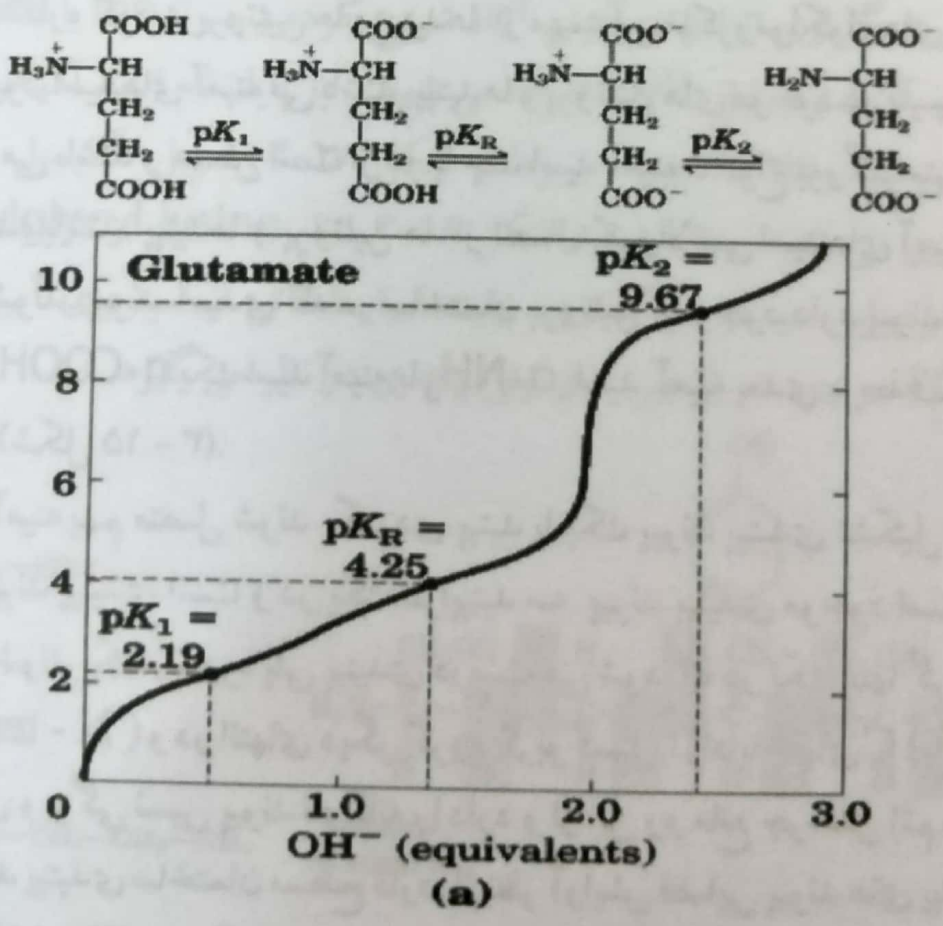
$$pI = \frac{pK_2 + pK_R}{۲} = \frac{۹/۱۷+۶}{۲} = ۷/۶$$

بنابراین نقطه ایزوالکتریک برای یک اسید آمینه اسیدی برابر میانگین pKهای مربوط به تفکیک گروه های COOH و برای یک اسید آمینه بازی میانگین pK های گروه های NH_3^+ -می باشد.

Scanned by CamScanner

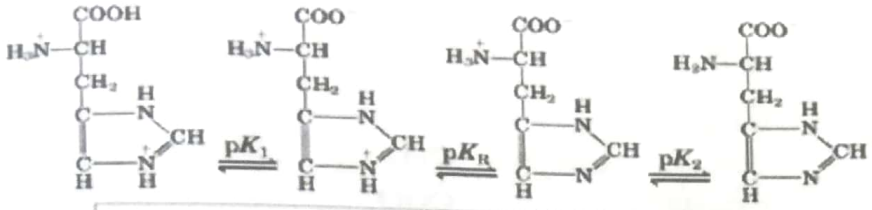


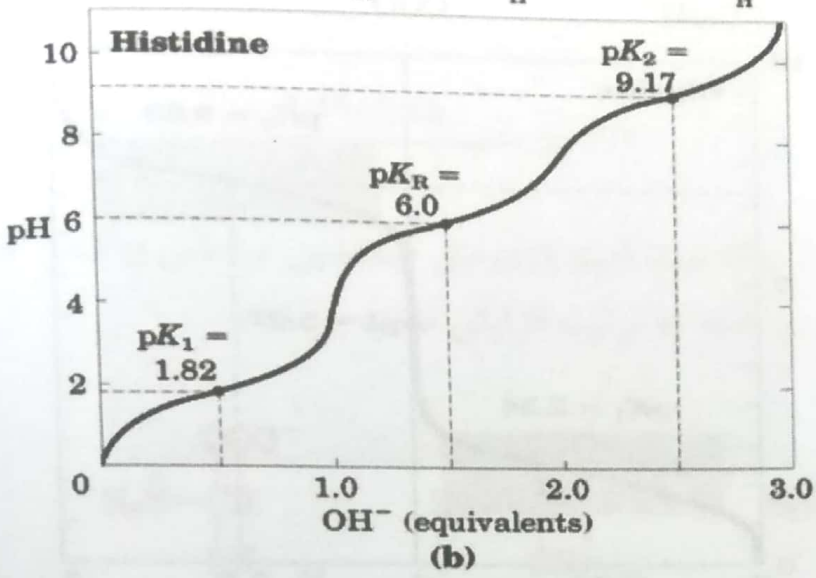
شکل ۱۲-۳. منحنی تیتراسیون گلیسین



شکل ۱۳-۳. منحنی تیتراسیون اسید گلوتامیک

Scanned by CamScanner





شکل ۱۴-۳. منحنی تیتراسیون هیستیدین

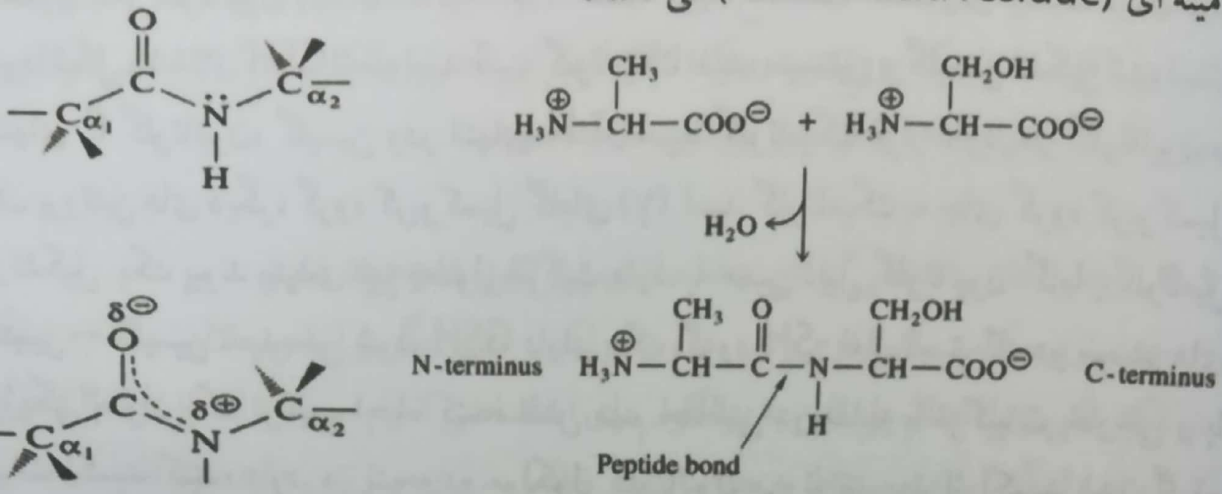
۳-۷ پروتئین ها از اتصال کووالانسی اسیدهای آمینه بوجود می آیند.

همانطوریکه قبلا اشاره گردید پروتئین ها و پپتیدها از مهمترین ماکرومولکول های زیستی هستند که حاصل پلیمریزاسیون اسیدهای آمینه می باشند. پپتیدها و پروتئین های موجود در سیستم های زیستی از نظر اندازه متفاوت می باشند و ممکن است از دو یا چند اسید آمینه تا انواع بزرگتر متشکل از هزاران اسید آمینه تشکیل شده باشند. پپتیدها و پروتئین ها از اتصال کووالانسی اسیدهای آمینه توسط پیوند آمیدی، حاصل می شوند. پیوند آمیدی که در ساختمان پروتئین ها وجود دارد پیوند پپتیدی نامیده می شود که از واکنش α-COOH یک اسید آمینه با $\alpha\text{-}NH_3$ اسید آمینه بعدی با حذف یک مولکول آب ایجاد می گردد (شکل ۱۵ - ۳).

هنگامی که دو اسید آمینه بهم متصل شوند یک دی پپتید با یک پیوند پپتیدی تشکیل می شود. یک تری پپتید دارای دو پیوند پپتیدی است و در یک تراپپتید سه پیوند پپتیدی موجود است. اگر چندین اسید آمینه بهم متصل شوند یک زنجیره پلی پپتیدی درست می شود که در یک انتها گروه آمینی آزاد یا انتهای N(N - terminal) و در انتهای دیگر گروه کربوکسیل آزاد یا انتهای C (C-terminal) قرار دارد. پیوند پپتیدی ویژگی نسبی پیوند دوگانه را دارد و از این رو مانع چرخش اتم ها حول محور پیوند می شود، لذا پیوند پپتیدی ساختمان مسطح دارد. از نظر آرایش فضایی پیوند های پپتیدی به صورت Trans هستند (شکل ۱۶-۳). انتهای آمینی را ابتدای زنجیره پلی پپتیدی می نامند.

Scanned by CamScanner

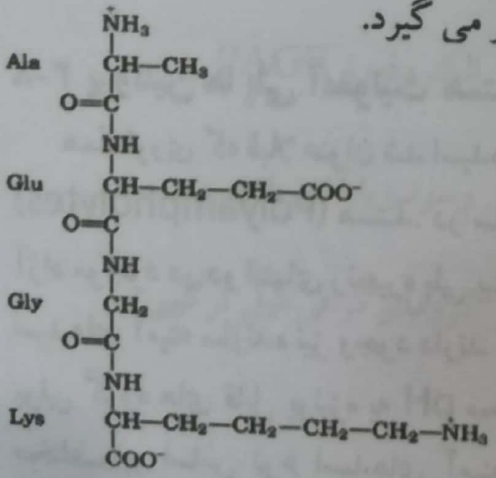
بعد از تشکیل پیوندهای پپتیدی و قرار گرفتن اسیدهای آمینه در زنجیره پلی پپتیدی، قسمت باقی مانده (بعد از جدا شدن یک H از گروه آمینی و عامل OH از گروه کربوکسیل) را باقیمانده اسید آمینه ای (Amino acid residue) می نامند.



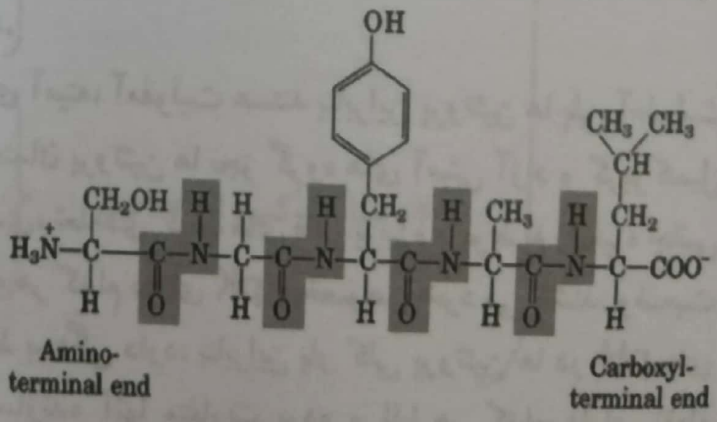
شکل ۱۵ -۳. تشکیل پیوند پپتیدی

شکل ۱۶ -۳. آرایش فضائی پیوند پپتیدی

در شکل ۱۷ - ۳ ساختمان یک پنتا پپتید با چهارپیوند پپتیدی نمایش داده شده است. بنا به قرارداد پپتیدها را به گونه ای می نویسند که انتهای آمینی آزاد آنها (انتهای N) در سمت چپ صفحه کاغذ قرار گیرد. برای نامگذاری از انتهای آمینی آزاد شروع کرده و پسوندine یا ate را از نام اسید آمینه حذف و بجای آن پسوند ایل (yl-) اضافه می شود و در پایان نام اسید آمینه با گروه کربوکسیل کامل آورده می شود. مثلا پنتا پپتید مربوط به شکل ۱۷-۳، سریل-گلیسیل- تیروزیل-آلانیل - لوسین نامگذاری می شود و یا تراپپتید شکل ۱۸-۳ با نام Alanylglutamylglycyl lysine مشخص می شود. این سیستم نام گذاری، پپتیدها را مشتقاتی از اسیدهای آمینه انتهای کربوکسیل آزاد (انتهای C) موجود در زنجیره های پلی پپتیدی در نظر می گیرد.



شکل ۱۸-۳. آلانیل - گلوتامیل- گلیسیل لیزین

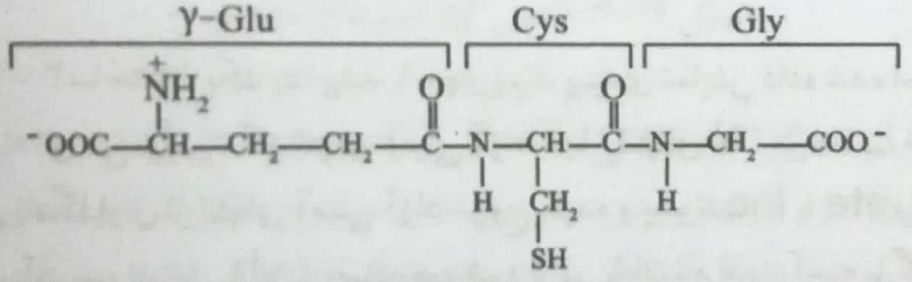


شکل ۱۷-۳. پنتاپپتید سریل-گلیسیل-تیروزیل-آلانیل لوسین

Scanned by CamScanner

در مباحث بعدی خواهیم دید که تعدادی از پپتیدهای کوچک نقش هورمونی و یا نقش های بیولوژیکی مهمی دارند. یکی از پپتیدهای کوچک که در متابولیسم اهمیت زیادی دارد تری پپتیدی غیرمعمول بنام گلوتاتیون (Glutathione) است که با علامت اختصاری GSH نشان داده می شود(شکل ۱۹ - ۳). GSH از سه اسید آمینه گلوتامیک اسید، سیستئین و گلیسین تشکیل شده است. در انتهای C گلوتاتیون، گلیسین ودر انتهای N آن اسید گلوتامیک قرار دارد. در گلوتاتیون بر خلاف پروتئین های دیگر، گروه کربوکسیل گامای (γ) اسید گلوتامیک به جای گروه کربوکسیل α درتشکیل یک پیوند پپتیدی غیر معمول شرکت دارد. به همین دلیل گلوتاتیون گاما -گلوتامیل سیستئینیل - گلیسین نامیده می شود. GSH دارای یک گروه SH- فعال است که در سیستم های بیولوژیکی بعنوان یک ترکیب احیاء کننده نقش مهم حفاظتی در مقابله با ترکیبات خارجی و یا ترکیبات اکسید کننده دارد. در نتیجه دو مولکول گلوتاتیون می توانند بعد از اکسید شدن گروه SH- از طریق پیوند دی سولفیدی بهم متصل گردند.

Glutathione (GSH) = γ- Glutamylcysteinylglycine



Glutathione (GSH)
(reduced)

2GSH (reduced) ⟷ GSSG (Oxidized)

شکل ۱۹-۳. ساختمان گلوتاتیون

۳-۸ پروتئین ها پلی آمفولیت هستند.

همانطوری که قبلا عنوان شد اسیدهای آمینه، آمفولیت هستند بنابراین پروتئین ها پلی آمفولیت (Polyampholytes) هستند. در ساختمان پروتئین ها بجز گروه های آمینی آزاد و کربوکسیل آزاد موجود در دو انتهای زنجیره پلی پپتیدی، تعدادی گروه های قابل یونیزه مربوط به زنجیره جانبی اسیدهای آمینه سازنده نیز وجود دارند که هر کدام دارای pK مخصوص خود می باشند. وضعیت یونی گروه های قابل یونیزه به pH محیط بستگی دارد. بنابراین بار کلی پروتئین ها در pH های مختلف بر اساس نوع اسیدهای آمینه سازنده آنها متفاوت بوده و لذا هر کدام دارای نقطه ایزوالکتریک معینی هستند.

Scanned by CamScanner

هر پروتئین در pI مربوطه به خود دارای بار کلی صفر می باشد. دراین حالت به علت وجود تعداد مساوی بارهای مثبت و منفی بر روی مولکول های پروتئین، نیروی جاذبه بین آنها حداکثر بوده، به یکدیگر متصل شده و مجتمع می شوند. لذا پروتئین ها در pI دارای حداقل حلالیت هستند. بنابراین با قرار دادن یک پروتئین در یک pH که برابر نقطه ایزوالکتریک آن باشد می توان پروتئین مورد نظر را رسوب داده و از سایر پروتئین ها جدا نمود.

۹-۳ روش های مختلفی برای جدا سازی پروتئین ها وجود دارد.

جداسازی یک پروتئین از پروتئین ها و یا مولکول های دیگر بر اساس حلالیت، اندازه مولکولی، بار الکتریکی و یا اتصال پروتئین به مولکول های اختصاصی انجام می شود (شکل ۲۰-۳). درحاشیه ۲-۳- اصول آزمایشات مربوط به جداسازی و خالص سازی پروتئین ها به طور اختصار نشان داده شده است.

- ۱- اندازه مولکولی
  - ژل فیلتراسیون
  - سانتریفیوژ کردن
  - الکتروفورز از نوع SDS
- ۲- حلالیت — جدا کردن پروتئین ها در نقطه ایزوالکتریک
- ۳- بارالکتریکی
  - کروماتوگرافی مبادله یونی
  - الکتروفورز PAGE
- ۴- میل ترکیبی اختصاصی
  - رسوب با آنتی بادی
  - کروماتوگرافی میل ترکیبی

شکل ۲۰-۳. روش های مختلف جداسازی و خالص سازی پروتئین ها

Scanned by CamScanner

حاشیه ۲-۳- جداسازی پروتئین ها با روش های زیر انجام می شود.

ژل فیلتراسیون (Gel filtration) یا غربال مولکولی : در این روش از ستون حاوی یک ژل که پلیمری از یک کربوهیدرات نامحلول است استفاده می شود. این پلیمر ذرات سوراخ داری را تشکیل می دهد که وقتی یک مخلوط پروتئینی دارای ملکول های با اندازه های مختلف روی آن قرار بگیرد، مولکول های کوچک تر وارد سوراخ ها شده و ملکول های بزرگ تر از فواصل بین ذرات عبور کرده و از انتهای ستون خارج می گردند. بنابراین مولکول های بزرگ تر زودتر از ستون خارج شده در حالیکه ملکول های کوچک تر به دلیل نفوذ در سوراخ های ذرات، با تاخیر از ستون خارج می شوند. بدین ترتیب ملکول های پروتئینی براساس اندازه و وزن ملکولی ازیکدیگر جدا می شوند.

سانتریفیوژکردن (Centrifugation): پروتئین های مختلف تحت تاثیر نیروی سانتریفیوژ با سرعت های مختلف ته نشین شده و از یکدیگر جدّا می شوند. مولکول های درشت تر زودتر ته نشین می شوند.

الکتروفورز: جداسازی بر اساس حرکت ذرات باردار در میدان الکتریکی است. ذرات دارای بار مثبت بطرف کاتد و ذرات دارای بار منفی بطرف آند حرکت کرده و ذرات بدون بار در میدان الکتریکی بیحرکت می مانند. در این روش، جداسازی بر روی یک ماده زمینه (ژل) از جنس مثلاً پلی آکریل آمید انجام می شود.

سرعت حرکت ذرات بر اساس نوع و تعداد بار الکتریکی و جرم مولکولی ذرات می باشد. به این روش Polyacrylamide Gel Electrophoresis(PAGE)) گفته می شود. در نوع دیگری از الکتروفورز به نام SDS-PAGE با استفاده از یک شوینده (Detergent) بنام سدیم دودسیل سولفات ($C_{12}H_{25}SO_4^-Na^+$) مولکولهای پروتئینی دارای بار منفی می شوند و حرکت آنها فقط بر اساس اختلاف در جرم مولکولی صورت می گیرد. سرعت حرکت ذرات رابطه عکس با جرم مولکولی دارد. با این روش ذرات پروتئینی با وزن های مولکولی متفاوت از یکدیگر جدا می شوند.

کروماتوگرافی مبادله یونی (Ion exchange chromatography) : در این روش پروتئین ها بر اساس اختلاف در بار الکتریکی از یکدیگر جدا می شوند در این روش از ستون های حاوی رزین که دارای ذرات بار دار هستند استفاده می شود بنابراین ذرات پروتئین های با بار مخالف رزین به آن متصل می گردند. مثلا اگر رزین دارای گروه های با بارمثبت باشد، ذرات پروتئینی با بارکلی منفی به آن متصل می شوند (Anion-exchange chromatography) هرچه تعداد بارهای منفی پروتئین بیشترباشد اتصال قوی تری برقرار نموده و در ستون باقی می ماند. اما پروتئین های دارای بار مثبت و یا بدون بار به ستون متصل نشده و از آن خارج می شوند. در مرحله بعد پروتئین های متصل به رزین توسط یک محلول نمکی از رزین جدا شده و از ستون خارج می شوند.

کروماتوگرافی میل ترکیبی(Affinity chromatography): در این روش یک پروتئین بر اساس میل ترکیبی آن به مولکول های دیگر (که لیگاند نامیده می شود) از سایر پروتئین ها جدا می گردد. برای این کار ابتدا یک لیگاند اختصاصی را به رزین موجود در ستون کروماتوگرافی متصل می نمایند تا در هنگام عبور محلول حاوی پروتئین ها از ستون، پروتئین مورد نظر به ستون متصل شده و سایر پروتئین ها از انتهای ستون خارج شوند. سپس ستون را با محلول با غلظت بالای لیگاند شستشو داده و بدینوسیله پروتئین مورد نظر از ستون جدا می گردد.

Scanned by CamScanner

۱۰-۳ پروتئین ها بر اساس اجزاء تشکیل دهنده دسته بندی می شوند.

پروتئین ها از نظر اجزاء تشکیل دهنده دو دسته اند:

۱- پروتئین های ساده (Simple proteins) : فقط دارای اسیدهای آمینه هستند و ازهیدرولیز آنها فقط اسیدهای آمینه حاصل می شود مانند کیموتریپسین (Chymotrypsinogen) و ریبونوکلئاز (Ribonuclease).

۲- پروتئین های مرکب (Conjugated proteins) : بجز اسیدهای آمینه دارای یک بخش غیر پروتئینی هستند. پروتئین های مرکب بر اساس بخش غیر پروتئینی شامل دسته های مختلف می باشند(جدول ۲-۳).

جدول ۲-۳: انواع پروتئین های مرکب (Conjugated Proteins)

Class	بخش غیر پروتئینی	Example
Lipoproteins	Lipids	β_1-Lipoprotein (blood)
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein (milk)
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Dehydrogenase Succinate
Metalloproteins	Iron	Ferritin
	Zinc	Alcohol dehydrogenase
	Calcium	Calmodulin
	Molybdenum	Dinitrogenase
		Xanthin oxidase

Scanned by CamScanner

۳-۱۱ پروتئین ها بر اساس نقش زیستی دسته بندی می شوند.

بر اساس نقش زیستی پروتئین ها به گروه های زیر تقسیم می شوند:

۱- آنزیم ها (Enzymes) : پروتئین هایی هستند که بسیار اختصاصی عمل نموده و واکنش های بیوشیمیایی را در بدن کاتالیز می نمایند.

۲- پروتئین های غذایی(Nutrient proteins) مانند کازئین شیر و آلبومین سفیده تخم مرغ و پروتئین های ذخیره ای (Storage proteins) مانند فریتین که پروتئین ذخیره کننده آهن است.

۳- پروتئین های ناقل(Transport proteins) مانند هموگلوبین Hb که ناقل O_2 و لیپوپروتئین ها که ناقل چربی ها در خون هستند.

۴- پروتئین ها ی انقباضی (Contractile proteins) که در اعمال حرکتی و انقباضی شرکت دارند مانند اکتین و میوزین.

۵- پروتئین های دفاعی(Defence proteins)که در پاسخ های ایمنی نقش دارند مثل آنتی بادی ها.

۶- پروتئین های ساختمانی (Structural proteins) که اجزاء ساختمانی در سلول و بدن را تشکیل می دهند مانند کلاژن (Collagen) در پوست و استخوان.

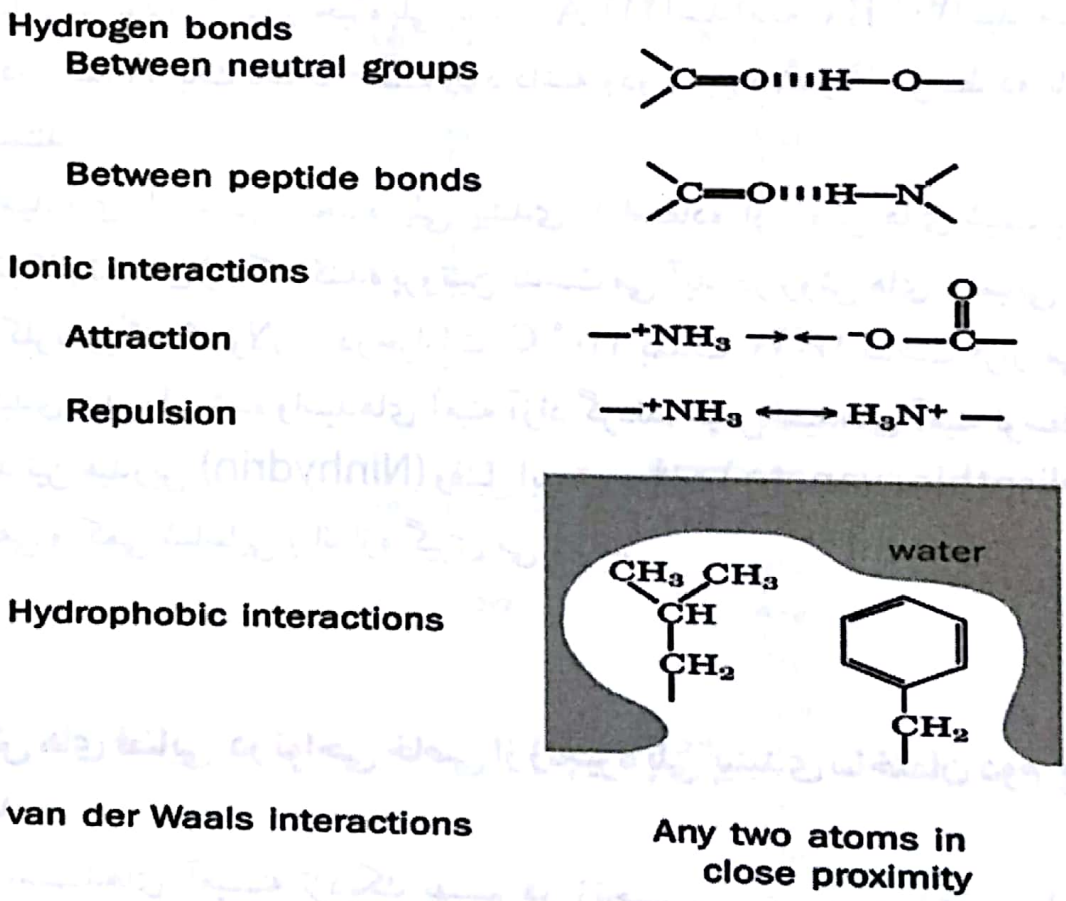
۷- پروتئین های تنظیم کننده(Regulatory proteins) که در بدن نقش تنظیم کنندگی دارند مانند هورمون ها .

۳-۱۲ پروتئین ها دارای سطوح مختلف ساختمانی هستند.

چگونگی قرار گرفتن اتم های موجود در یک پروتئین نسبت به یکدیگر در فضا را آرایش فضایی (conformation) پروتئین می گویند. یک پروتئین میتواند آرایش های فضایی متعدد بخود بگیرد. این تغییرات ساختمانی بدون شکسته شدن پیوندهای کووالانسی انجام می گیرند. در مقابل، آرایش مجموعه ای از اتم ها در یک مولکول را پیکربندی (Configuration) می نامند. تبدیل پیکربندی های مختلف به یکدیگر مانند تبدیل فرم های D و L دراسیدهای آمینه مستلزم شکستن پیوندهای کووالانسی است. از بین ساختارهای فضایی متعدد هر پروتئین یکی از آنها در شرایط فیزیولوژیک غالب بوده واز نظر ترمودینامیکی پایدارترین می باشد که به آن ساختار طبیعی(native) می گویند. بنابراین هر پروتئین درساختار طبیعی ساختمان سه بعدی (Three-Dimensional structure) ویژه ای دارد. ایجاد عملکرد هر پروتئین متاثر از آرایش فضایی آن می باشد.

Scanned by CamScanner

ساختمان طبیعی پروتئین ها توسط پیوندهای کووالانسی و همچنین پیوندهای غیر کووالانسی ضعیف تثبیت و پایدار می گـردد. پیوند های پپتیدی بخاطر داشتن خاصیت پیوند دو گانه و محدودیت چرخش گروه ها حول پیوند، نقش مهمی در ایجاد ساختمان فضایی پروتئین ها و عمل زیستی آنها دارند. سـایر پیوندهایی که درایجاد آرایش فضایی پروتئین ها دخالت دارند شامل پیوندهای دی سـولفیدی (-S-S-) و همچنین پیوندهای ضـعیف مانند پیـوندهای هیدروژنی، نیـروهـای جـاذبه الکتـرو اسـتـاتیک و یـونی (Ionic)، میـان کنـش هـای آبگـریز ونیروهای واندروالسی(Van der Waals) می باشند (شکل ۲۱-۳).



شکل ۲۱-۳. انواع پیوندهای ضعیف

ساختمان پروتئین ها درچهار سطح، اول، دوم، سوم وچهارم قابل بررسی است. اگر چه ساختمان سوم و چهارم الزاما در تمام پروتئین ها وجود ندارند.

Scanned by CamScanner

۳-۱۳ توالی اسید های آمینه در یک پروتئین ساختمان اول آن را بوجود می آورد.

انواع و ترتیب قرار گرفتن اسیدهای آمینه در زنجیره پروتئینی را ساختمان اول (Primary structure) می نامند. عامل بوجود آورنده و پایدار کننده ساختمان اول هر پروتئین پیوندهای پپتیدی می باشند. وجود پیوندهای -S-S- درون یک زنجیره پلی پپتیدی (Intrachain) جزء ساختمان اول آن پروتئین می باشد. اطلاعات مربوط به ردیف اسیدهای آمینه تعیین می کند که یک پروتئین چگونه در ابعاد مختلف تا خورده و لذا ساختمان سه بعدی پروتئین و نهایتا خواص و اهمیت زیستی آن را تعیین می نماید.

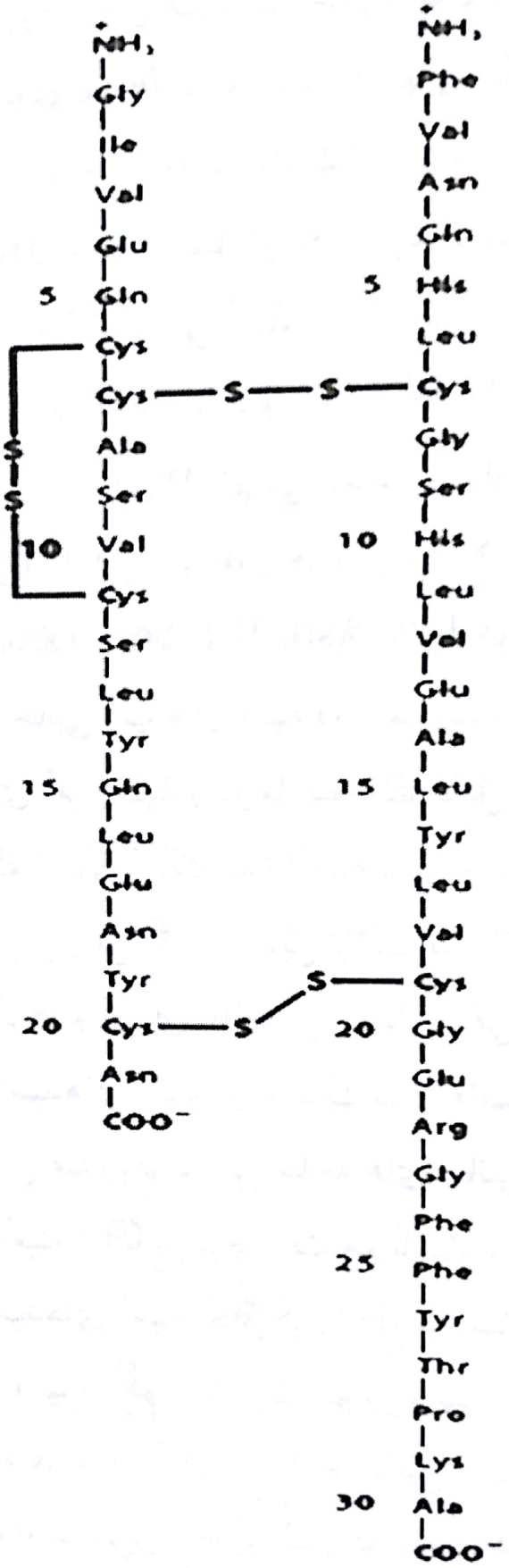
شکل ۲۲-۳ ساختمان هورمون انسولین را نشان می دهد. انسولین هورمون تنظیم کننده قند خون دارای ۵۱ اسید آمینه بوده و از دو زنجیره پلی پپتیدی A (۲۱ اسیدآمینه) و B (۳۰ اسیدآمینه) تشکیل شده است. در رشته A یک باند S – S وجود داشته ودو زنجیره A و B توسط دو باند -S-S- بهم متصل هستند.

ترتیب اسید های آمینه در زنجیره پلی پپتیدی با استفاده از روش های شیمیایی و یا با تعیین توالی نوکلئوتیدهای ژن کد کننده پروتئین بدست می آید. در روش های شیمیایی پروتئین ها را در اسید کلریدریک ۶ مولار و درحرارات $110^{\circ}C$ بمدت ۷۲-۱۶ ساعت قرار می دهند تا پیوندهای پپتیدی هیدرولیز شده واسیدهای آمینه آزاد گردند. سپس اسیدهای آمینه توسط معرفهای شیمیایی مانند نین هیدرین (Ninhydrin) وفنیل ایزوتیوسیانات (Phenylisothiocyanate) بصورت کیفی و کمی شناسایی و اندازه گیری می شوند.

۳-۱۴ آرایش های فضایی در نواحی خاصی از زنجیره پلی پپتیدی ساختمان دوم پروتئین ها را می سازند.

ارتباط اسیدهای آمینه نزدیک بهم در زنجیره پلی پپتیدی ساختمان دوم (Secondary Structure) پروتئین ها را تشکیل می دهد. ساختمان دوم مقدمه ای برای ایجاد شکل فضایی یک پروتئین است. در بعضی نواحی از زنجیره پلی پپتیدی، پیوندهای هیدروژنی درون ملکولی تشکیل می گردد. در این صورت زنجیره پلی پپتیدی به گونه ای بر روی خود تا می خورد که آرایش های فضایی پایدار و ویژه ای ایجاد می گردد. این آرایش های فضایی که در نواحی خاصی از زنجیره پلی پپتیدی تشکیل می گردند ساختمان دوم پروتئین ها را بوجود می آورند. دو نوع اصلی ساختمان دوم در پروتئین ها وجود داشته وعلاوه بر آن ها ساختمان های فرعی نوع دوم نیز مشاهده می شوند.

Scanned by CamScanner



شکل ۲۲-۳. ساختمان هورمون انسولین

Scanned by CamScanner

۱- مارپیچ آلفا (α-helix) یک نوع از ساختمان دوم پروتئین ها است.

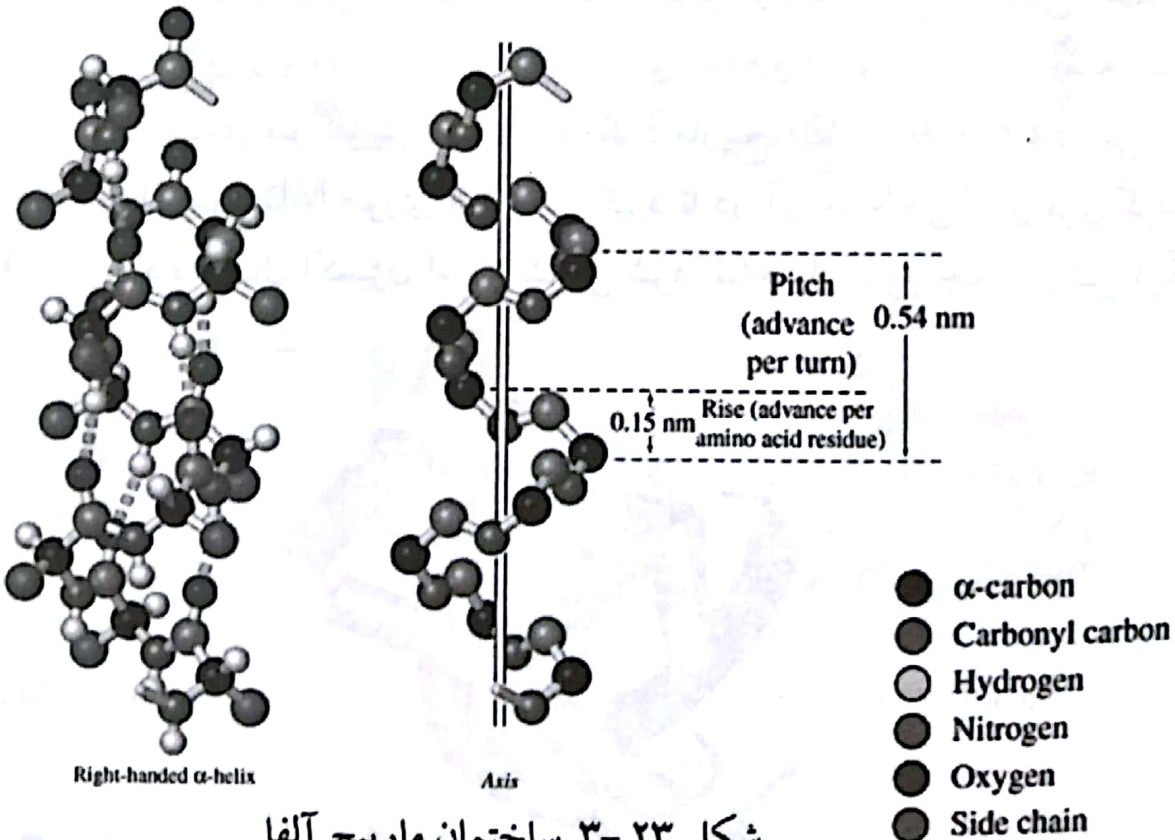
در مارپیچ آلفا زنجیره پلی پپتید طوری روی هم تا می خورد که‌به شکل‌مارپیچ در می آید. در مارپیچ آلفا جهت چرخش از بالا (انتهای N) به پائین (انتهای C) بصورت راست گرد (right-handed)و در جهت عکس چرخش عقربه ساعت است. عامل پایداری ساختمان مارپیچ آلفا برقراری پیوند هیدروژنی بین اکسیژن عامل کربنیل از یک پیوند پپتیدی(p) در سمت انتهای N با هیدروژن NH در پیوند پپتیدی چهارم (p+۳) می باشد. از مشخصات مارپیچ آلفا این است که در هر دور(turn) آن حدود ۳/۶اسید آمینه وجود دارد و دیگر اینکه حلقه ای(loop) که در نتیجه تشکیل پیوند هیدروژنی ایجاد می گردد دارای۱۳ اتم می باشد. فاصله ای که هر اسید آمینه در مارپیچ آلفا طی می کند ۰/۱۵ نانومتر(nm) بوده و طول هر دور برابر۰/۵۴ نانومترمی باشد (شکل ۳-۲۳). وجود اسیدهای آمینه Glu. Arg. Lys. Asn. Thr. Ser. Leu.Gly و Pro موجب ناپایداری مارپیچ آلفا می گردد. شاخه جانبی اسیدهای آمینه در سمت بیرونی مارپیچ قرار می گیرند. میان کنش زنجیره های جانبی اسید های آمینه مجاور در مارپیچ آلفا عامل مهمی در پایداری زنجیره پلی پپتید می باشد. در مارپیچ های آلفا معمولاً یک اسید آمینه بازی و یک اسید آمینه اسیدی در فاصله تقریبا سه اسید آمینه نسبت به هم قرار می گیرند. بدین ترتیب پس از طی یک پیچ شاخه های جانبی آنها در نزدیکی یکدیگر قرار گرفته و نیروی جاذبه بین بارهای منفی و مثبت موجود در شاخه ها موجب پایداری مارپیچ می گردد. اسیدهای آمینه آروماتیک نیز به فاصله سه اسید آمینه نسبت به هم قرار می گیرند تا امکان میان کنش هیدروفوب بین شاخه های جانبی آنها به پایداری مارپیچ کمک نماید. اما وجود چندین اسید آمینه Glu در مجاورت هم باعث ناپایداری مارپیچ می گردد زیرا بارهای منفی شاخه های جانبی اسیدهای آمینه یکدیگر را دفع می نمایند. به دلیل مشابه، وجود چندین اسید آمینه بازی مانند آرژنین و لیزین در مجاورت هم نیز باعث تخریب ساختمان مارپیچ می‌گردد. لازم به ذکر است که وجود اسیدآمینه پرولین در زنجیره پلی پپتیدی باعث ناپایداری و باز شدن مارپیچ آلفا می گردد. زیرا اتم ازت مربوط به پرولین که در تشکیل پیوند پپتیدی شرکت می‌نماید در داخل حلقه قرار گرفته و فاقد هیدروژنی است که بتواند پیوند هیدروژنی تشکیل دهد. بنابراین سبب کج شدن زنجیره پلی پپتیدی شده و مانع تشکیل مارپیچ می شود. حجم و شکل شاخه های جانبی اسیدهای آمینه Thr, Ser و Cys نیز به نحوی است که هرگاه در مجاورت هم واقع شوند موجبات ناپایداری مارپیچ آلفا را فراهم می نمایند.

Scanned by CamScanner

۲- صفحات چین خورده بتا (β-Pleated sheet) نوع دیگری از ساختمان دوم پروتئین ها است.

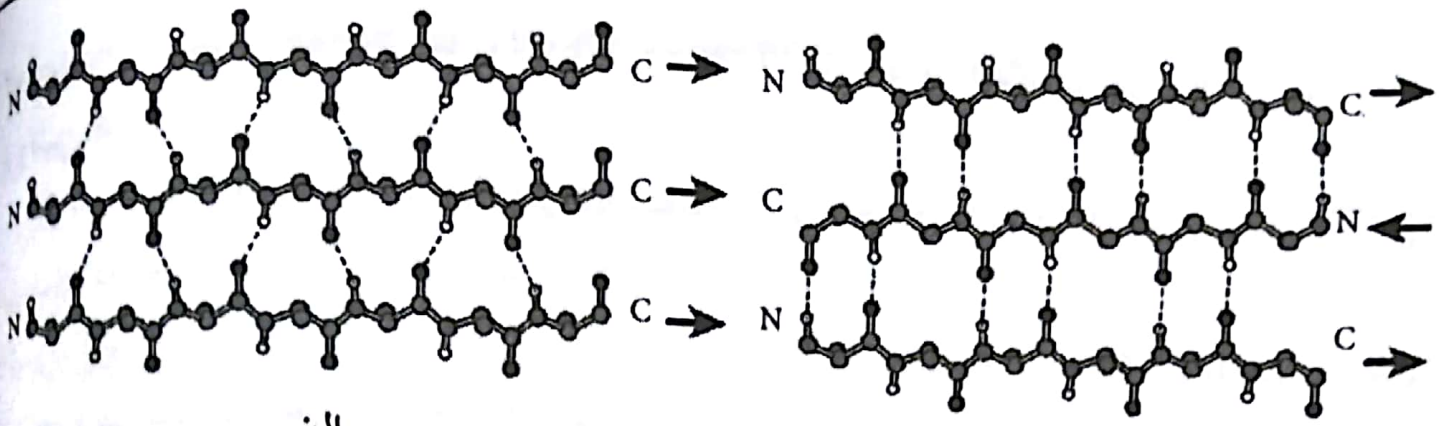
در این نوع ساختمان پروتئین ها بصورت صفحات چین خورده یا زیگزاگ درمی آیند. در این ساختمان دو بخش از زنجیره پلی پپتیدی کنار هم قرار گرفته و ازطریق پیوندهای هیدروژنی بین اکسیژن گروه کربنیل پیوندهای پپتیدی از یک زنجیره پلی پپتیدی باهیدروژن -NH- پیوندهای پپتیدی از زنجیره پلی پپتید ی مجاور، به یکدیگر متصل می شوند. ایجاد پیوندهای هیدروژنی به نحوی است که این بخش ها از زنجیره پلی پپتیدی بصورت صفحات چین خورده مجاور هم قرارمی گیرند. دراین ساختمان، زنجیره های پلی پپتیدی مجاور، ممکن است بصورت موازی (parallel) و هم سو یا موازی ناهم سو (Anti-parallel) باشند. اگر قطعات پلی پپتیدی هم سو باشند و انتهای N یک رشته در مجاور انتهای N رشته دیگر قرار گیرد در این صورت ساختمان صفحات چین خورده موازی همسو (parallel-Pleated sheet) (شکل۲۴-۳-الف) نامیده می شود. درصورتیکه انتهای N یک رشته روبروی انتهای C رشته دیگر قرار گیرد، آن ساختمان، صفحات چین خورده موازی نا هم سو

(Anti - parallel β-Pleated sheet) (شکل ۲۴-۳- ب) نامیده می شود. فاصله دو اسید آمینه متوالی درساختمان صفحات تا خورده بتا نسبت به مارپیچ آلفا زیادتر است. باید اشاره کرد که زنجیره های پلی پپتیدی در صفحات چین خورده کاملا کشیده (Fully-extended) هستند.



شکل ۲۳ -۳. ساختمان مارپیچ آلفا

Scanned by CamScanner

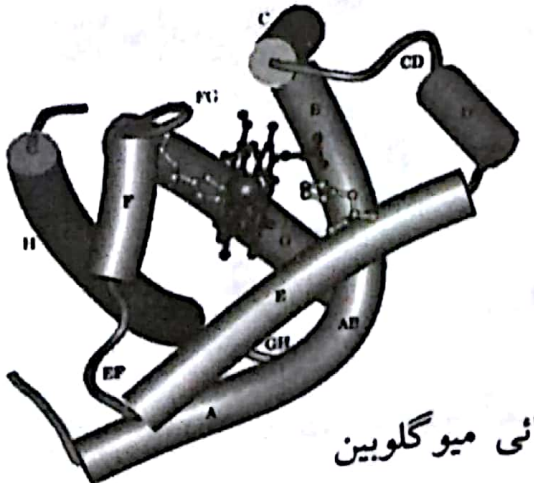


شکل ۲۴-۳.ساختمان صفحات چین خورده بتا موازی هم سو(الف) و موازی ناهمسو(ب)

۳- ساختمان سوم (Tertiary structure) پروتئین ها چگونگی قرار گرفتن اتم های تشکیل دهنده آن نسبت به یکدیگر در فضای سه بعدی می باشد.

درساختمان سوم پروتئین ارتباط فضایی اسیدهای آمینه ای که در فاصله های دورتری از یکدیگر قرار دارند مشخص می گردد. بعد از تشکیل ساختمان دوم در یک پلی پپتید محلول در آب، پروتئین تمایل دارد به حالت کروی (Globular) در آید تا از پایداری بیشتری برخوردار گردد. این پدیده را تاخوردگی سه بعدی (Folding) می گویند. ایجاد عوامل پایدار کننده ساختمان سوم پروتئین ها شامل پیوندهای دی سولفیدی درون مولکولی و پیوندهای ضعیف مانند پیوندهای هیدروژنی، نیروهای جاذبه الکترواستاتیک و یونی و میان کنش های آبگریز در زنجیره پلی پپتید می باشند.

میوگلوبین(Mb) نمونه ای از پروتئین دارای ساختمان سوم بوده و دارای ۱۵۳ اسید آمینه است. بخش اعظم زنجیره پلی پپتیدی میوگلوبین به صورت هشت مارپیچ آلفا (از A تا H) در می آید (شکل ۲۵- ۳). ساختمان سوم Mb طوری شکل می گیرد تا در آن جایگاهی برای قرار گرفتن گروه Heme که جایگاه اتصال اکسیژن است تشکیل شود. ساختمان سوم چند پروتئین دیگر درحاشیه ۳-۳ نشان داده شده است.



شکل ۲۵-۳. ساختمان فضائی میوگلوبین

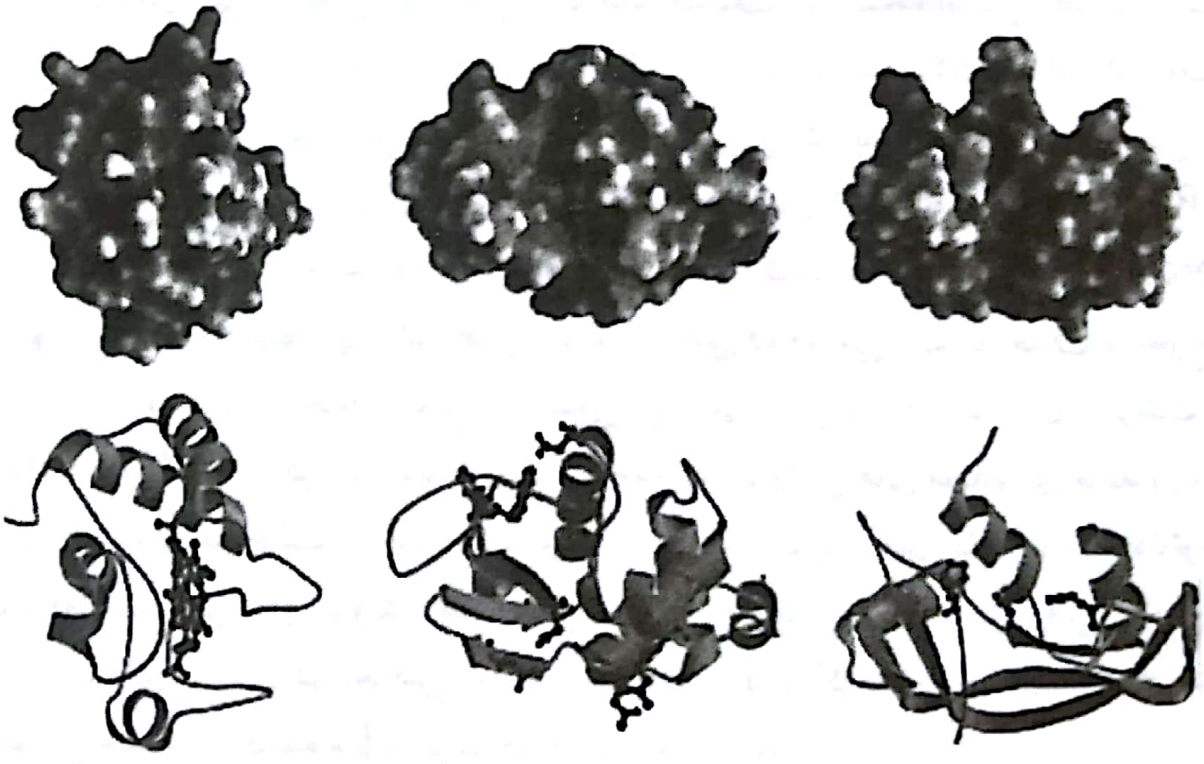
Scanned by CamScanner

حاشیه ۳-۳ ساختمان سوم چند پروتئین نمونه

ریبونوکلئاز (Ribonuclease) یک آنزیم پلی پپتید کروی و کوچک است که از پانکراس ترشح شده و موجب هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک می گردد. در ساختمان آن α-Helix ، پیچ های β و قطعات مارپیچی نامنظم وجود دارند. پیچ های β (β- Turn)، شامل ۳ یا ۴ اسید آمینه است که اسید آمینه اول و آخر توسط پیوند هیدروژنی بهم ارتباط دارند ولی اسیدهای آمینه میانی با هم ارتباط ندارند. پیچ های β واحدهای ارتباطی بین انواع ساختمان های دوم است و وجود آنها جهت ایجاد ساختمان سوم و حالت محلول پروتئین لازم می باشد.

Lysozyme آنزیم پلی پپتیدی است که هیدرولیز کننده دیواره باکتری ها است که در سفیده تخم مرغ و اشک چشم وجود دارد و دارای قسمت های α-Helix و صفحات تاخورده بتا می باشد. در ساختمان آن شکاف طویلی برای قرار گرفتن سوبسترا قرار دارد.

Cytochrome C از پروتئین های پلی پپتیدی زنجیره تنفسی بوده و دارای یک گروه Heme است که بصورت کووالانسی به آن متصل است. درساختمان آن α-Helix و پیچ های β و قطعات مارپیچی نامنظم وجود دارند.



Cytrochrome C Lysozyme Ribonuclease

Scanned by CamScanner

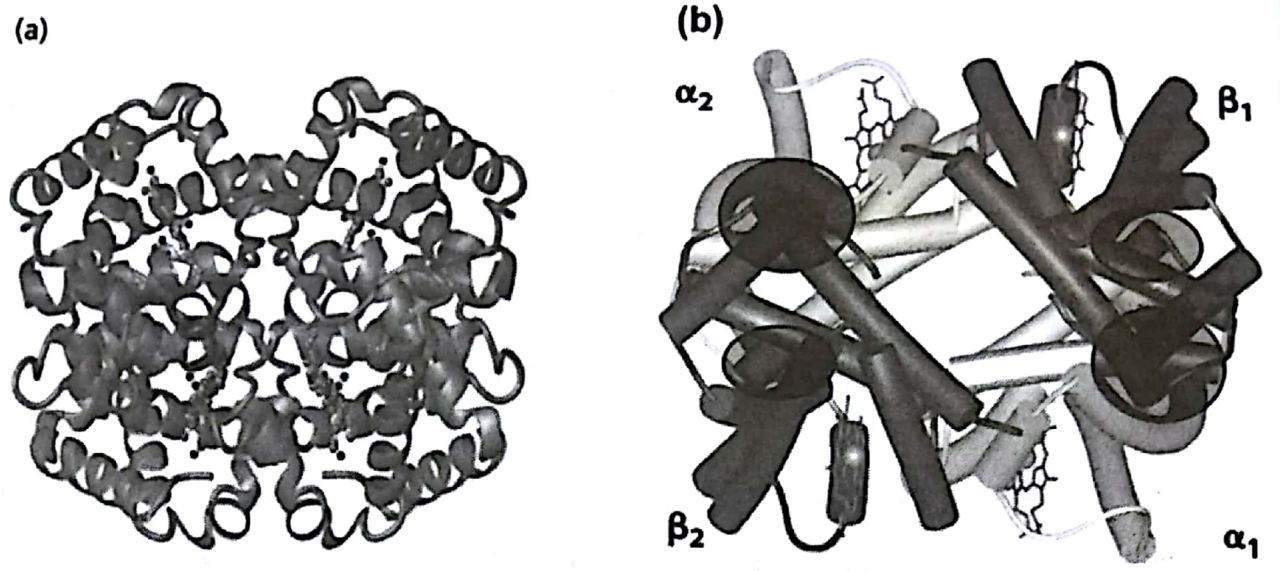
٤- تجمع چند زنجیره پلی پپتیدی دارای ساختمان سوم، ساختمان چهارم پروتئین را تشکیل می دهد.

از گرد هم قرار گرفتن دو یا چند زنجیره پلی پپتیدی دارای ساختمان سوم، ساختمان چهارم(Quaternary structure) پروتئین ها تکوین می یابد. ساختمان چهارم مربوط به پروتئین های چند واحدی (oligomeric) بوده و ممکن است از زیر واحد های یکسان و یا مختلف تشکیل شده باشند. عوامل پایدار کننده ساختمان چهارم پروتئین ها شامل اتصالات ضعیف مانند نیروهای هیدروفوبیک، پیوندهای هیدروژنی، اتصالات الکترواستاتیک ونیروهای واندروالس و بعضی مواقع پیوندهای -S-S- بین مولکولی می باشند.

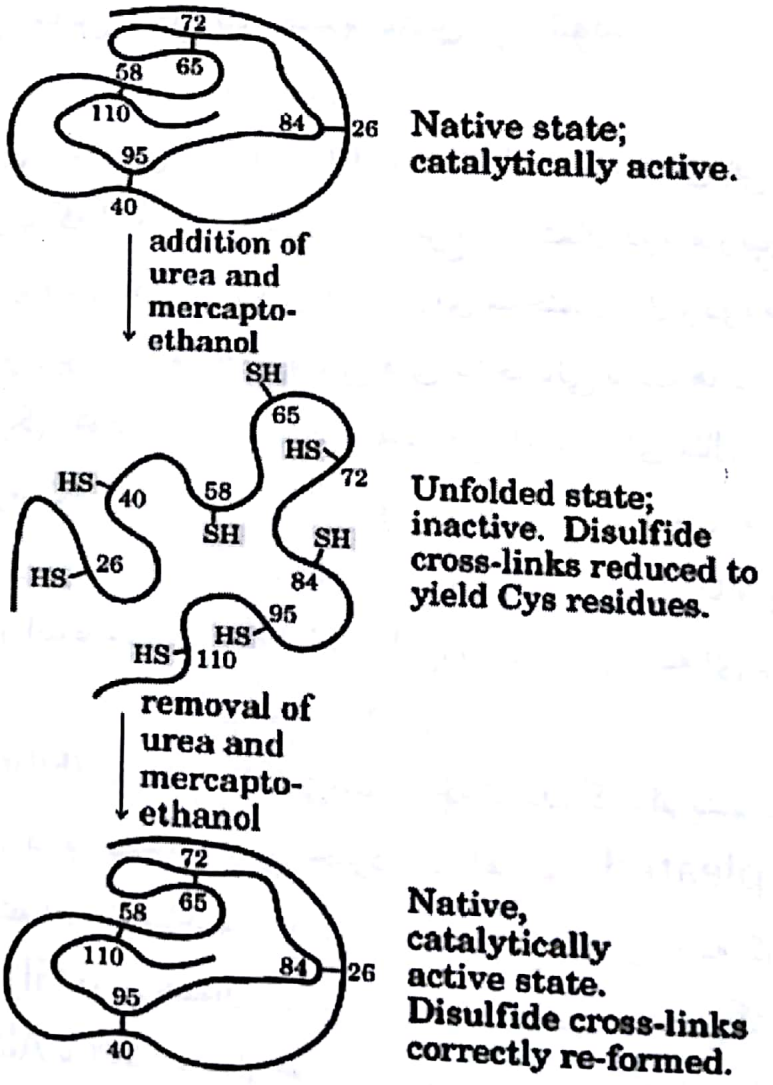
ساختمان هموگلوبین یک نمونه از ساختمان چهارم است. این پروتئین از چهار زنجیره پلی پپتیدی ($\alpha_2\beta_2$) تشکیل شده است. (شکل ۲۶ - ۳). هر زنجیره دارای یک گروه Heme است که جایگاه اتصال اکسیژن می باشد.

معمولا هر پروتئین در شرایط فیزیولوژیک دارای پایدارترین آرایش فضائی خود می باشد. این آرایش فضایی از نظر زیستی فعال بوده و دراین حالت به آن پروتئین طبیعی (native) گفته می شود. حضور عوامل مختلف فیزیکی (مانند گرما واشعه) و یا عوامل شیمیایی (اسید، باز، یون های فلزی و حلال های آلی) منجر به شکستن پیوندهای ضعیف ودر نتیجه از بین رفتن ساختمان های دوم ، سوم و چهارم پروتئین ها می گردند. این حالت را دناتوره شدن (Denaturation)، تغیر ماهیت پروتئین و یا واسرشت می گویند. معمولا تحت این شرایط فعالیت بیولوژیکی پروتئین کاهش یافته ویا به کلی از بین می رود. شکل ۲۷-۳ حالت فعال آنزیم Ribonuclease را نشان می دهد که حضور موادی مانند اوره و یا ترکیبات احیاء کننده مثل β-mercaptoethanol سبب دناتوره شدن آن شده و پروتئین بصورت غیر تا خورده در می آید. با حذف و خارج کردن این ترکیبات، پروتئین مجددا بحالت طبیعی بر می گردد که به آن سرشت مجدد (Renaturation) می گویند. پدیده سرشت مجدد در پروتئین های محدودی مانند ریبونوکلئاز انجام پذیر است ولی در غالب پروتئین ها دناتوره شدن برگشت پذیر نمی باشد. در اثر دناتوره شدن حلالیت و فعالیت بیولوژیکی پروتئین ها کاهش می یابد. همچنین بدلیل از بین رفتن آرایش فضایی پروتئین، پیوندهای پپتیدی در معرض محیط آبی اطراف قرار گرفته و احتمال شکسته شدن آنها توسط عوامل هیدرولیز کننده مانند آنزیم ها افزایش می یابد.

Scanned by CamScanner



شکل ۲۶-۳ - ساختمان چهارم هموگلبین



شکل ۲۷-۳ دناتوره شدن ریبونوکلئاز

Scanned by CamScanner

حاشیه ٤-۳ اندازه گیری همو گلوبین گلیکوزیله درتشخیص دیابت اهمیت دارد.

همو گلوبین گلیکوزیله (Glycosylated Hemoglobin,HbA1c) درنتیجه اضافه شدن غیر آنزیمی واحد های گلوکز به انتهای آمینی زنجیره β در هموگلوبین حاصل می شود. مقدار HbA1c در گلبول های قرمز بستگی به مقـــــــدار گلوکز خون دارد. بنابراین در بیماری دیابت به علت افزایش قند خون(Hyperglycemia) میزان HbA1c افزایش می یابد. لذا اندازه گیری آن در گلبول های قرمز در تشخیص، شدت بیماری و یا پیگیری وضعیت بیمار طی درمان حائز اهمیت می باشد. برخلاف غلظت گلوکز خون که به سرعت ممکن است در طول روز تغییر کند، HbA1c دارای دوام طولانی تری در خون است و لذا معیاری دقیقتر از گلوکز خون می باشد. قابل ذکر است که در بیماری دیابت به جز هموگلوبین سایر پروتئین ها نیز گلیکوزیله می شوند که تشکیل پروتئین های گلیکوزیله نقش زیادی در بروزعلائم وعوارض بیماری دارند.

۳-۱۵ پروتئین ها بر اساس شکل نیز تقسیم بندی می شوند.

پروتئین ها بر اساس شکل به دو گروه تقسیم می شوند:

الف - پروتئین های رشته ای (Fibrous proteins): زنجیره های پلی پپتیدی این پروتئین‌ها به گونه ای تا می خورند که ایجاد تنها یکی از دو نوع ساختمان دوم مارپیچ آلفا و یا صفحات چین خورده می نمایند. پروتئین های رشته ای فقط دارای ساختمان اول و دوم می باشند. پروتئین‌های رشته ای در آب نامحلول بوده و بعنوان پروتئین های ساختمانی بافت ها بر حسب نوع ساختمان دوم دارای خواص مکانیکی خاص و وظائف مشخصی می باشند. برای مثال آلفا - کراتین، پروتئین رشته ای اساسی در پوست، پشم، مو و ناخن بوده و دارای ساختمان مارپیچ آلفا می باشد. کلاژن(Collagen) پروتئین اساسی در استخوان، بافت پیوندی، دندان ها و پوست است و دارای مارپیچ خاصی است. در اینجا ساختمان چند نمونه از پروتئین های رشته ای بررسی می گردد.

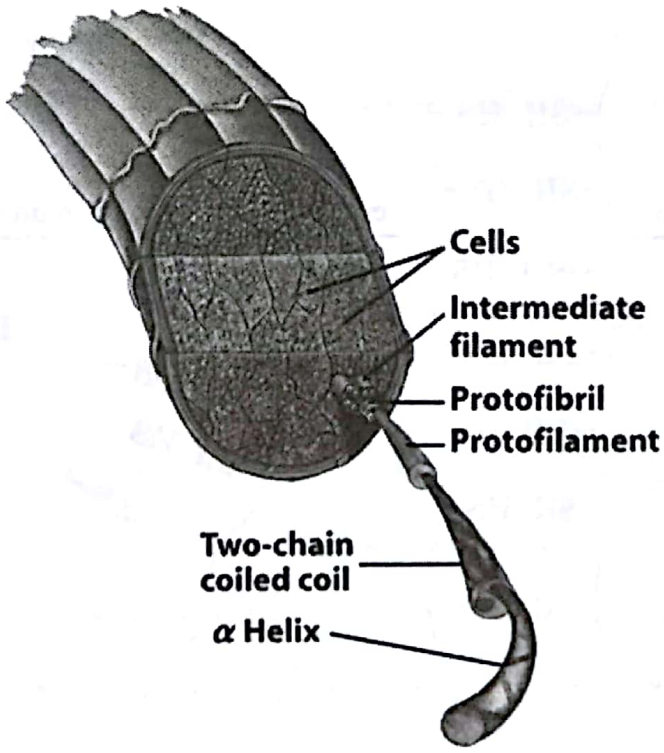
۱ - **فیبروئین**(Fibroin): پروتئین رشته ای است که توسط کرم ابریشم تنیده می شود و از نظر ساختاری دارای ساختمان دوم صفحات چین خورده بتا ناهمسو (Antiparallel β-pleated sheet) می باشد. از اختصاصات ساختمانی فیبروئین وجود اسیدهای آمینه کوچک و تکرار توالی Gly – Ala – Gly – Ser در ساختمان آن می باشد. در توالی مذکور یک در میان Gly وجود داشته و اسید آمینه بعدی Ala یا Ser است. از خواص دیگر این پروتئین انعطاف پذیری(flexiblity) و غیر قابل کشش (inextensible) بودن آن است.

Scanned by CamScanner

۲ - کراتین ها (Keratins): شامل α-کراتین و ß-کراتین می باشند.

α- کراتین (α- Keratin) درساختمان مو و پشم ولایه خارجی پوست وجود داشته و تقریبا تمامی وزن خشک آنها را تشکیل می دهد. این پروتئین دارای ساختمان مارپیچ آلفا بوده واز پروتئین های اسکلت سلولی از نوع فیلامنت های متوسط (Intermediate filaments, IF) می باشد. برای تشکیل این فیلا منت های متوسط، دو رشته مارپیچ آلفا که هر کدام راست گرد می باشند در جهت مخالف (چپ گرد) بهم پیچ خورده و ایجاد چنبره های پیچ خورده (coiled coil) می نمایند، سپس واحدهای چنبره های پیچ خورده به نحوی کنار هم قرار می گیرند که بترتیب ساختمان های منظم پروتوفیلامنت (Protofilament) و پروتوفیبریل (Protofibril) را تشکیل دهند. از ترکیب چهار پروتوفیبریل، فیلامنت های متوسط بوجود می آیند که واحد های اساسی در سلول های مو هستند. این نوع سازماندهی در پروتئین هایی که فقط دارای ساختمان دوم هستند به عنوان ساختمان های مافوق دوم، سوم ویا چهارم بحساب می‌آیند (شکل۲۸-۳) .

قدرت بالا و عدم انعطاف پذیری (بعلت وجود پیوندهای S-S) از اختصاصات ساختمانی α- کراتین می باشد. بعلاوه با داشتن خاصیت ارتجاعی طول آن بر اثر حرارت افزایش می یابد که بعد از سرد شدن طول اولیه را به دست می آورد. ساختمان آلفا - کراتین غنی از اسیدهای آمینه هیدروفوب (Ala,Val,Leu,Phe,Met,Ile) می باشد. وجود پیوندهای - S-S- در ساختمان آلفا - کراتین نقش مهمی در پایداری ساختمان آن دارد. حاشیه ۵-۳ نقش پیوند های دی سولفیدی را در فر زدن مو نشان می دهد.



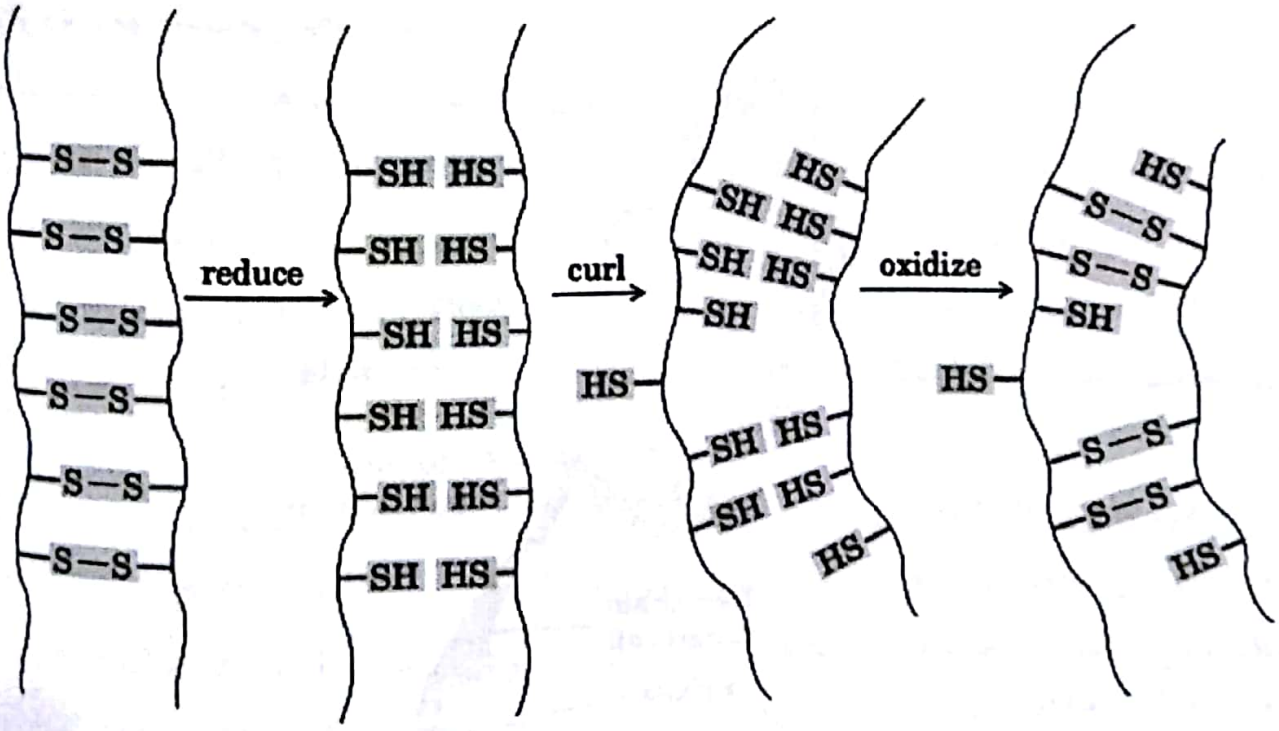
شکل ۲۸-۳. مقطع عرضی یک تار مو و سازمان دهی α-کراتین درسلول های مو

Scanned by CamScanner

بتا - کراتین (β-Keratin) در مو، پوست، چنگال، منقار و پوست خزندگان و پرندگان وجود دارد و ساختمان دوم آن بصورت صفحات چین خورده ناهمسو (Antiparallel β-pleated sheet) است.

حاشیه ۵-۳ اساس فر زدن مو

در اثر حرارت ویا رطوبت پیوندهای هیدروژنی در مارپیچ آلفا شکسته و در نتیجه طول مو افزایش می یابد ولی باسردشدن به علت برقراری مجددپیوندهای هیدروژنی دوباره به حالت اولیه بر می گردد. در فر زدن مو ماده ای احیاء کننده به مو اضافه شده که پیوندهای -S-S- را احیا کرده وبصورت HS-HS در می آورد. دراین هنگام می توان رشته های مو را با کمی حرارت به حالتهای مختلف درآورد. سپس ماده اکسید کننده به مو اضافه می شود تا پیوندهای -S-S- در شرایط جدید تشکیل گردند. منتهی بعلت تغیر شکل مو پیوندها در موقعیت های جدیدی تشکیل شده و فر مو ایجاد می شود. البته این تغییرحالت در مو دائمی نیست و بعد از فرسایش و یا ریزش مو و با رویش جدید مو پیوندهای S-S درموقعیت های اولیه تشکیل می گردند.



Scanned by CamScanner

۳- **کلاژن** (Collagen) فروان ترین پروتئین رشته ای در بدن انسان بوده و ۲۵٪ پروتئین های بدن را تشکیل می دهد. کلاژن از رشته های نامحلولی که دارای قدرت کششی زیادی است تشکیل شده و پروتئین اصلی ساختمانی در استخوان ها، پوست، تاندون ها و دندان ها می باشد. فرم محلول آن که از حیوانات جوان و نابالغ استخراج می شود، تروپوکلاژن (Tropocollagen) نام دارد. کلاژن از تجمع تعداد زیادی تروپوکلاژن تشکیل می گردد. تروپوکلاژن از سه رشته پلی پپتید تشکیل شده که هر رشته حدود ۱۰۰۰ اسید آمینه دارد. ردیف های اسیدهای آمینه Gly-X-Pro و یا Gly-X-OH Pro بصورت تکراری درساختمان تروپوکلاژن وجـــود دارند. یک سوم از اسیدهای آمینه موجود درساختمان کلاژن Gly بوده و تعداد Pro درساختمان کلاژن از پروتئین های دیگر بیشتر است. بعلاوه کلاژن دارای اسیدهای آمینه ای مانند ۴ - هیدروکسی- پرولین(4-OH Pro) و ۵- هیدروکسی لیزین (5-OH Lys) می باشد که در پروتئین ها ی دیگر وجود ندارد. این دو اسید آمینه بعد از ساخته شدن زنجیره پلی پپتیدی پیش ساز ترپوکلاژن، از هیدروکسیلاسیون پرولین (وتعداد کمتری لیزین) در آن حاصل می شوند. هیدرو کسیلاسیون بترتیب توسط آنزیم های پرولین هیدروکسیلاز (Pro.hydroxylase) و لیزین هیدروکسیلاز (Lys.Hydroxylase) انجام می شود. این آنزیم ها برای فعالیت خود نیاز به ویتامین C دارند. نقش ویتامین C نگهداری یون آهن بفرم احیا (Fe^{2+}) در جایگاه فعال آنزیم است. واحدهای قند بصورت دی ساکارید (Gal-Glu) نیزبه برخی از لیزین های هیدروکسیله در پلی پپتید تازه ساخته شده اضافه می گردند. درتروپوکلاژن سه رشته پلی پپتید بصورت مارپیچ چپ گرد (Left-handed) وجود دارند که به صورت راست گرد دور هم پیچ خورده و ایجاد یک کابل محکم می نمایند(شکل ۲۹-۳). در هر پیچ تروپوکلاژن ۳ اسید آمینه و درلوپ حاصل از تشکیل باند هیدروژنی ۱۰ اتم شرکت دارند.

آرایش ۳۱۰ در تروپوکلاژن پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره ای (Interchain) بین NH- پیوند پپتیدی از گلیسین در یک رشته و C = O در پیوند پپتیدی مربوط به گلیسین در رشته دیگر تشکیل می شوند . چنین پیوند های هیدروژنی بین هیدروکسی پرولین از یک رشته با هیدروکسی پرولین از رشته دیگر نیز تشکیل می شوند. این پیوندها در پایداری ساختمان کلاژن نقش اساسی دارند. اسید آمینه گلیسین نقش کلیدی و مهم در ساختمان کلاژن دارد. لازم به ذکر است که در فضـــای کـوچک موجـود بین سه رشته، فقط شاخه جانبی اسید های آمینه کوچکی مانند گلیسین می توانند قرار بگیرند. شاخه های جانبی اسیدهای آمینه بزرگتر مانند پرولین و هیدروکسی پرولین در قسمت خارجی قرار می گیرند. تغییر گلیسین به یک اسید آمینه دیگر در ساختمان کلاژن مخرب است.

Scanned by CamScanner

در بیماری ارثی استخوان سازی ناقص (Osteogensis imperfecta)یا استخوان های شکننده (Brittle bone) اسید آمینه گلیسین شماره ۹۹۸ درانتهای C در کلاژن با سیستئین تعویض می گردد. جایگزین شدن گلیسین با اسید آمینه بزرگتری مانند سیستئین منجر به اختلال در تشکیل تروپوکلاژن سه رشته ای شده و در نتیجه در مراحل بعد اضافه شدن کریستال های فسفات کلسیم به واحدهای تروپوکلاژن نیز مختل می گردد، که در نهایت سبب عدم سازمان دهی واحدهای تروپوکلاژن و تشکیل کلاژن غیرطبیعی می شود. تجمع رشته های غیر طبیعی وسازمان نیافته موجب تغییر شکل استخوان ها (Skeletal deformity) و شکنندگی آنها می شود. یکی دیگر از عوامل پایدار کننده مارپیچ سه رشته ای کلاژن وجود هیدروکسی پرولین است که افزایش آن موجب استحکام و پایداری بیشتر آن می گردد. نقص در هیدروکسیلاسیون بدلیل کمبود ویتامین C موجب تشکیل کلاژن غیر طبیعی و ضایعات پوستی می گردد که از عوارض بیماری اسکوروی (Scurvey) است .

لازم به ذکر است که به تدریج اتصالات عرضی (پیوندهای کووالانسی) در رشته های کلاژن پدیدار می شوند که موجب افزایش قدرت در رشته های کلاژن می گردند. افزایش سختی و شکنندگی بافت های پیوندی که با افزایش سن مشاهده می شود مربوط به همین اتصالات می باشند (حاشیه ۶-۳).



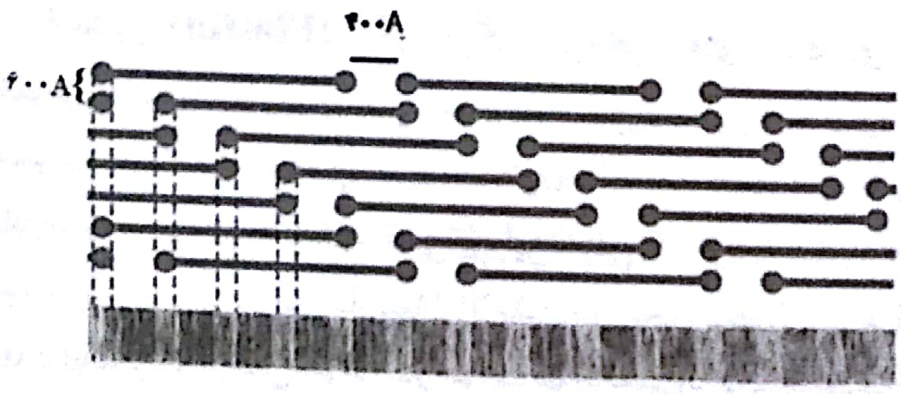
شکل ۲۹-۳. ساختمان سه رشته ای تروپو کلاژن

Scanned by CamScanner

حاشیه ٦-٣ رشته های کلاژن درماتریکس خارج سلول های فیبروبلاست سازمان دهی می شوند.

فرم پیش ساز کلاژن مولکول بزرگتری به نام پروکلاژن(Procollagen) است که در دو انتهای N و C خود دارای قطعات پپتیدی بنام پیش پپتید(Propeptide) می باشد. پیش پپتیدها عوامل مهمی در تشکیل Triple helix می باشند. دسته های پروکلاژن پس از ترشح از سلول های سازنده کلاژن (فیبروبلاست ها) درماتریکس خارج سلولی، توسط آنزیم های پروپپتیداز (Propeptidase) برش خورده، سپس با جدا شدن پیش پپتید ها به واحدهای تروپوکلاژن تبدیل می شوند. در بیماری ارثی به نام سندرم اهلر دانلس (Ehlers Danlos Syndrome) بعلت کمبود آنزیم های پروپپتیداز میزان پروکلاژن در پوست این بیماران افزایش می یابد. عوارض این بیماری کوتاهی قد (Short stature) ، کش آمدن پوست (Stretchable skin) و تحرک بیش از حد مفاصل (Hyperactive joints) می باشد.

رشته های تروپوکلاژن در خارج سلول های فیبروبلاست با آرایش خاصی در فیبریل های کلاژن سازمان دهی می شوند. در این فیبریل ها، واحدهای تروپوکلاژن با فاصله ای به دنبال هم قرارمی گیرند. به نحوی که فاصله بین انتهای N یک واحد با انتهای C واحد بعدی حدود ۴۰۰ A° می باشد. سپس واحد های تروپوکلاژن به نحوی مجاور هم قرار می گیرند (با فاصله ای حدود ۶۰۰A°) که هر واحد به اندازه $\frac{1}{4}$ طول خود با واحد مجاور هم پوشانی نداشته باشد. بدین ترتیب هر پنج واحد مجاور هم تنها در یک ناحیه با یکدیگر اشتراک دارند. این نواحی به صورت نوارهای روشن در تصویر الکترون میکروسکپی فیبریل های کلاژن مشاهده می شوند. اتم های فلزات سنگین که در هنگام تهیه تصاویر الکترون میکروسکپی در فواصل ۴۰۰A° بین واحدهای تروپوکلاژن رسوب می نمایند باعث می شوند تا این نواحی به صورت نوارهای تاریک مشاهده شوند. در استخوان ها در همین فواصل ۴۰۰ A° بین واحدهای تروپوکلاژن فسفات کلسیم قرار می گیرد. بنابراین استخوان ها از دو فاز آلی (کلاژن) و فاز معدنی (کریستال های فسفات کلسیم بصورت هیدروکسی آپاتیت $Ca_{10}(PO4)_6(OH)_2$) تشکیل شده اند.



تصویر کلاژن فیبریل مخطط

Scanned by CamScanner

حاشیه ٦-۳

به تدریج اتصالات عرضی در رشته های کلاژن پدیدار میشوند که موجب افزایش قدرت در رشته های کلاژن می گردند. افزایش سختی و شکنندگی بافت های پیوندی که با افزایش سن مشاهده می شود مربوط به همین اتصالات می باشند. این اتصالات دو نوعند.

۱- اتصالات عرضی که بین سه رشته یک واحد تروپوکلاژن و یا بین واحد های تروپوکلاژن مجاور هم تشکیل می شوند. این اتصالات در واقع پیوندهای کووالانتی ایجاد شده بین شاخه های جانبی تغییر یافته در اسیدهای آمینه لیزین (جداشدن گروه آمینی و اکسیده شدن کربن انتهایی اپسیلون (e) به عامل آلدئیدی) با یکدیگر می باشند.

۲- اتصالات عرضی بین واحدهای تروپوکلاژن بین ۵- هیدروکسی- لیزین از انتهای N یک واحد تروپوکلاژن با عامل کربوکسیل انتهای C واحد دیگر درفواصل A° 400 تشکیل می شوند. افزایش تعداد اتصالات عرضی موجب عدم حلالیت کلاژن می گردد.

خلاصه مراحل سنتز کلاژن در سلول های فیبروبلاست به ترتیب عبارتند از:

۱- سنتز رشته های پلی پپتیدی

۲- هیدروکسیله شدن برخی از بقایای Pro و Lys

۳- اضافه شدن واحدهای دی ساکارید به برخی از هیدروکسی لیزین ها

۴- تشکیل سه رشته ای های مارپیچ و ترشح در ماتریکس خارج سلول بصورت ملکول های پروکلاژن

۵- جدا شدن قطعات اضافی پپتیدی از دو انتهای C و N در خارج سلول و ایجاد ملکول های تروپوکلاژن

۶- کنار هم قرارگرفتن رشته های تروپوکلاژن با سازماندهی خاص

۷- ایجاد اتصالات عرضی و ایجاد رشته های نا محلول و بالغ کلاژن

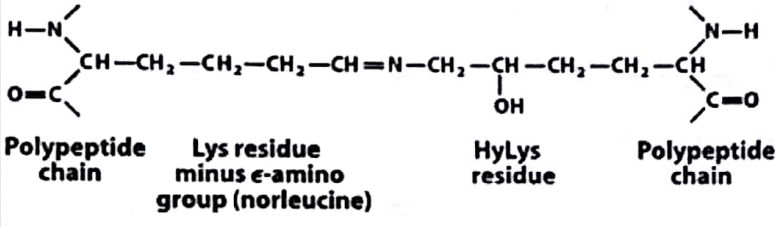
تعداد اتصالات عرضی متناسب با افزایش سن و یا نقش فیزیکی تغییر می نماید. مثلا در زرد پی آشیل تعداد اتصالات عرضی زیاد است. تعداد اتصالات عرضی با افزایش سن زیاد می شود. در افراد پیر، تاندون ها بدلیل افزایش تعداد اتصالات عرضی شکننده شده و پاره می شوند. چروکیدگی پوست نیز بدلیل افزایش اتصالات عرضی است.

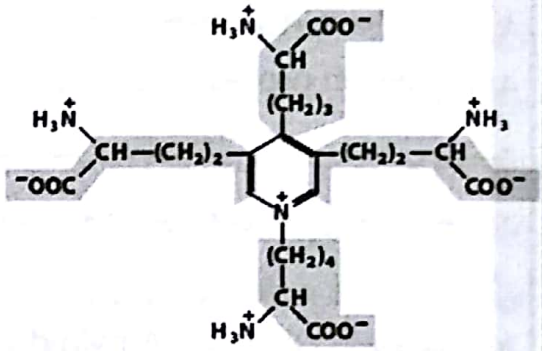
٤- الاستین (Elastin): یکی دیگر ازپروتئین های رشته ای و نامحلول است که خاصیت ارتجاعی(لاستیک مانند) و کش آمدن دارد. این پروتئین در دیواره عروق و رباط ها (ligaments) وهمچنین به مقدار کم در پوست و تاندون ها وجود دارد. در ساختمان آن مقدار گلیسین و پرولین زیاد بوده درصورتی که هیدروکسی پرولین خیلی کم بوده وهیدروکسی لیزین وجود ندارد. برخی از اسید آمینه های لیزین در ساختمان الاستین در ایجاد اتصالات عرضی نقش دارند (حاشیه ۸-۳). وجود اتصالات عرضی خاص در ساختمان الاستین باعث خاصیت ارتجاعی الاستین می گردد.

Scanned by CamScanner

حاشیه ۷-۳ اسید آمینه های لیزین در اتصالات عرضی درساختمان الاستین شرکت دارند.

در ساختمان Elastin دو نوع اتصال عرضی Desmosine و Lysinonorleucine وجود دارند. Desmosine شبکه خاصی است که در نتیجه اتصال چهار رشته الاستین تو سط سه زنجیره جانبی تغییر یافته مربوط به سه اسید آمینه لیزین و یک زنجیره جانبی لیزین بوجود می آید. Lysinonorleucine یک نوع اتصال عرضی است که بین دو رشته الاستین، توسط یک لیزین از یک رشته ویک لیزین اکسید شده بفرم آلدئیدی از رشته دیگر ایجاد می شود.





Lysinonorleucine Desmosine

ب- پروتئین های کروی(Globular proteins) : زنجیره پلی پپتیدی آنها به میزان زیادی در تمام جهات تا خورده و بصورت کروی در می آیند. این تا خوردگی به نحوی است که اسیدهای آمینه هیدروفوب در نواحی داخلی کره قرار گرفته و خود را از آب پنهان می نمایند. اسیدهای آمینه هیدروفیل در نواحی سطحی کره قرار گرفته با آب در تماس هستند. بنابراین این نوع پروتئین ها دارای ساختمان سوم هستند. بیش از یک نوع ساختمان دوم (مارپیچ آلفا و صفحات چین خورده) در آنها موجود می باشد. پروتئین های کروی مانند آنزیم ها، پروتئین های ناقل و پروتئین های تنظیم کننده همگی در آب محلول می باشند.

تاخوردن پروتئین ها (Folding) در مراحل مختلف و مرحله به مرحله انجام می شود. در صورتی که تاخوردن پروتئین ها انجام نشود و یا بدرستی انجام نشود پروتئین ها بصورت ذرات بهم

Scanned by CamScanner

چسبیده درآمده و رسوب می نمایند. تاخوردن صحیح پروتئین های کروی فرآیندی کنترل شده می باشد. پروتئین هایی مانند شاپرون ها (Chaperones) و (Protein disulfide isomerase) در ایجاد تاخوردن مناسب پروتئین ها دخالت دارند. برخی از بیماری ها مربوط به اختلال در نحوه تاخوردن پروتئین ها می باشند (حاشیه ۸-۳).

حاشیه ۸-۳ تاخوردن نادرست پروتئین ها (Misfolding) منجر به بیماری می شود

۱- بیماری های پرایونی(Prion diseases) شامل بیماری هایی مانند جنون گاوی (Mad cow disease) و بیماری کروتزفلدژاکوب(Creutzfeldt- Jakob disease) درانسان واسکراپی(Scrapie) درگوسفند می باشدکه انسفالیت های اسفنجی شکل نیز نامیده می شوند. زیرا که مغز افراد مبتلا به بیماری، مانند اسفنج متخلخل می شود. بیماران مبتلا به بیماری های پرایونی دچار زوال عقل می شوند. عامل بیماری زا پروتئینی به نام پریون (Prion protein) می باشد که از پروتئین های طبیعی مغز است ولی نقش آن مشخص نمی باشد. بیماری بعلت تغییر آرایش فضایی پروتئین (Conformational disease) است و پروتئین تغییر آرایش فضایی یافته درسلول های عصبی رسوب نموده و باعث بروز ضایعات مربوطه می گردد.

۲-بیماری آلزایمر(Alzheimer) مربوط به تشکیل پروتئینی به نام β-Amyloid است که در نتیجه تاخوردن نادرست عوارض عصبی و ضایعات مربوطه را ایجاد می نماید.

حاشیه ۹-۳ پروتئین ها نیمه عمر مشخصی دارند

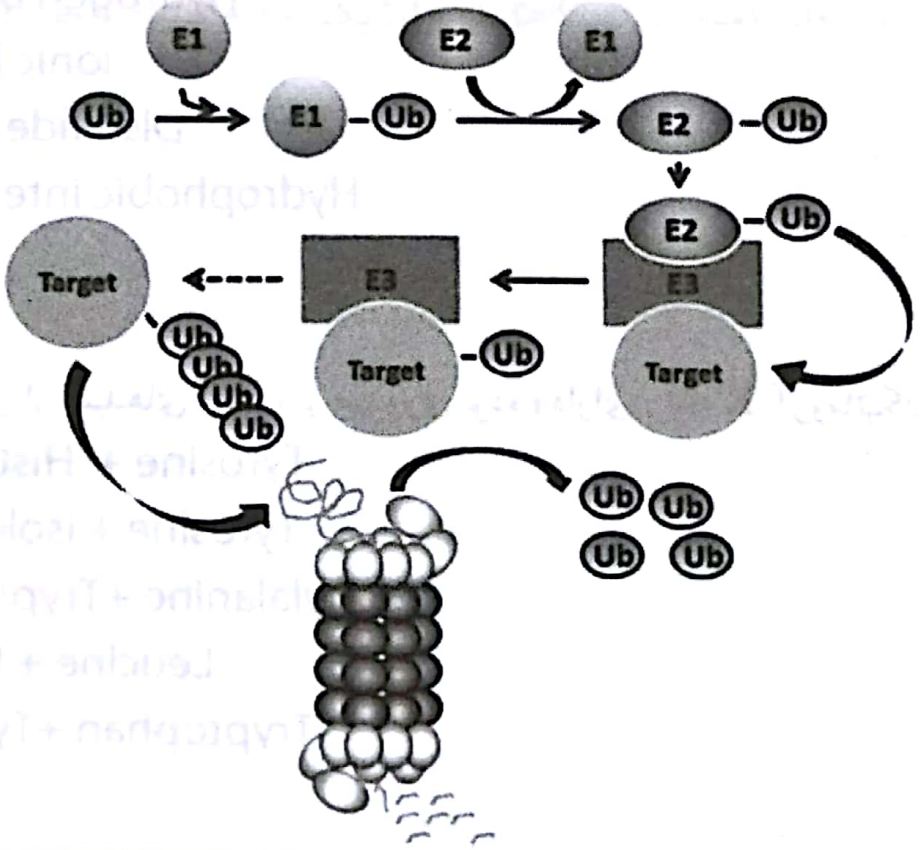
همه پروتئین های داخل سلولی و بیشتر پروتئین های خارج سلولی به طور مداوم در حال ریزش و رویش (Turn over) می باشند. یعنی به اجزاء ساختمانی تشکیل دهنده آمینو اسیدیشان تجزیه شده و مجدداً با ساخته شدن جایگزین می شوند. سرعت تخریب شدن از چند دقیقه برای برخی آنزیم های کنترلی، تا چند روز یا چند هفته برای پروتئین هایی مثل اکتین و میوزین در عضلات اسکلتی و یا چندین ماه برای هموگلوبین در سلول های خونی قرمز متغیر است. برای تضمین انجام تخریب به اندازه و انتخاب شده پروتئین های سلولی ، چندین سیستم پروتئولیزی در سلول وجود دارد. دو مسیر عمده این سیستم عبارتند از مسیر لیزوزومی ومسیر پروتئوزومی. در مقایسه با مسیر اول که نقش کمتری دارد، مسیر دوم حدود ۸۰٪ تخریب پروتئین ها در سلول را به عهده دارد. به علت اهمیت عمده این مسیر جایزه نوبل شیمی سال ۲۰۰۴، به شناسایی و معرفی این سیستم توسط دانشمندان تعلق گرفت.

Scanned by CamScanner

ادامه حاشیه ۹-۳

مسیر یوبیکوئتین-پروتئازوم (Ubiquitin Proteasome Pathway) در تنظیم نیمه عمر و در نتیجه میزان فعالیت پروتئین های در گیر در روند هایی مانند چرخه سلولی، جریان انتقال برخی پروتئین ها از هسته به سیتوپلاسم، مکانیزم های ترمیم DNA و مسیر های انتقال پیام داخل سلولی نقش دارد.

مسیر یوبیکوئتین – پروتئازوم مسیری عمده برای تغییرات پس از ترجمه پروتئین ها در سیستم های یوکاریوتی است . این مسیر همچنین درحذف پروتئین های آسیب دیده و بد تاخورده (Mis-folded) نقش اساسی دارد. در شکل زیر واکنش ها و آنزیم های(E)مسیر یوبیکوئتین – پروتئازوم خلاصه شده اند. در حقیقت در مسیر یوبیکوئیتینه شدن، ابتدا یک و یا زنجیره ای از چندین واحد از پروتئینی به نام یوبیکوئیتین (Ub: Ubiquitin) به پروتئین هدف وصل می شود. بدین ترتیب پروتئین هدف برای ورود به پروتئازوم به وسیله یوبیکوئیتین نشان دار می گردد. پروتئین یوبیکوئیتینه شده سپس به ساختمانی پروتئینی و استوانه ای شکل به نام پروتئازوم(proteasome 26S) جهت تبدیل شدن به پپتیدهای کوچکتر منتقل می شود. سپس پپتیدهای حاصل توسط پپتیدازهای سیتوپلاسم تخریب می‌گردند. عملکرد ناقص و نامناسب مسیر تخریب پروتئین وابسته به یوبیکوئیتین در تعداد زیادی از شرایط پاتولوژیک مانند برخی بیماری های سیستم اعصاب شامل بیماری آلزایمر، پارکینسون وهانتینگتون مشاهده شده است. همچنین تغییربیان بسیاری ازآنزیم های مسیر یوبیکوئتین- پروتئازوم در سرطان های مختلف گزارش شده است.



Scanned by CamScanner

سئوالات چند گزینه ای:

۱- فراوانترین پروتئین حیوانی کدام است ؟
الف – آلبومین
ب – الاستین
ج – هموگلوبین
د – کلاژن

۲- درساختمان کدامیک از اسیدهای آمینه زیر حلقه ایندول وجود دارد؟
الف – لیزین
ب – فنیل آلانین
ج – تریپتوفان
د – هیستیدین

۳- کدامیک از گزینه های زیر نقش اساسی در فرم گرفتن ساختمان α-Helix در یک زنجیره پلی پپتیدی دارد؟
الف – Hydrogen Bonds
ب – Ionic bonds
ج – Disulfide bonds
د – Hydrophobic interaction

۴- کدام زوج از از اسیدهای آمینه زیر ضروری بوده ودارای ریشه R آروماتیک هستند؟
الف – Tyrosine + Histidine
ب – Tyrosine + Isoleucine
ج – Phenylalanine +Tryptophan
د – Leucine + Proline
ه – Tryptophan +Tyrosine

Scanned by CamScanner

۵- تمام پروتئین های زیر دارای ساختمان سوم و محلول در آب هستند به استثنای:

الف – Ribonuclease

ب – Hemoglobin

ج – Myoglobin

د – Albumin

ه – Elastin

۶- درکدامیک ازموارد زیرمیزان پروکلاژن در پوست افزایش می یابد؟

الف – Osteogensis Imperfecta

ب – Aging

ج – Prion disease

د – Ehler – Danlos syndrome

ه – Scurvey

۷- کدامیک از اسیدهای آمینه زیر در pH فیزیولوژیک به فرم کاتیون وجود دارد؟

الف – گلوتامین

ب – اسپارتات

ج – آرژنین

د – آلانین

Scanned by CamScanner

فصل ۴

کربوهیدرات ها

دکتر زهره مصطفوی پور

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

- ساختمان فضائی آلدوزها و کتوزها را شناخته و نام گذاری کنید.
- کربوهیدرات ها را طبقه بندی کنید
- ساختمان فضائی و خواص شیمیائی منوساکاریدها از جمله گلوکز، گالاکتوز، مانوز، فروکتوز و مشتقات آنها را شناخته و آنها را نام گذاری کنید.
- ساختمان فضائی و خواص شیمیائی دی ساکارید ها را شناخته وآنها را نام گذاری کنید.
- ساختمان فضائی، خواص شیمیائی و اهمیت زیست پزشکی پلی ساکاریدها را شناخته وآنها را نام گذاری کنید.

CamScanner

کربوهیدرات ها که به نام های مختلف مانند هیدرات های کربن، اوزها، قندها و گلوسیدها شناخته می شوند، فراوانترین مولکول های زیستی موجود بر روی زمین هستند. بعضی از کربوهیدرات ها مانند کربوهیدرات های شیرین مزه و نشاسته به عنوان یک رژیم غذایی عمده در بیشتر نقاط جهان متداول می باشند. معمولاً کربوهیدرات های محلول در آب و شیرین مزه را قند می نامند.اهمیت زیستی کربوهیدرات ها به شرح زیر است:

* منبع مهم انرژی برای اکثر موجودات زنده هستند.
* کربوهیدرات ها در ساختار دیواره سلولی در گیاهان و غشای سلولی شرکت دارند.
* در واکنش های سلولی به صورت واسطه های متابولیکی به کاربرده می شوند.
* بخشی از ساختمان نوکلئوتیدها را قندهای پنج کربنه ریبوز و داکسی ریبوز تشکیل می دهند.
* در ساختار غضروف و استخوان شرکت دارند، همچنین در سیستم ایمنی بدن دخالت دارند.
* در چسبندگی بین سلولی شرکت نموده و بعنوان آنتی ژن های سطح سلولی در شناسایی سلول های مختلف از یکدیگر دخالت دارند.

۱-٤ دسته بندی کربوهیدرات ها

از نظر اندازه، سه گروه اصلی کربوهیدرات ها، شامل منوساکاریدها، اولیگوساکاریدها و پلی ساکاریدها می باشند. کلمه ساکارید از لغت یونانی Sakcharon به معنی قند گرفته شده است. منوساکاریدها ، قندهای ساده یا تک قندی ها کوچکترین واحد ساختمانی کربوهیدرات ها می باشند. منوساکاریدها، پلی الکل هایی هستند که یکی از عوامل الکلی آنها به عامل آلدئیدی $-C(=O)-H$ یا کتونی $-C(=O)-C-$ تبدیل شده است. ساختمان بیشتر منوساکاریدها، از فرمول $(CH_2O)_n$ پیروی نموده ولی برخی از آنها دارای نیتروژن، فسفر و یا سولفور نیز هستند. بنابراین منوساکاریدها یک واحد پلی هیدروکسی آلدئید یا پلی هیدروکسی کتون میباشند. فراوانترین نوع آنها در طبیعت D- گلوکز است که دارای شش کربن بوده و گاهی دکستروز نیز نامیده می شود.

اولیگوساکاریدها زنجیره های کوتاهی از واحدهای منوساکارید (از ۲ تا ۱۰ واحد) هستند که توسط پیوندهای گلیکوزیدی به یکدیگر متصل شده اند. فراوانترین اولیگو ساکاریدها، دی ساکاریدها یا دوقندی ها هستند که از دو واحد مونوساکارید تشکیل شده اند مالتوز، سوکروز و لاکتوز

کربوهیدرات‌ها

نامگذاری ← ① الدهید ← آلدو
② تعداد کربن
③ ـوز ← قند

از فراوان ترین دی ساکارید های موجود در طبیعت هستند.

پلی ساکاریدها محصول اتصال بیش از ده واحد منوساکارید هستند. ممکن است در ساختمان پلی ساکاریدها صدها و یا هزاران واحد یک قندی شرکت داشته باشند. بعضی از مولکول های پلی ساکاریدی، مانند سلولز، به شکل زنجیر خطی بوده و بعضی دیگر مانند گلیکوژن به صورت زنجیره های منشعب می باشند. دو پلی ساکارید گیاهی، نشاسته و سلولز از واحدهای تکرار شونده D - گلوکز تشکیل شده اند. ولی از نظر اتصال گلیکوزیدی با یکدیگر متفاوت بوده و در نتیجه خصوصیات و نقش زیستی کاملا" متفاوتی دارند.

۳کربنه ← ساده‌ترین کتوز
کلیسرال ← ۳کربنه ← ساده‌ترین آلدوز

۲-٤ منوساکاریدها ← سمپل شوگر ← معمولا از ۳ تا ۷ کربن

فرم فیشر

اسکلت منوساکاریدها از زنجیرهای کربنی غیر منشعبی تشکیل شده که تمامی اتم های کربن در آن ها با پیوند یگانه به یکدیگر متصلند. در شکل زنجیر باز، یکی از اتم های کربن با یک پیوند دو گانه به یک اتم اکسیژن اتصال یافته و ایجاد یک گروه کربونیل می نماید در حالی که سایراتم های کربن هر کدام داری یک گروه هیدروکسیل می باشند. اگر این گروه کربونیل در یک انتهای زنجیر کربنی (یعنی به شکل گروه آلدئید) قرار داشته باشد منوساکارید یک آلدوز است و اگر در هر وضعیت دیگر واقع شود (به شکل گروه کتو) قند یک کتوز خواهد بود. منوساکارید های دارای چهار، پنج، شش و هفت اتم کربن را به ترتیب، تتروز، پنتوز، هگزوز و هپتوز مینامند. D - گلوکز (آلدوهگزوز) و D - فروکتوز(کتوهگزوز) فراوانترین منوساکاریدهای موجود در طبیعت هستند. D - ریبوز (آلدوپنتوز) و۲ - داکسی- D - ریبوز در ساختمان نوکلئوتید و اسیدهای نوکلئیک وجود دارند (شکل ۱ - ۴).

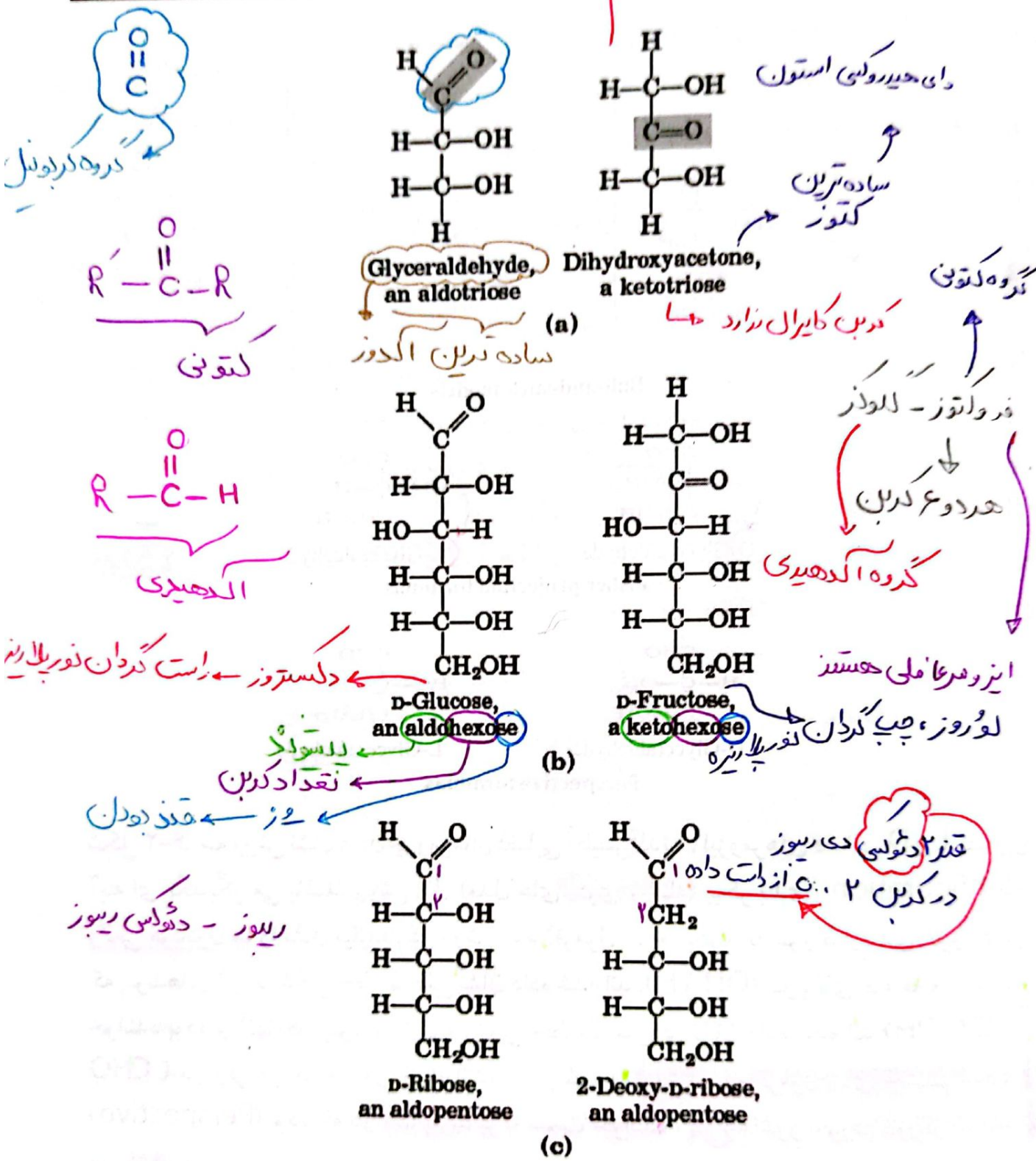
* نامگذاری قند کتون ← کیتو + اُز
تتروز ← تترولوز

کایرال یا اسیمتریک

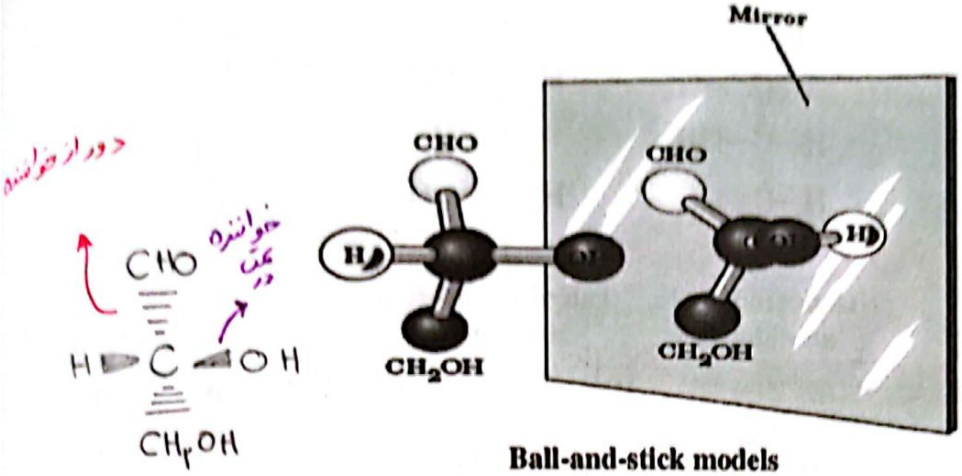
منوساکاریدها دارای مراکز نامتقارن هستند .

در ترکیبات زیستی هر گاه اتم کربن حاوی چهار استخلاف مختلف باشد آن را کربن ٭ و یا مرکز نامتقارن (chiral carbon و یا Chiral center) می گویند. تمامی منوساکاریدها، به غیر از دی هیدروکسی استن، دارای یک یا چند کربن نامتقارن بوده و از این رو به صورت اشکال ایزومری فضائی مختلف (Stereoisomer) هستند. ایزومرهای فضایی در نحوهٔ قرار گرفتن اتم های یک مولکول در فضا تفاوت دارند. این ایزومرها دارای فعالیت نوری متفاوت نیز هستند، یعنی نورپلاریزه را به مقدار مساوی ولی در جهت های مختلف منحرف می کنند. اگر منوساکاریدی نور پلاریزه را به سمت راست منحرف نماید آن را راستگردان (+) (Dextrorotatory) و اگر به سمت چپ

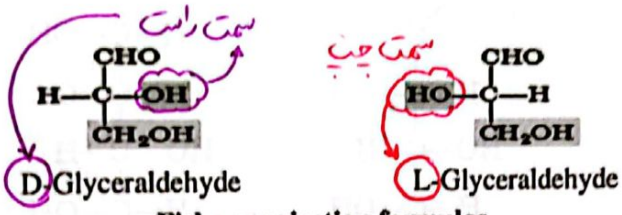
منحرف کند آن را چپگردان (-) (Levorotatory) می نامند. ایزومر های فضایی شامل انانتیومرها، دیاسترومرها، ایزومری D و L و ایزومرهای هندسی می باشند. به طور کلی هر مولکولی با n مرکز نامتقارن می تواند 2^n ایزومر فضایی داشته باشد. گلیسرآلدئید دارای یک کربن نامتقارن است لذا $2^1 = 2$ ایزومر فضایی دارد. یک آلدوزمانند گلوکز با ۴ مرکز کایرال دارای $2^4 = 16$ ایزومر فضایی است. کوچک ترین آلدوز، یعنی گلیسرآلدئید، دارای یک کربن نامتقارن (اتم کربن میانی) بوده و بنابراین دارای دو ایزومر نوری می باشد (شکل ۱-۴). این ایزومر های نوری تصویر یکدیگر در آینه و یا انانتیومر (Enantiomers) هستند. یکی از این دو شکل ایزومر D و دیگری ایزومر L نامیده می شود. برای نمایش ساختمان های سه بعدی قندها بر روی کاغذ، اغلب از فرمول طرح فیشر استفاده می گردد (شکل ۲-۴). براین اساس هر گاه گروه هیدروکسیل روی دورترین کربن نامتقارن از کربن کاربونیل در فرمول فیشر به سمت راست باشد منوساکارید را D و هر گاه هیدروکسیل روی دورترین کربن نامتقارن بطرف چپ در فرمول فیشر قرار گیرد منوساکارید را L می نامند.



شکل ۱-٤. مثال هایی از منوساکارید ها (a) دوتریوز، یک آلدوزویک کتوز. گروه کربونیل به صورت سایه دار دیده می شود. (b) دو هگزوز فراوان در طبیعت (c) D – ریبوز جزئی از ساختمان اسید ریبونوکلئیک (RNA) بوده و ۲– داکسی D– ریبوز جزئی از ساختمان اسید داکسی ریبونوکلئیک (DNA) می باشد.



Ball-and-stick models



Fisher projection formulas



Perspective formulas

شکل ۲-۴. سه روش نشان دادن ایزومرهای فضایی گلیسرآلدئید. ایزومرهای فضایی D و L تصاویر آینه ای یکدیگر می باشند. روش اول (مدل های گوی و میله) پیکر بندی (configuration) واقعی مولکول ها را نشان میدهد. در روش دوم (فرمول طرح فیشر)، به طور قراردادی گروه هایی که پیوندهای آنها به شکل خطوط افقی نشان داده شده اند .(H و OH) در بالای صفحه و به سمت خواننده بوده و آنها که پیوندهایشان به شکل خطوط عمودی نشان داده شده اند (CHO و CH_2OH) در زیر صفحه و دور از خواننده می باشند. روش سوم فرمول های چشم اندازی (Perspective) بوده که در آنها پیوند پر به سمت خواننده و نوع هاشور خورده دور از خواننده می باشد.

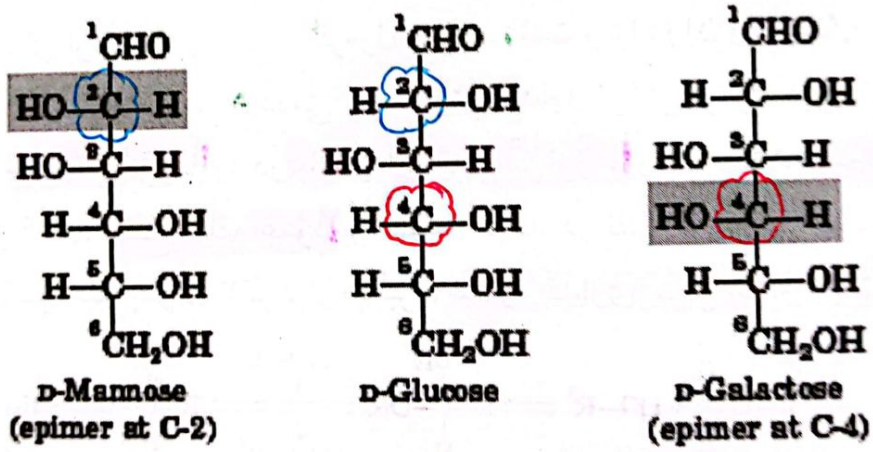
حروف بزرگ D و L منحصراً مشخص کننده آرایش فضایی هستند و هیچگونه اطلاعی در مورد اثر برنورپلاریزه نمی دهند. منوساکاریدهای D ممکن است راست گردان (Dextorotatory) و یا چپ گردان (Levorotatory) باشند و منوساکاریدهای L نیز ممکن است راستگردان یا چپ گردان باشند.

مخلوط راسمیک (Racemic mixture)

مخلوطی است با غلظت مساوی از از شکل های راست گردان و چپ گردان یک ترکیب، چرخش نوری برای چنین محلولی برابر صفر است زیرا چرخش نوری در این محلول برابر حاصل جمع جبری فعالیت نوری دو شکل راست گردان و چپ گردان است.

فرمول فیشر (Fischer formula)

در این روش برای نوشتن فرمول منوساکاریدها، اتم های کربن در امتداد یک خط مستقیم از بالا به پایین نوشته شده بگونه ای که کربن دارای کربونیل (کربن اول یا دوم) در بالا قرار گرفته و هیدروژن ها و گروه های هیدروکسیل در سمت راست یا چپ کربن های مربوطه قرار داده می‌شوند و شماره گذاری کربن ها از بالا به پایین انجام می شود. دو قندی که تنها از نظر آرایش فضایی حول یک اتم کربن با یکدیگر متفاوتند را اپیمر می نامند) برای مثال D – گلوکز و D مانوز که تنها از نظر موقعیت فضایی کربن ۲ با یکدیگر متفاوتند و یا D – گلوکز و D – گالاکتوز که در کربن ۴ با هم متفاوتند (شکل۳-۴) ، اپیمر یکدیگر می باشند.



شکل ۳-۴. اپیمرها ی – D – گلوکز. دو اپیمر آن به شکل فرمول های طرح فیشر نمایش داده شده اند. هر کدام از این اپیمرها تنها از نظر پیکر بندی حول یک کربن نامتقارن (هاشورخورده) با D – گلوکز تفاوت دارند.

منوساکارید ها بصورت محلول دارای ساختمان حلقوی هستند .

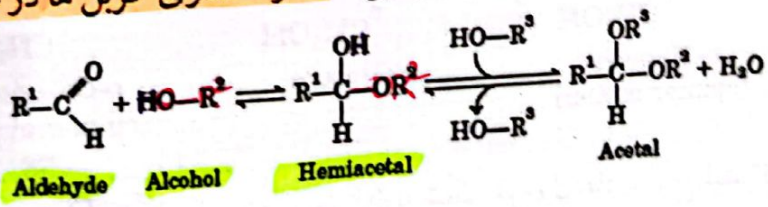
فرمول فیشر یک فرمول ایده آل نیست زیرا منوساکاریدها را به صورت زنجیر باز نشان می دهد. درحالی که تمامی منوساکاریدهای دارای بیش از چهار اتم کربن، در محیط آبی به شکل ساختمان‌های حلقوی هستند که در آنها گروه کربونیل بایک پیوند کووالان به اکسیژن یکی از گروه های

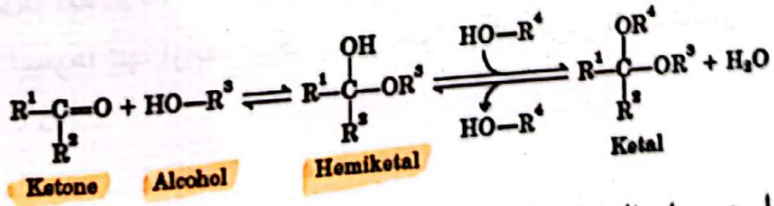
هیدورکسیل موجود در طول زنجیره ، متصل شده است. هر قدر فاصله گروه کربونیل با هیدروکسیل کربن نامتقارن بیشتر باشد حلقه پایداری بیشتر دارد. تشکیل این ساختمان های حلقوی بواسطه واکنش عمومی بین آلدئیدها یا کتون ها و الکل ها و ایجاد مشتقاتی به نام همی استال و یا همی کتال می باشد (شکل ۴ – ۴) .

برای مثال، D – گلوکز در محلول عمدتا به صورت همی استال داخل مولکولی وجود دارد که در آن گروه هیدروکسیل آزاد کربن ۵ باکربن آلدئیدی ۱ واکنش نموده و با تبدیل کربن اخیر به یک کربن نامتقارن، تولید دو ایزومر فضایی به نام α و β می کند (شکل ۵ – ۴). به دلیل شباهت با حلقه شش اتمی پیران، این ترکیبات حلقوی شش اتمی را پیرانوز می نامند (شکل ۵ – ۴). نام های سیستماتیک دو شکل حلقوی D – گلوکز، شامل α – D گلوکوپیرانوز و β – D گلوکوپیرانوز می باشد. در واقع در یک محلول آبی، گلوکز بیشتر به صورت بتا دی گلوکوپیرانوز وجود دارد اما مقادیر کمتری هم آلفا دی گلوکوپیرانوز و اشکال گلوکوفورانوز وحتی شکل خطی گلوکز وجود دارند.

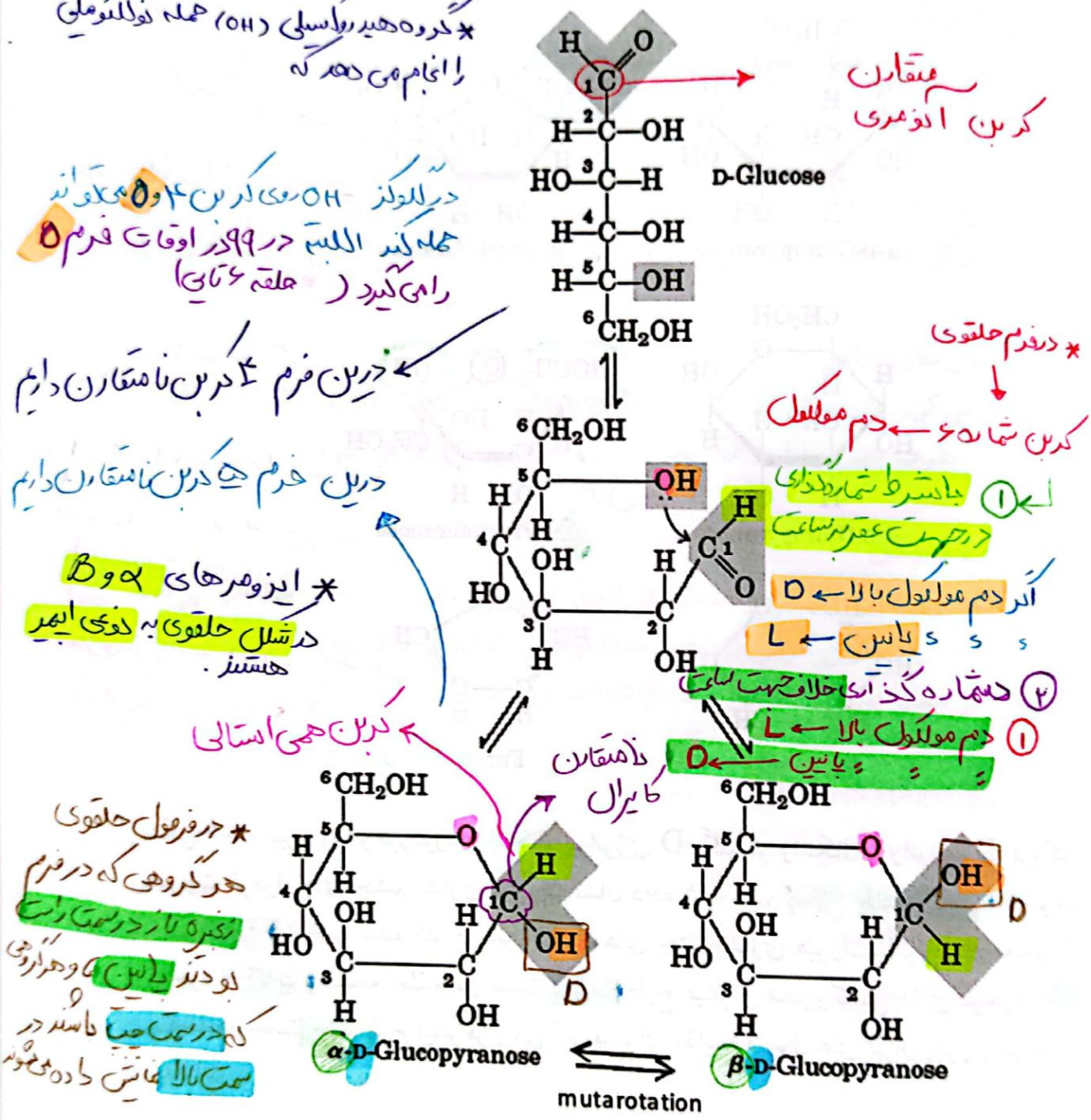
فرمول هیورث (Haworth formula)

بهترین روش برای نوشتن فرمول قندها فرمول هیورث است زیرا درآن وضعیت فضایی ملکول ها و اتصال آنها به یکدیگر آسان ترنشان داده می شود. روش متداول نوشتن فرمول هیورث این است که اکسیژن واقع در حلقه فورانوزها را در بالا و اکسیژن پیرانوزها را در گوشه سمت راست بالا می نویسند (شکل ۶-۴). سطح حلقه عمود بر صفحه کاغذ در نظر گرفته می شود بگونه ای که روی هم باشد لبه پایین حلقه بطرف ناظر قرار میگیرد. شماره گذاری کربن ها در جهت عقربه ساعت انجام می شود.

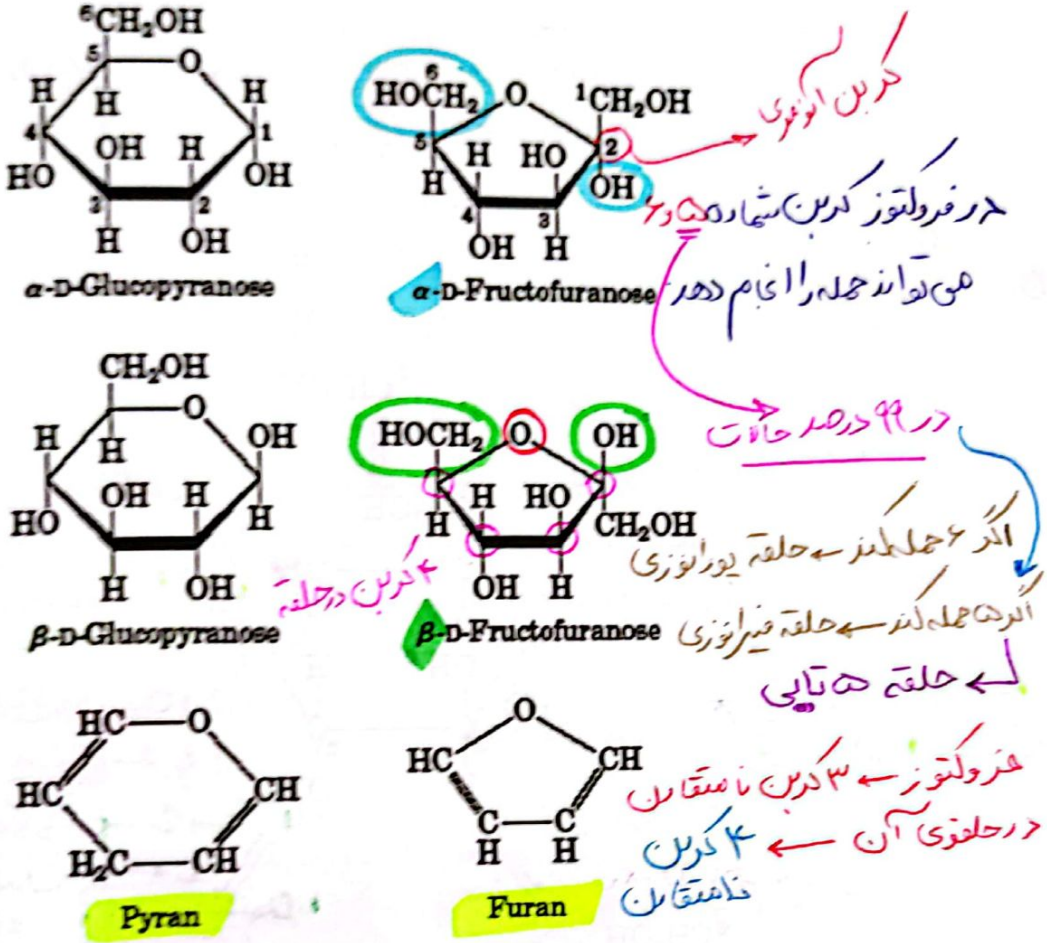




شکل ۴-۴ تشکیل همی استال ها و همی کتال ها. یک آلدئید و یک کتون می توانند با یک الکل به نسبت ۱:۱ واکنش نموده تا به ترتیب ایجاد یک همی استال یا همی کتال نمایند که نتیجه این واکنش ایجاد یک مرکز نامتقارن جدید در کربن کربنیل می باشد. با اضافه شدن یک مولکول الکل دیگر تولید یک استال یا کتال می شود. وقتی الکل دوم قسمتی از یک مولکول یک قند باشد پیوند حاصله یک پیوند گلیکوزیدی نامیده می شود .



شکل ۵-۴. تشکیل دو ایزومر حلقوی D- گلوکز. واکنش بین گروه آلدئیدی کربن ۱ و گروه هیدروکسیل کربن ۵، همراه با ایجاد یک اتصال همی استال و تولید دو ایزومر فضایی ، یعنی آنومرهای α و β می باشد.آنومرها ایزومرهایی هستند که تنها از نظر شیمی فضایی حول کربن همی استال با یکدیگر متفاوت هستند.(تبدیل متقابل آنومرهای α و β به یکدیگر را که در محیط آبی صورت می گردد موتاروتاسیون (mutarotation) گویند.)



شکل ۶-۴- پیرانوزها و فورانوزها- اشکال پیرانوزی D- گلوکز واشکال فورانوزی D- فروکتوز به صورت فرمول های چشم اندازی هیورث نشان داده شده اند. اضلاع حلقه نزدیک به خواننده با خطوط تیره مشخص شده اند. در این فرمول های چشم اندازی هیورث، گروه های هیدروکسیل موجود در پایین صفحه حلقه، در سمت راست طرح فیشر و هیدروکسیل ها ی موجود در بالای صفحه در سمت چپ طرح فیشر قرار می گیرند. برای مقایسه فرمول های پیران وفوران نیز نشان داده شده اند.

برای نوشتن فرمول هیورث قواعد زیر بایستی رعایت شوند:

۱- گروه هیدروکسی متیل یا دم مولکول

وقتی بسته شدن حلقه (پل اکسیژنی) روی OH- در وضعیت D باشد دم مولکول بطرف بالا و اگر پل اکسیژنی روی OH- در وضعیت L بسته شده باشد دم مولکول بطرف پایین قرار می گیرد.

۲- کربن آنومریک

وقتی کربوهیدرات ها ساختمان حلقوی پیدا می کنند کربن متصل به گروه کربونیل به صورت نامتقارن در می آید که در این صورت دو نوع ایزومری دیگر به وجود می آید که به آن آنومری (Anomerism) می گویند.

اگردر فرمول فیشر OH- روی کربن ها در سمت راست واقع شده باشد، در فرمول هیورث در پایین قرار میگیرد و اگر در سمت چپ باشد در بالا قرار می گیرد، اعم از اینکه قند D یا L باشد.

۳- هیدرکسیل های میانی

روی تمامی کربن های میانی اگر OH- در فرمول فیشر در سمت راست قرار داشته باشد در فرمول هیورث بطرف پایین و اگر OH- بطرف چپ باشد در بالا قرار می گیرد.

٤- تعیین α یا β بودن

اگر OH- روی دورترین کربن نامتقارن از کربن کاربونیل (اعم از اینکه در حلقه درگیر باشد یا نباشد) با OH- روی کربن آنومریک (همی استال یا همی کتال) در یک سمت واقع شوند آن قند α و اگر در دو سمت مخالف باشند آن قند β خواهد بود.

درستش: دم و OH آنومری هم جهت باشه β
و اگر دم و OH آنومری خلاف هم باشن α

موتاروتاسیون (Mutarotation)

به تبدیل ایزومرهای نوع آلفا و بتا به یکدیگر در یک محلول آبی که با تغییر قدرت چرخش نوری محلول همراه است، موتاروتاسیون گفته می شود. در حالت تعادل و در یک محلول آبی گلوکز، همیشه ۱/۳ گلوکز به شکل آلفا و ۲/۳ آن به شکل بتا می باشد و تنها مقدار اندکی از گلوکز به صورت غیرحلقوی وحتی به شکل گلوکوفورانوز وجود دارد. فقط قندهایی که تشکیل همی استال یا همی کتال می دهند دارای خاصیت موتاروتاسیون هستند.

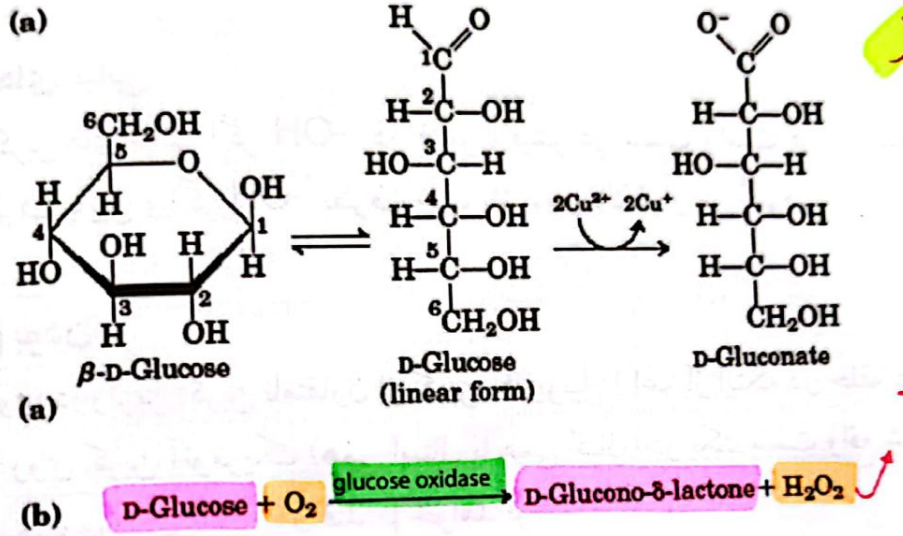
اساس دو تست فهلینگ و بندیکت

منوساکاریدها ترکیبات احیاء کننده هستند .

منوساکاریدها را بوسیله عوامل اکسید کننده نسبتا"ضعیف، نظیر یون فریک (Fe^{3+}) یا کوپریک (Cu^{2+}) می توان اکسیده نمود. (شکل ۷a-۴) کربن کربنیل به گروه کربوکسیل اکسیده می شود. گلوکز و سایر قندهایی که قادر به احیاء یون فریک یا کوپریک می باشند را قندهای احیاء کننده می نامند.

تشخیص قندهای احیاکننده

این خاصیت اساس واکنش فهلینگ می باشد که یک آزمون کیفی برای تشخیص قندهای احیاء کننده است. با اندازه گیری میزان عامل اکسید کننده ای که توسط یک مولکول قندی احیاء شده است، می توان غلظت آن قند را بر آورد نمود. از این روش برای تشخیص مقادیر اضافی گلوکز در خون و ادرار جهت تشخیص دیابت قندی سالهای متمادی استفاده شده است. هم اکنون، روش حساستر اندازه گیری گلوکز خون با استفاده از آنزیم گلوکز اکسیداز، انجام می گردد (شکل ۴-۷b).



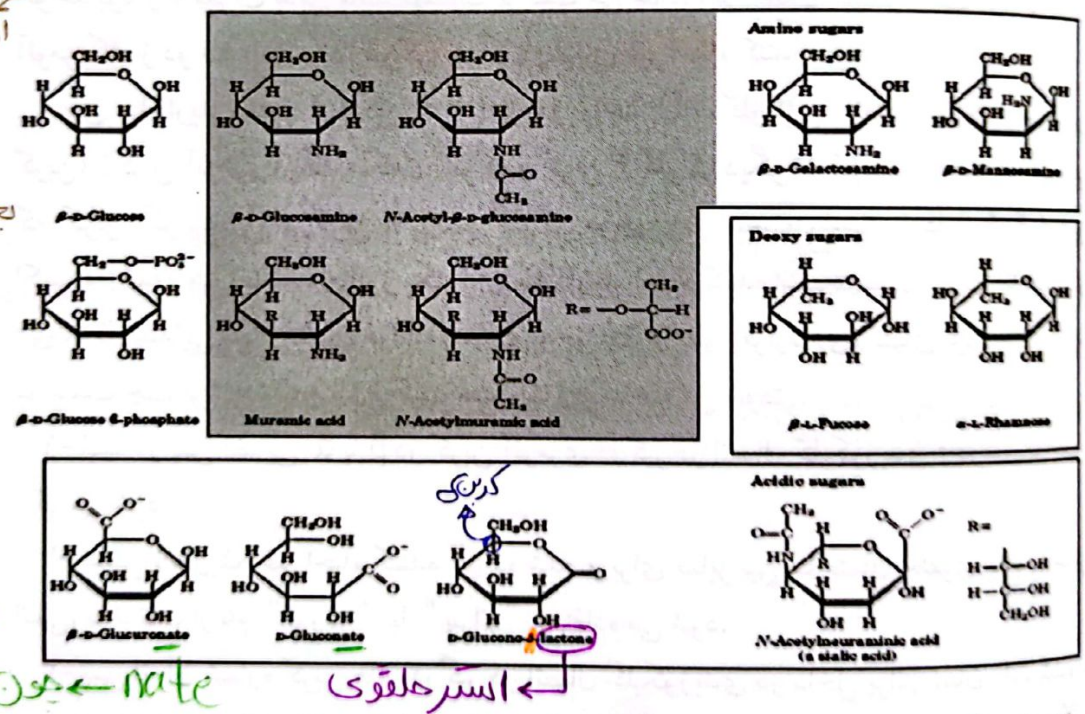
شکل ۴-۷. قندها به عنوان عوامل احیاء کننده. (a) اکسیداسیون کربن آنومری اساس واکنش فهلینگ می باشد. یون مس یک ظرفیتی (Cu^{+}) تولیدی در شرایط قلیایی، رسوب قرمز اکسید مس یک ظرفیتی را ایجاد می کند. واکنش با Cu^{2+} به آن سادگی که در اینجا نشان داده شده است نمی باشد مثلاً در مورد گلوکز حاصل این واکنش علاوه بر D- گلوکونات، اسیدهای با زنجیر کوتاهتر نیز می باشند. (b) غلظت گلوکز خون معمولاً با اندازه گیری میزان تولید H_2O_2 در واکنش گلوکز اکسیداز تعیین می گردد. در مخلوط واکنش، آنزیم دومی به نام پراکسیداز و یک ترکیب بی رنگ نیز وجود دارند. پراکسیداز واکنش H_2O_2 با ترکیب بی رنگ و تولید یک ترکیب رنگی را کاتالیز می نماید، سپس میزان رنگ تولیدی بطریق اسپکتروفتومتری اندازه گیری می شود.

موجودات زنده دارای مشتقات مختلف هگزوزها هستند.

علاوه بر هگزوزهای ساده، مانند گلوکز، گالاکتوز و مانوز، مشتقات قندی متنوعی وجود دارند که در آنها یک گروه هیدروکسیل در ترکیب مادر توسط گروه دیگری استخلاف شده است و یا یک اتم کربن به گروه کربوکسیل اکسید شده است (شکل ۸-۴).

در گلوکز آمین، گالاکتوز آمین و مانوز آمین، گروه هیدروکسیل کربن ۲ در ترکیب مادر توسط

گروه آمینی استخلاف شده است. این گروه آمینی تقریباً در تمامی موارد با اسید استیک ترکیب شده واستیله می گردد. مثلاً گلوکز آمین، پس از استیله شدن به N- استیل گلوکز آمین تبدیل می گردد که قسمتی از پلیمرهای ساختمانی موجود در دیواره سلولی باکتری ها، می باشد. با اکسیداسیون کربن کربنیل (آلدئید) در گلوکز به گروه کربوکسیل، اسید گلوکونیک (Gluconic acid) تولید می گردد، سایر آلدوزها نیز در اثر اکسیده شدن کربن کربونیل اسیدهای آلدونیک (Aldonic) مربوطه را تولید می کنند. اکسیداسیون آخرین کربن (کربن ۶) در گلوکز، گالاکتوز یا مانوز، تولید اسیدهای اورونیک (Uronic) مربوطه، یعنی اسید گلوکورونیک، گالاکتورونیک و مانورونیک را می نمایند. اسیدهای آریک (Aric) با اکسیداسیون توام کربن کربنیل و آخرین کربن ایجاد می شوند. هر دو گروه اسیدهای آلدونیک و اورونیک با الکل ایجاد استرهای پایداری را بنام لاکتون می کنند (شکل ۸-۴، پایین چپ). علاوه بر این یکی ازمشتقات اسیدی هگزوزها، یک قند اسیدی به نام N- استیل نورامینیک اسید (N-acetylneuraminic acid, NANA) که خود نوعی اسید سیالیک (Sialic acid) است نیز حائز اهمیت است. اسید سیالیک ها قندهای ۹ کربنه و مشتق از مانوز می باشند. این مشتقات قندی در



ساختمان شکل ۸-۴. بعضی از مشتقات هگزوزها که از نظر بیولوژی دارای اهمیت هستند.

در قندهای آمینی، یک گروه NH_2، جایگزین یکی از گروه های OH- در هگزوز مادر می شود. جایگزینی H- به جای OH- تولید یک قند داکسی می نماید.

بسیاری از گلیکوپروتئین ها و گلیکو لیپیدهای در حیوانات یافت می شوند. معمولا برای سادگی، N- استیل نورامینیک اسید را سیالیک اسید نیز می نامند. قندهای اسیدی حاوی یک گروه کربوکسیلات می باشند که در pH خنثی یک بار منفی پیدا می نماید. D- گلوکونو -δ لاکتون از برقراری یک اتصال استری بین گروه کربوکسیلات کربن ۱ گروه هیدروکسیل کربن ۵ (یا کربن δ) در D - گلوکونات حاصل می گردد. ضمنا، در طبیعت برخی قندهای داکسی به فرم ایزومر یا وجود دارند (شکل ۸-۴).

۴-۳ دی ساکاریدها یا دو قند ی ها دارای یک پیوند گلیکوزیدی هستند.

دی ساکاریدها (مانند مالتوز، لاکتوز و سوکروز) از ترکیب دو منوساکارید تشکیل شده اند که توسط یک پیوند O- گلیکوزیدی بطور کووالان به یکدیگر متصل هستند، این پیوند وقتی تشکیل می شود که گروه هیدروکسیل یک قند باکربن آنومری قند دیگر واکنش می دهد (شکل ۹-۴).

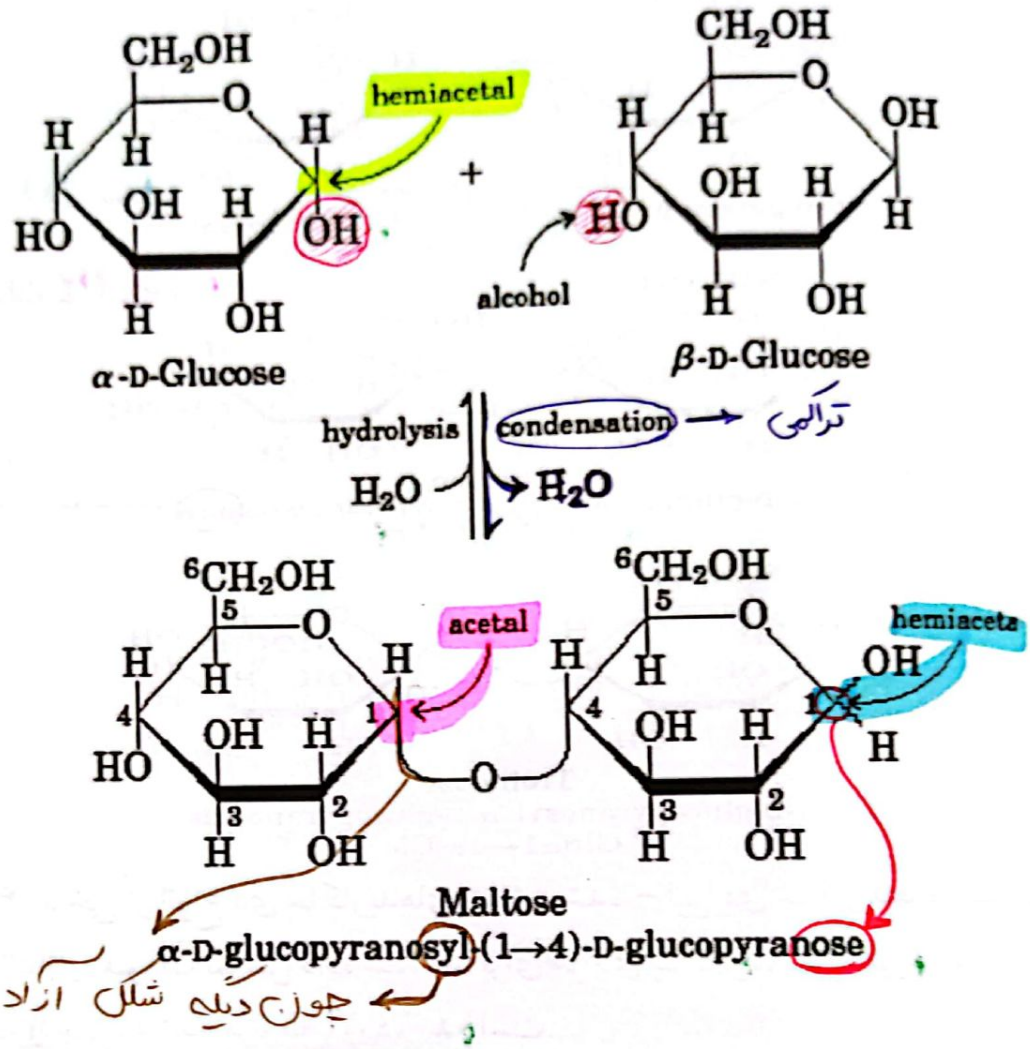
هر گاه اتصال بین دو قند از طریق گروه احیاء کننده (کربن آنومریک) یک قند و گروه الکلی قند دیگر باشد مانند لاکتوز و مالتوز، دی ساکارید بعلت داشتن گروه آلدئیدی احیاء کننده خواهد بود و با معرف هایی مانند فهلینگ ترکیب می شود. اگر اتصال گلیکوزیدی بین دو کربن آنومریک از دو قند باشد مانند سوکروز، آن دو قندی غیر احیاء کننده خواهد بود.

دی ساکارید مالتوز (شکل ۹-۴) از دو واحد D- گلوکز با اتصال گلیکوزیدی بین کربن۱ (کربن آنومری) یک ملکول گلوکز و کربن ۴ گلوکز دیگر تشکیل شده است. از آنجایی که کربن آنومری آزاد کربن ۱ ریشه گلوکز موجود در سمت راست شکل(۹-۴) قابل اکسیده شدن می باشد، مالتوز یک دی ساکارید احیاء کننده اســـــــت. برای نامگذاری دی ساکاریدهایی مانند مالتوز، قواعد متعددی وجود دارد. بطور قراردادی، انتهای غیر احیاء کننده در سمت چپ نوشته شده و نام ترکیب بصورت زیر ساخته می شود:

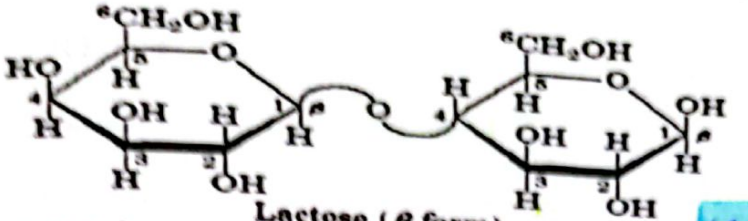
۱- ابتدا آرایش فضایی α یا β در کربن آنومری درگیر در اتصال گلیکوزیدی (درسمت چپ) ذکر می شود.

۲- سپس نام ریشه غیر احیاء کننده آورده شده و برای تمایز بین ساختمان حلقوی پنج یا شش اتمی، به ترتیب از نام "فورانو" یا "پیرانو" استفاده می شود.

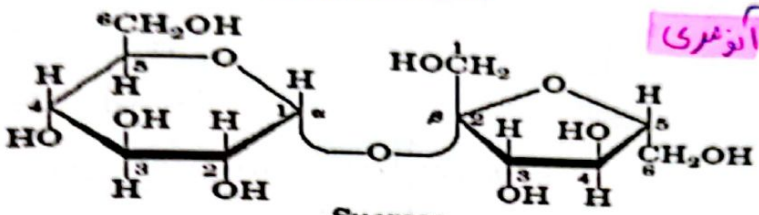
۳- پس از آن شماره کربن های درگیر در اتصال گلیکوزیدی در داخل پرانتز نشان داده شده و نحوه اتصال این دو کربن توسط یک پیکان مشخص می شود، برای مثال (۴ ←—— ۱ α) نشانگر اینست که کربن ۱ از اولین ریشه قندی به کربن ۴ ریشه دوم متصل شده است.



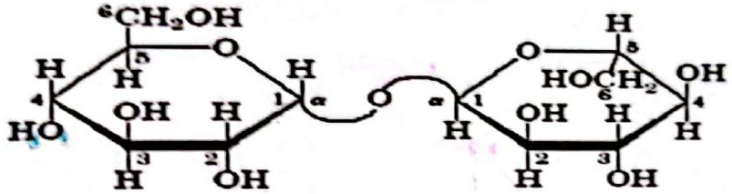
شکل ۹-۴ تولید مالتوز. یک دی ساکارید با اتصال دو منو ساکارید (دو مولکول گلوکز) در یک واکنش تراکمی (condensation reaction) و با حذف یک مولکول H_2O و ایجاد یک پیوند O- گلیکوزیدی ، تولید می شود. عکس این واکنش هیدرولیز نامیده می شود که در آن H_2O پیوند گلیکوزیدی، را می شکند. مولکول مالتوز دارای یک همی استال احیاء کننده در کربن ۱ می باشد که در پیوند گلیکوزیدی شرکت ندارد.



Lactose (β form)
β-D-galactopyranosyl-(1→4)-β-D-glucopyranose
Gal(β1→4)Glc



Sucrose
α-D-glucopyranosyl β-D-fructofuranoside
Glc(α1↔2β)Fru



Trehalose
α-D-glucopyranosyl α-D-glucopyranoside
Glc(α1↔1α)Glc

شکل ۱۰-۴. برخی از انواع دی ساکاریدهای شناخته شده – این دی ساکاریدها به صورت فرمول های چشم اندازی هیورث نمایش داده شده اند. برای هر دی ساکارید، نام معمول به همراه نام کامل سیستماتیک و خلاصه شده مربوطه آورده شده است.

دی ساکارید لاکتوز (شکل ۱۰-۴) که در اثر هیدرولیز تولید D – گالاکتوز و D- گلوکز می نماید، در طبیعت تنها در شیر وجود دارد. کربن آنومری ریشه گلوکز قابل اکسیداسیون است و در نتیجه لاکتوز قندی احیاء کننده است. نام خلاصه شده لاکتوز به صورت Gal (β1⟶4) Glc نوشته می شود.

سوکروز که قند متداول تجاری و مصرفی در آشپزخانه است از چغندر قند و یا نیشکر استخراج می شود ولی به مقادیر متفاوتی در میوه ها، دانه ها، برگها، گلها و ریشه های گیاهان نیز یافت می شود. بر خلاف مالتوز و لاکتوز، سوکروز فاقد اتم کربن آنومری آزاد بوده زیرا هر دو کربن آنومری در دو واحد منوساکاریدی آن در ایجاد پیوند گلیکوزیدی شرکت می نمایند (شکل ۱۰-۴). به همین دلیل سوکروز قندی احیاء کننده نمی باشد. موقعیت های اتصالی را کربن های آنومری تشکیل می دهند و نام خلاصه شده آن بصورت زیر نوشته می شود.

Fru (2β ⟶ 1α) Glc یا Glc (1α ⟶ 2β) Fru

ترهالوز، Glc (α1 ⟷ α1) Glc (شکل ۱۰-۴) دی ساکاریدی است که از تراکم دو ملکول از D- گلوکز حاصل شده، در ترنجبین، شیر خشت و قارچ ها وجود داشته و همانند سوکروز غیر احیاء کننده است. این دی ساکارید یکی از اجزاء اصلی مایع در گردش (همولنف) حشرات بوده و به عنوان یک ترکیب ذخیره ای انرژی عمل می کند.

٤-٤ پلی ساکاریدها

اکثر کربوهیدرات های موجود در طبیعت، بصورت پلی ساکاریدها، پلیمرهایی با وزن مولکولی متوسط تا زیاد، می باشند. برخی فقط از تراکم یک نوع منوساکارید، هموپلی ساکاریدها (Homopolysaccharides) و برخی دارای قندهای دیگری مانند مشتق اسید قندها، قندهای آمینی، سولفات قندها و یا مخلوطی از منوساکاریدهای مختلف نیز می باشند که آنها را هتروپلی ساکارید (Heteropolysaccharides) می نامند.

بعضی از هموپلی ساکاریدها به عنوان اشکال ذخیره ای منوساکاریدهایی عمل می کنند که برای سوخت و تولید انرژی بکارمی روند، نشاسته و گلیکوژن هموپلی ساکاریدهایی از این نوع می باشند. برخی هموپلی ساکاریدها (برای مثال سلولز و کیتین) به عنوان اجزاء ساختمانی در دیواره سلولی گیاهان و اسکلت خارجی حیوانات دخالت دارند. هتروپلی ساکاریدها دربافت خارج سلولی تمامی جانداران شرکت دارند. برای مثال، قسمتی از لایه سخت پوشش سلولی باکتری از هتروپلی ساکاریدی به نام پپتیدوگلیکان (peptidoglycan) تشکیل شده است که در ساختمان خود دارای دو واحد منوساکاریدی تکرار شونده می باشد. در بافت های حیوانی، فضای بین سلولی توسط انواع مختلفی از هتروپلی ساکاریدها اشغال شده است که با ایجاد یک شبکه یا ماتریکس (matrix)، سلول ها را در کنار یکدیگر نگه داشته و سبب ایجاد شکل و همچنین حفاظت و پشتیبانی از سلول ها، بافت ها و اعضاء می گردد.

پلی ساکاریدها را بر مبنای منوساکاریدهای سازنده آنها نامگذاری می کنند. پسوند osan برای نامگذاری پلی ساکاریدها بکارمی رود مثلا "یک پنتوزان (pentosan) پلی ساکاریدی است که از تراکم واحدهای پنتوز ساخته شده است. پلی مر هگزوزها را هگزوزان (hexosan) می نامند. فراوانترین پلی ساکاریدها نشاسته، گلیکوژن، سلولز و اینولین می باشند.

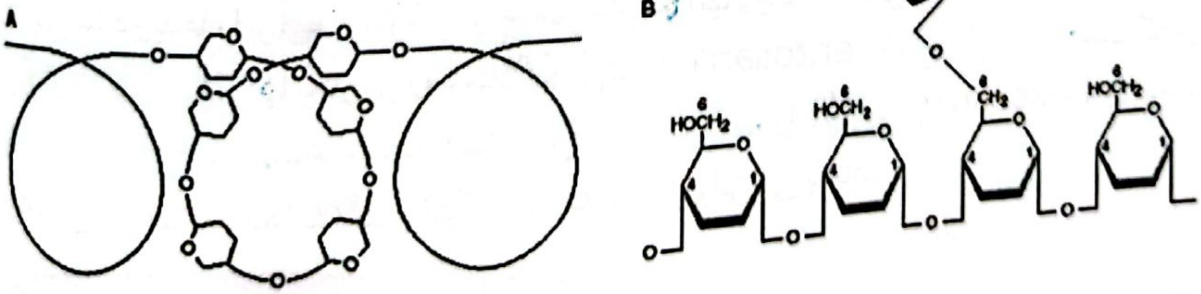
نشاسته و گلیکوژن سوخت های ذخیره ای هستند .

مهمترین پلی ساکاریدهای ذخیره ای شامل نشاسته در گیاهان و گلیکوژن در حیوانات می باشند. هر دو این پلی ساکاریدها در داخل سلول و به شکل بسته های بزرگ یا گرانول (Granul) وجود دارند. نشاسته و گلیکوژن به دلیل دارا بودن تعداد زیادی گروه هیدروکسیل برای ایجاد پیوند هیدروژنی با آب، شدیداً هیدراته هستند.

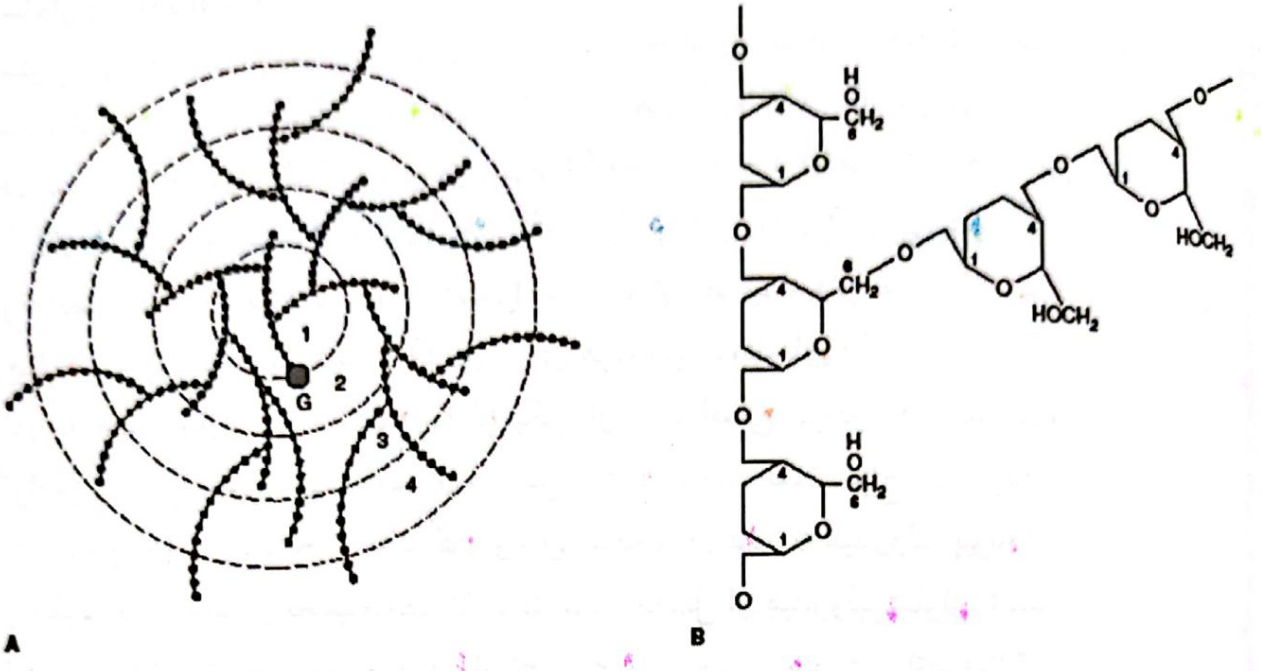
نشاسته، هموپلیمری از گلوکز می باشد که زنجیر α - گلیکوزیدی به نام گلوکوزان (Glucosan) یا گلوکان (Glucan) ایجاد می کند. نشاسته به فراوانی در غذاهای گیاهی مانند غلات، حبوبات و سیب زمینی وجود دارد دو جزء اصلی نشاسته شامل آمیلوز (Amylose) (۱۵ تا ۲۰ ٪) با ساختمان مارپیچی غیر منشعب (شکل ۱۱-۴) و آمیلوپکتین (Amylopectin) (۸۰ تا ۸۵٪) با ساختمان منشعب می باشد. در آمیلوپکتین به ازاء هر ۲۴ تا ۳۰ واحد گلوکز با اتصالات (α 1 ⟶ 4) درون زنجیری ، یک اتصال (α 1 ⟶ 6) درمحل شاخه وجود دارد. گلیکوژن، پلی ساکارید ذخیره ای در حیوانات است (شکل ۱۲-۴). همانند آمیلوپکتین، گلیکوژن پلیمری از واحدهای گلوکز با اتصالات (α 1 ⟶ 4) و شاخه های دارای اتصال (α 1 ⟶ 6) می باشد، ولی نسبت به نشاسته، دارای انشعابات بیشتر (یک شاخه در هر ۸ تا ۱۲ ریشه) و تراکم زیادتری است. گلیکوژن بخصوص در کبد یافت می شود که ممکن است تا ۷ ٪ وزن خالص آن را شامل گردد ، گلیکوژن در عضله اسکلتی نیز موجود می باشد.

* گلوکز بصورت پلیمر نمیتونه موجود باشه
غلظت کم ← اشتها
حداقل تغییر در فشار اسمزی

پلی ساکاریدها ← فاقد خاصیت احیاکنندگی



شکل ۱۱-۴. ساختمان نشاسته. A - آمیلوز، با ساختمان قندی مارپیچی. B - آمیلوپکتین، با ساختمان زنجیری دارای انشعاب با اتصال (α ۱ ⟶ ۶).



شکل ۱۲-۴. مولکول گلیکوژن . A – ساختمان کلی به شکل کره ای با قطری حدود ۲۱nm می باشد. در هر زنجیر پلی ساکاریدی این مولکول حدود ۱۳ واحد گلوکز وجود دارد. این زنجیرها به صورت شاخه دار و یا بدون شاخه به صورت ۱۲ لایه هم مرکز (در اینجا ۴ لایه نشان داده شده است) آرایش یافته اند. زنجیرهای منشعب (هر کدام دارای دو شاخه هستند) در لایه های داخلی تر و زنجیرهای غیر منشعب در لایه خارجی تر یافت می شوند، گلیکوژنین (G) ، ملکول آغازگر یا پرایمر (Primer) در سنتز گلیکوژن می باشد. B – ساختمان بزرگ شده محل انشعاب مولکول گلیکوژن.

در انسان قابل هضم نیست β 1→4

اینولین، پلی ساکارید فروکتوز (یک فروکتوزان) است که درپرجستگی ها و ریشه های گل کوکب، کنگر و قاصدک یافت می شود. این پلی ساکارید به راحتی در آب حل شده ودر پزشکی برای تعیین سرعت فیلتراسیون گلومرولی (Glumerular filtration) در کلیه ها مورد استفاده قرار می گیرد.

دکسترین ها(Dextrins) و دکستران ها(Dextrans)

دکسترین ها زنجیره های کوتاه حد واسطی هستند که در جریان هیدرولیز نشاسته تولید می شوند. اما دکستران ها زنجیره های کربوهیدراتی هستند که از اتصال ملکول های گلوکز با پیوند های α(۱→۶) و α(۱→۳) تشکیل شده اند. دکستران ها بوسیله باکتری های دهان بر روی دندان ها نیز ساخته می شوند که همان ماده لزجی است که در اثر مسواک نزدن سطح دندان ها را می پوشاند.

سلولز (Cellulose)

سلولز کربوهیدرات دیگری است که از تراکم واحدهای گلوکز ساخته شده است. ساختمان آن مانند آمیلوز به صورت زنجیره ای است ولی واحدهای گلوکز در آن دارای آرایش فضایی β-D هستند و لذا اتصالات گلیکوزیدی در سلولز (β 1 ——→ 4) می باشند، در حالی که واحدهای گلوکز موجود در آمیلوز، آمیلوپکتین و گلیکوژن دارای آرایش فضایی α می باشند. حاصل این نوع اتصال تولید زنجیرهای بلند مستقیمی است که توسط پیوندهای هیدروژنی عرضی به یکدیگر وصل می شوند. به دلیل نداشتن آنزیمی برای هیدرولیز پیوندهای (β 1 ——→ 4) پستانداران قادر به هضم سلولز نمی باشند. سلولز یکی از مواد اصلی موجود در غذاست که در دستگاه گوارش به دلیل جذب آب حجم آن افزایش یافته و موجب لینت مزاج می گردد. میکروارگانیسم های موجود در روده نشخوار کنندگان و سایر علفخوران قادر به هیدرولیز پیوند (β 1 ——→ 4) در سلولز می باشند. از تخمیرمحصولات قندهای حاصل از هیدرولیز سلولز، اسیدهای چرب کوتاه زنجیره تولید می شوند که منبع اصلی انرژی برای این حیوانات هستند. اتصال (β 1 ——→ 4) در سلولز در برابر هیدرولیز بسیار مقاوم تراز اتصالهای (α 1 ——→ 4) در نشاسته می باشد. سلوبیوز دی ساکاریدی است که از هیدرولیز سلولز بدست می آید.

← دوتاگلوکز با اتصال β 1→4

کیتین (Chitin)

کیتین اسکلت خارجی سخت پوستان (مانند خرچنگ و میگو) و حشرات را تشکیل میدهد. کیتین از تراکم واحدهای N - استیل گلوکز آمین با اتصالهای (β 1 ——→ 4) تشکیل شده است و احتمالا" پس از سلولز دومین پلی ساکارید فراوان در طبیعت می باشد.

گلیکوز آمینوگلیکان ها یا موکوپلی ساکاریدها اجزاء ماتریکس خارج سلولی می باشند.

فضای خارج سلولی یا بین سلولی موجود دربافت های حیوانات پر سلولی توسط یک ماده ژل مانند، بنام شبکه یا ماتریکس خارج سلولی، پر شده که سلول ها را در کنار یکدیگر نگه داشته و یک راه خلل و فرج دار برای انتشار مواد غذایی و اکسیژن به سلول ها را فراهم می کند. ماتریکس خارج سلولی شامل یک شبکه هتروپلی ساکاریدی در هم متصل شده همراه با پروتئین های فیبری مانند کلاژن، الاستین، فیبرونکتین و لامینین می باشد. این هتروپلی ساکاریدها را گلیکوز آمینو گلیکان ها می نامند که خانواده ای از پلیمرهای خطی متشکل از واحدهای دی ساکاریدی تکراری می باشند (شکل ۱۳-۴). واحدهای اصلی ساختمانی در این دسته از پلی ساکاریدها

قندهای آمینی و اسیدهای اورونیک هستند. هگزوز آمین معمولاً در آنها بصورت استیله وجود دارد. بدین ترتیب، گلیکوزامینو گلیکان ها یا موکوپلی ساکاریدها از مواد ضروری ساختمان انساج بدن بوده که یا آزاد و یا بصورت ترکیب با پروتئین ها (موکوپروتئین ها، mucoproteins) هستند. موکوپلی ساکاریدهایی مانند اسیدهیالورونیک (Hyaluronic acid)، هپارین (Heparin) و سولفات های کندروئی تین (Chondriotin sulfates) که بعلت داشتن عوامل کربوکسیل و یا گروه های سولفات، اسیدی هستند موکوپلی ساکاریدهای اسیدی (acid mucopolysaccharides) نامیده می شوند. انواع موکو پلی ساکاریدها عبارتند از:

۱- اسید هیالورونیک (Hyaluronic acid)

گلیکوز آمینو گلیکان اسید هیالورونیک برای تمامیت ماده ژل مانند بین سلولی در بافت پیوندی و سایر بافتها ضروری می باشد. همچنین به عنوان روان کننده (lubricant) و خنثی کننده ضربه در مفاصل عمل می کند. در اثر هیدرولیز اسیدهیالورونیک مقدار مساوی N- استیل D- گلوکز آمین و D- گلوکورونیک اسید تولید می شود (شکل ۱۳-۴). اسیدهیالورونیک در انساج مانند یک ماده سیمانی عمل کرده و به علت داشتن واکنش های متقابل قوی با سایر اجزاء ماتریکس به قدرت کششی و خاصیت ارتجاع بافت کمک می کند. هیالورونیداز که توسط بعضی باکتری های بیماری زا تولید می گردد، می تواند اتصالات گلیکوزیدی هیالورونات را هیدرولیز نموده و بافت را به تهاجم باکتریایی حساس تر نماید. این آنزیم پلی ساکاریدهای پوشش خارج تخمک را نیز هیدرولیز کرده و نفوذ اسپرم را به درون آن تسهیل می کند.

۲- هپارین (Heparin)

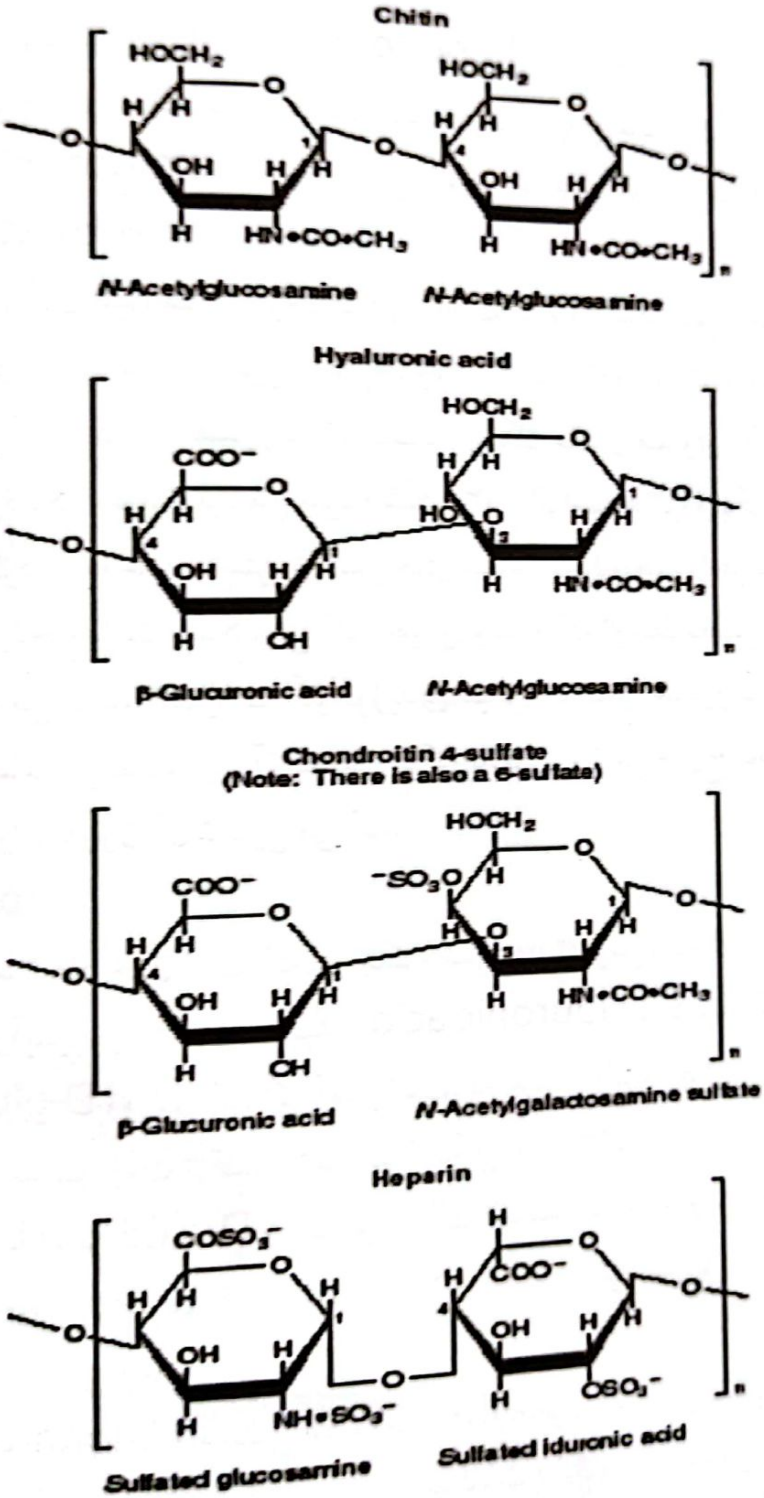
هپارین ماده ضد انعقاد خون است که در جگر، شش ها، تیموس، طحال و خون یافت می شود. هپارین پلی مری از آیدیورونیک اسید (iduronic acid) یا گلوکورونیک اسید (D-glucuronic acid) و D- گلوکز آمین است. در هپارین گروه های آمینی و برخی ازعوامل هیدروکسیل با اسید سولفوریک ترکیب شده اند (شکل ۱۳ - ۴) .

(L-iduronic acid اپیمر C5 از D- گلوکورونیک اسید است.)هپارین به علت داشتن اسید سولفوریک دارای خاصیت اسیدی قوی است و املاح آن بسادگی تشکیل می شوند.

۳- کندرویتین سولفات (Chondroitin sulfate)

کلمه یونانی Chondros (به معنی غضروف) در ایجاد و قدرت کششی غضروف، تاندونها، رباط ها و دیواره های آئورت، نقش دارد. درماتان سولفات (derma یونانی به معنی "پوست") در انعطاف پذیری پوست نقش داشته و در عروق خونی و دریچه های قلبی نیز یافت می شود.

کراتان سولفات ها (Keras در یونانی به معنای شاخ) فاقد اسید اورونیک بوده و محتوی سولفات آنها متغیر است. این گلیکوز آمینوگلیکان در قرنیه ، غضروف، استخوان و انواعی از ساختمان های شاخی سلول های مرده، مانند شاخ، مو، ناخن ها و پنجه ها وجود دارد (شکل ۱۳-۴) .



شکل ۱۳-۴. واحدهای دو قندی تکرار شونده در ساختمان تعدادی از پلی ساکاریدهای مرکب و گلیکوز آمینوگلیکان ها همراه با نوع اتصالات .

٥-٤ گلیکوکونژوگه ها: پروتئوگلیکان ها، گلیکو پروتئین ها و گلیکولیپیدها

گلیکوکونژوگه ها (Glycoconjugates) کربوهیدرات هایی هستند که از طریق پیوندهای کووالانسی به سایر ملکول های بیوشیمیایی مانند پپتیدها، پروتئین ها و لیپیدها متصل گردیده اند. مهمترین نقش های زیستی این گروه از کربوهیدرات ها دخالت در ایجاد آنتی ژن های سطح سلولی (وجوه شناسایی و تمیز سلولها از یکدیگر) و ارتباط متقابل سلول و محیط خارجی می باشند.

پروتئوگلیکان ها (Proteoglycans)

پروتئوگلیکان ها ماکرومولکول هایی حاوی گلیکوز آمینوگلیکان ها هستند که در سطح سلول و ماتریکس خارج سلولی وجود دارند. واحد پایه پروتئوگلیکان از یک هسته پروتئینی تشکیل شده که گلیکوز آمینوگلیکان ها با پیوند کووالان به این هسته پروتئینی متصل شده اند. پروتئوگلیکان ها ازاجزاء اصلی بافت های همبند، مانند غضروف می باشند که در آنها واکنش های متقابل غیر کووالان متعدد موجود با سایر پروتئوگلیکان ها، پروتئین ها و گلیکوز آمینوگلیکان ها سبب ایجاد حالت ارتجاعی می گردد.

گلیکوپروتئین ها

گلیکوپروتئین ها دارای یک یا چند اولیگوساکارید با ساختمان های پیچیده و متنوع هستند که توسط پیوندهای کووالان O- گلیکوزیدی و N- گلیکوزیدی به پروتئین اتصال یافته اند. زنجیره گلیکوپروتئین ها بر خلاف پروتئوگلیکان ها فاقد دی ساکاریدهای تکرار شونده مانند اورونیک اسید هستند. این ترکیبات در سطح خارجی غشاء پلاسمایی، ماتریکس خارج سلولی و درخون وجود دارند. بخش کربوهیدراتی گلیکوپروتئین ها به عنوان آنتی ژن های سطح سلولی عمل می نمایند. آنتی ژنهای موجود در سطح گلبول های قرمز که تعیین کننده گروه خونی (ABO) گلبول قرمز می باشند، در واقع زنجیره های الیگوساکاریدی هستند که با اتصال به پروتئین ها و یا لیپیدها، گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدهای غشاء را تشکیل می دهند. در داخل سلول ها گلیکوپروتئین ها در اندامک های اختصاصی مانند کمپلکس های گلژی، گرانول های سطحی ولیزوزم ها یافت می گردند. موسین (Mucins) که از سلول های اپیتلیال جداره درونی دستگاه های گوارش و تنفس ترشح می گردد از معروفترین گلیکوپروتئین هاست. زنجیره های کربوهیدراتی موسین دارای تعداد زیادی ملکول های اسید سیالیک هستند. نیروی دافعه بین بارهای منفی ملکول های اسید سیالیک از تاخوردن زنجیره های پروتئینی مرتبط با آنها جلوگیری می نماید. وجود زنجیره های مستقیم پروتئینی باعث حالت لزج محلول حاوی آن ها یعنی ترشحات مخاطی می گردد تا حرکت

مواد در درون مجاری تسریع شود. ضمنا" برخی زنجیره های کربوهیدراتی موسین بعنوان جایگاه اتصال غشاء باکتریها عمل می نمایند تا بدینوسیله باکتری ها به آن ها متصل شده و دفع گردند.

گلیکولیپیدها

این گروه لیپیدهای غشایی هستند که در آنها گروه های سرقطبی را اولیگوساکاریدها تشکیل می دهند که مانند گلیکوپروتئین ها، به عنوان جایگاه های اختصاصی برای تشخیص توسط پروتئین های قابل اتصال به کربوهیدرات ها، عمل می کنند.

٦-٤ کربوهیدرات های دیواره باکتری ها

جدار سلول باکتری بصورت یک پوشش حمایتی سلول را در بر گرفته که باعث حفظ شکل و حجم طبیعی باکتری شده و سیتوپلاسم را در برابر محیط های بسیار هیپوتونیک محافظت می کند. شبکه ساختمانی دیواره باکتری از مورین (Murein یا Peptidoglycan) ساخته شده است. مورین از تکرار واحدهای موروپپتید (Muropeptide) درست شده که می توان آنها را به کمک آنزیم Lysozyme از یکدیگر جدا نمود. آنزیم لیزوزیم در اشک چشم و سفیده تخم مرغ یافت می شود. (واحدهای موروپپتید خود از دو قند N – استیل D – گلوکز آمین و N-استیل میورامیک اسید با اتصال های (4 ⟵ β1)ساخته شده است. گروه کربوکسیل هر یک از مولکول های N – استیل میورامیک اسید به یک تتراپپتید متصل است.)

۷-٤ سئوالات چهار گزینه ای:

۱- در ساختمان کدام پلی ساکارید، بیش از یک نوع واحد قندی وجود دارد؟

الف - آمیلوپکتین

ب - گلیکوژن

ج - نشاسته

✓ د - هیالورونات

۲- کدامیک از قندهای زیر غیر احیاء کننده می باشد؟

الف - گلوکز

✓ ب - سوکروز

ج - مالتوز

د - فروکتوز

۳- کدامیک از قندهای زیر در ساختمان اسیدهای نوکلئیک یافت می شود؟

الف - فروکتوز

ب - سوکروز

✓ ج - ریبوز

د - گلیسرآلدئید

۴- در فرمول هیورث گلوکز دارای چند مرکز نامتقارن می باشد؟

الف - ۲

ب - ۳

ج - ۴

✓ د - ۵

۵- کدامیک از قندهای زیر اپیمر گلوکز می باشد؟

✓ الف - مانوز

ب - فروکتوز

ج - آرابینوز

د - ریبوز

۶- به تبدیل متقابل آنومرهای β, α به یکدیگر ..... گویند.

الف- ایزومری فضایی

ب - مخلوط راسمیک

ج - ایزومری اپیمری

✓ د - موتاروتاسیون

۷- کدامیک از عبارات زیر در مورد ترهالوز(Trehalose) غلط است؟

الف - یک قند غیر احیاء کننده است.

✓ب - یک تری ساکارید می باشد.

ج - یک دی ساکارید متشکل از یک نوع قند می باشد.

د - دارای پیوند گلیکوزیدی (α1 ⟵ 1α) می باشد.

۸- تفاوت آمیلوپکتین و گلیکوژن در تعداد پیوندهای ..... می باشد.

✓الف - α1 ⟶ 6

ب - α1 ⟶ 4

ج - β1 ⟶ 6

د - β1 ⟶ 4

منابع :

1- Text Book of Biochemistry with Clinical Correlations, 7th edition, Thomas M. Devlin, John Wiley & Sons, Inc. USA, 2011.
2- Lehninger Principles of Biochemistry, 5th edition, David L. Nelson, Michael M. Cox, W.H. Freeman & Company, New York, 2008 .

تار نما ها:

1- Sugar structure:
http://bama.ua.edu/~lsbusenlehner/Chapter7a.pdf
2- Sugar chemistry:
www.cem.msu.edu/~reusch/VirtualText/carbhyd.htm

CamScanner

فصل ۵

لیپیدها

دکتر علی اکبر اوجی

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

- لیپیدها را دسته بندی نمایید.
- ساختمان شیمیائی و انواع اسید های چرب را شناخته و آنها را نام گذاری کنید.
- خواص شیمیائی (پراکسیداسیون) و اهمیت زیست پزشکی اسیدها ی چرب غیر اشباع را شرح دهید.
- ساختمان شیمیائی ایکوزانوییدها را از یکدیگر تشخیص داده، اهمیت زیست پزشکی آنهارا توضیح دهید.
- اجزاء ساختمانی و انواع تری گلیسریدها، فسفولیپیدها، گلیکولیپیدها، استروئیدها، نمک های صفراوی و ترپن ها را شناخته و اهمیت زیست پزشکی آنها را توصیف نمایید.

۲ چربی ها (Lipids) ترکیباتی هستند که توسط حلال های آلی از بافت های حیاتی استخراج می شوند. مواد چربی دارای نقش اصلی در تکوین ساختار غشاء های سلولی بوده و بنابراین از ارکان اصلی حیات محسوب می شوند. چربی ها مهم ترین ذخیره سوخت بدن هستند. علاوه بر این، برخی از مواد چربی بعنوان هورمون های درون ریز و یا هورمون های موضعی دارای اهمیت زیستی می باشند. این فصل مرور کوتاهی بر ساختمان، خواص شیمیایی و اهمیت زیستی انواع مختلف مواد چربی است. از نظر ویژگی های ساختمانی می توان چربی ها را به ترتیب زیر دسته بندی نمود.

۱) **اسیدهای چرب**(Fatty acids) عمده ترین منبع سوخت جانداران می باشند، همچنین به عنوان یک واحد ساختمانی اساسی برای دسته های مهمی از ترکیبات لیپیدی بکار می روند. بعضی از مشتقات اسید های چرب مانند پروستاگلندین ها(Prostaglandins) نیز به عنوان هورمون های موضعی عمل می کنند.

۲) **گلیسریل استرها**(Glyceryl esters) استراسیدهای چرب با گلیسرول می باشند. روغن های حیوانی و گیاهی در زمره ی این دسته از چربی ها هستند. فسفولیپیدها نیز که از اجزای مهم غشاهای سلولی هستند در این دسته قرار می گیرند.

۳) **اسفنگولیپیدها** (Sphingolipids) در ساختار خود یک الکل بلند زنجیره ای خطی و آمین دار به نام اسفنگوزین (Sphingosine) دارند. اسفنگو لیپیدها از اجزای مهم غشاءهای سلولی هستند. بعضی از آنها به عنوان آنتی ژن سطح سلولی اهمیت دارند.

٤) **مشتقات استرول ها** (Sterol derivatives) در واقع لیپیدهایی با ساختار حلقوی و پیچیده هستند. معروفترین استرول ها کلسترول است. کلسترول از اجزای مهم غشاءهای سلولی است. املاح صفراوی، ویتامین D و هورمون های استروئیدی از کلسترول مشتق می شوند.

۵) **ترپن ها**(Terpenes) پلی مرهایی از واحدهای ۵ کربنی به نام ایزوپرن(Isoprene) هستند. کائوچوی طبیعی، ویتامین های A, E, K و برخی ترکیبات گیاهی مانند مانتول و کافور از معروف ترین ترپن ها هستند.

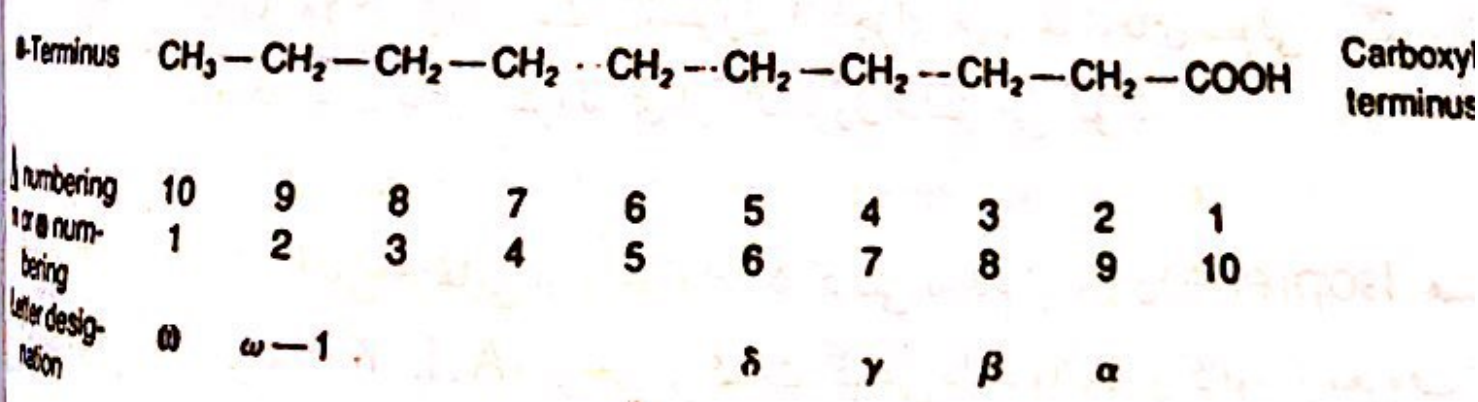
Scanned with CamScanner

۱-۵ اسیدهای چرب معمولا بصورت زوج کربن و بدون شاخه جانبی در طبیعت یافت می شوند.

اسیدهای چرب با فرمول عمومی R-COOH بیشتر بصورت زوج کربن و بدون شاخه جانبی در طبیعت یافت می شوند. اگر چه در طبیعت اسیدهای چرب دارای شاخه ی متیل نیز وجود دارند. در این مورد میتوان از فیتانیک اسید (Phytanic acid) موجود در چربی های حیوانی نام برد. این اسید چرب در بدن علف خواران از فیتول(Phytol) مشتق شده، سپس از راه گوشت و شیر این حیوانات وارد بدن انسان می گردد. فیتول یک الکل بلند زنجیره دارای شاخه متیل و از اجزاء کلروفیل می باشد. در غدد سباسه ی (Sebaceous glands) پوست هم اسیدهای چرب دارای شاخه متیل وجود دارند. همچنین برخی اسیدهای چرب دارای عامل هیدروکسیل نیز، مانند اسید ریسینولئیک (Ricinoleic acid) و اسید سربرونیک (Cerebronic acid)، درمنابع گیاهی وجود دارند. خاصیت مسهل بودن روغن کرچک را به وجود اسیدهای چرب دارای عامل هیدروکسیل در آن نسبت می دهند.

نام گذاری اسیدهای چرب: محل هر کدام از اتم های کربن موجود در زنجیره اسیدهای چرب به سه روش تعیین می گردد(شکل ۱-۵):

- در روش شماره گذاری دلتا- کربن عامل کربوکسیل به عنوان کربن شماره یک در نظر گرفته می شود.
- در روش شماره گذاری امگا و یا ان (n) کربن عامل متیل انتهایی کربن شماره یک می باشد.
- در روش حرف گذاری اولین کربن متصل به عامل کربوکسیل با حرف یونانی آلفا (α) و کربن بعدی به ترتیب با حروف بتا (β)، گاما (γ) و دلتا (δ) مشخص می شوند. کربن عامل متیل انتهایی با حرف امگا (ω) نشان داده می شود (شکل ۱-۵).



شکل ۱-۵ روش های مختلف تعیین محل اتم های کربن در زنجیره اسید چرب

Scanned with CamScanner

برخی از اسیدهای چرب بویژه آنها که به فراوانی در طبیعت وجود دارند دارای نام های مصطلح می باشند، مانند اسید پالمیتیک (شانزده کربنی اشباع)، اسید استاریک (۱۸ کربنی اشباع) و اسید اولئیک (۱۸کربنی غیر اشباع). برای نامگذاری اسیدهای چرب به روش آیوپاک (IUPAC) پسوند اوئیک (oic) به آخر نام لاتین زنجیره هیدروکربنی اضافه می گردد. مثلا اسید پالمتیک هگزادکانوئیک اسید نام دارد (جدول ۱-۵).

Number of carbons	Common name	IUPAC name	Unsaturated fatty acid class	Melting Point, °C
12	Laurate	n-Dodecanoate		44.2
14	Myristate	n-Tetradecanoate		53.9
16	Palmitate	n-Hexadecanoate		63.1
18	Stearate	n-Octadecanoate		69.6
20	Arachidate	n-Eicosanoate		76.5
16	Palmitoleate	Cis-Δ^9-Hexadecenoate	n-7	-0.5
18	Oleate	Cis- Δ^9-Octadecenoate	n-9	13.4
18	Linoleate	Cis, Cis- $\Delta^{9,12}$-Octadecadienoate	n-6	-5.0
18	Linolenate	All Cis- $\Delta^{9,12,15}$-Octadecatrienoate	n-3	- 11.0
20	Arachidonate	All Cis- $\Delta^{5,8,11,14}$- Eicosatetraenoat	n-6	- 49.5

جدول ۱-۵ نامگذاری برخی اسید های چرب وخانواده های (n) مختلف آنها

IUPAC = International Union of Pure and Applied chemistry

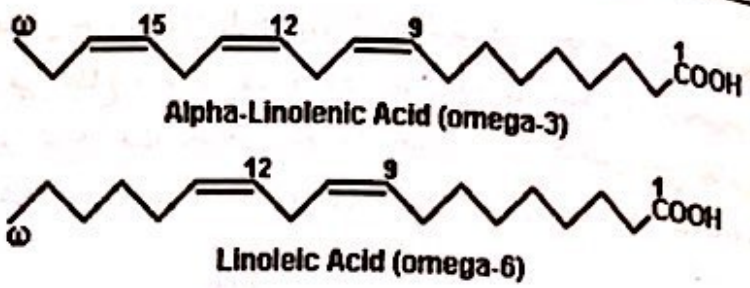
Scanned with CamScanner

در مورد اسیدهای چرب اشباع خطی پیشوند ان (n) نیز اضافه میشود. برای نشان دادن تعداد اتصالات دوگانه از پسوندهای دی (di) و تری (tri) و غیره استفاده می شود. برای تعیین محل اتصال دوگانه لازم است ابتدا اتم های کربن زنجیره به روش دلتا شماره گذاری شده، سپس شماره یا شماره های مربوط به کربن دارای اتصال دوگانه قید گردد. بدین ترتیب اسید لینولئیک (Linoleate) که دارای دو اتصال دوگانه بین کربن های ۹-۱۰ و ۱۲-۱۳ می باشد ۱۲ و ۹ اکتا دکا دی ان اوئیک اسید نام خواهد داشت. مرسوم است که مشخصات چنین اسید چربی را بطور اختصاری به صورت $18 : Cis,Cis\ \Delta^{9,12}$ نمایش دهند. علامت cis نشان دهنده نوع ایزومری فضائی اتصال دوگانه می باشد.

همچنین متداول است که اسیدهای چرب غیر اشباع را بر اساس شماره کربن حاوی اولین اتصال دوگانه با در نظر گرفتن روش شماره گذاری ان (n) به خانواده های مختلف تقسیم بندی نمایند. بدین ترتیب اسید لینولئیک از خانواده n6 و یا امگا۶ خواهد بود. اسیدهای چرب دارای اتصال دوگانه بر روی کربن شماره ۳ از انتها از خانواده n3 بوده و به اسیدهای چرب امگا ۳ شهرت دارند. اسید آلفا لینولنیک ($18:all\ Cis\ \Delta^{9,12,15}$) از معروفترین اسیدهای چرب امگا ۳ می باشد. افزایش مصرف روزانه مواد غذایی دارای اسیدهای چرب امگا ۳ با کاهش خطر ابتلا به بیماری های قلبی عروقی همراه است. بذر کتان، ماهی و گردو از منابع غنی اسیدهای چرب امگا ۳ می باشند. لازم به ذکر است که هنگامی که علامت اختصاری یک اسید چرب بر اساس سیستم دلتا نمایش داده شده است برای تعیین خانواده ان(n) چنین اسید چربی کافی است بزرگترین شماره کربن دارای اتصال دو گانه سیستم دلتا را از تعداد کربن اسید چرب کسر نمائیم.

اسیدهای چرب ضروری(Essential fatty acids) : اسیدهای چربی که دارای اتصال دوگانه در بین هفت کربن انتهای متیل می باشند، در بدن انسان ساخته نشده و بایستی به میزان کافی از طریق غذا به بدن وارد شوند. بنا براین اسیدهای چرب خانواده n6 و n3 اسیدهای چرب ضروری نامیده می شوند (شکل ۲-۵). اسید لینولئیک و اسید آراشیدونیک (خانواده n6) و اسیدآلفا لینولنیک (خانواده n3) از اسیدهای چرب ضروری می باشند.

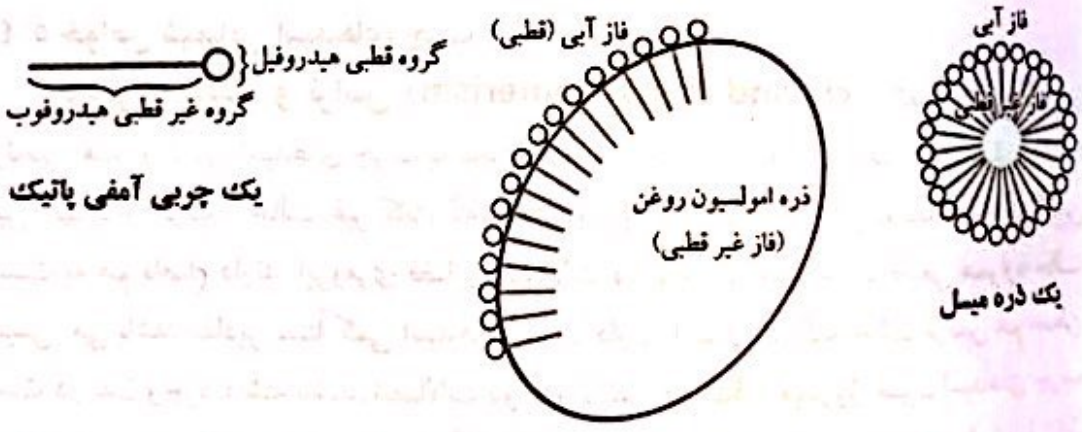
Scanned with CamScanner



شکل ۲-۵ ساختمان اسیدهای چرب ضروری

۳-۵ خواص فیزیکی اسیدهای چرب

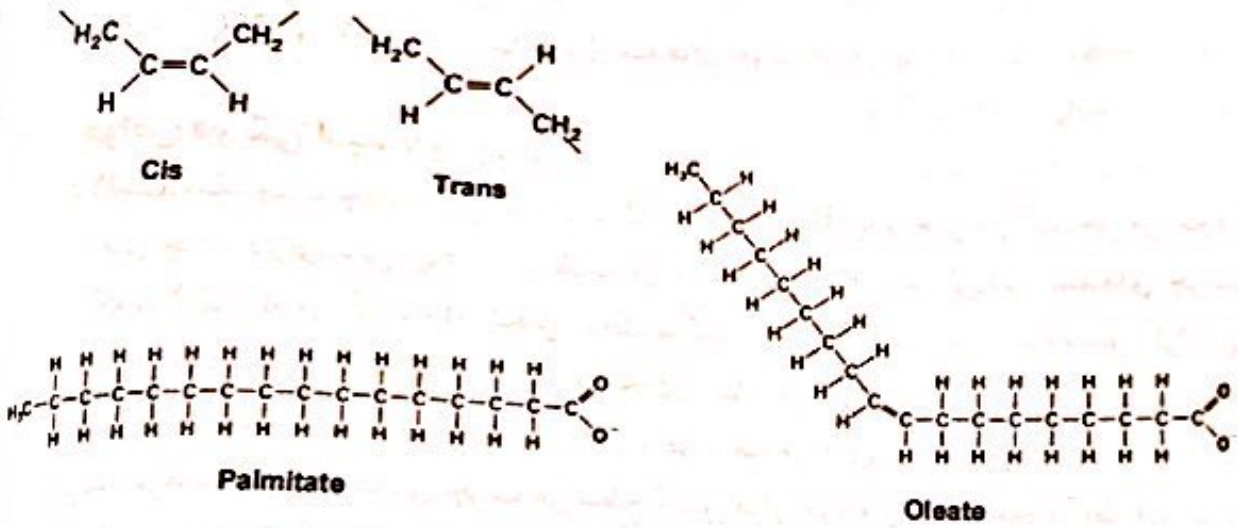
حلالیت: اسید چرب چهار کربنی بوتیریک(Butyric acid) به راحتی در آب حل می شود. اما اسید های چرب دارای بیش از ۶ کربن تقریباً در آب نامحلول هستند ولی این اسیدهای چرب هنگامی که در آب قرار می گیرند، به تشکیل ذرات میکروسکوپی کروی شکلی بنام میسل گرایش دارند. در هر ذره میسل، اسیدهای چرب به نحوی کنار هم قرار می گیرند که دنباله های هیدروکربنی و غیر قطبی آنها با هم در تماس بوده و در ناحیه مرکزی و پنهان از ملکول های آب قرار گیرند. سرهای قطبی اسیدهای چرب در سطح میسل قرار گرفته و با آب محیط اطراف میان کنش ایجاد می نمایند (شکل ۳-۵). بدینوسیله ذرات میسل در آب از یک پایداری ترمودینامیکی برخوردار می گردند. این گرایش خاص که ملکول های اسیدهای چرب و سایر ملکول های آمفی پاتیک در آب از خود نشان می دهند اثر هیدروفوب (Hydrophobic effect) نام دارد.



شکل ۳-۵ تشکیل میسل و امولسیون پایدار توسط اسیدهای چرب

Scanned with CamScanner

نقطه جوش :اسیدهای چرب اشباع دارای بیش از ده کربن در درجه حرارت اطاق جامد و تمامی اسیدهای چرب غیر اشباع مایع هستند. وجود اتصال دوگانه سیس در زنجیره هیدروکربنی اسیدهای چرب غیر اشباع باعث انحراف زنجیره از خط راست و کاهش سطح تماس زنجیره های مجاور می گردد (شکل ۴-۵). در نتیجه نیروهای واندروالسی بین زنجیره ها کم شده و نقطه جوش کاهش می یابد.



شکل ۴-۵. ایزومری سیس و ترانس در اسیدهای چرب

٤-٥ خواص شیمیایی اسیدهای چرب

ایزومری سیس و ترانس (cis and trans isomerism) : اتصالات دوگانه در زنجیره هیدروکربنی اسیدهای چرب به نحوی قرار می گیرند که همواره یک عامل متیلن (CH_2) بین آنها قرار گرفته (حالت غیر کانژوگه، Unconjugated) و بنابراین به تعداد سه اتم کربن نسبت به هم فاصله دارند. ایزومری فضایی اتصالات دوگانه اسیدهای چرب طبیعی همواره حالت سیس می باشد. مقادیر نسبتاً کمی اسیدهای چرب دارای اتصال دوگانه حالت ترانس هم ممکن است در بدن وجود داشته باشند. اتصالات دوگانه ترانس در هنگام هیدروژناسیون اسیدهای چرب موجود در روغن های نباتی و یا در هنگام طبخ غذا ایجاد شده و به بدن وارد می شوند. ارتباط مستقیمی بین میزان اسیدهای چرب ترانس موجود در غذا و بیماری های قلبی عروقی مشاهده شده است.

Scanned with CamScanner

هیدروژناسیون اسیدهای چرب غیر اشباع: اتصالات دوگانه سیس در حضور هیدروژن و کاتالیزورهایی مانند نیکل و پلاتین احیا شده و به اتصالات ساده تبدیل می گردند. بنابراین اسیدهای چرب غیر اشباع که در درجه حرارت معمولی مایع هستند به اسیدهای چرب اشباع جامد تبدیل می گردند.

$$\text{linoleic acid (18:2 } \Delta^{9,12}\text{)} \xrightarrow[\text{Ni,Pt}]{H_2} \text{stearic acid (18:0)}$$

پراکسیداسیون (peroxidation) در اسیدهای چرب غیر اشباع: این جریان در حضور یک رادیکال آزاد ($\dot{X}$)، نور و یا بعضی یون های فلزی شروع شده و به صورت واکنش های زنجیره ای پیشرفت می نماید (حاشیه ۱-۵). حین پیشرفت این واکنش ها ی زنجیره ای رادیکال های آزاد متنوع و بیشتری تولید می شوند که به ملکول های حیاتی پیرامون خود آسیب می رسانند. ضمن این جریان زنجیره هیدروکربن اسیدهای چرب نیز از محل اتصالات دوگانه شکسته شده و در نهایت زنجیره های کوتاه تر و اکسیژن دار مانند مالون دی آلدئید (Malondialdehyde) تولید می گردند. مالون دی آلدئید از نظر شیمیایی فعال بوده و با گروه های عاملی ملکول های زیستی مانند عامل آمین بازهای آلی واکنش می دهد. بدین ترتیب جریان پراکسیداسیون اسیدهای چرب می تواند نقش مهمی در ایجاد پیری و بیماری هایی مانند سرطان، بیماری های التهابی و تصلب شرائین داشته باشد.

Scanned with CamScanner

حاشیه ۱-۵ پراکسیداسیون اسیدهای چرب: هیدروژن مربوط به عامل متیلن موجود بین دو پیوند دوگانه متوالی موجود در اسیدهای چرب غیر اشباع از نظر شیمیایی نسبتاً فعال بوده و به سهولت توسط رادیکال های آزاد جدا شده و در نتیجه زنجیره هیدروکربنی اسید چرب خود به یک رادیکال آزاد تبدیل می گردد. اکسیژن ملکولی با این رادیکال جدید واکنش داده و بدین ترتیب یک سری واکنش های رادیکالی زنجیره ای بر روی زنجیره هیدروکربنی اسید چرب شروع و پیشرفت می کند. حین انجام این واکنش ها رادیکال های آزاد و پراکسیدهای متنوعی ایجاد شده و نهایتاً واکنش ها با تشکیل ترکیبات حاصل از اکسیداسیون و شکسته شدن زنجیره هیدروکربنی اسید چرب خاتمه میابد. رادیکال های آزاد و پراکسیدهای تولید شده حین پیشرفت واکنش های پراکسیداسیون و همچنین محصولات این واکنش ها می توانند باعث آسیب به ملکول های حیاتی و ایجاد پدیده هایی مانند پیری، سرطان و تصلب شرائین گردند. مالون دی آلدئید از شناخته شده ترین این محصولات می باشد. این ترکیب از نظر شیمیایی فعال بوده و می تواند با گروه های عاملی موجود در ملکول های حیاتی از جمله عامل آمین بازهای آلی در ملکول DNA و پروتئین ها واکنش دهد. در نتیجه پراکسیداسیون اسیدهای چرب طعم و بوی روغن ها تغییر می نماید (تند شدن روغن ها یا Rancidity).

واکنش های پراکسیداسیون:

واکنش های شروع

$$ROOH + Metal^{(n)+} \rightarrow ROO^{\bullet} + Metal^{(n-1)+} + H+$$

واکنش های پیشرفت

$$X^{\bullet} + RH \rightarrow R^{\bullet} + XH$$

$$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow ROO^{\bullet}$$

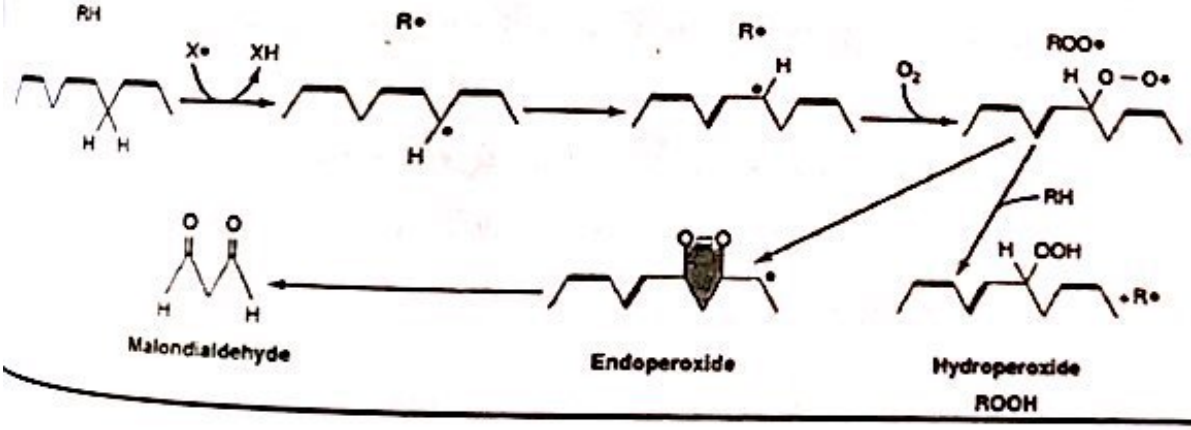
واکنش های خاتمه

$$ROO^{\bullet} + RH \rightarrow ROOH + R^{\bullet}, \text{ etc}$$

$$ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \rightarrow ROOR + O_2$$

$$ROO^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow ROOR$$

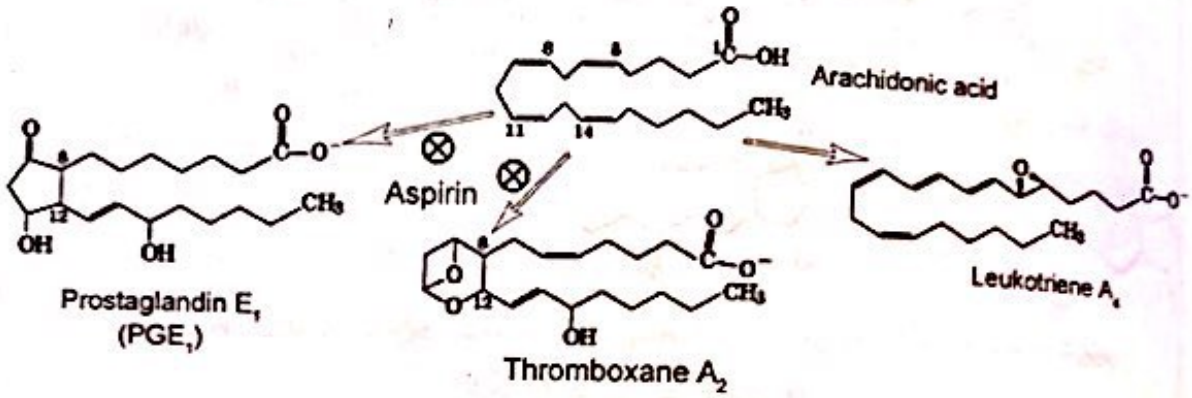
$$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow RR$$



Scanned with CamScanner

۵-۵ ایکوزانوئیدها (Eicosanoids) از مشتقات اسیدهای چرب غیر اشباع بیست کربنی بوده و به عنوان هورمون های موضعی عمل می نمایند:

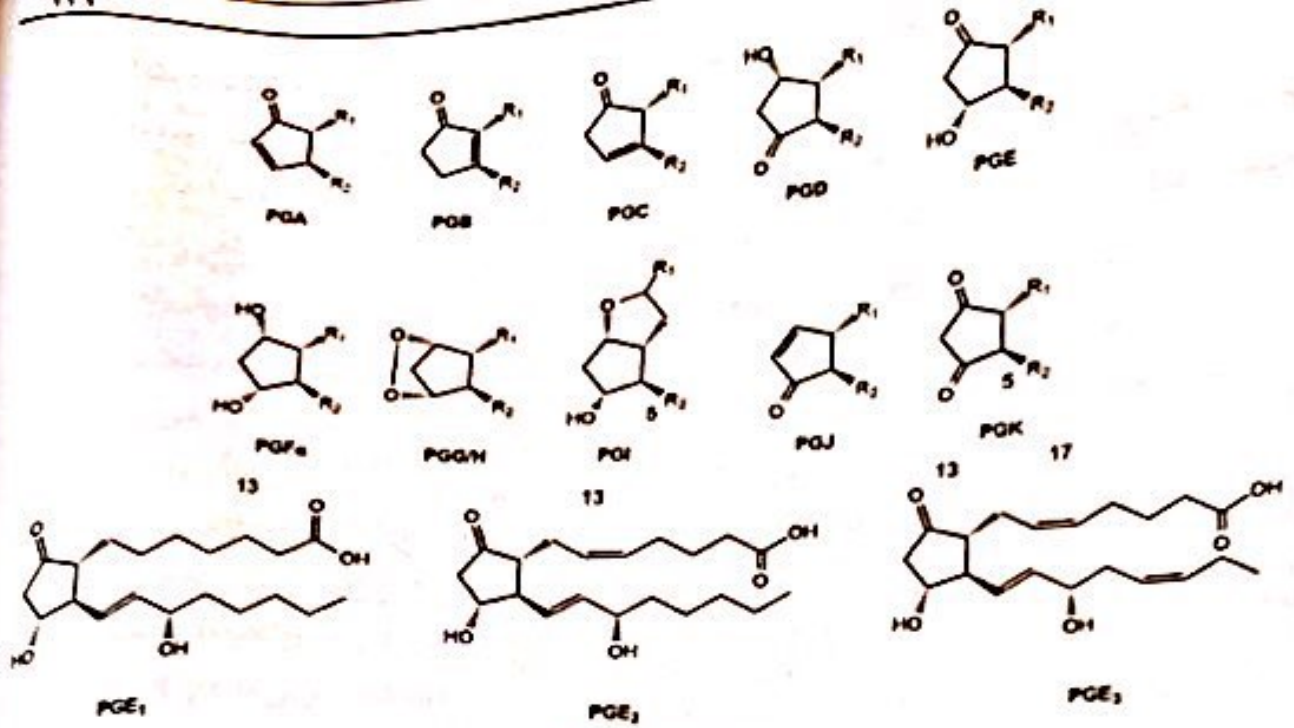
آراشیدونیک اسید (ایکوزاترا انوییک اسید) در بسیاری از سلول های بدن به ایکوزانوئیدها شامل پروستاگلندین ها، ترومبواکسان ها و لکوتری ان ها تبدیل می گردد (شکل ۵-۵). این ترکیبات بعنوان هورمون های موضعی عمل نموده و اثر زیستی خود را در محل ترشح ایجاد می نمایند (حاشیه ۲-۵).



شکل ۵-۵. ایکوزانوییدها

پروستاگلندین ها (prostaglandins): در سال ۱۹۳۰ نشان داده شد که عصاره غده پروستات گوسفند می تواند نوارهای باریک تهیه شده از عضلات صاف رحم و روده را منقبض نماید. بعداً عامل لیپیدی و اسیدی ایجاد کننده این پدیده پروستاگلندین نامیده شد. متعاقباً ساختمان های انواع مختلف پروستاگلندین ها کشف شدند. در جریان سنتز پروستاگلندین ها در سلول های پستانداران، زنجیره هیدروکربنی اسید آراشیدونیک بر روی خود تاخورده و در محل تاخوردگی یک حلقه سیکلوپنتان تشکیل می گردد(شکل ۶-۵). بر اساس ساختمان شیمیایی حلقه و نوع گروه های عاملی آن دسته های مختلف پروستاگلندین ها معرفی شده اند که با حروف بزرگ انگلیسی نمایش داده می شوند (PGF, PGE_1 PGA و غیره). در هر دسته از پروستاگلندین ها نیز چند سری مختلف وجود دارند که تنها از نظر تعداد اتصالات دوگانه موجود در زنجیره های R متصل به سیکلوپنتان با هم تفاوت دارند. تعداد اتصالات دو گانه به صورت زیر نویس نمایش داده می شود، مثلاً PGE_1 PGE_2 و PGE_3.

Scanned with CamScanner



شکل ۶-۵. پروستاگلندین ها

در مورد پروستاگلندین های خانواده F علامت زیر نویس α مربوط به آرایش فضایی عامل هیدروکسیل موجود در کربن شماره ۹ سیکلوپنتان می باشد. عامل هیدروکسیل در وضعیت α به سمت زیر حلقه قرار گرفته و پیوند آن با حلقه با خط نقطه چین نمایش داده می شود.

لکوتری ان ها (Leukotrienes): معمولاً دارای چهار اتصال دوگانه هستند که حداقل سه اتصال دوگانه آنها کانژوگه (Conjugated) می باشند (شکل ۵-۵). در مورد آثار زیستی این مواد می توان از نقش آنها در واکنش های آلرژی ، التهاب ، کیموتاکسی مربوط به لکوسیت ها و انقباض عضلات مجاری هوایی برونش(حبابچه) ریه نام برد. اخیراً از داروهایی که ستز بعضی انواع لکوتری ان ها و یا اتصال آنها به گیرنده هایشان را مهار می نمایند در درمان بیماری آسم استفاده می نمایند.

۶-۵ گلیسریل استرها (Glyceryl esters) شامل گلیسیریدها و فسفوگلیسیریدها می شوند:

گلیسیریدها (اسیل گلیسرول ها) : در این ترکیبات الکل سه کربنی و سه ظرفیتی گلیسرول حداقل در یکی از عوامل هیدروکسیل خود پیوند استری ایجاد می نماید. بدین ترتیب منو، دی و تری گلیسریدها به ترتیب از ترکیب یک، دو ویا سه ملکول اسید چرب با گلیسرول تشکیل می شوند. خواص گلیسیریدها بستگی به نوع اسیدهای چربی دارد که در تشکیل پیوند استری شرکت می نمایند.

Scanned with CamScanner

حاشیه ۲-۵ اهمیت زیستی پروستاگلندین ها: پروستاگلندین ها هورمون های موضعی محسوب می شوند. این ترکیبات پس از ترشح از یک سلول، به گیرنده های خود بر روی همان سلول و یا بر روی سلول های مجاور متصل شده و اثر زیستی خود را ایجاد می نمایند. نیمه عمر پروستاگلندین ها کوتاه بوده و طرف چند دقیقه یا دقیقه پس از ترشح غیر فعال می گردند. بعضی از پدیده های زیستی که پروستاگلندین ها در آنها دخالت دارند عبارتند از:

التهاب: PGE_1 و PGE_2 باعث افزایش قطر سرخرگ های کوچک می شوند. در نتیجه افزایش ورود خون، محل التهاب قرمز و گرم می گردد. این پروستاگلندین ها با افزایش نفوذ پذیری جداره مویرگ ها باعث ایجاد ورم و خیز در ناحیه التهاب نیز می گردند. کورتیکواستروئیدها که مانع بیوسنتز پروستاگلندین ها می شوند دارای آثار ضد التهاب می باشند.

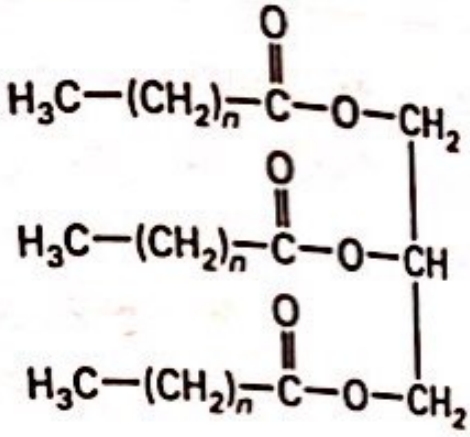
درد و تب : PGE_2 در ایجاد تب و همچنین افزایش شدت و دوام درد دخالت دارد.

تولید مثل : PGE_2 و PGF_2 باعث انقباض عضلات صاف رحم در زایمان یا سقط جنین می گردند.

کنترل ترشح اسید از معده: پروستاگلندین های مصنوعی داروهای موثری در مهار ترشح اسید کلریدریک از معده و درمان زخم های پپتیک می باشند.

انعقاد خون: هنگامیکه پلاکت ها با بعضی سطوح نا آشنا، (مثلاً بریدگی) کلاژن و یا ترومبین تماس پیدا می کنند مبادرت به ترشح ترومبوکسان A_2 مینمایند. این ترکیب به گیرنده های خود واقع در غشاء پلاکت ها متصل شده و موجب تجمع پلاکت ها و زمینه ساز تشکیل لخته می گردد. از طرفی سلول های اندوتلیال جداره عروق PGI_2 و یا پروستاسیکلین را ترشح می نمایند. این ترکیب روند تجمع پلاکت ها را مهار می نماید تا بدینوسیله از تشکیل لخته در عروق سالم جلوگیری شود.

Scanned with CamScanner



تری گلیسریدها (Triacylglycerols)

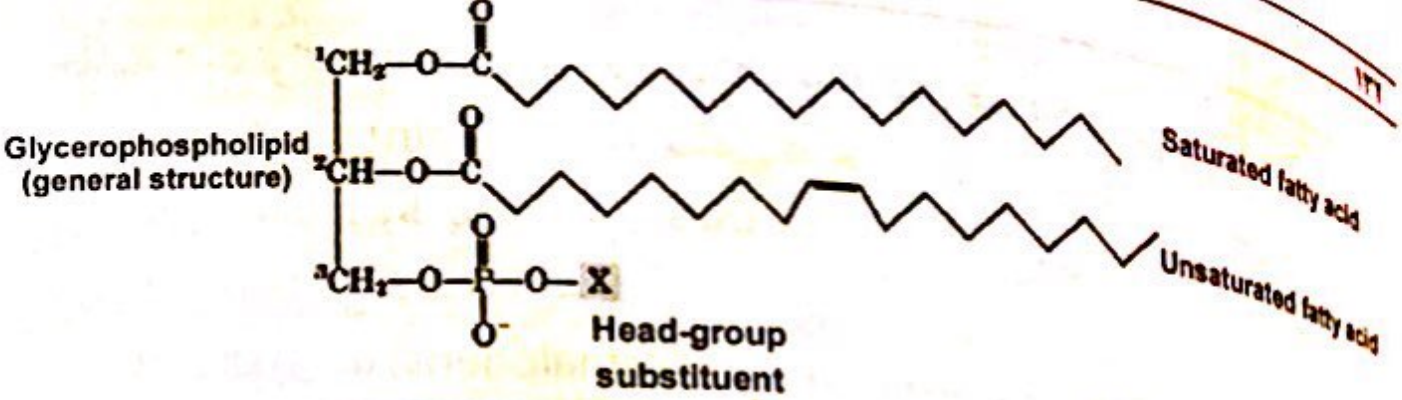
گلیسریدها بخش اعظم چربی های ذخیره ای حیوانی و گیاهی را تشکیل می دهند. گلیسرید های که روغن های مایع را تشکیل می دهند بیشتر دارای اسیدهای چرب غیراشباع هستند در حالیکه در ساختمان پیه و چربی های جامد بیشتر اسیدهای چرب اشباع وجود دارند. واکنش هیدرولیز پیوندهای استری گلیسریدها در محیط قلیایی (صابونی شدن) از دیرباز برای بشر شناخته شده می باشد. تمامی چربی هایی که دارای حداقل یک ملکول اسید چرب در یک پیوند استری باشند قابل صابونی شدن هستند.

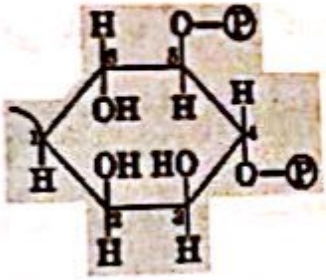
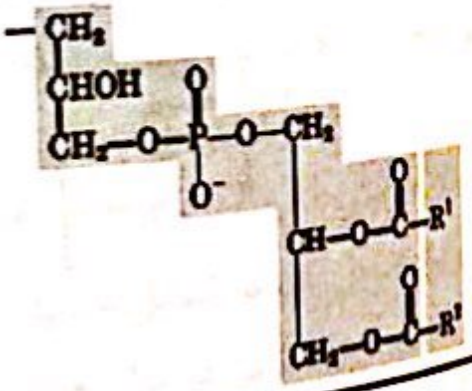


فسفوگلیسریدها (Phosphoglycerides): مشتقات L گلیسرول - ۳- فسفات هستند. اگر عوامل هیدروکسیل موجود در این ترکیب با دو ملکول اسید چرب پیوند استری ایجاد نمایند در اینصورت فسفاتیدیک اسید (Phosphatidic acid) حاصل می گردد. هنگامیکه فسفاتیدیک اسید از طریق یکی از ظرفیت های اسیدی باقیمانده در ملکول فسفات خود با یک الکل دیگر پیوند استری برقرار نماید در اینصورت فسفوگلیسریدها تشکیل می شوند (شکل ۷-۵). فسفاتیدیل کولین (لسیتین Lecithin)، فسفاتیدیل اتانول آمین (سفالین Cephalin) و فسفاتیدیل سرین فراوانترین فسفولیپیدها و از اجزاء مهم غشاء سلولی می باشند. فسفاتیدیل اینوزیتول و بعضی از اشکال فسفاته آن مانند فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ ، ۵ - بیس فسفات از دیگر فسفولیپیدهای مهم غشاء سلولی می باشند.

به دنبال تحریک سلول توسط بعضی از هورمون ها و محرک های پیوند استری بین ملکول فسفات و کربن شماره ۳ گلیسرول در مولکول فسفاتیدیل اینوزیتول ۴ ، ۵ - بیس فسفات هیدرولیز شده، در نتیجه دی گلیسرید و اینوزیتول تری فسفات تولید می گردند. این دو ملکول بعنوان پیامبرهای ثانویه برای هورمون ها و محرک های مربوط به خود عمل می نمایند. علاوه بر موارد فوق، برخی فسفو گلیسریدهای غیر عادی نیز در طبیعت وجود دارند که در حاشیه ۳-۵ معرفی شده اند.

Scanned with CamScanner



Name of glycerophospholipid	Name of X	Formula of X	Net charge (at pH 7)
Phosphatidic acid	—	—H	-1
Phosphatidylethanolamine	Ethanolamine	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$	0
Phosphatidylcholine	Choline	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(CH_3)_3$	0
Phosphatidylserine	Serine	$-CH_2-CH(\overset{+}{N}H_3)-COO^-$	-1
Phosphatidylglycerol	Glycerol	$-CH_2-CH(OH)-CH_2-OH$	-1
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	*myo*-Inositol 4,5-bisphosphate		-4
Cardiolipin	Phosphatidyl-glycerol		-2

شکل ۷-۵ . فسفولیپیدها

Scanned with CamScanner

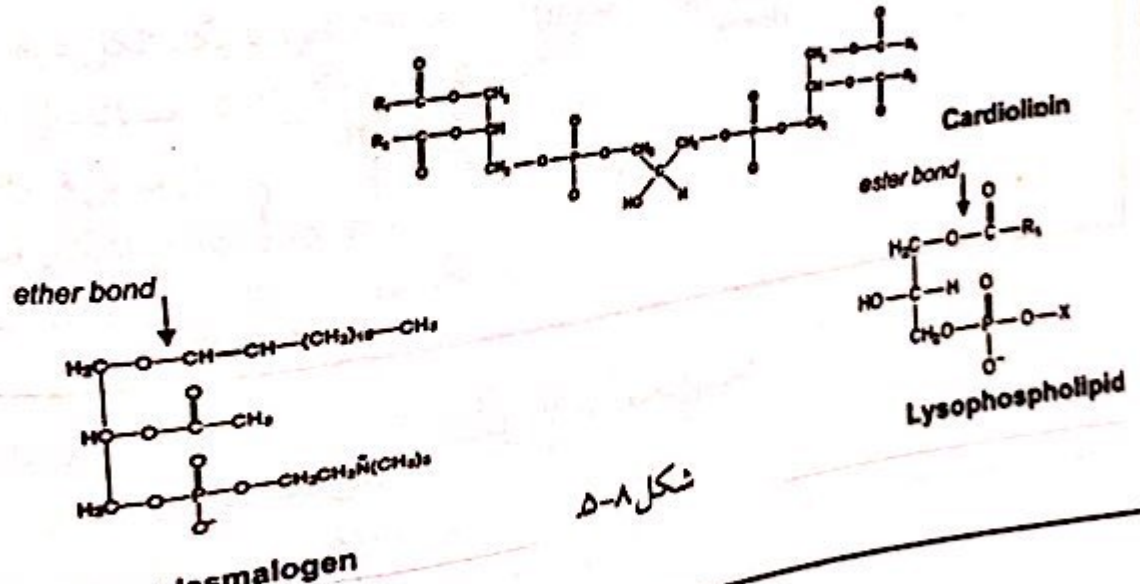
فسفوگلیسیریدهای غیر عادی می باشند.

حاشیه ۲-۵ ترکیبات زیردر زمره

کاردیولیپین: (Cardiolipin): هنگامی که یک ملکول گلیسرول بصورت پل عمل نموده و با گروه های فسفات مربوط به دو ملکول فسفاتیدیک اسید پیوند استری برقرار نماید در اینصورت کاردیولیپین تشکیل می گردد (شکل۸-۵).

پلاسمالوژن ها (Plasmalogens) : حدود ۱۰٪ فسفولیپیدهای مغز و عضلات را پلاسمالوژن ها تشکیل می دهند. این فسفولیپیدها بیشتر به فسفاتیدیل اتانول آمین شباهت دارند، اما در پلاسما لوژن ها یک ملکول الکل بلند زنجیره غیر اشباع با عامل هیدروکسیل کربن شماره ۱ گلیسرول پیوند اتری ایجاد می نماید (شکل۸-۵).

لیزوفسفولیپید ها (Lysophospholipids): فسفوگلیسیریدها ملکول های آمفی پاتیک هستند زیرا در ساختمان خود دارای یک سر قطبی و هیدروفیل (مولکول فسفات و الکل) و یک ناحیه غیر قطبی و هیدروفوب (دنباله هیدروکربنی اسیدهای چرب) می باشند. لذا هنگامیکه در محیط های آبی قرار می گیرند باعث کاهش کشش سطحی آب و تولید کف می شوند. همچنین بواسطه اثر هیدروفوب قادرند در ساختارهایی مانند غشاء دو لایه شرکت کنند. هنگامی که یک ملکول اسید چرب از ملکول فسفولیپید هیدرولیز و جدا می گردد در اینصورت توازن بین بخش های هیدروفیل و هیدروفوب ملکول حاصله بهتر برقرار شده و بنابراین خاصیت آمفیپاتیک آن افزایش می یابد، به گونه ای که این ملکول ها قادر به حل و متلاشی نمودن ساختار غشاء سلول ها می باشند. به همین دلیل به این نوع فسفولیپیدها لیزوفسفولیپید گفته می شود (شکل۸-۵).

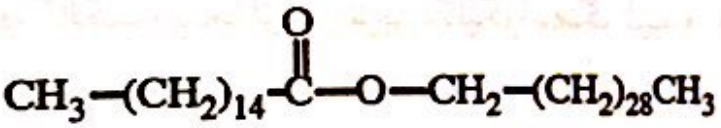


شکل۸-۵

Scanned with CamScanner

سندرم دیسترس تنفسی (Respiratory distress syndrome) : عملکرد صحیح ریه ها منوط به ترشح موادی است که کشش سطحی آب را کاهش داده و از بهم چسبیدن جداره مرطوب حبابچه ها در انتهای بازدم جلوگیری می نمایند. این مواد سرفکتانت (Surfactant) نامیده می شوند. مواد سرفکتانت ریه شامل فسفولیپیدها و پروتئین های خاصی می باشند. دی پالمیتوئیل لسیتین موثرترین ملکول موجود در سرفکتانت های ریه می باشد. سرفکتانت های ریه از سلول های پنوموسیت نوع II ترشح می گردند. این سلول ها از هفته ۳۲ از دوران جنینی به بعد به میزان کافی در حبابچه ها ظاهر می شوند. بنابراین نوزادانی که قبل از هفته ۳۲ متولد می شوند با مشکل کمبود سرفکتانت در حبابچه های ریه و دیسترس تنفسی مواجه هستند. این عارضه عامل مرگ ۲۰- ۱۵ درصد نوزادان در بسیاری از کشورها می باشد. عارضه دیسترس تنفسی در بزرگسالان هنگامی مشاهده می شود که پنوموسیت های نوع II به دلایلی مانند مصرف داروهای ضد سرطان از بین بروند.

موم ها (Waxes) : استر الکل های بلند زنجیر با اسیدهای چرب می باشند.

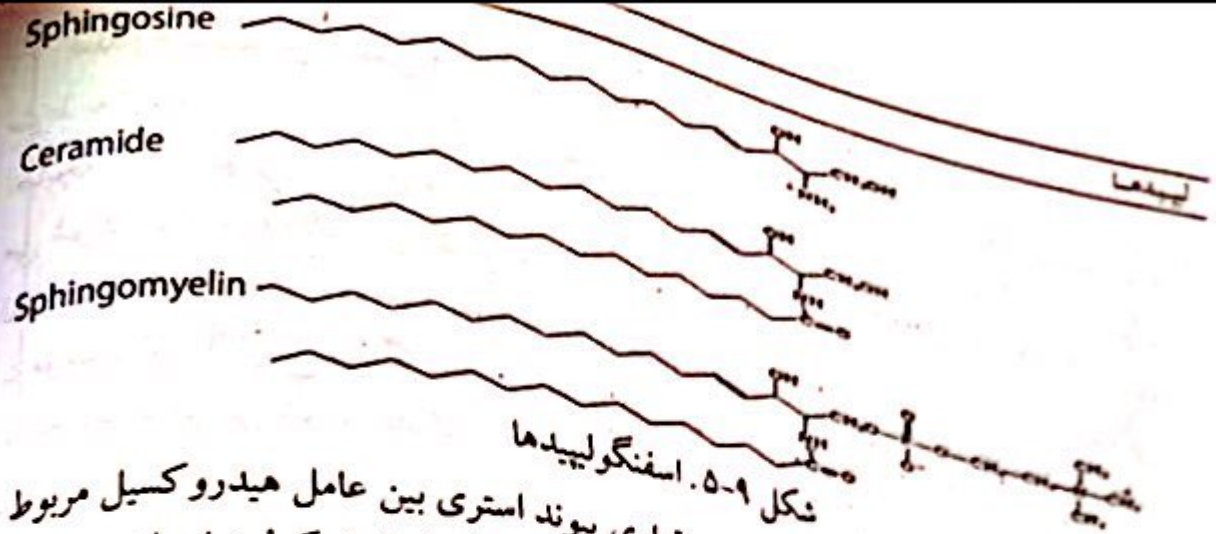


۵-۲ اسفنگولیپیدها (Sphingolipids) از ملکول های عمده غشاء سلولی هستند.

اسفینکس(Sphinx) یا مجسمه ابوالهول دارای سر انسان و تنه شیر است. دلیل استفاده از لفظ اسفنگو در نامگذاری این دسته از چربی ها این است که در ساختمان بیشتر آنها یک جزء لیپید و یک جزء کربوهیدراتی وجود دارد. بخش لیپیدی تمامی اسفنگولیپیدها را ملکولی به نام سرامید تشکیل می دهد. در ملکول سرامید یک اسید چرب بلند زنجیره (معمولاً دارای ۲۰ تا ۲۶ کربن) و یک الکل بلند زنجیره دو ظرفیتی آمین دار بنام اسفنگوزین بهم متصل می گردند. این اتصال از طریق ایجاد پیوند آمیدی بین عامل کربوکسیل اسید چرب و عامل آمین اسفنگوزین برقرار می گردد. برخلاف پیوند استری این پیوند آمید در برابر هیدرولیز قلیایی بسیار پایدار بوده و صابونی نمی شود.

سرامید بعنوان پایه عمل نموده و بر اساس نوع ملکولی که بر روی آن قرار می گیرد اسفنگولیپیدهای مختلف تشکیل می گردند (شکل ۹-۵). اسفنگوزین در بدن انسان از اسید آمینه سرین و اسید پالمیتیک سنتز می گردد.

Scanned with CamScanner



شکل ۹-۵. اسفنگولیپیدها

اسفنگومیلین (Sphingomyelin) : از برقراری پیوند استری بین عامل هیدروکسیل مربوط به اسفنگوزین در ساختمان سرامید و فسفات موجود در یک ملکول فسفوکولین ایجاد می شود. اسفنگومیلین از اجزاء اصلی غشاءهای سلولی بویژه نرون ها است (شکل۹-۵).

گلیکواسفنگو لیپیدها(Glycosphingolipids) : این دسته از چربی ها حاصل برقراری یک پیوند گلیکوزیدی بین ملکول کربوهیدرات و عامل الکلی اسفنگوزین موجود در سرامید می باشند. سربروزیدها، گلوبوزیدها و گانگلیوزیدها از بارزترین گلیکواسفنگو لیپیدها هستند.

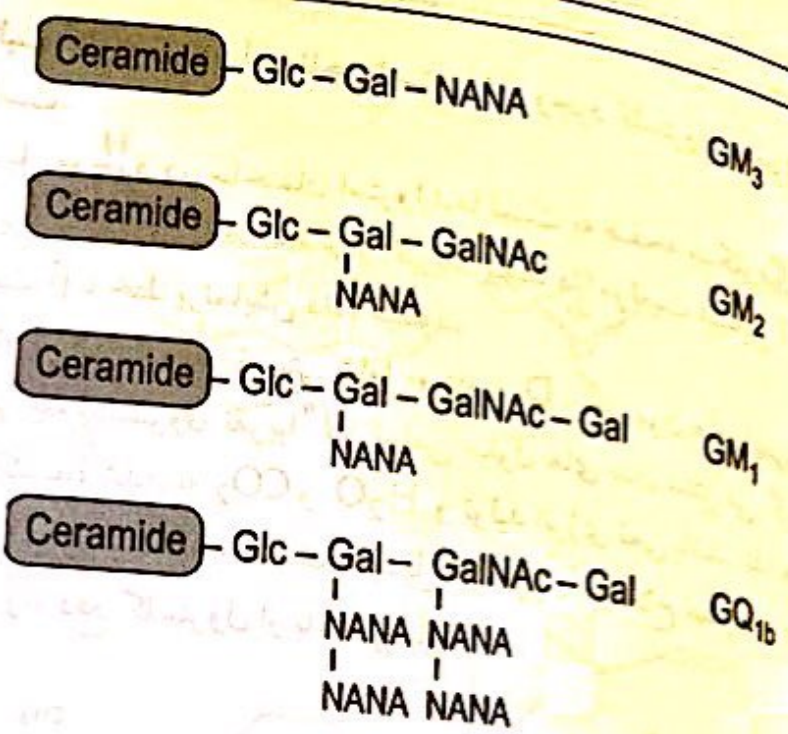
سربروزیدها (Cerebrosides) : از اتصال یک ملکول سرامید به یک مونوهگزوز مانند گالاکتوز (گالاکتوسربروزید) یا گلوکز(گلوکوسربروزید) ایجاد می شوند. سولفاتیدها حاصل ایجاد پیوند استری بین اسید سولفوریک و یکی از عوامل هیدروکسیل ملکول گالاکتوز در گالاکتوسربروزیدها هستند.

گلوبوزیدها(Globosides) : حاصل اتصال یک زنجیره الیگوساکاریدی به سرامید می باشند. زنجیره الیگوساکاریدی دارای قندهایی مانند گالاکتوز، گلوکز و N- استیل گالاکتوزامین می باشد.

Globoside Ceramide — Glu — Gal — Gal — N-acetyl Gal

گانگلیوزیدها (Gangliosides) گلیکواسفنگولیپیدهایی هستند که در ساختمان زنجیره الیگوساکاریدی متصل به سرامید دارای حداقل یک ملکول سیالیک اسید می باشند. N- استیل نورامینیک اسید (NANA) یک سیالیک اسید عمده موجود در گانگلیوزیدهای بدن می باشد. برای نامگذاری اختصاری گانگلیوزیدها از حروف G (گانگلیوزید)، Q,T,D,M (مونو، دی ، تری، کوآترا، نشان دهنده تعداد ملکول های سیالیک اسید) و یک عدد زیرنویس استفاده می نمایند.

Scanned with CamScanner



شکل ۱۰-۵ .گانگلیوزیدها

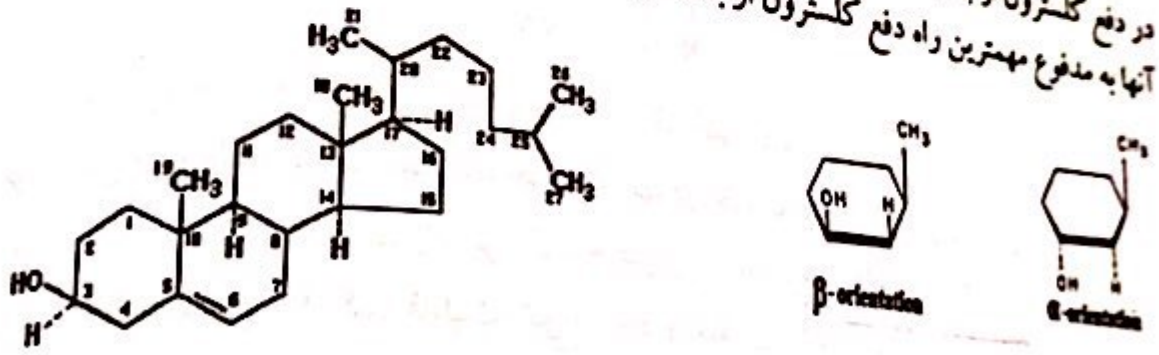
عددزیر نویس مربوط به ترتیب سرعت حرکت آنها در جدا سازی به روش کروماتوگرافی روی لایه نازک است که خود بعلت ماهیت زنجیره کربوهیدراتی از نظر نوع و توالی منوساکارید های بکار رفته در آن می باشد(شکل ۱۰-۵). قابلیت تنوع زیاد و ماهیت زنجیره های کربوهیدراتی متصل به گانگلیوزیدها، به آنها این توانایی را می دهد که به عنوان آنتی ژن های سطح سلولی، تعیین کننده وجوه شناسایی و تمایز سلول ها از یکدیگر باشند. لذا در بر قراری ارتباط بین سلول های مجاور ایفای نقش می نمایند. ماهیت این زنجیره ها در غشاء گلبول های قرمز تعیین کننده نوع گروه های خونی است. زنجیره های کربوهیدراتی گلیکواسفنگولیپیدهای موجود در غشاء سلول ها همچنین جایگاه اتصال برخی سموم باکتری ها (سم وبا در سلول های روده) و بعضی ویروس ها (آنفلوانزا) می باشند.

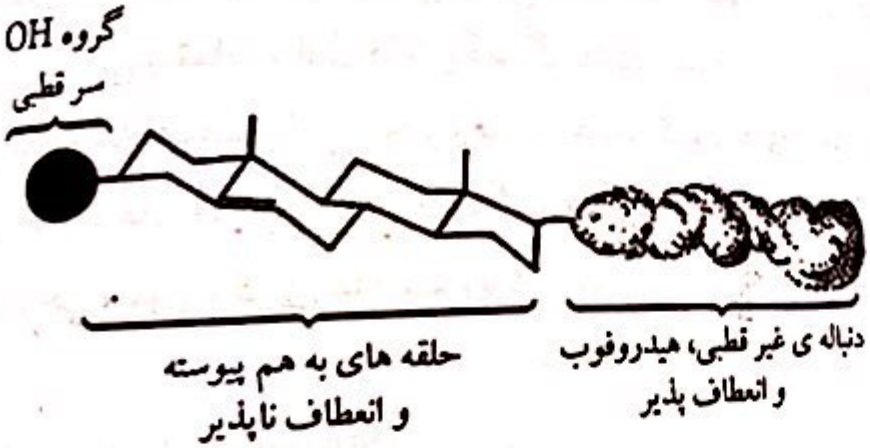
۵-۸ استروئیدها (Steroids)

ترکیب حلقوی پرهیدروسیکلوپنتانوفنانترن هسته اصلی ساختمان استروئیدها را تشکیل می دهد. استرول ها گروهی از استروئیدها هستند که دارای عامل هیدروکسیل الکلی در کربن شماره ۳ و یک شاخه هیدروکربنی روی کربن شماره ۱۷ حلقه پنج ضلعی می باشند. کلسترول از معروفترین استرول هاست که در ساختمان آن یک اتصال دوگانه و دو گروه متیل نیز وجود دارند (شکل۱۱-۵). کلسترول به شکل آزاد و یا بصورت استر اسیدهای چرب (روی کربن شماره ۳) در بدن وجود دارد. کلسترول آزاد یک ترکیب آمفیپاتیک ضعیف می باشد زیرا ناحیه قطبی آن (عامل هیدروکسیل) نسبت به ناحیه غیر قطبی (هسته استروئیدی و شاخه های هیدروکربنی) ضعیف می باشد.

Scanned with CamScanner

به همین دلیل حلالیت کلسترول در آب ناچیز است.
سلول های جانوری است.
عوامل هیدروکسیل موجود در ساختمان استروئیدها نسبت به صفحه سیکلوهگزان می توانند در
موقعیت فضایی α (زیر) یا β (روی) صفحه قرار گیرند. پیوند در موقعیت فضایی آلفا با خط نقطه
چین و پیوند در موقعیت β با خط برنمایش داده میشود.
کلسترول پیش ساز ترکیبات مهم زیستی شامل ویتامین D، هورمون های استروئیدی و املاح
صفراوی می باشد. اگر چه کلسترول تقریبا" در تمامی سلول های بدن سنتز می گردد اما اسکلت
کربنی کلسترول قابل اکسیده شدن به CO_2 و H_2O و تولید انرژی نمی باشد. لذا هر گونه اختلال
در دفع کلسترول از بدن میتواند مسئله ساز باشد. تبدیل کلسترول به املاح صفراوی در کبد و ورود
آنها به مدفوع مهمترین راه دفع کلسترول از بدن می باشد.

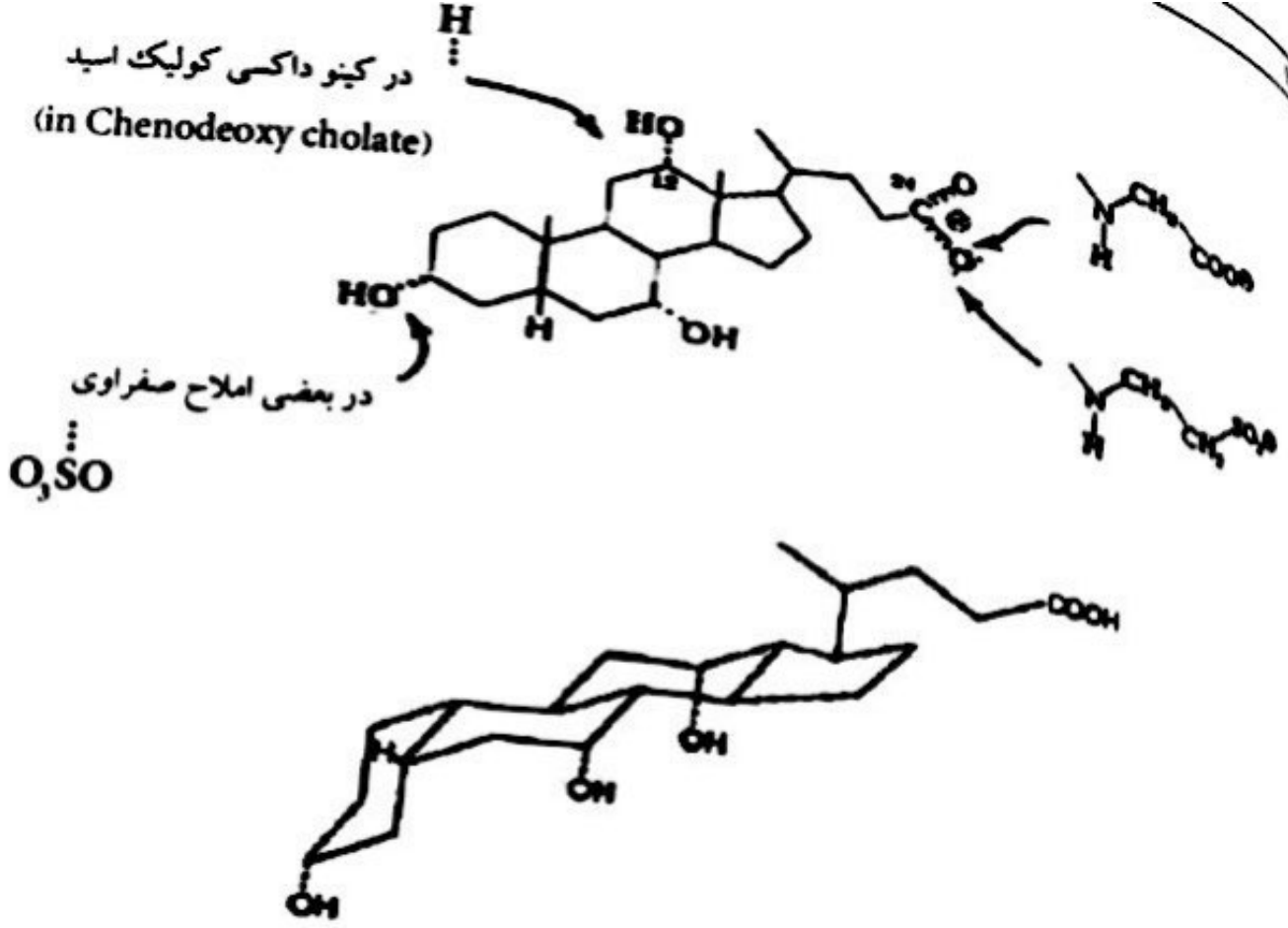




شکل ۱۱-۵. ساختمان کلسترول

املاح صفراوی (Bile salts): املاح صفراوی در مقایسه با کلسترول دارای تعداد بیشتری عوامل هیدروکسیل در ساختمان خود می باشند. این عوامل هیدروکسیل همگی به سمت زیر صفحه حلقه قرار گرفته و در آرایش آلفا می باشند (شکل ۱۲-۵). ضمنا" زنجیره هیدروکربن موجود در کربن ۱۷ آنها کوتاهتر و دارای یک عامل کربوکسیل می باشد.

Scanned with CamScanner



کولیک اسید (Cholate)

شکل ۱۲-۵. املاح صفراوی

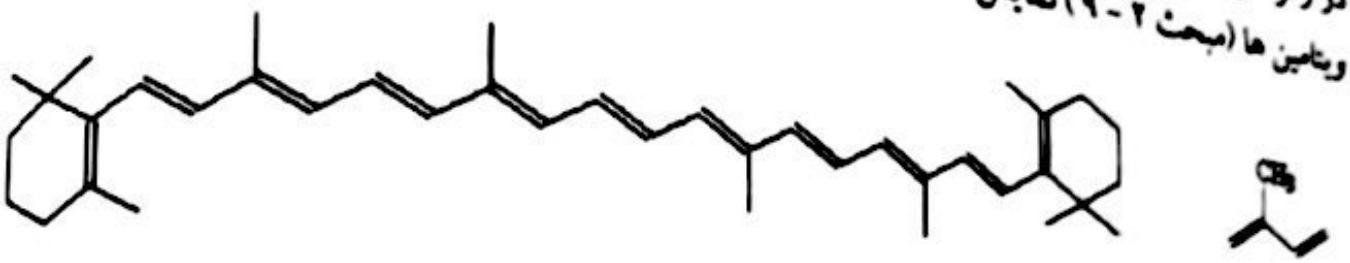
اسیدهای آمینه گلایسین و یا تارین می توانند از طریق عوامل آمین خود با عامل کربوکسیل املاح صفراوی پیوند آمید بر قرار سازند. در اینصورت املاح صفراوی به نام های به ترتیب گلیکوکولات (Glycocholate) و تاروکولات (Taurocholate) تشکیل می شوند.

ویژگی های ساختمانی فوق باعث ایجاد یک خاصیت آمفیپاتیک قوی در املاح صفراوی می گردد. زیرا این ترکیبات دارای یک سمت هیدروفیل (عوامل هیدروکسیل موجود درسمت پائین صفحه حلقه ها و عامل کربوکسیل) و یک سمت هیدروفوب (سمت بالای صفحه حلقه ها) می باشند (شکل ۱۲-۵).

Scanned with CamScanner

۹-۵ ترپن ها (Terpenes)

پلی مرهایی متشکل از دو و یا بیشتر واحد پنج کربنی ایزوپرن (Isoprene) هستند. ترپن ها ممکن است حلقوی و یا خطی باشند. ویتامین های A . E و K، کائوچوی طبیعی ،ما نتول و کافور در زمره ترپن ها محسوب می گردند (شکل ۱۳-۵). ساختمان ویتامین های A . E و K در فصل ویتامین ها (مبحث ۲ - ۹) نمایش داده شده اند.



Beta–carotene

Isoprene

شکل ۱۳-۵ .ترپن ها

Scanned with CamScanner

سوالات چهار گزینه‌ای

۱۰-۵

۱- تمامی موارد زیر آنتی ژنهای سطح سلولی را تشکیل می دهند باستثنای:

الف - زنجیره های الیگوساکاریدی متصل به سرامید

ب - ملکول های گانگلیوزید

ج - زنجیره های الیگوساکاریدی متصل به پروتئین های غشاء

د - ملکول های اسفنگومیلین

۲- در ساختمان تمامی چربی های زیر ملکول فسفات وجود دارد باستثنای :

الف - پلاسمالوژن ها

ب - اسفنگومیلین

ج - سربروزیدها

د - لسیتین

۳- این ترکیب در ساختمان خود دارای حلقه شش ضلعی اکسیژن دار بوده و گیرنده های آن در غشاء پلاکت ها موجود می باشند.

الف - پروستاسیکلین

ب - ترومبواکسان A2

ج - PGI2

د - PGF2α

با توجه به اسیدهای چرب زیر به سئوالات ۴ و ۵ پاسخ دهید.

الف - 20:all CisΔ 5,8,11,14

ب - 18: all CisΔ 9,12,15

ج - 18: Cis, CisΔ 9,12

د - 20: all CisΔ 8,11,14

۴- کدامیک آرشیدونیک اسید است .

۵- کدامیک ω-3 fatty acid است.

Scanned with CamScanner

فصل ۶

غشـــاءهای بیولوژیک

دکتر زهره مصطفوی پور

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود:

- ملکول های تشکیل دهنده غشاء را بشناسید.
- مدل موزائیک سیال (Fluid mosaic) غشاء را توصیف کنید.
- اهمیت زیستی ملکول های تشکیل دهنده غشاء را بیان کنید.
- چگونگی کنترل سیّالیت (Fluidity) غشاء سلول های پروکاریوت و یوکاریوت را بدانید.
- معماری ملکولی غشاء گلبول قرمز و اهمیت زیستی پروتئین های آن را بدانید.

Scanned with CamScanner

غشاء سلولی با قطری حدود 8nm (۸۰ آنگستروم) سلول را دربر گرفته و باعث کنترل و تنظیم انتقال و تبادل بعضی مواد و یون ها بداخل سیتوپلاسم و محیط خارج سلولی می گردد. غشاء بصورت مانعی قابل نفوذ با خاصیت انتخابی (نیمه تراوا) ، طوری عمل می کند که محیط داخل سلول باخارج آن متفاوت باشد.

در این فصل ترکیبات غشاء ها ی سلولی و معماری شیمیایی آنها شرح داده خواهد شد.بویژه در مورد پروتئین های مختلف غشایی و نحوه اتصال آنها به دو لایه لیپیدی توضیح داده خواهد شد، در پایان به بحث در مورد انتقال مواد از غشاء می پردازیم.

۱-۶ ترکیبات تشکیل دهنده غشاء

غشاء ها ساختمان های پیچیده ای متشکل از لیپیدها، پروتئین ها و کربوهیدرات ها هستند. بسیاری از مطالبی که پیرامون غشاء های موجود در سلول های یوکاریوتی در این فصل صحبت می شود، در مورد غشاء های پروکاریوتی نیز صادق هستند.

لیپیدها بدنه اصلی غشاء را تشکیل داده و در پایداری و نگهداری ساختمان غشاء نقش اساسی دارند. وجود لیپیدها در غشاء باعث عایق بندی سلول می شود مانند غشاء میلین که غنی از لیپید است. سیّالیت (Fluidity) غشاء نیز به واسطه وجود ترکیبات لیپیدی در غشاء تامین می شود، و توسط طول زنجیره های اسید چرب موجود در لیپیدهای غشاء و تعداد پیوندهای دو گانه در آنها و همچنین کلسترول آزاد، تنظیم و کنترل میگردد (حاشیه۱-۶).

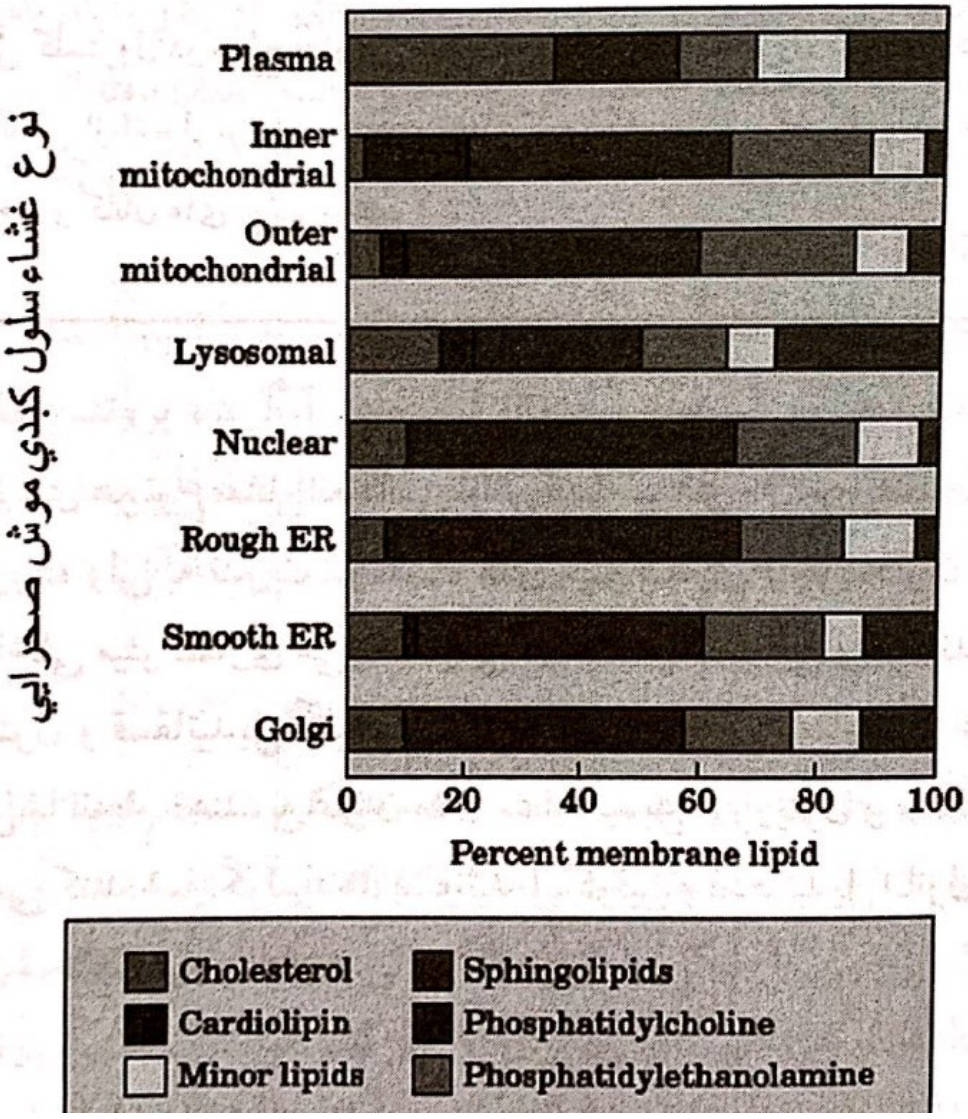
نسبت های پروتئین و لیپید موجود در غشاء ها برحسب نوع غشاء متفاوت است(جدول ۱-۶) که این نسبت انعکاسی از تنوع بیولوژیک آنها می باشد. برای مثال بعضی نرون ها دارای غلاف میلینی هستند که به دفعات زیاد در اطراف سلول پیچیده و به عنوان عایق الکتریکی عمل می نماید. غلاف های میلینی عمدتاً از لیپیدها تشکیل شده اند، در حالیکه غشاء های پلاسمایی باکتری ها و غشاء های میتوکندری ها و کلروپلاست ها که در آنها فرایندهای آنزیمی متعددی انجام می پذیرد، دارای پروتئین بیشتری در مقایسه با لیپیدها هستند.

برای مطالعه ترکیب غشاء، اولین مرحله، جداسازی یک غشاء خاص می باشد. وقتی سلول های یوکاریوتی در معرض برش های مکانیکی قرار می گیرند. غشاء های پلاسمایی آنها پاره و قطعه قطعه شده و در نتیجه اجزاء سلولی و اندامک های دارای غشاء نظیر میتوکندری ها و کلروپلاست ها رها می گردند. این قطعات سپس توسط سانتریفیوژ جدا ســـازی شده و مورد آنالیز قرار می گیرند (شکل ۱-۶).

Scanned with CamScanner

	Components (% by weight)				
	Protein	Phospholipid	Sterol	Sterol type	Other lipids
Human myelin sheath	30	30	19	Cholesterol	Galactolipids, plasmalogens
Mouse liver	45	27	25	Cholesterol	–
Maize leaf	47	26	7	Sitosterol	Galactolipids
Yeast	52	7	4	Ergosterol	Triacylglycerols, steryl esters
Paramecium (ciliated protist)	56	40	4	Stigmasterol	–
E. coli	75	25	0	–	–

Note: Values do not add up to 100% in every case, because there are components other than protein, phospholipids, and sterol; plants, for example, have high levels of glycolipids.



Scanned with CamScanner

حاشیه ۱-۶ غیر طبیعی بودن سیالیت غشاء سلولی ، سبب ایجاد بیماری های مختلف می گردد.

سیّالیت غشاء سبب کنترل فعالیت آنزیم های سطح غشاء در اعمالی مانند فاگوسیتوز و رشد سلولی می گردد. مهمترین عاملی که موجب کنترل سیالیت غشاء پلاسمایی در یوکاریوت ها می گردد، کلسترول می باشد. با افزایش کلسترول در غشاء ، دو لایه لیپیدی در سطح خارجی دارای سیّالیت کمتر ولی در قسمت مرکزی آبگریز سیّالیت بیشتر خواهد داشت.

افزایش کلسترول غشاء گلبول قرمز سبب کاهش سیّالیت آن می گردد. غشاء گلبولهای قرمز بالغ نیاز به افزایش سیّالیت برای انجام وظایفشان دارند و هر گونه کاهش سیّالیت مانع عبور صحیح آنها از داخل مویرگ ها می گردد. افزایش کلسترول در سطح خارجی غشاء سبب افزایش کلسترول در سطح داخلی سلول نیز می شود.

مسمومیت ناشی از اتانول بر روی سیستم اعصاب ممکن است بر اثر تغییر در سیّالیت غشاء یا تغییر در رسپتورهای سطحی و کانال های یونی باشد.

ویژگی عملکردی هر نوع غشاء انعکاسی از ترکیب لیپیدی آن می باشد. کلسترول در غشاء های پلاسمایی غالب بوده ولی به ندرت در غشاء های میتوکندری وجود دارد. کاردیولیپین یک جزء اصلی در غشاء داخلی میتوکندری می باشد ولی در غشاء پلاسمایی وجود ندارد. فسفاتیدیل سرین، فسفاتیدیل اینوزیتول و فسفاتیدیل گلیسرول، از ترکیبات جزئی بسیاری از غشاء هاهستند و ممکن است اعمال مهمی را انجام دهند. به عنوان مثال ، فسفاتیدیل اینوزیتول و مشتقات آن در انتقال پیام و هورمون شرکت می کنند. اسفنگولیپیدها، فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانول آمین در اکثر غشاء ها، ولی با نسبت های مختلف وجود دارند.

هر نوع بافت یا سلول و اندامک های هر نوع سلول، دارای لیپیدهای غشایی مشخص می باشند. برای مثال، غشاء پلاسمایی سلول های کبدی، غنی از کلسترول بوده و فاقد کاردیولیپین است (شکل ۱-۶). در حالیکه در غشاء داخلی میتوکندری سلول های کبدی، این توزیع عکس می باشد.

Scanned with CamScanner

ترکیب پروتئینی غشاء های مختلف، حتی متنوع تر از ترکیب لیپیدی آنها می باشد که تخصص کاری آنها را نشان می دهد. در سلول استوانه ای شبکیه چشم مهره داران، قسمتی از سلول برای دریافت نور کاملاً اختصاصی بوده و بیش از ۹۰٪ پروتئین غشایی موجود در این ناحیه از گلیکوپروتئین رودوپسین تشکیل شده است که جذب کننده نور می باشد.

غشاء پلاسمایی Escherichia coli دارای بیش از یکصد پروتئین مختلف از جمله انتقال دهنده ها و بسیاری از آنزیم های شرکت کننده در متابولیسم، حفظ انرژی، سنتز لیپید، انتقال پروتئین و تقسیم سلولی، می باشند. بعضی از پروتئین های غشایی به صورت کووالان به ساختمان های پیچیده ای ازکربوهیدرات ها متصل میباشند. به عنوان مثال ٪۶۰ جرم گلیکوفورین، که یک گلیکوپروتئین غشاء پلاسمایی گلبول قرمزاست، از ملکولهای اولیگوساکاریدی مرکب تشکیل شده که به صورت کووالان به ریشه های اختصاصی اسیدهای آمینه اتصال یافته اند. برخلاف غشاء های پلاسمایی ، غشاء های درون سلولی، مانند غشاء های میتوکندری و کلروپلاست، به ندرت حاوی کربوهیدرات هایی با اتصال کووالان می باشند.

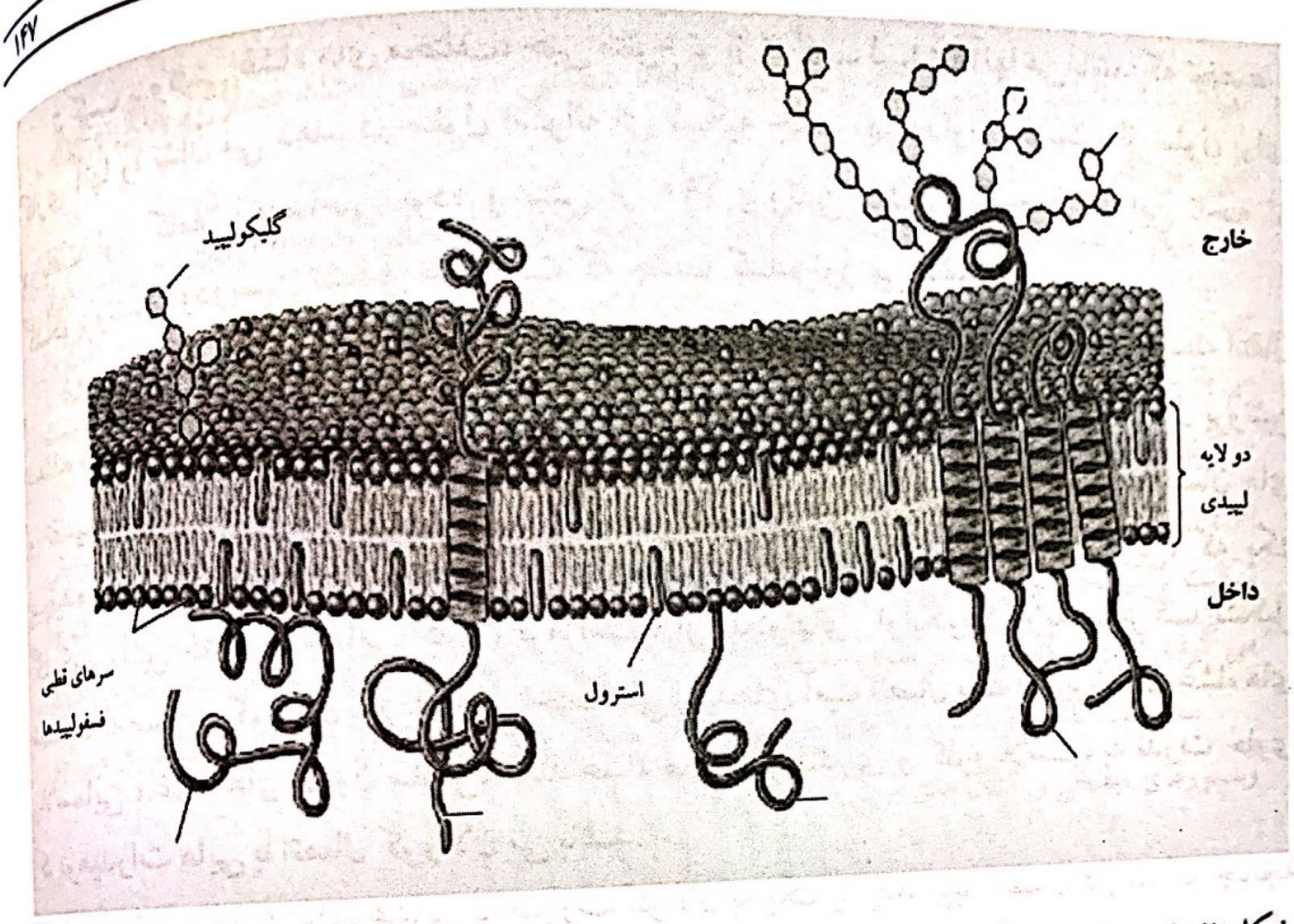
بعضی از پروتئین های غشایی به صورت کوالان به یک یا چند لیپید اتصال دارند، که چنانچه بعداً توضیح داده خواهد شد این لیپیدها به عنوان لنگرهای آبگریز، پروتئین ها را در غشاء نگه می دارند. لیپیدهای اصلی موجود در غشاء های پستانداران شامل فسفولیپیدها، گلیکواسفنگولیپیدها و کلسترول می باشند که با ساختمان و عملکرد آنان در مبحث لیپیدها آشنا شده اید.

۲-۶ مدل موزائیک سیّال غشاء (Fluid mosaic model)

تمام غشاء های بیولوژیک دارای خصوصیات پایه مشترکی هستند. این غشاء ها در برابر اکثر مواد قطبی و یا باردار نفوذ ناپذیر بوده ولی نسبت به ترکیبات غیر قطبی نفوذپذیر می باشند.

مدارک حاصل از بررسی با میکروسکوپ الکترونی و مطالعات انجام شده بر روی اجزاء شیمیایی و همچنین مطالعات فیزیکی نفوذ پذیری و حرکت مولکول های پروتئینی و لیپیدی در داخل غشاء ها، منجر به مطرح شدن مدل موزائیکی مایع برای ساختمان غشاء های بیولوژیک گردید (شکل ۲ - ۶).

Scanned with CamScanner



شکل ۲-۶. مدل موزائیک مایع ساختمان غشاء. زنجیرهای آسیل چرب (Fatty acyl) موجود در داخل غشاء، ناحیه آبگریز مایعی شبیه روغن زیتون را ایجاد می کنند. پروتئین های اینتگرال (داخلی) در این دریای لیپیدی شناور بوده و توسط واکنش های متقابل آبگریز با زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه غیر قطبی خود با چربی های غشاء نگه داشته می شوند. هم پروتئین ها و هم لیپیدها می توانند آزادانه در صفحه دو لایه به طورجانبی حرکت کنند ولی انتقال هر کدام از آنها از یک سمت دو لایه به سمت دیگر بندرت صورت می گیرد. بخش کربوهیدراتی متصل به بعضی از پروتئین ها و لیپیدها ی غشاء پلاسمایی در سمت خارج سلولی غشاء قرار دارند.

۳-۶ تجمع لیپیدهای دو گانه دوست (Amphipathic) در آب

گلیسروفسفولیپیدها و استرولها در آب نامحلول می باشند. اما وقتی این ترکیبات آمفی پاتیک با آب مخلوط می شوند ایجاد مجتمع های لیپیدی میکروسکوپی می کنند، و به شکلی قرار می گیرند که بخش های آبگریز آنها در تماس با یکدیگر و گروه های آبدوست آنها با محیط آبی اطراف واکنش می کنند. وقتی لیپیدهای آمفی پاتیک با آب مخلوط شوند، سه نوع تجمع لیپیدی ایجاد می گردد (شکل ۳-۶).

Scanned with CamScanner

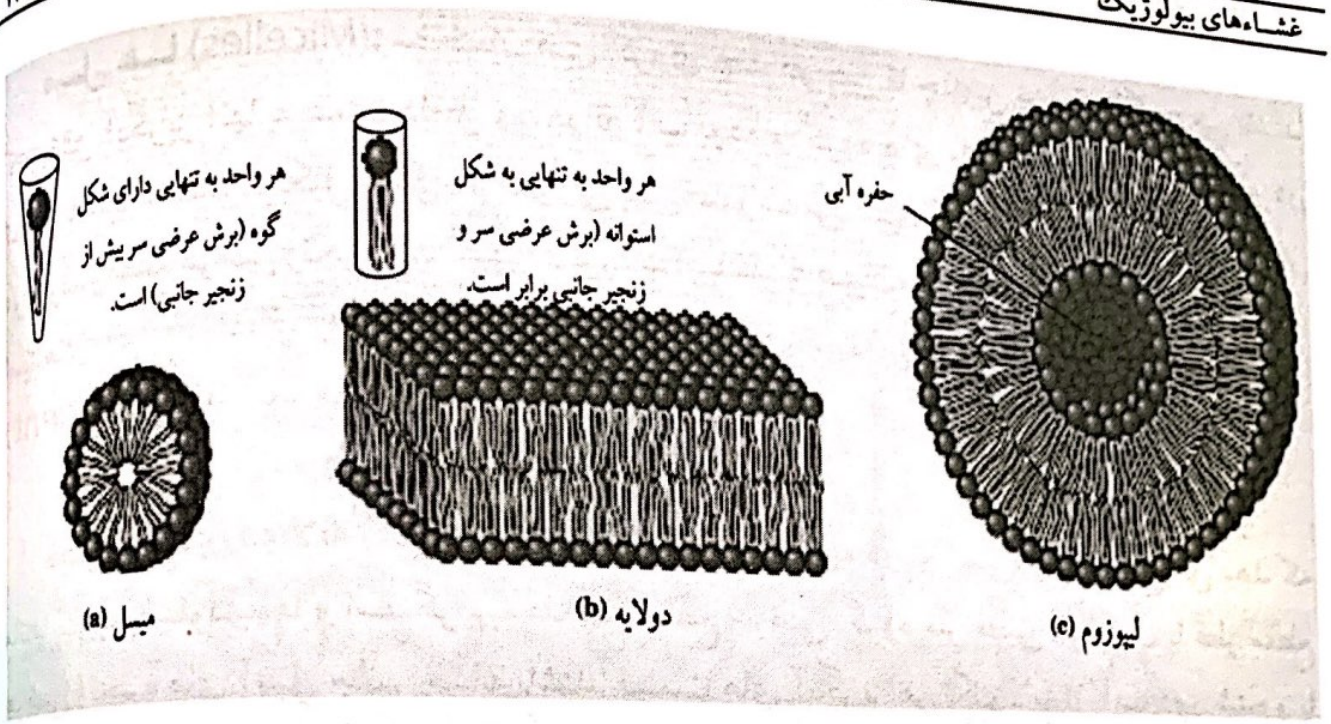
میسل ها (Micelles): ساختمان های کروی چند دوجین تا چندین هزار مولکول می باشند که بخش آبگریز آنها به سمت داخل و دور از آب بوده و گروه های سر قطبی آنها در سطح و در تماس با آب هستند. تشکیل میسل در صورتی بهتر صورت می گیرد که مقطع عرضی سر قطبی هر مولکول از مقطع عرضی زنجیرهای آسیل آن بزرگ تر باشد. به عنوان مثال تشکیل میسل در محلول های اسیدهای چرب آزاد، لیزوفسفولیپیدها (فسفولیپیدهای فاقد یک اسید چرب) و بعضی از دترژانت (Detergent) ها دیده می شود .

تجمع لیپیدی دو لایه (Lipid bilayer): تشکیل دو لایه در شرایطی براحتی رخ می دهد که مانند گلیسروفسفولیپیدها و اسفنگولیپیدها، قطر مقطع عرضی گروه سر قطبی مولکول با قطر مقطع عرضی زنجیره های آسیل جانبی مشابه باشند. قسمت های آبگریز هر تک لایه از آب دور شده و با یکدیگر واکنش می کنند. گـــروه های سرآبدوست یا قطبی نیز در سطح هر لایه با آب واکنش می نمایند. (دو لایه لیپیدی را همان طور که در شکل ۳-۶ قسمت b مشاهده می کنید، به بستنی نانی می توان تشبیه کرد.)

لیپوزوم (Liposome): صفحه دو لایه لیپیدی (شکل ۳-۶ قسمت b) به دلیل تماس قسمت های آبگریز کناره های آن با آب نسبتاً ناپایدار بوده و به طور خودبخود نوع سومی از تجمع لیپیدی را ایجاد می نماید که حاصل اتصال نواحی کناری به هم و ایجاد یک کره توخالی به نام وزیکول یا لیپوزوم می باشد. قسمت های آبگریز اسیدهای چرب در نواحی کناری مجموعه با آب محیط اطراف در تماس می باشند و به همین دلیل از نظر ترمودینامیکی ناپایدارند.

از لیپوزوم ها (شکل ۳-۶ قسمت c) برای قرار دادن بعضی ترکیبات، برای مثال داروها و ژن های جدا شده از ژنوم میتوان استفاده نمود. تحقیقات زیادی برای استفاده از لیپوزوم ها برای توزیع داروها در بافت های خاصی در بدن دنبال می شود.

Scanned with CamScanner



شکل ۳-۶. تجمعات لیپیدی آب گریزی که در آب ایجاد می شود. (a) در میسل ها زنجیرهای آبگریز اسیدهای چرب در مرکز کره قرار می گیرند در این قسمت هیچ آبی وجود ندارد. (b) در یک دولایه باز، تمام زنجیرهای آسیل جانبی به غیر از آنها که در لبه های صفحه وجود دارند، در برابر واکنش متقابل با آب محافظت می شوند. وقتی یک دولایه باز بر روی خودش تا می گردد، ایجاد یک دو لایه بسته، یا وزیکول میان خالی (لیپوزوم) می نماید که یک حفره آبی را احاطه می کند.

٤-٦ حرکت های غشاء سلولی

غشاء سلول را نباید دیواره ای محکم با ترکیب شیمیایی ثابت در نظر گرفت، بلکه به علت تغییر شرایط مختلف فیزیولوژیک محیط، ترکیبات تشکیل دهنده غشاء از نظر نوع و غلظت تغییر می نمایند. در دو لایه لیپیدی، زنجیرهای آبگریز اسیدهای چرب می توانند به شکل صفوف کاملاً منظم در کنار یکدیگر قرار گرفته و ساختمانی نسبتاً محکم را ایجاد نمایند. با افزایش درجه حرارت، این زنجیرهای جانبی آبگریز از حالت منظم (فاز کریستالی) به حالت نامنظم و یک آرایش مایع مانند تبدیل می شوند. درجه حرارتی که در آن این ساختمان از حالت منظم به نامنظم (یعنی ذوب) تبدیل می گردد را درجه حرارت انتقالی یا Transition temperature (Tm) گویند. هر چه زنجیره های اسید های چرب، بلندتر و اشباع تر باشند، Tm را افزایش می دهند. از طرفی دیگر، پیوندهای غیر اشباع از نوع ایزومری سیس از طریق کاهش تراکم این زنجیره های جانبی باعث افزایش سیّالیت دو لایه می شوند.

Scanned with CamScanner

فسفولیپیدهای غشاء های سلولی حداقل دارای یک اسید چرب غیر اشباع و با حداقل یک پیوند دوگانه سیس می باشند.

کلسترول سبب تغییر سیّالیت غشاء های سلول های یوکاریوت می گردد. در حرارت های کمتر از Tm، کلسترول از صف آرایی منظم دنباله های هیدروکربنی اسیدهای چرب، جلوگیری نموده و بنابراین سبب افزایش سیالیت می گردد. در حرارت های بالای Tm، کلسترول حرکات دنباله های اسیدهای چرب و در نتیجه سیالیت را کاهش می دهد. به طور کلی کلسترول و ترکیبات استرولی غشاء تمایل دارند که میزان جامد و مایع بودن درون سلول را تعدیل نمایند.

سلول ها ترکیبات لیپیدی خود را بگونه ای تنظیم می کنند تا در شرایط مختلف رشد، سیالیت غشاء آنها ثابت بماند. برای مثال، وقتی باکتری ها در درجه حرارت پایین کشت داده می شوند، در مقایسه با کشت در درجه حرارت بالا، اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتری و انواع اشباع شده کمتری سنتزمی نمایند. در نتیجه این تنظیم در ترکیب لیپیدی، باکتریهایی که در درجه حرارت های بالا یا پایین کشت می شوند، دارای سیالیت غشاء مشابهی می باشند.

به طور کلی در شرایط مختلف ملکول های غشاء حرکت های مختلفی را از خود نشان می دهند. انواع حرکت های غشاء (شکل ۴-۶) عبارتند از:

الف- حرکت گرمایی (Thermal motion) شامل حرکات ارتعاشی، چرخشی و انتقالی ملکول ها می گردد (شکل ۴-۶ قسمت a).

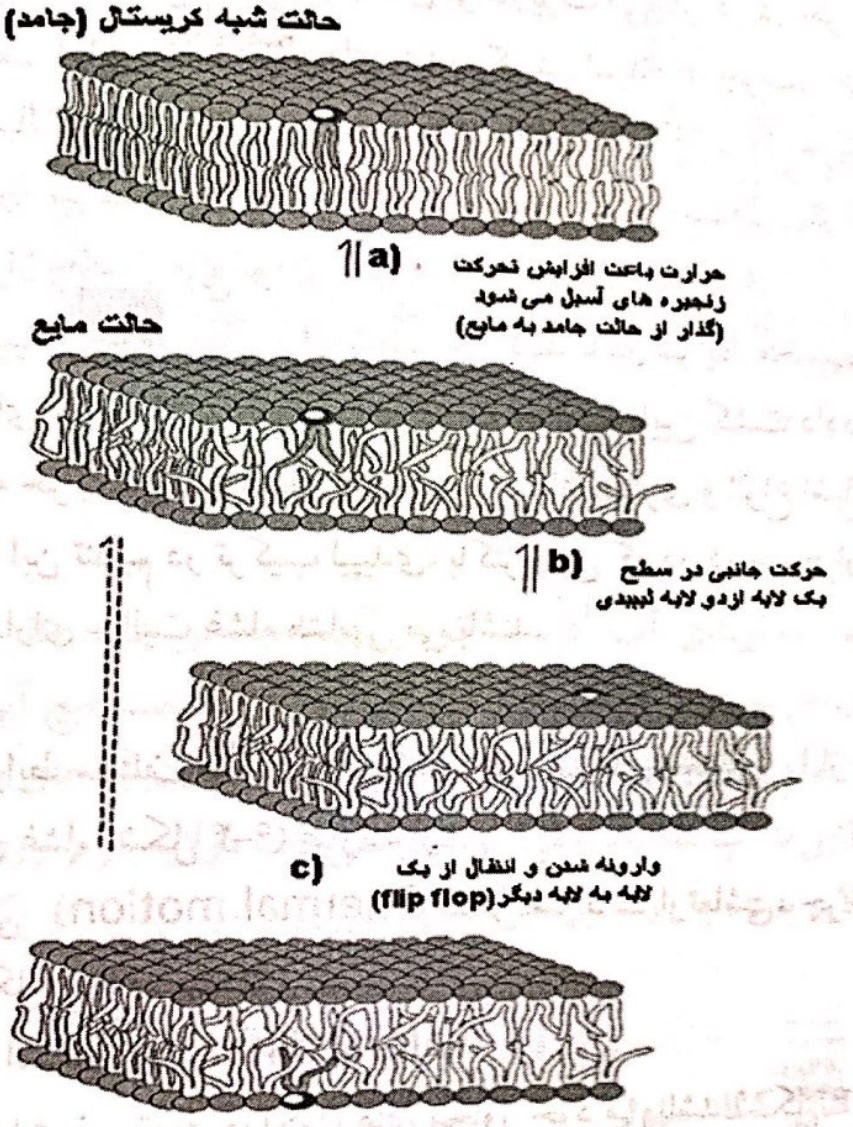
ب- حرکت جانبی یا انتقالی (Lateral diffusion)

حرکت کل مولکول لیپیدی نسبت به مولکول های مجاور خود می باشد (شکل ۴-۶ قسمت b). مثلاً بسیاری از ملکول های پروتئین ها می توانند مانند کوه یخ در غشاء حرکت نمایند.

ج- حرکت رفت و برگشتی یا واروزدن (Flip-Flop). در این نوع حرکت یک مولکول می تواند از یک سمت دولایه به سمت دیگر حرکت نماید (شکل ۴-۶ قسمت c). در این حرکت سرقطبی یک مولکول محیط آبی خود را ترک نموده و طی یک فرایند انرژی گیر، به درون قسمت آبگریز دولایه، وارد شده و پس از عبور از آن به بخش قطبی لایه دیگر منتقل می شود. هر چند که این نوع حرکت بندرت اتفاق می افتد ولی در مواقعی بسیار ضروری است، برای مثال در هنگام سنتز غشاء پلاسمایی باکتری فسفو لیپیدهای تولیدی در سطح داخلی غشاء پلاسمایی با این نوع فرآیند انتشار به سمت خارجی دولایه منتقل می گردند. انتشار مشابهی نیز می بایست در سلول های یوکاریوتی در هنگام حرکت لیپیدهای غشایی سنتز شده در یک قسمت از سلول به اندامک های دیگر، رخ دهد.

Scanned with CamScanner

خانواده ای از پروتئین ها به نام فیلیپازها (Flipase)، انتشار فلیپ - فلاپ را تسهیل نموده و مسیری را در عرض غشاء ایجاد می نمایند که از نظر انرژتیک بسیار مناسب تر از انتشار کاتالیز نشده می باشد.



شکل ٤-٦. حرکت لیپیدهای غشایی - حرکت لیپیدی در داخل یک دو لایه شامل: (a) حرکت حرارتی گروه های آسیل چرب در داخل دو لایه و (b) انتشار جانبی مولکول های مجزا در یک سمت دو لایه می باشد. یک مولکول ساده لیپیدی می تواند در حدود ۱ ثانیه از یک انتهای سلول E.Coli به انتهای دیگر در ۳۷°C انتشار یابد. به علت حرکت حرارتی، دو لایه لیپیدی به صورت مایع می باشد و هنگامی که درجه حرارت پایین می آید دو لایه به صورت جامد یا کریستالی در می آید. (c) حرکت مولکول های مجزای لیپیدی به دو سمت دو لایه (انتشار فیلیپ فلاپ) بسیار آهسته بوده، مگر اینکه توسط یک ناقل اختصاصی لیپید، یا آنزیم فیلیپاز، کاتالیز شود. در صورت نبود کاتالیزور، انتشار تصادفی لیپیدهای موجود از یک لایه به لایه دیگر در غشاء دو لایه، ساعت ها طول می کشد ولی درحضور فیلیپاز تنها در حدود چند ثانیه طول خواهد کشید.

Scanned with CamScanner

۶-۵ پروتئین های غشاء گذر (Transmembrane proteins) در عرض غشاء قرار می گیرند.

برخی مولکول های پروتئینی و کمپلکس های چند پروتئینی غشاء های بیولوژیک را می توان با استفاده از میکروسکوپ الکترونی مشاهده نمود. بعضی از پروتئین ها تنها در یک سمت غشاء وجود دارند در حالی که بقیه پروتئین ها در تمامی عرض قرار می گیرند. بعضی از این پروتئین ها انتقال مواد و پیام ها را در عرض غشاء انجام می دهند (حاشیه ۲-۶).

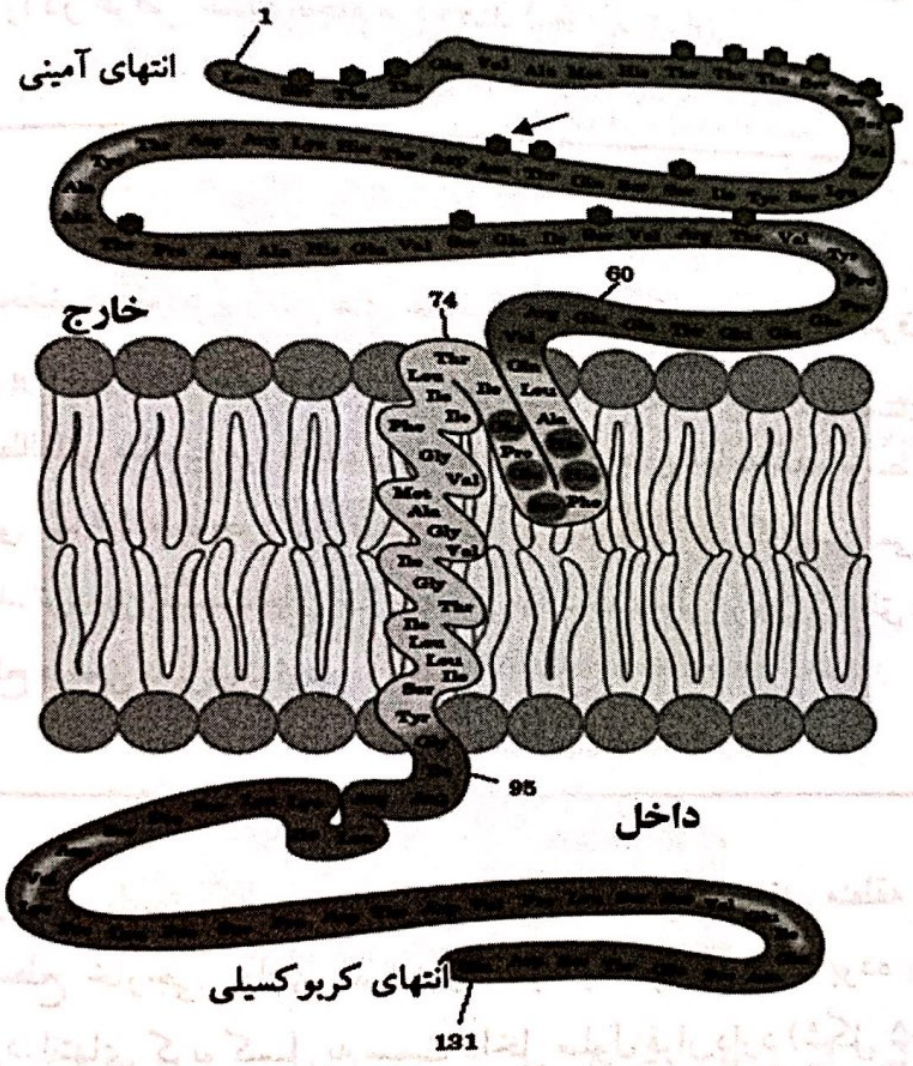
حاشیه ۲-۶

روش دیگر تحقیق در مورد پروتئین های غشاء های بیولوژیک، استفاده ار معرف هایی است که با زنجیرهای جانبی پروتئین ها واکنش نموده ولی نمی توانند از عرض غشاء ها عبور نمایند. گلبول قرمز انسان برای چنین مطالعاتی مناسب می باشد، زیرا فاقد اندامک های احاطه شده توسط غشاء بوده و در واقع غشاء پلاسمایی تنها غشاء موجود در آن می باشد. پروتئازهایی نظیر تریپسین نمی توانند از عرض غشاء ها عبور نمایند. تریپسین قسمت های خارج سلولی را شکسته ولی بر روی مناطق موجود در داخل دو لایه و یا در سطح داخلی تاثیری ندارد.

گلیکوفورین پروتئینی است که بر روی غشاء پلاسمایی پل می زند. منطقه انتهای آمینی این گلیکوپروتئین در سطح خارجی حاوی اسیدهای آمینه با کربوهیدارت بوده و توسط تریپسین می تواند شکسته شود. انتهای کربوکسیل به سمت داخل سلول قرار دارد (شکل ۵-۶). هر دو منطقه انتهای آمینو و انتهای کربوکسیل حاوی ریشه های متعدد قطبی یا باردار بوده و کاملاً آبدوست هستند. همانطور که در شکل ۵-۶ نشان داده شده است گلیکوفورین دارای یک قطعه ترانس ممبران می باشد که اساساً از ریشه های اسید آمینه آبگریز تشکیل شده است. همچنین آزمایشات انجام شده بر روی گلیکوفورین نشـــان می دهد که این پروتئین در داخل غشاء به صورت نامتقارن می باشد. مطالعات مشابه انجام شده بر روی پروتئین های غشایی دیگر نشان می دهد که هر کدام از پروتئین ها دارای یک جهت گیری مشخص در دولایه بوده و جهت پروتئین ها بوسیله انتشار فلیپ - فلاپ بسیار آهسته تغییر نموده و یا اصلاً تغییر نمی کند.

Scanned with CamScanner

اصولاً گلیکوپروتئین های غشاء پلاسمایی همیشه طوری قرار می گیرند که ریشه های قندی آنها در سطح خارجی سلول باشند. آرایش نامتقارن پروتئین های غشایی منجر به عدم تقارن درعملکرد آنان می گردد، برای مثال، تمامی مولکول های یک پمپ یونی خاص، دارای جهت یکسان در غشاء بوده و بنابراین یون های خاصی را تنها از سمتی از غشاء که غلظت یون در آن کمتر است به سمتی که غلظت یون در آن بیشتر است پمپ می کنند.



شکل ۵-۶ موقعیت گلیکوفورین در عرض دو لایه گلبول قرمز. یک ناحیه آبدوست حاوی تمامی ریشه های قندی در سطح خارجی و ناحیه آبدوست دیگری در سمت داخلی غشاء وجود دارد. شش ضلعی ها، یک تتراساکارید (حاوی دومولکول اسید سیالیک، Gal و GalNAc) را نشان میدهند که با پیوند O- گلیکوزیدی به ریشه های Ser یا Thr متصل می باشند. یک شش ضلعی (با پیکان مشخص شده) ، یک زنجیر اولیگوساکاریدی با پیوند N - گلیکوزیدی متصل به یک ریشه Asn را نشان میدهد. یک قطعه با ۱۹ ریشه آبگریز(ریشه های ۷۵ تا ۹۳) ایجاد یک مارپیچ α نموده که عرض دو لایه غشایی را طی می کند. قطعه متشکل از ریشه های ۶۴ تا ۷۴، دارای چندین ریشه آبگریز می باشد و احتمالاً در لایه خارجی دو لایه لیپیدی نفوذ می نماید.

Scanned with CamScanner

۶-۶ پروتئین های محیطی غشاء به راحتی جدا شده و محلول می شوند.

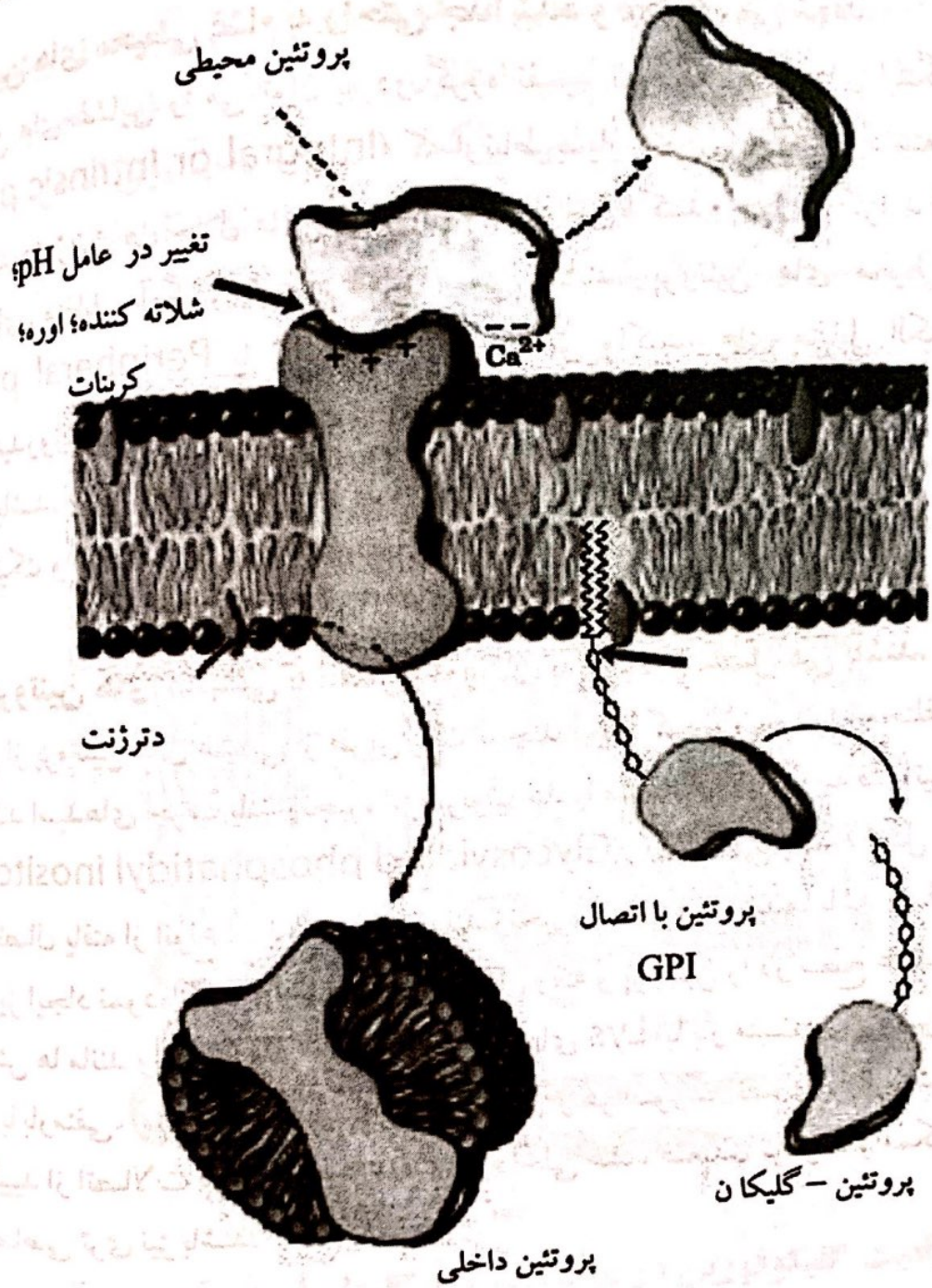
پروتئین های غشایی را می توان به دو گروه تقسیم نمود. پروتئین های اینتگرال یا داخلی (Integral or Intrinsic proteins) که ارتباط بسیار محکمی با غشاء داشته و تنها توسط عواملی مانند دترژانت ها، حلال های آلی و یا عوامل دناتوره کننده جدا می گردند این عوامل در واکنش های متقابل آبگریز ایجاد اختلال می نمایند. پروتئین های محیطی یا خارجی (Peripheral proteins یا Extrinsic) از طریق واکنش های متقابل الکترواستاتیک و پیوندهای هیدروژنی به مناطق آبدوست پروتئین های داخلی و یا سرقطبی لیپیدهای غشایی، به غشاء متصل می باشند. پروتئین های محیطی در شرایط ملایم (وجود مداخله کننده های با واکنش های الکترواستاتیک و یا عوامل شکننده پیوندهای هیدروژنی) از غشاء جدا می گردند (شکل ۶-۶).

بعضی از پروتئین های محیطی با اتصال کووالان به لیپیدها متصل می باشند.

بعضی از پروتئین های غشایی از طریق یک یا چند پیوند کووالان به انواع مختلفی از لیپیدهای غشایی، مانند اسیدهای چرب بلند زنجیر، ایزوپرنوئیدها، یا مشتقات گلیکوزیله فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI یا Glycosylated phosphatidyl inositol)، اتصال می یابند (شکل ۶-۶).

اگر لیپید اتصال یافته از انواع اسیدهای چرب بلند زنجیره و یا ایزوپرنوئیدها باشد در اینصورت یک لنگر آبگریز ایجاد نموده که به داخل دو لایه لیپیدی رفته و پروتئین را در سطح غشاء نگه می دارد. سایر واکنش ها مانند واکنش های متقابل بین ریشه های Lys با بار مثبت در پروتئین و گروه های سرلیپیدی با بارمنفی، این اتصال را پایدارتر می کنند. در هر صورت اتصال این پروتئین های غشایی متصل به لیپید از اتصالات مربوط به پروتئین های داخلی غشاء ضعیف تر بوده و ممکن است دارای نقش اختصاصی تری نیز باشند.

Scanned with CamScanner



شکل ٦ - ٦ . پروتئین های محیطی و داخلی. پروتئین های غشایی را می توان از نظر عملکرد، با استفاده از شرایط مورد نیاز برای جداسازی آنها از غشاء تمایز داد. بیشتر پروتئین های محیطی را می توان با ایجاد تغییر در pH یا قدرت یونی، برداشت Ca^{2+} توسط یک عامل شلاته کننده (Chelating agent) ، یا با افزودن اوره و یا یون کربنات، آزاد نمود. پروتئین های غشایی که توسط پیوند های کووالان به یک لیپید غشایی اتصال دارند، مانند گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI) را می توان با استفاده از فسفولیپاز C آزاد نمود.

Scanned with CamScanner

پروتئین های داخلی را با دترژانت هایی می توان استخراج نمود که واکنش های متقابل با دولایه لیپیدی را از بین برده و در اطراف هر پروتئین ساختارهای میسل - مانند ایجاد می نمایند.

در غشاء پلاسمایی در حالیکه، پروتئین های متصل به لیپید (شکل ۷-۶) منحصراً در سمت داخلی (سیتوزولی) یافت می شوند. پروتئین های دارای لنگر GPI، منحصراً در سمت خارجی (خارج سلولی) قرار دارند.

در سلول های اپی تلیال، پروتئین های غشایی دارای اتصال GPI عمدتاً در سطحی که به طرف محیط خارجی است مشاهده می شوند. در صورتیکه تعداد این پروتئین ها درناحیه ای از سطح سلول که به سمت فضای میان بافتی است نسبتاً کمترمی باشد. به همین دلیل ممکن است اتصال یک لیپید اختصاصی به یک پروتئین غشایی، در هدفدار نمودن آن پروتئین نقش داشته و پروتئین تازه سنتز شده را به موقعیت غشایی صحیحی هدایت کند.

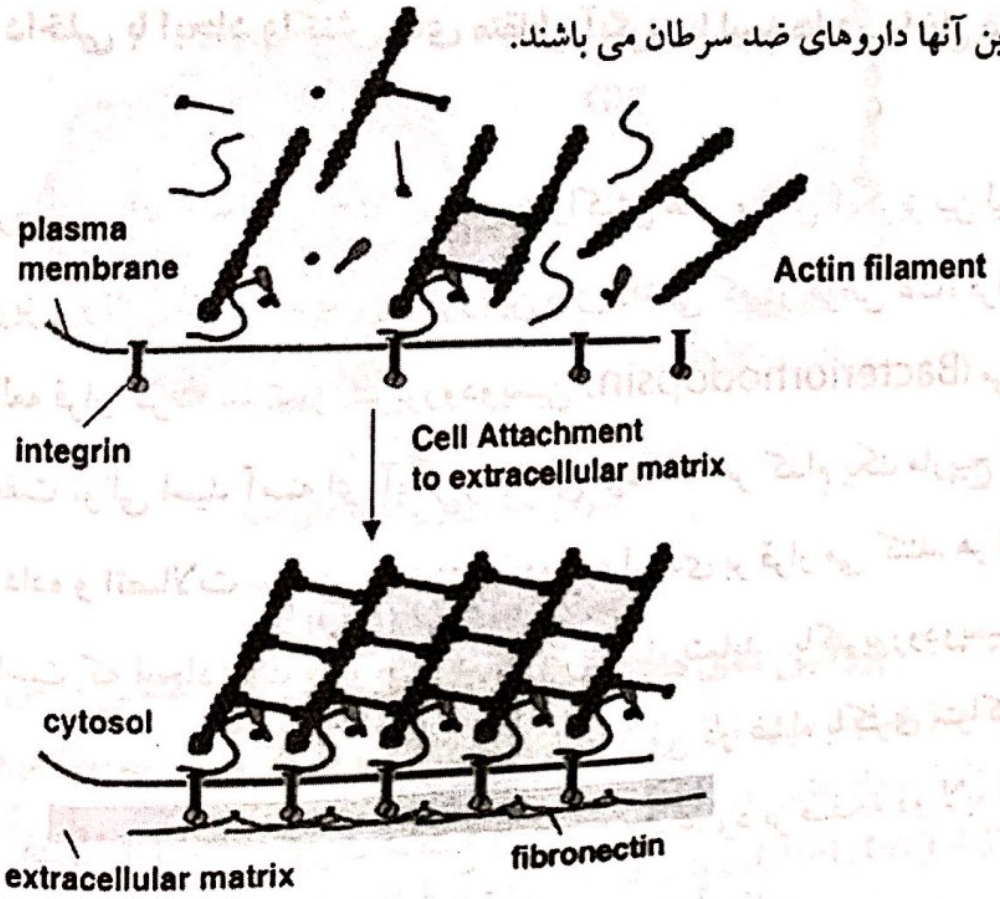
پروتئین های داخلی با ایجاد واکنش های متقابل آبگریز با لیپیدها در داخل غشاء نگه داشته می شوند.

اتصال محکم پروتئین های داخلی به غشاء ها، نتیجه واکنش های متقابل آبگریز بین لیپیدهای غشایی و مناطق آبگریز پروتئین می باشد. یکی از پروتئین های داخلی که در عرض غشاء قرار داشته و به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته است، باکتریورودوپسین (Bacteriorhodopsin) می باشد. این پروتئین دارای هفت توالی اسید آمینه ای آبگریز داخلی بوده که هر کدام یک مارپیچ آلفا در عرض غشاء تشکیل داده و اتصالات عرضی متعددی با دولایه لیپیدی بر قرار می کنند. هر قطعه به اندازه کافی بزرگ است که ایجاد یک مارپیچ α در عرض غشاء بنماید. باکتریورودوپسین یک پمپ پروتونی وابسته به نور می باشد که به صورت صفوف منظمی در غشاء باکتری متراکم شده است (شکل ۸-۶). هفت مارپیچ به صورت مجتمع و به صورت عمود بر صفحه دو لایه لیپیدی قرار گرفته و مسیری را در عرض غشاء برای عبور پروتون فراهم می آورند.

Scanned with CamScanner

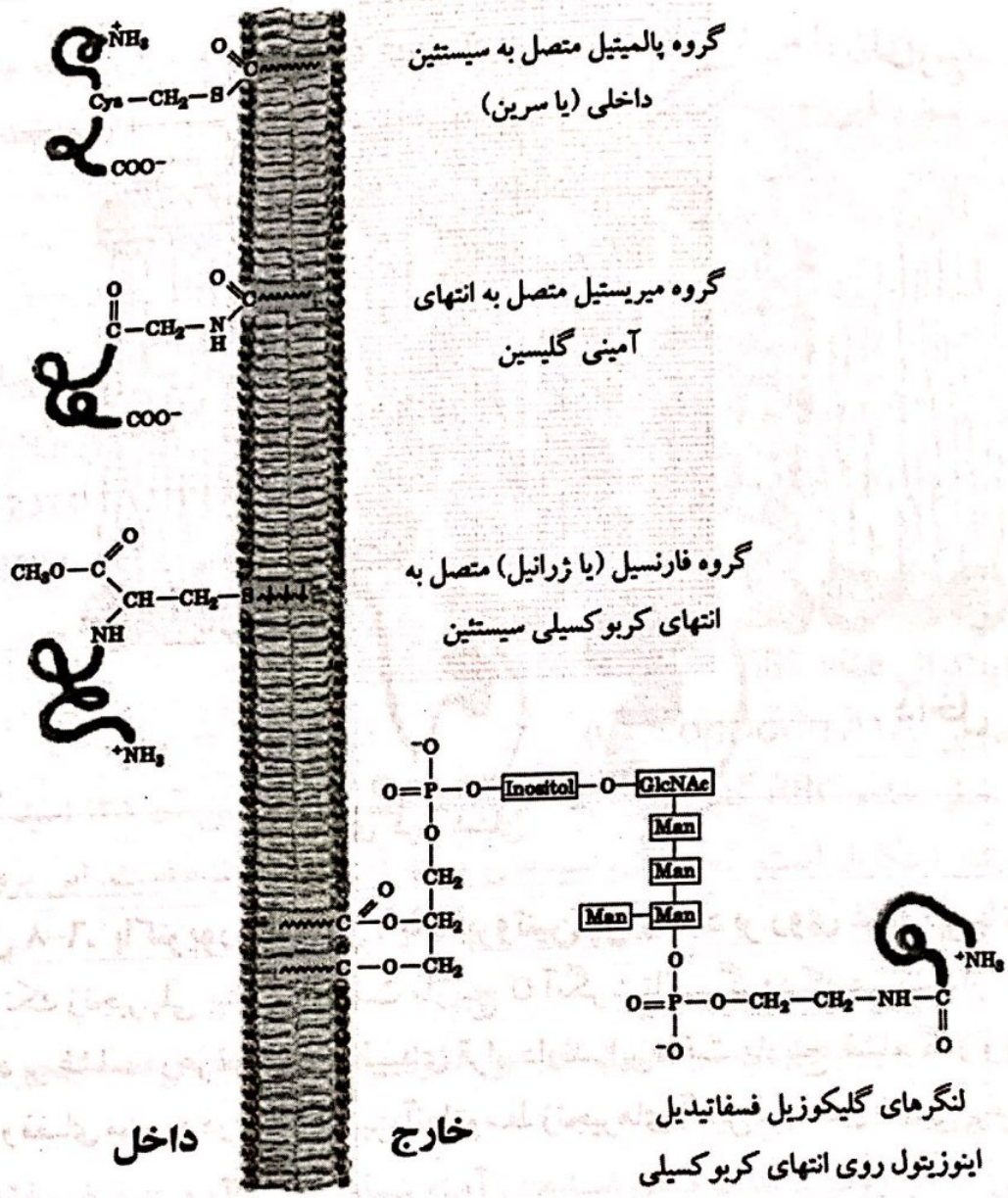
حاشیه٤-٦ اینتگرین ها

یکی از انواع پروتئین های داخلی که در واکنش های متقابل سلول – سلول نقش ایفا می کنند اینتگرین ها هستند. این خانواده از پلی پپتیدهای ترانس ممبران α و β تشکیل شده اند. دومن های خارج سلولی اینتگرین ها با یکدیگر جایگاه های اتصالی برای یون های فلزی دو ظرفیتی و پروتئین های ماتریکس خارج سلولی (نظیر کلاژن و فیبرونکتین) یا پروتئین های سطحی اختصاصی سلول های دیگر می باشند. اینتگرین ها نه تنها مولکول هایی برای چسبندگی می باشند، بلکه به عنوان گیرنده ها و انتقال دهنده های پیام نیز عمل کرده و باعث حمل اطلاعات در عرض غشاء پلاسمایی درهر دو جهت می گردند. اینتگرین ها بسیاری از واکنش ها ، از جمله تجمع پلاکتی در محل یک زخم ، ترمیم بافتی، فعالیت سلول های ایمنی و تهاجم تومور به بافت را تنظیم می کنند. اینتگرین ها نقش اساسی و مرکزی در اتیولوژی و پاتولوژی بسیاری از بیماری ها دارند بنابراین هدف های فارماکولوژی بسیار جالبی هستند و بدلیل اینکه در سطح خارجی سلول ها قرار دارند بسیار حساس نسبت به ممانعت کننده های فارماکولوژیک می باشند. تا کنون حدود ۲۶۰ داروی anti-integrin وارد مرحله کارآزمایی بالینی clinical trials شده اند که از جمله مهمترین آنها داروهای ضد سرطان می باشند.



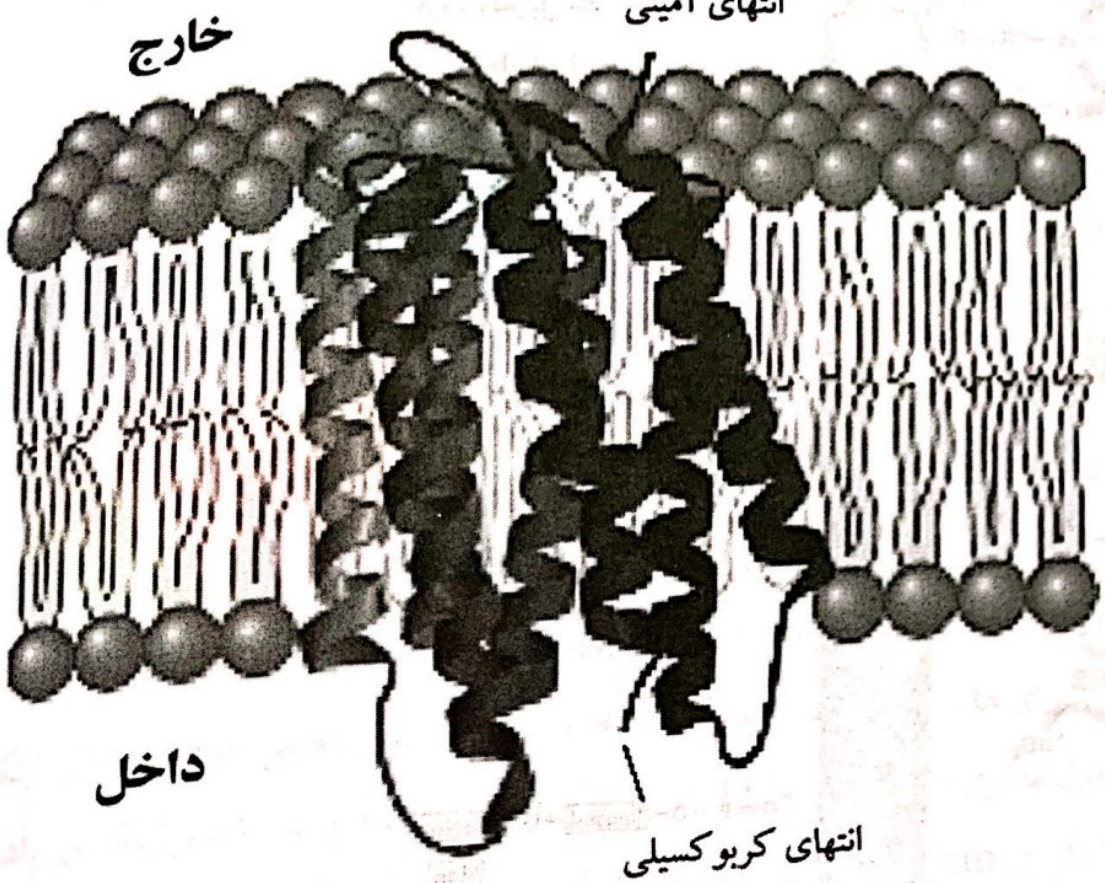
اتصال اینتگرین ها با پروتئین های ماتریکس خارج سلولی موجب برقراری ارتباط خارج به داخل سلول می گردد.

Scanned with CamScanner



شکل ۷-۶. پروتئین های غشایی با اتصال لیپیدی - ملکولهای لیپیدی با اتصال کووالانسی به پروتئین ها آنها را به غشاء دولایه مرتبط می نمایند. یک گروه پالمیتیل نشان داده شده است که توسط اتصال تیواستری به یک ریشه Cys اتصال یافته است. گروه N - میریستیل با یک Gly که در انتهای آمینی قرار دارد اتصال برقرارمی کند. گروههای فارنسیل یا ژرانیل متصل به کربوکسیل Cys در پروتئین ها، ایزوپرونوئیدهایی به ترتیب با ۱۵ و ۲۰ کربن می باشند. این سه نوع مجموعه لیپید- پروتئین تنها در سطح داخلی غشاء پلاسمایی پیدا می شوند. لنگرهای گلیکوزیل فسفاتیدیل اینوزیتول (GPI) ، مشتقاتی از فسفاتیدیل اینوزیتول می باشند که در آن اینوزیتول به یک اولیگوساکارید متصل بوده که خود از طریق فسفواتانل آمین، یک اتصال کووالان، به انتهای کربوکسیل یک پروتئین بر قرار می نماید. پروتئین های دارای اتصال GPI ، همیشه در سطح خارجی غشاء پلاسمایی سلول قرار دارند.

Scanned with CamScanner



شکل ۸-٦. باکتریورودوپسین ، یک پروتئین پل زننده بر روی غشاء می باشد.
این تک زنجیر پلی پپتیدی به هفت مارپیچ α آبگریز تا می گردد که هر کدام از آنها تقریباً به شکل عمود بر غشاء، درعرض دولایه لیپیدی قرار دارند. این هفت مارپیچ غشاء گذر و بصورت مجموعه بوده و فضای موجود در اطراف و بین آنها توسط زنجیرهای آسیل لیپیدهای غشایی پر می شود.

٦-٧ نقش پروتئین های غشاء

مهمترین نقش پروتئین های غشاء عبارتند از:

۱- انتقال دهنده (Transporter) مولکول ها از عرض غشاء می باشند.

۲- به عنوان گیرنده (Receptor) برا ی ترکیبات مختلف مانند هورمون ها و فاکتورهای رشد عمل می کنند.

۳- نقش ساختمانی (Structural) و حفظ شکل سلول در بسیاری از سلول ها مانند سلول عصبی و RBC را دارند.

۴- نقش کاتالیتیکی (Catalytic) دارند، به این معنی که بعضی از پروتئین های اینتگرال و محیطی که به ترتیب در داخل یا روی غشاء واقع شده اند، می توانند آنزیم ها باشند.

۵- نقش شناسایی (Recognition role) دارند.

Scanned with CamScanner

رده های مختلف سلولی را می توان از طریق پروتئین هایی که در غشاء هر یک وجود دارند شناسایی نمود. به عنوان مثال لنفوسیت های T با مولکول های پروتئینی (CD_4, CD_8) شناخته می شوند.

۸-۶ غشاء گلبول قرمز خون

از آنجایی که گلبول های قرمز خون Red Blood Cell (RBC) ، فاقد اجزاء درون سلولی هستند و غشاء پلاسمایی آنها به راحتی جدا می شود، لذا برای مطالعه ساختمان غشاء رایج ترین مدل می باشند، غشاء دو لایه فسفولیپیدی RBC ، همانند بقیه غشاء ها می باشد، اما پروتئین های ویژه ای در ساختمان آن وجود دارد که اصلی ترین آنها در دو دسته زیر خلاصه می شوند.

پروتئین های اینتگرال غشاء RBC

الف - گلیکوفورین A (Glycophorin A)

گلیکوپروتئین اصلی غشاء RBC گلیکوفورین A می باشد. قسمت پروتئینی آن ۱۳۱ اسید آمینه دارد و اولین پروتئین اینتگرال است که ردیف اسیدهای آمینه آن شناخته شده است. این پروتئین شامل ۳ بخش است:

۱- N- ترمینال که هیدروفیل است در قسمت خارجی سلول واقع شده و شامل همه زنجیره های اولیگوساکاریدی می باشد.

۲- ناحیه میانی که هیدروفوب است شامل اسیدهای آمینه شماره ۹۱ - ۷۳ و درعرض غشاء دو لایه لیپیدی واقع شده است.

۳- C- ترمینال که هیدروفیل است و در سمت سیتوزولی غشاء واقع شده است.

ب - پروتئین تعویض کننده آنیون (Anion exchange protein) و یا باند 3 (band 3)

این پروتئین یک گلیکوپروتئین است که قسمت پروتئینی آن از دو لایه لیپیدی می گذرد و مجموعاً از ۹۲۶ اسید آمینه و ۲ قسمت تشکیل شده است :

Scanned with CamScanner

۱- N- ترمینال که در قسمت سیتوزول غشاء واقع شده و جایگاه اتصال آن با پروتئین آنکرین (Ankyrin) می باشد.

۲- یک قسمت ۹ - ۵ اسید آمینه ای است که از عرض غشاء می گذرد و به عنوان کانال تعویض آنیون عمل می نماید. نقش این پروتئین، تعویض یون Cl^- و HCO_3^- به صورت انتقال معکوس از غشاء RBC می باشد(حاشیه ۳-۶).

پروتئین های محیطی یا سطحی غشاء RBC

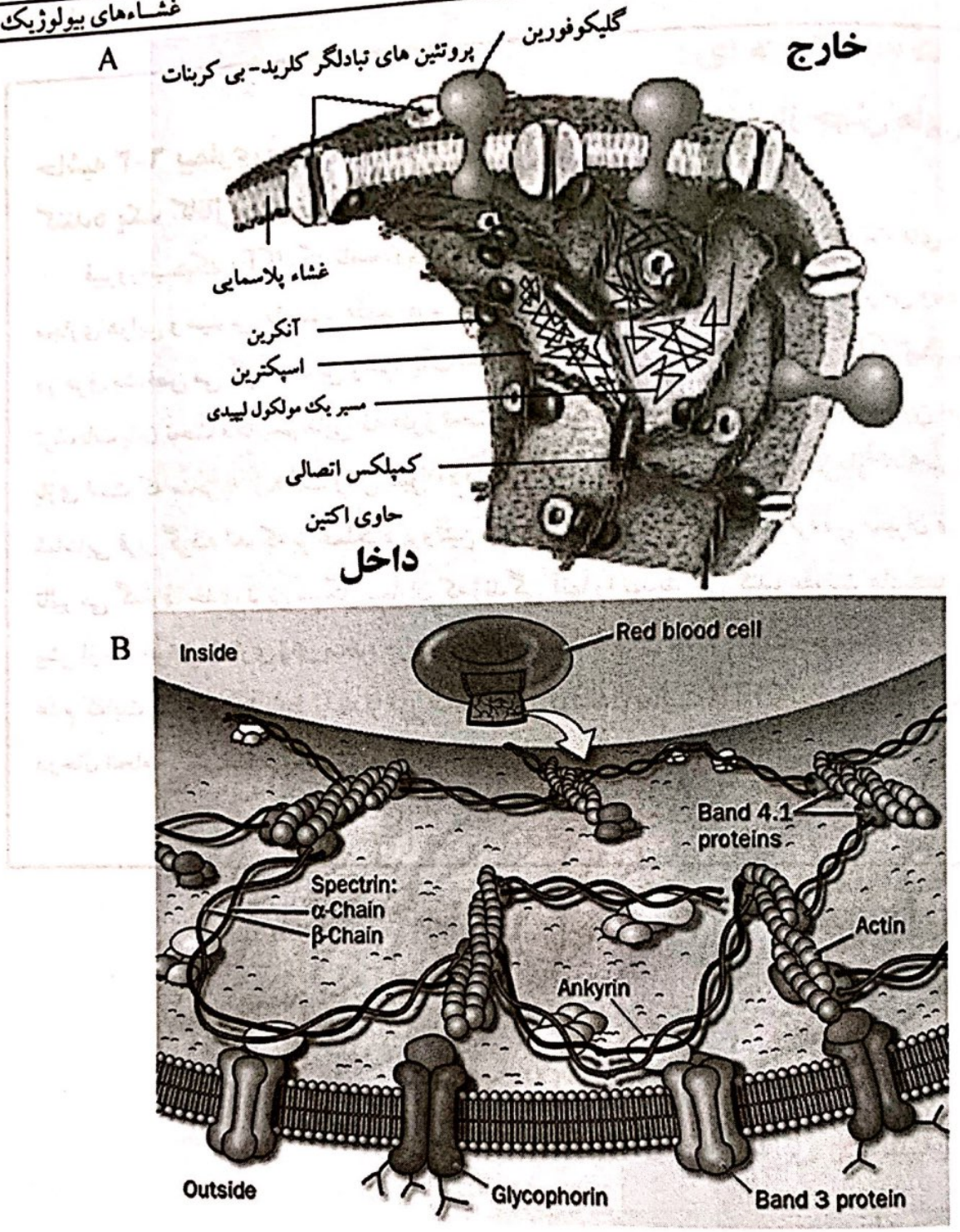
سطح سیتوزولی غشاء RBC ، به وسیله شبکه ای از پروتئین های محیطی پوشیده شده است که اسکلت خارجی RBC نامیده می شود. اسکلت غشاء RBC دارای ۴ پروتئین اصلی بوده که عبارتند از: (شکل ۹-۶)

۱- اسپکترین (Spectrin)
۲- اکتین(Actin)
۳- پروتئین 4.1 (Protein 4.1)
۴- انکرین (Ankyrin)

اسپکترین اصلی ترین پروتئین شبکه می باشد و از دو زنجیره پلی پپتیدی آلفا و بتا تشکیل شده است. این دو زنجیره در کنار هم یک هترودیمر تشکیل می دهند. اسپکترین در انتها به اکتین متصل است و این مجموعه نیز به پروتئین کروی بنام باند 4.1 (Protein 4.1) وصل می شود. از طرفی دیگر اسپکترین به انکرین و نیز به پروتئین تعویض آنیون (در سطح داخلی غشاء) متصل است. ارتباط دیگری نیز بین پروتئین 4.1 و کمپلکس اسپکترین- اکتین برقرار شده و در کل به گلیکوفورین متصل می شوند (شکل ۹-۶).

نقش این پروتئین ها و واکنش بین آنها اهمیت اصلی در مقاومت ساختمان غشاء RBC و همچنین قابلیت انعطاف آن دارند.

Scanned with CamScanner



شکل ۹-۶ محدودیت حرکت تعویض کننده یونی کلر- بیکربنات در غشاء گلبول قرمز. (A) این پروتئین در عرض غشاء قرار گرفته و توسط پروتئین دیگری، یعنی آنکرین، به پروتئین اسپکترین در اسکلت سلولی متصل بوده که حرکت جانبی این تعویض کننده را محدود می نماید. آنکرین با ایجاد یک اتصال کووالان به زنجیر جانبی پالمیتیل، در داخل غشاء لنگر می اندازد (شکل ۷-۶). ملکول های اسپکترین که یک پروتئین طویل رشته ای می باشد، توسط کمپلکس های پروتئین حاوی اکتین، بهم متصل گردیده و بدین ترتیب یک ساختار تور مانند در سطح داخلی غشاء گلبول قرمز تشکیل می گردد، این شبکه غشاء را در برابر تغییر شکل پایدار می نماید. (B) بزرگ نمایی از غشاء گلبول قرمزبا پروتئین های اینتگرال و محیطی.

Scanned with CamScanner

حاشیه ۳-٦ بیماری فیبروزسیستیک (Cystic Fibrosis) ناشی از جهش هایی در ژن کد کننده یک کانال کلری است.

فیبروزسیستیک (CF) یک ناهنجاری ژنتیکی مغلوب است. این ناهنجاری با عفونت های مزمن باکتریایی مجاری هوایی و سینوس ها، سوء هضم چربی به دلیل عدم کفایت بخش برون ریز پانکراس و مقادیر بالای کلر در عرق مشخص می گردد. بدلیل وجود یک اختلال در نفوذ پذیری غشاء نسبت به Cl^-، چسبندگی بسیاری از ترشحات بدن تحت مکانیسم هایی که هنوز تحت بررسی هستند افزایش می یابد. معمول ترین جهش حذف سه بازی است که منجر به از دست رفتن فنیل آلانین ۵۰۸ می گردد. علاوه بر این بیش از ۹۰۰ جهش دیگر مورد شناسایی قرار گرفته اند که بر عملکرد پروتئین CFTR (پروتئین تنظیم کننده ترانس ممبران فیبروزسیستیک) تاثیر می گذارد. جدی ترین مشکل بیماران که زندگی آنها را تهدید می کند، عفونت های ریوی ناشی از رشد بیش از حد عوامل بیماری زای متعدد در ترشحات چسبنده مجرای تنفسی است. سوء جذب مواد غذایی به دلیل عدم کفایت پانکراس، شرایط را بد تر می کند. برای برگرداندن فعالیت CFTR تلاش هایی در جهت ژن درمانی درحال انجام و پیشرفت می باشد.

Scanned with CamScanner

۹-۶ سئوالات چند گزینه ای :

۱- کدام نوع حرکت اجزاء غشایی محدودیت بیشتری دارد؟

الف - عرضی

ب - جانبی

ج - چرخشی

د - جانبی و چرخشی

۲- کدامیک از لیپیدهای زیر مهمترین لیپید غشاء میتوکندری محسوب می گردد؟

الف - لسیتین

ب - کاردیولیپین

ج - فسفاتیدیل سرین

د - فسفاتیدیل اینوزیتول

۳- افزایش سیّالیت غشاء به کدام عامل زیر مربوط است؟

الف - افزایش تری آسیل گلیسرول

ب - افزایش pH

ج - افزایش کلسترول استریفیه

د - افزایش درجه حرارت

۴- کدامیک از لیپیدهای زیر در ساختار غشاء های بیولوژیک شرکت نمی نمایند:

الف - فسفولیپید

ب - تری گلیسیرید

ج - اسفنگولیپیدها

د - کلسترول آزاد

Scanned with CamScanner

فصل ۷

اسیدهای نوکلئیک

دکتر عاطفه ثقة الاسلام

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید :

- طبقه بندی، خواص بیوشیمیایی و اهمیت زیستی بازها ی نیتروژن دار، نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها را شرح دهید.
- پلی نوکلئوتیدها و خواص آنها را تعریف کنید.
- ساختمان دو رشته ای DNA و عواملی که در پایداری آن دخالت دارند را بشناسید.
- انواع ساختمانهای DNA را شناخته و اهمیت فیزیولوژیکی آنها را درک نمایید.
- چگونگی فشرده شدن DNA و تبدیل آن به کروماتین و کروموزوم را توضیح دهید.
- ساختمان انواع RNA را شناخته و نقش بیوشیمیائی آنها را شرح دهید.
- ضریب ته نشینی را تعریف کنید.
- واسرشت (Denaturation) شدن و باز سرشت (Renaturation) شدن اسیدهای نوکلئیک را توضیح دهید.

Scanned by CamScanner

همه انواع حیات و تمامی موجودات جاندار جهت ذخیره اطلاعات ژنتیکی از اسیدهای نوکلئیک استفاده می کنند. اسیدهای نوکلئیک ماده ژنتیکی موجودات زنده شناخته شده می باشند که می توانند از نوع DNA یا RNA باشند.

DNA اختصار داکسی ریبونوکلئیک اسید (Deoxyribo Nucleic Acid) و RNA اختصار ریبونوکلئیک اسید (Ribo Nucleic Acid) می باشد. در اکثرموجودات زنده ماده ی ژنتیکی از نوع DNA است و دربرخی از ویروس ها مانند رتروویروس ها (Retroviruses) و ویروس هپاتیت C (Hepatitis C Virus) ماده ژنتیکی از نوع RNA می باشد.

اسیدهای نوکلئیک پلیمرهایی خطی با وزن ملکولی بالا هستند. اسیدهای نوکلئیک حدود ۱۵ - ۵ درصد از وزن خشک همه سلول ها را به خود اختصاص می دهند. از لحاظ شیمیایی اسیدهای نوکلئیک شامل واحدهای منومری هستند که با پیوندهای شیمیایی بهم متصل شده اند. این واحدهای منومری نوکلئوتید (Nucleotide) نام دارند که دربخش بعد به آن پرداخته می شود. در حاشیه های ۵-۷ و ۶-۷ به برخی اهمیت های زیست پزشکی اسیدهای نوکلئیک اشاره شده است.

۱-۷ نقش های زیستی و بیوشیمیایی نوکلئوتیدها عبارتند از:

الف) بعنوان حامل انرژی (energy carrier) مانند ATP

ب) بعنوان ترکیبات حد واسط پر انرژی (high energy intermediates) در واکنش های بیوسنتزی مانند نقش UDP-glucose یا UDP-galactose در بیوسنتز کربوهیدرات ها و نقش CDP-acyl glycerol در بیوسنتز لیپیدها.

ج) بعنوان بخشی از ساختمان کوآنزیم ها در موجودات زنده مثل FAD (Flavin Adenine Dinucleotide) ، و کوآنزیم آ (Coenzyme A).

د) بعنوان پیامبر ثانویه (Second messenger) جهت راه اندازی برخی واکنشهای آنزیمی متوالی و آبشاری (Enzymatic cascade)، مانند سلسله واکنش هایی که جهت انتقال پیام برخی هورمون ها به داخل سلول اتفاق می افتد. مهمترین ملکول هایی که بعنوان پیامبر ثانویه عمل می کنند شامل آدنوزین منوفسفات حلقوی cAMP (cyclic AMP) و گوانوزین منوفسفات حلقوی cGMP (Cyclic GMP) می باشند.

ه) مهمترین نقش نوکلئوتیدها شرکت آنها بعنوان منومردر ساختمان DNA و RNA می باشد.

Scanned by CamScanner

۲-۷ اسیدهای نوکلئیک از چهار نوع باز متصل به اسکلت قند - فسفات ساخته شده اند.

همانطور که گفته شد اسیدهای نوکلئیک از بهم پیوستن واحدهای منومری به نام نوکلئوتید ساخته می شوند. هر نوکلئوتید شامل یک باز نیتروژن دار هتروسیکلیک (حلقوی با بیش از یک نوع اتم در ساختمان حلقه)، یک قند پنج کربنه و یک یا چند گروه فسفات است.

الف- بازهای نیتروژن دار

دو دسته عمده از بازهای نیتروژن دار هتروسیکلیک در ساختمان اسیدهای نوکلئیک وجود دارند که شامل پورین ها (purines) و پیریمیدین ها (pyrimidines) می شوند (شکل ۱-۷ الف).

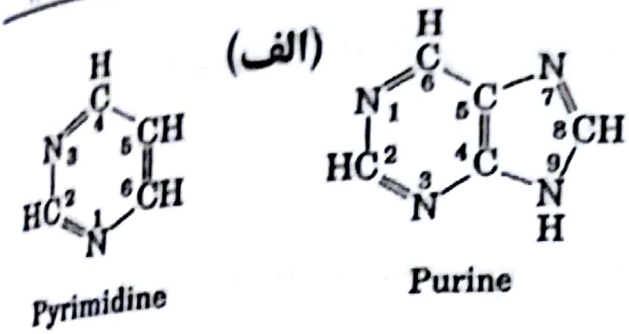
بازهای پورینی عمده شامل آدنین (Adenine) و گوانین (Guanine) می باشند(شکل ۱-۷ ب) که هم در DNA و هم در RNA وجود داشته و درموقعیت نیتروژن شماره 9 (N9) حلقه خود به پنتوز متصل می شوند. بازهای پورینی شامل دو حلقه پیریمیدین و ایمیدازول می باشند. شماره گذاری اتم ها از نیتروژن بالایی حلقه پیریمیدین شروع شده و به سمت پایین (خلاف جهت عقربه های ساعت) ادامه می یابد. درحلقه ایمیدازول شماره گذاری اتمها از نیتروژن بالایی به سمت نیتروژن پایینی (جهت عقربه ساعت) می باشد (شکل ۱-۷ الف). سه نوع عمده **بازهای پیریمیدینی** شامل سیتوزین (Cytosine)، یوراسیل (Uracil) و تیمین (Thymine) می باشند (شکل ۱-۷ ج). سیتوزین در DNA و RNA وجود دارد اما یوراسیل بطور معمول تنها در RNA و تیمین بطور معمول تنها در DNA یافت می شوند. پیریمیدین ها از طریق نیتروژن شماره ی ۱ خود به قند متصل می شوند. حلقه پیریمیدین مشابه حلقه بنزن می باشد اما بجای دو اتم کربن آن دو اتم نیتروژن قرار گرفته است. شماره گذاری اتم ها از نیتروژن پایینی و به سمت نیتروژن بالایی (در جهت عقربه های ساعت) صورت می گیرد (شکل ۱-۷ الف).

ب - قندها (پنتوزها)

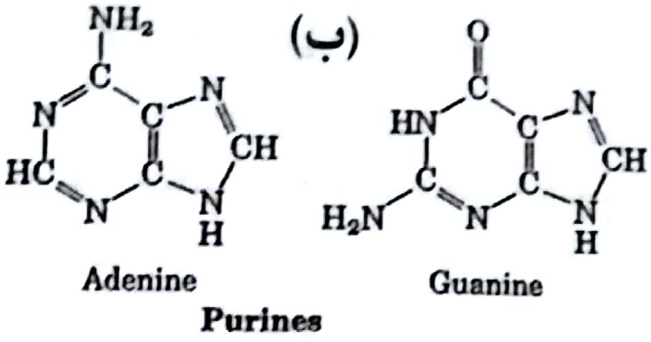
در RNA قند از نوع D-Ribose و در DNA از نوع 2-deoxy-D-ribose می باشد که تفاوت آن با D - ریبوز در وجود یک H- بجای OH – در موقعیت شماره ۲ حلقه قند است (شکل۲-۷ الف). بازهای نیتروژن دار به موقعیت شماره ی ۱ حلقه قند یا کربن آنومر(anomeric carbon) بوسیله پیوند β-N-glycosidic متصل می شوند(شکل۲-۷ ب).

Scanned by CamScanner

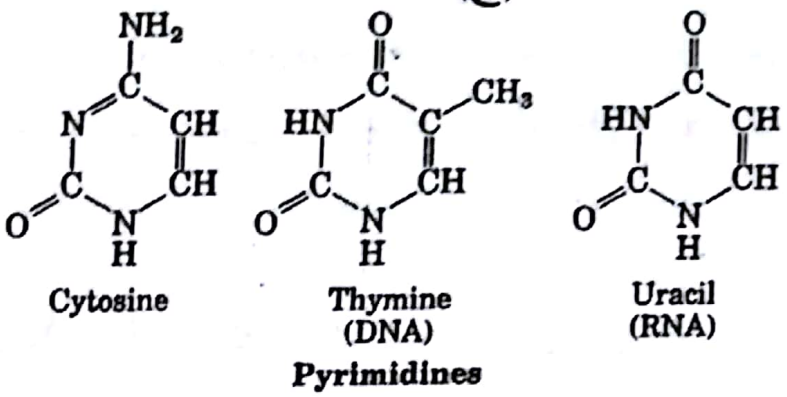
(الف)



(ب)



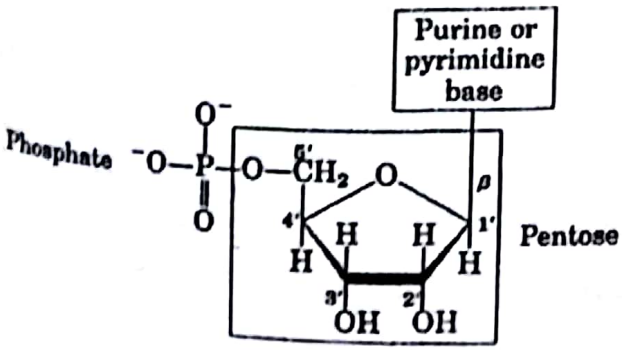
(ج)



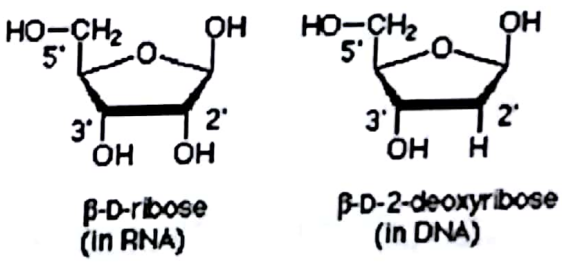
شکل ۱-۷. ساختمان بازهای پورین و پیریمیدین و نحوه شماره گذاری اتم های حلقه (الف) و مشتقات عمده آنها (ب و ج).

لازم به ذکر است که در شماره گذاری اتم های حلقه در قندها، به همراه شماره، علامت پرایم (′) آورده می شود تا با شماره گذاری اتم های حلقه در بازهای نیتروژن دار اشتباه نگردند.

ب



الف



شکل۲-۷. ساختمان قندهای ریبوز و داکسی ریبوز (الف) و ساختمان عمومی یک نوکلئوتید به همراه شماره گذاری حلقه پنتوز (ب).

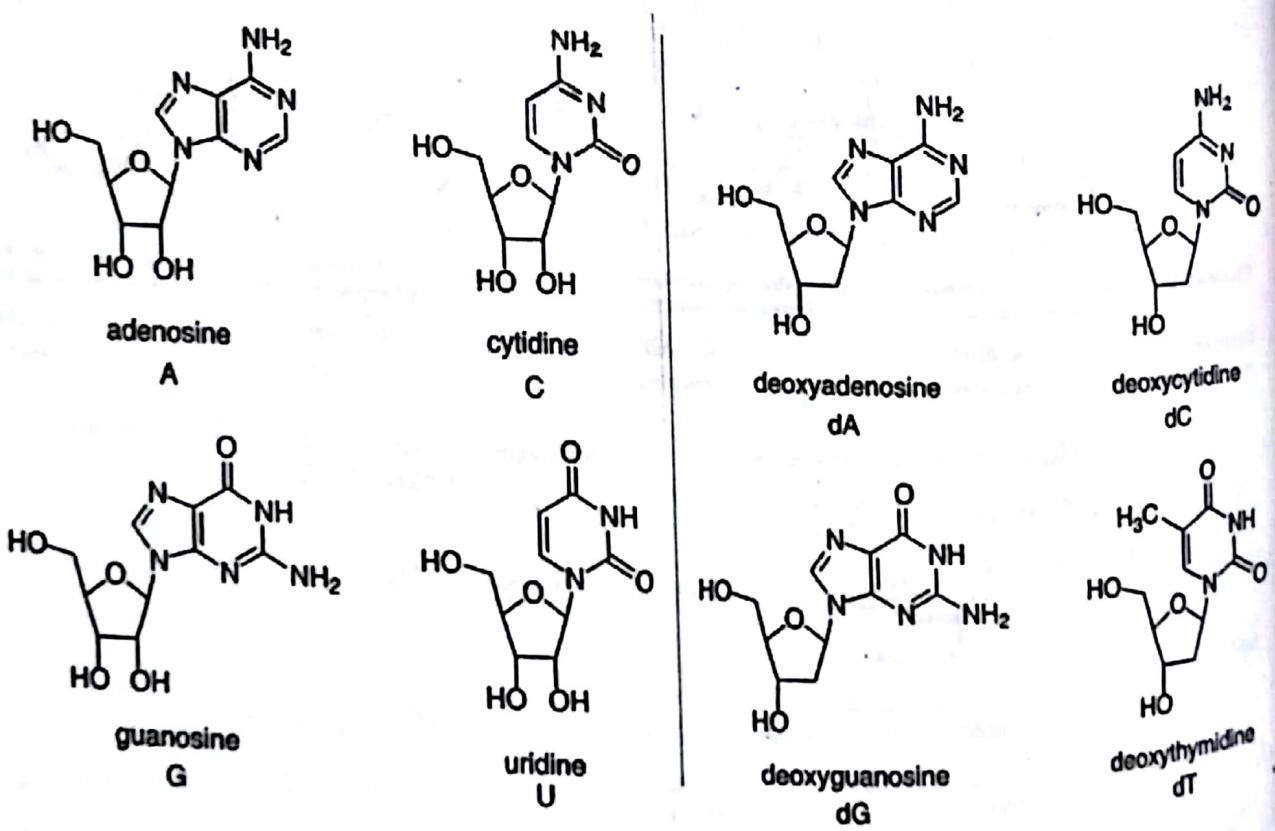
Scanned by CamScanner

ج - فسفات

جزء سوم هر نوکلئوتید یک یا چند گروه فسفات است که با OH- الکلی کربن شماره ۵′ قند، دارای پیوند استری است (شکل ۲-۷ ب) .

۳-۷ نوکلئوزیدها از بهم پیوستن یک باز نیتروژن دار و یک قند پنج کربنه ایجاد می شوند.

یک باز نیتروژن دار (از نوع آدنین، گوانین، سیتوزین، تیمین یا یوراسیل) که با هر کدام از پنتوزها گلیکوزیله شود یک نوکلئوزید (nucleoside) ایجاد می کند. نوکلئوزیدهایی که در ساختمان خود، قند ریبوز دارند را ریبونوکلئوزید (ribonucleoside) می نامند، و آنها که در ساختمان خود داکسی ریبوز دارند داکسی ریبونوکلئوزید (deoxyribonucleoside) نامیده می شوند (شکل ۳-۷ الف و ب). در RNA چهارنوع ریبونوکلئوزید بطور معمول یافت می شود که عبارتند از: آدنوزین (Adenosine) با اختصار A، گوانوزین (Guanosine) با اختصار G، سایتیدین (Cytidine) با اختصار C و یوریدین (Uridine) با اختصار U. به همین ترتیب چهار داکسی ریبونوکلئوزید در DNA شامل داکسی آدنوزین (dA)، داکسی گوانوزین (dG)، داکسی سایتیدین (dC) و داکسی تیمیدین (dT) می باشند.

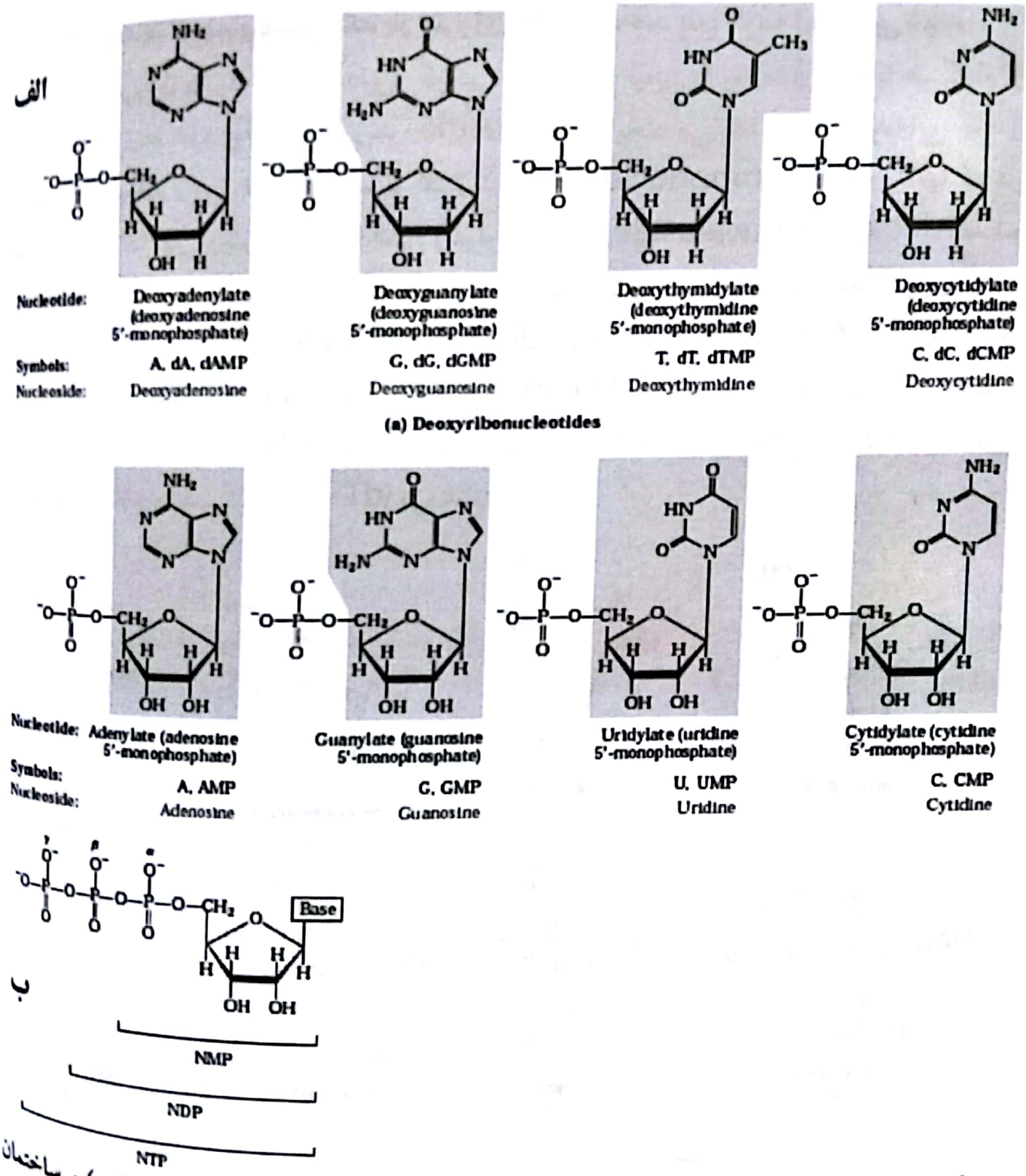


شکل ۳-۷. ساختمان داکسی ریبونوکلئوزیدها به همراه علامت اختصاری یک حرفی آنها و حرف "d" که به قبل آن اضافه گردیده است. الف) ریبونوکلئوزیدها به همراه علامت اختصاری یک حرفی آنها. ب)

Scanned by CamScanner

۷-٤ نوکلئوتیدها واحدهای منومری اسیدهای نوکلئیک می باشند.

نوکلئوتیدها استرهای فسفات نوکلئوزیدها می باشند. به عبارت دیگر یک نوکلئوتید مجموعه یک نوکلئوزید و گروه فسفات است. نوکلئوتیدهایی که شامل یک فسفات منواستری باشند نوکلئوزید منوفسفات نامیده می شوند.



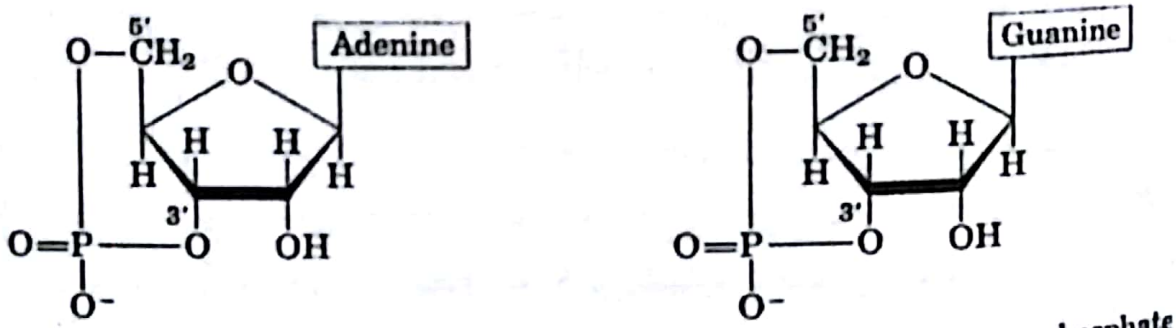
شکل ۴-۷. ساختمان و نام چهار داکسی ریبونوکلئوتید و ریبونوکلئوتید عمده (الف) و ساختمان نوکلئوزید منو، دی، و تری فسفات ها .(ب)

Scanned by CamScanner

بعنوان مثال: داکسی سایتیدین- ′۵ - منوفسفات که یک ′۵ - نوکلئوتید از داکسی سایتیدین است و با اختصار dCMP نمایش داده می شود (شکل ۴-۷- الف). امکان اتصال یک یا دو گروه فسفات دیگربا اتصالات انیدریدی (anhydride) به فسفات اول نیز وجود دارد، که در نتیجه آن نوکلئوتیدهای دی و تری فسفات ایجاد می شوند (شکل۴-۷- ب). مولکول های فسفات از طریق پیوندهای پر انرژی انیدریدی به یکدیگر متصل می گردند.

در برخی از نوکلئوتیدها ، پیوند فسفو دی استر نیز وجود دارد که به این نوکلئوتید ها، نوکلئوتید های حلقوی گفته می شود. از این نوع ترکیبات می توان پیامبرهای ثانویه شامل cAMP (Adenosine – 3′, 5′ – cyclic monophosphate) و Guanosine – 3′, 5′ – cyclic monophosphate) cGMP) را نام برد(شکل ۵-۷).

پیوند فسفودی استر هنگامی مطرح می گردد که یک ملکول اسید فسفریک با دو عامل هیدروکسیل دو پیوند استری ایجاد نماید. cAMP طبق یک واکنش آنزیمی از ATP ایجاد می شود که درآن آنزیم آدنیلیل سیکلاز (Adenylyle cyclase) با رها سازی دو فسفات متصل بهم یا یک پیروفسفات معدنی (Inorganic Pyrophosphate, PPi) محصول حلقوی را تولید می کند. همچنین آنزیم فسفودی استراز شکسته شدن cAMP و تبدیل آن به AMP را کاتالیز می کند.



Adenosine 3′,5′-cyclic monophosphate (cyclic AMP; cAMP)

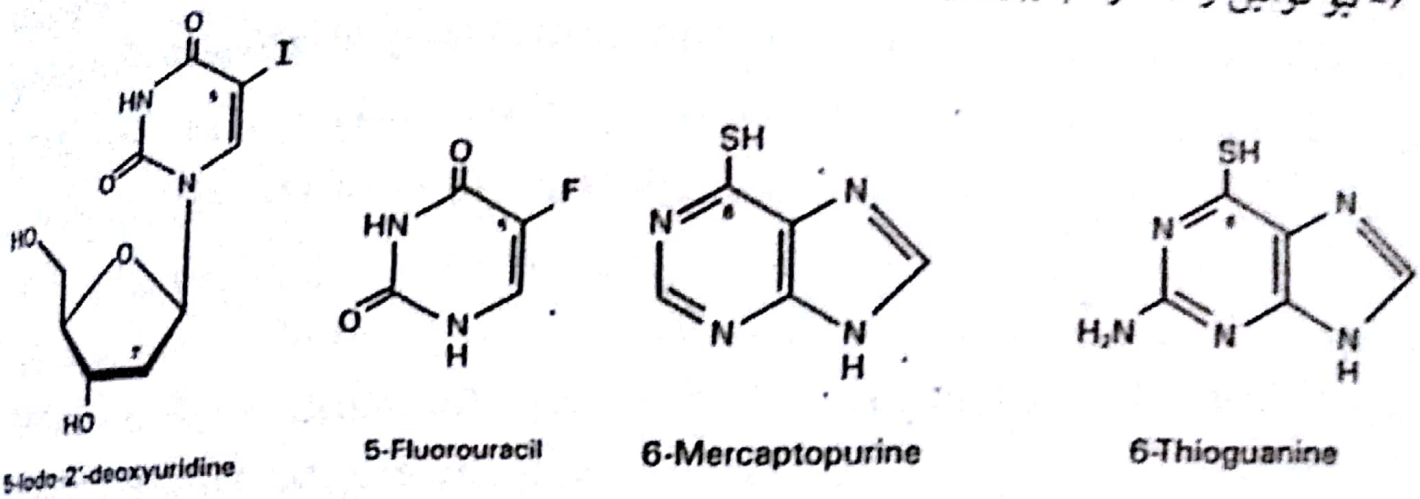
Guanosine 3′,5′-cyclic monophosphate (cyclic GMP; cGMP)

شکل ۵-۷. ساختمان نوکلئوتیدهای حلقوی.

امروزه ترکیبات سنتزی مشابه از لحاظ ساختمانی (analogs) با نوکلئوتیدها، نوکلئوزیدها و بازهای نیتروژن دار، با اهداف درمانی، برای جلوگیری از رشد سلول های سرطانی یا برخی ویروس ها مورد استفاده قرارمی گیرند. این آنالوگ ها با ممانعت از سنتز RNA یا DNA (بعنوان منع کننده های آنزیمی) در شیمی درمانی مورد استفاده قرار می گیرند.

Scanned by CamScanner

مثال هایی از اینگونه ترکیبات عبارتند از: ۵- فلوروویوراسیل، ۵ - یدو-′۲ داکسی یوریدین، ۶- تیوگوانین و ۶- مرکاپتوپورین (شکل ۶-۷).



شکل ۶-۷. ساختمان برخی از آنالوگ ها که در شیمی درمانی جهت ممانعت از سنتز RNA یا DNA مورد استفاده قرار می گیرند.

۷-۵ نامگذاری نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها

حروف A , G , C , T و U به ترتیب نمایانگر نوکلئوزید بازهای آدنین ، گوانین ، سیتوزین، تیمین و یوراسیل می باشند. در صورتیکه قند نوکلئوزید از نوع ′۲ - داکسی ریبوز باشد پیش حرف d به ابتدا اضافه می گردد. بنابراین بعنوان مثال: گوانوزین که دارای ′۲ - داکسی ریبوز است بصورت dG (داکسی گوانوزین مونوفسفات) dG - 5′-MP نمایش داده می شود. نام گذاری نوکلئوزیدهای مربوط به بازهای آلی پورینی و پیریمیدینی در جدول ۱-۷ مشخص گردیده است. محل فسفات در نوکلئوتید با شماره و تعداد آن با پیوندهای مونو، دی و تری مشخص می شود. برای مثال آدنوزین، با یک گروه فسفات متصل به کربن شماره ۵ قند ریبوز، بصورت آدنوزین-′۵ - منوفسفات نامگذاری می شود. یک نوکلئوتید ′۲ - داکسی آدنوزین با فسفات متصل به کربن موقعیت شماره ′۵ قند بصورت ′۲ - داکسی آدنوزین - ′۵ - منوفسفات نام گذاری می گردد. اگر فسفات با کربن شماره ۵ قندهای ریبوز و داکسی ریبوز پیوند استری دهد پیش عدد آن حذف می گردد. بعنوان مثال گوانوزین-′۵ - منوفسفات بصورت GMP و اگر قند داکسی ریبوز باشد بصورت dGMP نوشته می شود. وقتی دو یا سه فسفات به قند با پیوند انیدریدی متصل گردند اختصارات DP (diphosphate) و TP (Triphosphate) به نام نوکلئوزید اضافه می گردد.

Scanned by CamScanner

بنابراین آدنوزین تری فسفات با سه فسفات متصل به کربن ۵ آدنوزین بصورت ATP خلاصه می شود (جداول ۱-۷ و ۲-۷).

جدول ۱-۷. نامگذاری نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک

Base	*Nucleoside*	*Nucleotide*	*Nucleic acid*
Purines			
Adenine	Adenosine	Adenylate	RNA
	Deoxyadenosine	Deoxyadenylate	DNA
Guanine	Guanosine	Guanylate	RNA
	Deoxyguanosine	Deoxyguanylate	DNA
Pyrimidines			
Cytosine	Cytidine	Cytidylate	RNA
	Deoxycytidine	Deoxycytidylate	DNA
Thymine	Thymidine or deoxythymidine	Thymidylate or deoxythymidylate	DNA
Uracil	Uridine	Uridylate	RNA

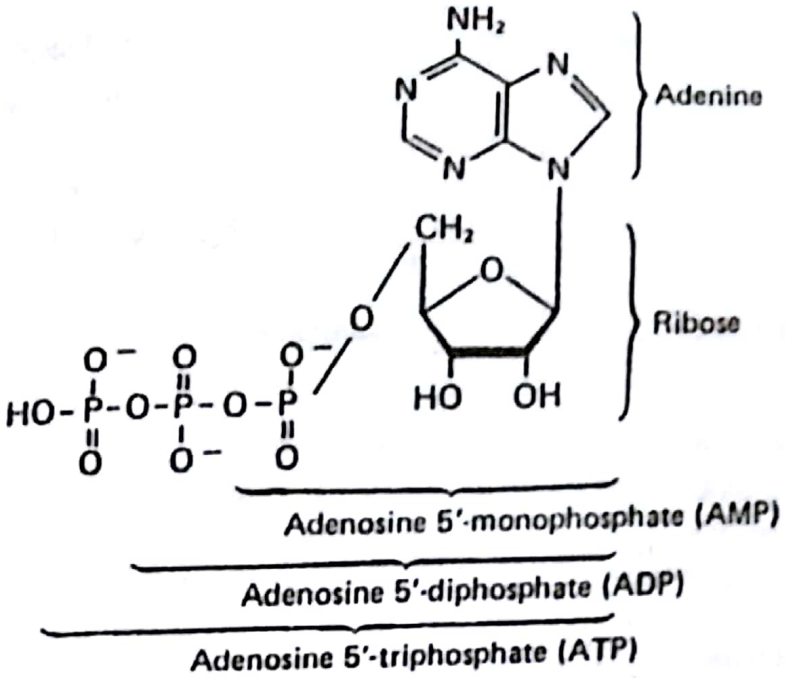
جدول ۲-۷. بازهای آلی به همراه نام نوکلئوزید منو، دی وتری فسفات آنها.

Abbreviations of ribonucleoside 5′-phosphates			
Base	Mono-	Di-	Tri-
Adenine	AMP	ADP	ATP
Guanine	GMP	GDP	GTP
Cytosine	CMP	CDP	CTP
Uracil	UMP	UDP	UTP

Abbreviations of deoxyribonucleoside 5′-phosphates			
Base	Mono-	Di-	Tri-
Adenine	dAMP	dADP	dATP
Guanine	dGMP	dGDP	dGTP
Cytosine	dCMP	dCDP	dCTP
Thymine	dTMP	dTDP	dTTP

ساختمان ATP بهمراه فرم های منو ، دی و تری فسفات در شکل ۷-۷ نمایش داده شده است. از آنجا که فسفات ها در فرم های انیدریدی از نظر آنتروپی در سطح پایینی قرار دارند گفته می شود که فسفات ها دارای انرژی پتانسیل بالایی هستند. هیدرولیز یک مول ATP به ADP حدود ۷ کیلو کالری انرژی پتانسیل آزاد می کند.

Scanned by CamScanner



شکل ۷ -۷. ساختمان ملکول پر انرژی ATP

۷-۶ DNA بصورت زنجیره ای از نوکلئوتیدها ست.

اسیدهای نوکلئیک بصورت زنجیره هایی از نوکلئوتیدها هستند که بوسیله پیوند فسفودی استر بهم متصل می باشند (شکل ۸-۷). درDNA طول این زنجیره می تواند از دو نوکلئوتید تا صدها میلیون نوکلئوتید متغیر باشد. بطور معمول زنجیره های اسید نوکلئیک دارای حداکثر ۵۰ نوکلئوتید را الیگونوکلئوتید (oligonucleotide) می نامند و زنجیره های بلندتر را پلی نوکلئوتید (polynucleotide) می گویند. پیوندهای فسفودی استر، گروه هیدروکسیل (-OH) کربن ۳′ یک نوکلئوتید را به گروه هیدروکسیل کربن ۵′ نوکلئوتید بعدی وصل می کنند (phosphodiester bridges, 3′, 5′). این طرز اتصال، یک زنجیره جهت دار را ایجاد می کند. جهت دار بودن (directionality) این پیوندها بدین معناست که پلی نوکلئوتید های خطی در یک انتهای خود به یک مولکول فسفات متصل به کربن های ریبوز و در انتهای دیگر خود به -OH متصل به کربن ۳′ ریبوز ختم می شوند. این انتها ها را به ترتیب انتهای ۵′ و انتهای ۳′ می نامند و جهت زنجیره همیشه بصورت ۳′ ⟵ ۵′ در نظر گرفته می شود (شکل ۸-۷).

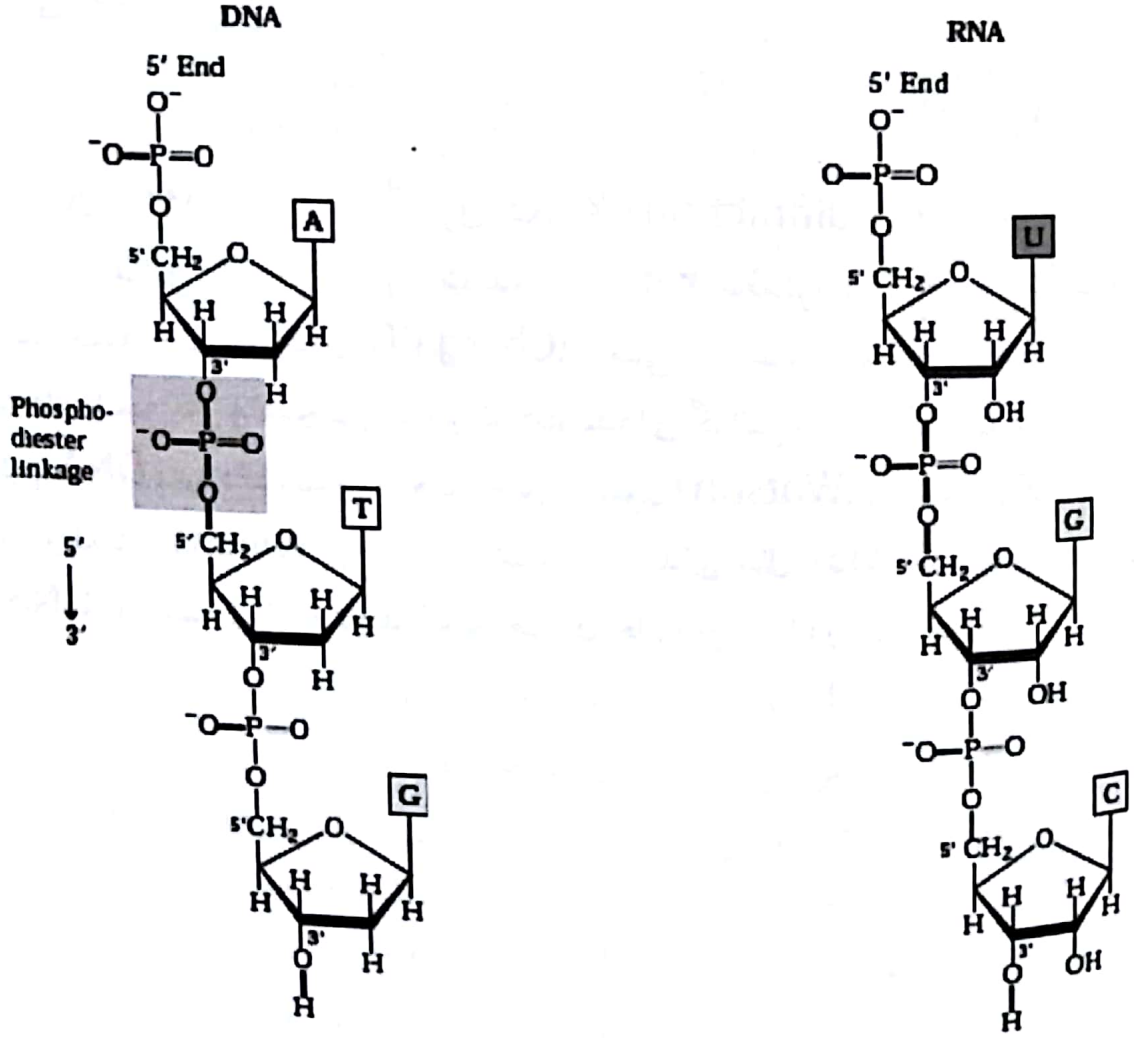
در بسیاری از پلی نوکلئوتیدها یک یا هر دو انتها ممکن است فسفاته شده باشند و یا به اسیدهای آمینه متصل باشند. پلی نوکلئوتیدهای حلقوی انتهای آزادی ندارند و بوسیله اتصال فسفودی استر بین انتهای ۵′ یک پلی نوکلئوتید خطی و انتهای ۳′ همان زنجیره ایجاد می شوند.در ساختمان پلی نوکلئوتیدی DNA ، گروه های قند و فسفات اسکلت زنجیره (back bone)را تشکیل می دهند

Scanned by CamScanner

همچنین ترتیب (sequence) قرار گیری بازها خصوصیات شیمیایی منحصر بفرد ملکول را تعیین می کنند که با ساختمان اول پروتئین ها و ترتیب قرار گیری اسیدهای آمینه قابل مقایسه می باشد. شکل ۹-۷ روش دیگری از نمایش یک زنجیره اسید نوکلئیک (تترا داکسی ریبونوکلئوتید) رابصورت خلاصه شده نشان می دهد. برخی فرم های ساده تر نمایش این زنجیره، بصورت های زیر می باشد:

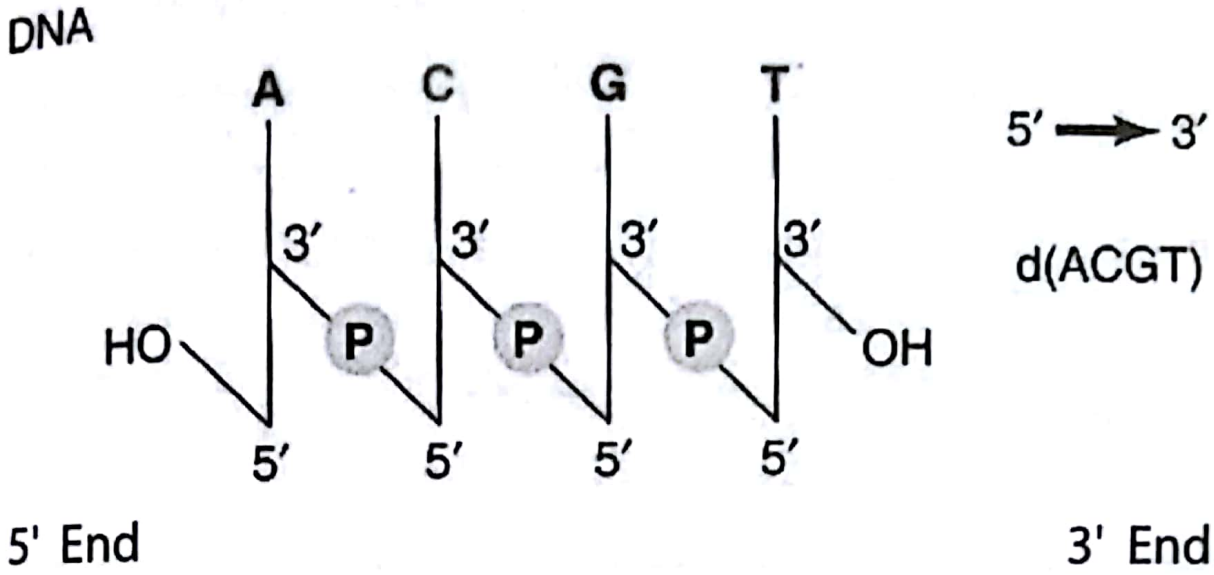
pA-C-G-TOH ; pApCpGpT ; pACGT

توجه داشته باشید که در تمامی این روش ها انتهای ۵′ زنجیره در سمت چپ صفحه کاغذ قرار می گیرد. پیوندهای فسفودی استر بسیار پایدار هستند و در طول زمان به آسانی تجزیه نمی شوند. تخمین زده شده است که نیمه عمر هیدرولیز اتصالات فسفودی استر در ملکول DNA به حدود ۲۰۰ میلیون سال برسد، اما این پیوندها در حضور کاتالیزور مخصوص یعنی آنزیم فسفودی استراز (phosphodiesterase) در سلول براحتی شکسته می شوند.



شکل ۸-۷. اتصالات فسفودی استر در اسکلت کووالانسی زنجیره DNA و RNA.

Scanned by CamScanner



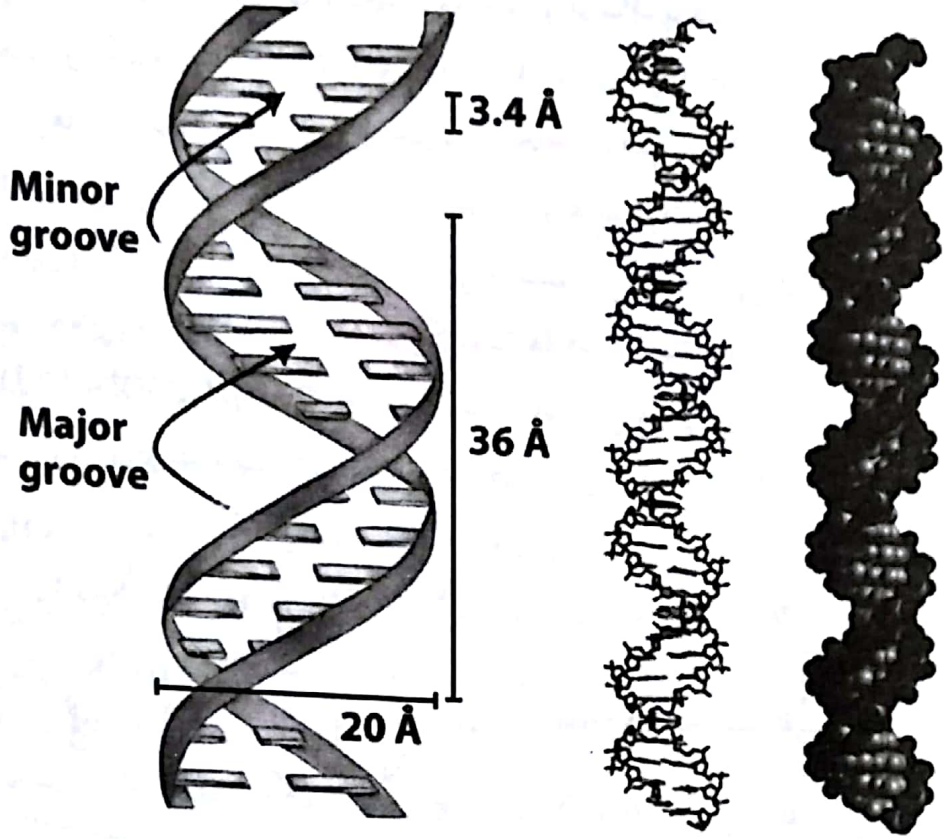
شکل ۹-۷. نمایش ساده توالی های نوکلئوتیدی در یک رشته DNA ، گروه های فسفات با P و هر داکسی ریبوز بصورت یک خط عمودی بین ′۱ - C در بالا ′۵ - C در پایین است. خطوط عرضی پیوند فسفودی استر بین ′۳ - C قند داکسی ریبوز یک نوکلئوتید و ′۵ - C پایین از نوکلئوتید بعدی را نمایش می دهد.

قبل از سال ۱۹۵۰، آزمایش های تفرق اشعه X (X-ray diffraction) مربوط به ملکول DNA ، وجود عوامل ساختمانی تکرار شونده در هر ۳/۴ انگستروم و در هر ۳۴ انگستروم را نشان داده بودند. مشاهدات چارگاف (Chargaff) مبنی بر تساوی نوکلئوتیدهای آدنین دار با نوکلئوتیدهای تیمین دار و همچنین تساوی نوکلئوتیدهای گوانین دار با نوکلئوتیدهای سیتوزین دار در مولکول DNA ، سه دانشمند به نام های جیمز واتسون (Watson) ، فرانسیس کریک (Crick) و موریس ویلکینز (Wilkins) را بر آن داشت تا درابتدای سال ۱۹۵۰ یک مدل ساختمانی برای ملکول DNA دو رشته ای ارائه دهند که بخاطر آن جایزه نوبل را دریافت کردند.

Scanned by CamScanner

مدل واتسون و کریک

مدل ساختمانی که واتسون و کریک نهایتا" در سال ۱۹۵۳ برای ساختمان مارپیچ دو رشته ای DNA ارائه دادند بعلت ساده بودن و اینکه تمامی ملزومات ساختمانی DNA را در برداشت، مورد قبول جامعه علمی واقع شد و به ارائه فرضیه چگونگی مکانیسم ذخیره و انتقال اطلاعات ژنتیکی منجر شد (شکل ۱۰-۷).

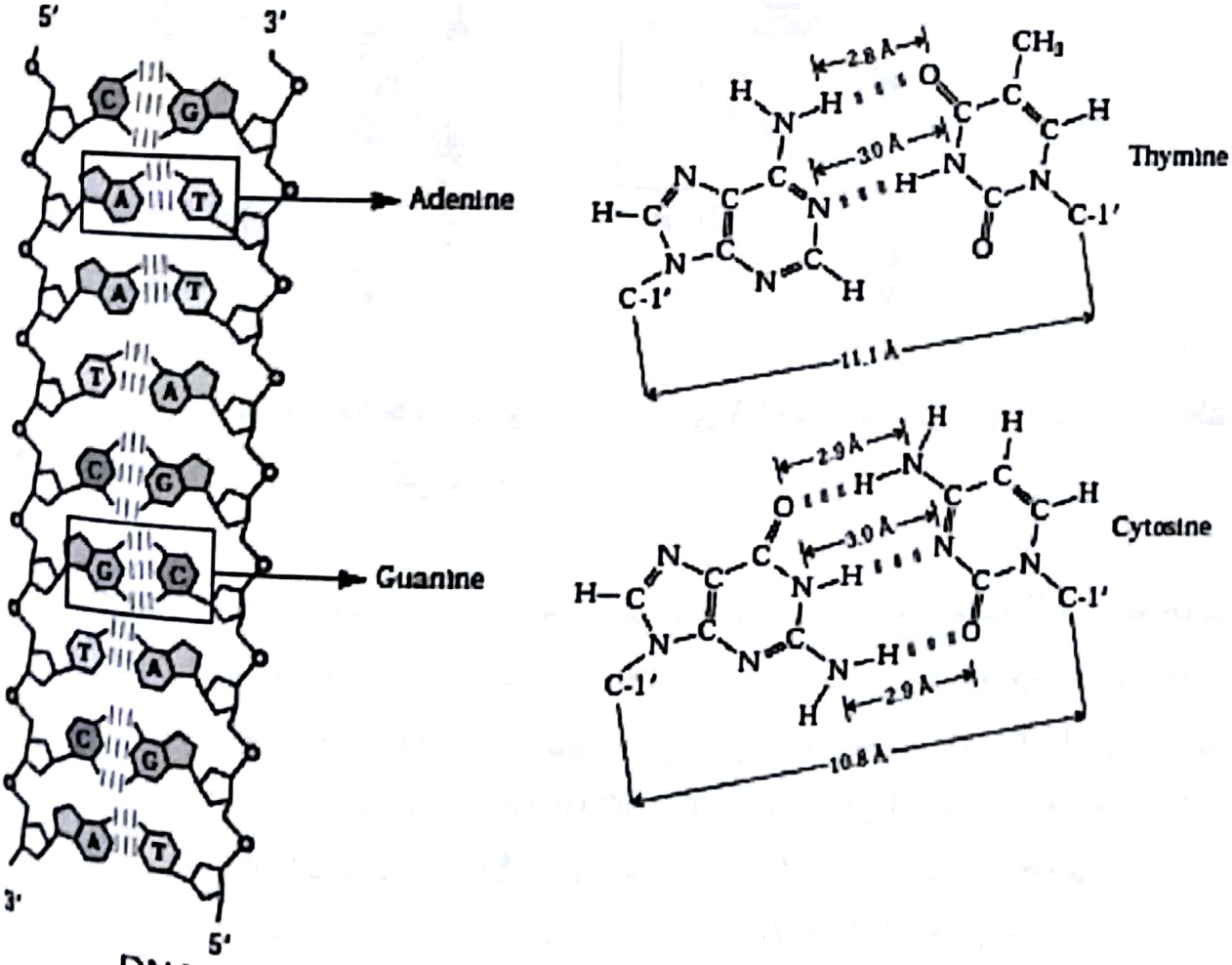


شکل ۱۰-۷. نمایش شماتیک ساختمان مارپیچ دو رشته ای DNA بصورت مدل واتسون- کریک در طرف چپ بهمراه مدل فضا پرکن در طرف راست.

در این مدل ملکول DNA بصورت دو زنجیره پلی نوکلئوتیدی مارپیچ راست گردان که حول یکدیگر و حول یک محور فرضی در فضا می پیچند مطرح شد. دو زنجیره، بوسیله پیوندهای هیدروژنی بین قسمت های هیدروفیل بازها، بهم متصل می شوند. گروه های N-H در بازهای نیتروژن دار، دهنده های پیوند هیدروژن (hydrogen-bond donor) خوبی بوده و در مقابل، جفت الکترون های اکسیژن هیبرید SP^2 گروه های C=O و نیتروژن گروههای =N- ، گیرنده های پیوند هیدروژن خوبی می باشند. جفت شدن بازها (pairing) زمانی اتفاق می افتد که یک گیرنده و یک دهنده در موقعیت خوبی برای ایجاد پیوند هیدروژنی قرار گیرند. این پیوندها بین

Scanned by CamScanner

بازهای پورین یک زنجیره و بازهای پیریمیدین زنجیره دیگر تشکیل شده و گسترش می یابند. در نتیجه، پدیده جفت شدن باز (base pairing) اتفاق می افتد که آدنین با تیمین و گوانین با سیتوزین جفت می شوند. نتیجه مستقیم این پیوندهای هیدروژنی این است که DNA ی دو زنجیره ای (double-stranded DNA=dsDNA) می بایست دارای نسبت های مساوی از نوکلئوتیدهای پورین و پیریمیدین باشد که این پدیده از سالها قبل در آزمایش های مختلف مشاهده شده بود. یعنی تعداد dA برابر با dT و تعداد dG برابر با dC بود. این ارتباط ویژه بین بازهای دو زنجیره مقابل هم، از یک مارپیچ دو رشته ای را، مکمل بودن (complementarity) می گویند. به این معنا که بازهای روبروی هم دردو زنجیره از لحاظ موقعیت مناسب فضایی از نظر توانایی در برقراری پیوند هیدروژنی پایدار، مکمل یکدیگر خواهند بود. بدین ترتیب آدنین با دو پیوند هیدروژنی با تیمین و گوانین با سه پیوند هیدروژنی با سیتوزین جفت می شود (شکل ۱۱-۷). بنابراین در مارپیچ های دوتایی مدل واتسون-کریک، بازها در قسمت میانی و اسکلت قند - فسفات (sugar-phosphate backbone) در قسمت خارجی واقع می شوند که نهایتاً منجر به وجود بار منفی (بعلت گروه های فسفات) در سمت خارجی مارپیچ دو رشته ای DNA می شود.



شکل ۱۱-۷. نمایش مکمل بودن رشته ها در مارپیچ دو رشته ای DNA.

Scanned by CamScanner

در این مدل ساختمان، دو زنجیره درمقابل هم بصورت غیر هم جهت (antiparallel) قرارمی گیرند. یعنی انتهای '۵ یک رشته مقابل انتهای '۳ رشته دیگر قرار می گیرند. پیچ خوردن دو زنجیره غیر هم جهت، بدور یکدیگر منجر به ایجاد ساختمانی خواهد شد که دارای دو شیار مارپیچی در سطح ملکول DNA می باشد. شیار بزرگ (major groove) بسیار پهن تر از شیار کوچک (minor groove) می باشد (شکل ۱۰-۷). مدلی که واتسون و کریک برای مارپیچ دو رشته ای DNA ارائه دادند همان DNA ی فرم B میباشد که درقسمت بعد بیشتر به آن پرداخته می شود.

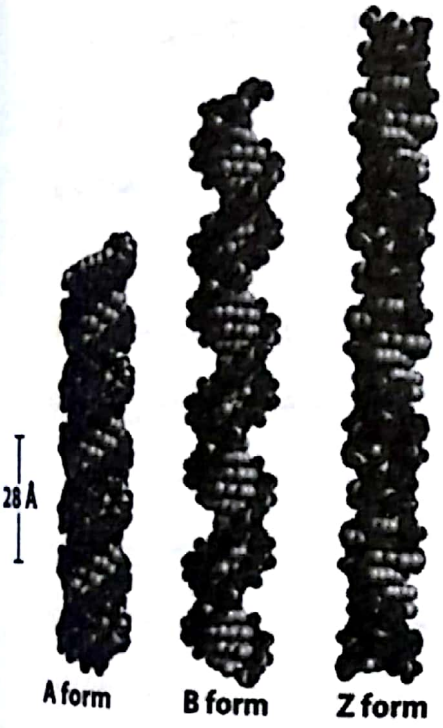
۷-۷ مارپیچ دورشته ای DNA می تواند در آرایش های فضایی (conformation) مختلفی تشکیل شود.

مطالعات تفرق اشعه X نشان داد که DNA بصورت چندین فرم ساختمانی مارپیچ دورشته ای و یا آرایش فضایی مختلف میتواند وجود داشته باشد که تا کنون ۱۱ آرایش فضایی مشخص در رابطه با آنها مطرح گردیده اند، اما بیشترآنها تنها در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی قابل تشکیل و مشاهده می باشند. تفاوت این آرایش ها در تعداد جفت باز موجود در یک دور مارپیچ (turn)، قطر مارپیچ، ارتفاع یا بلندی هر دور مارپیچ و راستگردان یا چپگردان بودن مارپیچ دو رشته ای، می باشد. برخی از این فرم ها با تغییر در غلظت نمک و شرایط آبی قابل تغییر می باشند. این تغییرات ممکن است در شرایط داخل سلولی (in vivo) نیز اتفاق بیفتد. سه گروه اصلی از آرایش های فضایی DNA شامل فرم های B ، A و Z می باشد که در ادامه به آنها بطور مختصر می پردازیم (شکل ۱۲-۷).

A-DNA : این فرم DNA در شرایط رطوبت کم (low humidity) و غلظت بالای نمک (K^+ و Na^+) ایجاد می شود. با افزودن حلال های آلی مثل اتانول، می توان نسبت آب و رطوبت محلول های آبی را کاهش داد. این ساختمان مارپیچ راستگرد درشت تر و پهن تر از آرایش دیگر DNA یعنی فرم B بوده و دارای ۱۱ جفت باز درهر دور می باشد که بلندی هر دور آن ۲/۸۶ نانومتر است. این فرم بیشتر در ساختمان های RNAی دو رشته ای (مثل ds tRNA) و یا هیبرید DNA-RNA مشاهده می شود. شیار بزرگ درفرم A در مقایسه با فرم B باریک تر و عمیق تر و شیار کوچک پهن تر اما سطحی تر است.

Scanned by CamScanner

B-DNA: همان ساختمانی است که توسط واتسون و کریک تشریح شد. این ساختمان در شرایط رطوبت بالا و غلظت پایین نمک حاصل شده و اساس و فرم غالب DNA در شرایط فیزیولوژیک است. در این مدل DNA راستگرد ارتفاع هر دور ۳/۴ نانومتر یا ۳۴A° آنگستروم بوده و درون هر دور تقریبا ۱۰ جفت باز قرار می گیرد. قطر دهانه مارپیچ نیز ۲ نانومتر عنوان گردیده است.



	A form	B form	Z form
Helical sense	Right handed	Right handed	Left handed
Diameter	~26 Å	~20 Å	~18 Å
Base pairs per helical turn	11	10.5	12
Helix rise per base pair	2.6 Å	3.4 Å	3.7 Å
Base tilt normal to the helix axis	20°	6°	7°
Sugar pucker conformation	C-3′ endo	C-2′ endo	C-2′ endo for pyrimidines; C-3′ endo for purines
Glycosyl bond conformation	Anti	Anti	Anti for pyrimidines; syn for purines

شکل ۱۲-۷. سه فرم ساختمانی DNA (چپ) به همراه مقایسه خصوصیات آنها (راست).

Z-DNA : یک مارپیچ دورشته ای چپگرد می باشد که در آن اسکلت زنجیره بصورت زیگزاگ (Zigzag) در آمده است و نام Z بهمین دلیل بر آن گذاشته شده است. تعداد جفت باز در هر دور ۱۲ بوده و بلندی هر دور۴/۴۴ نانومتر است. این نوع ساختمان در قسمت هایی از DNA با توالی های تکراری از تناوب های پورین و پیریمیدین (بویژه GC) مشاهده می شود. از عوامل دیگر کمک کننده و تاثیر گذار بر ایجاد این فرم از DNA غلظت بالای مولکول های کاتیونی مثل اسپرمین یا اسپرمیدین یا غلظت بالای نمک یا الکل و همچنین پروتئین های اختصاصی متصل شونده به Z DNA می باشد. در فرم Z-DNA شیار کوچک بشدت باریک و عمیق شده و شیار بزرگ پهن گشته و به سطح مارپیچ آمده است.

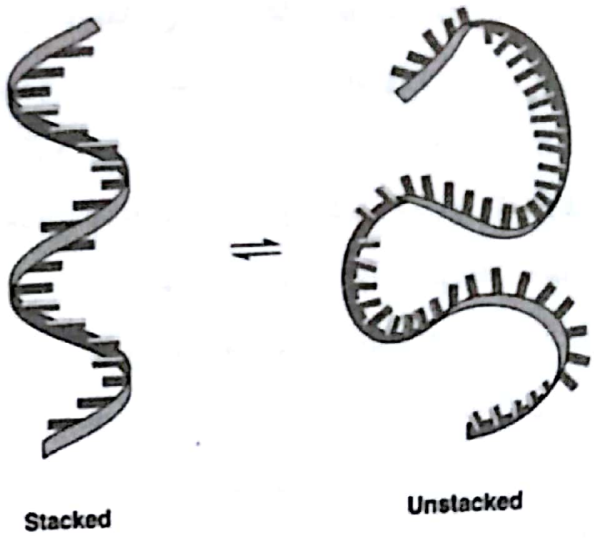
Scanned by CamScanner

۸-۷ شکل گیری ساختمان سه بعدی اسیدهای نوکلئیک به عوامل مختلفی بستگی دارد.

بازها نقش اساسی در شکل گیری ساختمان سه بعدی و آرایش فضایی پلی نوکلئوتیدها دارند. اتم های نیتروژن و اکسیژن (گروه های N- ، =O= و NH_2 -) بازها می توانند با گروه های قطبی دیگر یا ملکول های آب محیط اطرافشان وارد واکنش شوند. از جمله این میانکنش ها پیوندهای هیدروژنی بین بازهای مکمل مقابل هم می باشد که از عوامل عمده پایداری ساختمان DNA محسوب می گردد. اما اسکلت کربنی صفحه بازها که هیدروفوب هستند نمی توانند وارد چنین میانکنش هایی شوند و تمایل به فرار از آب دارند (hydrophobicity). لذا این صفحات با یکدیگر وارد میانکنش شده و یک آرایش فضایی پشته شده منظم (stacked) را ایجاد می کنند. پشته شدن بازها (base stacking) سطوح هیدروفوب یا آبگریز را کاهش می دهد و ملکول های آب بین بازها را به خارج می راند (شکل۱۳-۷). پشته شدن بازها با میانکنش های هیدروفوب و نیروهای واندروالس حاصل از دو قطبی های موقت ایجاد شده بین اتم های حلقه بازها پایداری بیشتر می یابد. از آنجا که قدرت این میانکنش ها شدیداً به فاصله (فاصله کمتر از ۵/۵ آنگستروم) وابسته می باشد، هیچ فضای خالی بین بازهای پشته شده باقی نمی ماند. بنابراین میانکنش های هیدروفوب بین زوج بازها نیز از عوامل پایداری ساختمان DNA می باشند.

پایداری نهایی ساختمان های مارپیچ به عوامل دیگری مانند pH ، غلظت نمک و حرارت محیط بستگی دارد. برای مثال یون هایی مانند Mg^{2+} بعلت پوشاندن بار منفی گروههای فسفات، نیروی دافعه بین دو رشته را کاهش داده و سبب پایداری کنفورماسیون مارپیچی DNA می گردند. بدون حضور کاتیون ها، مولکول DNA امکان خم شدن و تاخوردگی را نخواهد داشت زیرا نیروی دافعه بین بارهای منفی مولکول های فسفات مجاور هم وضعیتی مانند چوب خشک را برای DNA ایجاد می نماید.

Scanned by CamScanner



شکل ۱۳-۷. کنفورماسیون های مارپیچ تصادفی و پشته منظم شده یک پلی نوکلئوتید تک زنجیره ای.

۹-۷ مولکول DNA در یوکاریوت ها به دور پروتئین های هیستونی پیچیده شده است.

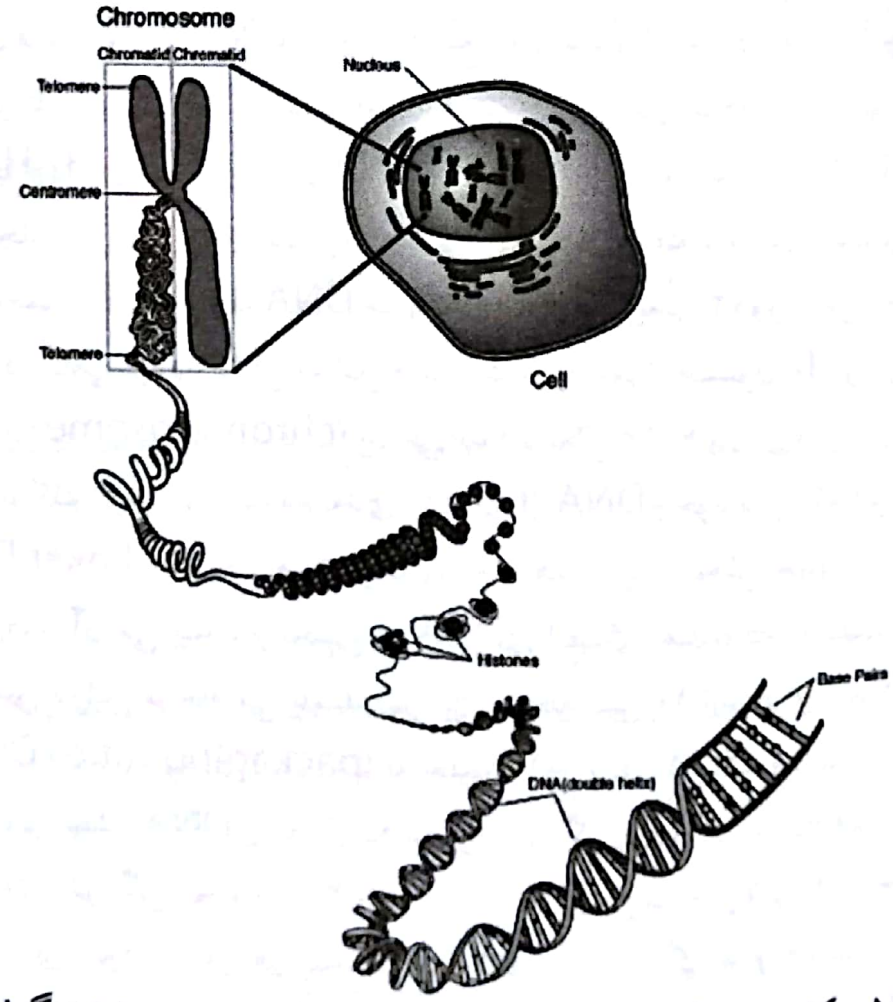
ساختمان ملکول DNA را به ساختمان اول یا primary structure (توالی خطی نوکلئوتیدها)، ساختمان دوم یا secondary structure (مارپیچ دو رشته ای راستگرد) وساختمان سوم وچهارم یا tertiary and quaternary structures (تاخوردگی و بسته بندی شدن DNA به قرار گیری در هسته سلول) تقسیم می کنند.

بر اساس گزارش های علمی مستند، دانشمندان طول ملکول DNA ی هسته یک سلول انسان را بین ۱/۵ تا ۳ متر اعلام کرده اند که بیشتر آنان بر تخمین ۲ متر(۲۲ کروموزوم به همراه کروموزومهای Xو Y در یک سلول دیپلوئید) اتفاق نظر دارند. در هر صورت ملکول DNA، با این درازا می بایست در فضای هسته سلول که قطری بین ۱۱ تا ۲۵/ ۲۲ میکرومتر دارد قرار گیرد. بدین منظور رشته های مارپیچ دو رشته ای DNA روی هم پیچ خوردگی و تاخوردگی هایی پیدا کرده و به نوعی فشرده می شوند. این فشردگی در مراحل مختلف اتفاق افتاده و در نهایت طول DNA به حدود یک ده هزارم طول خود در سلول های در حال تقسیم کاهش می یابد (شکل۱۴-۷). این فشردگی به کمک پروتئین های بازی هیستونی و غیر هیستونی صورت می گیرد که منجر به ایجاد ساختمانی پیچیده به نام کروماتین می شود.

کروماتین در حقیقت شامل ملکول های بسیار بلند مارپیچ دو رشته ای DNA، مقدار قابل ملاحظه ای پروتئین های کوچک بازی به نام هیستون (Histone) (تقریباً برابر با میزان DNA)، کمی از پروتئین های غیر هیستونی و مقدار کمتری RNA می باشد که در سلول هایی که در فاز تقسیم نیستند مشاهده می شود.

Scanned by CamScanner

پروتئین های هیستونی دارای مقدار زیادی اسیدهای آمینه بازی آرژنین و لیزین (حدود یک چهارم کل اسیدهای آمینه) می باشند. این اسیدهای آمینه در pH سلولی دارای بار مثبت هستند. بنابراین هر مولکول هیستون دارای تعداد زیادی بار مثبت می باشد. این بارهای مثبت با بارهای منفی مولکول های فسفات در DNA میانکنش الکترواستاتیک برقرار نموده و امکان تاخوردگی DNA را بر روی خود فراهم میاورد. همه سلول های یوکاریوتی دارای ۵ گروه عمده از هیستونها می باشند که تفاوتشان دروزن ملکولی و ردیف اسیدهای آمینه می باشد. این پروتئین ها شامل هیستون های H_1 , H_2A , H_2B , H_3 , H_4 می باشند. در برخی از مهره داران نوع ششم هیستون، یعنی هیستون H_5 ، جایگزین H_1 می شود. مطالعات میکروسکوپ الکترونی کروماتین نشان می دهد که این ملکول ها به صورت ذرات کروی فشرده ای به نام نوکلئوزوم (nucleosome) وجود دارند. این ذرات دارای قطری حدود ۱۰ نانومتر بوده و مثل دانه های تسبیح توسط رشته DNA بهم متصل می شوند (شکل ۱۵-۷).



شکل ۱۴-۷. نمایش کلی فشردگی DNA از مرحله زنجیره دو رشته ای تا قرارگرفتن به صورت کروموزوم در هسته سلول.

Scanned by CamScanner



شکل ۱۵-۷. تصویر میکروسکوپ الکترونی نوکلئوزوم

پروتئین های غیر هیستونی نیز که بیشتر اسیدی هستند درشت تر از هیستونها بوده و برخی کمک به حفظ ساختمان کروموزوم کرده و برخی بیان ژنهای خاصی را کنترل می کنند.

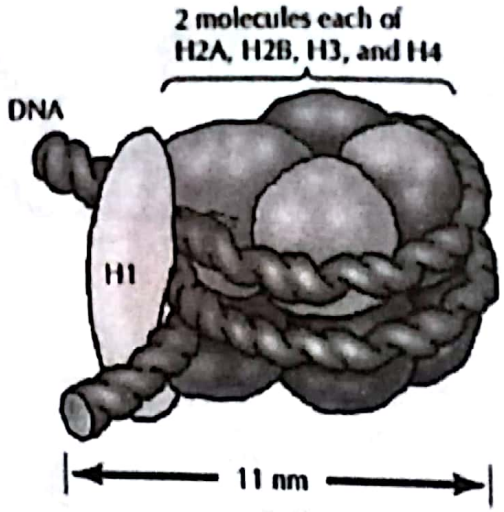
سازمان یافتن کروماتین و کروموزوم

مرحله اول فشرده شدن DNA ، ایجاد مارپیچ دو رشته ای و مرحله بعد ایجاد نوکلئوزوم می باشد. هر نوکلئوزوم بصورت هشت ملکول هیستون شامل دو نسخه از هر کدام از هیستون های H_4, H_3, H_2B, H_2A می باشد. ملکول DNA حدود ۱/۶۵ مرتبه (شامل ۱۴۶ جفت باز) دور هسته مرکزی می پیچد. بر روی این نوکلئوزوم، هیستون H_1 قرار گرفته و مقدار دیگری DNA دور آن می پیچد که مجموعاً تا این مرحله DNA حدود ۱۶۶ جفت بازیعنی ۲ دور کامل، اطراف نوکلئوزوم پیچیده می شود. گاهی از این بخش (شامل هسته اکتامر به همراه هیستون H_1 و دو دور DNA)، به نام کروماتوزوم (chromatosome) یاد می شود (شکل ۱۶-۷).

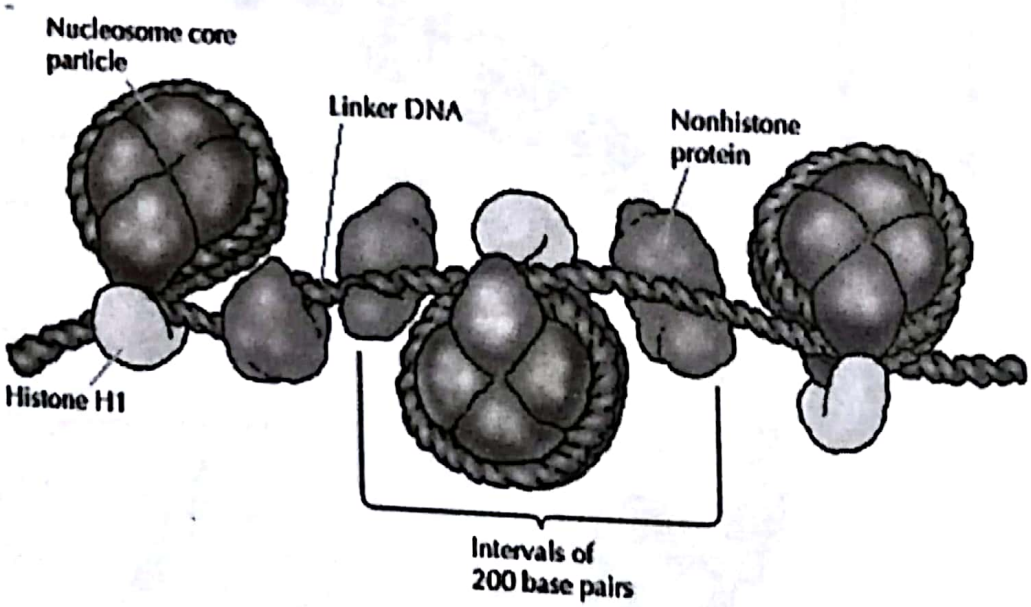
فاصله هر نوکلئوزوم تا نوکلئوزوم بعدی رشته ای از DNA وجود دارد که آنرا DNAی اتصال دهنده (linker DNA) گویند. هسته نوکلئوزوم به همراه یک بخش حدود ۲۰۰ نوکلئوتیدی از DNA که به دور آن می پیچد و بخشی از DNAی اتصال دهنده، در حقیقت واحدهای تکرار شونده کروماتین دراین مرحله می باشند. در این مرحله فیبر ۱۰ نانومتری ایجاد می شود. اینک فشردگی DNA (packaging ratio) به حدود ۷ - ۶ تا ۱۰ مرتبه رسیده است. پروتئین های غیرهیستونی روی بخش DNAی اتصال دهنده قرار می گیرند (شکل ۱۷-۷).

مرحله بعدی فشردگی ایجاد فیبر ۳۰ نانومتری است. دراین ساختار فیبر ۱۰ نانومتری طوری دچار پیچ خوردگی می شود که در هر پیچش ۶ نوکلئوزوم قرار گرفته و ایجاد ساختمان سولنوئید (solenoidal structure) می گردد. میزان فشردگی DNA تا این مرحله را از ۴۰ تا ۱۰۰ برابر عنوان کرده اند.

Scanned by CamScanner



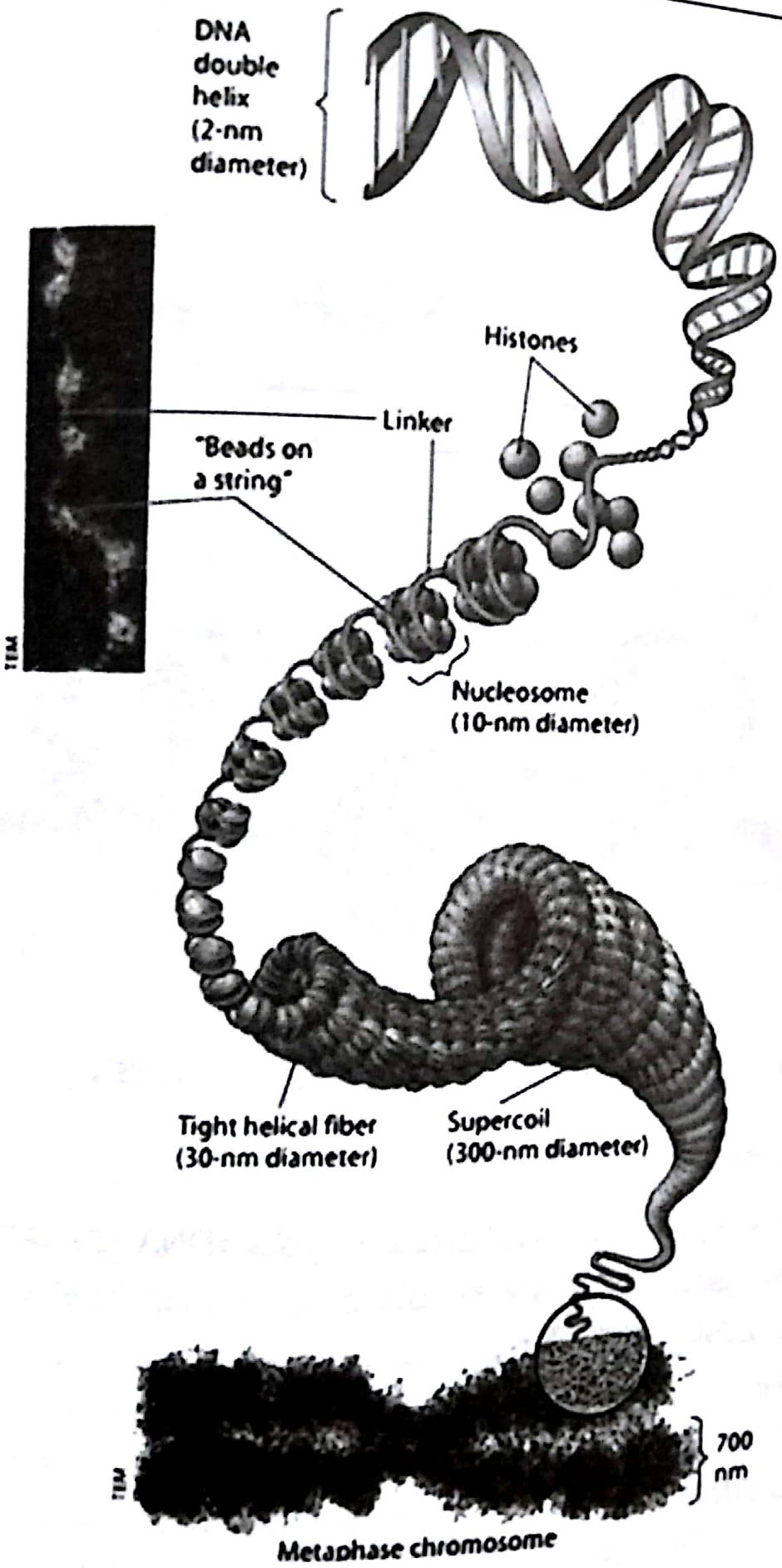
شکل ۱۶-۷. ساختمان کروماتوزوم



شکل ۱۷-۷. نمایش نوکلئوزوم بر روی رشته DNA (فیبر ۱۰ ناتومتری به همراه پروتئین های غیر هیستونی).

مراحل بعدی تا خوردگی DNA تا هنگامی که بصورت کروموزوم درآمده و درجه فشردگی به ده هزار بار می رسد کاملا" شناخته شده نیست. شکل ۱۸-۷ فشرده شدن مولکول DNA ازحالت DNA دو رشته ای تا قرار گرفتن بصورت ساختمان کروماتید را بطور خلاصه با ذکر مراحل مختلف نشان می دهد. ضمناً در نتیجه برخی تغییرات شیمیایی در ساختمان هیستون ها از میزان فشردگیDNA کاسته می گردد. مثلا تغییرات شیمیایی که باعث ازبین رفتن بارهای مثبت هیستون ها می گردند می توانند باعث از بین رفتن جاذبه الکتریکی بین هیستون ها وDNA شده و بنابراین موجب باز شدن ساختار نوکلئوزوم ها وکروماتین گردند(حاشیه۲-۷).

Scanned by CamScanner



شکل ۱۸-۷. خلاصه مراحل فشرده شدن ملکول DNA، تا تشکیل کروماتید.

Scanned by CamScanner

۷-۱۰ DNA حلقوی

DNA ژنوم بیشتر پروکاریوت ها و DNA موجود در میتوکندری حلقوی می باشند. DNA نسبتاً کوتاه و حلقوی میتوکندری حاوی ژن های کد کننده ۲۲ نوع tRNA، ۲نوع rRNA و ۱۳ پروتئین می باشد. این پروتئین ها مربوط به زنجیره تنفسی می باشند. ژن های مربوط به سایر پروتئین های موجود در میتوکندری توسط DNA هسته کد می شوند.

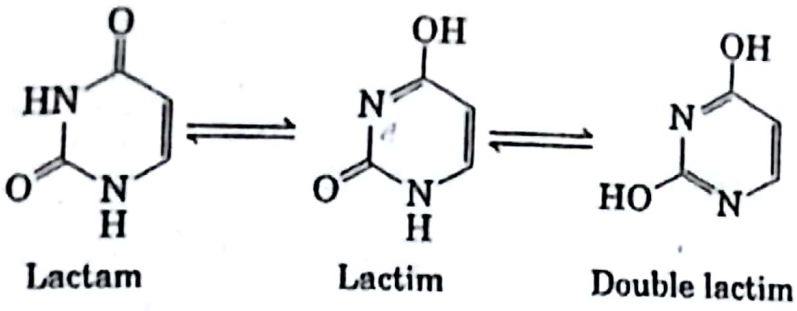
در حاشیه های ۵- ۷ و ۶ - ۷ توضیحاتی درباره چگونگی استفاده از DNA برای تهیه واکسن و کاربرد تشخیصی قطعات DNA در پزشکی و ژنتیک آورده شده است.

۷-۱۱ خواص فیزیکی و شیمیایی بازها ی نیتروژن دار و پلی نوکلئوتیدها

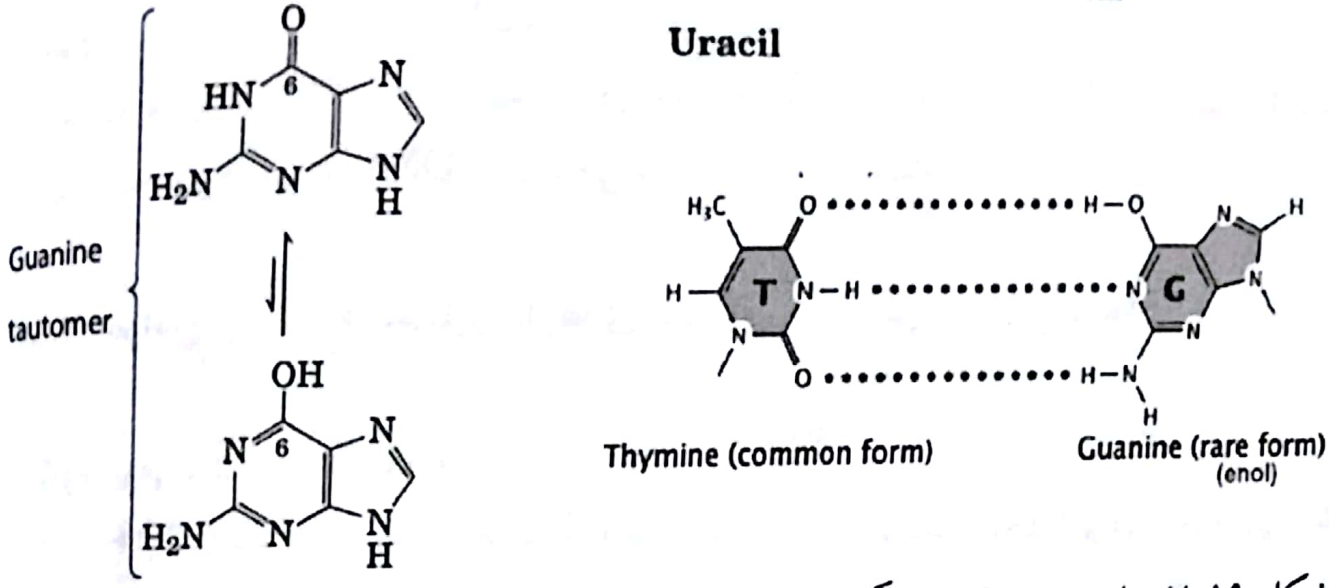
تاتومریزم (tautomerism)

تاتومرها ایزومرهای یک ملکول هستند که تفاوتشان تنها در موقعیت یک اتم هیدروژن می باشد. بازهای پورینی و پیریمیدینی بعلت قابلیت تبدیل حالات ایزومری کتنی به انولی و بالعکس می توانند مثلا واکنش تا تومریزم انول- کتو (keto-enol tautomerism) انجام داده و بسته به pH، به فرم های انول یا لاکتیم (lactim) وکتو یا لاکتام (lactam) وجود داشته باشند (شکل ۱۹-۷). فرم های انول و کتو با یکدیگر در حال تعادل بوده و جهت پیشرفت تعادل بستگی به عواملی مانند pH، درجه حرارت و حلال دارد. در pH وشرایط فیزیولوژیک، فرم کتنی، فرم ایزومری غالب خصوصاً در مورد بازهای گوانین و تیمین می باشد. اهمیت این فرم های ایزومری، بویژه، درتوانایی بازها درایجاد پیوند هیدروژنی بین بازهای مقابل در زنجیره های DNA آشکار می گردد. مثلا گوانین در فرم غالب کتو با سیتوزین، ولی در فرم نادر انول با تیمین سه پیوند هیدروژنی برقرار می نماید. بروز این پدیده نادر در هنگام همانند سازی DNA می تواند منجر به جهش گردد.

Scanned by CamScanner



Uracil



شکل ۱۹-۷. تاتومریزم بازهای گوانین و یوراسیل و تبدیل فرم های کتنی و انولی به یکدیگر.

حلالیت

پورین ها و پیریمیدین ها ترکیباتی هیدروفوبیک بوده و در pH های نزدیک به خنثی سلولی حلالیت آنها در آب ناچیز می باشد . اما بعلت آبدوستی (hydrophilicity) قندها، نوکلئوزیدها از بازهای نیتروژن دار متصل به آنها محلول ترند. هم چنین نوکلئوتیدها بعلت افزوده شدن گروه فسفات نسبت به نوکلئوزیدها حلالیت بیشتری دارند. نوکلئوزیدها در pH فیزیولوژیک خنثی بوده و تنها در pH های بسیار پایین یا بسیار بالا باردار می شوند. اما نوکلئوتیدها دارای بار منفی می باشند که زمینه مناسبی را برای ایجاد میانکنش های الکتروستاتیک با پروتئین های دارای بار مثبت و یون های فلزی فراهم می کند.

تشکیل دیمر پیریمیدین (Pyrimidine dimmer formation)

انرژی شیمیایی اشعه ماوراء بنفش، در برخورد با دوباز پیریمیدین مجاور هم، باعث ایجاد دو پیوند کووالانسی بین آن دو و تشکیل دیمرپیریمیدینی می گردد. دیمر پیریمیدینی باعث ایجاد ناهنجاری در ساختمان DNA و اختلال در پیشرفت جریان همانند سازی آن می گردد. مکانیسم های ترمیمی جهت شکستن پیوندهای کووالانسی بین دو پیریمیدین در سلول ها وجود دارند.

Scanned by CamScanner

متیله شدن بازهای آلی

آنزیم های DNA متیل ترانسفراز (DNA methyltransferases) واکنش اضافه شدن گروه متیل به کربن شماره ۵ سیتوزین و یا به نیتروژن شماره ۶ آدنین را کاتالیز می نمایند. در ژنوم پستانداران حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد مولکول های سیتوزین در توالی های دی نوکلئوتیدی CpG متیله هستند. این توالی های CpG به تعداد زیاد در داخل و یا نزدیک پروموتر بسیاری از ژن های پستانداران تکرار می شوند. در مورد ژن هایی که از نظر نسخه برداری خاموش هستند، بسیاری از این CpG ها در مولکول سیتوزین متیله هستند و بالعکس CpG ها در پروموتور ژنهای فعال بسیار کمتر متیله می باشند. بنابراین به نظر می رسد که متیله شدن CpG ها نقش مهمی در کنترل بیان ژن ها در دوران تکامل جنینی و دوران بلوغ دارد. شواهد زیادی نشان می دهند که متیله شدن CpG ها در پروموتر ژن های سرکوب گر سرطان (Tumor suppressor genes) باعث خاموش شدن این ژن ها و بروز سرطان می گردد (حاشیه ۱-۷).

دآمیناسیون خود به خود (Spontaneous deamination)

برخی بازهای نیتروژن دار در واکنش های غیر آنزیمی عامل آمین خود را به صورت یون آمونیم از دست می دهند. در نتیجه ی این واکنش ها سیتوزین به یوراسیل و گوانین به زانتین (xanthine) تبدیل می شوند. زانتین باز پورینی است که با تیمین زوج می شود. از انجام واکنش دآمیناسیون بر آدنین، هیپوزانتین (Hypoxanthin) حاصل می گردد. هیپوزانتین با سیتوزین زوج می شود. نوکلئوزید هیپوزانتین اینوزین نام دارد. بازهایی که در نتیجه دآمیناسیون تغییر ماهیت می دهند توسط مکانیسم های ترمیمی خاص مجددا" به حالت اولیه باز گردانده می شوند تا از بروز جهش به هنگام تقسیم سلولی جلوگیری گردد.

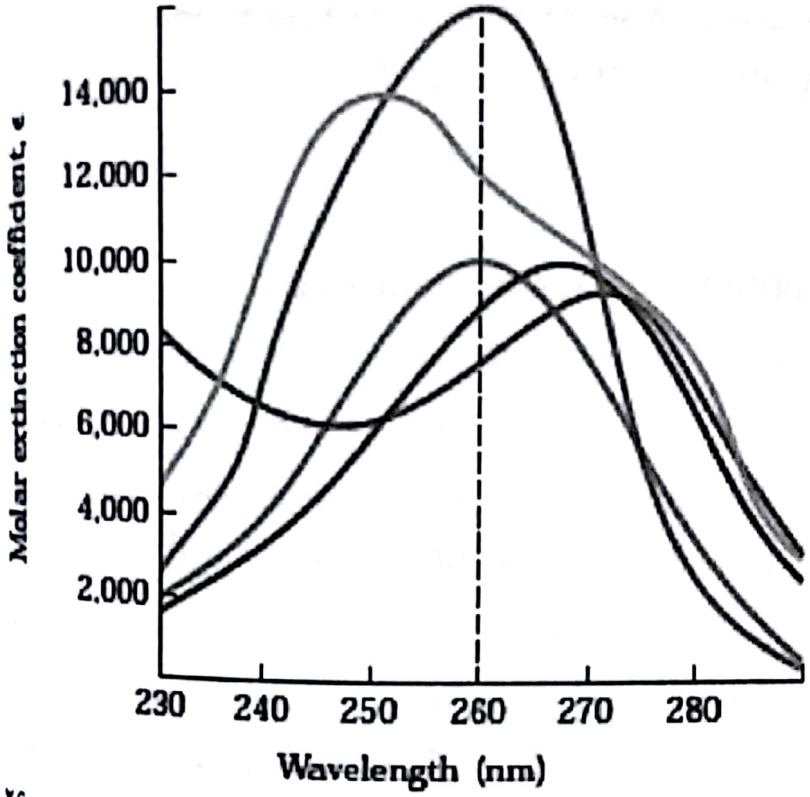
جذب نور ماوراء بنفش

ملکول های حاوی بازهای پورین و پیریمیدین بعلت دارا بودن حالت رزونانس به شدت اشعه ماوراء بنفش را جذب می کنند. حداکثر جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر وجود دارد. از آنجا که پروتئین ها و دیگر اجزاء سلولی بطور معمول جذب بالایی در این طول موج ندارند، جذب در ۲۶۰ نانومتر می تواند روش مناسبی برای تشخیص وجود آنها در یک نمونه و حتی اندازه گیری کمی اسیدهای نوکلئیک (DNA, RNA) باشد (شکل ۲۰-۷).

Scanned by CamScanner

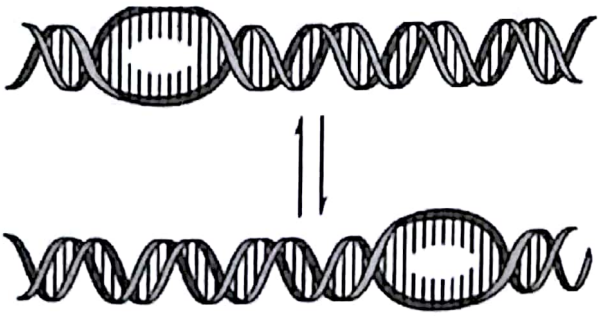
۷-۱۲ دناتوره و رناتوره شدن (Denaturation and Renaturation)

مارپیچ دو رشته ای DNA تقریباً در تمامی فرایندهای بیولوژیکی مهم که DNA شرکت می کند (مانند همانند سازی DNA، رونویسی، تعمیر و نوترکیبی) در هم ریخته می شود. انرژی که مارپیچ را بصورت دو رشته ای مقابل هم نگه میدارد حدود یک کیلوکالری بازاء هر جفت باز است، بنابراین بعضی عوامل درهم ریزنده مانند برخی آنزیم ها می توانند به راحتی یک گسستگی موضعی در یک قسمت DNA ایجاد نمایند. اما جفت شدن باز می تواند با رها سازی انرژی، دوباره حاصل شود. حالت باز و بسته شدن دوباره مارپیچ دورشته ای می تواند در طول زنجیره مهاجرت کند. این توانایی DNA برای عملکرد زیستی آن بسیار ضروری است (شکل ۲۱-۷).



Molar extinction coefficient at 260 nm, ϵ_{260} ($M^{-1}cm^{-1}$)	
— AMP	15,400
— GMP	11,700
— UMP	9,900
— dTMP	9,200
— CMP	7,500

شکل ۲۰-۷. طیف جذبی نوکلئوتیدها (نمودار سمت چپ) و ضریب جذب مولی آنها در طول موج ۲۶۰ نانومتر و pH = ۷ (جدول سمت راست). ضریب جذب مولی شاخص توانایی مولکول در جذب یک طول موج خاص می باشد.



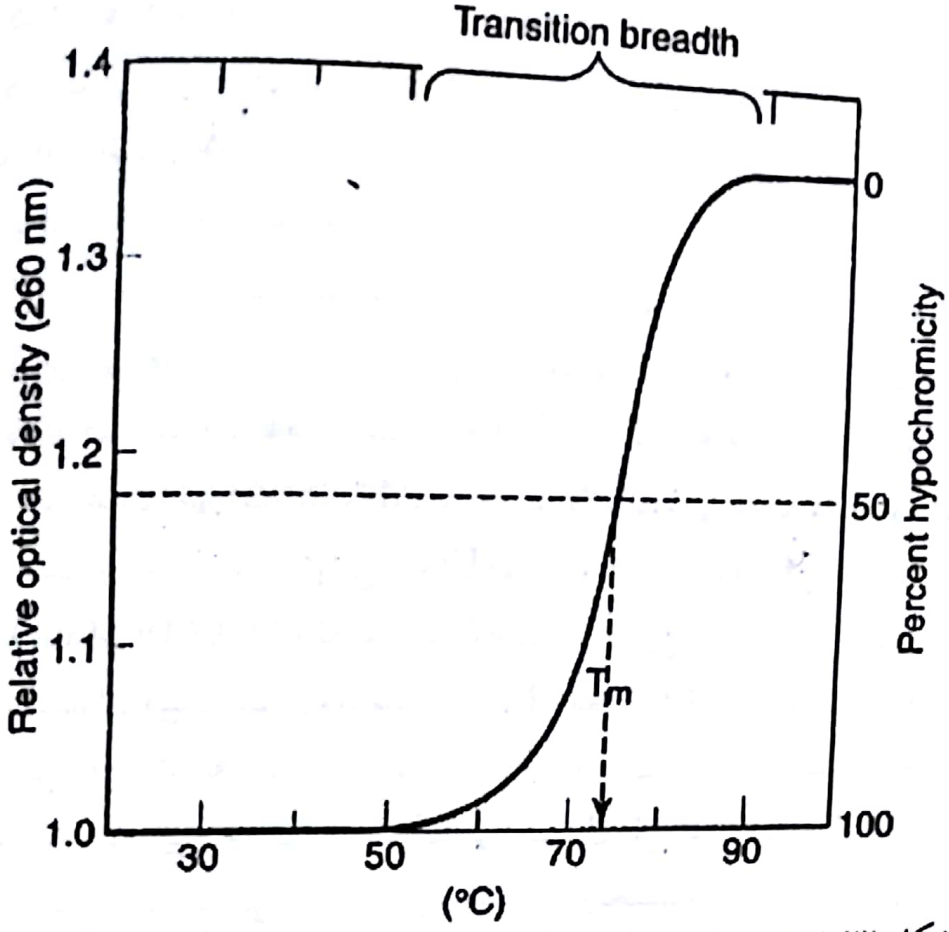
شکل ۲۱-۷. مهاجرت ناحیه باز شده زنجیره ها در طول DNAی مارپیچ دو رشته ای.

Scanned by CamScanner

جداسازی دو رشته DNA می تواند توسط عوامل محیطی مانند افزایش درجه حرارت نیز صورت گیرد. در صورتی که افزایش دما زیاد باشد دو رشته DNA کاملاً از هم باز می شوند (denaturation or melting). باز شدن دو رشته از هم با چندین تغییر فیزیکی در محلول های حاوی DNA همراه است، از جمله تغییر در ناروانی یا گرانروی (viscosity)، تغییر در توانایی چرخش نور پلاریزه و تغییر در جذب نور ماوراء بنفش (طول موج ۲۶۰ نانومتر). معمولاً جذب نور ماوراء بنفش برای بررسی فرایند واسرشتی در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می گیرد. واسرشتی و جدا شدن دو رشته از هم همراه با کاهش نظم در قرار گرفتن منظم صفحات حلقه ای بازها به روی هم و اختلال در پشته شدن آنها (stacking) می باشد. لازم به ذکر است که وجود نظم و حالت پشته بازهای آلی سبب می شود جذب نهایی DNA دو رشته ای تا حدود ۴۰٪ نسبت به حالت نامنظم و غیر پشته (unstacked) DNA تک رشته کاهش یابد. این کاهش در (ضریب جذب مولی) تحت عنوان هیپوکروموسیتی (hypochromocity) شناخته می شود. به عبارت دیگر افزایش حرارت که با باز شدن دو رشته همراه است جذب در طول موج ۲۶۰ نانومتر را افزایش می دهد. در این حالت جذب کلی ملکول پلی نوکلئوتید برابر با مجموعه جذب بازهای پورینی و پیریمیدینی می باشد. باز شدن دو زنجیره مارپیچ از هم که با افزایش جذب نوری همراه است را hyperchromism می گویند.

بنابراین اگر درجه حرارت به آرامی بالا برده شود می توان با اندازه گیری جذب نوری DNA، در طول موج ۲۶۰ نانومتر، فرایند واسرشتی را مشاهده کرد. در آزمایش های واسرشتی حرارتی که با کمک اسپکتروسکوپی جذبی بررسی می شود، با افزایش درجه حرارت جذب نوری ابتدا به آهستگی افزایش می یابد، سپس ناگهان بالا رفته تا به جذب ماکزیمم برسد. درجه حرارتی را که در آن میزان جذب نوری DNA دو رشته ای ۵۰٪ افزایش میابد نقطه ذوب DNA (melting temperature , Tm) می نامند. در این درجه حرارت، وضعیت دو رشته ای DNA به میزان ۵۰٪ دناتوره شده و به تک رشته تبدیل شده است (شکل ۲۲-۷). هر چه محتوای جفت G ≡ C ملکول DNA بیشتر باشد Tm بالاتری دارد.

Scanned by CamScanner



شکل ۲۲-۷. نمودار تغییرات جذب نوری (Optical Density)ملکول DNA.

همچنین ملکول DNA در اثر تغییرات pH واسرشت می شود. pH های بالاتر از ۱۱/۳ با دپروتونه کردن گروه های N-H، از شرکت آنها درپیوندهای هیدروژنی جلوگیری می کند. از واسرشتی در pH قلیایی معمولاً مواقعی استفاده می شود که لازم است از آسیب رسیدن به DNA (که درشرایط حرارت بالا یا pH پایین اتفاق می افتد) جلوگیری شود. واسرشتی همچنین توسط عوامل واسرشت کننده مختلف (مانند اوره که می تواند با بازها ایجاد پیوند هیدروژنی داده و نظم داخل ملکولی را بهم بریزد) نیزحاصل می گردد.

زنجیره های DNAی مکمل هم، که با واسرشتی از هم جدا شده اند، می توانند تحت شرایط مناسب مثلاً حذف عامل واسرشت کننده، مجدداً تشکیل مارپیچ دو رشته ای بدهند. این فرایند باز سرشتی (renaturation or reannealing) نامیده می شود. هرگاه واسرشتی کامل انجام نشده و چند باز هسته ای همچنان با پیوند هیدروژنی بهم متصل مانده باشند بازگشت یا باز سرشتی به سرعت انجام خواهد شد. اما اگر دو زنجیره بطورکامل از هم جدا شده باشند، باز سرشتی بکندی صورت می گیرد (شکل۲۳-۷). زیرا با جدا شدن دو رشته و دور شدن تک رشته ها از هم غلظت آنها در محیط کاهش میابد. پس از اتصال دو رشته بوسیله چهار تا پنج جفت باز، بعنوان هسته اولیه (nucleation site) فرآیند باز سرشتی بصورت همیاری (cooperative) پیش می رود.

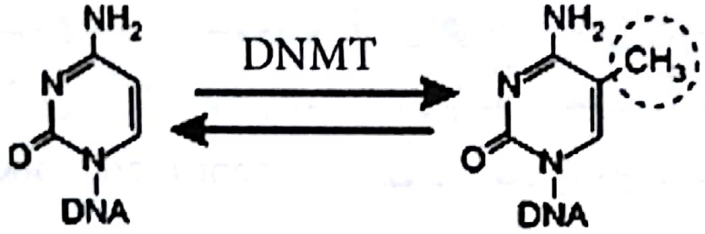
Scanned by CamScanner

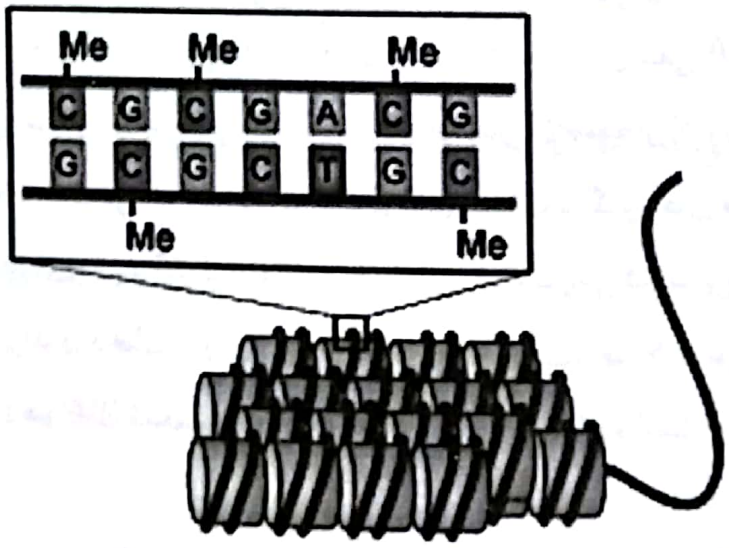
حاشیه ۱-۷ تغییرات اپی ژنتیک

تغییرات اپی ژنتیک به تغییرات شیمیایی DNA و کروماتین گفته می شود که بدون عوض شدن توالی نوکلئوتیدها موجب تغییر در بیان ژن ها می گردند. این تغییرات شامل تغییر در متیلاسیون DNA و ساختار شیمیایی هیستون می باشند.

متیلاسیون DNA

متیلاسیون DNA بصورت متیله شدن موقعیت کربن شماره ۵ باز آلی سیتوزین، در موقعیت هایی از DNA که بازآلی C و G کناریکدیگر بصورت CpG قرار داشته باشند، انجام می گیرد. اضافه شدن متیل به کربن شماره ۵ سیتوزین توسط آنزیم های DNA methyl transferases (DNMT)در سلول انجام می گیرد.



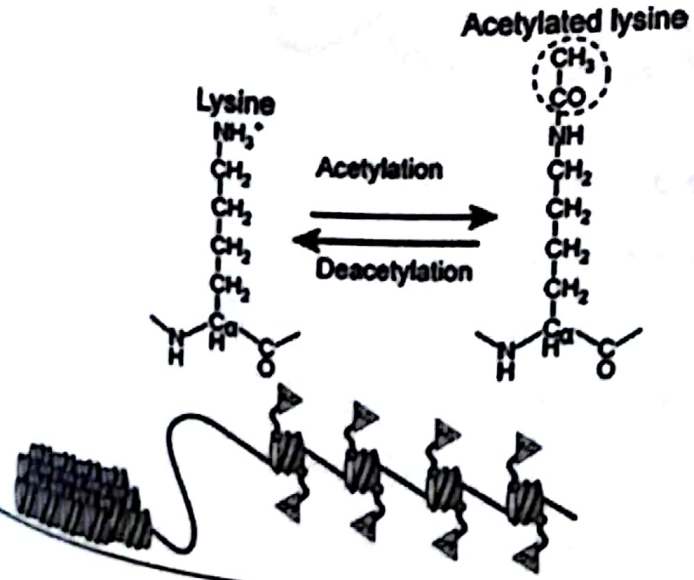


نواحی غنی از زوج نوکلئوتید CpG بیشتر در پروموتور ژن ها متمرکز بوده و از آن بعنوان جزایر CpG یا(CpG island) نام برده می شود. متیلاسیون سیتوزین در جزایر CpG معمولاً موجب توقف رونویسی و بیان ژن های مربوطه می شود. بنابراین متیلاسیون سیتوزین در محل پروموتور نقش کنترلی در تنظیم بیان ژن ها دارد. متیلاسیون نابجای پروموتور ژن ها منجر به بیماری های مختلف می شود. برای مثال غیر فعال شدن ژن های موسوم به ژن های سرکوب کننده تومور (Tumor suppressor genes) با متیلاسیون پروموتور این ژن ها به فراوانی در انواع سرطان ها دیده می شود.

Scanned by CamScanner

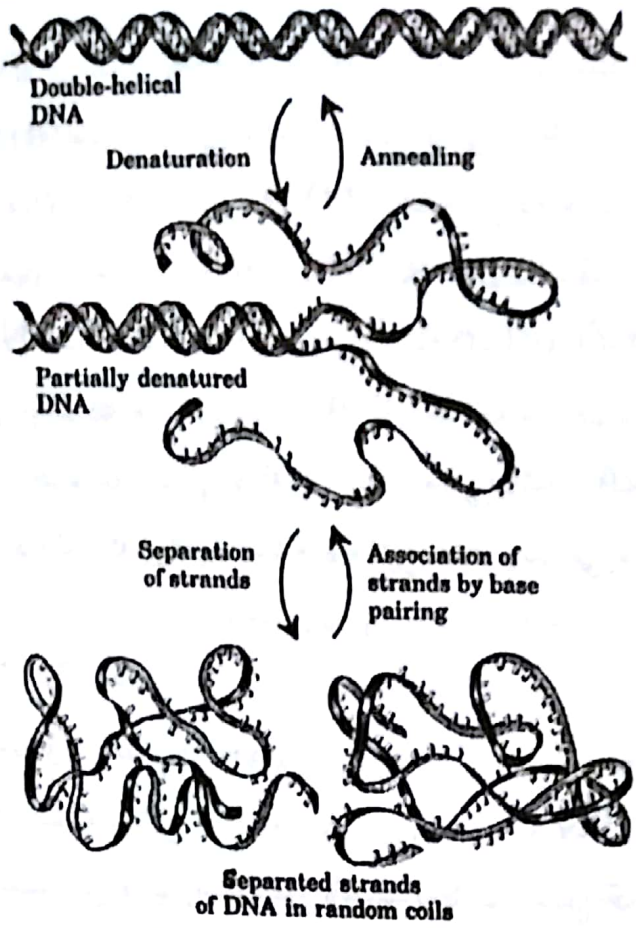
حاشیه ۲-۷ باز آرایی کروماتین (Chromatin remodeling)

نیروهای جاذبه که بین بارهای مثبت هیستون ها و بارهای منفی فسفات های اسکلت DNA و جود دارند، نقشی اساسی در پیچیده شدن DNA در اطراف هیستون ها و تشکیل نوکلئوزوم ها و سایر ساختارهای فشرده DNA ایفا می نمایند. میزان فشردگی DNA در نواحی خاصی از کروماتین کم است. این نواحی یوکروماتین (Euchromatin) نام دارند. ژن هایی که در نواحی یوکروماتین واقع می شوند معمولاً فعال بوده و از روی آنها رونویسی انجام می پذیرد. اما درنواحی دیگر کروماتین میزان فشردگی DNA بیشتر می باشد. به این نواحی هتروکروماتین (Heterochromatin) گفته می شود. ژن های موجود در هتروکروماتین خاموش بوده و از نظر رونویسی غیر فعال می باشند. نوع و ماهیت هر سلول بستگی به نوع ژن هایی دارد که در آن سلول در نواحی یوکرماتین و یا هتروکرماتین قرار می گیرند. همچنین در شرایط مختلف یک سلول، ممکن است موقعیت برخی ژن ها از وضعیت یوکروماتین به هتروکرماتین و بالعکس تغییر نماید. به تغییر وضعیت کروماتین در طرح قرار گرفتن ژن ها در یوکروماتین و یاهتروکرماتین در یک سلول باز آرایی کروماتین (Chromatin remodeling) گفته می شود. بدین ترتیب باز آرایی کروماتین نوعی اعمال کنترل بر بیان و فعالیت ژن ها می باشد. تغییر شیمیایی در ساختمان هیستون ها (Histone modifications) از مهم ترین مکانیزم های شناخته شده ای است که باعث باز آرایی کروماتین می شوند. مثلا با اتصال عوامل استیل به زنجیره های جانبی اسیدهای آمینه آرژنین و لیزین در هیستون ها، بار مثبت این اسیدهای آمینه از بین رفته و اتصال هیستون ها به بارهای منفی DNA سست شده و از میزان پیچیدگی DNA کاسته می گردد. در این صورت ژن های موجود در آن ناحیه از کروماتین در معرض و دسترس ماشین رونویسی قرار گرفته و فعال می شوند. اتصال ملکول های فسفات و گروه های متیل به هیستون ها از دیگر تغییرات شیمیایی شناخته شده ای هستند که باعث ایجاد باز آرایی کرماتین می شوند. پروتئین ها و آنزیم های ویژه ای در انجام تغییرات شیمیایی فوق دخالت دارند. بروز ناهنجاری و اختلال در عملکرد این پروتئین ها و آنزیم ها می تواند منجر به فعال شدن و یا غیر فعال شدن بیان ژن ها به صورت نابجا گردیده و باعث بروز بیماری از جمله سرطان شود.



واکنش اضافه شدن عوامل استیل (AC) به اسیدهای آمینه (Cα) در هیستون ها و در نتیجه کاسته شدن از میزان فشردگی DNA در شکل روبرو نشان داده شده است.

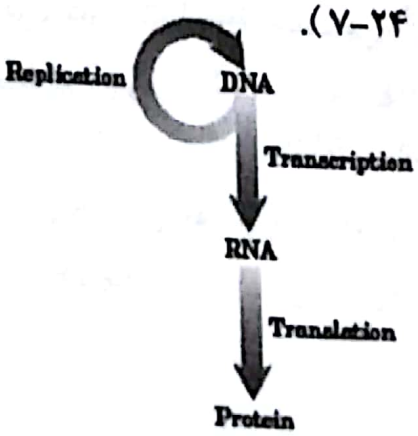
Scanned by CamScanner



شکل ۲۳-۷. واسرشتی و باز سرشتی قابل برگشت ملکول DNA.

۷-۱۳ اطلاعات ژنتیکی از DNA به RNA و سپس به پروتئین انتقال می یابد.

نظریه جریان اطلاعات ژنتیکی اولین بار توسط کریک در سال ۱۹۵۸ مطرح گردید. براساس این نظریه، DNA اطلاعات ژنتیکی تعیین کننده توالی RNA را که تعیین کننده توالی پروتئین است، در خود نگه می دارد و در نهایت مجموعه پروتئین های سازنده یک سلول است که خواص بیوشیمیایی و ساختمانی سلول را تعیین می کند. به این ترتیب، اطلاعات مستقیماً نمی توانند از DNA به پروتئین انتقال یابند (شکل ۲۴-۷).



شکل ۲۴-۷. اصل مرکزی انتقال اطلاعات ژنتیکی در بیولوژی ملکولی.

Scanned by CamScanner

انتقال اطلاعات ژنتیکی از DNA به RNA، بوسیله فرایند بیان ژن یا رونویسی (transcription)، صورت می پذیرد. فقط توالی RNA می تواند به توالی پروتئین (در ریبوزوم) ترجمه شود (translation). DNA همچنین در وراثت نقش اساسی دارد. زیرا به عنوان الگو برای همانند سازی خودش (replication) مورد استفاده قرار می گیرد. اطلاعات ژنتیکی در ویروس ها از RNA به DNA نیز انتقال می یابد (reverse transcription). در این حالت RNA بعنوان الگو قرار گرفته و از روی آن DNA ساخته می شود.

ملکول RNA، همچنین جزء ساختمانی و فعال ریبوزوم می باشد. DNA و RNA با پروتئین ها بگونه ای نزدیک میانکنش دارند که پیشنهاد شده پروتئین ها هم بنوعی می توانند اطلاعات وراثتی را در خود ذخیره نمایند.

۱۴-۷ مولکول RNA بصورت پلی مر خطی از ریبونوکلئوزید منوفسفات ها می باشد.

همانطور که قبلاً ذکر شد (بخش ۲-۷) بازهای پورین در RNA از نوع آدنین و گوانین و بازهای پیریمیدین از نوع سیتوزین و یوراسیل می باشند. بجز یوراسیل که جایگزین تیمین می شود سایر بازها همانند بازها درساختمان DNA می باشند. ضمناً در ساختمان RNA قند ریبوز به جای داکسی ریبوز وجود دارد. بسیاری از RNA ها (مانند rRNA و tRNA) دارای نوکلئوتیدهای تغییر یافته (modified) نیز می باشند و برخی نوکلئوتیدهای متیله شده درmRNA های یوکاریوتی نیز وجود دارند.

اتصال نوکلئوتیدهادرملکول های RNA مانند DNA از نوع فسفودی استر (5', 3' - phosphodiester bond) می باشد. طول RNA های یوکاریوتی از تقریباً ۲۰ نوکلئوتید تا ۲۰۰,۰۰۰ نوکلئوتید متفاوت است.

RNAی سلولی، غالباً خطی (linear) و تک زنجیره ای است، اما انواع RNA ی دو رشته ای در ژنوم برخی از ویروس ها وجود دارد. از لحاظ شیمیایی RNA شبیه DNA است و در هر دو ملکول بارهای منفی متعلق به فسفات وجود دارند.

Scanned by CamScanner

بازها از لحاظ شیمیایی بسیار بهم شبیه می باشند و تفاوت شیمیایی RNA و DNA عمدتاً ناشی از عواملی از جمله وجود گروه هیدروکسیل ۲′(2′ - hydroxyl group)در قند ریبوز است که باعث می شود پیوند فسفودی استر درملکول RNA ، بویژه در محلول های قلیایی، به هیدرولیزهای شیمیایی حساس باشد. این ناپایداری شیمیایی RNA درناپایداری متابولیکی آن انعکاس می یابد. برخی از RNA ها مانند mRNA ی باکتریایی در عرض چند ثانیه ساخته شده، مورداستفاده قرار گرفته و از بین می روند. بقیه مانند rRNA ی انسانی از لحاظ متابولیکی پایدارترند و طول عمرشان به چند روز می رسد. اما حتی پایدارترین RNA هـا از DNA ناپایدارترند.

ملکول RNA نیز دارای ساختمان دوم می باشد.

ملکول RNA ، معمولاً مارپیچ دوتایی به مقدار زیاد ایجاد نمی کند. بلکه ساختمان دوم ملکول RNA از جفت شدن بازها درنواحی نسبتاً محدودی درون یک رشته RNA که در آن نواحی توالی نوکلئوتیدها مکمل یکدیگر هستند، ایجاد می شود. نواحی دو رشته ای مارپیچی شبیه حلقه - بازو (stem-loop) و یا سنجاق سر (hairpin) هستند. چنین ساختمان هایی در tRNA مشاهده می شود. پیوندهای هیدروژنی و پشته شدن بازها (base stacking) باعث پایداری این ساختمان ها می شوند.

ساختمان سوم RNA بوسیله پیوندهای هیدروژنی و هیدروفوب پایدار می گردد.

ساختمان RNA های فعال پیچیده تر از یک مارپیچ دوتایی ساده است. خصوصاً ، بازهای واقع درنواحی جفت نشده (مثل محل لوپها) می توانند باهم یا با نواحی دیگر در داخل ملکول پیوند هیدروژنی بر قرار کنند. درون سلول، ملکول های RNA حالت دینامیک دارند و می توانند ساختمان سه بعدی خود را هنگامی که در حال ساخته شدن هستند، هنگامی که جریان پردازش (processing) بر روی مولکول نوساز آنها در حال انجام است و همچنین هنگام فعالیت (function) تغییر دهند. پروتئین های همراه RNA سبب پایدار شدن آنها می شوند. در واقع RNA های سلولی بیشتر بصورت کمپلکس RNA - پروتئین فعالیت می کنند. ساختمان سوم ملکول های RNA حاصل پیوندهای هیدروژنی و پشته شدن بازها بین مناطق مختلف ملکول می باشد. بعنوان مثال ملکول tRNA در محلول ها، تاخورده و بصورت ساختمان سه بعدی فشـرده L- شکل در می آید.

Scanned by CamScanner

۱۵-۷ ملکول های RNA دارای انواع ناقل (tRNA)، ریبوزومی (rRNA) و پیامبر (mRNA) می باشند.

ملکول های RNA بر اساس عملکردشان در سلول ها به سه نوع عمده ی ناقل، ریبوزومی و پیامبر دسته بندی می شوند. اما ملکولهای RNA عملکردهای مختلف دیگری نیز در سلول ها به عهده دارند. نقش عمده RNA انتقال اطلاعات محصور در هسته سلول به سیتوپلاسم است که بصورت پروتئین ترجمه می شوند. تحقیقی که جهت تعیین نسبت درصد سه نوع کلی RNA در سلول انجام گرفته نشان میدهد که ۱۶٪ tRNA، ۲٪ mRNA و ۸۲٪ rRNA از کل RNA موجود در سلول Ecoli را به خود اختصاص می دهند. این نسبت ممکن است در سلول های دیگر متفاوت باشد اما روند کلی نسبت ها یکسان می باشد.

RNA ی ناقل (Transfer RNA = tRNA)

در حقیقت اطلاعات موجود در DNA از طریق mRNA به سیتوپلاسم انتقال می یابد، سپس این اطلاعات از طریق tRNA برای تولید پروتئین مورد استفاده قرار می گیرد. واکنش آنزیمی تشکیل آمینواسیل tRNA– (aminoacyl-tRNA)، آمینواسید را برای سنتز پروتئین فعال می کند. آمینواسیل tRNA روی ریبوزوم، یعنی جایی که اسیدهای آمینه به زنجیره پپتیدی در حال رشد اضافه می شوند متصل می گردد. tRNA ها اطلاعات توالی نوکلئوتیدی موجود در mRNA را تشخیص داده واسید آمینه مناسب را به زنجیره پپتیدی در حال رشد اضافه می کنند. هراسید آمینه با واکنش آنزیمی، به عامل OH ناحیه ′۳ انتهایی tRNA متصل می شود. تشخیص و شناسایی کدون (codon) یعنی توالی سه تایی نوکلئوتیدی روی mRNA برای هراسید آمینه خاص بوسیله tRNA مخصوص آن اسید آمینه انجام شده و آنتی کدون یعنی توالی سه تایی نوکلئوتیدی روی tRNA با کدون جفت می گردد. جفت شدن باز کدون های mRNA و آنتی کدون tRNA مکانیسم اصلی برای تضمین ایجاد پپتید صحیح می باشد.

Scanned by CamScanner

هر tRNA تنها می تواند یک اسید آمینه خاص خود را انتقال دهد. اگر چه تنها ۲۰ اسید آمینه در سنتز پروتئین ها مورد استفاده قرار می گیرد، اما تعداد بیشتری tRNA در سلولهای موجودات زنده ساخته می شود یعنی هر اسید آمینه بیش از یک کدژنتیکی دارد. tRNA ها حدود ۱۱۰ - ۶۵ نوکلئوتید طول دارند. معمولاً در ساختمان tRNA حدود ۷ تا ۱۵ درصد بازهای نادر و تغییر یافته وجود دارد. tRNA ها همچنین در ابتدا بصورت پیش ساز (precursor) ساخته شده و سپس با برداشته شدن قطعات پلی نوکلئوتیدی اینترون از وسط آن، فرم پردازش شده نهایی (mature tRNA) حاصل می گردد. توالی نوکلئوتیدی ملکولهای tRNA (ساختمان اول) با هم متفاوتند اما همگی دارای ساختمان دوم به شکل برگ شبدر (clover leaf) هستند که با جفت شدن باز از نوع واتسون - کریک ایجاد چهار بازو (stem) و سه لوپ (loop) می کنند. بنابراین در ملکول tRNA بیشترین تعداد جفت شدن باز درون رشته ای وجود دارد.

در ساختمان برگ شبدری tRNA چهار قسمت زیر قابل تشخیص است(شکل ۲۵ - ۷ الف):

۱- بازوی دریافت کننده یا acceptor stem : که دارای هفت جفت باز می باشد. در قسمت انتهای ′۵ آن فسفات وجود دارد و قسمت ′۳ انتهایی آن به CCA – OH ختم می گردد که جایگاه پذیرنده اسید آمینه است.

۲- بازوی D (D stem- loop) : سه یا چهار جفت باز دارد.علت نامگذاری این بازو وجود باز تغییر یافته ی دی هیدرویوراسیل (Dihydrouracil) در بین بازهای این لوپ می باشد (شکل ۲۶ - ۷ ب).

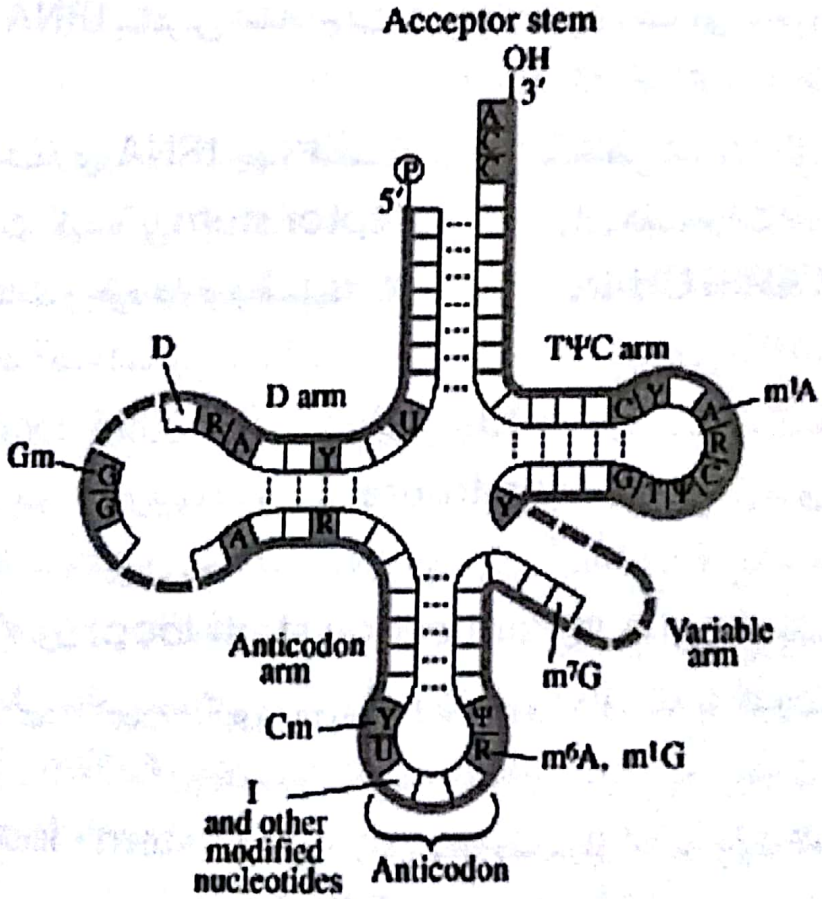
۳- بازوی آنتی کدون (anticodon stem-loop) : که دارای پنج جفت باز است. در محل لوپ آنتی کدون توالی خاص سه تایی (آنتی کدون) وجود دارد که با کدون های روی mRNA جفت می شوند.

۴- بازوی T (T stem - loop) : نیز دارای پنج جفت باز است. علت نامگذاری لوپ T (نام دیگر: تی - سای - سی لوپ = TΨC loop) وجود دو نوکلئوتید نادر در این ناحیه می باشد. یکی ریبوتیمیدین (T = ribothymidine) که یک حالت استثنائی است که باز تیمین در ساختمان RNA وارد شده و به قند ریبوز اتصال یافته است و دیگری سودویوریدین (Ψ=pseudouridine) که در آن بجای اینکه پیوند بین کربن شماره ۱ قند با نیتروژن شماره ۱ باز باشد، بین کربن شماره ۱ قند با کربن شماره ۵ باز برقرار شده است(شکل۲۵-۷ب).

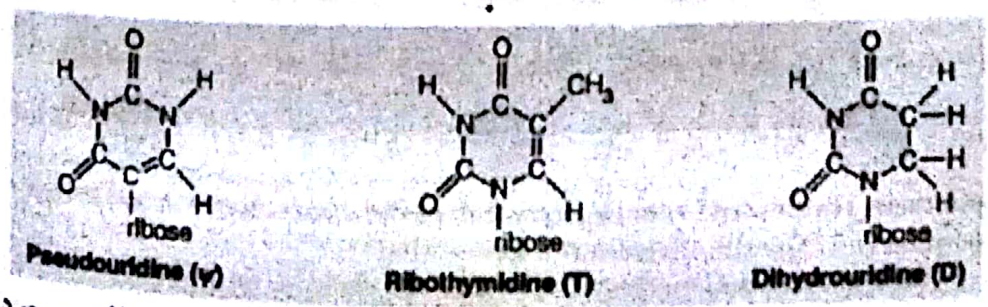
Scanned by CamScanner

در ساختمان tRNA بازوی دیگری بین بازوی TΨC و بازوی آنتی کدون وجود دارد که بازوی متغیر (variable arm/ loop) نامیده می شود. طول این قسمت درملکول های مختلف بین ۳ تا ۲۱ نوکلئوتید متفاوت است. پیوندهای هیدروژنی اضافی (غیر از واتسون - کریک) بین بخش های مختلف ملکول و تاخوردن آن روی هم ایجاد ساختمان سوم یا L- شکل را می کند (شکل ۲۶-۷). هرملکول tRNA ممکن است بیش از یک کدون را شناسایی کند. وقتی چندین کدون برای یک اسید آمینه وجود دارد، تفاوت معمولاً در نوکلئوتید سوم کدون (انتهای ۳′) آنها می باشد. برای مثال هر چهار کدون CCG, CCC, CCU, CCA اسید آمینه پرولین رامشخص می کنند.

الف



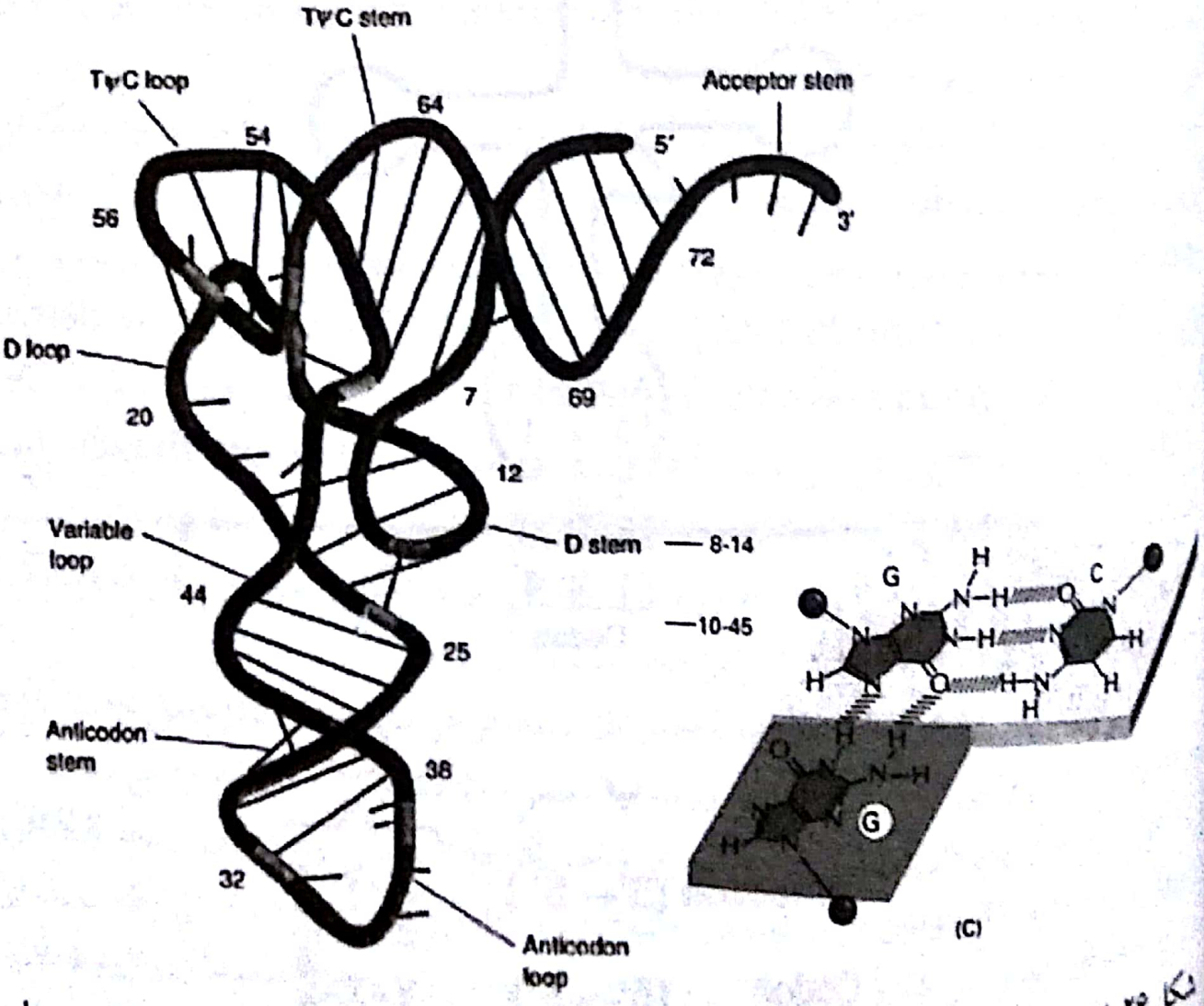
ب



شکل ۲۵-۷. ساختمان دوم (برگ شبدری) ملکول tRNA (الف) و بازهای تغیر یافته موجود در بازوها(ب)

Scanned by CamScanner

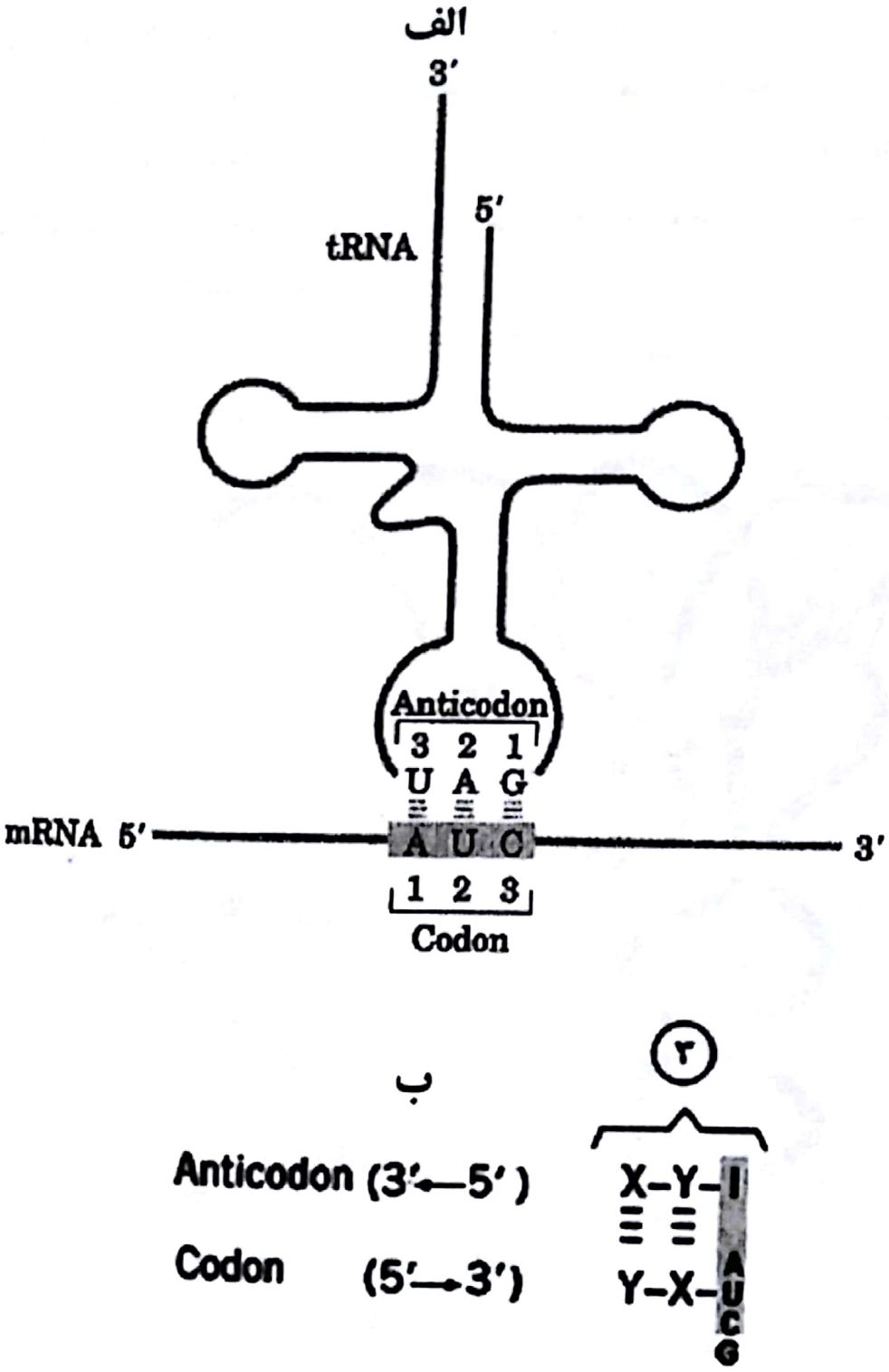
اختلاف این کدون ها تنها در موقعیت سوم انتهای '۳ کدون است. دراین موارد نیازی به چهار ملکول tRNA مختلف با چهار آنتی کدون برای شناسایی این کدون ها نمی باشد و دو نوکلئوتید ابتدایی CC برای مشخص نمودن اسید آمینه پرولین کافی است. این دو نوکلئوتید با نوکلئوتیدهای مربوطه در توالی آنتی کدون ایجاد جفت باز استاندارد محکم می کنند. اما ایجاد جفت باز بین نوکلئوتید سوم کدون و نوکلئوتید اول آنتی کدون می تواند از نوع غیر استاندارد و سست باشد. لذا در بسیاری موارد نوکلئوتید سوم کدون نقش چندانی در تعامل کدون- آنتی کدون ندارد. شکل ۲۷-۷ الف نحوه جفت شدن کدون و آنتی کدون را نشان می دهد. همانطورکه مشاهده می شود اولین نوکلئوتیدکدون با سومین نوکلئوتید آنتی کدون و سومین نوکلئوتید کدون با اولین نوکلئوتید آنتی کدون ایجاد جفت باز می کند.



شکل ۲۶-۷. ساختمان سوم (L – شکل) ملکول tRNA و نمایش یک نوع پیوند هیدروژنی غیر معمول بین بازها.

Scanned by CamScanner

در این بخش یک نوکلیوتید غیر معمول به نام اینوزینات (با اختصار I) می تواند وجود داشته باشد. اینوزینات نوکلئوتیدی با باز هیپوزانتین می باشد که امکان ایجاد جفت باز با هر کدام از چهار نوکلئوتید A , U , G و C را دارد (شکل ۲۷-۷ب).



شکل ۲۷-۷. مواجهه کدون و آنتی کدون (الف) و نقش نوکلئوتید انتهای '۵ آنتی کدون در شناسایی بیش از یک نوع کدون بوسیله آنتی کدون (ب).

Scanned by CamScanner

بدین ترتیب وقتی از نوکلئوتید غیر معمول I در اولین موقعیت آنتی کدون (انتهای '۵) استفاده می شود، حداکثر چهار کدون توسط آنتی کدون ملکول tRNA قابل شناسایی است. این وضعیت اساس فرضیه لرزان (Wobble Theory) که در سال ۱۹۶۶ مطرح شد، می باشد که اشاره به موقعیت لرزان اینوزینات در ایجاد جفت باز دارد. دومزیت اصلی ایجاد این نوع جفت باز کاهش تعداد ملکول های tRNA مورد نیاز برای شناسایی تمامی کدونها و افزایش سرعت سنتز بواسطه جدایی سریع تر tRNA از mRNA بعد از شرکت در سنتز پروتئین می باشد.

RNA ی ریبوزومی (ribosomal RNA = rRNA)

همانطور که قبلاً اشاره شد قسمت اعظم RNAی سلولی از نوع rRNA است که از نظر متابولیکی پایداربوده و با همراه شدن با پروتئین های ریبوزومی، پایدارتر نیز می گردد. این پایداری جهت فعالیت مستمر ریبوزوم ها ضروری است.

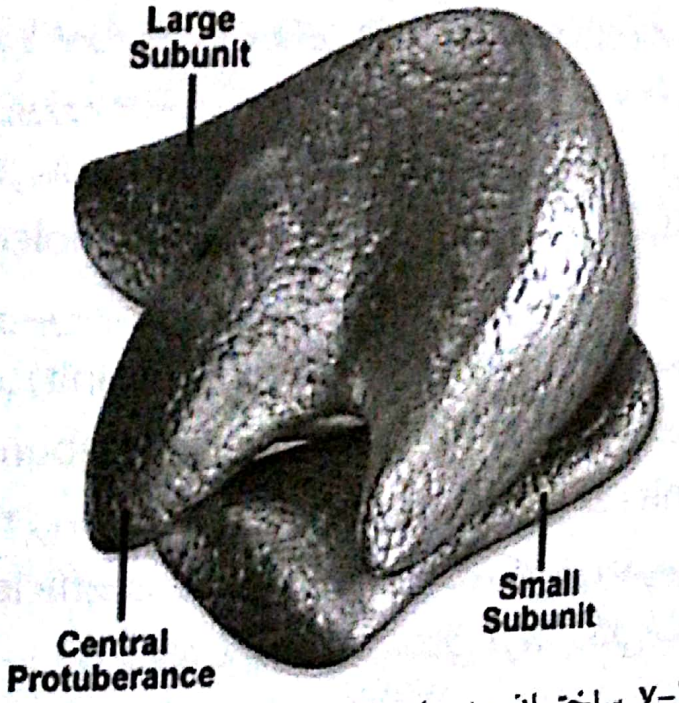
ریبوزوم بعنوان کارخانه سنتز پروتئین در سلول شناخته می شود و دارای ساختمان چند ملکولی (multimolecular structure) است. در یوکاریوتها این کمپلکس شامل چهار ملکول rRNA - که حدود دو سوم جرم ریبوزوم را بخود اختصاص می دهد و ۸۲ پروتئین می باشد. هر ریبوزوم از دو زیرواحد (subunit) تشکیل شده است: زیرواحد کوچک (small subunit) و زیرواحد بزرگ (large subunit)(شکل۲۸-۷). زیر واحد کوچک یا ذره ۴۰S، واجد یک RNA از نوع ۱۸S و ۳۳ پروتئین می باشد. S علامت واحد سود برگ (Svedberg unit)، واحد ضریب رسوب (sedimentation coefficient) یک ذره درمیدان سانتریفیوژی است. ضریب رسوب یک ذره در این میدان به جرم ذره، چگالی ذره، چگالی محیط و شکل ذره بستگی دارد. برای اطلاعات بیشتر به حاشیه ۳-۷ مراجعه کنید.

زیر واحد بزرگتر یا ذره ۶۰S ریبوزوم، واجد یک نسخه از هر سه نوع rRNA شامل ۵/۸S ،۲۸S و ۵S بهمراه ۴۹ پروتئین است. این دو زیر واحد در مجموع تشکیل ریبوزوم ۸۰S را می دهند.

ریبوزوم های پروکاریوتی کوچکترند. زیر واحد کوچک یا ۳۰S واجد یک نسخه RNAی ریبوزومی ۱۶S و ۲۱ پروتئین می باشد، در حالیکه زیرواحد بزرگتر یا ۵۰S، شامل یک نسخه از انواع RNAی ریبوزومی ۵S و ۲۳S و ۳۴ پروتئین است. این دو زیر واحد مجموعاً ریبوزوم ۷۰S را ایجاد می کنند.

Scanned by CamScanner

در یوکاریوت ها به منظور تولید همه انواع RNA های ریبوزومی به میزان مساوی ، همه انواع rRNA در هستک (nucleolus) و بصورت قسمت هایی از یک زنجیره پلی نوکلئوتید طویل ساخته می شوند که در نهایت پس ازپردازش (processing) ملکول های مجزا را ایجاد می کنند. این نواحی از هستک را که در آنها ژن های کد کننده تکراری ومجتمع(gane cluster) قرار می گیرند نواحی سازمان دهنده هستکی(nucleolar organizer region) می نامند. نوع 5S توسط یک ژن جدا از این مجموعه و در داخل نوکلئوپلاسم ساخته می شود.



شکل ۲۸-۷. ساختمان سه بعدی ریبوزوم به همراه زیر واحدهای آن.

در درون میتوکندری سلول های یوکاریوتی، ریبوزوم هایی وجود دارند که مسئول سنتز پروتئین های میتوکندریایی از ژنوم این اندامک هستند. این ریبوزوم ها مشابه انواع پروکاریوتی می باشند.

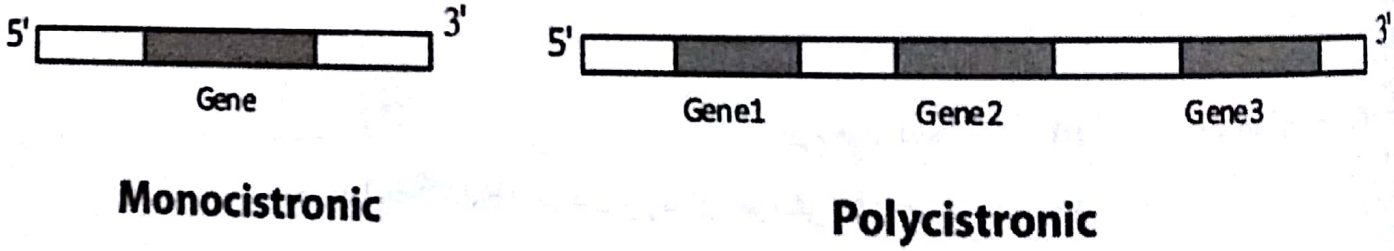
RNA ریبوزومی جزء کاتالیتیکی ریبوزوم است. ساختمان کریستالی اشعه X زیرواحد بزرگ ریبوزوم های باکتریایی نشان می دهد که جایگاه فعال تشکیل پیوند پپتیدی تنها شامل RNA ی ۲۳S می باشد و تمامی زنجیره های پپتیدی پروتئین های ریبوزومی در زیرواحد بزرگ ، بیش از آن از محل سنتز پیوند فاصله دارند که بتوانند مستقیماً در واکنش وارد شوند.

Scanned by CamScanner

بنابراین واکنش شیمیایی لازم برای سنتز پیوند پپتیدی بوسیله rRNA ی زیر واحد بزرگ کاتالیز می شود.

RNA ی پیامبر (messenger RNA = m RNA)

mRNA ها ناقلین مستقیم اطلاعات ژنتیکی از ژنوم به ریبوزوم می باشند. فنوتیپ یک سلول و حالت عملکردی آن مستقیماً به محتوای mRNA ی آن مرتبط است. در یوکاریوتها mRNA از نوع تک ژنی (monocistronic) می باشد. در پروکاریوت ها ، یک ملکول mRNA ممکن است حاوی اطلاعات لازم برای به رمز درآوردن یک یا چندین زنجیره پلی پپتیدی باشد (polycistronic) (شکل ۲۹-۷).



شکل ۲۹-۷. نمایش شماتیک mRNA ی تک ژنی و چند ژنی.

حداقل طول mRNA بستگی به طول زنجیره پلی پپتیدی دارد که آن را کد می کند. برای مثال یک زنجیره پلی پپتیدی دارای ۱۰۰ اسید آمینه، نیاز به یک توالی کد کننده RNA دارای حداقل ۳۰۰ نوکلئوتید دارد. اما mRNA ی رونویسی شده از DNA، معمولاً طولی بیش از این دارد. توالی های غیر کد کننده اضافی موجود در RNA، شامل توالی هایی است که سنتز پروتئین را کنترل می کنند. به علاوه، ترجمه mRNA، در توالی های خاص، شروع و خاتمه می یابد.

Scanned by CamScanner

حاشیه ۳-۷ ضریب رسوب ملکول ها (S) اولتراسانتریفیوژ یکی ازتکنیک های رایج برای جدا کردن وآنالیز ماکرومولکولهای زیستی است.

هنگامی که ذرات در محیط مایع سانتریفیوژ می شوند نیروی مخالف بر ذره وارد می شود که در مقابل حرکت ذره مقاومت ایجاد می کند. این نیروی مقاومت برابر است با:

$Fr = fV$ (۱)

$V =$ سرعت رسوب ذره

$f =$ ضریب اصطکاک ذره با محلول

نیروی سانتریفیوژ (Fc) وارد بر یک ذره که در شعاع r از محور سانتریفیوژ در حال چرخش است و ذره را به سمت ته لوله می کشد را می توان از روی فرمول زیر محاسبه کرد.

$Fc = m' \omega^2 r$ (۲)

m' جرم موثر ذره

ω سرعت زاویه ای چرخش سانتریفیوژ (Rad/Sec)

$$\omega = \left(\frac{2\pi}{60}\right) \times RPM$$

RPM سرعت چرخش سانتریفیوژ بر حسب دور در دقیقه

r فاصله یا شعاع ذره از محور روتور سانتریفیوژ

توجه داشته باشید که جرم موثر ذره (m') کمتر از جرم واقعی ذره (m) است. بدلیل اینکه هر ذره ای که در محیط مایع شناور است به اندازه وزن مایع هم حجم، جرم آن کاسته می شود. با ضرب نمودن فاکتور تعلیق در جرم واقعی ذره می‌توان جرم موثر ذره رامحاسبه کرد.

$m' = m(1-\bar{V}\rho)$ (۳)

m جرم واقعی ذره

$\bar{V}$ حجم مخصوص یا حجم واحد جرم ذره (ml/gr)

(حجم مخصوص عکس چگالی است)

ρ چگالی یا جرم مخصوص محلول (gr/ml)

Scanned by CamScanner

از ادغام رابطه 2 و 3 رابطه زیر را می توان بدست آورد:

$$Fc = m(1-\bar{V}\rho)\omega^2 r \qquad (۴)$$

وقتی که نیروی مقاومت Fr با نیروی سانتریفیوژ Fc برابر می شود ذره با سرعت یکنواخت به سمت ته لوله سانتریفیوژ حرکت می نماید.

$$Fr = Fc \longrightarrow fV = m(1-\bar{V}\rho)\omega^2 r \qquad (۵)$$

$$Fc = fV \longrightarrow V = \frac{Fc}{f} \qquad (۶)$$

$$V = \frac{Fc}{f} = \frac{m(1-\bar{V}\rho)}{f} \times \omega^2 r \qquad (۷)$$

به کمیت $\frac{m(1-\bar{V}\rho)}{f}$ در معادله 5 ضریب رسوب گفته می شود که با S نشان داده می شود.

$$s = \frac{m(1-\bar{V}\rho)}{f} \qquad (۸)$$

این کمیت به سرعت چرخش سانتریفیوژ $(\omega^2 r)$ بستگی ندارد بلکه وابسته به خصوصیات ذره و محلولی که ذره در آن رسوب می کند، است.

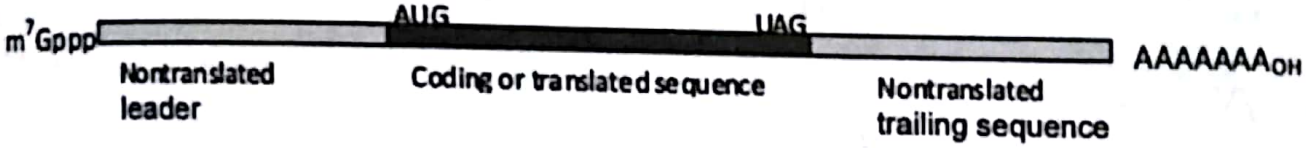
رابطه فوق نشان می دهد که ضریب رسوب (s) ارتباط مستقیم با جرم (وزن مولکولی)، شکل مولکول و خصوصیاتی همچون pH ، غلظت یون ها، ناروانی (Viscosity) و درجه حرارت محلول (که در چگالی محلول خود را نشان می دهد) دارد.

واحد ضریب رسوب (s) ثانیه است. ضریب رسوب ماکرومولکول های زیستی در حدود 10^{-13} ثانیه است. بنابراین به 10^{-13} ثانیه یک واحد سود برگ (1 Svedberg) گفته می شود که با S1 نشان داده می شود.

برای مثال ضریب رسوب (s) هموگلوبین، 4×10^{-13} ثانیه یا 4 S (4 Svedberg) است. با مقایسه ضریب رسوب مولکول ها و ذرات می توانیم تعیین کنیم که سرعت ته نشینی یا رسوب کدام مولکول در هنگام سانتریفیوژ بیشتر است.

Scanned by CamScanner

mRNA یوکاریوتی خصوصیات ساختمانی منحصر بفرد دارد (شکل ۳۱-۷). ساختمان mRNA در یوکاریوت ها دارای یک کلاه به نام کلاه ′۵ (5-cap) می باشد که محل شروع ترجمه را مشخص می کند (حاشیه ۴-۷). ساختمان کلاه بصورت ۵-متیل گوانوزین تری فسفات است و شامل یک پیوند فسفودی استر معکوس می باشد. یعنی یک باز متیله شده به mRNA بصورت پیوند′۵ فسفات - ′۵ فسفات (به جای اتصال معمول ′۳ - ′۵ - فسفودی استر) متصل شده است. کلاهک در حقیقت به اولین نوکلئوتید mRNA نوساز متصل می شود که معمولاً یک نوکلئوزید پورین دار متیله شده در موقعیت شماره ′۲ حلقه قند (2′O- methylated ribonucleoside) است.



شکل ۳۰ -۷. نمایش شماتیک یک mRNA ی یوکاریوتی به همراه خصوصیات ساختمانی آن.

به دنبال کلاهک یک ناحیه غیر قابل ترجمه یا توالی هدایت کننده (nontranslated or leader sequence) وجود دارد. ترجمه در کدون آغازین (initiation codon) یا AUG آغاز شده و در طول توالی کد کننده ادامه می یابد. در انتهای توالی کد کننده یک توالی پایان دهنده (termination sequence)، پیام لازم جهت اتمام ایجاد پلی پپتید و رها سازی آن از ریبوزوم را در خود دارد. ناحیه غیر قابل ترجمه دوم (trailing sequence) پس از توالی پایان دهنده قرار دارد که به حدود ۲۰ تا ۲۰۰ نوکلئوتید آدنین دار به نام دم پلی A (poly A tail) ختم شده و در حقیقت ناحیه ′۳- انتهایی mRNA را تشکیل می دهد.

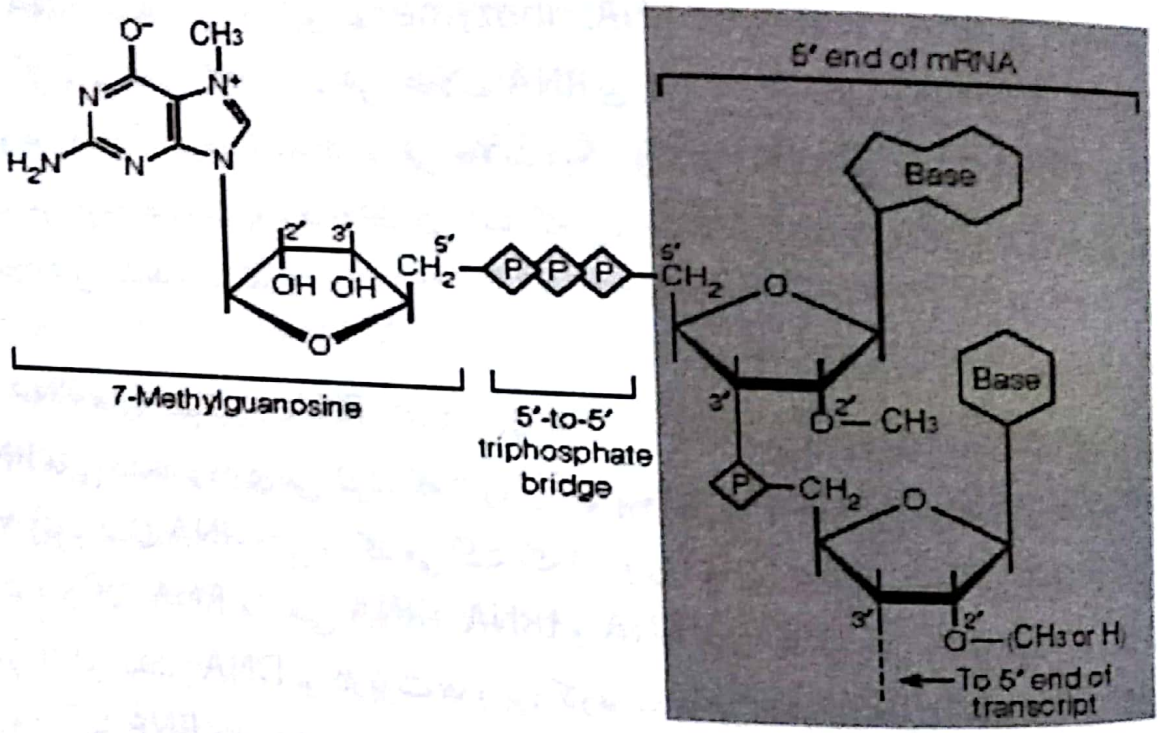
نقش کلاهک ′۵، درشناخته شدن بوسیله یک پروتئین ریبوزومی به نام فاکتورآغازین (initiation factor) می باشد. توالی پلی A نیز در پایداری mRNA موثر است. بطور کلی از بین رفتن یک mRNA اغلب با کوتاه شدن از طرف دم پلی A شروع می شود.

ملکول mRNA، دریوکاریوت ها بعد از رونویسی شدن از روی DNA، تحت تغییرات بعد از رونویسی (Posttranscriptional modification) قرار می گیرد، بدین ترتیب که قطعات پلی نوکلئوتیدی اضافی به نام اینترون (intron) ازوسط آنها برداشته شده ، بخش های کد کننده برای پروتئین به نام اگزون (exon) به هم متصل شده و فرم نهایی mRNA را برای ترجمه مهیا می سازند.

Scanned by CamScanner

در پروکاریوت ها mRNA فاقد کلاهک ´۵ و دم پلی A است و از روی DNA به صورت فرم نهایی نسخه برداری شده و برای ترجمه مورد استفاده قرار می گیرد.

حاشیه ٤-٧- ساختمان کلاهک در انتهای ´۵ یک mRNA ی یوکاریوتی.



۷-۱٦ برخی از دیگر انواع RNA

۱- RNA های هسته ای ناهمگن (heterogeneous nuclear RNA = hnRNA) شامل رونوشت های اولیه یا پیش سازهای mRNA هسته ای هستند که به دنبال پردازش به mRNA بالغ تبدیل می شوند.

۲- RNA های هسته ای کوچک (Small nuclear RNA = SnRNA) که جزء ساختمان اسپلایسوزوم (spliceosome) بوده و در هنگام پردازش، اینترون ها را از hnRNA بر می دارند. اسپلایسوزوم یک مجموعه نوکلئوپروتئینی است که جریان پردازش پیش ساز های mRNA بر روی آن انجام می شود.

Scanned by CamScanner

۳- ریبونوکلئوپروتئین های هسته ای کوچک (Small nuclear Ribo-Nucleo-Proteins = SnRNP): معمولاً کمپلکسی از یک SnRNA و چندین (حدود ۱۰) پروتئین هسته ای است. این کمپلکس به RNA ای که قرار است پردازش گردد متصل شده وبریدن و برداشتن (splicing) اینترون ها واتصال کووالان اگزون ها را بهم سبب می شود. مجموعه RNA مورد پردازش و SnRNP به اسپلایسوزوم (spliceosome) موسوم است.

۴- RNA کاتالیتیکی یا ریبوزیم (catalytic RNA: ribozyme) : RNA می تواند بعنوان یک آنزیم نیز عمل کند. در برخی حالات RNA ی ذره ریبونوکلئوپروتئین از نظر کاتالیتیکی، زیر واحد فعال آنزیم می باشد. در برخی حالات دیگر، واکنش کاتالیتیکی بوسیله RNA و در غیاب آنزیم می تواند صورت پذیرد. به نظر می رسد که ریبوزیم ها اولین ماکروملکول های حیاتی باشند که در زمین پدیدار شدند.

۵- RNA های تنظیمی (Regulatory RNAs): در حالیکه از روی تنها حدود ٪۲ ژنوم انسان RNA هایی نسخه برداری می شوند که از روی آنها پروتئین ها ترجمه می شوند ، در حدود ٪۶۰ تا ٪۷۰ ژنوم انسان RNA هایی را کد می کنند که از روی آنها پروتئینی ترجمه نمی شود. تا کنون با سه نوع از این RNA ها یعنی tRNA, rRNA و RNA های کاتالیتیکی آشنا شده اید. اما سهم مهمی از این بخش DNA یوکاریوت ها و پروکاریوت ها نیز به توالی هایی اختصاص می یابد که از روی آنها RNA های تنظیمی نسخه برداری می گردند. این RNA ها مانند tRNA, rRNA و برخی دیگر از انواع RNA هیچ پروتئینی را کد نمی نمایند اما از راه های گوناگون بیان ژن ها، ساختار کرماتین و فعالیت های سلول را کنترل می نمایند. شناخته شده ترین RNA های تنظیمی ریز RNA ها (MicroRNAs و یا miRNAs) هستند که در یوکاریوت ها شناسایی شدند و تنها از ۲۵-۲۰ نوکلئوتید تشکیل می گردند. ریز RNA ها به ملکول mRNA که دارای توالی مکمل آن ها باشد متصل شده و به کمک آنزیم ها و پروتئین هایی خاص روند ترجمه آن mRNA را آهسته نموده و یا نیمه عمر آن mRNA را کاهش میدهند. در ژنوم انسان بیش از هزار miRNA شناخته شده اند که بیش از ٪۶۰ مجموعه ژن های انسانی را هدف عمل تنظیمی خود قرار می دهند. نشان داده شده است که در بعضی از موارد سرطان طرح بیان RNA های تنظیمی به گونه ای تغیر می نماید که شرایط برای تکثیر نابجای سلول فراهم می گردد.

Scanned by CamScanner

حاشیه۵-۷ واکسن های DNA

در روش های واکسیناسیون سنتی از اجزاء خالص شده یک ارگانیزم عفونت زا، ویروس ها یا سلول های دست نخورده مرده یا غیر فعال شده، جهت افزایش تولید آنتی بادی های اختصاصی و ایجاد ایمنی فعال در بدن استفاده می شود. ازمثال های این نوع، واکسن های مورد استفاده جهت پیشگیری از بیماری های فلج اطفال، تب تیفوئید و دیفتری می باشند. اما ایجاد ایمنی (Immunization) در برابر عوامل بیماریزای عفونی مانند ویروس ایدز (HIV) و مالاریا مشکل است.

یک روش جدید جهت بالا بردن ایمنی بدن استفاده از DNA هایی است که حاوی توالی ژنوم عامل بیماری زاست. این DNA بطور کلی یک پلاسمید باکتریایی است که با روشهای مهندسی ژنتیک، توالی کد کننده یک پروتئین از عامل بیماری زا در آن وارد شده است. این DNA می تواند به تعداد زیادی از سلول ها وارد شده و در آنجا با استفاده از سیستم بیان و ترجمه ژن سلول، بیان گردد. در این حالت واکسن DNA مانند ویروس عمل می کند. البته این DNA ها شامل تنها مقدار بسیار محدودی از اطلاعات ژنتیکی می باشند و نمی توانند عفونت زا باشند. مکانیسم های جذب و القاء پاسخ ایمنی بوسیله DNA هنوز آشکار نگردیده است، اما نتایج روشنی در مقابله با ویروسها، باکتری ها و ارگانیزم های انگلی بدست آمده که پایه گذاری روش های موثر جهت مقابله با بیماری هایی چون ایدز، سل و مالاریا را امید می دهد. واکسن های DNA، همچنین برای واکسیناسیون علیه سرطان نیز می توانند مفید باشند. در حالیکه آنتی ژن های تولید شده توسط سلول های سرطانی تحریک کننده ضعیفی برای سیستم ایمنی (Immunogenic) می باشند، مدل های مطالعه شده که از پلاسمید DNA استفاده می کند نتایج خوبی را نشـان داده است. در آزمایش بر روی موش های واکسینه شده بصـورت خوراکی (Oral delivery) با پلاسمید های رشد کرده در باکتری سالمونلای ضعیف شده، مشاهده گردید که رشد سریع و کشنده سلولهای سرطانی کاهش یافته یا بکلی متوقف گردیده است. مرگ باکتری ها مقدار زیادی از پلاسمیدهای حاوی توالی آنتی ژن موثر بر سیستم ایمنی را رها می سازد. تعمیم دادن این روش ها جهت بکارگیری در انسان ها هم اکنون تحت بررسی است.

Scanned by CamScanner

حاشیه ٦-٧ کاربرد تشخیصی قطعات یا ردیف های DNA در پزشکی و ژنتیک

با تکمیل پروژه ژنوم انسانی، اطلاعات ژنتیکی سریعاً در دسترس قرار گرفت. بکارگیری این اطلاعات در پزشکی نیازمند راه اندازی روش ها و تکنیک های جدید جهت تعیین میزان بیان ژن و آنالیز سریع ژن ها برای بررسی موتاسیون بود.

مجموعه قطعات یا ردیف های الیگونوکلئوتیدی (Oligonucleotide array) شامل تعدادی پروب (Probe) یا دستواره نوکلئوتیدی مخصوص یک ژن خاص (Gene-specific) هستند که در محل خاصی روی یک بستر جامد(Chip)، تثبیت (Immobilized) شده اند. این دستواره ها ممکن است مجموعه ای از چندین نوع بوده که هر نوع در محل خاص بستر جامد تثبیت (Fix) شده است. این چیپس ها (Gene chips) سپس در معرض اسیدهای نوکلئیک (DNA یا RNA) نشـــاندار شده مورد نظر قرار می گیرند. هیبرید شـــدن ملکول های هدف با توالی پروب مکمل سبب تثبیت شدن ملکول های نشاندار در یک محل خاص روی چیپ (Chip) می شود. سپس حضور این توالی های خاص و میزان ملکولهای هدف نشاندار که در یک محل خاص هیبرید شده اند تعیین و بصورت کمی اندازه گیری می شود.

این تکنیک ها ممکن است به تشخیص و غربالگری سریع(Rapid screening) DNA ی ژنومیک برای موتاسیونهای خاص همراه با یک بیماری منجر شود. برای مثال، ردیف های DNA ی با دانسیته بالا با هزاران پروب الیگونوکلئوتیدی جهت تعیین موتاسیون های موثر در بیماری آتاکسی (Ataxia telangiectasia) که یک بیماری همراه با نابسامانیهای عصبی، عفونتهای تنفسی و گشاد شدن رگ ها در پوست و چشم می باشد، مورد استفاده قرار گرفته اند. مطالعات مشابه در تعیین موتاسیونها در ژن BRCA ی سرطان های ارثی سینه و تخمدان نیز انجام شده اند.

Scanned by CamScanner

۱۷-۷ سوالات چهار گزینه ای

۱- در آدنوزین تری فسفات کدام پیوند وجود ندارد؟

الف – استری ب – پیروفسفاتی ج – گلیکوزیدی د – آمیدی

۲- برای نوکلئوتیدها کدام فعالیت را نمی توان در نظر گرفت؟

الف – به عنوان سوخت برای تولید انرژی ب – تولید ترکیبات فعال

ج – تولید پیامبر دوم د – تنظیم مسیرهای متابولیکی

۳- کدام نوکلئوتید حاوی داکسی ریبوز است؟

الف – ATP ب – GTP ج – TTP د – CTP

۴- در ساختمان کدام باز، ریشه متیل وجود دارد؟

الف – آدنین ب – تیمین ج – گوانین د – سیتوزین

۵- مشتق آدنوزینی کدام اسید آمینه در انتقال ریشه متیل دخالت دارد؟

الف – سرین ب – ترئونین ج – سیستئین د – متیونین

۶- پیوند گلیکوزیدی در نوکلئوتیدهای پورینی به کدام شکل است؟

الف- $\beta 1' \longrightarrow N1$ ب – $\beta 1' \longrightarrow N9$ ج- $\alpha 1' \longrightarrow N1$ د- $\alpha 1' \longrightarrow N9$

۷- در یک ملکول DNA با ۲۰۰ نوکلئوتید و ۲۰٪ آدنین، چند پیوند هیدروژنی وجود دارد؟

الف – ۱۰۰ ب – ۱۴۰ ج – ۸۰ د – ۲۶۰

۸- باز سرشتی DNA عبارتست از:

الف – جدا شدن رشته های DNA ب – به هم پیوستن رشته های DNA

ج – تجزیه رشته های DNA د – جایگزینی رشته های DNA

Scanned by CamScanner

فصل ۸

آنزیـــم هـــا

دکتر معصومه اکملی

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

- آنزیم ها را تعریف کرده و آنها را طبقه بندی نمایید.
- مفاهیم سوبسترا، آپوآنزیم، هولوآنزیم، کوآنزیم، گروه های پروستتیک را تعریف کنید.
- اهمیت زیستی آنزیم ها را درک نمایید.
- سینتیک آنزیم ها شامل اثر زمان، درجه حرارت، pH، غلظت آنزیم و سوبسترا را برروی سرعت واکنش های آنزیمی بیان کنید.
- رابطه سرعت واکنش با غلظت سوبسترا را با استفاده از معادلات میکائیلیس منتن و لینویوربرک دانسته، Km و Vmax را محاسبه کرده و نمودارهای مربوطه را بشناسید.
- واحد فعالیت آنزیم، فعالیت ویژه و Turnover number را تعریف کرده و محاسبه نمایید.
- مهار کننده ها، انواع آنها و خواص آنها را بشناسید.
- اثر مهار کننده ها را با استفاده از نمودارهای معکوس ارزیابی کنید و اثر آنها را برسرعت واکنش و Km و Vmax مشخص نمایید.
- مکانیزم های مختلف تنظیم آنزیمی را تعریف کرده و برای هر مکانیسم یک مثال بیان کنید.
- آنزیم های آلوستریک را شناخته و اهمیت آنها را در سیستم فیزیولوژیکی درک نمایید.
- ایزو آنزیم ها را تعریف کرده و اهمیت بالینی ایزو آنزیم های LDH را شرح دهید.

CamScanner

آنزیم ها دسته مهمی از پروتئین ها هستند که انجام واکنش های بیوشیمیایی و سرعت بخشیدن به آنها را بر عهده دارند. به همین دلیل این ترکیبات کاتالیزگرهای زیستی نامیده می‌شوند. موجود زنده برای ادامه حیات باید بتواند واکنش های شیمیایی را بطور کار آمد و اختصاصی کاتالیز نماید. برای مثال واکنش های مصرف قند معمولی یا ساکارز توسط موجودات زنده و تبدیل آن به آب و CO_2، در مجموع واکنش هایی گرمازا و انجام پذیر بوده و موجب آزاد شدن انرژی درچند ثانیه می گردند. در صورتی که قند بصورت جامد و یا محلول سالیان دراز پایدار است. این تفاوت در مقیاس زمانی بعلت کاتالیز این وا کنش ها توسط آنزیم ها در موجودات زنده است. این مسئله اهمیت کار آنزیم ها را در حفظ و بقاء موجودات مختلف نشان می دهد.

۱-۸ آنزیم ها کاتالیزور واکنش های بیوشیمیایی هستند.

آنزیم ها مولکول هایی هستند که واکنش های شیمیایی را کاتالیزمی نمایند. بیشتر آنزیم ها پروتئین هستند باستثنای تعداد کمی که RNA می باشند و ریبوزیم (Ribozyme) نامیده می شوند. ریبوزیم ها برخی از واکنش های مربوط به پردازش RNA(Processing) را کاتالیز می نمایند. در مقایسه با کاتالیزورهای شیمیایی آنزیم ها دارای قدرت کاتالیتیکی (Catalytic power) بالاتری بوده و سرعت واکنش ها را 10^5 تا 10^{17} برابر افزایش می دهند. همچنین آنزیم ها عمل کاتالیزوری خود را در محیط های آبی و درمحدوده های معینی از درجه حرارت و pH انجام می دهند. آنزیم ها برای انجام واکنش ها ویژگی (Specificity) بالایی دارند. هر آنزیم واکنش یا واکنش های خاصی را کاتالیز می نماید.

۲-۸ کوفاکتورها ترکیبات غیر پروتئینی لازم برای فعالیت بعضی از آنزیم ها هستند.

تعدادی از آنزیم ها برای انجام واکنش به اجزاء غیر پروتئینی دیگری احتیاج دارند که کوفاکتور (Cofactors) نامیده می شوند. دراین موارد بخش پروتئینی آنزیم، آپوآنزیم (Apoen-zyme) و مجموعه آنزیم و کوفاکتور، هولو آنزیم (Holoenzyme) نامیده می شود. کوفاکتورها که برای فعالیت بیشترآنزیم ها لازم هستند به سه دسته تقسیم بندی می گردند.

۱- کو آنزیم ها

کوآنزیم ها (Coenzymes)، ترکیبات آلی غیر پروتئینی هستند که با اتصال ضعیفی (غیر کووالانسی) به قسمت پروتئینی آنزیم متصل می باشند لذا به آسانی از آنزیم جدا می شوند.

۲- گروه های پروستتیک

گروه های پروستتیک (Prosthetic) ترکیباتی غیر از اسید های آمینه (ترکیبات آلی و یا یون های فلزی) هستند که در مقابل حرارت پایدار بوده و با اتصال کووالانتی به قسمت پروتئینی آنزیم متصل هستند. کاتالاز یک آنزیم مرکب (Conjugated enzyme) است که شامل آنزیم کاتالاز و قسمت غیر پروتئینی به نام هیم (Heme) می باشد که بصورت کووالانسی به زنجیره پلی پپتیدی متصل است. قسمت پروتئینی آن آپوآنزیم و گروه پروستتیک آن هیم است. آنزیم کامل و طبیعی (native) که دارای فعالیت کاتالیتیکی است، شامل آپوآنزیم و کو فاکتور می باشد و هولوآنزیم (holoenzyme) نامیده می شود.

۳- فعال کننده ها یا اکتیویتورها (Activators)

اکتیویتورها یون های فلزی هستند که با اتصال ضعیفی به قسمت پروتئینی آنزیم متصل هستند و برای فعالیت تعدادی از آنزیم ها وجود آنها ضروری است. حاشیه های ۱-۸ و ۲-۸ به ترتیب جداول مربوط به مشتقات ویتامینی که به عنوان گروه پروستتیک و یا کوآنزیم عمل می نمایند و یا برخی از یون های فلزی که برای فعالیت برخی آنزیم ها مورد نیاز می باشند را نشان می دهند.

۳-۸ اتصال سوبسترا به جایگاه فعال آنزیم برای انجام واکنش لازم است.

سوبسترا ماده ای است که آنزیم بر روی آن عمل کاتالیزوری خود را انجام داده و محصولات جدیدی را تولید می نماید. برای انجام یک واکنش آنزیمی باید سوبسترا توسط پیوندهای ضعیف به بعضی از اسیدهای آمینه موجود در نواحی خاصی از ساختمان آنزیم وصل شود. مجموعه این نواحی جایگاه فعال (Active site) نامیده می شود .جایگاه فعال در اغلب آنزیم ها شامل دو قسمت متمایز جایگاه اتصال (binding site) و جایگاه کاتالیتیکی (catalytic site) است. درهر واکنش آنزیمی ابتدا سوبسترا به جایگاه اتصال متصل شده و کمپلکس آنزیم - سوبسترا (ES) تشکیل می شود. سپس سوبسترا توسط جایگاه کاتالیتیکی به محصول تبدیل شده و آنزیم جدا می گردد.

حاشیه ۱-۸. کوآنزیم هایی که به عنوان حاملین موقتی اتم ها یا گروه های عامل شناخته شده اند.

کو آنزیم	گروه های منتقل شونده	پیش ساز موجود در رژیم غذائی
بیوسیتین	CO_2	بیوتین
کو آنزیم آ	گروه های اسیل	اسید پانتوتنیک وسایر ترکیبات
کو آنزیم B_{12}	اتم H وگروه های آلکیل	ویتامین B_{12}
فلاوین آدنین نوکلئوتید	الکترون ها	ریبوفلاوین (B_2)
لیپوآمید	الکترون ها و گروه های اسیل	لیپوات
نیکوتین آمید آدنین- دی نوکلئوتید	یون هیدرید (H^-)	اسید نیکوتینیک(نیا سین)
پیریدوکسال فسفات	گروه های آمینی (NH_3)	پیریدوکسین (B_6)
تراهیدروفولات	واحدهای تک کربن	اسید فولیک
تیامین پیرو فسفات	شکل فعال آلدئیدی	تیامین (B_1)

حاشیه ۲-۸- بعضی از عناصر معدنی که به عنوان کو فاکتور آنزیم ها عمل می کنند.

عناصر معدنی	آنـزیـم ها
Cu^{2+}	سیتوکروم اکسیداز
Fe^{2+}, Fe^{3+}	سیتوکروم اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز
K^+	پیروات کیناز
Mg^{2+}	هگزوکیناز، گلوکز-۶ فسفاتاز، پیروات کیناز
Mn^{2+}	آرژیناز
Mo	دی نیتروژیناز
Ni^{2+}	اوره آز
Se	گلوتاتیون پراکسیداز
Zn^{2+}	کربنیک انهیدراز، الکل دهیدروژناز و کربوکسی پپتیداز

بدین ترتیب یک واکنش ساده آنزیمی را می توان بصورت زیر نوشت:

$$E+S \longleftrightarrow ES \longleftrightarrow EP \longleftrightarrow E+P$$

که در آن E, S و P به ترتیب سوبسترا، آنزیم و محصول می باشند. ES و EP به ترتیب کمپلکس های زودگذر آنزیم با سو بسترا و آنزیم با محصول را نشان می دهند.

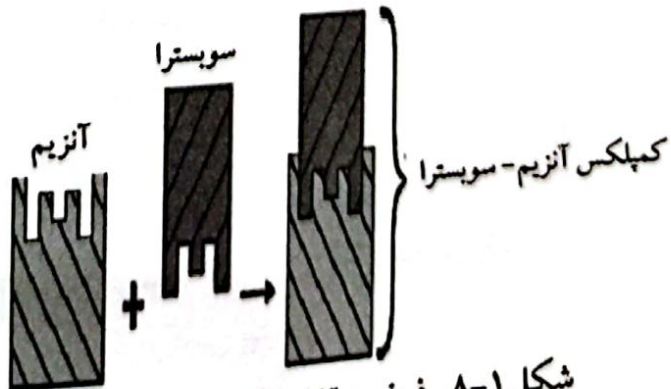
۸-٤ دو نظریه یا دومدل درمورد اتصا ل سوبسترا به آنزیم و یا جایگاه فعال آنزیم وجود دارد.

۱- مدل قفل و کلید

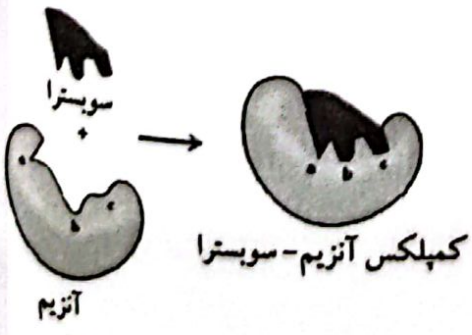
براساس نظریه قفل و کلید (Lock and key hypothesis) که توسط فیشر (Fischer) ارائه شده است جایگاه فعال بصورت یک جایگاه پیش ساخته فرض می شود و آنزیم و سوبسترا مکمل یکدیگر هستند(شکل ۱-۸).

۲- مدل قا لب القا یی

در مدل قالب القایی (Induced fit hypothesis) جایگاه فعال از پیش ساخته شده نیست بلکه با ایجاد اولین تماس سوبسترا با جایگاه اتصال تغییراتی در ساختمان آنزیم ایجاد می گردد. این تغییرات بخاطر انعطاف پذیری ساختمان پروتئینی آنزیم است. درنتیجه این تغییرات زمینه برقراری اتصال های قویتر سوبسترا به آنزیم فراهم می گردد. به علاوه، برخی اسید های آمینه که نقش مهمی درانجام عمل کاتالیزوری دارند به نحوی نسبت به یکدیگر در فضا قرار می گیرند که جایگاه کاتالیتیک در ساختمان آنزیم شکل می گیرد. این مدل توسط دانشمندی بنام (Koshland) کوشلند پیشنهاد گردیده است (شکل ۲-۸).



شکل ۱-۸. فرضیه قفل و کلید



شکل ۲-۸. فرضیه قالب القایی

۸-۵ آنزیم ها با کم کردن انرژی فعال سازی سرعت واکنش های بیوشیمیایی را افزایش می دهند.

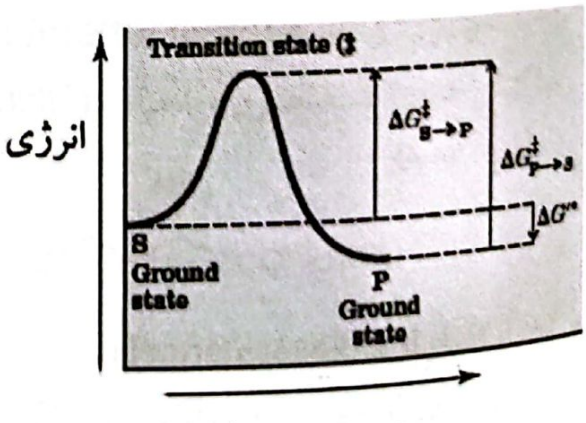
به واکنش تعادلی زیر توجه کنید. آنزیم ها در جریان عمل کاتالیزوری خود سرعت واکنش های رفت و برگشت را به یک میزان افزایش داده و بنابراین ثابت تعادل (Keq) واکنش را تغییر نمی دهند بلکه زمان رسیدن به تعادل را کاهش می دهند. آنزیم ها از این طریق سرعت واکنش های شیمیایی را افزایش می دهند.

$$A + B \longleftrightarrow C + D$$

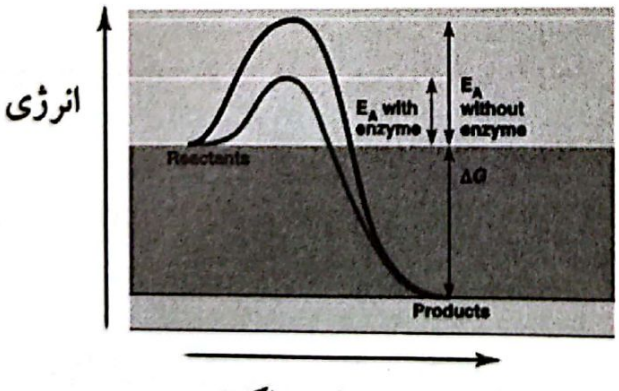
$$Keq = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

شکل ۳-۸ تغییرات سطوح انرژی سوبستـــرا و محصول یک واکنش آنزیمـــی را نشان می دهد. همان طورکه مشاهده می شود آنزیم ها انرژی لازم برای تبدیل مولکول های سوبسترا به حالت واسط (Transition state) را که انرژی فعال سازی (Activation energy) نامیده می شود کاهش می دهند. به عبارت دیگر عبور مولکول های سوبسترا از حالت پایه (Ground state) به حالت گذرا و انتقالی را تسهیل می نمایند.

شکل ۴-۸ انجام یک واکنش را در غیاب و در حضور یک آنزیم نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود آنزیم با کاستن انرژی فعال سازی (Ea)، زمان رسیدن به تعادل را کاهش داده و از این طریق سرعت واکنش را افزایش می دهد.



شکل۳-۸. نمودار انرژی یک واکنش شیمیایی



شکل۴-۸. نمودار یک واکنش شیمیایی در غیاب و در حضور آنزیم

بطور کلی آنزیم ها به عنوان کاتالیزورداری خواص زیر هستند:

۱- Ea (انرژی فعال سازی) را کاهش می دهند.

۲- سطوح انرژی S و P راتغییر نمی دهند.

۳- اثری برتفاوت سطوح انرژی های سوبسترا و یا محصول ($\Delta G^{o'}$)، قبل وبعد از انجام واکنش ندارند.

۴- اثری بر Keq ندارند.

۵- سرعت واکنشهای رفت و برگشت را به یک میزان افزایش می دهند.

۶- زمان رسیدن به تعادل را تسریع می نما یند.

۷- در طی انجام واکنش مصرف نشده و در پایان واکنش آنزیم بدون تغییر باقی می ماند.

۸- به مقدار کم مورد نیاز هستند (Catalytic amount).

۶-۸- آنزیم ها بر اساس نوع واکنش هایی که کاتالیز می کنند طبقه بندی می شوند.

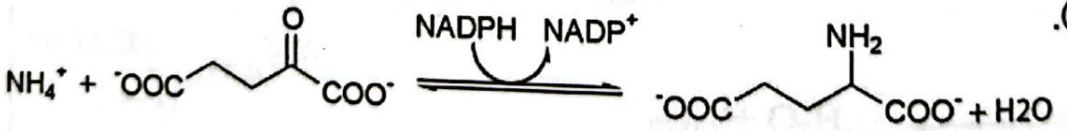
بر اساس مصوبات مجمع بین المللی بیوشیمی - بیولوژی مولکولی
(International Union of Biochemistry and Molecular Biology, IUBMB)
آنزیم ها بر حسب نوع واکنشی که کاتالیز می نمایند به ۶ طبقه اصلی تقسیم بندی می شوند (جدول ۱-۸).

جدول ۱-۸ طبقه بندی بین المللی آنزیم ها

طبقه	نوع واکنش
۱- اکسیدوردوکتازها(Oxidoreductases)	انتقال الکترون ها، یون های هیدرید یا اتم های هیدروژن
۲- ترانسفرازها (Transferases)	انتقال گروه های شیمیایی مختلف
۳- هیدرولازها (Hydrolases)	هیدرولیز(انتقال گروه های عامل به آب) ، شکستن پیوند شیمیایی توسط یک مولکول آب
۴- لیازها (Lyases)	اضافه شدن گروه ها به پیوندهای دوگانه یا ایجاد پیوندهای دوگانه با برداشت گروه ها
۵- ایزومرازها (Isomerases)	انتقال گروه ها درداخل مولکول ها جهت ایجاد فرم های مختلف ایزومری آنها
۶- لیگازها (Ligases)	واکنش های تراکمی و تشکیل پیوندهای , C-S , C-O , C-N , C-C با مصرف انرژی از هیدرولیز ATP

۱- اکسیدوردوکتازها(Oxidoreductases)

واکنش های اکسیداسیون و احیاء را کاتالیز می نمایند و شامل زیر طبقه ها ی مختلف می باشد (حاشیه ۳-۸).



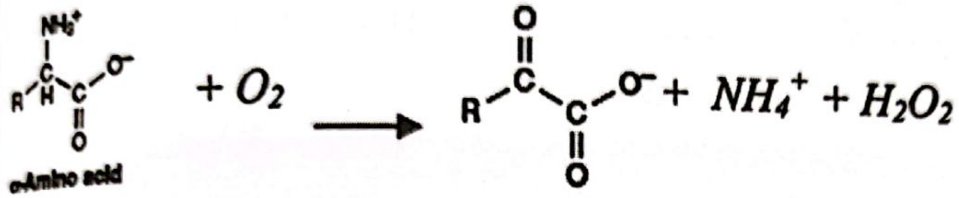
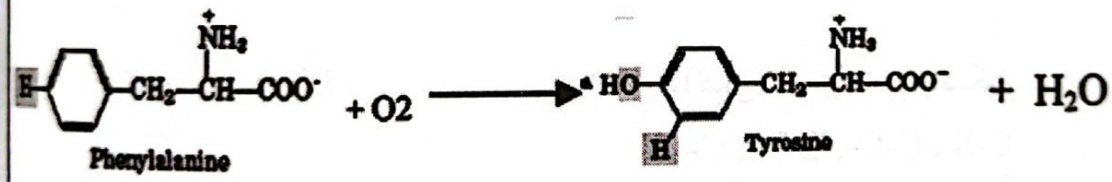
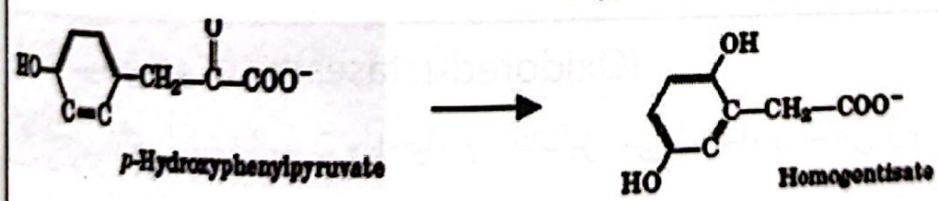
۲- ترانسفرازها(Transferases)

در انتقال یک گروه از یک مولکول به مولکول دیگرشرکت می کنند. گروه هایی که توسط آنزیم های این دسته انتقال می یابند شامل گروه های آمینی (Amino)، اسیل(Acyl)، فسفات (Phosphate)، واحدهای تک کربن (One-carbon units)، و واحدهای قندی (glycosyl) هستند (حاشیه ۴-۸).

فسفوترانسفراز ، هگزوکیناز



حاشیه ۳-۸ زیرطبقه های اکسیدوردوکتازها

زیر طبقه	مثال	واکنش
Dehydrogenases	الکل دهیدروژناز	$CH_3\text{-}CH_2\text{-}OH + NAD^+ \rightarrow CH_3\text{-}CHO + NADH + H$
Oxidases	آمینو اسید اکسیداز	
Reductases	گلوتاتیون رودکتاز	$GSSG + NADPH \rightarrow 2GSH + NADP^+$
Monooxygenases	فنیل آلانین هیدروکسیلاز	
Dioxygenase	پارا هیدروکسی فنیل پیرووات دی اکسیژناز	
Catalase	کاتالاز	$H_2O_2 \rightarrow H_2O + {}^1/_2O_2$
Peroxidases	گلوتا تیون پر اکسیداز	$H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + H_2O$

حاشیه ٤-٨ زیر طبقه های ترانسفراز ها

زیر طبقه	مثال	واکنش
آمینوترانسفراز	ترانس آمیناز	$Amino\ acid_1 + \alpha\text{-}Ketoacid_2 \longrightarrow Amino\ acid_2 + \alpha\text{-}Ketoacid_1$
گلوکوترانسفراز	گلیکوژن فسفریلاز	$(\alpha\text{-}1,4\text{-}glucosyl)_n + P_i \longrightarrow \alpha\text{-}D\text{-}Glu\text{-}1\text{-}P + (\alpha\text{-}1,4\text{-}glucosyl)_{n-1}$

۳- هیدرولازها (Hydrolases)

آنزیم های این گروه واکنش شکستن پیوندها را به کمک یک مولکول آب (هیدرولیز) کاتالیز می نمایند.

زیر طبقه های هیدرولازها شامل استرازها (Esterases) که پیوندهای استری را هیدرولیز می کنند، گلیکوزیدازها (Glycosidases) که پیوندهای گلیکوزیدی را هیدرولیز می کنند و پپتیدازها (Peptidases) که پیوند های پپتیدی را هیدرولیز می کنند وغیره می باشند.

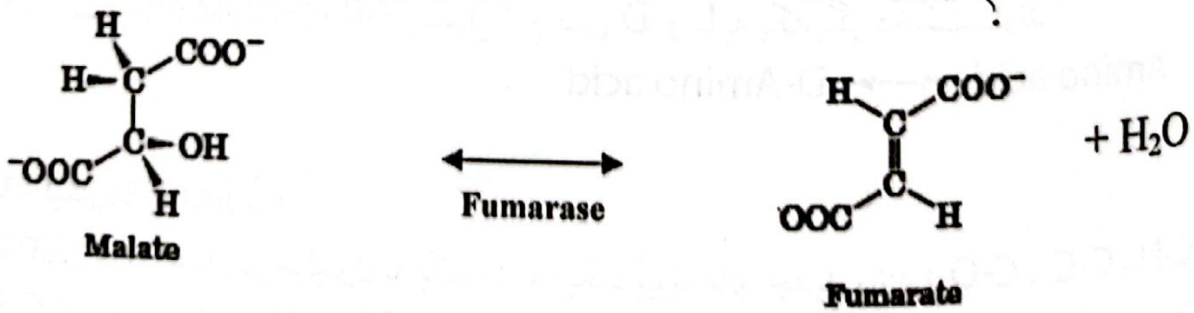
مثال: گلوکز - ۶- فسفاتاز

$$Glucose\text{-}6\text{-}Phosphate + H_2O \longrightarrow Glucose + Pi$$

Pi = فسفات معدنی

٤-لیازها (Lyases)

لیازها در واکنش های جدا و یا اضافه کردن مولکول های H_2O (واکنش زیر) و نیزجداکردن NH_3 و یا CO_2 شرکت می کنند. این آنزیم ها غالبا در اضافه کردن گروه ها به پیوندهای دوگانه و تبدیل آنها به پیوندهای ساده و یا بالعکس شرکت دارند. بنا براین لیازها در ایجاد و یا از بین بردن پیوند دوگانه نقش دارند. بدین ترتیب واکنش های آ نزیم های این دسته با حذف و جدا کردن یک گروه موجب شکستن پیوندهای C-C , C-O , C-N و یا دیگر پیوندها می شوند.

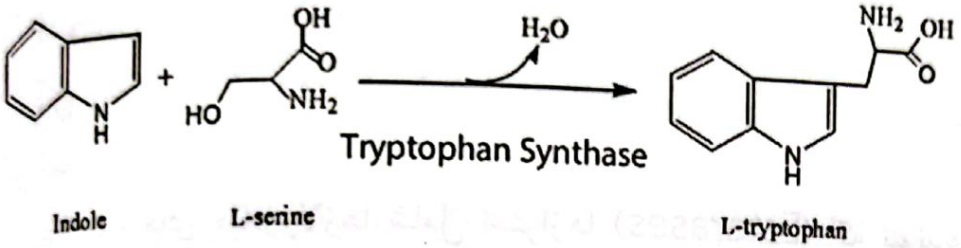


Fumarase =Hydro-lyase =Dehydratase

معمولا برای نامگذاری این آنزیم ها ابتدا نام گروهی که جدا می شود وپس از آن کلمه Lyase آورده می شود.

چند مثال:
Ammonia-Lyase ,Dehydratase (Hydro – Lyase) و
Carboxy-Lyase (Decarboxylase)

بعضی از لیازها می توانند بدون حذف ATP واکنش سنتزی را کاتالیز نمایند که به این دسته از لیازها سینتاز گفته می شود. اگر واکنش یک آنزیم لیاز در جهت تشکیل پیوند بدون مصرف ATP باشد دراین صورت آن آنزیم Synthase نامیده می شود. مانند:



Indole L-serine L-tryptophan

۵- ایزومرازها (Isomerases)

در انتقال یک گروه درون یک مولکول ویا در تبدیل یک ایزومر به ایزومر دیگر نقش دارند.

زیرطبقه های مهم دراین دسته عبارتنداز:

۱- اپیمرازها (Epimerases) درتبدیل یک اپی مر به اپی مر دیگر عمل می کنند.

UDP-Glucose ⟷ UDP- Galactose

۲- ایزومرازها (Isomerases) موجب تبدیل یک ایزومر به ایزومر دیگر می شوند.

مثل فسفوگلوکو ایزومراز

Glucose-6-Phosphate ⟷ Fructose-6-Phosphate

۳- موتازها (Mutases) انتقال یک گروه از یک اتم به اتم دیگررا دردرون یک مولکول کاتالیز می کنند.

Glucose-1-Phosphate ⟷ Glucose-6-Phosphate

۴ - راسمازها(Racemases) درتبدیل فرم های D و L به یکدیگر دخالت دارند .

L-Amino acid ⟷ D-Amino acid

٦- لیگازها (Ligases)

واکنش های اتصال دو مولکول به یکدیگر و ایجاد پیوندهای جدید مانند (C-O ، C-C ،C-N وC-S) را به کمک مولکول ATP کاتا لیز می نمایند. انرژی لازم برای انجام این واکنش ها ازهیدرولیز ATP تامین می گردد. مثال ۱-: سنتتازها (Synthetases)

Amino acid + tRNA + ATP ⟶ Amino acid – tRNA +AMP + PPi

a.a-tRNA – Ligase (a.a-tRNA synthetase)

CamScanner

مثال۲-: کربوکسیلازها (Carboxylases)

$$Pyruvate + CO_2 + ATP \longrightarrow Oxaloacetate + AMP + PPi$$

کربوکسیلازها وسنتتازها درگروه لیگاز ها قرار دارند. لازم بذکر است که سنتازها اگرچه در ایجاد پیوندهای جدید نقش دارند ولی به ATP نیاز ندارند ودر گروه لیازها قرار دارند.

۷-۸ آنزیم ها با چندین روش نام گذاری می شوند (Enzyme Nomenclature):

۱-نامگذاری مشهور اولیه (Trivial names)

در این روش نامگذاری پسوند آز(ase) به نام سوبسترا اضافه می شود.

مثال: آنزیم های Urease, Lactase, sucrase, peptidase

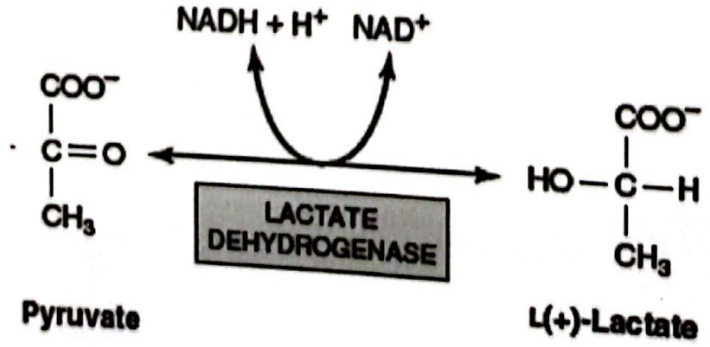
و یا پس از آوردن اسم سوبسترا ونوع واکنش پسوند آز اضافه می گردد.

مانند آنزیم های Glucose oxidase ، Lactate dehydrogenase (LDH)،
Pyruvate carboxylase و Pyruvate decarboxylase . ضمناً نام گذاری بعضی از آنزیم ها مثل trypsin, pepsin, chymotrypsin قاعده خاصی ندارد و از قدیم بکار رفته اند.

۲- نام گذاری سیستماتیک

در نام گذاری سیستماتیک (Systematic) ابتدا نام همه سوبسترا ها از جمله کوآنزیم ها آورده می شود. سپس نام طبقه آنزیم نیز اضافه می شود. مثلا نام سیستماتیک آنزیم لاکتات دهیدروژناز می شود:

Lactate: NAD^+ -Oxidoreductase



CamScanner

۳- عدد کمیسیونی آنزیم ها

کمیسیون آنزیم شناسی، هر آنزیم را با یک کد چهار رقمی مشخص نموده است که عدد کمیسیونی آنزیم (Enzyme commission number, E.C.no) نامیده می شود (حاشیه ۵-۸).

حاشیه ۵-۸ عدد کمیسیونی آنزیم (EC number)

مثال: برای آنزیم هگزو کیناز که واکنش زیر را کاتالیز می کند عدد کمیسیونی 2.7.1.1. تعلق می گیرد.

$$ATP + D\text{-glucose} \longrightarrow ADP + D\text{-glucose 6 – phosphate}$$

عدد اول نام کلاس (۲)، عدد دوم (Subclass) ، عدد سوم (Sub- subclass) وعدد چهارم Serial number می باشد.

اعداد فوق بترتیب نشان دهنده:

۲، نام کلاس (Transferases)

۷، (Sub-class) گروه انتقالی فسفات،(Phosphotransferase)

۱، sub- subclass (عامل هیدروکسیل OH- پذیرنده گروه فسفات)

۱، (Serial number) پذیرنده گروه فسفات گروه OH- در ملکول گلوکز است).

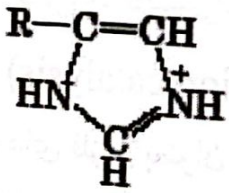
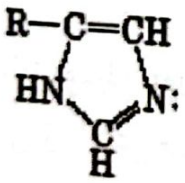
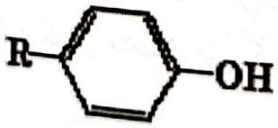
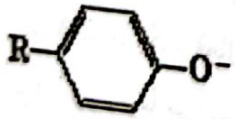
۸-۸ آنزیم ها با مکانیزم های مختلف واکنش ها را کاتالیز می نمایند. (Mechanism of enzyme action)

راه های مختلف برای عمل کاتالیتیکی آنزیم ها وجود دارد که در حاشیه ۶-۸ توضیح داده شده است.

حاشیه ٦-٨ آنزیم ها مکانیزم های مختلفی برای کاتالیز نمودن واکنش ها بکار می برند.

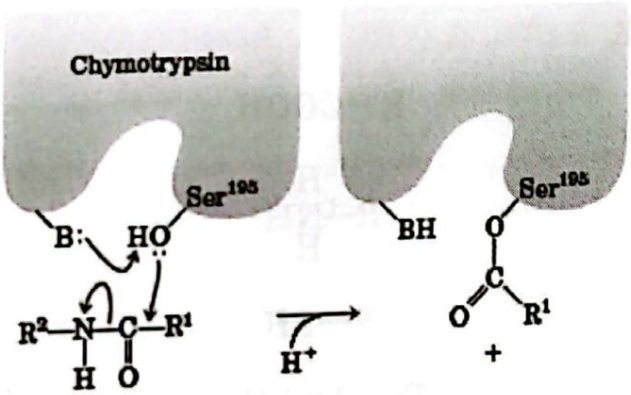
۱- کاتالیز بوسیله گروه های عمومی اسیدی و بازی (General acid – base catalysis)

زنجیره های جانبی بعضی از اسیدهای آمینه موجود در جایگاه فعال بعضی آنزیم ها بعنوان دهنده پروتون(اسید) و یا بعنوان گیرنده پروتون(باز) نقش مهمی در عمل کاتالیزوری آنزیم ها ایفاء می نمایند.

ریشه های اسید آمینه	اسید (دهنده پروتون)	باز (گیرنده پروتون)
Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
Lys, Arg	$R-\overset{H}{\overset{|}{\overset{+}{N}}}H$ (H)	$R-\ddot{N}H_2$
Cys	$R-SH$	$R-S^-$
His		
Ser	$R-OH$	$R-O^-$
Tyr		

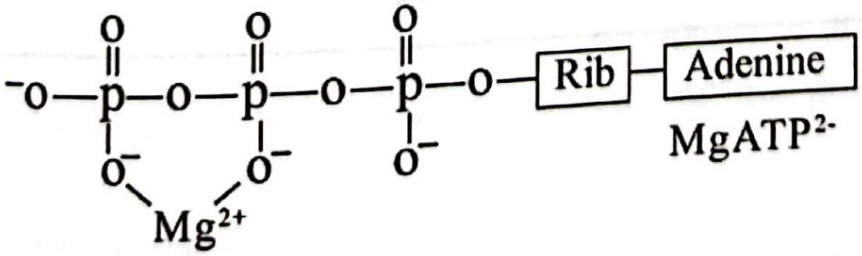
۲- کاتالیز بوسیله اتصالات کووالانسی(Covalent catalysis)

گروه های عامل بعضی از اسیدهای آمینه در جایگاه فعال برخی از آنزیم ها بعنوان گروه نوکلئوفیل قوی عمل نموده و بطور موقت به صورت کووالانسی به سوبسترا متصل شده و بدین ترتیب نقش مهمی در عمل کاتالیزوری آنزیم ایفا می نمایند. از جمله عامل هیدروکسیل اسید آمینه سرین در جایگاه فعال تعدادی از آنزیم ها ی پروتئاز بعنوان یک نوکلئوفیل قوی عمل می نماید. به این دسته ازآنزیم هـاکه با شرکت سرین پیوندهای پپتیدی را هیدرولیز می نمایند، پـروتئـازهـای سـریـن(Serine proteases)گفته می شود.



۳- کاتالیز بوسیله یون های فلزی (Metal ion catalysis)

در بعضی از واکنش های آنزیمی یون های فلزی بعنوان الکتروفیل موجب پایداری بارهای منفی در واکنش های حد واسط حین عمل کاتالیزوری آنزیم می گردند. همچنین ممکن است با اتصال به سوبسترا در ایجاد پیوند سوبسـتـرا به آنزیم ایفای نقش نمایند. مثلا هنـگامی که کمپـلکس $MgATP^{2-}$ به جایگاه فعال آنزیم هگزوکیناز متصل می گردد، در مقایسه با ATP نقش موثرتری در عملکرد آنزیم ایفا می نماید.



٤- کاتالیز بوسیله تجمع چند سوبسترا در جایگاه فعال آنزیم ها (Proximity)

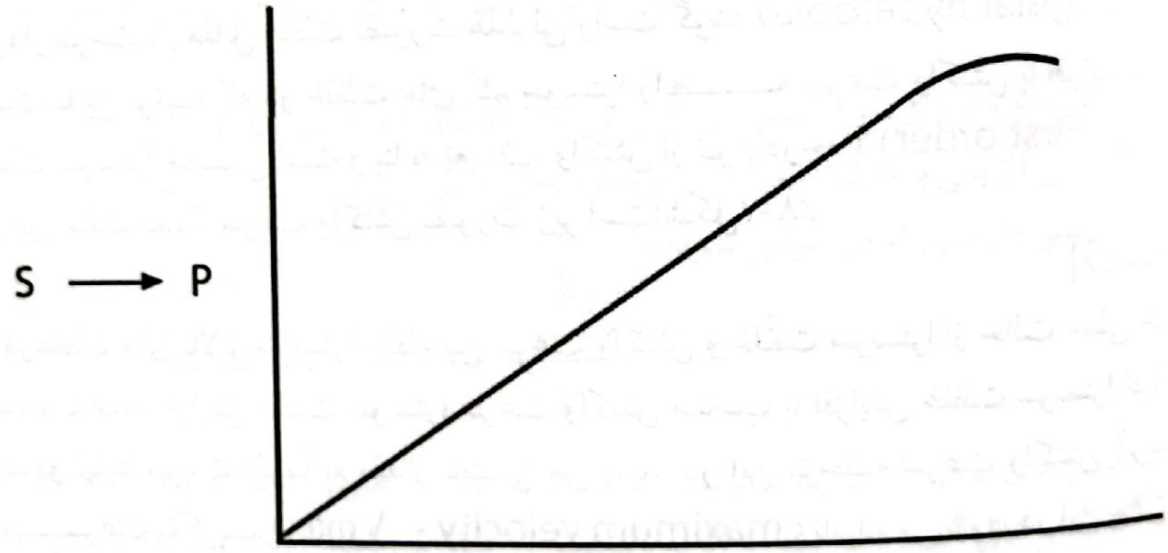
در واکنش هایی که بیش از یک سوبسترا وجود دارد با اتصال مولکول های سوبسترا در جایگاه فعال آنزیم احتمال برخورد آنها و انجام واکنش افزایش یافته وبدین ترتیب سرعت واکنش زیاد می شود.

۸-۹ کینتیک آنزیمی اثرعوامل موثر بر سرعت واکنش های آنزیمی را مورد بررسی قرار می دهد.

منظور از کینتیک آنزیمی (Enzyme Kinetics) بررسی عوامل موثر بر سرعت واکنش های آنزیمی می باشد. لازم به یاد آوری است که سرعت واکنش آنزیمی عبارت است از میزان تغییرات غلظت سوبسترا در واحد زمان یعنی dS/dt - و یا میزان تغییرات غلظت محصول در واحد زمان (dP/dt). در نسبت dS/dt - علامت منفی نشان دهنده اینست که با شروع واکنش آنزیمی، غلظت سوبسترا رو به کاهش می گذارد. واحد غلظت مول بر لیتر و واحد زمان ثانیه یا دقیقه در نظر گرفته می شود. عوامل موثر بر سرعت واکنش های آنزیمی عبارتنداز:

۱- اثر زمان (Time) :

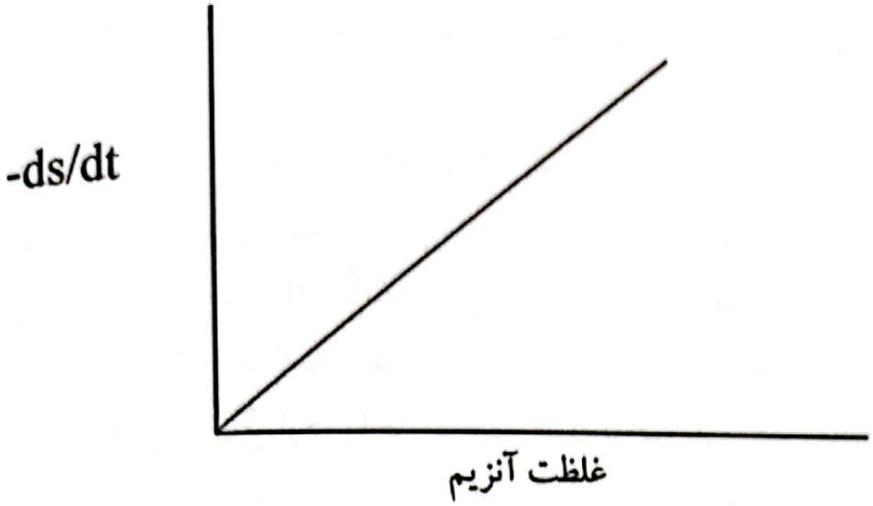
دریک واکنش آنزیمی در شرایط اپتیمم (شرایط ایده آل عمل آنزیم) و غلظت کافی سوبسترا مقدار محصولی که تولید می شود با گذشت زمان بصورت خطی افزایش می یابد. ولی با گذشت زیاد زمان این رابطه خطی دیگر وجود ندارد (شکل۵-۸). زیرا با افزایش زمان از غلظت سوبسترا کاسته شده وساختمان آنزیم ممکن است تخریب گردد.



شکل ۵-۸. اثر زمان بر سرعت واکنش آنزیمی

۲- اثر غلظت آ نزیم (Enzyme concentration, [E]):

در غلظت زیاد سوبسترا وشرایط ایده آل عمل آنزیم سرعت واکنش آنزیمی با افزایش غلظت آنزیم بصورت خطی افزایش می یابد. مادامیکه غلظت سوبسترا درحد کافی باشد رابطه خطی وجود دارد (شکل۶-۸).



شکل۶-۸. اثر غلظت آنزیم بر سرعت واکنش آنزیمی

۳- اثر غلظت سوبسترا (Substrate concentration):

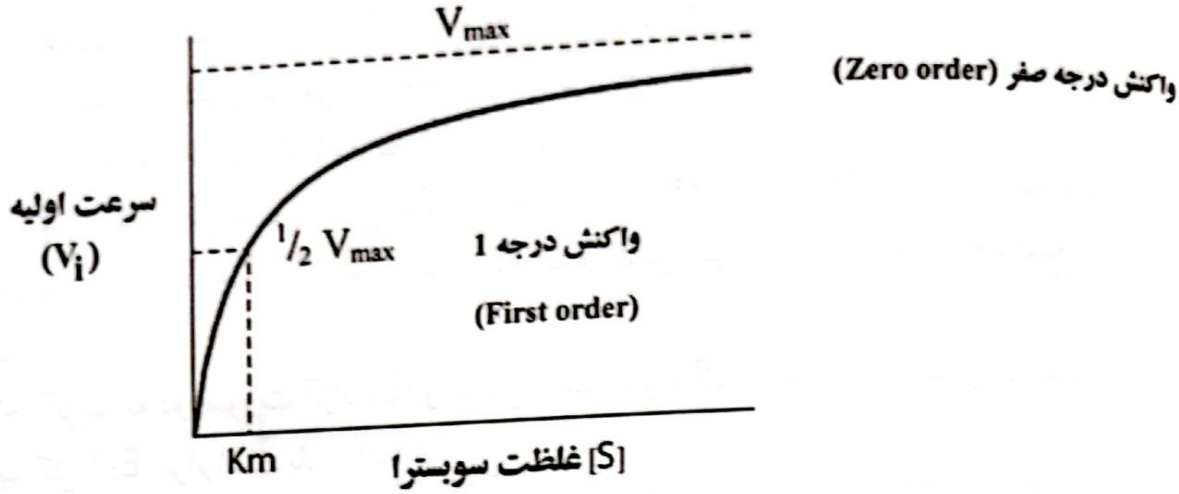
سرعت یک واکنش آنزیمی در غلظت مناسب و ثابت آنزیم و شرایط اپتیمم تا محدوده معینی با افزایش غلظت سوبسترا زیاد می شود وپس از آن با افزایش غلظت سوبسترا سرعت واکنش چندان افزایش نمی یابد و نهایتا با افزایش بیشتر غلظت سوبسترا سرعت واکنش به حد ثابت می رسد. نمودار سرعت در مقابل غلظت بصورت هذلولی راست گوشه (Rectangular hyperbola) است. بدین ترتیب که در غلظت های کم سوبسترا رابطه سرعت واکنش با افزایش غلظت سوبسترا خطی است و بنا به تعریف واکنش از نوع درجه ۱ (First order) می باشد. در این حالت معادله سرعت واکنش بصورت زیر است(شکل۷-۸).

$V=K\,x[S]$

درغلظت های بالاتر سوبسترا رابطه بین سرعت واکنش و غلظت سوبسترا از حالت خطی خارج شده و با ادامه افزایش غلظت سوبسترا سرعت واکنش متناسب با افزایش غلظت سوبسترا افزایش نیافته و نهایتا سرعت تقریباً به مقدار ثابتی می رسد. در این مرحله سرعت واکنش آنزیمی، سرعت ماکزیمم (Vmax - maximum velocity) نامیده می شود. در این حالت بنا به تعریف سرعت واکنش از نوع درجه صفر(Zero order) می باشد و معادله واکنش بصورت زیر است(شکل ۷-۸).

$V= V_{max}$ و $V =k$ یا $V=k\,x\,[s]^{\circ}$

در واقع دراین مرحله تمام جایگاه های فعال آنزیم توسط سوبسترا اشباع شده است و اضافه کردن غلظت سوبسترا اثر چندانی بر سرعت واکنش نداشته و سرعت واکنش حداکثر است.



شکل ۷-۸. اثر غلظت سوبسترا بر سرعت واکنش آنزیمی

در نمودار فوق Km برابر غلظتی از سوبسترا است که در آن غلظت سرعت واکنش آنزیمی نصف سرعت ماکزیمم ($^1/_2 V_{max}$) می باشد.

معادله میکائیلیس - منتن رابطه سرعت واکنش آنزیمی را با غلظت سوبسترا نشان می دهد

دو دانشمند به نام های میکائیلیس و منتن (Michaelis و Menten) برای توجیه رابطه سرعت واکنش آنزیمی با غلظت سوبسترا و توجیه منحنی هذلولی راست گوشه مراحل مختلف یک واکنش آنزیمی را بصورت زیر فرض نمودند.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} [ES] \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P \qquad (1)$$

در واکنش های فوق E، S و P به ترتیب سوبسترا، آنزیم و محصول می باشند و ES و EP به ترتیب کمپلکس های آنزیم با سو بسترا و آنزیم با محصول را نشان می دهند. K_1، K_{-1}، K_2، K_{-2} ثابت ها ی سرعت (rate constants) واکنش های مربوطه می باشند. بر اساس نظریه فوق درمرحله اول آنزیم بطور برگشت پذیر با سوبسترا ترکیب شده و تولید کمپلکس ES می نماید. در مرحله‌دوم کمپلکس(ES)تجزیه شده و(E) و محصول (P) تولید می شوند. میکائیلیس ومنتن فرض نمودند که سرعت کل واکنش آنزیمی متناسب با سرعت تجزیه کمپلکس ES به P و E است. برای بدست آوردن معادله ای که بتواند رابطه سرعت واکنش را در غلظت های مختلف سوبسترا نشان دهد موارد زیر را فرض نمودند.

۱- غلظت سوبسترا نسبت به غلظت آنزیم زیاد تر می باشد[E] << [S]

۲- سرعت واکنش آنزیمی در لحظه شروع واکنش که مقدار کمی سوبسترا به محصول تبدیل شده است(سرعت اولیه، Vi) در نظر گرفته می شود.

در چنین حالتی سرعت واکنش عکس یعنی ES ⟶ E+P ناچیز می باشد. ولذا از k_2 صرف نظر می شود. چگونگی تعیین سرعت اولیه واکنش آنزیمی در حاشیه ۷-۸ توضیح داده شده است.

۳- آنزیم به دو صورت آزاد (E) و متصل به سوبسترا(ES) وجود دارد. بنا بر این غلظت آنزیم کل (E_t) برابراست با:

$$[E_t] = [ES] + [E] \qquad (2)$$

۴- سرعت اولیه برابر با سرعت تجزیه ES به محصول می باشد.

$$ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

$$V_i = k_2 \times [ES] \qquad (3)$$

به عبارت دیگرسرعت تجزیه کمپلکس ES به محصول واکنش تعیین کننده سرعت کلی واکنش می باشد.

۵- درسرعت ماکزیمم (Vmax) تمام جایگاه های فعال آنزیم با S اشباع شده و بنـــابراین [ES] = [Et] بوده و رابطه ۳ بصورت زیر نوشته می شود.

$$V_{max} = k_2 \times [E_t] \qquad (4)$$

۶-میکائیلیس و منتن یک حالت ثابت غلظت ES (Steady state) را فرض نمودند که در آن حالت سرعت تشکیل کمپلکس ES و سرعت تجزیه آن برابر است.

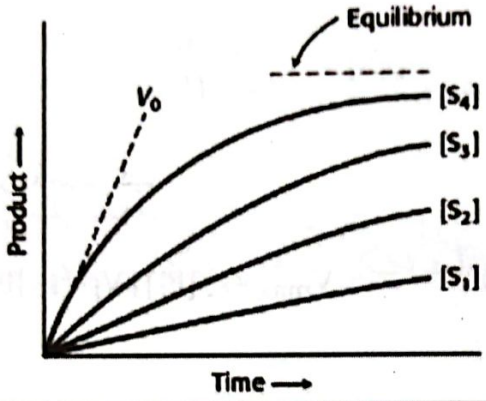
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\longleftrightarrow}} ES \xrightarrow{k_2} E + P \qquad (5)$$

با در نظر گرفتن فرضیات فوق میکائیلیس و منتن رابطه بین $K_m . V_{max}$ و V_i را بصورت معادله زیر نشان دادند که چگونگی استخراج آن در حاشیه ۸-۸ توضیح داده شده است.

$$V_i = \frac{V_{max}.[S]}{k_m + [S]} \qquad (6)$$

حاشیه ۷-۸ تعیین سرعت اولیه (Vi) واکنش آنزیمی

برای تعیین سرعت اولیه یک واکنش آنزیمی ابتدا فعالیت آنزیم در شرایط ایده آل عمل آنزیم وغلظت های مختلف سوبسترا اندازه گیری می شود. سپس مقدار محصول واکنش (P) در غلظت های مختلف سوبسترا و در زمان های مختلف پس از شروع واکنش محاسبه شده و سپس نموداری براساس P در مقابل زمان در غلظت های مختلف سوبسترا رسم می شود.
شیب هر نمودار در مراحل آغازین واکنش که مقدار کمی سوبسترا به محصول تبدیل شده است و واکنش برعکس ناچیز است به عنوان سرعت اولیه در نظر گرفته می شود .



حاشیه ۸-۸ استخراج معادله میکائیلیس- منتن

اگرسرعت تشکیل (Vf) کمپلکس ES با رابطه $V_f = k_1 [E] [S]$ مشخص گردد و غلظت آنزیم آزاد [E] برابر $[E_t] - [ES]$ در نظر گرفته شود در اینصورت رابطه (6) بدست می آید .

$$V_f = k_1 ([E_t] - [ES]) [S] \qquad (6)$$

اگرسرعت تجزیه(V_d) کمپلکس ES به صورت $V_d = k_{-1} [ES] + k_2 [ES]$ باشد. در اینصورت

$$V_d = (k_{-1} + k_2) [ES] \qquad (7)$$

چون درحالت تعادل $V_f = V_d$ است بنا براین:

$$k_1 ([E_t] - [ES]) [S] = (k_{-1} + k_2) [ES]$$

اگردو طرف معادله را در $1/K_1 [ES]$ ضرب نمائیم رابطه ۸ حاصل میشود .

$$\frac{([E_t]-[ES])[S]}{[ES]} = \frac{K_{-1} + K_2}{K_1} \qquad (8)$$

در رابطه فوق کسر $\frac{K_{-1} + K_2}{K_1}$ ثابت میکائیلیس- منتن (Km) نام دارد.

بنابراین رابطه 8 را بصورت زیر می توان نوشت.

$$\frac{[S]([Et]-[ES])}{[ES]} = K_m \quad \text{یا} \quad \frac{[S][Et]}{[ES]} - \frac{[S][ES]}{[ES]} = K_m$$

سپس رابطه (9) بدست می آید.

$$\frac{[S][Et]}{[ES]} = K_m + S \quad \text{یا} \quad [ES] = \frac{[S][Et]}{K_m+[S]} \qquad (9)$$

اگر طرفین معادله (9) را در k_2 ضرب کنیم

$$K_2[ES] = \frac{k_2[Et][S]}{K_m+S}$$

با درنظر گرفتن اینکه $V_{max} = k_2[E_t]$ و $V_i = k_2[ES]$

معادله فوق بصورت زیر نوشته می شود که معادله میکائیلیس- منتن (M.M یا Michaelis- Menten equation) نامیده می شود .

$$V_i = \frac{V_{max}[S]}{k_m + [S]} \qquad (10)$$

در حالتی که سرعت اولیه (Vi) برابر نصف سرعت ماکزیمم (½Vmax) درنظر گرفته شود .

$$\frac{1}{2}V_{max} = \frac{V_{max}[S]}{k_m + [S]} \quad \text{یا} \quad 2S = S + k_m \quad \text{یا} \quad S = k_m$$

بدین ترتیب k_m غلظتی از سوبسترا است که در آن غلظت سرعت واکنش نصف سرعت ماکزیمم ($\frac{1}{2}V_{max}$) است.
با معادله میکائیلیس- منتن می توان نقاط مختلف منحنی هذلولی راست گوشه را توجیه و تفسیر نمود.
در غلظت های کم سوبسترا وقتی $S << k_m$ می باشد معادله را میتوان بصورت زیر نوشت.

$$V_i = \frac{V_{max}[S]}{K_m}$$

دراین شرایط سرعت رابطه خطی با غلظت [S] دارد و واکنش درجه ۱ است.
هنگامیکه $[S] = k_m$ باشد $V_i = \frac{1}{2}V_{max}$ می باشد.
درغلظتهای زیاد سوبسترا وقتی $[S] >> k_m$ می باشد معادله میکائیلیس- منتن بصورت زیرخواهد بود.
دراین شرایط سرعت مستقل از غلظت سوبسترا بوده، وابسته به غلظت آنزیم است و واکنش درجه صفرمی باشد.

$$V_i = \frac{V_{max}[S]}{[S]} = V_{max}$$

K_m برای واکنش های آنزیمی معین پارامتر ثابتی است.

مقدار k_m شاخصی از میل ترکیبی آنزیم با سوبسترا است. هر چقدر k_m مقدار کوچکتری باشد میل ترکیبی آنزیم با سوبسترا بیشتراست. درحالیکه V_{max} پارامتری است که مقدارآن بستگی به غلظت آنزیم موجود در محیط واکنش دارد.

با استفاده از معادله میکائیلیس- منتن و منحنی هذ لولی راست گوشه اندازه گیری k_m و V_{max} مشکل است. چون نمی‌توان مشخص کرد دقیقا در چه غلظتی از S می توان به سرعت ماکزیمم رسید.

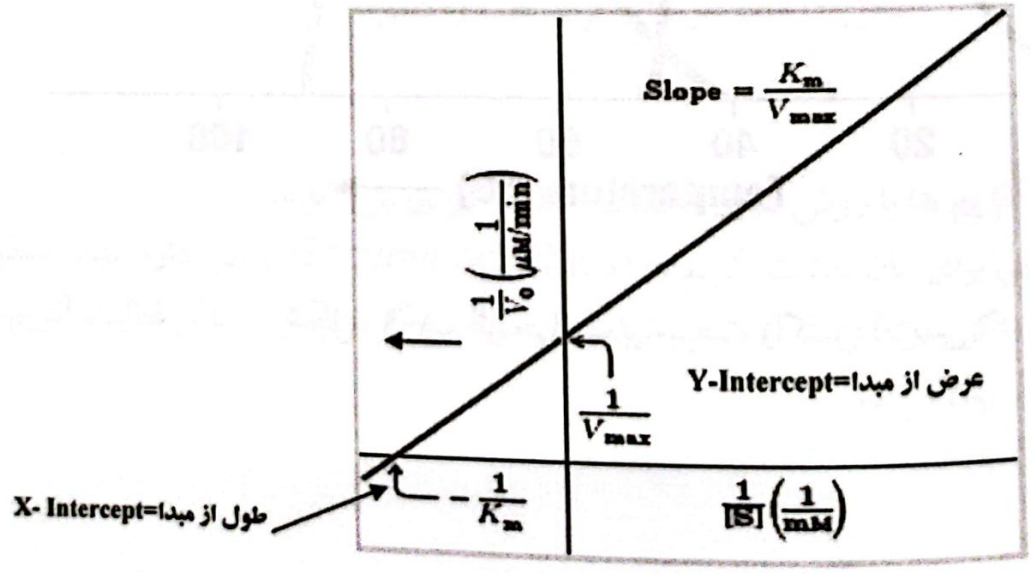
روش های مختلفی برای اندازه گیری k_m و V_{max} وجود دارد که نتیجه هر کدام از آنها بدست آوردن یک رابطه خطی است. یک روش، استفاده از نمودار دوبار معکوس لینویور-برک (Lineweaver-Burk plot) است که با معکوس کردن معادله میکائیلیس – منتن و رسم نمودار خطی $1/v$ در برابر $1/s$ بدست می آید (شکل ۸-۸). با معکوس کردن معادله میکائلیس و منتن رابطه زیر بدست می آید.

$$^1/_v = \frac{k_m+S}{V_{max} \times S} \qquad \text{یا} \qquad ^1/_v = \frac{k_m}{V_{max}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{max}}$$

رابطه فوق معادله ی یک خط راست بصورت $Y = aX + b$ می باشد .

بنابراین $a = k_m/V_{max}$ شیب(Slope) خط بوده و $b = 1/V_{max}$ است و عرض از مبدا نامیده می شود.

همچنین نقطه تلاقی با محور X ها برابر $-1/k_m$ است که طول از مبدا گفته می شود.

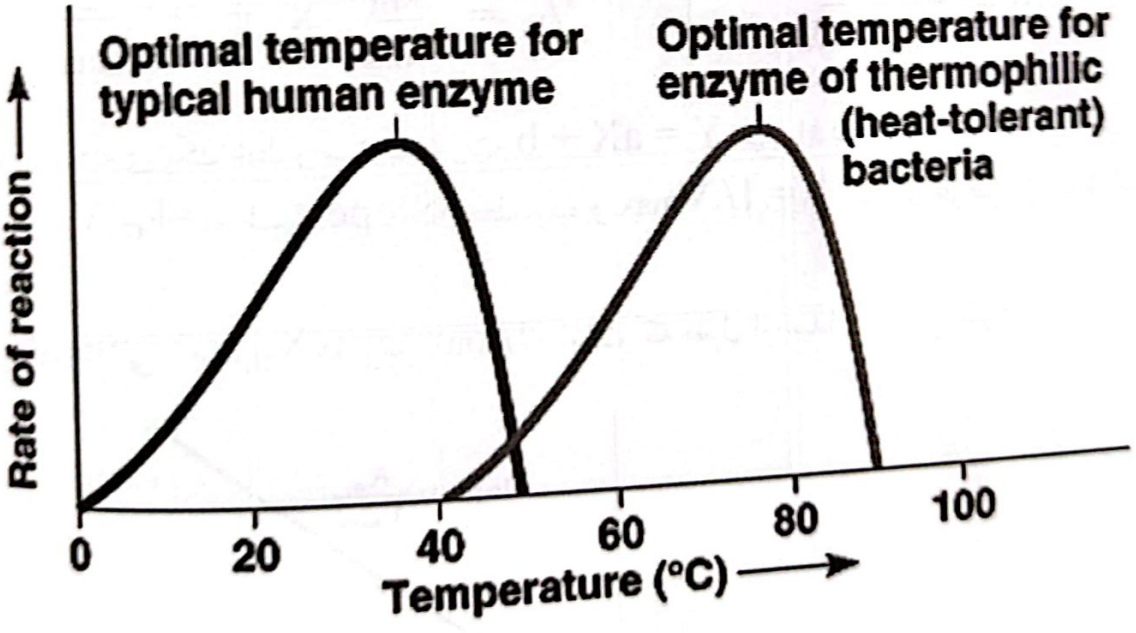


شکل ۸-۸. نمودار دو بار معکوس یا لینویور- برک

٤- اثردرجه حرارت (Temperature):

با افزایش درجه حرارت محیط واکنش برخورد بین مولکول های شرکت کننده بیشتر می شود و لذا سرعت واکنش افزایش می یابد. بطور کلی به ازای افزایش هر 10°C سرعت اغلب واکنش های شیمیایی دو برابر می شود. این پدیده برای واکنش های آنزیمی نیز صدق می نماید.

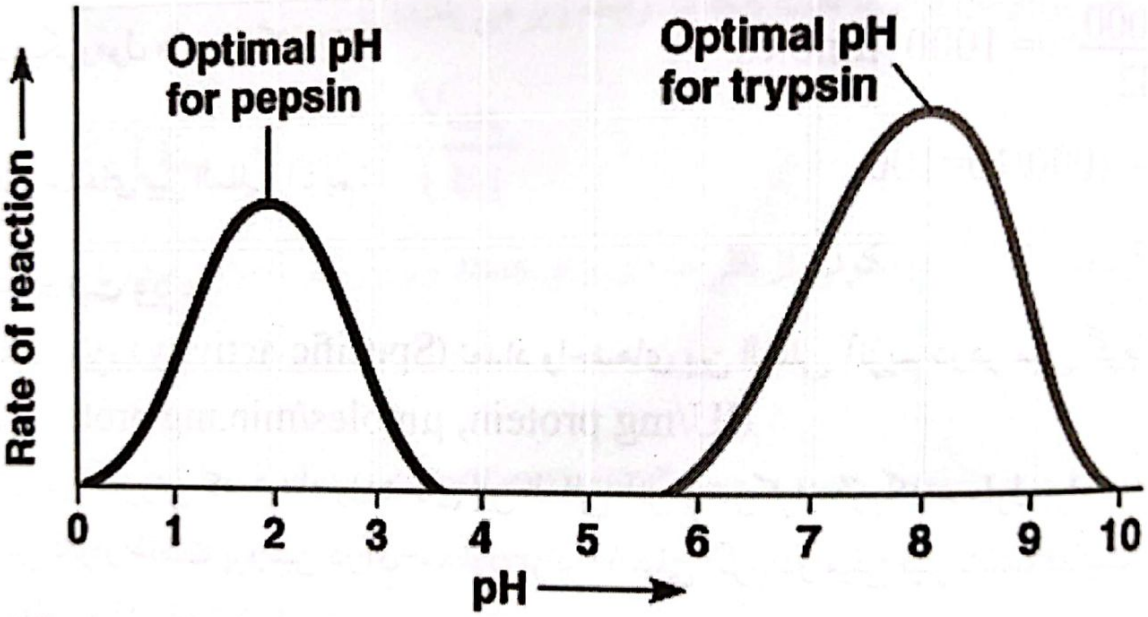
در مورد واکنش های آنزیمی با افزایش درجه حرارت برخورد بین مولکول های آنزیم وسوبسترا افزایش یافته و تا درجه حرارت معینی با افزایش درجه حرارت سرعت واکنش افزایش می یابد. از آن به بعد با افزایش درجه حرارت مولکول های آنزیم دناتوره می شوند وفعالیت خود را از دست داده و سرعت واکنش رو به کاهش می گذارد. به درجه حرارتی که درآن، سرعت واکنش آنزیمی حد اکثر می باشد درجه حرارت اپتیمم می گویند. هر آنزیم دارای درجه حرارت اپتیمم خاص خود است. برخی از آنزیم ها ی موجود در باکتری هائی که در چشمه های آب گرم رشد می نمایند موسوم به (باکتری های ترموفیل) دارای درجه حرارت اپتیمم بالا بوده و درجات حرارت بالا را تحمل نموده وحتی در 100°C دارای فعالیت هستند(شکل ۹-۸).



شکل ۹-۸. اثر حرارت بر سرعت واکنش آنزیمی

۵- اثر pH:

عوامل و گروه های شیمیایی موجود در جایگاه فعا ل آنزیم و یا درسوبسترا از نظر میزان یونیزه شدن وبار الکتریکی بایستی در وضعیت خاصی باشند تا بتوانند نقش خود را در واکنش آنزیمی ایفا نمایند. لذا تغییرات pH می تواند با تغییر میزان یونیزه شدن و بار الکتریکی این عوامل و گروه ها بر سرعت واکنش موثر باشد. pH مناسب برای حداکثر فعالیت هر آنزیم pH اپتیمم نامیده می شود. این pH برای بیشتر آنزیمهای بدن در محدوده ۸ - ۶ می باشد. pH مناسب برای فعالیت Pepsin در معده حدود۲ است. در pH های اسیدی تر و بازی تر نسبت به pH اپتیمم فعالیت آنزیم ها کاهش می یابد (شکل ۱۰-۸).



شکل ۱۰-۸. اثر pH بر سرعت واکنش آنزیمی

۱۰-۸ فعالیت آنزیم ها با روش های مختلف اندازه گیری می شود.

راه های مختلفی برای بیان فعالیت آنزیم ها (Enzyme activities) وجود دارد. بدین منظور ابتدا باید سرعت ماکزیمم(Vmax) آنزیم در شرایط اپتیمم تعیین گردد. بر این اساس فعالیت آنزیم ها به چهار روش زیر بیان می شود.

۱ - واحد بین المللی آنزیم

بر اساس یک توافق بین المللی یک واحد بین المللی آنزیم (International unit, IU) مقدار آنزیمی است که بتواند یک میکرومول سوبسترا را در دقیقه در 25°C در شرایط بهینه (Optimum) عمل آنزیم به محصول تبدیل نماید. منظور از شرایط بهینه غلظت کافی سوبسترا، pH مناسب و حضور کو فاکتورها می باشد.

مثلا محلول حاوی آنزیم سوکراز(Sucrase) در ۱۰ دقیقه ۳۴۲۰۰۰ میکروگرم سوکروز را به گلوکز و فروکتوز تجزیه می کند. تعداد واحدهای بین المللی در این محلول بشرح زیر محاسبه می گردد.

وزن مولکولی سوکراز =342 gr/ Mole

تعداد میکرومول های سوکروز: $\frac{342000}{342} = 1000$ µmoles

تعداد واحدهای بین المللی آنزیم: IU = 1000/10=100

۲- فعالیت ویژه

فعالیت ویژه (Specific activity) تعداد واحدهای بین المللی آنزیم درهر میلی گرم پروتئین است (IU/mg protein, µmoles/min.mg protein).

مثال: در صورتی که تعداد واحدهای بین المللی آنزیم سوکراز دریک محلول برابر ۱۰۰ واحد در میلی لیتر و غلظت پروتئین درآن محلول برابر ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر باشد، فعالیت ویژه در این محلول چقدر است؟

تعداد واحدهای بین المللی : 100 IU/ml

غلظت پروتئین: 10 mg/ml

فعالیت ویژه: Specfic activity = 100/10 =10 IU/mg protein

فعالیت ویژه نشان دهنده درجه خلوص یک آنزیم است. در مراحل خالص سازی آنزیم ها با حذف پروتئین های دیگر فعالیت ویژه آنزیم افزایش می یابد.

۳- فعالیت مولکولی

فعالیت مولکولی (Molecular activity, M.A)، تعداد واحدهای بین المللی آنزیم را به ازاء هر میکرومول آنزیم نشان می دهد. یعنی تعداد میکرومول های سوبسترا را که در دقیقه به ازاء یک میکرو مول آنزیم به محصول تبدیل می شود نشان می دهد.

٤- عدد برگردان

عدد برگردان (Turnover Number, TON)تعداد مولکول های سوبسترا را که توسط یک مولکول آنزیم دریک دقیقه به محصول تبدیل می شود نشان می دهد. جدول ۳-۸، TON برای آنزیم های مختلف را نشان می دهد.

در واقع عدد برگردان برابر با ثابت K_2 در رابطه زیر می باشد.

$$V_{max} = K_2 [E_t] \longrightarrow K_2 = \frac{V_{max}}{[E_t]}$$

عدد برگردان و فعالیت مولکولی از نظر عددی برابر هستند ولی از نظر مفهومی متفاوت می باشند.

جدول ۳-۸- عدد برگردان (Kcat) تعدادی ازآنزیم ها

آنزیم	سوبسترا	K_{cat} (ثانیه)$^{-1}$
کاتا لاز	H_2O_2	40/000/000
کربنیک انهیدراز	HCO_3^-	400/000
استیل کولین استراز	استیل کولین	14/000
بتا-لاکتاماز	پنیسیلین	2/000
فوماراز	فومارات	800

۱۱-۸ مهار کننده ها (inhibitors) فعالیت آنزیم ها را بصورت بر گشت پذیر و یا برگشت ناپذیر تغییر می دهند.

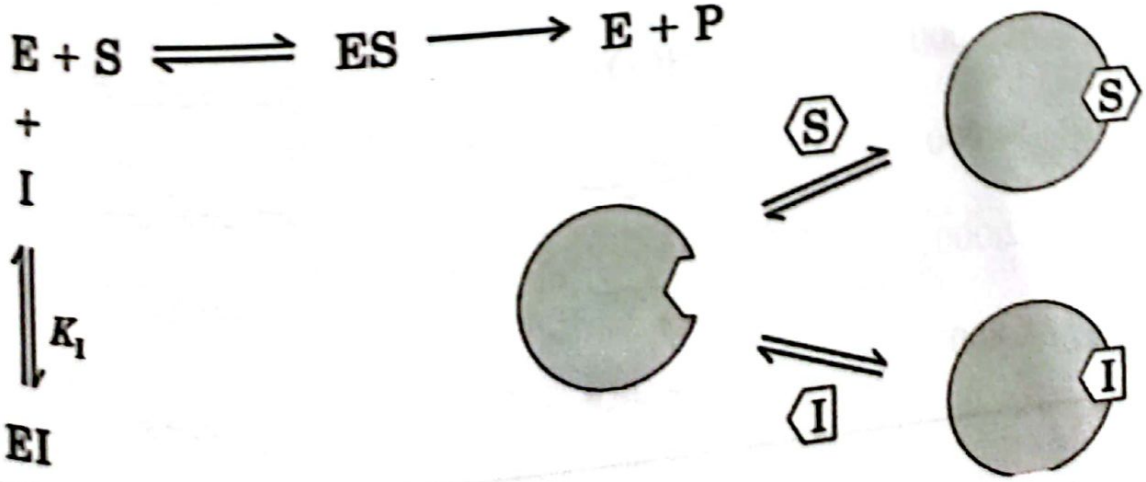
مهارُ کننده های آنزیمی ترکیباتی هستند که یا از اتصال طبیعی آنزیم به سوبسترا جلوگیری می کنند و یا در عمل کاتالیزوری آنزیم ها تداخل می نمایند و سرعت واکنش های آنزیمی را کاهش داده و یا متوقف می سازند. بسیاری از سموم مانند HCN و H_2S وبرخی از داروها مانند آسپرین مهار کننده های آنزیمی هستند. مطالعه مهار کننده های آنزیمی اطلاعات مهمی در مورد مکانیسم عمل بسیاری از داروها و سموم را فراهم می نماید.

مهار کننده ها دو دسته اند: مهار کننده های بر گشت پذیر (Reversible inhibitors) و مهار کننده های برگشت ناپذیر(Irreversible inhibitors). با خارج کردن مهار کننده های برگشت پذیر از محیط واکنش، فعالیت آنزیم باز می گردد. مهار کننده های برگشت پذیر بصورت غیر کووالانسی به آنزیم ها متصل می شوند و با خارج نمودن مهارکننده (I) از محیط عمل، فعالیت آنزیم باز خواهد گشت. در این دسته سه نوع مهار کننده مورد بحث قرار می گیرند.

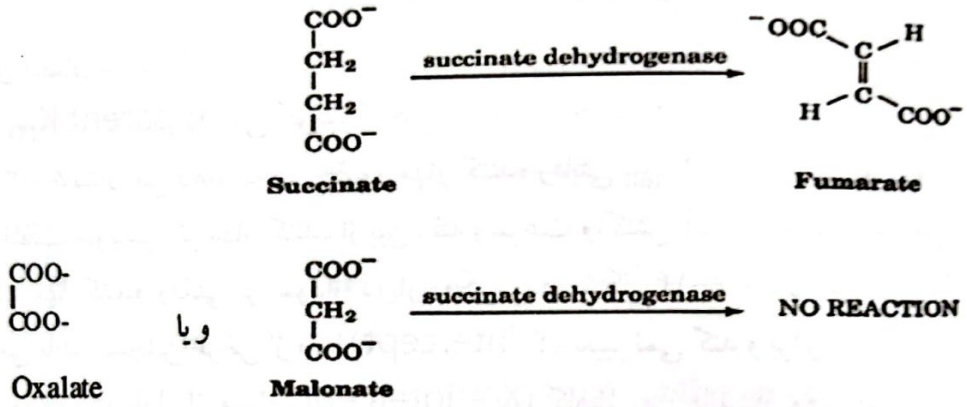
مهار کننده های برگشت پذیر (Reversible Inhibitors)

۱- مهار کننده های رقابتی (Competitive inhibitors) از نظر ساختمانی شبیه سوبسترا هستند.

مهارکننده های رقابتی از نظر ساختمانی به سوبسترا شباهت داشته و می توانند بصورت برگشت پذیر به جایگاه فعال آنزیم متصل شوند. بنابراین دراتصال به جایگاه فعال با سوبسترا رقابت می کنند و بعد از اتصال، آنزیم عمل کاتالیزوری بر روی آنها انجام نمی دهد (شکل ۱۱-۸). در غلظت ثابتی از آنزیم (E) سرعت واکنش در حضور یک منع کننده رقابتی(I) بستگی به غلظت سوبسترا(S) و I دارد.



I و S هر کدام به تنهایی به آنزیم آزاد (E) متصل می شوند. اتصال سوبسترا به آنزیم منجر به تشکیل محصول (P) می شود ولی با اتصال I به آنزیم واکنشی انجام نمی شود. مقادیر پارامترهای سینتیکی در حضور مهارکننده مقادیر ظاهری (Apparent) نامیده می شوند و در عدم حضور مهارکننده مقادیر واقعی گفته می شوند. توضیحات تکمیلی در رابطه با اثر مهار کننده های مختلف بر پارا مترهای سینتیکی در حاشیه ۹-۸ شرح داده شده است. در شکل ۱۲-۸ یک مثال برای مهار کننده رقابتی درشکل ۱۲-۸ نشان داده شده است.



شکل ۱۲-۸. مهار رقابتی آنزیم سوکسینات دهیدروژناز

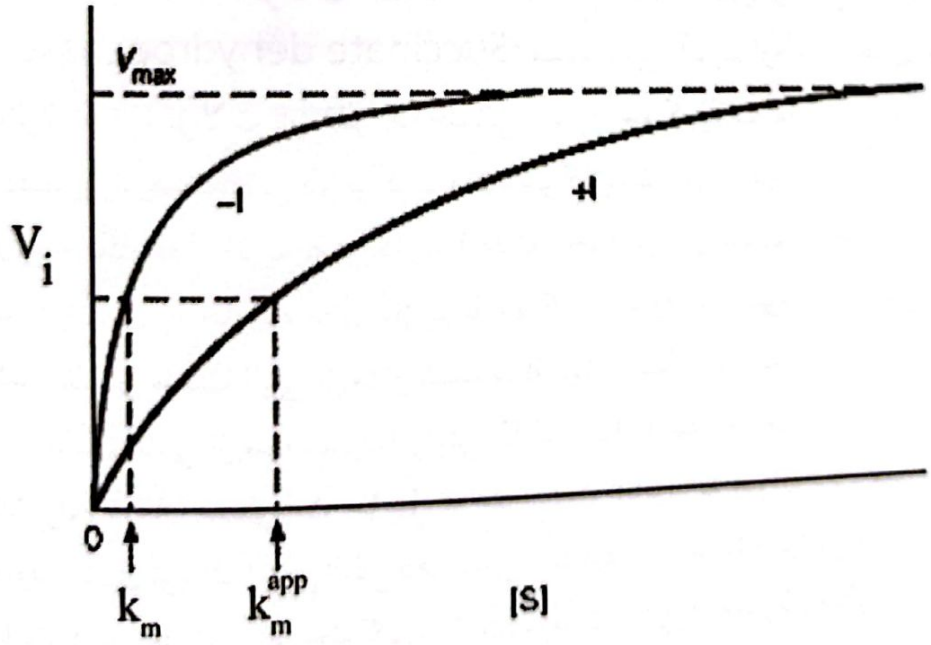
مالونات(Malonate) و اگزالات (Oxalate) منع کننده های رقابتی آنزیم سوکسینات دهیدروژناز (Succinate dehydrogenase) هستند. این آنزیم از آنزیم های چرخه کربس می باشد. مالونات و اگزالات از نظر ساختمانی مشابه سوکسینات بوده و سوبسترای آنزیم سوکسینات دهیدروژنازهستند. این دو ترکیب مانند سوکسینات دارای دو گروه ^{-}COO- می باشند که در اتصال به جایگاه فعال آنزیم نقش دارند (بعلت وجود بارهای مثبت در جایگاه فعال). لذا این دو مهارکننده دراتصال به جایگاه فعال آنزیم با سوکسینات رقابت نموده و موجب مهار فعالیت آنزیم می گـردند. در غلظت ثابتی از مهارکـننده، افزایش غلظت سوبسـترا میزان مهار را کاهش می دهد و یا درغلظت ثابتی از سوبسـترا، افزایش غلظت مهارکـننده موجب منع بیشتر فعالیت آنزیم می شود. مثلاً برای درمان مسمومیت حاصل از متانول، از اتانول به عنوان یک مهار کننده رقابتی استفاده می شود. متانول توسط آنزیم الکل دهیدروژناز کبدی به فرمالدئید تبدیل می شود که ماده ای سمی برای بافت ها می باشد. برای جلوگیری از مسمومیت ناشی از مصرف متانول، اتانول بصورت وریدی تزریق می شود. در نتیجه آنزیم الکل دهیدروژناز را بطور رقابتی مهار نموده و از تبدیل متانول به فرمالدئید جلوگیری نموده و موجب دفع متانول از طریق کلیه ها می گردد.

با توجه به مصرف اتانول بعنوان مهار کننده رقابتی جهت درمان، اتانول به نحوی تزریق می شود که غلظت کنترل شده ای از آن در خون برای چندین ساعت وجود داشته باشد تا زمان کافی برای دفع متانول وجود داشته باشد.

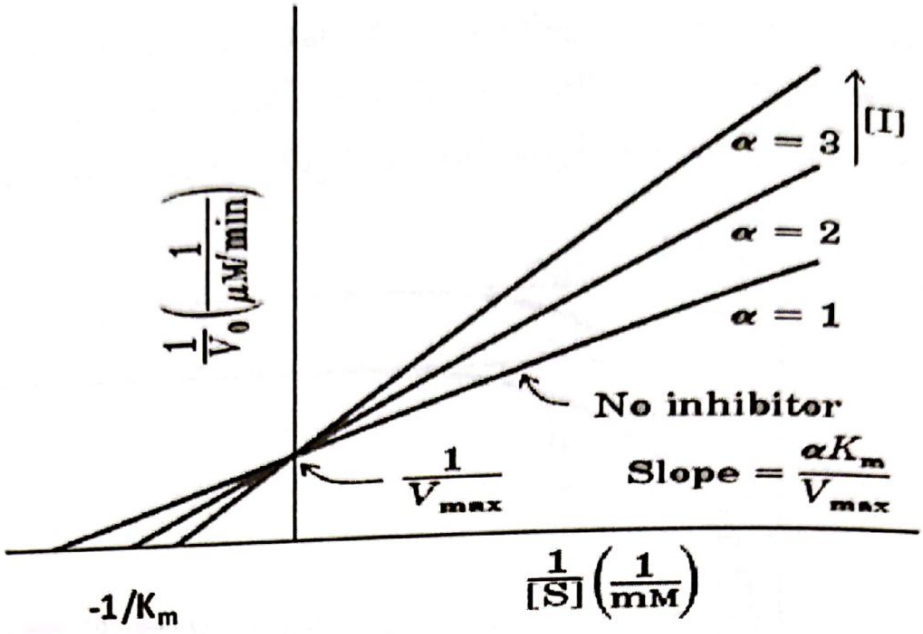
به هر حال، در حضور منع کننده رقابتی غلظت بیشتری از سوبسترا لازم است تا سرعت واکنش آنزیمی به نصف V_{max} برسد. به عبارت دیگر K_m افزایش می یابد. افزایش K_m را می توان به کاهش میل ترکیبی آنزیم به سوبسترا تعبیر نمود. لذا با افزایش غلظت S واکنش ($E + S \rightleftharpoons ES$) به سمت تشکیل ES و واکنش ($E + I \rightleftharpoons EI$) به سمت تجزیه EI به پیش می رود و آنزیم آزاد برای اتصال سوبسترا فراهم می گردد. K_m آنزیم برای سوبسترا در حضورمنع کننده را k_m ظاهری (apparent K_m) می گویند (شکل ۱۳-۸) و (حاشیه ۹-۸).

شکل ۱۳-۸ نشان می دهد که در حضور مهار کننده رقابتی V_{max} آنزیم تغییر نمی نماید زیرا با افزایش غلظت سوبسترا اثر مهار کننده از بین رفته وسرعت واکنش آنزیمی به ماکزیمم می رسد.

اثر یک مهارکننده رقابتی بر نمودار دوبار معکوس در شکل ۱۴-۸ نشان می دهد که شیب افزایش می یابد. همچنین عرض از مبدا (Y-intercept) تغییر نمی کند و برابر با $1/V_{max}$ خواهد بود درصورتی که طول از مبدا (X – intercept) کاهش می یابد. از روی نمودار می توان مقادیرشیب ظاهری و K_m ظاهری را بدست آورد.



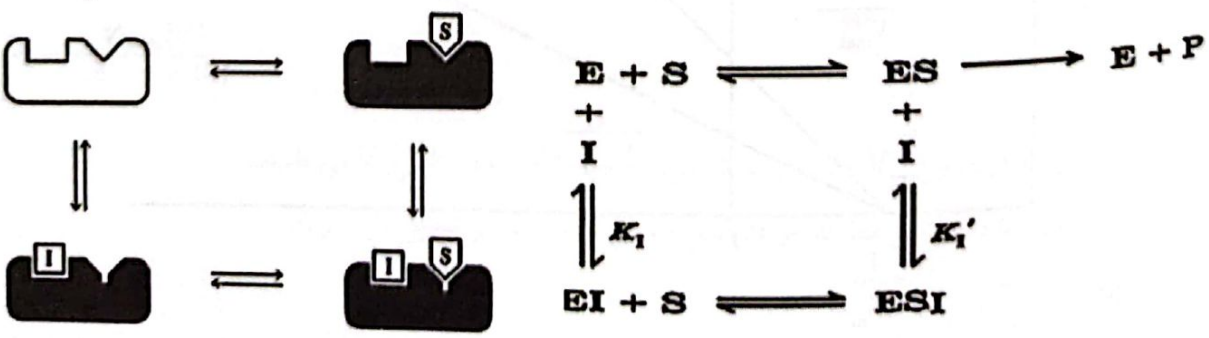
شکل۱۳-۸. منحنی میکائیلیس منتن در حضور (I+) وعدم حضور (I-) مهار کننده رقابتی



شکل ۱۴-۸. منحنی دو بار معکوس در حضور وعدم حضور مهار کننده رقابتی

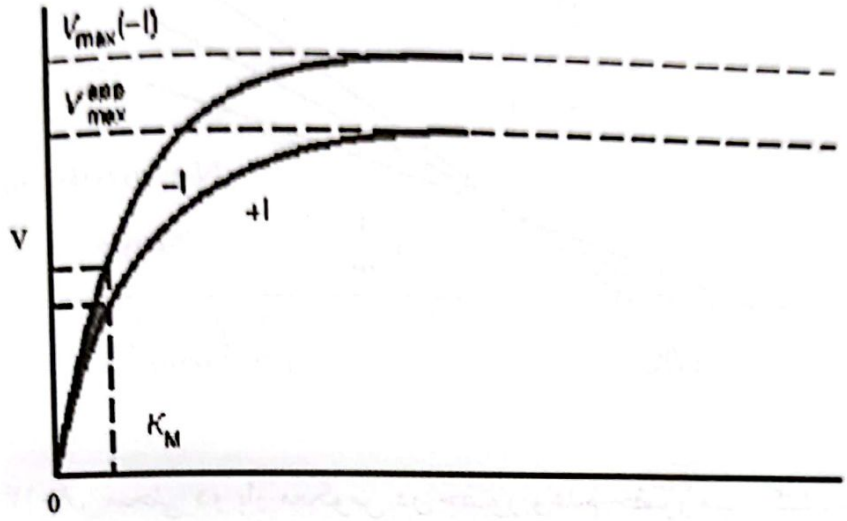
۲- مهار کننده های غیر رقابتی (Non-competitive inhibitors) **به جایگاهی غیر از جایگاه اتصال سوبسترا متصل می شوند.**

مهار کننده های غیر رقابتی شباهت ساختمانی با سوبسترا نداشته و برای اتصال به آنزیم با سوبسترا رقابت نمی کنند بلکه به جایگاهی غیر از جایگاه فعال آنزیم وصل می شوند. لذا S و I هیچکدام منعی برای اتصال دیگری به آنزیم ایجاد نمی کنند. مهار کننده های غیر رقابتی به هر دو فرم آنزیم آزاد (E) و کمپلکس ES متصل می شوند و درصورت اتصال مهار کننده به آنزیم رابطه ای بین غلظت [S] و میزان مهارکنندگی وجود ندارد و بنابراین با افزایش غلظت S اثر مهار کننده کم نمی شود (شکل ۱۵-۸).



شکل ۱۵-۸. مهار غیر رقابتی

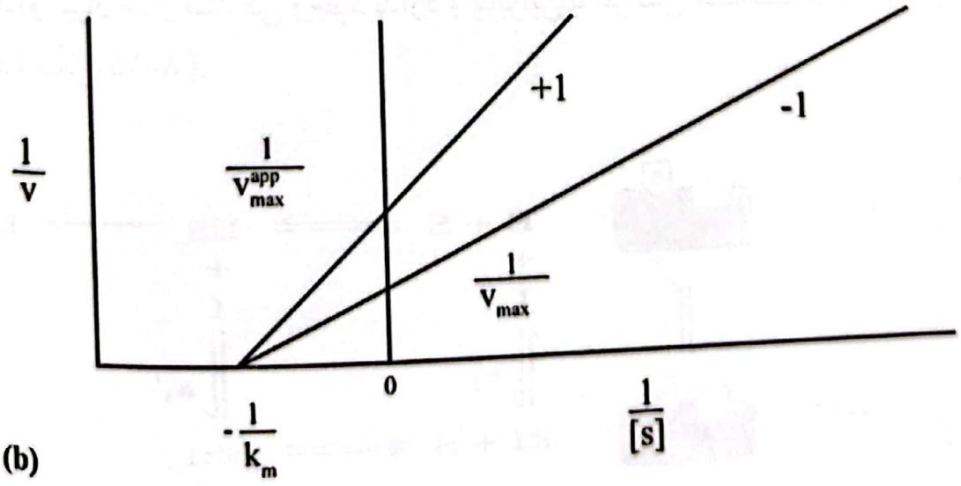
شکل ۱۶-۸ نشان می دهد در حضور مهار کننده غیر رقابتی k_m تغییر نمی کند ولی V_{max} کاهش می یابد. یعنی اتصال مهارکننده موجب کم شدن فعالیت کاتالیتیکی آنزیم می شود. درغلظت ثابتی از آنزیم فقط با حذف کامل I از محیط عمل، رسیدن به V_{max} امکان پذیر می باشد.



(a)

شکل ۱۶-۸. منحنی میکائیلیس منتن در حضور (I +) وعدم حضور (I -) مهار کننده غیر رقابتی

بنابراین در حضور یک مهارکننده غیر رقابتی درنمودار دوبارمعکوس(لاینویوربرک)، طول از مبدا تغییر نمی کند ولی عرض از مبدا افزایش می یابد. همچنین شیب خط به دلیل کم شدن V_{max} افزایش می یابد. در حضور مقادیر مختلف مهار کننده نمودارهای $1/V$ در مقابل $1/S$ دارای نقطه مشترک در طول از مبدا می باشند(شکل ۱۷-۸).



(b)

شکل ۱۷-۸. منحنی دو بار معکوس در حضور (I +) وعدم حضور (I -) مهار کننده غیر رقابتی

دو مثال از مهار کننده های غیر رقابتی بشرح زیر می باشند:

۱- اتصال یون های فلزی Ag^{+} , Hg^{++} و Pb^{++} با گروه SH- در جایگاه فعال که در عمل کاتالیتیکی بعضی ازآنزیم ها نقش دارد موجب کاهش فعالیت کاتا لیتیکی آنزیم می شود.

۲- بعضی یون های فلزی مانند Ca^{2+} به عنوان کو فاکتور برای برخی از آنزیم ها لازم هستند. یون Ca^{2+} برای فعالیت برخی از فاکتورهای انعقادی(آنزیم های انعقاد خون) لازم است. ترکیب EDTA (Ethylene diamine tetra acetic acid) با اتصال به Ca^{2+} باعث کاهش کارآئی ومهار غیر رقابتی آنزیم های انعقاد خون می گردد. در آزمایشگاه ها از EDTA بعنوان ماده ضد انعقاد خون استفاده می شود.

حاشیه ۹-۸ اثرات مهار کنندهای رقابتی و غیر رقابتی (۲۳۸) بر واکنش های آنزیمی

در واکنش $E + I \longrightarrow EI$

ثابت تفکیک اتصال یک مهار کننده (k_i) ازمعادله زیر بدست می آید:

$$K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

هر چه ki عدد کوچکتری باشد. نشان دهنده اتصال محکمتر I به آنزیم است.

در مهار رقابتی k_m ظاهری برابر با αk_m بوده و شیب ظاهری برابر $\alpha K_m / V_{max}$ است.

$$\alpha = (1+I/k_i) \Longrightarrow \text{(ظاهری)}\ k_m = k_m \times (1+I/k_i)$$

درحضور یک مهارکننده رقابتی معادله میکائیلیس- منتن بصورت زیر تبدیل می گردد.

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + [S]}$$

در مهار غیر رقابتی V_{max} ظاهری برابر با V_{max}/α بوده و شیب ظاهری نیزبرابر $\alpha K_m/V_{max}$ است.

درحضور یک مهارکننده غیر رقابتی معادله میکائیلیس- منتن بصورت زیر تبدیل می گردد.

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + \alpha [S]}$$

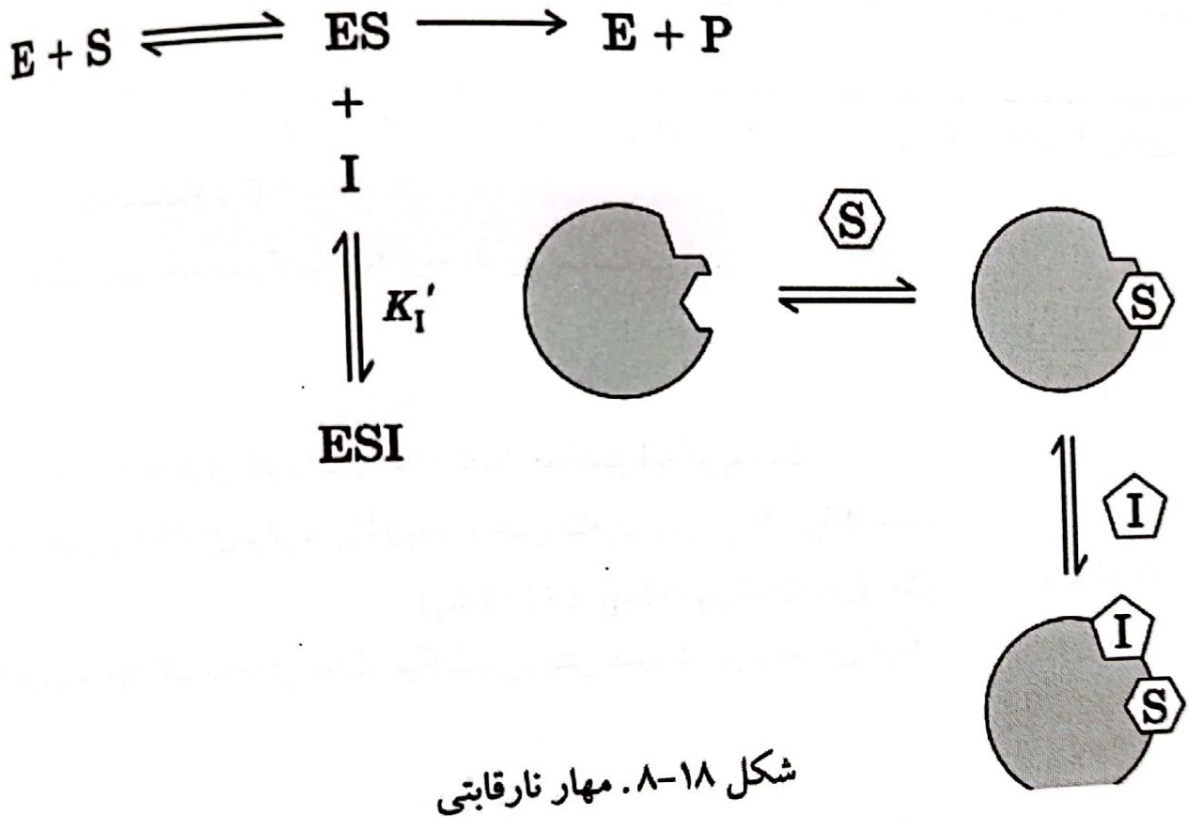
در مهارنارقابتی k_m ظاهری و V_{max} ظاهری به ترتیب برابر با k_m/α و V_{max}/α می باشند.

درحضور یک مهارکننده نارقابتی معادله میکائیلیس- منتن بصورت زیر تبدیل می گردد.

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + \alpha [S]}$$

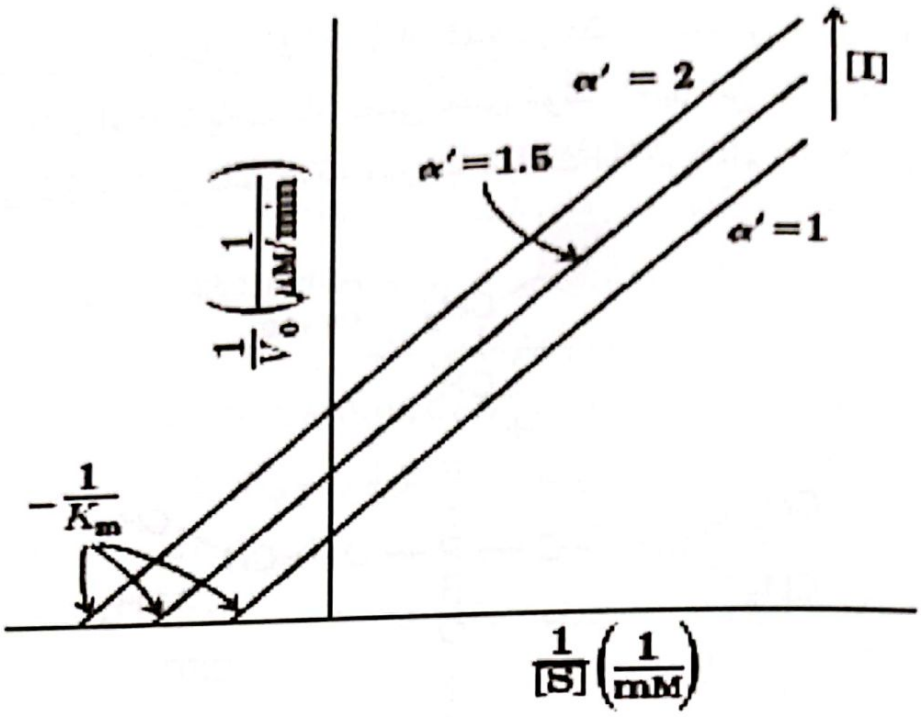
۳ - مهار کننده های نارقابتی (Uncompetitive inhibitors) فقط به کمپلکس ES متصل می شوند.

مهار کننده های نا رقابتی به جایی غیر از جایگاه فعال آنزیم متصل می شوند اما فقط به کمپلکس ES اتصال می یابند. این نوع مهار در مورد آنزیم هایی که دارای دو یا چند سوبسترا هستند دیده می شود. بعد از اتصال مهار کننده به کمپلکس آنزیم - سوبسترا فعالیت کاتالیتیکی آنزیم کاهش می یابد. زیرا بخشی از مولکول های آنزیم به شکل ESI غیر فعال تبدیل می گردند و بنابراین مقدار V_{max} کاهش می یابد (شکل ۱۸-۸).



شکل ۱۸-۸. مهار نارقابتی

درحضور یک مهار کننده نارقابتی ES به ESI تبدیل شده وغلظت ES کاهش می یابد بنابراین در رابطه تعادلی شکل ۱۸-۸ واکنش ترکیب آنزیم و سوبسترا به سمت تشکیل ES پیشرفت می نماید. گویی که در حضور مهار کننده میل ترکیبی E و S افزایش می یابد که این به منزله کاهش K_m ظاهری نسبت به K_m واقعی خواهد بود. بدین ترتیب با مهار نارقابتی آنزیم ها V_{max} و K_m هر دو کاهش می یابند. لذا در منحنی دوبارمعکوس عرض از مبدا و طول از مبدا هردو افزایش یافته و شیب خط تغییرنمی کند. همچنین در حضور مقادیر مختلف مهار کننده نمودارهای 1/V در مقابل 1/S بصورت خطوط موازی در می آیند (شکل ۱۹-۸ و حاشیه ۹-۸). درمهار نارقابتی آنزیم ها، با افزایش غلظت سوبسترا اثر مهار کنندگی کم نمی شود.



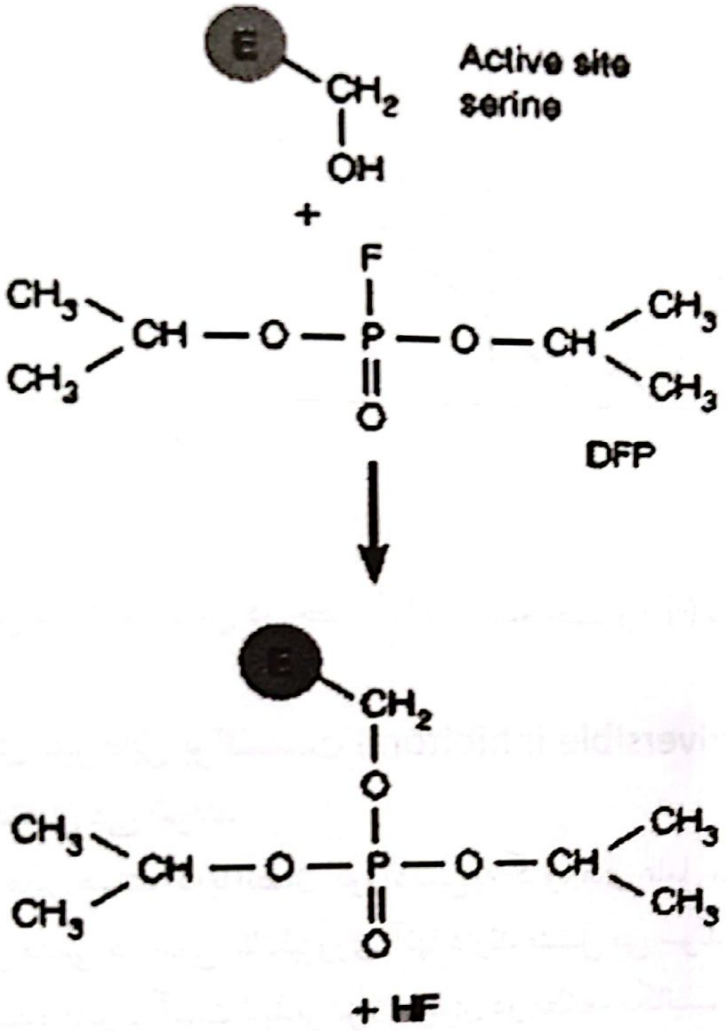
شکل ۱۹-۸. منحنی دو بار معکوس در حضور (I+) وعدم حضور (I-) مهار کننده نارقابتی

٤- مهار کننـــده های غیر قابل برگشـــت (Irriversible inhibitors) از طریق اتصال کووالانسی به آنزیم متصل می شوند.

این گروه مهار کننده هایی هستند که با اتصال کووالانسی به گروه های عامل موجود در جایگاه های فعال آنزیم ها که نقش مهمی در عمل کاتالیزوری آنها دارند متصل می شوند و فعالیت آنزیم ها را مهارمی نمایند. مهار کننده های برگشت ناپذیر ابزار مفیدی در مطالعه مکانیسم واکنش های آنزیمی و مکانیسم عمل داروها هستند. از این نوع مهارکننده ها برای تشخیص و یافتن اسید های آمینه ای که در جایگاه فعال آنزیم ها نقش اساسی دارند استفاده می شود. از این دسته مهار کننده ها می توان از ترکیباتی مانند گازهای اعصاب (Sarin) و برخی از سموم حشره کش مانندMalathion نـــام برد. هر دو ســـم از دســـته ترکیباتی به نام ارگـــانو فســـفات ها (Organophosphates) بوده و می توانند بطور غیر قابل برگشت به عامل OH موجود در ریشه Ser در جایگاه فعال آنزیم متصل شده و سبب مهار آنزیم بصورت غیر قابل برگشت گردند.

یکی از ارگانو فسفاتها ترکیب Diisopropylfluorophosphate (DFP) است که با Ser (اسید آمینه شماره ۱۹۵) در جایگاه فعال آنزیم کولین استراز(Cholinesterase) ترکیب و موجب غیر فعال شدن آنزیم می گردد (شکل ۲۰-۸).

این آنزیم باعث تجزیه استیل کولین آزاد شده در فضای سیناپس های عصبی- عضلانی می گردد تا عضلات آماده دریافت پیام عصبی بعدی شوند. با مهار این آنزیم غلظت استیل کولین در سیناپس های فوق افزایش دائمی یافته ودر نتیجه باعث انقباض دائم واز کار افتادگی عضلات می گردد.



شکل ۲۰-۸. مهار غیر قابل برگشت

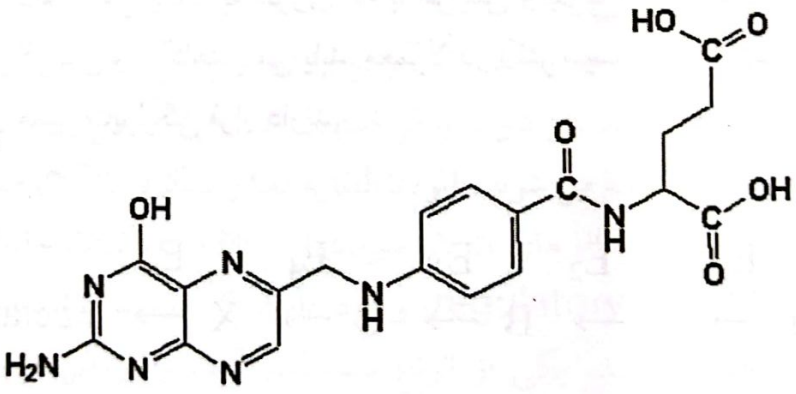
۵- مهارکننـــده های متابولیکی (Metabolic Inhibitors) یا آنتی متابولیـــت ها (Antimetabolites) کاربردهای دارویی دارند.

متابولیت ها (Metabolites) ترکیبات بینابینی و یا محصولات نهایی مسیرهای متابولیکی می باشند و به عبارتی متابولیت ها سوبستراهای طبیعی آنزیم های مختلف هستند.

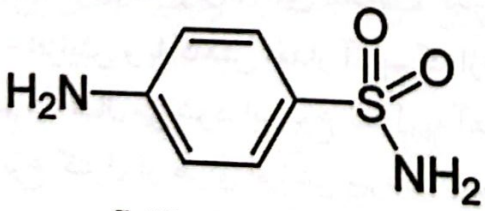
آنتی متابولیت ها ترکیباتی هستند که غالبا از نظر ساختمانی مشابه متابولیت ها و سوبستراهای طبیعی بوده و در صورتیکه به موجودات داده شوند از متابولیسم سوبستراهای طبیعی و متابولیت ها جلوگیری می نمایند. در نتیجه می توانند رشد یک ارگانیزم را منع و یا متوقف نمایند. آنتی متابولیت ها از رشد میکروارگانیزم های بیماری زا و سلول های توموری جلوگیری می کنند.

دسته ای از آنتی متابولیت ها که رشد باکتری های بیماری زا را منع کرده ولی بر روی سلول های میزبان اثری ندارند همان آنتی بیوتیک ها (Antibiotics) هستند. گروه دیگری از آنتی متابولیت ها که از رشد و تکثیر سلول های توموری و سرطانی جلوگیری می نمایند و رشد سلول های طبیعی را هم به مقدار کمی منع می کنند داروهای ضد سرطان (Anti- tumor agents) می باشند.

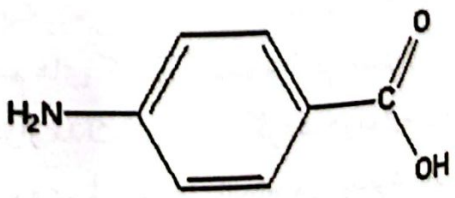
آنتی متابولیت ها منع کننده های رقابتی آنزیم های خاصی هستند. مانند سولفانیل آمید ها (Sulfanilamides) که داروهای ضد باکتری می باشند. یکی از عوامل لازم برای رشد باکتری ها ترکیب پارا آمینو بنزوئیک اسید (Para aminobenzoic acid) است که باکتری ها برای سنتز اسید فولیک به آن نیاز دارند. اسید فولیک برای سنتز اسیدهای نوکلئیک و رشد و تکثیر سلول ها لازم می باشد. داروی سولفانیل آمید که ار نظر ساختما نی شبیه پارا آمینوبنزوئیک اسید می باشد از سنتز اسید فولیک در باکتری ها جلوگیری نموده و رشد آنها را کاهش داده و یا متوقف می نماید. مصرف سولفانیل آمید بر سلول های انسان اثری نداشته و فقط مانع رشد و تکثیر باکتری ها در بدن می گردد. انسان اسید فولیک را بعنوان ویتامین از طریق مواد غذایی دریافت می نماید واصولا نمی تواند آن را از پارا آمینوبنزوئیک اسید بسازد (شکل۲۱-۸).



Folic Acid (pteroylglutamic acid)



Sulfanilamide



p-Aminobenzoic Acid

شکل ۲۱-۸. ساختمان های اسید فولیک، سولفانیل آمید و پارا آمینوبنزوئیک اسید

۱۲-۸ آنزیم های تنظیم کننده (Regulatory enzymes) فعالیت مسیرهای متابولیکی را تعدیل می نمایند.

در متابولیسم سلولی برخی از مسیرهای متابولیکی به صورت مجموعه ای از واکنش های پشت سر هم انجام می شوند و تولید یک محصول نهایی می نمایند. مانند مسیر تبدیل گلوکز به لاکتات که از چند واکنش تشکیل شده و هر واکنش توسط آنزیم خاصی کاتالیز می شود (شکل ۲۲-۸). چنین سیستمی هایی را که محصول واکنش اولین آنزیم، سوبسترا ی آنزیم واکنش بعدی می باشد سیستم های چند آنزیمی (Multienzyme systems) می گویند. در چنین مجموعه ای بیشتر آنزیم ها از الگوهای سینتیکی میکائیلیس- منتن پیروی می کنند. در این مجموعه ها حداقل یک آنزیم (اولین آنزیم مسیر) یا تعداد بیشتری، به عنوان آنزیم تنظیمی (Regulatory) وجود دارند که سرعت کلی مسیر را تنظیم کنند. این آنزیم ها از الگوی سینتیکی دیگری نسبت به آنزیم های غیر تنظیمی پیروی می نمایند. آنزیم های تنظیمی، کاتالیز آهسته ترین واکنش یا واکنش محدود کننده سرعت (Rate limiting step) رابه عهده دارند که بیشترین انرژی فعال کننده را نسبت به واکنش های دیگر دارند. فعالیت کاتالیتیکی این دسته از آنزیم ها تحت تاثیر علائمی در سلول افزایش یا کاهش می یابد. به طوری که با افزایش و یا کاهش فعالیت آنزیم تنظیم شونده، سرعت کل مسیر افزایش و یا کاهش می یابد. معمولا در اکثر سیستم های چند آنزیمی، آنزیم های تنظیمی درابتدای مسیر متابولیکی قرار دارند.

$$\text{Glu} \xrightarrow{E_1} \text{A} \xrightarrow{E_2} \text{B} \xrightarrow{E_3} \text{C} \xrightarrow{E_4} \text{X} \xrightarrow{E_n} \text{Lactate}$$

شکل ۲۲-۸. سیستم چند آنزیمی مسیر تجزیه گلوکز

فعالیت آنزیم ها از راه های مختلف کنترل می شود.

۱ - افزایش و یا کاهش مقدار آنزیم که ازطر یق مکانیسم های کنترل کننده مراحل سنتز و تجزیه آنزیم ها اعمال می شود. این نوع کنترل به آهستگی و در دراز مدت انجام می گردد. درموارد زیادی این نوع کنترل از طریق افزایش سرعت نسخه برداری از روی ژن آنزیم انجام می پذیرد. در این صورت به این نوع کنترل فعالیت آنزیم ها، القا آنزیم (Enzyme Induction) گفته می شود. لازم به ذکر است که افزایش سنتز سرعت نسخه برداری، افزایش سنتز و ورود mRNA به سیتوپلاسم و ترجمه آن به پروتئین روندی زمان بر می باشد.

۲- افزایش و یا کاهش فعالیت آنزیم ها از طریق اتصال غیر کووالانسی ترکیباتی با وزن مولکولی کم به ساختمان آنزیم:

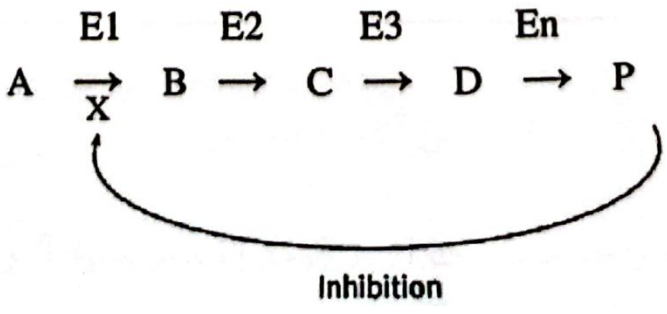
این ترکیبات افکتور(Effector) و یا مادولاتور(Modulator) نامیده شده و به این نوع تنظیم فعالیت آنزیم ها تنظیم آلوستریک (Allosteric regulation) گفته می شود.

۳- تنظیم کووالانسی فعالیت آنزیم ها (Covalent modification)

در موارد زیادی تنظیم فعالیت آنزیم ها از طریق ایجاد پیوند کووالانسی بین بعضی عوامل شیمیایی موجود در ریشه های جانبی اسیدهای آمینه (مانند عامل هیدروکسیل در سرین، ترئونین و تیروزین) و برخی مولکول های خاص مانند فسفات انجام می گیرد. در مواردی نیز فعالیت آنزیم با هیدرولیز یک یا چند پیوند پپتیدی و جدا شـدن یک یا چند قطعه کوتاه پلی پپتیدی از ساختمان آن تنظیم می گردد. مثلا پپسینوژن غیر فعال از این طریق به پپسین فعال تبدیـل مـی گردد.

فعالیت آنزیم های آلوستریک (Allosteric enzymes) درپاسخ به اتصال یک افکتور بصورت برگشت پذیر تغییر می یابد.

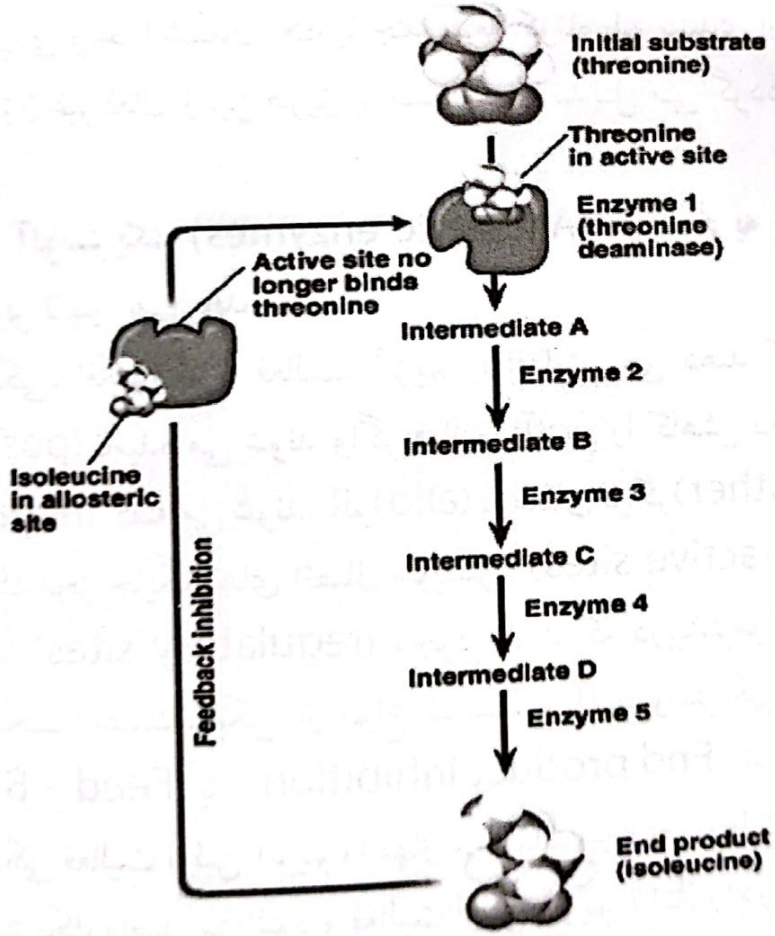
در تنظیم آلوستریکی، افکتورها یا فعالیت آنزیم را افزایش می دهند که افکتورهای مثبت (positive effectors) نامیده می شوند واگر فعالیت آنزیم را کاهش دهند افکتورهای منفی (negative effectors) گفته می شوند. آلو(allo) به معنای دیگر(other) است. در ساختمان آنزیم های آلوستریک بجز جایگاه های اتصال سوبسترا (active sites) جایگاه های دیگری برای اتصال افکتورها (regulatory sites) وجود دارند که دربیشترموارد این جایگاه ها از یکدیگر مستقل و مجـزا هستند. یکی از انواع تـنظیم آلـوستریکی منـع پس نورد (Feed – Back inhibition) یا End product inhibition است که محصول نهایی در یک مسیر متا بولیکی فعالیت اولین آنزیم را مهار می نماید. چنانچه غلظت محصول نهایی زیاد شود، به جایگاه آلوستریک متصل می شود و فعالیت اولین آنزیم (E1) را در مسیر کاهش می دهد (حاشیه ۱۱-۸).



CamScanner

حاشیه ۱۱-۸ نمونه ای از تنظیم آلو ستریک

سنتز اسید آمینه ایزولوسین (Ile) از ترئونین(Thr) در باکتری ها طی پنج واکنش آنزیمـی صورت می گیـرد اولین آنزیم ترئونین دی آمیناز(Thr. Deaminase) یک آنزیم آلوستریک است که فعالیت آن توسط Ile کاهش می یابد. Ile به عنوان افکتور منفی آنزیم ترئونین دی آمیناز عمل می نماید. زمانیکه سنتز Ile افزایش یافته و مقدار آن در سلول های باکتری زیاد شود در اینصورت به جایگاه آلوستریک ویژه خود بر روی اولین آنزیم وصل می شود و ساختمان فضائی آنزیم رابه نحوی تغییر می دهد که میل ترکیبی آن برای Thr کاهش می یابد. لذا فعالیت آنزیم مذکور بصورت پس نورد (Feed back inhibition) کم می شود.

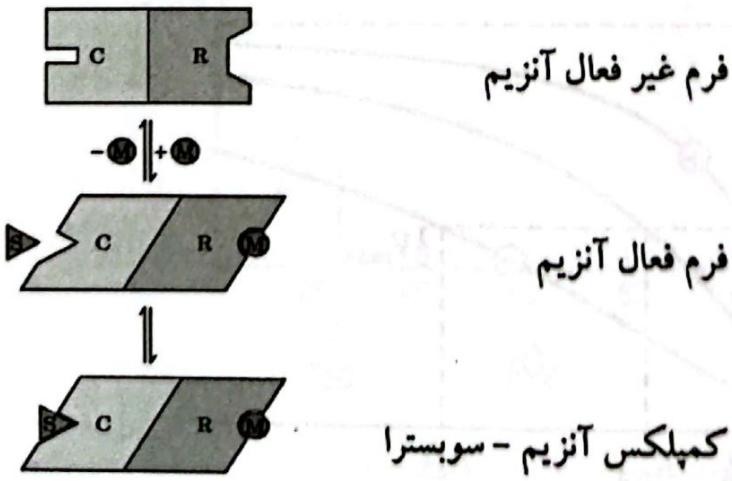


CamScanner

آنزیم های آلوستریک از سینتیک میکا ئیلیس- منتن پیروی نمی کنند.

ساختمان آنزیم های آلوستریک بزرگتر و پیچیده تر از آنزیم های غیر تنظیمی است و غالبا از دو یا چند رشته پلی پپتیدی (ساختمان چهارم) تشکیل شده اند. در ساختمان آنزیم های آلوستریک به جز جایگاه فعال (Catalytic, C) یک یا چند جایگاه تنظیمی (Regulatory, R) یا آلوستریک وجود دارند که جایگاه اتصال افکتورهای مختلف می باشد. آنزیم های آلوستریک از نظر ساختمانی در دو حالت غیر فعال (Tense,T)، و فعال (Relaxed, R) وجود دارند.این دوفرم دریک رابطه تعادلی به یکدیگر تبدیل می شوند(شکل ۲۳-۸). افکتور مثبت به فرم R متصل شده و آن را پایدار می نماید. بنا براین واکنش تعادلی به سمت تبدیل مولکـول های فرم T به فرم R میل می نماید. برعکس افکتور منفی به فرمTمتصل شده و آنرا پایدار نموده وباعث پیشرفت واکنش تعادلی در جهت تبدیل فرم های R فعال به T غیر فعال می گردند.

منحنی سرعت اولیه در برابر غلظت سوبسترا [S] برای آنزیم های غیر تنظیمی بصورت هذلولی راسـت گوشه بوده ولی این منحنی برای آنزیم های آلوسـتریک بصـورت سـیگمـوئیدی (Sigmoid) یا به شکل S می باشد و از سینتیک میکا ئیلیس- منتن تبعیت نمی کند. رفتار سینتیکی سیگموئیدی به علت همیاری (Cooperativity) بین زیر واحد های پروتئینی، درساختمان آنزیم آلوستریک است(شکل ۲۴-۸). منظور از همکاری بین زیر واحدها اینست که اتصال یک افکتور به یک زنجیره پروتئینی (زیر واحد) موجب تغییراتی در آرایش فضائی زیر واحدهای مجاور می گردد به نحـوی که میل ترکـیبی زیـر واحـد های دیـگر را برای سوبسـترا افزایـش (همیاری مثبت positive cooperativity) و یـا کـاهش (همیاری منفی negative cooperativity) می دهد.

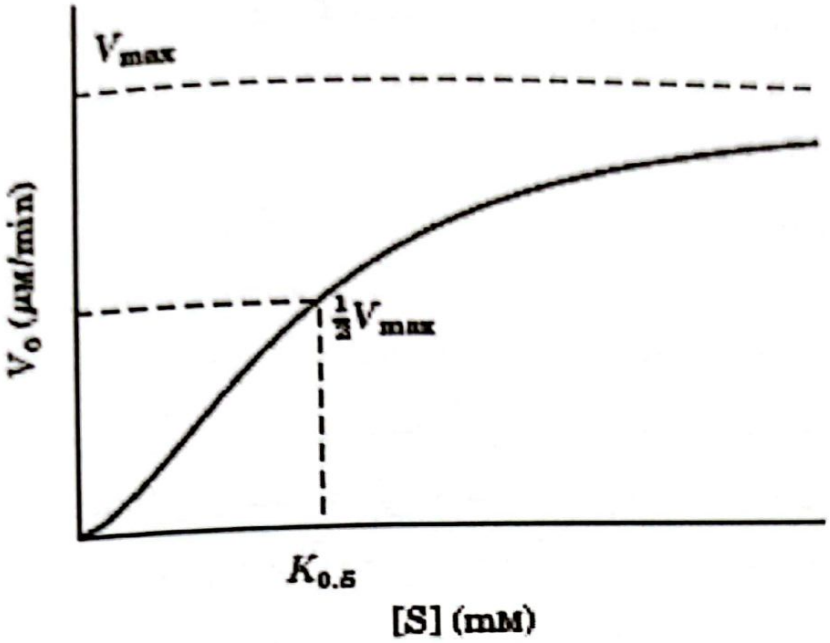


فرم غیر فعال آنزیم

فرم فعال آنزیم

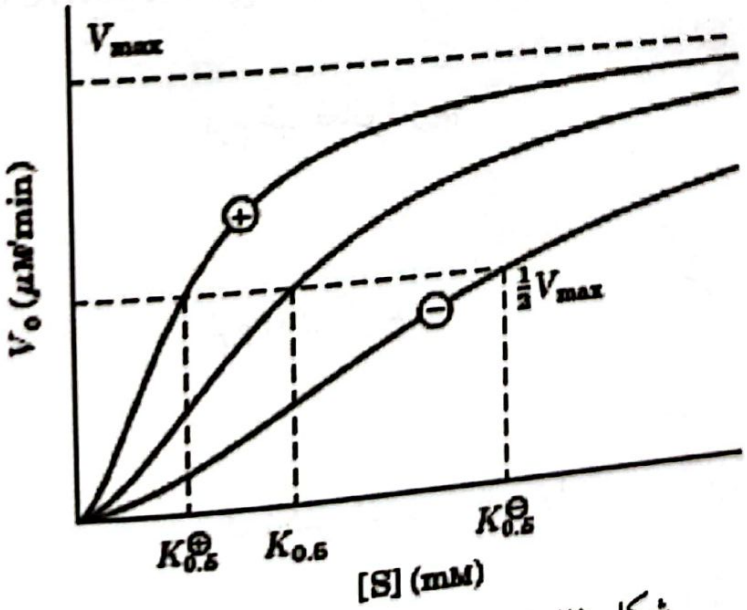
کمپلکس آنزیم - سوبسترا

شکل۲۳-۸. همیاری زیر وا حد ها در یک آنزیم آلوستریک. سوبسترا S و افکتور M می باشند.



شکل ۲۴-۸. سینتیک سیگموئیدی آنزیم آلوستریک

آنزیم های آلوستریک از رابطه میکا ئیلیس- منتن پیروی نمی نماید و K_m بدست آمده از منحنی سیگموئیدی $K_{0.5}$ نامیده شده که عبارت است ازغلظتی از سوبسترا که سرعت واکنش آنزیم آلوستریک در آن برابر $1/2V_{max}$ است (شکل ۲۴-۸). در حضور افکتورهای مثبت (activators) منحنی سیگموئیدی آنزیم های آلوستریک بطرف چپ متمایل شده و میل ترکیبی آنزیم برای سوبسترا افزایش می یابد (کم شدن $K_{0.5}$). ولی درحضور افکتورهای منفی (inhibitors) منحنی به سمت راست متمایل شده و میل ترکیبی آنزیم برای سوبسترا کاهش (افزایش $K_{0.5}$) می یابد (شکل ۲۵-۸).

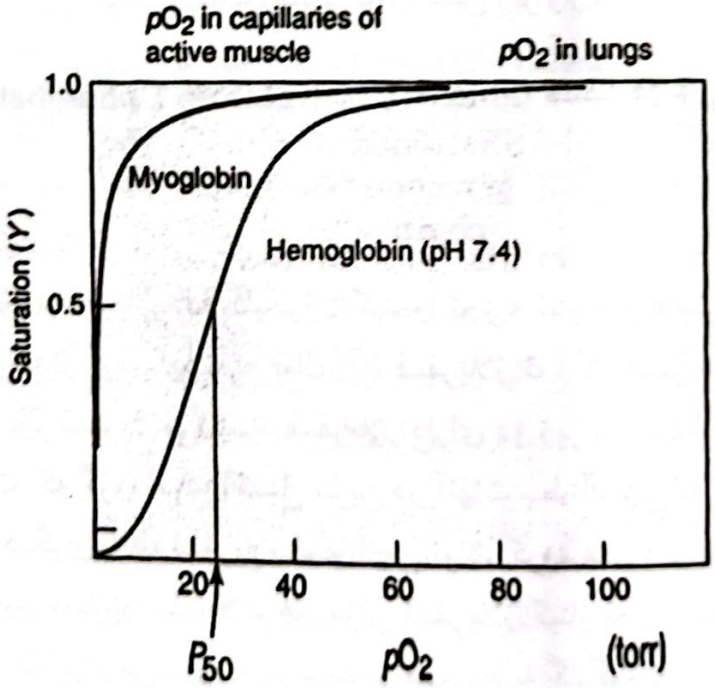


شکل ۲۵-۸. سینتیک کنترل آلوستریکی

درحاشیه ۱۲-۸ خاصیت آلوستریکی هموگلوبین (Hb) که نشانگر همیاری بین زنجیره های پروتئینی سازنده آن می باشد توضیح داده شده است.

حاشیه ۱۲-۸ خاصیت آلو ستریک هموگلوبین

منحنی درصد اشباع هموگلوبین با اکسیژن درمقابل فشار اکسیژن نشانگر خاصیت آلوستریک این پروتئین و تعاون وهمیاری بین زنجیره های پروتئینی سازنده آن در مقایسه با میوگلوبین(Mb) است. ساختمان هموگلوبین از چهار زنجیره پلی پپتیدی تشکیل شده است. برای اتصال یا جداشدن اکسیژن به زیر واحدها همیاری وجود دارد. مثلاً در ریه ها با بالا بودن فشار O_2، اتصال اکسیژن به اولین زیر واحد موجب تغییرات ساختمانی در آن زیر واحد و متعاقباً در زیر واحدهای دیگر می گردد به گونه ای که باعث افزایش میل ترکیبی آنها برای اکسیژن می شود (تشکیل فرم R). در صورتیکه در بافت ها با کم بودن فشار اکسیژن میل ترکیبی هموگلوبین با اکسیژن کم شده (تشکیل فرم T) واکسیژن آزاد می گردد. لذا خاصیت آلو ستریک هموگلوبین باعث می شود که این مولکول ناقل خوبی برای اکسیژن باشد ولی میوگلوبین چنین خاصیتی را ندارد.



فعالیت بعضی از آنزیم ها از طریق اتصال کووالانسی تنظیم می گردد.

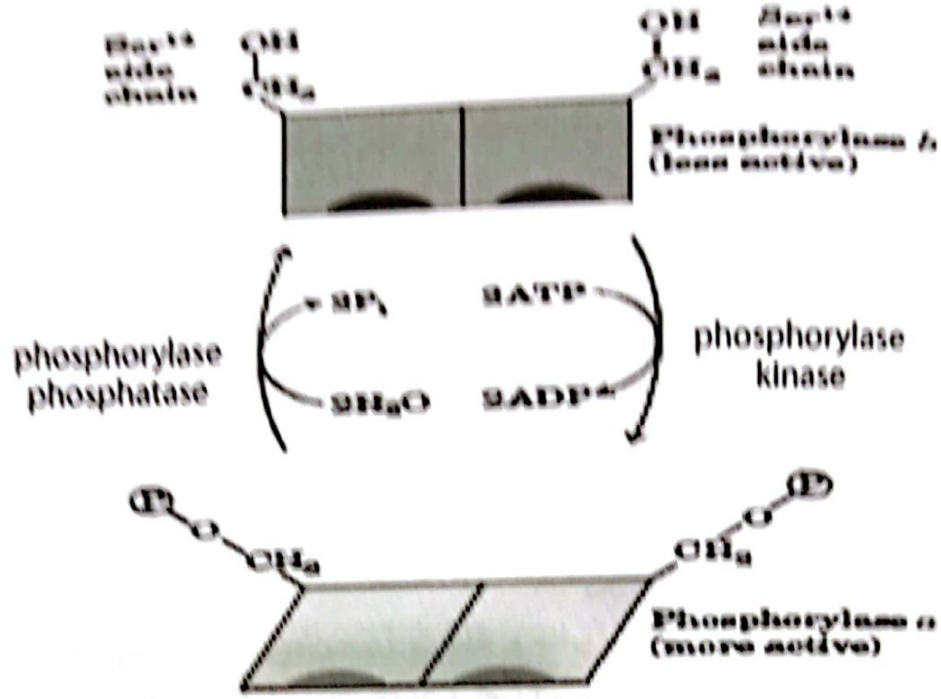
فعالیت برخی از آنزیم ها با تغییرات کووالانسی بعضی از اسیدهای آمینه موجود در ساختمان آنها تنظیم می گردد. مثلاً اضافه شدن گروه فسفات به گروه هیدروکسیل اسیدهای آمینه تیروزین، سرین و ترئونین موجود در زنجیره پلی پپتیدی موجب تغییر فعالیت آنزیم می شود. این تغییر در بعضی از آنزیم ها منجر به افزایش فعالیت و در برخی دیگرموجب کاهش فعالیت آنزیمی می گردد. دراینگونه آنزیم ها غالبا فعالیت آنزیمی به صورت برگشت پذیر تغییر می کند. مثلا مولکول های فسفات دریک واکنش هیدرولیز از آنزیم جدا می گردند.اضافه شدن و جدا شدن گروه های تغییر دهنده فعالیت آنزیم خود توسط آنزیم های مختلف صورت می گیرد.

اضافه شدن فسفات (فسفوریلاسیون) توسط آنزیم های کیناز (Kinases) انجام می شود. کینازها واکنش انتقال گروه فسفات از ATP به عامل هیدروکسیل اسید های آمینه و ایجاد پیوند استری بین آنها را کاتالیز می نماید. هیدرولیز و جدا شدن فسفات (دفسفوریلاسیون) توسط فسفاتازها (Phosphatases) صورت می گیرد. به جز گروه فسفات اضافه شدن یا جداشدن گروه های دیگر مثل گروه متیل یا واحدهای نوکلئوتیدی نیز میتوانند موجب تغییر فعالیت آنزیمی گردند.

یکی از مثال های مهم تنظیم فعالیت توسط فسفریلاسیون، را می توان در آنزیم گلیکوژن فسفریلاز ماهیچه ای یا کبدی مشاهده نمود که واکنش زیر را کاتالیز می نماید.

$$\underset{\text{Glycogen}}{(\text{Glucose})_n} + P_i \longrightarrow \underset{\text{Shortened glycogen chain}}{(\text{glucose})_{n-1}} + \text{glucose 1-phosphate}$$

آنزیم گلیکوژن فسفریلاز که گلیکوژن کبد را تجزیه نموده و باعث افزایش گلوکز خون می شود به دو صورت وجود دارد. فرم فعال آن فسفریلاز a ، که فسفریله است و فرم غیر فعال آن فسفریلاز b که غیر فسفریله می باشد. فسفریلاز دارای دو زیر واحد است که هر کدام دارای یک ریشه سرین است که گروه هیدروکسیل سرین در آنها توسط آنزیمی به نام فسفریلاز کیناز فسفریله می شود. آنزیم دیگری به نام فسفریلاز فسفاتازمی تواند گروه های فسفات را هیدرولیز نماید. وقتی گلوکز خون پایین باشد توسط علائم هورمونی فسفریلاز کیناز فعال شده و گلیکوژن فسفریلاز را فسفریله و به فرم فعال در می آورد و درنتیجه موجب تجزیه گلیکوژن شده و در نهایت، گلوکز آزاد شده به جریان خون راه یافته و قند خون را افزایش می دهد. چنانچه میزان قند خون افزایش یابد آنزیم فسفاتاز فعال می شود و گلیکوژن فسفریلاز a را دفسفریله کرده و بفرم غیر فعال (فرمb) تبدیل می نماید (شکل ۲۶-۸).

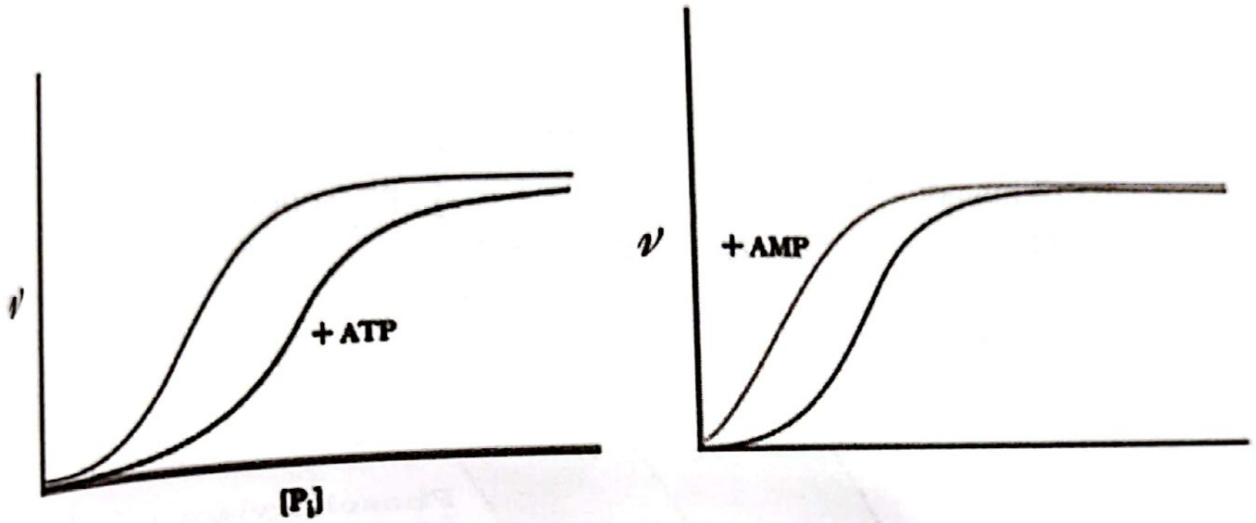


شکل ۲۶-۸. تنظیم کووالانسی فعالیت آنزیم گلیکوژن فسفریلاز

یکی از دیگر راه های فعال شدن آنزیم ها بصورت کووالانسی، جدا شدن قطعات پپتیدی از ملکول های غیر فعال یا پروآنزیم (proenzyme)، پیش ساز یا زیموژن (zymogen) آنها می باشد. این اشکال غیر فعال آنزیم در شرایط خاص به فرم فعال آنزیم تبدیل می شوند. مانند پپسینوژن که فرم غیر فعال و پیش ساز آنزیم پپسین است و در شرایط اسیدی معده به فرم فعال (Pepsin) تبدیل می شود. چند آنزیم دیگر که در تجزیه پروتئین ها دخالت دارند نیز ابتدا به فرم غیر فعال ساخته می شوند و درشرایط مناسب تحت تاثیر پروتئولیز، و جداشدن قطعات پپتیدی به صورت آنزیم فعال در می آیند. تبدیل کیموتریپسینوژن به کیموتریپسین، تشکیل پپسین از فرم پیش ساز و یا فعال شدن فاکتورهای انعقادی(ترومبین) از فرم های پیش ساز و بزرگتر بر اساس همین مکانیسم می باشد.

فعالیت آنزیم های تنظیمی ممکن است از چندین راه کنترل شود. مثلا فعالیت آنزیم گلیکوژن فسفوریلاز بجز مکانیسم فسفریلاسیون- دفسفریلاسیون به صورت آلوستریک نیز تنظیم می شود. مثلا ATP به عنوان یک افکتور منفی موجب کاهش میل ترکیبی آنزیم برای سوبسترا و افزایش $K_{0.5}$ آن می شود. درصورتیکه AMP بعنوان یک افکتور مثبت است که میل ترکیبی آنزیم برای سوبسترا را افزایش می دهد و $K_{0.5}$ آن را کاهش می دهد (شکل ۲۷-۸).

همچنین یک آنزیم آلوستریک ممکن است جایگاه های آلوستریک برای افکتورهای مختلف داشته باشد بنابراین فعالیت یک آنزیم آلوستریک توسط ترکیبات مختلف کنترل می شود.



شکل ۲۷-۸. تنظیم آلوستریک آنزیم گلیکوژن فسفریلاز

۸-۱۳ ایزوآنزیم ها یا ایزوزیم ها (Isoenzymes = Isozymes) اشکال مختلف مولکولی یک آنزیم هستند.

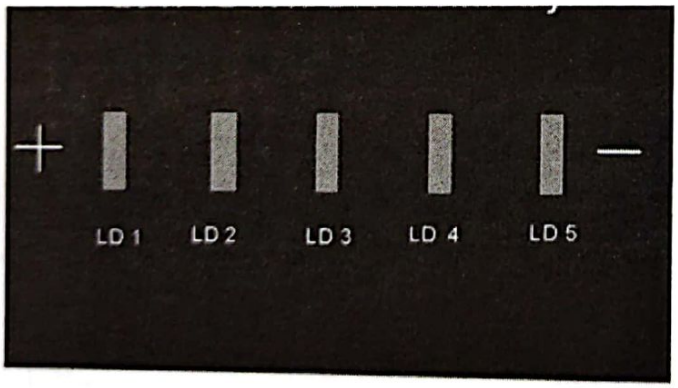
اشکال مختلف مولکولی یک آنزیم که در یک بافت و یا در بافت های مختلف وجود دارند ایزوآنزیم یا ایزوزیم نامیده می شوند. ایزوآنزیم های مختلف یک آنزیم واکنش واحدی را کاتالیز می نمایند.

مثلاً آنزیم لاکتات دهیدروژناز (Lactate dehydrogenase , LDH) که از آنزیم های مسیر گلیکولیز می باشد دارای ۵ شکل مولکولی مختلف یا ایزوآنزیم است. هر ایزوآنزیم از چهار رشته تشکیل شده است. زنجیره های پلی پپتیدی موجود در ساختمان ایزوآنزیم های LDH از دو نوع H (نوع قلبی) و M (نوع ماهیچه ای و کبدی) می باشند. بنابراین با توجه به اینکه هر ایزوآنزیم از چهار رشته تشکیل شده است امکان تشکیل ۵ ایزوآنزیم LDH وجود دارد که عبارتنداز: H_4 (LD1)، $M H_3$ (LD2)، $H_2 M_2$ (LD3)، HM_3 (LD4) و M_4 (LD5) (شکل ۲۸-۸).

زنجیره های پلی پپتیدی H و M از نظر نوع و ردیف اسیدهای آمینه و بار کلی الکتریکی متفاوت هستند. زنجیره H دارای تعدادی اسیدهای آمینه اسیدی است و لذا دارای بار منفی بیشتری نسبت به زنجیره M می باشد. بنا براین ایزوآنزیم های مختلف از نظر سینتیکی و مقادیر K_m و V_{max} تفاوت دارند.

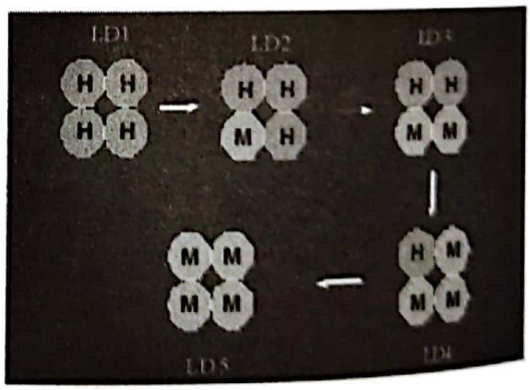
ایزوآنزیم های LDH را می توان با روش الکتروفورز و بر اساس تفاوت در بار الکتریکی از هم جدا نمود. در این روش ایزو آنزیم LD1 (H_4) بعلت دارا بودن بار منفی بیشتر نسبت به سایر ایزوآنزیم ها بیشترین حرکت را به سمت قطب مثبت (آند) و نوع M_4 بیشترین حرکت را به سمت قطب منفی (کاتد) دارد(شکل ۲۹-۸).

ایزوآنزیم H_4 در سلول های عضله قلب و نوع M_4 در بافت کبد به مقدار زیاد یافت می شود. لذا در بیماری های قلبی مانند انفارکتوس قلبی (myocardial infarction=MI) بعلت آسیب به سلول های قلبی ایزوآنزیم H_4 در خون ریخته و غلظت آن درخون افزایش می یابد. همچنین در بیماری های کبدی مانند هپاتیت و یا مسمومیت با تترا کلرید کربن (CCl_4) بعلت تخریب بافت کبد ایزوآنزیم M_4 درخون می ریزد و غلظت آن افزایش می یابد. بنابراین اندازه گیری مقدار ایزوآنزیم های LDH جهت تشخیص سکته قلبی (MI) و یا بیماری های کبدی اهمیت دارد.



H_4 H_3M H_2M_2 HM_3 M_4

شکل ۲۹-۸. الکتروفورز ایزوآنزیم های LDH



شکل ۲۸-۸. ایزو آنزیم های LDH

۱۴-۸ اندازه گیری فعالیت بعضی ازآنزیم ها در بیوشیمی بالینی جهت تشخیص بیماری ها کاربرد و اهمیت زیادی دارد.

علاوه بر LDH آنزیم های داخل سلولی دیگری نیزهستند که درحالت طبیعی به مقدار کم ازسلول های بدن به جریان خون راه می یابند. بدنبال آسیب های سلولی و بافتی ورود این دسته از آنزیم ها به گردش خون افزایش می یابد. در موارد دیگری نیز فعالیت بعضی از آنزیم ها در خون کاهش می یابد. لذا اندازه گیری میزان فعالیت آنها می تواند در تشخیص ضایعات بافتی و تعیین شدت آسیب ها مفید باشد. تعدادی از آنزیم هائی که اندازه گیری فعالیت آنها در خون جهت تشخیص بیماری ها اهمیت دارد در حاشیه ۱۰-۸ آورده شده است.

حاشیه ۱۰-۸- تعدادی از آنزیم هایی که اندازه گیری آنها از نظر بالینی اهمیت دارد.

نوع بیماری	منبع بافتی	افزایش یا کاهش در خون	علامت اختصاری	آنزیم
ضایعات کبدی	کبد	↑	ALT	آلانین آمینوترانسفراز
بیماریهای استخوانی و انسداد صفراوی	استخوان – کبد – روده- جفت	↑	ALP	آلکالین فسفاتاز
سکته قلبی- دیستروفی عضلانی	ماهیچه – قلب – مغز	↑	CPK	کراتین فسفوکیناز
سرطان پروستات	غده پروستات	↑	ACP	اسید فسفاتاز
التهاب حاد الوزالمعده	غده بزاقی - پانکراس	↑	α-AMS	آلفا آمیلاز
بیماری هپاتو بیلی یاری- الکلیسم	کبد	↑	GGT	گاماگلوتامیل ترانسفراز
فاویسم	گلبول های قرمز	↓	G-۶-PD	گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز
گالاکتوزمی	کبد	↓	-	گالاکتوز ۱- فسفات یوریدیل ترانسفراز

۸-۱۵ سئوالات چند گزینه ای:

۱- مهار کننده غیر رقابتی چه تاثیری بر آنزیم ها دارد؟

الف - k_m را افزایش می دهد.

ب - k_m و V_{max} ثابت می باشند.

ج - V_{max} را کاهش میدهد.

د - k_m را کاهش می دهد.

۲- کوآنزیم واکنش زیر کدام گزینه است؟

اسید لاکتیک $\xrightarrow{LDH}$ اسید پیرویک

الف - FAD

ب - NAD^+

ج - FMN

د - $NADH + H^+$

۳- آنزیمی که باعث تبدیل یک آلدوز به یک ستوز می شود جزء کدام طبقه از آنزیم های زیر است؟

الف- Isomerases

ب- Transferases

ج- Ligases

د- Lyases

ه- Hydrolases

۴- آنزیمی می تواند در ۵ دقیقه ۱۰ میلی مول سوبسترا را به محصول تبدیل کند.فعالیت این آنزیم در محلول برابر چند واحد بین المللی است؟

$\frac{۱۰}{۵}$

الف - ۲ ب - ۲۰۰ ج - ۲۰۰۰ د - ۵۰

۵- میزان کدامیک از شاخص های زیر با غلظت آنزیم در نمونه زیستی نسبت مستقیم دارد؟

الف- K_m ب- V_{max} ج- فعالیت مولکولی د- تمام موارد فوق

۶- اگر غلظت یک مهار کننده رقابتی برابر با ثابت تجزیه کمپلکس آنزیم - مهار کننده(K_i) باشد، k_m ظاهری چند برابر k_m واقعی است؟

الف- ۴ ب- ۱/۲

ج- ۱/۴ د- ۲

۷- آنزیم کربنیک انهیدراز جهت فعالیت به کدامیک از فلزات زیر نیاز دارد؟

الف- Zn ب- Fe

ج- Mg د- Ca

۸- دی ایزو پروپیل فلوئوروفسفات(DIFP) جزء کدام یک از انواع مهار کننده ها محسوب می شود؟

الف- Uncompetitive ب- Irreversible

ج- Noncompetitive د- Competitive

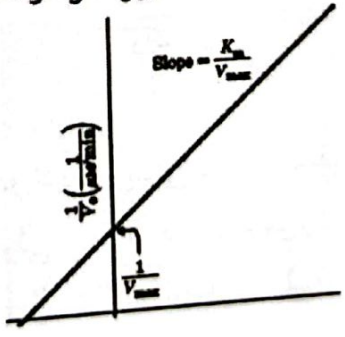
۹- اگر دریک واکنش آنزیمی غلظت سوبسترا نصف K_m آنزیم باشد سرعت اولیه واکنش(Vi) برابر با کدامیک از مقادیر زیر است؟

الف- ½ Vmax ب- Vmax

ج- ⅓ Vmax د- ¼ Vmax

۱۰- کدامیک از اشکال زیر نمودار معادله Michaelis – Menten را نشان می دهد؟

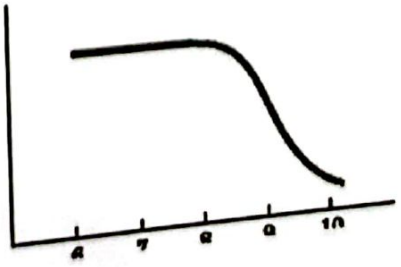
الف



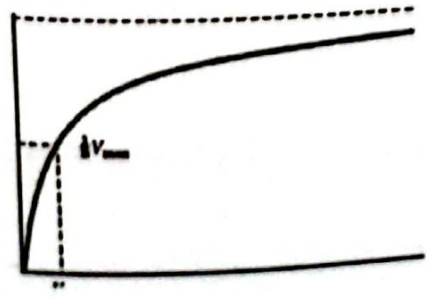
ب



ج



د



۱۶-۸ مسائل

۱- آنزیمی با غلظتی معادل ۱ میلی گرم درلیتر (دارای وزن مولکولی ۲۵۰۰۰) واکنشی را با سرعت ۲۵ میلی مول درلیتر دردقیقه (mmoles per liter per min) کاتالیز می نماید. فعالیت مولکولی (molecular activity)آنزیم را محاسبه نمائید.

۲- ثابت تفکیک اتصال (k_i) یک مهارکننده رقابتی برای آنزیم را براساس اطلاعات زیر محاسبه نمائید.

$K_m = 6.7 \times 10^{-4} M$

V_{max} (در غیاب منع کننده) $= 300\ \mu moles/1/min$

اگر $[I] = 10^{-5} M$ ، $[S] = 2 \times 10^{-5} M$ و $v = 1.5\ \mu moles\ per\ liter\ per\ min$ باشد.

۳- آنزیمی واکنشی را درشرایطی که $[S] = 0.01\ M$ و $K_m = 2 \times 10^{-5} M$ باشد با سرعت $35\ \mu moles/L.min$ کا تالیز می نماید. شاخص های زیر را محاسبه نمائید:

الف- سرعت ماکزیمم (V_{max})

ب- سرعت واکنش در غلظت $2 \times 10^{-6} M$ سوبسترا

۴- فعالیت آنزیمی با $K_m = 2 \times 10^{-4} M$ در حضور یک مهار کننده رقابتی درشرایط $[S] = 2 \times 10^{-4} M$ و $[I] = 2.5 \times 10^{-3} M$ اندازه گیری شد. اگر ثابت تجزیه کمپلکس EI (K_i) برابر $2.5 \times 10^{-3} M$ و سرعت ماکزیمم درغیاب مهارکننده $55\ \mu moles/L.min$ باشد. سرعت واکنش را در این غلظت از مهار کننده محاسبه نمائید.

۵- 1.0 میکرو گرم(μg) آنزیمی، 180 میکرومول($\mu mole$) سوبسترا را درمدت 1 ساعت به محصول تبدیل می نماید. فعالیت ویژه (Specific activity) آنزیم را محاسبه کنید.

۶- با درنظر گرفتن اطلاعات موجود در جدول زیر وبا استفاده از نمودار لینویور - برک مقادیر K_m و V_{max} را برای واکنش آنزیمی محاسبه نمائید .

Velocity (moles/hr)	[S] (molar)
0.1230	5.000
0.1212	2.500
0.1192	1.667
0.1177	1.259
0.1160	1.000
0.1142	0.883
0.1127	0.715
0.1111	0.625
0.1096	0.555
0.1081	0.500

CamScanner

حل مسائل مربوط به آنزیم ها:

1) $M.A. = \frac{\mu moles\ S \rightarrow P/min}{\mu moles\ of\ Enzyme}$

1 mg = 1000µg

$\mu moles\ of\ enz = \frac{1\,000}{25,000} = \frac{1}{25}$

25 mmoles/ min = 25000µmoles /min

$M.A. = \frac{25,000}{^{1}/_{25}} = 625,000 = T.O.N$

2) $V = \frac{V_{max} \times S}{S + K_m (1 + {}^{I}/_{K_i})}$

$1.5 = \frac{300 \times 2 \times 10^{-5}}{2 \times 10^{-5} + 6.7 \times 10^{-4} \left(1 + \frac{10^{-5}}{K_i}\right)}$

$1.5 = \frac{600 \times 10^{-5}}{2 \times 10^{-5} + 67 \times 10^{-5} \left(1 + \frac{10^{-5}}{K_i}\right)}$

$1.5 = \frac{600 \times 10^{-5}}{2 \times 10^{-5} + 67 \times 10^{-5} + \frac{67 \times 10^{-5} \times 10^{-5}}{K_i}}$

$1.5 = \frac{600}{69 + \frac{67 \times 10^{-5}}{K_i}}$

$600 = 103.5 + \frac{0.005}{K_i}$

$496.5 = \frac{0.001}{K_i}$ or $K_i \equiv 2.1 \times 10^{-6}\ M$

3) $V = \frac{V_{max} \times S}{K_m + S}$

الف)

$$35 = \frac{V_{max} \times 0.01}{2 \times 10^{-5} + 0.01}$$

$$70 \times 10^{-5} + 0.35 = 0.01\ V_{max} \quad \text{یا} \quad V_{max} = 35.07$$

ب) $S = 2 \times 10^{-6}\ M$

$$V = \frac{35.07 \times 2 \times 10^{-6}}{2 \times 10^{-5} + 2 \times 10^{-6}} = 3.19$$

4) $V = \frac{V_{max} \times S}{S + K_m (1 + {}^{I}/_{K_I})}$

$$V = \frac{55 \times 2 \times 10^{-4}}{2 \times 10^{-4} + 2 \times 10^{-4} \left(1 + \frac{2.5 \times 10^{-3}}{2.5 \times 10^{-3}}\right)}$$

$$V = \frac{55 \times 2 \times 10^{-4}}{6 \times 10^{-4}} \qquad V = \frac{110}{6} = 18.3\ \mu mole/L/min$$

5) $1\ \mu g = 0.001\ mg$

$180\ \mu moles/hr$ S.A

$$S.A. = \frac{{}^{180}/_{60}}{0.001} = 3000$$

۶- برای حل این مسئله ابتدا 1/V و 1/S ها را محاسبه نمائید. برای رسم منحنی Lineweaver مقادیر 1/V روی محور Y ها و مقادیر 1/S را روی محور X ها روی کاغذ گراف قرار داده سپس نمودار را رسم نمائید. نمودار را ادامه دهید تا هر دو محور Y ها و X ها را قطع نماید. از عرض از مبدا، V_{max} و از طول از مبدا K_m را محاسبه می نمائیم.

منابع :

۱- Text Book of Biochemistry with Clinical Correlations, 7th edition, Thomas M. Devlin, John Wiley & Sons, Inc. USA, 2011.
۲- Lehninger Principles of Biochemistry, 5th edition, David L. Nelson, Michael M. Cox, W.H. Freeman & Company, New York, 2008 .
۳- Lopez-Otin C, Matrisian LM. Emerging roles of proteases in tumour suppression. Nat Rev Cancer 2007;7:800-808.
٤- Matchar DB, McCrory DC, Orlando LA et al. Systematic review: comparative effectiveness of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers for treating essential hypertension. Ann Intern Med 2008; 148(1):16-29.

تار نما ها:

۱-Clinical Enzymology: www.labtestsonline.org/
۲-Enzymology news articles:
www.newsrx.com/library/topics/Enzymology.html
۳-Enzyme structures database: www.ebi.ac.uk/thornton-srv/databases/enzymes/
٤-Enzyme nomenclature: www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/
٥-Enzyme classification:
www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/rules.html

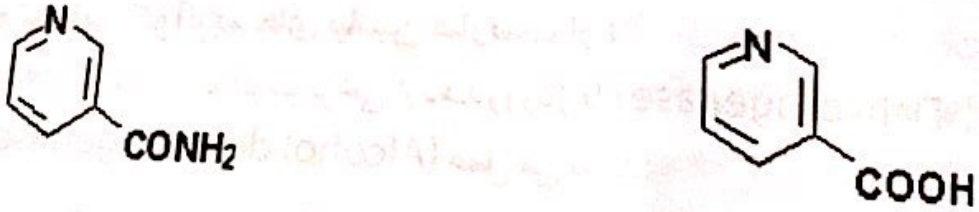
CamScanner

ویتامین ها مواد ضروری غذائی هستند که جهت ادامه حیات موجودات زنده به مقدار کم یعنی به عنوان ریز مغذی (Micronutrient) مورد نیاز بوده و فقدان آنها موجب بیماری های کمبود ویتامین می گردد. ویتامین ها دارای نقش های زیستی متنوعی بوده و به عنوان پیش ساز هورمون (ویتامین D) ، آنتی اکسیدان (ویتامین E)، و واسطه های انتقال پیام درون سلولی مرتبط با رشد و نمایز (ویتامین A) عمل می نمایند. تعداد زیادی از ویتامین ها نیز (ویتامین های ب) پیش ساز کوآنزیم های لازم برای انجام عمل کاتالیزوری بعضی از آنزیم ها می باشند.

طبقه بندی ویتامین ها بر اساس قابلیت انحلال در آب انجام می گردد. ویتامین های محلول در آب شامل نیاسین، ریبوفلاوین، اسید فولیک، تیامین، اسید پنتوتنیک، ویتامین B_6 ، بیوتین ، ویتامین B_{12} ، اینوزیتول، کولین و اسید آسکوربیک (ویتامین C) می باشند. ویتامین ها ی محلول درچربی شامل ویتامین های A، D، E و K بوده و اختلال در جذب چربی ها منجر به کمبود این دسته از ویتامین ها می گردد.

۱-۹ ویتامین های محلول در آب

۱- اسید نیکوتینیک یا نیاسین (Niacin, vitamin B3, vitamin PP) و آمید آن (نیکوتین آمید یا نیاسین آمید) در ساختمان NAD^+ و $NADP^+$ که کوآنزیم های دهیدروژناز ها هستند شرکت می کنند.

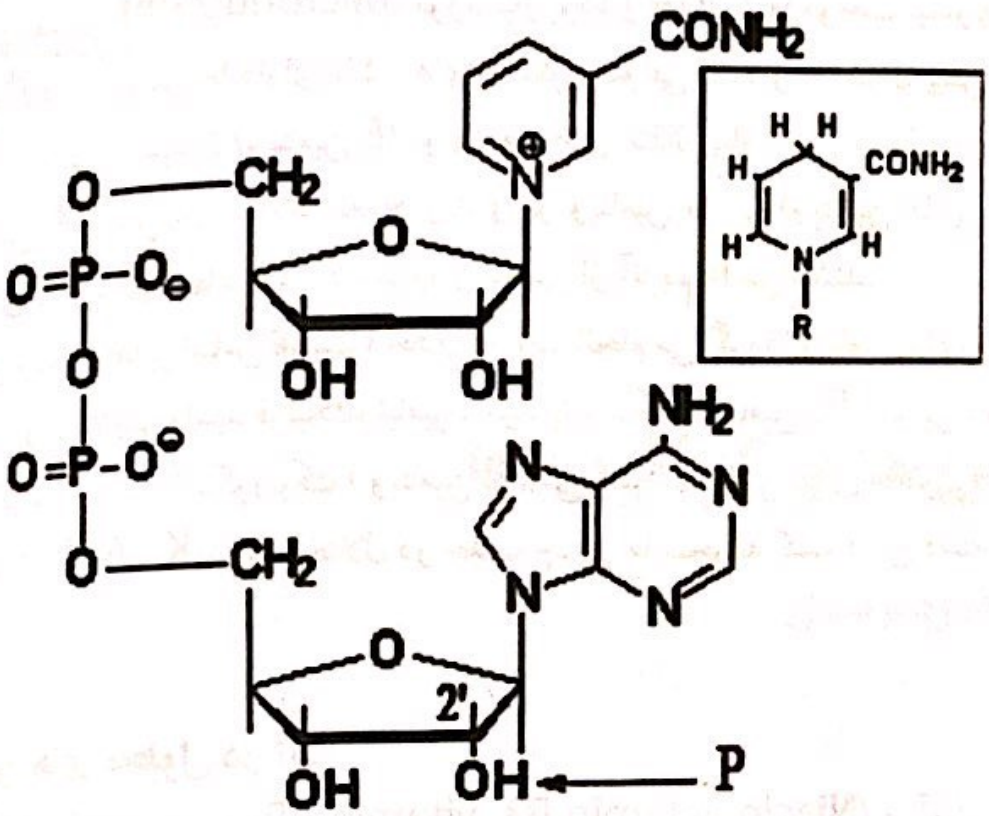


ب الف

شکل ۱-۹ . ساختمان شیمیایی نیاسین (الف) و نیاسین آمید (ب)

اشکال کوآنزیمی نیاسین شامل دو نوع کوآنزیم NAD^+ (نیکوتین آمید- آدنین- دی نوکلئوتید) و $NADP^+$ (نیکوتین آمید - آدنین - دی نوکلئوتید فسفات) می باشند که فرمول های آنها درصفحه بعد نشان داده شده است. اگر در NAD عامل OH^+ کربن ۲' را با یک گروه فسفات جایگزین کنیم $NADP^+$ تولید می شود(شکل ۲-۹).

Scanned with CamScanner



شکل ۲-۹. ساختمان شیمیایی NAD^+ و $NADP^+$

وظائف بیوشیمیایی کوآنزیم های نیاسین عبارتست از :

الف - NAD^+ به عنوان کوآنزیم برخی ازدهیدروژنازها (Dehydrogenase) مانند الکل دهیدروژناز (Alcohol dehydrogenase) عمل می نماید:

$$CH_3 - CH_2 - OH + NAD^+ \rightarrow CH_3 - CHO + NADH + H^+$$

در این نوع واکنش ها یک یون هیدرید H^- = $(H^+ + 2e^-)$ از سوبسترا به حلقه پیریدین منتقل شده و یک H^+ آزاد می شود.

ب - زوج $NAD^+/NADH$ معمولاً در واکنش های اکسیداسیون (واکنش های کاتابولیک) و زوج $NADP^+/NADPH$ در واکنش های احیاء (واکنش های آنابولیک) مانند سنتز اسیدهای چرب شرکت می کند.

Scanned with CamScanner

ج - نوکلئوتیدهای پیریدینی احیاء شده نوکلئوتیدهای فلاوینی مانند FMN و FAD را نیز احیاء می کنند.

$$i)\ E-FAD+NADPH+H^{+} \rightarrow \quad E-FADH_2+NADP^{+}$$

کوآنزیم های فلاوینی گروه های پروستتیک برخی ازآنزیم های Oxidoreductase مانند Glutathione Reductase را تشکیل می دهند:

$$ii)\ E-FADH_2+G-S-S-G \rightarrow \quad E-FAD+2GSH$$

$NAD(P)^{+}$ در طول موج 260nm جذب نوری دارد، در صورتی که NAD(P)H هم در 260nm و هم در 340nm نور جذب می نماید. از خاصیت جذب نور در 340nm برای سنجش فعالیت آنزیم های دهیدروژناز وابسته به NAD^{+} و $NADP^{+}$ استفاده می نمایند.

کمبود نیاسین: کمبود نیاسین در انسان تولید بیماری پلاگر (Pellagra) می کند که عوارض آن عبارتند از:

۱- درماتیت (Dermatitis) یا التهاب پوست

۲- اسهال (Diarrhea) که در اثر التهاب بافتهای مخاطی بوجود می آید.

۳- جنون (Dementia) که یک نوع اختلال روحی - روانی همراه با ضایعات مغزی است.

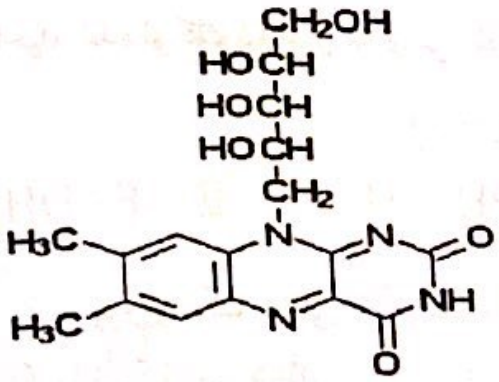
به علت اینکه نام هر سه علائم کمبود نیاسین با D شروع می شود، علائم کمبود نیاسین را 3D's of Niacin Deficiency می نامند.

در بدن انسان تقریبا از هر ۶۰ میلی گرم تریپتوفان یک میلی گرم آن به نیاسین تبدیل می گردد. البته ورود این مقدار تریپتوفان به بدن از طریق رژیم های غذائی امکان پذیر نیست. بنابراین نیاسین مورد نیاز بدن بایستی از غذا تامین گردد.

۲- ریبوفلاوین یا ویتامین B_2 بعنوان بخشی از مولکول FMN و FAD در برخی واکنش های هیدروژناز شرکت می کند.

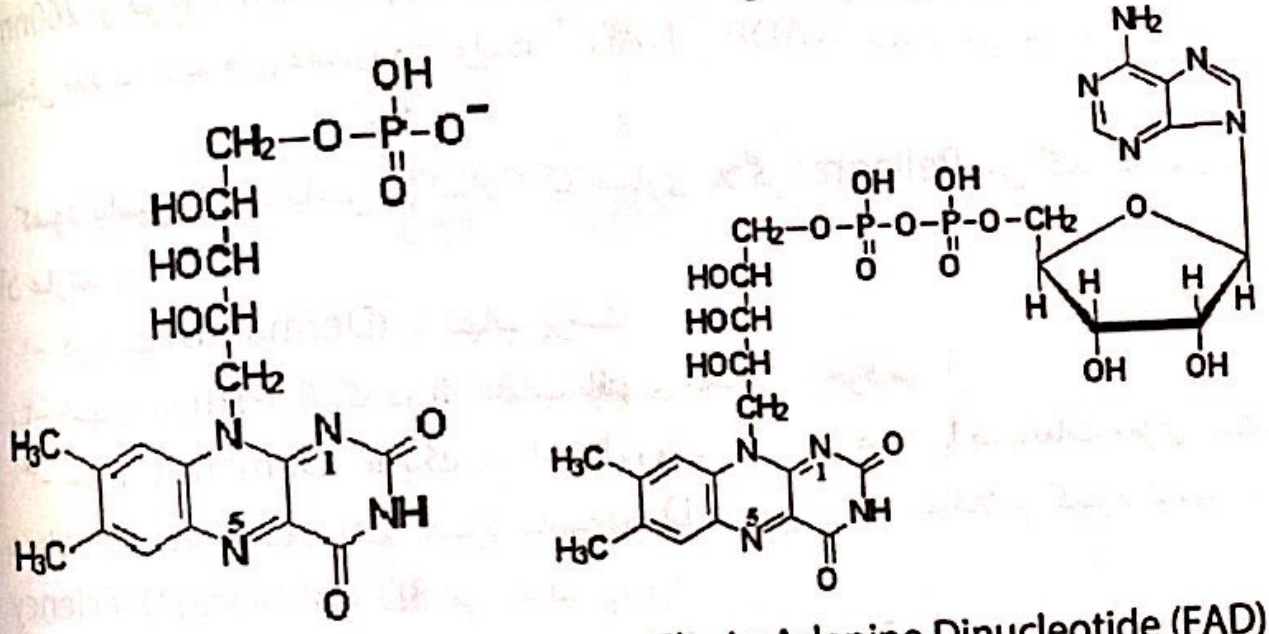
ساختمان شیمیایی: ریبوفلاوین از قند الکلی د- ریبیتول(D-Ribitol) که به یک حلقه ایزوآلوکزازین(Isoalloxazine) متصل است ساخته شده است (شکل ۳-۹). رنگ زرد ویتامین های ب کمپلکس بعلت حلقه ایزوآلوکزازین می باشد (flavo از ریشه لاتین به معنی زرد).

Scanned with CamScanner



شکل۳-۹. ساختمان شیمیایی ریبوفلاوین

اشکال کوآنزیمی ریبوفلاوین: در بافت ها دو نوع کوآنزیم ریبوفلاوین یعنی FMN و FAD با ساختمان های زیر وجود دارد(شکل ۴-۹):



Flavin Monoinucleotide (FMN)

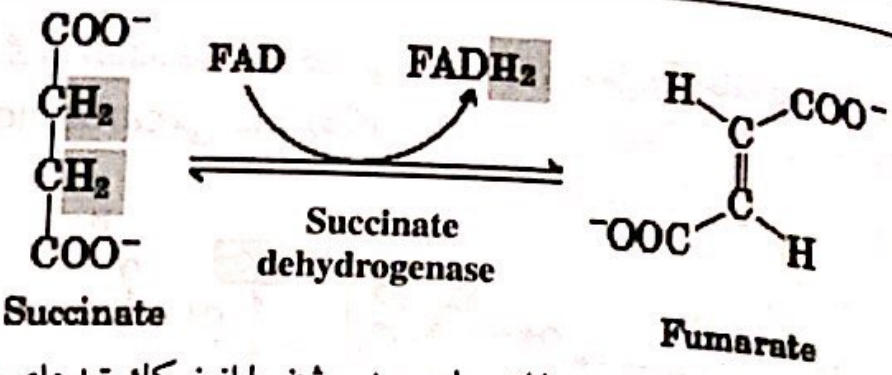
Flavin Adenine Dinucleotide (FAD)

شکل ۴-۹. ساختمان شیمیایی فلاوین نوکلیوتید ها

وظائف بیوشیمیائی اشکال فعال ریبوفلاوین

FMN و FAD بعنوان گروه پروستتیک فلاوپروتئین ها در واکنش های دهیدروژناسیون (dehydrogenation) شرکت می کنند و دو اتم H از سوبسترا خارج می سازند. N_1 و N_5 حلقه ایزوآلوکزازین گیرنده های دو اتم هیدروژن از سوبسترا می باشند. مثلاً آنزیم سوکسینات دهیدروژناز(Succinate dehydrogenase) دو اتم H از دو کربن مجاور در ملکول سوکسینات به حلقه ایزوآلوکزازین منتقل می نماید. در نتیجه بین دو اتم کربن اتصال دوگانه ایجاد می گردد.

Scanned with CamScanner



گروه های پروستاتیک فلاوپروتئین ها اتم های هیدروژن را از نوکلئوتیدهای پیریدینی احیاء شده نیز می توانند کسب کنند.

$$E - FAD + NADPH + H^+ \rightarrow E - FADH_2 + NADP^+ + H^+$$

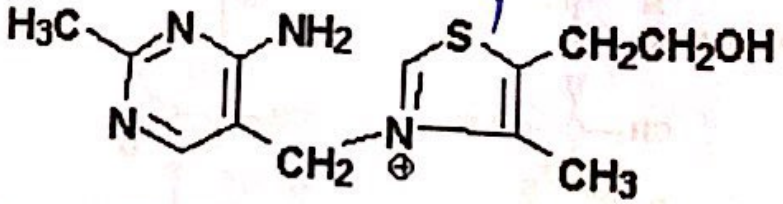
برخی از فلاوپروتئین ها حاوی فلزاتی مانند مولیبدنوم (Mo) یا Fe نیز هستند. مثلاً آنزیم Xanthine oxidase علاوه بر FAD حاوی Mo نیز می باشد.

کمبود ریبوفلاوین:

کمبود این ویتامین تولید شیلوز (Cheilosis) یا ترک گوشه های دهان و لب در انسان می نماید.

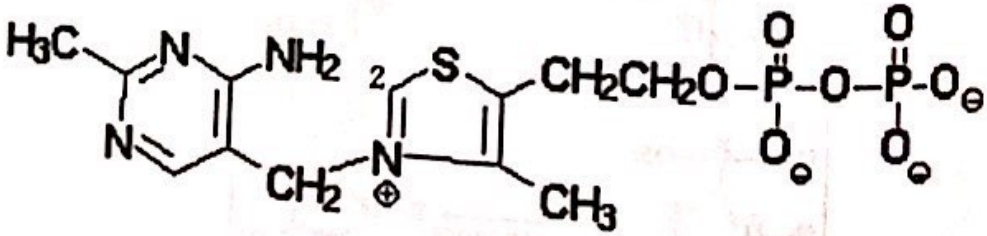
۲- تیامین (Thiamine) (شکل ۵-۹) یا ویتامین B_1 بصورت تیامین پیروفسفات در انتقال گروه آلدئید فعال و واکنش های دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو شرکت می نماید(شکل ٦-۹).

ساختمان شیمیایی:



شکل۵-۹.

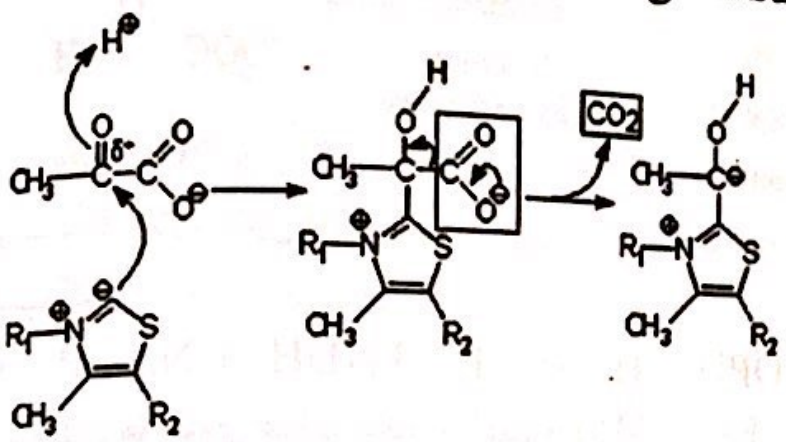
اشکال کوآنزیمی : تیامین پیروفسفات (TPP) فرم کوآنزیمی تیامین را تشکیل میدهد



شکل۶-۹. ساختمان شیمیایی تیامین پیروفسفات

Scanned with CamScanner

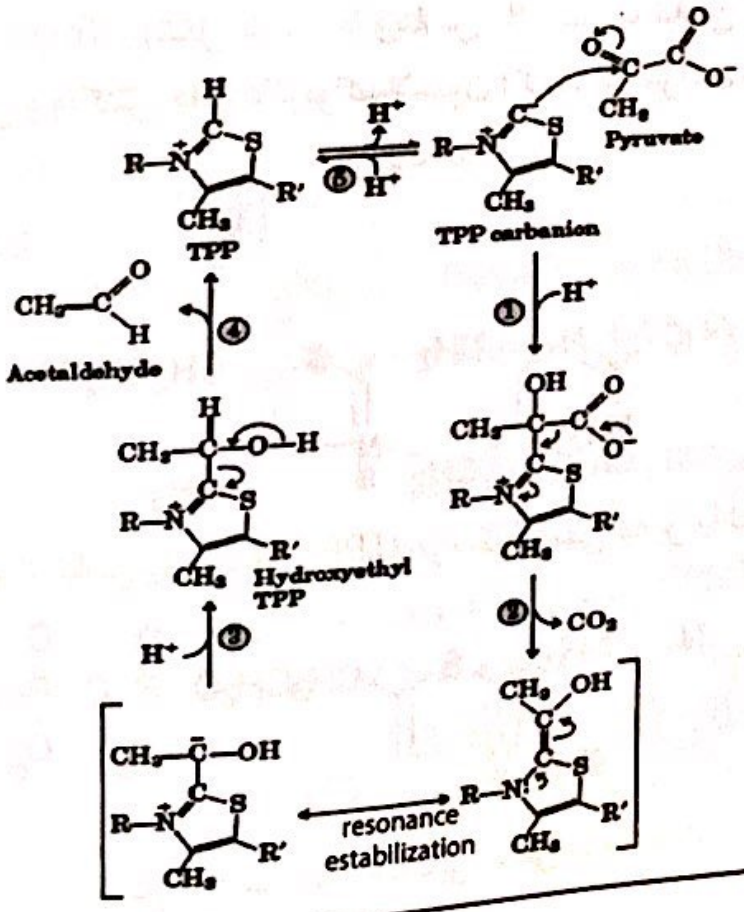
TPP در انتقال گروه آلدئید فعال شرکت می کند. در این عمل C_2 حلقه تیازول که بسیار اسیدی است تولید یون carbanion می نماید (شکل ۷-۹).



شکل ۷-۹ - واکنش انتقال گروه آلدئید فعال توسط تیامین پیروفسفات

مثلاً در واکنشی که توسط آنزیم پیروات دکربوکسیلاز(Pyruvate decarboxylase) کاتالیز می شود (شکل ۷-۹)، C_2 حلقه تیازول در انتقال گروه آلدئید فعال طبق واکنش های حاشیه ۱-۹ عمل می کند.

حاشیه ۱-۹ چگونگی انجام واکنش دکربوکسیلاسیون پیروات توسط تیامین پیروفسفات

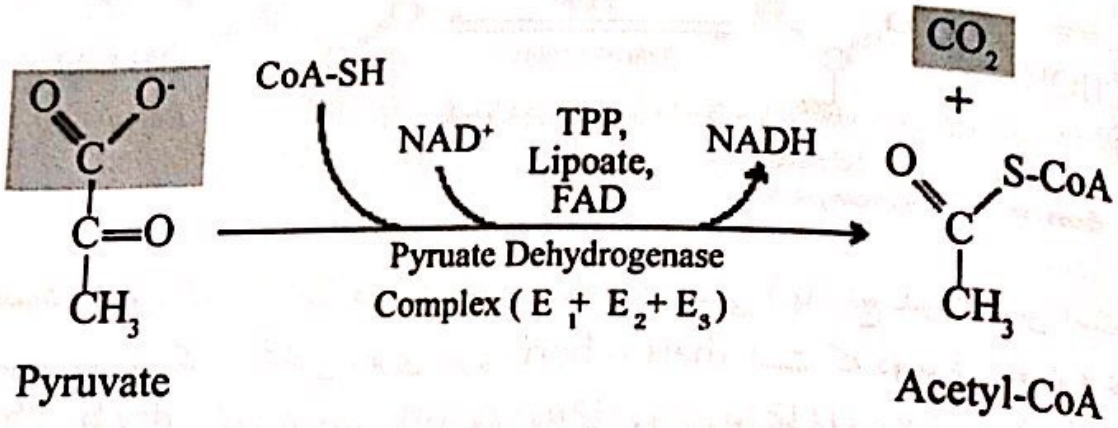


Scanned with CamScanner

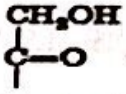
TPP در واکنش های آنزیمی زیر بعنوان کوآنزیم شرکت می نماید:

i) د کربوکسیلاسیون α – کیتواسیدها:

ii) د هیدروژناسیون α – کیتو اسیدها :

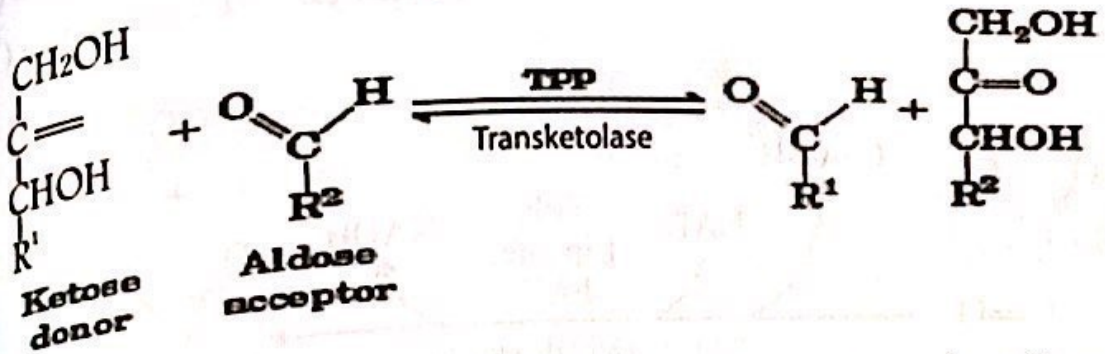


$\Delta G^{\circ\prime} = -33{,}4$ kJ/mol

iii) ترانس کیتولازها: انتقال گروه کیتول () از یک قند کیتونی به یک قند آلدوزی توسط ترانس کیتولاز و کوفاکتور TPP انجام می شود.

Scanned with CamScanner

در تمام این نوع واکنش ها یون کاربانیون کربن شماره ۲ حلقه تیازول در مولکول TPP در حمل گروه آلدئید فعال شرکت می کند.

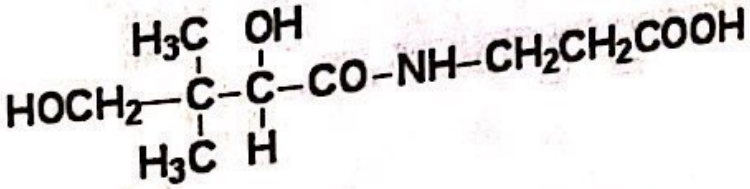


کمبود تیامین: کمبود تیامین در کشورهایی که غذای اصلی آنها برنج بدون سبوس است دیده می شود. بیماری کمبود تیامین ، بری- بری(beri – beri) است که دو نوع بوده، نوع خشک (dry beri beri) که با از دست دادن وزن، از بین رفتن ماهیچه ها و علائم نورولوژیکی همراه می باشد. بری بری مرطوب (wet beri beri)که با خیز(edema) و نارسایی قلبی (heart failure)همراه می باشد.

احتیاجات تیامین بدن را بر حسب ۱۰۰۰ کیلو کالری (Kcal) غذائی بیان می کنند چون تیامین نقش مهمی را در متابولیزم کربوهیدرات ها بعهده دارد. احتیاج تیامین ۰/۳ - ۰/۲ میلی گرم به ازاء هر ۱۰۰۰ کیلوکالری غذائی است.

٤- اسید پنتوتنیک Pantoyl β – alanine **یا** (Pantothenic acid) **جزئی از ساختمان کوآنزیم A است که در انتقال گروه آسیل** (acyl) **نقش دارد.**

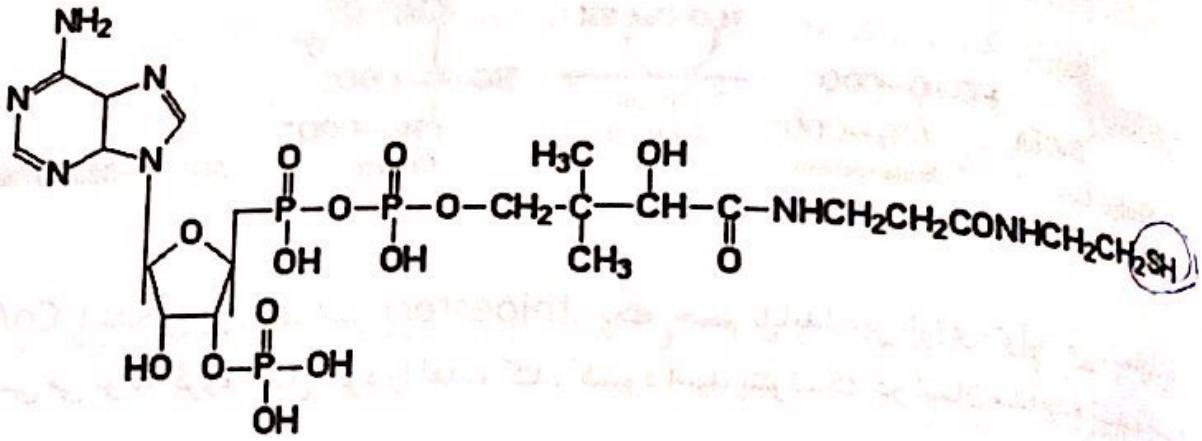
ساختمان شیمیائی: اسید پنتوتنیک دارای ساختمان زیر است:



شکل ۸-۹. ساختمان شیمیایی اسید پنتوتنیک

Scanned with CamScanner

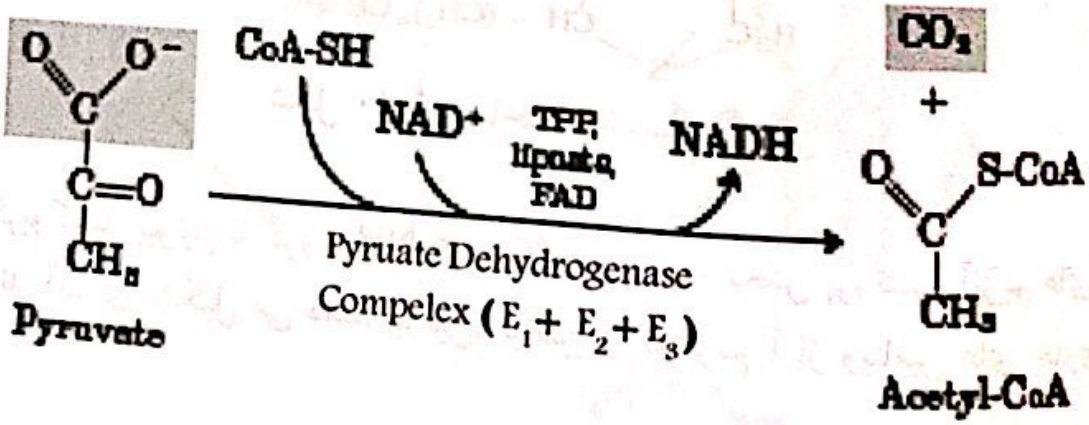
نوع کوآنزیمی اسید پنتوتنیک، کوآنزیم A است که فرمول شیمیائی آن بقرار زیر می باشد:



بخش فعال کوآنزیم A، گروه SH آن است (CoASH) که ناقل ریشه اسید یا گروه آسیل (Acyl) می باشد.

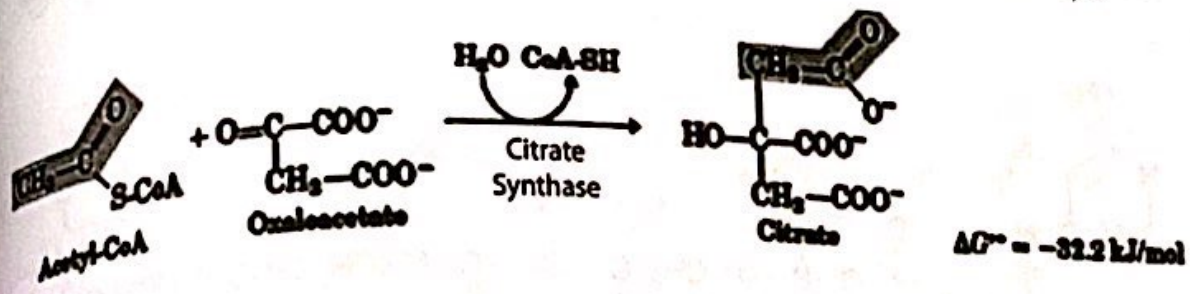
وظائف بیوشیمیائی کوانزیم A : کوآنزیم A بصورت تیواستر (thioester) اسیدهای کربوکسیلیک در حمل گروه های آسیل شرکت می نماید. بخش فعال CoA، گروه SH مربوط به β–mercaptoethylamine است. مشتقات آسیلی کوآنزیم A مانند استیل کوآ (Acetyl CoA) و مشتقات اسید اسیل های چرب (Fatty acyl CoA) می باشند. نمونه هایی از واکنش های آنزیمی که کوانزیم آ در آنها بعنوان ناقل گروه آسیل شرکت می کند عبارتند از:

i) آنزیم پیروات دهیدروژناز (Pyruvate dehydrogenase) که واکنش زیر را کاتالیز می کند:



Scanned with CamScanner

ii)آنزیم سیترات سینتاز (Citrate synthase) که کاتالیز کننده واکنش زیر می باشد:



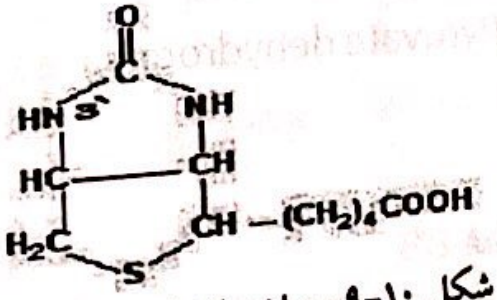
CoA با تشکیل پیوند تیواستر (thioester) یک جسم ناپایدار پر انرژی تولید می نماید که براحتی می تواند گروه آسیل خود را اهداء کند. کمبود اسید پنتوتنیک در انسان مشاهده نشده است.

۵- بیوتین یا فاکتور ضد عوارض ناشی از سفیده تخم مرغ

(Biotin, Anti egg white injury factor) کوآنزیم واکنش های کربوکسیلاسیون است.

سفیده تخم مرغ خام در حیوانات تولید بیماری های کمبود تغذیه ای می نماید. آویدین پروتئینی در سفیده تخم مرغ خام است که جاذبه زیادی برای بیوتین داشته وبا اتصال به آن از جذب بیوتین در دستگاه گوارش جلوگیری می نماید. در اثر جوشاندن تخم مرغ آویدین منعقد شده و بیوتین را آزاد می سازد.

ساختمان بیوتین: بیوتین دارای ساختمان شیمیائی زیر بوده و N3' آن ناقل گروه کربوکسیل (COO^-) می باشد(شکل ۱۰-۹).



شکل ۱۰-۹. ساختمان شیمیایی بیوتین

گروه کربوکسیل بیوتین با گروه ε-NH_2 مولکول لیزین در بخش پروتئینی آنزیم های وابسته به بیوتین پیوند آمیدی تشکیل می دهد. بیوتین، تیامین و کوانزیم آ از ویتامین های حاوی گوگرد می باشند.

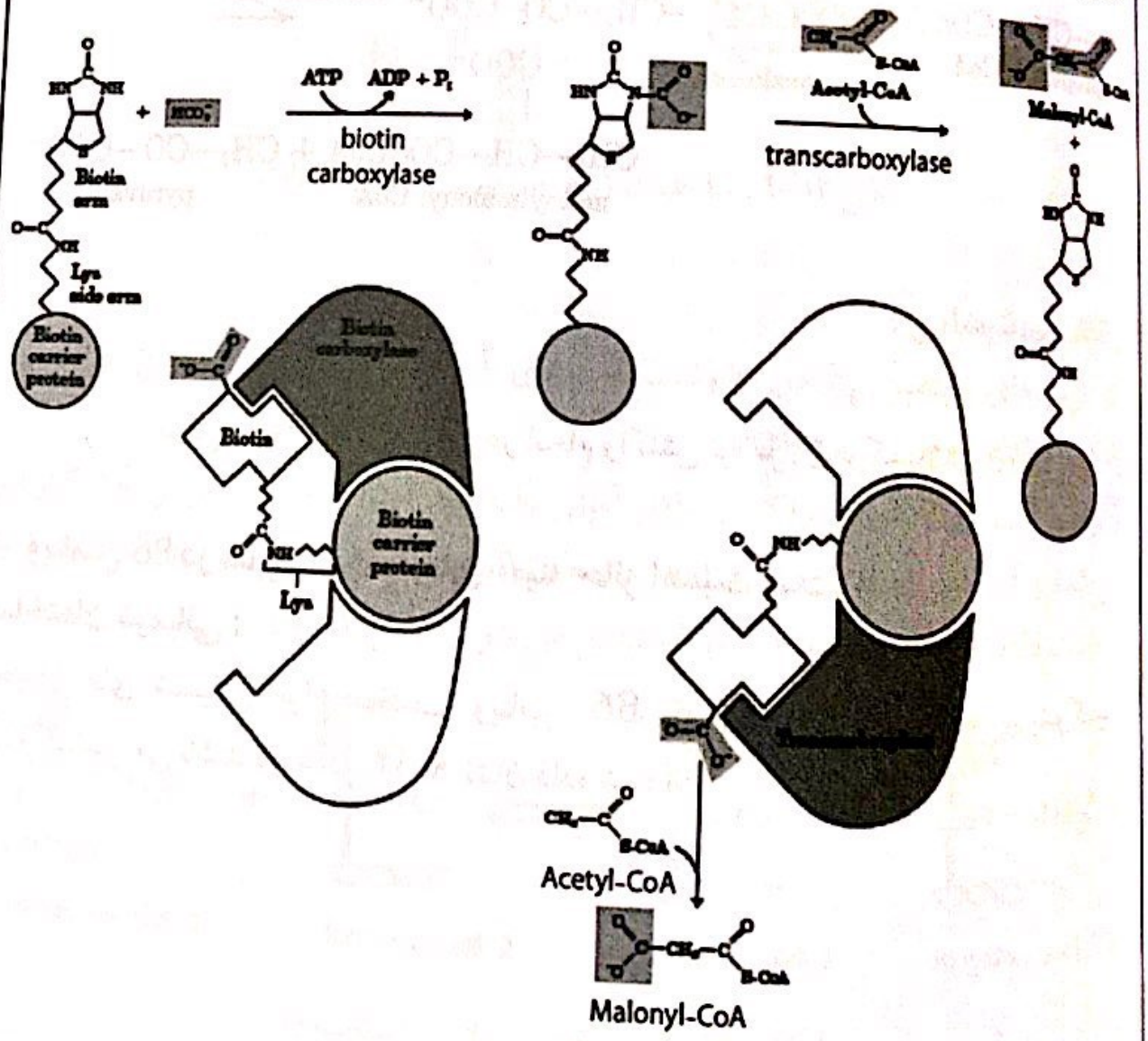
Scanned with CamScanner

وظیفه بیوشیمیایی : بیوتین متصل به بخش پروتئینی آنزیم در واکنش های کربوکسیلاسیون (Carboxylation) شرکت می نماید. نمونه هایی از این نوع واکنش ها عبارتند از:

i) آلفا کربوکسیلاسیون (α-Carboxylation) که به عنوان نمونه آنزیم های اسیل کوآ کربوکسیلاز (Acyl CoA carboxylase) را می توان نام برد. یکی از این آنزیم ها استیل کوآ کربوکسیلاز (Acetyl CoA carboxylase) است که واکنش مربوط به حاشیه ۲-۹ را کاتالیز می کند.

ii) ترانس کربوکسیلاسیون : ترانس کربوکسیلاسیون عبارت است از انتقال گروه کربوکسیل از یک سوبسترا به اسیل کوا (شکل ۱۱-۹)

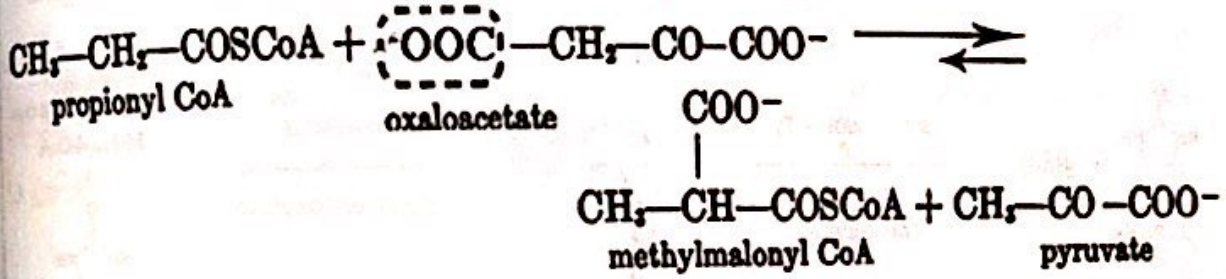
حاشیه ۲-۹ نقش بیوتین در واکنش آلفا کربوکسیلاسیون



Scanned with CamScanner

کمبود بیوتین : خوردن مقادیر زیاد سفیده تخم مرغ خام و مقادیر ناچیز بیوتین در انسان علائم زیر را بوجود می آورد:

۱- درماتیت (Dermatitis) یا التهاب پوست بازوها و پاها
۲- رنگ پریدگی غیر طبیعی (Pallor) پوست و غشاء های مخاطی
۳- افسردگی (Depression)
۴- بی اشتهائی (Anorexia)
۵- تهوع (Nausea)
۶- در برخی موارد نیز کم خونی (anemia) و افزایش کلسترول خون نیز بروز می نماید.



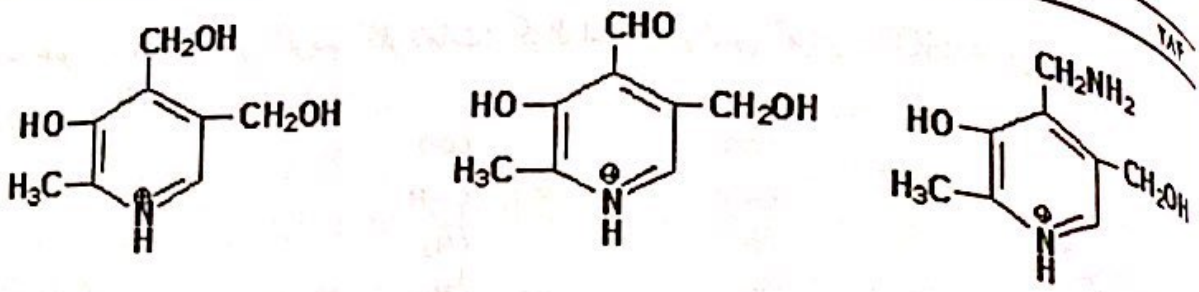
شکل ۱۱-۹ . نقش بیوتین در انجام واکنش ترانس کربوکسیلاسیون

۶- ویتامین B6 در متابولیسم اسیدهای آمینه حائز اهمیت است.

ساختمان شیمیائی :

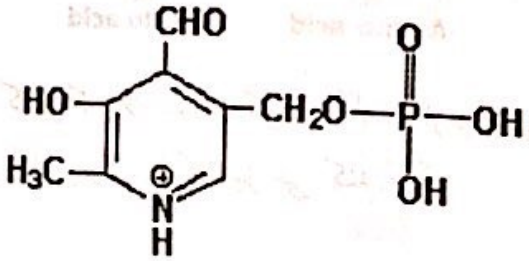
ساختمان های شیمیائی انواع مختلف ویتامین B6 که شامل پیریدوکسال، پیریدوکسین و پیریدوکسامین می باشند در شکل ۱۲-۹ نشان داده شده اند.

Scanned with CamScanner



شکل ۱۲-۹. ساختمان شیمیایی ویتامین B_6

اشکال کوآنزیمی ویتامین B6 عبارتند از پیریدوکسال فسفات و پیریدوکسامین فسفات. ساختمان شیمیائی پیریدوکسال فسفات درشکل ۱۳-۹ مشاهده می شود.

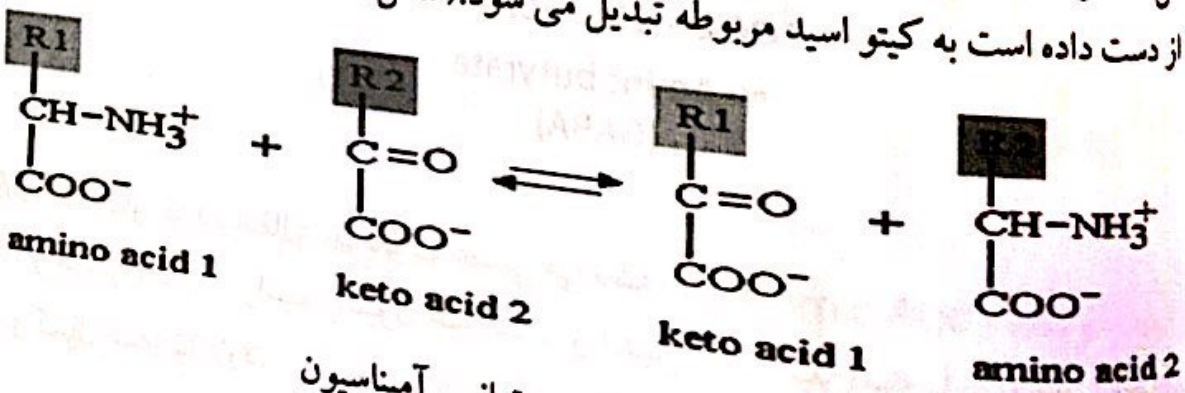


شکل ۱۳-۹. ساختمان شیمیایی پیریدوکسال فسفات

وظائف بیوشیمیایی :

کوآنزیم های ویتامین B_6 در متابولیسم اسیدهای آمینه شرکت می کنند. این کوآنزیم ها کوفاکتور واکنش های زیر می باشند:

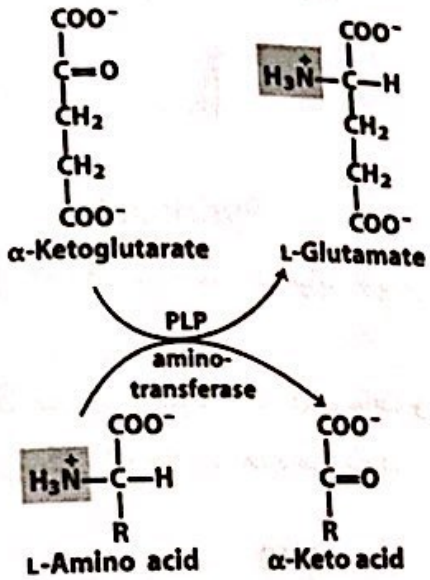
ا) ترانس آمیناسیون : در این واکنشها عامل آمینی یک اسید آمینه به کربن کربونیل یک کیتو اسید منتقل شده و آن کیتو اسید را به اسید آمینه مربوطه تبدیل می نماید. اسید آمینه ای که عامل آمینی را از دست داده است به کیتو اسید مربوطه تبدیل می شود.(شکل ۱۴-۹)



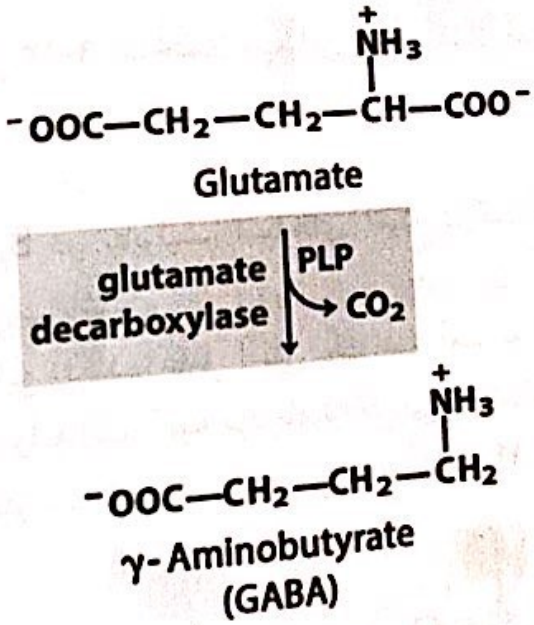
شکل ۱۴-۹. واکنش ترانس آمیناسیون

Scanned with CamScanner

به عنوان مثال واکنش آنزیم گلوتامات: اگزالواستات ترانس آمیناز (GOT) که نیازمند به کوآنزیم ویتامین B_6 است عبارتست از:



ii) دکربوکسیلاسیون: دکربوکسیلاسیون گروه آلفا-کربوکسیل اسیدهای آمینه نیاز به پیریدوکسال فسفات داشته و واکنش زیر را کاتالیز می کند.



GABA مهار کننده انتقال تحریکات عصبی می باشد.

iii) راسیمیزاسیون : راسیمیزاسیون عبارتست از تبدیل یک اسید آمینه L به ایزومر D و نیاز به پیریدوکسال فسفات دارد.

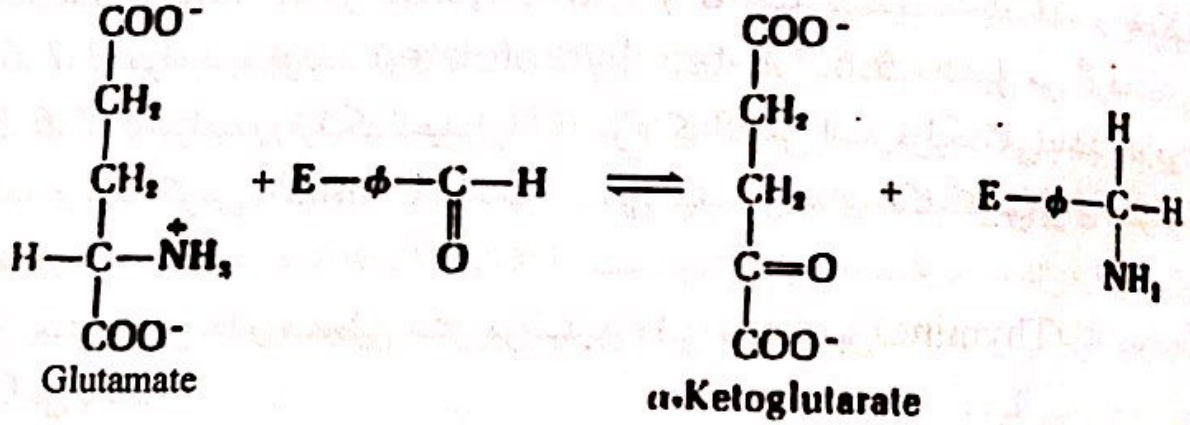
Scanned with CamScanner

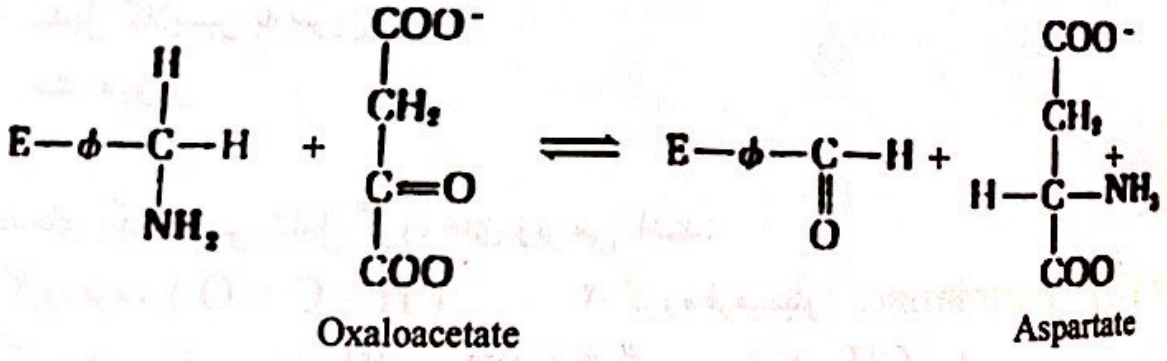
کمبود ویتامین B_6 :

پیریدوکسین در متابولیسم بافت های عصبی حائز اهمیت می باشد. کمبود آن موجب زود رنجی (Irritability) و تشنج (Convulsion) در اطفال و نوزادان می گردد. تشنج به علت کاهش فعالیت آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز (Glutamate decarboxylase) در اثر کمبود ویتامین B_6 می باشد که موجب کاهش GABA که واسطه عصبی مهمی در مغز است می شود. GABA یک واسطه عصبی (Neurotransmitter) مهاری می باشد و انتقال جریانات عصبی از یک سلول به سلول دیگر را در سیستم اعصاب مرکزی (CNS) مهار می کند.

مکانیزم عمل پیریدوکسال فسفات در ترانس آمیناسیون :

واکنش GOT یا اسپارتات ترانس آمیناز (AST) را در نظـــــر گرفته و رابطه آن (E) را با پیریدوکسال فسفات (⊗) در واکنش های زیر مشاهده نمایید.



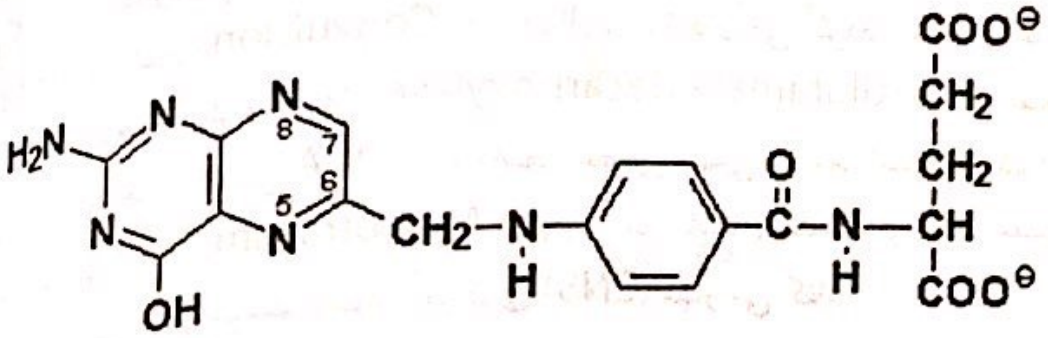


۷- اسید فولیک (Pteroylglutamic Acid) بصـــــورت تتراهیدروفـــولات ناقل گروه های یک کربن است.

اسید فولیک (Folio از ریشه لاتین به معنی برگ) به میزان زیادی در برگ گیاهان وجود دارد.

Scanned with CamScanner

ساختمان شیمیائی: ساختمان شیمیائی اسید فولیک به قرار زیر می باشد: (شکل ۱۵-۹)



شکل ۱۵-۹. ساختمان شیمیایی اسید فولیک

کوآنزیم اسید فولیک:

اسید فولیک در بدن تحت تاثیر یک آنزیم وابسته به NADPH بنام فولات ردوکتاز (Folate reductase) در اتم های 5، 6، 7 و 8 حلقه پتریدین احیاء شده و به کوآنزیم 5، 6، 7، 8 تتراهیدرو فولات (5,6,7,8 tetrahydrofolate) تبدیل می گردد.

5، 6، 7، 8 تتراهیدروفولیک اسید (FH_4) نوع کوآنزیمی اسید فولیک می باشد که در انتقال واحدهای تک کربنی ("1C units") شرکت می کند. واحدهای تک کربنی برای سنتز مواد زیر مورد نیاز می باشند:

۱- سنتز پورین ها و همچنین سنتز پیریمیدین هایی مانند تیمین(Thymine) که دارای گروه CH_3 می باشد.

۲- تبدیل گلایسین به سرین

۳- سنتز متیونین

واحدهای یک کربنی شامل گروه های زیر می باشند:

۱- گروه فرمیل($H-C=O$)

۲-گروه فرمیمینو($-C=NH$ Formimino)

۳- گروه هیدروکسی متیل ($-CH_2-OH$)

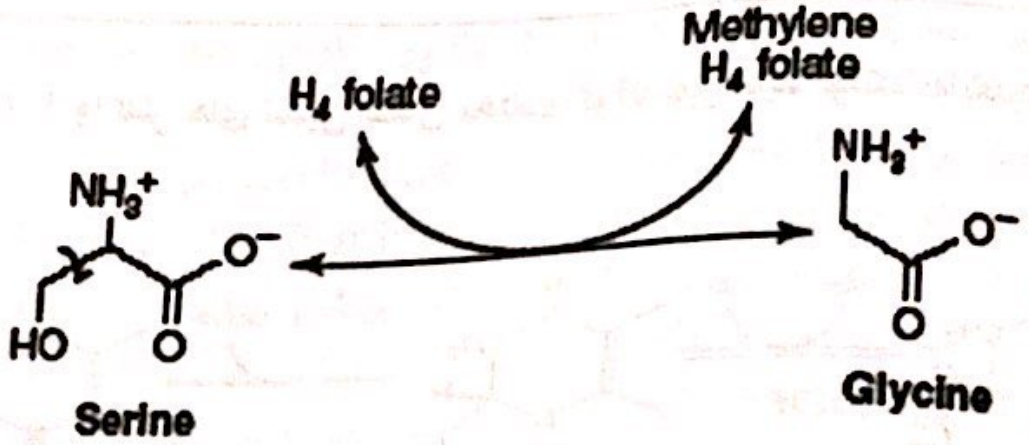
۴-گروه متیلین($-CH_2-$)

۵- گروه متیل ($-CH_3$)

۶- گروه متنیل(methenyl)

منبع عمده تامین واحد تک کربن واکنش تبدیل سرین به گلایسین می باشد.

Scanned with CamScanner

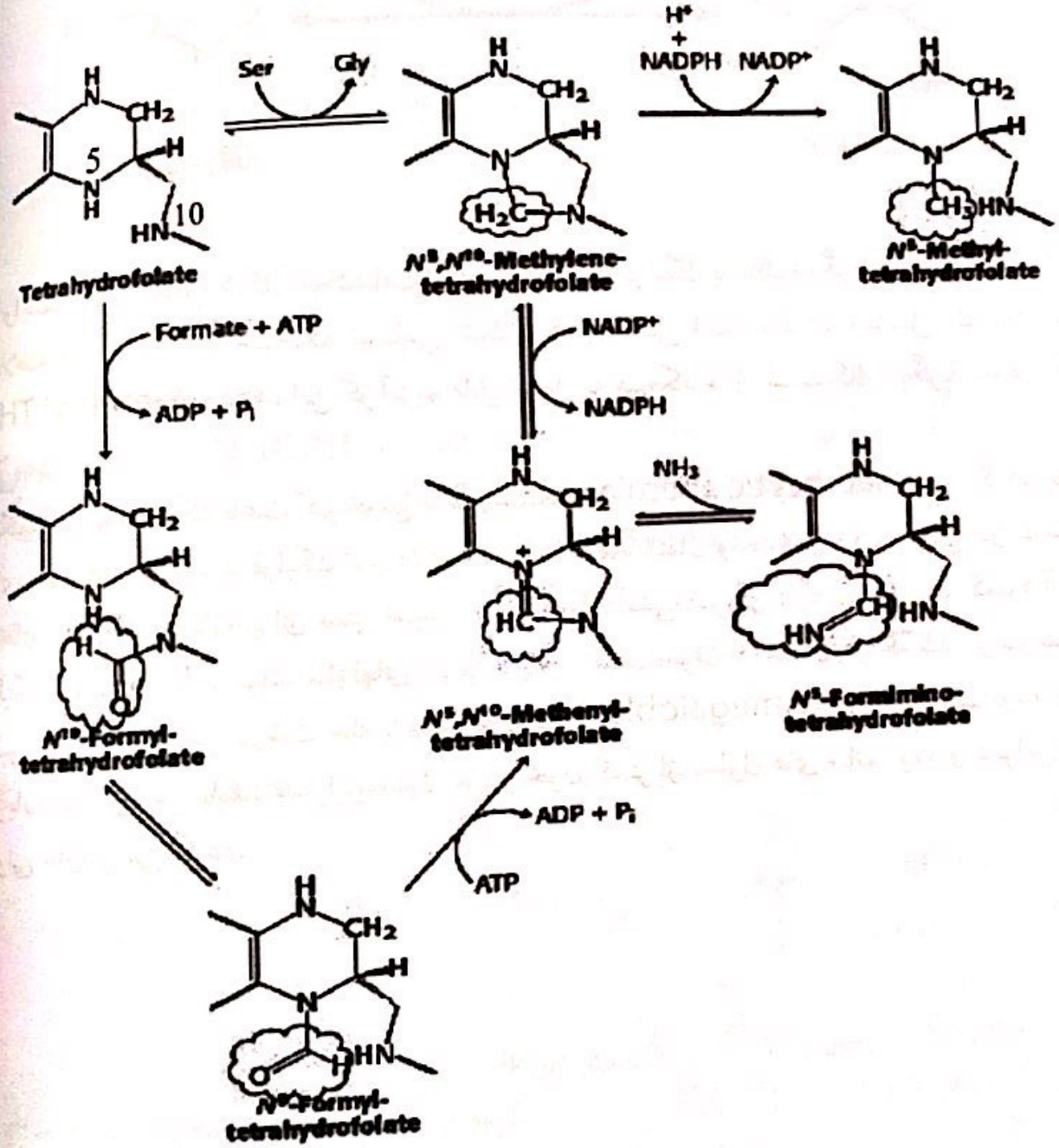


واکنش های تبدیل اشکال مختلف کوآنزیمی اسید فولیک به یکدیگر در حاشیه ۳-۹ خلاصه شده است. در حالیکه تمامی اشکال کوآنزیمی اسید فولیک قابل تبدیل به 5-methyl TH4 هستند، این کوآنزیم قابل تبدیل به هیچکدام از اشکال دیگر اسید فولیک نمی باشد.

کمبود اسید فولیک باعث کم خونی ماکروسیتیک (macrocytic anemia) می گردد. بدن برای خونسازی به اسید فولیک نیاز دارد. اسید فولیک با انتقال واحدهای تک کربنی در بیوسنتز بازهای نیتروژن دار لازم برای سنتز اسیدهای نوکلئیک نقشی ضروی دارد. در شرایط کمبود اسید فولیک سنتز DNA و تولید سلولهای خونی در مغز استخوان با اختلال مواجه شده و در نتیجه گلبول های قرمز نارس درشت جثه یا مگالوبلاست (megaloblast) در مغز استخوان تولید و به جریان خون راه می یابند. عمر این سلول ها در خون کمتر از سلول های سالم بوده و بنابراین کم خونی عارض می گردد.

Scanned with CamScanner

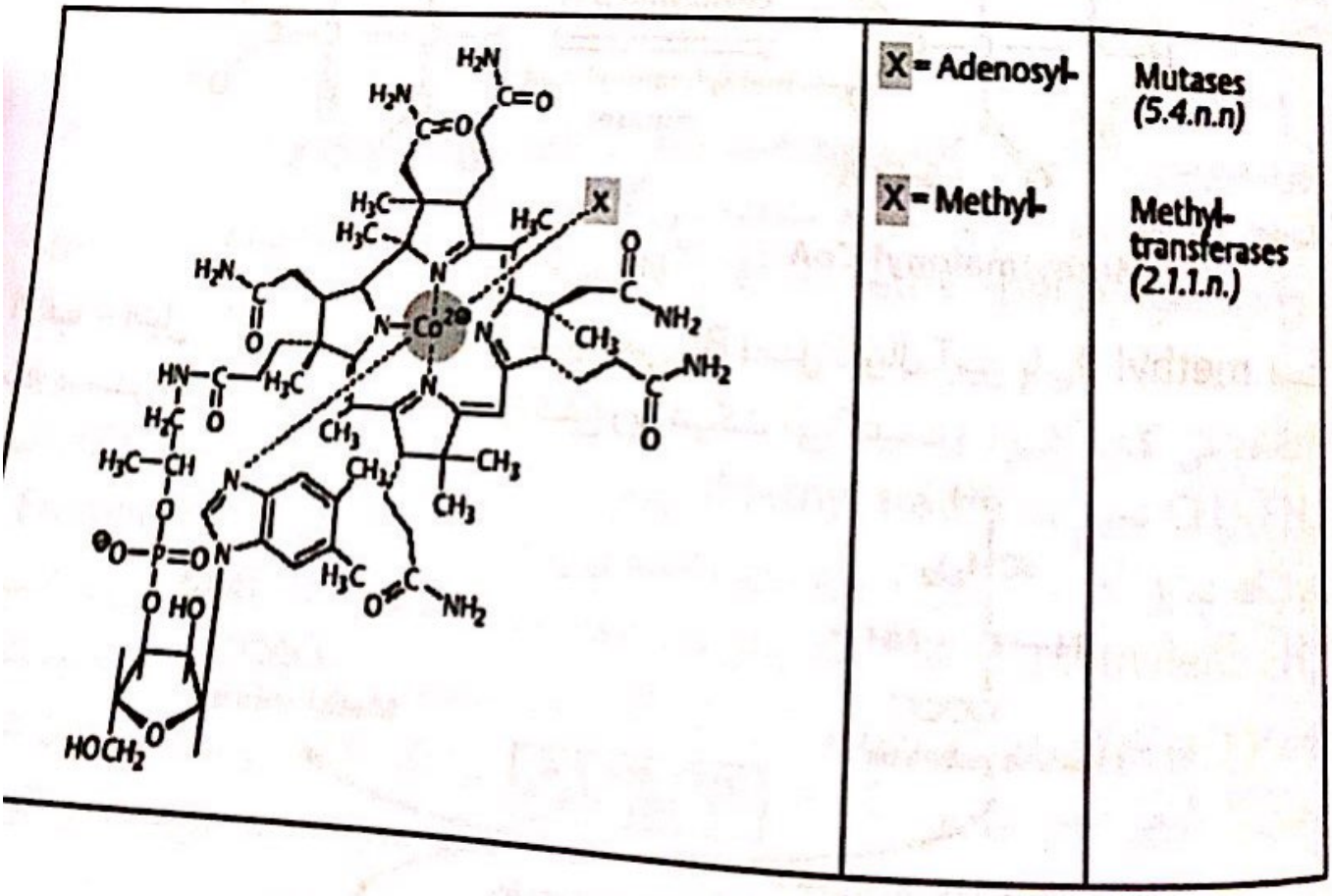
حاشیه ۳-۹ واکنش های تبدیل اشکال مختلف کوآنزیمی اسید فولیک به یکدیگر.



Scanned with CamScanner

۸- ویتـامین B_{12} یـا Cobalamine یا فاکتور خارجی ضد کم خونی مهلک (Antipernicious Anemia Extrinsic Factor)

Anemia یا کم خونی با کاهش تعداد RBC و یا کاهش Hb همراه می باشد. برای جلوگیری و همچنین درمان کم خونی نوع پرنسیو(Pernicious anemia) ، فاکتوری گلیـــکوپروتئینی (موکوپروتئین) در شیره معده کشف شد که آنرا فاکتور داخلی (intrinsic factor) نامیدند. همچنین فاکتور دیگری نیز جهت پیشگیری از بروز این کم خونی از گوشت گاو و کبد بدست آمد که فاکتور خارجی (Extrinsic Factor) نامیده شد. فاکتور خارجی ویتامین B_{12} یا Cobalamine می باشد (شکل ۱۶-۹). تشکیل کمپلکس فاکتور داخلی با ویتامین B_{12} در معده به جذب آن در روده کوچک کمک می نماید. از ویژگی های مهم ساختمان این ویتامین وجود حلقه کورین می باشد که یک تتراپیرول حلقوی است. در وسط حلقه کورین کوبالت سه ظرفیتی وجود دارد که به نیتروژن های حلقه های پیرول و همچنین به حلقه ایمیدازول متصل بوده و ظرفیت ششم آن توسـط عواملی نظیر ۵- داکســی آدنوزین(5-deoxyadenosine)، یون سیانید (CN) ویا گروه متیل اشغال می گردد (شکل۱۶-۹). شکل قابلّ دسترس وداروبی ویتامین B_{12} سیانوکوبالامین (Cyanocobalamine) می باشد.

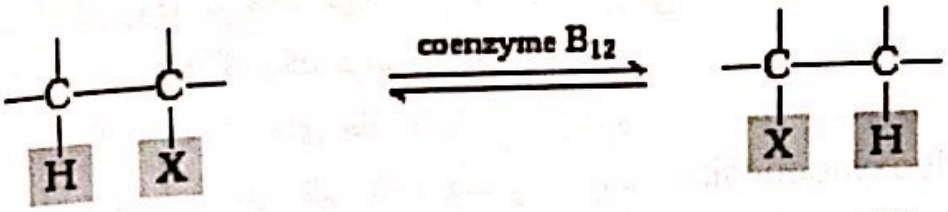


Scanned with CamScanner

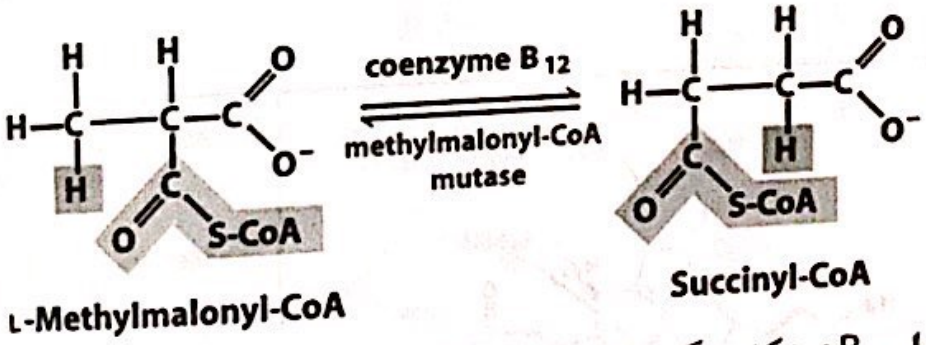
اشکال کوآنزیمی ویتامین B_{12} : ویتامین B_{12} دارای دو شکل کوآنزیمی به قرار زیر می باشد:

الف- کوآنزیم کوبامید (Cobamide Coenzyme) : در این کوآنزیم، یک مولکول 5- داکسی آدنوزین از طریق کربن ' 5 مولکول داکسی پنتوز با کوبالت وسط مولکول کورین نوعی پیوند کووالانسی تشکیل می دهد (شکل ۱۶-۹)

وظیفه بیوشیمیایی کوانزیم کوبامید: این کوآنزیم در انتقال یک H از یک C به کربن مجاور در مولکول سوبسترا و جایگزینی آن با گروه های بزرگی مانند الکیل (Alkyl)، کربوکسیل (Carboxyl)، هیدروکسیل (OH) وآمین (amino) طبق واکنش زیر شرکت می کند:



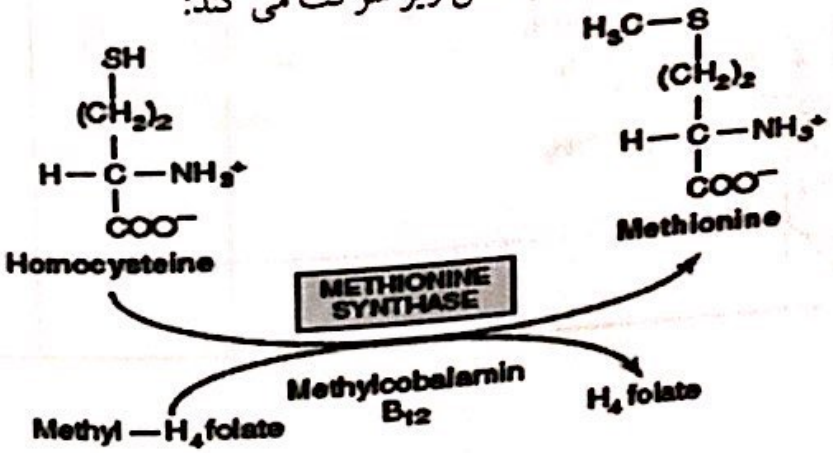
به عنوان مثال آنزیم متیل مالونیل کوآ موتاز (methylmalonyl CoA mutase) نیاز به این کوآنزیم داشته و واکنش زیر را کاتالیز می کند:



L-Methylmalonyl-CoA

Succinyl-CoA

ب - متیل B_{12} : شکل دیگر کوآنزیم ویتامین B_{12} ، متیل کوبال آمین یا methyl B_{12} است که در سنتز متیونین از هموسیستئین در واکنش زیر شرکت می کند:



Scanned with CamScanner

بیماری کمبود ویتامین B_{12} یا کم خونی پرنیسیو (Pernicious anemia): فاکتور داخلی یا موکوپروتئین مترشحه از معده که برای جذب ویتامین B_{12} از روده ضروری است، در برخی از بیماران مبتلا به کم خونی پرنیسیو وجود ندارد. علت عدم وجود این فاکتور ممکن است بدلائل ژنتیکی ،بیماری خود ایمنی، برداشتن بخشی از معده و یا بعلت تخریب غشاء های مخاطی معده در اثر کهولت باشد.

کمبود طولانی مدت فاکتور داخلی باعث تهی شدن ذخایر ویتامین B_{12} در کبد، کمبود ویتامین B_{12} و در نهایت کم خونی پرنیسیو می گردد. عوارض این کم خونی عبارتند از:

۱- کم خونی مگالوبلاستی

۲- متیل مالونیک اسیداوری (methylmalonic aciduria) :بعلت عدم فعالیت متیل مالونیل کوا موتاز، اسید متیل مالونیک در سلول ها تجمع یافته و پس از راه یابی به خون از راه ادرار دفع می گردد که این عارضه را متیل مالونیک اسیداوری می نامند.

از مدت ها پیش رابطه ای بین متابولیسم اسید فولیک و ویتامین B_{12} حدس زده شده است زیرا معلوم شده بود که در مراحل اولیه کم خونی پرنیسیو، کم خونی مگالوبلاستی از طریق تجویز اسید فولیک بهبود حاصل می کند، ولی این نوع درمان از بروز علائم نورولوژیک و متیل مالونیک اسیدمیا در بیماری پرنیسیو جلوگیری نمی نماید. از طرفی علائم نورولوژیکی بیماری کم خونی پرنیسیو در کمبود اسید فولیک مشاهده نمی شود. رابطه بین این دو ویتامین را می توان بشرح زیر خلاصه نمود:

۱- هنگام کاهش ویتامین B_{12}، سرعت واکنش تبدیل هموسیستئین به متیونین کاهش می یابد ولی چون متیونین یک اسید آمینه ضروری است و مقدار کافی آن توسط رژیم غذائی تامین می شود، اختلال آنی در متابولیسم پروتئین ها مشاهده نمی گردد.

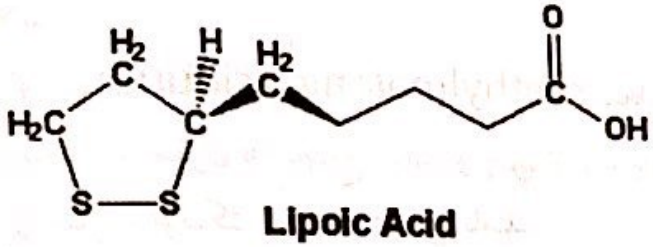
۲- اما احیاء N^5, N^{10}– methyleneFH$_4$ به N^5 – methyl FH$_4$ ادامه خواهد یافت. به علت اینکه آنزیم متیونین سینتاز تنها آنزیم در پستانداران است که از $N5 - CH_3 - FH_4$ استفاده می کند، کمبود ویتامین B12، سبب می شود که تمامی FH_4 موجود در بدن بصورت CH_3- FH_4 تجمع نماید(Methyl trap). چون $CH3- FH_4$ نمی تواند به سایر اشکال اسید فولیک تبدیل گردد بنابراین کمبود سایر واحدهای یک کربنی FH_4 مانند Formyl FH4 و methylene FH_4 که جهت سنتز پیش سازهای اسیدهای نوکلئیک ضروری است به وقوع می پیوندد. بنابراین باتزریق اسید فولیک ، سنتز اسیدهای نوکلئیک و در نتیجه خونسازی بصورت طبیعی انجام می شود. یک فرضیه علت علائم نورولوژیکی کم خونی پرنیسیو درمان نشده را اختلال در متابولیسم اسیدهای چرب تصور می کند. به علت کاهش فعالیت آنزیم متیل مالونیل کوا موتاز

Scanned with CamScanner

اختلالاتی در اجزاء لیپیدی بافت عصبی به وقوع می پیوندد زیرا فعالیت این آنزیم و ویتامین B_{12} در متابولیزم طبیعی اسیدهای چرب با تعداد کربن فرد و اسیدهای چرب دارای شاخه متیل نقش اساسی دارد.

۹- اسید لیپوئیک (Lipoic Acid یا 6 , 8 dithiooctanoic acid) **در اکسیداسیون گروه آلدئید فعال و تولید استیل کوآ از پیروات نقش دارد.**

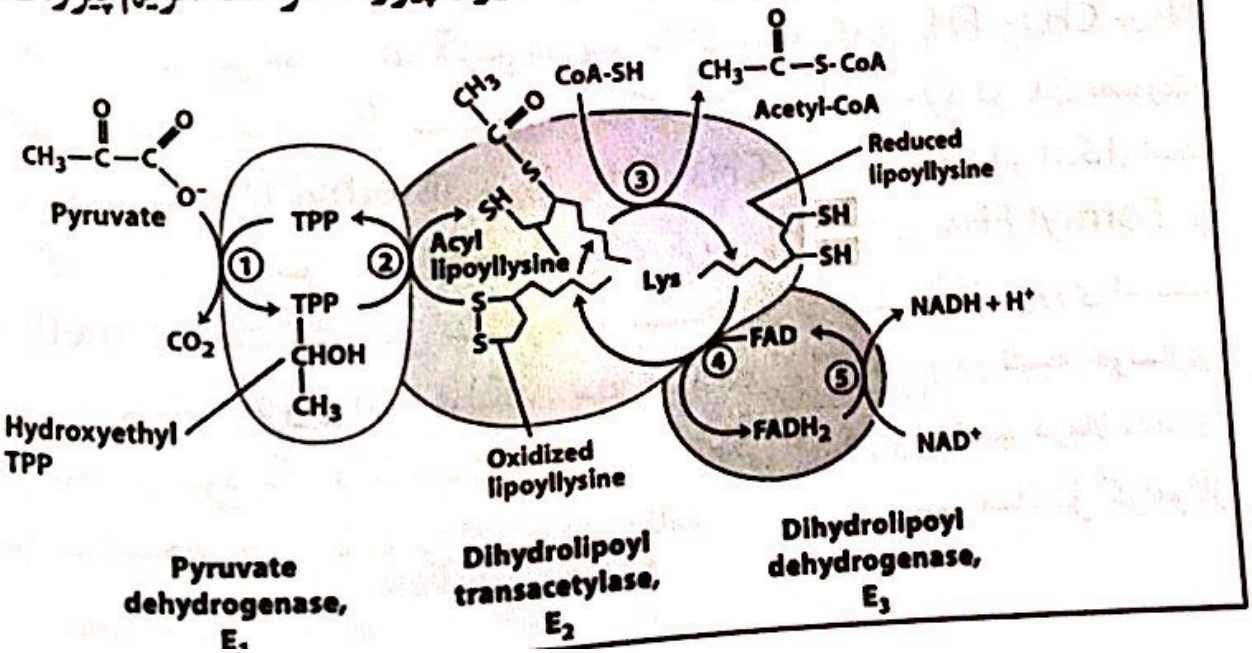
ساختمان شیمیائی: ساختمان شیمیائی اسید لیپوئیک به شکل زیر می باشد:



Lipoic Acid

نوع کوآنزیمی این ویتامین لیپوآمید (Lipoamide) است که در آن گروه کربوکسیل اسید لیپوئیک با گروه $\varepsilon - NH_2$ اسید آمینه لیزین در مولکول آنزیم پیوند آمیدی تشکیل می دهد. این کوآنزیم در اکسیداسیون پیرووات (Pyruvate) توسط آنزیم پیروات دهیدروژناز و تولید استیل کوآ (Acetyl-CoA) شرکت می کند. گروه آلدئید فعال ($\alpha - OH$ ethyl) از TPP به گوگرد کربن شماره 6 لیپوآمید منتقل می شود. در این جریان گروه آلدئید فعال اکسید شده و پیوند دی سولفیدی لیپو آمید احیاء می گردد. مکانیسم عمل کوآنزیم لیپوآمید در واکنش پیروات دهیدروژناز در حاشیه ۴-۹ نشان داده شده است.

حاشیه ٤-٩ نقش کوآنزیم لیپوآمید در اکسیداسیون پیروات توسط آنزیم پیروات دهیدروژناز

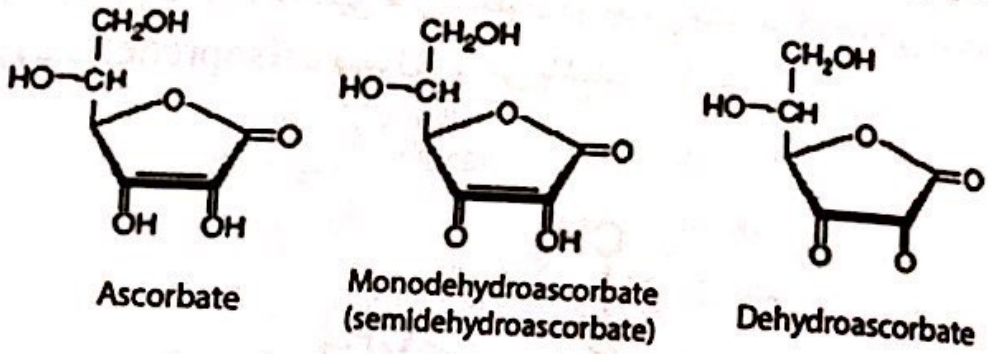


Scanned with CamScanner

استیل کوآنزیم آ حاصل از عمل این آنزیم وارد چرخه کربس می گردد.

۱۰- اسید آسکوربیک یا ویتامین C عامل احیاء کنندگی در واکنش پرولیل هیدروکسیلاز (Prolyl hydroxylase) **است.**

ساختمان شیمیائی: ویتامین C دارای ساختمان زیر می باشد: (شکل ۱۷-۹)



شکل ۱۷-۹ . ساختمان شیمیائی اسید آسکوربیک

اسید آسکوربیک یک قند اسیدی است که آرایش مولکولی آن شبیه قند L- گولز (L-gulose) می باشد (حاشیه ۵-۹).

حاشیه ۵-۹

L- گولز اپی مر کربن 3 گالاکتوز است. در واقع اسید آسکوربیک یک L- گولانو -γ- لاکتون است که دارای یک پیوند مضاعف بین کربن α و β می باشد.

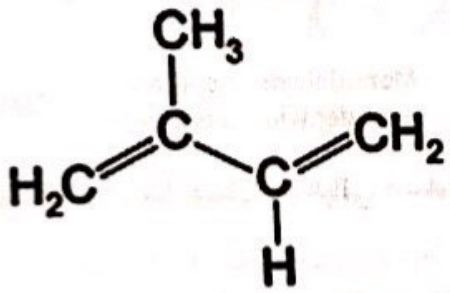
اسید اسکوربیک دارای خاصیت احیاء کنندگی زیاد است. آزاد شدن اتم های هیدروژن از enediol ها (OH کربنهای 2 و 3) موجب اکسیداسیون ال-اسکوربات (L ascorbate) و تبدیل آن به دهیدروآسکوربات (dehydroascorbate) می شود. این عمل توسط هوا، آب اکسیژنه، $FeCl_3$ و quinone ها و غیره انجام می شود. مواد احیاء کننده مانند گلوتاتیون (GSH) این فرآیند را برگشت پذیر می سازند. یک وظیفه مشخص ویتامین C بعنوان عامل احیاء کننده در واکنش پرولیل هیدروکسیلاز (Prolyl hydroxylase) می باشد که هیدروکسیله کردن پرولین در مولکول های پروکلاژن (Procollagen) را به عهده دارد.

Scanned with CamScanner

این ویتامین برای انسان ، میمون و خوکچه هندی ضروری بوده و سایر حیوانات آنرا از D - گلوکز سنتز می نمایند. کمبود ویتامین C منجر به بیماری اسکروی (Scurvy) می گردد. خونریزی از لثه، کم خونی و شکنندگی استخوان ها و جداره مویرگ ها از عوارض اسکروی می باشند.

۲-۹ ویتامین های محلول در چربی

ویتامین های E , D , A و K ویتامین های محلول در چربی مباشند که همگی مشتقات واحدهای پنج کربنی ایزوپرین(Isoprene) با فرمول زیر می باشند:



همانطور که ملاحظه می شود پیوند های دوگانه در واحد ایزوپرین به صورت یک در میان (conjugate) قرار دارند. وظیفه بیولوژیکی این ویتامین ها کاملا واضح نمی باشد. این ویتامین ها در ذخائر چربی بدن در مقادیر زیاد ذخیره می شوند و کمبود آن ها پس از عدم مصرف تا چندین ماه مشاهده نمی شود.

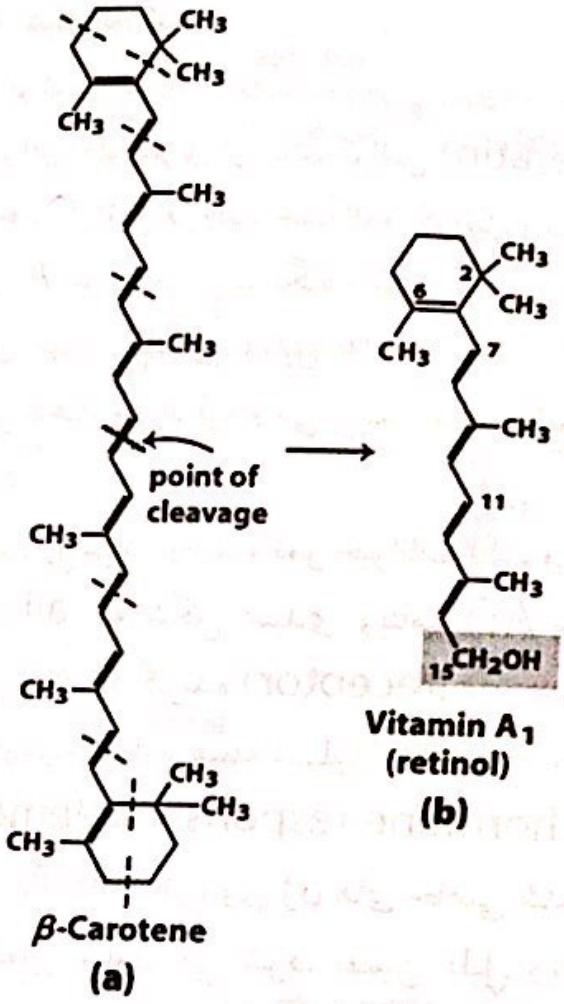
زیاده روی در مصرف ویتامین های E , D , A باعث اشباع ظرفیت بدن در ذخیره این ویتامین ها و بروز عوارض خاص هیپرویتامینوز (Hypervitaminosis) مربوط به هر کدام می گردد.

۱- ویتامین A

ویتامین A_1 (all trans – Retinol) در فرآیند بینائی و رشد و نمو بافت پوششی نقش دارد.

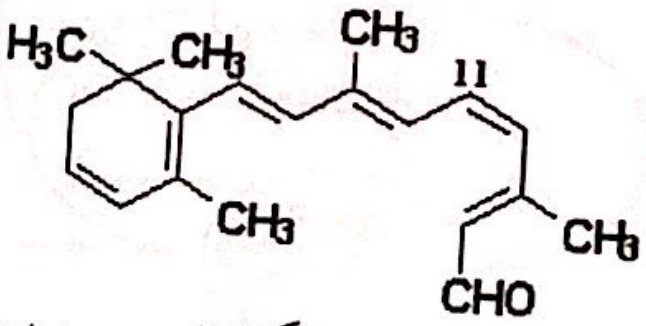
رتینول یا ویتامین A_1 می تواند از کاروتینوئید ها که مواد ایزوپرینوئیدی هستند (β-Carotene موجود در هویج) طبق فرمول زیر در بافت های بدن سنتز شود (شکل ۱۸-۹). ویتامین A یا باید در رژیم غذائی موجود باشد و یا در روده و کبد از بتا کاروتین(β – Carotene) موجود در منابع گیاهی مانند هویج سنتز گردد.

Scanned with CamScanner



شکل ۱۸-۹ . تبدیل بتا کاروتین به و یتامین A1

همانطوری که ذیلاً مشاهده می شود، all-trans retinol توسط یک ایزومراز به 11-cis retinol تبدیل شده ، سپس توسط یک دهیدروژناز به Δ11-cis – retinal اکسید می شود. Δ11-cis Retinal دارای ساختمان شیمیائی زیر می باشد:



اتصال رتینال حاصل با پروتئین اوپسین تولید رنگدانه ای موسوم به رودوپسین (rhodopsin) را می نماید. فرآیند بینائی شامل ایزومریزاسیون مجدد فوتوشیمیایی 11-cis – Retinal به all – trans Retinal می باشد (شکل ۱۹-۹- الف و ب)

Scanned with CamScanner

سایر وظائف ویتامین A عبارتند از:

الف- حفاظت از بافتهای پوششی بدن:

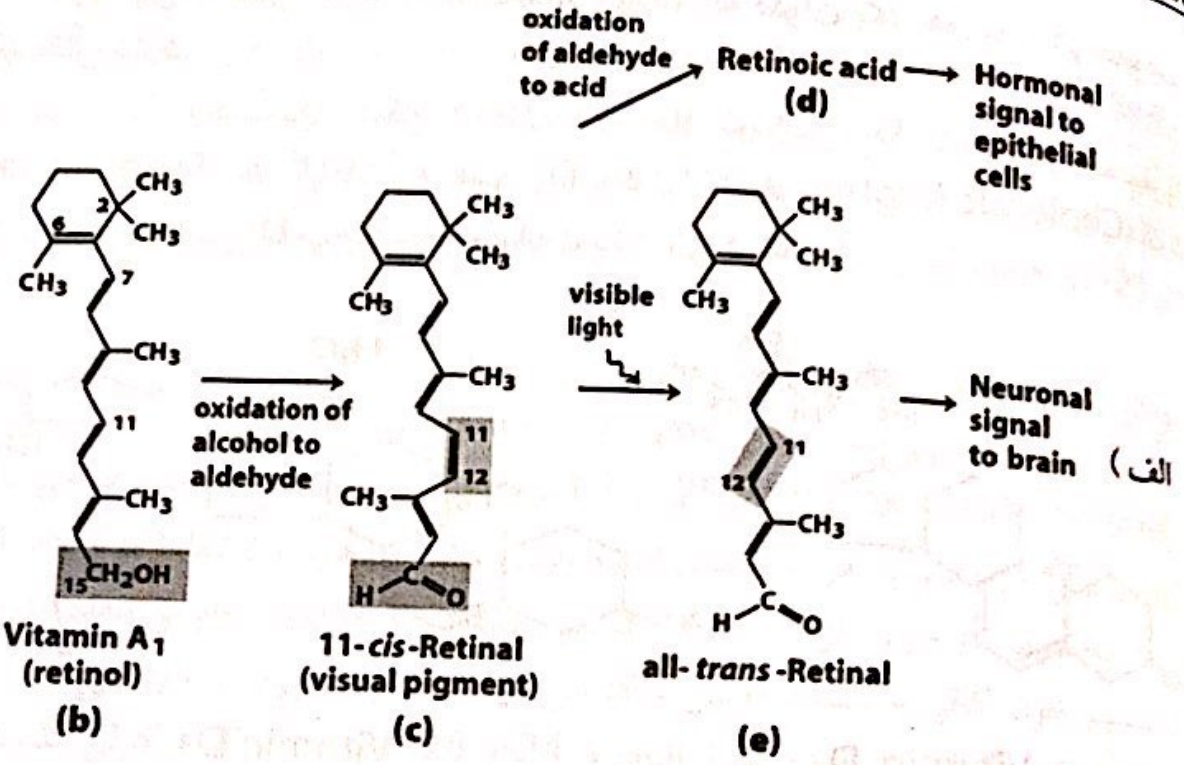
رتینول و یا اسید رتینوئیک برای جلوگیری از سنتز کراتین (Keratin) با وزن مولکولی زیاد مورد لزوم می باشد. سنتز بیش از حد کراتین موجب خشک و کراتینیزه شدن بافت های پوششی پوست شده، در صورتی که ویتامین A سبب مرطوب نگاه داشتن آنها می گردد.

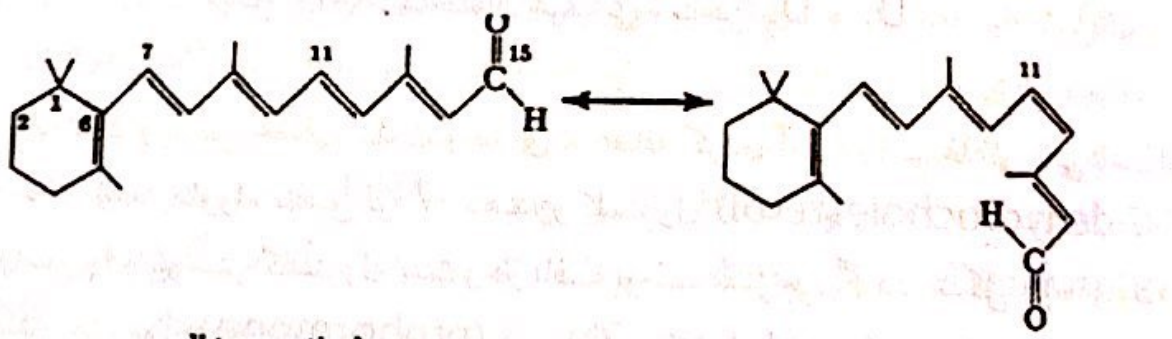
ب - رتینیل فسفات برای سنتز گلیکوپروتئین ها که بخشی از ساختمان مخاط مترشحه بافتهای پوششی را تشکیل می دهند مورد لزوم می باشد. عدم ترشح مخاط موجب خشک شدن بافت پوششی می گردد.

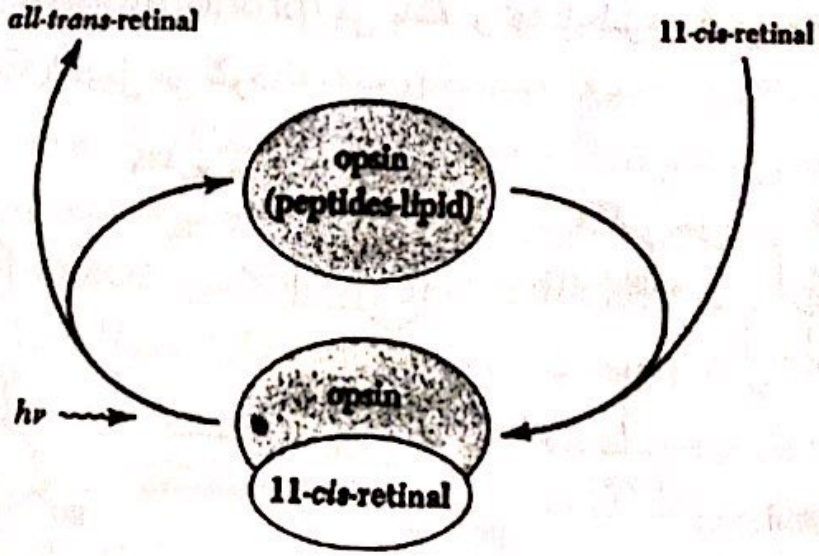
ج - ویتامین A وظیفه مهمی را نیز در رشد و نمو حیوانات ایفاء می کند.

all trans Retinoic acid که شکل اسیدی ویتامین A1 می باشد مانند هورمون های استروئیدی عمل می نماید. این اسید به گیرنده (receptor) های خود در سیتوپلاسم متصل شده و کمپلکس اسید رتینوئیک - رسپتور وارد هسته سلول گشته و به جایگاه های خاصی موسوم به عناصر پاسخ به هورمون hormone responsive elements (HRE) روی DNA متصل می شود. این عمل موجب سنتز mRNA از روی ژن های خاصی شده و نهایتا سنتز پروتئین انجام می گیرد و موجب رشد و تمایز سلول می شود. بهمین دلیل ویتامین A برای رشد و نمو مورد نیاز می باشد.

Scanned with CamScanner





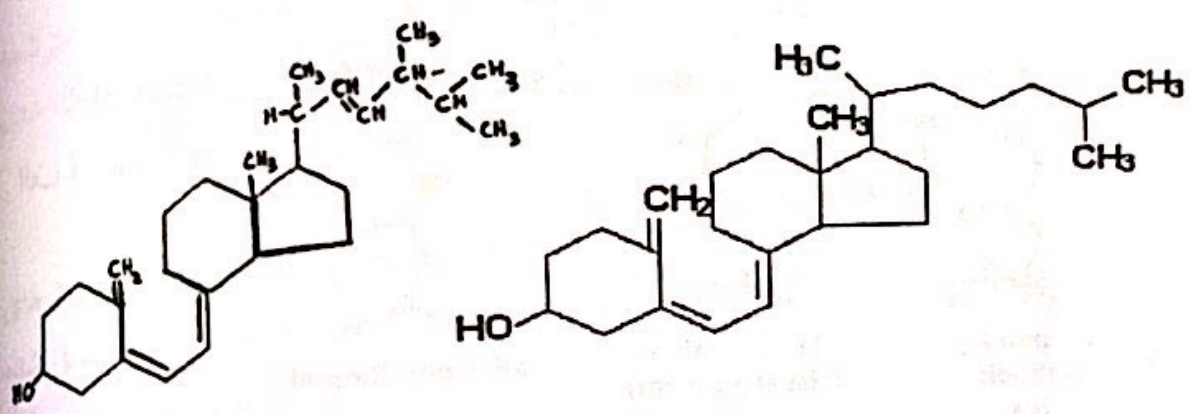


شکل ۱۹-۹. تبدیل رتینول (ویتامین A_1) به اشکال زیستی فعال آن (الف) و نقش آن در فرایند بینایی (ب).

Scanned with CamScanner

۲-۲-۹ ویتامین D بصورت cholecalciferol 1,25 به عنوان یک هورمون در متابولیسم کلسیم نقش دارد.

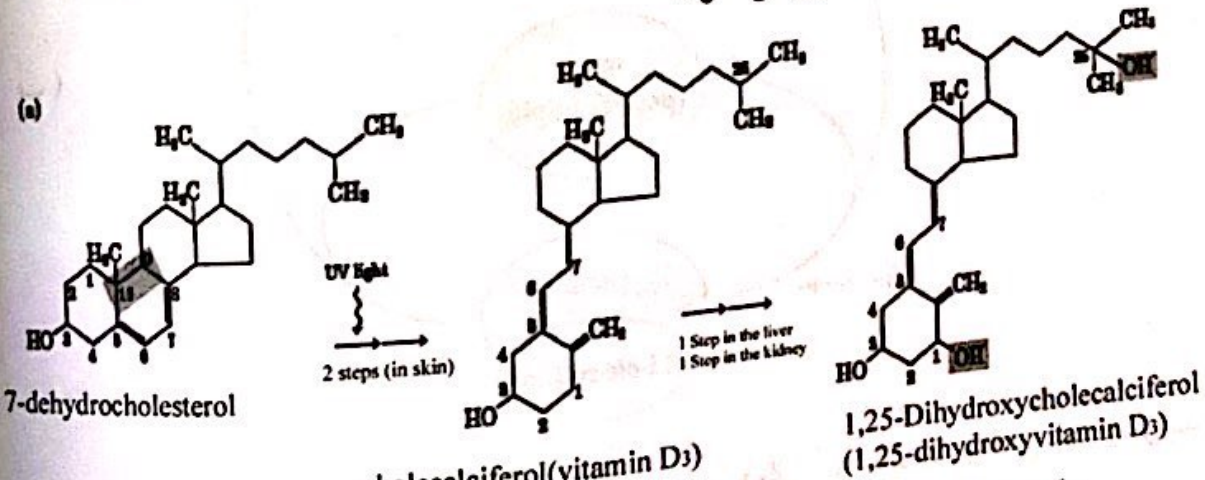
دو نـوع این ویتـامین (شکل۲۰-۹) به نام های ویتامین D_2 یا ارگـوکلسـیفرول (Ergocalciferol) در گیاهان و ویتامین D_3 یاکولی کلسیفرول (Cholecalciferol) که از فراوان ترین نوع ویتامین D می باشد در حیوانات یافت می شوند.



Vitamin D2 Vitamin D3

شکل ۲۰-۹. ساختمان شیمیایی ویتامین D_2 و D_3

ویتامین D_3 یک ویتامین حقیقی نیست و نیازی به اضافه کردن آن به رژیم غذائی نمی باشد. این ویتامین از تاثیر اشعه ماوراء بنفش بر 7- دهیدروکلسترول (7-dehydrocholesterol) که جسم حد واسطی در بیوسنتز کلسترول است، در بافت پوست سنتز می گردد (شکل ۲۱-۹). ویتامین D_3 یک پیش هورمون (prohormone) می باشد و نهایتا طبق واکنش های زیر به هورمون کلسیتریول(Calcitriol) تبدیل می شود.



7-dehydrocholesterol cholecalciferol(vitamin D3) 1,25-Dihydroxycholecalciferol (1,25-dihydroxyvitamin D3)

شکل ۲۱-۹. تبدیل 7-Dehydrocholesterol به اشکال زیستی فعال آن

Scanned with CamScanner

ویتامین D_3 در کبد توسط یک آنزیم هیدروکسیلاز به 25- هیدروکسی کولی کلسیفرول (25Hydroxycholecalciferol) تبدیل شده و به جریان خون وارد می گردد. هنگام کاهش کلسیم خون، غده پاراتیروئید هورمون پاراتیروئید را برای فعال سازی آنزیم 1- هیدروکسیلاز کلیوی ترشح می کند. تحت تاثیر این آنزیم 25- هیدروکسی کولی کلسیفرول به 1و 25- دی هیدروکسی کولی کلسیفرول یا کلسی تریول تبدیل می گردد.

وظایف بیوشیمیایی ویتامین D

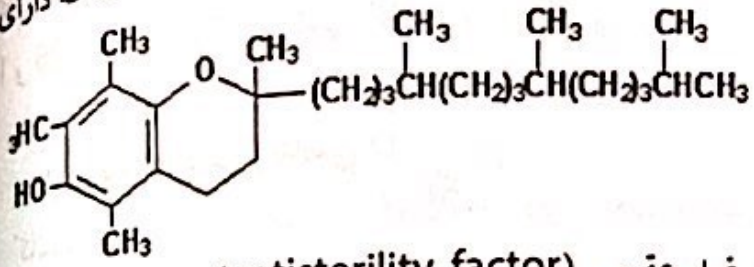
کلسیتریول یا 1و25- دی هیدروکسی کولی کلسیفرول (1 , 25Dihydroxycholecalciferol-) نوع فعال و هورمونی ویتامین D می باشد که مکانیسم عمل آن مشابه با هورمون های استروئیدی است. این هورمون تنظیم متابولیزم کلسیم و فسفات بخصوص در جهت افزایش غلظت کلسیم و فسفات در خون را انجام می دهد. اما زمانی که کلسیم خون کافی باشد، دومین واکنش هیدروکسیلاسیون بر روی C_{24} در ملکول 25-هیدروکسی کولی کلسیفرول اتفاق افتاده و 24 و 25- دی هیدروکسی کولی کلسیفرول که یک متابولیت غیر فعال است تولید می شود. 1 و 25- دی هیدروکسی کولی کلسیفرول دارای گیرنده در بسیاری از سلول های بدن است. این هورمون به گیرنده های پروتئینی خود در سیتوپلاسم سلول های روده متصل شده و کمپلکس حاصل به هسته سلول منتقل گشته و از طریق اتصال به عناصر پاسخ به (هورمون HRE) خاص خود در DNA، موجب افزایش نسخه برداری (Transcription) از روی یک ژن و نهایتا پروتئین مربوط به آن می گردد. این پروتئین جذب فعال کلسیم را از روده افزایش می دهد. کلسی تریول در استئوبلاست های (osteoblasts) استخوان نیز موجب افزایش ذخیره کلسیم بصورت فسفات کلسیم می گردد. به علاوه کلسی تریول سنتز ماتریکس معدنی استخوان را که به مقدار زیادی از فسفات کلسیم ساخته شده است افزایش می دهد. بنابراین قرار گرفتن در معرض نور کم آفتاب موجب کمبود ویتامین D_3 و بروز اختلالات استخوانی مانند راشیتیسم (Rickets) در اطفال واستئومالاسی(Osteomalacia) در بزرگسالان می گردد. در مناطقی که نور آفتاب کم است ویتامین D را معمولاً به فرآورده های لبنی مانند شیر اضافه می کنند. بدین ترتیب که اشعه ماوراء بنفش را در مرحله پاستوریزاسیون به شیر می تابانند تا 7-دهیدروکلسترول به ویتامینD تبدیل شود. ناگفته نماند که تاثیر کلسیتریول بر سلول های مختلف استخوان پیامدهای متفاوتی دارد. ازجمله، اثر این هورمون بر استئو کلاست ها (Osteoclasts) باعث افزایش رها سازی کلسیم و فسفات از این سلول ها می شود. این اثر هورمون به همراه اثر آن در افزایش جذب کلسیم از روده، در نهایت موجب افزایش غلظت کلسیم

Scanned with CamScanner

وفسفات در خون می گردد.

۳- ویتامین E یک آنتی اکسیدان قوی در غشاءهای سلولی می باشد.

ویتامین E شامل توکوفرول های متعددی است که مهمترین آنها آلفا توکوفرول است که دارای ساختمان شیمیائی زیر می باشد:



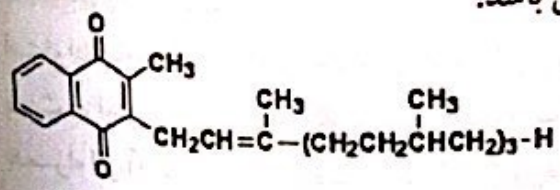
این ویتامین درابتدا بعنوان عامل ضد عقیمی (antisterility factor) در موش صحرایی شناخته شد. بنظر می رسد که ویتامین E دارای یک نقش آنتی اکسیدانی (antioxidant) بوده و بطور ویژه از پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع موجود در غشاء های سلولی جلوگیری می کند.

α- توکوفرول در لوله آزمایش (in vitro) نیز از پراکسیداسیون اسیدهای چرب جلوگیری می کند.

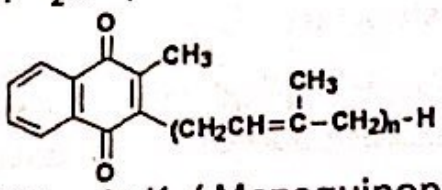
کمبود ویتامین E تولید علائمی می نماید که توسط سایر آنتی اکسیدان ها بر طرف نمی شود. احتمالاً ویتامین E دارای وظائف بیولوژیک ناشناخته دیگری نیز می باشد. نوزادان نارس دارای ذخائر غیر کافی ویتامین E بوده و غشاء گلبول های قرمز آنها در اثر پر اکسیداسیون معمولا به طرز غیر طبیعی شکننده شده و نهایتا منجر به کم خونی همولیتیک در این نوزادان می گردد.

٤- ویتامین K کوفاکتور واکنش های گاما کربوکسیلاسیون بوده و در انعقاد خون شرکت می کند.

ویتامین K بعنوان فاکتوری که در انعقاد خون نقش داشته و در چربی محلول می باشد کشف شد. در گیاهان ویتامین K1 یا phylloquinone وجود دارد که کوینون (quinone) آن دارای شاخه جانبی اشباع شده است، در صورتی که در حیوانات ویتامین K_2 یا Menaquinone موجود است که شاخه جانبی آن تا حدودی غیر اشباع می باشد. کوینون در باکتری ها نیز وجود دارد. ساختمان ویتامین های K_1 و K_2 بقرار زیر می باشد:



(Vitamin K_1 (Phyloquinone)

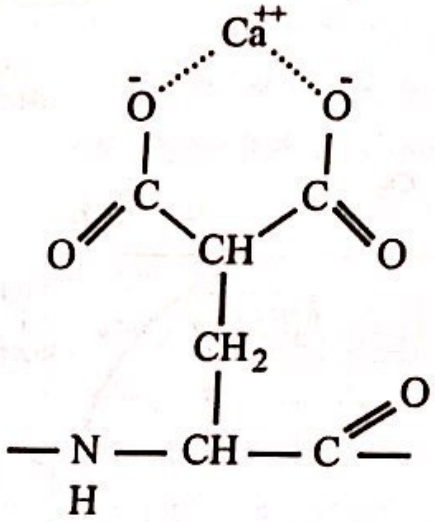


Vitamin K_2 (Menaquinone)

Scanned with CamScanner

وظیفه بیوشیمیایی ویتامین K

در حیوانات ویتامین K_2 جهت کربوکسیلاسیون واحدهای گلوتامات در برخی از پروتئین ها لازم بوده وطبق فرمول شکل ۲۲-۹ گاماکربوکسی گلوتامات (γ-Carboxyglutamate) تولید می نماید (حاشیه ۶-۹). چنین تغییری در ساختمان گلوتامات پروتئین ها سبب می شود که طبق فرمول زیر پروتئین ها بتوانند یون Ca^{++} را بخود متصل کنند(شکل ۲۲-۹).

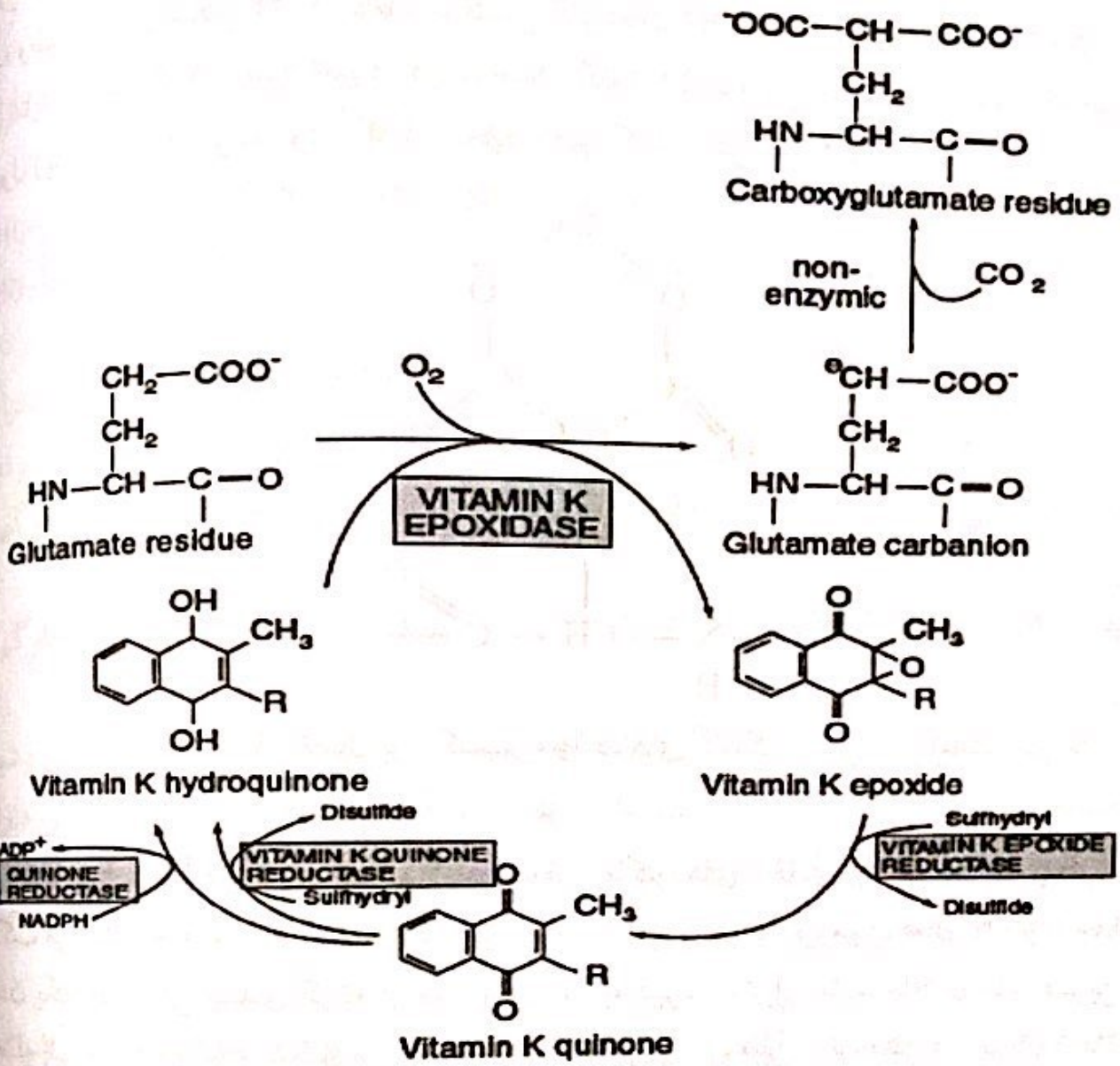


شکل ۲۲-۹ . اتصال یون کلسیم به واحد های گاماکربوکسی گلوتامات

از جمله ویتامین K در گاما کربوکسیلاسیون بعضی فاکتورهای انعقادی که نیاز به کلسیم دارند شرکت می کند. لخته خون هنگامی تشکیل می شود که آنزیم پروتناز ترومبین، فعال شده و با جدا کردن یک قطعه پلی پپتیدی کوتاه از فیبرینوژن آنرا به فیبرین تبدیل نماید. ملکول های فیبرین حاصله پلی مر شده و لخته تشکیل می گردد. مراحل تبدیل پروترومبین به ترومبین در جریان انعقاد خون در حاشیه ۷-۹ توضیح داده شده است. علاوه بر بعضی از فاکتورهای انعقادی، پروتئین هایی که در انتقال کلسیم شرکت می کنند نیز در واحدهای اسید گلوتامیک خود در حضور ویتامین K، گاما کربوکسیله می شوند. برخی از پروتئین ها مانند Calmodulin ها که Ca^{++} به گروه γ-Carboxyl آنها متصل می شود پس از اتصال Ca^{++}، فعالیتشان تغییر می کند. ویتامین K توسط باکتری های روده سنتز می شود ولی در نوزادان به علت عدم وجود باکتری کافی در روده احتمال بروز سندروم خونریزی دهنده (Hemorrhagic Syndrome) وجود دارد.

Scanned with CamScanner

حاشیه ۶-۹ نقش ویتامین K در کربوکسیلاسیون واحدهای گلوتامات



آنالوگ های ویتامین K مانند dicumarol و وارفارین (warfarin) با ویتامین K رقابت نموده و از انعقاد خون جلوگیری می کنند. از این داروها برای جلوگیری از انعقاد خون در رگ های خونی (Venous Thrombosis) استفاده می کنند.

Scanned with CamScanner

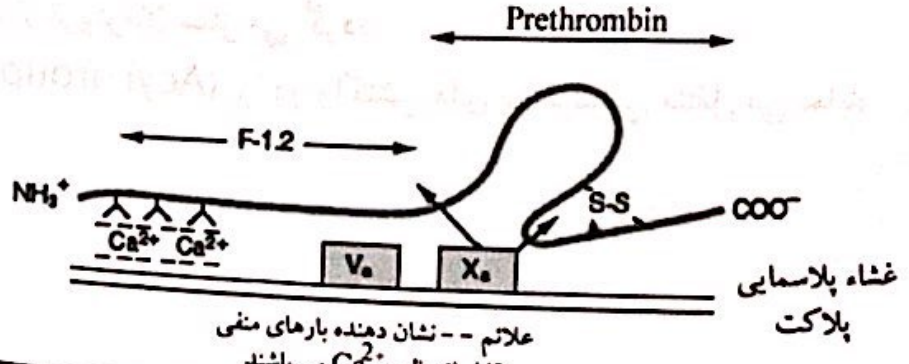
حاشیه ۷-۹ نقش یون کلسیم و واحـــد های گلوتامات در جریان فعال شدن پروترومبین.

فعال شدن ترومبین نتیجه جدا شدن یک قطعه کوتاه پلی پپتیدی از پروترومبین می باشد. پروترومبین یک گلیکو پروتئین تک رشته ای ۷۲ کیلو دالتونی است که توسط کبد ساخته می شود. ناحیه N- ترمینال آن دارای ۱۰ واحد اسید گلوتامیک است که در حضور ویتامین K و آنزیم گاما کربوکسیلاز در زنجیره های جانبی کربوکسیله می شوند. پروترومبین به دنبال آسیب بافت به ترومبین تبدیل شده و فعال می گردد. بدینترتیب که ایجاد بریدگی در رگ ها باعث راه اندازی پی در پی مجموعه ای از واکنشهای بیوشیمیای در خون میگردد که در نهایت منجر به فعال شدن یک آنزیم پروتئاز به نام فاکتور X میگردد.علاوه بر این برای تبدیل پروترومبین به ترومبین وجود شکل فعال فاکتور V و همچنین یون کلسیم و غشاء پلاکت ها ضروری است. فاکتور V گلیکوپروتئینی است که در کبد، طحال و کلیه سنتز شده و درپلاکت ها و پلاسما یافت می شود. شکل فعال فاکتور V(Va) به رسپتور های خاصی در سطح پلاکت ها متصل شده و تولید کمپلکسی با فاکتور X فعال (Xa) و پروترومبین می نماید.

یون کلسیم با اتصال به بارهای منفی گاماکربوکسی گلوتامات درپروترومبین از یک سو و بارهای منفی فسفولیپید های غشاء پلاکت ها (فسفاتیدیل سرین) از سوی دیگر مانند پل عمل نموده و باعث اتصال پروترومبین، فاکتور Xa و فاکتور Va به غشاء پلاکت ها می گردد. بدین ترتیب ملکول های سوبسترا (پروترومبین) و آنزیم (فاکتور Xa) در کنار هم قرار گرفته و واکنش فعال شدن ترومبین انجام می گردد.

پروترومبین پس از اتصال به کمپلکس Va و Xa بر روی غشاء پلاکتها در دو منطقه توسط فاکتور Xa شکسته شده و مولکول دو زنجیره ای ترومبین فعال را تولید نموده و سپس ترومبین از سطح پلاکت ها آزاد می شود.

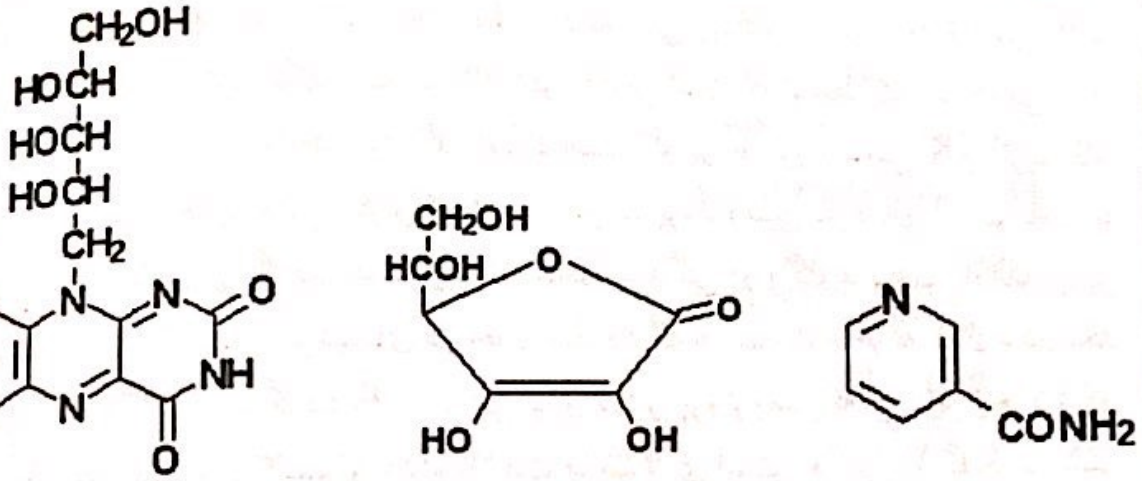
بخشی از پروترومبین که نهایتا ترومبین را تولید می کند Prethrombin نامیده می شود. انتهای C- ترمینال ترومبین دارای خاصیت سرین پروتئازی فعال می باشد.



Scanned with CamScanner

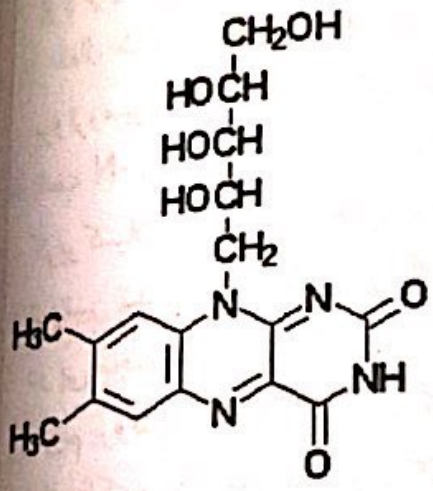
سئوالات چهارگزینه ای

با توجه به ساختمان های زیر به سئوالات شماره ۱ تا ۴ پاسخ دهید.

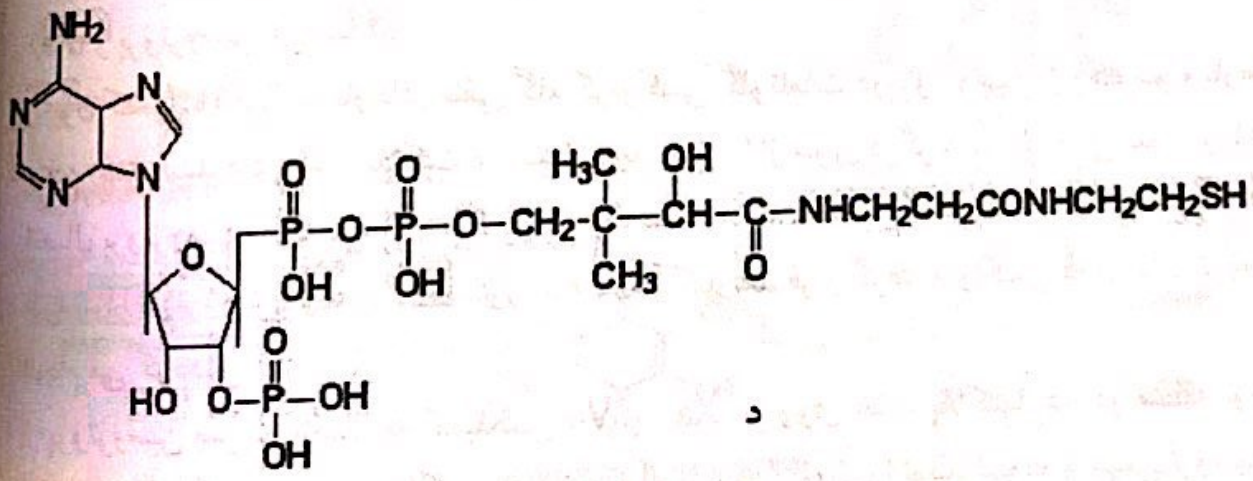


الف

ب



ج



د

۱- رنگ زرد ویتامین های ب کمپلکس مربوط به آن می باشد.
۲- به عنوان آنتی اکسیدان در فاز آبی سلول عمل می نماید.
۳- در بدن انسان از تریپتوفان سنتز می گردد.
۴- عامل اسیل (Acyl group) را در واکنش های بیوشیمیایی منتقل می نماید.

Scanned with CamScanner

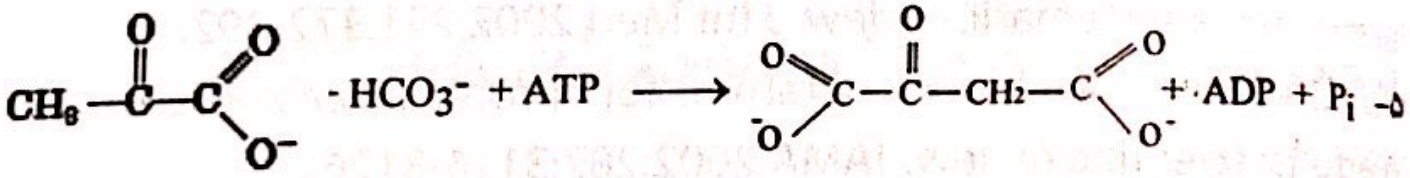
آنزیم کاتالیز کننده هرکدام از واکنش های ذیل به فرم کوانزیمی کدامیک ازچهار ویتامین زیر نیاز دارد.
(به سوالات شماره ۵ تا ۸ پاسخ دهید.)

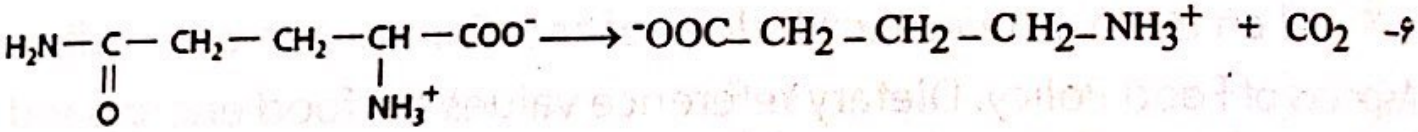
الف- اسید فولیک

ب- نیاسین

ج - بیوتین

د- پیریدوکسین

۵- 

۶- 

۷- 

۸- 

Scanned with CamScanner

فصل ۱۰

پروتئین های پلاسما و ساختمان هموگلوبین

دکتر زهره مصطفوی پور

اهداف:

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

- الکتروفورتوگرام استات سلولز پروتئین های پلاسما را بشناسید.
- اهمیت زیستی آلبومین و آنتی پروتئیناز پلاسما را شرح دهید.
- پروتئین های ناقل هیم، هموگلوبین و یونهای مس و آهن در پلاسما را بیان کنید.
- ساختمان های انواع ایمنوگلوبولین ها و آشنایی با نقش آنها در مکانیسم های دفاعی بدن را شرح دهید.
- ساختمان و منحنی های اشباع هموگلوبین و میوگلوبین را مقایسه نمایید.
- انواع هموگلوبین ها و نقش هموگلوبین A در انتقال ایزوهیدریک دی اکسید کربن را بیان کنید.
- اثر بور و عوامل موثر بر علاقه هموگلوبین A به اکسیژن را تعریف کنید.
- اساس بیوشیمیایی بیماری های ویلسون، سرطان مالتیپل میلوما، کم خونی سلول داسی و تالاسمی را شرح دهید.

Scanned with CamScanner

نقش اصلی خون در حفظ هموستایز(Homestasis) بدن می باشد. سهولت تهیه نمونه خون و بررسی و مطالعه اجزائ تشکیل دهنده آن اهمیت اساسی در بیوشیمی و بیوشیمی بالینی دارد. در این مبحث با پروتئین های پلاسما از جمله ایمنوگلبولین ها (آنتی بادی ها) و برجسته ترین نقش های زیستی آنان آشنا می شویم. تغییرات در پروتئین ها ی پلاسما و ایمینوگلوبولین ها در بسیاری از بیماری ها دیده می شوند. اندازه گیری میزان پروتئین های پلاسما به روش الکتروفورز یا روش های مناسب دیگر مانند کروماتوگرافی می تواند در تشخیص و مطالعه این بیماری ها مفید باشد.

۱-۱۰ پلاسما حاوی مخلوط پیچیده ای از پروتئین ها می با شد.

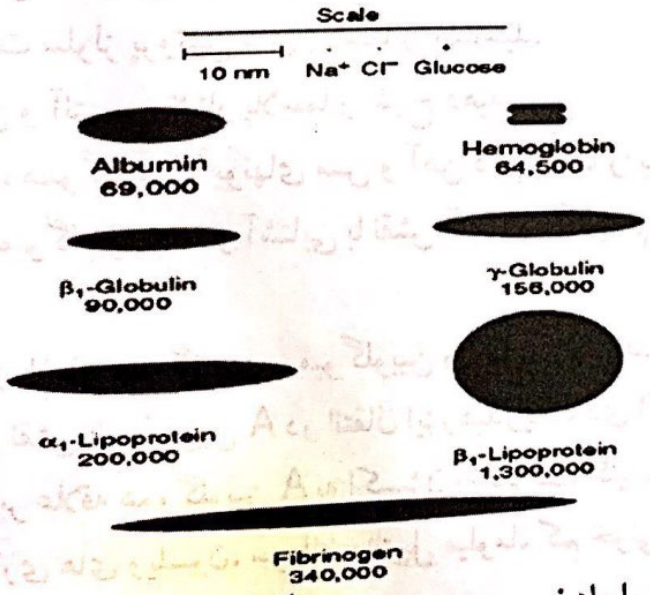
پلاسما شامل آب، الکترولیت ها، متابولیت ها، مواد مغذی، پروتئین ها و هورمون ها است. ترکیب آب و الکترولیت های پلاسما شبیه مایع خارج سلولی (extracellular fluid) می باشد. پلاسما دارای مجموعه ای از پروتئین ها ی مختلف با وزن مولکولی های متفاوت است (شکل۱-۱۰). در افراد سالم غلظت پروتئین برابر با (dL) 7-7.5 g/100ml می باشـــــد. پروتئین های پلاسما را می توان به سه دسته زیر تقسیم بندی نمود.

پروتئین های ساده (Simple proteins) فقط از اسیدهای آمینه تشکیل شده اند.

گلیکو پروتئین ها (Glycoproteins) پروتئین هایی هستند که مواد کربوهیدرات به زنجیره پلی پپتیدی آنها متصل می باشند.

لیپوپروتئین ها (Lipoproteins) مجموعه هایی متشکل از پروتئین ها و مواد چربی مانند کلسترول، تری گلیسیریدها و فسفولیپیدها هستند که وظیفه انتقال مواد چربی در خون را به عهده دارند.

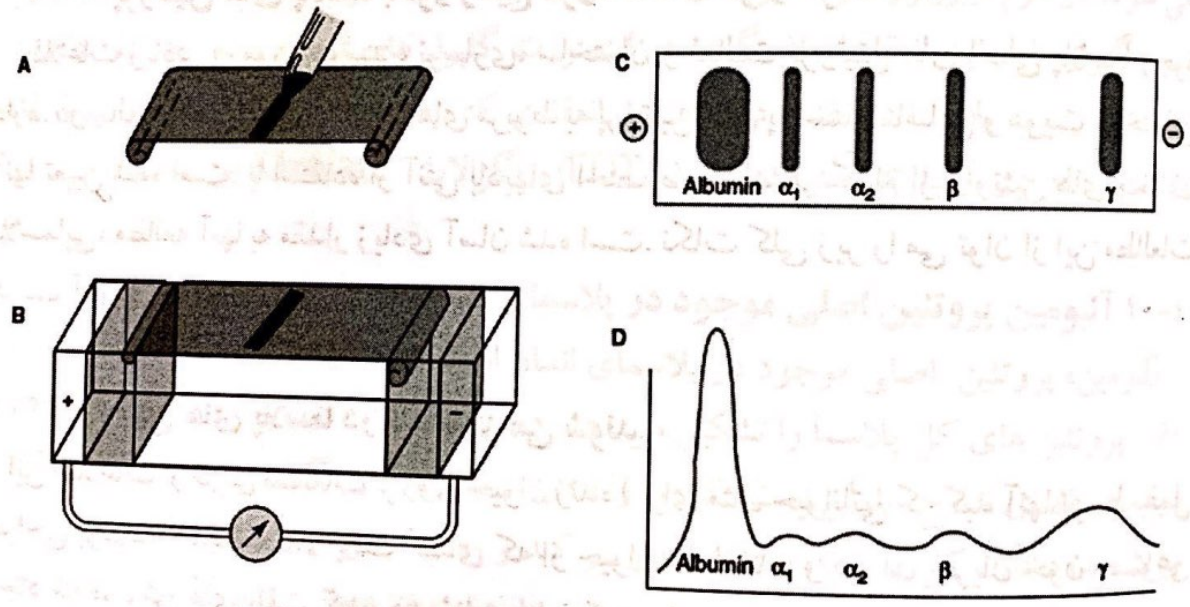
جرم مولکولی و ابعاد نسبی مهمترین پروتئین های پلاسما در شکل ۱-۱۰ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱۰ . ابعاد نسبی و جرم های مولکولی مهمترین پروتئین های خون

Scanned with CamScanner

معمول ترین و بهترین روشی که امروزه در آزمایشگاه های تشخیص طبی جهت جداسازی پروتئین های پلاسما مورد استفاده قرار می گیرد، روش الکتروفورز می باشد. الکتروفورز پلاسما معمولاً در محیطی با pH=8.6 انجام می گیرد که بالاتر از pI (pH ایزوالکتریک) بسیاری از پروتئین های پلاسما می باشد. در نتیجه تمامی پروتئین های خون در این pH بار منفی پیدا کرده و به طرف قطب مثبت حرکت می کنند. پس از رنگ آمیزی، پروتئین های پلاسما بصورت پنج باند مجزا، شامل یک باند بزرگ آلبومین و چهار باند گلوبولین شامل α_1, α_2, β, γ مشاهده می شوند (شکل ۲-۱۰). نوار رنگ آمیزی شده استات سلولز یا هر ماده پایه دیگر را الکتروفورتوگرام (electrophoretogram) می نامند. مقـــدار این ۵ باند به صـــورت کمی توسط ماشین های دانسیتومتر اسکن کننده (Densitometric scanning machines) اندازه گیری می شوند. در بسیاری از بیماری ها مقادیر این باندها نسبت به نمونه سالم تغییر می یابد.



شکل ۲-۱۰. روش الکتروفورز با استفاده از استات سلولز. الف :مقدار کمی از سرم یا مایعات بیولوژیکی دیگر بر روی نوار استات سلولز قرار داده می شوند. ب : الکتروفورز نمونه ها در بافر الکترولیت مناسب انجام می شود. ج : پس از رنگ آمیزی باند های پروتئین جدا شده مشخص می شوند. د : دانسیتومتر هر کدام از باند ها را به شکل پیک های (peak) مجزا شامل آلبومین و گلوبولین ها در می آورد.

در یک نوع از این روش حجم کمی از پلاسما را بر روی نوار کاغذ استات سلولز بعنوان زمینه حرکت قرار داده و سپس این مجموعه را در یک محلول بافر با pH قلیایی قرار میدهند .هنگامی که دو سمت نـوار کاغذ به دو قطـب مخالف الکتریکی متـصل شده و جریان برق برقرار می گردد،

Scanned with CamScanner

پروتئین های مختلف با سرعت های متفاوت به سمت قطب مثبت حرکت نموده و در دستجات یا باند های مختلف از هم جدا می شوند.

۲-۱۰ اعمال پروتئین های پلاسما

۱- شرکت در ایجاد فشار اسمزی خون
۲- انتقال یون های گوناگون و ترکیبات حد واسط متابولیکی
۳- مهار کردن آنزیم های پروتئولیتیک
۴- شرکت در ایجاد سیستم ایمنی
۵- مسدود کردن پارگی ها و بریدگی هایی که ممکن است در عروق رخ دهند.

۳-۱۰ پروتئین های پلاسما بطور وسیع مورد مطالعه قرار گرفته اند.

اطلاعات زیادی درمورد بیوسنتز، نوسازی، ساختمان و فعالیت پروتیئن های اصلی پلاسما وجود دارد. در سالهای اخیر، بسیاری از ژن های مربوط به پروتئین های پلاسما شناسایی و هویت ساختمانی آنها تعیین شده است. با استفاده از آنتی بادیهای اختصاصی ضد هر کدام از پروتئین های مختلف پلاسمایی، مطالعه آنها به مقدار زیادی آسان شده است. نکات کلی زیر را می توان از این مطالعات بدست آورد:

اکثر پروتئین های پلاسما در کبد سنتز می شوند.

این اطلاعات از طریق مطالعات بر روی حیوان زنده (برای مثال حیواناتی که کبد آنها توسط عمل جراحی برداشته شده است)، بافت کبدی که از حیوان جدا شده و در آن جریان خون مصنوعی ایجاد شده، برش های بافت کبد، هموژنات های کبدی و همچنین استفاده از سیستم های تهیه و ترجمه mRNA در شرایط آزمایشگاهی به دست آمده است. لازم به تذکر است که γ – گلوبولین ها توسط سلول های پلاسما (Plasma cells) ساخته می شوند. برخی دیگر از پروتئین های پلاسمایی نیز در محل دیگری، نظیر سلول های اندوتلیال، سنتز می گردند.

اکثر پروتئین های پلاسما در زمره گلیکوپروتئین ها می باشند.

بر این اساس، گلیکوپروتئین ها دارای زنجیرهای اولیگوساکاریدی هستند که از طریق پیوندهای N و یا O گلیکوزیدی به ریشه های جانبی اسیدهای آمینه در زنجیره پلی پپتیدی آنها متصل شده اند.

Scanned with CamScanner

آلبومین و پرآلبومین (prealbumin) جزء پروتئین های ساده هستند و تنها ازاسیدهای آمینه ساخته شده اند. بعضی از پروتئین های پلاسما تنها از یک رشته پلی پپتیدی و برخی دیگر از بیش از یک رشته یا زیر واحد (Subunit) که ممکن است مشابه یکدیگر و یا غیر مشابه باشند تشکیل شده اند. زنجیرهای اولیگوساکاریدی نقش های متفاوتی را ایفا می نمایند. برداشت اجزاء اسید سیالیک موجود در زنجیره های کربوهیدراتی پروتئین های پلاسما (برای مثال سرولوپلاسمین) می تواند به میزان قابل توجهی نیمه عمر آنها را در پلاسما کاهش دهد.

تفاوت پلاسما با سرم

هنگامی که خون خود به خود منعقد می گردد گلبول های سفید و قرمز در شبکه های فیبرین قرار می گیرند و قسمت لخته خون (clot) را به وجود می آورند. به محلول شفاف رویی سرم گفته می شود. در سرم فیبرینوژن و فاکتورهای انعقادی وجود ندارند. اگر به نمونه خون، بلافاصله پس از نمونه گیری ماده ضد انعقاد اضافه گردد در اینصورت گلبول های قرمز و سفید خون ته نشین شده و محلول رویی پلاسما خواهد بود. مواد ضد انعقادی که برای تهیه پلاسما به کار می روند شامل هپارین، اتیلن دی آمین تترااستیک اسید (EDTA) و اگزالات (Oxalate) می باشند.

٤-١٠ آلبومین پروتئین اصلی موجود در پلاسمای انسان است.

آلبومین، پروتئین اصلی موجود در پلاسمای انسان است (g/dL ۴/۷ - ۴/۳) که در حدود ۶۰٪ پروتئین های کل پلاسما را تشکیل می دهد. در حدود ۴۰٪ آلبومین در پلاسما وجود داشته و بقیه در فضای خارج سلولی است. کبد روزانه در حدود ۱۲ گرم آلبومین تولید می نماید که این میزان حدود ۲۵٪ کل پروتئین های تولیدی در کبد و حدود نیمی از پروتئین های ترشحی آن را شامل می گردد. سنتز آلبومین در بعضی از بیماری ها، بخصوص بیماری های کبدی، کاهش یافته و در بسیاری ازبیماری های کبدی نسبت آلبومین به گلوبولین پلاسما کاهش می یابد. سنتز آلبومین درمراحل نسبتاً ابتدایی سوء تغذیه پروتئین، مثلاً کواشیورکور، کاهش می یابد.
آلبومین بالغ انسانی از یک زنجیر پلی پپتیدی با ۵۸۵ اسید آمینه و ۱۷ پیوند دی سولفیدی تشکیل شده است. بدلیل جرم مولکولی نسبتاً پایین آلبومین(حدود kDa ۶۹) و غلظت بالای آن، حدود ۷۵ تا ۸۰ درصد فشاراسموتیک پلاسمای انسان توسط آلبومین ایجاد می گردد. کاهش غلظت آلبومین در پلاسما موجب کاهش فشار اسمزی خون و در نتیجه باقی ماندن مقدار بیش از حد مایع در فضای میان بافتی می گردد. به این حالت خیز (edema) می گویند. در بررسی های الکتروفورزپلاسما مشخص شده است که در پلاسمای بعضی افراد آلبومین وجود ندارد.

Scanned with CamScanner

این افراد مبتلا به آنالبومینمی (Analbuminemia) هستند. یکی از علل این بیماری، جهشی است که بر جریان سنتز آن حذف اینترون ها و اتصال اگزون ها به یکدیگر (splicing) اثر می گذارد. علی رغم اینکه آلبومین مهمترین عامل تعیین کننده فشار اسموتیک پلاسمایی است، افراد مبتلا به آنالبومینمی تنها خیز ملایمی را نشان می دهند. اعتقاد بر این است که در این موارد سایر پروتئین های پلاسمایی افزایش یافته و کمبود آلبومین را جبران می کنند.

اهمیت زیستی دیگر آلبومین مربوط به توانایی آن در اتصال به گونه های شیمیایی مختلف می باشد. این گونه های شیمیایی شامل اسیدهای چرب آزاد (Free Fatty Acids)، کلسیم، بیلی روبین و مقداری از تریپتوفان پلاسمایی است. بعلاوه آلبومین نقش مهمی درانتقال مس دربدن انسان ایفا می نماید. البته ناقل مس در پلاسما سرولوپلاسمین می باشد که جداگانه در مورد آن صحبت خواهد شد. هورمون های استروئیدی و T_3 و T_4 وهیم (Heme) نیز توسط آلبومین (به عنوان ناقل فرعی) انتقال می یابند. بعضی از داروها، نظیر سولفانامیدها، پنی سیلین G ، دیکومارول و آسپیرین به آلبومین اتصال می یابند. این یافته ها از نظر فارماکولوژیک حائز اهمیت است. فرآورده های آلبومین انسانی بطور وسیعی در درمان شوک ناشی از خونریزی (Hemorrhagic shock) و سوختگی ها مورد استفاده قرار می گیرند. هرچند، برخی مطالعات اخیر ارزش این درمان را زیرسؤال برده اند. سرنوشت آلبومین ورود به سلول های بدن از طریق پینوسیتوز و تجزیه می باشد.

۵ -۱۰ هاپتوگلوبین به هموگلوبین موجود در خارج گلبول قرمز اتصال یافته و مانع از ورود هموگلوبین به داخل کلیه می گردد.

هاپتوگلوبین (Haptoglobin, Hp) یک گلیکوپروتئین پلاسمایی است که با هموگلوبین خارج سلولی ایجاد کمپلکس نموده و بدین ترتیب مانع ورود هموگلوبین حاصل از همولیز (Hemolysis) به لوله های کلیوی و دفع آن از ادرار می گردد. این کمپلکس یک به یک (۱:۱) (Hb-Hp) توسط سلول های رتیکولواند و تلیال (Reticuloendothelial) گرفته شده، ملکول هیم از آن جدا گردیده و تبدیل به بیلی روبین می گردد. یون آهن موجود در هیم یا در بدن ذخیره می گردد و یا مجدداً برای سنتز ترکیبات آهن دار استفاده می شود.

هاپتوگلوبین از لحاظ ساختمانی مانند هموگلوبین یک تترامراست و از دو زوج رشته پلی پپتیدی ($\alpha_2\beta_2$) تشکیل شده است. این چهار زنجیره پلی پپتیدی بوسیله پل دی سولفیدی بهم متصل شده‌اند. مقدار هاپتوگلوبین پلاسمای انسان گاهی دستخوش تغییراتی می شود که از لحاظ بالینی ارزش تشخیصی دارد.

Scanned with CamScanner

کاهش مقدار هاپتوگلوبین در موارد کم خونی همولیتیک مشاهده می شود. علت این مقادیر پایین آن است که بر خلاف نیمه عمر حدود ۵ روز برای هاپتوگلوبین، نیمه عمر کمپلکس Hb-Hp حدود ۹۰ دقیقه بوده و این کمپلکس سریعاً توسط سلول های کبدی از گردش خون برداشت می گردد. بنابراین وقتی هاپتوگلوبین به هموگلوبین اتصال می یابد، حدود ۸۰ برابر سریعتر از حالت طبیعی از گردش خون خارج می گردد. بدین ترتیب در حالاتی که هموگلوبین به طور پیوسته از گلبول های قرمز خون آزاد می گردد، مثل حالتی که درکم خونی همولیتیک رخ می دهد، میزان هاپتوگلوبین سریعاً کاهش می یابد. افزایش هاپتوگلوبین در بعضی حالات مثل تورم ها (Inflammations) و بخصوص در ضایعات نسجی (Tissue damage) که احتمال لیز شدن و شکستن سلول ها بیشتر است دیده می شود.

۱۰-۶ هموپکسین (Hemopexin)

هموپکسین، گلیکوپروتئینی است که در ناحیه β قرار میگیرد. اگر ظرفیت انتقال Hb توسط هاپتوگلوبین تکمیل شود و هنوز هموگلوبین آزاد وجود داشته باشد هموگلوبین ها در گردش خون شروع به خرد شدن نموده و ملکول های هیم آزاد می شوند. گلوبین به عنوان پروتئین متابولیز شده و مولکولهای هیم به هموپکسین متصل گردیده و به صورت کمپلکس Heme-Hemopexin به کبد برده می شوند. این کمپلکس نیز در کبد تجزیه می گردد. اگر همچنان مقدارهیم آزاد در پلاسما بیش از ظرفیت هموپکسین باشد، هیم اضافی با آلبومین کمپلکسی به نام مت هم آلبومین (Methemalbumin) تشکیل می دهد. این کمپلکس آنقدر در خون به گردش در می آید تاهموپکسین های آزاد از کبد بازگردند. در این حالت هیم از آلبومین جدا شده و مجدداً به هموپکسین متصل می گردد. لازم به ذکر است که کمپلکس مت هیم آلبومین بر خلاف هموپکسین- هیم، دارای گیرنده بر روی سلول های کبدی (هپاتوسیت ها) نمی باشد.

۱۰-۷ ترانسفرین آهن را به محل های مورد نیاز انتقال می دهد.

ترانسفرین (Transferrin) یک β - گلوبین می باشد که درکبد سنتز شده و انتقال دهنده آهن (Fe^{3+}) در پلاسما می باشد. به دلیل انتقال آهن (دومول Fe^{3+} به ازاء هر مول ترانسفرین) درگردش خون و مبادله آن بین بافت های مختلف، برای مثال از روده به مغز استخوان و سایر اعضاء، ترانسفرین نقش مرکزی در متابولیسم آهن در بدن دارد. روزانه حدود ۲۰۰ میلیون گلبول قرمز در بدن تجزیه می شود که نتیجه آن آزاد سازی حدود ۲۵mg آهن می باشد. بیشتر این آهن توسط ترانسفرین انتقال می یابد. در سطح سلول های مختلف، گیرنده هایی برای ترانسفرین وجود دارند.

Scanned with CamScanner

ترانسفرین به این گیرنده ها اتصال یافته و از طریق آندوسیتوز وارد سلول ها میگردد. pH اسیدی موجود در لیزوزوم ها منجر به جدایی آهن از ترانسفرین می شود.

حاشیه ۱-۱۰ غلظت پلاسمایی ترانسفرین حدود ۳۰۰mg/dl می باشد. این میزان ترانسفرین می تواند به ۳۰۰μg آهن در هر دسی لیتر اتصال یابد که ظرفیت کل اتصال آهن پلاسما می باشد. در حالت طبیعی تنها یک سوم از کل جایگاه های اتصال آهن در پلاسما (ترانسفرین) اشغال شده است. در کم خونی فقر آهن، تعداد جایگاه های اشغال نشده آهن (Total Iron Binding Capacity) در پلاسما افزایش می یابد. ضمناً ترشح ترانسفرین از کبد نیز افزایش می یابد. بنابراین افزایش تعداد جایگاه های اشغال نشده آهن در پلاسما که در آزمایشگاه قابل اندازه گیری است، نشانه کم خونی فقر آهن می باشد.

۱۰-۸ سرولوپلاسمین به مس اتصال می یابد و مقادیر پایین این پروتئین پلاسمایی با بیماری ویلسون ارتباط دارد.

سرولوپلاسمین (حدود 160kDa) یک α2 - گلوبولین است. به دلیل محتوای بالای مس، سرولوپلاسمین رنگ آبی داشته و حدود ۹۰٪ مس موجود در پلاسما را بصورت Cu^{1+} و Cu^{2+} منتقل می نماید. آلبومین ۱۰٪ باقیمانده مس پلاسمایی را حمل می کند که سست تر از سرولوپلاسمین به این فلز اتصال می یابد. بنابراین آلبومین راحت تراز سرولوپلاسمین مس خود را در اختیار بافت ها قرار می دهد و بنظر می رسد که اهمیت بیشتری نسبت به سرولوپلاسمین در انتقال مس در بدن انسان دارد. سرولوپلاسمین دارای یک فعالیت اکسیدازی وابسته به مس می باشد، ولی نقش فیزیولوژیک آن به غیر از نقش در اکسیداسیون Fe^{2+} به Fe^{3+}، بخوبی مشخص نشده است. میزان سرولوپلاسمین پلاسمایی در برخی بیماری های کبدی کاهش می یابد. مقادیر پایین سرولوپلاسمین بخصوص در بیماری ویلسون (Wilson disease) مشاهده می گردد. بیماری ویلسون، یک بیماری ارثی است که در آن مس نمی تواند از طریق صفرا دفع شود. همچنین باز جذب مس در کلیه ها نیز مختل می گردد. بنابراین مس به طور پیشرونده در بدن به ویژه در کبد، مغز، کلیه و گلبول های قرمز تجمع می یابد. افزایش تجمع مس در این بافت ها باعث کم خونی همولیتیک، بیماری مزمن کبدی و سندرم نورولوژیک در بیماران می گردد. کاهش غلظت مس و سرولوپلاسمین در پلاسما، افزایش غلظت مس در ادرار وافزایش میزان مس در کبد از علائم تشخیص بیماری ویلسون می باشند.

Scanned with CamScanner

حاشیه ۲-۱۰ یک یافته بالینی شایع، وجود حلقه کیزر- فلشر(Kayser-Fleischer ring) در چشم است. دراین حالت یک حلقه رنگدانه ای سبز یا طلایی دراطراف قرنیه به دلیل رسوب مس تشکیل می گردد. درصورت شک به بیماری ویلسون، می بایست بیوپسی کبدی انجام شود، میزان مس بیش از ۲۵۰µg به ازاء هرگرم خشک کبد و مقدار پلاسمایی سرلوپلاسمین کمتر از ۲۰mg/dl در این مورد ارزش تشخیصی دارند. درمان بیماری ویلسون شامل رژیم غذایی حاوی مقادیر کم مس همراه با تجویز خوراکی پنی سیلامین (Penicillamine) در سر تا سر عمر می باشد. یون های مس با پنی سیلامین پیوند داده و همراه با آن از ادرار دفع می گردند.

۹-۱۰ α1 آنتی پروتئیناز

α_1 - آنتی پروتئیناز که قبلاً α_1 - آنتی تریپسین نامیده می شد و در این جا هم از همین نام استفاده می شود یک پروتئین تک رشته ای است و حاوی سه زنجیره الیگوساکاریدی می باشد. این پروتئین جزء اصلی (بیش از ٪ ۹۰) پروتیین های α_1 پلاسمای انسانی را شامل می شود. α_1 - آنتی تریپسین توسط سلولهای کبدی و ماکروفاژها تولید می شود. این آنتی پروتئیناز از طریق ایجاد کمپلکس با آنزیم های سلول های التهابی مانند الاستاز و بعضی پروتئازهای دیگر، سبب مهار آنها و محافظت بافت ها از آثار تخریبی این آنزیم ها می گردد.

۱۰-۱۰ مقادیر بعضی از پروتئین های پلاسما در التهاب حاد و یا به طور ثانویه در بعضی از آسیب های بافتی افزایش می یابند.

این پروتئین ها که پروتئین های فاز حاد (Acute phase proteins) نامیده می شوند شامل پروتئین های واکنش گر (C-Reactive Protein, CRP)، α_1 - آنتی تریپسین، هاپتوگلوبین و فیبرینوژن می باشند. فاز حاد همان وضعیت بدن در پاسخ به عفونت و التهاب می باشد. علت نامگذاری CRP ، واکنش آن با پلی ساکارید C متعلق به باکتری پنوموکک می باشد. در طی حالات التهابی مزمن و در مبتلایان به سرطان نیز معمولاً افزایش مقادیر پروتئین های فاز حاد وجود دارد. CRP به عنوان نشانه ای از آسیب بافتی، عفونت و التهاب مورد استفاده تشخیصی دارد.

Scanned with CamScanner

۱۱-۱۰ ایمینوگلوبولین ها در پلاسما نقش مهمی در مکانیسم های دفاعی بدن ایفاء می کنند.

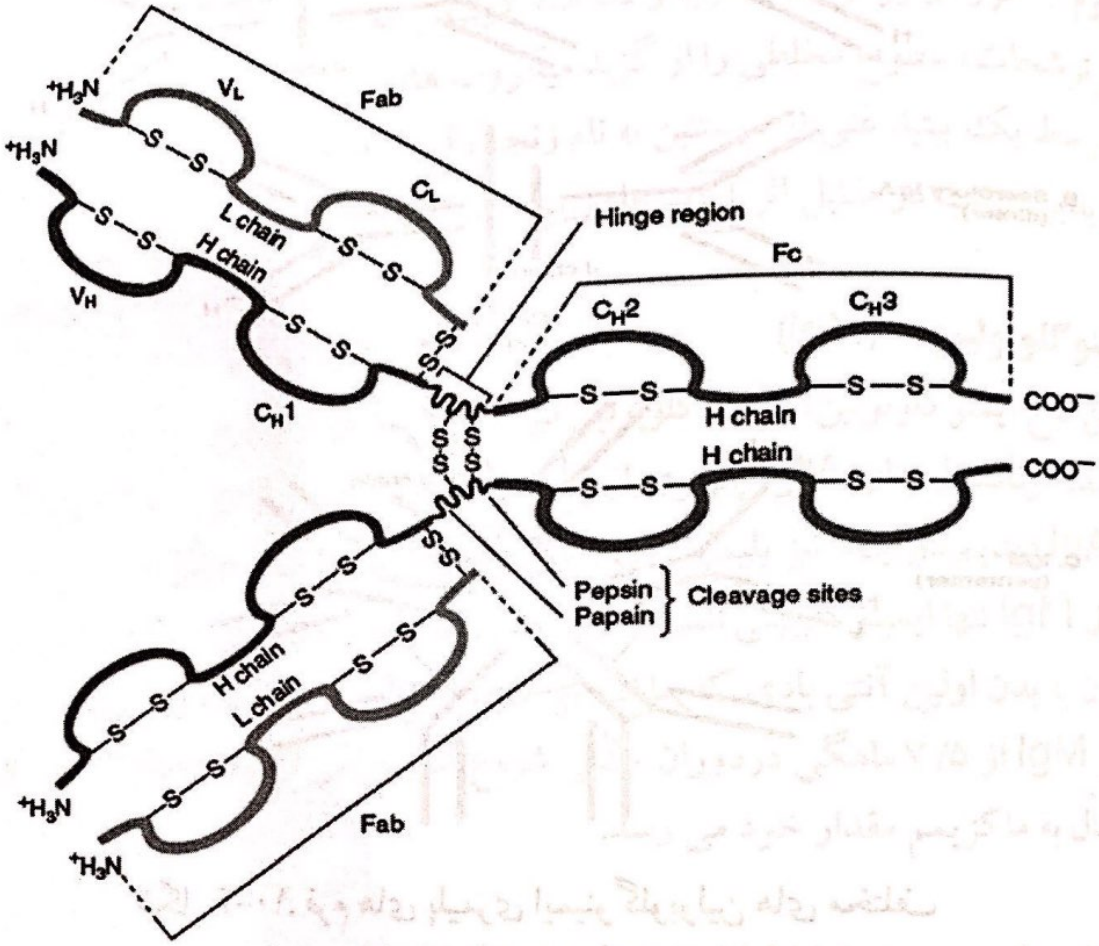
سلول های B مسئول سنتز آنتی بادیها و یا ایمینوگلوبولین های موجود در گردش خون هستند. ایمینوگلوبولین ها در جریان الکتروفورز به صورت باند گاماگلوبولین ظاهر می شوند. پلاسما سل ها (plasma cells) که سلول های تخصص یافته رده سلولی B بوده و مسئول تولید و ترشح ایمینوگلوبولین ها به داخل پلاسما در پاسخ به تماس با انواع مختلفی از آنتی ژن ها می باشند.

تمامی ایمینوگلوبولین ها دارای حداقل دو زنجیره سبک و دو زنجیره سنگین هستند.

ایمینوگلوبولین ها حداقل دارای دو زنجیره سبک (Light, L) مشابه و دو زنجیره سنگین (Heavy, H) مشابه می باشند که توسط پیوندهای دی سولفیدی به صورت یک ترامر(L_2H_2) در کنار یکدیگر قرار می گیرند. ساختمان IgG در شکل ۳-۱۰ نشان داده شده است. شکل این ایمینوگلوبولین به صورت Y بوده و آنتی ژن به دو انتهای بازوی آن متصل می گردد. هر کدام از زنجیره های سبک و سنگین که با یک پیوند دی سولفیدی (S-S) به یکدیگر متصل می شوند را می توان به دومن ها (Domains) یا نواحی اختصاصی تقسیم نمود که دارای ساختمان و فعالیت مهمی هستند. نیمی از زنجیره سبک (L) به سمت انتهای کربوکسیل را ناحیه ثابت (Constant, C_L) گویند، در حالی که نیمه انتهای آمینه آن ناحیه متغیر(variable,V_L) را تشکیل می دهد. حدود یک چهارم زنجیره سنگین (H) به سمت انتهای آمینی را ناحیه متغیر (V_H) و سه چهارم باقیمانده را نواحی ثابت (CH_1,CH_2,CH_3) زنجیره H تشکیل می دهند. همانطورکه در شکل ۳-۱۰ نشان داده شده است، هیدرولیز یک ایمینوگلوبولین توسط آنزیم پاپائین (papain) منجر به تولید دو قطعه متصل شونده به آنتی ژن (Antigen-binding fragment, Fab) و یک قطعه قابل تبلور (Crystallizable fragment, Fc) می گردد. به دلیل وجود دو ناحیه Fab، مولکول های ایمنوگلوبولین نوع G (IgG) به دو مولکول آنتی ژن اتصال یافته و دوظرفیتی هستند. محلی از آنتی ژن که به آن آنتی بادی اتصال می یابد، شاخص آنتی ژنیکی (Antigen determinant) یا اپی توپ (Epitope) نامیده می شود. ناحیه ای که پاپایین با اثر بر آن مولکول ایمینوگلوبولین را تجزیه می کند، یعنی ناحیه CH_1 و CH_2 ناحیه لولا (Hinge region) نامیده می شود. ناحیه لولا به مولکول خاصیت انعطاف پذیری داده و به بازوهای Fab اجازه می دهد تا مستقل از یکدیگر حرکت نمایند، بنابراین به آنها برای اتصال به جایگاه های آنتی ژن که ممکن است در فواصل

Scanned with CamScanner

مختلف از یکدیگر قرار داشته باشند، کمک می کند.



شکل ۳-۱۰. مدل ساده شده IgG1 متشکل از چهار زنجیره و نواحی متغیر و ثابت

تمامی زنجیره های سبک از نوع کاپا یا لامبدا هستند.

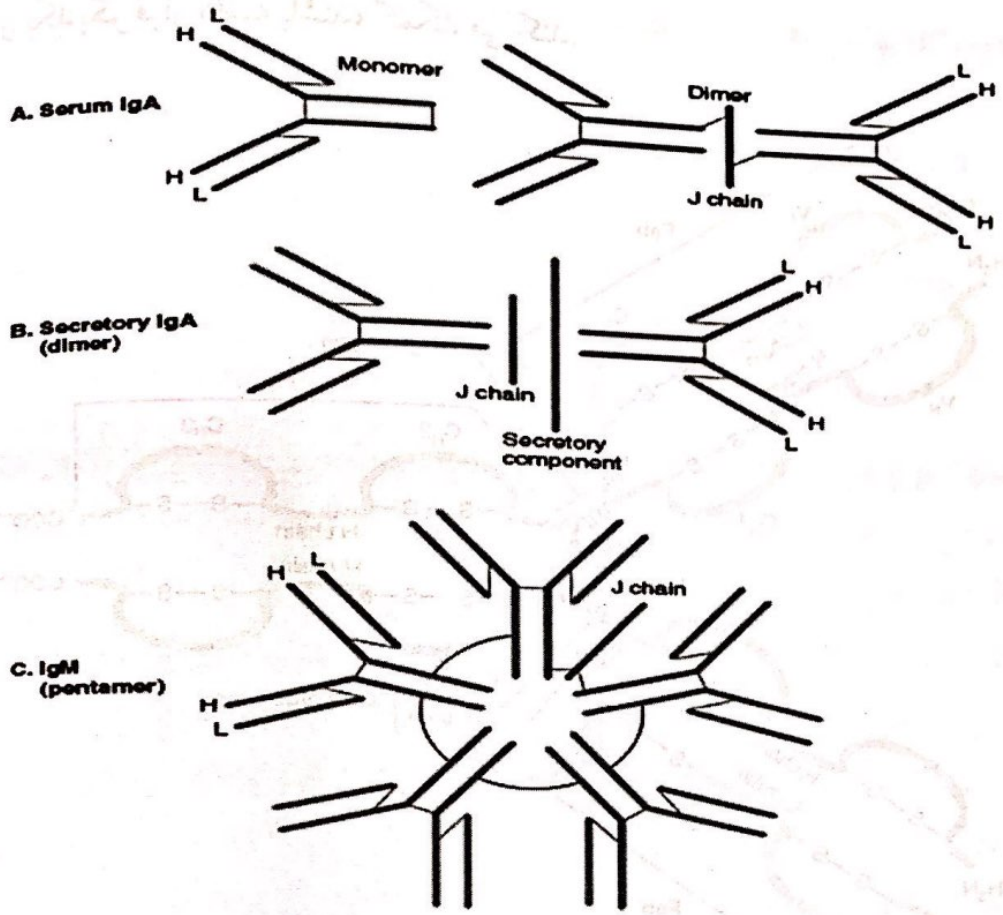
دو نوع زنجیره سبک کاپا (K) و لامبدا (λ) وجود دارد. یک ایمینوگلوبولین خاص همواره حاوی دو زنجیره K و یا دو زنجیره λ است و هرگز مخلوطی از K و λ وجود ندارد. در مولکول های ایمینوگلوبولین انسان، زنجیره های K بیشتر از زنجیره های λ وجود دارند.

ایمینو گلوبولین ها را بر حسب زنجیره سنگین به پنج دسته تقسیم می کنند.

پنج کلاس زنجیره سنگین در انسان عبارتند از زنجیره های γ, α, μ, δ, ε که بترتیب در پنج کلاس ایمینوگلوبولین IgG, IgA, IgM, IgD, IgE وجود دارند.

بعضی از ایمینوگلوبولین ها نظیر IgG تنها به شکل ساختمان ترامری پایه وجود دارند، در حالی که بعضی انواع نظیر IgA و IgM به صورت پلیمرهایی از دو (IgA) یا پنج (IgM) واحد ترامری یافت می شوند (شکل۴-۱۰).

Scanned with CamScanner



شکل ۴-۱۰. فرم های پلیمری ایمینوگلوبولین های مختلف

سنتز ایمینوگلوبولین ها

ایمینوگلوبولین ها توسط پلاسما سل ها ساخته می شوند. هر آنتی ژن که وارد بدن می شود باعث تحریک ترشح آنتی بادی ویژه خود توسط پلاسما سل مخصوص خودش می شود. زنجیره های سبک و سنگین به صورت مولکول های مجزا ساخته می شوند و سپس به صورت مولکول های ایمینوگلوبولین کامل که همگی از جنس گلیکوپروتئین هستند ترشح می شوند.

ایمینوگلوبولین G (IgG)

در جریان برخورد مجدد بدن با آنتی ژن، عمده ایمینوگلوبولین های تولیدی از نوع IgG هستند. IgG مادرمی تواند از جفت عبور نموده و در دوران جنینی چند هفته اول زندگی نوزاد، موجبات مصونیت قابل توجهی را نسبت به عفونتهای گوناگون فراهم نماید. IgG از۴ رشته پلی پپتیدی تشکیل شده است، دو زنجیره سنگین و دو زنجیره سبک، یک چهارم اسیدهای آمینه که در انتهای آمینی قرار گرفته اند قسمت متغیر مولکول و بقیه را قسمت ثابت تشکیل می دهند(شکل ۴-۱۰).

Scanned with CamScanner

ایمینوگلوبولین A (IgA)

ایمینوگلوبولین های موجود در مایعاتی نظیر ترشحات مخاطی، اشک، ترشحات بینی، عرق، کلستروم (آغوز) و نیز ترشحات ریه و دستگاه گوارش عمدتا از نوع IgA می باشند. IgA موجود در این ترشحات، سطوح مخاطی را از گزند میکروب های مهاجم در امان نگه می دارد. دو مولکول IgA توسط یک پپتید غنی از سیستئین به نام زنجیره J (J chain) به هم متصل شده، دیمر تشکیل داده و بدین ترتیب در مقابل اثر آنزیم های هیدرولیز کننده پروتئین ها مقاوم می گردند.

ایمینوگلوبولین (IgM)

به این نوع ایمنوگلوبولین، ماکروگلوبولین نیز می گویند چون از وزن مولکولی زیادی برخوردار می باشد. مولکـول های IgM پلیمری از پنج واحد ایمنوگلوبین (پنتامر) است. همان گونه که در مورد IgA دیدیم در اینجا نیز پلیمریزاسیون واحدهای تشکیل دهنده مولکول، نیاز به زنجیره J دارد مولکول IgM تنها ایمینوگلوبینی است که به مقدار کم در دوران جنینی سنتز می شود. پس از ورود آنتی ژن به بدن اولین آنتی بادی که ساخته می شود IgM وپس از آن IgG می باشد.

سنتز IgM از ۷/۵ ماهگی دردوران جنینی شروع شده و پس از تولد مقدارآن بالا رفته و پس از چند سال به ماکزیمم مقدار خود می رسد.

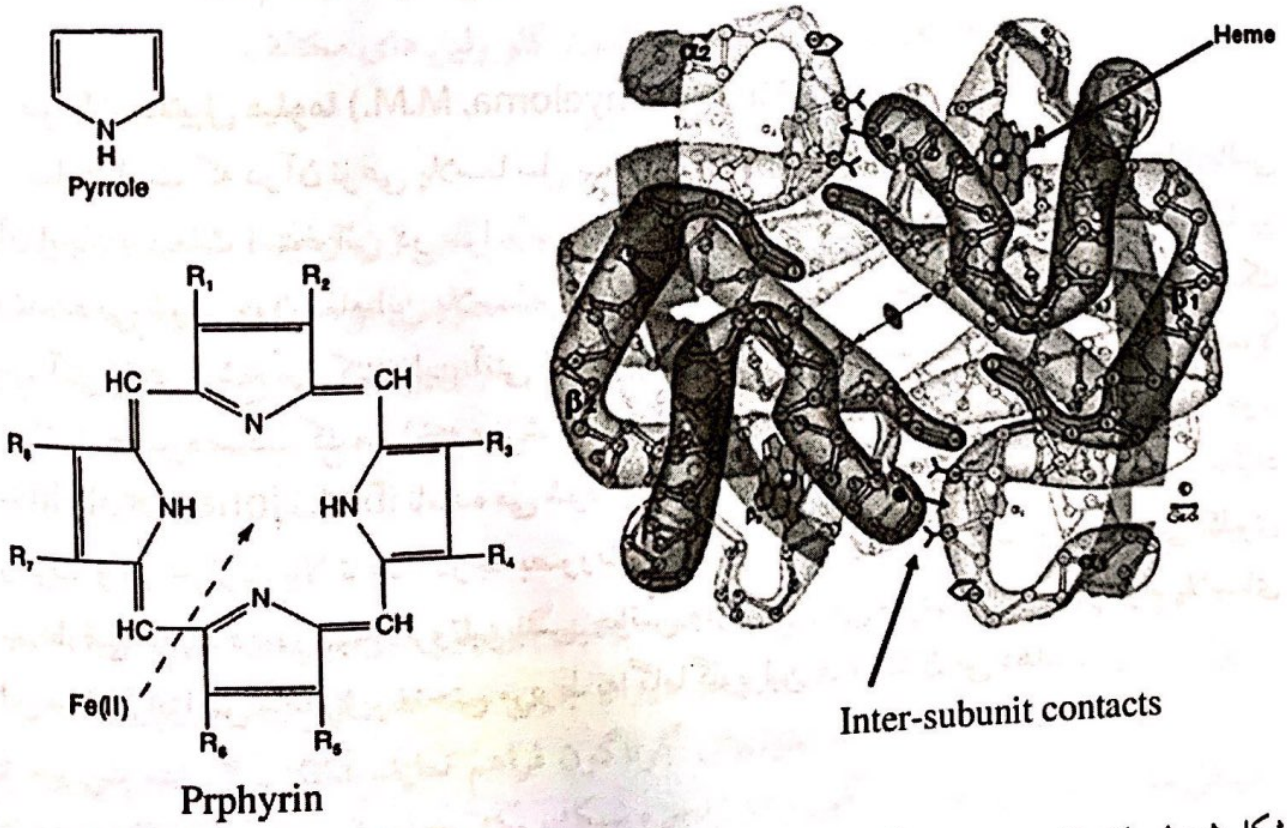
سرطان مالتیپل میلوما (Multiple myeloma, M.M.)

بیماری است که درآن نوعی پلاسما سل سرطانی (malignant) می گردد. از ویژگیهای بالینی آن ایجاد ضایعات استخوانی در سراسرسیستم اسکلتی می باشد. پوکی و شکستگی استخوانها نیز مشاهده می شود. چون تمام این پلاسما سل ها متعلق به یک رده سلولی (Clone) هستند و یک نوع آنتی بادی ترشح می کنند. این آنتی بادیهای غیر طبیعی که به مقدار زیاد تولید می شوند معمولاً تنها از زنجیره سبک ساخته می شوند. از ویژگی های این پروتئین که بنس جونز (Bens jones proteins) نامیده می شود این است که در حرارت بین ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد رسوب و در حرارت بالا تا صد درجه بصورت محلول در می آید. در این بیماری نارسایی کلیوی نیز عارض می گردد در نتیجه پروتئین بنس جونس وارد ادرار می شود. الکتروفورتوگرام پلاسمای این بیماران افزایش سطح زیر منحنی مربوط به گاماگلوبولین ها را نشان می دهد.

Scanned with CamScanner

۱۲-۱۰ ساختمان هموگلوبین (Hemoglobin structure)

هموگلوبین پروتئین ناقل اکسیژن در خون می باشد. ساختمان این پروتئین در شکل ۵-۱۰ نمایش داده شده است. هموگلوبین از چهار رشته پلی پپتیدی گلوبین و چهار گروه هیم (Heme) به عنوان گروه پروستیک (Prosthetic group) تشکیل شده است. ساختمان هیم از یک حلقه پورفیرین و یک یون Fe^{2+} تشکیل می گردد. در حلقه پورفیرین چهار حلقه پیرول توسط پل های متن (methene ،- CH =) به یکدیگر وصل شده اند. در غیاب اکسیژن (Deoxyhemoglobin, H^+Hb) یون Fe^{2+} با چهار اتم ازت مربوط به چهار حلقه پیرول و یک اتم ازت مربوط به شاخه جانبی یک اسید آمینه هیستیدین پیوند داتیو (Coordinate covalent bond) ایجاد می نماید. در حضور اکسیژن یون Fe^{2+} ششمین پیوند داتیو را با ملکول اکسیژن برقرار نموده و اکسی هموگلوبین (HbO_2 ,Oxyhemoglobin) تشکیل می گردد (شکل ۶-۱۰). هموگلوبین نوع A در افراد بالغ سالم هموگلوبین اصلی خون بوده و شامل دو زنجیره α با ۱۴۱ اسید آمینه و دوعدد زنجیره β با ۱۴۶ اسید آمینه می باشد. هموگلوبین A_2 در یک فرد سالم بالغ در حدود ٪ ۲ کل هموگلوبین A را تشکیل داده و از دو زنجیره α و دو زنجیره دلتا ($\alpha_2\delta_2$) تشکیل شده است.

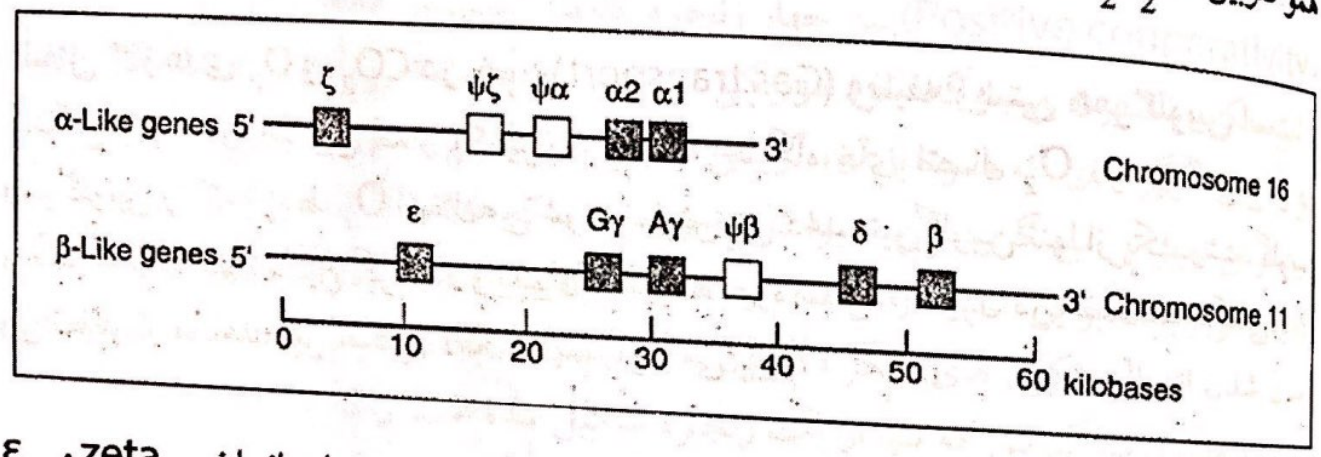


شکل ۵-۱۰. ساختمان سه بعدی هموگلوبین

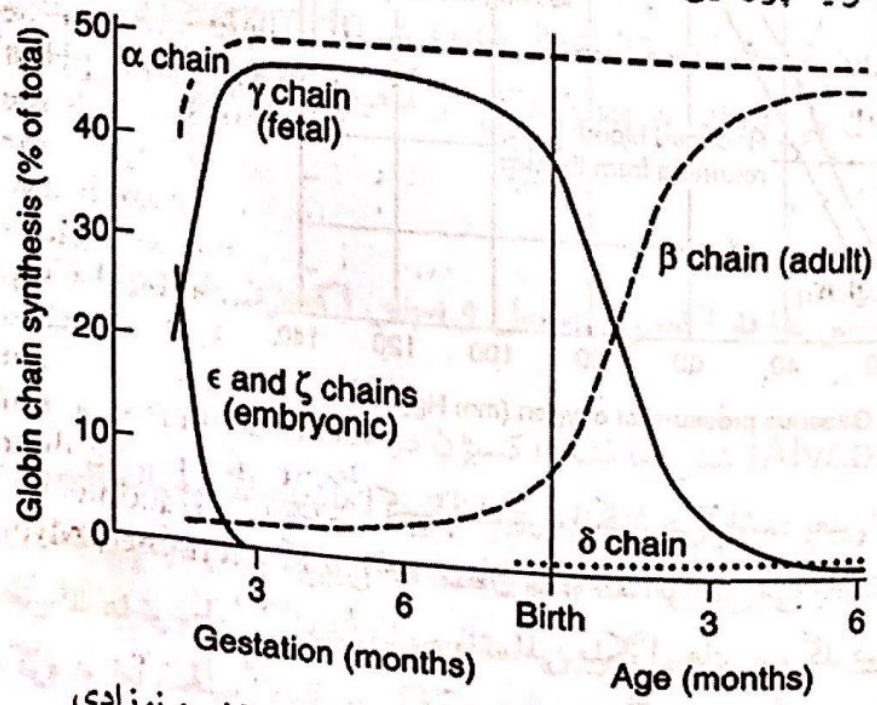
شکل ۶-۱۰- ساختمان هیم شامل حلقه پور فیرین و یون Fe^{2+}

Scanned with CamScanner

ژن های زنجیره α بر روی کروموزوم ۱۶ و ژن زنجیره β بر روی کروموزوم ۱۱ قرار گرفته اند (شکل ۷-۱۰). ژن های زنجیره های چند نوع هموگلوبین مختلف در طی تکامل جنینی و پس از تولد به طور متفاوت بیان می شوند. تشکیل زنجیر γ در دوران جنینی شروع ودر همان دوران به میزان حداکثر می رسد. اما پس از تولد از میزان سنتز آن به مقدار قابل ملاحظه ای کاسته می گردد. سنتز زنجیره α از دوران جنینی شروع و پس از تولد نیز ادامه می یابد. سنتز زنجیره β از دوران جنینی به میزان کمی شروع و ۶ماه پس از تولد به حداکثر رسیده و ادامه می یابد (شکل ۸-۱۰). زنجیره های گلوبین مربوط به هموگلوبین های طبیعی انسان در جدول ۱-۱۰ نشان داده شده اند. هموگلوبین $F (\alpha_2 \gamma_2)$ از هموگلوبین های عمده دوران جنینی است.



شکل ۷-۱۰. محل قرار گرفتن ژن زنجیره های α و β بر روی کروموزوم های انسان. zeta و ε epsilon. حرف یونانی سای psi (ψ) مخفف pseudo به معنی دروغین است یعنی ژن جهش یافته ای که قادر به تولید پروتئین فعال (Functional) نیست .



شکل ۸-۱۰. الگوی بیوسنتز هموگلوبین های جنینی و نوزادی

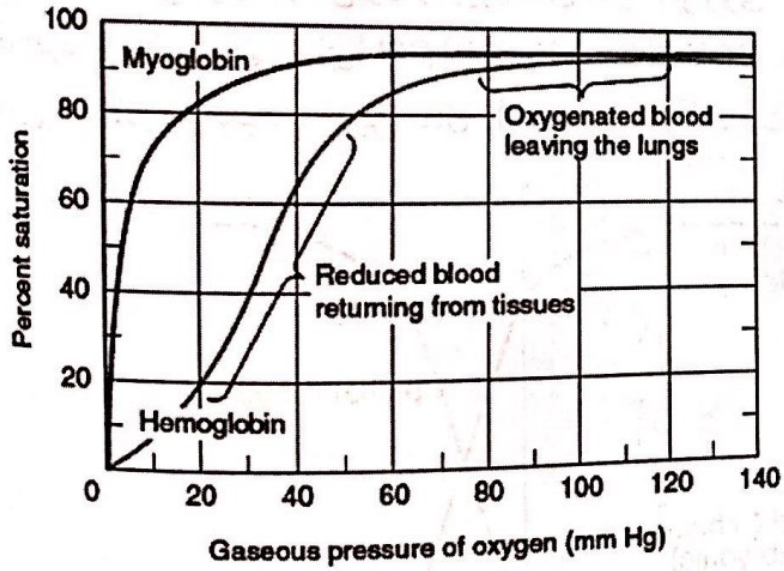
Scanned with CamScanner

Embryonic Hbs e.g. Hb Gower 2	$\alpha_2 \varepsilon_2$	Normaly present only during the first trimester of fetal life
Fetal Hb	$\alpha_2 \gamma_2$	Predominantes after first trimester and at birth: largely replaced by HbA by 3-6 months
Adult Hb HBA HBA_2	$\alpha_2 \beta_2$ $\alpha_2 \delta_2$	Principal adult hemoglobin normaly 2-3% of total

جدول ۱-۱۰. هموگلوبین های طبیعی انسان

انتقال گازهای O_2 و CO_2 در خون(Gas transport) **وظیفه زیستی هموگلوبین است.**

شکل ۹-۱۰ ارتباط بین فشار اکسیژن و درصد جایگاه های اتصال O_2 در میوگلوبین و در هموگلوبین را که توسط O_2 اشغال می شوند نمایش می دهد. میوگلوبین تنها از یک رشته گلوبین و یک ملکول هم تشکیل گردیده و بعنوان ملکول ذخیره کننده اکسیژن در عضلات اسکلتی عمل می نماید. از مشاهده این شکل، ۲ نکته مهم را در می یابیم:



شکل ۹-۱۰. منحنی های اشباع هموگلوبین و میوگلوبین با اکسیژن

۱- منحنی مربوط به اتصال میوگلوبین به اکسیژن هیپربولیک می باشد. یعنی با افزایش فشار O_2 درصد جایگاههای اتصال O_2 در میوگلوبین که اشغال شده اند افزایش می یابد تا در فشارهای زیاد O2 صد در صد جایگاه ها توسط O_2 اشغال شده و تمامی ملکول های میوگلوبین موجود در محیط از اکسیژن اشباع گردند. اما منحنی اتصال به O_2 در مورد هموگلوبین سیگموئیدی است.

Scanned with CamScanner

به عبارت دیگر با افزایش فشار اکسیژن به تدریج درصد جایگاه هایی در هموگلوبین که توسط اکسیژن اشغال می شوند افزایش یافته و منحنی از شیب نسبتاً ملایمی برخوردار است اما هنگامی که فشار O_2 از حدودی فراتر می رود شیب منحنی تند می شود زیرا علاقه O_2 به هموگلوبین به شدت افزایش میابد به گونه ای که با افزایش کمی در فشار اکسیژن درصد جایگاه های اشغال شده به میزان بسیار زیادی افزایش نشان می دهد. نهایتاً در فشارهای بالاتر O_2 جایگاه های اتصال اکسیژن در تمامی ملکول های هموگلوبین موجود در محیط توسط اکسیژن اشغال می گردند (جایگاه ها صد درصد اشباع می شوند).

علت شکل سیگموئیدی منحنی اشباع هموگلوبین را به اثر همیاری مثبت (Positive cooperativity) بین چهار زنجیره گلوبین نسبت می دهند. بدین ترتیب که اتصال اولین ملکول اکسیژن به جایگاه خود در یکی از زنجیره ها باعث تغییر آرایش فضایی آن زنجیره می گردد، به گونه ای که همراه با آن، آرایش فضایی سایر زنجیره های در تماس با آن زنجیره نیز دستخوش تغییراتی می گردد. این تغییرات به نحوی است که علاقه آن زنجیره ها نسبت به اکسیژن افزایش می یابد. بنابراین اتصال اولین ملکول اکسیژن به اولین جایگاه اتصال در هموگلوبین موجب آسان شدن اتصال ملکول های دیگر اکسیژن به جایگاه های باقیمانده می گردد. این اثر همیاری مثبت در ملکول میوگلوبین که تنها از یک زنجیره تشکیل شده است وجود ندارد.

۲- در مقایسه با هموگلوبین، میوگلوبین دارای علاقه بیشتری نسبت به اکسیژن است چنان که در فشار اکسیژن پایین مثلاً ۱-۲mmHg در حدود ٪ ۵۰ ازمجموع جایگاه های اتصال اکسیژن در ملکول های میوگلوبین توسط اکسیژن اشغال شده و در ۲۶mmHg تا ٪ ۹۵ جایگاه های میوگلوبین توسط اکسیژن اشغال می شوند. به همین دلیل در ماهیچه ها اکسیژن از هموگلوبین به میوگلوبین منتقل می شود.

هموگلوبین در شش ها به اکسیژن متصل و سپس اکسیژن خود را در بافت های محیطی رها می سازد.

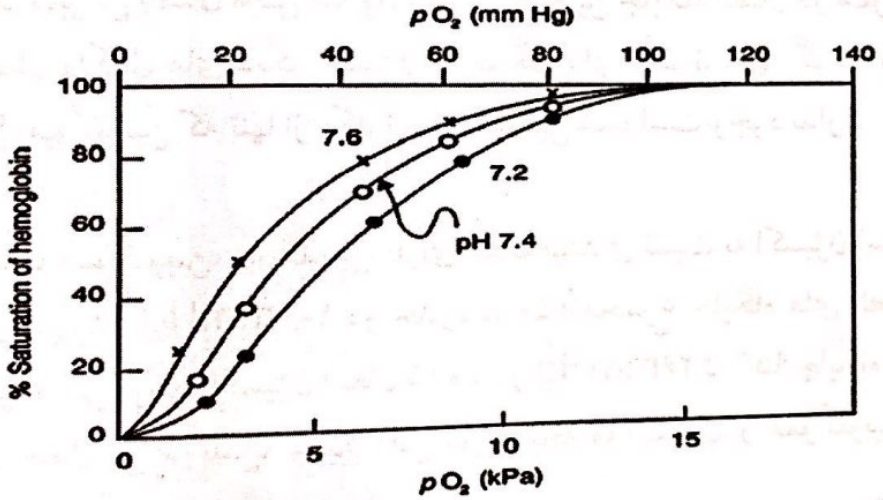
در حبابچه های (Alveoli) شش ها فشار اکسیژن در حدود ۱۰۰mmHg می باشد. در این فشار ملکول های هموگلوبین در حدود ٪ ۹۶ توسط اکسیژن اشباع شده اند. در سلول های ماهیچه های در حال فعالیت فشار اکسیژن در حدود ۲۰mmHg می باشد. در این فشار حدود ۲۵ درصد جایگاههای اکسیژن بر روی هموگلوبین اشغال می شوند. بدین ترتیب هموگلوبین در حدود ۷۰ درصد از اکسیژن های متصل به خود را درهنگامی که از مویرگ های درون ماهیچه می گذرد

Scanned with CamScanner

رها می سازد. پس از عبورخون از ماهیچه ها ودر بازگشت به ششها، جایی که فشار اکسیژن در حدود ۱۰۰mmHg است هموگلوبین دوباره تا ٪۹۶ با اکسیژن اشباع می شود.

افزایش مقدار H^+ یا CO_2 باعث افزایش رهایی اکسیژن از هموگلوبین می شود. (اثر بور، Bohr effect)

علاقه میوگلوبین به اکسیژن از pH محیط و نیز از فشار CO_2 محیط چندان تاثیر نمی پذیرد. در حالی که کاهش pH (افزایش اسیدیته) باعث کاهش علاقه هموگلوبین به اکسیژن می گردد. درمحدوده فیزیولوژیک، با کاهش pH منحنی اشباع اکسیژن به طرف راست جابه جا می شود یعنی علاقه آن نسبت به اکسیژن کاهش می یابد (شکل ۱۰-۱۰). همچنین pH ثابت افزایش فشار (غلظت) CO_2 باعث کاهش علاقه هموگلوبین نسبت به اکسیژن می شود. بدین ترتیب وجود مقادیر زیاد CO_2 و H^+ در مویرگهای بافتهای فعال رهایی O_2 را ازاکسی هموگلوبین افزایش می دهد. این ارتباط بین CO_2، H^+ و علاقه هموگلوبین به اکسیژن به عنوان اثر بور شناخته می شود.



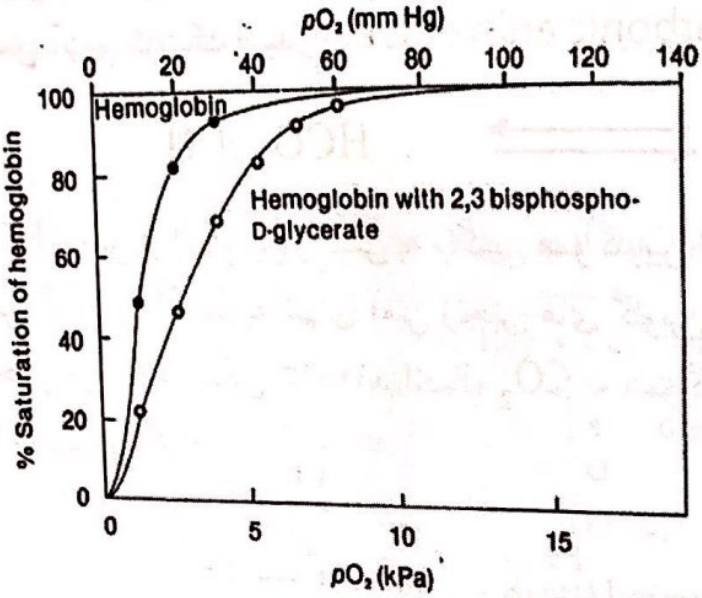
شکل ۱۰-۱۰. منحنی اشباع هموگلوبین با اکسیژن در pH های مختلف

بیس فسفوگلیسرات (2,3-bisphospho-D-glycerate, BPG) باعث کاهش علاقه اکسیژن به هموگلوبین می شود.

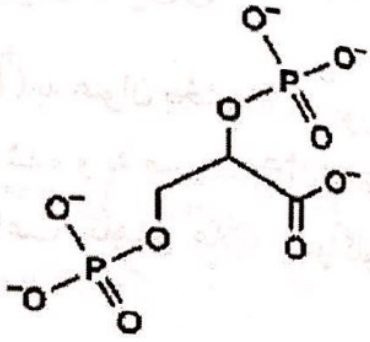
علاوه بر CO_2 و H^+ عوامل دیگری مانند BPG نیز بر علاقه هموگلوبین به اکسیژن موثرند. ساختمان BPG در شکل ۱۱-۱۰ نشان داده شده است.این ملکول از ترکیبات بینابینی مسیر گلیکولیز در گلبول های قرمزساخته می شود. ۱ مول BPG از طریق پیوند های غیر کووالانسی با یک مول هموگلوبین پیوند داده و باعث کاهش علاقه هموگلوبین به اکسیژن می شود. به هنگام صعود به ارتفاعات و زندگی درنواحی مرتفع که فشار اکسیژن کم می باشد غلظت BPG در

Scanned with CamScanner

گلبول های قرمز (RBC) افزایش یافته بنابراین هموگلوبین اکسیژن خود را راحت تر در بافت ها آزاد می نماید تا بتواند کمبود فشار اکسیژن را در ارتفاعات جبران کند. منحنی اشباع اکسیژن هموگلوبین در حضور و عدم حضور BPG در شکل ۱۲-۱۰ مقایسه شده اند.



شکل ۱۲-۱۰. تا ثیر بیس فسفو گلیسرات بر منحنی اشباع هموگلوبین با اکسیژن



شکل ۱۱-۱۰. ۲ و۳ - بیس فسفو گلیسرات

وقتی که خون به صورت ذخیره در بانک خون نگهداری می گردد بدلیل کاهش مقدار BPG در آن، علاقه هموگلوبین نسبت به اکسیژن افزایش می یابد. بدلیل باردار بودن مولکول BPG، با تزریق آن به درون کیسه های خون نمی توان باعث ورود این ماده به درون سلول ها شد. همچنین سلول های قرمز خون در محیط خارج از بدن در کیسه های خون، نمی توانند تولید BPG نمایند. بنابراین ترکیب اینوزین را که می تواند از غشاء گلبول های قرمز عبور نماید، به درون کیسه های خون تزریق می کنند. و در آنجا با انجام یک سری واکنش های پیچیده به BPG تبدیل می شود. علاوه بر افزایش H^+، افزایش غلظت CO_2 و افزایش BPG، افزایش درجه حرارت نیز باعث کاهش علاقه هموگلوبین به اکسیژن می گردد. فعالیت عضلات نه تنها منجر به تولید CO_2 و H^+ (محصولات نهایی متابولیسم هوازی) می گردد بلکه باعث ایجاد حرارت نیز می شود. هر سه عامل فوق باعث کاهش علاقه هموگلوبین به اکسیژن و فراهم شدن اکسیژن مورد نیاز عضله در حال فعالیت می گردند چون اتصال O_2 به هموگلوبین یک واکنش حرارت زا (Exothermic) می باشد بنابراین با افزایش درجه حرارت واکنش تعادلی اتصال O_2 به هموگلوبین به سمت جدا شدن O_2 از هموگلوبین پیشرفت می نماید.

Scanned with CamScanner

CO2 به انتهای آمینی هموگلوبین اتصال می یابد و جاذبه هموگلوبین به اکسیژن را کاهش می دهد.

در متابولیسم هوازی در ازای هر مول O_2 که مصرف می شود در حدود ۰/۸ مول گاز دی اکسید کربن ایجاد می گردد. بخش اعظم دی اکسید کربن به صورت بی کربنات انتقال می یابد که حاصل عمل آنزیم کربنیک انهیدراز (Carbonic anhydrase) در داخل گلبول های قرمز می باشد.

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons HCO_3^- + H^+$$

H^+ حاصل از انجام این واکنش به داکسی هموگلوبین (HHb^+) به عنوان بخشی از اثر بور متصل می گردد. CO_2 هم به انتهای آمین زنجیره های گلوبین متصل شده و به صورت Carbamate حمل می شود (شکل ۱۳-۱۰). اتصال CO_2 به هموگلوبین باعث کاهش علاقه هموگلوبین به اکسیژن می گردد.

$$CO_2 + Hb{-}NH_2 \rightleftharpoons H^+ + Hb{-}\underset{\text{Carbamate}}{\overset{H}{N}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^-}$$

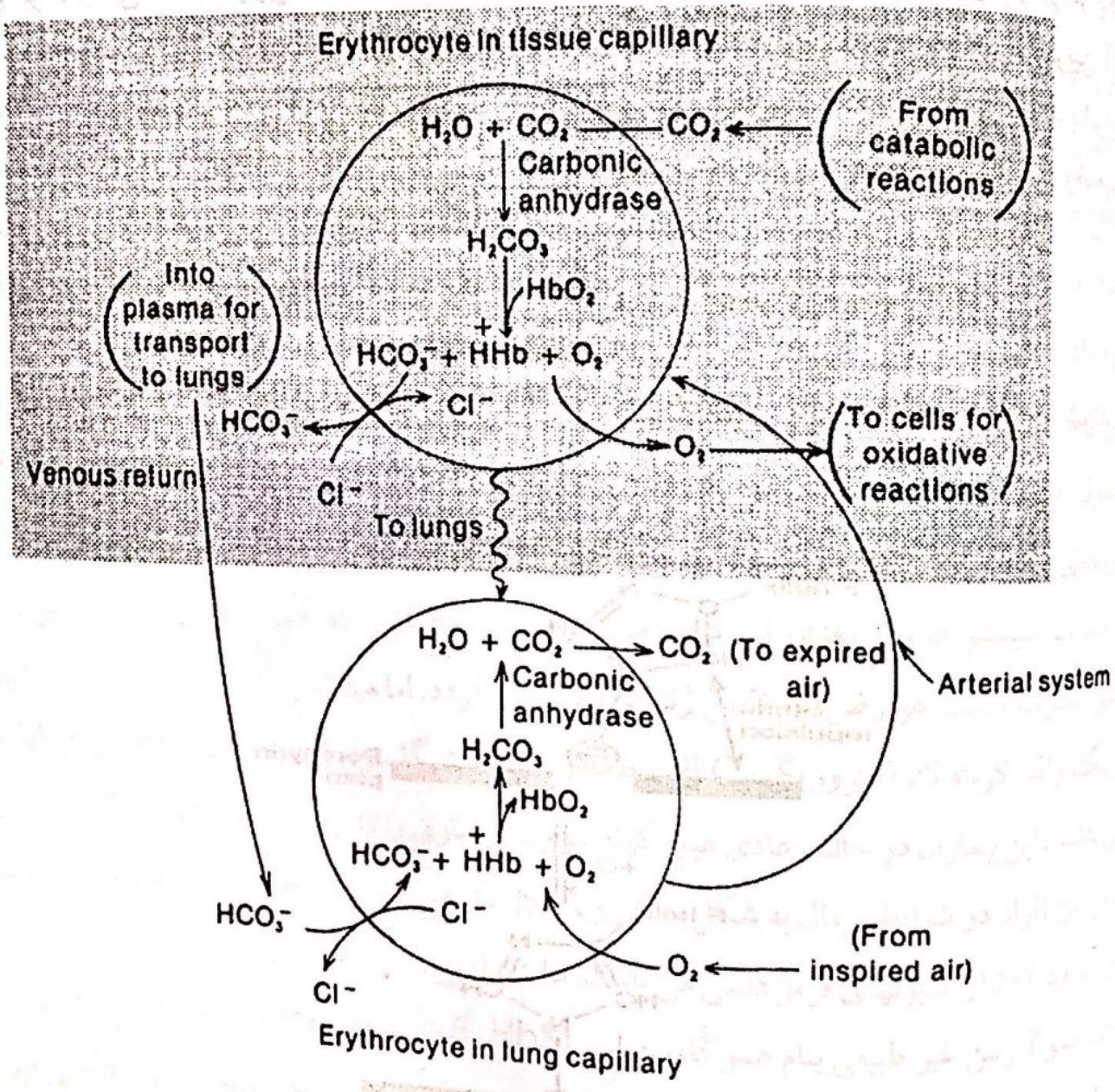
شکل ۱۳-۱۰. تشکیل کربامات باعث تغییر بار مثبت اسید آمینه انتهایی زنجیره گلوبین به بار منفی می شود.

انتقال ایزوهیدریک دی اکسید کربن(Isohydric transport of CO_2)

بیشتر CO_2 خون به صورت بی کربنات موجود در پلاسما منتقل می شود (شکل ۱۴-۱۰). حدود ۵ تا ۱۰ درصد کل CO_2 خون نیز به صورت کاربامات وجود دارد. بخش بیشتر CO_2 تولید شده در سلولهای بافت های فعال نهایتاً به درون گلبولهای قرمز راه یافته و تحت تاثیر آنزیم کربنیک انهیدراز به اسید کربنیک (H_2CO_3) و بعداً به H^+ و بیکربنات HCO_3^- تبدیل می گردند. این پرتون ها عمدتاً به هموگلوبین متصل شده و باعث ایجاد اثر بوهر می شوند. HCO_3^- نیزاز راه کانال آنیونی از غشاء گلبول قرمز گذشته و به پلاسما وارد می شود (شکل ۱۴-۱۰) بنابراین خون وارد شده به مویرگ های شش ها، گاز کربنیک را به دو صورت کاربامات هموگلوبین و HCO_3^- / H_2CO_3 حمل می نماید. چون فشار CO_2 در ریه پایین می باشد بنابراین بر اساس اصل لوشاتلیه واکنش برگشت پذیر تشکیل کاربامات به سمت جدا شدن CO_2 از هموگلوبین پیشرفت نموده (شکل ۱۳-۱۰) و با جدا شدن CO_2 علاقه هموگلوبین به ترکیب با اکسیژن تنفسی افزایش میابد. از طرفی در درون گلبول های قرمز موجود در ریه ملکول H_2CO_3 توسط کربنیک انهیدراز به CO_2 و H_2O تبدیل شده و این دو ملکول به هوای بازدم راه می یابند.

Scanned with CamScanner

ملاحظه می گردد که در جریان انتقال CO_2 از بافت ها به شش ها غلظت یون H^+ در گلبول های قرمز و خون تغییر نمی یابد (انتقال ایزوهیدریک دی اکسید کربن) زیرا H^+ که از تفکیک H_2CO_3 در گلبول های قرمز در بافت ها آزاد می شود با اتصال به شاخه جانبی برخی اسید آمینه های هیستیدین، جذب هموگلوبین می گردد. یون های H^+ که از تشکیل کاربامات هموگلوبین در بافت ها آزاد می شوند نیز همین سرنوشت را خواهند داشت. در واقع انتقال ایزوهیدریک CO_2، مرهون خاصیت بافری هموگلوبین می باشد.



شکل ۱۴-۱۰. تبادلات گازی در اریتروسیت ها در بافت ها و در شش ها

Scanned with CamScanner

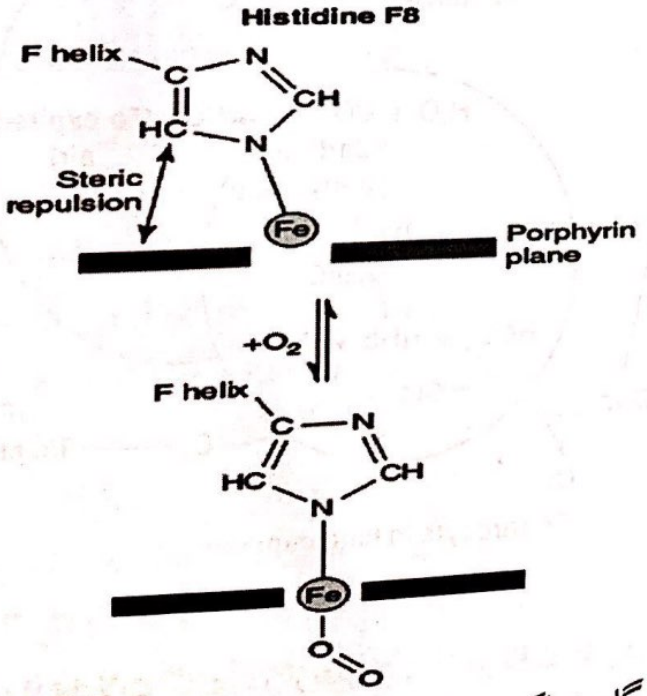
هموگلوبین به دو فرم T و R وجود دارد.

یون فروس Fe^{2+} در شکل بدون اکسیژن هموگلوبین (HHb^{+}) با چهار اتم ازت در حلقه های پیرول و یک اتم ازت در زنجیره جانبی هیستیدین پیوند داتیو برقرار می نماید. دراین حالت Fe^{2+} را میتوان درون فضای یک هرم پنج وجهی تصور نمود. به علت اثر دافعه فضایی بین دو حلقه هیستیدین و پیرول، Fe^{2+} از سطح حلقه پیرول خارج می گردد. بر اساس یک نظریه این وضعیت هموگلوبین را آرایش T(Tense or taut, T from) می نامند. با اتصال اکسیژن، Fe^{2+} ششمین پیوند داتیورا نیز بر قرار می نماید دراین حالت Fe^{2+} به وسط حلقه پیرول بازگشته و میتوان آنرا در مرکز یک هشت وجهی لوزی تصور نمود. این تغییر وضعیت Fe^{2+} ، تغییر آرایش فضایی زنجیره گلوبین آنرا به دنبال دارد. چون زنجیره های گلوبین درساختمان هموگلوبین به یکدیگر متصل می باشند بنابراین آرایش فضایی سه زنجیره دیگر و در نهایت ساختمان چهارم هموگلوبین نیز تغییر میابد. این وضعیت هموگلوبین را آرایش (Relaxed ,R form) می نامند.

نظریه این است که دو فرم R و T در یک رابطه تعادلی به یکدیگر تبدیل می گردند.

$$R \rightleftharpoons T$$

افزایش غلظت O_2 و کاهش غلظت های CO_2، و یون H^+ سبب پایدار شدن فرم R می شوند و بالعکس سبب پایداری فرم T می گردند.



شکل ۱۵-۱۰ در هموگلوبین اکسیژنه شده اتم آهن به داخل صفحه هیم وارد می شود که در این حالت هموگلوبین به فرم R(Relaxed)وجود دارد.

Scanned with CamScanner

۱۰-۱۲ بیماری های ارثی هموگلوبین (Hemoglobinopathies)

بیماریهای کم خونی ارثی از مهمترین بیماریهای ژنتیکی در سراسر جهان هستند. کم خونی هایی که مربوط به هموگلوبین هستند را می توان به دو گروه تقسیم نمود:

۱- بیماری هایی که مربوط به جهش هایی هستند که سبب تغییرات ساختمانی پلی پپتید گلوبین می گردند که مهمترین آنها Sickle cell anemia است.

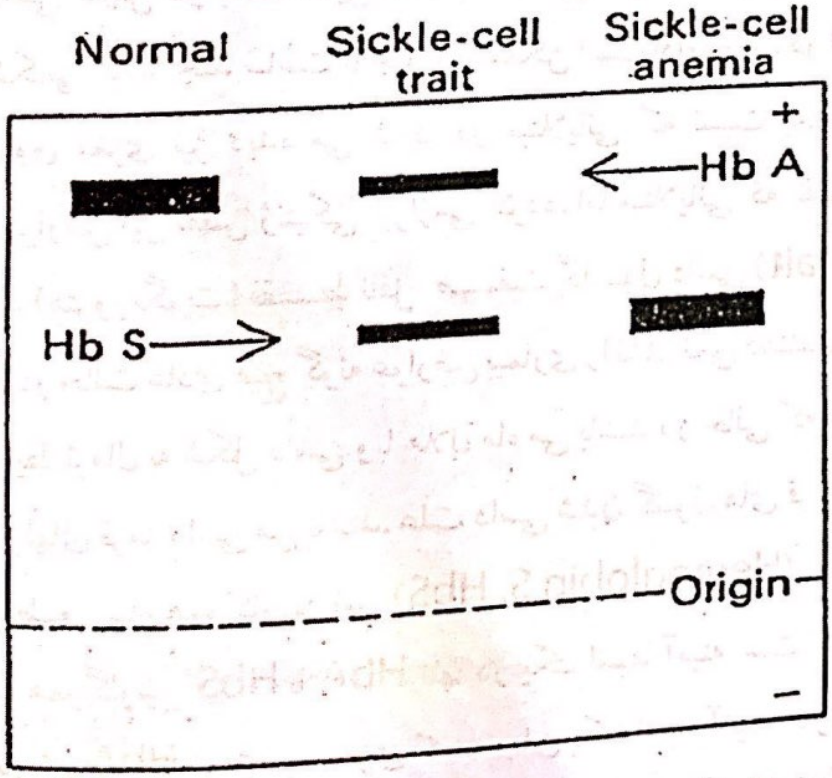
۲- بیماری هایی که بعلت کاهش سنتز زنجیره های گلوبین عارض می شوند که این نوع کم خونی را تالاسمی(Thalassemia) گویند.

بیماری کم خونی داسی شکل (Sickle – cell Anemia) اولین بیماری ارثی شناخته شده در سطح مولکولی است. گلبول های قرمز این افراد داسی شکل بوده یا گرایش زیادی به داسی شکل شدن داشته و در نتیجه درعبور خون از مویرگ ها محدودیت ایجاد می نمایند. بروز ضایعات و دردهای ناشی از کاهش گردش خون در بستر مویرگی پاها و برخی بافت های دیگر از نشانه های این بیماری می باشد. همچنین افراد مبتلا به دفعات دچار حملات کم خونی ناشی از خرد شدن گلبول های قرمز داسی شکل در بافت هایی نظیر طحال می گردند. این بیماری همراه است با دردهای مفصلی و شکمی که از چند ساعت تا چند روزممکن است ادامه یابد. در این افراد درد سینه و انسداد سیستم عروق مغزی نیز دیده می شود. در مبتلایانی که نسبت به این نقص ژنتیکی هموزیگوت هستند عوارض این نقص ژنتیکی ابرازمی گردد. اما مبتلایانی که نقص ژنتیکی را تنها از یک والد گرفته اند (هتروزیگوت) فقط ناقل صفت گلبول داسی (Sickle-cell trait) می باشند. این بیماران در حالت عادی هیچ گونه عوارض بیماری را نشان نمی دهند. تنها ٪۱ گلبول های قرمز این افراد در شرایط نرمال به شکل داسی ویا هلال ماه می باشند در حالی که در هموزیگوت ها در حدود ٪۵۰ از گلبولهای قرمز داسی می باشند. علت داسی شدن گلبول های قرمز این افراد رسوب یک هموگلوبین غیر طبیعی بنام هموگلوبین اس (Hemoglobin S, HbS) در گلبول های قرمز آنها می باشد. تفاوت هموگلوبین HbS با HbA تنها در یک اسید آمینه است. اساس ملکولی این بیماری بروز جهش در ژن HbA میباشد به نحوی که به جای یک اسید آمینه گلوتامیک در زنجیره بتای هموگلوبین A، یک اسید آمینه والین در هموگلوبین S وجود دارد. قرار گرفتن اسید آمینه والین در زنجیره باعث می شود که آرایش فضایی هموگلوبین S در شکل بدون اکسیژن (T) خود

Scanned with CamScanner

به گونه ای باشد که دارای جایگاه و فضایی آب گریز مناسب پذیرش زنجیره هیدروفوب والین گردد. بدین ترتیب زنجیره جانبی والین از هرملکول هموگلوبین S در جایگاه آب گریز یک ملکول هموگلوبین S دیگر قرار می گیرد و در نتیجه پلیمری از مونومرهای هموگلوبین S تشکیل شده و در گلبول قرمز رسوب کرده باعث ایجاد شکل داسی آن می گردد (شکل ۱۷-۱۰). HbS و HbA از لحاظ حرکت در جریان الکتروفورز نیز با یکدیگر تفاوت دارند. در شکل ۱۶-۱۰ مشاهده می نمایید که هموگلوبین S با سرعت کمتری در مقایسه با هموگلوبین A به سمت قطب مثبت حرکت می نماید.

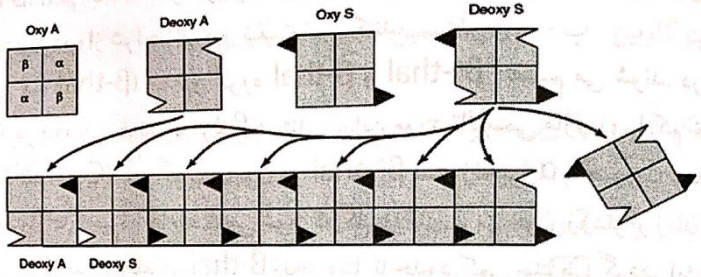
بیمارانی که نسبت به کم خونی داسی شکل هموزیگوت هستند تنها دارای باند هموگلوبین S بوده و فاقد باند HbA می باشند در حالی که افرادی که Sickle cell trait و هتروزیگوت می باشند دارای باند مربوط به هر دو نوع هموگلوبین به نسبت مساوی هستند (شکل ۱۶-۱۰). در هنگام کمبود اکسیژن مثلاً در ارتفاعات یا پس از ورزش های شدید نواحی مکمل ملکول های هموگلوبین S به یکدیگر چسبیده و رشته های بلند و غیر قابل حل از HbS تشکیل می گردد.
در نتیجه گلبول های قرمز بیشتری داسی شده و گردش خون درمویرگ ها با مشکل مواجه می شود. ضمناً



شکل ۱۶-۱۰. ژل الکتروفورز هموگلوبین های جدا شده از یک فرد نرمال ، فردی با Sickle cell trait یا هتروزیگوت و فردی با Sickle – cell Anemia یا هموزیگوت

Scanned with CamScanner

شکسته شدن گلبول های قرمز تسریع و طول عمر آنها به جای ۱۲۰ روز، به ۱۰ تا ۱۵ روز کاهش می یابد. این بیماری در افریقا به فراوانی دیده می شود چون ابتلای به آن می تواند از بیماری مالاریا جلوگیری نماید. در نقطه ای از آفریقای مرکزی که مالاریا شیوع بالایی دارد فراوانی بیماری سلول داسی نیز زیاد (تا ٪ ۴۰) می باشد. در واقع افرادی که وضعیت Sickle cell trait دارند در مقابل فرم های مالاریای حاد و کشنده مقاوم هستند.



شکل ۱۷-۱۰ نمایش بخش چسبنده (▲) در هموگلوبین S و گیرنده آن (Δ)ر همو گلوبین S و A د اکسیژنه شده.

Thalassemias تالاسمی ها

یکی از ناهنجاری های خونی است که در آن میزان سنتز یک زنجیرهٔ گلوبین کاهش میابد. نوع زنجیره ای که در آن نقص وجود دارد به صورت پیشوند به لفظ تالاسمی اضافه می گردد. مثلاً در آلفا تالاسمی (α-Thal) نقص در سنتز زنجیره α وجود دارد. لفظ یونانی تالاسا (Thalassa) به معنای دریاست. چون اولین بار این بیماری در اطراف دریای مدیترانه تشخیص داده شد و معرفی گردید.

بیان ژن در تالاسمی ها

تشخیص تالاسمی ها نسبتاً ساده است. مقدار پایین سنتز هر کدام از زنجیره ها که از گلبول های قرمز نابالغ (رتیکولوسیت) افراد مبتلا استخراج می شوند، با روش هایی مانند الکتروفورز تشخیص داده می شوند. در بیماری آلفا تالاسمی نقص در بیان یک یا هر چهارژن مربوط به زنجیرهٔ های گلوبین آلفا وجود دارد. هنگامی که تنها نقص در یک یا دو ژن آلفا وجود داشته باشد، کم خونی از نوع حاد نمی باشد در حالی که اگرسه ژن از چهار ژن زنجیرهٔ های آلفا بیان نشوند در این صورت بیماری هموگلوبین H (HbH) عارض می گردد که نوع نسبتا حاد این بیماری بوده

Scanned with CamScanner

که به علت کمبود زنجیره های آلفا، زنجیره های بتا اضافی به یکدیگر متصل می گردند. بنابراین بیشترین هموگلوبین در این افراد از نوع β_4 می باشد. در مواردی که هرچهار ژن زنجیرهٔ های آلفا بیان نشوند در این صورت بیماری تالاسمی از نوع هیدروپس فیتالیس (hydrops fetalis) بوده و جنین در اثر این نقص در حالی که دچار خیز (edema) می باشد سقط می شود. بیشترین هموگلوبینی که در این بیماران دیده می شوند هموگلوبین بارت (Hb Barts, γ_4) می باشد. هموگلوبین های غیر طبیعی به شکل β_4 یا γ_4 دارای نقص در منحنی اشباع با اکسیژن بوده واز شرایط اثر بور تبعیت نمی کنند.

بتا تالاسمی ها(β-thal) به دو گروه β^+-thal و β^o-thal تقسیم می شوند. در β^o-thal گلبول های قرمز فاقد هر گونه زنجیره β هستند. به این مورد تالاسمی ماژور و یا کم خونی کولی (Coolye's anemia) می گویند. چون در β^o-thal سنتز زنجیرهٔ α به صورت نرمال می باشد بنابر این وجود مازاد زنجیرهٔ آلفا باعث می شود که گلبول های قرمز خون زودتر از زمان طبیعی مثلاً در مدت سی روز از بین بروند. در β^+-thal زنجیره بتا تا حدود کمی سنتزمی گردد. این افراد دچار تالاسمی مینور (minor thal) می باشند. در هر دو گروه بتا تالاسمی برای جبران کمبود زنجیره بتا، سنتز زنجیره های γ و δ و در نتیجه میزان هموگلوبین های HbF وHbA2 تا حدود کمی افزایش می یابد.

Scanned with CamScanner

۱۰-۱۴ سئوالات چهار گزینه ای

۱- کدام پروتئین پلاسمایی در اتصال به هموگلوبین آزاد نقش دارد؟
الف- هاپتوگلوبین ب- ترانسفرین ج- هموپکسین د- آلبومین

۲- کدام پروتئین پلاسمایی خاصیت اکسیدازی دارد؟
الف- هاپتوگلوبین ب- سرولوپلاسمین ج- هموپکسین د- ترانسفرین

۳- کدامیک از شرایط زیر منجر به تسریع در آزاد سازی اکسیژن از هموگلوبین در بافت ها می شود؟
الف- افزایش تولید 2 و 3 بیس فسفوگلیسرات
ب - کاهش سطح CO_2 در خون
ج- کاهش سطح H^+ در خون
د - افزایش فشار اکسیژن خون

۴- کدام گزینه بوسیله هموپکسین (Hemopexin) حمل می شود؟
الف- هموگلوبین آزاد ب- هِم آزاد ج- آهن آزاد د- مس آزاد

Scanned with CamScanner

فصل ۱۱

انرژی حیاتی

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

پس از مطالعه این فصل انتظار می رود بتوانید:

- قوانین اول و دوم ترمودینامیک را تعریف کنید.
- آنتالپی و انتروپی را تعریف کنید.
- انرژی آزاد را تعریف کرده و رابطه آنرا با انتروپی و آنتالپی شرح دهید.
- تغییرات انرژی آزاد استاندارد را محاسبه و از آن برای پیش بینی پیشرفت خود به خود واکنش ها ی بیوشیمیائی استفاده نمایید.
- ترکیبات فسفات دار پر انرژی واهمیت زیستی آنها را بیان کنید.
- پتانسیل احیا شدن برای نیمه واکنش ها ی اکسیداسیون و احیاء را شرح دهید.
- سیستم انتقا ل الکترون درمیتوکندری را بشناسید و نحوه تولید ATP در این سیستم را شرح دهید.
- مهار کننده های زنجیره تنفسی را بشناسید.
- فسفریلاسیون اکسیداتیو و تولید حرارت در چربی قهوه ای را شرح دهید.

متابولیسم به مجموعه واکنش هایی گفته می شود که در سلول های زنده انجام می شوند. متابولیسم از دو دسته واکنش تشکیل می شود:

۱- واکنش های کاتابولیکی (کاتابولیسم) به شکسته شدن مولکـــول های پیچیده و بزرگ به مولکول های کوچکتر مانند H_2O و CO_2 و NH_3 گفته می شود. این واکنش ها معمولا با تولید و آزاد شدن انرژی همراه هستند.

۲- واکنش های آنابولیکی (آنابولیسم) که همراه با مصرف انرژی بوده و شامل ساخته شدن مولکول های بزرگتر از مولکول های ساده ترمی گردند. تبدیل اسیدهای آمینه به پروتئین ها وساخته شدن DNA و RNA از بازهای آلی در زمره واکنش های آنابولیکی هستند.

۱-۱۱ بیوانرژتیک (Bioenergetics)

بیوانرژتیک شاخه ای از علم بیوشیمی است که از تغییرات، تبدیلات و مصرف انرژی حین انجام واکنش های بیوشیمیایی بحث می کند. تغییرات انرژی در سیستم های بیولوژیک مانند تغییرات انرژی در بقیه جهان هستی (Universe) تابع قوانین اول و دوم ترمودینامیک می باشند. بنابراین در ابتدا اشاره ای به بعضی روابط تومودینامیکی خواهیم داشت.

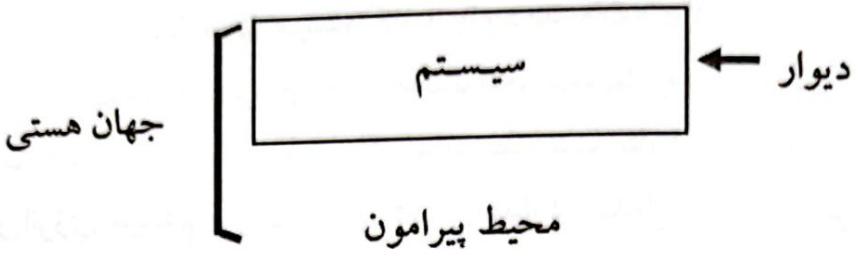
۲-۱۱ ترمودینامیک

شاخه ای از علم فیزیک است که توسط ویلارد گیبس (Willard Gibs, 1903 – 1839) پایه گذاری شد و در مورد تغییرات و تبدیلات انرژی حین انجام واکنش های فیزیکی و شیمیایی در سیستم های مختلف بحث می کند.

سیستم

به مجموعه ماده موجود در آن قسمت از جهان هستی که ما به مطالعه آن علاقمند هستیم سیستم گفته می شود. به آن بخش از بقیه جهان هستی که خارج از سیستم قرار دارد محیط پیرامون (Surrounding) گفته می شود (شکل ۱-۱۱). یک کلاس درس، یک سلول و یا یک تکه گچ می توانند مثال هایی از یک سیستم باشند. به آنچه سیستم را از محیط پیرامون جدا می سازد دیوار یا Wall گفته می شود.

دیوار ممکن است فرضی و یا واقعی (مانند غشاء اطراف یک سلول) باشد. مجموع سیستم و محیط پیرامون آن جهان هستی را می سازند.



شکل ۱-۱۱. سیستم و جهان هستی

در تغییرات و تبدیلات انرژی همیشه مقدار زیادی از انرژی به صورت غیر مفید و فرم غیر دلخواه در می آید . راندمان اکثرماشین های ساخت بشر در تبدیل انرژی به فرم مفید و قابل استفاده در حدود ۲۵ درصد است.این راندمان در مورد سیستم های زنده گاهی تا حدود ۴۰ درصد برآورد شده است. تغییر وتبدیلات انرژی در سیستم های زنده نیزمانند جهان غیر زنده تابع قوانین ترمودینامیک است. بنا براین ابتدا به قوانین ترمودینامیک اشاره می نمائیم.

۱۱-۳ قانون اول ترمودینامیک یا قانون بقای انرژی (conservation of energy)

مقدار کل انرژی در جهان هستی ثابت است و با هر تغییر فیزیکی یا شیمیایی نه انرژی از بین می رود و نه تولید می شود بلکه از فرمی به فرم دیگر تبدیل می شود. بیان ریاضی این قانون برای فرآیند $A \longrightarrow B$ به صورت زیر است :

$$\Delta E = E_B - E_A = Q - W$$

اگر مجموعه تمامی اشکال انرژی درون یک سیستم را انرژی درونی آن سیستم (E) تعریف کنیم در این صورت:

ΔE تغییرات در انرژی درونی سیستم

E_A انرژی درونی سیستم در شروع فرآیند

E_B انرژی درونی سیستم پس از انجام فرآیند

Q مقدارحرارت جذب شده توسط سیستم

W کار انجام شده توسط سیستم

لازم به ذکر است که در ترمودینامیک به تغییر و تبدیل هر نوع انرژی به هر نوع انرژی دیگری به جز انرژی حرارتی کار گفته می شود. مقدار مثبت W نشان دهنده انجام کار توسط سیستم برروی محیط بوده و برعکس اگر محیط روی سیستم کار انجام دهد علامت W منفی خواهد بود. مقدار مثبت Q نشان دهنده جذب انرژی حرارتی از محیط توسط سیستم بوده و برعکس مقدار منفی Q نشان دهنده از دست دادن حرارت توسط سیستم به محیط است. بنابراین در هر فرآیند شیمیایی و فیزیکی مقداری از انرژی سیستم صرف انجام کار و مقداری تبدیل به انرژی حرارتی می شود. مجموع مقدار این دو انرژی برابر مقدار تفاوت انرژی سیستم قبل و بعداز انجام فرآیند است. بنابراین مجموع انرژی سیستم و محیط همیشه مقداری ثابت است. مقدار حرارت آزاد شده و یا جذب شده توسط سیستم حین انجام واکنش در درجه حرارت و فشار ثابت برابر با تغییرات در کمیتی بنام **آنتالپی** (Enthalpy) می باشد.

$$\Delta E = \Delta H - W$$

آنتالپی محتوی حرارتی (Heat content) سیستم بوده و میزان تغییرات آن (ΔH) بستگی به نوع وتعداد پیوندهای شیمیایی موجود درمواد اولیه شرکت کننده در واکنش (Reactants) و محصولات نهایی واکنش (Products) دارد.

٤-١١ قانون دوم ترمودینامیک یا قانون آنتروپی (Entropy)

این قانون برای پیش بینی جهت انجام واکنش ها به کار می رود. طبق این قانون واکنش ها در جهتی خودبخود (spontaneously) پیش می روند که انرژی مفید، بطور غیر قابل برگشت به شکل غیر مفید (که به آن آنتروپی S گفته می شود) درآید. هنگامی که واکنش ها به تعادل (Equilibrium) می رسند متوقف می شوند که در این وضعیت ماکزیمم مقدار انتروپی تحت شرایط موجود بوجود آمده است. در واقع آنتروپی فرم غیر مفید انرژی یا انرژی از دست رفته است که نمی تواند کار انجام دهد و آنتروپی تنها موجب ایجاد بی نظمی مثلا افزایش حرکت بی نظم مولکول ها در اطراف می شود. به عبارت دیگر مقدار بی نظمی معرف این انرژی از دست رفته (آنتروپی) می باشد. طبق قانون دوم ترمودینامیک، واکنش ها در جهتی خود بخود پیش می روند که در مجموع آنتروپی جهان هستی افزایش یابد.

با این حال استفاده از آنتروپی برای پیش گویی سمت وجهت پیشرفت خودبخودی واکنش ها مشکل است زیرا تغییرات آنتروپی (ΔS) جهان در نتیجه انجام واکنش ها ی شیمیایی به آسانی قابل اندازه گیری نمی باشد. لازم به ذکر است که برای تعیین ΔS جهان، ما باید مقدار انتروپی سیستم و محیط پیرامون آن را قبل و بعد از انجام فرآیند بدانیم که قابل انجام نیست. مشکل پیش گویی انجام خودبخودی واکنش ها با استفاده از تابع ترمودینامیکی دیگری به نام انرژی آزاد (Free Energy) حل می شود.

۵-۱۱ انرژی آزاد (Free Energy)

انرژی مفید به شکلی از انرژی گفته می شود که می تواند کار انجام دهد. دو نوع انرژی مفید وجود دارد ۱) انرژی آزاد (Free energy, Gibbs Free energy) شکلی از انرژی پتانسیل موجود در مولکول ها است که در درجه حرارت و فشار ثابت می تواند کار انجام دهد. ۲) انرژی گرمایی (Heat Energy) که انجام کار با انرژی گرمایی با تغییر درجه حرارت و فشار در سیستم همراه است. سلول ها برای انجام کارتنها قسمتی از انرژی موجود در ماده شیمیایی را که بصورت حرارت در نمی آید مورد استفاده قرار می دهند. به این بخش از انرژی موجود درماده انرژی آزاد گفته می شود که با حرف (G) نشان داد. معادله زیر ارتباط بین تغییرات آنتالپی و انرژی آزاد را در طی انجام یک واکنش نشان می دهد:

$$A \longleftrightarrow B$$

$$G_A \qquad G_B$$

$$\Delta G = G_B - G_A$$

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S$$

معادله ۱

در فشار ثابت تغییر در انرژی درونی سیستم(ΔE) برابر تغییر در آنتالپی ΔH آن است.
ΔH تغییرات در انرژی درونی سیستم در فشار ثابت است.
ΔG تغییرات در انرژی آزاد بوده و مقدار انرژی در دسترس است که می تواند کار انجام دهد.
از معادله ۱ معادله ۲ به دست می آید.

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

معادله ۲

به معادله ۲ معادله گیبس گفته می شود. ΔG و ΔH دارای واحد Cal/mol یا Joule/mol می باشند

T درجه حرارتی است که واکنش در آن درجه حرارت انجام می شود(برحسب درجه کلوین $^{\circ}K$)
ΔS : تغییرات انتروپی است که در نتیجه انجام فرآیند ایجاد می شود و واحد آن $Cal/mole.^{\circ}K$ می باشد.

یک کالری مقدار گرمای لازم برای افزایش درجه حرارت یک گرم آب از ۱۴/۵ درجه سانتی گراد به ۱۵/۵ سانتی گراد می باشد.

تغییرات در انرژی آزاد (ΔG) در نتیجه انجام یک واکنش معیار خوبی برای پیشگویی انجام خودبخود واکنش ها است. یک واکنش هنگامی بصورت خود بخود پیش می رود که مقدار انرژی آزاد درسیستم کاهش یابد یا به عبارت دیگر تغییر انرژی آزاد سیستم در نتیجه انجام واکنش منفی گردد ($\Delta G < 0$). از معادله گیبس نتیجه گیری می شود که اگر برای واکنشی ΔS مثبت باشد ($\Delta S > 0$) در این صورت ΔG آن واکنش می تواند منفی باشد، بنابراین یک سیستم که درحال انجام واکنش خوبخود می باشد دارای ΔG منفی است. به واکنشی که ΔG آن منفی است واکنش انرژی زا (Exergonic) و واکنشی که ΔG آن مثبت است واکنش انرژی خواه (Endergonic) گفته می شود. انجام واکنش ها ی انرژی خواه نیاز به مصرف انرژی آزاد دارد.

آنتروپی جهان هستی همیشه در حال افزایش است. حین انجام یک واکنش خودبخود همراه با افزایش انتروپی جهان، انرژی آزاد سیستم کاهش می یابد.

اگر چه انتروپی انرژی از دست رفته است اما ایجاد آنتروپی عملی غیر مفید نیست، زیرا تبدیل مقداری از انرژی سیستم به فرم غیر مفید و ایجاد آنتروپی در حین انجام واکنش باعث خروج مقداری انرژی مفید از سیستم و برگشت ناپذیرشدن واکنش می شود. بنا براین ایجاد آنتروپی موجب جهت دادن به واکنش ها و باعث پیشروی واکنش ها در جهتی خاص وغیر قابل برگشت شدن فرآیندهای بیولوژیک می شود. هنگامی که واکنشی به تعادل می رسد $\Delta G = 0$ شده و دراین حالت تغییری درانرژی سیستم رخ نمی دهد.

محاسبه تغییرات انرژی آزاد (ΔG) یک واکنش و رابطه انرژی آزاد و غلظت

تغییرات انرژی آزاد استاندارد (ΔG°) برای واکنش های شیمیایی، به میزان تغییرات انرژی آزاد در حالتی که آن واکنش در شرایط استاندارد انجام گیرد گفته می شود. شرایط استاندارد انجام واکنش ها عبارت است از انجام واکنش در حرارت ۲۹۸ درجه کلوین ($^{\circ}$۲۵ سانتی گراد)، فشار ۱ اتمسفر (۷۶۰ میلی متر جیوه) و غلظت برابر ۱ مولار هریک از مواد اولیه واکنش کننده و محصولات عمل در طی اندازه گیری تغییر انرژی آزاد.

• ΔG° مانند ثابت تعادل برای هر واکنش مقدار ثابتی بوده و از رابطه زیر محاسبه می شود:

برای واکنش $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$

$$\Delta G^{\circ} = - RT \ln K_{eq} = -2.3\ RT \log K_{eq}$$

در رابطه فوق:

$$K_{eq} = \frac{[c]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

R ثابت گازها بوده و مقدار آن برابر ۱/۹۸۷ Cal/mol. °K است.

T برابر ۲۵°C + ۲۷۳ یا ۲۹۸ درجه کلوین است.

واکنش‌هایی که دارای ΔG° منفی هستند درشرایط استاندارد، در جهتی که نوشته می شوند شروع به پیشرفت می نمایند تا به تعادل رسیده و ΔG آن ها برابر صفر گردد. از آنجا که واکنش های بیوشیمیایی اغلب با تولید و مصرف پروتون H^+ همراه بوده و در مایعات زیستی که معمولا دارای pH نزدیک به ۷ می باشند انجام می شوند، بنابراین pH = 7 طبق قرارداد بعنوان pH استاندارد در محاسبات انرژی حیاتی در بیوشیمی انتخاب شده است. تغییرات انرژی آزاد استاندارد واکنش های بیو شیمیایی در pH = 7 به صورت $\Delta G^{0'}$ نشان داده می شود. در حالیکه در شیمی - فیزیک pH = 0 یا $[H^+]$ =1M بعنوان pH استاندارد در نظر گرفته می شود. واکنش های هیدرولیز استرهای ساده، آمیدها، گلیکوزیدها و پپتیدها و همچنین واکنش های نوآرایی مولکولی (Rearrangements) دارای $\Delta G^{0'}$ نسبتا" کوچک بوده و مقدار انرژی آزاد شده حاصل از این واکنش ها کم است. در مقابل هیدرولیز پیوندهای انیدریدهای اسیدی مانند هیدرو لیز پیروفسفات همراه با کاهش زیاد انرژی آزاد می باشد. بنابراین دارای $\Delta G^{0'}$ بسیار منفی بوده و به خوبی پیشرفت می نماید ($\Delta G^{\circ\prime} << 0$). اکسیداسیون ترکیبات آلی و تبدیل آنها به CO_2 و H_2O نیز باکاهش زیاد در انرژی آزاد همراه است. تغییرات انرژی آزاد در شرایط واقعی (مقدار ΔG) در یک سیستم واکنش کننده در شرایط غیر استاندارد مثلا" در شرایط سلولی و فیزیولوژیک بستگی به غلظت ترکیبات شرکت کننده در واکنش و درجه حرارت محیط واکنش داشته و از رابطه زیر محاسبه می گردد.

معادله ۳ :

$$\Delta G = \Delta G^{\circ\prime} + RT \ln \frac{[c]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

لازم به ذکر است که معیار خودبخود بودن انجام یک واکنش در شرایط واقعی(سلولی و فیزیولوژیک)ΔG است نه $\Delta G^{\circ\prime}$. واکنشی که خود به خود در حال انجام است دارای ΔG منفی بوده و همچنان که واکنش به سمت جلو پیش می رود ΔG آن به سمت صفر میل می نماید تا در نقطه تعادل که تبدیل مواد اولیه به محصولات عمل و برعکس مساوی شده و برآیند آن صفرخواهد بود، $\Delta G = 0$ می گردد. این بدان معنی است که کار بیشتری از طریق انجام آن واکنش نمی تواند انجام گیرد.

مقدار تغییرات انرژی آزاد در واکنش ها ی شیمیایی خاصیت جمع پذیری دارند.

واکنش های متابولیکی اغلب نتیجه انجام پی درپی چند واکنش می باشند. هریک از واکنش های جزئی دارای ΔG مخصوص خود هستند. مثلاً واکنش تبدیل ترکیب A به D را میتوان به صورت زیر فرض نمود.

$$A \xleftrightarrow{\Delta G_1^{\circ\prime}} B \xleftrightarrow{\Delta G_2^{\circ\prime}} C \xleftrightarrow{\Delta G_3^{\circ\prime}} D$$

$$A \longrightarrow B \quad \Delta G_1^{\circ\prime}$$
$$B \longrightarrow C \quad \Delta G_2^{\circ\prime}$$
$$C \longrightarrow D \quad \Delta G_3^{\circ\prime}$$

$$A \longrightarrow D \quad \Delta G^{\circ\prime} = ?$$

اگر واکنش ها ی ۱ و ۲ و ۳ را باهم جمع زده و طرفین واکنش ها را از هم ساده کنید. به واکنش کلی $A \longrightarrow D$ خواهیم رسید که $\Delta G^{\circ\prime}$ واکنش کلی آن برابر خواهد بود با:

$$\Delta G^{\circ\prime} = \Delta G_1^{\circ\prime} + \Delta G_2^{\circ\prime} + \Delta G_3^{\circ\prime}$$

کاربرد این قاعده را در مثال زیرمی توان دید. برای واکنش زیر $\Delta G^{\circ\prime}$ را محاسبه می کنیم.

$$ATP + H_2O \underset{2}{\overset{1}{\rightleftharpoons}} ADP + P_i \qquad \Delta G^{\circ\prime} = ?$$

می دانیم که برای محاسبه $\Delta G^{\circ\prime}$ باید ثابت تعادل $K'eq$ این واکنش را داشته باشیم ($\Delta G^{\circ\prime} = -2.3\ RT\ Log\ Keq$). ثـابت تعادل واکنش فوق را نمی توان با اندازه گیری غلظت مواد شرکت کننده در واکنش محاسبه کرد زیرا ATP بسیار ناپایدار بوده و در شرایط تعادل مقدار ATP باقی مانده آنقدرکم است که نمی توان آن را براحتی اندازه گیری کرد. بنابراین برای محاسبه $\Delta G^{\circ\prime}$ از خاصیت جمع پذیری واکنش ها به این ترتیب استفاده می گردد که از بین واکنش‌های بیوشیمیایی که دارای $\Delta G^{\circ\prime}$ معلوم می باشند دو واکنش را به گونه ای انتخاب می نماییم که از جمع آنها واکنش فوق حاصل گردد.

مثلاً:

$$\text{Glucose} + ATP \underset{}{\overset{\text{kinase}}{\rightleftharpoons}} \text{Glucose-6-phosphate} + ADP$$
$$\Delta G_1^{\circ\prime} = -4\ \text{Kcal/mol}$$

$$\text{Glucose-6-phosphate} + H2O \underset{}{\overset{\text{Phosphatase}}{\rightleftharpoons}} \text{Glucose} + \text{phosphate}$$
$$\Delta G_2^{\circ\prime} = -3.3\ \text{Kcal/mol}$$

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + \text{phosphate} \qquad \Delta G^{\circ\prime} = \Delta G_1^{\circ\prime} + \Delta G_2^{\circ\prime}$$
$$= -7.3\ \text{Kcal/mol}$$

ترکیبات فسفات دار پر انرژی واهمیت زیستی آنها

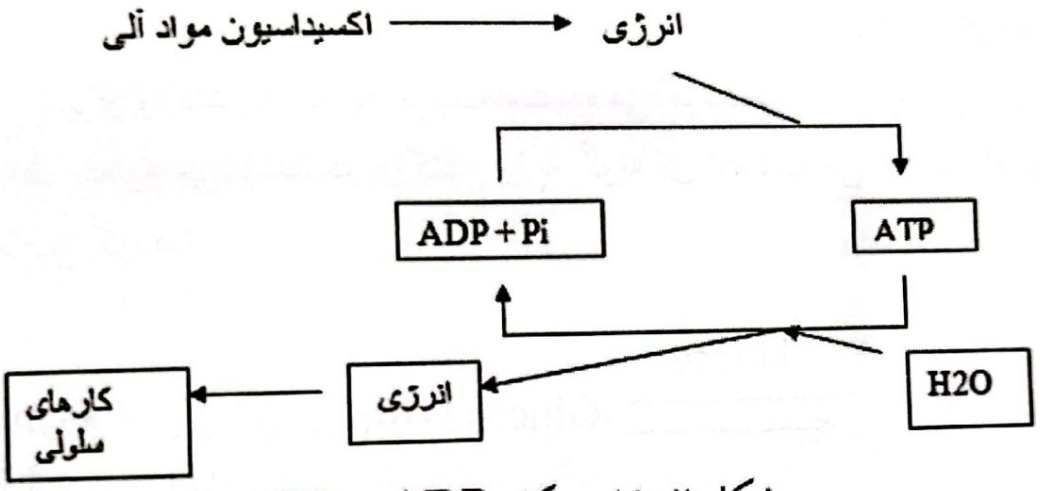
ATP مهمترین ماده واسطه بین واکنش های انرژی زا و واکنش‌های انرژی خواه در سلول می‌باشد. فعالیت های زیستی سلول که نیاز به مصرف انرژی دارند سه نوع می باشند.

۱- کارهای شیمیایی مانند بیوسنتز مولکول های مختلف
۲- کارهای اسمزی مانند انتقال فعال (active transport)
۳- کارهای مکانیکی مانند انقباض سلول های عضلانی

انرژی لازم برای انجام کارهای فوق در سلول با هیدرولیز ATP فراهم می شود.

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i \qquad \Delta G^{\circ\prime} = -7.3\ \text{Kcal/mol}$$

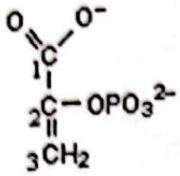
تحت شرایط فیزیولوژیک در سلول ΔG واقعی برای هیدرولیز ATP حدود ۱۲ Kcal/mol است. مولکول ATP در کمتر از ۱ دقیقه بعد از ساخته شدن در سلول به ADP و فسفات تبدیل شده و به این صورت مصرف می شود. یک انسان درحال استراحت در طی ۲۴ ساعت حدود ۴۰ کیلوگرم ATP مصرف می نماید. در زمان ورزش سرعت مصرف ATP در عضلات ممکن است به حدود ۰/۵ کیلوگرم در دقیقه برسد. بنابراین ATP بطور مداوم در سلول تشکیل و مجدداً به ADP تبدیل شده و مصرف می گردد. سیکل ATP – ADP به مصرف مداوم انرژی شیمیایی ATP برای انجام کارهای حیاتی سلول و اکسیداسیون مداوم ترکیبات آلی برای تشکیل دوباره ATP از ADP گفته می شود (شکل ۲-۱۱).



شکل ۲-۱۱. سیکل ATP – ADP

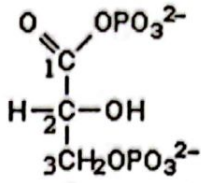
بنابراین ATP در طی سیکل فوق بطور مداوم ساخته و مصرف می شود. $\Delta G^{\circ\prime}$ برای هیدرولیز ترکیبات فسفات دار دیگر نیز تعیین شده است. در مقایسه با ATP هیدرولیز بعضی از این مواد همراه با تولید انرژی آزاد بیشتر و هیدرولیز بعضی همراه با تولید انرژی آزاد کمتری می باشد. به موادی که $\Delta G^{\circ\prime}$ هیدرولیز آنها مثبت تراز ATP (۷ Kcal/mol-) است ترکیبات فسفات دار کم انرژی و به موادی که $\Delta G^{\circ\prime}$ هیدرولیز آنها منفی تر از ATP است ترکیبات فسفات دار بسیار پر انرژی (Super high energy phosphate compounds) گفته می شود. ATP ترکیب فسفات دار پر انرژی محسوب می شود (شکل ۳-۱۱).

Super High Energy Phosphate Compounds:



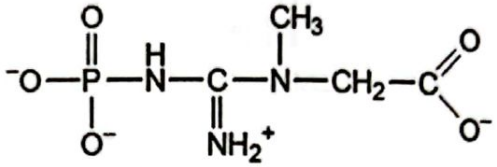
phosphoenolpyruvate

$\Delta G^{\circ\prime} = -14.8$ Kcal/mol



1,3-bisphospho-glycerate

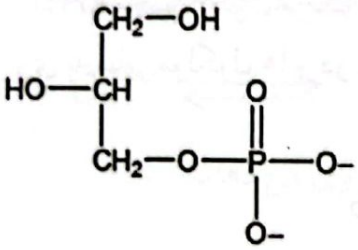
$\Delta G^{\circ\prime} = -11.8$ Kcal/mol



Creatine Phosphate

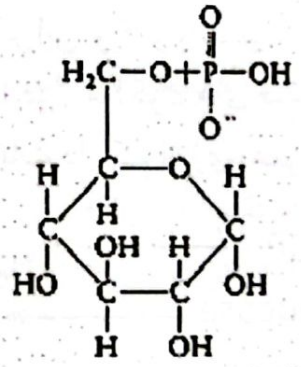
($\Delta G^{\circ\prime} = -10.3$ Kcal/mol)

Low Energy Phosphate Compounds:



Glycerol – 3- phosphate

$\Delta G^{\circ\prime} = -2.2$ Kcal/mol

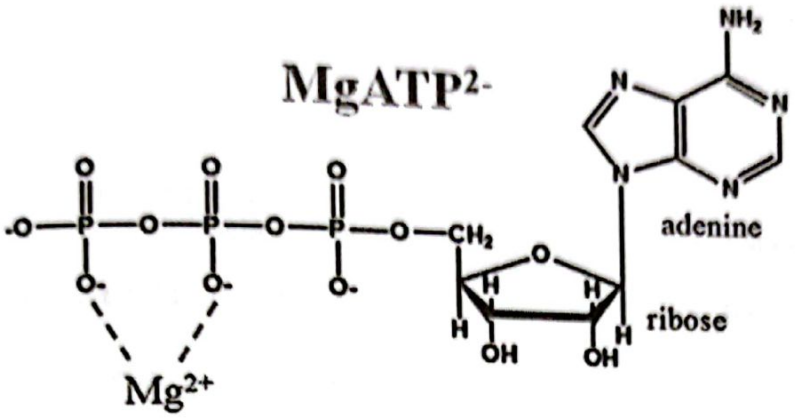


Glucose-6-phosphate

$\Delta G^{\circ\prime} = -3.3$ Kcal/mol

شکل۳-۱۱. انرژی ترکیبات فسفات دار

فرم فعال ATP در سلول معمولا بصورت کمپلکس بامنگنز Mn^{2+} یا Mg^{2+} است ($MgATP^{2-}$) (شکل ۴-۱۱). در مایع درون سلولی ADP نیز بصورت $MgADP^{-}$ وجود دارد.



شکل ۴-۱۱.کمپلکس ATP با منیزیم

در بعضی از واکنش ها ی بیوسنتز بجای ATP از نوکلئوتیدهای UTP. GTP و CTP برای تامین انرژی استفاده می شود. میزان انرژی آزاد شده در نتیجه هیدرولیز این نوکلئوتیدها نیزمعادل ATP است.ATP همچنین بعنوان مولکول حد واسط برای انتقال فسفات از مولکول های فسفات داربسیار پر انرژی به سایر مولکول ها و در نتیجه تولید مولکول های فسفات دار کم انرژی عمل می نماید.

PEP + ADP ⟶ ATP + Pyruvate

ATP + Glucose ⟶ Glucose-6-P + ADP

PEP + Glucose ⟶ Glucose -6-P- + Pyruvate

در سلول ها آنزیمی وجود ندارد که بتواند گروه فسفات را مستقیماً از مولکول های بسیار پر انرژی به مولکول های کم انرژی منتقل نماید. مثلاً واکنش زیر در سلول انجام نمی پذیرد.

Phosphoenol pyruvate (PEP) + Glucose ⇌ Glucose – 6 - P + Pyruvate

CamScanner

۶-۱۱ واکنش ها ی اکسیداسیون - احیاء

به واکنش ها یی که درآن الکترون ازیک ماده شرکت کننده در واکنش به ماده شرکت کننده دیگرمنتقل می شود واکنش ها ی اکسیداسیون - احیاء گفته می شود. اکسیداسیون(oxidation) به معنای از دست دادن الکترون و احیا شدن(reduction) به معنی گرفتن الکترون است. در واکنش ها ی اکسیداسیون - احیاء در سلول الکترون ها معمولا بصورت زوج (دو الکترون) منتقل می شوند. هر واکنش اکسیداسیون - احیا از دو نیمه واکنش تشکیل می شود.

۱- نیمه واکنش احیاء:

$$NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons NADH + H^+$$

۲- نیمه واکنش اکسیداسیون:

$$XH_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^- + X$$

$$NAD^+ + XH_2 \rightleftharpoons X + NADH + H^+$$

واکنش ها ی ۱ و ۲ توسط الکترون (e^-) و پروتون (H^+) با یکدیگر مزدوج و مرتبط شده اند. بنابر قرارداد نیمه واکنش ها را در شکل احیا آنها می نویسند مثلا:

$$Fe^{3+} + e^- \leftrightarrow Fe^{2+}$$

در واکنش های اکسیداسیون - احیا سلولی الکترون به ۴ طریق مختلف از مولکولی به مولکول دیگر منتقل می شود:

۱- انتقال مستقیم الکترون ها

$$Fe^{2+} + Cu^{2+} \rightleftharpoons Fe^{3+} + Cu^+$$

این نوع انتقال الکترون بین اجزاء زنجیره تنفسی در میتوکندری روی می دهد.

۲- انتقال بصورت اتم هیدروژن

$$XH2 + B \longrightarrow X + BH_2$$

هر اتم هیدروژن شامل یک پروتون و یک الکترون است.

۳- انتقال به شکل یون هیدرید (H^-:) هیدروژن با دو الکترون

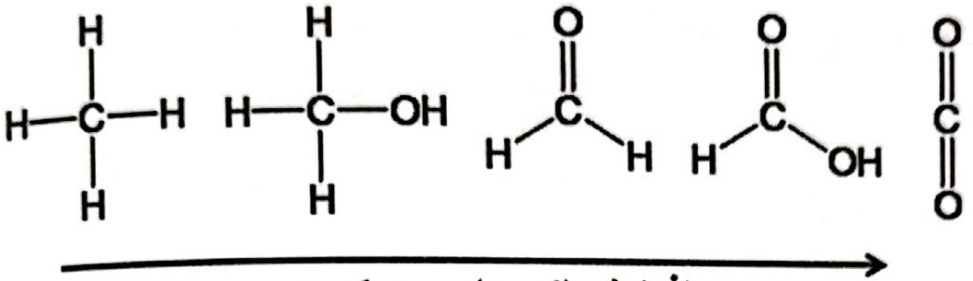
$$NAD^+ + XH_2 \rightleftharpoons NADH + H^+ + X$$

CamScanner

۴-ترکیب شدن مستقیم یک مولکول آلی با اکسیژن مانند اکسیداسیون یک هیدروکربن و تبدیل آن به الکل

$$R-CH_3 + \tfrac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow R-CH_2-OH$$

در این واکنش هیدروکربن دهنده الکترون و اکسیژن گیرنده الکترون است.



بیشتر واکنش های اکسیداسیون - احیا در سلول بوسیله آنزیم های دهیدورژناز (Dehydrogenase) کاتالیز می شوند که کوآنزیم های این آنزیم ها NAD یا FAD می باشند.

پتانسیل استاندارد احیاء (E°, Standard reduction potential)

تمایل یک جفت اسید- باز مزدوج برای از دست دادن پروتون H^+ بوسیله ثابت اسیدی (K_a) آن مشخص می شود.

$$AH \rightleftharpoons A^- + H^+$$

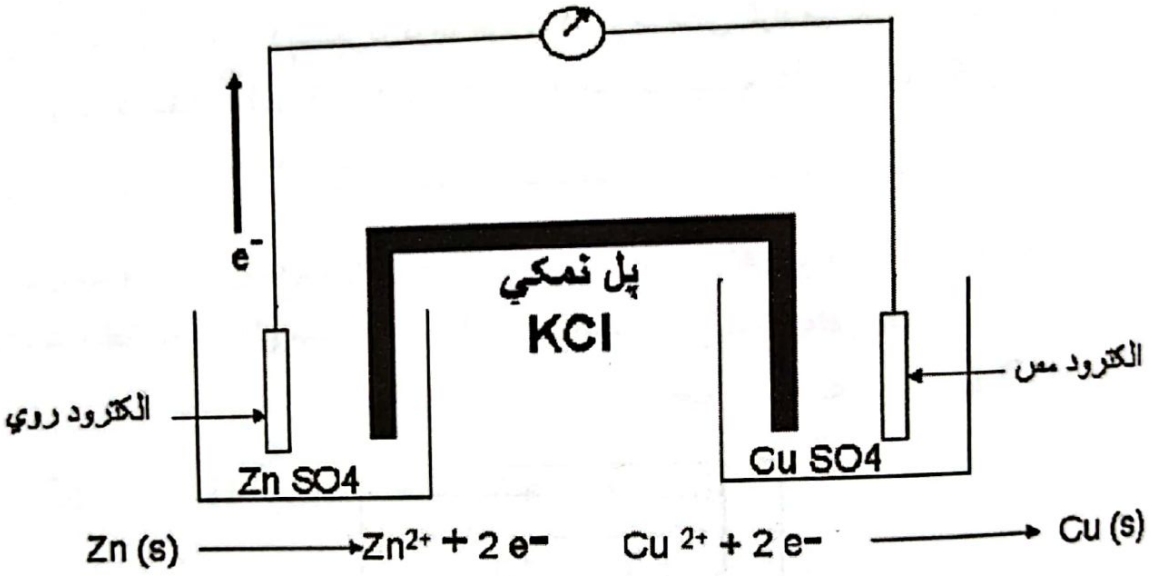
$$K_a = \frac{[A^-][H^+]}{[AH]}$$

بنابراین با در نظر گرفتن K_a می توان قدرت اسیدی اسیدهای مختلف را با یکدیگر مقایسه کرد. هر چقدر K_a یک اسید بزرگتر باشد قدرت از دست دادن پروتون آن بیشتر بوده و اسیدی قوی تر می باشد. به طریق مشابه تمایل یک جفت اکسید کننده - احیاء کننده مزدوج برای جذب الکترون را با معیاری به نام پتانسیل احیا (Reduction Potential) بیان می کنند.

CamScanner

حاشیه ۱-۱۱ پیل های الکتروشیمیایی

هر واکنش اکسیداسیون - احیا از دو نیمه واکنش اکسیداسیون و احیاء تشکیل می شود. هر کدام از نیمه واکنش های اکسیداسیون و احیا را می توان در دو ظرف جداگانه که از طریق سیمی به هم وصل شده باشند انجام داد و به این ترتیب یک پیل الکتروشیمیایی ساخت (شکل ۵-۱۱). به هر کدام از ظرف ها که واکنش اکسیداسیون و یا احیا در آن انجام می شود نیمه پیل گفته می شود. جریان انتقال الکترون از نیمه پیلی که واکنش اکسیداسیون در آن انجام می شود به نیمه پیلی که واکنش احیا در آن انجام می شود از طریق سیم برقرار می شود. اگر یک ولت متر در مدار قرار داده شود ولت متر جهت حرکت الکترون ها و نیز عددی را به واحد ولتاژ نشان خواهد داد که به این عدد اختلاف پتانسیل الکترودی گفته می شود. برای مثال پیل الکتروشیمیایی زیر را که واکنش اکسیداسیون - احیاء $Zn^{2+} + Cu \longrightarrow Zn^{2+} + Cu$ در آن انجام می شود در نظر بگیرید.



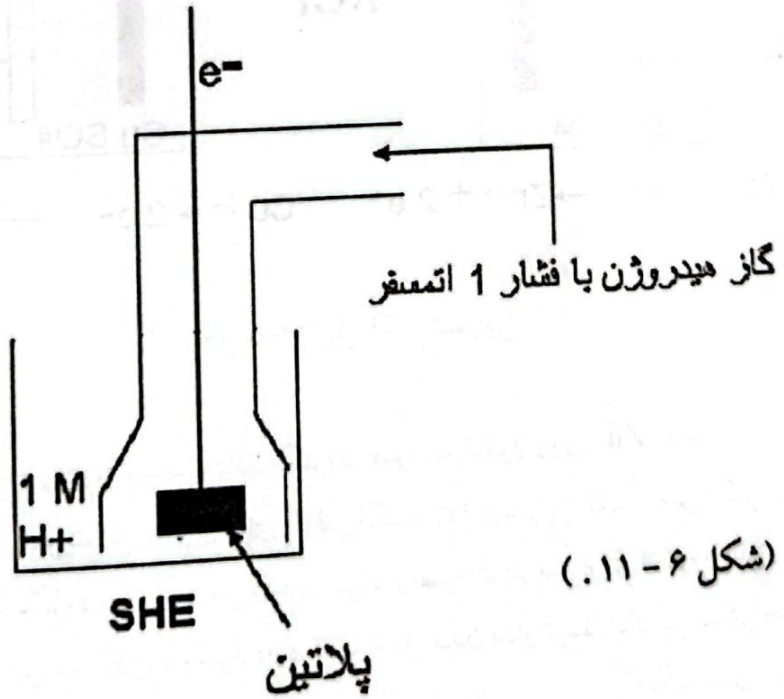
شکل ۵-۱۱ پیل الکتروشیمیایی

فلز روی جامد درالکترود روی با از دست دادن الکترون بصورت کاتیون روی Zn^{2+} به حالت محلول در می آید. در مقایسه با یون روی یون مس تمایل بیشتری برای گرفتن الکترون دارد بنابراین کاتیون مس الکترونی که درالکترود روی آزاد شده و به سمت الکترود مس روان می شود را گرفته و بصورت فلز مس روی الکترود مس رسوب می نماید. لذا یک اختلاف پتانسیل بین دو الکترود وجود دارد که با کامل شدن مدار توسط یک پل نمکی جریان الکترون ها برقرار می شود. پل نمکی شامل یک کاغذ فیلتر است که با محلول یون های دیگری که با واکنش اکسیداسیون - احیاء تداخل نمی کند آغشته شده است.

CamScanner

پل نمکی باعث می شود که تماس الکتریکی بین دو محلول برقرار شود بدون اینکه محلول دوظرف با هم مخلوط شوند. پل نمکی موجب حفظ توازن (خنثی شدن) بارهای الکتریکی مثبت و منفی دردو ظرف می شود و به این ترتیب باعث می شود که واکنش ادامه یابد. پل نمکی به همان اندازه که در نیمه پیل روی بار مثبت بوجود می آید به آن آنیون اضافه می کند و به نیمه پیل مس که بار مثبت آن کم می شود کاتیون می دهد. هر چه اختلاف دو الکترود از نظر میل به ازدست دادن الکترون و تشکیل یون بیشتر باشد اختلاف پتانسیل الکتریکی بین دو الکترود بیشتر خواهد بود. به منظور مقایسه پتانسیل الکترودی نیمه واکنش های مختلف، پتانسیل الکترودی (پتانسیل اکسیداسیون - احیا) تمام نیمه واکنش ها نسبت به پتانسیل الکترودی یک نیمه واکنش مرجع مقایسه می شوند. نیمه واکنش مرجع در یک نیمه پیل استاندارد هیدروژنی یا الکترود استاندارد هیدورژنی (Standard Hydrogen Electrode, SHE) انجام می پذیرد. پتانسیل الکترودی SHE طبق قرارداد صفر در نظر گرفته می شود.

نیمه پیل استاندارد هیدروژنی SHE (شکل ۶-۱۱) شامل محلول ۱ مولار پروتون (pH = 0) است که در حال تعادل با گاز هیدروژن با فشار ۱ اتمسفر در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد میباشد. در نظر داشته باشید که نیمه پیل هیدروژنی که غلظت H^+ در آن 10^{-7} مولار (pH=۷) باشد، نسبت به SHE پتانسیل الکترودی برابر ۰/۴۱ - (و نه صفر) را از خود نشان خواهد داد.



(شکل ۶ - ۱۱.)

برای تعیین پتانسیل الکترودی استاندارد هر نیمه واکنش در pH=7 ($E^{\circ\prime}$)، الکترود پلاتین را در محلولی قرار می دهند که در آن غلظت هر دو حالت اکسیده و احیاء شده آن ماده شیمیایی یک مولار بوده، pH آن محلول برابر ۷ و درجه حرارت آن ۲۵° سانتی گراد باشد. سپس این الکترود را به SHE مرتبط می نمایند. بدین ترتیب معین می شود که این نیمه واکنش از SHE الکترون می گیرد یا به آن الکترون می دهد. الکترودها بر اساس پتانسیل الکترودی خود($E^{\circ\prime}$) به SHE الکترون می دهند یا از آن الکترون می گیرند. جریان الکترون همیشه از الکترودی که پتانسیل منفی دارد به سمت الکترودی که پتانسیل نسبی مثبت تری دارد، برقرار می گردد.

مثلا" در مورد واکنش زیر

$$X^- + H^+ \longrightarrow X + \tfrac{1}{2} H_2$$

واکنش ها در هر نیمه پیل بصورت زیر انجام خواهد شد.

نیمه واکنش اکسیداسیون :

$$X^- \longrightarrow X + e^-$$

نیمه واکنش احیاء :

$$H^+ + e^- \longrightarrow \tfrac{1}{2} H_2$$

پتانسیل احیا را با استفاده از پیل های الکتروشیمیایی اندازه گیری نموده و با واحد ولت بیان می کنند (حاشیه ۱-۱۱). بنا به قرارداد پتانسیل احیا شدن یون H^+ به گاز هیدروژن در شرایط استاندارد برابر صفر در نظر گرفته می شود.

$$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2\,(g) \qquad E^\circ = 0 \ \text{volt}$$

منظور از شرایط استاندارد غلظت یک مولار یون H^+، فشار یک اتمسفر هیدروژن و درجه حرارت $25^\circ C$ می باشد. E° موادی را که نسبت به هیدروژن تمایل کمتری به الکترون دارند بنابه قرارداد با علامت منفی نشان می دهند. این مواد نسبت به هیدروژن احیا کننده می باشند. هر چه مقدار E° یک ماده منفی تر باشد آن ماده احیا کننده تر بوده، به موادی که دارای مقدار E° انها مثبت تر بوده الکترون داده و آنها را احیا می نماید. بر عکس E° موادی را که نسبت به هیدروژن تمایل بیشتری به الکترون دارند باعلامت مثبت نشان میدهند این مواد نسبت به هیدروژن اکسید کننده می باشند.

CamScanner

موادی که دارای E° بیشتری(مثبت تری) هستند از موادی که دارای مقدار مثبت E° کمتری هستند الکترون می گیرند. ماده احیاء کننده قوی مانند NADH دارای پتانسیل الکترودی منفی است ($E^{\circ\prime} = -0.32\ V$) و اکسید کننده های قوی مانند O_2 ($E^{\circ\prime} = +0.82\ V$) دارای پتانسیل الکترودی مثبت هستند. لازم به ذکر است که واکنش های بیوشیمیایی در شرایط سلولی که دارای pH حدود ۷ میباشد انجام می پذیرند. در این شرایط مقدار $E^{\circ\prime}$ مربوط به نیمه واکنش $2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2(g)$ صفر نبوده و برابر 0.42- می باشد. پتانسیل احیا در شرایط $pH = 7$ را پتانسیل احیا استاندارد (*standard reduction potential*) بیوشیمیایی نامیده و باعلامت $E^{\circ\prime}$ نمایش می دهند. جدول ۱ مقدار $E^{\circ\prime}$ نیمه واکنش هایی را که در بیوشیمی مطرح میباشند نمایش می دهد. به خاطر داشته باشید که نیمه واکنش هایی که در جدول ۱-۱۱ جایگاه بالاتری دارند (داری $E^{\circ\prime}$ منفی تر) تمایل دارند به نیمه واکنش هایی که در جایگاه پایین تر هستند (دارای $E^{\circ\prime}$ مثبت تر) الکترون بدهند. این تمایل انتقال الکترون از مواد احیا کننده به مواد اکسید کننده از آنجا ناشی می شود که از این انتقال الکترون انرژی آزاد شده و سطح انرژی سیستم کاهش یافته و سیستم به پایداری می رسد.

۷-۱۱ پتانسیل احیا شدن

(E°) برای هر زوج نمونه X/X^- ولتاژ مشاهده شده در شروع آزمایش است یعنی هنگامی که غلظت حالت اکسیده X^- وحالت احیاء(XH) و پروتون(H^+) یک مولارباشند. براساس قرارداد پتانسیل الکترودی هر نیمه واکنش برای حالت احیاء نوشته می شود. یعنی پتانسیل نوشته شده توان جذب الکترون توسط ماده شیمیایی نمونه را نشان می دهد. زیرا پتانسیل احیاء شدن زوج H^+/H_2 صفر ولت در نظرگرفته می شود و هر ماده ای که پتانسیل احیاء شدن آن مثبت نوشته شود تمایل بیشتری برای جذب الکترون نسبت به H_2 دارد، برعکس وقتی ماده ای دارای پتانسیل الکترودی منفی است تمایل کمتری نسبت به H_2 برای جذب الکترون دارد. بنابراین ماده ای که پتانسیل استاندارد الکترودی آن منفی تراست به ماده ای که پتانسیل استاندارد آن مثبت تر است الکترون می دهد. لذا $E^{\circ\prime}$ پتانسیل الکترودی مواد را در شرایط استاندارد نشان می دهد.

مقدار پتانسیل الکترودی در شرایط واقعی (غیراستاندارد) در سلول (E) را می توان با معادله نرنست (Nernst) محاسبه کرد:

$$E = E^{\circ\prime} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{اکسید کننده}]\ X}{[\text{احیا کننده}]\ XH}$$

E ولت

R ثابت گازها = 8/315 $\frac{\text{ژول}}{\text{مول . درجه}}$

T درجه حرارت بر حسب درجه کلوین ^{o}k

n تعداد الکترون های مبادله شده

F عدد فاراده برابر (J/V) کولن 96500

موقعی که غلظت حالت اکسیده و احیا ماده X مساوی باشند نسبت آنها برابر با ۱ و طبق معادله بالا $E = E^{\circ\prime}$ خواهد بود و این تعریف دیگری برای پتانسیل الکترودی استاندارد است، یعنی پتانسیل هر ماده موقعی که ۵۰ ٪ از آن به حالت اکسیده و ۵۰ ٪ به حالت احیا وجود داشته باشد. برای محاسبه ($\Delta E^{\circ\prime}$) مربوط به یک واکنش اکسیداسیون و احیا بین یک زوج اکسید کننده - احیا کننده دو راه وجود دارد:

۱- واکنش مورد نظر را به صورت دو نیمه واکنش نوشته و مقدار $E^{\circ\prime}$ هر نیمه واکنش را با استفاده از جدول تعیین نمـــائیـــــــــم. به یاد داشته باشید مقادیر $E^{\circ\prime}$ در جدول برای حالت احیا شدن نوشته شده، بنابراین $E^{\circ\prime}$ نیمه واکنش مربوط به ماده احیا کننده تغییر داده می شود، سپس $E^{\circ\prime}$ دو نیمه واکنش با هم جمع می شوند. به مثال زیر توجه کنید:

$$\text{Pyruvic Acid} + \text{NADH} + H^+ \rightarrow \text{Lactic acid} + NAD^+$$

$$\text{Pyruvic Acid} + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow \text{Lactic Acid} \qquad E^{\circ\prime} = -0.19\ V$$

$$NAD^+ + H^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH} \qquad E^{\circ\prime} = -0.32V$$

$$\Delta E^{\circ\prime} = -0.19 + 0.32 = +0.13\ V$$

۲- مقدار $E^{\circ\prime}$ ماده ای که اکسید می شود را از $E^{\circ\prime}$ ماده ای که احیاء می شود کم کنیم.

$$\Delta E^{\circ\prime} = -0.19 - (-0.32) = +0.13\ V$$

CamScanner

۸-۱۱ محاسبه تغییرات انرژی حاصل از انتقال الکترون ها

انتقال الکترون از ماده ای به ماده دیگر باعث آزاد شدن انرژی می شود. اگر هر کدام از نیمه واکنش های اکسیداسیون و احیا مربوط به یک واکنش در دو ظرف جداگانه که از طریق سیمی به هم وصل شده باشند(پیل الکترو شیمیایی) انجام شوند، در این صورت انرژی آزاد شده از انتقال الکترون از نیمه واکنش احیا کننده به نیمه واکنش اکسید کننده می تواند صرف روشن شدن لامپی شود که در مدار قرار داده شده است. الکترون ها همیشه در جهتی منتقل می شوند که انرژی آزاد سیستم کاهش یابد. هر چه اختلاف بین پتانسیل های احیا استاندارد $E^{\circ\prime}$ از نیمه واکنش احیا کننده و نیمه واکنش اکسید کننده بیشتر باشد مقدار انرژی آزاد شده نیز بیشتر می باشد. مقدار انرژی آزاد شده از رابطه زیر محاسبه می گردد:

$$\Delta G^{\circ\prime} = -nF\Delta E^{\circ\prime}$$

n تعداد الکترون های منتقل شده

F =23062 $\frac{\text{کالری}}{\text{ولت – مول}}$ ثابت فاراده برابر با

$\Delta E^{\circ\prime}$ اختلاف پتانسیل استاندارد بین دهنده الکترون و گیرنده الکترون

بنابراین انتقال الکترون از NADH $(E^{\circ\prime} = -0.32V)$ به O_2 $(E^{\circ\prime} = +0.82V)$ در زنجیره تنفسی موجود در میتوکندری که در قسمت بعد در مورد آن بحث خواهد شد باعث آزاد شدن مقدار بسیار زیادی انرژی می شود که این انرژی برای ساخته شدن ATP مورد استفاده قرار می گیرد. $\Delta E^{\circ\prime}$ و $\Delta G^{\circ\prime}$ برای اکسیداسیون NADH توسط O_2 به طریق زیر محاسبه می شوند.

1) $\frac{1}{2} O_2 + 2H^+ + 2e^- \longrightarrow H_2O$ $\quad E^{\circ\prime} = +0.82\ V$

2) $NAD^+ + H^+ + 2e^- \longrightarrow NADH + H^+$ $\quad E^{\circ\prime} = -0.32V$

چون در واکنش اکسیداسیون - احیاء بالا NADH اکسیده می شود بنابراین واکنش ۲ را در جهت اکسیداسیون می نویسیم.

3) $NADH \longrightarrow NAD^+ + H^+ + 2e^-$ $\quad E^{\circ\prime} = +0.32\ V$

CamScanner

حال نیمه واکنش های ۱و۳ را با هم جمع می کنیم.

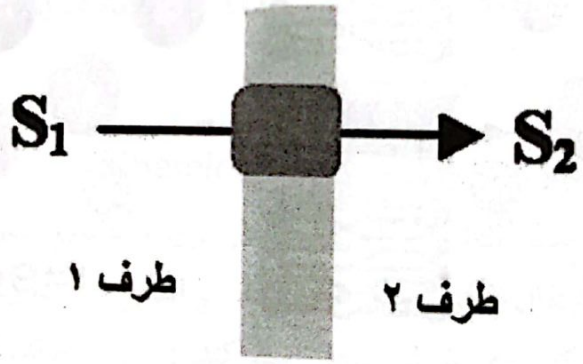
$$\tfrac{1}{2}O_2 + NADH + H^+ \longleftrightarrow H_2O + NAD^+ \quad \Delta E^{\circ\prime} = 0.82 + 0.32 = +1.14\ V$$

مقدار انرژی آزاد حاصل از واکنش اکسیداسیون و احیاء فوق در شرایط استاندارد برابر است با:

$$\Delta G^{\circ\prime} = -nF\,\Delta E^{\circ\prime} = -2 \times 23062 \times 1.14 = 52581 Cal/mol = 52.6\ Kcal/mol$$

۹-۱۱ محاسبه انرژی آزاد برای انتقال مواد در دو طرف غشاء

انتقال مولکول ها از ورای غشاء ممکن است همراه با سنتز ویا هیدرولیز ATP انجام شود.غشاهای بیولوژیک می توانند بطور انتخابی بعضی از یونها یا مولکول ها رابرخلاف شیب غلظت یا شیب الکتریکی منتقل کنند که این فرآیند توسط پروتئین های خاص غشایی و با مصرف انرژی انجام می شود. مولکولی مانند گلوکز که فاقد بار الکتریکی است را در نظر بگیرید. مقدار ΔG را برای انتقال چنین مولکولی از یک طرف غشاء که غلظت آن (S1) است به طرف دیگر غشاء که غلظت آن (S2) است (شکل ۷-۱۱) با استفاده از رابطه زیر می توان محاسبه کرد:



شکل۷-۱۱. انتقال مواد در دو طرف غشای بیولوژیک

$$\Delta G = RT \ln \frac{[S]_2}{[S]_1} = 2.3\ RT \log \frac{[S]_2}{[S]_1}$$

در رابطه فوق:

R ثابت گازها

T درجه حرارت بر حسب کلوین

S1 غلظت مولکول در طرفی که از آن مولکول برداشت می شود

S2 غلظت مولکول در طرفی که مولکول به آن اضافه می شود

CamScanner

بدیهی است که طبق فرمول اگر غلظت در طرف ۲ کمتر از غلظت مولکول در طرف ۱ باشد که حرکت مولکول در جهت شیب غلظت و انتشار می باشد $\Delta G < 0$ و فرایند انرژی زا می باشد و برعکس اگر غلظت در طرف ۲ بیشتر از غلظت همان مولکول در طرف ۱ باشد فرایند خود به خود قابل انجام نبوده و انرژی خواه است($\Delta G > 0$ ، انتقال فعال).

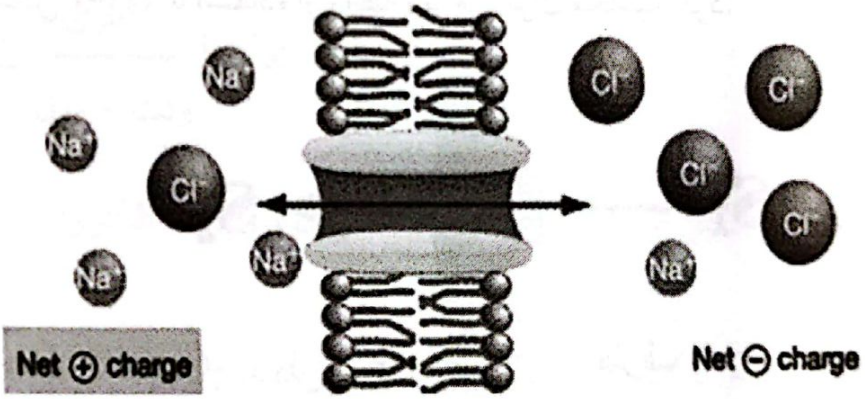
حال در نظر بگیرید که مولکول دارای بار الکتریکی(بصورت یون) نیز باشد. در این صورت پتانسیل الکتریکی در دو طرف غشاء نیز باید در نظر گرفته شود. به مجموع پتانسیل های ناشی از اختلاف غلظت و اختلاف بار الکتریکی پتانسیل الکتروشیمیایی گفته می شود. در این مورد انرژی آزاد از رابطه زیر محا سبه می شود.

$$\Delta G = R\,T \ln\left(\frac{[S]_2}{[S]_1}\right) + Z\,F\,\Delta V$$

Z بار الکتریکی مولکولی که منتقل می شود

ΔV اختلاف پتانسیل در دو طرف غشاء بر حسب ولت (V)

F عدد فاراده برابر با 23062 Cal/V.mol



شکل ۸-۱۱. انتقال یون های باردار در دو طرف غشاء بیولوژیک

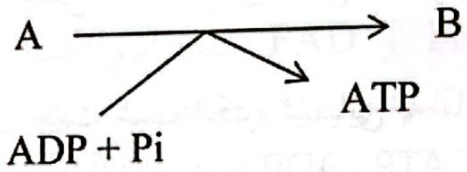
۱۰-۱۱ زنجیره انتقال الکترون و سنتز ATP در میتوکندری

در روند کاتابولیسم مواد درون سلول ها، الکترون ها از مولکول های سوبسترا به کوآنزیم های NAD یا FAD انتقال می یابند. شکل احیا شده این کوآنزیم ها ($NADH, FADH_2$) وارد یک مسیر بیوشیمیایی به نام زنجیره تنفسی (Respiratory chain) می شوند تا آن الکترون ها را به اکسیژن تنفسی منتقل نموده و اکسیژن را به آب تبدیل نمایند. زنجیره تنفسی یا زنجیره انتقال الکترون متشکل از تعدادی ترکیبات پروتئین و غیر پروتئین است که روی غشاء داخلی میتوکندری واقع شده اند (شکل ۱۴-۱۱).

CamScanner

غشاء داخلـــی میتوکندری علاوه برزنجیره انتقال الکترون دارای آنزیـــم سنتز کننده ATP (ATP synthase یا F_oF_1 – ATPase) نیز می باشد. در زنجیره تنفسی الکترونها از یک ناقل به ناقل دیگر و نهایتا" به O_2 منتقل شده و آنرا به H_2O احیا می نمایند. بخشی از انرژی حاصل از انتقال الکترون ها (حدود ۴۰٪) مصرف فسفریله کردن ADP و سنتز ATP می شود. بخش دیگر انـــرژی (حدود ۶۰٪) به صورت گرما آزاد می شود (ADP + Pi ⟶ ATP).

به این فرآینـــــد فسفریلاسیـــون اکسیـــداتیو Oxidative phosphorylation گفته می شود. طریق دیگری از فسفریلاسیون ADP و تبدیل آن به ATP که در سلول انجام می شود. استفاده از انرژی حاصل از تبدیل سوبسترا به محصول است. به این روش دوم سنتز ATP در سلول، فسفریلاسیون در سطـــح سوبستـــرا Substrate level phosphorylation گفته می شود.



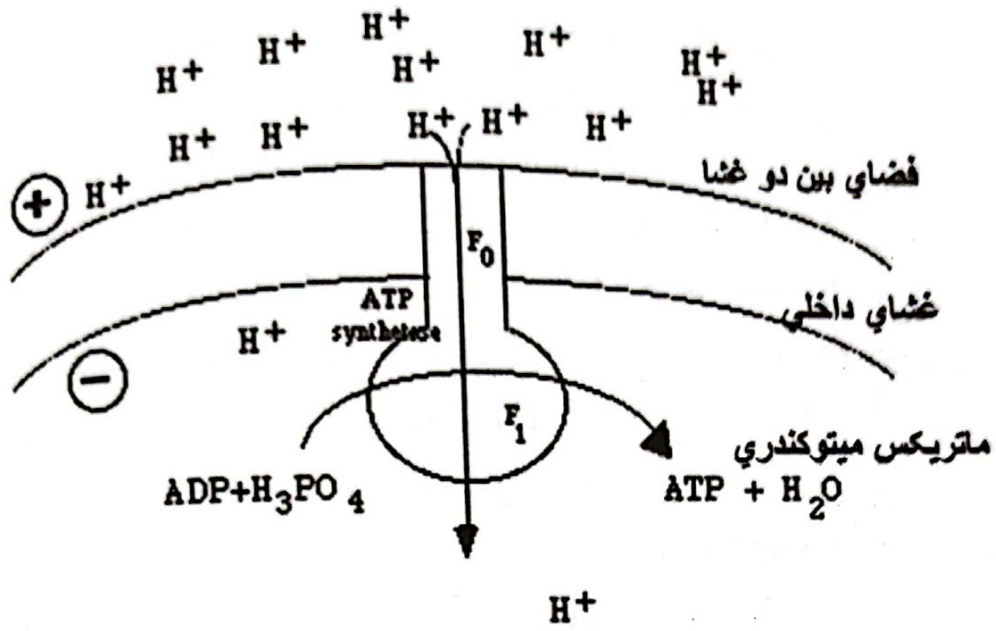
مثال:

1,3- Bisphosphoglycerate + ADP ⟶ 3-phosphoglycerate + ATP

۱۱-۱۱ تئوری شیمی - اسمزی (Chemiosmotic theory)

این تئوری در سال ۱۹۶۱ توسط Peter Mitchell در مورد مکانیسم سنتز ATP در میتوکندری با استفاده از انرژی حاصل از انتقال الکترون هاپیشنهاد شد. بر اساس این تئوری زنجیره تنفسی شامل ناقلین الکترونی متعدد است که روی غشاء داخلی میتوکندری قرار دارند. انتقال مرحله به مرحله الکترون از کوآنزیم های احیاء شده NADH یا $FADH_2$ به اکسیژن از طریق این ناقلین باعث پمپ نمودن پروتون از ماتریکس میتوکندری (غلظت کم H^+) به فضای بین دو غشاء(غلظت زیاد H^+) می شوند (شکل ۹-۱۱). به ازای هر ۲ الکترون که از NADH به اکسیژن انتقال می یابد در مجموع ۱۰ پروتون (H^+) از ماتریکس میتوکندری به فضای بین دو غشاء پمپ می شود در نتیجه یک شیب غلظت یون H^+ (و شیب pH) و در نتیجه اختلاف پتانسیل الکتریکی در دوطرف غشاء داخلی بوجود آمده و سمت خارج غشاء داخلی دارای pH اسیدی تر و بار مثبت خواهد شد. اصطلاحا یک شیب الکتروشیمیایی در دو سمت غشائ داخلی ایجاد می شود. اختلاف غلظت H^+ در دو طرف غشاء داخلی حدود ده برابر (1.4 واحد pH) می باشد. اختلاف پتانسیل در دو طرف غشاء داخلی نیز ۱۰۰ - ۲۰۰ میلی ولت است. سمت داخلی غشاء منفی است.

CamScanner



شکل ۹-۱۱. تئوری شیمی– اسمزی

بنابراین H^+ تمایل دارد در جهت شیب الکتروشیمیایی به ماتریکس برگردد. غشاء داخلی میتوکندری بر خلاف غشاء خارجی آن نسبت به H^+، ATP ، ADP و فسفات نفوذ ناپذیر است. برگشت پروتون تنها از خلال یک کمپلکس آنزیمی که در غشاء داخلی وجود دارد امکان پذیر است. این کمپلکس آنزیمی ATP Synthase نام دارد. این پروتئین انرژی آزاد ایجاد شده از حرکت H^+ در جهت شیب الکتروشیمیایی را صرف فسفریله شدن ADP و تبدیل آن به ATP در میتوکندری می نماید. بدین ترتیب بخش اعظم اکسیژن تنفسی در زنجیره تنفسی میتوکندری مصرف شده و به آب تبدیل می گردد. غشاء داخلی میتوکندری دارای چندین پروتئین انتقال دهنده Translocase یا Transporter است که یکی از این انتقال دهنده ها باعث تبادل ATP تولید شده در ماتریکس با ADP خارج میتوکندری می شود. ATP ساخته شده در ماتریکس توسط این انتقال دهنده به خارج منتقل شده و در مقابل ADP از خارج میتوکندری به ماتریکس آورده می شود. به این گونه انتقال دهنده ها Antiporter نیز گفته می شود.

CamScanner

۱۲-۱۱ اجزای زنجیره انتقال الکترون

چهار دسته از مولکول های بیوشیمیایی زنجیره انتقال الکترون را تشکیل می دهند.

۱- فلاوپروتئین ها Flavoproteins

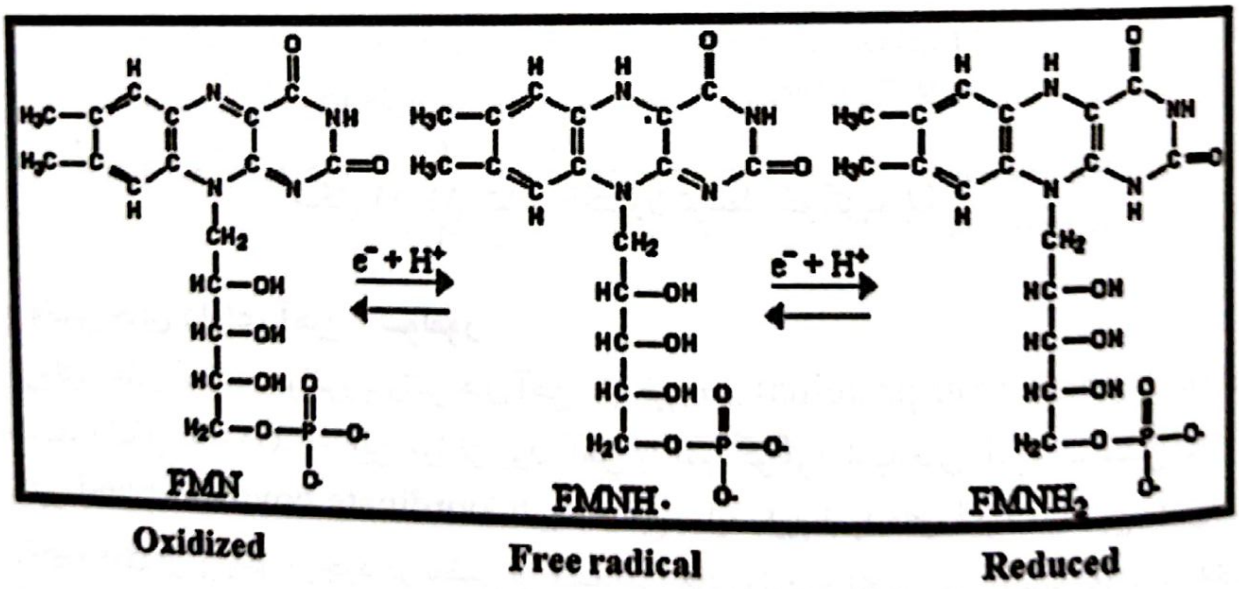
۲- کوآنزیم Q (Ubiquinone)

۳- پروتئین های آهن - سولفور Iron-Sulfur Proteins

۴- سیتوکروم ها Cytochromes

بعضی از مولکول های پروتئینی فوق از اجزاء مجموعه های پروتئینی بزرگی در غشاء میتوکندری هستند. این مجموعه ها را کمپلکس(complex) نامیده و شامل انواع I-IV می باشند. این مجموعه های پروتئینی به آسانی قابل جدا شدن از غشاء نیستند و قابلیت انتشار وجابجایی در غشاء را نیز ندارند.

فلاوپروتئین ها به پروتئین هایی گفته می شود که در ساختمان آنها FMN یا FAD وجود دارد. ناحیه فعال ملکول های FMN و FAD حلقه ایزوآلکسازین Isoalloxazine است (شکل ۱۰-۱۱) که بطور متناوب اکسید و احیا شده و بصورت قابل برگشت الکترون ها رامنتقل می نماید. FMN به یک مجموعه پروتئینی به نام کمپلکس I و FAD به مجموعه پروتئینی دیگری به نام کمپلکس II زنجیره تنفسی از طریق پیوندهای کووالانسی اتصال دارند.



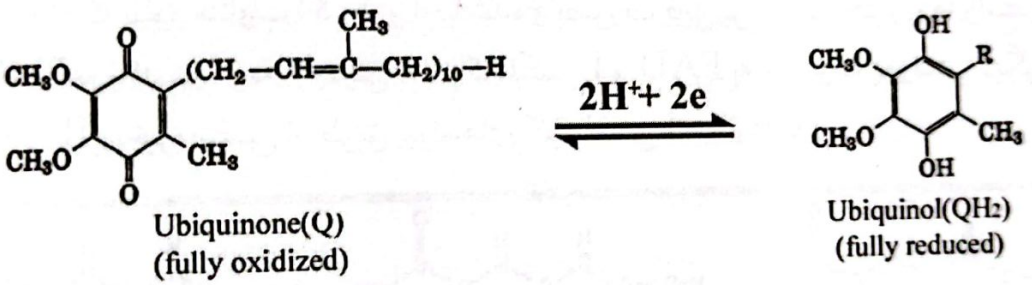
شکل ۱۰-۱۱. کوآنزیم FAD

آنزیم های NADH dehydrogenase و Succinate dehydrogenase در زمره فلاوپروتئین ها می باشند.

کوآنزیم Q یا هیدروسیتوکروم C

کوآنزیم Q یا یوبی کینون (Ubiquinone) از لحاظ ساختمان شیمیایی دارای حلقه آروماتیک benzoquinone بوده و یک دارای زنجیره جانبی ایزوپرنی غیر اشباع است (شکل ۱۱-۱۱). تعداد واحدهای ایزوپرن زنجیره جانبی کوآنزیم Q بصورت عدد پسوند نشان داده می شود مانند CoQ_6. در انسان کوآنزیم Q بصورت CoQ_{10} وجود دارد. بر خلاف FMN و FAD که از طریق پیوندهای کووالانسی به فلاو پروتئین های موجود در کمپلکس I و II متصل هستند، کوآنزیم Q در غشاء داخلی میتوکندری قابلیت انتشار داشته و با حرکت در غشاء، الکترون ها را از یک کمپلکس گرفته و به کمپلکس دیگرمنتقل می کند. نتیجه نهایی انتقال الکترون، در این قسمت از زنجیره انتقال الکترون، اکسیده شدن یک مولکول QH_2 و تبدیل آن به Q و احیا شدن دو مولکول سیتوکروم C است. بنابراین، معادله نهایی برای واکنش سیکل Q را بصورت زیر می توان نوشت:

$$QH_2 + 2\ Cyt\ c1\ (oxidized) + 2\ H^+ \rightarrow Q + 2\ Cyt\ c1\ (reduced) + 4\ H^+$$



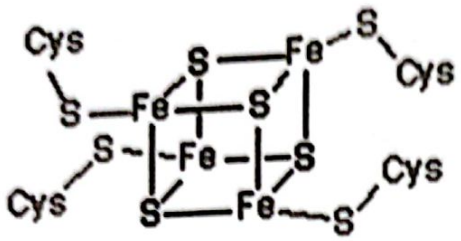
Ubiquinone(Q)
(fully oxidized)

Ubiquinol(QH_2)
(fully reduced)

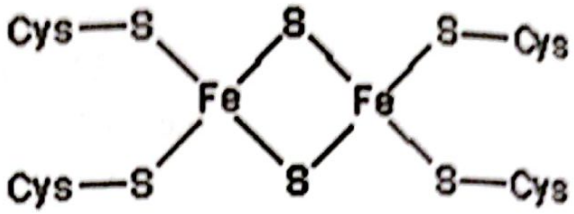
شکل ۱۱-۱۱. تبادل الکترون توسط کوآنزیم Q

پروتئین های دارای آهن - سولفور

پروتئین های آهن - سولفور پروتئین های آهن دار غیر هیم (non – heme iron proteins) هستند (شکل ۱۲-۱۱). در این مراکز یون آهن با اتم گوگرد اسیدهای آمینه سیستئین پیوند داتیو(Coordinate covalent bond) برقرار می نماید. این اسیدهای آمینه سیستئین متعلق به زنجیره های پل پپتیدی موجود در بعضی از کمپلکس های زنجیره تنفسی می باشند. تعداد اتم های آهن در مراکز Fe-S در پروتئین های مختلف متفاوت بوده و ممکن است ۱ و۲و ۴ و یا بیشترباشند. مراکز Fe-S در هر زمان یک الکترون را می توانند انتقال دهند. آهن متصل به این پروتئین ها با تغییر ظرفیت از فرم فرّو (Fe^{2+}) به فریک (Fe^{3+}) و برعکس باعث انتقال الکترون می شوند. بنابراین پروتئین های آهن - سولفورنیز جزئی از ساختمان بعضی کمپلکس های زنجیره تنفسی هستند و در انتقال الکترون شرکت می کنند.



Fe_4S_4

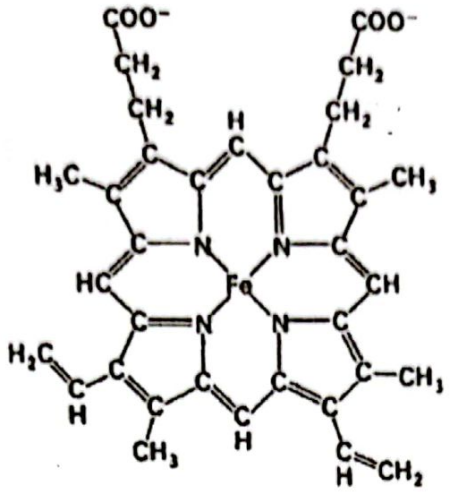


Fe_2S_2

شکل ۱۲-۱۱. مراکز آهن و سولفور

سیتوکروم ها (Cytochromes)

سیتوکروم ها پروتئین های انتقال دهنده الکترون هستند که در ساختمان خود مانند هموگلوبین و میوگلوبین دارای گروه پروستتیک هیم (heme) می باشند (شکل ۱۳-۱۱). اما بر خلاف هموگلوبین و میوگلوبین آهن موجود در هسته هیم سیتوکروم ها می تواند تغییر ظرفیت دهد (Fe^{2+}/Fe^{3+}) و به این ترتیب الکترون را منتقل نماید. به استثنای سیتوکروم C (Cyt c) بقیه سیتوکروم های موجود در زنجیره تنفسی بصورت پروتئین های انتگرال غشاء بوده و قابلیت جابجا شدن ندارند. سیتوکروم هایی مانند Cytb و $Cytaa_3$ از اجزاء کمپلکس های زنجیره تنفسی می باشند. سیتوکروم های اصلی در میتوکندری سیتوکروم های a و b و c هستند. این دسته بندی بر اساس آنالیز اسپکتروسکوپی (طیف جذبی) سیتوکروم ها می باشد. زیر طبقه های مختلف سیتوکروم ها یا بر اساس ترتیب تاریخی که شناسایی شده اند (b1 , b2 , b3,) و یا بر اساس ماکزیمم طول موج (نانومتر) طیف جذبی آنها (b562, b566) تقسیم بندی می شوند.



شکل ۱۳-۱۱. گروه هم

به استثنای NADH ، کوآنزیم Q ، سیتوکروم C و اکسیژن O_2 که آزادانه قابلیت انتشار در غشاء میتوکندری را دارند) سایر اجزای زنجیره تنفسی بصورت ۵ کمپلکس پروتئینی درغشاء داخلی میتوکندری قرارگرفته اند. چندین موتاسیون در ژن سیتوکروم b شناسایی شده اند که نتیجه این موتاسیون ها کاهش فعالیت کمپلکس سیتوکروم bcl زنجیره انتقال الکترون است. بیمارانی که این موتاسیون ها را دارند ضعیف بوده و قادر به انجام ورزش نمی باشند (Exercise Intolerance) (حاشیه ۳-۱۱).

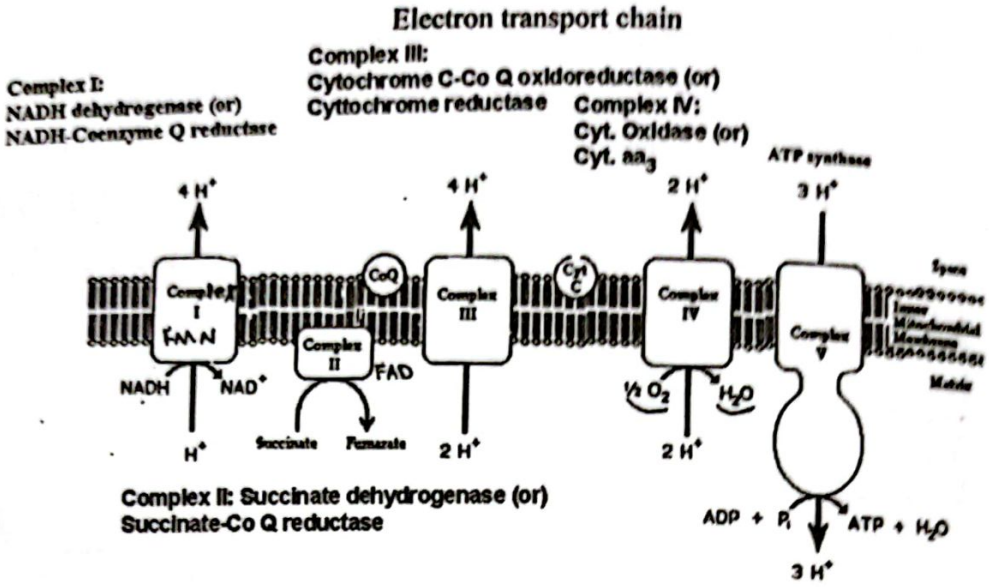
۱۳-۱۱ ترتیب انتقال الکترون در زنجیره تنفسی (شکل ۱۴-۱۱)

کمپلکس I(NADH dehydrogenase یا NADH-Coenzyme Q Reductase) الکترون ها را از NADH به کوآنزیم Q منتقل می کند.

کمپلکس II (Succinate-coenzyme Q Reductase) یا سوکسینات دهیدروژناز نیز الکترون ها را مستقیماً از FAD به کوآنزیم Q منتقل می کند.

کوآنزیم Q الکترون ها را ازکمپلکس I و II گرفته به کمپلکسIII (cytochrome reductase) منتقل می نماید. الکترون هـا از کـمپـلکس III به سیتوکروم C و از سیتوکروم C به کمپلکسIV (Cytochrome aa_3 یا cytochrome oxidase) منتقل می گردند. سیتوکروم اکسیداز(aa_3) تنها عضو زنجیره است که در شرایط فیزیولوژیک با اکسیژن واکنش داده، و آن را احیا و به آب تبدیل می نماید. سیتوکروم اکسیداز علاوه بر آهن دارای ۲ کاتیون مس Cu است که با تغییر ظرفیت (Cu^{1+}/Cu^{2+}) اکسیده و احیا می شود.

CamScanner



شکل ۱۴-۱۱. زنجیره تنفسی (انتقال الکترون)

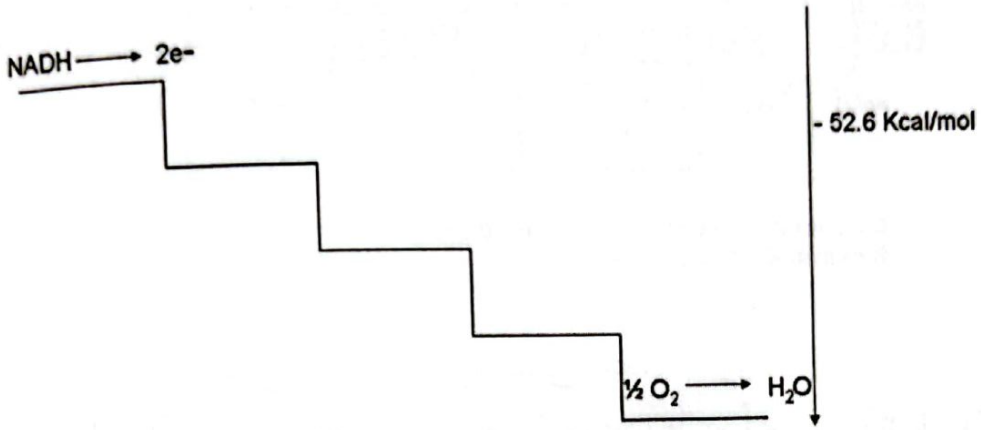
بنابراین ترتیب انتقال الکترون در زنجیره تنفسی میتوکندری به طریق زیر است (شکل ۱۵ - ۱۱):

$$NADH \xrightarrow{e} Q \rightarrow \text{cytochrome } b \rightarrow \text{cytochrome } c_1 \rightarrow \text{cytochrome } c \rightarrow \text{cytochrome } a \rightarrow \text{cytochrome } a_3 \rightarrow O_2$$

شکل ۱۵-۱۱.نحوه انتقال الکترون در زنجیره تنفسی

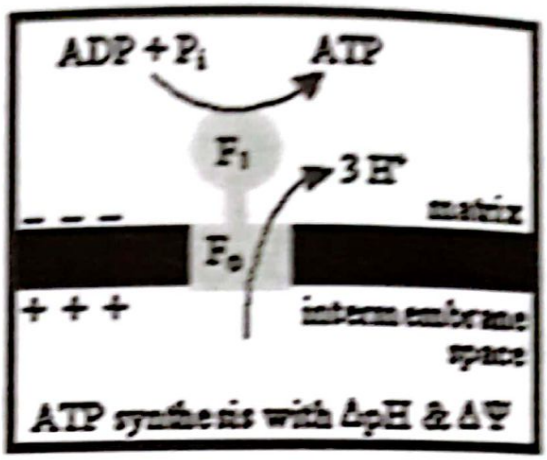
ترتیب قرارگیری اجزای زنجیره تنفسی بصورتی است که پتانسیل احیا استاندارد $E^{\circ\prime}$ هر یک بیشتر (مثبت تر) از قبلی است. انتقال الکترون از یک جزء به جزء دیگر همراه با کاهش سطح انرژی آزاد سیستم و در نتیجه تولید انرژی است. بیشتر انرژی آزاد ایجاد شده از انتقال الکترون، صرف پمپ نمودن پروتون ها به خارج از ماتریکس میتوکندری و سنتز ATP (فسفریلاسیون اکسیداتیو) استفاده می شود و بقیه بصورت حرارت دفع می شود. لازم به ذکر است که کمپلکس های I،III و IV به عنوان پمپ پروتون نیز عمل می نمایند. به نظر می رسد که بخشی از انرژی آزاد شده از انتقال الکترون توسط این پروتئین ها صرف تغییر آرایش فضایی آنها شده، به نحوی که این پروتئین ها قادر به انتقال یون های H^+ از ماتریکس میتوکندری به فضای خـــــارج غشاء داخلی میتوکندری می گردند. به ازای هر زوج الکترون که به O_2 منتقل می شود چهار پروتون توسط کمپلکس I و چهار پروتون توسط کمپلکس III و دو پروتون توسط کمپلکس IV به خارج پمپ می شوند. ۹۵٪ اکسیژن مصرف شده توسط انسان اکسیژنی است که توسط سیتوکروم اکسیداز (aa_3) استفاده می شود. روزانه حدود ۳۰۰ میلی لیتر آب از احیاء شدن O_2 در میتوکندری تولید می شود که به آن آب متابولیکی گفته می شود. ازهر مول NADH که از طریق کمپلکس I به زنجیره تنفسی الکترون می دهد ۲/۵ تا ۳ مول ATP از ADP (و یا ۲/۵ تا ۳ پیوند پر انرژی فسفات دار) تولید می شود.

از هر مول $FADH_2$ که الکترون های آن از کمپلکس I نمی گذرد و مستقیماً به کمپلکس II داده می شود ۱/۵ تا ۲ مول ATP از ADP تولید می شود. به تعداد پیوندهای پر انرژی فسفات دار (تشکیل شده به ازای هر اتم اکسیژن مصرف شده (احیا شده) در زنجیره تنفسی نسبت P به O (P/O ratio) گفته می شود. بنابراین نسبت P/O برای اکسیداسیون $FADH_2$ برابر با ۲ – ۱/۵ و برای NADH برابر با ۳– ۲/۵ می باشد.

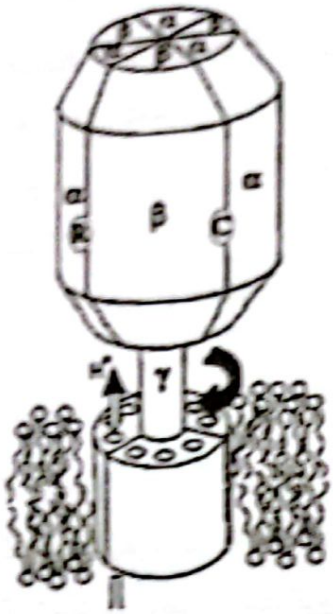


شکل ۱۶–۱۱. انرژی آزاد شده در نتیجه انتقال الکترون از کوآنزیم احیا شده NADH به اکسیژن در زنجیره تنفسی

در شرایط استاندارد برای ساخته شدن ۳ مول ATP مقدار ۹/ ۲۱ کیلوکالری انرژی لازم است (۹/ ۲۱ = ۳/ ۷ × ۳). از اکسیداسیون NADH توسط O_2 مقدار ۶/ ۵۲ کیلوکالری انرژی آزاد می شود (شکل ۱۶ – ۱۱). این مقدار انرژی بیش از ۲ برابر مقدار مورد نیاز برای سنتز ۳ مول ATP از ADP است. در طول زنجیره تنفسی در ۳ نقطه مقدار انرژی آزاد شده حاصل از انتقال الکترون بسیار زیاد و بیشتر از حدی است که برای سنتز ATP مورد نیاز است. به این محل ها در زنجیره تنفسی جایگاه ذخیره انرژی (Energy conserving sites) گفته می شود. در این محل ها انرژی برای سنتز ATP در زنجیره تنفسی فراهم می شود. ۳ محل ذخیره انرژی در حقیقت محل های پمپ پروتون هستند. همانطور که قبلاً توضیح داده شد پمپ پروتون باعث ایجاد شیب H^+ می شود و برگشت پروتون به ماتریکس میتوکندری تنها از طریق آنزیم سنتز کننده ATP (F_oF_1 ATPase) میسر می باشد (شکل ۱۷–۱۱). F_o یک پرتئین غشایی انتگرال در غشاء داخلی میتوکندری است. O معرف عدد صفر نیست بلکه نشان دهنده حساس بودن این جزء آنزیم سنتز کننده ATP به آنتی بیوتیک اولیگومایسین (Oligomycin) است. جزء F_o دارای کانالی است که H^+ می تواند از آن عبور کند و به ماتریکس وارد شود.



شکل ۱۷-۱۱ الف- میتوکندری و پمپ پروتون



ب- آنزیم ATP Synthas

در صورت علم وجود شیب کافی پروتون آنزیم ATP ساز بجای ستز ATP آن را هیدرولیز کرده و می شکند بنابراین اصطلاح ATPase نیز برای آن بکار برده می شود. جزء F_1 بصورت یک دگمه برجسته چسبیده به جزء F_o بطرف ماتریکس میتوکندری قرار دارد. F_1 را می توان از F_o جدا نمود که در این حالت F_1 دارای خاصیت ATPase یعنی هیدرولیز ATP است.

حاشیه ۳-۱۱ عدم توانایی در انجام ورزش در بیمارانی که موتاسیون در ژن سیتوکروم آنها روی می دهد.

چندین موتاسیون در ژن سیتوکروم b شناسایی شده اند که نتیجه این موتاسیون ها کاهش فعالیت کمپلکس سیتوکروم bcl زنجیره انتقال الکترون است. بیمارانی که این موتاسیون ها را دارند ضعیف بوده و قادر به انجام ورزش نمی باشند (Exercise Intolerance). موتاسیون هایی که در سیتوکروم b شناسایی شده اند شامل جایگزینی اسید آمینه آسپارتیک اسید به جای گلایسین در موقعیت ۲۹۰، جایگزینی گلوتامیک اسید به جای گلایسین ۳۳۹ و سرین به جای گلایسین در موقعیت ۳۴ می باشند. همچنین بیماران قلبی شناسایی شده اند که عارضه هیپرتروفیک کاردیومیوپاتی (Hypertrophic cardiomyopathy) آنها در نتیجه جایگزینی گلوتامیک اسید به جای گلایسین درموقعیت ۱۶۶ سیتوکروم b ایجاد شده است. موتاسیون و جایگزینی گلایسین به جای آسپارتات یا گلوتامات در محلی از سیتوکروم b انجام شده که در اکسیداسیون Ubiquinol (Qo-site) نقش دارد. اما موتاسیون گلایسین به سرین در محلی صورت گرفته که با احیا شدن ubiquinone مرتبط است. در تمامی این موتاسیون ها باز آلی گوانین در DNA میتوکندری به آدنین تبدیل می شود که احتمالاً بدلیل آسیب اکسیداتیو می باشد. جهش های ایجاد کدون خاتمه (Nonsense mutation) وهمچنین پدیده حذف (Deletion) در سیتوکروم b اغلب باعث عوارض عدم توانایی در انجام ورزش، افزایش میزان اسید لاکتیک خون (اسیدوز لاکتیک) در شرایط استراحت و افزایش میوگلوبین در ادرار (myoglobinuria) می شود. بر خلاف اکثر موارد جهش های DNA میتوکندریایی که وراثتی است موتاسیون سیتوکروم b تنها در سلول های عضلانی دیده می شود که به نظر می آید جهش بصورت سوماتیک در هنگام تمایز سلول های بنیادی (stem cell) لایه های جنینی در هنگام تشکیل عضله اتفاق می افتد.

CamScanner

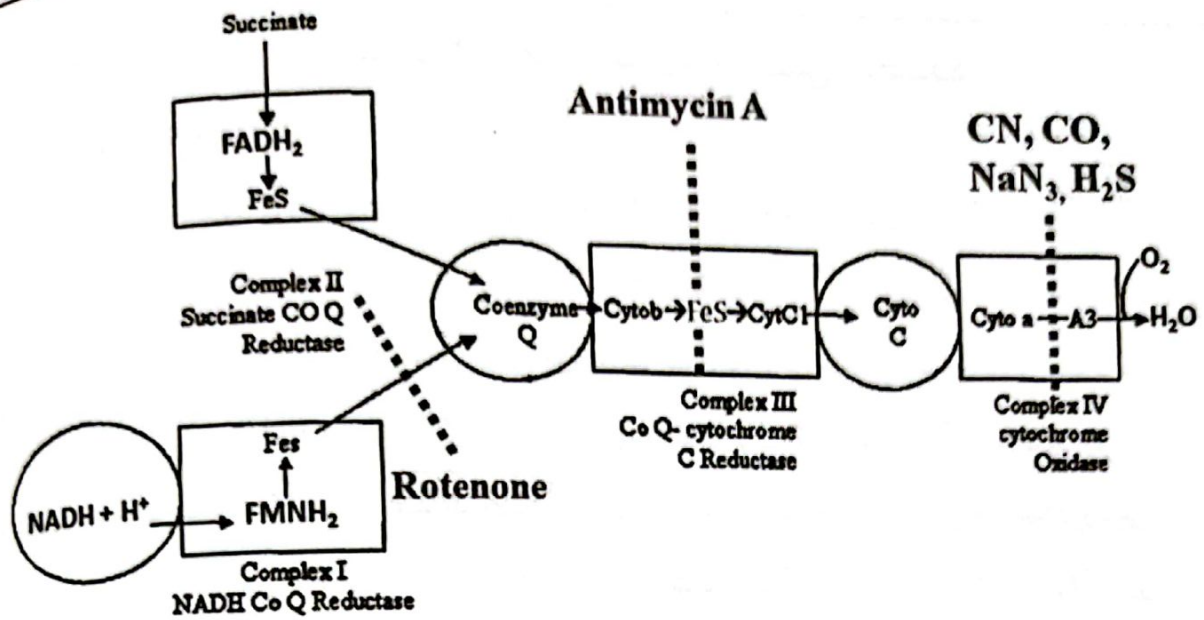
حاشیه ٤-١١ آسیب ایسکمی- خون رسانی مجدد به بافت ها (Ischemia Reperfusion Injury)

انسداد عروقی اصلی کرونر در طی سکته قلبی موجب ایسکمی و کاهش اکسیژن رسانی به قلب می شود. در نتیجه سرعت زنجیره انتقال الکترون میتوکندری کاهش یافته و مقدار ATP و کراتین فسفات درون سلول کم می شود. برای جبران کاهش ATP گلیکولیز بی هوازی در سلول فعال می شود. در نتیجه مقدار اسید لاکتیک در سیتوزول افزایش یافته و pH درون سلولی کم می شود. به علت مصرف گلوکز، مقدار گلیکوژن نیز سریعاً کاهش میابد. با وجود اینگونه عوارض مستقیم ایسکمی، به نظر می آید در هنگام خون رسانی و اکسیژن رسانی مجدد آسیب بافتی شدیدتر می شود. رادیکال های آزاد اکسیژن شامل رادیکال آزاد سوپر اکسید ($O_2^{\cdot}$)، پراکسید (O-O-)، رادیکال پراکسی نیتریت (ONOO) که از نیتریک اکسید (NO) و سوپر اکسید در هنگام خون رسانی حاد در قلب دچار ایسکمی بوجود می آید می باشند. پراکسی نیتریت مانع از بهبود عمل مکانیکی قلب های دچار ایسکمی می شود و در مقابل آنتی اکسیدان هایی مانند گلوتاتیون که رادیکال های پراکسی نیتریت را خنثی می کنند موجب محافظت در مقابل آسیب می شوند. خون رسانی مجدد قلب ایسکمی ممکن است موجب فعال شدن لوکوسیت ها که باعث پروسه التهاب می شوند شده که این خود آسیب بافتی را بیشتر می کند. ایسکمی و خون رسانی مجدد قلبی مشکل کلینیکی مرتبط با ترومبولیز، انجیوپلاستی و جراحی پیوند عروق (bypass) می باشد. آسیب هایی که در نتیجه ایسکمی و خون رسانی مجدد به عضله قلب وارد می شود شامل عدم انقباض قلبی - آریتمی و آسیب غیر قابل برگشت به سلولهای قلبی میوسیت ها می باشد. نظریه نقش رادیکال های اکسیژن در بروز آسیب ایسکمی- خون رسانی مجدد با مشاهده اثر حفاظتی آنتی اکسیدان ها در مقابل آسیب حاصل از خونرسانی مجدد به بافت ایسکمی تقویت می شود. هم اکنون تحقیقات زیادی در زمینه حفاظت از بافت های دچار ایسکمی هنگام خون رسانی مجدد در زمان عمل جراحی در دست انجام است.

١٤-١١ منع کننده های زنجیره تنفسی (Inhibitors) و جدا کننده های (uncouplers) فسفریلاسیون اکسیداتیو

با استفاده از منع کننده های اختصاصی می توان از جریان انتقال الکترون در طول زنجیره تنفسی جلوگیری کرد. این ترکیبات بعنوان سموم زنجیره انتقال الکترون از مصرف اکسیژن و همچنین از سنتز ATP در میتوکندری جلوگیری کرده و باعث مرگ موجود می شوند. به چند نمونه از این مواد در اینجا اشاره می شود(شکل ۱۸ - ۱۱).

CamScanner



شکل ۱۸ - ۱۱ . محل اثر منع کننده های زنجیره تنفسی در زنجیره انتقال الکترون میتوکندری

روتینون (Rotenone) : روتینون سمی است که از ریشه بعضی گیاهان استوایی گرفته می شود واز آن در حشره کشها استفاده می گردد. این سم از انتقال الکترون از مراکز آهن- سولفوردر کمپلکس I به کوآنزیم Q جلوگیری می کند.

آنتی مایسین A (Antimycin A) : آنتی بیوتیکی است که بوسیله قارچ استرپتومایسس تولید می شود. استرپتومایسس جریان الکترون را در محل کمپلکس III متوقف می کند.

چندین منع کننده وجود دارند که به آهن موجود در هیم در کمپلکس IV (سیتوکروم اکسیداز) متصل می شوند. سم سیانید (CN^-) ویون آزید (N_3^- , azide) به فرم فریک آهن متصل می شوند. منواکسید کربن CO به فرم فرو Fe^{2+} متصل می شود. سولفید هیدروژن نیز یک منع کننده قوی سیتوکروم اکسیداز است.

۱۱-۱۵ جدا کننده ها (Uncouplers) :

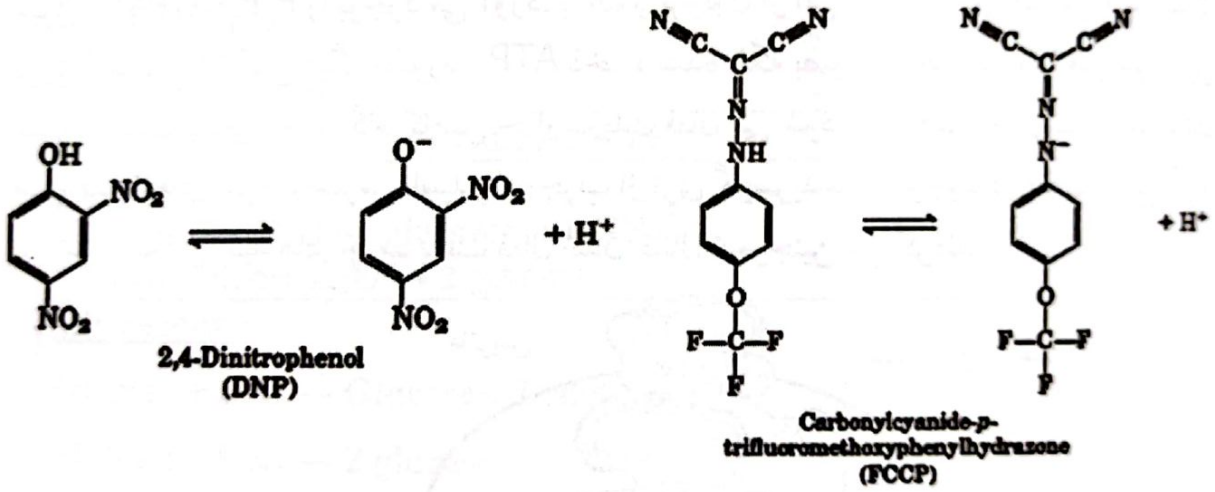
این ترکیبات بدون ایجاد اختلال در روند انتقال الکترون در زنجیره تنفسی از سنتز ATP در میتوکندری جلوگیری می کنند. بیشتر جدا کننده ها باعث اختلال در شیب پروتون در دو طرف غشاء داخلی میتوکندری می شوند. در نتیجه باعث قطع رابطه و جدا شدن روند انتقال الکترون از پدیده سنتز ATP توسط آنزیم سنتز کننده ATP در میتوکندری می شوند.

CamScanner

دی نیتروفنل و پنتا کلروفنل و FCCP اسیدهای آلی قابل انتشار و محلول در فازچربی غشاء میتوکندری هستند. این ترکیبات با عبور از غشاء داخلی میتوکندری شیب پروتون در دوسمت آن را از بین می برند. بدون وجود شیب پروتون سنتز ATP انجام نمی گیرد در حالیکه در حضوراین مواد جریان انتقال الکترون متوقف نمی شود(شکل ۱۹ - ۱۱).

والینومایسین Valinomycin آنتی بیوتیکی است که غشاء داخلی میتوکندری را نسبت به یون K^+ نفوذ پذیر می کند در نتیجه پتانسیل الکتریکی غشاء از بین رفته و لذا در انتقال پروتون به داخل میتوکندری و سنتز ATP اختلال ایجاد می کند.

آرسنات Arsenate توسط پروتئین های انتقال دهنده فسفات وارد میتوکندری می شود. در میتوکندری آرسنات با فسفات برای سنتز ATP رقابت می کند.ADP- آرسنات(ADP-As) حاصله که آنالوگ ATP (ADP-P) است ناپایدار بوده، هیدرولیز شده و به ADP و آرسنات تجزیه می شود.



شکل ۱۹ - ۱۱ . ساختمان جداکننده های زنجیره تنفسی FCCP و DNP

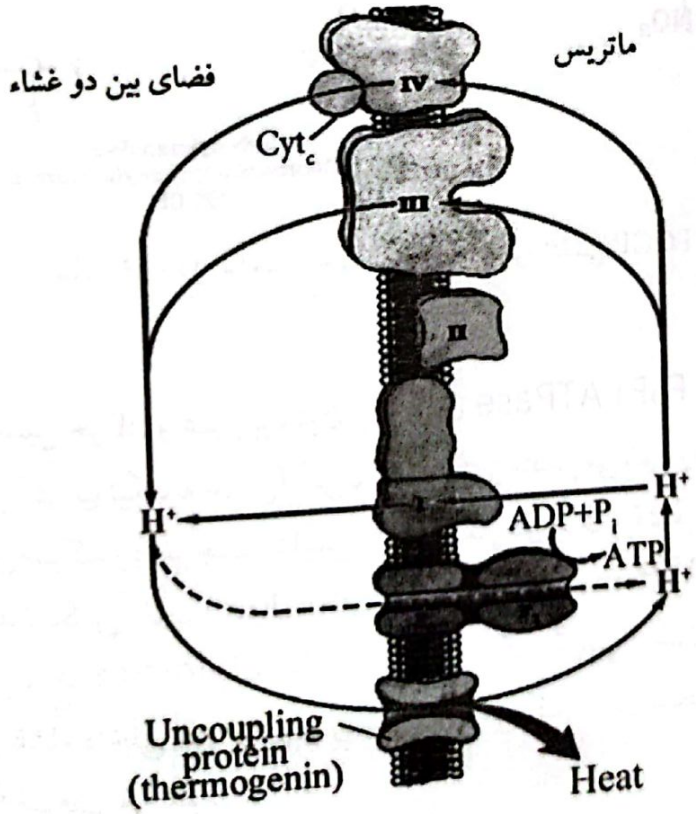
اولیگومایسین جریان و عبور پروتون را از میان FoF1 ATPase متوقف می کند. همانطورکه قبلا" اشاره شد این آنتی بیوتیک به جزء F_o آنزیم ATP سنتاز متصل می شود و با مسدود نمودن راه برگشت پروتون به ماتریکس میتوکندری موجب افزایش شیب H^+ در دو طرف غشاء می شود. ولی بدلیل عدم برگشت پروتون به ماتریکس زنجیره انتقال الکترون مختل شده و سنتز ATP در میتوکندری منع می شود.

آتراکتیلوساید Atractyloside ترکیب دیگر گیاهی است که آنتی پورتر ATP/ADP موجود در غشاء داخلی میتوکندری را غیر فعال می کند و در نتیجه بدلیل نبود ADP در ماتریکس سنتز ATP متوقف می شود.

CamScanner

۱۶-۱۱ کنترل فسفریلاسیون اکسیداتیو

سرعت مصرف اکسیژن در میتوکندری بطور دقیق کنترل می شود. سرعت تنفس در میتوکندری عموما" با میزان ADP موجود به عنوان دریافت کننده فسفات تنظیم می شود. نوزاد بیشتر پستانداران از جمله انسان دارای نوعی بافت چربی بنام چربی قهوه ای (Brown fat) هستند. در این بافت اکسیداسیون ترکیبات آلی نه برای تولید ATP بلکه برای تولید حرارت به منظور گرم نگه داشتن بدن نوزاد انجام می شود. قهوه ای بودن این نوع بافت چربی بد لیل وجود تعداد زیاد میتوکندری است که حاوی مقدار زیادی سیتوکروم دارای گروه هیم رنگی است. میتوکندری های موجود در این بافت های چربی قهوه ای دارای پروتئین اختصاصی در غشاء داخلی خود هستند که به آن ترموجنین(Thermogenine) گفته می شود(شکل ۲۰ - ۱۱). ترموجنین یک جدا کننده طبیعی (natural uncoupler) فسفریلاسیون اکسیداتیو است. این پروتئین بصورت دایمری از پلی پپتیدی ۳۳ کیلو دالتونی است که مسیر دیگر برای برگشت پروتون به ماتریکس میتوکندری به غیراز F_oF_1-ATPase را بوجود می آورد. با عبور پروتون از این مسیر انرژی حاصل از برگشت پروتون ها به ماتریکس دیگر بصورت ATP ذخیره نشده بلکه بصورت حرارت رها می شود. این مسیر برگشت پروتون ها هنگام کاهش حرارت بدن فعال می شود. با کاهش حرارت و رها شدن هورمون های شرایط استرس، اسید های چرب از تری گلیسریدهای موجود در بافت چربی آزاد می شوند که این اسید های چرب باعث فعال شدن کانال ترموجنین می گردند.



شکل ۲۰ - ۱۱ . عملکرد ترموجنین در میتوکندری چربی قهوه ای

۱۷-۱۱ مسائل انرژی حیاتی و حل آنها:

با توجه به اطلاعات موجود در جدول زیر مسائل مربوط را حل کنید.

تغییرات انرژی آزاد استاندارد بعضی از واکنش های شیمیایی در pH= 7 و درجه حرارت 25 درجه سانتی گراد

Reaction	$\Delta G^{o\prime}$ (Kcal/Mol)
Acid anhydrides Hydrolysis acetic anhydride $+H_2O$ $\rightarrow$ 2 acetate	-21.8
Pyrophosphate + $H_2O \rightarrow 2P_i$	- 8.0
Esters Ethylacetate + $H_2O \rightarrow$ Ethanol + Acetate	- 4.7
Glucose 6 – P + $H_2O \rightarrow$ Glucose + Pi	-3.3
Amides Glutamine+ $H_2O \rightarrow$ glutamate + NH_4^+ Glycylglycine + $H_2O \rightarrow$ 2 glycine	 -3.4 -2.2
Glycosides Sucrose + $H_2O \rightarrow$ Glucose + Fructose Maltose + $H_2O \rightarrow$ 2 glucose	 - 7.0 " "
Rearrangements Glucose-1-P $\leftrightarrow$ Glu-6-P Fructose-6-P $\leftrightarrow$ Glucose-6-P	 -1.7 - 0.4
Elimination Malate $\leftrightarrow$ Fumarate + H_2O	 +0.75
Oxidation Glucose + 6 $O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ Palmitic acid + 23 $O_2 \rightarrow 16CO_2 + 16H_2O$	 -686 -2448

CamScanner

✓ مسئله۱ : ثابت تعادل هر کدام از واکنش های زیررا در pH = ۷ و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد حساب کنید.

a) Glucose-6-P + H_2O → glucose + Pi جواب: Keq = 263

b) Sucrose + H_2O ↔ glucose + fructose جواب: Keq = 138038.4

c) Malate ↔ Fumarate + H_2O جواب: Keq = 0.282

✓ ۲- تغییرات انرژی آزاد استاندارد برای واکنش های زیر را از روی ثابت های تعادل داده شده در درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد و pH = ۷ محاسبه کنید.

a) Glutamate + Oxalacetate ↔ Aspartate + α – Keto – glutarate

K'eq = 6.8 جواب: $\Delta G^{o'}$ = - 1.13 Kcal/mol

b) Isopropanol + NAD^+ → acetone + NADH + H^+

Keq = 7.2 x 10^{-9} M جواب: $\Delta G^{o'}$ = +11.1 Kcal/mol

c) Malate + NAD^+ ↔ Oxalacetate + NADH + H^+

Keq = 7.5 x 10^{-13}M جواب: $\Delta G^{o'}$ = +16.51 Kcal/mol

✓ ۳- گلوکز-۱ - فسفات در طی دو واکنش متوالی زیر به فروکتوز - ۶ - فسفات تبدیل می شود.

G-1-P ↔ G-6-P

G-6-P ↔ F – 6 – P

با استفاده از مقادیر $\Delta G^{o'}$ در جدول، ثابت تعادل برای واکنش زیر محاسبه کنید.

G-1-P↔F-6-P جواب : K'eq = 9.51

✓ ۴- مقادیر $\Delta G^{o'}$ (در درجه حرارت ۲۵ سانتی گراد و pH = ۷) را برای هیدرولیز ATP به ADP و فسفات با فرض اینکه غلظت های مولی ATP و ADP مساوی و غلظت فسفات مقادیر زیر می باشد، محاسبه کنید.(مقدار $\Delta G^{o'}$ برای هیدرولیز ATP برابر ۷/۳ -کیلوکالری در pH = ۷ و ۲۵ درجه سانتی گراد می باشد).

A) 1.0 M Ans: ΔG = - 7.3 Kcal/mol

B) 0.1 M Ans: ΔG = - 8.7 Kcal/mol

C) 0.01 M Ans: ΔG = - 10.023 KcCal/mol

D) 1.0 mM Ans: ΔG = - 11.4 Kcal/mol

CamScanner

۵- تغییرات انرژی آزاد برای هیدرولیز ATP به ADP و فسفات در سلول عضلانی در حال استراحت که مقدار غلظت ATP در آن ۵ میلی مولار و ADP برابر ۰/۵ میلی مولار و فسفات ۵ میلی مولار، pH= ۶ و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد است محاسبه کنید. (مقدار $\Delta G^{o'}$ هیدرولیز ATP در pH = ۷ و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد ۷/۳ - کیلو کالری بر مول می باشد).

جواب : $\Delta G' = -11.8$ KCal/mol

✓ ۶- با توجه به مقادیر $\Delta G^{o'}$ هیدرولیز ترکیبات فسفات دار پر انرژی داده شده در جدول، مقدار $\Delta G^{o'}$ را برای واکنش های زیر را محاسبه کنید:

a) Phosphocreatine + ADP ⟷ Creatine + ATP

جواب : $\Delta G^{o'} = -3$ Kcal/mol

b) ATP + Fructose ⟷ ADP + F-6-P

جواب : $\Delta G^{o'} = -3.5$ KCal/mol

✓ ۷- مقدار ΔG هیدرولیز گلوکز -۶ - فسفات را در pH = ۷ و حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد در وضعیت ثابت (Steady state) نظیر آنچه که در سلول برقرار است محاسبه کنید. غلظت های گلوکز -۶ - فسفات و گلوکز و فسفات (Pi) بترتیب 10^{-3} مولار، 10^{-5} مولار و 10^{-2} مولار می باشد.

ثابت تعادل K در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی گراد برابر با ۳۰۰ می باشد.

جواب:

$\Delta G^{o'} = -3500$ Cal/mole

$\Delta G = -9150$ Cal/mole

۸ - مقدار $\Delta G^{\circ\prime}$ برای هیدرولیز ATP را در pH = 7 و حرارت 37 درجه سانتی گراد در حضور منیزیم و غلظت 1 مولار از مواد اولیه و محصولات عمل محاسبه کنید..

$$ATP + Glucose \xrightarrow{Hexokinase} ADP + G\text{-}6\text{-}P$$

$$Keq = 661$$

$$\Delta G^{\circ\prime} = -4.0\ KCal$$

$$Glucose\text{-}6\text{-}P + H_2O \xrightarrow{Phosphatase} Glucose + Pi$$

$$Keq = 171$$

$$\Delta G^{\circ\prime} = -3.3\ KCal$$

$$\Delta G^{\circ\prime} = -7.3\ KCal$$

جواب :

با استفاده از جدول ۲-۱۱ صفحه بعد مسائل زیر را حل کنید.

- مقدار $\Delta G^{\circ\prime}$ برای اکسیداسیون NADH توسط اکسیژن O_2 را محاسبه کنید.

جواب: $\Delta G^{\circ\prime} = -52.4\ KCal$

۱۰- مقادیر $\Delta G^{\circ\prime}$ و ΔG را برای ایزومریزاسیون دی هیدروکسی استون فسفات (DHAP) به گلیسرآلدئید - 3 - فسفات (GA3P) را محاسبه کنید. ثابت تعادل Keq در pH = 7 و حرارت 25 درجه سانتی گراد0.0475 است. غلظت اولیه DHAP برابر $۲X۱۰^{-۴}$ M و غلظت اولیه GA3P برابر $۳X۱۰^{-۶}$ M می باشد.

جواب :

$$\Delta G^{\circ\prime} = 1.8\ KCal$$

$$\Delta G = -0.7\ KCal$$

۱۱- مقدار $\Delta G^{\circ\prime}$ برای احیا شدن پیروات توسط NADH را با استفاده از اطلاعات جدول (۲ - ۱۱) محاسبه کنید.

$$Pyruvate + NADH + H^+ \leftrightarrow Lactate + NAD^+$$

جواب :

$$\Delta G^{\circ\prime} = -5.9\ (-6\ KCal/mole)$$

CamScanner

۱۲- یک مول از هر یک از ترکیبات اگزالواستات، مالات، استات و استالدئید در یک لیتر آب در حرارت 25 درجه سانتی گراد حل شده اند.

الف- معادله واکنش اکسیداسیون - احیا که از لحاظ ترمودینامیک انجام پذیر باشد (واکنش با $\Delta G^{o'}$ منفی) را بنویسید.

Oxac + achyde → mal + ac

ج دو ب

ب - کدام ماده اکسیده می شود؟

ج- کدام ماده اکسید کننده است؟

د - کدام ماده احیا کننده است؟

ه- مقادیر $\Delta E^{o'}$، $\Delta G^{o'}$ و ثابت تعادل Keq واکنش را محاسبه کنید.

جواب :

$\Delta E^{o'} = 0.43$ Volt

$\Delta G^{o'} = -19.8$ KCal

$Keq = 3.98 \times 10^{14}$

CamScanner

جدول ۱-۱۱: تغییرات انرژی آزاد استاندارد بعضی از واکنش های شیمیایی در pH=۷ و درجه حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد

Reaction	$\Delta G^{o'}$ (Kcal/Mol)
Acid anhydrides Hydrolysis acetic anhydride + $H_2O \rightarrow$ 2 acetate Pyrophosphate + $H_2O \rightarrow$ 2Pi	 -21.8 -8.0
Esters Ethylacetate + $H_2O \rightarrow$ Ethanol + Acetate Glucose 6 – P + $H_2O \rightarrow$ Glucose + Pi	 -4.7 -3.3
Amides Glutamine + $H_2O \rightarrow$ glutamate + NH^+_4 Glycylglycine + $H_2O \rightarrow$ 2 glycine	 -3.4 -2.2
Glycosides Sucrose + $H_2O \rightarrow$ Glucose + Fructose Maltose + $H_2O \rightarrow$ 2 glucose	 -7.0 -7.0
Rearrangements Glucose-1-P $\leftrightarrow$ Glu-6-P Fructose-6-P $\leftrightarrow$ Glucose-6-P	 -1.7 -0.4
Elimination Malate $\leftrightarrow$ Fumarate + H_2O	 +0.75
Oxidation Glucose + $6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$ Palmitic acid + $23O_2 \rightarrow 16CO_2 + 16H_2O$	 -686 -2448

CamScanner

جدول ۲ - ۱۱: پتانسیل های احیاء استاندارد

$Acetate + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow acetaldehyde$	-0.60
$2H^+ + 2e^- \leftrightarrow H2$	-0.42
$Acetoacetate + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow \beta\text{-Hydroxybutyrate}$	-0.35
$NAD+ + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow NADH + H+$	-0.32
$Acetaldehyde + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow ethanol$	-0.20
$Pyruvate + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow lactate$	-0.19
$Oxaloacetate + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow malate$	-0.17
$Coenzyme\ Qox + 2e^- \leftrightarrow coenzyme\ Qred$	+0.10
$Cytochrome\ b\ (Fe^{3+}) + e^- \leftrightarrow cytochrome\ b\ (Fe^{2+})$	+0.12
$Cytochrome\ c\ (Fe^{3+}) + e^- \leftrightarrow cytochrome\ c\ (Fe^{2+})$	+0.22
$Cytochrome\ a\ (Fe^{3+}) + e^- \leftrightarrow cytochrome\ a\ (Fe^{2+})$	+0.29
$1/2O2 + 2H^+ + 2e^- \leftrightarrow H_2O$	+0.82

CamScanner

جدول ۱۱-۳: تغییرات انرژی آزاد استاندارد هیدرولیز تعدادی از ترکیبات فسفات دار

	$\Delta G^{o'}$ (Kcal/mol)
Phosphoenolpyruvate	-14.8
3.Phosphoglyceroyl phosphate →3-phosphoglycorate +Pi	-11.8
Phosphocreatine	-10.3
ADP → AMP + Pi	-7.3
ATP→ADP + Pi	-7.3
AMP → adenosine + Pi	-3.4
Glucose 1-phosphate	-5.0
Fructose 6-phosphate	-3.8
Glucose 6-phosphate	-3.3
Glycerol 1-phosphate	-2.2

جدول ۱۱-٤: تغییرات انرژی آزاد استاندارد بعضی از واکنش های شیمیایی در PH ۷= و ۲۵ درجه سانتی گراد

Reaction type	$\Delta G^{o'}$, Kcal/mol
Hydrolysis reactions	
Acid anhydrides	
Acetic anhydride + H_2O →2 acelate	-21.8
ATP + H_2O → ADP + phosphate	-7.3
Esters	
Ethyl acetate + H_2O → ethanol + acolate	-4.7
Glucose 6-phosphate + H_2O →glucose + phosphate	-3.3
Amides and peptides	
Clutamine + H_2O → glutamate + NH^+_4	-2.2

CamScanner

Reaction type	$\Delta G^{o'}$, Kcal/mol
Glycosides	
Maltose + H_2O → 2 glucose	-3.7
Lactose + H_2O → glucose + galactose	-3.8
Rearrangements	
Glucose 1-phosphate → glucose 6-phosphate	-1.74
Fructose 6-phosphate → glucose 6-phosphate	-0.40
Elimination of water	
Malate → fumarate + H_2O	+0.75
Oxidtions with molecular oxygen	
Glucose + $6O_2$ → $6CO_2$ + $6H_2O$	-686
Palmitic acid + $23O_2$ → $16CO_2$ + $16H_2O$	-2338

جدول ۱۱-۵: پتانسیل احیاء استاندارد E'^{o} بعضی از ترکیبات شرکت کننده در واکنش های اکسیداسیون متابولیکی

Redox couple	E'۰
Some substrate couples	
Acetyl-CoA + CO_2 + $2H^+$ + $2e^-$ → pyruvate + CoA	-0.48
α-Ketoglutarate + CO_2 + $2H^+$ + $2e^-$ → isocitrate	-0.38
3-phosphoglyceroyl phosphate + $2H^+$ + $2e^-$ → glyceraldehydes 3-phosphate + Pi	-0.29
Pyruvate + $2H^+$ + $2e^-$ → lactate	-019
Oxaloacetate + $2H^+$ + $2e^-$ → malate	-0.18
Fumarate + $2H^+$ + $2e^-$ → succinate	-0.03

CamScanner

Redox couple	$E^{o'}$
Components of the electron-transport chain	
$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$	-0.41
$NAD^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow NADH$	-0.32
$NADP^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow NADPH$	-0.32
NADH dehydrogenase (FMN form) + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ NADH dehydrogenase (FMNH2 form)	-0.30
Ubiquinone + $2H^+ + 2e^- \rightarrow$ ubiquinol	+0.04
Cytochrome b (ox) + $e^- \rightarrow$ cytochrome b (red)	+0.07
Cytochrome c1 (ox) + $e^- \rightarrow$ cytochrome c1 (red)	+0.23
Cytochrome c (ox) + $e^- \rightarrow$ cytochrome c (red)	+0.25
Cytochrome a (ox) + $e^- \rightarrow$ cytochrome a (red)	+0.29
Cytochrome a3 (ox) + $e^- \rightarrow$ cytochrome a3 (red)	+0.55
$1/2o_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2o$	+0.82

CamScanner

Table 4: The Standard Reduction Potentials E_0' of Some Conjugate Redox Couples Participating in Oxidative Metabolism†

Redox couple	$E^{o'}$
Some substrate couples	
Acetyl-CoA + CO_2 + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ pyruvate + CoA	-0.48
α-Ketoglutarate + CO_2 + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ isocitrate	-0.38
3-Phosphoglyceroyl phosphate + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ glyceraldehyde 3-phosphate + P_i	-0.29
Pyruvate + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ lactate	-0.19
Oxaloacetate + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ malate	-0.18
Fumarate + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ succinate	-0.03
Components of the electron-transport chain	
$2H^+$ + $2e^-$ ⟶ H_2	-0.41
NAD^+ + H^+ + $2e^-$ ⟶ NADH	-0.32
$NADP^+$ + H^+ + $2e^-$ ⟶ NADPH	-0.32
NADH dehydrogenase (FMN form) + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ NADH dehydrogenase ($FMNH_2$ form)	-0.30
Ubiquinone + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ ubiquinol	+0.04
Cytochrome *b* (ox) + e^- ⟶ cytochrome *b* (red)	+0.07
Cytochrome c_1 (ox) + e^- ⟶ cytochrome c_1 (red)	+0.23
Cytochrome *c* (ox) + e^- ⟶ cytochrome *c* (red)	+0.25
Cytochrome *a* (ox) + e^- ⟶ cytochrome *a* (red)	+0.29
Cytochrome a_3 (ox) + e^- ⟶ cytochrome a_3 (red)	+0.55
$\frac{1}{2}O_2$ + $2H^+$ + $2e^-$ ⟶ H_2O	+0.82

CamScanner

منابع :

۱- Text Book of Biochemistry with Clinical Correlations, 7th edition, Thomas M. Devlin, John Wiley & Sons, Inc. USA, 2011.
۲- Lehninger Principles of Biochemistry, 5th edition, David L. Nelson, Michael M. Cox, W.H. Freeman & Company, New York, 2008 .
۳-Argyropoulos G, Harper ME. Uncoupling proteins and thermoregulation. J Appl Physiol 2002;92:2187-2198.
٤- Dimauro S, Schon EA. Mitochondrial respiratory chain diseases. N Engl J Med 2003;348:2656-2668.
٥-Kadenbach B. Instrinsic and extrinsic uncoupling of phosphorylation. Biochim Biophys Acta-Bioenergetics 2003;1604:77-94.

تار نما ها:

۱- ATP synthase movies:
www.cnr.berkeley.edu/~hongwang/Project/ATP_synthase/
۲- ATP synthase:
http://vcell.ndsu.nodak.edu/animations/atpgradient/index.htm
۳- Oxidative phosphorylation:
www.sp.uconn.edu/~terry/images/anim/ETS.html
http://bcs.whfreeman.com/thelifewire/content/chp07/0702001.html
٤- The Children's Mitochondrial Disease Network: www.emdn-mitonet.co.uk/
٥- Mitochondrial diseases:
www.umdf.org/mitodisease/
www.neuro.wustl.edu/neuromuscular/mitosyn.html

فصل ٢

١	ج	٤		٧		١٠	
٢	ب	٥		٨		١١	
٣	ج	٦		٩		١٢	

فصل ٣

١	د	٤	ج	٧	ج	١٠	
٢	ج	٥	ه	٨		١١	
٣	الف	٦	د	٩		١٢	

فصل ٤

١	د	٤	ج	٧	ب	١٠	
٢	ب	٥	الف	٨	الف	١١	
٣	ج	٦	د	٩		١٢	

فصل ٥

١	د	٤	الف	٧		١٠	
٢	ج	٥	ب	٨		١١	
٣	ب	٦		٩		١٢	

فصل ٦

١	الف	٤	ب	٧		١٠	
٢	ب	٥		٨		١١	
٣	د	٦		٩		١٢	

فصل ٧

١	د	٤	ب	٧	د	١٠	
٢	الف	٥	د	٨	ب	١١	
٣	ج	٦	ب	٩		١٢	

CamScanner

پاسخنامه

فصل ۸

۱	ج	۴	ج	۷	الف	۱۰	د
۲	ب	۵	ب	۸	ب	۱۱	
۳	الف	۶	د	۹	ج	۱۲	

فصل ۹

۱	ج	۴	د	۷	ب	۱۰	
۲	ب	۵	ج	۸	الف	۱۱	
۳	الف	۶	د	۹		۱۲	

فصل ۱۰

۱	الف	۴	ب	۷		۱۰	
۲	ب	۵		۸		۱۱	
۳	الف	۶		۹		۱۲	

CamScanner