• نلسون • کاکس

اصول بیوشیمی لنینجر

ویرایش سوم

جلد اول



چاپ ششم
بازبینی شده

دکتر رضا محمدی
متخصص بیوشیمی
عضو هیئت علمی دانشگاه

٤-٤٥٥٤

دانشگاه ارومیه
کتابخانه دانشکده علوم

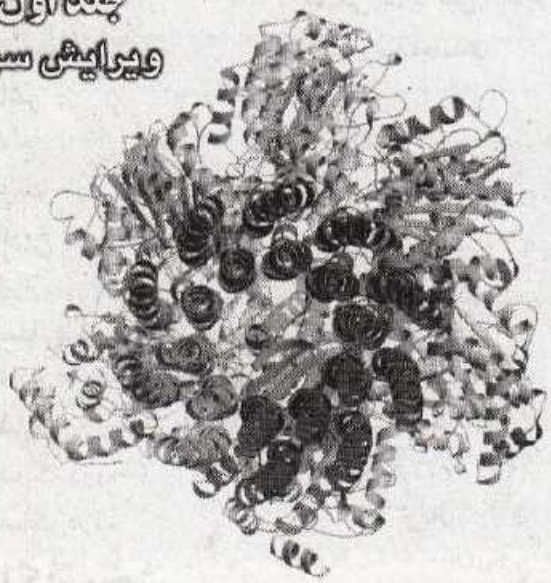
کتابخانه دانشکده علوم
شماره ٤٤٦٢
تاریخ ٨٧/١٢/١٨

1360
دانشگاه ارومیه
کتابخانه دانشکده علوم

نلسون کاکس

اصول بیوشیمی لنینجر

جلد اول
ویرایش سوم



Nelson
Kakş
Biyokimya
Bordiman
Lenenjer
Jelde Avval
Virayeshe sevvom

دکتر رضا محمدی
متخصص بیوشیمی
عضو هیئت علمی دانشگاه

لنینگر، آلبرت
Lehninger, Albert L.
اصول بیوشیمی لنینجر/ مایکل ام. کاکس، دیوید ال. نلسون؛ ترجمه رضا محمدی.- تهران: آییژ ۱۳۸۱.
ج: مصور، نمودار.

ISBN: 964-7006-58-6 (ج۱)-ISBN
964-7006-59-4 (ج۲)
964-7006-60-8 شابک دوره

فهرستنویسی براساس اطلاعات فیپا.
عنوان اصلی:
Lehninger principles of biochemistry 3rd. ed, 2000. Cox
۱. زیست شیمی. الف. کاکس، مایکل،
Michael M ب. نلسون، دیوید لی، ۱۹۴۲-
م. Nelson, David Lee ج. محمدی، رضا، ۱۳۴۳-
، مترجم و د. عنوان.

۶الف۹ل/QD۴۱۵ ۵۷۲
۱۳۸۱
کتابخانه ملی ایران
م۸۱-۲۵۴۴۴

آییژ

- کتاب: اصول بیوشیمی لنینجر جلد ۱
- تالیف: مایکل ام. کاکس - دیوید ال. نلسون
- ترجمه: دکتر رضا محمدی
- ناشر: آییژ
- قطع: وزیری
- نوبت: ششم
- تاریخ: بهار ۱۳۸۶
- تیراژ: ۱۵۰۰
- تعداد صفحات جلد اول: ۶۰۸
- تعداد صفحات جلد دوم: ۷۸۴
- شابک: ۹۶۴-۷۰۰۶-۵۸-۶
- شابک دوره: ۹۶۴-۷۰۰۶-۶۰-۸
- قیمت دوره: ۱۴۰۰۰ تومان

مراکز پخش

کتابیران، خیابان شهید وحید نظری، بین خیابان فروردین و منیری جاوید (اردیبهشت)، پلاک ۲۶۲
تلفن: ۵-۶۶۴۸۳۵۴۴
نوپردازان، خیابان لبافی‌نژاد، بین اردیبهشت و فروردین، پلاک ۲۰۶،
تلفن: ۶۶۴۱۱۱۷۳ - ۶۶۴۹۴۴۰۹

دانشگاه ارومیه
کتابخانه دانشکده
علوم
۱۳۶۰
کتابخانه دانشکده علوم
شماره ۴۴۶۳
تاریخ ۸۱/۱۱/۱۸

مقدمه مترجم

وقتی صحبت از موجوات زنده می‌شود، واکنش‌های بیوشیمیایی مطرح می‌گردند که به واسطه آنها فرایندهای مختلف سلولی به انجام می‌رسند. اختلال در این واکنش‌ها، منجر به اختلال در فعالیت سلولی و بروز ناهنجاری‌ها و بیماری‌های مختلف می‌گردد. ازاینرو، اولین قدم در مطالعه موجودات مختلف، در علوم پزشکی، پیراپزشکی، بیولوژیکی، میکروبیولوژیکی و گیاهی، آشنایی با واکنش‌های مختلف بیوشیمیائی است. دنیای وسیع واکنش‌های بیوشیمیائی و در بعضی موارد پیچیدگی آنها سبب شده است تا مطالعه و درک مباحث بیوشیمی جزء مشکل‌ترین قسمت‌های تحصیل در سطوح مختلف دانشگاهی، به ویژه برای دانشجویان تازه‌کار، باشد. هرچند، توجه به اصول پایه بیوشیمی و درک مسائل مربوطه، همراه با برقراری ارتباط بین مطالب مختلف آن، می‌تواند نقش مهمی را در فراگیری این پایه مهم و اساسی علوم مختلف داشته باشد. برای این منظور استفاده از کتاب مرجعی که به مسائل پایه پرداخته باشد می‌تواند بسیار مفید باشد. کتاب اصول بیوشیمی لینجر که ترجمه ویرایش سوم آن، مربوط به سال ۲۰۰۰، در اختیار شما قرار گرفته است، جزء معتبرترین کتاب‌های بیوشیمی حال حاضر در جهان می‌باشد و به عنوان کتاب مرجع در امتحانات مختلف علوم پایه پزشکی، بیولوژی و میکروبیولوژی توسط وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی معرفی می‌گردد.

کتاب اصول بیوشیمی لینجر از چهار قسمت تشکیل شده است. در قسمت اول، اساس بیوشیمیایی موجودات زنده با تمرکز بر روی منطق ملکولی حیات، سازماندهی ماکرو ملکول‌ها، سلول‌ها و نقش آب در سیستم‌های بیولوژیک مورد بحث قرار خواهد گرفت. ساختمان و کاتالیز، عنوان قسمت دوم کتاب می‌باشد که اختصاص به مطالعه ساختمان و عملکرد کلاس‌های اصلی اجزاء تشکیل‌دهنده سلول، شامل اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها، قندها و پلی‌ساکاریدها، نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک، اسیدهای چرب و لیپیدها، به همراه غشاءها و سیستم‌های انتقال پیام‌های بیولوژیکی دارد. بعد از فراگیری این اصول پایه، وارد قسمت سوم کتاب، تحت عنوان بیوانرژتیک و متابولیسم، می‌شویم که در آن به بررسی متابولیسم اجزاء سلولی، شامل کربوهیدرات‌ها، لیپیدها، اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها، به همراه مسیرهای تولید انرژی طی فسفریلاسیون اکسیداتیو و فتوفسفریلاسیون پرداخته می‌شود. بالاخره، بحث پیرامون مسیرهای اطلاعاتی در قسمت آخر کتاب صورت می‌پذیرد که شامل بررسی متابولیسم DNA، متابولیسم RNA، متابولیسم پروتئین، تنظیم این مسیرهای انتقال و بیان اطلاعات ژنتیکی می‌باشد. این بخش با اشاره‌ای مفید به فن‌آوری DNA نوترکیبی به اتمام می‌رسد که در قرن حاضر کاربردهای فراوانی دارد.

از خصوصیات برجسته دیگر کتاب اصول بیوشیمی لینجر، وجود اشکال رنگی فراوان و مفید می‌باشد که به درک مطالب کمک شایانی می‌کنند. با توجه به هزینه بالای چاپ رنگی کتاب، تصمیم‌گرفته شد که اشکالی که رنگی‌بودن آنها ضرورت دارد، علاوه بر تصویر سیاه و سفید در داخل متن کتاب، به صورت رنگی در آخر کتاب نیز آورده شوند. در انتهای کتاب، علاوه بر آوردن فهرستی از مخفف‌های متداول مورد استفاده در بیوشیمی، واژه‌نامه توصیفی وجود دارد که به شرح بسیاری از اصطلاحات مورد استفاده در کتاب می‌پردازد. از این رو،

توصیه می‌شود در هنگام برخورد با اصطلاحات جدید و یا نامفهوم، با مراجعه به واژه‌نامه درک بهتری از آنها بدست آورید تا ادامه راه تسهیل گردد.

در خاتمه لازم می‌دانم از عزیزانی که من را در ترجمه این کتاب یاری دادند، تشکر و قدردانی نمایم. از سرکار خانم ندا .خلعت‌بری و سرکار خانم وجیهه نوروزی که در ویرایش کتاب نقش داشتند کمال تشکر را دارم و برای ایشان آرزوی موفقیت می‌کنم. از همکاران گرامی گروه بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران، به ویژه جناب آقای دکتر مسعود فاطمی و سرکار خانم شهره دارابی‌زاده به دلیل انجام همکاری‌های لازم سپاسگزار هستم. همچنین از جناب آقای دکتر شاپور گهواره مدیریت انتشارات آییژ و جناب آقای مجید منصورخاکی گرافیست، متن و سرکار خانم لیلا خاکزادیان که نقش مهمی در چاپ و انتشار کتاب داشتند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

دکتر رضا محمدی

دکترای علوم آزمایشگاهی و متخصص (Ph.D) بیوشیمی

استادیار گروه بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد پزشکی تهران

پاییز ۱۳۸۱

تقدیم به پدر، مادر، همسر و فرزندم

تقدیم به تمامی شیفتگان علم

Book.Apfarsi.ir

فهرست مطالب

قسمت اول - اساس بیوشیمی ۱

فصل ۱. منطق ملکولی حیات ۳

یگانگی شیمیائی موجودات زنده گوناگون ۳

بیوشیمی اشکال متنوع زندگی را در اصطلاحات شیمیائی یکی‌کننده توجیه می‌نماید ۴

تمامی ماکروملکول‌ها از چند ترکیب ساده ساخته شده‌اند ۵

تولید و مصرف انرژی در متابولیسم ۷

موجودات هرگز با محیط اطراف خود به تعادل نمی‌رسند ۷

ترکیب ملکولی یک حالت پویای پایدار را نشان می‌دهد ۸

موجودات انرژی و ماده را از محیط اطراف خود می‌گیرند ۸

انرژی مورد نیاز موجودات از جریان الکترون‌ها حاصل می‌گردد ۱۰

جفت‌شدن انرژی، واکنش‌ها را به یکدیگر متصل می‌نماید ۱۱

آنزیم‌ها توالی‌های واکنش‌های شیمیائی را تسریع می‌کنند ۱۳

متابولیسم تنظیم می‌گردد تا به تعادل و صرفه‌جوئی برسد ۱۶

انتقال اطلاعات بیولوژیک ۱۷

پیوستگی ژنتیکی در ملکول‌های DNA قطعی است ۱۷

ساختمان DNA امکان ترمیم و همانندسازی آن را با صداقت تقریباً کامل ممکن می‌سازد ۱۷

تغییر ساختمان‌های ارثی سبب تکامل می‌شوند ۱۸

آناتومی ملکولی ارتباطات تکاملی را آشکار می‌سازد ۱۹

توالی خطی DNA پروتئینهائی را با ساختمان سه‌بعدی کد می‌نماید ۲۱

واکنش‌های متقابل غیرکووالان سبب پایداری ساختمان‌های سه‌بعدی می‌گردد ۲۲

ریشه‌های فیزیکی دنیای بیوشیمی ۲۳

۲۵
فصل ۲. سلول‌ها ۲۷
ابعاد سلولی ۲۷
سلول‌ها و بافت‌ها در مطالعات بیوشیمیایی بکار می‌روند ۳۰
تکامل و ساختمان سلول‌های پروکاریوتی ۳۳
Escherichia coli بهترین سلول پروکاریوتی که مورد مطالعه قرار می‌گیرد ۳۵
تکامل سلول‌های اوکاریوتی ۳۵
پیدایش سلول‌های اوکاریوتی طی چند مرحله از پروکاریوت‌ها صورت گرفته است ۳۷
سلول‌های اوکاریوتی اولیه منجر به ایجاد پروتیستهای متنوع شدند ۳۷
خصوصیات ساختمانی اصلی سلول‌های اوکاریوتی ۳۷
غشاء پلاسمایی حاوی ترانسپورترها و گیرنده‌ها می‌باشد ۳۹
آندوسیتوز و اگزوسیتوز مواد را در عرض غشاء انتقال می‌دهند ۴۰
شبکه آندوپلاسمی سنتز پروتئین‌ها و لیپیدها را سازماندهی می‌نماید ۴۱
کمپلکس گلژی پروتئین‌ها را پردازش و دسته‌بندی می‌نماید ۴۲
لیزوزوم‌ها محل‌هایی برای واکنش‌های تخریبی هستند ۴۲
واکوئل‌های موجود در سلول‌های گیاهی اعمال متعدد مهمی را انجام می‌دهند ۴۳
پراکسی‌زوم‌ها پراکسید هیدروژن را تجزیه نموده و گلی‌اکسی‌زوم‌ها چربی‌ها را به کربوهیدرات‌ها تبدیل می‌نمایند ۴۳
هسته حاوی ژنوم می‌باشد ۴۶
میتوکندری‌ها کارخانه تولید انرژی سلول‌های اوکاریوتی هوازی هستند ۴۷
کلروپلاست‌ها انرژی خورشیدی را به انرژی شیمیایی تبدیل می‌نمایند ۴۸
احتمالاً میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها از باکتری‌های درون همزیست ایجاد شده‌اند ۴۹
اسکلت سلولی سبب پایداری شکل سلول، سازماندهی سیتوپلاسم و ایجاد حرکت می‌شود ۵۲
سیتوپلاسم شلوغ، شدیداً منظم و پویا می‌باشد ۵۳
مطالعه اجزاء سلولی ۵۳
اندامک‌ها را می‌توان با سانتریفوژ جدا نمود ۵۳
مطالعات خارج از بدن ممکن است از واکنش‌های متقابل مهم بین ملکول‌ها چشم‌پوشی نماید ۵۵
تکامل موجودات پرسلولی و تمایز سلولی ۵۷
ویروس‌ها: انگل‌های سلولی ۵۷

خلاصه ۶۰

فصل ۳. بیوملکول‌ها ۶۳
ترکیب و پیوند شیمیایی ۶۴
بیوملکول‌ها ترکیبات کربن هستند ۶۴
گروه‌های عامل خصوصیات شیمیایی را تعیین می‌نمایند ۶۶
ساختمان سه‌بُعدی: کونفیگوراسیون و کونفورماسیون ۶۸
کونفیگوراسیون تنها با شکستن یک پیوند تغییر می‌یابد ۶۹
کونفورماسیون ملکولی با چرخش حول پیوندهای یگانه تغییر می‌یابد ۷۲
کونفیگوراسیون و کونفورماسیون ساختمان‌های بیوملکولی را تعیین می‌نمایند ۷۲
واکنش‌های متقابل بین ملکول‌ها، دارای ویژگی‌های فضایی هستند ۷۳
انجام واکنش‌های شیمیایی ۷۵
قدرت پیوند به ویژگی‌های اتم‌های اتصال‌یافته ارتباط دارد ۷۵
پنج نوع تغییر شیمیایی عمومی در سلول‌ها رخ می‌دهد ۷۵
تمامی واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء مستلزم انتقال الکترون هستند ۷۶
پیوندهای کربن-کربن طی واکنش‌های استخلاف نوکلئوفیلی شکسته و ساخته می‌شوند ۷۷
انتقالهای الکترونی در داخل یک ملکول سبب نوآرایی‌های داخلی می‌شود ۷۹
واکنش‌های انتقال گروه، ترکیبات واسط متابولیک را فعال می‌نمایند ۸۰
بیوپلیمرها طی کندانساسیون ایجاد می‌گردند ۸۱
ماکروملکول‌ها و زیرواحدهای منومری آنها ۸۲
ماکروملکول‌ها اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده سلول‌ها می‌باشند ۸۲
ماکروملکول‌ها از واحدهای منومری تشکیل شده‌اند ۸۳
زیرواحدهای منومری، ساختمان‌های ساده‌ای دارند ۸۴
کنداساسیون زیرواحدی، ایجاد نظم نموده و نیاز به انرژی دارد ۸۵
سلول‌ها دارای سلسله مراتب ساختمانی هستند ۸۶
تکامل قبل‌حیات ۸۷
بیوملکول‌ها ابتدا در طی تکامل شیمیایی ایجاد شدند ۸۸
تکامل شیمیایی را می‌توان در آزمایشگاه تحریک نمود ۸۸
RNA یا پیش‌سازهای مربوطه ممکن است اولین ژن‌ها و کاتالیست‌ها باشند ۹۰

تکامل بیولوژیک بیش از سه و نیم بیلیون سال قبل آغاز گردید ۹۱
خلاصه ۹۲
فصل ۴. آب ۹۵
واکنش‌های ضعیف در سیستم‌های آبی ۹۵
پیوندهای هیدروژنی منجر به ویژگی‌های غیرمعمول می‌گردند ۹۶
آب با مواد حل‌شده قطبی ایجاد پیوندهای هیدروژنی می‌نماید ۹۸
آب با مواد حل‌شده باردار بطریق الکترواستاتیک واکنش می‌نماید ۹۹
با حل‌شدن مواد کریستالی آنتروپی افزایش می‌یابد ۱۰۱
گازهای غیرقطبی در آب حلالیت ضعیفی دارند ۱۰۱
ترکیبات غیرقطبی سبب تغییراتی در ساختمان آب می‌گردند که از نظر انرژتیک مساعد نمی‌باشند ۱۰۲
واکنش‌های متقابل واندروالس، جاذبه‌های ضعیف بین اتمی هستند ۱۰۴
واکنش‌های ضعیف نقش مهمی در ساختمان و عمل ماکروملکولی دارند ۱۰۴
مواد حل‌شده بر روی ویژگی‌های کولیگاتیو محلول‌های آبی اثر دارند ۱۰۶
یونیزاسیون آب، اسیدهای ضعیف و بازهای ضعیف ۱۰۹
آب خالص قدری یونیزه می‌گردد ۱۰۹
یونیزاسیون آب توسط یک ثابت تعادل بیان می‌گردد ۱۱۲
مقیاس pH غلظتهای H^+ و OH^- را نشان می‌دهد ۱۱۳
اسیدها و بازهای ضعیف ثابت‌های تفکیک مشخصی دارند ۱۱۴
منحنی‌های تیتراسیون pKa اسیدهای ضعیف را مشخص می‌نماید ۱۱۶
بافری‌نمودن تغییرات pH در سیستم‌های بیولوژیک ۱۱۸
بافرها مخلوطی از اسیدهای ضعیف و بازهای کونژوگه آنها می‌باشند ۱۱۸
با یک بیان ساده pH، pK و غلظت بافر با یکدیگر مرتبط می‌شوند ۱۱۹
اسیدها و بازهای ضعیف، تغییرات pH سلول‌ها و بافت‌ها را بافری می‌نمایند ۱۲۰
آب به‌عنوان یک واکنشگر ۱۲۳
مناسب‌بودن محیط آبی برای موجودات زنده ۱۲۴
خلاصه ۱۲۴

خواننده خود

قسمت دوم - ساختمان و کاتالیز ۱۲۹
فصل ۵. اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها ۱۳۱
اسیدهای آمینه ۱۳۱
اسیدهای آمینه دارای خصوصیات ساختمانی مشترکی هستند ۱۳۲
ریشه‌های اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌ها از نوع ایزومرهای فضایی L هستند ۱۳۴
اسیدهای آمینه را می‌توان براساس گروه R طبقه‌بندی نمود ۱۳۵
اسیدهای آمینه غیراستاندارد نیز اعمال مهمی را انجام می‌دهند ۱۳۹
اسیدهای آمینه می‌توانند به عنوان اسید یا باز عمل نمایند ۱۴۰
اسیدهای آمینه دارای منحنی‌های تیتراسیون مشخصی هستند ۱۴۱
منحنی‌های تیتراسیون بار الکتریکی اسیدهای آمینه را نشان می‌دهند ۱۴۳
اسیدهای آمینه از نظر ویژگی‌های اسید-باز با یکدیگر متفاوت هستند ۱۴۳
پپتیدها و پروتئین‌ها ۱۴۴
پپتیدها زنجیرهای اسید آمینه‌ای می‌باشند ۱۴۵
پپتیدها را می‌توان براساس خاصیت یونیزاسیون آنها تشخیص داد ۱۴۶
پپتیدها و پلی‌پپتیدهای دارای فعالیت بیولوژیک، از نظر اندازه بسیار متفاوت هستند ۱۴۶
پلی‌پپتیدها دارای ترکیبات اسید آمینه‌ای مشخصی هستند ۱۴۸
بعضی از پروتئین‌ها دارای گروه‌های شیمیایی غیر از اسیدهای آمینه هستند ۱۴۹
پروتئین‌ها دارای سطوح متعدد ساختمانی هستند ۱۴۹
کار با پروتئین‌ها ۱۵۰
پروتئین‌ها را می‌توان جدا و تخلیص نمود ۱۵۰
پروتئین‌ها را می‌توان با روش الکتروفورز جدا و شناسایی نمود ۱۵۵
پروتئین‌های جدانشده را می‌توان تعیین مقدار نمود ۱۵۸
ساختمان کووالان پروتئین‌ها ۱۶۰
عملکرد یک پروتئین بستگی به توالی اسید آمینه‌ای آن دارد ۱۶۰
توالی‌های اسید آمینه‌ای پروتئین‌های متعددی تعیین شده است ۱۶۳
پلی‌پپتیدهای کوتاه با استفاده از روش‌های اتوماتیک تعیین توالی شده‌اند ۱۶۴
پروتئین‌های بزرگ را می‌بایست در قطعات کوچکتر تعیین توالی نمود ۱۶۶
با روش‌های دیگر نیز می‌توان توالی اسید آمینه‌ای را تعیین نمود ۱۶۹
اطلاعات مهم بیوشیمیایی را می‌توان از توالی‌های اسید آمینه بدست آورد ۱۷۳

پپتیدها و پروتئین‌های کوچک را می‌توان به طریق شیمیایی سنتز نمود ۱۷۴
خلاصه ۱۷۶

فصل ۶. ساختمان سه بُعدی پروتئین‌ها ۱۷۷
مروری کلی بر ساختمان پروتئین ۱۷۸
کونفورماسیون پروتئینی بیشتر توسط واکنش‌های متقابل ضعیف تثبیت می‌گردد ۱۷۸
پیوند پپتیدی محکم بوده و در یک صفحه قرار دارد ۱۸۰
ساختمان دوم پروتئین ۱۸۲
مارپیچ α یک ساختمان دوم معمول پروتئینی است ۱۸۲
توالی اسیدهای آمینه بر روی مارپیچ α اثر دارد ۱۸۴
کونفورماسیون β زنجیرهای پپتیدی را به‌صورت صفحه سازماندهی می‌نماید ۱۸۶
پیچ‌های β در پروتئین‌ها معمول می‌باشند ۱۸۸
ساختمان‌های دوم معمول دارای زوایای پیوند و محتوی اسید آمینه‌ای مشخصی هستند ۱۸۸
ساختمان‌های سوم و چهارم پروتئین ۱۸۹
پروتئین‌های فیبری برای عملکرد ساختمانی تطبیق داده شده‌اند ۱۹۱
تنوع ساختمانی، انعکاس‌دهنده تنوع فعالیت در پروتئین‌های کروی است ۱۹۷
میوگلوبین سررشته اولیه را در مورد پیچیدگی ساختمان پروتئین کروی فراهم نمود ۱۹۷
پروتئین‌های کروی ساختمان‌های سوم متنوعی دارند ۲۰۰
بررسی بسیاری از پروتئین‌های کروی، الگوهای ساختمانی مشترکی را آشکار می‌نماید. ۲۰۶
موتیف‌های پروتئینی اساس طبقه‌بندی ساختمانی پروتئین هستند ۲۰۹
ساختمان‌های چهارم پروتئینی متفاوت بوده و از دیمرهای ساده تا کمپلکس‌های بزرگ دیده می‌شوند ۲۱۲
محدودیت‌هایی در اندازه پروتئین‌ها وجود دارد ۲۱۵
دناتوراسیون و تاشدن پروتئینی ۲۱۶
از بین رفتن ساختمان پروتئین سبب از بین رفتن عملکرد آن می‌گردد ۲۱۶
توالی اسید آمینه‌ای ساختمان چهارم را تعیین می‌نماید ۲۱۷
پلی‌پپتیدها سریعاً طی یک فرایند مرحله به مرحله تا می‌گردند ۲۱۸
تاشدن بعضی از پروتئین‌ها به کمک سایر پروتئین‌ها صورت می‌پذیرد ۲۲۲
خلاصه ۲۲۴

Book.Apfarsi.ir

فصل ۷. عملکرد پروتئین ۲۲۷
اتصال قابل‌برگشت یک پروتئین به یک لیگاند: پروتئین‌های اتصالی-اکسیژن ۲۲۸
اکسیژن می‌تواند به یک گروه پروستتیک هم اتصال یابد ۲۲۸
میوگلوبین دارای یک جایگاه واحد اتصالی برای اکسیژن می‌باشد ۲۲۹
واکنش‌های متقابل پروتئین-لیگاند را می‌توان به‌طورکمی شرح داد ۲۳۱
ساختمان پروتئینی بر نحوه اتصال لیگاند تأثیر می‌گذارد ۲۳۴
اکسیژن در خون توسط هموگلوبین انتقال داده می‌شود ۲۳۵
زیرواحدهای هموگلوبین از نظر ساختمانی مشابه میوگلوبین می‌باشند ۲۳۶
با اتصال اکسیژن، هموگلوبین دچار یک تغییر ساختمانی می‌گردد ۲۳۸
هموگلوبین به‌طورتعاونی به اکسیژن اتصال می‌یابد ۲۳۸
اتصال تعاونی لیگاند را می‌توان به‌طورکمی شرح داد ۲۴۱
دو مدل، مکانیسم‌هایی را برای اتصال تعاونی مطرح می‌نمایند ۲۴۲
هموگلوبین حامل H^+ و CO_2 نیز می‌باشد ۲۴۴
اتصال اکسیژن به هموگلوبین توسط ۲،۳-بیس‌فسفوگلیسرات تنظیم می‌گردد ۲۴۶
کم‌خونی سلول داسی یک بیماری ملکولی هموگلوبین می‌باشد ۲۴۸
واکنش‌های متقابل مکمل بین پروتئین‌ها و لیگاندها: سیستم ایمنی و ایمونوگلبولین‌ها ۲۵۰
پاسخ ایمنی شامل سلول‌ها و پروتئین‌های اختصاصی می‌باشد ۲۵۰
تمایز خودی از غیرخودی با استفاده از پپتیدهای موجود در سطح سلول‌ها صورت می‌پذیرد ۲۵۲
واکنش‌های متقابل ملکولی در سطوح سلولی، پاسخ ایمنی را آغاز می‌نمایند ۲۵۵
آنتی‌بادی‌ها دارای دو جایگاه مشابه اتصال به آنتی‌بادی هستند ۲۵۸
آنتی‌بادی‌ها به‌طور محکم و اختصاصی به آنتی‌ژن اتصال می‌یابند ۲۶۱
واکنش‌های آنتی‌بادی-آنتی‌ژن اساس انواع مختلفی از روش‌های مهم تجزیه‌ای هستند .. ۲۶۲
واکنش‌های متقابل پروتئینی به واسطه انرژی شیمیایی: اکتین، میوزین و موتورهای ملکولی ۲۶۴
اکتین و میوزین پروتئین‌های اصلی عضله هستند ۲۶۴
پروتئین‌های دیگری فیلمان‌های نازک و ضخیم را به شکل ساختمانهای منظم سازماندهی می‌کنند ۲۶۷

فیلمان‌های ضخیم میوزین در طول فیلمان‌های نازک میوزین می‌لغزند ۲۶۸
خلاصه ۲۷۱
فصل ۸. آنزیم‌ها ۲۷۳
مقدمه‌ای بر آنزیم‌ها ۲۷۴
اکثر آنزیم‌ها ساختمان پروتئینی دارند ۲۷۵
آنزیم‌ها براساس واکنش‌هایی که کاتالیز می‌کنند، طبقه‌بندی می‌گردند ۲۷۶
نحوه عمل آنزیم‌ها ۲۷۷
آنزیم‌ها بر روی سرعت واکنش اثر دارند و نه تعادل آن ۲۷۸
سرعت و تعادل واکنش دارای تعاریف ترمودینامیکی دقیقی هستند ۲۸۰
قدرت کاتالیتیکی و ویژگی آنزیم‌ها توسط چند اصل بیان می‌گردد ۲۸۲
واکنش‌های متقابل ضعیف بین آنزیم و سوبسترا در حالت انتقالی مطلوب می‌باشد ۲۸۳
انرژی اتصالی در ویژگی واکنش و کاتالیز نقش دارد ۲۸۵
گروه‌های کاتالیتیک اختصاصی در کاتالیز نقش دارند ۲۸۸
کینتیک آنزیمی به‌عنوان راهی برای شناخت مکانیسم آنزیمی ۲۹۰
غلظت سوبسترا بر روی سرعت واکنش‌های آنزیمی اثر دارد ۲۹۱
ارتباط بین غلظت سوبسترا و سرعت واکنش را می‌توان به‌طورکمی بیان نمود ۲۹۲
پارامترهای کینتیک برای مقایسه فعالیتهای آنزیمی بکار می‌روند ۲۹۵
بسیاری از آنزیم‌ها واکنش‌هایی را با دو یا چند سوبسترا کاتالیز می‌نمایند ۲۹۹
کینتیک حالت قبل‌پایدار می‌تواند مدرکی برای مراحل اختصاصی واکنش فراهم نماید ۳۰۰
آنزیم‌ها در معرض مهار هستند ۳۰۱
مهار قابل‌برگشت می‌تواند رقابتی، نارقابتی و یا مخلوط باشد ۳۰۱
مهار برگشت‌ناپذیر یک وسیله مهم در تحقیق آنزیمی و فارماکولوژی است ۳۰۴
فعالیت آنزیمی تحت تأثیر pH قرار می‌گیرد ۳۰۵
مثال‌هایی از واکنش‌های آنزیمی ۳۰۶
مکانیسم‌های واکنش، اصول را شرح می‌دهند ۳۰۹
آنزیم‌های تنظیمی ۳۱۴
آنزیم‌های آلوستریک در پاسخ به اتصال یک تعدیل‌کننده، دچار تغییرات کونفورماسیونی می‌شوند ۳۱۶

مرحله تنظیمی در بسیاری از مسیرها توسط یک آنزیم آلوستریک کاتالیز می‌گردد..... ۳۱۷
ویژگی‌های کینتیک آنزیم‌های آلوستریک از رفتار میکائیلیس-منتن پیروی نمی‌کنند..... ۳۱۹
بعضی از آنزیم‌های تنظیمی دچار تغییر کووالان قابل‌برگشت می‌گردند..... ۳۲۰
گروه‌های فسفریل بر روی ساختمان و فعالیت کاتالیتیک پروتئین‌ها اثر دارند..... ۳۲۱
فسفریلاسیون‌های متعدد امکان کنترل تنظیمی دقیق را می‌دهند..... ۳۲۴
در دو نوع تنظیم، نیاز به تجزیه پروتئولیتیک یک پیش‌ساز آنزیمی می‌باشد ۳۲۶
بعضی آنزیم‌های تنظیمی از مکانیسم‌های تنظیمی متعددی استفاده می‌نمایند ۳۲۷
خلاصه..... ۳۲۷

فصل ۹. کربوهیدارات‌ها و گلیکوبیولوژی..... ۳۲۹
منوساکاریدها و دی‌ساکاریدها ۳۳۰
دو خانواده منوساکاریدها شامل آلدوزها و کتوزها می‌باشند ۳۳۰
منوساکاریدها دارای مراکز نامتقارن هستند..... ۳۳۱
منوساکاریدهای معمول دارای ساختمان‌های حلقوی هستند..... ۳۳۴
موجودات مشتقات مختلف هگزوز را دارند ۳۳۶
منوساکاریدها عوامل احیاءکننده هستند..... ۳۳۸
دی‌ساکاریدها دارای یک پیوند گلیکوزیدی می‌باشند..... ۳۳۸
پلی‌ساکاریدها..... ۳۴۱
نشاسته و گلیکوژن سوختهای ذخیره‌ای هستند..... ۳۴۲
سلولز و کیتین هموپلی‌ساکاریدهای ساختمانی می‌باشند ۳۴۴
دیواره‌های سلول باکتری حاوی پپتیدوگلیکانها می‌باشند ۳۴۶
گلیکوزآمینوگلیکان‌ها اجزاء ماتریکس خارج‌سلولی می‌باشند ۳۴۶
گلیکوکونژوگه‌ها: پروتئوگلیکان‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها..... ۳۴۹
پروتئوگلیکان‌ها، ماکروملکول‌های حاوی گلیکوزآمینوگلیکان‌ها در سطح سلول و ماتریکس خارج‌سلولی هستند..... ۳۵۰
گلیکوپروتئین‌ها، کونژوگه‌های غنی از اطلاعات حاوی اولیگوساکاریدها می‌باشند ۳۵۳
گلیکولیپیدها و لیپوپلی‌ساکاریدها اجزاء غشایی هستند ۳۵۵
واکنش‌های متقابل اولیگوساکارید-لکتین بسیاری از فرایندهای بیولوژیک را وساطت می‌نمایند..... ۳۵۵

آنالیز کربوهیدرات‌ها ۳۵۹
خلاصه ۳۶۲
فصل ۱۰. نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک ۳۶۵
چند اصل ۳۶۵
نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک دارای بازها و پنتوزهای خاصی هستند ۳۶۵
پیوندهای فسفودی‌استری سبب اتصال نوکلئوتیدهای متوالی در اسیدهای نوکلئیک می‌شوند ۳۶۸
خصوصیات بازهای نوکلئوتیدی بر روی ساختمان سه‌بعدی اسیدهای نوکلئیک تأثیر دارند ۳۷۳
ساختمان اسید نوکلئیک ۳۷۵
DNA اطلاعات ژنتیکی را ذخیره می‌نماید ۳۷۵
ملکول‌های DNA دارای ترکیبات بازی مشخصی هستند ۳۷۷
DNA به‌صورت یک مارپیچ دوتایی است ۳۷۸
DNA می‌تواند اشکال سه‌بعدی مختلفی را داشته باشد ۳۸۰
بعضی از توالی‌های DNA ساختمان‌های غیرمعمول اتخاذ می‌نمایند ۳۸۳
ملکول‌های RNA پیک زنجیرهای پلی‌پپتیدی را کد می‌نمایند ۳۸۷
بسیاری از ملکول‌های RNA دارای ساختمان سه‌بعدی پیچیده‌تری هستند ۳۸۸
شیمی اسید نوکلئیک ۳۹۰
ملکول‌های DNA و RNA دورشته‌ای می‌توانند دناتوره شوند ۳۹۲
اسیدهای نوکلئیک گونه‌های مختلف، می‌توانند هیبرید تشکیل دهند ۳۹۴
نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک دچار تغییرات غیرآنزیمی می‌شوند ۴۰۵
بعضی از بازهای DNA متیله می‌باشند ۴۰۹
توالی رشته‌های طویل DNA را می‌توان تعیین نمود ۴۰۹
سنتز شیمیایی DNA اتوماتیک شده است ۴۱۰
سایر اعمال نوکلئوتیدها ۴۱۲
نوکلئوتیدها ناقل انرژی شیمیایی در داخل سلول‌ها هستند ۴۱۲
نوکلئوتیدهای آدنینی در ساختمان بسیاری از کوفکتورهای آنزیمی وجود دارند ۴۱۴
بعضی از نوکلئوتیدها ملکول‌های تنظیمی هستند ۴۱۶

خلاصه ۴۰۷

فصل ۱۱. لیپیدها ۴۰۹
لیپیدهای ذخیره‌ای ۴۰۹
اسیدهای چرب مشتقات هیدروکربنی هستند ۴۰۹
تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، استرهای اسید چرب می‌باشند ۴۱۲
تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها به‌عنوان انرژی ذخیره‌شده و عایق عمل می‌نمایند ۴۱۲
مواد غذایی متعددی حاوی تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها می‌باشند ۴۱۴
موم‌ها به‌عنوان ذخیره انرژی و دافع آب عمل می‌نمایند ۴۱۴
لیپیدهای ساختمانی موجود در غشاءها ۴۱۶
گلیسروفسفولیپیدها مشتقات اسید فسفاتیدیک هستند ۴۱۶
بعضی از فسفولیپیدها دارای اسیدهای چرب با اتصالات اتری می‌باشند ۴۱۸
اسفنگولیپیدها مشتقاتی از اسفنگوزین می‌باشند ۴۱۹
اسفنگولیپیدهای موجود در سطوح سلولی، جایگاه‌هایی برای شناسایی بیولوژیک هستند ۴۲۱
فسفولیپیدها و اسفنگولیپیدها توسط لیزوزومها تخریب می‌گردند ۴۲۲
استرول‌ها دارای حلقه‌های کربنی اتصال‌یافته به یکدیگر می‌باشند ۴۲۳
لیپیدها به‌عنوان پیام، کوفکتور و رنگدانه ۴۲۵
فسفاتیدیل‌اینوزیتول به‌عنوان پیام داخل‌سلولی عمل می‌نماید ۴۲۶
ایکوزانوئیدها حامل پیامهایی برای سلول‌های مجاور می‌باشند ۴۲۷
هورمون‌های استروئیدی حامل پیام بین بافت‌ها می‌باشند ۴۲۹
ویتامین‌های A و D، پیش‌سازهای هورمونی هستند ۴۲۹
ویتامین‌های E و K و کینونهای لیپیدی به‌عنوان کوفکتورهای اکسیداسیون-احیاء عمل می‌نمایند ۴۳۰
دولیکول پیش‌سازهای قندی را برای بیوسنتز فعال می‌نماید ۴۳۴
جداسازی و تجزیه لیپیدها ۴۳۴
استخراج لیپیدی نیاز به حلال‌های آلی دارد ۴۳۴
کروماتوگرافی جذبی سبب جداسازی لیپیدهای دارای قطبیت متفاوت می‌گردد ۴۳۴
گروماتوگرافی گاز-مایع سبب تفکیک مخلوطهای حاوی مشتقات لیپیدی فرار می‌گردد ... ۴۳۶
هیدرولیز اختصاصی به تعیین ساختمان لیپیدی کمک می‌نماید ۴۳۶

اسپکترومتری جرمی ساختمان لیپیدی را آشکار می‌سازد ۴۳۷
خلاصه ۴۳۷
فصل ۱۲. غشاءهای بیولوژیک و انتقال مواد ۴۳۹
اجزاء ملکولی غشاءها ۴۳۹
هر غشایی دارای لیپیدها و پروتئین‌های مشخصی می‌باشد ۴۴۰
معماری سوپراملکولی غشاءها ۴۴۲
تجمعات لیپیدهای دوگانه‌دوست در آب ۴۴۳
لیپیدهای غشایی در حرکت مداوم هستند ۴۴۴
پروتئین‌های غشایی به‌طور جانبی در دولایه انتشار می‌یابند ۴۴۷
بعضی پروتئین‌های غشایی بر روی دولایه لیپیدی پل می‌زنند ۴۴۷
پروتئین‌های محیطی غشاء براحتی محلول می‌شوند ۴۵۰
بعضی از پروتئین‌های محیطی به لیپیدهای دارای اتصال کووالان، متصل می‌باشند ۴۵۱
پروتئین‌های داخلی با ایجاد واکنش‌های متقابل آبگریز با لیپیدها، در داخل غشاء نگه داشته می‌شوند ۴۵۲
توپولوژی یک غشاء داخلی را گاهی می‌توان از توالی آن پیش‌بینی نمود ۴۵۶
پروتئین‌های داخلی، چسبندگی و واکنش‌های سلول-سلول را وساطت می‌نمایند ۴۵۸
دغام غشایی برای بسیاری از فرایندهای بیولوژیک مهم می‌باشد ۴۵۹
انتقال مواد از عرض غشاءها ۴۶۲
انتقال غیرفعال توسط پروتئین‌های غشایی وساطت می‌شوند ۴۶۳
اکواپورین‌ها کانال‌های آبدوستی در عرض غشاء برای عبور آب ایجاد می‌کنند ۴۶۵
انتقال‌دهنده گلوکز موجود در گلبول‌های قرمز، انتقال غیرفعال را وساطت می‌نمایند ۴۶۶
بیکربنات و کلرید در غشاء گلبول قرمز در یک زمان منتقل می‌گردند ۴۶۹
انتقال فعال منجر به حرکت یک ماده در برابر یک شیب غلظتی یا الکتروشیمیایی می‌گردد. ۴۷۱
حداقل چهار نوع عمومی ATPase انتقالی وجود دارد ۴۷۳
یک ATPase نوع P، انتقال همزمان Na^+ و Ka^+ را کاتالیز می‌نماید ۴۷۶
پمپ‌های کلسیمی وابسته به ATP، غلظت پایین کلسیم را در داخل سیتوزول حفظ می‌نمایند ۴۷۸
شیب‌های یونی انرژی مورد نیاز برای انتقال فعال ثانویه را فراهم می‌آورند ۴۸۰

کانال‌های یونی انتخابی امکان عبور سریع یون‌ها را در عرض غشاء فراهم می‌آورند..... ۴۸۲
ساختمان یک کانال K^+، اساس ویژگی یونی آن را نشان می‌دهد ۴۸۳
گیرنده استیل‌کولین یک کانال یونی دریچه‌دار وابسته به لیگاند می‌باشد ۴۸۵
کانال سدیمی نرون‌ها، یک کانال یونی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ می‌باشد ۴۸۶
عملکرد کانال یونی به طریق الکتریکی اندازه‌گیری می‌شود ۴۸۸
کانال‌های یونی ناقص می‌توانند عوارض فیزیولوژیک مهمی را داشته باشند..... ۴۸۸
پورین‌ها کانال‌هایی در عرض غشاء برای عبور ملکول‌های کوچک می‌باشند..... ۴۹۱
خلاصه..... ۴۹۳

فصل ۱۳. پیام‌رسانی بیولوژیک..... ۴۹۵
مکانیسم‌های ملکولی انتقال پیام..... ۴۹۶
کانال‌های یونی زمینه‌ساز پیام‌رسانی الکتریکی در سلول‌های قابل‌تحریک هستند..... ۴۹۹
گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین یک کانال بازشونده توسط لیگاند می‌باشد..... ۵۰۱
کانال‌های یونی بازشونده توسط ولتاژ، سبب تولید پتانسیل عمل عصبی می‌گردند..... ۵۰۲
در نرون‌ها کانال‌های گیرنده‌ای وجود دارد که به انواعی از نروترانسمیترها پاسخ می‌دهند..... ۵۰۴
آنزیم‌های گیرنده..... ۵۰۵
گیرنده انسولین یک پروتئین کیناز با ویژگی برای تیروزین می‌باشد..... ۵۰۵
گوانیلیل سیکلاز آنزیم گیرنده‌ای است که پیامبر دوم cGMP را تولید می‌نماید..... ۵۰۸
گیرنده‌های جفت‌شونده با پروتئین G و پیامبرهای دوم..... ۵۱۰
سیستم گیرنده β- آدرنرژیک از طریق پیامبر دوم cAMP عمل می‌کند..... ۵۱۱
گیرنده β-آدرنرژیک توسط فسفریلاسیون غیرحساس می‌گردد..... ۵۱۶
AMP حلقوی به‌عنوان یک پیامبر دوم برای تعدادی از ملکول‌های تنظیمی عمل می‌کند..... ۵۱۷
دو پیامبر دوم از فسفاتیدیل‌اینوزیتولها تولید می‌گردد..... ۵۱۸
کلسیم یک پیامبر دوم در بسیاری از مسیرهای انتقال پیام می‌باشد..... ۵۱۹
انتقال حس‌های بینایی، بویایی و چشایی ۵۲۲
نور سبب هیپرپلاریزاسیون سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی در چشم مهره‌داران می‌گردد..... ۵۲۲
نور تغییرات کونفورماسیونی را در گیرنده رودوپسین آغاز می‌نماید..... ۵۲۴

کانال‌های یونی انتخابی امکان عبور سریع یون‌ها را در عرض غشاء فراهم می‌آورند..... ۴۸۲
ساختمان یک کانال K^+، اساس ویژگی یونی آن را نشان می‌دهد ۴۸۳
گیرنده استیل‌کولین یک کانال یونی دریچه‌دار وابسته به لیگاند می‌باشد ۴۸۵
کانال سدیمی نرون‌ها، یک کانال یونی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ می‌باشد ۴۸۶
عملکرد کانال یونی به طریق الکتریکی اندازه‌گیری می‌شود ۴۸۸
کانال‌های یونی ناقص می‌توانند عوارض فیزیولوژیک مهمی را داشته باشند..... ۴۸۸
پورین‌ها کانال‌هایی در عرض غشاء برای عبور ملکول‌های کوچک می‌باشند..... ۴۹۱
خلاصه..... ۴۹۳

فصل ۱۳. پیام‌رسانی بیولوژیک..... ۴۹۵
مکانیسم‌های ملکولی انتقال پیام..... ۴۹۶
کانال‌های یونی زمینه‌ساز پیام‌رسانی الکتریکی در سلول‌های قابل‌تحریک هستند..... ۴۹۹
گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین یک کانال بازشونده توسط لیگاند می‌باشد..... ۵۰۱
کانال‌های یونی بازشونده توسط ولتاژ، سبب تولید پتانسیل عمل عصبی می‌گردند..... ۵۰۲
در نرون‌ها کانال‌های گیرنده‌ای وجود دارد که به انواعی از نروترنسمیترها پاسخ می‌دهند..... ۵۰۴
آنزیم‌های گیرنده..... ۵۰۵
گیرنده انسولین یک پروتئین کیناز با ویژگی برای تیروزین می‌باشد..... ۵۰۵
گوانیلیل سیکلاز آنزیم گیرنده‌ای است که پیامبر دوم cGMP را تولید می‌نماید ۵۰۸
گیرنده‌های جفت‌شونده با پروتئین G و پیامبرهای دوم..... ۵۱۰
سیستم گیرنده β- آدرنرژیک از طریق پیامبر دوم cAMP عمل می‌کند..... ۵۱۱
گیرنده β-آدرنرژیک توسط فسفریلاسیون غیرحساس می‌گردد..... ۵۱۶
AMP حلقوی به‌عنوان یک پیامبر دوم برای تعدادی از ملکول‌های تنظیمی عمل می‌کند..... ۵۱۷
دو پیامبر دوم از فسفاتیدیل‌اینوزیتولها تولید می‌گردد..... ۵۱۸
کلسیم یک پیامبر دوم در بسیاری از مسیرهای انتقال پیام می‌باشد..... ۵۱۹
انتقال حس‌های بینایی، بویایی و چشایی ۵۲۲
نور سبب هیپرپلاریزاسیون سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی در چشم مهره‌داران می‌گردد..... ۵۲۲
نور تغییرات کونفورماسیونی را در گیرنده رودوپسین آغاز می‌نماید..... ۵۲۴

رودوپسین تحریک‌شده از طریق ترانس‌دوسین G پروتئینی، در جهت کاهش غلظت cGMP عمل می‌کند ۵۲۵
تقویت پیام در سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی رخ می‌دهد ۵۲۶
پیام بینایی سریعاً خاتمه می‌یابد ۵۲۶
رودوپسین با فسفریلاسیون غیرحساس می‌گردد ۵۲۷
سلول‌های مخروطی دارای ویژگی برای بینایی رنگی هستند ۵۲۷
بویایی و چشایی مهره‌داران از مکانیسم‌های مشابه سیستم بینایی استفاده می‌کنند ۵۲۸
سیستم‌های گیرنده سرپنتین جفت‌شونده با پروتئین G، دارای خصوصیات مشترک متعددی هستند ۵۳۱
قطع پیام‌رسانی پروتئین G سبب بیماری می‌گردد ۵۳۲
فسفریلاسیون به‌عنوان یک مکانیسم تنظیمی ۵۳۳
موقعیت پروتئین کینازها و فسفاتازها بر روی ویژگی پروتئین‌های هدف اثر دارد ۵۳۴
تنظیم رونویسی توسط هورمون‌های استروئیدی ۵۳۴
تنظیم چرخه سلولی توسط پروتئین کینازها ۵۳۶
چرخه سلولی دارای چهار مرحله می‌باشد ۵۳۶
مقادیر پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین در نوسان است ۵۳۷
ملکول‌های CDK تقسیم سلولی را با فسفریلاسیون پروتئین‌های مهم تنظیم می‌کنند ۵۴۰
اونکوژن‌ها، ژن‌های ساپرس‌کننده تومور و مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده ۵۴۲
اونکوژن‌ها اشکال جهش‌یافته ژن‌های مربوط به پروتئین‌هایی هستند که چرخه سلولی را تنظیم می‌کنند ۵۴۲
نقص ژن‌های ساپرس‌کننده تومور سبب برداشت موانع طبیعی تقسیم سلولی می‌گردد ۵۴۴
آپوپتوزیس مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده می‌باشد ۵۴۵
خلاصه ۵۴۷

قسمت اول اساس بیوشیمی

۱ منطق ملکولی حیات
۲ سلول‌ها
۳ بیوملکول‌ها
۴ آب

پانزده تا بیست بیلیون سال قبل، جهان بصورت انفجار طوفانی از ذرات تحت‌اتمی داغ پرانرژی ایجاد گردید. ظرف چند ثانیه، ساده‌ترین عناصر (هیدروژن و هلیوم) ایجاد شدند. با انبساط و سرد شدن جهان، مواد تحت اثر نیروی جاذبه متراکم شده و ستاره‌ها را ایجاد نمودند. بعضی از ستاره‌ها بسیار بزرگ شده و سپس با انفجار، انرژی لازم برای ترکیب هسته‌های اتمی کوچکتر و ایجاد عناصر پیچیده‌تر را آزاد کردند. بنابراین، طی بیلیون‌ها سال، خود زمین و عناصر شیمیائی موجود بر روی زمین فعلی، ایجاد شدند. حدود چهار بیلیون سال قبل، حیات به شکل میکروارگانیسم‌های ساده‌ای ظاهر گردید که توانائی استخراج انرژی از مواد آلی یا نور خورشید را داشتند و از عناصر و ترکیبات ساده موجود در سطح زمین، برای تولید انواع مختلفی از **بیوملکول‌های** پیچیده‌تر استفاده می‌کردند. بیوشیمی می‌گوید که چطور هزاران بیوملکول مختلف با یکدیگر واکنش نموده تا خصوصیات برجسته موجودات زنده حاصل گردد.

شکل مقابل. Orion Nebula، توده بسیار بزرگ گازی که در آن ستاره‌های داغ و جوان سریعاً بدنبال انفجار طوفانی ایجاد می‌گردند. انرژی حاصل از انفجارات هسته‌ای در چنین آتشفشانی سبب ترکیب هسته اتمهای ساده و ایجاد عناصر پیچیده‌تر شده که زمین، اتمسفر و تمامی موجودات زنده از آنها تشکیل شده‌اند.

در قسمت اول، ابتدا جهت فراگیری بیوشیمی، خلاصه‌ای در مورد زمینه‌های بیولوژیکی و شیمیایی آن ارائه می‌گردد. موجودات زنده، از همان قوانین فیزیکی مورد استفاده برای تمامی فرایندهای طبیعی استفاده می‌کنند و با بحث پیرامون قوانین و قواعد کلی مشتق از آنها آغاز می‌کنیم (فصل ۱). این قواعد کلی، منطق بیولوژیک حیات را تشکیل می‌دهند که بوسیله آنها سلول‌ها از انرژی شیمیائی برای انجام کار استفاده می‌نمایند، تغییرات شیمیائی را کاتالیز می‌کنند، ملکول‌های پیچیده را از زیرواحدهای ساده‌تر ایجاد می‌نمایند، ساختمانهای سوپراملکولی را تشکیل می‌دهند که ماشین حیات می‌باشند و دستورات همایش تمامی نسل‌های بعدی موجودات از پیش‌سازهای ساده و غیرزنده را ذخیره و انتقال می‌دهند.

سلول‌ها، واحدهای تمامی موجودات زنده، دارای خصوصیات مشترک یکسانی می‌باشند؛ ولی سلول‌های موجودات مختلف، و انواع سلول‌های مختلف موجود در یک موجود زنده، از نظر ساختمانی و عملکرد تفاوت‌های عمده‌ای با یکدیگر دارند. فصل ۲ شرح مختصری بر خصوصیات مشترک و ایجاد تخصص‌های متنوع در سلول‌ها و همچنین فرایندهای تکاملی منتهی به چنین تنوعی، خواهد داشت.

تقریباً تمامی ترکیبات آلی که از آنها موجودات زنده ایجاد شده‌اند، حاصل فعالیت بیولوژیک هستند. این ملکول‌ها در طی دوره تکامل بیولوژیک برای تطابق خود با انجام اعمال بیوشیمائی و اختصاصی سلول، انتخاب شده‌اند. بیوملکول‌ها را می‌توان براساس همان اصطلاحات مورد استفاده در مورد ملکول‌های ماده بی‌جان، نظیر انواع پیوندهای موجود در بین اتم‌ها، عوامل مؤثر در ایجاد پیوند و قدرت پیوند، ساختمان‌های سه‌بعدی ملکول‌ها و واکنش‌های متقابل شیمیائی، شناسائی و درک نمود. ساختان سه‌بعدی در بیوشیمی دارای اهمیت ویژه‌ای می‌باشد. واکنش‌های متقابل بیولوژیک، مثل انواع موجود در بین آنزیم و سوبسترا، آنتی بادی و آنتی‌ژن، هورمون و گیرنده، شدیداً اختصاصی بوده و این ویژگی به واسطه مکمل فضائی و الکترواستاتیک بودن ملکول‌ها ایجاد می‌گردد. از جمله نیروهای برجسته پایدارکننده ساختمان سه‌بعدی، واکنش‌های متقابل غیرکووالان می‌باشد که به تنهائی ضعیف بوده ولی دارای اثرات جمعی مهمی هستند. فصل ۳ اساس شیمیائی مربوط به بحث‌های بعدی پیرامون ساختمان، کاتالیز و تبدیلات متقابل متابولیک کلاس‌های خاص بیوملکول‌ها را مطرح می‌نماید.

آب محیطی است که در آن سلول‌های اولیه ظاهر شده و حلالی است که بیشتر تغییرات بیوشیمیائی در آن به انجام می‌رسند. خصوصیات آب، به دوره تکاملی شکل می‌دهد، به علاوه ساختمان و واکنش‌های متقابل بیوملکول‌ها عمیقاً تحت تأثیر محلول‌های آبی قرار می‌گیرند که بیوملکول‌ها در داخل آن قرار دارند. واکنش‌های متقابل ضعیف موجود در داخل و بین بیوملکول‌ها، قویاً تحت تأثیر خصوصیات حلالی آب می‌باشند. حتی اجزاء نامحلول در آب سلول‌ها، نظیر لیپیدهای غشائی، به طریقی با یکدیگر واکنش می‌نمایند که توسط ویژگی‌های قطبی آب تعیین می‌گردد. در فصل ۴، خصوصیات آب، واکنش‌های متقابل غیرکووالان ضعیف بیوملکول‌ها در محلول‌های آبی و یونیزاسیون آب و مواد حل‌شده در محلول آبی مورد بحث قرار می‌گیرند.

این فصول ابتدائی قصد دارند که زمینه‌ای را برای بحث‌های بعدی در مورد ساختمان‌ها و واکنش‌های بیوشیمیائی فراهم آورند. زمینه قبلی شما در شیمی یا بیولوژی هر چه باشد، می‌توانید فوراً بحث را ادامه داده و بهره ببرید.

۱ منطق ملکولی حیات

موجودات زنده از ملکول‌های غیرزنده تشکیل شده‌اند. وقتی این ملکول‌ها بطورمجزا و جدا بررسی می‌شوند، از تمامی قوانین فیزیکی و شیمیائی مواد بی‌جان پیروی می‌نمایند. بااین حال، موجودات دارای نشانه‌های فوق‌العاده‌ای هستند که با هیچ نوع گردآوری اتفاقی ملکول‌ها سازگار نمی‌باشند. در این فصل، ابتدا ویژگی‌های موجودات زنده مورد توجه قرار می‌گیرد که آنها را از موارد دیگر جمع‌شدن مواد متمایز ساخته و سپس یک سری اصول برای تمایز تمامی موجودات زنده شرح داده خواهد شد. این اصول زیربنای سازماندهی موجودات و سلول‌های آنها بوده و چهارچوبی برای این کتاب می‌باشند. این اصول به شما کمک می‌نماید که در هنگام بررسی مثالهای توضیحی و تصویری موجود در این کتاب، تصاویر بزرگتری را در ذهن داشته باشید.

یگانگی شیمیائی موجودات زنده گوناگون

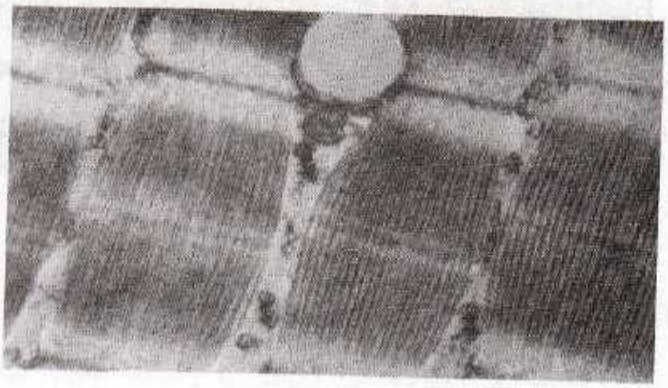
چه چیز سبب تمایز بین موجودات و مواد بی‌جان می‌گردد؟ اولین مورد پیچیدگی شیمیائی و سازماندهی آنها می‌باشد. ساختمان‌های داخلی پیچیده موجودات از هزاران ملکول مختلف تشکیل شده است (شکل a ۱-۱). برعکس، ماده بی‌جان (خاک رس، شن، صخره،آب دریا) معمولاً مخلوطی از ترکیبات شیمیائی نسبتاً ساده می‌باشند.

دوم، عصاره موجودات زندهانرژی را، معمولاً به شکل مواد غذائی و نور خورشید، از محیط خود دریافت نموده، تغییر داده و مورد استفاده قرار می‌دهد (شکل b۱-۱). این انرژی موجودات را قادر می‌سازد تا ساختمان‌های پیچیده خود را ساخته و حفظ نموده و اعمال مکانیکی، شیمیائی، اسموتیک و غیره را انجام دهند. ماده بی‌جان انرژی را به طریق سیستمیک و پویا برای حفظ ساختمان خود و یا انجام کار، مورد استفاده قرار نمی‌دهد؛ بلکه تمایل دارد تخریب و به یک حالت نامنظم‌تر تبدیل شده تا با محیط اطراف خود به تعادل برسد.

سومین مورد به ظرفیت موجودات زنده برای خود-همانندسازی[1] و خود-همایش[2] دقیق آنها ارتباط دارد که برای حالت زنده می‌باشد (شکل c۱-۱). یک سلول باکتریائی که در یک محیط غذائی استریل قرار داده می‌شود، می‌تواند ظرف ۲۴ ساعت منجر به تولید یک بیلیون سلول «دختر» گردد. هر کدام از این سلول‌ها حاوی هزاران ملکول مختلف بوده که تعدادی از آنها فوق‌العاده پیچیده هستند؛ با اینحال هر باکتری نسخه دقیقی از سلول ابتدائی است و ساخته‌شدن آن تماماً توسط اطلاعات موجود در ماده ژنتیکی سلول مادر هدایت می‌گردد.

هرچند توانائی در خود - همانندسازی هیچ مورد مشابه واقعی در دنیای مواد بی‌جان ندارد، یک شباهت آموزنده در رشد کریستال‌ها در محلول‌های اشباع‌شده وجود دارد. در هنگام تشکیل کریستال، مواد بیشتری تولید می‌شود که از نظر ساختمان شبکه‌ای مشابه کریستال «بذر» ابتدائی می‌باشند. کریستال‌ها پیچیدگی بسیار کمتری نسبت به ساده‌ترین موجودات زنده داشته و ساختمان آنها، برخلاف ساختمان پویا سلول‌های زنده، ساکن می‌باشد. با این وجود، توانائی‌کریستال‌ها در تولید خود منجر شد که اروین شرودینگر فیزیکدان، مقاله مشهور خود «زندگی

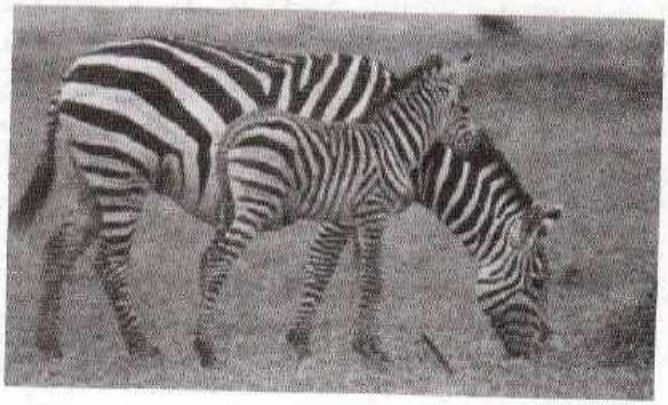
1. Self-replication 2. Self-assembly



(a)



(b)



شکل ۱-۱. بعضی خصوصیات ماده زنده. (a) در این برش نازک بافت عضلانی مهره‌داران با میکروسکوپ الکترونی، پیچیدگی و سازماندهی میکروسکوپی آشکار می‌باشد. (b) یک باز مواد غذائی خود را با خوردن یک پرنده کوچکتر تأمین می‌نماید. (c) تولیدمثل بیولوژیک با صحت تقریباً کامل صورت می‌پذیرد.



Erwin Schrödinger
1887-1961

چیست؟» را به این‌گونه طرح نماید که ماده ژنتیکی سلول‌ها می‌بایست بعضی از خصوصیات یک کریستال را داشته باشد. یادداشت‌های ۱۹۴۴ شرودینگر (سال‌ها قبل از شناخت امروزی ما در مورد ساختمان ژن)، بعضی از ویژگی‌های اسید داکسی‌نوکلئیک، ماده ژن‌ها، را به‌طور نسبتاً صحیحی شرح می‌دهد.

هر کدام از موجودات زنده دارای عمل مشخصی هستند. این موضوع نه تنها در مورد ساختمان‌های ماکروسکوپی، نظیر برگ، ریشه یا قلب و ریه، بلکه همچنین در مورد ساختمان‌های داخل‌سلولی میکروسکوپی، نظیر هسته یا کلروپلاست، و ترکیبات شیمیائی خاص، صادق است. فعل‌وانفعالات بین اجزاء شیمیائی یک موجود زنده پویا می‌باشد؛ تغییرات یک جزء منجر به تغییرات هماهنگ یا جبرانی در جزء دیگر شده و کل همایش ویژگی فراتر از ویژگی هر کدام از اجزاء خاص را نشان می‌دهد. همایش ملکول‌ها برنامه‌ای را به اجرا درمی‌آورد که پایان آن تکثیر این برنامه و خود - جاودانگی[1] آن همایش ملکولی، بطورخلاصه، زندگی، می‌باشد.

بیوشیمی اشکال متنوع زندگی را در اصطلاحات شیمیائی یکی‌کننده توجیه می‌نماید

اگر موجودات زنده از ملکول‌هائی تشکیل شده باشند که ذاتاً بی‌جان هستند، چطور این ملکول‌ها ترکیبی مشخص از ویژگی‌ها را ایجاد می‌نمایند که ما به آن زندگی می‌گوئیم؟ چطور یک موجود زنده می‌تواند بیش از مجموع قسمت‌های بی‌جان خود باشد؟ مطالعه بیوشیمی نشان می‌دهد که چطور مجموعه‌های ملکول‌های بی‌جان تشکیل‌دهنده موجودات زنده، با یکدیگر واکنش متقابل داشته تا تنها با اصول شیمیائی مورد استفاده در دنیای مواد بی‌جان، حیات را حفظ و جاودانه نمایند.

1. Self - perpetuation



شکل ۲-۱. موجودات زنده متنوع دارای خصوصیات شیمیائی مشترک هستند. پرندگان، چهارپایان، گیاهان و میکروارگانیسم‌های خاک، دارای واحدهای ساختمانی (سلول‌های) یکسان بوده و ماکروملکول‌های (DNA، RNA، پروتئین‌های) مشابهی را دارند که از زیرواحدهای منومری (نوکلئوتیدها، اسیدهای آمینه) یکسانی تشکیل شده‌اند. این موجودات از مسیرهای یکسانی برای سنتز اجزاء سلولی استفاده نموده، دارای رمز ژنتیکی مشابهی بوده و از اجداد تکاملی یکسانی ایجاد شده‌اند. ("Garden of Eden"، توسط Jan Van Kessel؛ ۱۶۷۹-۱۶۲۶).

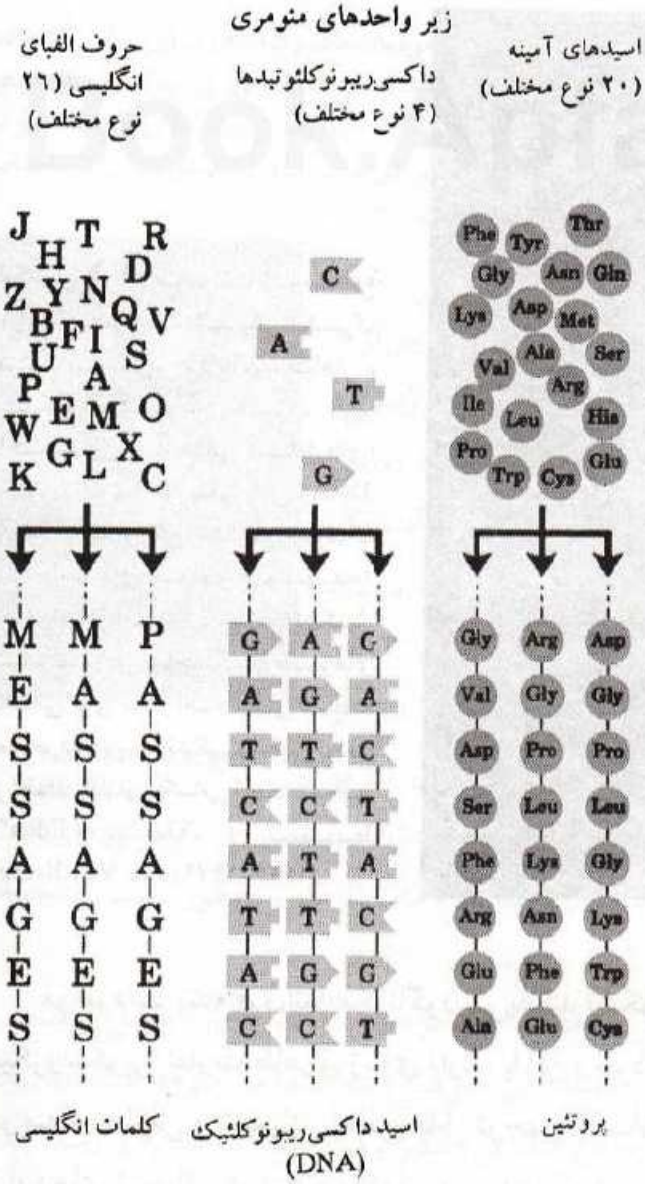
موجودات زنده فوق‌العاده گوناگون می‌باشند (شکل ۲-۱). پرندگان، چهارپایان، درختان، علف‌ها و موجودات میکروسکوپی تفاوت ظاهری زیادی دارند. با این وجود، تحقیقات بیوشیمیائی نشان داده است که تمامی موجودات در سطح سلولی و شیمیائی به‌طور قابل توجهی یکسان هستند. بیوشیمی به شرح ساختمان‌ها، مکانیسم‌ها و فرایندهای شیمیائی در سطح ملکولی می‌پردازد که در بین تمامی موجودات مشترک بوده و اصولی را فراهم می‌آورد که تمامی اشکال متنوع زندگی را در بر می‌گیرند؛ به این اصول مجموعاً *منطق ملکولی حیات* گوئیم. هرچند بیوشیمی دیدگاه‌ها و کاربردهای عملی مهمی در پزشکی، کشاورزی، تغذیه و صنعت دارد، توجه نهائی آن به خود شگفتی حیات است.

علی‌رغم یگانگی اساسی حیات، نکات کلی بسیار کمی در مورد موجودات زنده، برای هر موجود زنده و تحت هر شرایطی کاملاً صادق می‌باشد. دامنه محل‌های طبیعی که در آنها موجودات زنده زندگی می‌کنند، از استوا تا قطب شمال[1]، از روده حیوانات تا خوابگاه‌های دانشجوئی[2]، بوسیله دامنه وسیعی از تطابق‌های بیوشیمیایی مربوطه، ممکن شده است که در یک چهارچوب شیمیائی مشترک حاصل می‌گردند. برای اطمینان از شفافیت، گاهی بعضی از مطالب تعمیم داده شده است که می‌تواند مفید باشد؛ به‌علاوه اغلب به موارد استثناء اشاره می‌گردد که به روشن‌شدن اصول کلی علمی کمک می‌نماید.

تمامی ماکروملکول‌ها از چند ترکیب ساده ساخته شده‌اند

اکثر اجزاء ملکولی سیستم‌های زنده از اتم‌های کربن تشکیل شده‌اند که با پیوندهای کووالان به اتم‌های کربن

1. Arctic tundra - hot springs
2. college dormitories



شکل ۳-۱. زیرواحده‌های منومری موجود در توالی‌های خطی می‌توانند پیام‌های ترکیبی بی‌نهایتی را ایجاد نمایند. تعداد توالی‌های مختلف ممکن (S) بستگی به تعداد انواع مختلف زیرواحدها (N) و طول توالی خطی (L) دارد: $S = N^L$ برای پروتئینی با اندازه متوسط (L حدود ۴۰۰)، S برابر 20^{400}، یک عدد نجومی، می‌باشد.

دیگرو همچنین هیدروژن، اکسیژن یا نیتروژن متصل شده‌اند. ویژگی‌های اختصاصی اتصال کربن امکان ایجاد انواع زیادی از ملکول‌ها را فراهم می‌سازد. ترکیبات آلی با وزن مکولی (جرم ملکولی نسبی، M_r نیز گفته می‌شود)[1] کمتر از حدود ۵۰۰، نظیر اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها و منوساکاریدها، بعنوان **زیرواحدهای منومری ماکروملکول‌ها**، شامل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پلی‌ساکاریدها، عمل می‌نمایند. یک ملکول واحد پروتئینی ممکن است ۱,۰۰۰ یا تعداد بیشتری اسید آمینه داشته باشد و یک اسید داکسی‌نوکلئیک میلیون‌ها نوکلئوتید دارد.

هر سلول باکتری (*Escherichia coli* (*E.coli*) از هزاران نوع ترکیب آلی، شامل هزاران پروتئین مختلف، تعداد مشابهی ملکول اسید نوکلئیک و صدها نوع کربوهیدرات و لیپید، تشکیل شده است. در انسان ممکن است دهها هزار پروتئین مختلف به همراه انواع زیادی از پلی‌ساکاریدها (زنجیرهائی از قندهای ساده)، انواعی از لیپیدها و بسیاری از ترکیبات دیگر با وزن ملکولی کمتر، وجود داشته باشد.

تخلیص و شناسائی کامل تمامی این ملکول‌ها یک کار موفقیت‌آمیز بوده و مشخص شده هر کلاس ماکرومکول‌ها (پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پلی‌ساکاریدها) از یک سری معمول زیرواحدهای منومری تشکیل شده‌اند. این زیرواحدهای منومری می‌توانند در توالی‌های دارای تنوع واقعاً نامحدود، درست همانند ۲۶ حرف الفبای انگلیسی که می‌توانند به شکل تعداد نامحدودی لغت و جمله و کتاب آرایش یابند، به یکدیگر متصل شوند (شکل ۳-۱).

اسیدهای داکسی‌ریبونوکلئیک (DNA) از تنها چهار نوع مختلف زیرواحدهای منومری ساده، داکسی‌ریبونوکلئوتید،

---

۱. اصطلاحاتی که برای نشان دادن اندازه یک ملکول مورد استفاده قرار می‌گیرند، اغلب گیج‌کننده هستند، در این کتاب از وزن مولکولی یا Mr با جرم مولکولی نسبی (نسبت جرم یک ملکول به یک دوازدهم جرم ^{12}C) استفاده می‌شود. بیان صحیح اندازه یک مولکول را همچنین می‌توان با جرم مولکولی (m) بیان نمود که واحد آن دالتون (Da) یا واحد جرم اتمی (amu) می‌باشد. هرگز نباید اندازه یک ملکول را با وزن مولکولی یا Mr (فاقد واحد) همراه با واحد جرم اتمی یا دالتون بیان نمود.

تشکیل شده‌اند. **اسیدهای ریبونوکلئیک (RNA)** نیز تنها از چهار نوع ریبونوکلئوتید ساخته شده‌اند. **پروتئین‌ها** از ۲۰ نوع اسید آمینه مختلف تولید می‌شوند. هشت نوکلئوتیدی که تمامی اسیدهای نوکلئیک از آنها ساخته می‌شوند، به همراه ۲۰ اسید آمینه متفاوت موجود در پروتئین‌ها، در تمامی موجودات زنده یکسان می‌باشند. توالی اختصاصی زیرواحدهای منومری همراه با آرایش آنها در فضا، ماکروملکول‌ها را به‌صورت ژن‌ها، کاتالیست‌ها، هورمون‌ها و غیره، درآورده تا اعمال بیولوژیک خاص خود را انجام دهند.

بیشتر زیرواحدهای منومری که تمامی ماکروملکول‌ها از آنها ساخته می‌شوند، بیش از یک وظیفه را در موجودات زنده انجام می‌دهند. نوکلئوتیدها نه تنها بعنوان زیرواحد اسیدهای نوکلئیک، بلکه همچنین بعنوان ملکول‌های حامل انرژی ایفاء نقش می‌کنند. اسیدهای آمینه زیرواحدهای پروتئین‌ها بوده و بعنوان پیش‌ساز هورمون‌ها، نوروترانسمیترها، رنگدانه‌ها و بسیاری انواع دیگر بیوملکول‌ها عمل می‌نمایند.

حال می‌توان بعضی از اصول منطق ملکولی حیات را بیان نمود:

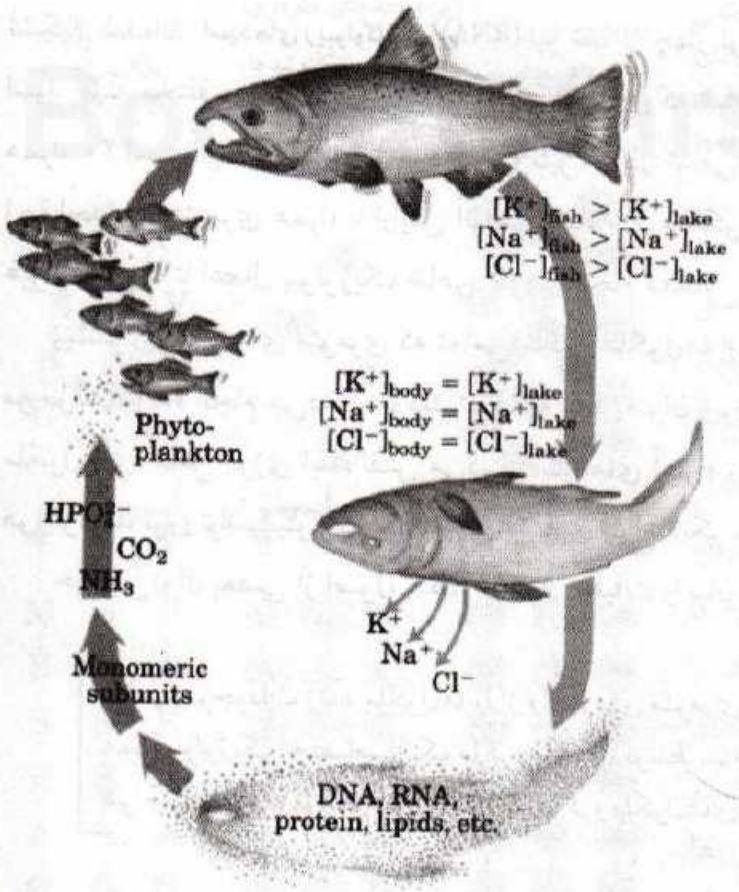
> *تمامی موجودات زنده ملکول‌ها را از واحدهای منومری یکسان می‌سازند.*
> *عمل بیولوژیک اختصاصی یک ماکروملکول، توسط ساختمان آن تعیین می‌گردد.*
> *هر جنس و گونه توسط سری متفاوت ماکروملکول‌های آن تعریف می‌گردد.*

تولید و مصرف انرژی در متابولیسم

انرژی موضوع اصلی بیوشیمی است: سلول‌ها و موجودات وابسته به منبع دائمی انرژی هستند تا با تمایل شدید موجود در ماهیت یک سیستم برای تخریب‌شدن و رسیدن به کمترین سطح انرژی، مقابله نمایند. ذخیره و بیان اطلاعات نیاز به صرف انرژی دارد و بدون آنها، حتماً ساختمان‌های دارای اطلاعات، نامنظم و بی‌معنی می‌شوند. واکنش‌های سنتتیک که در داخل سلول رخ می‌دهند، همانند فرایندهای سنتتیک در هر کارخانه دیگر، نیاز به دادن انرژی دارد. انرژی برای حرکت باکتری یا دونده المپیک یا در دشارژ الکتریکی یک مارماهی مورد استفاده قرار می‌گیرد. سلول‌ها مکانیسم‌های بسیار کارآمدی را برای جفت‌نمودن انرژی حاصل از نورخورشید یا سوخت‌ها با بسیاری از فرایندهای مصرف انرژی در داخل خود، ایجاد نموده‌اند.

موجودات هرگز با محیط اطراف خود به تعادل نمی‌رسند

یکی از اولین پیشرفت‌ها در تکامل بیولوژیک، ایجاد یک غشاء روغنی می‌باشد که ملکول‌های محلول در آب را در سلول اولیه در بر گرفته و با جداسازی آنها این امکان را ایجاد می‌نماید که بتوان آنها را در غلظت‌های نسبتاً بالا جمع نمود. ملکول‌ها و یون‌های موجود در داخل موجودات زنده از نظر نوع و غلظت، متفاوت از محیط اطراف موجود زنده می‌باشند. برای مثال، سلول‌های یک ماهی آبهای شیرین حاوی یون‌های معدنی خاصی با غلظت‌های بسیار متفاوت از آب اطراف آن است (شکل ۴-۱). پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، قندها و چربی‌ها در ماهی موجود بوده ولی اساساً در محیط دیده نمی‌شوند؛ در حالی که محیط از ملکول‌های کوچکتری، نظیر دی‌اکسید کربن، اکسیژن ملکولی و آب، تشکیل شده است. تنها با مصرف پیوسته انرژی، ماهی می‌تواند اجزاء خود را با غلظت‌های متفاوت از محیط اطراف ایجاد و حفظ نماید. وقتی ماهی می‌میرد، اجزاء آن نهایتاً با محیط اطراف به تعادل می‌رسد.



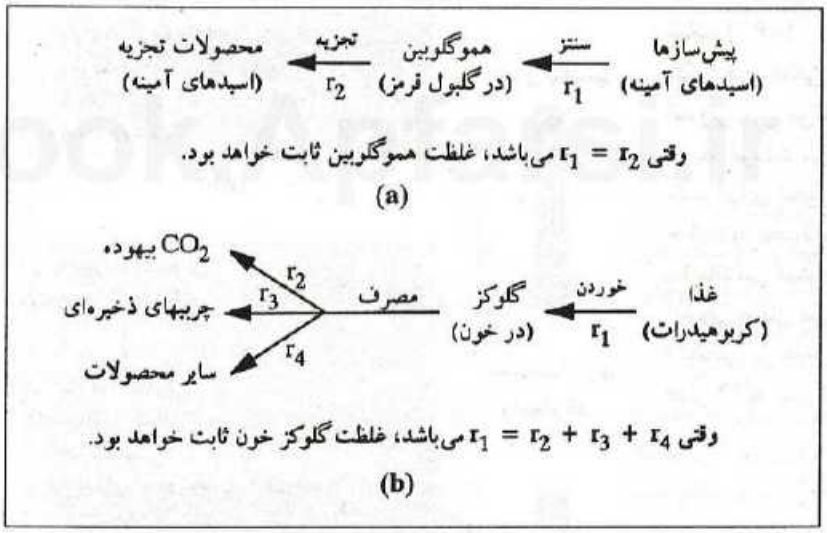
شکل ۴-۱. موجودات زنده در حالت تعادل با محیط اطراف خود نمی‌باشند. مرگ و تجزیه سبب ایجاد تعادل می‌گردد. در طی زندگی، ماهی انرژی مواد غذائی را برای ساختن ملکول‌های پیچیده و افزایش غلظت یون‌ها در مقایسه بامحیط صرف می‌نماید. بعد از مرگ، دیگر استخراج انرژی از مواد غذائی صورت نگرفته و بنابراین حفظ شیب‌های غلظتی ممکن نخوهد بود و یون‌ها به خارج نشت می‌کنند. اجزاء ماکروملکول‌ها به ترکیبات ساده‌تر تجزیه می‌گردند. این ترکیبات ساده به‌عنوان منبع غذائی توسط گیاهان میکروسکوپی و جلبک (فیتوپلانکتون) مصرف شده که خود بعداً توسط موجودات بزرگتر خورده می‌شوند. (طبق قرارداد کروشه‌ها غلظت مواد، در این حالت یونها، را نشان می‌دهند).

ترکیب ملکولی یک حالت پویای پایدار را نشان می‌دهد

هرچند ترکیب شیمیائی یک موجود ممکن است در طول زمان تقریباً ثابت بماند، جمعیت ملکول‌های موجود در داخل یک سلول یا موجود زنده از حالت سکون دور می‌باشد. در طی واکنش‌های مداوم شیمیائی، ملکول‌ها سنتز و نکسته می‌شوند؛ این فرایندها مستلزم جریان ثابتی از جرم و انرژی در سراسر سیستم می‌باشند. ملکول‌های هموگلوبینی که هم‌اکنون اکسیژن را از ریه‌ها به مغز ما انتقال می‌دهند، در طی ماه گذشته ساخته شده‌اند؛ تا ماه بعد، این ملکول‌ها تخریب شده و توسط ملکول‌های جدید جایگزین می‌گردند. گلوکزی که در طی آخرین وعده غذائی خورده‌اید، حالا وارد گردش خون شما شده است؛ قبل از اتمام روز، این ملکول‌های گلوکز به ترکیبات دیگری، نظیر دی‌اکسید کربن یا چربی، تبدیل شده و با منبع جدید گلوکز جایگزین می‌گردد. مقادیر خونی هموگلوبین و گلوکز تقریباً ثابت باقی می‌ماند، زیرا سرعت سنتز یا تولید هرکدام درست متعادل با سرعت تجزیه، مصرف یا تبدیل آنها به محصول دیگر می‌باشد (شکل ۵-۱). این ثبات در غلظت نتیجه **حالت پایدار پویا** می‌باشد.

موجودات انرژی و ماده را از محیط اطراف خود می‌گیرند

سلول‌های زنده برای ادامه حیات لازم است کار انجام داده و تکثیر یابند. سنتز مداوم اجزاء سلولی نیاز به کار شیمیائی دارد؛ تجمع یا احتباس املاح و ترکیبات آلی در برابر شیب غلظتی، مستلزم کار اسموتیک بوده و انقباض یک عضله یا حرکت یک فلاژل باکتری، بیانگر کارهای مکانیکی می‌باشند. بیوشیمی، فرایندهای استخراج، هدایت و مصرف انرژی را مورد بررسی قرار می‌دهد، ازاینرو شناخت اصول پایه **بیوانرژتیک** (تغییرات و تبادلات انرژی که موجودات زنده به آنها وابسته هستند) ضروری است.



شکل ۵-۱. حالت پایدار پویا. حالت پایدار پویا زمانی حاصل می‌گردد که سرعت ایجاد یک جزء سلولی دقیقاً برابر سرعت ناپدیدشدن آن باشد. در این‌طرح، r_1، r_2 و غیره، سرعت فرایندهای مختلف را نشان می‌دهند. در **(a)**، یک پروتئین (هموگلوبین) سنتز و سپس تخریب می‌گردد. در **(b)**، گلوکز حاصل از مواد غذائی (یا از ذخایر کربوهیدراتی) در بعضی بافت‌ها (روده، کبد) وارد گردش خون شده و سپس طی مسیرهای متابولیکی مختلف توسط سایر بافت‌ها (قلب، مغز، عضله اسکلتی) مورد استفاده قرار می‌گیرد. غلظت‌های حالت پایدار هموگلوبین و گلوکز توسط مکانیسم‌های پیچیده‌ای حفظ می‌گردد که سبب تنظیم سرعت‌های نسبی فرایندهای نشان داده شده در اینجا می‌شوند.

برای واکنش‌های بیوشیمیائی که در محلول رخ می‌دهند، می‌توان یک سیستم را بصورت تمامی واکنشگرها و محصولات موجود، حلال و اتمسفر مجاور (بطورخلاصه، هر چیز موجود در داخل ناحیه مشخصی از فضا) تعریف نمود. سیستم به همراه محیط اطراف آن را مجموعاً **جهان** گویند. درصورتی که سیستم نه تبادل ماده و نه تبادل انرژی با محیط انجام دهد، به آن سیستم **بسته** گویند. در حالی که اگر سیستم تنها تبادل انرژی با محیط انجام داده و ماده‌ای را تبادل نکند، به آن سیستم **منزوی** گفته می‌شود؛ و بالاخره، درصورتیکه سیستم هم تبادل ماده و هم تبادل انرژی با محیط انجام دهد، سیستم **باز** خواهد بود.

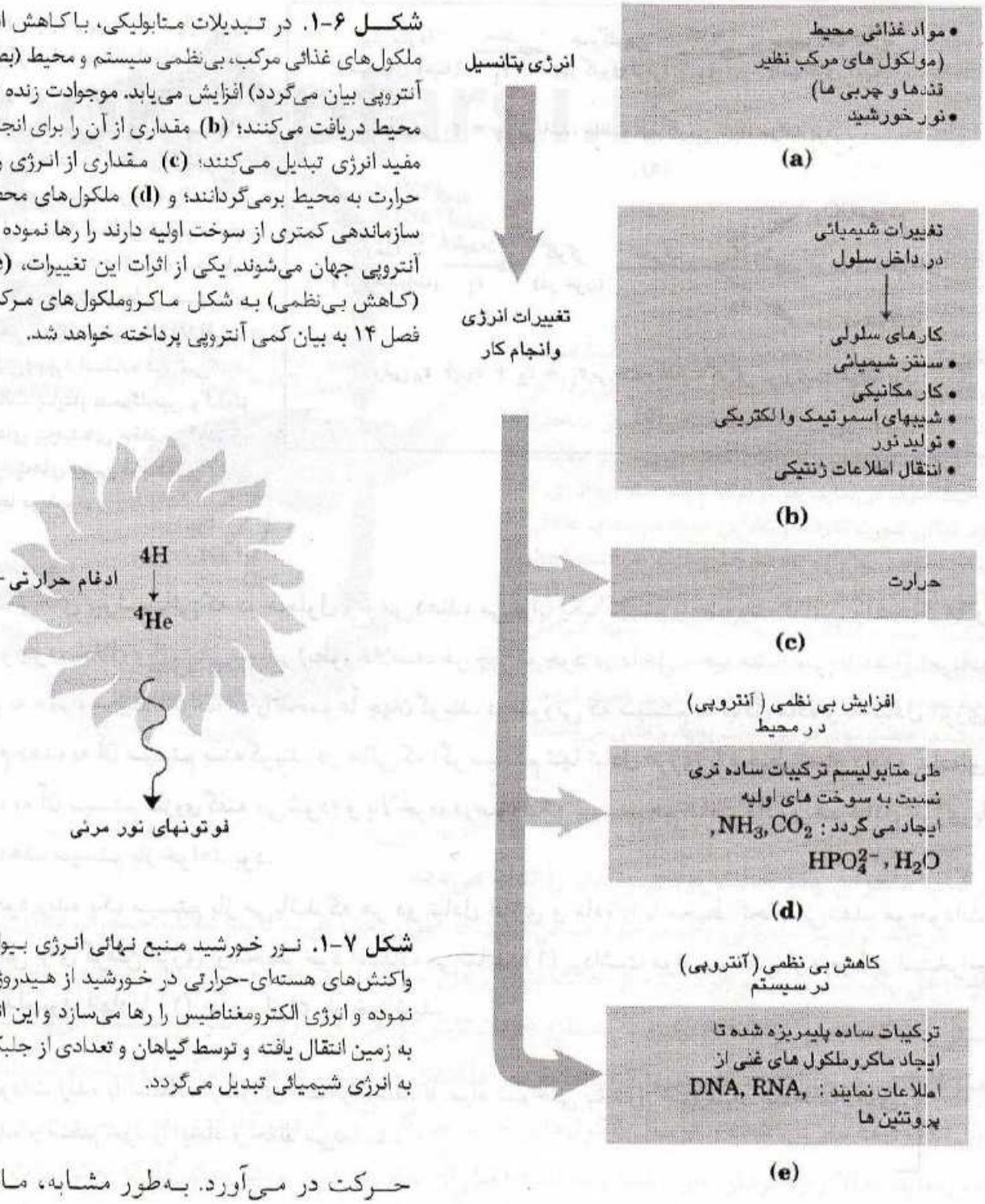
یک موجود زنده یک سیستم باز می‌باشد که هر دو تبادل انرژی و ماده را با محیط انجام می‌دهد. موجودات زنده از دو روش برای گرفتن انرژی از محیط خود استفاده می‌نمایند: (۱) برداشت مواد سوختی از محیط و استخراج انرژی با اکسیداسیون آنها؛ یا (۲) جذب انرژی از خورشید.

> *موجودات زنده با استفاده از انرژی استخراج‌شده از مواد سوختی یا نور خورشید، ساختمان‌های پیچیده و منظم خود را ایجاد و حفظ می‌نمایند.*

اولین قانون ترمودینامیک که ازقواعد فیزیکی و شیمیائی بدست آمده و برای سیستم‌های بیولوژیک کاملاً معتبر می‌باشد، اصل حفظ انرژی را شرح می‌دهد:

> *در هر تغییر فیزیکی و شیمیائی، میزان کل انرژی جهان ثابت باقی مانده ولی شکل انرژی ممکن است تغییر نماید.*

سلول‌ها مبدل‌های انرژی هستند که می‌توانند انرژی شیمیائی، الکترومغناطیسی، مکانیکی و اسموتیک را با کارآئی بالا به یکدیگر تبدیل نمایند (شکل ۶-۱). مبدل‌های انرژی بیولوژیک برخلاف بسیاری از ماشین‌ها در دما و فشار مشخصی عمل می‌نمایند. برای مثال، ماشین بخار، انرژی شیمیائی موجود در سوخت را به انرژی حرارتی تبدیل نموده و با افزایش درجه حرارت آب تا نقطه جوش آن سبب ایجاد فشار بخار شده که یک وسیله مکانیکی را به



شکل ۶-۱. در تبدیلات متابولیکی، با کاهش انرژی پتانسیل ملکول‌های غذائی مرکب، بی‌نظمی سیستم و محیط (بطورکمی بصورت آنتروپی بیان می‌گردد) افزایش می‌یابد. موجودات زنده **(a)** انرژی را از محیط دریافت می‌کنند؛ **(b)** مقداری از آن را برای انجام کار به اشکال مفید انرژی تبدیل می‌کنند؛ **(c)** مقداری از انرژی را نیز به‌صورت حرارت به محیط برمی‌گردانند؛ و **(d)** ملکول‌های محصول انتهائی که سازماندهی کمتری از سوخت اولیه دارند را رها نموده و سبب افزایش آنتروپی جهان می‌شوند. یکی از اثرات این تغییرات، **(e)** افزایش نظم (کاهش بی‌نظمی) به شکل ماکروملکول‌های مرکب می‌باشد. در فصل ۱۴ به بیان کمی آنتروپی پرداخته خواهد شد.



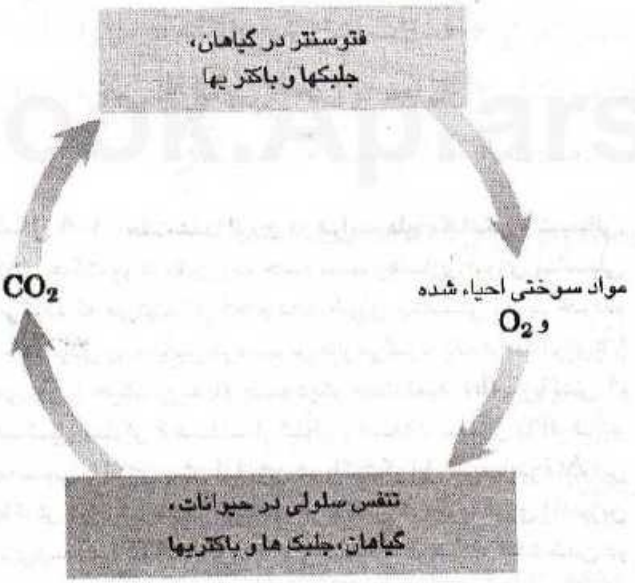
شکل ۷-۱. نور خورشید منبع نهائی انرژی بیولوژیک می‌باشد. واکنش‌های هسته‌ای-حرارتی در خورشید از هیدروژن تولید هلیوم نموده و انرژی الکترومغناطیس را رها می‌سازد و این انرژی بصورت نور به زمین انتقال یافته و توسط گیاهان و تعدادی از جلبک‌ها و باکتری‌ها به انرژی شیمیائی تبدیل می‌گردد.

حرکت در می‌آورد. به‌طور مشابه، ماشین احتراق داخلی، متکی بر تغییرات درجه حرارت و فشار می‌باشد. در حالی که، تمامی قسمت‌های موجود زنده می‌بایست در دما و فشار یکسانی عمل نموده و بنابراین جریان حرارتی منبع مهم انرژی برای آنها نمی‌باشد.

سلول‌های زنده موتورهای شیمیائی هستند که در دمای ثابت عمل می‌نمایند.

انرژی مورد نیاز موجودات از جریان الکترون‌ها حاصل می‌گردد

تقریباً تمامی موجودات زنده انرژی را، بطور مستقیم یا غیرمستقیم، از انرژی تشعشعی نور خورشید کسب می‌نمایند که خود حاصل واکنش‌های هسته‌ای هستند که در خورشید رخ می‌دهند (شکل ۷-۱). سلول‌های فتوسنتتیک انرژی خورشید را جذب نموده و آن را برای انتقال الکترون‌ها از آب به دی‌اکسید کربن مورد استفاده قرار



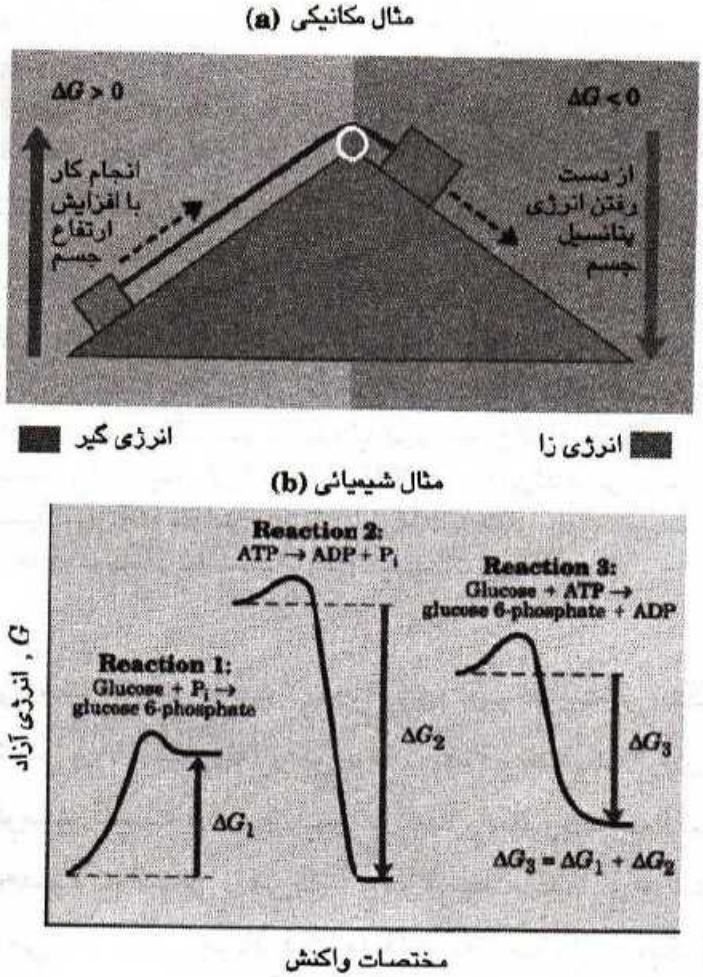
شکل ۸-۱. موجودات فتوسنتتیک (گیاهان، بعضی جلبک‌ها و بعضی باکتری‌ها) تولیدکننده‌های نهائی مواد سوختی (ترکیبات احیاءشده غنی از انرژی) در زمین هستند. انرژی نور خورشید سبب سنتز مواد سوختی نظیر سوکروز و نشاسته، به همراه O_2 بعنوان محصول فرعی می‌گردند. سپس این مواد سوختی یا خود موجودات فتوسنتتیک بعنوان یک منبع غذائی توسط حیوانات مصرف شده که برای تأمین انرژی، سوکروز و نشاسته را (با استفاده از O_2 و تولید CO_2) اکسیده می‌کنند. این فرایند اکسیداسیون مواد سوختی (تنفس سلولی)، منبع انرژی برای متابولیسم در هر دو موجودات فتوسنتتیک و غیرفتوسنتتیک می‌باشد.

می‌دهند تا تولید محصولات پرانرژی، نظیر نشاسته و سوکروز، همراه با رهاسازی اکسیژن ملکولی به اتمسفر، کنند (شکل ۸-۱). سلول‌ها و موجودات غیرفتوسنتتیک انرژی مورد نیاز خود را از اکسیداسیون محصولات پرانرژی فتوسنتز بدست آورده و سپس با انتقال الکترون‌ها به اکسیژن اتمسفری، تولید آب، دی‌اکسید کربن و سایر محصولات انتهائی را می‌کنند که در محیط مجدداً به چرخش در می‌آیند. در واقع تمامی تبدیلات انرژی در سلول‌ها را می‌توان با این جریان الکترون‌ها از یک ملکول به ملکول دیگر، در جریانی «سرازیر» از پتانسیل الکتروشیمیائی بالاتر به پائین‌تر، زیر نظر گرفت؛ این انتقال مشابه جریان الکترون‌ها در یک مسیر الکتریکی با استفاده از انرژی باطری می‌باشد. تمامی این واکنش‌ها که مستلزم جریان الکترون می‌باشند از انواع **واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء** هستند؛ یک واکنشگر اکسیده شده (الکترون از دست می‌دهد) و واکنشگر دیگر احیاء می‌گردد (الکترون می‌گیرد).

> *انرژی مورد نیاز تمامی موجودات، به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم، از انرژی خورشیدی تأمین می‌گردد. جریان الکترون‌ها در واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء زمینه تبدیلات انرژی در سلول‌های زنده می‌باشد. موجودات زنده وابسته به‌یکدیگر بوده و انرژی و ماده را از طریق محیط تبادل می‌نمایند.*

جفت‌شدن انرژی، واکنش‌ها را به یکدیگر متصل می‌نماید

موضوع اصلی در بیوانرژتیک، وسیله‌ای است که توسط آن انرژی حاصل از متابولیسم مواد سوختی یا تسخیر نور با واکنش‌های نیازمند به انرژی جفت می‌گردد. توجه به مثال ساده مکانیکی جفت‌شدن انرژی در شکل ۹a-۱ مفید می‌باشد. با انتقال یک شیء به قله شکل نشان داده شده، میزان مشخصی انرژی پتانسیل در آن شیء ایجاد می‌گردد. این شیء تمایل دارد که بطورخودبخودی به پائین لغزیده و با رسیدن به زمین، انرژی پتانسیل خود را ازدست بدهد. وقتی سقوط به پائین این شیء توسط یک وسیله مناسب نخ و قرقره با شیء کوچکتر دیگری در پائین جفت شود، حرکت خودبخودی روبه پائین شیء بزرگتر، شیء کوچکتر را بالا کشیده و مقدار مشخصی کار انجام می‌شود.(میزان انرژی که برای انجام کار دردسترس می‌باشد را **انرژی آزاد**، G، گویند که همواره قدری کمتر از میزان انرژی است که از نظر تئوری آزاد می‌گردد، زیرا مقداری از انرژی به‌علت اصطکاک و حرارت از دست می‌رود. هرچه میزان افزایش ارتفاع شیء بزرگتر نسبت به موقعیت اولیه آن بیشتر باشد، در هنگام لغزیدن به سمت پائین، انرژی بیشتری آزاد شده و میزان کار بیشتری می‌توان با آن انجام داد.



شکل ۹-۱. جفت‌شدن انرژی در فرایندهای مکانیکی و شیمیائی. **(a)** حرکت رو به پائین یک جسم سبب رهاسازی انرژی پتانسیلی می‌گردد که می‌تواند کار انجام دهد. انرژی پتانسیلی که با حرکت خودبخودی رو به پائین در دسترس قرار می‌گیرد، یک فرایند انرژی‌زا را می‌توان با حرکت رو به بالا جسم دیگر جفت نمود. **(b)** در واکنش ۱، تشکیل گلوکز ۶-فسفات از گلوکز و فسفات معدنی (Pi)، تولید محصولی با انرژی بیش از انرژی دو واکنشگر اول می‌نماید. ΔG این واکنش انرژی‌گیر مثبت می‌باشد. در واکنش ۲، تجزیه انرژی‌زا آدنوزین تری‌فسفات (ATP؛ شکل ۱۰-۱ را ببینید)، در هنگام جفت‌شدن دو واکنش، می‌تواند سبب انجام یک واکنش انرژی‌گیر شود. واکنش انرژی‌زا دارای تغییر انرژی آزاد (ΔG_2) منفی بزرگی بوده و واکنش انرژی‌گیر دارای تغییر انرژی آزاد (ΔG_1) مثبت کوچکتری است. واکنش سوم مجموع واکنش‌های ۱ و ۲ بوده و تغییر انرژی آزاد (ΔG_3) آن برابر جمع ریاضی ΔG_1 و ΔG_2 می‌باشد. ازآنجائیکه میزان ΔG_3 منفی است، واکنش کلی انرژی‌زا بوده و بطورخودبخودی به انجام می‌رسد.

واکنش‌های شیمیائی نیز می‌توانند طوری با یکدیگر جفت شوند که واکنش آزادکننده انرژی، انجام یک واکنش انرژی‌گیر را ممکن سازد. واکنش‌های شیمیائی در سیستم‌های بسته به‌طور خودبخودی ادامه یافته تا به **تعادل** برسند. وقتی یک سیستم به تعادل می‌رسد، سرعت تولید محصول دقیقاً برابر با سرعت تبدیل محصول به واکنشگر می‌باشد. بنابراین تغییر خالصی در غلظت مواد واکنشگر و محصولات رخ نداده و یک «حالت پایدار» حاصل می‌گردد. تغییر انرژی حاصل از حرکت سیستم از حالت ابتدائی به حالت تعادل، بدون تغییر در درجه حرارت یا فشار، توسط **تغییر انرژی آزاد، ΔG**، بیان می‌گردد. بزرگی ΔG بستگی به نوع واکنش شیمیائی و میزان دوری سیستم در حالت ابتدائی از حالت تعادل، دارد. هر ترکیبی که در یک واکنش شیمیائی شرکت می‌نماید، دارای مقدار مشخصی انرژی پتانسیل می‌باشد که ارتباط با نوع و تعداد پیوندها دارد. در واکنش‌هائی که بطور خودبخودی به انجام می‌رسند، محصولات دارای انرژی آزاد کمتری از مواد واکنشگر بوده و بنابراین طی واکنش، انرژی آزاد شده که می‌تواند برای انجام کار مورد استفاده قرار گیرد. این واکنش‌ها را **انرژی‌زا**[1] گویند؛ کاهش انرژی آزاد از واکنشگرها تا محصولات را به‌صورت یک مقدار منفی نشان می‌دهند. واکنش‌های **انرژی‌گیر**[2]، نیاز به دریافت انرژی داشته و بنابراین مقادیر ΔG آنها مثبت می‌باشد. همانند فرایندهای مکانیکی، تنها قسمتی از انرژی رهاشده در واکنش‌های گرمازا بیوشیمیائی، می‌تواند برای انجام کار مورد استفاده قرار گیرد. در سیستم‌های زنده، مقداری از انرژی بصورت حرارت از دست رفته و یا سبب افزایش آنتروپی (معیاری از بی‌نظمی) می‌گردد که در فصل ۱۴ بیشتر مورد بحث قرار خواهد گرفت.

در موجودات زنده، همانند مثال مکانیکی شکل ۹a-۱، یک واکنش انرژی‌زا را می‌توان با یک واکنش یا فرایند

1. Exergonic 2. Endergonic

انرژی‌گیر جفت نمود. شکل ۹b-۱ این اصل را در مورد واکنش سنتز گلوکز ۶-فسفات نشان می‌دهد که در سلول‌های عضلانی به انجام می‌رسد. ساده‌ترین راه تولید گلوکز ۶-فسفات، واکنش ۱ خواهد بود که انرژی‌گیر می‌باشد. (Pi مخفف فسفات معدنی، HPO_4^{2-} است. جزئیات ساختمانی این ترکیبات را بعداً بررسی خواهیم نمود.)

واکنش ۱: $\text{Glucose} + P_i \longrightarrow \text{glucose 6-phosphate}$ (انرژی‌گیر، ΔG مثبت است)

در این واکنش، محصول دارای انرژی بیش از واکنشگرها می‌باشد.

در سلول‌های زنده، واکنش دوم بسیاری گرمازائی می‌تواند رخ دهد:

واکنش ۲: $ATP \longrightarrow ADP + P_i$ (انرژی‌زا، ΔG منفی است)

در این واکنش، محصولات حاوی انرژی کمتری از واکنشگر بوده و طی واکنش انرژی آزاد می‌گردد. در هر دو این واکنش‌های شیمیائی، یک ترکیب واسط مشترک، Pi، وجود دارد که در واکنش اول مصرف شده و در واکنش دوم تولید می‌گردد. این دو واکنش می‌توانند به شکل یک واکنش سوم با یکدیگر جفت گردند که می‌توان آن را به‌صورت مجموع واکنش‌های ۱ و ۲، همراه با حذف ترکیب واسط مشترک Pi از دو طرف معادله، نوشت:

واکنش ۳: $\text{Glucose} + ATP \longrightarrow \text{glucose 6-phosphate} + ADP$

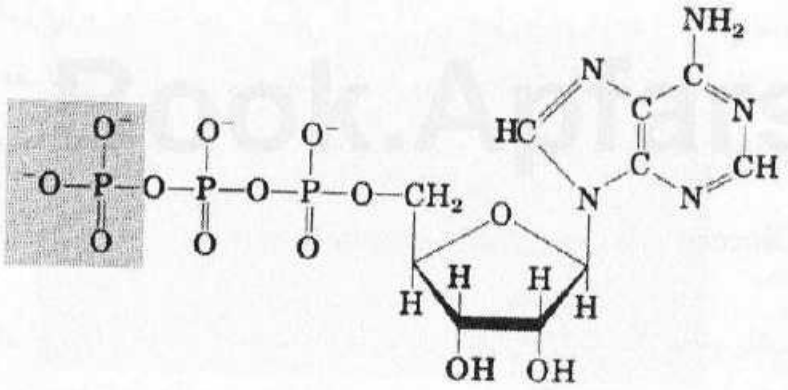
ازآنجائی که طی واکنش ۲ انرژی بیشتری، در مقایسه با انرژی مصرفی در واکنش ۱، تولید می‌گردد، واکنش ۳ انرژی‌زا خواهد بود: مقداری از انرژی آزاد می‌گردد (ΔG_3 در شکل ۹b-۱). بنابراین سلول‌های زنده، با جفت‌نمودن واکنش‌های ۱ و ۲، سبب کاتالیز یک واکنش مستقیم بین گلوکز و ATP و تولید گلوکز ۶-فسفات می‌شوند.

جفت‌شدن واکنش‌های انرژی‌زا با انواع انرژی‌گیر در تبادلات انرژی در سیستم‌های زنده کاملاً اساسی است. مکانیسم جفت‌شدن انرژی در واکنش‌های بیولوژیکی، از طریق یک ترکیب واسط مشترک می‌باشد. خواهیم دید که واکنش ۲ شکل ۹b-۱، شکسته‌شدن **آدنوزین تری‌فسفات (ATP)**، واکنش انرژی‌زائی است که انجام بسیاری از فرایندهای انرژی‌گیر را در سلول‌ها ممکن می‌سازد. در حقیقت، ATP (شکل ۱۰-۱) حامل اصلی انرژی شیمیائی در سلول‌ها بوده که فرایندهای انرژی‌زا را با انواع انرژی‌خواه جفت می‌نماید. گروه فسفریل انتهائی ATP که در شکل ۱۰-۱ سایه‌دار است، به انواع مختلفی از ملکول‌های گیرنده انتقال یافته و به موجب آن این ملکول‌ها برای واکنش‌های بعدی فعال می‌گردند. آدنوزین دی‌فسفات (ADP) باقی‌مانده، با صرف انرژی شیمیائی (طی اکسیداسیون مواد سوختی) یا انرژی خورشیدی (در سلول‌های فتوسنتتیک)، مجدداً به ATP تبدیل (فسفریله) می‌گردد.

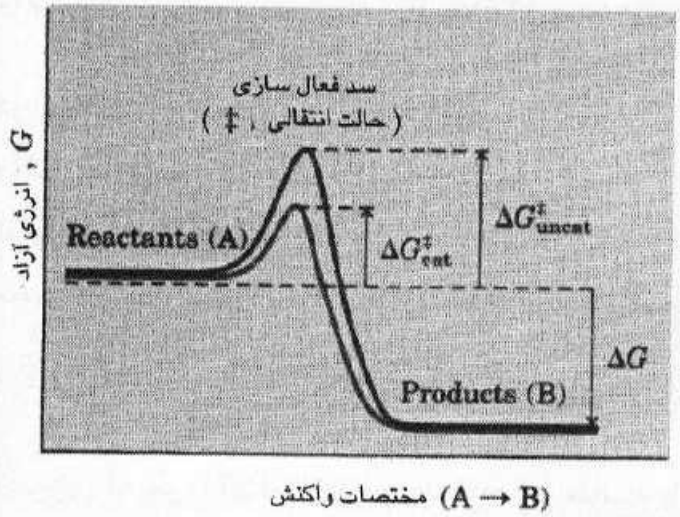
انجام واکنش‌های سلولی انرژی‌گیر بواسطه جفت‌شدن آنها با فرایندهای شیمیائی یا فتوشیمیائی انرژی‌زا، از طریق ترکیبات شیمیائی مشترک، به انجام می‌رسند.

آنزیم‌ها توالی‌های واکنش‌های شیمیائی را تسریع می‌کنند

یک واکنش انرژی‌زا لزوماً به سرعت پیشرفت نمی‌نماید. مسیر تبدیل واکنشگر(ها) به محصول(ها)، تقریباً همیشه مواجه با یک سد انرژی، بنام سد فعال‌سازی، می‌باشد (شکل ۱۱-۱) که می‌بایست برای انجام هر واکنشی بر آن فائق آمد. شکستن پیوندهای موجود و ایجاد پیوندهای جدید، عموماً نیاز به تغییرشکل پیوندهای موجود و ایجاد



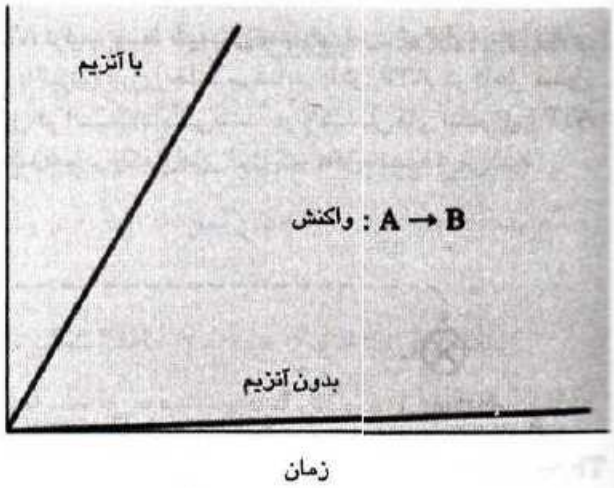
شکل ۱۰-۱. آدنوزین تری‌فسفات (ATP). برداشت گروه فسفریل انتهائی ATP (سایه‌دار) شدیداً انرژی‌زا بوده و همانند مثال ذکر شده در شکل ۹b-۱، این واکنش با واکنش‌های انرژی‌زا متعددی در سلول جفت می‌گردد.



شکل ۱۱-۱. تغییرات انرژی در طی یک واکنش شیمیائی. برای تبدیل واکنشگرها (A) به محصولات (B)، لازم است بر یک سد فعال‌سازی (که حالت انتقالی را نشان می‌دهد) غلبه نمود. این ضرورت حتی در موارد پایدارتربودن محصولات در مقایسه با واکنشگرها که با تغییر انرژی آزاد (ΔG) منفی بزرگ نشان داده شده است، وجود دارد. انرژی مورد نیاز برای غلبه بر این سد فعال‌سازی، انرژی فعال‌سازی ($\Delta G^{\ddagger}$) می‌باشد. آنزیم‌ها واکنش‌ها را با کاهش سد فعال‌سازی کاتالیز می‌کنند. آنزیم‌ها به ترکیبات واسط حالت انتقالی بطورمحکم متصل شده و انرژی اتصالی این واکنش **بطورمؤثری** سبب کاهش انرژی فعال‌سازی از $\Delta G^{\ddagger}_{uncat}$ به $\Delta G^{\ddagger}_{cat}$ می‌گردد. (توجه داشته باشید که انرژی فعال‌سازی ارتباطی با تغییر انرژی آزاد واکنش یا ΔG ندارد.)

یک **حالت انتقالی** با انرژی آزاد بیش از واکنشگر یا محصول، دارد. بلندترین نقطه در این شکل واکنش، حالت زودگذر را نشان می‌دهد.

در واقع هر واکنش شیمیائی سلول تنها به دلیل وجود **آنزیم‌ها** با سرعت قابل اندازه‌گیری به انجام می‌رسند. آنزیم‌ها بیوکاتالیست‌هائی هستند که همانند تمامی کاتالیست‌های دیگر، بدون مصرف‌شدن، منجر به افزایش شدید سرعت واکنش‌های شیمیائی اختصاصی می‌گردند. آنزیم‌ها سد انرژی موجود در بین واکنشگر و محصول را کاهش می‌دهند. **انرژی فعال‌سازی** ($\Delta G^{\ddagger}$؛ شکل ۱۱-۱) مورد نیاز برای غلبه بر این سد انرژی را می‌توان با گرم‌نمودن مخلوط واکنش تأمین کرد که به موجب آن انرژی کینتیک ملکول‌ها، فراوانی تصادم آنها با یکدیگر و احتمال واکنش آنها با یکدیگر افزایش می‌یابد. هرچند این عمل در سلول‌های زنده که عموماً دمای ثابتی را دارند، غیرعملی است. در حقیقت، بسیاری از اجزاء سلولی (پروتئین‌ها، غشاءها) با افزایش تنها چند درجه دمای داخلی طبیعی موجود زنده، غیرفعال می‌شوند. در عوض، آنزیم‌ها با استفاده از مزیت اثرات اتصالی، سرعت واکنش‌ها را افزایش می‌دهند. دو یا چند واکنشگر در فاصله نزدیکی به یکدیگر و با جهت‌گیری‌های فضائی مناسب که واکنش بین آنها را مساعد می‌نماید، در سطح آنزیم به یکدیگر اتصال می‌یابند. با ترکیبی از این نزدیکی و جهت‌گیری، احتمال تصادم‌های مؤثر بین واکنشگرها به میزان بسیار زیادی، نسبت به فرایند بدون کاتالیز که در آن واکنشگرها به‌طور تصادفی در سراسر محلول آبی انتشار یافته و جهت‌گیری می‌یابند، افزایش می‌یابد. به علاوه، واکنشگرها خودشان در طی فرایند اتصال به آنزیم، دچار تغییراتی در شکل می‌شوند که آنها را به سمت حالت انتقالی سوق داده و به موجب آن انرژی فعال‌سازی را کاهش داده و سرعت واکنش را بسیار زیاد می‌نماید (شکل ۱۲-۱). ارتباط بسیار نزدیکی بین انرژی



شکل ۱۳-۱. آنزیم سبب افزایش سرعت یک واکنش شیمیائی می‌گردد. در حضور یک آنزیم اختصاصی برای تبدیل واکنشگر A به محصول B، سرعت واکنش ممکن است به مقدار بسیار زیادی نسبت به واکنش بدون کاتالیز، افزایش یابد. همانند تمامی کاتالیست‌ها، آنزیم در این فرایند مصرف نمی‌گردند؛ یک ملکول آنزیم می‌تواند بطورمکرر عمل نموده و تعداد زیادی از ملکول‌های A را به B تبدیل نماید.

فعال‌شدن و سرعت واکنش وجود دارد؛ تغییر کوچک در $\Delta G^{\ddagger}$ منجر به افزایش بسیار بزرگ سرعت واکنش می‌گردد. واکنش‌هائی که توسط آنزیم‌ها کاتالیز می‌گردند، با سرعتی تا 10^{10} تا 10^{14} برابر بیش از واکنش‌های کاتالیزنشده به انجام می‌رسند.

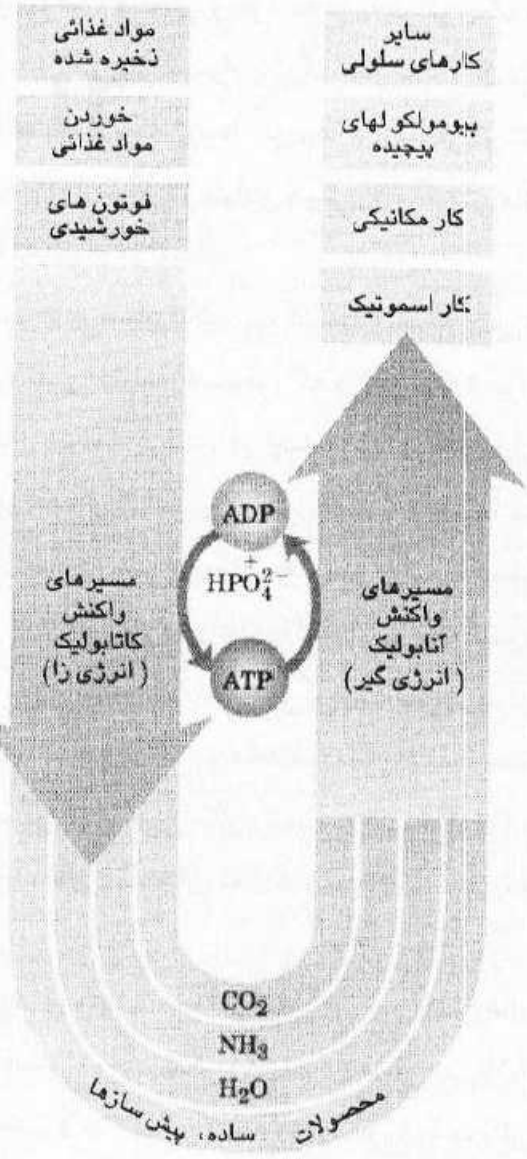
کاتالیست‌های متابولیک، به استثناء چند مورد، ساختمان پروتئینی دارند (همانطور که در فصل ۲۶ مورد بحث قرار قرار خواهد گرفت، در چند مورد ملکول‌های RNA دارای اعمال کاتالیتیک می‌باشند.) مجدداً به استثناء چند مورد، هر پروتئین آنزیمی یک واکنش اختصاصی را کاتالیز نموده و هر واکنشی در یک سلول توسط یک آنزیم متفاوت کاتالیز می‌گردد. ازاینرو، برای هر سلول نیاز به هزاران آنزیم مختلف می‌باشد. تعداد آنزیم‌ها، ویژگی آنها (توانائی تمایز واکنشگرها) و حساسیت آنها به تنظیم، به سلول‌ها این امکان را می‌دهد که بتوانند بطورانتخابی سدهای فعال‌سازی را پائین بیاورند. این موضوع اهمیت زیادی در تنظیم مؤثر فرایندهای سلولی دارد.

هزاران واکنش آنزیمی موجود در سلول‌ها، از نظر عملکرد در توالی‌های متعدد مختلفی متشکل از واکنش‌های متوالی، بنام **مسیرها**، سازماندهی می‌گردند که در آنها محصول یک واکنش، واکنشگر واکنش بعدی می‌باشد (شکل ۱۳-۱). بعضی از مسیرها منجر به تخریب مواد غذائی آلی به محصولات انتهائی ساده‌شده تا انرژی شیمیائی موجود در آنها را استخراج نموده و یا آنها را به شکل مفید برای سلول تبدیل نمایند. درکل این واکنش‌های تخریبی تولیدکننده انرژی آزاد را **کاتابولیسم** گویند. سایر مسیرها با ملکول‌های پیش‌ساز کوچکتر شروع شده و همراه با تبدیل آنها به ملکول‌های بزرگتر و پیچیده‌تر، نظیر پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، می‌باشند. این مسیرها بطورثابتی نیاز به انرژی دارند و در مجموع به آنها **آنابولیسم** اتلاق می‌گردد. شبکه کلی این مسیرهای آنزیمی، **متابولیسم** سلولی را تشکیل می‌دهند. ATP رابط اتصالی (ترکیب واسط مشترک) اصلی بین اجزاء کاتابولیکی و آنابولیکی این شبکه می‌باشد (شکل ۱۴-۱). این سیستم‌های ارتباط‌یافته واکنش‌های آنزیمی که بر روی اجزاء اصلی سلول (پروتئین‌ها، چربی‌ها، قندها و اسیدهای نوکلئیک) عمل می‌نمایند، در تمامی موجودات زنده یکسان می‌باشند.

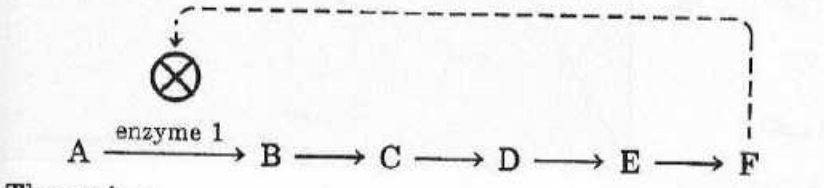
ATP حامل همگانی انرژی متابولیک بوده که مسیرهای کاتابولیک را با آنابولیک جفت می‌نماید.

$$A \xrightarrow{\text{enzyme 1}} B \xrightarrow{\text{enzyme 2}} C \xrightarrow{\text{enzyme 3}} D \xrightarrow{\text{enzyme 4}} E \xrightarrow{\text{enzyme 5}} F$$

شکل ۱۳-۱. یک مسیر متابولیکی خطی. در این مسیر، واکنشگر A طی پنج مرحله به محصول F تبدیل می‌شود که هر کدام از این مراحل توسط یک آنزیم اختصاصی کاتالیز می‌گردد.



شکل ۱۴-۱. ATP ترکیب واسط شیمیائی مشترکی است که فرایندهای سلولی رهاکننده انرژی را با گیرنده انرژی جفت می‌نماید. نقش ATP در داخل سلول همانند پول در اقتصاد می‌باشد: در واکنش‌های انرژی‌زا ATP «بدست‌آمده/تولیدشده» و در واکنش‌های انرژی‌گیر «خرج/مصرف» می‌شود.



شکل ۱۵-۱. مهار پس‌نوردی. تنظیم توسط مهار پس‌نوردی در یک مسیر شاخص سنتتیک (آنابولیک). در باکتری *E.coli* اسید آمینه ترئونین طی پنج مرحله به اسید آمینه ایزولوسین تبدیل می‌گردد که هر کدام از این مراحل توسط یک آنزیم اختصاصی کاتالیز می‌گردند. (حروف A تا F ترکیبات یا ترکیبات واسط را نشان می‌دهند.) تجمع محصول ایزولوسین (F) با اتصال آن به آنزیم کاتالیزکننده اولین واکنش این مسیر و کاهش فعالیت آن، سبب مهار اولین واکنش مسیر می‌گردد.

متابولیسم تنظیم می‌گردد تا به تعادل و صرفه‌جوئی برسد

سلول‌های زنده نه تنها به‌طور هم‌زمان هزاران نوع متفاوت ملکول‌های کربوهیدرات، چربی، پروتئین و اسید نوکلئیک و زیرواحدهای ساده‌تر آنها را سنتز می‌نمایند، بلکه این عمل را طوری انجام می‌دهند تا نسبت‌های دقیق مورد نیاز سلول تولید گردد. برای مثال، در هنگام رشد سریع، لازم است پیش‌سازهای پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به مقادیر زیاد ساخته شوند، در حالی که نیاز به این پیش‌سازها در سلول‌هائی که در حال رشد نمی‌باشند، به میزان زیادی کاهش می‌یابد. آنزیم‌های کلیدی موجود در هر مسیر به طریقی تنظیم می‌گردند که هر کدام از این پیش‌سازها به مقداری متناسب با نیازهای جاری سلول تولید می‌گردند. مسیر سنتز ایزولوسین را در نظر بگیرید که به‌عنوان یکی از اسیدهای آمینه، زیرواحد منومری، تولید پروتئین می‌باشد (شکل ۱۵-۱). درصورتیکه سلول شروع به سنتز ایزولوسین بیش از میزان مورد نیاز برای سنتز پروتئین بنماید، ایزولوسینی که مورد استفاده قرار نمی‌گیرد، تجمع می‌یابد. غلظت‌های بالای ایزولوسین فعالیت کاتالیتیک اولین آنزیم مسیر را مهار نموده و فوراً تولید این اسید آمینه را کاهش می‌دهد. این **مهار پس‌نوردی**، تولید و مصرف هر ترکیب واسط متابولیک را متعادل نگه می‌دارد.

سلول‌های زنده همچنین سنتز کاتالیست‌ها یا آنزیم‌های خود را تنظیم می‌نمایند. بنابراین، وقتی یک محصول خاص به اندازه کافی وجود دارد، سلول می‌تواند سنتز آنزیم مورد نیاز برای تولید آن محصول را متوقف سازد. این خصوصیات خود-تنظیمی به سلول امکان می‌دهد که علی‌رغم تغییر در محیط خارجی، حالت پایدار پویا خود را حفظ نماید.

موجودات زنده، ماشین‌های شیمیائی خود-تنظیم هستند که دائماً برای حداکثر صرفه‌جوئی تنظیم می‌گردند.

انتقال اطلاعات بیولوژیک

برای ادامه حیات گونه‌های بیولوژیک، لازم است که اطلاعات ژنتیکی مربوط به آنها به شکل پایداری حفظ شده و همچنین این اطلاعات بتوانند در همان زمان با کمترین اشتباه بیان گردند. ذخیره کارآمد و بیان صحیح پیام ژنتیکی، گونه‌های خاص را مشخص نموده، آنها را از یکدیگر متمایز نموده و تداوم آنها را در طی نسل‌های متوالی تضمین می‌نماید.

ماهیت و ساختمان سه‌بعدی ماده ژنتیکی، اسید داکسی‌ریبونوکلئیک یا DNA، از جمله کشفیات اصلی و سرنوشت‌ساز بیولوژی قرن بیستم، می‌باشد. توالی داکسی‌ریبونوکلئوتیدها در این پلیمر خطی، دستورات لازم برای ایجاد سایر اجزاء سلولی را کد نموده و در هنگام تقسیم سلولی، قالبی را برای تولید ملکول‌های DNA مشابه جهت انتقال به سلول‌های دختر، فراهم می‌آورد.

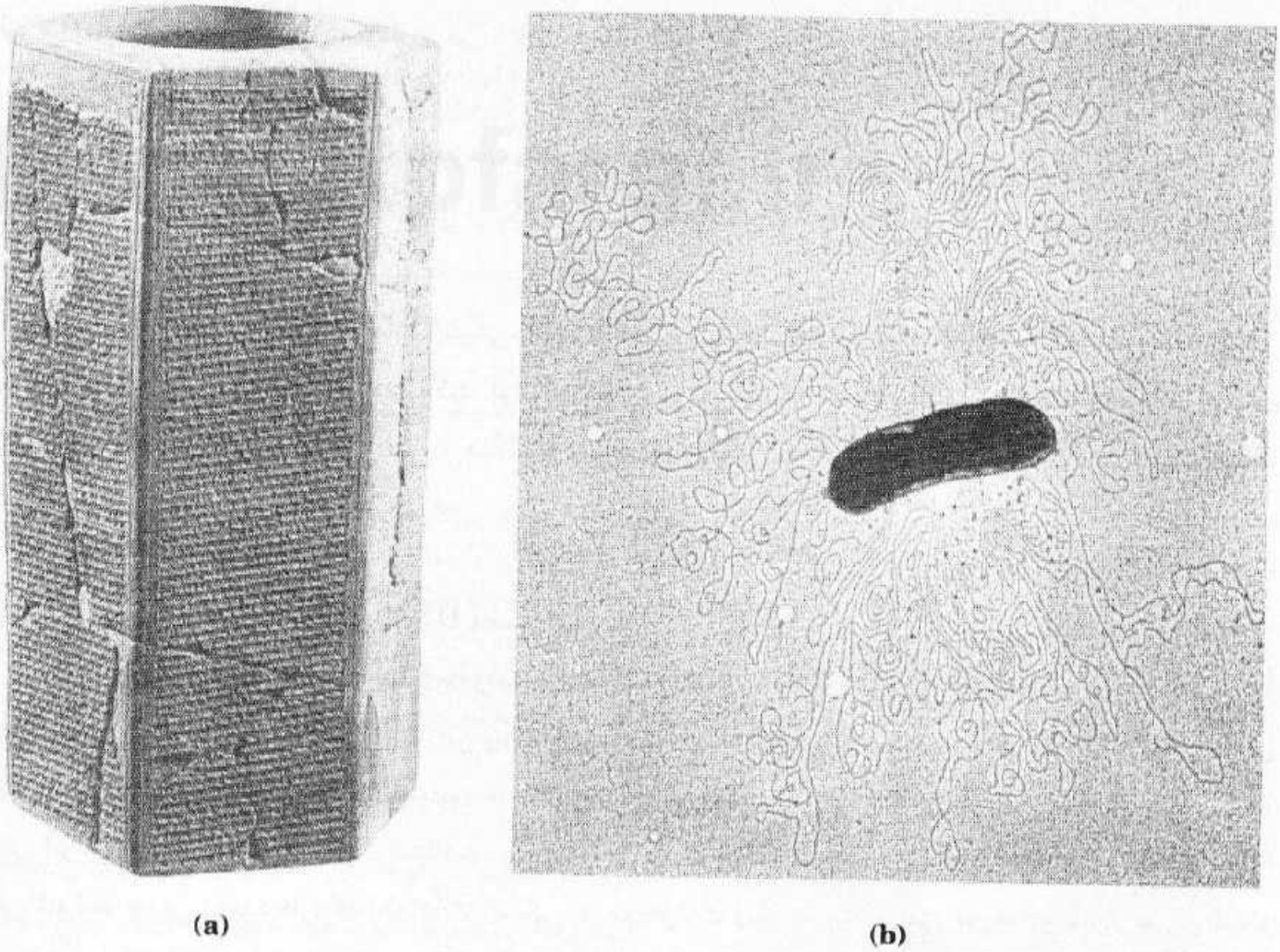
پیوستگی ژنتیکی در ملکول‌های DNA قطعی است

شاید مهمترین ویژگی قابل‌ذکر سلول‌ها و موجودات زنده، توانائی آنها در تولید انواع مشابه خود با صحت تقریباً کامل در طی نسل‌های بی‌شمار می‌باشد. این پیوستگی صفت‌های به ارث رسیده، ثبات ساختمان ملکول‌های حاوی اطلاعات ژنتیکی را در طول هزاران تا میلیون‌ها سال را نشان می‌دهد. دست‌نوشته‌های تاریخی بسیار کمی از تمدن، حتی انواعی که با استفاده از مس نوشته شده و یا بر روی سنگ حک شده‌اند، برای مدت هزار سال بقاء داشته‌اند. ولی شواهد خوبی وجود دارد که اطلاعات ژنتیکی در موجودات زنده تقریباً در طی دوره‌های بسیار بسیار بلندتر بدون تغییر مانده‌اند؛ بسیاری از باکتری‌ها دارای اندازه، شکل و ساختمان داخلی تقریباً یکسانی بوده و حاوی انواع یکسانی از ملکول‌های پیش‌ساز و آنزیم‌ها می‌باشند که مشابه انواع موجود در آنهائی است که یک بیلیون سال قبل زندگی می‌کرده‌اند (شکل ۱۶-۱).

اطلاعات ارثی در داخل DNA حفظ شده است که خود یک پلیمر آلی بلند، نازک و بسیار شکننده می‌باشد که در اثر نیروهای حاصل از به‌همزدن محلول یا برداشت با پی‌پت، قطعه قطعه می‌شوند. اسپرم یا تخمک انسان، حامل اطلاعات ارثی جمع‌آوری‌شده در طی میلیون‌ها سال تکامل بوده و این دستورات را به شکل ملکول‌های DNA انتقال می‌دهند؛ این مولکول‌ها توالی خطی از زیرواحدهای نوکلئوتیدی با اتصالات کووالان می‌باشند که پیام ژنتیکی را کد می‌کنند.

ساختمان DNA امکان ترمیم و همانندسازی آن را با صداقت تقریباً کامل ممکن می‌سازد

ظرفیت موجودات زنده در حفظ ماده ژنتیکی و دوبرابرنمودن آن برای نسل بعدی، ناشی از مکمل ساختمانی‌بودن دو نیمه DNA می‌باشد (شکل ۱۷-۱) واحد پایه DNA یک پلیمر خطی متشکل از چهار زیرواحد منومری مختلف، یعنی **داکسی‌ریبونوکلئوتیدها** (شکل ۳-۱) است که در یک توالی دقیق خطی قرار گرفته‌اند. این توالی خطی است که اطلاعات ژنتیکی راکد می‌نماید. دو رشته پلیمری از این نوع، حول یکدیگر پیچیده تا مارپیچ دوتائی DNA را ایجاد کنند که در آن هر زیرواحد منومری در یک رشته با یک زیرواحد مکمل موجود در رشته مخالف، به‌طوراختصاصی جفت می‌گردد. قبل از تقسیم یک سلول، دو رشته DNA جدا شده و هر کدام بعنوان قالبی برای



(a) (b)

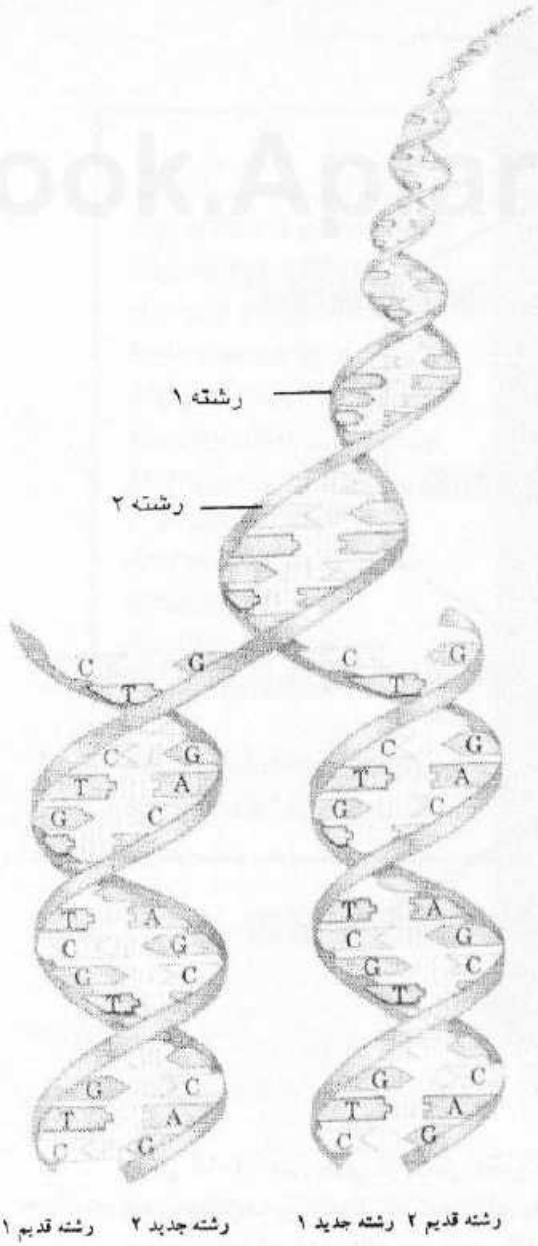
شکل ۱۶-۱. دو نوع خط باستانی. **(a)** منشور Sennacherib که در حدود ۷۰۰ B.C. نوشته شده است. حروف زبان آسوری را نشان می‌دهد. این منشور حدود ۲۰،۰۰۰ حرف داشته. وزن آن حدود ۵۰۰ kg بوده و تقریباً ۲،۷۰۰ سال سالم باقی مانده است. **(b)** یک ملکول DNA از باکتری *E.coli* که از سلول تخریب شده بخارج راه یافته و طول آن صدها برابر از طول خود سلول بلندتر بوده و حاوی تمامی اطلاعات لازم برای مشخص‌نمودن ساختمان و عملکرد سلول می‌باشد. DNA باکتریائی حاوی حدود ۱۰ میلیون حرف (نوکلئوتید) بوده، وزنی کمتر از 10^{-10} g داشته و طی چندین میلیون سال گذشته، متحمل تغییرات نسبتاً ناچیزی شده است. نقاط روشن و تیره‌ای که در این میکروگراف الکترونی مشاهده می‌گردند، اشکال تکنیکی می‌باشند.

سنتز یک رشته مکمل جدید عمل می‌نمایند؛ در نتیجه دو ملکول مشابه مارپیچ دوتائی ایجاد می‌گردد که هر کدام برای یک سلول دختر می‌باشند. درصورت آسیب یک رشته، پیوستگی اطلاعات آن توسط اطلاعات موجود در رشته دیگر تضمین می‌گردد که بعنوان قالبی برای ترمیم آسیب بکار می‌رود.

اطلاعات ژنتیکی در توالی خطی از چهار نوع زیرواحد DNA کد می‌گردد.
ملکول DNA مارپیچ دوتائی برای همانندسازی و ترمیم خود، دارای قالب داخلی است.

تغییر ساختمان‌های ارثی سبب تکامل می‌شوند

علی‌رغم صحت تقریباً کامل همانندسازی ژنتیکی، اشتباهات نادر ترمیم‌نشده در فرایند همانندسازی سبب ایجاد تغییراتی در توالی نوکلئوتیدی DNA شده و سبب یک جهش ژنتیکی می‌گردد (شکل ۱۸-۱). آسیب رشته‌ای که بطورصحیح ترمیم نشده است، نیز دارای چنین اثری است. جهش‌ها ممکن است دستورات تولید اجزاء سلولی را تغییر دهند. بسیاری از جهش‌ها برای موجود زنده، مضر و حتی کشنده می‌باشند؛ برای مثال، این جهش‌ها ممکن



شکل ۱۷-۱. ساختمان مکمل DNA. مکمل‌بودن دو رشته DNA سبب همانندسازی دقیقی می‌گردد که برای پیوستگی ژنتیکی ضروری است. DNA پلیمر خطی از چهار زیرواحد داکسی‌ریبونوکلئوتیدی، شامل داکسی‌آدنیلات (A)، داکسی‌گوانیلات (G)، داکسی‌سیتیدیلات (C) و داکسی‌تیمیدیلات (T)، می‌باشد که به طریق کووالان به یکدیگر متصل شده‌اند. هر نوکلئوتید، بواسطه ساختمان سه‌بعدی دقیق خود، دارای توانائی ذاتی است که بطوراختصاصی ولی غیرکووالان به نوکلئوتید دیگر موجود در زنجیر مکمل اتصال می‌یابد: همیشه A با T و G با C جفت می‌شود. بنابراین در ملکول DNA دورشته‌ای، کل توالی نوکلئوتیدی در یک رشته، **مکمل** توالی رشته دیگر است؛ هر جا G در رشته ۱ قرار داشته باشد، در مقابل آن C در رشته ۲ قرار خواهد داشت؛ هر جا A در رشته ۱ قرار داشته باشد، در مقابل آن T در رشته ۲ قرار خوهد داشت. دو رشته DNA، توسط تعداد زیادی پیوند هیدروژنی (در اینجا با خطوط عمودی نشان داده شده است) بین جفت‌های نوکلئوتیدی مکمل در کنار یکدیگر قرار گرفته و هر رشته با چرخش حول رشته دیگر ایجاد مارپیچ دوتائی DNA را می‌نماید. در همانندسازی، قبل از تقسیم سلولی، دو رشته ابتدائی DNA جدا شده و از روی هر کدام رشته مکمل جدیدی ساخته می‌شود. حاصل دو ملکول مارپیچ دوتائی DNA می‌باشد که مشابه DNA ابتدائی هستند.

است منجر به سنتز آنزیم ناقصی شوند که قادر به کاتالیز یک واکنش ضروری متابولیک نمی‌باشد. گاهی، جهش موجود زنده یا سلول را برای بقاء در محیط بهتر تجهیز می‌نماید. برای مثال، آنزیم جهش‌یافته ممکن مقداری ویژگی متفاوت کسب نموده و حالا می‌تواند بر روی موادی اثر نماید که قبلاً سلول قادر به متابولیزه‌نمودن آنها نبود. وقتی این سلول‌ها خود را در محیطی پیدا نمایند که آن ترکیب تنها منع سوختی در دسترس باشد، سلول‌های جهش‌یافته بر سلول‌های دیگر غیرجهش‌یافته (**سلول‌های وحشی**) موجود در جمعیت، برتری می‌یابند. سلول جهش‌یافته و فرزندان آنها در محیط جدید زنده مانده، درحالیکه سلول‌های نوع وحشی گرسنه مانده و از بین می‌روند.

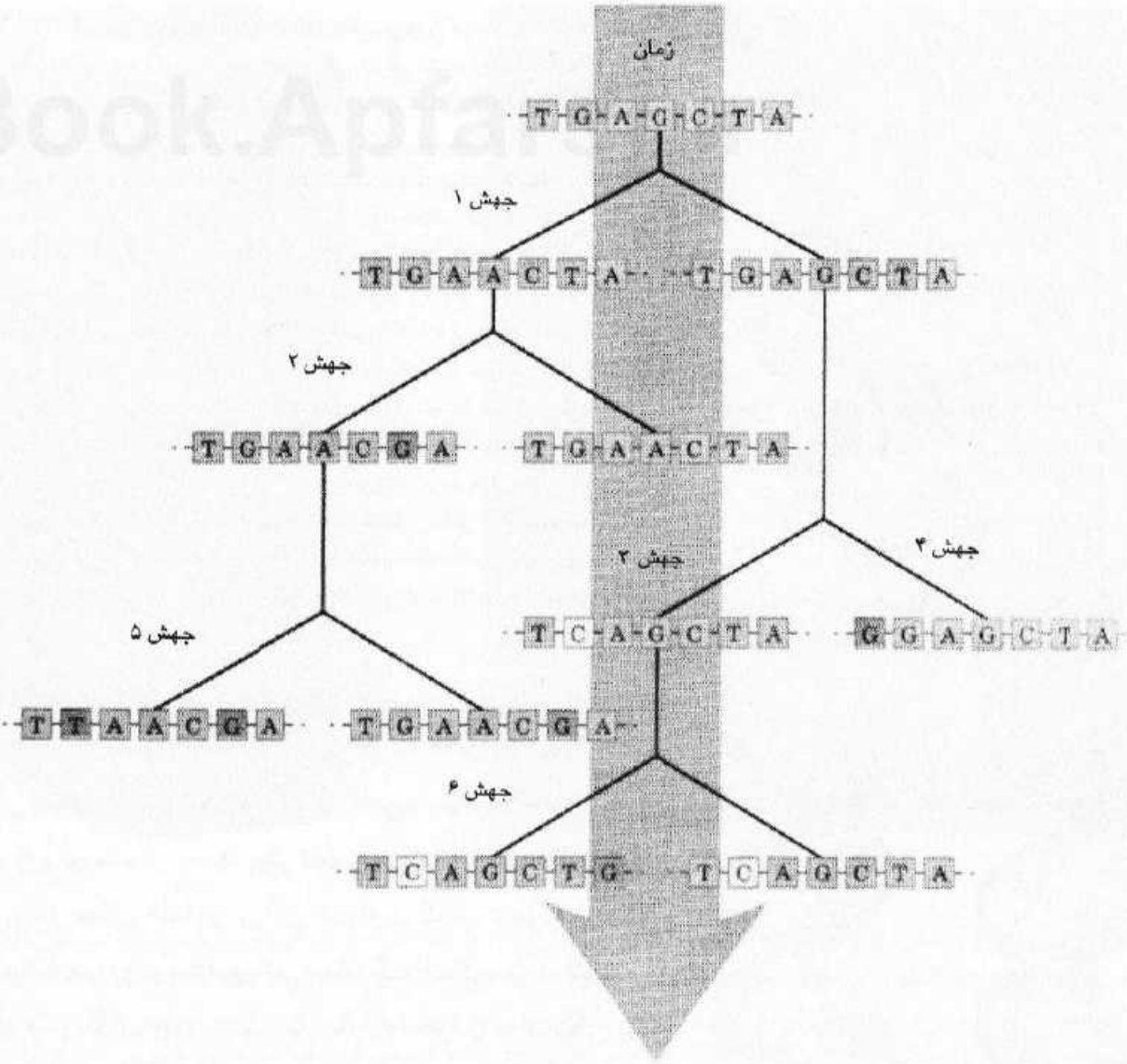
تغییرات ژنتیکی شانسی در افراد یک جمعیت، همراه با انتخاب طبیعی (بقاء و تزاید مناسب‌ترین افراد در یک محیط تغییریافته)، منجر به تکامل انواع متعددی از موجودات شده است که هر کدام به زندگی در یک محل اکولوژیک خاص عادت کرده‌اند.


Charles Darwin
1809-1882


Carolus Linnaeus
1707-1778

آناتومی ملکولی ارتباطات تکاملی را آشکار می‌سازد

طبیعی‌دان قرن هجدهم، کارلوس لینائوس، تشابهات و تفاوت‌های آناتومیکی را بین موجودات زنده شناسائی



شکل ۱۸-۱. نقش جهش در تکامل. تجمع تدریجی جهش‌ها در طی دوره‌های زمانی طولانی منجر به ایجاد گونه‌های جدید بیولوژیک می‌گردد که هر کدام دارای یک توالی بی‌همتا DNA می‌باشند. در بالا قطعه کوچکی از یک ژن در یک موجود اولیه فرضی نشان داده شده است. با گذشت زمان، تغییرات ایجادشده در توالی های نوکلئوتیدی (جهش‌ها)، به میزان یک نوکلئوتید در هر زمان، منجر به ایجاد نسل‌های بعدی با توالی‌های متفاوت DNA می‌گردد. این نسل‌های جهش‌یافته خود گاهی دچار جهش‌شده که منجر به ایجاد نسلی می‌گردند که دو یا چند نوکلئوتید از توالی ابتدائی متفاوت هستند. وقتی دو رده با این مکانیسم آن‌قدر زیاد تغییر نمایند که دیگر ارتباط پرورشی نداشته باشند، آنگاه گونه جدید ایجاد شده است.

نمود و چهارچوبی را برای ارزیابی ارتباط بین گونه‌ها فراهم کرد. در قرن نوزدهم، چارلز داروین یک فرضیه یکی‌کننده را برای شرح فیلوژنی[1] موجودات امروزی (منشاءگرفتن گونه‌های مختلف از یک جد مشترک)، مطرح نمود. حالا تحقیقات بیوشیمیائی در قرن بیستم، آناتومی ملکولی (توالی‌های زیرواحدی و ساختمان‌های سه‌بعدی اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها) سلول‌های گونه‌های مختلف را آشکار نموده است. بیوشیمیدان‌ها دارای دانش و مدارک متعدد بسیار زیادی هستند که می‌توان از آنها در بررسی ارتباطات تکاملی و در جهت بهبود فرضیه تکاملی، استفاده نمود. توالی‌های نوکلئوتیدی کل ژنوم (ژنوم شامل تمامی مواد ژنتیکی یک موجود می‌باشد) تعیین شده است (جدول ۱-۱). توالی‌های ژنومی تعدادی از اوباکتری‌ها و یک آراکی‌باکتری، یک میکروارگانسیم اوکاریوتی (*Saccharomyces cerevisiae*) و یک حیوان چند سلولی (*Caenorhabditis elegans*) مشخص شده است و انواع

1. Phylogeny

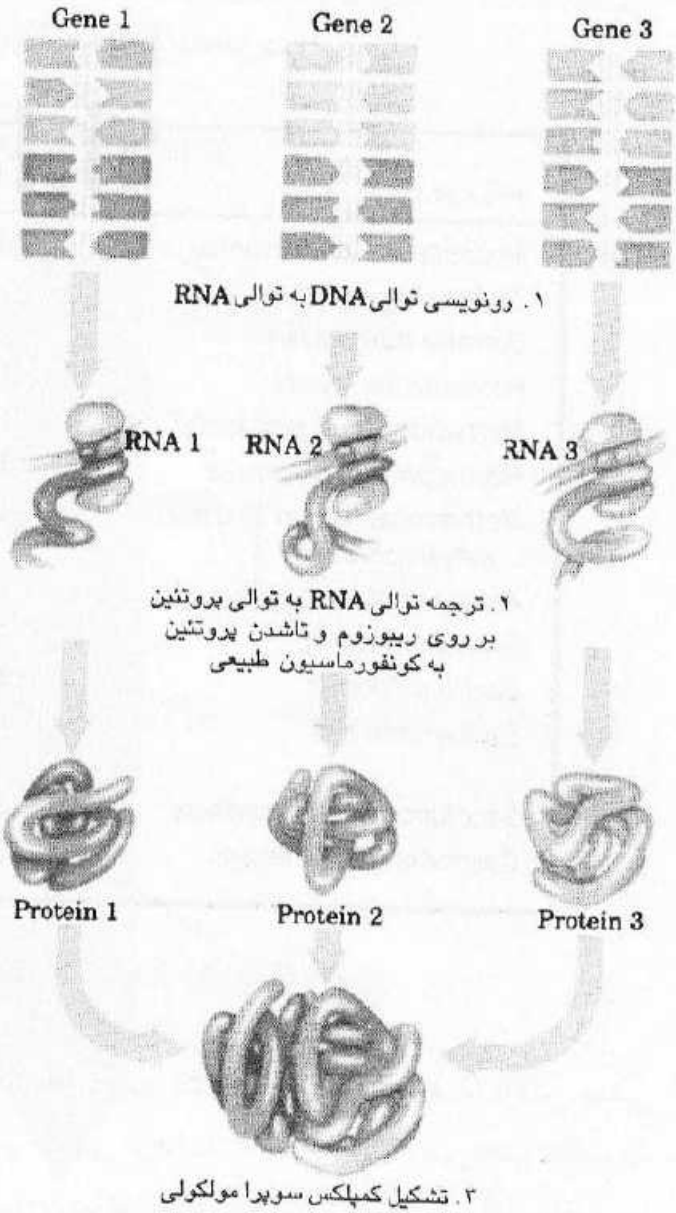
جدول ۱-۱. تعدادی از موجوداتی که ژنوم آنها بطورکامل مشخص شده است

موجود زنده	اندازه ژنوم (تعداد بازها بر پایه میلیون)	اهمیت بیولوژیکی
Mycoplasma pneumoniae	0.8	ایجاد پنومونی
Treponema pallidum	1.1	ایجاد سیفیلیس
Borrelia burgdorferi	1.3	ایجاد بیماری لایم (Lyme)
Helicobacter pylori	1.7	ایجاد زخم‌های معده
Methanococcus jannaschii	1.7	رشد در ۱۸۵°C
Haemophilus influenzae	1.8	ایجاد آنفلوانزای باکتریایی
Methanobacterium thermo-autotrophicum	1.8	عضوی از آراکیا
Archaeoglobus fulgidus	2.2	متانوژن درجه حرارت - بالا
Synechocystis sp.	3.6	سیانوباکتری‌ها
Bacillus subtilis	4.2	باکتری معمول خاک
Escherichia coli	4.6	بعضی از موش‌های ایجادکننده سندرم شوک سمی
Saccharomyces cerevisiae	12.1	اوکاریوت تک‌سلولی
Caenorhabditis elegans	97	کرم گرد چند سلولی

مربوط به یک گیاه (*Arabidopsis thaliana*) و حتی *Homo sapiens* بزودی مشخص خواهد گردید. با داشتن چنین توالی‌هائی، مقایسه‌های بسیار ریز و کمی بین گونه‌ها، تصویر عمیقی از فرایند تکاملی بدست می‌دهد. تاکنون، فیلوژنی حاصل از توالی‌های ژنی با فیلوژنی کلاسیک وابسته به ساختمانهای ماکروسکوپی سازگار بوده و در بسیاری از موارد دقیق‌تر می‌باشد. علی‌رغم واگرائی پیوسته موجودات در سطح آناتومی درشت، ساختمان‌ها و مکانیسم‌های ملکولی در طی دوره تکاملی حفظ شده‌اند. در سطح ملکولی، یگانگی پایه زندگی براحتی آشکار می‌باشد: ساختمان‌ها و مکانیسم‌های قاطع ملکولی از ساده‌ترین تا پیچیده‌ترین موجودات، بطورقابل توجهی مشابه هستند. بیوشیمی کشف خصوصیات یکی‌کننده را ممکن ساخته است که در تمامی اشکال حیات مشترک است.

توالی خطی DNA پروتئینهائی را با ساختمان سه‌بعدی کد می‌نماید

اطلاعات موجود در DNA بصورت یک توالی خطی (یک‌بعدی) از زیرواحدهای نوکلئوتیدی کد می‌شوند، ولی بیان این اطلاعات منجر به ایجاد یک سلول سه‌بعدی می‌گردد. این تغییر از یک بعد به سه بعد در دو فاز رخ می‌دهد. یک توالی خطی داکسی‌ریبونوکلئوتید در DNA (از طریق RNA)، تولید پروتئینی با توالی اسید آمینه‌ای خطی مرتبط می‌نماید (شکل ۱۹-۱). این پروتئین به شکل سه‌بعدی خاصی تا می‌گردد که توسط توالی اسید آمینه‌ای آن تعیین شده و اساساً توسط واکنش‌های متقابل غیرکووالان تثبیت می‌گردد. هرچند شکل نهائی پروتئین تاشده توسط توالی اسید آمینه‌ای آن تعیین می‌گردد، فرایند تاشدن به کمک پروتئین‌هایی انجام می‌گیرد که بعنوان «چاپرون‌های ملکولی»



شکل ۱۹-۱. توالی‌های خطی داکسی‌ریبونوکلئوتیدها در DNA، که به شکل واحدهائی بنام ژن مرتب می‌شوند، به ملکول‌های اسید ریبونوکلئیک (RNA) یا توالی‌های ریبونوکلئوتیدی مکمل، رونویسی می‌گردند. سپس این توالی‌های RNA به زنجیرهای پروتئینی خطی ترجمه شده که به اشکال سه‌بعدی طبیعی خود تا می‌شوند که اغلب این تغییرات به کمک پروتئین‌های دیگری بنام چاپرونهای ملکولی به انجام می‌رسد. پروتئین های خاص معمولاً به پروتئین‌های دیگر پیوسته و ایجاد کمپلکس‌های سوپراملکولی می‌کنند که توسط واکنش‌های متقابل متعددی ضعیفی پایدار می‌شوند.

عمل نموده و مانع تاخوردگی غلط آنها می‌گردند. این ساختمان سه‌بعدی دقیق، یا **کونفورماسیون طبیعی**[1] برای عملکرد پروتئین حیاتی است.

توالی خطی اسیدهای آمینه در یک پروتئین منجر به اتخاذ یک ساختمان سه‌بعدی بی‌همتا می‌گردد.

وقتی یک پروتئین به کونفورماسیون طبیعی خود تا شد، ممکن است بطورغیرکووالان به پروتئین‌های دیگر و یا به اسیدهای نوکلئیک یا لیپیدها، اتصال یافته و ایجاد کمپلکس‌های سوپراملکولی، نظیر کروموزوم‌ها، ریبوزوم‌ها و غشاءها، را بنمایند. در بسیاری از موارد این کمپلکس‌ها خود-همایش می‌باشند. ملکول‌های موجود در این کمپلکس‌ها برای یکدیگر دارای جایگاه‌های اتصالی اختصاصی و با تمایل بالا بوده و در داخل سلول بطورخودبخودی ایجاد کمپلکس‌های وظیفه‌دار می‌نمایند.

ماکروملکول‌های مجزائی که تمایل به سایر ماکروملکول‌ها دارند، بطورخودبخودی به شکل کمپلکس‌های سوپراملکولی همایش می‌یابند.

واکنش‌های متقابل غیرکووالان سبب پایداری ساختمان‌های سه‌بعدی می‌گردد

نیروهائی که سبب پایداری و ایجاد ویژگی در ساختمانهای سه‌بعدی ماکروملکول‌ها و کمپلکس‌های سوپراملکولی می‌گردند، اکثراً واکنش‌های متقابل غیرکووالان می‌باشند. این واکنش‌هاکه به تنهائی ضعیف بوده ولی در جمع قوی می‌باشند، شامل پیوندهای هیدروژنی، واکنش‌های متقابل یونی بین گروه‌های باردار، واکنش‌های متقابل واندروالس و واکنش‌های متقابل آبگریز بین گروه‌های غیرقطبی، هستند. این واکنش‌های متقابل ضعیف از

1. Native conformation

نوع زودگذر بوده و هر کدام از آنها ممکن است در کسری از ثانیه ایجاد یا از بین بروند. ماهیت زودگذر واکنش‌های متقابل غیرکووالان، سبب انعطاف‌پذیری ماکروملکول‌ها می‌گردد که برای عملکرد آنها ضروری است. به علاوه، با توجه به تعداد زیاد واکنش‌های متقابل غیرکووالان در یک ماکروملکول، شکسته‌شدن تمامی آنها در یک زمان غیرمحتمل بوده و مدتها این ساختمانهای ماکروملکولی پایدار باقی می‌مانند.

ساختمان‌های بیولوژیک سه‌بعدی، ترکیبی از انعطاف‌پذیری و پایداری را دارند.

برای مثال، ملکول DNA دو رشته‌ای که دو رشته آن توسط واکنش‌های متقابل متعدد در کنار یکدیگر قرار داده می‌شوند، دارای انعطاف‌پذیری کافی است که امکان جداسازی رشته‌ها را در هنگام همانندسازی DNA فراهم نموده (شکل ۱۷-۱)، با وجود این، پایداری کافی برای تضمین پیوستگی ژنتیکی نیز در آن وجود دارد.

واکنش‌های متقابل غیرکووالان برای ویژگی و کارآئی کاتالیتیکی آنزیمها نیز مهم می‌باشند. آنزیم‌ها از طریق واکنش‌های متقابل متعدد ضعیف ولی دقیقاً جهت‌دار، به ترکیبات واسط حالت انتقالی متصل می‌شوند. از آنجائیکه واکنش‌های متقابل ضعیف انعطاف‌پذیر هستند، کمپلکس آنزیم - سوبسترا سبب بقاء تغییرات ساختمانی می‌گردد که در هنگام تبدیل واکنشگر به سوبسترا ایجاد می‌شوند.

واکنش‌های متقابل غیرکووالان انرژی لازم برای خود-همایش ماکروملکول‌ها را نیز تأمین می‌نمایند که این از طریق تثبیت کونفورماسیونهای طبیعی در مقایسه با اشکال تصادفی آنها می‌باشد. وقتی برتری‌های انرژتیک ایجاد واکنش‌های متقابل ضعیف بیشتر از تمایل زنجیر پروتئینی در کسب اشکال تصادفی باشد، آنگاه یک پروتئین شکل پایدارتر، یا کونفورماسیون طبیعی، خود را می‌گیرد.

ریشه‌های فیزیکی دنیای بیوشیمی

حال می‌توان اصول مختلف منطق ملکولی حیات را خلاصه کنیم:

یک سلول زنده یک سیستم خودکفا[1]، خود-همایش، خود-تنظیم و خود-جاودان و با دمای ثابت از ملکول‌ها می‌باشد که انرژی آزاد و مواد خام را از محیط می‌گیرد
سلول‌هااز این انرژی برای حفظ خود در حالت پایدار پویا و دوری از رسیدن به تعادل با محیط اطراف استفاده می‌نمایند.
بسیاری از تغییرات شیمیائی در داخل سلول‌ها به شکل چهارچوبی از مسیرهای واکنش سازماندهی شده‌اند که در هر مرحله توسط کاتالیست‌های اختصاصی تسریع می‌گردند که خود سلول‌ها آنها را تولید می‌نمایند. با تنظیم فعالیت آنزیم‌های کلیدی، صرفه‌جوئی زیادی در این فرایندها می‌گردد. همانندسازی طی نسل‌های متمادی توسط سیستم خطی خود-ترمیم[2] کدکننده اطلاعات، تضمین می‌گردد. اطلاعات ژنتیکی کدشده بصورت توالی زیرواحدهای نوکلئوتیدی در DNA و RNA، توالی اسیدهای آمینه را در هر پروتئین مشخص نمود که خود نهایتاً ساختمان سه‌بعدی و عملکرد هر پروتئین را تعیین می‌نماید.
بسیاری از واکنش‌های متقابل ضعیف (غیرکووالان)، با عمل تعاونی، ساختمان‌های سه‌بعدی ماکروملکول‌های و کمپلکس‌های سوپراملکولی بیولوژیک را پایدار نموده، درحالیکه امکان انعطاف‌پذیری کافی برای اعمال بیولوژیک آنها را نیز فراهم می‌آورند.

1. Self-contained 2. Self - repairing

در طی بیش از بیلیون‌ها سال تکامل، واکنش‌های شیمیائی و فرایندهای تنظیمی سلول‌ها شدیداً بهبود یافته‌اند. با این وجود، بدون توجه به میزان پیچیدگی آن، ماشین آلی سلول‌های زنده با همان قوانین فیزیکی کار می‌کند که عملکرد ماشین‌های فیزیکی متکی بر آنها می‌باشند.

این سری قواعد در مطالعات انجام‌شده بر روی موجودات تک‌سلولی (نظیر باکتری *E.coli*) که استثنائاً تابع بررسی بیوشیمیائی و ژنتیکی می‌باشند، کاملاً مورد تصدیق قرار گرفته‌اند. موجودات پرسلولی می‌بایست مسائلی را که در موجودات تک‌سلولی وجود ندارند، نظیر تمایز تخم بارورشده به انواع سلول‌های تخصص‌یافته، را حل نمایند. در اینجا نیز همان قواعد مورد استفاده قرار می‌گیرند. آیا این بیانات ساده و مکانیکی می‌توانند در مورد انسان، با ظرفیت فوق‌العاده تفکر، زبان و خلاقیت، نیز بکار روند؟ گامهای پیشرفت اخیر بیوشیمیائی به سمت شناخت فرایندهائی نظیر تنظیم ژن، تمایز سلولی، ارتباطات بین‌سلولی و فعالیت عصبی، فوق‌العاده سریع بوده و در حال سریع‌ترشدن می‌باشند. موفقیت روش‌های بیوشیمیائی در حل و تعریف مجدد این مسائل این امید را ایجاد می‌نماید که پیچیده‌ترین اعمال تکامل‌یافته‌ترین موجودات را بتوان نهایتاً در سطح ملکولی شرح داد.

واقعیت‌های مرتبط بیوشیمی زیاد می‌باشند؛ دانشجویانی که برای اولین بار با این مطالب برخورد می‌کنند گاهی ممکن است دچار مشکل شوند. شاید پیشرفت در بیولوژی قرن بیستم، درک این موضوع باشد که برای تمامی تنوع موجود در دنیای بیولوژی، یک یگانگی و سادگی اساسی در حیات وجود دارد. اصول سازماندهی واحد بیوشیمیائی و جنبه تکاملی ایجاد تنوع در سطح ملکولی، بعنوان قالب‌های مفید مراجع جهت مطالعه بیوشیمی عمل می‌نمایند.

۲ سلول ها

سلول‌ها واحدهای ساختمانی و عملی تمامی موجودات زنده را تشکیل می‌دهند. کوچکترین موجودات تک‌سلولی و میکروسکوپی بوده، درحالیکه موجودات دیگر پرسلولی هستند. برای مثال، بدن انسان دارای حداقل $۱۰^{۱۴}$ سلول می‌باشد. موجودات تک‌سلولی شامل انواع متعدد بوده و در هر محیطی، از مناطق سردسیر تا مناطق گرمسیر در داخل بدن موجودات بزرگتر وجود دارند. موجودات پرسلولی متشکل از انواع مختلف و متعدد سلول‌ها بوده که هر کدام دارای شکل و عمل متفاوت و فعالیت اختصاصی هستند. بدون توجه به اندازه و پیچیدگی موجودات پرسلولی، هر کدام از سلول‌های آنها تاحدودی منحصر و مستقل می‌باشند.

علی رغم تفاوت‌های متعدد در بین انواع مختلف، سلول‌ها دارای خصوصیات ساختمانی مشترکی هستند (شکل ۱-۲). **غشاء پلاسمایی** محیط سلول را معین نموده و محتویات آن را از محیط اطراف جدا می‌نماید. این غشاء از ملکول‌های متعدد لیپید و پروتئین تشکیل شده است که توسط واکنش‌های متقابل آبگریز غیرقطبی در کنار یکدیگر قرار گرفته (ص. ۲۲) و ایجاد یک لایه نازک انعطاف‌پذیر محکم آبگریز در اطراف سلول می‌نماید. این غشاء به‌عنوان سدی در برابر عبور یون‌های معدنی و بیشتر ترکیبات باردار یا قطبی می‌باشد. پروتئین‌های انتقالی موجود در غشاء پلاسمایی امکان عبور بعضی از یون‌ها و ملکول‌ها را از عرض این غشاء فراهم می‌سازند. سایر پروتئین‌های غشایی شامل گیرنده‌هایی هستند که پیامها را از خارج به داخل سلول انتقال داده و همچنین تعدادی از آنزیم‌ها در داخل غشاء وجود دارند که در یک سری مسیرهای مرتبط با غشاء شرکت می‌نمایند.

از آنجایی که ملکول‌های لیپیدی و پروتئینی موجود در غشاء پلاسمایی به‌طور کووالان به یکدیگر اتصال ندارند، این ساختمان دارای انعطاف‌پذیری قابل توجهی بوده که به تغییر در شکل و اندازه سلول کمک می‌نماید. با رشد یک سلول، ملکول‌های جدید لیپیدی و پروتئینی ساخته‌شده و در داخل غشاء پلاسمایی قرار داده می‌شوند؛ با تقسیم سلولی دو سلول ایجاد شده و هر کدام غشاء خود را خواهند داشت. رشد و شکافت[1] غشاء بدون ازدست‌رفتن یکپارچگی آن به انجام می‌رسد. در حالت معکوس فرایند شکافت، دو غشاء می‌توانند بدون از دست‌دادن یکپارچگی خود، با یکدیگر ادغام[2] گردند. شکافت و ادغام، مکانیسم‌های اصلی انتقال مواد به داخل و خارج سلول هستند که به ترتیب آندوسیتوز و اگزوسیتوز نامیده می‌شوند.

ماده داخلی سلول که توسط غشاء پلاسمایی احاطه شده است، بنام **سیتوپلاسم**، از محلول آبی، بنام **سیتوزول**، تشکیل شده است که در آن انواع مختلفی از ذرات نامحلول به شکل معلق وجود دارند (شکل ۱-۲). سیتوزول یک محلول آبی غلیظ می‌باشد که دارای ترکیب پیچیده و قوام ژل-مانند است. در داخل سیتوزول مواد محلول متعددی وجود دارد: بسیاری از آنزیم‌ها و ملکول‌های RNA کدکننده آنها؛ زیرواحدهای منومری (اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها) که این ماکروملکول‌ها از آنها ساخته می‌شوند؛ صدها ملکول آلی کوچک، بنام **متابولیت**، که به‌عنوان

1- Fission
2. Fussion

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱-۲. خصوصیات عمومی سلول‌های زنده. تمامی سلول‌ها دارای یک هسته یا یک نوکلوئید، یک غشاء پلاسمایی و سیتوپلاسم هستند. در عمل، سیتوزول به‌عنوان قسمتی از سیتوپلاسم تعریف می‌گردد که بعد از سانتریفوژ عصاره یک سلول در ۱۵۰،۰۰۰ g به مدت یک ساعت، در قسمت رویی قرار می‌گیرد.

ترکیبات واسط در مسیرهای بیوسنتتیک و تخریبی شرکت می‌نمایند؛ **کوآنزیم‌ها**، ترکیباتی با وزن ملکولی ۲۰۰ تا ۱،۰۰۰ که برای شرکت بسیاری از آنزیم‌ها در واکنش ضروری هستند؛ و یون‌های معدنی.

از میان ذرات غوطه‌ور در سیتوزول می‌توان به کمپلکس‌های سوپراملکولی و، تقریباً در تمامی سلول‌های غیرباکتریایی، انواعی از اندامک‌های متصل به غشاء حاوی ماشین متابولیکی تخصصی، اشاره نمود. **ریبوزوم‌ها**، ذرات کوچک با قطر ۱۸ تا ۲۲ nm (۱ nm برابر 10^{-9} m) متشکل از بیش از ۵۰ نوع ملکول پروتئین و RNA می‌باشند که سنتز پروتئین بر روی آنها به انجام می‌رسد. ریبوزوم‌هایی که در سنتز پروتئین شرکت می‌نمایند، اغلب بصورت دستجاتی بنام **پلی‌زوم** (پلی‌ریبوزوم) دیده می‌شوند که توسط رشته‌ای از RNA پیک در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. در داخل سیتوپلاسم بسیاری از سلول‌ها، گرانول‌ها و قطرات حاوی مواد غذایی ذخیره‌شده، نظیر نشاسته و چربی، نیز وجود دارد.

تمامی سلول‌های زنده، حداقل برای قسمتی از عمر خود، دارای یک **هسته**[1] یا یک ساختمان هسته-مانند بنام **نوکلوئید**[2] می‌باشند که در داخل آن **ژنوم** (سری کامل ژن‌ها که از DNA تشکیل شده است) ذخیره و همانندسازی می‌گردد. ملکول‌های DNA همیشه بسیار طویل‌تر از خود سلول‌ها بوده و به‌صورت کمپلکس‌های سوپراملکولی همراه با پروتئین‌ها، در داخل هسته یا نوکلوئید شدیداً تا و بسته‌بندی می‌شوند. نوکلوئید باکتری توسط غشاء از سیتوپلاسم جدا نشده ولی در موجودات عالی، ماده هسته در داخل یک غشاء دوتایی، یا پوشش[3] هسته، قرار گرفته است. سلول‌های دارای پوشش هسته‌ای را **اوکاریوت** (کلمات یونانی *eu* و *karyon* به ترتیب با معانی «واقعی» و «هسته») و سلول‌های فاقد پوشش هسته‌ای (سلول‌های باکتریایی) را **پروکاریوت** (کلمه یونانی *pro* به معنی «قبل از») می‌نامند.

برخلاف باکتری‌ها، اوکاریوت‌ها دارای اندامک‌های متصل به غشاء متعددی، شامل میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی، کمپلکس‌های گلژی، لیزوزوم‌ها و واکوئل‌ها (به‌ترتیب، اندامک‌های مرتبط موجود در سلول‌های

1. Nucleus
2. Nucleoid
3. Envelope

Book Anfarsi.ir

حیوانی و گیاهی) و کلروپلاست‌ها (در سلول‌های فتوسنتتیک)، در سیتوپلاسم خود هستند.

در این فصل مروری خلاصه بر ارتباطات تکاملی بین بعضی از سلول‌ها و موجوداتی خواهیم داشت که به‌طور معمول مورد مطالعه قرار می‌گیرند و خصوصیات ساختمانی را بررسی می‌کنیم که انواع مختلف سلول‌ها را متمایز می‌کنند. بیشتر بحث بر روی سلول‌های اوکاریوتی متمرکز بوده ولی به‌طور خلاصه انگل‌های سلول، تحت‌عنوان ویروس‌ها، را نیز مورد بررسی قرار خواهیم داد.

ابعاد سلولی

اکثر سلول‌ها میکروسکوپی بوده و با چشم غیرمسلح دیده نمی‌شوند. سلول‌های شاخص حیوانی و گیاهی، دارای قطری حدود ۵ تا ۱۰۰ μm بوده و بسیاری از باکتری‌ها تنها ۱ تا ۲ μm طول دارند (۱ μm برابر 10^{-6} m).

چه چیزی ابعاد سلولی را محدود می‌نماید؟ حداقل اندازه سلول احتمالاً توسط حداقل تعداد هر نوع بیوملکول مورد نیاز سلول، تعیین می‌گردد. کوچکترین سلول‌ها، باکتری‌های خاصی بنام مایکوپلاسماها، دارای قطری حدود ۳۰۰ nm و حجمی در حد 10^{-14} mL می‌باشند. بلندترین بُعد یک ریبوزوم باکتریایی حدود ۲۰ nm بوده و بنابراین چند ریبوزوم موجود در سلول مایکوپلاسمایی، کسر مهمی از حجم سلول را شامل می‌گردد. در سلولی با این اندازه، یک محلول ۱ μM یک ترکیب (غلظت شاخص بعضی از متابولیت‌های کوچک) تنها شامل ۶,۰۰۰ ملکول می‌باشد.

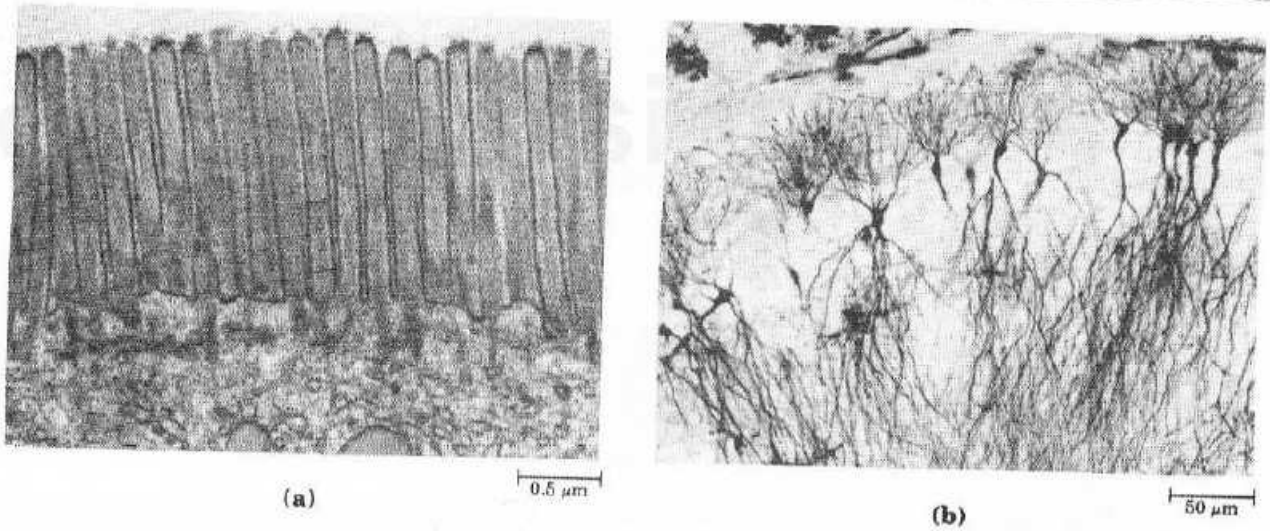
حد بالای اندازه سلول احتمالاً توسط میزان انتشار ملکول‌های حل‌شده در سیستم‌های آبی تنظیم می‌گردد. یک سلول باکتری که برای تولید انرژی وابسته به واکنش‌های مصرف اکسیژن می‌باشد (یک سلول **هوازی**)، می‌بایست اکسیژن ملکولی (O_2) را از محیط اطراف، از طریق انتشار و از میان غشاء پلاسمایی خود، بدست آورد. این سلول بسیار کوچک بوده و نسبت سطح به حجم آنقدر بزرگی دارد که O_2 انتشار یافته به داخل سلول، به راحتی به هر قسمتی از سیتوپلاسم آن می‌رسد. هرچند با افزایش اندازه، نسبت سطح به حجم کاهش می‌یابد. این افزایش اندازه تا زمانی صورت می‌گیرد که مصرف O_2 در طی متابولیسم از تأمین آن به طریق انتشار تجاوز ننماید. بنابراین، با افزایش اندازه سلول از یک حد خاص، متابولیسم هوازی غیرممکن شده و یک حد بالای تئوریک در اندازه سلول هوازی ایجاد می‌نماید.

موارد استثناء جالبی در مورد این بیان کلی که تمامی سلول‌ها می‌بایست کوچک باشند، وجود دارد. جلبک سبز *Nitella* دارای سلول‌های بزرگی با طول چند سانتیمتر می‌باشد. برای تضمین تحویل مواد غذایی، متابولیت‌ها و اطلاعات ژنتیکی (RNA) به تمامی قسمتهای آن، در هر سلول جریانات سیتوپلاسمی وجود دارد که شدیداً مواد موجود در آن را به حرکت درمی‌آورد. شکل یک سلول نیز می‌تواند به جبران اندازه بزرگ آن کمک نماید. یک کره صاف، دارای کوچکترین نسبت سطح به حجم برای یک حجم خاص می‌باشد. بسیاری از سلول‌های بزرگ، علی‌رغم شکل تقریباً کروی، دارای سطوح شدیداً پیچیده‌ای هستند (شکل ۲a-۲) که این امر سبب ایجاد سطح بیشتری برای همان حجم شده و بنابراین برداشت مواد غذایی و سوختی و رهاسازی مواد بیهوده به محیط اطراف را تسهیل می‌نماید. سایر سلول‌های بزرگ (برای مثال، نرونها) دارای نسبتهای بزرگ سطح به حجم هستند، زیرا بجای کروی‌بودن، بلند و طویل، به شکل ستاره یا شدیداً منشعب، می‌باشند (شکل ۲b-۲).

سلول‌ها و بافت‌ها در مطالعات بیوشیمیایی بکار می‌روند

از آنجایی که تمامی سلول‌ها از سلول‌های اجدادی یکسانی ایجاد شده‌اند، دارای شباهت‌های پایه‌ای خاصی

Book.Apfarsi.ir



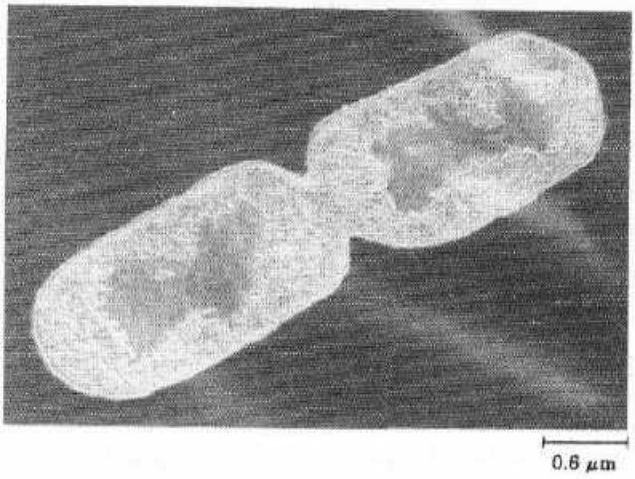
شکل ۲-۲. پیچیدگی‌های غشاء پلاسمایی یا زوائد طویل و نازک سیتوپلاسم، سبب افزایش نسبت سطح به حجم سلول‌ها می‌گردد. **(a)** در سلول‌های مخاط روده (پوشش داخلی روده کوچک)، غشاء پلاسمایی موجود در سمت مجرای روده به شکل پرزهای کوچک تاشده و ناحیه جذب مواد غذایی از روده را افزایش می‌دهند. **(b)** طول نرون‌های هیپوکامپ مغز موش صحرایی به چندین میلی‌متر می‌رسد. ولی این زوائد (آکسون‌های) طویل، تنها ۱۰ nm پهنا دارند.

هستند. مطالعه دقیق بیوشیمیایی تنها چند نوع سلول، با وجود تفاوت در جزئیات بیوشیمیایی و ظاهر سطحی آنها، کلیاتی را مشخص می‌نماید که در مورد تمامی سلول‌ها و موجودات کاربرد دارد. این موضوع مکرراً در طی ۱۵۰ سال گذشته توسط علم بیولوژی مورد تأیید قرار گرفته است. بررسی‌ها نشان می‌دهند که بعضی از سلول‌ها، بافت‌ها و موجودات برای مطالعات تجربی مناسب‌تر هستند. علم بیوشیمی اساساً از مطالعات انجام‌شده بر روی چند بافت یا موجود، نظیر باکتری *Escherichia coli* مخمر *Saccharomyces cerevisiae*، جلبک فتوسنتتیک نظیر *Chlamydomonas*، برگهای اسفناج، کبد موش و عضله اسکلتی بسیاری از مهره‌داران، بدست آمده است. بعضی از مطالعات بیوشیمیایی متمرکز بر جداسازی، تخلیص و شناسایی اجزاء سلولی بوده، درحالیکه تحقیقات دیگر در جهت بررسی مسیرهای متابولیکی و ژنتیکی سلول‌های زنده می‌باشند.

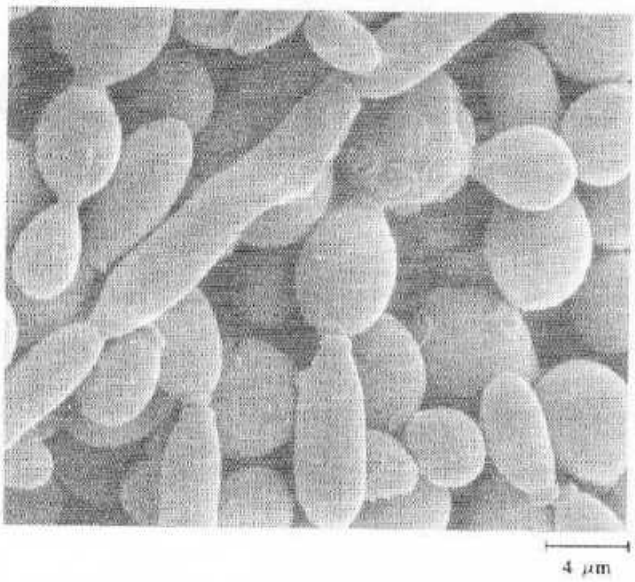
بطورمطلوب یک محقق مطالعه خود را با جداسازی آنزیم‌ها و سایر اجزاء سلولی آغاز نموده و برای این منظور از یک منبع غنی و یکدست استفاده می‌نماید. در اغلب موارد جزء مورد نظر (مثلاً آنزیم یا اسید نوکلئیک)، کسر ناچیزی از کل ماده را شامل شده و برای بدست‌آوردن چند میکروگرم خالص‌شده این جزء، نیاز به چند گرم و حتی چند کیلوگرم ماده اولیه می‌باشد. استفاده از منبع یکنواختی از یک آنزیم یا یک اسید نوکلئیک که در آن تمامی سلول‌ها از نظر بیوشیمیایی و ژنتیکی یکسان هستند، هیچ شکی را در مورد نوع سلول بکار رفته برای تهیه جزء خالص‌شده باقی نخواهد گذاشت و قیاس نتایج مطالعات خارج از بدن با حالت داخل بدن را مطمئن‌تر می‌سازد. کشت بزرگی از باکتری‌ها یا سلول‌های آغازیان یا پروتیستا[1] (برای‌مثال، *E.coli*، *S. cerevisiae* یا *Chlamydomans*) که همگی از تقسیم دوتایی سلول مادر یکسانی ایجاد شده و بنابراین از نظر ژنتیکی یکسان می‌باشند، یک منبع غنی و یکنواخت است. بعضی بافت‌های حیوانات آزمایشگاهی (نظیر کبد موش، مغز خوک، عضله خرگوش)، علی‌رغم یکسان‌نبودن تمامی سلول‌ها، منبع غنی مشابهی می‌باشند. بعضی از سلول‌های حیوانی و گیاهی نیز در کشت سلولی تکثیر یافته و تعداد مناسبی از سلول‌های یکسان (کلون‌شده) ایجاد می‌نمایند که برای بررسی بیوشیمیایی

1- protista

Book.Apfarsi.ir



یک سلول *Escherichia coli* در حال تقسیم



سلول‌های در حال تقسیم *Saccharomyces cerevisiae*
(مخمر نانوایی)

مناسب می‌باشند.

برای نشان‌دادن ضرورت وجود یک پروتئین خاص برای انجام یک فعالیت اختصاصی در سلول، استفاده از جهش‌یافته‌های ژنتیکی که در آنها محصول یک ژن ناقص بوده و منجر به نقص عملکردی اختصاصی در سلول یا موجود می‌گردد، فوق‌العاده مفید می‌باشد. ازآنجایی‌که ایجاد جهش‌یافته‌های ناقص در باکتری‌ها و مخمرها، از نظر تکنیکی ساده‌تر است، این موجودات (نظیر، *E.coli* و *S. cerevisiae*) اهداف تجربی خوبی برای ژنتیکدانهای بیوشیمی هستند. وقتی ژن یک پروتئین جدا شد، می‌توان آن را در یک سلول باکتری یا مخمر قرار داد و این سلول به‌عنوان یک کارخانه بیولوژیک شروع به تولید بیش از حد آن پروتئین می‌نماید. با فن‌آوریهای مهندسی ژنتیک، محققین می‌توانند جهش‌های خاصی را در داخل چنین ژن‌هایی ایجاد نموده و اثرات آنها را بر روی ساختمان و عملکرد پروتئین بررسی نمایند.

موجودی که براحتی در آزمایشگاه کشت می‌گردد، و دارای یک زمان تکثیر کوتاه می‌باشد، مزایای مهمی برای بیوشیمیدان دارد. موجودی که تنها نیاز به چند ملکول پیش‌ساز ساده در محیط رشد خود دارد، می‌تواند در حضور یک پیش‌ساز نشاندار با رادیواکتیو کشت شده و سرنوشت متابولیک آن پیش‌ساز را بعداً می‌توان با ردیابی اتم‌های رادیواکتیو در داخل محصولات متابولیک جستجو نمود. زمان تکثیر کوتاه میکروارگانیسم‌ها (در حدود دقیقه تا ساعت) به محقق این امکان را می‌دهد تا بتواند یک پیش‌ساز نشاندار یا نقص ژنتیکی را در طی چند نسل و در طول چند روز بررسی نماید. در موجوداتی که زمان تکثیر آنها در حد ماهها یا سالها می‌باشد، این کار غیرممکن است.

بعضی از بافت‌های شدیداً تخصصی موجودات پرسلولی، حاوی مقادیر قابل‌توجهی از بعضی اجزاء اختصاصی می‌باشند که از آنها برای انجام فعالیت اختصاصی خود استفاده می‌نمایند. برای مطالعه این اجزاء یا فعالیتهای اختصاصی آنها، بیوشیمیدان‌ها معمولاً از آن بافت اختصاصی برای سیستمهای آزمایشی بهره می‌برند. برای مثال، عضله اسکلتی مهره‌داران غنی از اکتین و میوزین می‌باشد؛ سلول‌های ترشحی پانکراس حاوی غلظتهای بالای شبکه آندوپلاسمی خشن هستند؛ سلول‌های اسپرم غنی از DNA می‌باشند؛ کبد حاوی غلظتهای بالائی از بسیاری از آنزیم‌های مسیرهای بیوسنتتیک است؛ و برگهای اسفناج تعداد زیادی کلروپلاست دارد.

Book.Apfarsi.ir

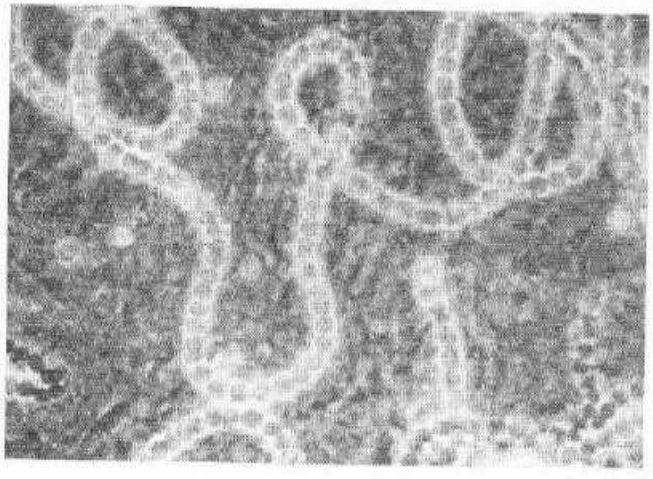
گاهی سادگی ساختمان یا فعالیت، یک سلول خاص را برای یک سیستم تحقیقی مناسب می‌نماید. برای مطالعه ساختمان و عملکرد غشاء پلاسمایی، گلبول‌های قرمز بالغ خون مناسب هستند، زیرا فاقد غشاءهای داخلی بوده تا منجر به پیچیدگی تخلیص غشاء پلاسمایی گردند. بعضی از ویروس‌های باکتریایی (باکتریوفاژها) دارای ژن‌های کمی هستند. بنابراین ملکول‌های DNA آنها بسیار ساده‌تر از ملکول‌های موجود در انسان و گیاه ذرت می‌باشد. ثابت شده است که مطالعه همانندسازی DNA با استفاده از این ویروس‌ها، در مقایسه با کروموزوم‌های اوکاریوتی، ساده‌تر می‌باشد، زیرا وقتی یک ویروس یک سلول باکتری را عفونی می‌نماید، انفجاری در همانندسازی DNA رخ خواهد داد که همراه با افزایش مقادیر آنزیم‌های همانندسازی DNA می‌باشد.

شرح بیوشیمیایی سلول‌های زنده در این کتاب، براساس مطالعات انجام‌شده بر روی انواع مختلف سلول‌ها می‌باشد. همواره لازم است بیوشیمیدان‌ها در تعمیم نتایج حاصل از سلول‌های خاص و ارتباط دادن مشاهدات خارج از بدن با رویدادهای موجود در سلول زنده، دقت نمایند.

تکامل و ساختمان سلول‌های پروکاریوتی

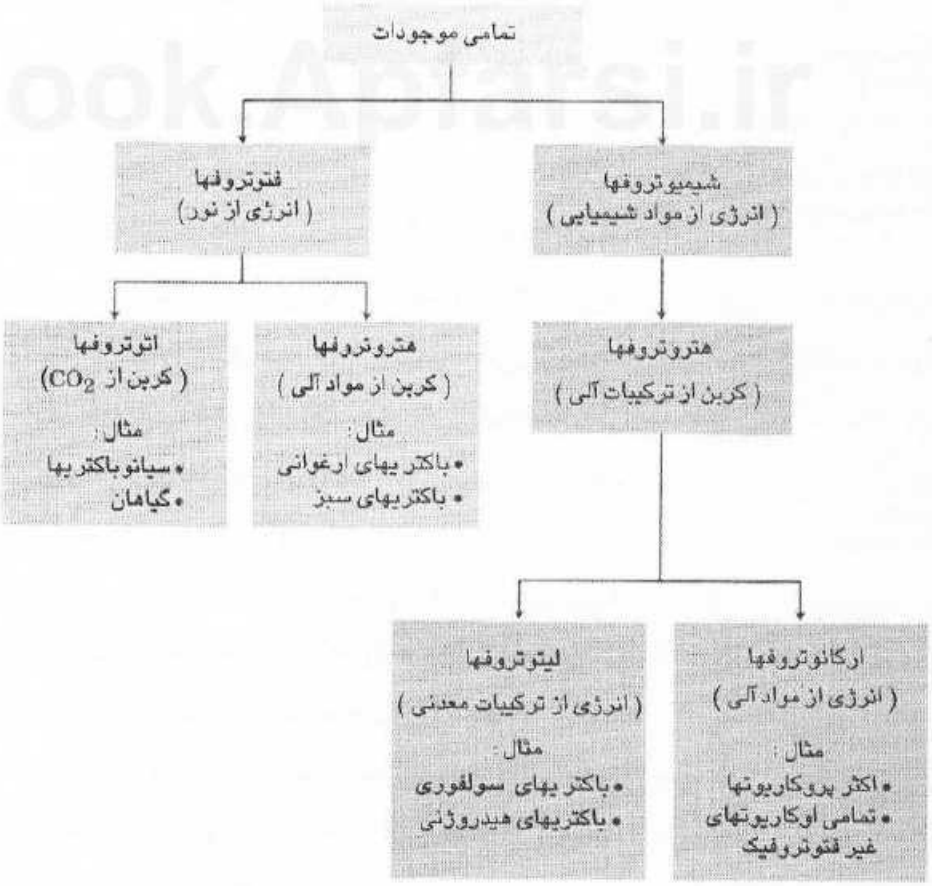
دو گروه بزرگ پروکاریوت‌های موجود، شامل **آراکی‌باکتری‌ها** (کلمه یونانی *arach* به معنی «مبدأ») و **اوباکتری‌ها** (کلمه یونانی *eu* به معنی «واقعی») را می‌توان براساس زمینه‌های بیوشیمیایی تشخیص داد. اوباکتری‌ها در خاک، آب‌های سطحی و بافت‌های موجودات دیگر زنده یا درحال فساد زندگی می‌کنند. معمول‌ترین باکتری‌ها که بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، مثلاً *E.coli* جزء اوباکتری‌ها می‌باشند. آراکی‌باکتری‌ها اخیراً کشف شده‌اند و از نظر بیوشیمیایی کمتر شناخته شده هستند. بیشتر اینها در محیط‌های افراطی (دریاچه‌های نمک، محل‌های داغ، باطلاق‌ها و اعماق اقیانوس‌ها) زندگی می‌کنند. شواهد موجود مطرح می‌نماید که آراکی‌باکتری‌ها و اوباکتری‌ها در اوایل دوره تکاملی از یکدیگر جدا شدند و دو ناحیه مجزا، گاهی با نام‌های باکتری‌ها و آراکی‌ها، را تشکیل دادند. تمامی موجودات اوکاریوت که سومین ناحیه، اوکاریا، را تشکیل می‌دهند از همان شاخه ایجادکننده آراکیها منشعب می‌گردند؛ بنابراین، آراکی‌باکتری‌ها ارتباط نزدیک‌تری با اوکاریوت‌ها، تا اوباکتری‌ها، دارند. ازآنجایی‌که توالی‌های ژنومی کاملی برای آراکی‌باکتری‌ها (نظیر *Methanococcus jannaschii*) و اوباکتری‌ها (*E.coli*) دردسترس می‌باشد،میزان واگرایی بین این دو شکل حیات بکلی آشکار می‌باشد: کمتر از نصف ژن‌های *M. jannaschii* دارای تشابهات قابل تشخیصی با *E.coli* می‌باشد! به علاوه، ژن‌های کدکننده پروتئین‌های مورد نیاز برای همانندسازی DNA، رونویسی RNA و سنتز پروتئین در *M. jannaschii*، همان انواع عمومی موجود در اوکاریوت‌ها بوده و متفاوت از انواع شرکت‌کننده در همین فرایندها در اوباکتری‌ها می‌باشند.

در نواحی باکتری‌ها و آراکیا، زیرگروه‌هایی



Nostoc sp، یک سیانو باکتری فتوسنتیک. این میکروگراف نوری رشته‌های طویل متشکل از سلول‌های گرد را نشان می‌دهد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳-۲. موجودات را می‌توان برحسب منبع انرژی (نور خورشید یا اکسیداسیون ترکیبات شیمیایی) و منبع کربن مورد نیاز برای سنتز مواد سلولی، طبقه‌بندی نمود.

هوازی زندگی می‌نمایند؛ فرایندهای کاتابولیک این موجودات نهایتاً منجر به انتقال الکترون‌ها از مواد سوختنی به اکسیژن می‌گردد. محیطهای دیگر **بی‌هوازی**، کاملاً فاقد اکسیژن بوده و میکروارگانیسم‌هایی که به این محیط‌ها عادت کرده‌اند، متابولیسم را بدون اکسیژن انجام می‌دهند. این باکتری‌ها الکترون‌ها را به نیترات (ایجاد N_2)، سولفات (ایجاد H_2S) یا دی کسید کربن (ایجاد متان، CH_4) انتقال می‌دهند. بسیاری از موجوداتی که در محیط‌های بی‌هوازی زندگی می‌کنند، بی‌هوازی‌های *اجباری* هستند که در حضور اکسیژن می‌میرند.

برحسب منبع انرژی، موجودات را می‌توان به دو دسته اصلی تقسیم نمود: **فتوتروف‌ها** (کلمه یونانی *trophe* به معنی «تغذیه») که از نور خورشید استفاده می‌کنند و **شیموتروف‌ها** که انرژی مورد نیاز خود را از اکسیداسیون مواد سوختنی بدست می‌آورند. دسته فتوتروف‌ها خود به دو گروه تقسیم می‌گردند؛ یکی انواعی که کربن خود را می‌توانند از CO_2 تأمین نمایند **(اتوتروف‌ها)** و دیگری آنهایی‌که نیاز به مواد غذایی آلی دارند **(هتروتروفها)**. هیچکدام از شیمیوتروف‌ها نمی‌توانند اتم‌های کربن خود را منحصراً از CO_2 بدست آورند (یعنی در این گروه، اتوتروف‌ها وجود ندارند)، ولی شیمیوتروف‌ها ممکن است برحسب یک معیار متفاوت دیگر، یعنی نوع ماده سوختنی، طبقه‌بندی گردند: این ماده می‌تواند غیرآلی **(لیتوتروف)** و یا آلی **(ارگانوتروف)** باشد. اکثر موجودات شناخته شده در یکی از این چهار گروه بزرگ قرار می‌گیرند؛ اتوتروف‌ها و هتروتروف‌ها در میان فتوسنتزکننده‌ها، لیتوتروف‌ها یا ارگانوتروف‌ها در میان اکسیدکننده‌های شیمیایی (شکل ۳-۲). بنابراین پروکاریوت‌ها دارای روش‌های عمومی متعددی برای کسب کربن و انرژی هستند. برای مثال، *E.coli* یک شیمیوارگانوهتروتروف می‌باشد؛ این باکتری از مواد آلی موجود در محیط هم به‌عنوان سوخت و هم به‌عنوان منبع کربن استفاده می‌نماید. سیانوباکتری‌ها فتواتوتروف (به اشتباه در متن

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۲. دوره‌های تاریخی پیدایش حیات بر روی زمین.

اصلی فتولیتواتوتروف آمده است. مترجم) می‌باشند که از نور خورشید به‌عنوان منبع انرژی استفاده نموده و CO_2 را به بیوملکول‌ها تبدیل می‌نمایند.

همانطور که در شکل ۴-۲ نشان داده شده است، سلول‌های اولیه در حدود ۳/۵ بیلیون ($۳/۵ \times ۱۰^۹$) سال قبل در مخلوطی غنی از مواد آلی، سوپ «بدوی» زمانهای پربیوتیک، ظاهر شدند؛ این سلول‌ها تقریباً بطورحتم شیمیوهتروتروف بودند. ترکیبات آلی مورد نیاز آنها در ابتدا از اجزاء آلی موجود در اتمسفر اولیه زمین، نظیر CO، CO_2، N_2 و CH_4، با اعمال غیربیولوژیک حرارت انفجاری و برق آسمانی، سنتز می‌شدند (فصل ۳). هتروتروفهای اولیه بتدریج توانایی استخراج انرژی را از بعضی ترکیبات در محیط خود بدست آوردند و انرژی آن را برای سنتز ملکول‌های پیش‌ساز پیچیده‌تر خود مورد استفاده قرار دادند، بدین ترتیب وابستگی آنها به منابع خارجی این ترکیبات کاهش یافت. یک حادثه تکاملی مهم، پیدایش رنگدانه‌هایی است که جذب نور مرئی خورشید را ممکن ساخته و به سلول این اجازه را می‌داد تا از انرژی نور برای احیاء یا «تثبیت» CO_2 در ترکیبات آلی پیچیده‌تر استفاده نماید. دهنده الکترونی اولیه برای این موجودات فتوسنتتیک، احتمالاً H_2S بوده که تولید عنصر سولفور یا سولفات (SO_4^-) به‌عنوان محصول فرعی می‌نمود، ولی در سلول‌های بعدی ظرفیت آنزیمی برای استفاده از H_2O به‌عنوان دهنده الکترون در واکنش‌های فتوسنتتیک ایجاد گردید که محصول دفعی آنها O_2 بود. سیانوباکتری‌ها، نسلهای امروزی این تولیدکننده‌های اولیه اکسیژن فتوسنتتیک می‌باشند.

اتمسفر زمین در مراحل ابتدایی تکامل بیولوژیک، تقریباً عاری از اکسیژن بود، بنابراین سلول‌های نخستین بی‌هوازی بودند. تحت این شرایط، شیمیهتروتروف‌ها می‌توانستند با انتقال الکترونها به گیرنده‌هایی غیر از O_2، نظیر SO_4^{2-} و تولید H_2S به‌عنوان محصول، ترکیبات شیمیایی را اکسیده نمایند. با افزایش باکتری‌های تولیدکننده O_2، اتمسفر زمین بطورپیشرونده‌ای از اکسیژن غنی‌تر شد که یک اکسیدان قوی و سم مرگ‌آور برای بی‌هوازیهایی بود که به محیط ملایم‌تر عادت کرده بودند. در پاسخ به فشار تکاملی، تحت‌عنوان «قتل‌عام اکسیژنی[1]»، بعضی دودمان‌های میکروارگانیسم‌ها به هوازی تبدیل شدند و انرژی خود را با انتقال الکترونها از مواد سوختی به ملکول

1. Oxygen holocaust

اکسیژن بدست آورند. به علت اینکه انتقال الکترون‌ها از ملکول‌های سوختی به O_2 همراه با رهاسازی میزان زیادی از انرژی می‌باشد (واکنش شدیداً انرژی‌زا است؛ فصل ۱ را ببینید)، وقتی موجودات هوازی با موجودات بی‌هوازی مشابه خود در یک محیط حاوی اکسیژن رقابت می‌نمایند، موجودات هوازی یک مزیت انرژتیک بر موجودات بی‌هوازی خواهند داشت. این مزیت سبب می‌گردد که موجودات هوازی در محیط غنی از O_2 غالب باشند.

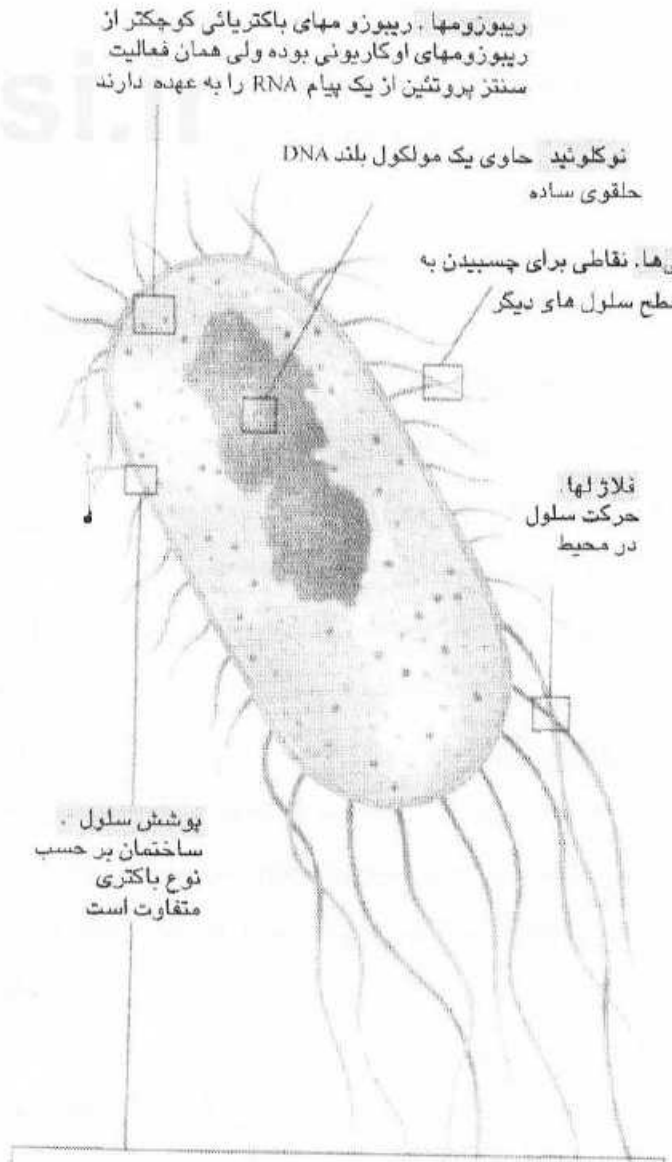
باکتری‌های امروزی تقریباً در هر محیط اکولوژیک موجود در کره زمین زندگی می‌کنند و باکتری‌هایی وجود دارند که می‌توانند از هر نوع ماده آلی به‌عنوان منبع کربن و انرژی استفاده نمایند. باکتری‌های فتوسنتتیک در هر دو محیط آب تازه و دریا، انرژی خورشید را بدام انداخته و از آن برای ساختن کربوهیدرات‌ها و تمامی اجزاء دیگر سلولی استفاده می‌نمایند که خود به‌عنوان غذا توسط سایر اشکال حیات خورده می‌شوند. یک محدودیت پتانسل برای رشد در کره زمین، دسترسی به ترکیبات حاوی نیتروژن می‌باشد و در اینجا است که باکتری‌ها، رابط ضروری در زنجیر غذایی جهانی محسوب می‌شوند. چند سوش باکتریایی، بنام **دیازاتروف‌ها**[1]، تنها موجوداتی بر روی زمین هستند که می‌توانند نیتروژن اتمسفری (N_2) را به طریق متابولیکی، در فرایندی بنام **فیکساسیون نیتروژن**، به ترکیباتی تبدیل نمایند که از نظر بیولوژیک ضروری هستند. واکنش‌هایی که توسط نور خورشید مساعدت می‌شوند و همچنین استفاده از کود، نقش مهمی در بودجه جهانی نیتروژن ثابت‌شده دارند. هرچند، این منابع نهایی نیتروژن با قابلیت دسترسی‌زیستی، لزوماً منابع بلافصل برای زمین نمی‌باشند. بیشتر ترکیبات نیتروژنی که توسط موجودات برداشت می‌گردند، از طریق محصولات بیهوده آلی مجدداً به گردش درآمده و در اینجا نیز باکتری‌ها نقش مهمی را در زنجیر غذایی جهانی، با عمل به‌عنوان مصرف‌کننده‌های نهایی و تجزیه‌کننده‌های ماده آلی حیوانات و گیاهان مرده و چرخش مجدد محصولات انتهایی به محیط، ایفاء می‌نمایند.

Escherichia coli بهترین سلول پروکاریوتی که مورد مطالعه قرار می‌گیرد

سلول‌های باکتریایی دارای خصوصیات ساختمانی مشترکی بوده ولی ویژگی‌های اختصاصی گروهی نیز دارند (شکل ۵-۲). *E.coli* یک ساکن بی‌ضرر در مجرای روده انسان می‌باشد. سلول *E.coli* حدود ۲μm طول و کمتر از ۱μm قطر دارد. این باکتری دارای یک غشاء خارجی محافظت‌کننده و یک غشاء پلاسمایی داخلی است که سیتوپلاسم و نوکلوئید را در برگرفته است. بین غشاءهای داخلی و خارجی، یک لایه نازک ولی قوی از پپتیدوگلیکان‌ها (پلیمرهای قندی که توسط اتصالات عرضی اسید آمینه‌ای به یکدیگر متصل شده‌اند) وجود دارد که شکل و سختی سلول را به آن می‌دهد. غشاء پلاسمایی و لایه‌های خارجی آن **پوشش سلولی** را ایجاد می‌کنند. تفاوت‌های موجود در این پوشش سلولی گونه‌های مختلف باکتری، مسئول تمایلات متفاوت رنگ جنتین ویوله به آنها می‌باشد که اساس رنگ‌آمیزی گرم است؛ باکتری‌های گرم مثبت این رنگ را حفظ نموده، در حالی که باکتری‌های گرم منفی آن را حفظ نمی‌کنند. غشاء خارجی *E.coli*، همانند سایر اوباکتری‌های گرم منفی، از نظر ساختمانی مشابه غشاء پلاسمایی بوده ولی ترکیب متفاوتی دارد. باکتری‌های گرم مثبت (نظیر *Bacillis subtilis* و *Staphylococcus aureus*) فاقد غشاء خارجی بوده و لایه پروتئوگلیکانی آنها که غشاء پلاسمایی را احاطه می‌نماید، بسیار ضخیم‌تر از باکتری‌های گرم منفی است. در آراکیا، این سختی توسط نوع متفاوتی از پلیمر قندی دارای

1. Diazatrophs

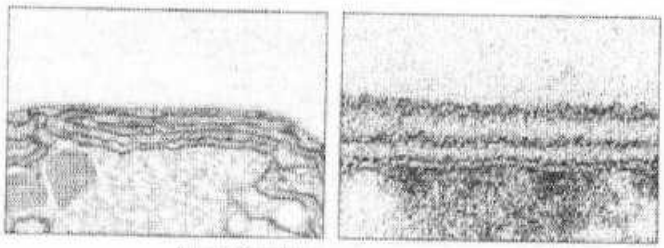
Book.Apfarsi.ir





باکتریهای گرم منفی
غشاء خارجی ولایه پپتید و گلیکان

باکتریهای گرم مثبت
لایه پپتید و گلیکان ضخیم تر
عدم وجود غشاء خارجی



سیانو باکتر یها
نوعی باکتری گرم منفی با لایه پپتید و گلیکان محکم تر و سیستم غشائی داخلی وسیع حاوی رنگدانه فتوسنتتیک

آراکی باکتریها
لایه پپتید و گلیکان کاذب در خارج غشاء پلاسمائی غشاء خارجی وجود ندارد.

شکل ۵-۲. خصوصیات ساختمانی مشترک سلول‌های باکتریایی. به خاطر تفاوت‌های موجود در ساختمان پوشش سلول، بعضی اوباکتری‌ها رنگ گرم را حفظ نموده (باکتری‌های گرم مثبت)، در حالی که بقیه حفظ نمی‌کنند (باکتری‌های گرم منفی). *E.coli* گرم منفی می‌باشد. سیانوباکتری‌ها نیز جزء اوباکتری‌ها هستند ولی بواسطه سیستم غشایی وسیع داخلی تمایز داده می‌شوند که در داخل آنها رنگدانه‌های فتوسنتتیک قرار دارد. هرچند پوشش‌های سلولی آراکی‌باکتری‌ها و اوکاریوت‌های گرم مثبت در زیر میکروسکوپ الکترونی مشابه به نظر می‌رسند، ساختمان لیپیدها و پلی‌ساکاریدهای موجود در آنها متفاوت می‌باشد.

اتصالات عرضی («پسودوپپتیدوگلیکان»)، تأمین می‌گردد. غشاءهای پلاسمایی اوباکتری‌ها از یک دولایه نازک ملکول‌های لیپیدی تشکیل شده‌اند که پروتئین‌ها به داخل آن نفوذ یافته‌اند. غشاءهای آراکی‌باکتری‌ها دارای معماری مشابهی بوده، هرچند لیپید موجود در آنها تفاوت قابل توجهی با انواع موجود در اوباکتری‌ها دارد.

غشاء پلاسمایی دارای پروتئین‌هایی است که قادر به انتقال یون‌ها و ترکیباتی به داخل و خارج سلول هستند. همچنین در غشاء پلاسمایی بیشتر اوباکتری‌ها، پروتئین‌های حامل الکترون (سیتوکروم‌ها) وجود دارد که برای سنتز ATP از ADP ضروری می‌باشند (فصل ۱). در باکتری‌های فتوسنتتیک، غشاءهای داخلی مشتق از غشاء پلاسمایی، حاوی کلروفیل و سایر رنگدانه‌های جذب‌کننده نور هستند.

از غشاء خارجی سلول‌های *E.coli* و بعضی دیگر از اوباکتری‌ها، ساختمان‌های کوتاه مومانندی، بنام **پیلی**، خارج می‌شود که توسط آنها سلول‌ها به سطوح سلول‌های دیگر متصل می‌گردند. سوش‌های *E.coli* و سایر باکتری‌های متحرک یک یا چند **فلاژل** بلند دارند که می‌تواند باکتری را در میان محیط آبی اطراف آن به سمت جلو براند. فلاژلهای باکتریایی، میله‌های نازک، سخت و مارپیچی، با ضخامت ۱۰ تا ۲۰ nm و تا چندصد میکرومتر طول هستند. هر کدام از این فلاژلها، به یک موتور چرخان متصل بوده که به صورت یک ساختمان پروتئینی در پوشش سلولی وجود دارند و با چرخش خود

Book Anfarsi.ir

فلاژل را می‌چرخاند.

سیتوپلاسم *E.coli* حاوی حدود ۱۵،۰۰۰ ریبوزوم، هزاران نسخه از هر کدام از حدود ۱،۰۰۰ آنزیم مختلف، متابولیت‌های و کوفکتورهای متعدد و انواعی از یون‌های معدنی، می‌باشد. تحت بعضی شرایط، گرانول‌های پلی‌ساکاریدی یا قطرات لیپیدی در داخل سیتوپلاسم تجمع می‌یابند. هرچند ملکول DNA یک سلول *E.coli* حدود ۱،۰۰۰ برابر بزرگتر از خود سلول است، همراه با پروتئین‌ها بسته‌بندی شده و شدیداً در داخل نوکلوئید تا می‌گردد که بزرگترین بُعد آن کمتر از ۱μm می‌باشد. همانند تمامی باکتری‌ها، هیچ غشایی در اطراف این ماده ژنتیکی وجود ندارد. علاوه بر DNA در نوکلوئید، سیتوپلاسم بیشتر باکتری‌ها حاوی یک یا چند قطعه حلقوی کوچکتر DNA، بنام **پلاسمید**، می‌باشند. در طبیعت، بعضی از پلاسمیدها سبب ایجاد مقاومت در برابر سموم و آنتی‌بیوتیکهای موجود در محیط می‌گردند. به علت غیرضروری‌بودن پلاسمیدها، در آزمایشگاه، این قطعات قابل دستکاری بوده و برای ژنتیک ملکولی بسیار مفید می‌باشند.

تقسیم کار در داخل سلول باکتری وجود دارد. پوشش سلولی، که شامل غشاء پلاسمایی است، جریان مواد را به داخل و خارج سلول تنظیم نموده و سلول را در برابر عوامل محیطی زیان‌آور محافظت می‌نماید. غشاء پلاسمایی و سیتوپلاسم حاوی انواع مختلفی از آنزیم‌ها هستند که برای متابولیسم انرژی و سنتز ملکول‌های پیش‌ساز ضروری هستند؛ ریبوزوم‌ها پروتئین‌ها را تولید می‌کنند؛ و نوکلوئید اطلاعات ژنتیکی را ذخیره و انتقال می‌دهد. بیشتر باکتری‌ها به طریق نقریباً مستقل از دیگر سلول‌ها زندگی می‌نمایند، در حالی که بعضی گونه‌های دیگر باکتریایی، تمایل دارند به شکل دستجات یا فیلمان‌هایی وجود داشته باشند، و تعدادی (برای مثال میگزوباکتری‌ها[1]) دارای زندگی ساده‌ای هستند.

تکامل سلول‌های اوکاریوتی

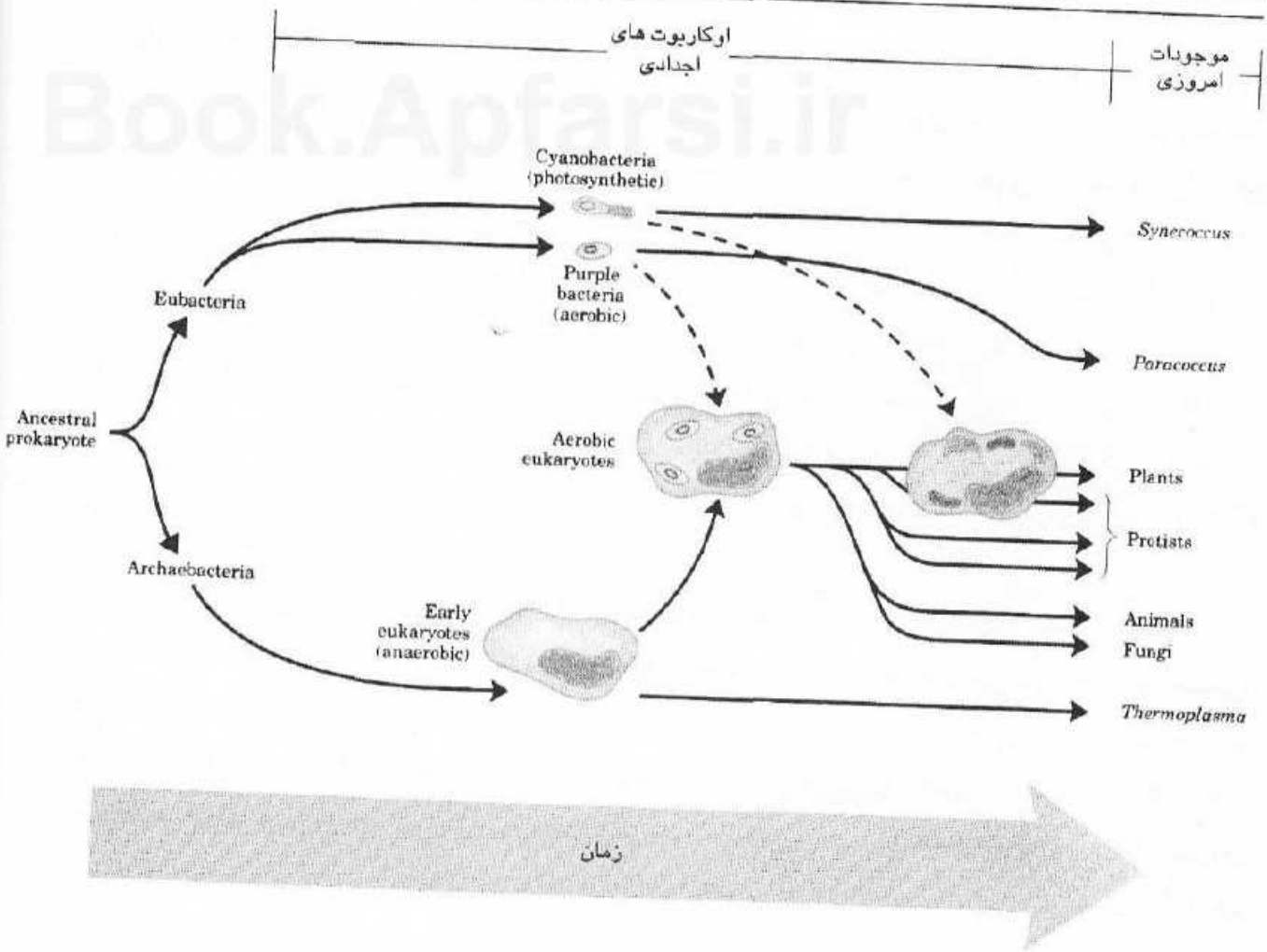
تمامی فسیل‌های دارای قدمت بیش از ۱/۵ بیلیون سال، از موجودات کوچک نسبتاً ساده بر جای مانده‌اند که از نظر اندازه و شکل مشابه پروکایوت‌های امروزی می‌باشند. از حدود ۱/۵ بیلیون سال قبل، فسیل‌ها شروع به نشان‌دادن شواهدی از موجودات بزرگتر و پیچیده‌تر می‌کنند که احتمالاً اولین سلول‌های اوکاریوتی هستند (شکل ۴-۲). تنها با استفاده از این فسیل‌ها نمی‌توان مسیر تکاملی پروکاریوت‌ها به اوکاریووتها رسید، ولی مقایسه‌های مورفولوژیکی و بیوشیمیایی موجودات امروزی، توالی منطقی سازگار با شواهد فسیلی را مطرح می‌نمایند.

پیدایش سلول‌های اوکاریوتی طی چند مرحله از پروکاریوت‌ها صورت گرفته است

برای تبدیل پروکاریوت‌ها به اوکاریوت‌ها می‌بایست سه تغییر اصلی صورت می‌گرفت (شکل ۶-۲). اول، با افزایش میزان DNA سلول‌ها، لازم بود تا مکانیسم‌های بسته‌بندی متراکم DNA به همراه پروتئین‌های اختصاصی در داخل کمپلکس‌های مجزا و همچنین مکانیسم‌های تقسیم برابر DNA بین دو سلول دختر در هنگام تقسیم سلولی، ماهرانه‌تر گردند. این کمپلکس‌های DNA-پروتئین که **کروموزوم** (کلمات یونانی *chroma* یعنی «رنگ» و *soma* یعنی «جسم») نامیده می‌شوند، در زمان تقسیم سلولی به‌طور خاصی متراکم شده و در زیر میکروسکوپ نوری به شکل

1. Mixobacteria

Book.Apfarsi.ir



شکل ۶-۲. پیدایش اوکاریوت‌ها. موجودات امروزی ممکن است بوسیله یک سری اتحادهای درون‌همزیستی از پروکاریوت‌های اجدادی مشتق شده باشند. اوکاریوت اولیه بی‌هوازی، ساختمان‌های هسته‌ای خود را از یک آرکی‌باکتری و دستگاه حرکتی (نشان داده نشده است) خود را از یک باکتری بی‌هوازی ادغام‌شده با آن، کسب نمود. بعداً این اوکاریوت اولیه، باکتری درون‌همزیست ارغوانی را بدست آورد که ظرفیت کاتابولیسم هوازی را به همراه داشت که خود با گذشت زمان به میتوکندری تبدیل گردید. وقتی سیانوباکتری‌های فتوسنتتیک به درون‌همزیستهای تعدادی از اوکاریوت‌های تبدیل شدند، این سلول‌ها به سلول‌های پیش‌ساز جلبک سبز و گیاهان امروزی تغییر یافتند.

نخ‌های کرماتین مشاهده می‌گردند.

دوم، با بزرگترشدن سلول، سیستمی از غشاءهای داخل‌سلولی، از جمله یک غشاء دوتایی احاطه‌کننده DNA بوجود آمد. این غشاء سبب جداسازی فرایند سنتز DNA با بکارگیری قالب DNA از فرایند سنتز پروتئین بر روی ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی گردید. بالاخره، سلول‌های اولیه اوکاریوتی، که قادر به فتوسنتز یا متابولیسم هوازی نبودند، باکتری‌های هوازی یا باکتری‌های فتوسنتتیک را در برگرفته و ایجاد ارتباطات **درون همزیستی**[1] نمودند که به شکل دائمی تبدیل شد. بعضی از باکتری‌های هوازی به میتوکندری‌های اوکاریوت‌های امروزی تکامل یافتند و بعضی از سیانوباکتری‌های فتوسنتتیک به پلاستیدها، نظیر کلروپلاست‌های جلبک سبز، احتمالاً به‌عنوان جد سلول‌های گیاهی امروزی، تبدیل شدند. سلول‌های پروکاریوتی و اوکاریوتی در جدول ۱-۲ با یکدیگر مقایسه شده‌اند.

1. Endosymbiotic

Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۲. مقایسه سلول‌های پروکاریوتی و اوکاریوتی

خصوصیات	سلول پروکاریوتی	سلول اوکاریوتی
اندازه	عموماً کوچک (۱-۱۰ μm)	عموماً بزرگ (۵-۱۰۰ μm)
ژنوم	DNA با پروتئین‌های غیرهیستونی؛ ژنوم در نوکلوئید، عدم احاطه توسط غشاء	DNA به شکل کمپلکس با پروتئین‌های هیستونی و غیرهیستونی در کروموزوم‌ها؛ کروموزوم‌ها در داخل هسته دارای پوشش غشایی
تقسیم سلولی	شکافت یا جوانه‌زدن؛ عدم میتوز	میتوز با استفاده از دوک میتوتیک؛ سانتریول‌ها در بسیاری از گونه‌ها
اندامک‌های حاوی غشاء	وجود ندارد	میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها (در گیاهان و تعدادی از جلبک‌ها)، شبکه آندوپلاسمی، کمپلکس‌های گلژی، لیزوزوم‌ها (در حیوانات)، و غیره.
تغذیه	جذب؛ تعدادی فتوسنتز	جذب، خوردن؛ فتوسنتز در بعضی از گونه‌ها
متابولیسم انرژی	بدون میتوکندری؛ آنزیم‌های اکسیداتیو متصل به غشاء پلاسمایی؛ تنوع زیاد در الگوی متابولیکی	آنزیم‌های اکسیداتیو در داخل میتوکندری‌ها؛ الگوی متحدتری از متابولیسم اکسیداتیو
اسکلت سلولی	وجود ندارد	پیچیده، همراه با میکروتوبول‌ها، فیلمان‌های حدواسط، فیلمان‌های اکتین
حرکت داخل‌سلولی	وجود ندارد	جریان سیتوپلاسمی، آندوسیتوز، فاگوسیتوز، میتوز، انتقال وزیکول

سلول‌های اوکاریوتی اولیه منجر به ایجاد پروتیستهای متنوع شدند

با ظهور سلول‌های اوکاریوتی اولیه، تکامل بیشتر منجر به تنوع بسیار زیاد موجودات اوکاریوتی تک‌سلولی **(پروتیست‌ها)** گردید. بعضی از اینها (انواع دارای کلروپلاست)، مشابه پروتیستهای فتوسنتتیک امروزی، نظیر *Euglena* و *Chlamydomonas* بودند؛ درحالیکه بقیه، شامل پروتیستهای غیرفتوسنتتیک مشابه *Paramecium* یا *Dictyostelium* بودند. اوکاریوت‌های تک‌سلولی فراوان بوده و سلول‌های تمامی موجودات چندسلولی (حیوانات، گیاهان و قارچ‌ها) اوکاریوتیک می‌باشند.

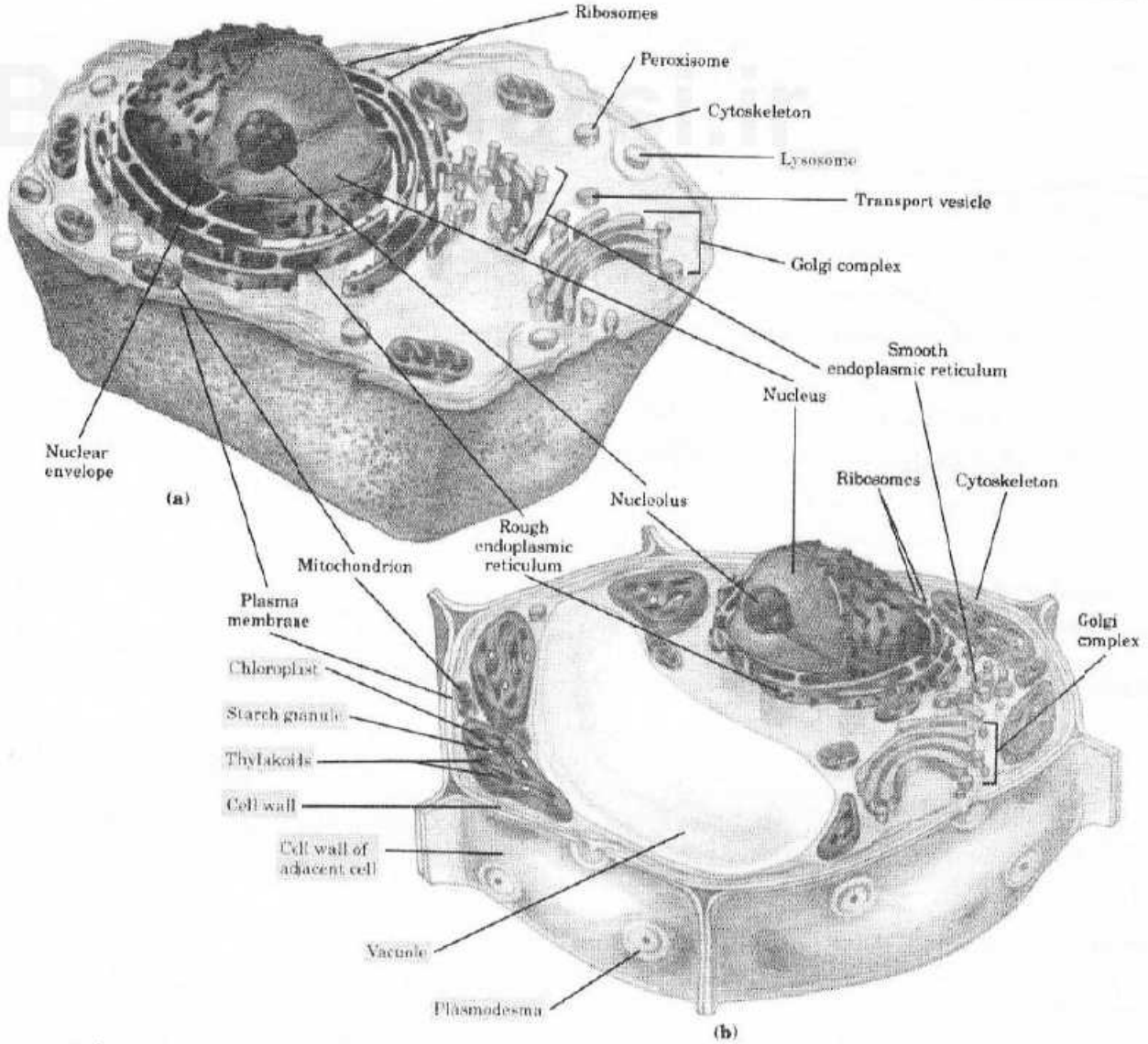
خصوصیات ساختمانی اصلی سلول‌های اوکاریوتی

سلول‌های شاخص اوکاریوتی (شکل ۷-۲) بسیار بزرگتر از سلول‌های پروکاریوتی می‌باشند، بطوریکه قطر آنها معمولاً ۵ تا ۱۰۰ μm بوده و حجم‌های سلولی آنها یک هزار تا یک میلیون برابر بزرگتر از باکتری‌ها است. مشخصه تشخیص‌دهنده اوکاریوت‌ها، وجود هسته می‌باشد که ساختمان داخلی پیچیده‌ای داشته و توسط یک غشاء دوتایی احاطه شده است. تفاوت برجسته دیگر بین اوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها این است که اوکاریوت‌ها دارای تعدادی از سایر اندامک‌های متصل به غشاء می‌باشند. ساختمان‌ها و اعمال اجزاء سلول‌های اوکاریوتی، با جزئیات بیشتر، در قسمت‌های پایین شرح داده شده است.

غشاء پلاسمایی حاوی ترانسپورترها و گیرنده‌ها می‌باشد

سطح خارجی یک سلول با سلول‌های دیگر، مایع خارج‌سلولی، مواد محلول، مواد غذایی، هورمون‌ها، نوروترانسمیترها و آنتی‌ژن‌های موجود در مایع، در تماس می‌باشد. غشاءهای پلاسمایی تمامی سلول‌ها دارای **انتقال‌دهنده‌ها یا ترانسپورترهای** زیادی هستند که با ایجاد پل در عرض غشاء، مواد غذایی را به داخل و محصولات مختلف را به خارج سلول انتقال می‌دهند. سلول‌ها همچنین دارای پروتئین‌های سطح غشایی **(گیرنده‌های پیام)**

Book.Apfarsi.ir

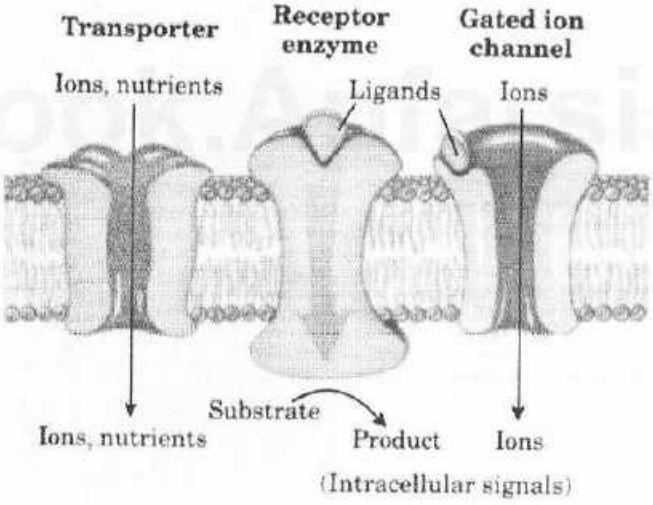


شکل ۷-۲. شرح تصویری دو نوع اصلی سلول اوکاریوتی: یک سلول حیوانی (a) و یک سلول گیاهی (b). سلول‌های گیاهی معمولاً قطری حدود ۱۰ تا ۱۰۰ μm داشته که بزرگتر از سلول‌های حیوانی، با قطر حدود ۵ تا ۳۰ μm می‌باشند. ساختمان‌هایی که با سایه مشخص شده‌اند، در سلول‌های حیوانی یا گیاهی بی‌همتا هستند.

هستند که جایگاه‌های اتصالی بسیار اختصاصی برای ملکول‌های پیام (لیگاندهای گیرنده) خارج‌سلولی دارند. با اتصال یک لیگاند خارجی به گیرنده اختصاصی آن، پروتئین گیرنده، پیام حمل‌شده توسط آن لیگاند را به یک پیام داخل‌سلولی تبدیل می‌نماید (شکل ۸-۲). برای مثال، بعضی از گیرنده‌ها با **کانال‌های یونی** مرتبط هستند که در هنگام اشغال گیرنده توسط لیگاند، باز شده و اجازه ورود یون‌های اختصاصی را می‌دهند؛ در موارد دیگر، آنزیم‌های سلولی موجود در سطح غشاء داخلی با اتصال لیگاند به گیرنده، فعال یا مهار می‌گردند. نحوه **انتقال و تبدیل پیام** هر چه باشد، گیرنده‌های سطحی به‌عنوان تقویت‌کننده پیام عمل می‌نمایند؛ به‌طوری که، وقتی یک ملکول واحد پیام به یک گیرنده واحد اتصال می‌یابد، ممکن است جریان هزاران یون را از میان کانال بازشده، یا سنتز هزاران ملکول پیامبر داخل‌سلولی توسط یک آنزیم فعال‌شده را سبب گردد.

بعضی از گیرنده‌های سطحی، لیگاندهای دارای وزن ملکولی پایین را شناسایی نموده، در حالی که بقیه ماکروملکول‌ها را تشخیص می‌دهند. برای مثال، اتصال استیل‌کولین (وزن‌ملکولی ۱۴۶) به گیرنده آن، آبشاری از حوادث سلولی را آغاز می‌نماید که انتقال پیام برای انقباض عضلانی را به همراه دارد. پروتئین‌های خونی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۲. پروتئین‌ها در غشاء پلاسمایی به‌عنوان ترانسپورتر، گیرنده پیام و کانال‌های یونی عمل می‌نمایند. ترانسپورترها مواد را به داخل و خارج سلول انتقال می‌دهند؛ بعضی از ترانسپورترها از انرژی برای پمپ‌نمودن یون‌ها و ترکیبات در برابر یک شیب غلظتی استفاده می‌نمایند. پیامهای خارج‌سلولی توسط گیرنده‌ها تقویت می‌گردند؛ اتصال یک ملکول لیگاند به گیرنده سطح سلولی، منجر به تشکیل تعداد زیادی ملکول پیامبر داخل‌سلولی یا جریان تعداد زیادی یون از طریق یک کانال بازشده می‌گردد.

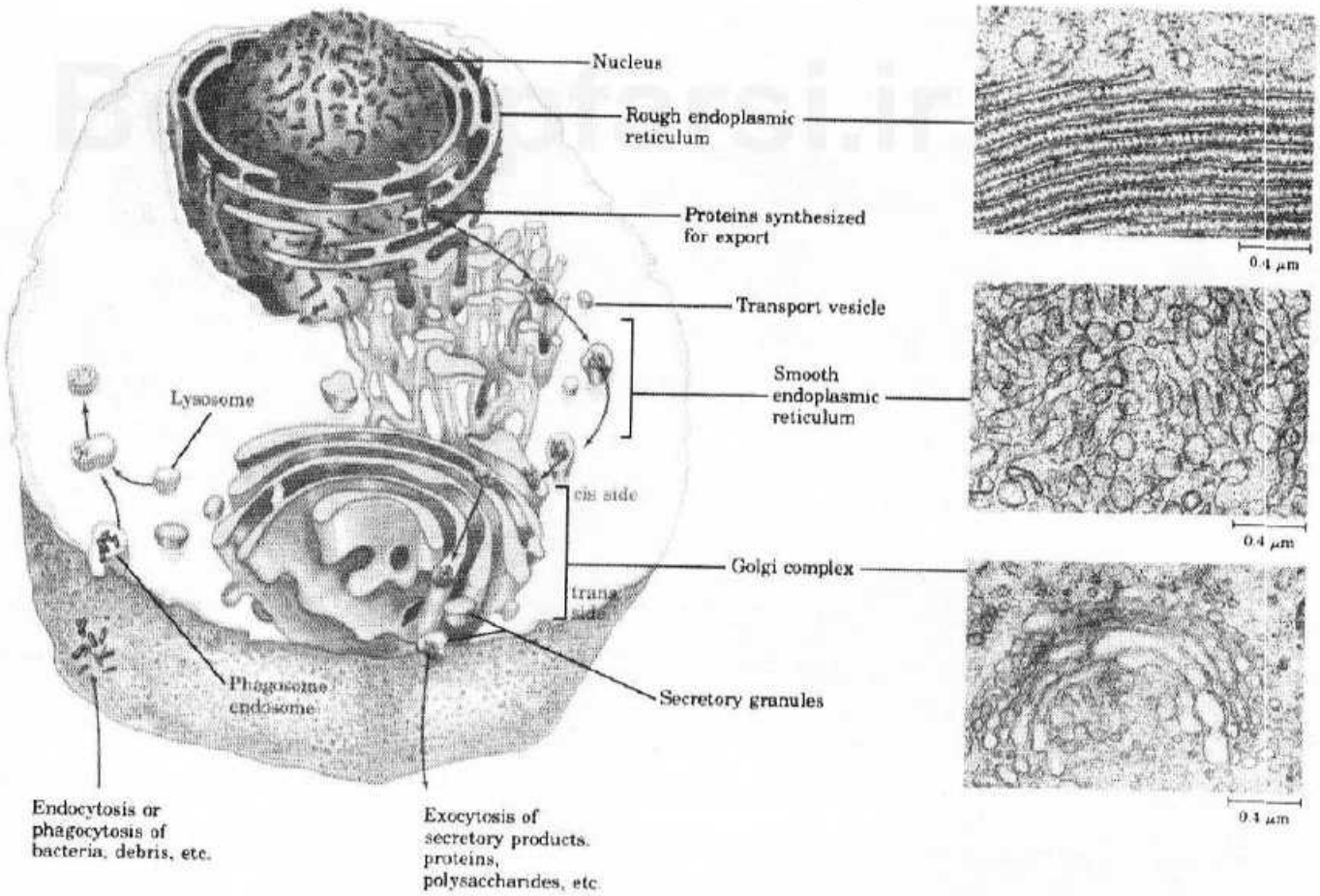
(وزن ملکولی بیش از ۲۰,۰۰۰) که لیپیدها را حمل می‌نمایند (لیپوپروتئین‌ها)، توسط گیرنده‌های سطح سلولی اختصاصی شناسایی شده که ورود لیپید به داخل سلول را وساطت می‌کنند. آنتی‌ژن‌ها (پروتئین‌ها، ویروس‌ها یا باکتری‌هایی که توسط سیستم ایمنی بدن به‌عنوان ماده خارجی شناسایی می‌شوند) به گیرنده‌های اختصاصی اتصال یافته و تولید آنتی‌بادی را سبب می‌گردند. در طی تکامل موجودات پرسلولی، بعلت واکنش ملکول‌های پیام از یک نوع سلول با گیرنده‌های سلول نوع دیگر، سلول‌های مجاور بر روی مسیرهای تکاملی یکدیکر تأثیر می‌گذارند. بنابراین غشاء سطحی یک سلول، کمپلکس موزاییکی از انواع مختلف «آنتن‌های ملکولی» شدیداً اختصاصی هستند که از طریق آنها سلول‌ها پیام‌های خارجی را دریافت نموده، با آنها واکنش داده و آنها را تقویت می‌نمایند.

اکثر سلول‌های گیاهان آلی دارای یک **دیواره سلولی** در خارج غشاء پلاسمایی هستند (شکل ۷b-۲) که به‌عنوان یک غلاف حفاظتی سخت عمل می‌نماید. این دیواره سلولی که از سلولز و پلیمرهای کربوهیدراتی دیگر تشکیل شده است، ضخیم و منفذدار می‌باشد. این منافذ، عبور سریع آب و ملکول‌های کوچک را ممکن ساخته ولی سختی دیواره مانع تورم سلول بواسطه تجمع آب در آن می‌گردد.

آندوسیتوز و اگزوسیتوز مواد را در عرض غشاء انتقال می‌دهند

آندوسیتوز مکانیسمی برای انتقال مواد از محیط اطراف سلول به عمق سیتوپلاسم آن می‌باشد. در این فرایند (شکل ۹-۲)، در ناحیه‌ای از غشاء پلاسمایی و به سمت داخل، تورفتگی ایجاد شده که حجم کوچکی از مایع خارج‌سلولی را در داخل جوانه‌ای دربر می‌گیرد؛ این جوانه در اثر شکافت غشایی به داخل سلول آزاد می‌گردد. وزیکول کوچک حاصل **(آندوزوم)** می‌تواند در داخل سلول حرکت نموده و با ادغام دو غشاء، محتویات خود را به اندامک دیگری تحویل دهد که توسط یک غشاء احاطه شده است (برای مثال، یک لیزوزوم؛ ص. ۴۲ را ببینید). بنابراین، آندوزوم حاصل با عمل به‌عنوان امتداد داخل سلولی غشاء پلاسمایی، به‌طور مؤثری امکان برقراری تماس نهایی بین مواد موجود در محیط خارج‌سلولی و اعماق سیتوپلاسم را فراهم می‌نماید که تنها با انتشار نمی‌توانستند به آن برسند. **فاگوسیتوز** حالت خاصی از آندوسیتوز می‌باشد که در آن ماده انتقالی به داخل سلول (در داخل یک فاگوزوم)، یک ذره، نظیر یک قطعه سلولی یا حتی سلول کوچک دیگر می‌باشد. عکس آندوسیتوز، **اگزوسیتوز** می‌باشد (شکل ۹-۲) که در آن یک وزیکول در داخل سیتوپلاسم به سمت سطح داخلی غشاء پلاسمایی حرکت نموده و با اتصال به آن، محتویات وزیکولی بخارج غشاء آزاد می‌گردد. بسیاری از پروتئین‌هایی که قرار است به

Book.Apfarsi.ir



شکل ۹-۲. سیستم درون‌غشایی. این سیستم شامل پوشش هسته، شبکه آندوپلاسمی، کمپلکس گلژی و چندین نوع وزیکول کوچک می‌گردد. این سیستم قسمتی (مجرایی) را در بر می‌گیرد که مجزا از سیتوزول می‌باشد. محتویات این مجرا از یک ناحیه سیستم درون‌غشایی به قسمت دیگر حرکت می‌نماید. این عمل با جوانه‌زدن وزیکولهای انتقالی کوچک از یک قسمت و ادغام آنها با قسمت دیگر سیستم صورت می‌پذیرد. میکروگراف‌های الکترونی با درشت‌نمایی بالا یک سلول برش داده‌شده، شبکه آندوپلاسمی خشن پوشیده با ریبوزوم‌ها، شبکه آندوپلاسمی صاف و کمپلکس گلژی (اندازه کمپلکس گلژی برای وضوح بیشتر از اندازه طبیعی بزرگتر نشان داده شده است) را نشان می‌دهد.

این سیستم درون‌غشایی پویا می‌باشد: پروتئین‌های تازه سنتزشده وارد مجرا شبکه آندوپلاسمی خشن و بنابراین شبکه آندوپلاسمی صاف‌شده و سپس از طریق وزیکولهای انتقالی به کمپلکس گلژی می‌رسد. قسمت سیس کمپلکس گلژی به سمت هسته بوده و قسمت ترانس آن به غشاء پلاسمایی نزدیکتر می‌باشد. در کمپلکس گلژی، «آدرسهای» ملکولی به پروتئین‌های اختصاصی افزوده شده تا آنها را به سطح سلولی، لیزوزوم‌ها یا گرانولولهای ترشحی هدایت نمایند. محتویات گرانولهای ترشحی توسط اگزوسیتوز از سلول خارج می‌گردد. آندوسیتوز و فاگوسیتوز مواد خارج‌سلولی را به داخل سلول انتقال می‌دهند. ادغام آندوزومها (یا فاگوزومها) با لیزوزوم‌ها که حاوی آنزیم‌های گوارشی هستند، منجر به تجزیه مواد خارج‌سلولی می‌گردد.

داخل فضای خارج‌سلولی ترشح گردند، در داخل وزیکول‌هایی، بنام گرانول‌های ترشحی، بسته‌بندی شده و توسط اگزوسیتوز رها می‌شوند.

شبکه آندوپلاسمی سنتز پروتئین‌ها و لیپیدها را سازماندهی می‌نماید

وزیکولهای انتقالی کوچک که به سمت غشاء پلاسمایی حرکت نموده و غشاء پلاسمایی را در اگزوسیتوز و آندوسیتوز تشکیل می‌دهند، قسمتی از یک سیستم پویا غشاءهای داخل‌سلولی، شامل شبکه آندوپلاسمی، کمپلکس گلژی، پوشش هسته و انواعی از وزیکول‌های کوچک مثل لیزوزوم‌ها و پراکسی‌زوم‌ها، می‌باشند (شکل ۹-۲). هرچند این ساختمان‌ها عموماً بصورت عناصر مجزا و ساکن بنظر می‌رسند، در حقیقت در جریان دائمی هستند که در آن وزیکولهای غشایی بطورپیوسته جوانه زده، در سراسر سلول حرکت نموده و در

ساختمان‌های غشایی در هر محل دیگر فرو می‌روند.

شبکه آندوپلاسمی (ER) یک شبکه شدیداً پیچیده سه‌بُعدی از فضاهای درون‌غشایی است که در سراسر سیتوپلاسم امتداد داشته و یک قسمت تحت‌سلولی (مجرای ER) را در بر می‌گیرد. شاخه‌های متعدد پهن (سیسترنا) این قسمت سلولی، با یکدیگر و با پوشش هسته پیوسته می‌باشد. در سلول‌های مختص ترشح پروتئین‌ها، نظیر سلول‌های پانکراس که هورمون انسولین را ترشح می‌کنند، ER فراوانی خاصی دارد. ریبوزوم‌هایی که پروتئین‌های ترشحی را سنتز می‌نمایند، به سطح خارجی (سیتوپلاسمی) ER اتصال یافته و در هنگام سنتز، این پروتئین‌ها از این غشاء عبور نموده و به داخل مجرای ER وارد می‌شوند. آنزیم‌های گوارشی که در داخل لیزوزوم‌ها قرار داده می‌شوند و یا انواعی که لازم است به غشاءهای پلاسمایی یا هسته انتقال داده شوند نیز بر روی ریبوزوم‌های متصل به ER سنتز می‌گردند. برعکس، پروتئین‌های باقی مانده، شامل انواعی که در داخل سیتوزول فعالیت دارند، بر روی ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی، غیرمرتبط با ER سنتز، می‌گردند.

اتصال هزاران ریبوزوم (معمولاً در نواحی سیسترنا بزرگ)، ظاهر دانه دانه را به **شبکه آندوپلاسمی خشن** داده (شکل ۹-۲) و به همین دلیل به این نام خوانده می‌شود. در نواحی دیگر سلول، ER فاقد ریبوزوم می‌باشد. این **شبکه آندوپلاسمی صاف** که از نظر فیزیکی با شبکه آندوپلاسمی خشن پیوسته می‌باشد، محل بیوسنتز لیپید و انواع مختلفی از فرایندهای مهم، شامل متابولیسم بعضی از داروها و ترکیبات سمی، می‌باشد. برخلاف ER خشن با ساختمان مشخص سیسترنا پهن و طویل، ER صاف عموماً توبولی است. در بعضی از بافت‌ها (مثل عضله اسکلتی)، این ER برای ذخیره و رهاسازی سریع یون‌های کلسیم ویژگی یافته است. رهاسازی Ca^{2+}، محرک بسیاری از رویدادهای داخل‌سلولی، نظیر انقباض عضلانی، می‌باشد.

کمپلکس گلژی پروتئین‌ها را پردازش و دسته‌بندی می‌نماید

تقریباً تمامی سلول‌های اوکاریوتی دارای **کمپلکس‌های گلژی** می‌باشند که سیستم‌هایی از کیسه‌های غشایی، یا سیسترنا، هستند که به‌صورت توده‌های پهن مرتب شده‌اند (شکل ۹-۲). نامگذاری این کمپلکس به افتخار کاشف ساختمان و نقش آن، کامیلو گلژی[1]، صورت پذیرفته است. سمت سیس این کمپلکس بطرف شبکه آندوپلاسمی (و هسته) بوده و سمت ترانس آن بطرف غشاء پلاسمایی است؛ در بین این دو سمت، عناصر میانی وجود دارند. پروتئین‌ها، در هنگام سنتز بر روی ریبوزوم‌های متصل به ER، به داخل مجرای سیسترنای ER فرستاده می‌شود. وزیکول‌های غشایی کوچک حاوی پروتئین‌های تازه سنتزشده از ER جوانه زده و با حرکت به طرف کمپلکس گلژی، به سمت سیس آنها اتصال می‌یابند. در هنگامیکه پروتئین‌ها از کمپلکس گلژی به سمت ترانس عبور می‌نمایند، آنزیم‌های موجود در این کمپلکس، ملکول‌های پروتئینی را با افزودن قسمتهای سولفات، کربوهیدارت یا لیپیدی به زنجیرهای جانبی بعضی از اسیدهای آمینه، دستخوش تغییر قرار می‌دهند. یکی از عملکردهای این تغییر در پروتئین در حال سنتز ین است که «آدرس» مقصد مناسب پروتئین را بعد از ترک کمپلکس گلژی در داخل یک وزیکول انتقالی جوانه‌زده از سمت ترانس، مشخص می‌نماید. بعضی از پروتئین‌ها در گرانولهای ترشحی قرار داده شده و نهایتاً با فرایند اگزوسیتوز از سلول آزاد می‌گردند. سایر پروتئین‌ها برای اندامک‌های داخل‌سلولی، نظیر لیزوزوم‌ها، و یا قرارگیری در غشاء سلولی در هنگام رشد سلولی، هدفدار می‌شوند.

1. Camillo Golgi

Book.Apfarsi.ir

لیزوزوم‌ها محل‌هایی برای واکنش‌های تخریبی هستند

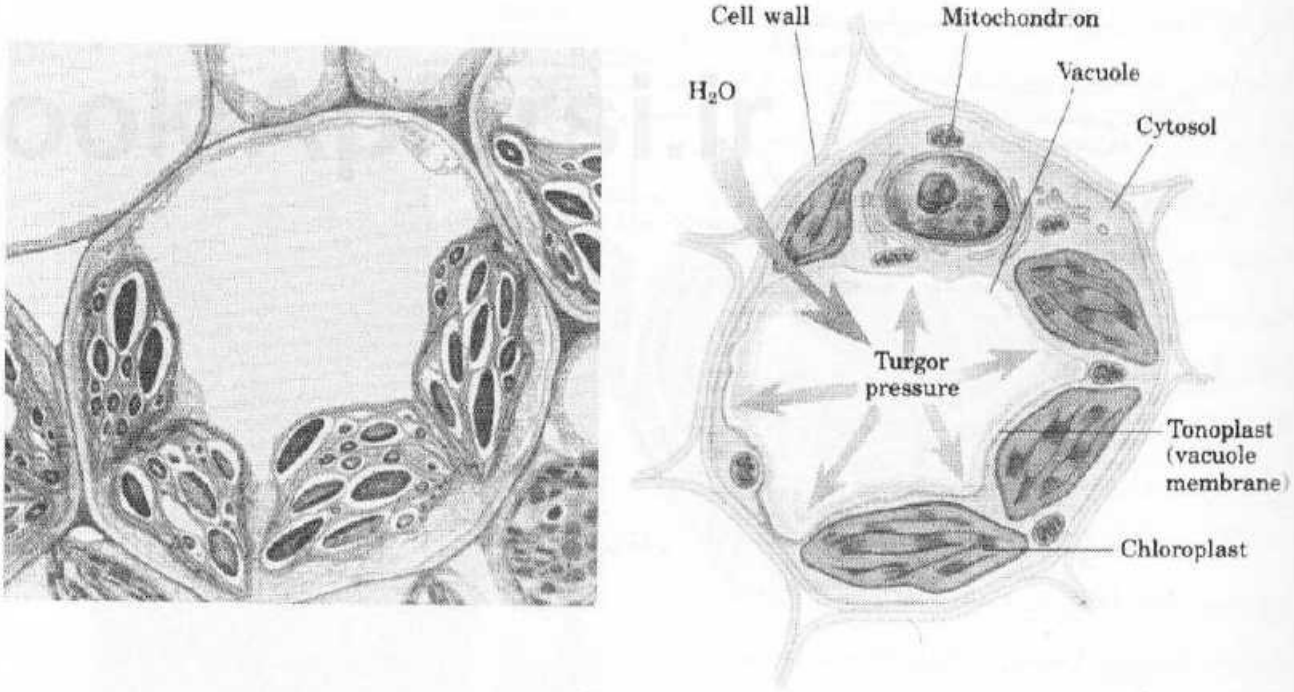
لیزوزوم‌ها که تنها در سلول‌های حیوانی وجود دارند، وزیکول‌های کروی هستند که توسط یک غشاء واحد دولایه احاطه شده‌اند (شکل ۹-۲). این وزیکول‌ها معمولاً در حدود ۱/μm قطر دارند. لیزوزوم‌ها حاوی آنزیم‌هایی هستند که قادر به هضم پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌باشند. این اندامک‌ها، با تجزیه ملکول‌های کمپلکسی که توسط آندوسیتوز یا قطعات سلول‌های خارجی که توسط فاگوسیتوز وارد سلول شده‌اند و یا اندامک‌های فرسوده موجود در خود سیتوپلاسم سلول، به‌عنوان مراکزی برای چرخش مجدد مواد سلولی عمل می‌نمایند. این مواد بطورانتخابی با ادغام غشاء لیزوزومی با آندوزوم‌ها، فاگوزوم‌ها یا اندامک‌های ناقص، وارد لیزوزوم‌ها شده و سپس به اجزاء ساده آنها (اسیدهای آمینه، منوساکاریدها، اسیدهای چرب و غیره) تخریب شده که بعد از رهاسازی به داخل سیتوزول، می‌توانند مجدداً برای تولید اجزاء سلولی مورد استفاده قرار گرفته و یا بیشتر کاتابولیزه گردند.

درصورتیکه آنزیم‌های تخریبی لیزوزوم‌ها توسط غشاء لیزوزومی محبوس نشوند، می‌توانند بر روی تمامی اجزاء سلولی عمل کنند. دومین خط دفاعی در برابر تخریب ناخواسته ماکروملکول‌های سیتوزولی توسط آنزیم‌های لیزوزومی، تفاوت در pH بین لیزوزوم و سیتوزول می‌باشد که توسط پمپ پروتونی مصرف‌کننده ATP در غشاء لیزوزومی حفظ می‌گردد. داخل لیزوزوم اسیدی‌تر (pH برابر یا کمتراز ۵) از سیتوزول (pH حدود ۷) بوده و آنزیم‌های لیزوزومی در pH بالاتر سیتوزول فعالیت کمتری دارند.

واکوئل‌های موجود در سلول‌های گیاهی اعمال متعدد مهمی را انجام می‌دهند

سلول‌های گیاهی فاقد لیزوزوم‌ها بوده ولی **واکوئل‌های** موجود در آنها واکنش‌های تخریبی مشابهی را همراه با اعمال دیگری به انجام می‌رسانند که در سلول‌های حیوانی دیده نمی‌شوند. سلول‌های گیاهی در حال رشد، دارای واکوئل‌های متعدد کوچکی هستند که بصورت وزیکول‌هایی با یک غشاء دولایه واحد می‌باشند. با بلوغ سلول، این واکوئل‌ها با یکدیگر ادغام شده و ایجاد یک واکوئل مرکزی بزرگ را می‌نمایند (شکل ۱۰-۲؛ شکل ۷b-۲ را نیز ببینید). این واکوئل ممکن است تا ۹۰٪ حجم کل سلولی را در یک سلول بالغ تشکیل داده و سیتوپلاسم را به‌صورت یک لایه نازک بین واکوئل و غشاء پلاسمایی بفشارد. غشاء احاطه‌کننده اطراف واکوئل، بنام **تونوپلاست**، ورود یون‌ها، متابولیت‌ها و ساختمان‌های سلولی دارای قصد تخریب، را تنظیم نموده و مایع موجود در داخل واکوئل حاوی آنزیم‌های گوارشی است که اجزاء ماکروملکولی را تخریب و به گردش درمی‌آورند. همانند لیزوزوم، pH موجود در داخل وزیکول عموماً کمتر از pH سیتوزول اطراف آن می‌باشد. در بعضی از سلول‌های گیاهی، این واکوئل دارای غلظت‌های بالائی از رنگدانه‌ها (آنتوسیانین‌ها[1]) می‌باشند که رنگ‌های شدید ارغوانی و قرمز را به گل‌ها و میوه‌ها می‌دهند. علاوه بر نقش آن در ذخیره و تخریب اجزاء سلولی، این واکوئل یک حمایت فیزیکی نیز برای سلول گیاهی ایجاد می‌نماید. از آنجایی که غلظت مواد محلول (املاح، یون‌ها و محصولات تخریبی) در واکوئل بیش از سیتوزول می‌باشد، آب به طریق اسموتیک وارد واکوئل شده و در حالت تعادل ایجاد یک **فشار تورگور**[2] به طرف بیرون بر سیتوپلاسم و دیواره سلولی می‌نماید که سفتی بافت گیاهی را سبب می‌گردد.

1. Anthocyanins
2. Turgor pressure



شکل ۱۰-۲. واکوئل یک سلول گیاهی حاوی غلظتهای بالای Ca^{2+} وانواعی از ترکیبات ذخیره‌شده و محصولات بیهوده می‌باشد. آب وارد واکوئلها شده و با افزایش حجم واکوئل، سیتوپلاسم را به غشاء پلاسمایی می‌فشارد. سختی دیواره سلولی مانع توسعه و پارگی غشاء پلاسمایی می‌گردد.

پراکسی‌زوم‌ها پراکسید هیدروژن را تجزیه نموده و گلی‌اکسی‌زوم‌ها چربی‌ها را به کربوهیدرات‌ها تبدیل می‌نمایند

بعضی از واکنش‌های اکسیداتیو در تجزیه اسیدهای آمینه و چربیها منجر به تولید رادیکل‌های آزاد و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌گردند که مواد شیمیایی بسیار واکنشگری هستند که می‌توانند به ماشین سلولی آسیب برسانند. برای حفاظت سلول در برابر این محصولات فرعی مخرب، این واکنش‌ها در داخل وزیکول‌هایی بنام **پراکسی‌زوم** به انجام می‌رسند که توسط غشاء احاطه شده‌اند. پراکسید هیدروژن توسط کاتالاز تجزیه می‌گردد؛ این آنزیم با غلظت بالا در پراکسی‌زوم‌ها وجود داشته و واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید:

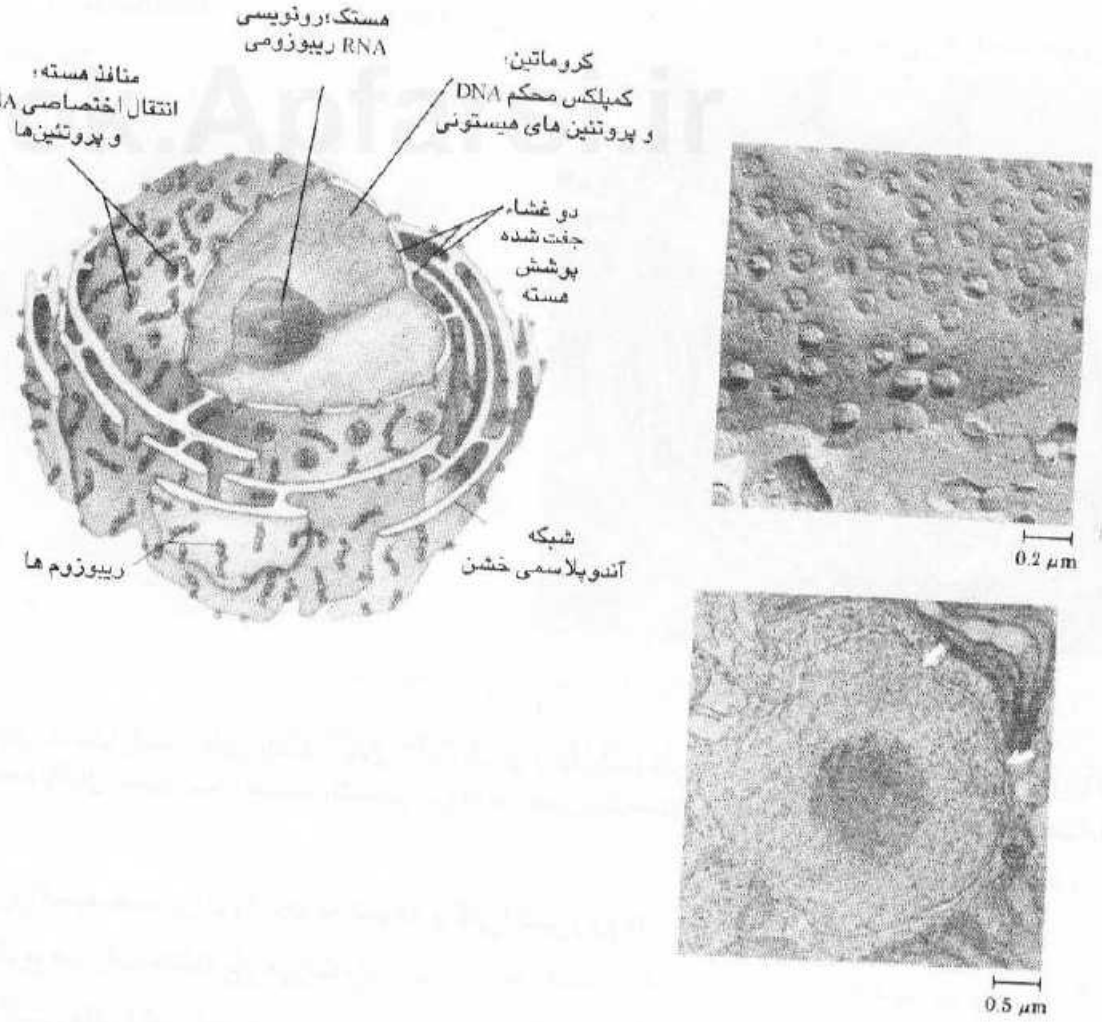
$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2.$$

گلی‌اکسی‌زوم‌ها، پراکسی‌زوم‌های اختصاصی هستند که در بعضی از سلول‌های گیاهی وجود دارند. این اندامک‌ها حاوی غلظت‌های بالای آنزیم‌های **چرخه گلی‌اکسیلات** می‌باشند که یک مسیر متابولیکی مختص گیاهان برای تبدیل چربی‌های ذخیره‌شده به کربوهیدرات‌ها در هنگام جوانه‌زدن دانه است. لیزوزوم‌ها، پراکسی‌زوم‌ها و گلی‌اکسی‌زوم‌ها را گاهی مجموعاً **اجسام ریز** یا **میکروبادی‌ها** گویند.

هسته حاوی ژنوم می‌باشد

هسته اوکاریوتی، در مقایسه با نوکلوئید نسبتاً ساده پروکاریوتی، دارای ساختمان و فعالیت بیولوژیک کاملاً پیچیده‌ای است. هسته تقریباً حاوی تمامی DNA سلول بوده که می‌تواند هزاران برابر بیش از میزان موجود در یک سلول باکتری باشد؛ مقدار کمی از DNA در میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها نیز وجود دارد. هسته توسط یک **پوشش**

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۲. هسته و پوشش هسته. (a) میکروگراف الکترونی اسکن سطح پوشش هسته که منافذ متعدد هسته را نشان می‌دهد. **(b)** میکروگراف الکترونی هسته جلبک *Chlamydomonas*. جسم تیره موجود در مرکز یک هستک بوده و ماده دانه‌دار که بقیه هسته را پر کرده است، کروماتین می‌باشد. دو منفذ هسته که غشاءهای جفت‌شده پوشش هسته را سوراخ نموده‌اند، با دو پیکان مشخص می‌باشند.

هسته احاطه شده است که خود از دو غشاء دولایه تشکیل شده که توسط یک فضای باریک از یکدیگر جدا شده و با شبکه آندوپلاسمی خشن در ارتباط است (شکل ۱۱-۲؛ شکل ۹-۲ را نیز ببینید). فواصل بین غشاءهای داخلی و خارجی، در اطراف سوراخها (**منافذ هسته**) به یکدیگر متصل می‌گردند؛ این منافذ قطری حدود ۹۰ nm دارند. ساختمان‌های پروتئینی، بنام کمپلکس‌های منفذ هسته، به این منافذ اتصال یافته که به‌عنوان ترانسپورترهای اختصاصی امکان جابجایی ماکروملکول‌ها بین سیتوپلاسم و فاز آبی هسته (**نوکلئوپلاسم**) را فراهم می‌آورند. رفت و آمد از طریق این کمپلکس‌های منفذ هسته، مربوط به آنزیم‌ها و پروتئین‌هایی می‌باشد که در سیتوپلاسم سنتز شده و برای همانندسازی و ترمیم DNA، رونویسی و پردازش RNA لازم می‌باشند. به علاوه، پیش‌سازهای RNA پیک، همراه با پروتئین‌های مربوطه، از طریق این منافذ از هسته وارد سیتوزول شده و بر روی ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی ترجمه می‌گردند.

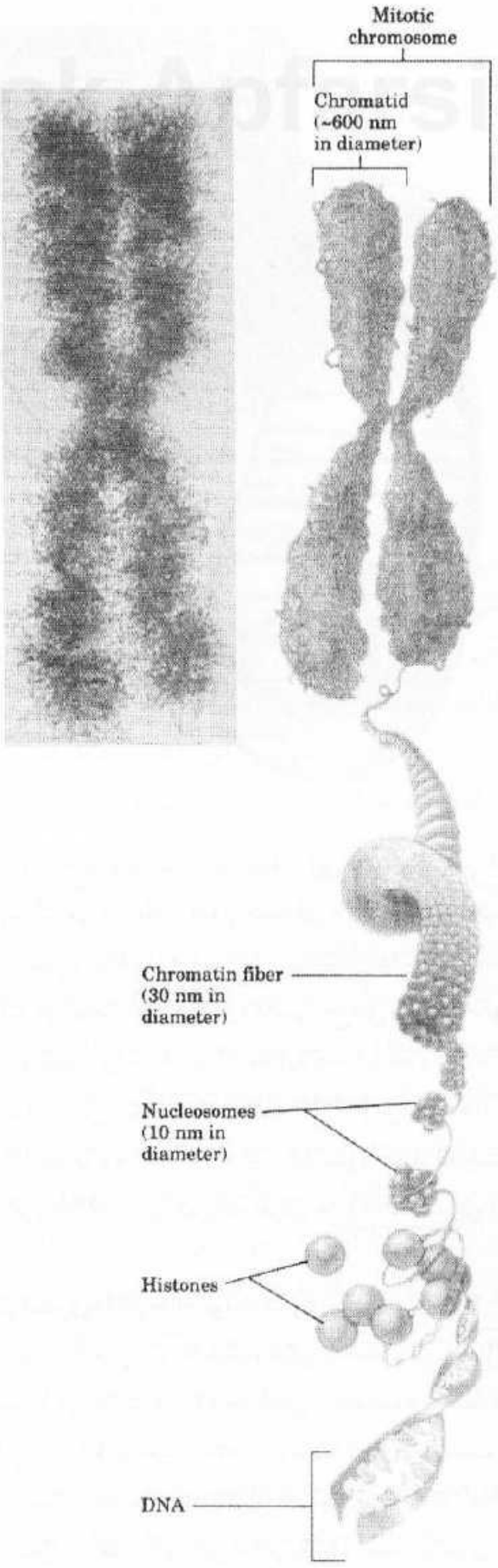
هسته در سلول اینترفاز (غیرتقسیمی) توسط ماده منتشری پر شده است که بعلت اینکه در هنگام رنگ‌آمیزی با بعضی از رنگ‌ها در زیر میکروسکوپ درخشان مشاهده می‌گردد، **کروماتین** نامیده می‌شود. کروماتین از DNA و پروتئین‌های با اتصال محکم به آن تشکیل شده و ماده کروموزومی است که تا زمان آماده‌سازی سلول برای تقسیم،

Book.Apfarsi.ir

متراکم نشده و بطورمجزا دیده نمی‌شود. **هستک** ناحیه اختصاصی در هسته می‌باشد که DNA موجود در آن حاوی اطلاعات لازم برای کدنمودن RNA ریبوزومی است. برای تولید تعداد زیاد ریبوزوم‌های مورد نیاز سلول، این ژن‌ها بطوردائمی به RNA رونویسی می‌گردند. بخاطر محتوای بالای RNA، هستک در میکروگراف‌های الکترونی متراکم بنظر می‌رسد (شکل ۲-۱۱b). RNA ریبوزومی تولیدی در هستک از طریق منافذ هسته وارد سیتوپلاسم می‌گردد.

تقسیم هسته **(میتوز)** قبل از تقسیم سلول **(سیتوکینز)** رخ می‌دهد. DNA دو رشته مارپیچی کروماتین همانندسازی شده و سپس در اولین فاز میتوز، فیبرهای کروماتینی به شکل اجسام مجزایی، **کروموزوم‌ها**، متراکم می‌شود که هر کدام از دو **کروماتید** یکسان تشکیل شده‌اند (شکل ۲-۱۲). این دو کروماتید خواهر جدا شده و هر کدام به سمت یکی از قطبهای سلول حرکت نموده و در آنجا هر کدام قسمتی از هسته تازه تولیدشده هر سلول دختر را تشکیل می‌دهند.

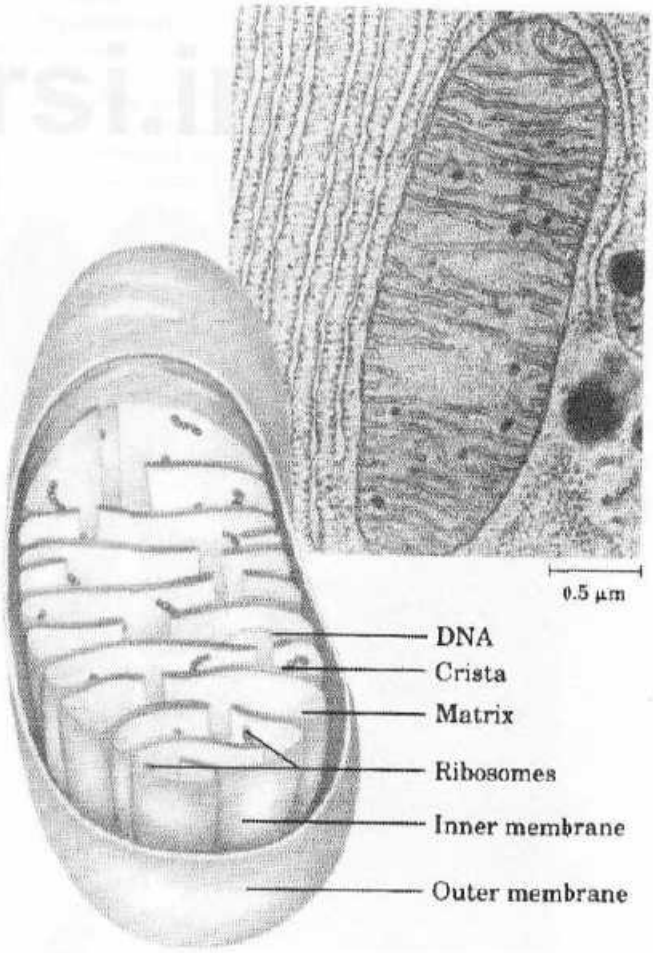
هر کدام از گونه‌ها دارای تعداد مشخصی از کروموزوم‌ها با اندازه و شکل مشخص هستند. برای مثال، پروتیست *Tetrahymena pyriformis* تعداد ۵، کلم ۹، انسان ۲۳ و سرخس *Ophioglossum reticulatum* حدود ۱۶۳۰ جفت کروموزوم دارند. سلول‌هایی که قسمت اعظم بدن موجودات پرسلولی را تشکیل می‌دهند یا سلول‌های پیکری[1]، دو نسخه از هر



شکل ۲-۱۲. در هنگام میتوز، کروموزوم‌ها به طریق میکروسکوپی قابل مشاهده می‌باشند. در اینجا میکروگراف الکترونی یکی از ۴۶ کروموزوم انسانی در یک سلول دیپلوئید (پیکری) نشان داده شده است. هر کروموزوم میتوتیک از دو کروماتید تشکیل شده است که هر کدام حاوی فیبرهای کروماتینی شدیداً تاشده می‌باشند. هر فیبر کروماتینی بنوبه خود با بسته‌بندی یک ملکول DNA ایجاد می‌گردد که بدور پروتئین‌های هیستونی پیچیده شده و یک سری نوکلئوزوم را ایجاد می‌کند.

1. Somatic

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۲. ساختمان یک میتوکندری. این میکروگراف الکترونی، پیچیدگی‌های وسیع غشاء داخلی را به سمت داخل نشان می‌دهد؛ این پیچیدگی‌ها را کریستا گویند. (به شبکه آندوپلاسمی خشن اطراف میتوکندری توجه نمایید.)

کروموزوم را داشته و **دیپلوئید** ($2n$) نامیده می‌شوند. گامت‌ها (برای مثال، تخمک و اسپرم) تنها یک نسخه از کروموزوم را داشته و **هاپلوئید** (n) می‌باشند. در هنگام تولیدمثل جنسی، دو گامت هاپلوئید با یکدیگر ترکیب شده و سلول دیپلوئیدی را تولید می‌کنند که در آن هر جفت کروموزومی از یک کروموزوم مادری و یک کروموزوم پدری تشکیل یافته است.

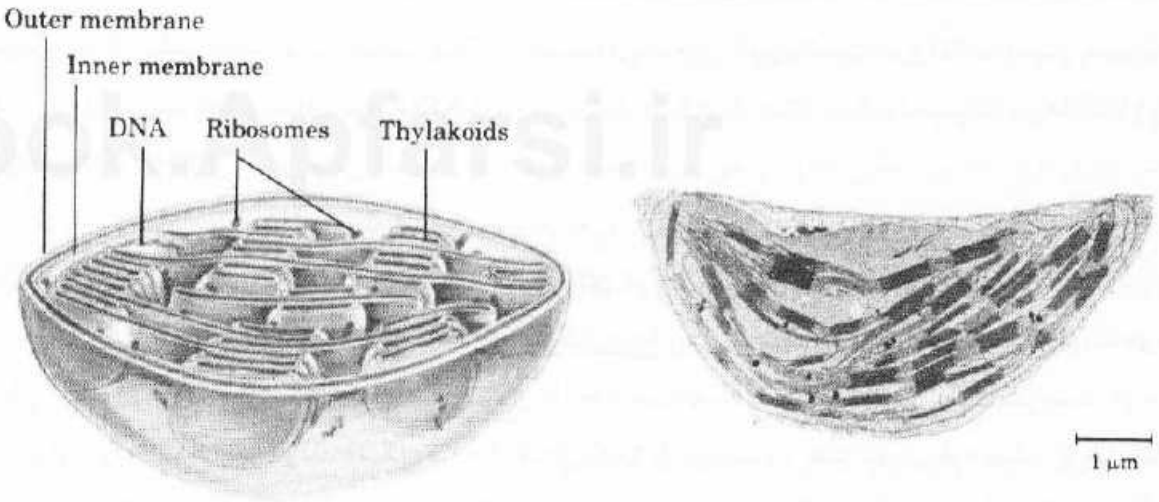
DNA کروماتین و کروموزوم‌ها، از طریق گروه‌های فسفات متعدد با بار منفی خود، بطورمحکم به خانواده‌ای از پروتئین‌ها با بار مثبت، یا **هیستون‌ها**، اتصال دارند. حدود نیمی از جرم کروماتینی را DNA و نیم بقیه را هیستون‌ها تشکیل می‌دهند. وقتی DNA قبل از تقسیم سلولی، همانندسازی می‌کند، مقادیر زیادی از هیستونها نیز سنتز شده تا این نسبت جرمی ۱:۱ حفظ گردد. کمپلکس‌های DNA با هیستون‌ها را **نوکلئوزم** گویند که در آن DNA بدور هسته‌ای از ملکول‌های هیستونی می‌پیچد. یک کروموزوم واحد انسانی دارای حدود یک میلیون نوکلئوزوم می‌باشد؛ نوکلئوزومها به یکدیگر اتصال یافته و ایجاد کمپلکس‌های سوپرامولکولی بسیار بزرگتر می‌نمایند. فیبرهای کروماتینی حاصل، با قطر حدود ۳۰ nm، با ایجاد یک سری نواحی قوس‌دار، بیشتر متراکم شده و نهایتاً نواحی قوس‌دار مجاور دسته شده و ایجاد کروموزم‌هایی را می‌کنند که در هنگام تقسیم سلولی مشاهده می‌گردند. این بسته‌بندی محکم DNA در نوکلئوزم‌ها، تراکم قابل‌توجهی در ملکول‌های DNA فراهم می‌نماید. DNA موجود در کروموزم‌های یک سلول دیپلوئید انسان، در حالت کاملاً بازشده و امتداد یافته بصورت مارپیچ دوتایی DNA، روی هم رفته طولی حدود ۲ m دارند، ولی طول تمامی ۴۶ کروموزم تنها ۲۰۰ μm می‌باشد.

میتوکندری‌ها کارخانه تولید انرژی سلول‌های اوکاریوتی هوازی هستند

در هنگام بررسی با میکروسکوپ الکترونی (شکل ۱۳-۲)، **میتوکندری‌ها** در اکثر سلول‌های اوکاریوتی بسیار برجسته می‌باشند. این اندامک‌های احاطه‌شده توسط غشاء، از نظر اندازه متفاوت بوده، ولی همانند سلول‌های باکتری‌ها، قطری حدود ۱ μm دارند. به علاوه، برحسب نوع سلول یا فعالیت بافت، میتوکندری‌ها از نظر شکل، تعداد و موقعیت متفاوتند. اکثر سلول‌های گیاهی و حیوانی دارای چند صد تا چندین هزار میتوکندری هستند. به‌طورکلی، هر چه سلول از نظر متابولیکی فعالتر باشند، نسبت بیشتری از حجم سلول را به میتوکندری‌ها اختصاص می‌دهد.

هر میتوکندری دارای دو غشاء می‌باشد. غشاء خارجی فاقد چین بوده و بطورکامل این اندامک را احاطه

Book Anfarsi.ir



شکل ۱۴-۲. ساختمان یک کلروپلاست. تیلاکوئیدها کیسه‌های غشایی پهنی هستند که حاوی کلروفیل، رنگدانه جذب‌کننده نور، می‌باشند.

می‌نماید. غشاء داخلی دارای پیچیدگی‌هایی بنام **کریستا** می‌باشد که منجر به ایجاد یک سطح بزرگ می‌گردد. در داخل غشاء داخلی **ماتریکس** قرار دارد که محلول آبی غلیظی از آنزیم‌ها و ترکیبات واسط شیمیایی است که در متابولیسم انرژی نقش دارند. آنزیم‌های موجود در میتوکندری، اکسیداسیون مواد آلی توسط اکسیژن ملکولی (O_2) را کاتالیز می‌نمایند؛ تعدادی از این آنزیم‌ها در ماتریکس قرار داشته و تعدادی دیگر در داخل غشاء داخلی وجود دارند. انرژی شیمیایی حاصل از اکسیداسیون در میتوکندری صرف تولید ATP، به‌عنوان ملکول اصلی حامل انرژی در سلول‌ها می‌گردد. در سلول‌های هوازی، میتوکندری‌ها محل اصلی تولید ATP بوده که به تمامی قسمت‌های سلولی انتشار یافته و انرژی لازم را برای انجام کار فراهم می‌آورد.

کلروپلاست‌ها انرژی خورشیدی را به انرژی شیمیایی تبدیل می‌نمایند

سیتوپلاسم سلول‌های گیاهی حاوی **پلاستیدها** هستند که اندامک‌های اختصاصی احاطه‌شده توسط پوششی متشکل از دو غشاء می‌باشند. برجسته‌ترین پلاستیدها، **کلروپلاست‌ها** می‌باشند که بطورمشخص در سلول‌های فتوسنتتیک گیاهان و جلبک وجود دارند (شکل ۱۴-۲). همانند میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها را می‌توان کارخانه‌های گیاهی در نظر گرفت، با این تفاوت که کلروپلاست‌ها از نور خورشید استفاده می‌کنند، ولی میتوکندری‌ها انرژی شیمیایی مواد قابل اکسیداسیون را بکار می‌برند. ملکول‌های رنگدانه موجود در کلروپلاست‌ها انرژی نورانی را گرفته و آن را برای تولید ATP، و نهایتاً احیاء دی‌اکسید کربن در جهت تولید کربوهیدراتهایی نظیر نشاسته و سلولز، مورد استفاده قرار می‌دهند. فتوسنتز در اوکاریوت‌ها و سیانوباکتری‌ها همراه با تولید O_2 در هنگام گرفتن انرژی نور می‌باشد. گیاهان فتوسنتتیک هم کلروپلاست و هم میتوکندری دارند. کلروپلاست‌ها تنها در حضور نور، ATP تولید می‌کنند؛ میتوکندری‌ها مستقل از نور عمل نموده و کربوهیدرات‌های تولیدی به طریق فتوسنتز در هنگام ساعات روشن روز را اکسیده می‌کنند.

به‌طور کلی، کلروپلاست‌ها بزرگتر ($5\mu m$) از میتوکندری‌ها بوده و شکل‌های مختلفی را دارند. به علت وجود غلظت بالای رنگدانه **کلروفیل** در کلروپلاست‌ها، سلول‌های فتوسنتتیک همیشه سبز هستند، ولی رنگ آنها وابسته به مقادیر نسبی رنگدانه‌های دیگر می‌باشد. کلروفیل و ملکول‌های رنگدانه دیگر، که با یکدیگر می‌توانند انرژی نور

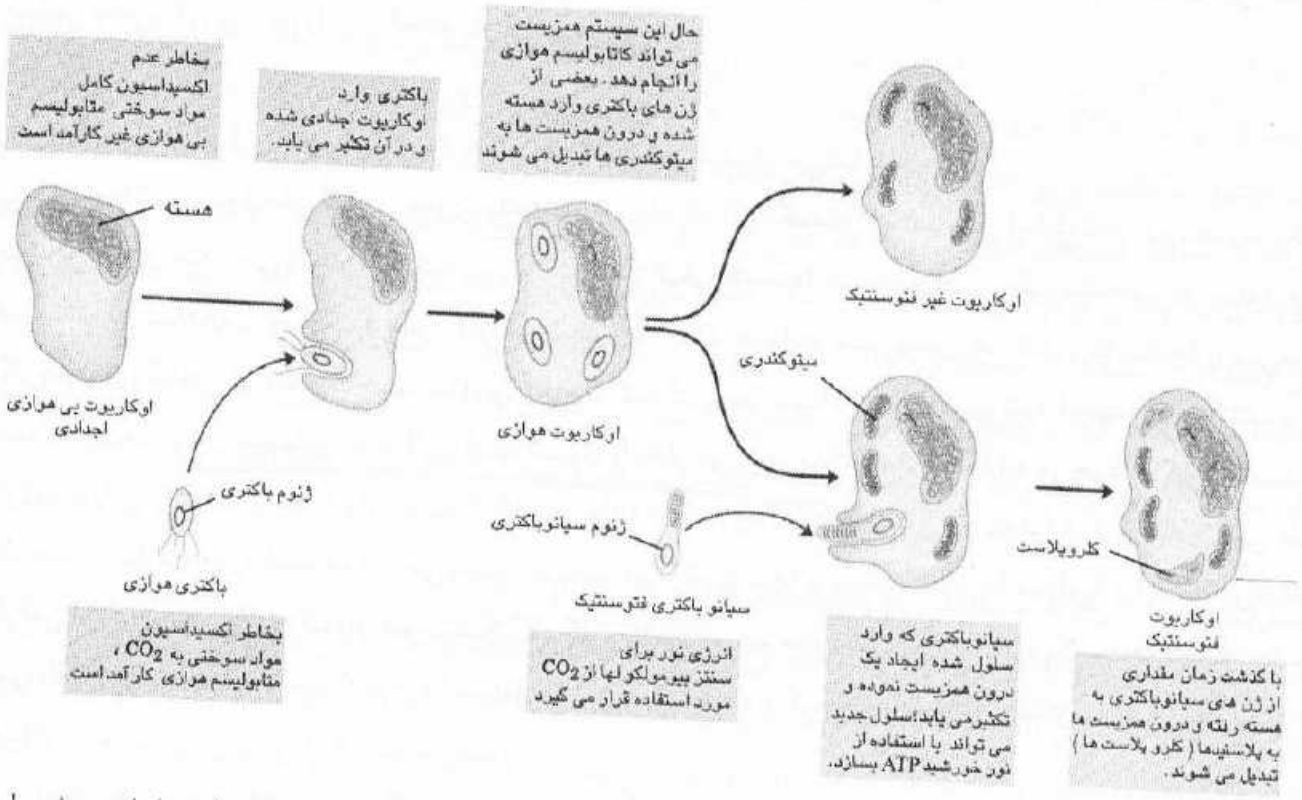
Book.Apfarsi.ir

خورشید را در بیشتر طیف مرئی جذب کنند، در غشاءهای داخلی کلروپلاست قرار دارند؛ این غشاءها ایجاد توده‌هایی از سیسترناهای بسته، بنام **تیلاکوئید**، را می‌نمایند (شکل ۱۴-۲). همانند میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها حاوی DNA، RNA و ریبوزوم می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir

احتمالاً میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها از باکتری‌های درون همزیست ایجاد شده‌اند

مدارک مستقل متعددی مطرح می‌نمایند که میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌های موجود در اوکاریوت‌های امروزی در طی تکامل از باکتری‌های هوازی و سیانوباکتری‌ها ایجاد شده‌اند که به‌عنوان ساکنین درون‌همزیست در سلول‌های اوکاریوتی اولیه زندگی می‌کردند (شکل ۱۵-۲؛ شکل ۶-۲ را نیز ببینید). میتوکندری‌ها همیشه از میتوکندری‌های قبلی و کلروپلاست‌ها از کلروپلاست‌ها، طی تقسیم ساده، درست همانند تکثیر باکتری‌ها طی تقسیم دوتایی، ایجاد می‌گردند. درحقیقت، میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها، نیمه‌خودکار هستند؛ این اندامک‌ها حاوی DNA، ریبوزوم و ماشین آنزیمی مورد نیاز برای سنتز پروتئین‌های کدشونده توسط DNA خود می‌باشند. توالی‌های موجود در DNA میتوکندری به‌طور قابل‌توجهی مشابه با توالی‌های موجود در بعضی از باکتری‌های هوازی بوده و DNA کلروپلاست‌ها تشابه توالی قوی را با DNA بعضی از سیانوباکتری‌ها نشان می‌دهد. ریبوزوم‌های موجود در میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها از نظر اندازه، شکل ساختمانی و توالی‌های RNA موجود در آنها تشابه بیشتری با انواع موجود در باکتری‌ها، در مقایسه با ریبوزوم‌های موجود در سیتوپلاسم سلول‌های اوکاریوتی، دارند. آنزیم‌هایی که سنتز پروتئین را در این اندامک‌ها کاتالیز می‌نمایند نیز شباهت بیشتری با انواع موجود در باکتری‌ها دارند



شکل ۱۵-۲. یک نظریه خوش‌ظاهر برای منشاء پیدایش میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها. این نظریه براساس مواردی از تشابهات بیوشیمیایی و ژنتیکی موجود در بین بعضی باکتری‌های هوازی و میتوکندری‌ها و همچنین بین بعضی سیانوباکتری‌ها، کلروپلاست‌ها می‌باشد. در هنگام پیدایش سلول‌های اوکاریوتی، این باکتری‌ها در داخل اوکاریوت بی‌هوازی اجدادی همزیست می‌گردند. نهایتاً این باکتری‌های سیتوپلاسمی به میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌های اوکاریوت‌های امروزی تبدیل می‌شوند.

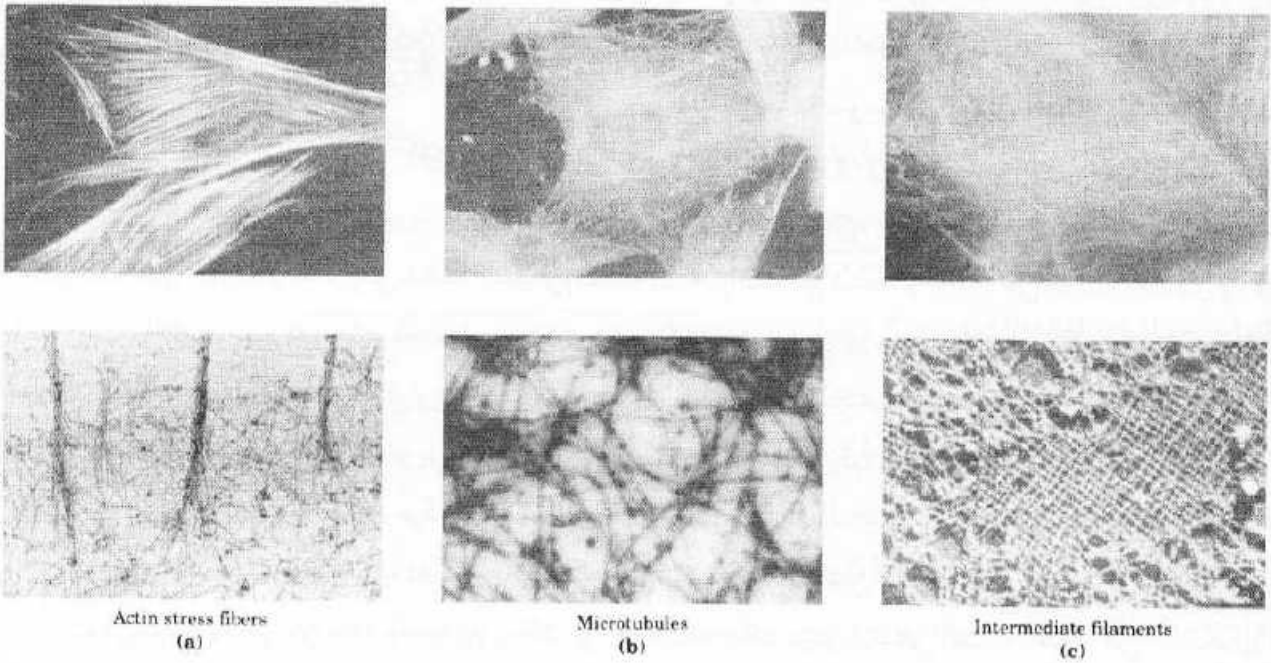
Book.Apfarsi.ir

علی‌رغم داشتن DNA و ماشین سنتز پروتئین، میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها نیمه‌خودکار می‌باشند. در صورتی که این اندامک‌ها، باقیمانده‌های درون همزیست‌های باکتری‌های اولیه هستند، می‌بایست مقداری از ژن‌های موجود در باکتری‌های اولیه دارای زندگی آزاد، در طی دوره تکامل، به داخل DNA هسته‌ای میزبان اوکاریوت انتقال یافته باشد. نه میتوکندری‌ها و نه کلروپلاست‌ها تمامی ژن‌های مورد نیاز برای کدنمودن تمامی پروتئین‌های خود را ندارند. بیشتر پروتئین‌های میتوکندریایی و کلروپلاستی در ژن‌های هسته کد شده، در ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی ترجمه شده و بعداً به داخل این اندامک‌ها انتقال داده می‌شوند.

اسکلت سلولی سبب پایداری شکل سلول، سازماندهی سیتوپلاسم و ایجاد حرکت می‌شود

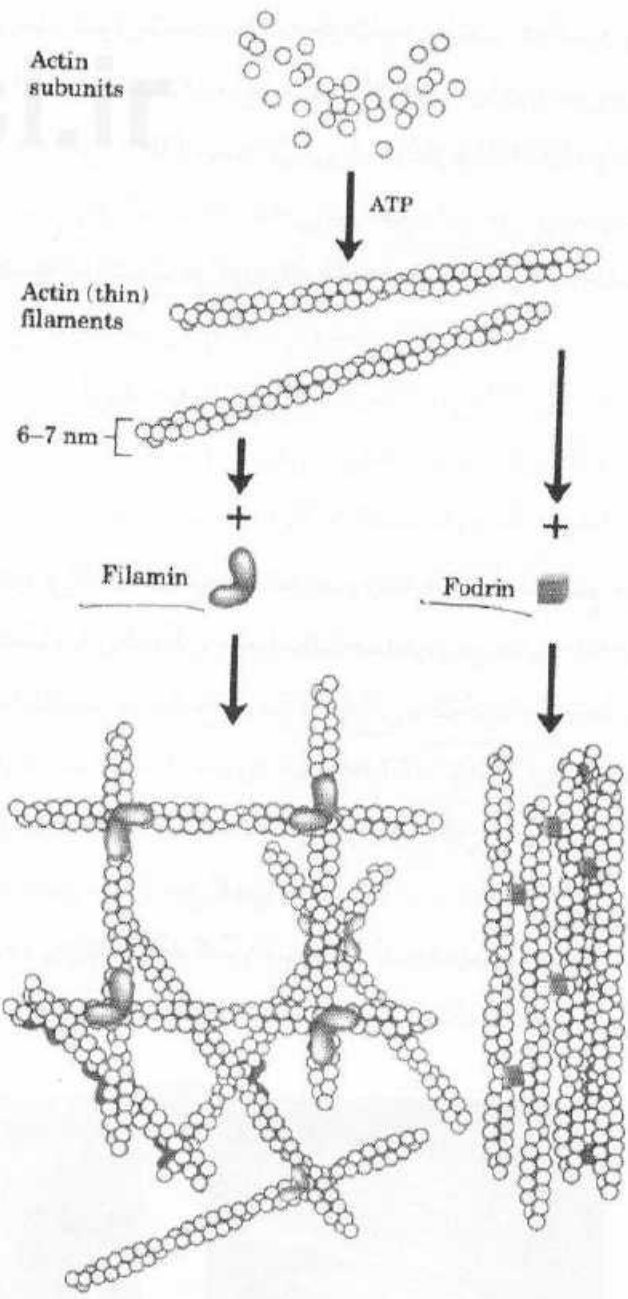
انواع متعدد فیلمان‌های پروتئینی که با میکروسکوپ الکترونی مشاهده می‌شوند، بصورت خطوط متقاطع در سلول‌های اوکاریوتی وجود داشته و ایجاد شبکه سه‌بُعدی متصل به یکدیگر، بنام **اسکلت سلولی**، می‌نمایند که در سرتاسر سیتوپلاسم امتداد دارد. سه نوع کلی فیلمان‌های سیتوپلاسمی، شامل فیلمان اکتین، میکروتوبول‌ها و فیلمان‌های حدواسط، وجود دارد (شکل ۱۶-۲). این فیلمان‌ها از نظر پهنا (از حدود ۶ تا ۲۲ nm)، ترکیب و فعالیت اختصاصی متفاوت بوده ولی تمامی آنها در ایجاد ساختمان و سازماندهی سیتوپلاسم و ایجاد شکل سلولی نقش دارند. فیلمان‌های اکتین و میکروتوبول‌ها در حرکت اندامک‌ها و کل سلول نیز نقش دارند.

هر کدام از این اجزاء اسکلت سلولی، از زیرواحدهای ساده پروتئینی تشکیل شده‌اند که پلیمریزه شده و فیلمان‌هایی با ضخامت یکنواخت ایجاد می‌کنند. این فیلمان‌ها ساختمان‌های دائمی نمی‌باشند؛ بلکه اینها به‌طور



شکل ۱۶-۲. سه نوع فیلمان اسکلت سلولی. عکسهای بالا تصاویر سلول‌های ابی‌تلیالی را نشان می‌دهند که بعد از استفاده از آنتی‌بادیهایی تهیه شده‌اند که به‌طور اختصاصی به **(a)** فیلمان‌های اکتین دسته‌شده و ایجادکننده «فیبرهای فشاری»، **(b)** میکروتوبول‌های منشعب از مرکز سلول، و **(c)** فیلمان‌های حدواسط امتدادیافته در سراسر سلول، اتصال یافته و آنها را رنگ می‌کنند. در این آزمایشات، آنتی‌بادیهایی که بطوراختصاصی پروتئین‌های اکتین، توبولین و فیلمان حد واسط را شناسایی می‌کنند، به ترکیبات فلورسنت متصل می‌گردند. وقتی سلول با میکروسکوپ فلورسنت مشاهده شود، تنها نواحی رنگ‌شده قابل‌مشاهده خواهد بود. عکس‌های پایین، هر کدام از فیلمان‌ها را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری **(a,b)** و اسکنی **(c)** نشان می‌دهند.

Book.Apfarsi.ir

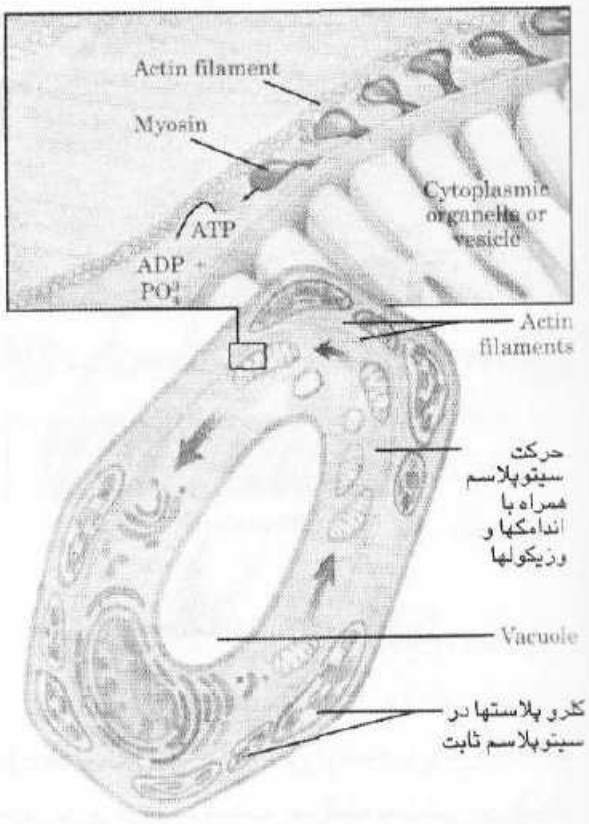


شکل ۱۷-۲. زیرواحدهای اکتین پلیمریزه شده و فیلمان‌های اکتین را ایجاد می‌نمایند. پروتئین فیلامین دو فیلمان را به شکل قائم در کنار یکدیگر نگه می‌دارد. پروتئین فودرین بین فیلمان‌ها ایجاد اتصالات عرضی نموده و تجمعات یا دستجات پهلو-به-پهلو را بوجود می‌آورد.

دائمی به زیرواحدهای منومری خود تجزیه شده و مجدداً تشکیل می‌گردند. موقعیت این فیلمان‌ها در داخل سلول زیاد ثابت نبوده و ممکن است در طی میتوز، تقسیم سلولی، حرکت آمیبی، یا تغییر در شکل سلول، دستخوش تغییر گردند. تمامی انواع فیلمان‌ها که به سایر پروتئین‌هایی متصل می‌شوند، بر روی همایش و همایش‌زدایی اثر گذاشته و یا اندامک‌ها را در طول فیلمان‌ها حرکت می‌دهند؛ این پروتئین‌ها فیلمان‌ها را با اتصالات عرضی به خودشان یا دیگر فیلمان‌ها مرتبط می‌سازند.

پروتئین اکتین که در تمامی سلول‌های اوکاریوتی وجود دارد، در حضور ATP به شکل پلیمرهای غیرکووالان، مارپیچی، طویل، با قطر ۶ تا ۷ nm، بنام **فیلمان‌های اکتین** یا **میکروفیلمان‌ها**، همایش می‌یابد (شکل ۱۷-۲). سلول‌ها دارای پروتئین‌های مختلفی هستند که به فیلمان‌ها یا منومرهای اکتین اتصال یافته و بر روی موقعیت قرارگیری و وضعیت تجمعی آنها اثر می‌گذارند. فیلامین و فودرین، فیلمان‌های اکتین را با اتصال عرضی به یکدیگر متصل نموده و با افزایش شدید ویسکوزیته محیط اطراف، این شبکه را پایدار می‌نمایند. تعدادی زیادی از فیلمان‌های اکتین به پروتئین‌های اختصاصی موجود در غشاء پلاسمایی، درست در زیر آن و کم و بیش موازی با غشاء پلاسمایی، متصل شده و شکل و سختی سطح سلول را ایجاد می‌نمایند (شکل ۱۶a-۲).

فیلمان‌های اکتین به خانواده‌ای از پروتئین‌ها بنام میوزینها نیز متصل می‌گردند که خود موتورهای ملکولی مبدل انرژی ATP به کار مکانیکی، یعنی حرکت در طول فیلمان اکتین، می‌باشند. ساده‌ترین عضو این خانواده، مثلاً میوزین I، دارای یک سر کروی و یک دم کوتاه می‌باشد. این سر به فیلمان اکتین متصل شده و با تجزیه ATP در طول آن حرکت می‌نماید (شکل ۱۸-۲). ناحیه دم به غشایی از یک اندامک سیتوپلاسمی اتصال یافته و این اندامک را از پشت سر بصورت سر میوزینی در طول فیلمان اکتین می‌کشد. این حرکت به سادگی در سلول‌های زنده‌ای نظیر سلول‌های بزرگ جلبک سبز *Nitella* دیده می‌شود که در آن اندامک‌ها و وزیکول‌ها به‌طور یکنواخت در اطراف سلول طی فرایندی بنام جریان سیتوپلاسمی حرکت می‌نماید (شکل ۱۸-۲). این حرکت سبب می‌گردد که محتویات سیتوپلاسمی سلول بزرگ جلبک بسیار مؤثرتر از حالت انتشار تنها، مخلوط گردند.



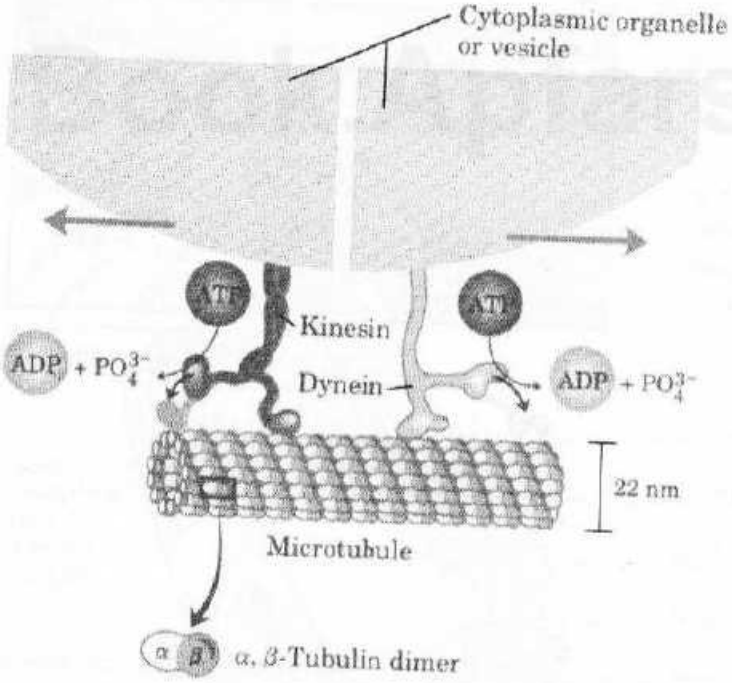
شکل ۱۸-۲. انتقال اندامکی. ملکول‌های میوزین با استفاده از انرژی هیدرولیز ATP، در طول فیلمان‌های اکتین حرکت می‌نماید. وقتی میوزین اندامک‌ها را در طول خط فیلمان‌های اکتینی می‌کشد، یک جریان سیتوپلاسمی در سلول‌های بزرگ جلبک سبز *Nitella* ایجاد می‌گردد. شبکه آندوپلاسمی، میتوکندریها، هسته و سایر اندامک‌های احاطه‌شده توسط غشاء و وزیکولها بطوریکنواخت با سرعت ۵۰ تا ۷۰ $\mu m/s$، حرکت می‌کنند. کلروپلاست‌ها در لایه سیتوپلاسم ثابت قرار دارد که بین فیلمان‌های اکتین و غشاء پلاسمایی، مشاهده می‌گردند.

شکل بزرگتر میوزین در سیستمهای انقباضی انواع وسیعی از موجودات، از کپک تا انسان، مشاهده می‌گردد. این میوزین نیز دارای یک سر کروی بوده که به فیلمان‌های اکتین متصل شده و طی یک واکنش مصرف‌کننده ATP، در طول آن حرکت می‌نماید؛ ولی این میوزین دارای دم بلندتری است که امکان اتصال پهلو به پهلو ملکول‌های میوزین و ایجاد فیلمان‌های ضخیم را می‌دهد (شکل ۳۰-۷ را ببینید). کمپلکس‌های اکتین و میوزین حلقه انقباضی را تشکیل می‌دهند که در هنگام تقسیم سلولی در تمامی اوکاریوت‌ها، سیتوپلاسم را به دو قسمت تقسیم می‌نماید. سلول‌های عضلانی حیوانات پرسلولی توسط صفوف شدیداً سازمان‌یافته فیلمان‌های اکتین (نازک) و فیلمان‌های میوزین (ضخیم) پر شده است و با لغزش فیلمان‌های اکتین بر روی فیلمان‌های ثابت میوزین به واسطه هیدرولیز ATP، یک نیروی انقباضی هماهنگ ایجاد می‌گردد.

همانند فیلمان‌های اکتین، **میکروتوبول‌ها**، بطورخودبخودی از زیرواحدهای سنومری خود تولیدشده ولی ساختمان پلیمری میکروتوبول‌ها قدری پیچیده‌تر می‌باشد. دیمرهای α- و β-توبولین، دو پروتئین مشابه، ایجاد میکروتوبول میان‌تهی، با قطر حدود ۲۲ nm، را می‌نمایند. در سلول‌ها، بیشتر میکروتوبول‌ها با افزودن زیرواحدها به یک انتها و جداشدن آنها از انتهای دیگر، به‌طور پیوسته پلیمریزه و دپلیمریزه می‌گردند. میکروتوبول‌ها در سرتاسر سیتوپلاسم وجود داشته، ولی در بعضی مواقع، در محلهای خاصی تجمع می‌یابند. برای مثال، بعد از جداشدن کروماتیدهای خواهر و حرکت آنها به قطب‌های مخالف یک سلول در طی میتوز، یک صف شدیداً سازمان‌یافته میکروتوبول‌ها (دوک میتوزی)، شبکه و احتمالاً نیروی حرکتی برای جداشدن این کروموزوم‌های دختر را فراهم می‌آورد.

میکروتوبول‌ها، همانند فیلمان‌های اکتین، با انواعی از پروتئین‌ها که در طول آنها حرکت می‌کنند، اتصال برقرار نموده، ایجاد اتصالات عرضی کرده، یا بر وضعیت پلیمریزاسیون آنها تأثیر می‌گذارند. دینین سیتوپلاسمی و کینزین، پروتئین‌های موجود در بسیاری از سلول‌ها، به میکروتوبول‌ها متصل شده و با استفاده از انرژی ATP، در طول آنها حرکت می‌نمایند (شکل ۱۹-۲). هر پروتئین قادر است به اندامک‌های اختصاصی متصل شده و آنها را در طول میکروتوبول به مسافت طولانی با سرعت حدود ۱ $\mu m/s$ جابجا نماید. حرکت ضربانی مژکها و فلاژلهای اوکاریوتی، نیز با همکاری دینین و میکروتوبول‌ها به انجام می‌رسد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۹-۲. کینزین و دینین سیتوپلاسمی، موتورهای ملکولی استفاده‌کننده از ATP هستند که می‌توانند به اندامک‌های سیتوپلاسمی و وزیکول‌ها متصل شده و با سرعتی حدود ۱ μm/s آنها را در طول «خط‌های» میکروتوبولی بکشانند.

انقباض عضله اسکلتی، حرکت مژگها و تاژکها، و انتقال داخل‌سلولی اندامک‌ها، همگی وابسته به یک مکانیسم پایه هستند: تجزیه ATP توسط پروتئین‌هایی نظیر کینزین، میوزین و دینین، سبب حرکت لغزشی در طول میکروفیلمان‌ها می‌گردد.

فیلمان‌های حدواسط خانواده‌ای از ساختمان‌ها هستند که دارای ابعاد (قطر ۸ تا ۱۰ nm) حدواسط فیلمان‌ها و میکروتوبول‌ها می‌باشند. انواع مختلفی از زیرواحدهای منومری پروتئینی، بطوربرگشت‌پذیر تولید فیلمان‌های حدواسط را می‌نمایند. انتشار سیتوپلاسمی این ساختمان‌ها در معرض تغییرات تنظیم‌شده می‌باشند.

یکی از اعمال فیلمان‌های حدواسط، فراهم‌نمودن تکیه‌گاه مکانیکی برای سلول و تعیین موقعیت اندامک‌های آنها می‌باشد. برای مثال، ویمنتین[1] زیرواحد منومری فیلمان‌های حدواسط موجود در سلول‌های آندوتلیال مفروش‌کننده عروق خونی و در سلول‌های چربی، می‌باشد. بنظر می‌رسد ویمنتین هسته و قطرات چربی را در موقعیتهای خاص سلولی ثابت می‌نماید. فیلمان‌های ساده مرکب از کراتین‌ها، خانواده‌ای از پروتئین‌های ساختمانی، بخصوص در بعضی از سلول‌های اپی‌درم مهره‌داران فراوان بوده و ایجاد شبکه‌هایی با اتصالات عرضی کووالان می‌نمایند که حتی بعد از مرگ سلول، باقی می‌مانند. مو، ناخن انگشتان و پرها، از میان ساختمان‌هایی هستند که اساساً از کراتین‌ها تشکیل شده‌اند.

سیتوپلاسم شلوغ، شدیداً منظم و پویا می‌باشد

تصویری که از این مرور خلاصه سلول بدست می‌آید، مربوط به یک سلول اوکاریوتی با سیتوپلاسمی است که دارای یک شبکه متقاطع از فیبرهای ساختمانی بوده و در سرتاسر آن کمپلکسی از اجزاء مختلف گسترده شده است که خود توسط غشاء احاطه شده‌اند (شکل ۷-۲). این فیلمان‌ها و اندامک‌ها، هر دو، پویا هستند؛ فیلمان‌ها تجزیه شده و مجدداً در محل دیگری همایش می‌یابند؛ وزیکولهای غشایی از یک اندامک جوانه زده و به اندامک دیگری

1. Vimentin

Book Anfarsi.ir

متصل می‌شوند. اندامک‌ها در سیتوپلاسم در طول فیلمان‌ها حرکت نموده و توسط کینزین، دینین سیتوپلاسمی، میوزین، و احتمالاً پروتئین‌های مشابه دیگر کشیده می‌شوند. سیستم غشایی داخلی فرایندهای متابولیک اختصاصی را از یکدیگر جدا نموده و سطوحی را برای انجام واکنش‌های آنزیمی اختصاصی فراهم می‌آورد. اگزوسیتوز و آندوسیتوز مسیرهایی را بین داخل سلول و محیط اطراف فراهم نموده و بدین ترتیب ترشح پروتئین‌ها و سایر مواد سنتزشده در داخل سلول و همچنین برداشت مواد خارج‌سلولی را ممکن می‌سازند.

هر چند پیچیده می‌باشد، ولی این سازماندهی سیتوپلاسم دور از حالت تصادفی است. حرکت و موقعیت اندامک‌ها و عناصر اسکلت سلولی تحت کنترل شدید بوده و در مراحل خاصی از زندگی سلول اوکاریوتی، نظیر رویدادهای میتوز، تجدید سازماندهی دقیقاً هماهنگی رخ می‌دهد. واکنش‌های متقابل بین اسکلت سلولی و اندامک‌ها به‌صورت غیرکووالان و برگشت‌پذیر بوده و در پاسخ به پیام‌های داخل و خارج سلولی مختلف، تنظیم می‌گردد.

مطالعه اجزاء سلولی

اندامک‌ها را می‌توان با سانتریفوژ جدا نمود

یکی از پیشرفتهای اصلی در مطالعات بیوشیمیایی سلول‌ها، ابداع روشهایی برای جداسودن اندامک‌ها از سیتوزول و از یکدیگر می‌باشد. در یک جداسازی سلولی شاخص، سلول‌ها و بافت‌ها در یک محیط حاوی سوکروز (حدود ۰/۲ M) ، با هموژنیزاسیون ملایم، شکسته می‌شوند. با این عمل غشاء پلاسمایی شکسته شده ولی اکثر اندامک‌ها سالم باقی می‌مانند. (سوکروز موجود در محیط ایجاد فشار اسموتیکی مشابه فشار داخل اندامک‌ها نموده و بنابراین مانع ورود آب به درون اندامک‌ها و در نتیجه مانع تورم، پاره‌شدن و خروج محتویات آنها می‌گردد.)

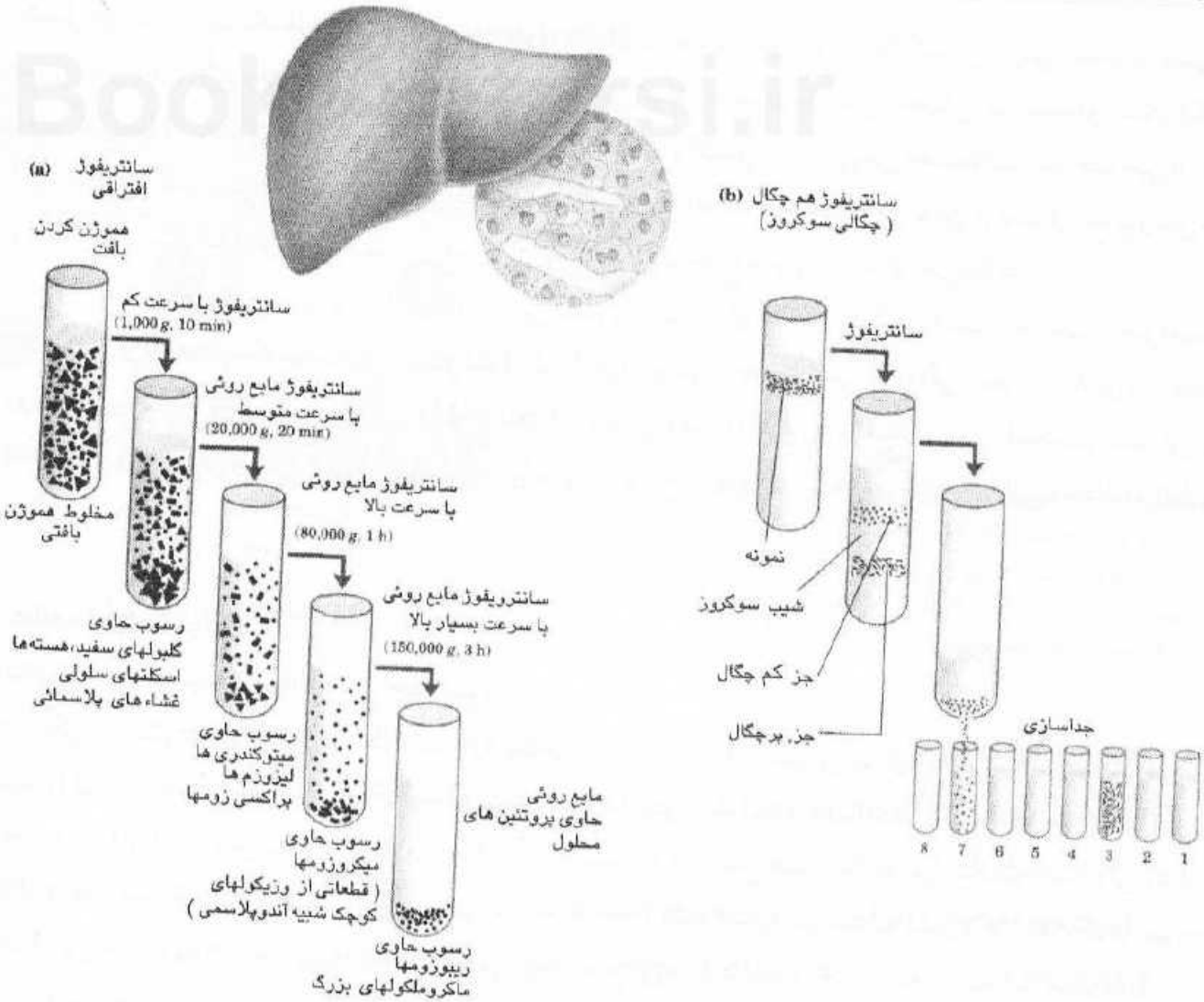
اندامک‌هایی نظیر هسته، میتوکندری و لیزوزوم دارای اندازه متفاوتی بوده و بنابراین در هنگام سانتریفوژ با سرعت‌های مختلف راسب می‌گردند. این اندامک‌ها همچنین از نظر وزن مخصوص متفاوت بوده و در سطوح مختلف یک شیب چگالی، «شناور» می‌مانند (شکل ۲۰-۲). سانتریفوژ افتراقی[1] سبب جداسازی تقریبی محتویات سیتوپلاسمی شده و با سانتریفوژ هم چگال[2] بیشتر تخلیص می‌شوند. در این روش، اندامک‌های دارای چگالی‌های شناوری متفاوت (حاصل نسبت‌های مختلف لیپید و پروتئین در هر کدام از انواع اندامک‌ها)، در شیب چگالی جدا می‌گردند. با برداشت دقیق مواد از هر ناحیه چگالی و مشاهده آن با یک میکروسکوپ، بیوشیمیدان می‌تواند موقعیت رسوبی هر اندامک را تعیین نموده و با مطالعه بیشتر، اندامک‌های خالص‌شده را بدست آورد. برای مثال، با این روش مشخص گردید که لیزوزوم‌ها حاوی آنزیم‌های گوارشی، میتوکندری‌ها حاوی آنزیم‌های اکسیداتیو و کلروپلاست‌ها حاوی رنگدانه‌های فتوسنتتیک هستند. جداسازی یک اندامک غنی از یک آنزیم خاص، اغلب اولین مرحله در تخلیص آن آنزیم می‌باشد.

مطالعات خارج از بدن ممکن است از واکنش‌های متقابل مهم بین ملکول‌ها چشم‌پوشی نماید

یکی از مهم‌ترین روش‌های مؤثر در درک یک فرایند بیولوژیک، مطالعه ملکول‌های ویژه خالص‌شده، نظیر آنزیم‌ها اسیدهای نوکلئیک یا پروتئین‌های ساختمانی آن فرایند می‌باشد. جزئیات این اجزاء تخلیص‌شده را می‌توان

1. Differential
2. Isopycnic

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۲. جداسازی اجزاء سلولی بافت‌ها. بافتی نظیر کبد بطورمکانیکی هموژنیزه شده تا سلول‌های آن شکسته و محتویات سلولی وارد یک بافر آبی گردد. با استفاده از سانتریفوژ و سرعت‌های مختلف، می‌توان ذرات بزرگ وکوچک را جدا نمود **(a)** و یا می‌توان ذرات دارای چگالی متفاوت را با سانتریفوژ هم چگال مجزا کرد. در سانتریفوژ هم چگال، یک لوله سانتریفوژ از محلولی پر می‌شود که چگالی آن از بالا به پایین لوله افزایش می‌یابد؛ برای ایجاد شیب چگالی از انحلال ماده‌ای نظیر سوکروز با غلظت‌های متفاوت استفاده می‌گردد. وقتی مخلوطی از اندامک‌ها در بالای این شیب چگالی قرار داده شد و لوله با سرعت بالا سانتریفوژ می‌گردد، اندامک‌ها تا حدی در این محلول راسب می‌شوند که چگالی شناورشدن آنها دقیقاً با چگالی آن قسمت محلول برابر باشد. هر لایه را می‌توان بطورمجزا جمع‌آوری نمود.

در آزمایشگاه مشخص نمود؛ خصوصیات فیزیکی و فعالیت‌های کاتالیتیک آنها را می‌توان بدون «تداخل» از جانب ملکول‌های دیگر موجود در سلول سالم، مورد بررسی قرار داد. هرچند این روش بسیاری از مسائل را آشکار می‌سازد، باید در نظر داشت که شرایط داخل سلولی کاملاً متفاوت از درون یک لوله آزمایش می‌باشد. اجزاء «مداخله گر» که با تخلیص حذف می‌شوند. ممکن است برای فعالیت بیولوژیکی یا تنظیم ملکول تخلیص‌شده مهم باشند. مطالعات آنزیم‌های خالص در خارج بدن، معمولاً در غلظتهای بسیار کم آنزیم در محلولهای آبی درحال حرکت انجام می‌شود. در سلول، آنزیم بحلت محلول یا معلق در یک سیتوزول ژل-مانند همراه با هزاران پروتئین دیگر وجود دارد که تعدادی از آنها با اتصال به آنزیم فعالیت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تعدادی از آنزیم‌ها در داخل سلول بصورت سیستم‌های آنزیمی وجود دارند که در آنها مواد واکنشگر، بدون ورود به داخل حجم عظیم حلال، از یک آنزیم به آنزیم دیگر هدایت می‌گردند. در سیتوزول ژل-مانند، از انتشار ممانعت به عمل آمده و اجزاء

Book.Apfarsi.ir

سیتوزولی در نواحی مختلف سلول، متفاوت هستند. به‌طور خلاصه، یک ملکول در داخل یک سلول ممکن است قدری متفاوت از خارج سلول عمل نماید. یکی از اهداف اصلی یک بیوشیمیدان، شناخت اثرات سازماندهی سلولی و ارتباطات ماکروملکولی بر روی فعالیت آنزیم‌های خاص، یا شناخت فعالیت در خارج و همچنین داخل سلول، می‌باشد.

تکامل موجودات پرسلولی و تمایز سلولی

تمامی اوکاریوت‌های تک‌سلولی امروزی، پروتیستها، حاوی اندامک‌ها و مکانیسم‌هایی می‌باشند که مورد بررسی قرار گرفته‌اند و نشان می‌دهد این اندامک‌ها و مکانیسم‌ها می‌بایست در مراحل نسبتاً اولیه ظاهر شده باشند. پروتیستها موجودات فوق‌العاده ماهری هستند. برای مثال، پروتیست مژکدار *Paramecium* با لرزش مژکهای خود سریعاً در محیط آبی اطراف خود حرکت می‌نماید؛ محرکهای مکانیکی، شیمیایی و حرارتی را از محیط خود احساس کرده و با تغییر در مسیر، به این محرک‌ها پاسخ می‌دهد؛ موجودات غذایی متنوعی را یافته، بلعیده و هضم نموده و قطعات غیرقابل‌هضم را دفع می‌نماید؛ آب اضافی که از طریق غشاء خود به داخل نشت پیدا نموده را حذف می‌نماید؛ و جفت جنسی خود را یافته و با آن جفت‌گیری می‌نماید. با این وجود، تک‌سلولی‌ها محدودیت خود را دارند. پارامسی احتمالاً عمر خود را در یک ناحیه بسیار کوچکی از یک حوض می‌گذراند که در آنجا زندگی را آغاز نموده است، زیرا حرکت آنها بواسطه قدرت کم مژکهای میکروسکوپی آنها و همچنین توانایی آنها در جستجوی یک محیط در دور دست، به واسطه دامنه کوتاه فعالیت دستگاه احساسی آنها، محدود می‌باشد.

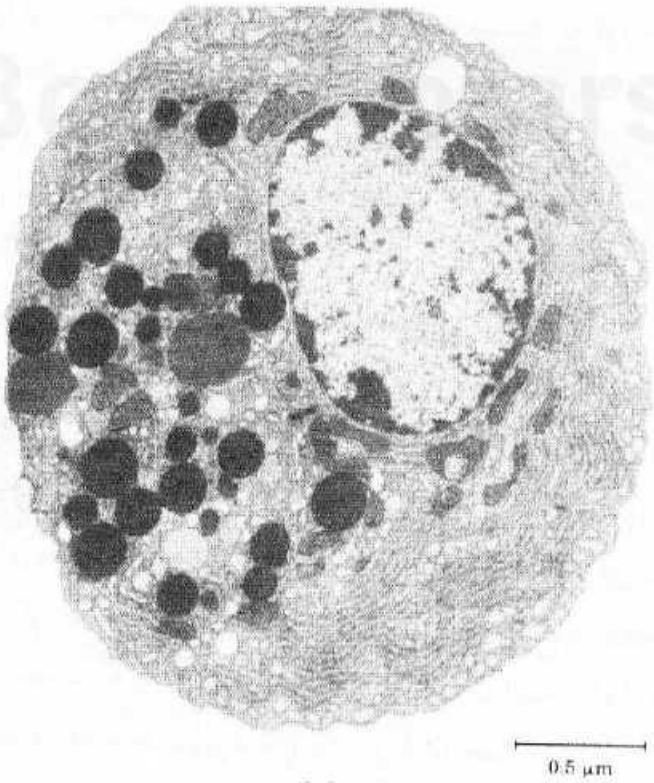
در مرحله بعدی تکامل، موجودات تک‌سلولی مزیت جمع‌شدن با یکدیگر را دریافتند و به موجب آن تحرک، کارآیی، یا موفقیت تکثیری بیشتری نسبت به رقبای تک‌سلولی با زندگی آزاد، را بدست آوردند. تکامل بعدی این موجودات تجمع‌یافته منجر به همبستگی همیشگی بین سلول‌ها و نهایتاً ایجاد تخصص در این کلنی و تمایز سلولی شد.

مزایای تخصصی‌شدن سلول‌ها منجر به ایجاد موجودات پیچیده‌تر و شدیداً تمایزیافته گردید که در آنها بعضی از سلول‌ها دارای اعمال حسی بودند، و بقیه نقش گوارشی، فتوسنتتیک، یا تولیدمثلی داشتند. بسیاری از موجودات پرسلولی امروزی، حاوی صدها نوع سلول مختلف هستند که هر کدام برای فعالیتهایی می‌باشند که کل موجود را حمایت می‌کنند. مکانیسم‌های پایه که در ابتدا ایجاد شدند، طی دوره تکاملی بهتر و مناسب‌تر شدند. مکانیسم ساده مسئول حرکت میوزین در طول فیلمان‌های اکتین در کپک‌ها، در سلول‌های مهره‌داران حفظ و بهتر شده است. همین ساختمان و مکانیسم پایه مورد استفاده در حرکت ضربانی مژک‌های *Paramecium* و *Chlamydomonas*، در سلول شدیداً تمایزیافته اسپرم مهره‌داران بکار می‌رود. بعضی از سلول‌های تخصص‌یافته موجود در موجودات پرسلولی در شکل ۲۱-۲ نشان داده شده‌اند.

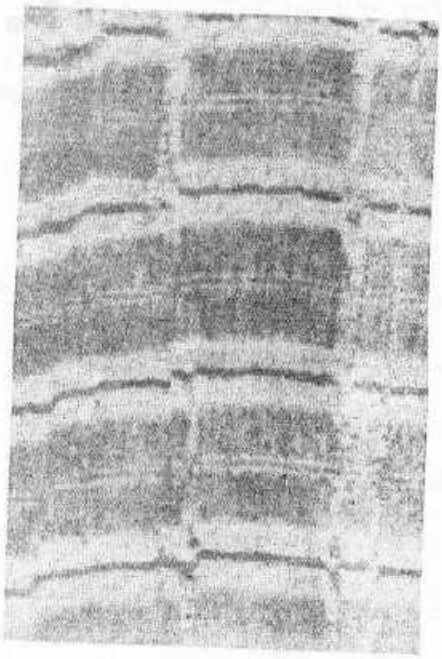
سلول‌های خاص یک موجود پرسلولی توسط غشاءهای پلاسمایی خود، محدود هستند. ولی برای اتصال و برقراری ارتباط با یکدیگر، سطوح تخصص‌یافته‌ای پیدا نموده‌اند (شکل ۲۲-۲). هر نوع اتصال سلولی توسط پروتئین‌های غشایی یا فیلمان‌های اسکلت سلولی، تقویت می‌گردند. حیوانات دارای سه نوع اتصال می‌باشند که هر کدام دارای هدف خاصی می‌باشند. در **اتصالات محکم**[1]، غشاءهای پلاسمایی سلول‌های اپی‌تلیال مجاور در نزدیکی یکدیگر قرار گرفته و هیچ مایع بین‌سلولی در بین آنها وجود ندارد. اتصالات محکم به شکل یک کمربند در

1- tight junction

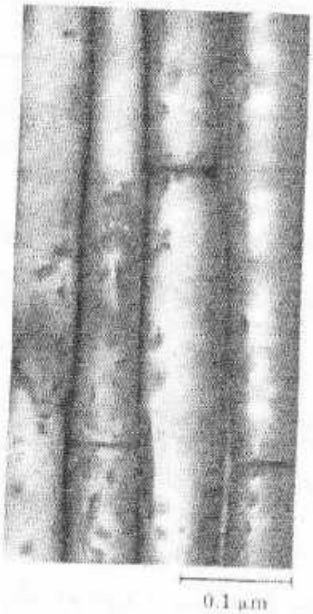
Book.Apfarsi.ir



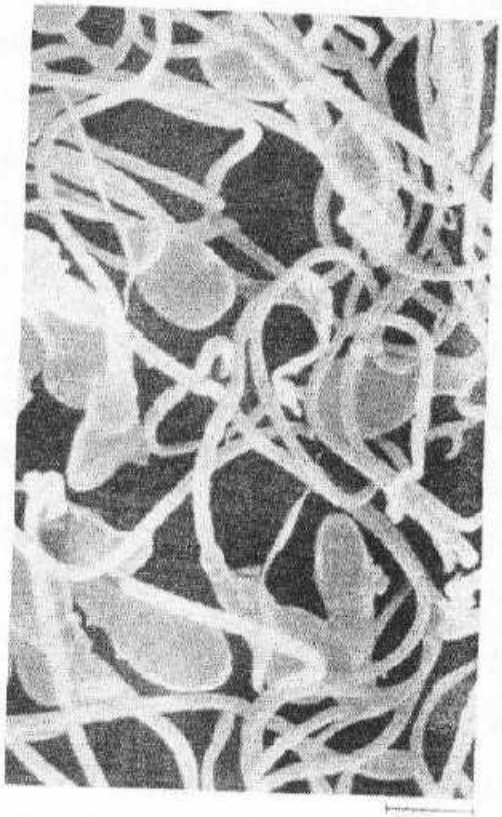
(a)



(b)



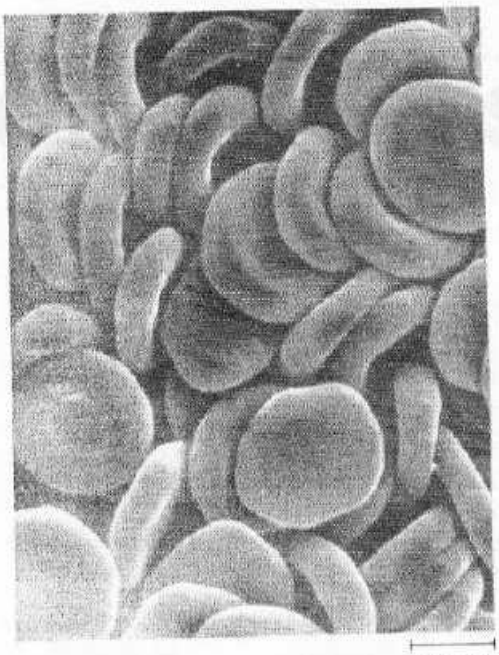
(c)



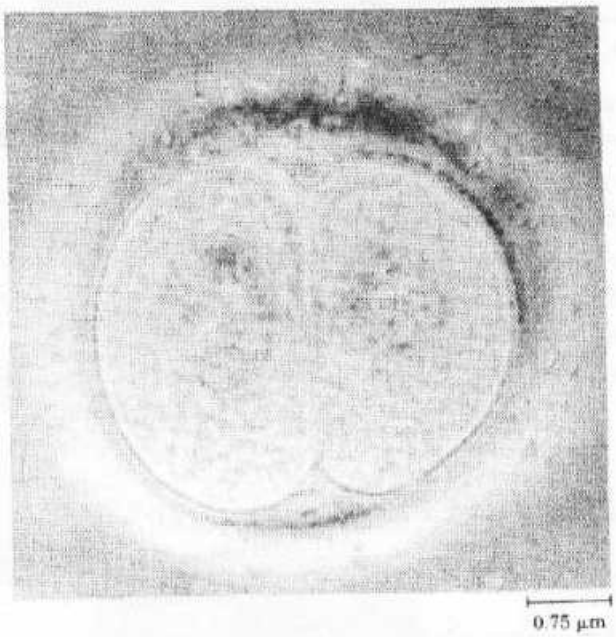
(d)

شکل ۲۱-۲. نمایشگاهی از سلول‌هایی که از نظر ساختمانی و فعالیت تمایز یافته‌اند. (a) سلول ترشحی پانکراس. شبکه آندوپلاسمی وسیع آن محل سنتز پروتئین(های) ترشحی است. (b) قسمتی از یک سلول عضله اسکلتی را نشان می‌دهد. فیلمان‌های شدیداً سازمان‌یافته اکتین و میوزین طی یک فرایند وابسته به ATP، نسبت به یکدیگر لغزش نموده و سبب انقباض عضلانی می‌گردند. (c) سلول‌های collenchyma یک ریشه گیاهی. این سلول‌ها که فاقد دیواره سخت سلولی هستند، پایه قابل‌انعطافی را برای رشد ریشه فراهم می‌آورند. (d) سلول‌های اسپرم انسان فلاژل بلند سبب حرکت رو به جلو اسپره در مجرای تناسلی زن و به سمت تخمک می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir



(e)



(f)

شکل ۲۱-۲ (ادامه). (e) گلبول‌های قرمز بالغ انسان. این سلول‌ها فاقد هسته یا شبکه آندوپلاسمی بوده و هر سلول توسط پروتئین محلول حامل اکسیژن، یعنی هموگلوبین، پر شده و برای عبور از مویرگهای دارای قطر کم، به اندازه کافی انعطاف‌پذیری دارند. (f) رویان انسان در مرحله دوسلولی. تخمی که از آن این رویان ایجاد شده است، مملو از مواد سوختی ذخیره‌شده و RNA پیک بوده که سنتز سریع پروتئین را بعد از لقاح ممکن می‌سازد.

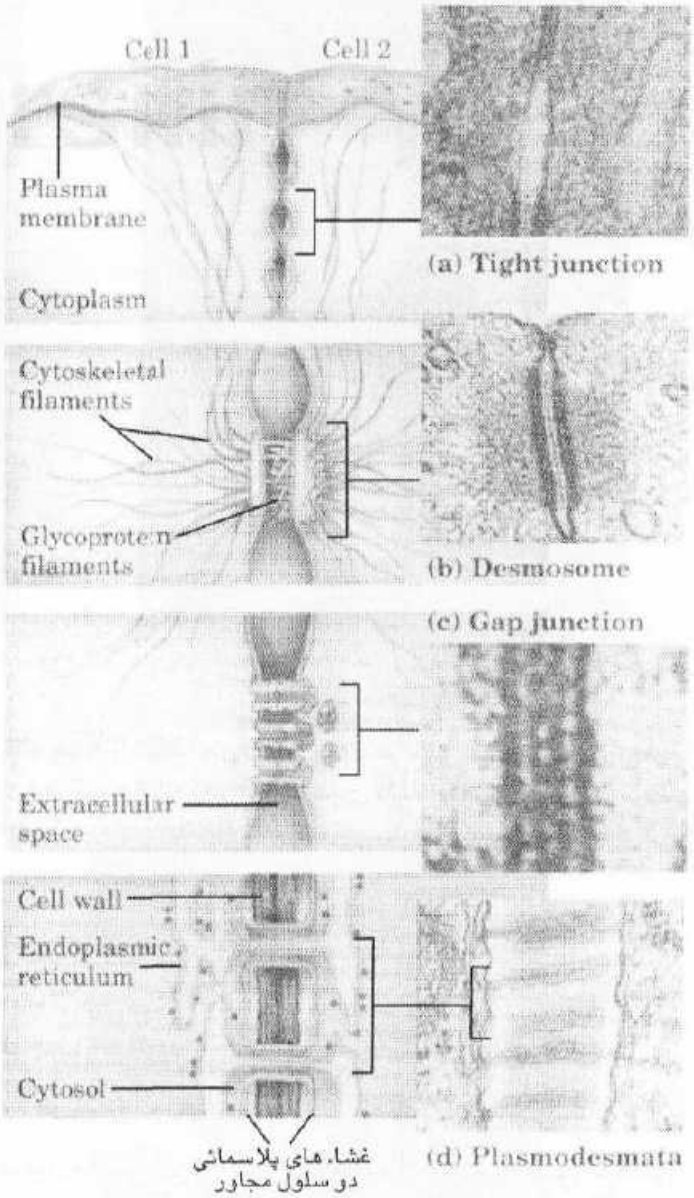
اطراف‌سلول، ایجاد سدی را بین بافت و محیط خارجی می‌نماید. **دسموزومها** پلاکهای فیبری هستند که سلول‌های پی‌تلیال را به یکدیگر جوش می‌دهند؛ فضای خارجی کوچک موجود در بین سلول‌ها توسط پروتئین‌های فیبری چسبنده پر می‌گردد. دسموزوم‌ها اتصالات فیزیکی موجود در بین سلول‌ها را به طریق مکانیکی تقویت نموده ولی مانع عبور مواد از بین فضای بین‌سلولی موجود در بین سلول‌ها نمی‌شود. **اتصالات شکافدار**[1] ایجاد سوراخ‌های کوچکی در بین سلول‌های مجاور نموده که جریانهای الکتریکی، یون‌ها و ملکول‌های کوچک می‌توانند از میان آنها عبور نمایند. این سوراخها همانند کانال‌هایی برای برقراری ارتباط بین سلول‌های مجاور عمل می‌نمایند. گیاهان آلی دارای **پلاسمودسماتا** می‌باشند که کانال‌هایی با عمل مشابه اتصالات شکافدار بوده ولی از نظر ساختمانی متفاوت هستند که تاحدودی این اختلاف به دلیل وجود دیواره سلولی در گیاهان می‌باشد. پلاسمودسماتا مسیری را در میان دیواره سلولی و غشاء پلاسمایی برای حرکت متابولیت‌ها (حتی تعدادی از پروتئین‌های کوچک) بین دو سلول مجاور فراهم می‌آورد.

ویروس‌ها: انگل‌های سلولی

ویروس‌ها کمپلکس‌های سوپراملکولی هستند که در سلول‌های میزبان مناسب می‌توانند خود را همانندسازی نمایند. این کمپلکس‌ها از یک ملکول اسید نوکلئیک (DNA یا RNA) تشکیل شده‌اند که توسط یک غلاف محافظ یا کپسید، متشکل از ملکول‌های پروتئینی، و در بعضی موارد، یک پوشش غشایی احاطه شده است. ویروس‌ها به دو حالت وجود دارند. در خارج سلول‌های میزبان که آنها را تولید نموده‌اند، ویروس‌ها به شکل ذرات غیرزنده

1- Gap junctions

Book.Apfarsi.ir



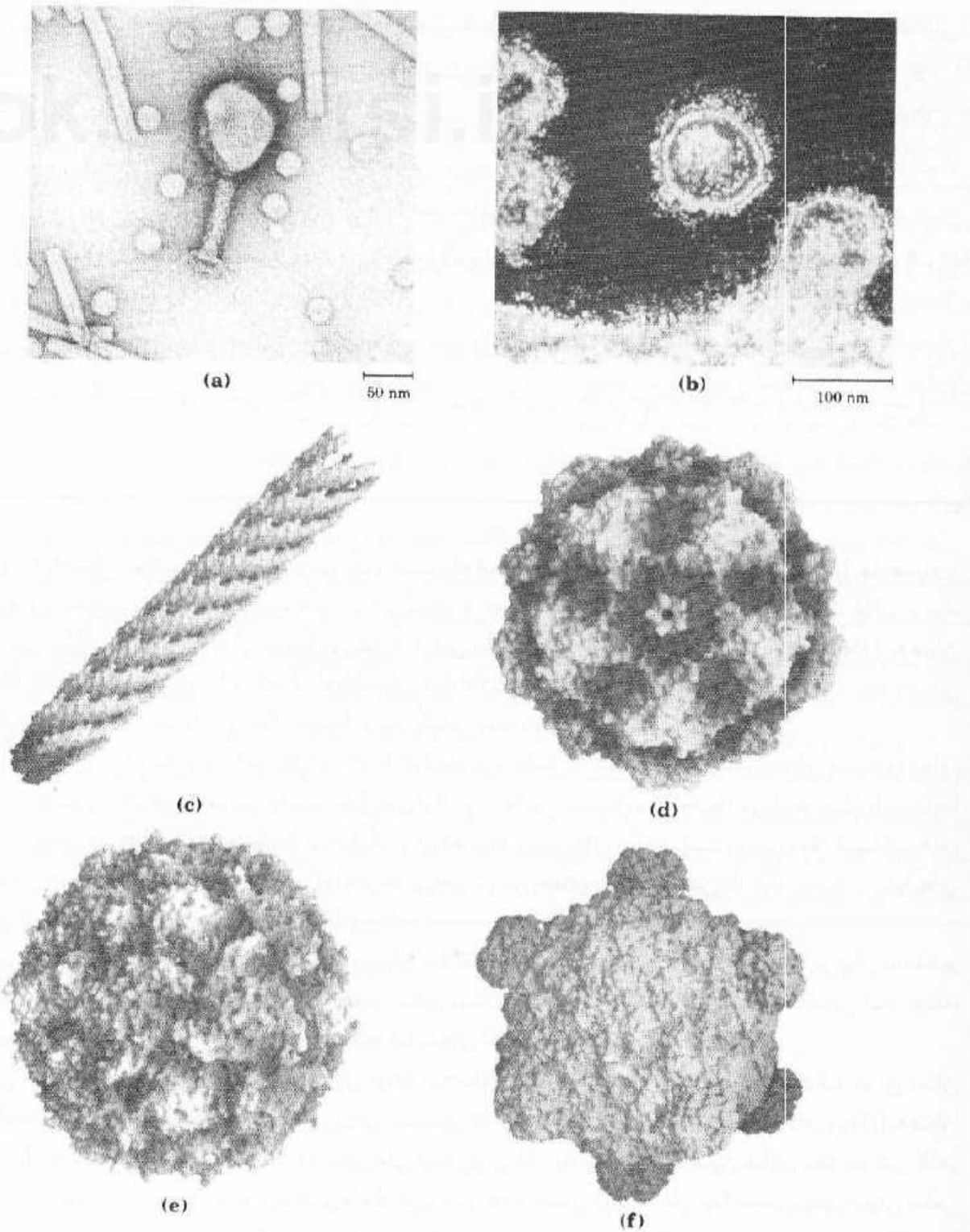
شکل ۲۲-۲. اتصالات سلولی. سلول‌های حیوانی می‌توانند توسط سه نوع اتصال به یکدیگر متصل شوند. **(a)** اتصالات محکم سبب می‌شود سلول‌های اپی‌تلیال مجاور طوری به یکدیگر متصل شوند که آب نتواند از لابلای آنها عبور نماید. **(b)** دسموزوم‌ها سلول‌های اپی‌تلیال مجاور را به یکدیگر جوش داده و توسط عناصر مختلف اسکلت‌سلولی تقویت می‌گردند. **(c)** اتصالات شکافدار این امکان را فراهم می‌سازند که جریان یونی و الکتریکی بین سلول‌های مجاور برقرار گردد. **(d)** در گیاهان، پلاسمودسماتا دو سلول مجاور را به یکدیگر متصل نموده و مسیری را برای عبور متابولیت‌ها و پروتئین‌های کوچک از دیوارد سلولی فراهم می‌سازد.

بنام**ویریون** وجود دارند که می‌توان آنها را کریستالیزه نمود. وقتی ویروس یا جزء اسید نوکلئیکی این ذرات وارد یک سلول میزبان اختصاصی می‌گردند، به یک انگل داخل سلولی تبدیل می‌شوند. اسید نوکلئیک ویروسی حامل پیام ژنتیکی مورد نیاز برای ساخته‌شده ویرون سالم می‌باشد. این اسید نوکلئیک آنزیم‌ها و ریبوزوم‌های سلول میزبان را از انجام اعمال طبیعی سلول بازداشته و از آنها برای تولید تعداد زیادی از ذرات ویروسی جدید دختر استفاده می‌نماید. در نتیجه، هزاران ویروس جدید ممکن است از یک ویریونی ایجاد گردند که سلول میزبان را عفونی نموده است. در بعضی از سیستم‌های میزبان-ویروس، ویروس‌های جدید تولیدی از طریق غشاء پلاسمایی سلول میزبان فرار می‌نمایند. سایر ویروس‌ها، در هنگام رهاسازی، سبب لیز سلولی (تخریب غشاء و مرگ سلول) می‌گردند. بیشتر بیماریزایی مربوط به بیماری‌های ویروسی، حاصل لیز سلول میزبان می‌باشد.

نوع دیگر پاسخ از عفونت‌های ویروسی حاصل می‌گردد که در آن DNA ویروسی در داخل یک کروموزوم میزبان قرار گرفته و همراه با ژن‌های سلول میزبان همانندسازی می‌گردد. ژن‌های ویروسی قرار گرفته در داخل ژنوم میزبان، ممکن است اثری بر روی بقاء میزبان نداشته و یا اثر آن کم باشد، ولی در موارد نادری، سبب تغییرات عمیقی در ظاهر و فعالیت سلول می‌گردند.

صدها ویروس مختلف شناخته شده است (شکل ۲۳-۲) که هر کدام کم و بیش برای یک سلول میزبان اختصاصی هستند که ممکن است سلول حیوانی، گیاهی یا باکتریایی باشد. ویروس‌های اختصاصی باکتری‌ها را **باکتریوفاژ**، یا بطورساده **فاژ** (کلمه یونانی *phagein* به معنی «خوردن»)، می‌نامند. بعضی از ویروس‌ها در کپسید خود تنها حاوی یک نوع پروتئین می‌باشند؛ مثلاً ویروس تنباکو که یک ویروس گیاهی بوده و برای اولین بار کریستالیزه شده است. سایر ویروس‌ها تا یک صد پروتئین مختلف دارند. حتی تعدادی از این ویروس‌های کمپلکس و بزرگ،

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۲. نمایشگاهی از ویروس‌ها. **(a)** میکروگراف الکترونی ویروس موزائیک شلغم زرد (ذرات کوچک کروی)، ویروس موزائیک تنباکو (سیلندرهای بلند) و باکتریوفاژ T4 (به شکل یک آینه دستی به همراه پایه‌های عنکبوتی). **(b)** میکروگراف الکترونی ویروس‌های نقص ایمنی انسان (HIV)، عامل ایدز، که یک لنفوسیت T سیستم ایمنی را عفونی نموده است. **(c)** مدل ملکولی سطح فاژ فیلمانی fd **(d)** مدل ملکولی سطح پارووویروس، یک ویروس خطرناک برای سگهای واکسینه‌نشده. **(e)** مدل ملکولی سطح پولیوویروس انسان (نوع ۲)، یک پیکورناویروس. واکسیناسیون وسیع تقریباً سبب حذف پولیوویروس به‌عنوان یک عامل خطرناک برای انسان شده است. **(f)** مدل ملکولی سطح باکتریوفاژ ϕX174.

کریستالیزه و جزئیات ساختمانی آنها مشخص شده است. ویروس‌ها از نظر اندازه تفاوت زیادی دارند. باکتریوفاژ ϕX174، یکی از کوچکترین انواع، دارای قطر ۱۸nm می‌باشد. ویروس آبله یکی از بزرگترین ویروس‌ها است که ویریون‌های آن تقریباً به بزرگی کوچکترین باکتری می‌باشند. ویروس‌ها همچنین از نظر شکل و پیچیدگی

Book.Apfarsi.ir

ساختمان با یکدیگر متفاوت هستند. ویروس نقص ایمنی انسان (HIV) دارای ساختمان نسبتاً ساده بوده ولی ویران‌کننده می‌باشد؛ این ویروس با تخریب سلول‌های اصلی پاسخ سیستم ایمنی در انسان، منجر به ایدز می‌گردد. نتایج حاصل از ایجاد عفونت با Hantavirus در جنوب غربی ایالات متحده در سال ۱۹۹۳ و ویروس Ebola در آفریقای مرکزی در سال ۱۹۹۵، بیماریزایی شدید بعضی از ویروس‌ها را نشان می‌دهد. ویروس‌ها منجر به ایجاد بیماری‌هایی با دوره‌های سریع و مرگ و میر بالا می‌گردند. سایر ویروس‌هایی که برای انسان شدیداً بیماریزا هستند، منجر به فلج اطفال، آنفلوانزا، تبخال، هپاتیت، سرماخوردگی، منونوکلئوز عفونی، آبله مرغان و بعضی از انواع سرطان‌ها می‌شوند.

بیوشیمی از مطالعه بر روی ویروس‌ها بهره زیادی برده است، زیرا با مطالعه آنها اطلاعات جدیدی در مورد ساختمان ژنوم، مکانیسم‌های آنزیمی سنتز اسید نوکلئیک و پروتئین و تنظیم جریان اطلاعات ژنتیکی بدست آمده است.

خلاصه

سلول‌ها واحدهای ساختمانی و عملی موجود زنده هستند که ابعاد میکروسکوپی دارند. اندازه کوچک سلول‌ها، همراه با پیچیدگی‌های موجود در سطح آنها، منجر به نسبت بالای سطح به حجم شده است که انتشار مواد سوختی، مواد غذایی و مواد بیهوده را بین سلول و محیط اطراف آن تسهیل می‌نماید. تمامی سلول‌ها دارای خصوصیت مشترکی، نظیر DNA به‌عنوان ذخیره اطلاعات ژنتیکی، ریبوزوم‌ها و یک غشاء پلاسمایی احاطه‌کننده سیتوپلاسم، می‌باشند. در اوکاریوت‌ها، ماده ژنتیکی توسط غشاء هسته احاطه شده ولی در پروکاریوت‌ها، چنین غشایی وجود ندارد.

غشاء پلاسمایی یک سد چرم مانند قابل‌انعطاف با نفوذپذیری می‌باشد که ترانسپورترها و گیرنده‌های متعددی برای پیامهای خارج‌سلولی مختلف دارند. سیتوپلاسم سلول‌های اوکاریوتی حاوی سیتوزول و اندامک‌ها می‌باشد. سیتوزول مخلوط غلیظی از پروتئین‌ها، RNA، ترکیبات واسط متابولیک و کوفکتورها و یون‌های معدنی است. ریبوزوم‌ها کمپلکس‌های سوپراملکولی هستند که سنتز پروتئین بر روی آنها صورت می‌پذیرد؛ ریبوزوم‌های باکتریایی قدری از انواع موجود در سلول‌های اوکاریوتی، کوچکتر بوده ولی ساختمان و عمل مشابهی دارند.

بعضی موجودات، بافت‌ها و سلول‌ها دارای مزایایی برای مطالعات بیوشیمیایی هستند. *E.coli* و مخمر را می‌توان به مقادیر زیاد کشت داد، دارای زمان تکثیر کوتاه بوده و بخصوص مطیع دستکاری‌های ژنتیکی می‌باشد. اعمال تخصصی کبد، عضله، بافت چربی و گلبول‌های قرمز خون، آنها را برای مطالعه فرایندهای اختصاصی جذاب نموده است.

اولین سلول‌های زنده پروکاریوت‌های بی‌هوازی بودند؛ این سلول‌ها ۳/۵ بیلیون سال قبل ظاهر شدند که در آن زمان اتمسفر فاقد اکسیژن بود. با گذشت زمان، تکامل بیولوژیک منجر شد تا سلول‌ها بتوانند فتوسنتز را انجام داده و O_2 را به‌عنوان یک محصول فرعی تولید نمایند. با تجمع O_2، سلول‌های پروکاریوتی قادر به انجام اکسیداسیون هوازی مواد سوختی ظاهر شدند. دوگروه اصلی پروکاریوت‌ها، شامل اوباکتری‌ها و آراکی‌باکتری‌ها، در ابتدای دوره تکاملی جدا شدند. پوشش سلولی بعضی از انواع باکتری‌ها شامل لایه‌هایی در خارج غشاء پلاسمایی است که سبب سختی و محافظت می‌گردند. بعضی از باکتری‌ها دارای فلاژل بوده و برای حرکت به سوی جلو از آن استفاده می‌کنند. سیتوپلاسم باکتری‌ها فاقد اندامک‌های متصل به غشاء بوده ولی دارای ریبوزوم‌ها و گرانولهایی از مواد سوختی ذخیره‌شده و همچنین نوکلوئید هستند که DNA سلولی در آن قرارگرفته است. بعضی از باکتری‌های فتوسنتتیک دارای غشاءهای داخل‌سلولی وسیعی می‌باشند که در آنها رنگدانه‌های تسخیرکننده نور وجود دارند.

حدود ۱/۵ بیلیون سال قبل، سلول‌های اوکاریوتی ظاهر شدند. این سلول‌ها از پروکاریوت‌ها بزرگتر بودند و ماده ژنتیکی آنها پیچیده‌تر بود. این سلول‌های اولیه ارتباطات همزیستی با پروکاریوت‌های پیدا نمودند که در داخل سیتوپلاسم آنها زندگی می‌کردند؛ میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌های امروزی از این درون همزیست‌های اولیه مشتق شده‌اند. میتوکندری‌ها و

کلروپلاست‌ها، اندامک‌های داخل‌سلولی هستند که توسط یک غشاء دولایه احاطه شده‌اند. این اندامک‌ها محل‌های اصلی سنتز ATP در سلول‌های اوکاریوتی هوازی می‌باشند. کلروپلاست‌ها تنها در موجودات فتوسنتیک وجود داشته، درحالیکه میتوکندری‌ها در میان تمامی اوکاریوت‌ها موجود هستند.

سلول‌های اوکاریوتی امروزی دارای یک سیستم پیچیده غشاءهای داخل‌سلولی هستند. این سیستم غشایی داخلی شامل پوشش هسته، شبکه آندوپلاسمی صاف و خشن، کمپلکس گلژی، وزیکولهای ترشحی، لیزوزوم‌ها و آندوزوم‌ها می‌باشند. پروتئین‌های سنتزشده بر روی ریبوزوم‌ها به شبکه آندوپلاسمی خشن اتصال یافته و بعد از ورود به داخل این سیستم غشاء داخلی، از طریق کمپلکس گلژی به سمت اندامک‌ها و یا سطح سلولی منتقل شده و در سطح سلولی با فرایند اگزوسیتوز ترشح می‌گردند. مواد خارج‌سلولی با فرایند آندوسیتوز به داخل سلول انتقال داده شده و در آنجا توسط آنزیم‌های گوارشی موجود در لیزوزوم‌ها تجزیه می‌شوند. در گیاهان، واکوئل مرکزی محل فرایندهای تخریبی است؛ این واکوئل همچنین به‌عنوان یک انبار برای ذخیره رنگدانه‌ها و سایر محصولات متابولیکی و حفظ فشار تورگور سلول عمل می‌نماید.

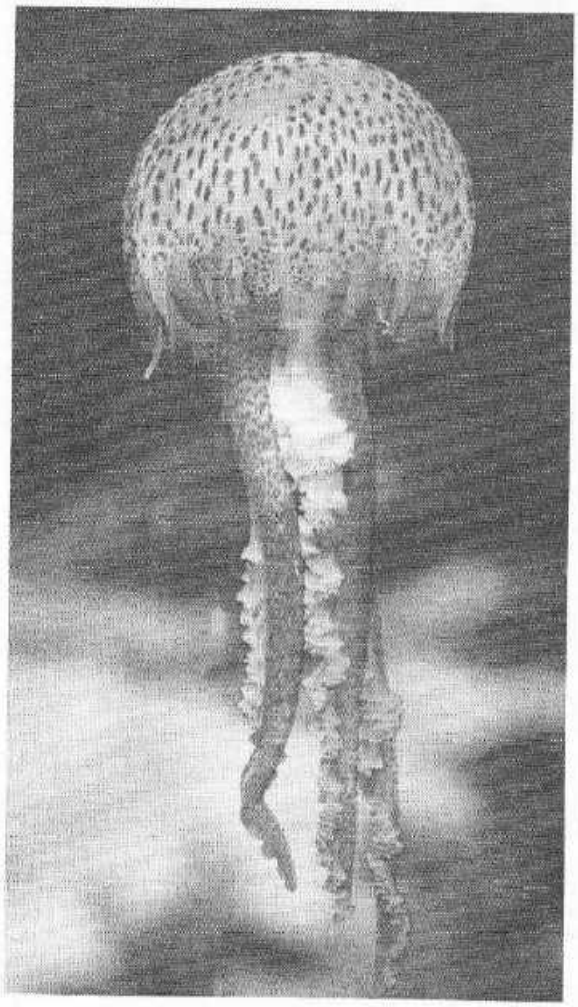
ماده ژنتیکی موجود در سلول‌های اوکاریوتی در داخل کروموزوم‌ها، کمپلکس‌های شدیداً منظم DNA و پروتئین‌های هیستونی، سازماندهی شده است. قبل از تقسیم سلول (سیتوکینز)، هر کروموزوم همانندسازی شده و کروموزوم‌های دوبرابرشده طی فرایند میتوز از یکدیگر جدا می‌گردند.

اسکلت سلولی یک شبکه داخل‌سلولی از فیلمان‌های اکتین، میکروتوبول‌ها و فیلمان‌های حدواسط از انواع متعدد می‌باشد. اسکلت سلولی در ایجاد شکل سلول نقش داشته و با تغییر سازماندهی فیلمان‌های اسکلت سلولی، شکل سلول تغییر یافته که ممکن است همراه با حرکت آمیبی یا تقسیم سلولی باشد. اندامک‌های داخل‌سلولی با استفاده از پروتئین‌هایی نظیر کینزین، دینین سیتوپلاسمی و میوزین، و همچنین استفاده از انرژی ATP، در طول فیلمان‌های اسکلت سلولی حرکت می‌نمایند. بیوشیمیدان‌ها با استفاده از سانتریفوژ افتراقی و سانتریفوژ هم‌چگال، اجزاء داخل‌سلولی را برای مطالعه جدا می‌نمایند.

در موجودات پرسلولی، تقسیم کار بین انواع مختلف سلول‌ها وجود دارد. سلول‌های اپی‌تلیال موجود در حیوانات می‌توانند به طریق مکانیکی توسط اتصالات محکم و دسموزوم‌ها، به یکدیگر متصل گردند؛ کانال‌های ارتباطی توسط اتصالات شکافدار (در حیوانات) و پلاسمودسماتا (در گیاهان) ایجاد می‌گردد. ویروس‌ها انگل سلول‌های زنده می‌باشند که می‌توانند از ماشین سلولی برای همانندسازی خود استفاده نمایند. این انگل‌ها، سلول‌های انسانی، گیاهی و باکتریایی را عفونی نموده و مسئول بسیاری از بیماری‌های جدی انسانی می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir

۳ بیوملکول ها



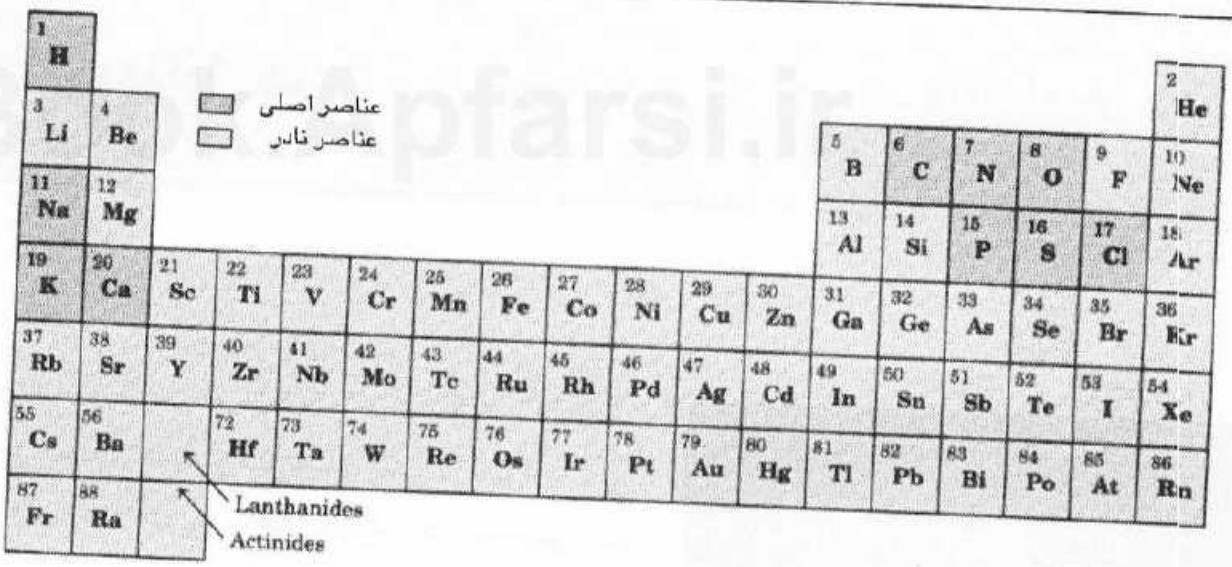
ترکیب شیمیایی مواد زنده، نظیر این ستاره‌دریایی، متفاوت از محیط فیزیکی اطراف آن می‌باشد که برای این موجود، این محیط آب شور است.

هدف بیوشیمی، بیان شکل و عملکرد بیولوژیک براساس اصول شیمی می‌باشد. یکی از سودمندترین روش‌های شناخت پدیده‌های بیولوژیک، تخلیص یک جزء شیمیایی خاص، نظیر یک پروتئین، از یک موجود زنده و تعیین ساختمان یا فعالیت کاتالیتیک آن می‌باشد. ازآنجایی‌که مطالعه خود را با بیوملکول‌ها و واکنش‌های متقابل بین آنها در سلول‌های زنده آغاز نمودیم، به‌طور طبیعی ممکن است چندین سوال پایه به ذهن برسد. چه نوع ملکول‌هایی در موجودات زنده وجود دارند و با چه نسبت‌هایی؟ ساختمان این ملکول‌ها چگونه بوده و چه نیروهایی ساختمان آنها را تثبیت می‌نمایند؟ ویژگی‌های شیمیایی آنها چیست و چه واکنش‌هایی را در محلول انجام می‌دهند؟ این ملکول‌ها چطور با یکدیگر عمل می‌کنند؟ بیوملکول‌های سلول‌های زنده اولیه چطور و از کجا منشاء گرفته‌اند؟

در این فصل، مروری بر بعضی اصول شیمیایی مربوط به ویژگی‌های ملکول‌های بیولوژیک، شامل اتصال کووالان کربن با کربن دیگر و یا با سایر عناصر، گروه‌های عاملی که در ملکول‌های بیولوژیک معمول وجود دارند، ساختمان سه‌بُعدی و شیمی فضایی ترکیبات کربن، اثرات ساختمان‌های شیمیایی بر روی خاصیت واکنشگری ملکول‌ها و کلاس‌های معمول واکنش‌هایی که در داخل بدن موجودات زنده به انجام می‌رسند، خواهیم داشت. سپس زیرواحدهای منومری که ماکروملکول‌ها از آنها ساخته می‌شوند و انرژتیک پلیمریزاسیون آنها را مورد بحث قرار می‌دهیم. بالاخره، منشاء این زیرواحدهای منومری از ترکیبات ساده موجود در اتمسفر زمین در طی زمان‌های، قبل‌بیولوژیک[1]، یعنی پیدایش قبل‌حیات[2] مورد بحث قرار می‌گیرد.

1. Prebiologic 2. Prebiotic

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱-۳ . عناصری که برای زندگی و سلامت انسان ضروری هستند. عناصر اصلی، اجزاء ساختمانی سلول‌ها و بافتها بوده و به مقادیر گرم در روز مورد نیاز می‌باشند. در مورد عناصر کمیاب، نیاز بسیار کمتر بوده و در انسان این میزان برای Fe، Cu و Zn به حدود چند میلی‌گرم در روز و برای بقیه حتی کمتر می‌باشد. نیاز گیاهان و میکروارگانیسم‌ها به عناصر نیز مشابه مقادیر نشان داده شده می‌باشد.

ترکیب و پیوند شیمیایی

تا اواخر قرن هجدهم برای شیمیدان‌ها مشخص شده بود که ترکیب ماده زنده تفاوت عمده‌ای با ترکیب دنیای بی‌جان دارد. آنتونی لاوازیه[1] (۱۷۹۴-۱۷۴۳) سادگی نسبی شیمیایی «دنیای معدنی» را بیان نمود و آن را ازپیچیدگی «دنیای گیاهان و حیوانات» متمایز کرد؛ وی می‌دانست دنیای اخیر از ترکیبات غنی از عناصر کربن، اکسیژن، نیتروژن و فسفر ساخته شده است.

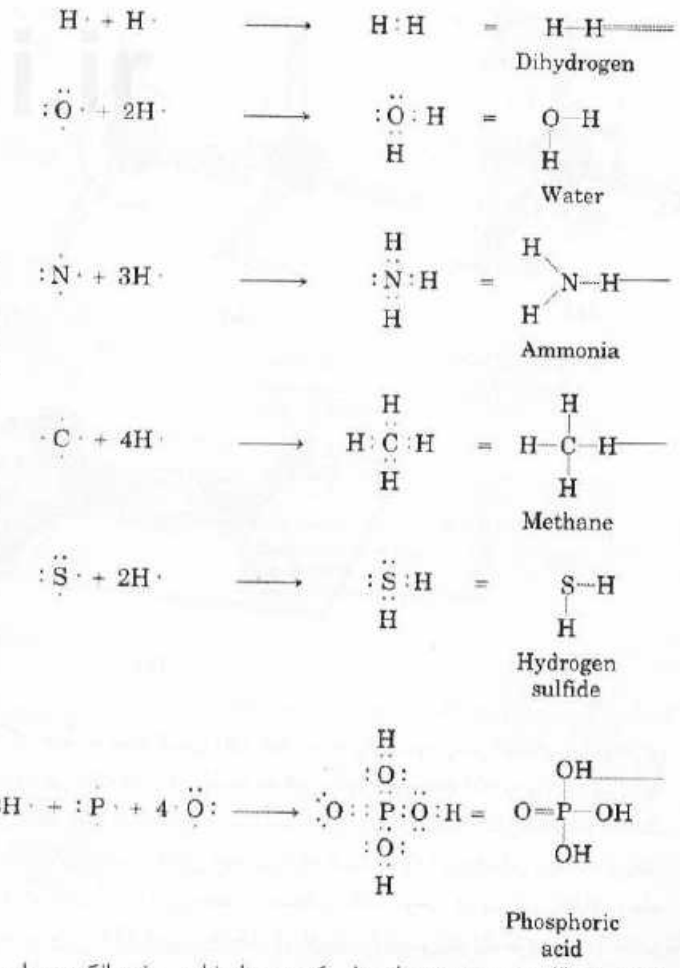
تنها حدود ۳۰ عنصر از بیش از ۹۰ عنصر شیمیایی موجود در طبیعت، برای موجودات زنده ضروری هستند؛ تنها پنج مورد از این عناصر دارای اعداد اتمی بیش از سلنیوم (۳۴) می‌باشند (شکل ۱-۳). چهار عنصر فراوانتر حاضر در موجودات زنده، برحسب درصد تعداد کل اتم‌ها را هیدروژن، اکسیژن، نیتروژن و کربن تشکیل می‌دهند که مجموعاً شامل بیش از ۹۹٪ جرم اکثر سلول‌ها می‌باشند. این اتم‌ها جزء سبکترین عناصر بوده و به ترتیب می‌توانند یک، دو، سه و چهار پیوند تشکیل دهند (شکل ۲-۳). به‌طورکلی، سبکترین عناصر، قویترین پیوندها را تشکیل می‌دهند. عناصر کمیاب (شکل ۱-۳)، کسر ناچیزی از وزن بدن انسان را تشکیل داده ولی همگی آنها برای زندگی ضروری هستند، زیرا برای فعالیت بعضی از پروتئین‌ها، از جمله آنزیم‌ها، لازم می‌باشند. برای مثال، ظرفیت هموگلوبین در انتقال اکسیژن، وابستگی مطلقی به چهار یون آهن موجود در آن دارد که تنها ۰/۳٪ جرم هموگلوبین را شامل می‌شود.

بیوملکول‌ها ترکیبات کربن هستند

شیمی موجودات زنده در حول اتم کربن سازماندهی شده است که بیش از نصف وزن خشک سلول را تشکیل می‌دهد. کربن قادر است با هیدروژن پیوند یگانه و با هر دو اتم اکسیژن و نیتروژن، هم پیوند یگانه و هم پیوند دوگانه تشکیل دهد. (شکل ۳-۳) چیزی که در بیولوژی اهمیت بیشتری دارد، توانایی اتم‌های کربن در به اشتراک گذاشتن

1. Antoine Lavoisier

اتم	تعداد الکترون‌های جفت نشده	تعداد الکترون‌ها در لایهٔ خارجی کامل
H·	1	2
:Ö·	2	8
:N·	3	8
·C·	4	8
:S·	2	8
:P·	3	8



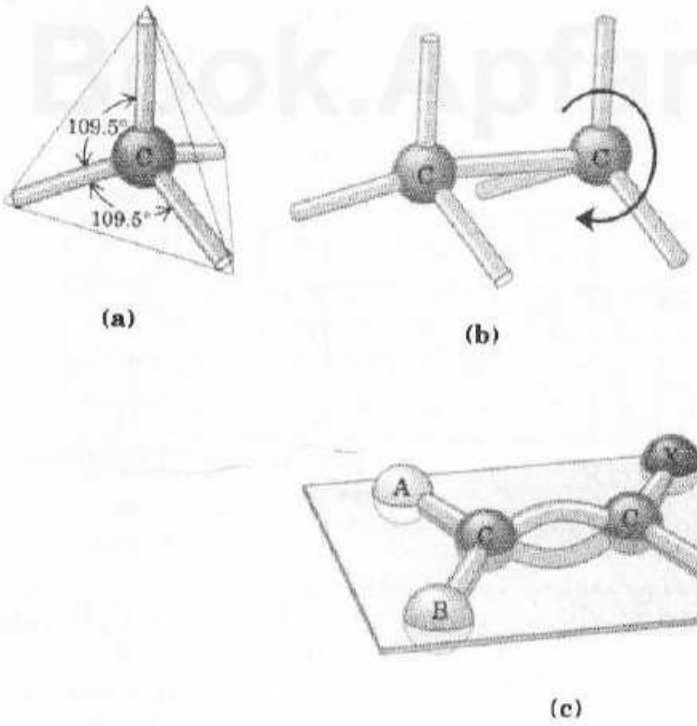
شکل ۳-۳. اتصال کووالان. اتم‌هایی که در مدار خارجی خود الکترون‌های جفت‌نشده دارند، می‌توانند با به اشتراک گذاشتن جفت‌های الکترونی، ایجاد پیوندهای کووالان نمایند. اتم‌های شرکت‌کننده در ایجاد پیوند کووالان، تمایل دارند که مدارهای الکترونی خارجی خود را پر نمایند.

جفت‌های الکترونی بین یکدیگر و ایجاد پیوندهای بسیار پایدار یگانه کربن-کربن می‌باشد. هر اتم کربن می‌تواند با یک، دو، سه یا چهار اتم کربن دیگر ایجاد پیوندهای یگانه نماید. همچنین دو اتم کربن می‌توانند دو (یا سه) جفت الکترون را به اشتراک گذاشته و بنابراین ایجاد پیوندهای دوگانه (یا سه‌گانه) کنند (شکل ۳-۳).

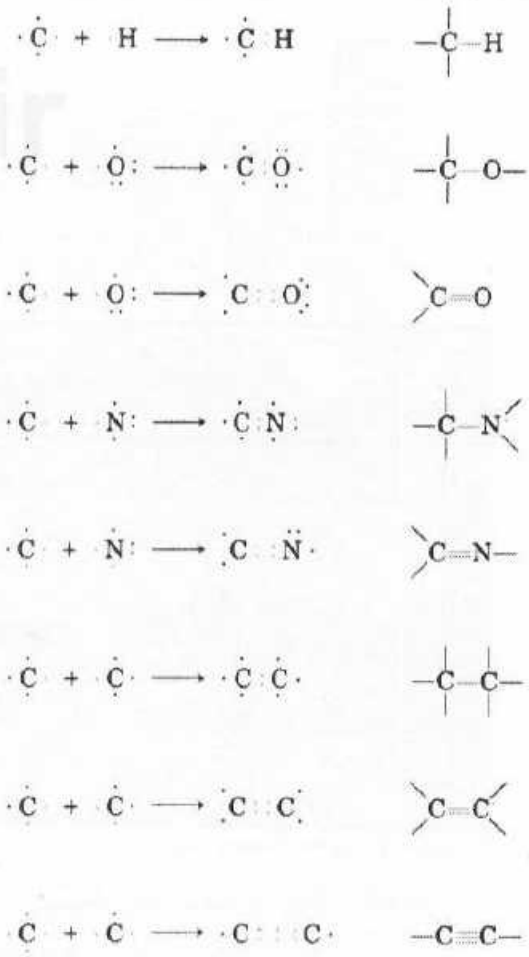
چهار پیوند کووالان یگانه که توسط یک اتم کربن قابل ایجاد می‌باشند، به شکل یک چهاروجهی، با زاویه پیوند $109/5^\circ$ بین دو پیوند، آرایش یافته (شکل ۴-۳) و طول متوسط آنها ۰/۱۵۴ nm می‌باشد. چرخش آزاد حول هر پیوند یگانه وجود دارد، مگراینکه گروه‌های بسیار بزرگ یا شدیداً باردار به هر دو اتم کربن اتصال یافته و چرخش را محدود نمایند. پیوند دوگانه کوتاهتر (حدود ۰/۱۳۴ nm) و سخت برده و چرخش کمتری حول محور آن ممکن می‌باشد.

اتم‌های کربن دارای اتصال کووالان می‌توانند در بیوملکول‌ها به شکل زنجیرهای خطی، زنجیرهای شاخه‌دار و ساختمان‌های حلقوی وجود داشته باشند. به این اسکلت کربنی گروه‌هایی از اتم‌های دیگر، بنام **گروه‌های عامل**، اتصال می‌یابند که ویژگی‌های شیمیایی خاصی را به ملکول می‌دهند. ملکول‌هایی که اسکلت‌های کربنی با اتصال کووالان دارند را **ترکیبات آلی** گویند؛ این ترکیبات دارای تنوع نامحدودی هستند. بسیاری از بیوملکول‌ها، ترکیبات آلی هستند؛ بنابراین می‌توان استنباط نمود که قابلیت تغییر اتصال کربن یکی از عوامل اصلی انتخاب ترکیبات کربنی برای ایجاد ماشین‌های ملکولی سلول‌ها در هنگام پیدایش و تکامل موجودات زنده بوده است. هیچ عنصر

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۳. هندسه پیوند کربن. (a) چهار پیوند یگانه موجود در اتم‌های کربن دارای آرایش چهاروجهی مشخصی می‌باشند که طول آنها حدود ۰/۱۵۴ nm و زاویه بین آنها ۱۰۹/۵° می‌باشد. **(b)** همانطورکه در ترکیب اتان (CH_3-CH_3) نشان داده شده است، پیوندهای یگانه کربن-کربن دارای چرخش آزاد هستند. **(c)** پیوندهای دوگانه کوتاهتر بوده و اجازه چرخش آزاد را نمی‌دهند. پیوندهای یگانه موجود در هر کربن دارای پیوند دوگانه، زاویه‌ای برابر ۱۲۰° نسبت به یکدیگر دارند. دو کربنی که توسط پیوند دوگانه به یکدیگر اتصال یافته‌اند و اتم‌هایی که با علائم A، B، X و Y نمایش داده شده‌اند، در یک صفحه قرار دارند.



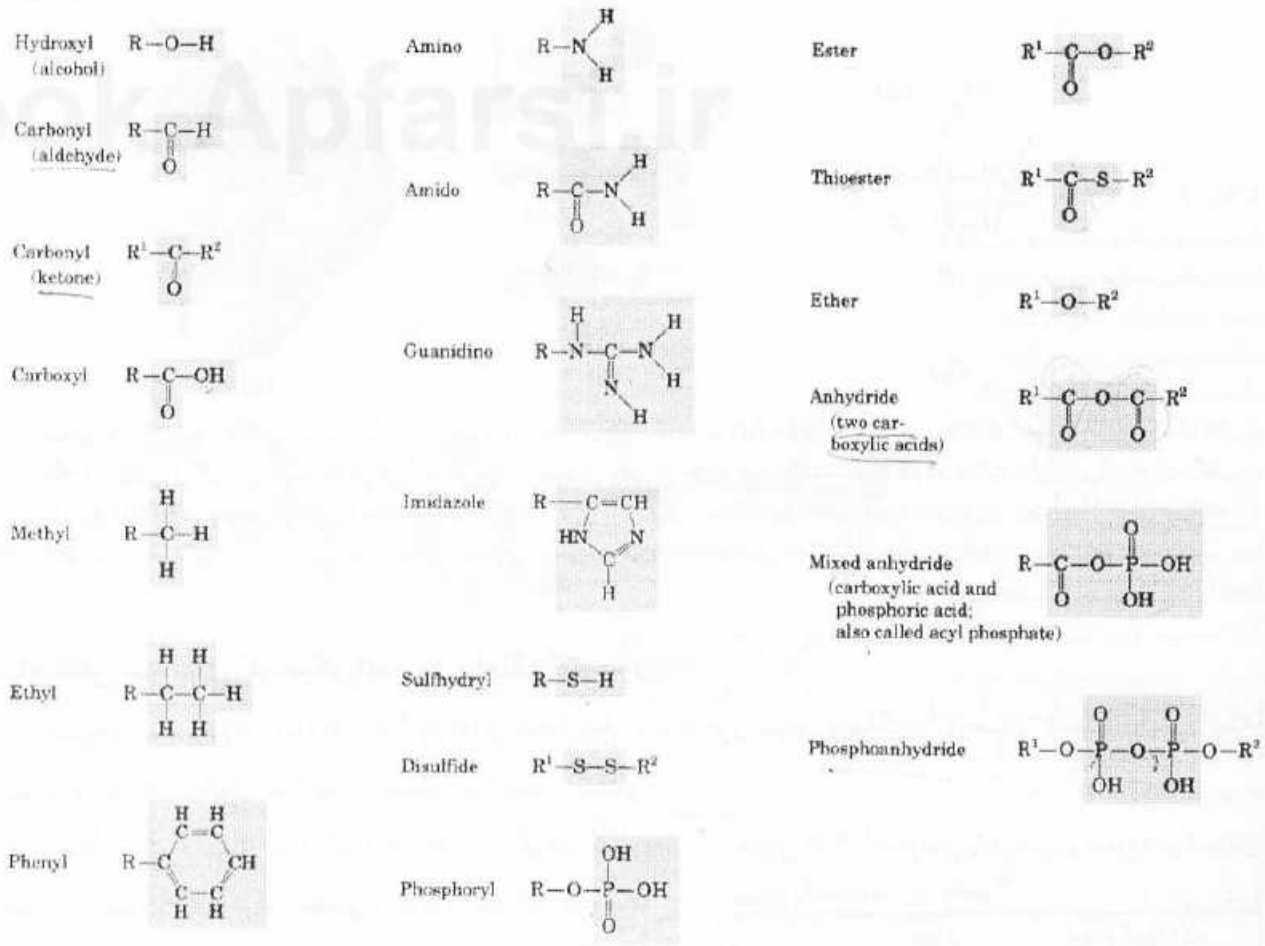
شکل ۳-۳. قابلیت کربن در ایجاد پیوندهای یگانه، دوگانه و سه‌گانه، بخصوص در بین اتم‌های کربن. پیوندهای سه‌گانه بندرت در بیوملکول‌ها مشاهده می‌گردند.

شیمیایی دیگری نمی‌تواند ملسلول‌های با چنین تنوعی در اندازه، شکل یا با چنین گروه‌های عامل متنوعی را ایجاد نماید.

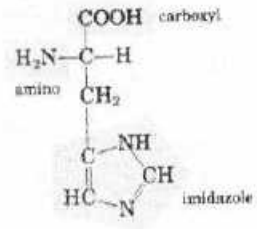
گروه‌های عامل خصوصیات شیمیایی را تعیین می‌نمایند

بیشتر بیوملکول‌ها را می‌توان به‌عنوان مشتقات هیدروکربن‌ها (ترکیبات دارای اسکلت کربنی و اتصالات کووالان که به آنها تنها اتم‌های هیدروژن اتصال یافته‌اند) در نظر گرفت. اسکلت هیدروکربن‌ها بسیار پایدار می‌باشد. با استخلاف اتم‌های هیدروژن با انواعی از گروه‌های عامل، خانواده‌های مختلف ترکیبات آلی ایجاد می‌گردند. ترکیبات شاخص عبارتند از الکل‌ها که به آنها یک یا چند گروه هیدروکسیل اتصال یافته است؛ آمینها که گروه‌های آمینو دارند؛ آلدئیدها و کتونها که گروه‌های کربونیل در ساختمان آنها مشاهده می‌گردد؛ و اسیدهای کربوکسیلیک که حاوی گروه‌های کربوکسیل می‌باشند (شکل ۵-۳).

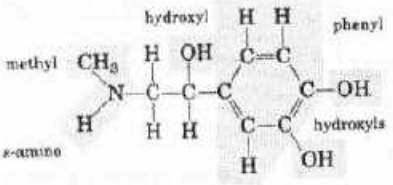
بسیاری از بیوملکول‌ها دارای چندین فعالیت بوده و دو یا چند گروه عامل متفاوت در ساختمان آنها مشاهده می‌گردد (شکل ۶-۳) که هر کدام دارای خصوصیات و واکنش‌های شیمیایی خاص خود هستند. «ماهیت» شیمیایی ترکیباتی نظیر اپی‌نفرین یا استیل-کوآنزیم آ بوسیله شیمی گروه‌های عامل آنها و وضعیت قرارگیری این گروه‌ها در فضای سه‌بُعدی، تعیین می‌گردد.



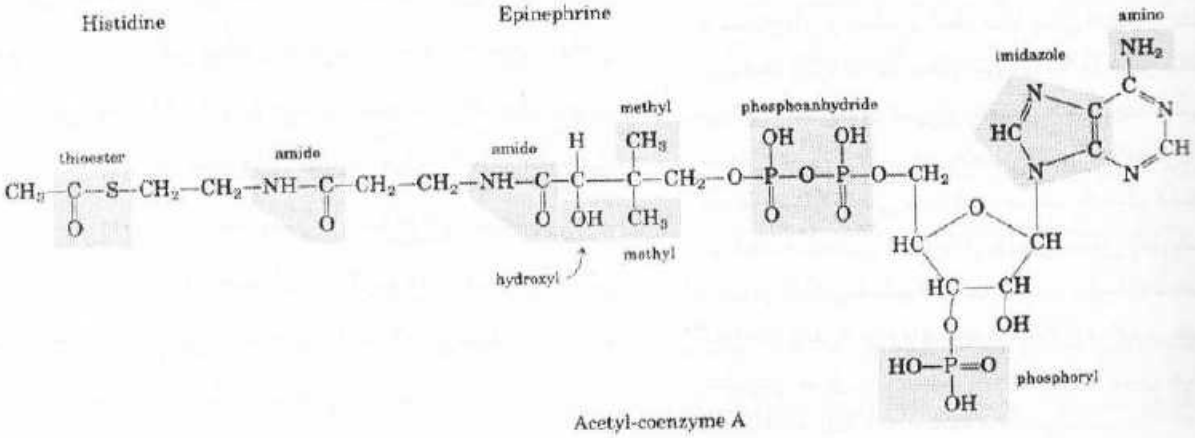
شکل ۵-۳. بعضی از گروه‌های عامل معمول در بیوملکول‌ها. تمامی گروه‌ها به شکل بدون بار (غیریونیزه) نشان داده شده‌اند. در این شکل و در سرتاسر این کتاب، R برای نمایش «هر نوع استخلافی» مورد استفاده قرار می‌گیرد. R ممکن است یک اتم ساده هیدروژن باشد، ولی معمولاً یک بخش حاوی کربن می‌باشد. وقتی دو یا چند استخلاف در یک ملکول وجود دارد، آنها را با R^1، R^2 و غیره نمایش می‌دهیم.



Histidine



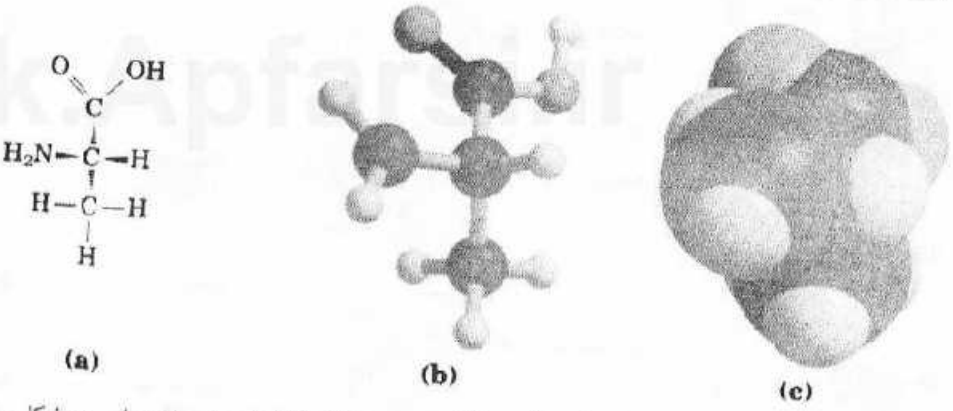
Epinephrine



Acetyl-coenzyme A

شکل ۶-۳. گروه‌های عامل معمول در بیوملکول‌ها. هیستیدین یکی از اسیدهای آمینه معمول موجود در پروتئین‌ها می‌باشد؛ اپی‌نفرین یک هورمون است؛ استیل‌کوآ یک حامل گروه‌های استیل در بعضی از واکنش‌های آنزیمی می‌باشد. توجه کنید که گروه آمینو موجود در اپی‌نفرین یک گروه آمینو نوع دوم است که یکی از هیدروژن‌های آمینو آن توسط گروه دیگری جایگزین شده است.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۷-۳. سه راه برای نمایش ساختمان اسید آمینه آلانین وجود دارد. **(a)** فرمول ساختمانی به شکل چشم‌اندازی؛ یک گوه پر (◀) نمایشی از پیوندی است که در آن اتم موجود در انتهای پهن در خارج صفحه کاغذ و به طرف خواننده قرار می‌گیرد؛ یک گوی منقطع (|||) نیز پیوندی را در زیر صفحه نشان می‌دهد. **(b)** مدل گوی و میله، طول نسبی پیوندها و زوایای بین آنها را نشان می‌دهد. **(c)** مدل فضاپرکن که در آن هر اتم با شعاع واندوالس نسبی صحیح خود (جدول ۱-۳) نشان داده می‌شود.

ساختمان سه‌بُعدی: کونفیگوراسیون و کونفورماسیون

هرچند پیوندهای کووالان و گروه‌های عامل یک بیوملکول برای عملکرد آن حیاتی است، آرایش اتم‌های تشکیل دهنده آن ملکول در فضای سه‌بُعدی، یعنی شیمی فضایی آن، نیز اهمیت فوق‌العاده‌ای دارد. ترکیبات کربن معمولاً به‌صورت **ایزومرهای فضایی** وجود دارند؛ این ایزومرها ملکول‌های متفاوتی هستند که ترتیب اتصال در آنها یکسان بوده ولی ارتباطات فضایی موجود در بین اتم‌ها متفاوت می‌باشد. واکنش‌های متقابل ملکولی مرجود در بین بیوملکول‌ها به‌طورثابتی دارای ویژگی‌فضایی است؛ یعنی برای انجام این واکنش‌ها نیاز به شیمی فضایی اختصاصی می‌باشد.

شکل ۷-۳ سه طریق نمایش کونفیگوراسیون شیمی فضایی ملکول‌های ساده را نشان می‌دهد. شکل چشم‌اندازی[1]، کونفیگوراسیون را بدون هیچ ابهامی مشخص نموده ولی زوایای پیوند و طول پیوند مرکز - به - مرکز در مدل‌های گوی و میله[2] بهتر مشخص می‌گردد. در مدل‌های فضاپرکن[3]، شعاع هر اتم متناسب با شعاع واندوالس آن (جدول ۱-۳)بوده و محیط مرئی ملکول حدود خارجی ناحیه‌ای را نشان می‌دهد که از آن اتم‌های ملکول‌های دیگر رانده می‌شوند.

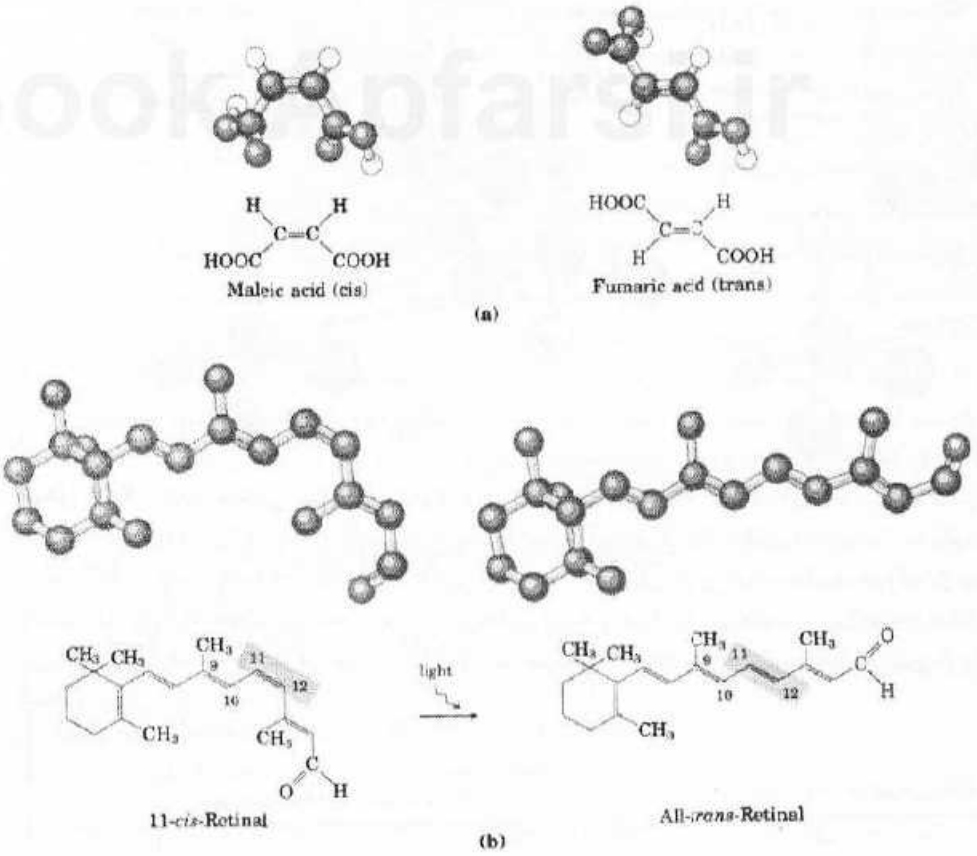
جدول ۱-۳. شعاع‌های واندروالس و شعاع‌های کووالان (پیوند یگانه) بعضی از عناصر*

عنصر	شعاع واندوالس (nm)	شعاع کووالان برای پیوند یگانه (nm)
H	۰/۱	۰/۰۳۰
O	۰/۱۴	۰/۰۷۴
N	۰/۱۵	۰/۰۷۳
C	۰/۱۷	۰/۰۷۷
S	۰/۱۸	۰/۱۰۳
P	۰/۱۹	۰/۱۱۰
I	۰/۲۲	۰/۱۳۳

* شعاع‌های واندرالس، ابعاد فضا پرکن اتم‌ها را نشان می‌دهند. وقتی دو اتم به‌طور کووالان به یکدیگر متصل می‌شوند، شعاع‌های اتمی در نقطه ایجاد پیوند، کمتر از شعاع‌های واندروالس می‌باشد. زیرا دو اتم اتصال‌یافته توسط جفت الکترونی مشترک به سمت یکدیگر کشانده می‌شوند. فاصله بین هسته‌ها در واکنش متقابل واندروالسی و یا در یک پیوند کووالان، به ترتیب برابر با مجموع شعاع‌های واندروالس و یا شعاع‌های کووالان دو اتم می‌باشد. بنابراین طول یک پیوند یگانه کربن - کربن حدود ۰/۰۷۷nm + ۰/۰۷۷nm = ۰/۱۵۴nm می‌باشد.

1. Perspective
2. Ball and stick
3. Space - filling

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۳. کونفیگوراسیون‌های ایزومرهای هندسی. (a) ایزومرهایی نظیر اسید مالئیک و اسید فوماریک، نمی‌توانند بدون شکسته‌شدن پیوندهای کووالان به یکدیگر تبدیل گردند. **(b)** در شبکیه مهره‌داران، اولین حادثه دریافت نور، جذب نور توسط ۱۱-سیس-رتینال می‌باشد. انرژی نوری جذب‌شده (حدود ۲۵۰ kJ/mol) با تبدیل ۱۱-سیس-رتینال به تمام-ترانس-رتینال، تغییرات الکتریکی را در سلول شبکیه آغاز می‌نماید که منجر به ایجاد پیام عصبی می‌گردد.

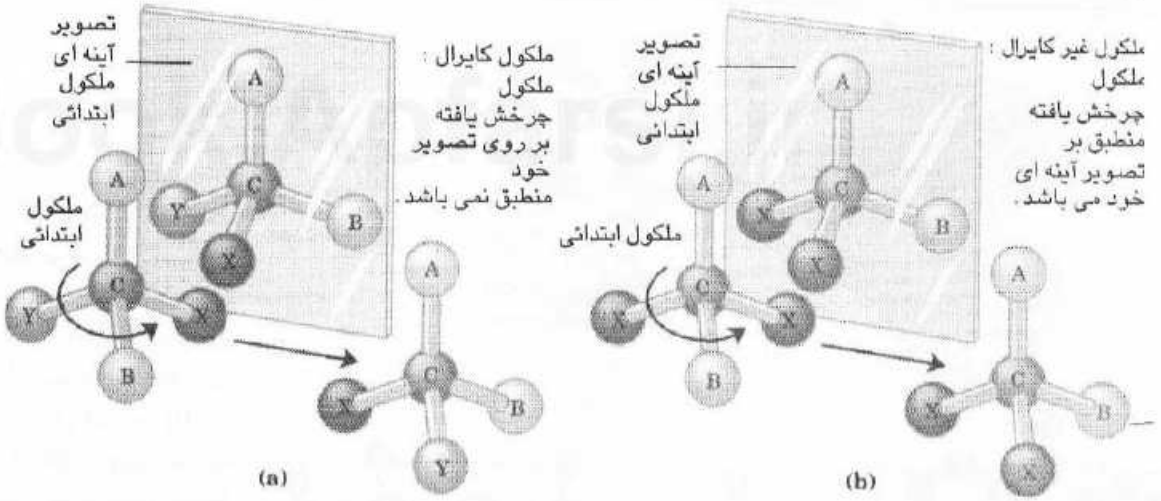
کونفیگوراسیون تنها با شکستن یک پیوند تغییر می‌یابد

کونفیگوراسیون اشاره به آرایش فضایی ثابت اتم‌ها در یک ملکول آلی می‌نماید که حاصل وجود یکی از موارد زیر می‌باشد: (۱) پیوندهای دوگانه که در اطراف آنها چرخش آزادی وجود نداشته، یا (۲) مراکز کایرال که حول آنها گروه‌های استخلاف‌شده در یک توالی اختصاصی قرار دارند. خصوصیت مشخص‌کننده ایزومرهای کونفیگوراسیونی این است که بدون شکسته‌شدن موقتی یک یا چند پیوند کووالان نمی‌توانند به یکدیگر تبدیل گردند.

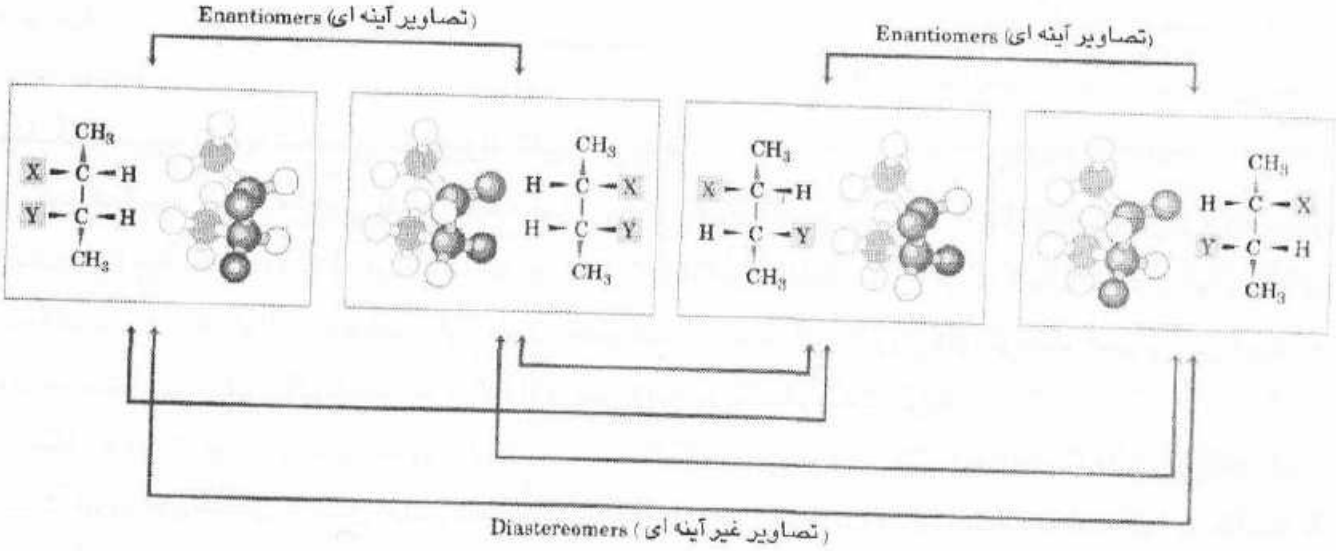
شکل a ۸-۳، کونفیگوراسیون‌های مربوط به اسید مالئیک و ایزومر آن، یعنی فومارات، را نشان می‌دهد. این ترکیبات **ایزومرهای هندسی** یا **سیس-ترانس** نامیده می‌شوند و از نظر آرایش گروه‌های استخلاف‌شده آنها در مقایسه با پیوند دوگانه غیرقابل‌چرخش، با یکدیگر تفاوت دارند. اسید مالئیک ایزومر سیس و اسید فوماریک ایزومر ترانس بوده و هر کدام از آنها ترکیب مشخصی هستند که قابل‌جداسازی از دیگری بوده و هر کدام دارای خصوصیات شیمیایی بی‌همتای خود می‌باشند. یک جایگاه اتصالی (برای مثال، بر روی یک آنزیم) مکمل یکی از این ملکول‌ها، جایگاه اتصالی مناسبی برای دیگری نبوده که خود توجیهی بر این موضوع است که چرا این دو ترکیب، علی‌رغم داشتن شیمی مشابه، اعمال بیولوژیک متفاوتی را انجام می‌دهند.

چهار استخلاف مختلف متصل به اتم کربن چهاروجهی ممکن است به دو طریق در فضا قرار گیرند (یعنی دو کونفیگوراسیون داشته باشند؛ شکل ۹-۳) و ایجاد دو ایزومر فضایی با دو خصوصیت مشابه یا یکسان ولی متفاوت از نظر بعضی خصوصیات فیزیکی و بیولوژیک نمایند. اتم کربنی که دارای چهار استخلاف متفاوت می‌باشد را کربن نامتقارن نامند و کربن‌های نامتقاران را **مراکز کایرال** گویند (کلمه یونانی *chiros* به معنی «دست»؛ بعضی از ایزومرهای فضایی از نظر ساختمانی ممکن است ارتباطی مثل دست راست با چپ داشته باشند). ملکولی که فقط یک اتم کایرال دارد، تنها دو ایزومر فضایی خواهد داشت، ولی وقتی دو یا چند (n) کربن کایرال موجود باشد، تعداد

Book.Apfarsi.ir



شکل ۹-۲. تفاوت ملکولی: ملکول‌های کایرال و غیرکایرال. (a) وقتی به یک اتم کربن چهار گروه استخلافی متفاوت (A، B، X و Y) اتصال می‌یابد، این گروه‌ها می‌توانند با دو آرایش قرار گیرند که تصاویر آینه‌ای غیرقابل‌انطباق (انانتیومر) یکدیگر می‌باشند. این کربن نامتقارن بوده و کربن کایرال یا مرکز کایرال نامیده می‌شود. **(b)** وقتی یک کربن چهاروجهی دارای تنها سه گروه غیریکسان می‌باشد (یعنی یک گروه دو بار تکرار شده باشد)، تنها یک کونفیگوراسیون ممکن بوده و این ملکول قرینه یا غیرکایرال می‌باشد. در این حالت، ملکول بر روی تصویر آینه‌ای خود قابل‌انطباق می‌باشد: ملکول سمت چپ را می‌توان در خلاف جهت عقربه‌های ساعت چرخاند (پیوندعمودی بین A و C از بالا به پایین منتقل گردد)، تا تصویر آینه‌ای ملکول ایجاد شود.



شکل ۱۰-۳. دو نوع ایزومر فضایی. ملکول بوتان دارای دو استخلاف بر روی کربنهای ۲ و ۳، به چهار شکل وجود دارد ($2 = n$ کربن نامتقارن، و بنابراین $2^n = 4$ ایزومر فضایی). هرکدام از این ایزومرهای فضایی در یک کادر و با فرمول چشم‌اندازی و مدل گوی و میله نشان داده شده‌اند. بعضی از این جفت‌ها، تصاویر آینه‌ای و بنابراین انانتیومر یکدیگر هستند. جفت‌های دیگر تصاویر آینه‌ای نبوده و دیاسترومر می‌باشند.

ایزومرهای فضایی می‌تواند 2^n باشد. تعدادی از این ایزومرهای فضایی تصاویر آینه‌ای یکدیگر بوده که به آنها انانتیومرگویند (شکل ۹-۳). جفت‌های ایزومرهای نوری که تصاویر آینه‌ای یکدیگر نمی‌باشند، **دیاسترومر** نامیده می‌شوند (شکل ۱۰-۳).

همانطورکه لوئی پاستور (کادر ۱-۳) مشاهده نمود، انانتیومرها تقریباً دارای خصوصیات شیمیایی مشابهی بوده ولی از نظر یک خصوصیت فیزیکی، یعنی واکنش آنها با نور پلاریزه، با یکدیگر متفاوت هستند. در محلول‌های مجزا، دو انانتیومر صفحه نور پلاریزه را در دو جهت مخالف می‌چرخانند، ولی محلول‌های اکی‌مولار این دو

Book Anfarsi.ir

کادر ۱-۳. لوئی پاستور و فعالیت نوری: *In Vino, Veritas*

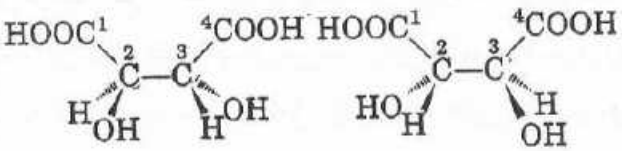


Louis Pasteur
1822-1895

لوئی پاستور در سال ۱۸۴۳، در هنگام بررسی رسوب کریستالی جمع‌شده در بشکه‌های شراب («اسید پاراتارتاریک» یا اسید راسمیک، گرفته‌شده از کلمه لاتین *racemus* به معنی «خوشه انگور»)، با پدیده **فعالیت نوری** مواجه گردید. وی برای جداسازی کریستال‌های دارای شکل مشابه ولی تصویر آینه‌ای یکدیگر، از پنس‌های ظریفی استفاده نمود. هر دو این کریستال‌ها دارای ویژگی‌های شیمیایی یکسانی بودند ولی در حالت محلول، یکی از آنها نور پلاریزه را به سمت چپ (چپ‌گردان) و دیگری به سمت راست (راست‌گردان) منحرف نمودند. سپس پاستور آزمایش و تفسیر خود را به صورت زیر نوشت:

در اجسام ایزومری، عناصر و نسبت ترکیب آنها یکسان بوده و تنها آرایش اتم‌ها متفاوت است.....می‌دانیم، از یک طرف، آرایش ملکولی در اسید تارتاریک، نامتقارن بوده و از طرفی دیگر، به استثناء وجود عدم تقارن در دو جهت مخالف، این آرایشها اساساً یکسان می‌باشند. آیا اتم‌های این اسید راست‌گردان به شکل مارپیچ راست‌گردان بوده، یا در قله یک چهاروجهی نامنظم قرار گرفته و یا اینکه برحسب یکی از آرایشهای نامتقارن، نامرتب می‌باشد؟ نمی‌دانیم. (از سخنرانی پاستور در سال ۱۸۸۳ در انجمن شیمی پاریس).

حال می‌دانیم که مطالعات کریستالوگرافی اشعه x در سال ۱۹۵۱ تایید نمود که اشکال چپ‌گردان و راست‌گردان اسید تارتاریک، در سطح ملکولی، تصاویر آینه‌ای یکدیگر بوده و کونفیگوراسیون مطلق آنها مشخص گردید (شکل ۱). سپس همین روش برای نشان‌دادن این واقعیت بکار رفت که هرچند آلاتین دو شکل ایزومر فضایی (با علائم D و L) را دارد ولی تنها یک شکل آن (ایزومر L؛ فصل ۵ را ببینید) در ساختمان پروتئین‌ها شرکت می‌نماید.



(2*R*,3*R*)-Tartaric acid (راست گردان)

(2*S*,3*S*)-Tartaric acid (چپ گردان)

شکل ۱. پاستور کریستال‌های دو ایزومر فضایی اسید تارتاریک را جدا نمود و نشان داد که این دو شکل جداشده، نور پلاریزه را به میزان مساوی ولی در دو جهت مخالف، منحرف می‌نمایند. بعداً نشان داده شد که این اشکال راست‌گردان و چپ‌گردان، ایزومرهای (*R*,*R*) و (*S*,*S*) می‌باشند. سیستم نامگذاری RS در متن توضیح داده می‌شود.

انانتیومر (**مخلوطهای راسمیک**[1] در ترمینولوژی پاستور) فاقد قدرت چرخش نور می‌باشند. ترکیبات فاقد مراکز کایرال، صفحه نور پلاریزه را نمی‌چرخانند.

واکنش‌های متقابل بیولوژیک (برای مثال، بین آنزیم و سوبسترا، گیرنده و هورمون، یا آنتی‌بادی و آنتی‌ژن) دارای ویژگی فضایی هستند: «انطباق» در این نوع واکنش‌ها می‌بایست از نظر شیمی فضایی درست باشد. بنابراین لازم است ساختمان یک ملکول را به طریقی نامگذاری و نمایش دهیم که شیمی فضایی آن را نشان دهد. برای ترکیباتی که بیش از یک مرکز کایرال دارند، اغلب استفاده از سیستم RS مفیدتر از سیستم D و L می‌باشد که در فصل ۵ شرح داده می‌شود. در سیستم RS، هر گروه متصل به یک کربن کایرال یک تقدم[2] را نشان می‌دهند. تقدمهای بعضی از استخلافهای معمول به شرح زیر می‌باشد:

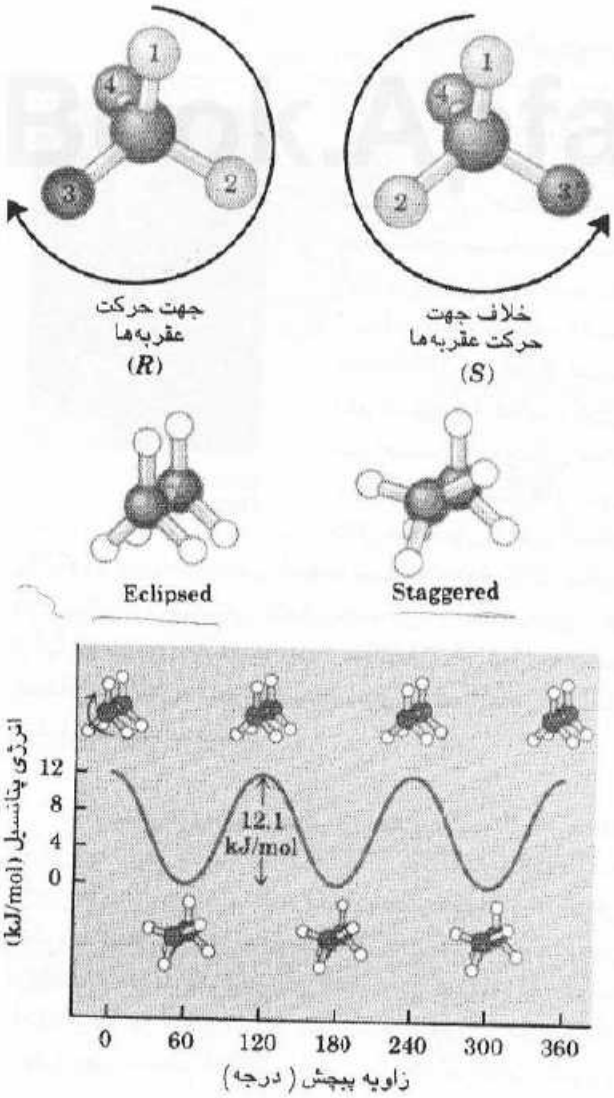
$$-OCH_2 > -OH > -NH_2 > -COOH > -CHO > -CH_2OH > -CH_3 > -H$$

اتم کایرال از سمت گروه دارای کمترین تقدم (۴) در نظر گرفته شده و سپس در پشت قرار داده می‌شود. در صورتی که تقدم سایر گروه‌ها (۱ تا ۳) در جهت عقربه‌های ساعت کاهش یابد، کونفیگوراسیون (*R*) (از کلمه یونانی *rectus* به معنی «راست») بوده و اگر در خلاف جهت عقربه‌های ساعت کاهش یابد، کونفیگوراسیون (*S*) (از کلمه یونانی

1. Racemic mixtures 2. Priority

Book.Apfarsi.ir

sinister به معنی «چپ») می‌باشد. به این طریق کربن کایرال یا به‌صورت (*R*) یا (*S*) نشان داده شده و قراردادن این اصطلاحات در نام ترکیب، شرح غیرمبهمی از شیمی فضایی هر مرکز کایرال فراهم خواهد نمود.



شکل ۱۱-۳. بخاطر آزادی چرخش حول پیوند C-C، کونفورماسیونهای متعددی برای اتان ممکن می‌باشد. وقتی اتم کربن جلوئی همراه با سه هیدروژن متصل به آن، نسبت به کربن عقبی چرخش نماید، انرژی پتانسیل ملکول در کونفورماسیون کاملاً مقابل (زاویه پیچش ۰°، ۱۲۰° و غیره) افزایش یافته و سپس در کونفورماسیون کاملاً متناوب (زاویه پیچش ۶۰°، ۱۸۰° و غیره) کاهش می‌یابد. از آنجایی‌که تفاوتهای انرژی به اندازه کافی کوچک می‌باشد که امکان تبدیل متقابل سریع این دو شکل (میلیون‌ها بار در هر ثانیه) را می‌دهد، اشکال مقابل و متناوب را نمی‌توان به‌طور مجزا جدا نمود.

کونفورماسیون ملکولی با چرخش حول پیوندهای یگانه تغییر می‌یابد

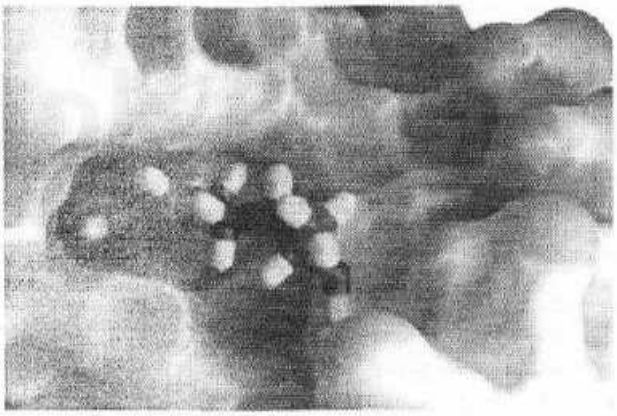
کونفورماسیون ملکولی عبارتست از آرایش فضایی گروه‌های استخلاف‌شده که بدون شکسته‌شدن پیوند می‌توانند بواسطه آزادی چرخش پیوند، موقعیت‌های مختلفی ر در فضا اختیار نمایند. برای مثال، در هیدروکربن ساده‌اتان، تقریباً به‌طور کامل آزادی چرخش حول پیوند C-C وجود دارد. بنابراین، برحسب شدت چرخش، کونفورماسیون‌های متعدد مختلف ملکول اتان ممکن می‌باشد (شکل ۱۱-۳). دو کونفورماسیون اهمیت خاصی دارند: کونفورماسیون متناوب[1] که پایدارتر از سایر انواع بوده و بنابراین شکل غالب است، و کونفورماسیون مقابل[2] که کمترین پایداری را دارد. جداسازی هر کدام از این کونفورماسیون‌ها غیرممکن می‌باشد، زیرا به راحتی به یکدیگر تبدیل می‌شوند. هرچند، در صورتی که یکی یا چند اتم هیدروژن موجود بر روی هر کربن توسط یک گروه عامل بسیار بزرگ یا دارای بار الکتریکی جایگزین گردد، از چرخش آزاد حول پیوند C-C ممانعت می‌شود. این موضوع سبب محدودیت تعداد کونفورماسیون‌های پایدار مشتق از اتان می‌شود.

کونفیگوراسیون و کونفورماسیون ساختمان‌های بیوملکولی را تعیین می‌نمایند

ساختمان سه‌بُعدی بیوملکول‌های بزرگ و کوچک (ترکیبی از کونفیگوراسیون و کونفورماسیون) بیشترین اهمیت را در واکنش‌های بیولوژیک آنها دارد. برای مثال، در هنگام اتصال یک سوبسترا (واکنشگر) به جایگاه کاتالیتیک یک آنزیم، لازم است برای کاتالیز کارآمد، این دو ملکول کاملاً مکمل یکدیگر باشند. این حالت مکمل‌بودن برای اتصال هورمون به گیرنده آن در سطح سلول، یا در شناسایی و اتصال آنتی‌بادی به یک آنتی‌ژن نیز ضروری است (شکل ۱۲-۳).

1. Staggered
2. Eclipsed

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۳. مکمل‌بودن کامل یک ماکروملکول و یک ملکول کوچک. در اینجا قطعه‌ای از RNA متعلق به ناحیه تنظیمی TAR ژنوم HIV و آرژینین‌آمید به‌عنوان یک ریشه از پروتئینی که به این ناحیه متصل می‌گردد، نشان داده شده است. آرژینین‌آمید در پاکتی در سطح این RNA قرار گرفته و با ایجاد واکنش‌های متقابل غیرکووالان با RNA، در این موقعیت نگه داشته می‌شود. این شکل ملکول RNA با برنامه کامپیوتری GRASP© ایجاد شده است که قادر به محاسبه شکل سطح خارجی یک ماکروملکول می‌باشد که یا بوسیله شعاع‌های واندوالس تمام اتم‌های موجود در ملکول و یا بوسیله «حجم محرومیت حلال» تعریف می‌گردد.

مطالعه شیمی فضایی بیوملکول‌ها با روش‌های دقیق نیزیکی، بخش مهمی از تحقیقات امروزی بر روی ساختمان سلول و عملکرد بیوشیمیایی آن را تشکیل می‌دهد. تا به امروز، سودمندترین روش تحقیقات ساختمانی، کریستالوگرافی اشعه-x بوده است. برای ترکیبی که می‌تواند کریستالیزه گردد، انکسار اشعه‌های x توسط کریستال‌ها را می‌توان برای تعیین موقعیت هر اتم موجود در ملکول نسبت به هر اتم دیگر، با دقت بسیار مورد استفاده قرار داد. ساختمان اکثر بیوملکول‌های کوچک (انواع دارای کمتر از ۵۰ اتم) و صدها پروتئین و اسیدهای نوکلئیک کوچک را می‌توان با این وسیله تعیین نمود.

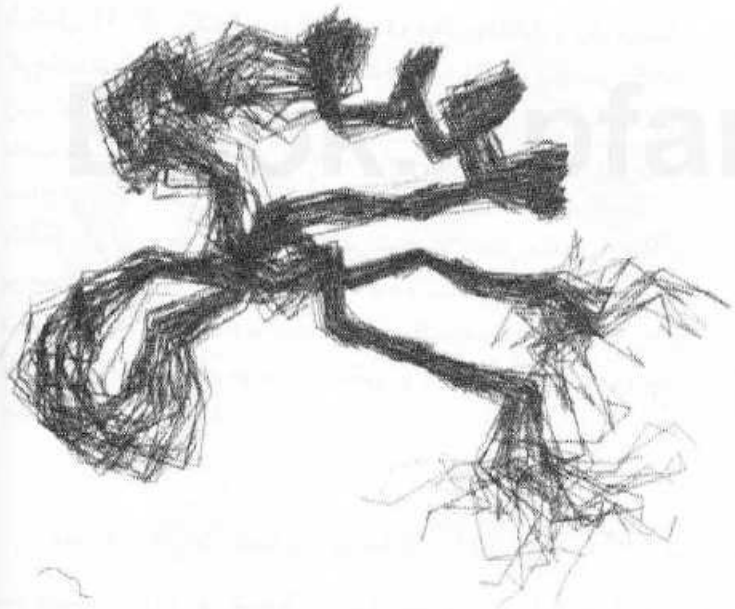
کریستالکوگرافی اشعه-x، تصویر ساکنی از ملکول را بدست می‌دهد که در کریستال وجود دارد. هرچند، بیوملکول‌ها تقریباً هرگز در داخل سلول به‌صورت کریستال وجود ندارند؛ بلکه این ملکول‌ها در داخل سیتوزول محلول بوده و یا همراه با چند جزء دیگر سلولی می‌باشند. ملکول‌ها در حالت محلول دارای آزادی حرکت داخل ملکولی بیشتری نسبت به حالت کریستالی می‌باشند. در یک ملکول بزرگ نظیر پروتئین، تغییرات کوچک در کونفورماسیون‌های زیرواحدهای منومری، سبب انعطاف‌پذیری بالای ملکول می‌گردد؛ یک پروتئین ممکن است دارای کونفورماسیون‌های پایدار متعددی باشد. فن‌آوری‌هایی نظیر اسپکتروسکوپی رزونانس مغناطیسی هسته[1](NMR)، با فراهم‌آوردن اطلاعاتی در مورد ساختمان‌های سه‌بُعدی بیوملکول‌ها در حالت محلول، نظیر انعطاف‌پذیری قطعات پروتئینی که در حالت کریستالی به‌صورت سخت و محکم می‌باشند، کریستالوگرافی اشعه-x را کامل می‌کنند. با پیشرفت در فن‌آوری ایجاد میدان‌های بسیار قوی مغناطیسی، اسپکتروسکوپی NMR به‌طور فزاینده‌ای برای تعیین ساختمان ملکول‌های بزرگتر، از جمله پروتئین‌ها، مورد استفاده قرار می‌گیرد (شکل ۱۳-۳). فن‌آوری‌های کریستالوگرافی اشعه-x و اسپکتروسکوپی NMR در کادر ۳-۶ بیشتر شرح داده شده‌اند.

واکنش‌های متقابل بین ملکول‌ها، دارای ویژگی‌های فضایی هستند

در موجودات زنده، ملکول‌های کایرال معمولاً تنها به یکی از اشکال کایرال خود وجود دارند. برای مثال، اسیدهای آمینه تنها به شکل L در ساختمان پروتئین‌ها وجود دارند. گلوکز، زیرواحد منومری نشاسته، تنها به یک شکل کایرال، یعنی ایزومر D، در سیستم‌های بیولوژیک دیده می‌شود (قراردادهای نامگذاری ایزومرهای فضایی اسیدهای آمینه در فصل ۵ و در مورد قندها در فصل ۹ شرح داده شده‌اند.) برعکس، وقتی ترکیبی با اتم کربن نامتقارن در داخل آزمایشگاه طی واکنش‌های غیربیولوژیک سنتز می‌گردد، تمامی اشکال کایرال ممکن در یک مخلوط

1. Nuclear magnetic resonance

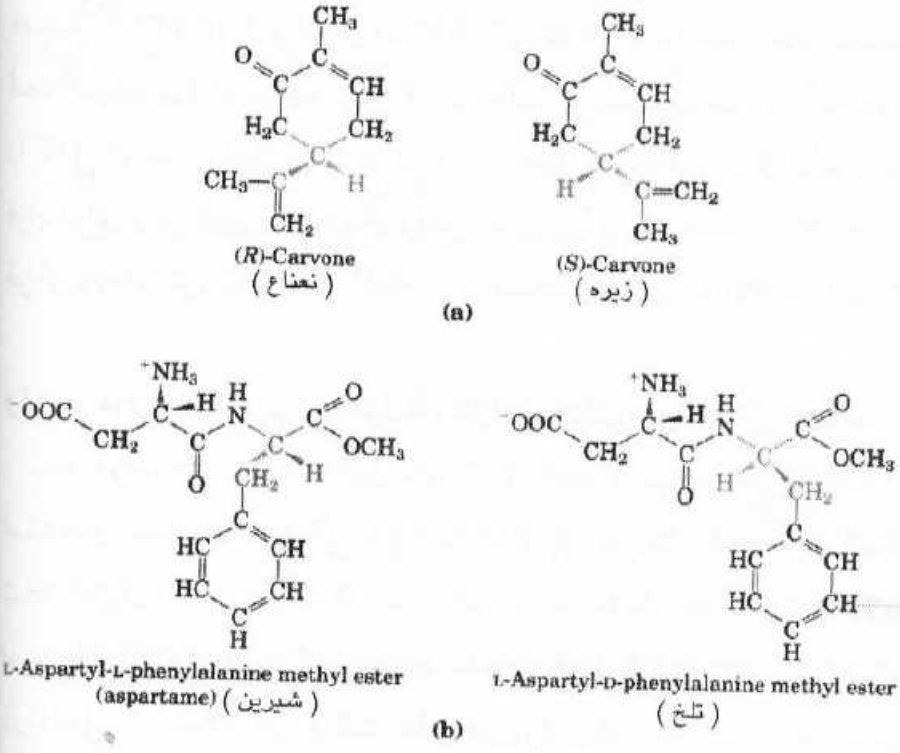
Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۳. ساختمان پروتئین برازئین (brazzein) توسط اسپکتروسکوپی NMR. برازئین جدا شده از میوه *Pentadiplandra* گیاهی در غرب آفریقا، گرم به گرم، ۲،۰۰۰ برابر شیرین‌تر از سوکروز می‌باشد. در این شکل، تنها اسکلت پروتئین نشان داده شده و زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه آن مشخص نشده‌اند. اسپکتروسکوپی NMR نشان داده است که این پروتئین می‌تواند در محلول تا ۴۳ کونفورماسیون بسیار مشابه بخود بگیرد. این نوع تنوع، با کریستالوگرافی اشعه-x که لازمه آن وجود پروتئین با یک کونفورماسیون ثابت کریستالی می‌باشد، دیده نمی‌شود.

به‌طوراکی‌مولار ایجاد گردند که نور پلاریزه را نمی‌چرخانند (مخلوط راسمیک). اشکال کایرال موجود در این چنین مخلوطی را می‌توان تنها با استفاده از روش‌های فیزیکی جدا نمود (همانطور که اشاره گردید، پاستور کریستال‌ها را با پنس جدا نمود). ترکیبات کایرال موجود در سلول‌های زنده تنها به یک شکل کایرال تولید می‌گردند، زیرا آنزیم‌های سنتزکننده آنها نیز ملکول‌های کایرال می‌باشند.

ویژگی فضایی[1]، توانایی تشخیص بین ایزومرهای فضایی، یکی از ویژگی‌های آنزیم‌ها و سایر پروتئین‌ها و یک خصوصیت مشخص منطق ملکولی سلول‌های زنده می‌باشد. وقتی جایگاه اتصال یک پروتئین مکمل یک ایزومر ترکیب کایرال می‌باشد، این جایگاه دیگر مکمل ایزومر دیگر نخواهد بود، به همین دلیل دستکش چپ برای دست راست مناسب نمی‌باشد. دو مثال برجسته توانایی سیستم‌های بیولوژیک در تمایز ایزومرهای فضایی در شکل ۱۴-۳ نشان داده شده است. گیرنده‌های حسی اختصاصی (برای بویایی و چشایی) براحتی اعضاء هر جفت دیاسترومرها را تشخیص می‌دهند.



شکل ۱۴-۳. ایزومرهای فضایی که توسط حس‌های چشایی و بویایی در انسان قابل تشخیص می‌باشند. **(a)** دو ایزومر فضایی از کاروون: (*R*)-کاروون (جدا شده از روغن نعناع) دارای بوی خوش نعناع می‌باشد؛ (*S*)-کاروون (از روغن زیره سیاه) که دارای بوی مشابه زیره می‌باشد. **(b)** آسپارتام، شیرین‌کننده مصنوعی با نام تجارتی NutraSweet، بسادگی از ایزومر فضایی تلخ آن توسط گیرنده‌های چشایی تشخیص داده می‌شود، در حالی که این دو تنها از نظر کونفیگوراسیون حول دو اتم کربن با یکدیگر متفاوت هستند.

1. Stereospecifity

انجام واکنش‌های شیمیایی

مکانیسم واکنش‌های بیوشیمیایی اساس متفاوتی نسبت به سایر واکنش‌های شیمیایی ندارد. این واکنش‌ها را می‌توان براساس ماهیت گروه‌های عامل مواد واکنشگر درک و پیش‌بینی نمود. گروه‌های عامل سبب تغییر الکترونی و هندسه اتم‌های مجاور شده و بنابراین بر روی تمایل کل ملکول در شرکت در واکنش‌های شیمیایی مؤثر می‌باشند. هرچند در یک سلول شاخص، واکنش‌های شیمیایی مختلف زیادی صورت می‌پذیرد، این واکنش‌ها تنها شامل چند نوع عمومی می‌باشند. ابتدا مروری کوتاه بر روی واقعیتهای پایه واکنش‌ها و ایجاد پیوندهای شیمیایی نموده و سپس پنج نوع معمول واکنش‌ها در بیوشیمی را به‌طور خلاصه بیان می‌کنیم. آنگاه جزئیات بیشتری از انواع واکنش‌های اختصاصی را مورد بررسی قرار می‌دهیم.

قدرت پیوند به ویژگی‌های اتم‌های اتصال‌یافته ارتباط دارد

در واکنش‌های شیمیایی، پیوندها شکسته شده و انواع جدید ایجاد می‌گردند. قدرت یک پیوند شیمیایی بستگی به الکترونگاتیویتی نسبی (تمایل نسبی به الکترون) عنصر شرکت کننده در ایجاد پیوند (جدول ۲-۳)، فاصله الکترون‌های اتصال‌یابنده از هر هسته و همچنین بار هسته‌ای هر اتم دارد. تعداد الکترون‌های به اشتراک گذاشته‌شده نیز بر روی قدرت پیوند مؤثر می‌باشد؛ پیوندهای دوگانه قویتر از پیوندهای یگانه و پیوندهای سه‌گانه از این دو قویتر هستند (جدول ۳-۳). قدرت پیوند به‌صورت انرژی و برحسب ژول بیان می‌گردد. (اغلب بیوشیمیدان‌ها از کالری به‌عنوان واحد انرژی استفاده می‌نمایند؛ برای مثال، انرژی پیوند و انرژی آزاد اغلب برحسب kcal/mol بیان می‌شود. ژول واحد انرژی در سیستم بین‌المللی واحدها بوده و جایگزین اکثر موارد بیوشیمیایی شده است؛ در طول این کتاب از ژول استفاده می‌گردد. ۱ cal برابر ۴/۱۸۴J می‌باشد.) انرژی پیوند را می‌توان میزان انرژی مورد نیاز برای شکستن یک پیوند یا میزان انرژی آزادشده در هنگام تشکیل پیوند در نظر گرفت. یکی از راههای دادن انرژی به سیستم، حرارت دادن آن می‌باشد که باعث افزایش انرژی کینتیک ملکول‌ها شده و بدین‌ترتیب کسری از ملکول‌ها که انرژی کینتیک کافی برای واکنش را دارند، افزایش می‌یابد. وقتی حرکت ملکولی به اندازه کافی شدید باشد، گاهی نوسانات داخل‌ملکولی و تصادمهای بین‌ملکولی پیوندهای شیمیایی را شکسته و امکان تشکیل انواع جدید را فراهم می‌سازد.

وقتی در یک واکنش شیمیایی پیوندها شکسته و یا تشکیل می‌شوند، تفاوت بین انرژی کسب‌شده از محیط برای شکستن پیوند و انرژی رهاشده به محیط در هنگام تشکیل پیوندهای جدید را می‌توان با **تغییر انتالپی یا ΔH** واکنش برآورد نمود. وقتی انرژی گرمایی توسط سیستم جذب گردد (یعنی وقتی که واکنش گرماگیر می‌باشد)، آنگاه طبق تعریف، H یک میزان مثبت می‌باشد؛ ولی وقتی انرژی داده می‌شود، واکنش گرمازا بوده و H منفی خواهد بود. به‌طور خلاصه، تغییر در انتالپی برای یک واکنش شیمیایی، نوع و تعداد پیوندهای ایجادشده و شکسته‌شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که بعداً در این فصل خواهیم دید، این تغییر انتالپی یکی از سه عامل تعیین‌کننده تغییر انرژی آزاد برای یک واکنش می‌باشد؛ دو عامل دیگر شامل درجه حرارت و تغییر آنتروپی می‌باشند.

پنج نوع تغییر شیمیایی عمومی در سلول‌ها رخ می‌دهد

اکثر سلول‌ها دارای ظرفیت انجام هزاران واکنش اختصاصی آنزیمی هستند: برای مثال، تغییر یک ماده غذایی ساده نظیر گلوکز به اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها یا لیپیدها؛ استخراج انرژی از مواد سوختی بوسیله اکسیداسیون؛ یا

Book.Apfarsi.ir

جدول ۲-۳. الکترونگاتیویتی تعدادی از عناصر

عنصر	الکترنگاتیویتی*
F	۴/۰
O	۳/۵
Cl	۳/۰
N	۳/۰
Br	۲/۸
S	۲/۵
C	۲/۵
I	۲/۵
Se	۲/۴
P	۲/۱
H	۲/۱
Cu	۱/۹
Fe	۱/۸
Co	۱/۸
Ni	۱/۸
Mo	۱/۸
Zn	۱/۶
Mn	۱/۵
Mg	۱/۲
Ca	۱/۰
Li	۱/۰
Na	۰/۹
K	۰/۸

* هرچه عدد بزرگتر باشد، عنصر الکترونگانیوتر خواهد بود (تمایل بیشتری به الکترون خواهد داشت).

جدول ۳-۳. قدرت پیوندهای معمول موجود در بیوملکول‌ها

نوع پیوند	انرژی* شکستن پیوند (kJ/mol)	نوع پیوند	انرژی* شکستن پیوند (kJ/mol)
پیوندهای یگانه		**پیوندهای دوگانه**	
O - H	۴۶۱	C = O	۷۱۲
H - H	۴۳۵	C = N	۶۱۵
P - O	۴۱۹	C = C	۶۱۱
C - H	۴۱۴	P = O	۵۰۲
N - H	۳۸۹		
C - O	۳۵۲	**پیوندهای سه‌گانه**	
C - C	۳۴۸	C ≡ C	۸۱۶
S - H	۳۳۹	N ≡ N	۹۳۰
C - N	۲۹۳		
C - S	۲۶۰		
N - O	۲۲۲		
S - S	۲۱۴		

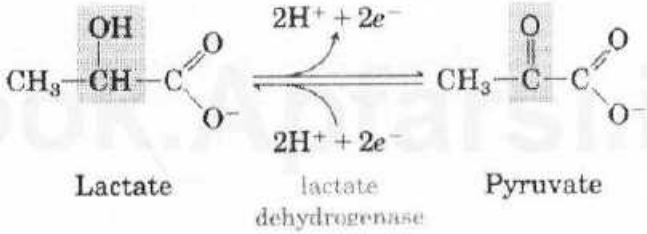
* هرچه انرژی مورد نیاز برای شکستن پیوند بیشتر باشد، پیوند قویتر خواهد بود.

پلیمریزاسیون زیرواحدهای منومریک به ماکروملکول‌ها. خوشبختانه، در این انواع متعدد واکنش‌ها، الگوهایی وجود دارد؛ برای درک منطق ملکولی حیات، ضرورتی برای یادگیری تمامی این واکنش‌ها وجود ندارد. اکثر واکنش‌هایی که در داخل سلول‌های زنده انجام می‌شوند را می‌توان در پنج دسته کلی قرار داد: (۱) واکنش‌های اکسیداسیون - احیاء، (۲) شکستن و ایجاد پیوندهای کربن-کربن، (۳) نوآرایی‌های داخلی، (۴) انتقال گروه‌ها، و (۵) واکنش‌های کندانساسیون که طی آنها زیرواحدهای منومریک، با حذف یک ملکول آب، به یکدیگر متصل می‌گردند. واکنش‌هایی که در هر کدام از این دسته‌های عمومی قرار دارند، عموماً با مکانیسمهای مشابهی به انجام می‌رسند.

تمامی واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء مستلزم انتقال الکترون هستند

وقتی دو اتم دارای الکترون‌های مشترک در یک پیوند کووالان، الکترونگاتیوینی مشابهی دارند، همانند دو اتم کربن، پیوند غیرقطبی است. ولی وقتی این دو عنصر دارای الکترونگاتیویتی متفاوت هستند، ایجاد یک پیوند کووالان می‌نمایند (مثل، C و O) که پیوند قطبی بوده و الکترون‌های به اشتراک گذاشته شده بیشتر تمایل دارند که در ناحیه اتم الکترونگاتیوتر (در این حالت O)، نسبت به ناحیه اتم کمتر الکترونگاتیو (در این حالت کربن؛ جدول ۲-۳ را ببینید) قرار گیرند. در حد نهایی که دو عنصر با الکترونگانیویتی بسیار مختلف وجود دارند، نظیر Na و Cl، یک اتم الکترون(ها) خود را به اتم دیگر داده و منجر به تشکیل یونها و واکنش‌های متقابل یونی، نظیر انواع موجود در NaCl جامد، می‌گردد.

Book Anfarsi.ir



شکل ۱۶-۳. یک واکنش اکسیداسیون-احیاء. در اینجا اکسیداسیون لاکتات به پیروات نشان داده شده است. در این دهیدروژناسیون، دو الکترون و دو یون هیدروژن (معادل دو اتم هیدروژن) از کربن ۲ لاکتات، برداشت می‌گردد. این واکنش در سلول‌ها توسط لاکتات دهیدروژناز کاتالیز شده و الکترون‌ها به کوفکتوری بنام نیکوتینامید آدنین دی‌نوکلئوتید انتقال داده می‌شوند. این واکنش کاملاً قابل‌برگشت بوده و پیروات می‌تواند با اخذ الکترون‌ها از کوفکتور، احیاء گردد. عواملی که جهت واکنش را تعیین می‌نمایند، در فصل ۱۴ مورد بررسی قرار خواهند گرفت.

$-CH_2-CH_3$	Alkane
$-CH_2-CH_2OH$	Alcohol
$-CH_2-C(=O)H$	Aldehyde
$-CH_2-C(=O)OH$	Carboxylic acid
$O=C=O$	Carbon dioxide

شکل ۱۵-۳. حالات اکسیداسیون کربن در بیوملکول‌ها. هر ترکیب در اثر اکسیداسیون کربن در فهرست ترکیبات بالا ایجاد می‌گردد. دی‌اکسید کربن، اکسیده‌ترین شکل کربن می‌باشد که در سیستم‌های زنده یافت می‌گردد.

در پیوندهای کربن-هیدروژن، C الکترونگاتیوتر بوده و دو الکترون به اشتراک‌گذاشته با H را *مال‌خود* نموده، ولی در پیوندهای کربن-اکسیژن، اشتراک الکترون نابرابر و به سمت اکسیژن می‌باشد. بنابراین، از سمت CH_3- (یک آلکان) تا CH_2OH- (یک الکل)، اتم کربن به‌طورمشخصی الکترون‌ها را از دست می‌دهد که طبق تعریف اکسیداسیون گویند. همانطور که در شکل ۱۵-۳ نشان داده شده است، اتم‌های کربنی که در بیوشیمی با آنها مواجه می‌شویم، برحسب عناصری که کربن با آنها الکترون به اشتراک می‌گذارد،می‌توانند در پنج حالت دیده شوند.

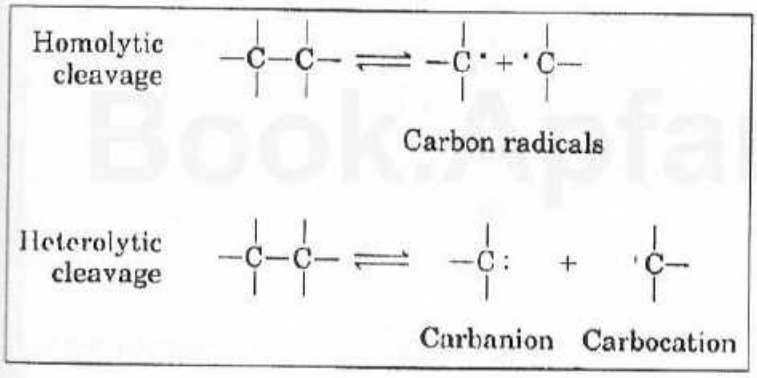
در بسیاری از واکنش‌های بیولوژیک، ممکن است یک ترکیب دو الکترون و دو یون هیدروژن (یعنی، دو اتم هیدروژن) از دست بدهد؛ این واکنش‌ها را عموماً **دهیدروژناسیون** گویند و آنزیم‌های کاتالیزکننده آنها را **دهیدروژناز** نامند (شکل ۱۶-۳). در بعضی موارد، ولی نه همیشه، طی اکسیداسیونهای بیولوژیک، یک اتم کربن به‌طورکووالان به یک اتم اکسیژن اتصال می‌یابد. آنزیم‌های کاتالیزکننده این اکسیداسیونها را عموماً **اکسیدازها**گویند و درصورتیکه اتم اکسیژن مستقیماً از اتم اکسیژن (O_2) مشتق گردد به آنها **اکسیژناز** اتلاق می‌شود.

هر اکسیداسیون می‌بایست همراه با یک احیاء باشد که در آن یک گیرنده الکترونی، الکترون‌های برداشت‌شده طی اکسیداسیون را دریافت می‌نماید. به‌طورکلی، واکنش‌های اکسیداسیون همراه با رهاسازی انرژی هستند (به آتش اردوگاه‌ها فکر کنید که در آنها ترکیبات مختلف موجود در چوب توسط ملکول‌های اکسیژن موجود در هوا اکسیده می‌گردند). اکثر سلول‌های زنده انرژی مورد نیاز خود جهت اعمال سلولی را از اکسیداسیون مواد سوختی نظیر کربوهیدرات یا چربی بدست می‌آورند؛ موجودات فتوسنتتیک نیز می‌توانند انرژی نور خورشید را بدام انداخته و مورد استفاده قرار دهند. مسیرهای کاتابولیک (تولیدکننده انرژی) شرح‌داده‌شده در فصول ۱۵ تا ۱۹، توالی‌های واکنش اکسیداتیوی هستند که منجر به انتقال الکترون‌ها از ملکول‌های سوختی و از طریق یک سری حاملین الکترونی، نهایتاً به اکسیژن می‌شوند. تمایل بالای O_2 برای الکترون‌ها، سبب شده تا کل فرایند انتقال الکترون شدیداً گرمازا شده و انرژی لازم برای سنتز ATP، هدف اصلی کاتابولیسم می‌باشد.

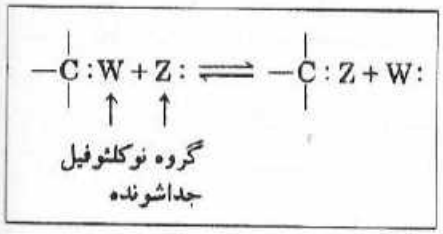
پیوندهای کربن-کربن طی واکنش‌های استخلاف نوکلئوفیلی شکسته و ساخته می‌شوند

یک پیوند کووالان ممکن است به دو طریق کلی شکسته شود (شکل ۱۷-۳). در شکست **همولیتیک**، هر اتم

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۷-۳. مکانیسم‌های شکست یک پیوند C-C. در شکستهای همولیتیک، هر اتم کربن یکی از الکترون‌های پیوندی را حفظ نموده و دو کربن رادیکال (یعنی، کربن دارای الکترون جفت‌نشده) ایجاد می‌گردد. در شکستهای هترولیتیک، یکی از دو کربن با حفظ هر دو الکترون پیوندی، تبدیل به یک کربانیون شده و کربن دیگر به کربوکاتیون تبدیل می‌شود.



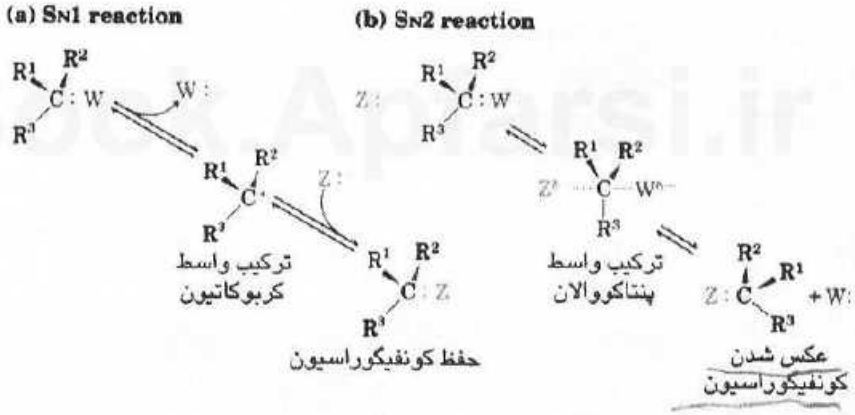
شکل ۱۸-۳. یک واکنش استخلافی نوکلئوفیلی. یک نوکلئوفیل غنی از الکترون (Z) به یک مرکز دچار کمبود الکترون (برای مثال، یک اتم کربن) حمله نموده و جایگزین یک گروه نوکلئوفیل (W) می‌گردد که گروه جداشونده نامیده می‌شود.

به‌صورت یک رادیکال جدا شده و یکی از دو الکترونی (حال الکترون‌های جفت‌نشده) را حمل می‌کند که بین این دو اتم به اشتراک گذاشته شده و آنها را در کنار یکدیگر قرار داده بود. واکنش‌های همولیتیک در موجودات زنده به ندرت انجام می‌شوند (ولی برای مثال به شکل ۳۹-۲۲ مراجعه کنید). شکست‌های معمول‌تر **هترولیتیک** که در آنها یک اتم هر دو الکترون‌های پیوندی را حفظ نموده (با ایجاد آنیون) و اتم دیگر را با یک الکترون کمتر (یک کاتیون) باقی می‌گذارد. وقتی گروه غنی از الکترون دیگری، جایگزین این آنیون می‌شود، **استخلاف نوکلئوفیلی** رخ می‌دهد (شکل ۱۸-۳). بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی مستلزم واکنش‌های متقابل بین **نوکلئوفیلها**، گروه‌های عامل غنی از الکترون و قادر به ازدست‌دادن آنها، و **الکتروفیل‌ها**، گروه‌های عامل دچار کمبود الکترون که الکترون‌ها را می‌کشند، صورت می‌پذیرد. نوکلئوفیل‌ها با الکتروفیل‌ها ترکیب شده و به آنها الکترون می‌دهند. گروه‌های عامل حاوی اکسیژن، نیتروژن، و سولفور، نوکلئوفیل‌های مهم بیولوژیک هستند (جدول ۴-۳). اتم‌های هیدروژن دارای بار مثبت (یونهای هیدروژن یا پروتون‌ها) و فلزات دارای بار مثبت (کاتیون‌ها)، اغلب به‌عنوان الکتروفیل در سلول عمل می‌نمایند. برحسب گروه‌های عامل اطراف یا متصل به آن، یک اتم کربن می‌تواند به‌عنوان یک نوکلئوفیل یا الکتروفیل عمل نماید.

جدول ۴-۳. بعضی گروههای عاملی که بعنوان نوکلئوفیل در داخل سلول عمل می‌نمایند

Water	HOH
Hydroxide ion	$HO:^-$
Hydroxyl (alcohol)	ROH
Alkoxyl	$RO:^-$
Sulfhydryl	RSH
Sulfide	RS^-
Amino	RNH_2
Carboxylate	$R-C(=O)-O^-$
Imidazole	
Inorganic orthophosphate	$-O-P(=O)(-O^-)-OH$

ترتیب براساس کاهش قدرت. نوکلئوفیل‌های ضعیف‌تر، گروههای جدا شونده بهتری ایجاد می‌نمایند.



شکل ۱۹-۳. دو کلاس واکنش‌های استخلاف نوکلئوفیلی. (a) SN1: گروه جداشوند (W) همراه با یک الکترون پیوندی جدا شده و یک کربوکاتیون را قبل از حمله یک نوکلئوفیل (Z) باقی می‌گذارد. **(b) SN2:** نوکلئوفیل حمله‌کننده (Z) به یک سمت کربن الکتروفیل نزدیک شده، درحالیکه گروه جداشوند (W) در سمت دیگر باقی مانده است، در نتیجه یک، ترکیب واسط زودگذر پنتاکووالان ایجاد می‌شود. با جداشدن W، ترکیب استخلاف‌شده، با یک کونفیگوراسیون کاملاً معکوس در محل اتم کربن واکنش‌کننده، باقی می‌ماند.

دو مکانیسم عمومی برای جایگزینی یک نوکلئوفیل بجای نوکلئوفیل دیگر و ایجاد یک پیوند کربن-کربن وجود دارد. در اولین مکانیسم (شکل a ۱۹-۳)، گروه جداشونده (نوکلئوفیل W؛ شکل ۱۸-۳ را ببینید)، با الکترون‌های خود جدا شده و قبل از ورود گروه جایگزین به صحنه (Z، یک نوکلئوفیل)، جزء دیگر را به‌صورت یک کربوکاتیون (کربن دارای بار مثبت، یک الکتروفیل) نسبتاً ناپایدار باقی می‌گذارد. این مکانیسم را **واکنش SN1** گویند (SN1 استخلاف نوکلئوفیلی تک‌ملکولی را نشان می‌دهد). در نوع دیگر استخلاف نوکلئوفیلی، قبل از خروج گروه جداشونده (W)، حمله نوکلئوفیلی (Z) صورت گرفته و یک ترکیب واسط پنج ظرفیتی موقتی ایجاد می‌گردد (شکل b ۱۹-۳). این یک **واکنش SN2** (استخلاف نوکلئوفیلی دوملکولی) می‌باشد. همانطور که از شکل ۱۹-۳ می‌توان دریافت، واکنش‌های SN2 به‌طورشاخص در هنگام جدایی گروه ترک‌کننده، منجر به معکوس‌شدن کونفیگوراسیون حول کربنی می‌شوند که مورد حمله قرارگرفته است، درحالیکه واکنش‌های SN1 معمولاً همراه با حفظ کونفیگوراسیون ابتدایی و یا راسمیزاسیون می‌باشد. به‌طورکلی، نوکلئوفیلهای ضعیف‌تر، بهترین گروه‌های جداشونده بوده و قویترین نوکلئوفیلها، بهترین ملکول‌های حمله‌کننده هستند.

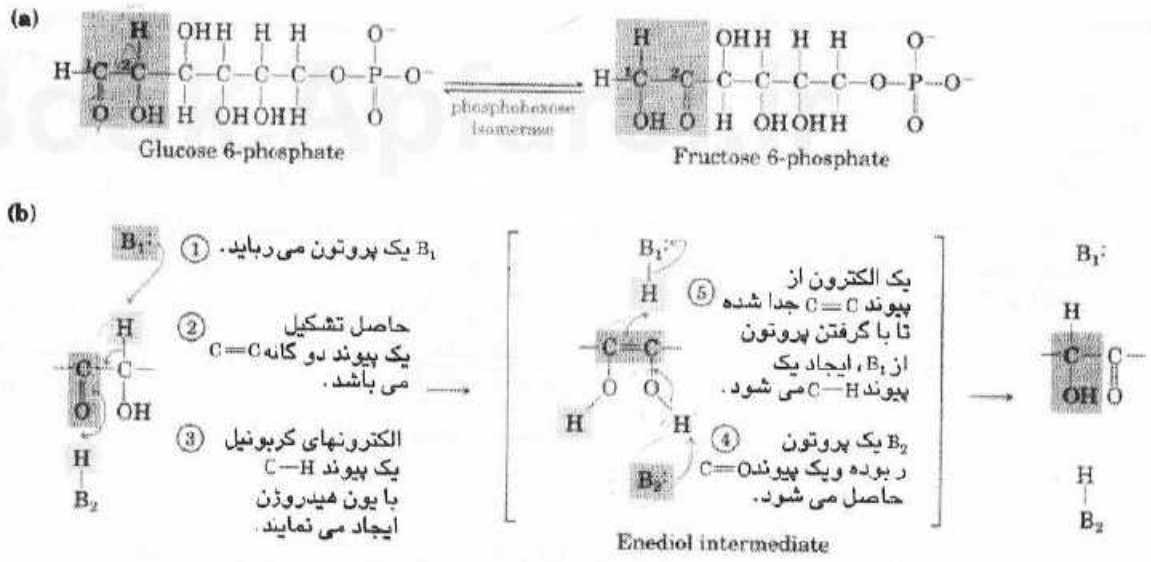
کندانساسیون آلدول که توسط آلدولاز کاتالیز می‌گردد (شکل ۴-۱۵ را ببینید)، مثالی از استخلاف نوکلئوفیلی است که برای ایجاد پیوندهای کربن-کربن در داخل سلول‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این واکنش‌ها قابل‌برگشت هستند؛ آلدولاز می‌تواند دو جزء سه کربنی را با یکدیگر ترکیب نموده و ایجاد یک قند شش کربنه نماید و یا اینکه این قند شش کربنه را به دو بخش سه کربنه بشکند.

انتقالهای الکترونی در داخل یک ملکول سبب نوآرایی‌های داخلی می‌شود

نوع معمول دیگر واکنش سلولی، نوآرایی داخل‌ملکولی می‌باشد که در آن توزیع مجدد الکترونی سبب ایزومریزاسیون، جابجایی پیوند دوگانه و نوآرایی‌های سیس-ترانس پیوندهای دوگانه می‌گردد. مثالی از ایزومریزاسیون، تشکیل فروکتوز ۶-فسفات از گلوکز ۶-فسفات در طی متابولیسم قند می‌باشد (فصل ۱۵). در این واکنش (شکل a ۲۰-۳)، کربن ۱ احیاء (از آلدئید به الکل) و کربن ۲ اکسیده (از الکل به کتون) می‌گردد. در شکل b ۲۰-۳، که جزئیات این انتقالات الکترونی در جهت ایزومریزاسیون را نشان می‌دهد، از اشکال «فشردن-الکترونی[1]» استفاده شده است که برای نمایش مکانیسم واکنش‌ها در سراسر این کتاب بکار می‌رود.

1. Electron-pushing

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۳. یک واکنش ایزومریزاسیون. (a) تبدیل گلوکز ۶-فسفات به فروکتوز ۶-فسفات، واکنشی در متابولیسم قندها که توسط فسفوهگزوز ایزومراز کاتالیز می‌گردد. (b) این واکنش از طریق ایجاد یک ترکیب واسط اندیول به انجام می‌رسد. پیکان‌ها حرکت الکترون‌های پیوندی را از نوکلئوفیل به الکتروفیل نشان می‌دهد. B_1 و B_2 گروه‌های بازی موجود در آنزیم بوده که قادر به دادن و گرفتن یونهای هیدروژن (پروتون‌ها) در هنگام انجام واکنش می‌باشند.

پیکان‌های خمیده، حرکت الکترون‌ها را با پیشرفت واکنش نشان می‌دهد.

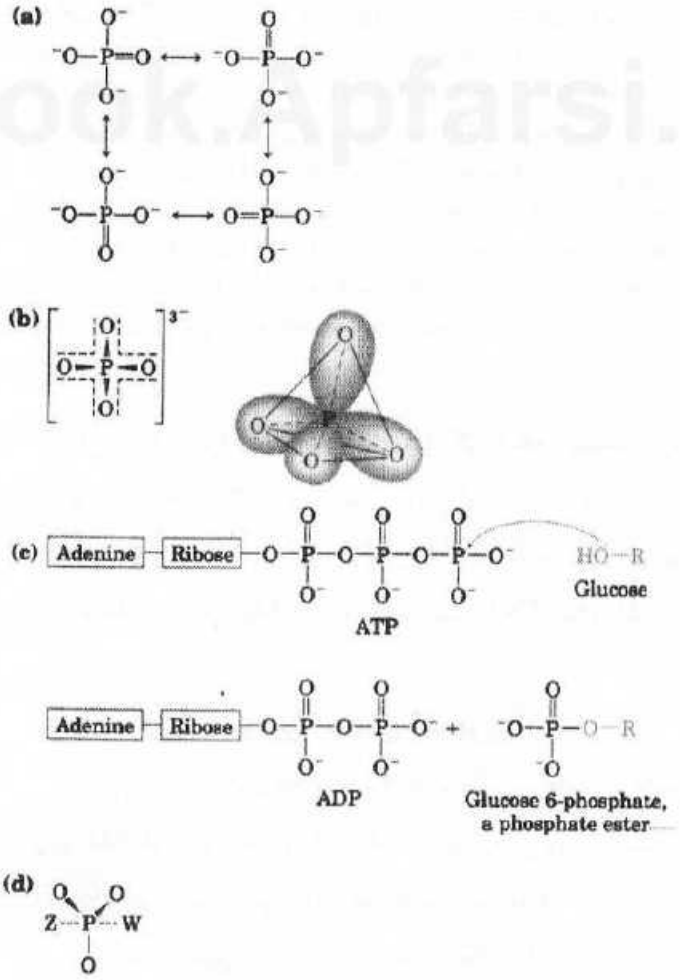
در هنگام متابولیسم اسید چرب معمولی اسید اولئیک (شکل ۹-۱۷ را ببینید)، یک جابجایی ساده در یک پیوند C=C رخ داده و مثالهای تماشایی جابجایی پیوند دو گانه را در سنتز کلسترول می‌بینیم (شکل ۳۵-۲۱ را ببینید).

واکنش‌های انتقال گروه، ترکیبات واسط متابولیک را فعال می‌نمایند

طرح کلی در متابولیسم، اتصال یک گروه جداشونده مناسب به یک ترکیب واسط متابولیک برای «فعال‌نمودن» آن جهت شرکت در واکنش بعدی می‌باشد. از جمله گروه‌های ترک‌کننده مناسب‌تر در طی واکنش‌های استخلافی نوکلئوفیلی (جدول ۴-۳)، اورتوفسفات معدنی (شکل یونیزه H_3PO_4 در pH خنثی، مخلوطی از $H_2PO_4^-$ و HPO_4^{2-} که با Pi نشان داده می‌شود) و پیروفسفات معدنی ($P_2O_7^{6-}$، با مخفف PPi) می‌باشند. استرها و انیدریدهای فسفات نقش‌های مهمی را در شیمی سلولی ایفاء می‌نمایند. استخلاف‌های نوکلئوفیلی که در آنها گروه فسفریل ($-PO_3^{2-}$) به‌عنوان گروه ترک‌کننده عمل می‌نماید، در صدها واکنش متابولیکی مشاهده می‌گردد؛ استخلاف نوکلئوفیلی با اتصال یک گروه فسفریل به یک گروه ترک‌کننده ضعیف، نظیر OH-، مساعدتر می‌گردد.

فسفر می‌تواند پنج پیوند کووالان داشته باشد. نمایش قراردادی Pi (شکل ۲۱a-۳) با سه پیوند P-O و یک پیوند P=O، سیمای صحیحی نمی‌باشد. در Pi، چهار پیوند کووالان P-O، تا حدودی دارای ویژگی پیوند دوگانه بوده و این آنیون دارای یک ساختمان چهار وجهی است (شکل ۲۱ b-۳). از آنجایی که اکسیژن نسبت به فسفر، الکترونگاتیوتر می‌باشد، اشتراک الکترونی نابرابر است. فسفر مرکزی دارای بار مثبت بوده و بنابراین می‌تواند به‌عنوان یک الکتروفیل عمل کند. در تعداد بسیار زیادی از واکنش‌های متابولیک، یک گروه فسفریل ($-PO_3^{2-}$) از ATP به یک الکل (ایجاد یک استر فسفات) (شکل ۲۱ c-۳) یا به یک اسید کربوکسیلیک (ایجاد یک انیدرید مخلوط؛ شکل ۵-۳ را ببینید) منتقل می‌گردد. وقتی یک نوکلئوفیل به فسفات الکتروفیل موجود در ATP حمله می‌نماید، یک ساختمان پنج ظرفیتی نسبتاً پایدار به‌عنوان ترکیب واسط ایجاد می‌شود (شکل ۲۱d-۳). با

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۱-۳. روش‌های مختلف نمایش ساختمان اورتوفسفات معدنی. **(a)** در یک نمایش (نامناسب) سه اتم اکسیژن با پیوند یگانه و اتم چهارم با پیوند دوگانه به فسفر اتصال یافته‌اند و امکان ایجاد چهار ساختمان رزونانس نشان داده شده را فراهم می‌سازند. **(b)** چهار رزونانس ساختمانی را می‌توان با نمایش هر چهار پیوند P-O با بعضی ویژگی‌های پیوند دوگانه نشان داد؛ اوربیتالهای هیبرید نشان داده شده، دارای آرایش چهاروجهی با اتم P در مرکز می‌باشند. **(c)** وقتی یک نوکلئوفیل Z (در این حالت، OH- موجود در روی کربن ۶ گلوکز) به ATP حمله می‌نماید، جایگزین ADP (W) می‌شود. در این واکنش SN2، یک ترکیب واسط پنتاکووالان **(d)** به‌طورگذرا ایجاد می‌گردد.

جداشدن گروه ترک‌کننده (ADP)، انتقال یک گروه فسفریل تکمیل می‌گردد. خانواده بزرگ آنزیم‌های کاتالیزکننده انتقال گروه فسفریل از ATP به‌عنوان دهنده را کیناز (کلمه یونانی *kinein* به معنی «حرکت‌کردن») می‌نامند. برای مثال، هگزوکیناز گروه فسفریل را از ATP به گلوکز انتقال می‌دهد.

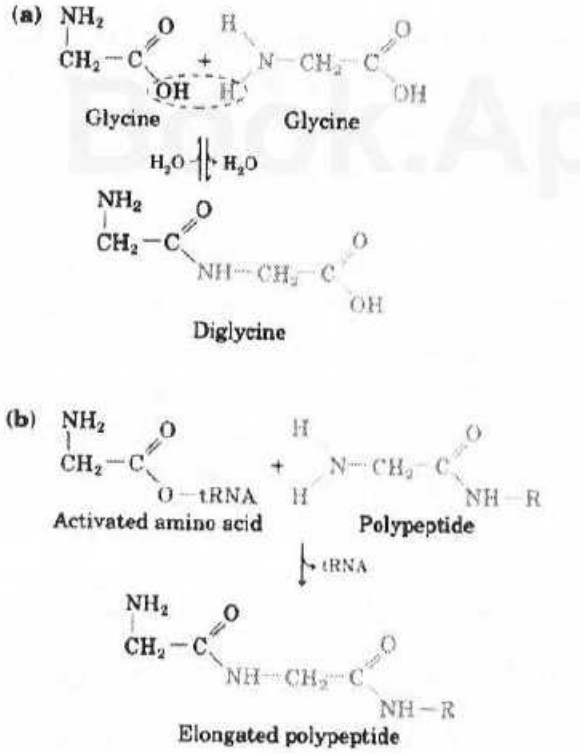
گروه‌های فسفریل تنها فعال‌کننده‌های این نوع نمی‌باشند. تیوالکل‌ها (تیول‌ها) که در آنها اتم اکسیژن یک الکل با یک اتم سولفور جایگزین شده است، نیز گروه‌های ترک‌کننده خوبی هستند. تیول‌ها با ایجاد تیواسترها (استرهای تیولی) با اسیدهای کربوکسیلیک، آنها را فعال می‌نمایند (شکل ۵-۳). ما به مواردی، نظیر واکنش‌های کاتالیزشده توسط آسیل چرب ترانسفرازها (شکل ۲-۲۱)، برخورد خواهیم نمود که در آنها استخلاف‌های نوکلئوفیلی در کربن کربونیل یک تیواستر منجر به انتقال گروه آسیل به قسمت دیگری می‌شود.

بیوپلیمرها طی کندانساسیون ایجاد می‌گردند

واحدهای منومری که پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پلی‌ساکاریدها را می‌سازند، طی واکنش‌های استخلافی نوکلئوفیلی ایجاد می‌گردند که همراه با جایگزینی یک گروه مناسب می‌باشند. برای مثال، اتصال دو ملکول اسید آمینه در ایجاد یک دی‌پپتید می‌تواند با مکانیسم ساده شکل ۲۲a-۳ به انجام برسد. هرچند، OH- یک گروه ترک‌کننده ضعیف است و واکنش با این مکانیسم کارآمد نمی‌باشد. سلول‌ها این مشکل را با اتصال یک گروه ترک‌کننده بهتر، یک ملکول کوچک RNA (RNA ناقل با طول حدود ۷۵ نوکلئوتید)، با اتصال استری به گروه α-کربوکسیل اسید آمینه حل می‌نمایند. این اتصال سبب فعال‌شدن گروه کربوکسیل برای کندانساسیون با گروه α-آمینو اسید آمینه دیگر می‌گردد (شکل ۲۲b-۳). استراتژی‌های مشابهی در بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک و پلی‌ساکاریدها مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ماکروملکول‌ها در واکنش‌های هیدرولیزی تجزیه می‌گردند که طی آنها H_2O نوکلئوفیل حمله‌کننده بوده و

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۲-۳. کندانساسیون و هیدرولیز. در اینجا تشکیل و هیدرولیز یک پیوند پپتیدی نشان داده شده است. **(a)** با برداشت عناصر یک ملکول آب از دو اسید آمینه گلیسین، یک پیوند پپتیدی ایجاد می‌شود؛ ولی ازآنجایی‌که OH- یک گروه جداشونده مناسب نمی‌باشد، این واکنش نامساعد است. **(b)** در داخل سلول‌ها، با افزودن یک گروه جداشونده بهتر از OH-، یعنی یک RNA کوتاه (RNAانتقالی یا tRNR) که با گروه α-کربوکسیل ایجاد یک استر اکسیژنی می‌نماید، اسید آمینه قبل از پلیمریزاسیون فعال می‌گردد. **(c)** هیدرولیز یک پیوند پپتیدی (در یک پلی‌پپتید نشان داده شده است) لزوماً عکس واکنش **(a)** می‌باشد: H_2O یک حمله نوکلئوفیلی به کربن کربونیل نموده و جایگزین نیتروژن گروه α-آمینو می‌شود.

جایگزین یک زیرواحد منومری یا یک قطعه پلیمری کوچکتر می‌گردد (شکل ۲۲c-۳). آنزیم‌هایی که هیدرولیز بیوپلیمرها را کاتالیز می‌کنند (هیدرولازها) برای فرایند هضم ضروری برده و در تنظیم مقدار ماکروملکول‌های مهم نظیر RNA پیک نقش دارند.

ماکروملکول‌ها و زیرواحدهای منومری آنها

بسیاری از ملکول‌های بیولوژیک، ماکروملکول یا پلیمرهایی با وزن ملکولی بالا حاصل از اتصال پیش‌سازهای نسبتاً ساده به یکدیگر می‌باشند. پلی‌ساکاریدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در اثر پلیمریزاسیون ترکیبات نسبتاً کوچک دارای وزن‌های ملکولی ۵۰۰ یا کمتر، ایجاد می‌گردند. تعداد کل واحدهای پلیمریزه‌شده می‌تواند از دهها تا میلیونها واحد متفاوت باشد. سنتز ماکروملکول‌ها یکی از فعالیتهای اصلی مصرف‌کننده انرژی سلول می‌باشد. ماکروملکول‌ها خود ممکن است در کمپلکس‌های سوپراملکولی همایش بیشتری یافته و واحدهای وظیفه‌داری نظیر ریبوزوم‌ها را ایجاد نمایند که از حدود ۷۰ پروتئین مختلف و چندین ملکول RNA ساخته شده‌اند.

ماکروملکول‌ها اجزاء اصلی تشکیل‌دهنده سلول‌ها می‌باشند

جدول ۵-۳ کلاس‌های اصلی بیوملکول‌ها را در باکتری *Escherichia coli* نشان می‌دهد. آب فراوانترین ترکیب در *E. coli* و در واقع تمامی سلول‌ها و موجودات دیگر می‌باشد. تقریباً تمامی مواد جامد موجود در سلول‌ها آلی بوده و به چهار شکل، شامل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پلی‌ساکاریدها و لیپیدها، وجود دارند. املاح غیرآلی و عناصر معدنی، کسر بسیار کوچکی از کل وزن خشک، را تشکیل می‌دهند.

جدول ۵-۳. اجزاء ملکولی یک سلول *E. coli*

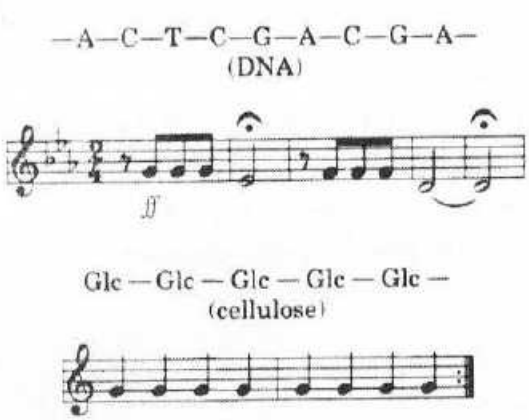
	درصد وزن کل سلول	تعداد حدودی انواع ملکولهای مختلف
آب	۷۰	۱
پروتئین‌ها	۱۵	۳,۰۰۰
اسیدهای نوکلئیک		
DNA	۱	۱
RNA	۶	۳,۰۰۰ <
پلی‌ساکاریدها	۳	۵
لیپیدها	۲	۲۰
زیرواحدهای منومری و ترکیبات واسط	۲	۵۰۰
یون‌های معدنی	۱	۲۰

پروتئین‌ها. پلیمرهای بلند اسیدهای آمینه، بعد از آب، بیشترین جزء سلولی را تشکیل می‌دهند. بعضی از پروتئین‌ها دارای فعالیت کاتالیتیک بوده و به‌عنوان آنزیم عمل می‌نمایند؛ سایر پروتئین‌ها به‌عنوان عناصر ساختمانی، گیرنده‌های پیام یا ترانسپورترهایی عمل می‌نمایند که مواد خاصی را به داخل یا خارج سلول انتقال می‌دهند. احتمالاً پروتئین‌ها ماهرترین بیوملکول‌ها هستند. **اسیدهای نوکلئیک.** DNA و RNA، پلیمرهای نوکلئوتیدها می‌باشند. این پلیمرها اطلاعات ژنتیکی را ذخیره و انتقال داده و تعدادی از ملکول‌های RNA در کمپلکس‌های ماکروملکولی دارای نقش‌های ساختمانی هستند. **پلی‌ساکاریدها،** پلیمرهایی از قندهای ساده نظیر گلوکز بوده و دو نقش اصلی، یکی به‌عنوان ذخایر مواد سوختی تولیدکننده انرژی و دیگری به‌عنوان عناصر ساختمانی خارج‌سلولی، را بعهده دارند. پلیمرهای کوتاهتر قندها (اولیگوساکاریدها) به پروتئین‌ها و لیپیدهای موجود در سطح سلول اتصال یافته و به‌عنوان پیامهای سلولی اختصاصی عمل می‌نمایند. **لیپیدها،** مشتقات هیدروکربنی گریسی یا روغنی، به‌عنوان اجزاء ساختمانی غشاءها، ذخایر سوختی غنی از انرژی، رنگدانه‌ها و پیامهای داخل‌سلول، ایفاء نقش می‌کنند. پروتئین‌ها، نوکلئوتیدها، پلی‌ساکاریدها و لیپیدها طی واکنش‌های کندانساسیون سنتز می‌گردند. در سه دسته اول، زیرواحدهای منومری موجود در پلیمر بسیار زیاد می‌باشد. پروتئین‌ها دارای وزن‌های ملکولی از ۵،۰۰۰ تا بیش از یک میلیون هستند؛ وزن ملکولی اسیدهای نوکلئیک تا چند بیلیون متفاوت بوده؛ و پلی‌ساکاریدها، نظیر نشاسته، دارای وزن‌های ملکولی در حدود میلیون می‌باشند. ملکول‌های لیپیدی اندازه کوچکتری دارند (وزن ملکولی ۷۵۰ تا ۱،۵۰۰) و به‌عنوان ماکروملکول طبقه‌بندی نمی‌شوند. هرچند، وقتی تعداد زیادی از ملکول‌های لیپیدی به‌طورغیرکووالان به یکدیگر اتصال می‌یابند، ساختمان‌های بسیار بزرگی حاصل خواهد شد. غشاءهای سلولی از تجمعات متعددی تشکیل شده‌اند که در آنها میلیون‌ها ملکول لیپید وجود دارد.

ماکروملکول‌ها از واحدهای منومری تشکیل شده‌اند

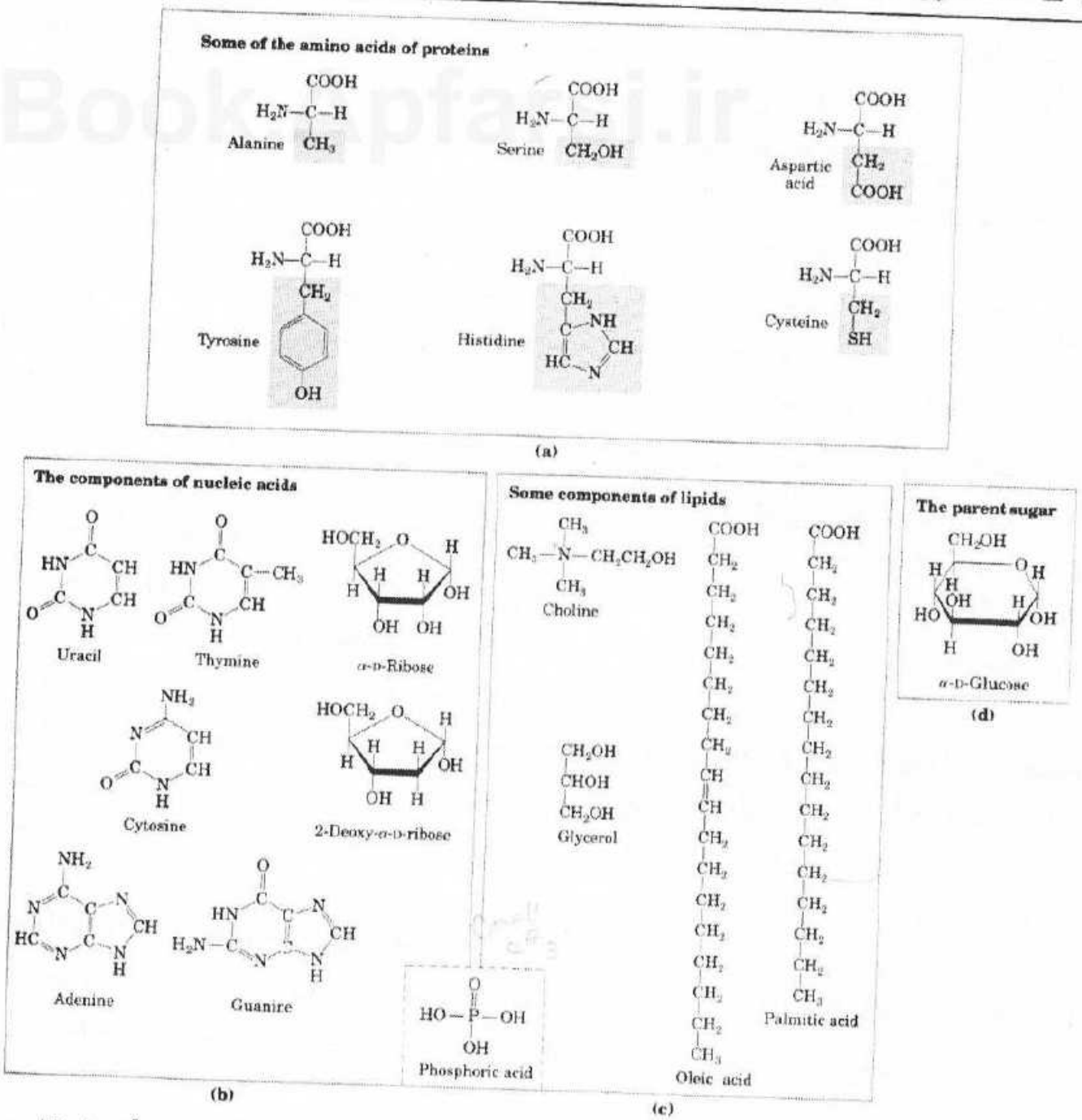
با وجود اینکه موجودات حاوی تعداد بسیار زیادی پروتئین مختلف و اسیدهای نوکلئیک متفاوت هستند، اساس ساختمانی آنها ساده می‌باشد (فصل ۱). تعداد زیرواحدهای منومری ساده‌ای که از آنها تمامی پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ساخته می‌شوند، کم بوده و در تمامی گونه‌های زنده یکسان می‌باشند. پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، **ماکروملکول‌های اطلاعاتی** هستند: هر پروتئین و هر اسید نوکلئیک دارای توالی زیرواحدی اطلاعاتی مشخصی می‌باشد (شکل ۲۳-۳).

پلی‌ساکاریدهای متشکل از تنها یک نوع زیرواحد یا دو واحد تکراری مختلف نمی‌توانند همانند پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، ملکول‌های حاوی اطلاعات باشند. هرچند، پلیمرهای قندی کوتاه متشکل از شش نوع یا انواع بیشتری از واحدهای قندی که به شکل زنجیرهای شاخه‌دار می‌باشند، دارای انواع ساختمانی و شیمی فضایی متفاوتی بوده و



شکل ۲۳-۳. ماکروملولهای اطلاعاتی و ساختمانی. A، T، C و G، چهار زیرواحد DNA را نشان داده و گلوکز (Glc) زیرواحد تکراری سلولز می‌باشد. انواع توالی‌هایی که می‌توان با چهار زیرواحد DNA ایجاد نمود، همانند تعداد ملودیهای ممکن با چند نت موزیکال، نامحدود می‌باشد. سلولز، یک پلیمر متشکل از یک زیرواحد، از نظر اطلاعاتی ضعیف و یکنواخت می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir

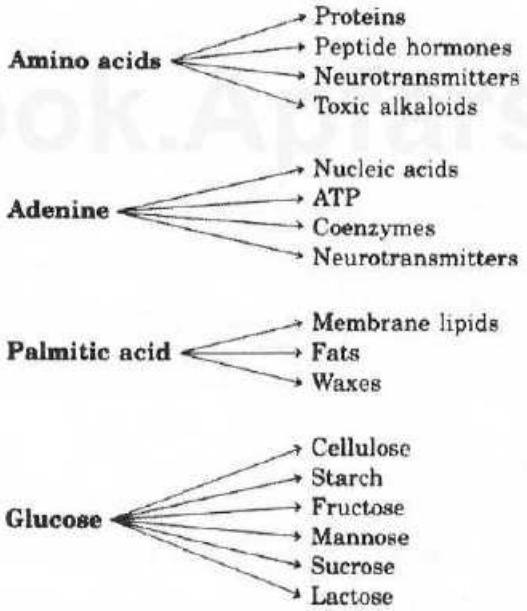


شکل ۲۴-۳. ترکیبات آلی که از آنها بیشتر مواد سلولی ساخته می‌شوند: الفبای بیوشیمی. در اینجا **(a)** شش اسید آمینه از ۲۰ اسید آمینه سازنده تمامی پروتئین‌ها (زنجیرهای جانبی سایه‌دار هستند)؛ **(b)** پنج باز نیتروژنی، دو قند پنج کربنه و اسید فسفریک که از آنها تمامی اسیدهای نوکلئیک ساخته می‌شوند؛ **(c)** پنج جزء شرکت‌کننده در بسیاری از لیپیدهای غشایی، و **(d)** D-گلوکز، قند مادری که از آن بیشتر کربوهیدرات‌های دیگر مشتق می‌شوند، نشان داده شده‌اند. توجه داشته باشید که اسید فسفریک جزئی از هم اسیدهای نوکلئیک و هم لیپیدهای غشایی است. تمامی این ترکیبات به شکل غیریونیزه نشان داده شده‌اند.

اطلاعاتی را در خود دارند که توسط سایر ماکروملکول‌ها شناسایی می‌گردند.

زیرواحدهای منومری ساختمان‌های ساده‌ای دارند

شکل ۲۴-۳ ساختمان چند واحد منومری بیوملکول‌های بزرگ را نشان می‌دهد که در چند خانواده قرار داده شده‌اند. در پروتئین‌ها، بیست اسید آمینه مختلف وجود دارد که همگی آنها دارای یک گروه آمینو (یک گروه ایمینو در مورد پرولین) و یک گروه کربوکسیل متصل به یک اتم کربن، بنام کربن α، می‌باشند. این α-آمینواسیدها تنها از نظر زنجیرهای جانبی خود با یکدیگر متفاوت هستند (شکل a ۲۴-۳).



شکل ۲۵-۳. هر ترکیب نشان داده شده در شکل ۲۴-۳، پیش‌سازی برای بسیاری از انواع دیگر بیوملکول‌ها می‌باشد.

واحدهای ساختمانی تکراری اسیدهای نوکلئیک، شامل هشت نوکلئوتید مختلف می‌باشند که چهار نوع آن در ساختمان DNA و چهار نوع دیگر در ساختمان RNA شرکت می‌نمایند (شکل b ۲۴-۳). هر نوکلئوتید از سه جزء تشکیل شده است: یک باز آلی نیتروژن‌دار و یک قند پنج کربنه (که روی هم یک نوکلئوزید خوانده می‌شوند) که به آن یک گروه فسفات اتصال یافته است. هشت نوکلئوتید مختلف DNA و RNA از پنج باز آلی مختلف و دو قند متفاوت ساخته می‌شوند.

لیپیدها نیز از انواع نسبتاً کمی از ترکیبات ساخته شده‌اند. اکثر ملکول‌های لیپیدی حاوی یک یا چند اسید چرب با زنجیر بلند هستند که در میان آنها، اسید پالمیتیک و اسید اولئیک، ترکیبات مادر می‌باشند (شکل c ۲۴-۳). بسیاری از لیپیدها حاوی یک الکل، نظیر گلیسرول، و تعدادی نیز حاوی فسفات می‌باشند.

فراوانترین پلی‌ساکرید موجود در طبیعت، شامل نشاسته و سلولز، می‌باشند که از واحدهای تکراری D-گلوکز تشکیل شده‌اند (شکل d ۲۴-۳). سایر پلی‌ساکاریدها از ملکول‌های مختلف قندی مشتق از گلوکز، ایجاد می‌گردند.

بنابراین تنها سه دوجین از ترکیبات آلی، مادر اکثر بیوملکول‌ها می‌باشند. هر کدام از ترکیبات موجود در شکل ۲۴-۳ دارای اعمال متعددی در موجودات زنده هستند (شکل ۲۵-۳). اسیدهای آمینه تنها زیرواحدهای منومری پروتئین‌ها نمی‌باشند؛ تعدادی از آنها به‌عنوان نوروترانسمیتر و پیش‌ساز هورمونها و سموم نیز عمل می‌کنند. باز نیتروژنی آدنین هم به‌عنوان یک زیرواحد اسیدهای نوکلئیک و ATP عمل نموده و نقش نوروترانسمیتری نیز دارد. اسیدهای چرب به‌عنوان اجزاء لیپیدهای غشایی و چربیهای ذخیره‌ای و همچنین به‌عنوان پیش‌ساز ملکول‌های قوی در پیام‌رسانی، به شکل ایکوزانوئیدها، ایفاء نقش می‌نمایند. D-گلوکز یک زیرواحد منومری در نشاسته و سلولز بوده و همچنین پیش‌ساز سایر قندها، نظیر D-مانوز و سوکروز می‌باشد.

کنداساسیون زیرواحدی، ایجاد نظم نموده و نیاز به انرژی دارد



J. Willard Gibbs
1839-1903

بسیار بعید به نظر می‌رسد که اسیدهای آمینه موجود در مخلوط بتوانند به‌طورخودبخودی با یکدیگر ترکیب شده و ایجاد یک ملکول پروتئینی با یک توالی بی‌همتا نمایند. این موضوع ممکن است افزایش نظم در ملکول‌ها را نشان دهد؛ ولی برحسب قانون دوم ترمودینامیک (فصل ۱۴)، تمایل طبیعی به سمت افزایش بی‌نظمی در جهان می‌باشد. برای سنتز ماکروملکول‌ها از واحدهای منومری آنها، لازم است به سیستم، در این حالت سلول، انرژی آزاد داده شود. (فصل ۱).

بی‌نظمی اجزاء یک سیستم شیمیایی را به‌صورت آنتروپی، S، بیان می‌نمایند. هر

Book.Apfarsi.ir

تغییری در بی‌نظمی سیستم را به‌صورت تغییر در آنتروپی، ΔS، بیان می‌کنند که در حالت افزایش بی‌نظمی، مثبت خواهد بود. ویلارد گیبس که تئوری تغییرات انرژی آزاد را طی واکنش‌های شیمیایی مطرح نمود، نشان داد که محتوی انرژی آزاد (G) هر سیستم بسته‌ای را می‌توان برحسب سه کمیت، شامل انتالپی (H) که تعداد و نوع پیوند را نشان می‌دهد (ص. ۷۵)، آنتروپی (S) و درجه حرارت مطلق (T برحسب کلوین)، تعریف نمود. تعریف انرژی آزاد به‌صورت $G = H - TS$ می‌باشد. وقتی یک واکنش شیمیایی در دمای ثابتی به انجام می‌رسد، تغییر انرژی آزاد یا ΔG، توسط ΔH، نشاندهنده نوع و تعداد پیوندهای شیمیایی و واکنش‌های متقابل غیرکووالان شکسته یا ایجادشده و ΔS، تغییر در بی‌نظمی سیستم تعیین می‌گردد:

$$\Delta G = \Delta H - T\,\Delta S$$

همانطور که در فصل ۱ اشاره گردید، تنها زمانی یک واکنش به‌طورخودبخودی صورت می‌پذیرد که ΔG آن منفی باشد. سلول‌ها وابسته به ملکول‌های زیادی، نظیر پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، هستند که انرژی آزاد تشکیل آنها مثبت می‌باشد: این ملکول‌ها نسبت به مخلوطی از اجزاء منومری خود، دارای پایداری کمتر و نظم بیشتری هستند. برای غلبه بر این کمبود انرژی آزاد واکنش‌های غیرمساعد از نظر ترمودینامیک (انرژی‌خواه)، سلول‌ها این واکنش‌ها را با سایر واکنش‌های آزادکننده انرژی آزاد (انرژی‌زا) جفت می‌نمایند، به‌طوری که کل فرایند انرژی‌زا باشد: مجموع تغییرات انرژی آزاد منفی می‌باشد. منبع معمول انرژی آزاد در واکنش‌های بیولوژیک جفت‌شده، انرژی حاصل از هیدرولیز پیوندهای فسفوانیدریدی، مثل انواع متصل‌کننده گروه‌های فسفات (با P نمایش می‌دهند) در ATP، است:

$$\text{Amino acids} \longrightarrow \text{polymer} \qquad \Delta G_1 \text{ is positive (endergonic)}$$

$$-\text{Ⓟ}-\text{Ⓟ} \longrightarrow \text{Ⓟ} + \text{Ⓟ} \qquad \Delta G_2 \text{ is negative (exergonic)}$$

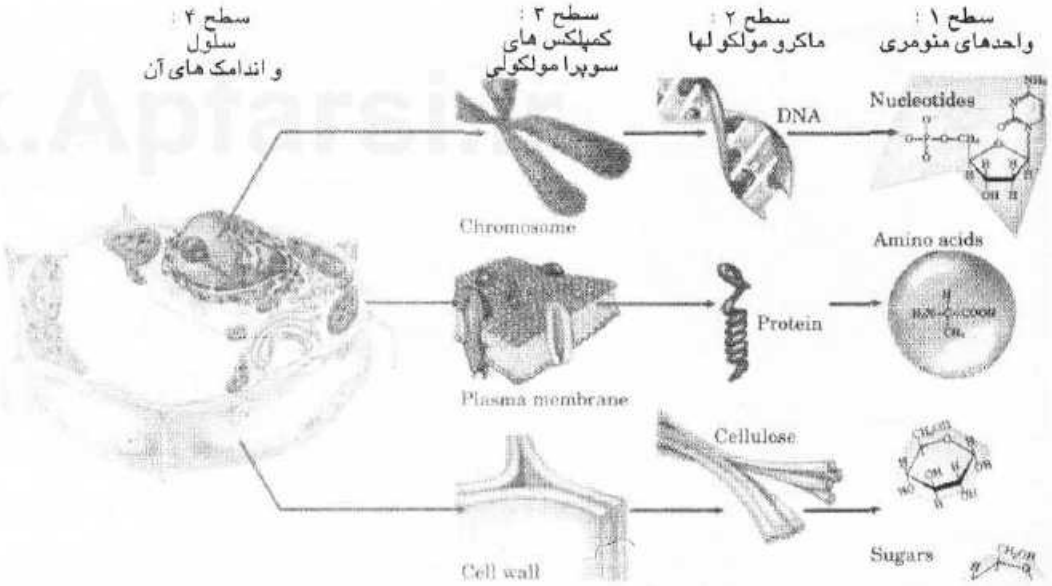
وقتی این واکنش‌ها جفت می‌شوند، مجموع ΔG_1 و ΔG_2 منفی خواهد بود (کل فرایند انرژی‌زا می‌باشد). با این استراتژی، سلول‌ها می‌توانند پلیمرهای غنی از اطلاعات (DNA، RNA و پروتئین) مورد نیاز برای زندگی را سنتز و حفظ نمایند.

سلول‌ها دارای سلسله مراتب ساختمانی هستند

واحدهای منومری شکل ۲۴-۳ بسیار کوچکتر از ماکروملکول‌های بیولوژیک هستند. یک ملکول آلانین دارای طولی کمتر از ۰/۵ nm می‌باشد. هموگلوبین، پروتئین ناقل اکسیژن در گلبولهای قرمز، دارای حدود ۶۰۰ واحد اسید آمینه می‌باشد که با اتصالات کووالان در چهار زنجیر بلند، به شکل کروی و مرتبط در یک ساختمان تترامری با قطر ۵/۵ nm، قرار دارند. در مقایسه با ریبوزوم‌ها (با قطر حدود ۲۰ nm)، ملکول‌های پروتئینی کوچکتر بوده و خود ریبوزوم‌ها نیز از اندامک‌هایی نظیر میتوکندری‌ها (به‌طورشاخص با قطر ۱,۰۰۰ nm)، بسیار کوچکتر می‌باشند. رسیدن به ساختمان‌های سلولی از بیوملکول‌های ساده که بتوان آنها را با میکروسکوپ نوری مشاهده نمود، قدم بزرگی است. شکل ۲۶-۳ سلسله مراتب ساختمانی را در سازماندهی سلولی نشان می‌دهد.

در پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پلی‌ساکاریدها، زیرواحدهای منومری توسط پیوندهای کووالان به یکدیگر متصل می‌شوند. ولی در کمپلکس‌های سوپراملکولی، ماکروملکول‌ها توسط جاذبه‌های غیرکووالان (در حالت تکی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۶-۳. سلسله مراتب ساختمانی در سازماندهی ملکولی سلول‌ها. در این سلول گیاهی، هسته اندامکی است که دارای انواع متعددی از کمپلکس‌های سوپراملکولی، نظیر کروموزوم‌ها، می‌باشد. کروموزوم‌ها از ماکروملکول‌ها (DNA و بسیاری از پروتئین‌های مختلف) تشکیل شده است. هر نوع ماکروملکول از زیرواحدهای ساده (برای مثال، DNA از داکسی‌ریبونوکلئوتیدها) ساخته شده است.

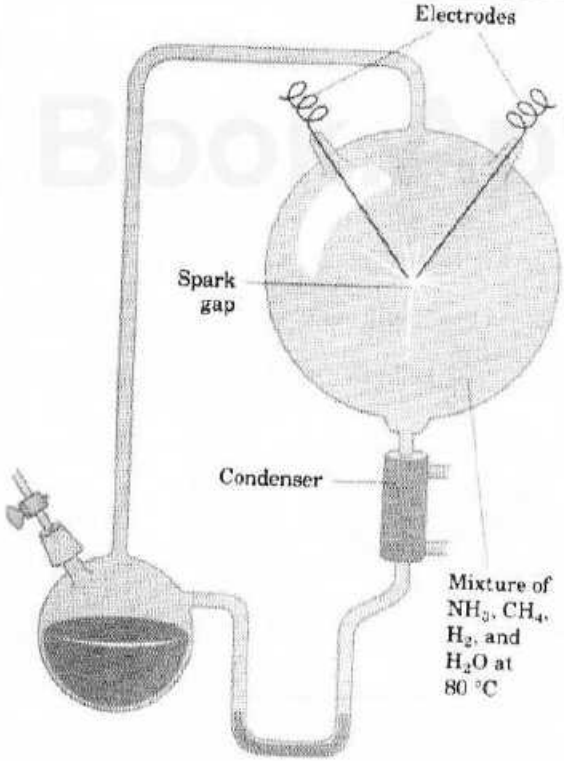
بسیار ضعیف‌تر از پیوندهای کووالان می‌باشند) در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. این جاذبه‌ها شامل پیوندهای هیدروژنی (بین گروه‌های قطبی)، جاذبه‌های یونی (بین گروه‌های باردار)، جاذبه‌های آبگریز (بین گروه‌های غیرقطبی در داخل محلول آبی)، و جاذبه‌های واندروالس، می‌باشند که تمامی آنها انرژی کمتری از پیوندهای کووالان دارند (جدول ۳-۳). ماهیت این جاذبه‌های غیرکووالانی در فصل بعد شرح داده می‌شود. تعداد زیاد واکنش‌های ضعیف موجود در بین ماکروملکول‌های کمپلکس‌های سوپراملکولی، این همایش‌های غیرکووالان را تثبیت نموده و ساختمان‌های «طبیعی» بی‌همتا آنها را ایجاد می‌نماید.

هرچند زیرواحدهای منومری ماکروملکول‌ها بسیار کوچکتر از سلول‌ها و اندامکها می‌باشند، با این وجود بر روی شکل و عملکرد این ساختمان‌های بسیار بزرگتر تأثیر می‌گذارند. در کم‌خونی داسی شکل، یک اختلال ارثی در انسان، ملکول هموگلوبین دچار نقص می‌باشد. والین در دو زنجیر (دو زنجیر β) از چهار زنجیر هموگلوبین در موقعیتی قرار می‌گیرد که در حالت طبیعی توسط اسید گلوتامیک اشغال می‌گردد. همانطور که در فصل ۷ شرح داده شده است، هرچند این تفاوت در ۱۴۶ اسید آمینه زنجیر β، تنها قسمت کوچکی از ملکول هموگلوبین را شامل می‌شود، ولی سبب می‌گردد تا ملکول‌های هموگلوبین موجود در داخل گلبولهای قرمز به یکدیگر متصل شده و ایجاد تجمعات بزرگی نمایند که همراه با تغییر شکل (داسی‌شدن) و اختلال در عملکرد این سلول‌ها می‌باشد.

تکامل قبل‌حیات

یافتن این موضوع که تمامی ماکروملکول‌های بیولوژیک موجود در تمامی موجودات از سه دوجین زیرواحد مشابه ساخته شده‌اند، مدرک قوی مبنی بر ایجاد موجودات امروزی از یک رده سلولی نخستین می‌باشد. بعلاوه، چندین بیلیون سال انتخاب تطبیقی سبب اصلاح سیستم‌های سلولی شده تا این سیستم‌ها بتوانند حداکثر مزایا را از ویژگی‌های شیمیایی و ملکولی این مواد خام ملکولی در جهت انجام اعمال تغییر انرژی و تکثیر سلول زنده، بدست آورند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۷-۳. دستگاه تولید جرقه‌های الکتریکی از نوع مورد استفاده توسط میلر و اوری در آزمایشات خود برای نشان دادن تولید غیرزنده ترکیبات آلی تحت شرایط اتمسفری اولیه. بعد از قراردادن محتویات گازی سیستم در معرض جرقه‌های الکتریکی، محصولات بوسیله کندانساسیون جمع‌آوری شدند. بیوملکول‌هایی نظیر اسیدهای آمینه. جزء محصولات بودند (جدول ۶-۳ را ببینید).

بیوملکول‌ها ابتدا در طی تکامل شیمیایی ایجاد شدند

حال به یک معما برمی‌گردیم. در حالت جدا از موجودات زنده، ترکیبات آلی، مثل بیوملکول‌های پایه، نظیر اسیدهای آمینه و کربوهیدرات‌ها، تنها به مقادیر ناچیزی در پوسته زمین، دریا و اتمسفر وجود دارند. چطور موجودات زنده نخستین بلوک‌های ساختمانی آلی ویژه خود را بدست آوردند؟ در سال ۱۹۲۲، بیوشیمیدان آلکساندر اوپارین[1] فرضیه‌ای را برای مبداء حیات در تاریخ اولیه زمین مطرح نمود؛ وی معتقد بود که اتمسفر آن زمان متفاوت از اتمسفر فعلی بوده است. آن اتمسفر غنی از متان، آمونیاک و آب، و اساساً فاقد اکسیژن بود که نشانه یک اتمسفر احیاءکننده، برخلاف اتمسفر اکسیدکننده حال حاضر، می‌باشد. در فرضیه اوپارین، انرژی الکتریکی حاصل از صاعقه یا انرژی حرارتی کوه‌های آتشفشان، سبب گردید تا آمونیاک، متان، بخار آب و سایر اجزاء اتمسفر اولیه با یکدیگر واکنش نموده و ترکیبات آلی ساده‌ای را بسازند. سپس این ترکیبات در داخل دریاهای ابتدایی حل شده و طی دوره‌های متعدد هزاران ساله، دریاها از انواع زیادی از ترکیبات ساده آلی غنی شدند. در این محلول گرم («سوپ ابتدایی[2]»)، بعضی ملکول‌های آلی دارای تمایل بیشتری برای ایجاد کمپلکس‌های بزرگتر بودند. طی میلیونها سال، این ملکول‌ها به‌طور خودبه‌خودی تجمع یافته و ایجاد غشاءها و کاتالیست‌ها (آنزیم‌ها) را نمودند که در کنار یکدیگر قرار گرفته تا پیش‌سازهای سلول‌های اولیه را ایجاد نمایند. نظرات اوپارین برای سالهای زیادی به شکل ذهنی و ناپایدار باقی ماند، تا اینکه یک آزمایش تعجب‌آور با استفاده از یک وسیله ساده در روی یک میز انجام گرفت.

تکامل شیمیایی را می‌توان در آزمایشگاه تحریک نمود

یک آزمایش کلاسیک برای یافتن منشاء بی‌حیات[3] (غیربیولوژیک) بیوملکول‌های آلی در سال ۱۹۵۳ توسط استنلی میلر[4] در آزمایشگاه هارولد اوری[5] به انجام رسید. میلر مخلوطهای گازی NH_3، CH_4، H_2O و H_2 را در معرض جرقه‌های الکتریکی تولیدی در بین یک جفت الکترود (شبیه‌سازی صاعقه)، برای دوره‌های یک یا چند هفته قرار داد و سپس محتویات موجود در حفره بسته واکنش را بررسی نمود (شکل ۲۷-۳). در فاز گازی، مخلوطی از CO و CO_2 و همچنین مواد اولیه وجود داشت. فاز آبی نیز حاوی مخلوطی از ترکیبات آلی، از جمله بعضی از اسیدهای آمینه، اسیدهای هیدروکسی، آلدئیدها و سیانید هیدروژن (HCN) بود. این آزمایش احتمال تولید بی‌حیات بیوملکول‌ها را در زمان‌های نسبتاً کوتاه تحت شرایط نسبتاً ملایم را نشان داد.

1. Aleksander Oparine 2. Primordial soap 3. Abiotic 4. Stanley Miller 5. Harold Urey

جدول ۶-۳. بعضی از محصولات تولیدی در شرایط قبل‌حیات

اسیدهای کربوکسیلیک	بازهای اسید نوکلئیک	اسیدهای آمینه	قندها
اسید فرمیک	آدنین	گلیسین	پنتوزها و هگزوزهای
اسید استیک	گوانین	آلانین	مستقیم و شاخه‌دار
اسید پروپیونیک	گزانتین	α-آمینوبوتیریک اسید	
اسیدهای چرب مستقیم و	هیپوگزانتین	والین	
شاخه‌دار (C_4 - C_{10})	سیتوزین	لوسین	
اسید گلیکولیک	اوراسیل	ایزولوسین	
اسید لاکتیک		پرولین	
اسید سوکسینیک		اسید آسپارتیک	
		اسید گلوتامیک	
		سرین	
		ترئونین	

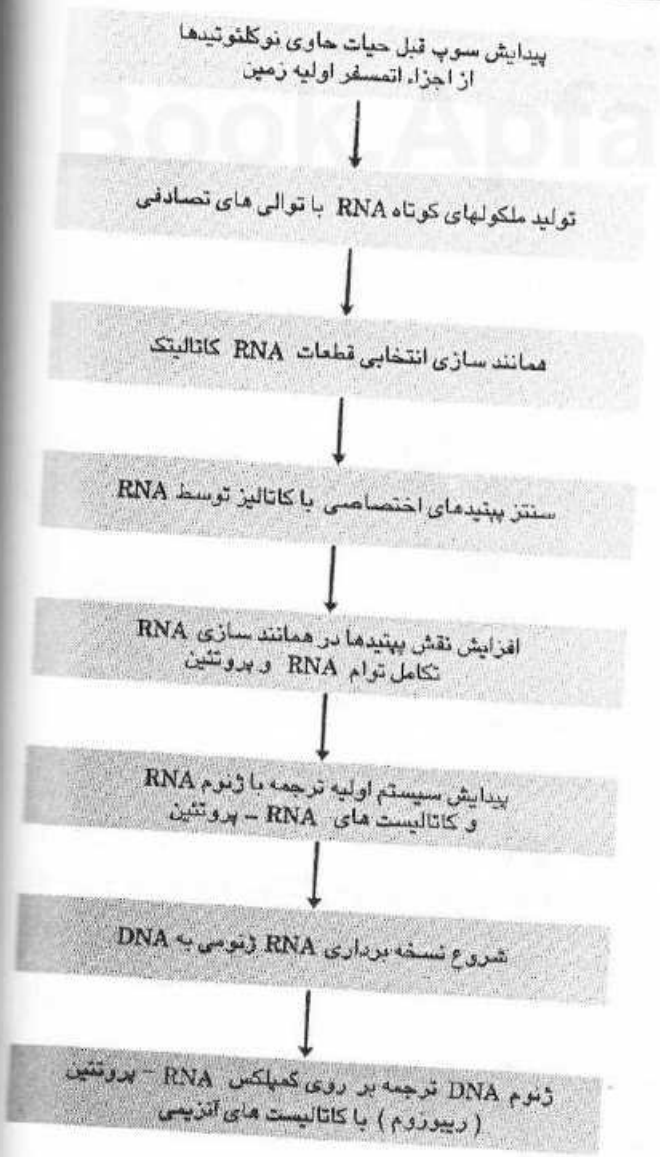
با ابداع روش‌ها و وسایل جدید، مطالعات دقیق‌تری نسبت به آزمایش انجام‌شده توسط میلر و اوری، صورت گرفته است و مدارک قوی در تایید این نظریه بدست آمده که انواع زیادی از بیوملکول‌ها، از جمله پلی‌پپتیدها و پلیمرهای کوتاه نوکلئوزیدها، می‌توانند به‌طورخودبخودی از مواد اولیه ساده ایجاد گردند که احتمالاً این مواد در زمین و در هنگام پیدایش حیات وجود داشته‌اند.

با تغییرات و پیشرفت‌های امروزی، تجارب میلر با استفاده از «اتمسفرهای» حاوی CO_2 و CO، با N_2 و H_2 مورد آزمایش مجدد قرار گرفته‌اند و از فن‌آوریهای بسیار پیشرفته جهت شناسایی مقادیر کم محصولات، استفاده شده است. با این روش‌ها، تولید صدها ترکیب آلی نشان داده شده است (جدول ۶-۳). این ترکیبات شامل اسیدهای آمینه معمول، انواعی از اسیدهای منو-، دی- و تری‌کربوکسیلیک، اسیدهای چرب، آدنین و فرمالدئید می‌باشد. تحت شرایط خاص، فرمالدئید پلیمریزه شده و تولید قندهایی با سه، چهار، پنج و شش کربن را می‌نماید. علاوه بر ملکول‌های کوچک بسیاری که در این آزمایشات تولید می‌شوند، پلیمرهای نوکلئوتیدها (اسیدهای نوکلئیک) و اسیدهای آمینه (پروتئین‌ها) نیز تشکیل می‌شوند. بعضی محصولات کندانساسیون ملکول‌های HCN با یکدیگر، تسریع‌کننده‌های مؤثر این نوع واکنش پلیمریزاسیون بوده و یونهای معدنی موجود در پوسته زمین (Cu^{2+}، Ni^{2+} و Zn^{2+}) نیز سرعت پلیمریزاسیون را افزایش می‌دهند. منابع انرژی که در تولید این ترکیبات مؤثر می‌باشند، شامل حرارت، نور مرئی و ماوراءبنفش (UV)، اشعه‌های x، تشعشع گاما، امواج اولتراسوند و شوک و بمبارانهای ذرات آلفا و بتا، می‌باشند.

به‌طورخلاصه، تجارب آزمایشگاهی بر روی تولید خودبخودی بیوملکول‌ها تحت شرایط قبل‌حیات، شواهد خوبی را فراهم نموده است که بسیاری از اجزاء شیمیایی موجودات زنده، نظیر پلی‌پپتیدها و ملکول‌های RNA-مانند، می‌توانند تحت این شرایط ایجاد گردند. پلیمرهای کوتاه RNA می‌توانند به‌عنوان کاتالیست در واکنش‌های دارای اهمیت بیولوژیک عمل نمایند (فصل ۲۶) و احتمالاً RNA نقش مهمی را در پیدایش قبل حیات، هم به‌عنوان کاتالیست و هم به‌عنوان مخزن اطلاعات، داشته است.

در صورتی که حیات بر روی زمین با این فرایند پیدایش شیمیایی ایجاد شده باشد، احتمال دارد که در سیاره‌های مناسب سیستم‌های منظومه‌ای دیگر نیز حیات ایجاد گردد. بسیاری از ترکیبات قبل‌حیات، نظیر HCN، اسید فرمیک

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۸-۳. یک سناریو احتمالی «دنیای RNA» که تغییر از دنیای RNA قبل‌حیات به دنیای DNA حیات را نشان می‌دهد.

و سیانواستیلن در ستاره‌های دنباله‌دار، در اتمسفر سیاره‌های مشتری، زحل و تیتان (قمری از زحل) و در ابرهای گرد و غباری فضای بین‌ستاره‌ای، یافت شده‌اند. آزمایش سنگ آسمانی Murchison که در سال ۱۹۶۹ بر روی زمین سقوط نمود، وجود اسیدهای آمینه، اسیدهای هیدروکسی، پورینها و پیریمیدینها را آشکار نموده است. بنابراین قابل درک است که پیش‌سازهای آلی برای پیدایش حیات بر روی کره زمین، ممکن است در هر محل دیگری از منظومه شمسی منشاء گیرند.

RNA یا پیش‌سازهای مربوطه ممکن است اولین ژن‌ها و کاتالیست‌ها باشند

در موجودات امروزی، اسیدهای نوکلئیک اطلاعات ژنتیکی را کد می‌نمایند که ویژگی ساختمانی آنزیم‌ها را تعیین نموده و خود آنزیم‌ها همانندسازی و ترمیم اسیدهای نوکلئیک را کاتالیز می‌نمایند. وابستگی دوطرفه این دو کلاس بیوملکول‌ها، این سئوال را مطرح می‌نماید که کدامیک در ابتدا ایجاد شده‌اند، DNA یا پروتئین؟

پاسخ ممکن است، هیچکدام باشد. کشف ملکول‌های RNAای که می‌توانند به‌عنوان کاتالیست در تشکیل خود نقش داشته باشند، مطرح می‌نماید که RNA یا یک ملکول مشابه ممکن است اولین ژن و اولین کاتالیست باشد. براساس این سناریو (شکل ۲۸-۳)، یکی از مراحل اولیه پیدایش بیولوژیک، تولید شانسی یک ملکول RNA در سوپ اولیه می‌باشد که توانایی کاتالیز تولید ملکول‌های دیگر RNA با همان توالی (یک RNA خود-همانندساز و خود-جاویدان) را داشته است. غلظت یک ملکول RNA خود-همانندساز به‌صورت تصاعدی افزایش می‌یابد، زیرا یک ملکول RNA به دو، دو تا به چهار، و غیره، تبدیل می‌شود. صحت خود-همانندسازی احتمالاً کامل نبوده و بنابراین طی فرایند همانندسازی، ایجاد انواع مختلفی از ملکول‌های RNA شده که بعضی از آنها ممکن است توانایی بیشتری را برای خود-همانندسازی داشته‌اند. در رقابت برای نوکلئوتیدها، کارآمدترین توالی‌های خود-همانندساز برنده شده و همانندسازهای دارای کارآیی کمتر از جمعیت خارج شدند.

تقسیم کار بین DNA (ذخیره اطلاعات ژنتیکی) و پروتئین (کاتالیز)، براساس فرضیه «دنیای RNA»[1] می‌باشد که بعداً بوجود آمد. انواع جدید ملکول‌های خود-همانندساز RNA، با توانایی کاتالیز کندانساسیون اسیدهای آمینه

1. RNA world

Book.Apfarsi.ir

به پپتیدها، ایجادگردید. در بعضی موارد پپتید(های) تولیدی بر روی توانایی خود-همانندسازی RNA اثر تقویتی داشته و این جفت (ملکول RNA و پپتید کمک‌کننده) می‌توانست متحمل تغییرات بعدی درتوالی شده تا سیستم‌های کارآمدتر خود-همانندساز ایجاد گردد. مدتی بعد از این سیستم سنتزکننده پروتئینی نخستین، تکامل بیشتر صورت پذیرفت: ملکول‌های DNA دارای توالی‌های مکمل با ملکول‌های RNA خود-همانندساز، عمل حفظ اطلاعات «ژنتیکی» را به عهده گرفتند و ملکول‌های RNA برای ایفاء نقش در سنتز پروتئین تکامل یافتند. با گذشت زمان، ثابت شد که پروتئین‌ها، کاتالیست‌های ماهرتری بوده و این کار را به عهده گرفتند. ترکیبات لیپیدمانند موجود در سوپ اولیه، لایه‌های نسبتاً نفوذناپذیری را در اطراف تجمعات ملکولی ایجاد کردند. غلظت پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در این بسته‌های لیپیدی، واکنش‌های متقابل ملکولی مورد نیاز برای خود-همانندسازی را بیشتر نمود.

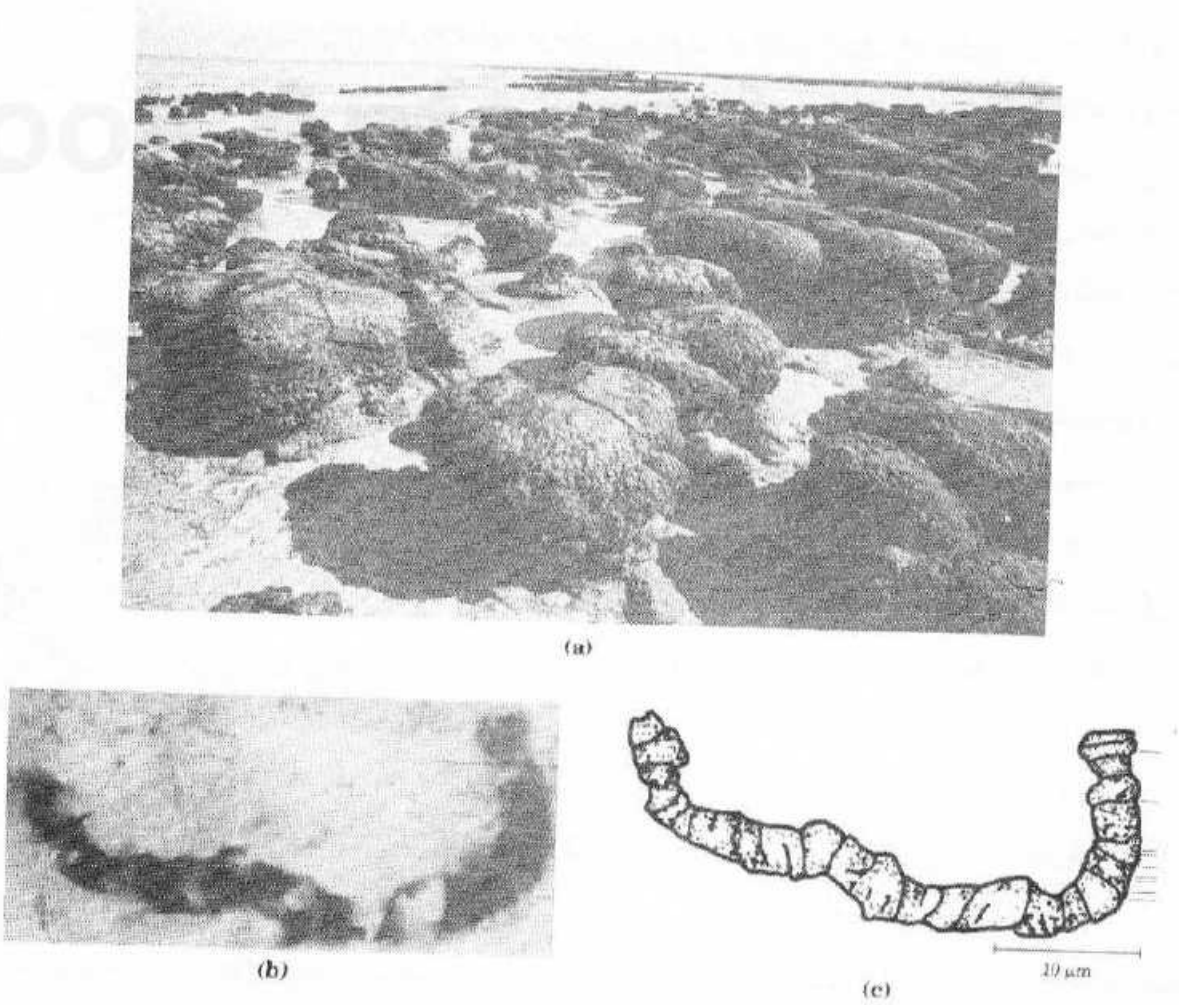
این فرضیه «دنیای RNA» حق بجانب بوده ولی مورد توافق عمومی نمی‌باشد. این فرضیه پیش‌گوئی‌های قابل‌آزمایشی را نموده است و تا میزانی که آزمایشات تجربی در زمان‌های محدود امکان دهد، این فرضیه مورد بررسی و اصلاح قرار خواهد گرفت.

تکامل بیولوژیک بیش از سه و نیم بیلیون سال قبل آغاز گردید

زمین حدود ۴/۵ بیلیون سال قبل تشکیل شد و اولین مدرک حیات مربوط به بیش از ۳/۵ بیلیون سال قبل می‌باشد. یک گروه بین‌المللی دانشمندان در سال ۱۹۸۰ نشان دادند که صخره‌های باستانی خاصی (stromatolites) در استرالیای غربی، حاوی فسیل‌هایی از میکروارگانیسم‌های اولیه می‌باشند (شکل ۲۹-۳). در سال ۱۹۹۶، دانشمندانی که در گرین‌لند کار می‌کردند، شواهدی شیمیایی، و نه فسیلی، از حیات حدود ۳/۸۵ بیلیون سال قبل را به‌صورت اشکالی از کربن فرورفته در صخره‌هایی یافتند که به نظر می‌رسد دارای یک منشاء بیولوژیکی مجزا می‌باشند. در محل‌هایی بر روی کره زمین و در طی اولین بیلیون سال، اولین موجودات ساده پیدا شدند که قادر به همانندسازی ساختمان خود از یک قالب (RNA؟)، به‌عنوان اولین ماده ژنتیکی، بودند. ازآنجایی‌که اتمسفر زمین در طلوع حیات تقریباً فاقد اکسیژن بود و چون میکروارگانیسم‌های کمی برای برداشت ترکیبات آلی حاصل از فرایندهای طبیعی وجود داشت، این ترکیبات نسبتاً پایدار بودند. با توجه به این پایداری و گذشت زمان، غیرممکن حتمی‌الوقوع شد: ترکیبات آلی در داخل سلول‌های ایجادشده قرار گرفته تا کاتالیست‌های خود-تکثیر[1] مؤثرتری تولید گردد. فرایند پیدایش بیولوژیک شروع شد. موجودات مکانیسم‌هایی را برای استفاده از نور خورشید از طریق فتوسنتز ابداع نمودند تا قندها و سایر ملکول‌های آلی را از دی‌اکسید کربن ساخته و نیتروژن ملکولی موجود در اتمسفر را به بیوملکول‌های نیتروژنی، نظیر اسیدهای آمینه، تبدیل نمایند. با ایجاد توانایی سنتز بیوملکول‌های خود، سلول‌ها از فرایندهای اتفاقی ظهور چنین ترکیباتی برای اولین بار در روی کره زمین، مستقل شدند. با پیشرفت تکامل، موجودات شروع به انجام واکنش‌های متقابل با یکدیگر نموده و با استفاده دو طرفه از محصولات یکدیگر، سیستم‌هاس اکولوژیکی پیچیده‌ای را ایجاد کردند.

1. Self-reproducing

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۹-۳. تپه‌های باستانی در استرالیا که شواهد فسیلی از زندگی میکروبی در دریای ۳/۵ بیلیون سال قبل را نشان می‌دهد. خرده‌های شن و سنگ آهک در پوشش‌های خارج‌سلولی چسبنده سیانوباکتری‌ها بدام افتاده و به تدریج این stromatolites را ایجاد نمودند که در Hamelin Bay در غرب استرالیا یافت می‌شوند (a). بررسی میکروسکوپی برش‌های نازک چنین صخره باستانی، میکروفسیل‌هایی متشکل از باکتری‌های فیلمانی را نشان می‌دهد (b) که به‌صورت شکل نشان داده شده تفسیر می‌گردد (c).

خلاصه

بیشتر وزن خشک موجودات زنده از ترکیبات آلی تشکیل شده است؛ این ملکول‌ها حاوی اسکلت کربنی با اتصالات کووالان می‌باشند که به آنها اتم‌های کربن، هیدروژن، اکسیژن یا نیتروژن متصل شده‌اند. گروه‌های عامل متفاوت متصل به این اسکلت، ویژگی‌های شیمیایی ملکول را تعیین می‌نمایند. بیوملکول‌های آلی دارای اشکال (کونفورماسیونها و کونفیگوراسیون‌های) مشخص سه‌بُعدی هستند. بسیاری از ملکول‌ها دارای اشکال نامتقارن یا کایرال بنام انانتیومر می‌باشند، این ایزومرهای فضایی تصاویر آینه‌ای غیرقابل‌انطباق یکدیگر هستند. قدرت پیوندهای شیمیایی، براساس ژول، بستگی به الکترونگاتیویتی و اندازه اتم‌هایی دارد که الکترون به اشتراک می‌گذارند. تغییر در انتالپی (ΔH) یک واکنش شیمیایی، انعکاسی از تعداد و انواع پیوندهای ایجادشده و شکسته‌شده می‌باشد. برای واکنش‌های انرژی‌گیر، ΔH مثبت بوده و برای واکنش‌های انرژی‌زا، منفی است. بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی مختلفی که در داخل سلول به انجام می‌رسند را می‌توان در پنج دسته قرار داد: واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء، شکسته‌شدن و تشکیل پیوندهای کربن-کربن، نوآرایی پیوندها حول اتم‌های کربن، انتقال گروه و کندانساسیون.

بیشتر ماده آلی موجود در سلول‌های زنده را ماکروملکول‌ها، شامل اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و پلی‌ساکاریدها، تشکیل می‌دهند. ملکول‌های لیپیدی، جزء مهم دیگر سلول‌ها، ملکول‌های کوچکی هستند که ایجاد تجمعات ملکولی بزرگ می‌نمایند. ماکروملکول‌های بیولوژیک از تقریباً چند نوع زیرواحد منومری کوچک با اتصالات کووالان تشکیل شده‌اند. پروتئین‌ها

پلیمرهایی از ۲۰ نوع اسید آمینه مختلف بوده، اسیدهای نوکلئیک پلیمرهایی از واحدهای مختلف نوکلئوتیدی (چهار نوع در DNA و چهار نوع در RNA) هستند و پلی‌ساکاریدها پلیمرهایی از واحدهای تکراری قندها می‌باشند. اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها ماکروملکول‌های اطلاعاتی می‌باشند؛ توالی‌های مشخص زیرواحدهای این ماکروملکول‌ها، ژنتیک منحصر آن‌گونه را تعیین می‌نماید. پلی‌ساکاریدهای ساده به‌عنوان اجزاء ساختمانی عمل می‌نمایند؛ بعضی از پلی‌ساکاریدهای مرکب، ماکروملکول‌های اطلاعاتی هستند، توالی و شیمی فضایی اختصاصی آنها این امکان را فراهم می‌سازند تا به‌طوراختصاصی توسط سایر ملکول‌ها شناسایی گردند.

در سازماندهی ملکولی سلول‌ها، سلسله مراتبی وجود دارد. سلول‌های حاوی اندامکهایی نظیر هسته، میتوکندری و کلروپلاست، می‌باشند و ین اندامک‌ها خود دارای کمپلکس‌های سوپراملکولی نظیر غشاءها و ریبوزوم‌هابوده و به نوبه خود اینها نیز متشکل از دسته‌های ماکروملکولی هستندکه توسط تعداد زیادی نیروی غیرکووالان نسبتاً ضعیف به یکدیگر متصل شده‌اند. ماکروملکول‌ها از زیرواحدهایی تشکیل شده‌اندکه به یکدیگر اتصال کوالان دارند. تشکیل ماکروملکول‌ها از زیرواحدهای ساده همراه با ایجاد نظم (کاهش آنتروپی) است؛ این سنتز نیاز به انرژی داشته و لازم است با واکنش‌های انرژی‌زا جفت گردد.

بیوملکول‌های کوچک نظیر اسیدهای آمینه و قندها احتمالاً در ابتدا به‌طورخودبخودی از گازهای اتمسفری و آب و تحت اثر انرژی الکتریکی (صاعقه) در طی تاریخ اولیه زمین ایجاد شدند. همین فرایند را می‌توان در آزمایشگاه صورت داد. به نظر می‌رسد که اجزاء منومری ماکروملکول‌های سلولی در ابتدای تکامل بیولوژیکی، انتخاب شده‌اند. این ملکول‌های زیرواحدی دارای تعداد نسبتاً کمی هستند که هنوز مورد بحث می‌باشد؛ تکامل سبب اتصال بیوملکول‌های کوچک به یکدیگر شده تا ماکروملکول‌هایی با تنوع وسیع تولید گردد. اولین ماکروملکول‌ها ممکن است ملکول‌های RNA مانند باشدکه قادر به کاتالیز همانندسازی خود بوده‌اند. در مراحل بعدی تکامل، DNA به یک مخزن اطلاعات ژنتیکی تبدیل شد، پروتئین‌ها کاتالیست‌های سلولی شدند و RNA به‌عنوان ترکیب واسط بین DNA و پروتئین، بیان اطلاعات ژنتیکی به‌صورت پروتئین را ممکن ساخت.

Book.Apfarsi.ir

۴ آب

آب فراوان‌ترین ماده موجود در سیستم‌های بیولوژیک بوده و حدود ۷۰٪ یا بیشتر وزن اکثر موجودات را تشکیل می‌دهد. بدون شک، اولین موجودات زنده در محیط آبی ظاهر شده و دوره تکاملی آنها با توجه به ویژگی‌های محیط آبی شکل گرفته است که در آن زندگی آغاز گردید.

این فصل با شرحی بر ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آب آغاز می‌گردد که تمامی خصوصیات ساختمان و عمل سلولی با آنها منطبق شده است. نیروهای جاذبه بین ملکول‌های آب و تمایل ناچیز آب در یونیزاسیون، اهمیت حیاتی برای ساختمان و عملکرد بیوملکول‌ها دارد. در اینجا مروری بر موضوع یونیزاسیون به شکل ثابت‌های تعادلی، pH و منحنی‌های تیتراسیون شده و نحوه عمل محلول‌های آبی اسیدها یا بازهای ضعیف به همراه املاح مربوطه در ایفاء نقش بافری در برابر تغییرات pH سیستم‌های بیولوژیک، مورد بررسی قرار می‌گیرد. ملکول آب و محصولات یونیزاسیون آن، یعنی H^+ و OH^-، اثر عمیقی بر ساختمان، خود-همایش[1] و ویژگی‌های تمامی اجزاء سلولی، شامل پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها، دارند. به‌طورقطع خصوصیات آب به‌عنوان حلال، بر روی واکنش‌های متقابل غیرکووالان بین بیوملکول‌ها تاثیر داشته که خود در ایجاد قدرت و ویژگی «شناسایی» ماکروملکول‌ها مؤثر است.



این نمای زمین از فضا، نشان می‌دهد که بیشتر سطح این سیاره با آب پوشیده شده است. دریاها که احتمالاً زندگی برای اولین بار در آنها آغاز گردید، امروز محل زندگی موجودات بی‌شماری است.

واکنش‌های ضعیف در سیستم‌های آبی

پیوندهای هیدروژنی بین ملکول‌های آب، نیروهای چسبنده‌ای را فراهم می‌آورند که آب را در دمای اتاق مایع نگه داشته و نظم فوق‌العاده‌ای به این ملکول‌ها در شکل کریستالی آب (یخ) می‌دهند. برعکس، بیوملکول‌های غیرقطبی با واکنش‌های متقابل آب-آب تداخل نموده ولی نمی‌توانند واکنش‌های متقابل آب-ماده حل‌شده را ایجاد

1. Self-assembly

Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۴. نقطه ذوب، نقطه جوش و گرمای تبخیر تعدادی از حلال‌های معمول

	نقطه ذوب (°C)	نقطه جوش (°C)	حرارت تبخیر (J/g)*
آب	۰	۱۰۰	۲,۲۶۰
متانل (CH_3OH)	-۹۸	۶۵	۱,۱۰۰
اتانل (CH_3CH_2OH)	-۱۱۷	۷۸	۸۵۴
پروپانل ($CH_3CH_2CH_2OH$)	-۱۲۷	۹۷	۶۸۷
بوتانل ($CH_3(CH_2)_2CH_2OH$)	-۹۰	۱۱۷	۵۹۰
استن (CH_3COCH_3)	-۹۵	۵۶	۵۲۳
هگزان ($CH_3(CH_2)_4CH_3$)	-۹۸	۶۹	۴۲۳
بنزن (C_6H_6)	۶	۸۰	۳۹۴
بوتان ($CH_3(CH_2)_2CH_3$)	-۱۳۵	-۰/۵	۳۸۱
کلروفرم ($CHCl_3$)	-۶۳	۶۱	۲۴۷

* انرژی حرارتی مورد نیاز برای تبدیل یک گرم مایع در نقطه جوش آن به حالت گازی در همان دما و در فشار یک اتمسفر. این عدد معیاری از انرژی مورد نیاز برای غلبه بر نیروهای جاذبه بین‌ملکولی در فاز گازی است.

نمایند؛ در نتیجه، ملکول‌های غیرقطبی دارای حلالیت ضعیفی در آب می‌باشند. در محلول‌های آبی، ملکول‌های غیرقطبی تمایل دارند که به شکل دسته‌ای در کنار یکدیگر قرار گیرند.

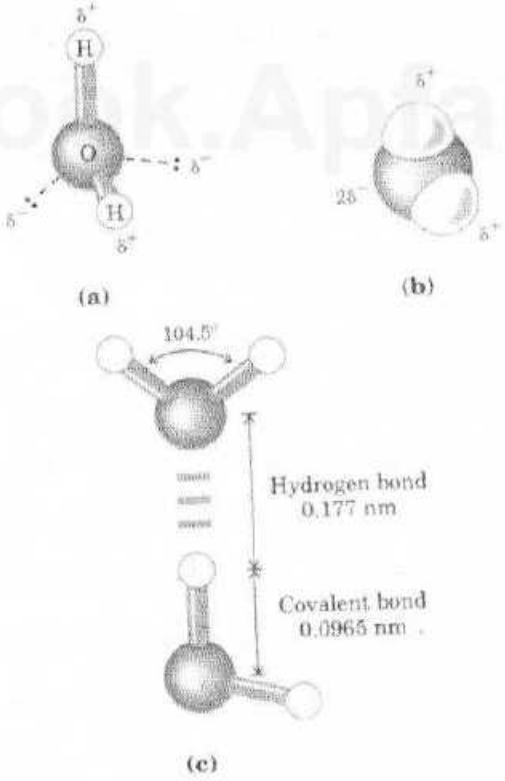
پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل آبگریز و واندروالس، به تنهایی ضعیف هستند ولی با یکدیگر، اثر بسیار مهمی بر روی ساختمان‌های سه‌بُعدی پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پلی‌ساکاریدها و لیپیدهای غشایی، ایجاد می‌نمایند.

پیوندهای هیدروژنی منجر به ویژگی‌های غیرمعمول می‌گردند

در مقایسه با سایر حلال‌های معمول، آب دارای نقطه ذوب، نقطه جوش و گرمای تبخیر، بیشتری است (جدول ۱-۴). این ویژگی‌های غیرمعمول، نتیجه جاذبه‌های موجود در بین ملکول‌های آب مجاور می‌باشد که چسبندگی داخلی زیادی در آب مایع ایجاد می‌نمایند.

هر اتم هیدروژن موجود در یک ملکول آب، یک جفت الکترون با اتم اکسیژن به اشتراک می‌گذارد. هندسه ملکول آب بر اساس اشکال اربیتال‌های خارجی اتم اکسیژن مشخص می‌گردد که مشابه اربیتال‌های پیوندی در کربن می‌باشد (شکل a ۴-۳ را ببینید). این اربیتال‌ها یک چهاروجهی تقریبی را نشان می‌دهند که در هر کدام از دو گوشه آن، یک اتم هیدروژن قرار گرفته و در هر کدام از دو گوشه دیگر، یک جفت الکترونی به اشتراک گذاشته‌نشده وجود دارد (شکل a ۱-۴). به خاطر ازدحام اربیتال‌های غیرپیوندی اتم اکسیژن، زاویه پیوند H-O-H برابر ۱۰۴/۵° بوده که قدری از ۱۰۹/۵° یک چهاروجهی کامل کمتر است.

هسته اکسیژن، الکترون‌ها را قویتر از هسته هیدروژن (یک پروتون) جذب می‌نماید؛ اکسیژن الکترونگاتیوتر است (جدول ۲-۳ را ببینید). ازاینرو، اشتراک الکترون‌ها بین H و O نابرابر بوده و الکترون‌ها بیشتر در نزدیکی اتم اکسیژن قرار دارند تا هیدروژن. نتیجه این جفت‌شدن نابرابر الکترونی، ایجاد دو دوقطبی الکتریکی در ملکول آب، یکی در طول هر پیوند H-O، می‌باشد؛ اتم اکسیژن دارای یک بار منفی نسبی ($2\delta^-$) بوده و هر هیدروژن یک بار نسبی مثبت (δ^+) خواهد داشت. در نتیجه، جاذبه الکترواستاتیکی، بنام **پیوند هیدروژنی**، بین اتم اکسیژن یک ملکول



شکل ۱-۴. ساختمان ملکول آب. ماهیت دوقطبی ملکول H_2O بوسیله مدلهای گوی و میله **(a)** و فضاپرکن **(b)** نشان داده شده است. خطوط منقطع شکل **(a)**، اوربیتالهای غیرپیوندی را نشان می‌دهد. آرایش جفتهای الکترونی لایه خارجی اطراف اتم اکسیژن تقریباً چهاروجهی می‌باشد؛ دو اتم هیدروژن دارای بارهای نسبی مثبت (δ^+) بوده و اتم اکسیژن بار نسبی منفی (δ^-) دارد. **(a)** دو ملکول H_2O توسط یک پیوند هیدروژنی (در اینجا و در تمامی قسمت‌های کتاب با سه خط نشان داده شده است)، بین اتم اکسیژن ملکول بالائی و یک اتم هیدروژن ملکول پایینی، به یکدیگر متصل می‌گردند. پیوندهای هیدروژنی بلندتر و ضعیف‌تر از پیوندهای کووالان O-H می‌باشند.

آب و اتم هیدروژن ملکول دیگر ایجاد می‌گردد. در سراسر این کتاب، پیوندهای هیدروژنی با خطوط موازی، همانند شکل ۱c-۴، مشخص می‌گردند.

پیوندهای هیدروژنی از پیوندهای کووالان ضعیف‌تر می‌باشند. پیوندهای هیدروژنی در محیط آب مایع دارای یک **انرژی تجزیه پیوند** (انرژی مورد نیاز برای شکستن یک پیوند) حدود ۲۰ kJ/mol، در مقایسه با ۳۴۸ kJ/mol برای پیوند کووالان C-C، است. در حرارت اتاق، انرژی حرارتی یک محلول آبی (انرژی کینتیک حرکت اتم‌ها و ملکول‌های مجزا) به همان بزرگی انرژی مورد نیاز برای شکستن پیوندهای هیدروژنی است. وقتی آب حرارت داده می‌شود، افزایش درجه حرارت خود را به صورت حرکت سریعتر ملکول‌های مجزا آب نشان می‌دهد. هر چند در هر زمان خاص، اکثر ملکول‌های موجود در آب مایع در پیوند هیدروژنی درگیر بوده و عمر هر پیوند هیدروژنی کمتر از 1×10^{-9} s می‌باشد. برای ملکول‌های دارای پیوند هیدروژنی موجود در آب، از عبارت مناسب «دسته‌های در حال تولید و نابودی» استفاده می‌گردد که نیمه عمر کوتاهی دارند. با این وجود، جمع تمامی پیوندهای هیدروژنی موجود در بین ملکول‌های آب، سبب چسبندگی داخلی بالا در آب مایع می‌گردد.

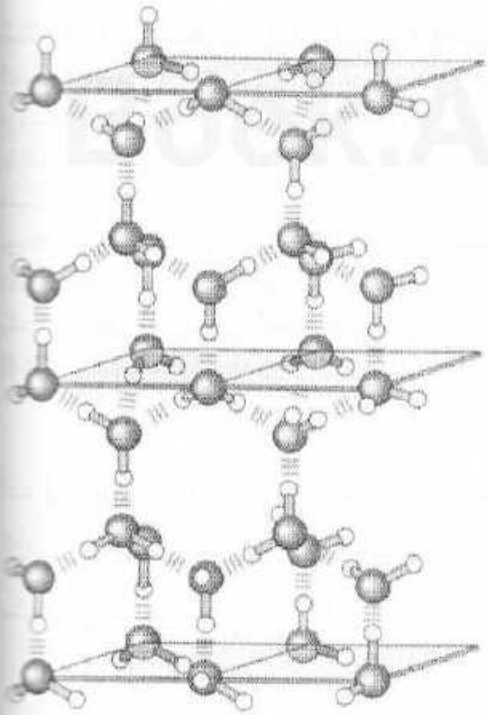
آرایش تقریباً چهاروجهی اربیتال‌ها حول اتم اکسیژن (شکل ۱a-۴) این امکان را فراهم می‌سازد که هر ملکول آب بتواند با چهار ملکول آب مجاور ایجاد پیوند هیدروژنی نماید. هرچند، در آب مایع، در حرارت اتاق و فشار اتمسفر، هر ملکول آب در حرکت مداوم بوده که سبب از دست رفتن سازماندهی آن می‌شود، لذا به‌طور متوسط هر ملکول آب تنها با ۳/۴ ملکول آب دیگر ایجاد پیوند هیدروژنی می‌نماید. از طرفی دیگر، در یخ، هر ملکول آب در موقعیت ثابتی قرار داشته و با ایجاد پیوند هیدروژنی با چهار ملکول آب دیگر، یک ساختمان شبکه‌ای منظم ایجاد می‌کند (شکل ۲-۴). برای شکستن تعداد کافی پیوندهای هیدروژنی برای ناپایدارنمودن شبکه کریستالی یخ، نیاز به انرژی حرارتی زیادی است که علت نقطه ذوب نسبتاً بالای آب (جدول ۱-۴) می‌باشد. وقتی یخ ذوب می‌شود و یا آب تبخیر می‌گردد، سیستم حرارت می‌گیرد:

$$H_2O(s) \longrightarrow H_2O(l) \qquad \Delta H = +5.9\ \text{kJ/mol}$$

$$H_2O(l) \longrightarrow H_2O(g) \qquad \Delta H = +44.0\ \text{kJ/mol}$$

در هنگام ذوب و تبخیر، هر چه دسته‌های شدیداً منظم ملکول‌های آب به شکل دسته‌های دارای پیوندهای

Book.Apfarsi.ir

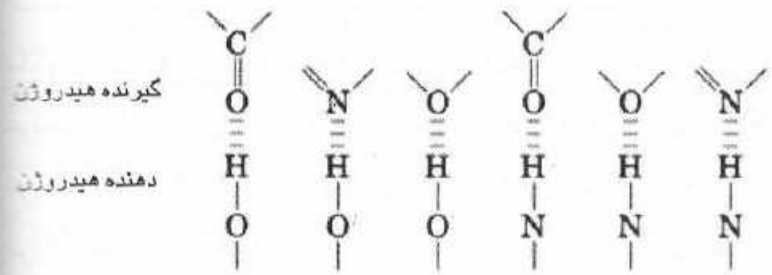


شکل ۲-۴. پیوند هیدروژنی در یخ. هر ملکول آب حداکثر پیوندهای هیدروژنی را ایجاد نموده و سبب تشکیل یک شبکه کریستالی منظم می‌گردد. برعکس، در آب مایع و در حرارت اتاق و فشار اتمسفر، هر ملکول آب به‌طورمتوسط با ۳/۴ ملکول دیگر آب ایجاد پیوند هیدروژنی می‌کند. شبکه کریستالی یخ فضای بیشتری را در مقایسه با همان تعداد ملکول H_2O در آب مایع اشغال می‌نماید؛ یخ تراکم کمتری داشته و بنابراین بر روی آب مایع شناور می‌ماند.

هیدروژنی با نظم کمتر یا به حالت گازی کاملاً نامنظم تبدیل گردد، آنتروپی سیستم آبی افزایش می‌یابد. در حرارت اتاق، هم ذوب‌شدن یخ و هم تبخیر آب به‌طور خودبخودی رخ می‌دهد؛ فشار انرژتیک به سمت بی‌نظمی بر تمایل ملکول‌های آب برای ایجاد پیوندهای هیدروژنی غلبه می‌نماید. همانطور که اشاره گردید، برای انجام خودبخودی یک فرایند، لازم است تغییر انرژی آزاد (ΔG) آن منفی باشد: $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$، که در آن ΔG نیروی محرک، ΔH تغییر انتالپی حاصل از ایجاد و شکسته‌شدن پیوندها و ΔS تغییر در بی‌نظمی است. از آنجایی که، ΔH برای ذوب‌شدن و تبخیر مثبت است، واضح است که افزایش آنتروپی (ΔS) سبب منفی‌شدن ΔG و انجام این تغییرات می‌گردد.

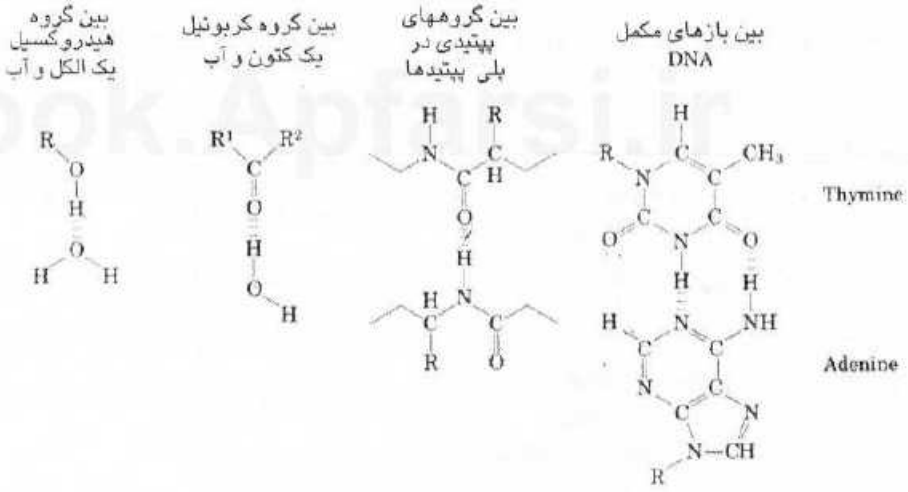
آب با مواد حل‌شده قطبی ایجاد پیوندهای هیدروژنی می‌نماید

پیوندهای هیدروژنی منحصر به آب نمی‌باشد. این پیوندها براحتی بین یک اتم الکترونگاتیو (گیرنده هیدروژن معمولاً اکسیژن یا نیتروژن دارای یک جفت الکترونی تنها) و اتم هیدروژنی ایجاد می‌گردند که با پیوند کووالان به اتم الکترونگاتیو دیگر (دهنده هیدروژن) در همان ملکول و یا ملکول دیگر، اتصال دارد (شکل ۳-۴). اتم‌های هیدروژنی که به‌طورکووالان به اتم‌های کربن (که الکترونگاتیو نمی‌باشند) متصل هستند، در ایجاد پیوندهای هیدروژنی شرکت نمی‌کنند. این تفاوت توجیه می‌نماید که چرا بوتانل ($CH_3(CH_2)_2CH_2OH$) دارای نقطه ذوب نسبتاً بالا ۱۱۷°C بوده، درحالیکه نقطه ذوب بوتان ($CH_3(CH_2)_2CH_3$)، تنها ۰/۵ °C- می‌باشد.



شکل ۳-۴. پیوندهای هیدروژنی معمول در سیستم‌های بیولوژیک. گیرنده هیدروژن معمولاً اکسیژن یا نیتروژن می‌باشد.

بیوملکول‌های قطبی ولی غیریونیزه، نظیر قندها، براحتی در آب حل می‌شوند که علت آن اثر پایدارکنندگی پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های هیدروکسیل یا اتم اکسیژن کربونیل قند و ملکول‌های قطبی آب است. الکل‌ها، کتون‌ها و ترکیبات حاوی پیوندهای N-H، همگی با ملکول‌های آب ایجاد پیوندهای هیدروژنی نموده (شکل ۴-۴) و در آب محلول می‌باشند.



شکل ۴-۴. بعضی از پیوندهای هیدروژنی مهم بیولوژیک.



شکل ۵-۴. جهت‌گیری پیوند هیدروژنی. وقتی سه اتم شرکت‌کننده (در این حالت O، H و O) در یک خط مستقیم قرار دارند، جاذبه بین بارهای الکتریکی نسبی (شکل ۱-۴ را ببینید)، بیشترین میزان می‌باشد. وقتی بخشهای متصل‌شده از نظر ساختمانی تحت فشار باشند (برای مثال، وقتی به‌عنوان قسمتی از یک پروتئین واحد می‌باشند)، این وضعیت هندسی مطلوب ممکن است ایجاد نشده و پیوند هیدروژنی حاصل ضعیف‌تر خواهد بود.

وقتی ملکول‌های اتصال‌یافته به طریقی قرار می‌گیرند که واکنش متقابل الکترواستاتیک به حداکثر خود می‌رسد، پیوندهای هیدروژنی بیشترین قدرت را دارند؛ این حالت زمانی رخ می‌دهد که اتم هیدروژن و دو اتمی که آن را به اشتراک دارند، در خط مستقیم قرار گیرند و یا به عبارتی دیگر، اتم گیرنده در خط پیوند کووالان بین اتم دهنده و H باشد (شکل ۵-۴). بنابراین پیوندهای هیدروژنی کاملاً جهت‌دار بوده و می‌توانند دو ملکول یا دو گروه را در یک آرایش هندسی اختصاصی نگه دارند. همانطور که بعداً خواهیم دید، این خاصیت پیوندهای هیدروژنی سبب ایجاد ساختمان‌های سه‌بُعدی بسیار دقیق ملکول‌های پروتئین یا اسید نوکلئیک می‌گردد که پیوندهای هیدروژنی داخل‌ملکولی زیادی دارند.

آب با مواد حل‌شده باردار بطریق الکترواستاتیک واکنش می‌نماید

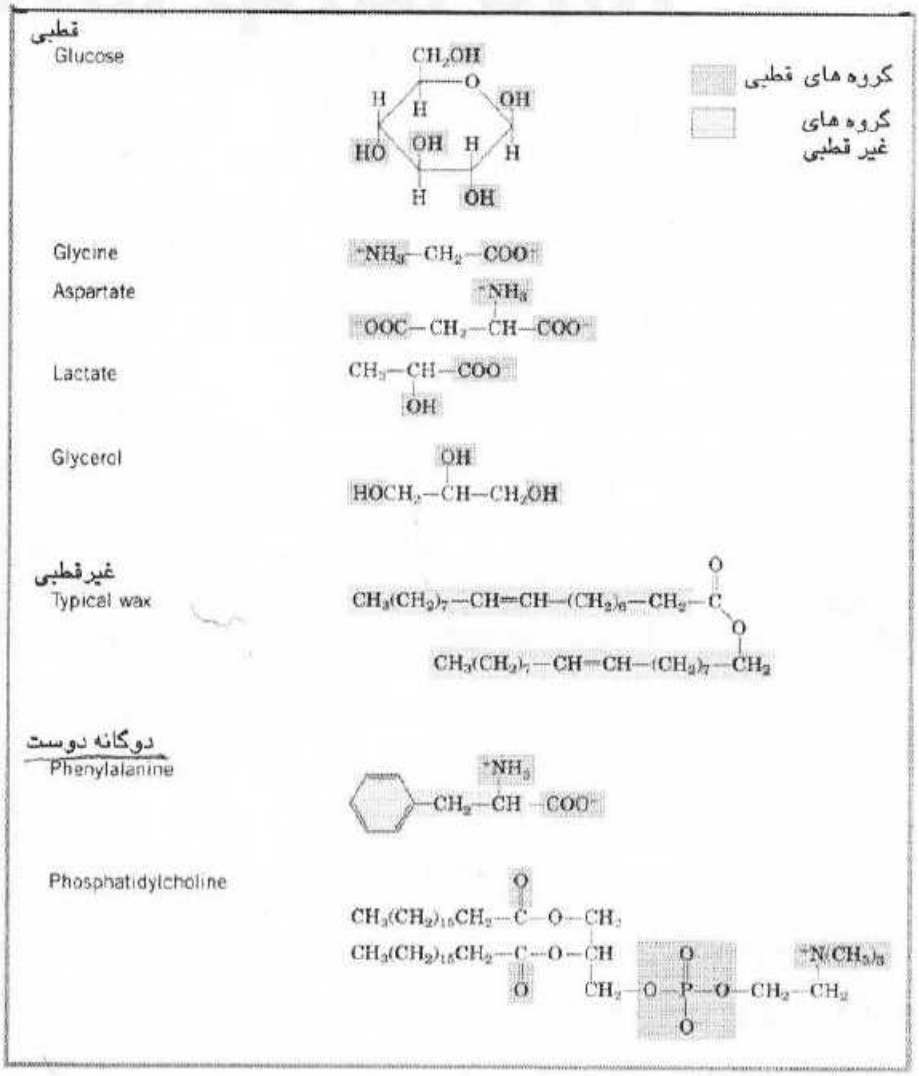
آب یک حلال قطبی است. این حلال براحتی اکثر بیوملکول‌هایی را حل می‌نماید که عموماً ترکیبات قطبی یا باردار می‌باشند (جدول ۲-۴). ترکیباتی که براحتی در آب حل می‌شوند را **هیدروفیل** (کلمه یونانی به معنی «آبدوست») می‌نامند. برعکس، حلال‌های غیرقطبی، نظیر کلروفورم و بنزن، حلال‌های ضعیفی برای بیوملکول‌های قطبی بوده ولی براحتی ملکول‌های **هیدروفوبیک** (آبگریز) یا غیرقطبی، نظیر لیپیدها و موم‌ها، را در خود حل می‌نمایند.

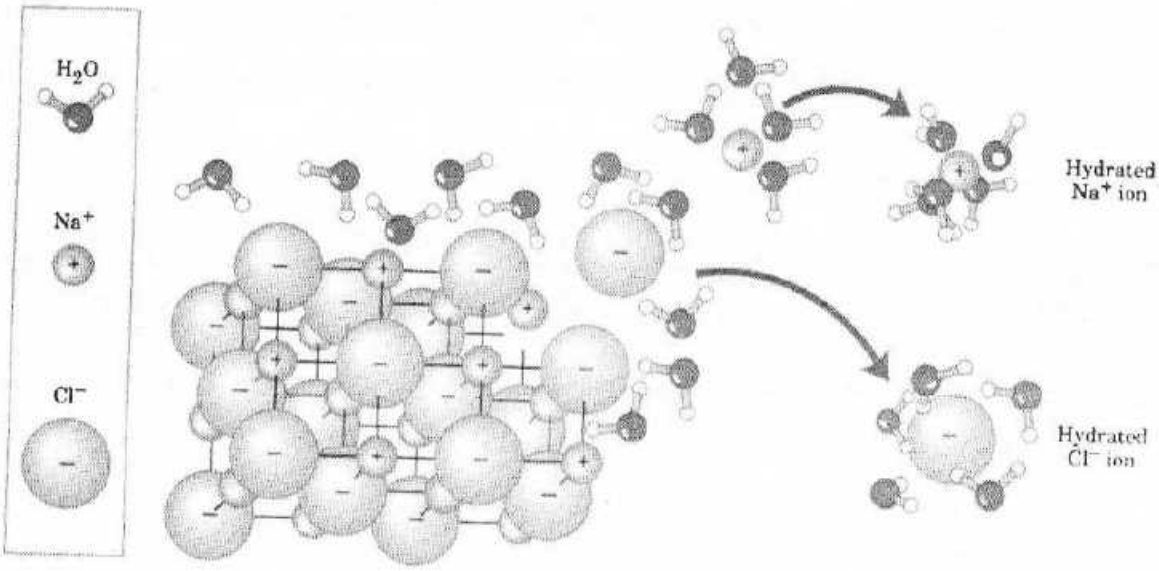
املاحی نظیر NaCl در آب حل می‌شوند؛ آب با هیدراته و تثبیت‌نمودن یون‌های Na^+ و Cl^-، واکنش‌های متقابل الکترواستاتیک موجود در بین آنها را تضعیف کرده و بنابراین مانع از به‌هم‌پیوستن مجدد آنها و ایجاد یک شبکه کریستالی می‌گردد (شکل ۶-۴). همین عوامل در مورد بیوملکول‌های باردار، ترکیباتی با گروه‌های عامل نظیر

Book.Apfarsi.ir

جدول ۲-۴. مثالهایی از بیوملکول‌های قطبی، غیرقطبی و دوگانه دوست (به صورت اشکال یونی در pH ۷ نشان داده شده‌اند)

Book.Apfarsi.ir





شکل ۶-۴. آب بسیاری از املاح کریستالی را با هیدراته نمودن یون‌های تشکیل‌دهنده آنها، محلول می‌نماید. وقتی ملکول‌های آب در اطراف یون‌های Na^+ و Cl^- تجمع می‌یابند، شبکه کریستالی NaCl از بین می‌رود. این بارهای یونی به‌طورنسبی خنثی هستند و جاذبه‌های الکترواستاتیکی لازم برای تشکیل شبکه ضعیف شده‌اند.

اسیدهای کربوکسیلیک یونیزه ($-COO^-$)، آمین‌های پروتونه ($-NH_3^+$) و استرهای فسفات یا انیدریدها، کاربرد دارند. آب با جایگزینی پیوندهای هیدروژنی موجود در بین ملکول‌های ماده حل‌شده با پیوندهای هیدروژنی بین ماده حل‌شده و آب و بنابراین برداشت واکنش‌های الکترواستاتیک موجود در بین ملکول‌های مواد حل‌شده، براحتی این مواد را حل می‌نماید.

به خاطر داشتن ثابت دی‌الکتریک بالا (یک خصوصیت فیزیکی که تعداد دو قطبی‌ها یا دی‌پول‌های یک حلال را نشان می‌دهد)، ملکول‌های آب به خصوص در برداشت واکنش‌های متقابل الکترواستاتیک بین یون‌های حل‌شده مؤثر می‌باشد. قدرت یا نیروی (F) واکنش‌های متقابل یونی در یک محلول بستگی به بزرگی بارها (Q)، فاصله بین گروه‌های باردار (r) و ثابت دی‌الکتریک (ε) حلالی که در آن واکنش‌های متقابل رخ می‌دهد، دارد:

$$F = \frac{Q_1 Q_2}{\epsilon r^2}$$

برای آب در ۲۵ °C، میزان ε (که فاقد واحد است) برابر ۷۸/۵ و برای حلال بسیار غیرقطبی بنزن، برابر ۴/۶ می‌باشد. بنابراین، واکنش‌های متقابل یونی در محیطهای کمتر قطبی، بسیار قویتر می‌باشد. وابستگی به r^2 طوری است که جاذبه‌ها و دافعه‌های یونی تنها در فواصل کوتاهی (در دامنه ۱۰ تا ۴۰ nm، برحسب غلظت الکترولیت، و زمانیکه آب به‌عنوان حلال است) مؤثر می‌باشند.

با حل‌شدن مواد کریستالی آنتروپی افزایش می‌یابد

وقتی نمکی نظیر NaCl در آب حل می‌شود، یون‌های Na^+ و Cl^- که از شبکه کریستالی جدا می‌گردند، آزادی حرکت بسیار بیشتری پیدا می‌نمایند (شکل ۶-۴). افزایش آنتروپی (بی‌نظمی) حاصل در سیستم، بیشترین نقش را در سادگی انحلال املاحی نظیر NaCl در آب دارد. طبق اصول ترمودینامیک، تشکیل محلول همراه با تغییر مساعدی در انرژی آزاد می‌باشد؛ $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$، که در آن ΔH دارای مقدار مثبت کوچکی بوده و $T\Delta S$ میزان مثبت بزرگی است؛ بنابراین ΔG منفی می‌باشد.

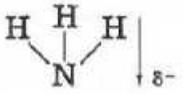
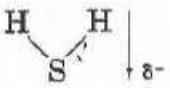
گازهای غیرقطبی در آب حلالیت ضعیفی دارند

ملکول گازهای مهم بیولوژیک CO_2، O_2 و N_2، غیرقطبی می‌باشند. در O_2 و N_2، الکترون‌ها به‌طورمساوی توسط هر دو اتم به اشتراک گذاشته شده‌اند. در CO_2، هر پیوند C=O قطبی بوده ولی این دو دوقطبی در دو جهت مخالف قرار داشته و اثر یکدیگر را خنثی می‌نمایند (جدول ۳-۴). حرکت ملکول‌ها از فاز گازی نامنظم به محلول آبی، حرکت این ملکول‌ها و حرکت ملکول‌های آب را محدود نموده و بنابراین سبب کاهش آنتروپی می‌گردد. ماهیت غیرقطبی این گازها و کاهش آنتروپی با ورود آنها به محلول، مجموعاً حلالیت این ملکول‌های گازی را در آب بسیار ضعیف می‌نماید (جدول ۳-۴). بعضی از موجودات دارای پروتئین‌های ناقل محلول در آب (برای مثال، هموگلوبین و میوگلوبین) هستند که انتقال O_2 را تسهیل می‌کنند. دی‌اکسید کربن در محلول آبی ایجاد اسید کربنیک (H_2CO_3) نموده و به شکل یون HCO_3^- (بیکربنات)، یا به صورت آزاد (بیکربنات در آب بسیار محلول است؛ حدود ۱۰۰ g/L در ۲۵ °C) یا متصل به هموگلوبین، انتقال می‌یابد.

دو گاز دیگر، یعنی NH_3 و H_2S، در بعضی از موجودات دارای اعمال بیولوژیکی هستند؛ این گازها قطبی بوده و به راحتی در آب حل می‌گردند.

Book.Apfarsi.ir

جدول ۳-۴. حلالیت تعدادی از گازها در آب

گاز	ساختمان*	قطبیت	حلالیت در آب (g/L)+
نیتروژن	$N \equiv N$	غیرقطبی	۰/۰۱۸ (۴۰°C)
اکسیژن	$O = O$	غیرقطبی	۰/۰۳۵ (۵۰°C)
دی‌اکسیدکربن	$\overset{\delta-}{\leftarrow} \quad \overset{\delta-}{\rightarrow}$ $O=C=O$	غیرقطبی	۰/۹۷ (۴۵°C)
آمونیاک		قطبی	۹۰۰ (۱۰°C)
سولفید هیدروژن		قطبی	۱,۸۶۰ (۴۰°C)

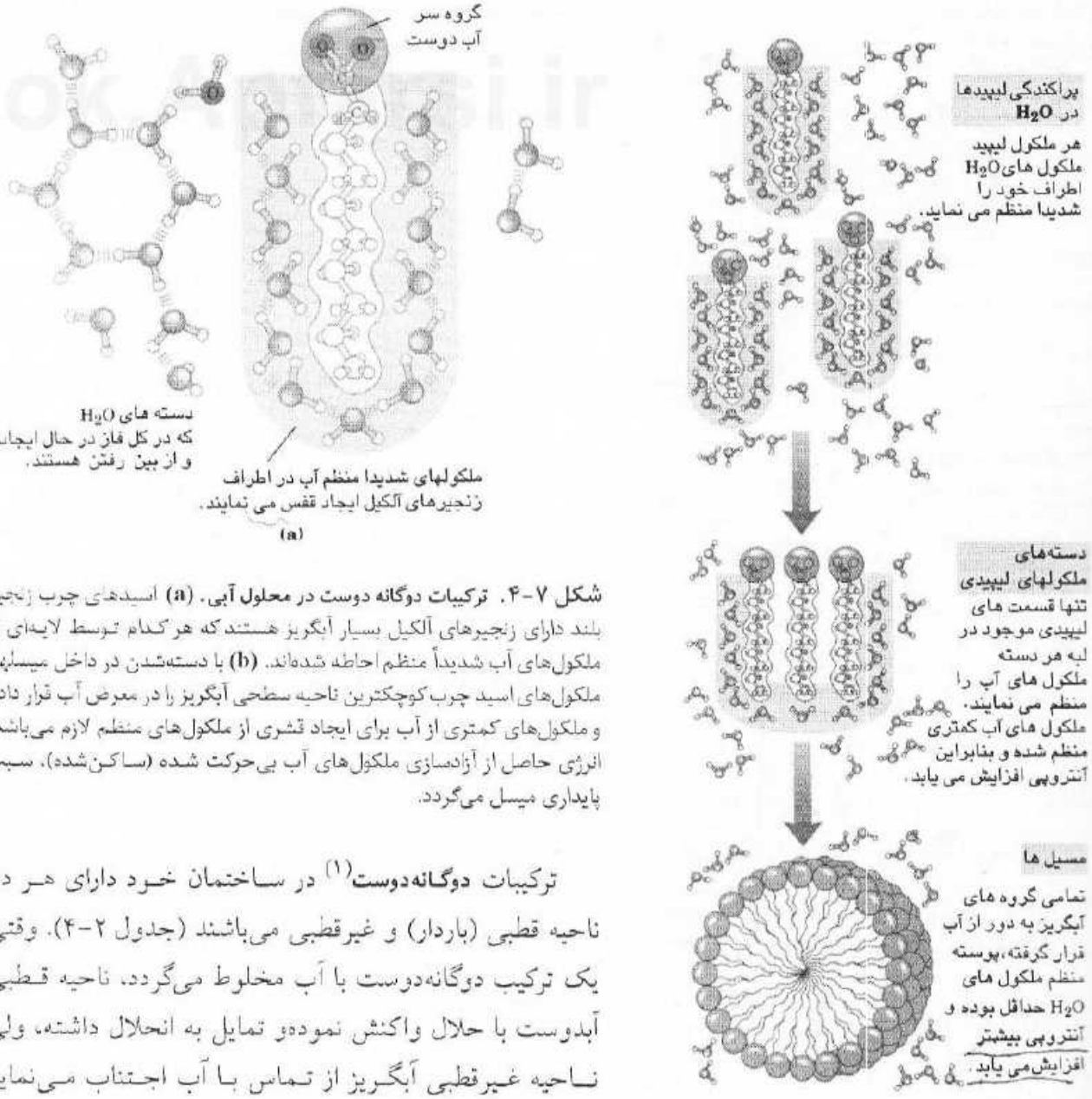
* پیکان‌ها دوقطبی‌های الکتریکی را نشان می‌دهند؛ یک بار منفی نسبی ($-\delta$) در سر پیکان و یک بار مثبت نسبی ($+\delta$، نشان داده نشده)، در دم پیکان وجود دارد.

+ به حلالیت بهتر ملکول‌های قطبی حتی در درجه حرارت‌های پائین، نسبت به ملکول‌های غیرقطبی در درجه حرارت‌های نسبتاً بالا، توجه نمائید.

ترکیبات غیرقطبی سبب تغییراتی در ساختمان آب می‌گردند که از نظر انرژتیک مساعد نمی‌باشند

وقتی آب با بنزن یا هگزان مخلوط می‌گردد، دو فاز تشکیل می‌دهند؛ هیچکدام از مایعات در دیگری حل نمی‌شود. ترکیبات غیرقطبی، نظیر بنزن و هگزان، آبگریز می‌باشند؛ این ترکیبات نمی‌توانند واکنش‌های متقابلی را با ملکول‌های آب ایجاد کنند که از نظر انرژتیک مساعد باشند، و در واقع با پیوندهای هیدروژنی موجود در بین ملکول‌های آب ایجاد تداخل می‌نمایند. تمامی ملکول‌ها و یون‌های موجود در محلول آبی با پیوند هیدروژنی بعضی از ملکول‌های آب موجود در مجاورت خود تداخل نموده، ولی مواد حل‌شده قطبی یا باردار (نظیر NaCl) با ایجاد واکنش‌های متقابل جدید بین ماده حل‌شده و آب، از دست‌رفتن پیوندهای هیدروژنی موجود در بین ملکول‌های آب را جبران می‌نمایند. تغییر خالص انتالپی (ΔH) حل‌شدن این مواد، عموماً کوچک می‌باشد. هرچند مواد حل‌شده آبگریز، سبب چنین جبرانی نشده و بنابراین افزودن آنها به آب ممکن است منجر به افزایش کوچک انتالپی گردد؛ شکسته‌شدن پیوندهای هیدروژنی بین ملکول‌های آب، از سیستم انرژی می‌گیرد. ازاینرو، انحلال ترکیبات آبگریز در آب سبب کاهش قابل‌اندازه‌گیری در آنتروپی می‌شود. ملکول‌های آب موجود در مجاورت یک ماده حل‌شده غیرقطبی، از نظر اتخاذ موقعیتهای ممکن تحت فشار بوده و ایجاد یک شبکه قفس مانند شدیداً منظم در اطراف هر ملکول حل‌شده می‌نمایند. این ملکول‌های آب از نظم فوق‌العاده موجود در ملکول‌های ترکیب کریستالی یک ماده غیرقطبی حل‌شده و آب (یک **کلاترات**[1]) برخوردار نبوده ولی اثر در هر دو حالت یکسان می‌باشد: منظم‌شدن ملکول‌های آب، سبب کاهش آنتروپی می‌گردد. تعداد ملکول‌های منظم‌شده آب و بنابراین بزرگی کاهش آنتروپی، متناسب با وسعت ناحیه‌ای از ماده حل‌شده آبگریزی است که توسط قفس ملکول‌های آب دربر گرفته می‌شود. بنابراین، تغییر انرژی آزاد برای انحلال یک ماده حل‌شده غیرقطبی در آب، نامساعد می‌باشد $\Delta G = \Delta H - T\Delta S$ که در آن ΔH دارای مقدار مثبت، ΔS دارای مقدار منفی و ΔG مثبت است.

1. Clathrate



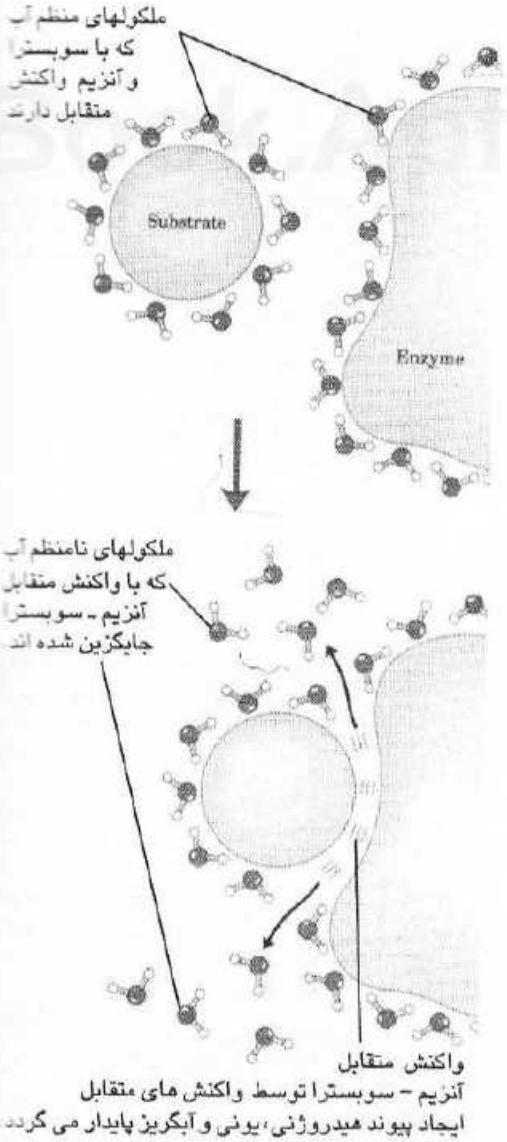
شکل ۷-۴. ترکیبات دوگانه دوست در محلول آبی. (a) اسیدهای چرب زنجیر بلند دارای زنجیرهای آلکیل بسیار آبگریز هستند که هر کدام توسط لایه‌ای از ملکول‌های آب شدیداً منظم احاطه شده‌اند. **(b)** با دسته‌شدن در داخل میسلها، ملکول‌های اسید چرب کوچکترین ناحیه سطحی آبگریز را در معرض آب قرار داده و ملکول‌های کمتری از آب برای ایجاد قشری از ملکول‌های منظم لازم می‌باشد. انرژی حاصل از آزادسازی ملکول‌های آب بی‌حرکت شده (ساکن‌شده)، سبب پایداری میسل می‌گردد.

ترکیبات **دوگانه‌دوست**[1] در ساختمان خود دارای هر دو ناحیه قطبی (باردار) و غیرقطبی می‌باشند (جدول ۲-۴). وقتی یک ترکیب دوگانه‌دوست با آب مخلوط می‌گردد، ناحیه قطبی آبدوست با حلال واکنش نموده و تمایل به انحلال داشته، ولی ناحیه غیرقطبی آبگریز از تماس با آب اجتناب می‌نماید (شکل ۷a-۴). نواحی غیرقطبی این ملکول‌ها با یکدیگر ایجاد دستجاتی به شکل کوچکترین ناحیه آبگریز در حلال آبی می‌نمایند و نواحی قطبی طوری آرایش‌یافته تا واکنش‌های متقابل آن با حلال به حداکثر برسد (شکل ۷b-۴). این ساختمانهای پایدار ترکیبات دوگانه‌دوست در آب را **میسل** گویند و ممکن است حاوی صدها یا هزاران ملکول باشند. نیروهایی که نواحی غیرقطبی ملکول‌ها را در کنار یکدیگر قرار می‌دهند، **واکنش‌های متقابل آبگریز** گویند. قدرت واکنش‌های متقابل آبگریز، به خاطر جاذبه داخلی بین قسمتهای غیرقطبی نمی‌باشد. بلکه، این واکنش‌ها ناشی از رسیدن سیستم به بیشترین پایداری ترمودینامیکی یا به حداقل رساندن تعداد ملکول‌های آب منظم مورد نیاز برای احاطه قسمتهای آبگریز ملکول‌های حل‌شده، می‌باشد.

بسیاری از بیوملکول‌ها دوگانه‌دوست هستند؛ پروتئین‌ها، رنگدانه‌ها، بعضی ویتامینها و استرولها و فسفولیپیدهای غشاءها، همگی دارای سطوح قطبی و غیرقطبی می‌باشند. ساختمانهای متشکل از این ملکول‌ها توسط واکنش‌های متقابل آبگریز در بین نواحی غیرقطبی پایدار می‌شوند. واکنش‌های آبگریز موجود در بین لیپیدها

1. Amphipathic

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۴. آزادسازی ملکول‌های منظم آب، تشکیل یک کمپلکس آنزیم-سوبسترا را مساعدت می‌نماید. وقتی آنزیم و سوبسترا جدا می‌باشند، ملکول‌های آب مجاور خود را به شکل یک قشر منظم در می‌آورند. با اتصال سوبسترا به آنزیم، مقداری از این ملکول‌های منظم آب رها شده و افزایش آنتروپی حاصل، نیروی ترمودینامیکی را در جهت ایجاد کمپلکس آنزیم-سوبسترا فراهم می‌کند.

و همچنین بین لیپیدها و پروتئین‌ها، مهمترین شاخص‌های ساختمانی در غشاءهای بیولوژیک می‌باشند. واکنش‌های متقابل آبگریز موجود در بین اسیدهای آمینه غیرقطبی نیز سبب پایداری الگوهای تاشدن سه‌بعدی پروتئین‌ها می‌گردند.

پیوند هیدروژنی موجود در بین ملکول‌های آب و ماده حل‌شده نیز مقداری نظم در ملکول‌های آب ایجاد می‌نماید، ولی این اثر دارای اهمیت کمتری نسبت به مواد حل‌شده غیرقطبی است. قسمتی از نیروی پیش برنده اتصال یک سوبسترا قطبی (واکنشگر) به سطح قطبی مکمل یک آنزیم، افزایش آنتروپی ناشی از جایگزینی آنزیم بجای ملکول‌های منظم آب موجود در اطراف سوبسترا می‌باشد (شکل ۸-۴).

واکنش‌های متقابل واندروالس، جاذبه‌های ضعیف بین اتمی هستند

وقتی دو اتم بدون بار در نزدیکی یکدیگر قرار می‌گیرند، تغییرات تصادفی در موقعیت الکترون‌ها حول یک هسته ممکن است یک دوقطبی موقتی را ایجاد نماید که سبب القاء یک دوقطبی الکتریکی مخالف موقتی در اتم مجاور شود. این دو دوقطبی یکدیگر را به‌طور ضعیفی جذب نموده و دو هسته را نزدیک‌تر می‌نمایند. این جاذبه‌های ضعیف را **واکنش‌های متقابل واندروالس** گویند. وقتی دو هسته به یکدیگر نزدیک‌تر می‌گردند، ابرهای الکترونی آنها شروع به دفع یکدیگر می‌نمایند. در نقطه‌ای که جاذبه واندروالسی دقیقاً با نیروی دافعه متعادل می‌باشد، گفته می‌شود که هسته‌ها در تماس واندروالس می‌باشند. هر اتم دارای یک **شعاع واندروالس** مشخصی است که نشان می‌دهد اتم دیگر به چه اندازه می‌تواند نزدیک آن اتم گردد (جدول ۱-۳ را ببینید). در مدلهای ملکولی فضاپرکن که در سراسر این کتاب نشان داده شده‌است (برای مثال شکل ۳-۷c را ببینید)، اتم‌ها براساس اندازه متناسب با شعاع‌های واندروالس آنها ترسیم شده‌اند.

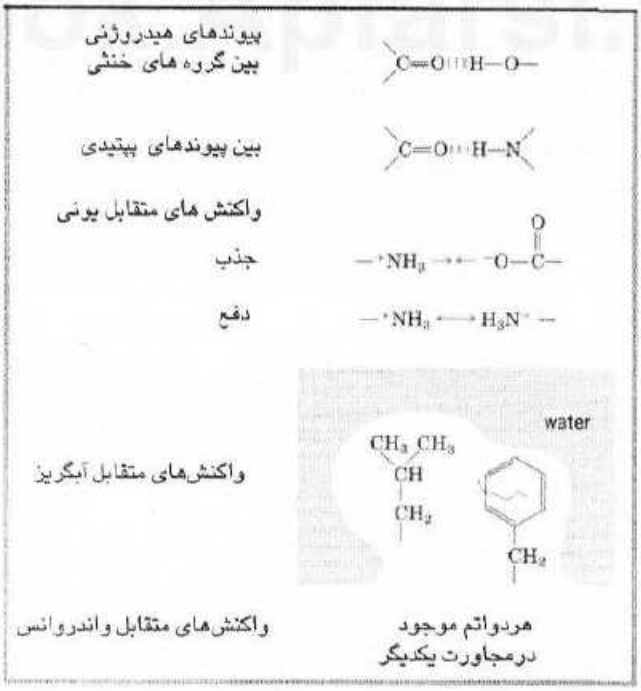
واکنش‌های ضعیف نقش مهمی در ساختمان و عمل ماکروملکولی دارند

واکنش‌های متقابل غیرکووالان شرح‌داده‌شده (پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی، آبگریز و واندروالس) (جدول ۴-۴)، بسیار ضعیف‌تر از پیوندهای کووالان می‌باشند. برای شکستن یک مول (6×10^{23}

Book.Apfarsi.ir

پیوند یگانه C-C، نیاز به حدود ۳۵۰ kJ و برای شکستن یک مول پیوند C-H، نیاز به ۴۱۰ kJ انرژی می‌باشد ولی این میزان برای شکستن یک مول واکنش متقابل واندروالس تنها ۴ kJ است. واکنش‌های متقابل بگریز بسیار ضعیف‌تر از پیوندهای کووالان می‌باشند، هرچند این پیوندها اساساً توسط یک حلال شدیداً قطبی (مثلاً یک محلول نمکی غلیظ) تقویت می‌گردند. برحسب قطبیت حلال، واکنش‌های متقابل یونی و پیوندهای هیدروژنی از نظر قدرت متفاوت می‌باشند، ولی همیشه از پیوندهای کووالان به مراتب ضعیف‌تر هستند. در حلال آبی و در ۲۵°C، انرژی حرارتی قابل‌دسترسی می‌تواند به همان بزرگی قدرت این واکنش‌های متقابل ضعیف بوده و واکنش متقابل بین حلال (آب) و ماده حل‌شده تقریباً به اندازه واکنش‌های متقابل بین ملکول‌های ماده حل‌شده مساعد می‌باشد. در نتیجه، پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی، آبگریز و واندروالس به‌طور دائمی در حال تشکیل و شکسته‌شدن می‌باشند.

جدول ۴-۴. چهار نوع واکنش متقابل غیرکووالان (ضعیف) در بین بیوملکول‌های موجود در حلال آبی



با وجود اینکه این چهار نوع واکنش متقابل به تنهایی در مقایسه با پیوندهای کووالان ضعیف می‌باشند، اثر جمعی تعداد زیادی از این نوع واکنش‌های متقابل با یک پروتئین یا اسید نوکلئیک می‌تواند بسیار قابل‌توجه باشد. برای مثال، اتصال غیرکووالان یک آنزیم به سوبسترا خود ممکن است توسط چندین پیوند هیدروژنی و یا چند واکنش متقابل یونی و همچنین واکنش‌های متقابل آبگریز و واندروالس، به انجام برسد. تشکیل هر کدام از این پیوندهای ضعیف همراه با کاهش مشخصی در انرژی آزاد سیستم می‌باشد. پایداری یک واکنش متقابل غیرکووالان، نظیر واکنش متقابل غیرکووالانی که در آن یک ملکول کوچک با پیوندهای هیدروژنی به جفت ماکروملکولی خود اتصال می‌یابد، از انرژی اتصالی قابل محاسبه می‌باشد. پایداری که توسط ثابت تعادل (قسمت پایین را ببینید) واکنش اتصالی اندازه‌گیری می‌شود، به‌طور تصاعدی با انرژی اتصالی تغییر می‌نماید. تفکیک دو ملکولی که توسط واکنش‌های متقابل ضعیف غیرکووالان به یکدیگر متصل شده‌اند (مثل اتصال آنزیم و سوبسترا) نیاز به ازبین رفتن تمامی این واکنش‌های متقابل در یک زمان دارد. از آنجایی که این واکنش‌های متقابل به‌طورانفاقی دستخوش تغییر می‌گردند، چنین عمل همزمانی بسیار غیرمحتمل می‌باشد. بنابراین، پایداری ملکولی حاصل از ۲ یا ۵ یا ۲۰ واکنش متقابل ضعیف، بسیار بیشتر از میزان مورد انتظار برای جمع ساده انرژی‌های اتصالی کوچک می‌باشد.

ماکروملکول‌ها، نظیر پروتئین‌ها، DNA و RNA، دارای جایگاه‌های متعدد زیادی جهت ایجاد پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی، آبگریز و واندروالس بوده و اثر جمعی این نیروهای متعدد اتصالی کوچک، بیشتر می‌باشد. برای ماکروملکول‌ها، پایدارترین ساختمان (شکل طبیعی)، حالتی است که در آن احتمال ایجاد پیوندهای ضعیف حداکثر می‌باشد. تاشدن یک زنجیر پلی‌پپتیدی یا پلی‌نوکلئوتیدی واحد به شکل ساختمان

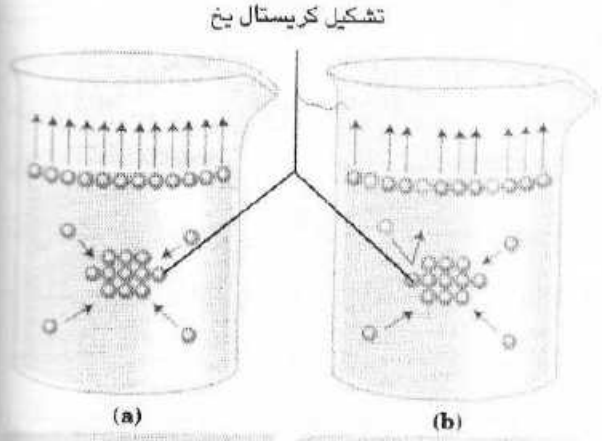
Book.Apfarsi.ir

سه‌بُعدی خود، با این اصل تعیین می‌گردد. اتصال یک آنتی‌ژن به یک آنتی‌بادی اختصاصی بستگی به اثرات جمعی بسیاری از واکنش‌های متقابل ضعیف دارد. همانطور که در ابتدا اشاره گردید، انرژی حاصل از اتصال غیرکووالان آنزیم به سوبسترا، منبع اصلی قدرت کاتالیتیکی آنزیم می‌باشد. اتصال یک هورمون یا نوروترانسمیتر به پروتئین گیرنده سلولی خود، نتیجه واکنش‌های متقابل ضعیف است. یکی از نتایج اندازه بزرگ آنزیم‌ها و گیرنده‌ها این است که سطح زیادی را برای ایجاد فرصت‌های متعدد جهت واکنش‌های ضعیف فراهم می‌سازد. در سطح ملکولی، مکمل‌بودن بیوملکول‌های واکنش‌دهنده انعکاسی از مکمل‌بودن واکنش‌های متقابل گروه‌های قطبی، باردار، و آبگریز موجود در سطح این ملکول‌ها می‌باشد.

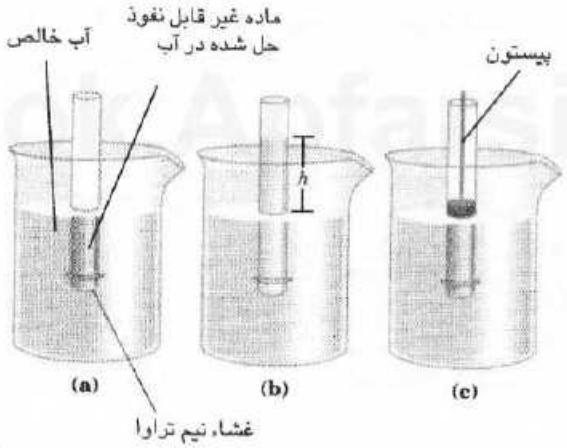
مواد حل‌شده بر روی ویژگی‌های کولیگاتیو محلول‌های آبی اثر دارند

مواد حل‌شده از انواع مختلف سبب تغییر بعضی از ویژگی‌های فیزیکی حلال (آب)، شامل فشار بخار، نقطه تبخیر، نقطه ذوب (نقطه انجماد) و فشار اسموتیک، می‌گردد. مجموعاً به این ویژگی‌ها **خواص کولیگاتیو** («به یکدیگرگره‌خورده») گفته می‌شود، زیرا اثر ماده حل‌شده برای هر چهار خصوصیت، اساس یکسانی دارد: غلظت آب در محلول کمتر از آب خالص می‌باشد. اثر غلظت ماده حل‌شده بر روی خواص کولیگاتیو آب مستقل از ویژگی‌های شیمیایی ماده حل شده بوده و تنها بستگی به *تعداد* ذرات ماده حل‌شده (ملکول‌ها، یون‌ها) در مقدار مشخصی از آب دارد. برای مثال، ترکیبی مانند NaCl که در داخل محلول تفکیک می‌شود، در مقایسه با تعداد مولهای برابر ماده غیرقابل‌تفکیک مثل گلوکز، دارای اثر دو برابر بر روی فشار اسموتیک می‌باشد.

مواد حل‌شده با کاهش غلظت مؤثر آب، سبب تغییر خواص کولیگاتیو محلول‌های آبی می‌گردند. برای مثال، وقتی کسر قابل‌توجهی از ملکول‌های موجود در سطح یک محلول آبی، ملکول آب نبوده و ملکول ماده حل‌شده باشد، تمایل ملکول‌های آب برای فرار به فاز گازی (فشار بخار) کاهش می‌یابد (شکل ۹-۴). به‌طورمشابه، تمایل ملکول‌های آب برای حرکت از فاز آبی به سطح یک کریستال تشکیل‌دهنده یخ در زمانیکه بعضی از ملکول‌هایی که با کریستال تصادم می‌نمایند، از ماده حل‌شده بوده و آب نباشد، کاهش می‌یابد. در این حالت، محلول آهسته‌تر از آب خالص و در یک درجه حرارت پایین‌تری یخ خواهد زد. برای یک محلول ۱/۰۰ مولال آبی (۱/۰۰ مول ماده حل‌شده



شکل ۹-۴ [شکل ۱ ضمیمه رنگی]. مواد حل‌شده خصوصیات کولیگاتیو محلول‌های آبی را تغییر می‌دهند. (a) در فشار ۱۰۱ kPa (۱ atm)، آب خالص در ۱۰۰ °C جوش آمده و در ۰ °C یخ می‌زند. **(b)** وجود ملکول‌های حل‌شده، احتمال خارج‌شدن یک ملکول آب از محلول و ورود به فاز گازی را کاهش داده و به موجب آن فشار بخار محلول را کاهش و نقطه جوش را افزایش می‌دهد. به‌طورمشابه، وقتی بعضی از ملکول‌های برخوردکننده و ایجادکننده کریستال، ملکول‌های مواد حل‌شده، و نه آب، باشد، احتمال اینکه یک ملکول آب با ملکول‌های دیگر تصادم نموده و ایجاد کریستال یخ را بنمایند، کاهش می‌یابد. نتیجه کاهش نقطه انجماد می‌باشد.



شکل ۱۰-۴. اسمز و اندازه‌گیری فشار اسموتیک. (a) حالت ابتدایی. لوله حاوی یک محلول آبی و بشر حاوی آب خالص بوده و یک غشاء نیمه‌تراوا امکان عبور آب را داده ولی مانع عبور ماده حل‌شده می‌گردد. آب از داخل بشر وارد لوله شده تا غلظت خود را در دو طرف غشاء متعادل نماید. **(b)** حالت پایانی. آب وارد محلول ترکیب غیرنافذ شده و با رقیق‌نمودن آن سبب افزایش ستون آب در داخل لوله می‌گردد. در حالت تعادل، نیروی وزن ستون محلول در لوله دقیقاً برابر با تمایل آب در حرکت به داخل لوله‌ای است که در آن غلظت کمتر می‌باشد. **(c)** فشار اسموتیک (Π) به صورت نیروی لازم برای برگرداندن محلول موجود در لوله تا سطح موجود در بشر، تعریف می‌گردد. این نیرو متناسب با ارتفاع، h ستون در **(b)** می‌باشد.

در هر ۱,۰۰۰ g آب) یک ماده حل‌شده غیرفرار و تفکیک‌نشده در فشار ۱۰۱ kPa (۱ atm)، نسبت به آب خالص، نقطه انجماد آن ۱/۸۶°C کمتر و نقطه جوش آن ۰/۵۱۳°C بیشتر می‌باشد. برای محلول‌های ۰/۱۰۰ مولال همین ماده حل‌شده، بزرگی این تغییرات یک دهم خواهد بود.

ملکول‌های آب تمایل دارند که از یک ناحیه با غلظت بیشتر آب به یک ناحیه با غلظت کمتر حرکت نمایند. وقتی دو محلول آبی متفاوت توسط یک غشاء نیمه‌تراوا (غشایی که اجازه عبور آب را داده ولی مانع عبور ماده حل‌شده می‌شود) از یکدیگر جدا گردند، انتشار ملکول‌های آب از ناحیه با غلظت بیشتر آب به ناحیه با غلظت کمتر آب، تولید فشار اسموتیک می‌نماید (شکل ۱۰-۴). این فشار، **Π**، که براساس نیروی لازم برای مقاومت در برابر حرکت آب، اندازه‌گیری می‌شود، توسط معادله وانتهوف برآورد می‌گردد:

$$\Pi = icRT$$

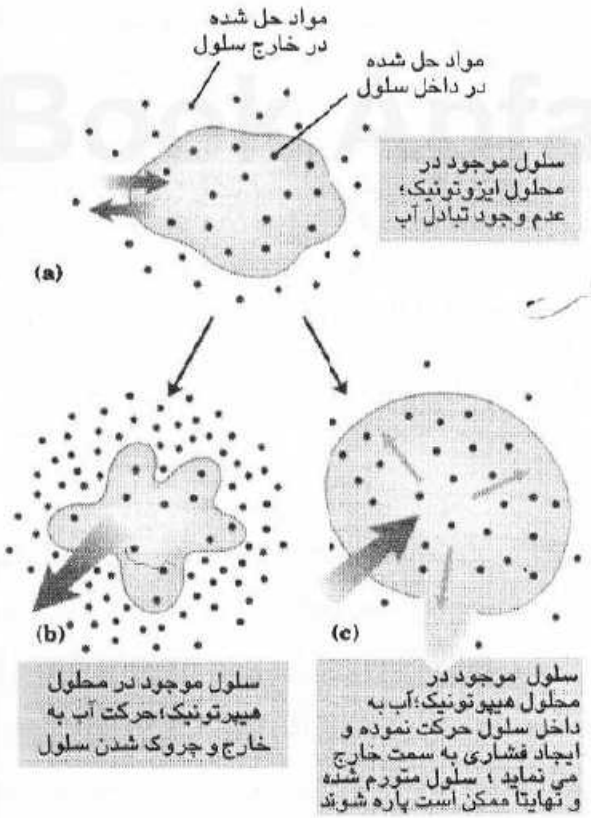
که در آن R ثابت گازی و T دمای مطلق می‌باشد. اصطلاح ic **اسمولاریتی** محلول می‌باشد که حاصل‌ضرب غلظت مولی ماده حل‌شده (c) در فاکتور وانتهوف (i) است؛ فاکتور وانتهوف معیاری از میزان تفکیک ماده حل‌شده به دو یا چند جزء یونی است. در محلول‌های رقیق NaCl، این ماده حل‌شده به‌طورکامل به Na^+ و Cl^- تفکیک شده و تعداد ذرات ماده حل‌شده را دو برابر می‌نماید؛ در این حالت i برابر ۲ خواهد بود. برای مواد حل‌شده غیرقابل‌تفکیک، i همیشه برابر یک می‌باشد. برای محلول‌های حاوی مواد حل‌شده متعدد (n)، Π مجموع همکاریهای مربوط به هر کدام می‌باشد:

$$\Pi = RT(i_1c_1 + i_2c_2 + \cdots + i_nc_n)$$

اسمز، حرکت آب از عرض یک غشاء نیمه‌تراوا به واسطه تفاوت در فشارهای اسموتیک، عامل مهمی در حیات اکثر سلول‌ها می‌باشد. غشاءهای پلاسمایی نسبت به آب در مقایسه با سایر ملکول‌های کوچک، یون‌ها و ماکروملکول‌ها، نفوذپذیرتر می‌باشد. این نفوذپذیری تا حدودی به خاطر انتشار ساده آب از لابلای دولایه لیپیدی و قسمتی بواسطه کانال‌های پروتئینی (اکواپورین‌ها[1]) موجود در غشاء می‌باشد که به‌طورانتخابی اجازه عبور آب را می‌دهند. محلول‌های دارای اسمولاریتی برابر را **ایزوتونیک** گویند. سلولی که در یک محیط ایزوتونیک قرار گرفته

1. Aquaporines

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۴. اثر اسمولاریتی خارج‌سلولی بر روی حرکت آب در عرض یک غشاء پلاسمایی. وقتی یک سلول که در تعادل اسموتیک با محیط اطراف خود می‌باشد (یعنی در یک محیط ایزوتونیک) **(a)**، به یک محلول هیپرتونیک **(b)** یا هیپوتونیک **(c)** انتقال داده می‌شود، آب از عرض غشاء پلاسمایی و در جهت برابرنمودن اسمولاریتی داخل و خارج سلول حرکت می‌نماید.

است، نه آب می‌گیرد و نه آب ازدست می‌دهد (شکل ۱۱-۴). در محلول **هیپرتونیک** (محلولی با اسمولاریتی بیش از سیتوزول)، در اثر خروج آب، سلول چروکیده می‌شود. در محلول **هیپوتونیک** (دارای اسمولاریتی کمتر)، سلول متورم شده و در صورتی که توسط دیواره سلولی محافظت نگردد، نهایتاً پاره می‌شود. سلول‌ها در مقایسه با محیط‌های اطراف آنها، عموماً دارای غلظتهای بیشتر بیوملکول‌ها و یون‌ها می‌باشند، ازاینرو فشار اسموتیک تمایل دارد که آب را به داخل سلول‌ها بکشاند. درصورتیکه به طریقی با این حرکت رو به داخل آب مقابله نگردد، غشاء پلاسمایی بزرگ شده و نهایتاً منجر به انفجار سلولی (لیز اسموتیک) می‌شود.

برای جلوگیری از این اتفاق سه مکانیسم وجود دارد. در باکتریها و گیاهان، در اطراف غشاء پلاسمایی یک دیواره سلولی غیرقابل‌توسعه قرار گرفته است که به اندازه کافی برای مقاومت در برابر فشار اسموتیک و جلوگیری از لیز اسموتیک، سخت و قوی می‌باشد. بعضی از تک‌سلولی‌های آب تازه که در داخل محیط شدیداً هیپوتونیک زندگی می‌کنند، دارای اندامکی (واکوئل انقباضی) می‌باشند که آب را به خارج سلول پمپ می‌نماید. در موجودات پرسلولی، پلاسمای خون و مایع بینابینی (مایع خارج‌سلولی بافت‌ها) در اسمولاریتی در حدود اسمولاریتی سیتوزول حفظ می‌گردند. غلظت بالای آلبومین و سایر پروتئین‌ها در پلاسمای خون در ایجاد اسمولاریتی آن نقش دارند. سلول‌ها نیز به‌طورفعال یون‌هایی نظیر Na^+ را به خارج سلول و به داخل مایع بینابینی پمپ می‌نمایند تا تعادل اسموتیک آنها با محیط اطراف حفظ گردد.

چون اثر مواد حل‌شده بر روی اسمولاریتی بستگی به تعداد ذرات حل‌شده و نه جرم آنها دارد، ماکروملکول‌ها (پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و پلی‌ساکاریدها)، در مقایسه با جرم برابری از اجزاء منومری خود، دارای اثر بسیار کمتری بر روی اسمولاریتی یک محلول می‌باشند. برای مثال، یک گرم پلی‌ساکارید متشکل از ۱،۰۰۰ واحد گلوکز، بر روی اسمولاریتی دارای اثر مشابه یک میلی‌گرم گلوکز است. یکی از دلایل ذخیره مواد سوختی به شکل پلی‌ساکاریدها (نشاسته و گلیکوژن) و نه به صورت گلوکز یا سایر قندهای ساده، جلوگیری از افزایش زیاد در فشار اسموتیک داخل سلول ذخیره‌ای است.

گیاهان از فشار اسموتیک برای رسیدن به سفتی مکانیکی استفاده می‌نمایند. غلظت بسیار بالای ماده حل‌شده در داخل راکوئل، آب را به داخل سلول می‌کشاند (شکل ۱۰-۲ را ببینید). فشار اسموتیک حاصل در برابر دیواره سلولی (فشار تورگور) سبب سفتی سلول، بافت و جسم گیاه می‌گردد. وقتی کاهو موجود در سالاد پژمرده می‌شود،

Book.Apfarsi.ir

علت آن از دست‌رفتن آبی می‌باشد که سبب کاهش فشار تورگور شده است. تغییرات برجسته فشار تورگور، سبب حرکت بخش‌هایی از گیاه می‌شود که در گیاهان حساس به تماس، نظیر گل حشره‌خوار زهره و گل ابریشم، مشاهده می‌گردد (کادر ۱-۴).

اسمز اثراتی در روشهای آزمایشگاهی دارد. برای مثال، میتوکندریها، کلروپلاستها و لیزوزومها توسط غشاءهای نیمه‌تراوا احاطه شده‌اند. برای جداسازی این اندامکها از سلول‌های لیزشده (شکل ۲۰-۲ را ببینید)، لازم است جداسازی در محلول‌های ایزوتونیک به انجام برسد. بافرهایی که اغلب برای جداسازیهای سلولی بکار می‌روند، معمولاً حاوی غلظتهای کافی (حدود ۰/۲ M) سوکروز یا ماده حل‌شده خنثی دیگر، برای حفاظت این اندامک‌ها در برابر لیز اسموتیک، می‌باشند.

یونیزاسیون آب، اسیدهای ضعیف و بازهای ضعیف

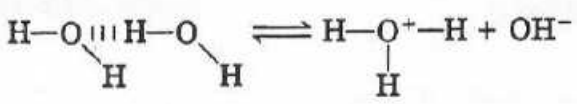
هر چند بسیاری از ویژگی‌های حلال آب را می‌توان با ملکول بدون بار H_2O شرح داد، شدت کم یونیزاسیون آب به یون‌های هیدروژن (H^+) و یون‌های هیدروکسیل (OH^-) نیز باید در نظر گرفته شود. همانند تمامی واکنش‌های برگشت‌پذیر، یونیزاسیون آب را می‌توان بوسیله ثابت تعادل بیان نمود. وقتی اسیدهای ضعیف در آب حل می‌گردند، با یونیزاسیون در تولید H^+ همکاری می‌نمایند؛ بازها با پروتونه‌شدن، H^+ را مصرف می‌کنند. این فرایندها نیز براساس ثابت‌های تعادلی به انجام می‌رسند. غلظت کل هیدروژن از منابع مختلف را می‌توان به‌طورتجربی اندازه‌گیری نمود و به صورت pH محلول بیان کرد. برای پیش‌بینی وضعیت یونیزاسیون مواد حل‌شده در آب، می‌بایست ثابت‌های تعادل مربوط به هر کدام از واکنش‌های یونیزاسیون را در نظر گرفت. از این‌رو حال به بحث خلاصه‌ای پیرامون یونیزاسیون آب و اسیدها و بازهای ضعیف حل‌شده در آب می‌پردازیم.

آب خالص قدری یونیزه می‌گردد

ملکول‌های آب تمایل جزئی برای یونیزاسیون قابل‌برگشت به یک یون هیدروژن (پروتون) و یک یون هیدروکسید در تعادل زیر دارند:

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^- \qquad (۴-۱)$$

هرچند، معمولاً محصول تفکیک آب به صورت H^+ نشان داده می‌شود، پروتونها به شکل آزاد در محلول وجود ندارند؛ زیرا یون‌های هیدروژن تولیدی در آب سریعاً به **یون‌های هیدرونیوم** (H_3O^+) هیدراته می‌گردند. ایجاد پیوند هیدروژنی بین ملکول‌های آب، هیدراتاسیون پروتونهای حاصل از تفکیک را آنی نموده است:

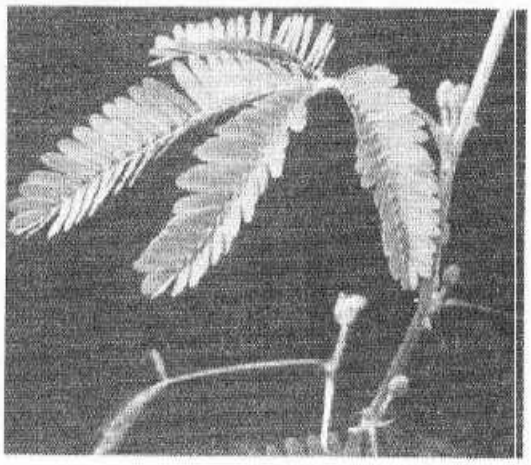


یونیزاسیون آب را می‌توان توسط هدایت الکتریکی آن اندازه‌گیری نمود؛ آب خالص، با حرکت H^+ به سمت کاتد و OH^- به سمت آند، جریان الکتریکی را هدایت می‌نماید. حرکت یون‌های هیدرونیوم و هیدروکسید در میدان الکتریکی، در مقایسه با یون‌های Na^+، K^+ و Cl^-، به‌طورغیرعادی سریعتر می‌باشد. این تحرک یونی بالا از «پرش

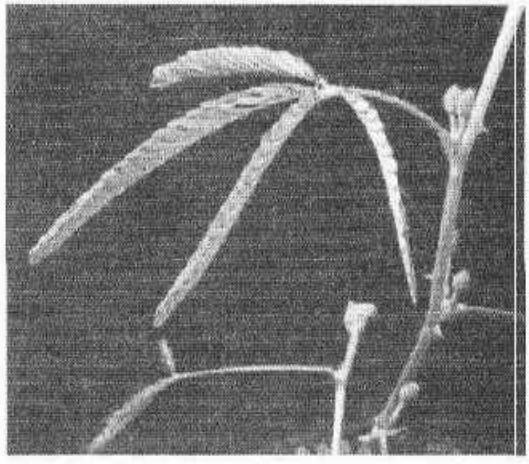
Book.Apfarsi.ir

کادر ۱-۴. پاسخ تماسی در گیاهان: یک رویداد اسموتیک

برگ‌های شدیداً اختصاصی گیاه حشره‌خوار ناهید (*Dionaea muscipula*) در اثر تماس با یک حشره، سریعاً به سمت یکدیگر تا شده و حشره را برای هضم بعدی بدام می‌اندازد. در هنگام جذب شهد گیاه موجود در سطح برگ، این حشره با سه موی حساس تماس حاصل نموده و منجر به بسته‌شدن برگ می‌گردد (شکل ۱). این حرکت برگ ناشی از تغییرات ناگهانی (ظرف ۰/۵ ثانیه) فشار تورگور در سلول‌های مزوفیلی (سلول‌های داخلی برگ) است که خود احتمالاً ناشی از رهاسازی یون‌های K^+ از سلول‌ها و خروج آب طی فرایند اسمز می‌باشد. غدد گوارشی موجود در سطح برگ، آنزیم‌هایی را آزاد می‌کنند که مواد غذایی را از حشره استخراج می‌نمایند.



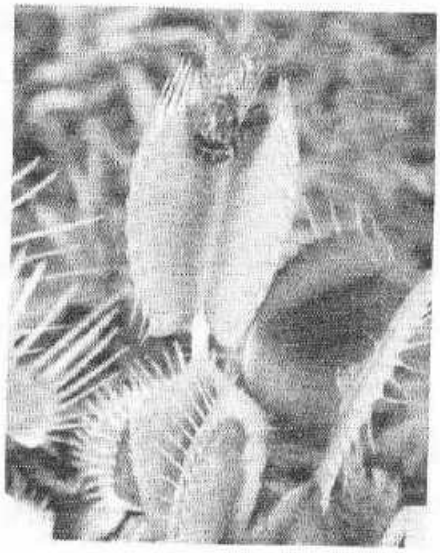
(a)



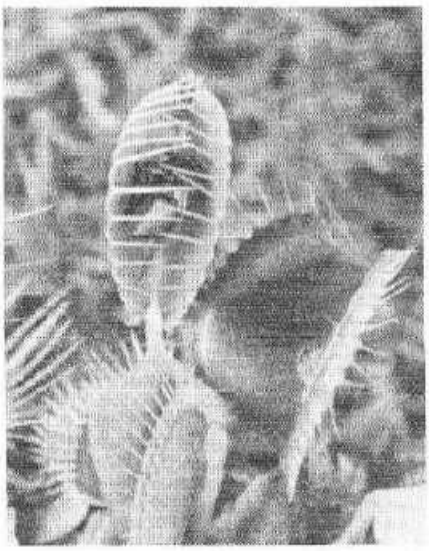
(b)

شکل ۱. پاسخ تماسی در گیاه حشره‌خوار ناهید. مگسی که به یک برگ باز نزدیک شده **(a)**، برای هضم توسط گیاه بدام می‌افتد **(b)**.

گیاه حساس (*Mimsoa pudica*) نیز متحمل یک تغییر مشخص در شکل برگ می‌گردد که با تماس مکانیکی آغاز می‌شود (شکل ۲). یک تماس نوری یا ارتعاشی منجر به سقوط ناگهانی برگ‌ها شده که حاصل کاهش مشخص فشار تورگور در سلول‌ها و در پایه هر برگچه و برگ می‌باشد. همانند گیاه حشره‌خوار ناهید، این کاهش فشار تورگور به خاطر رهاسازی K^+ و خروج آب می‌باشد.

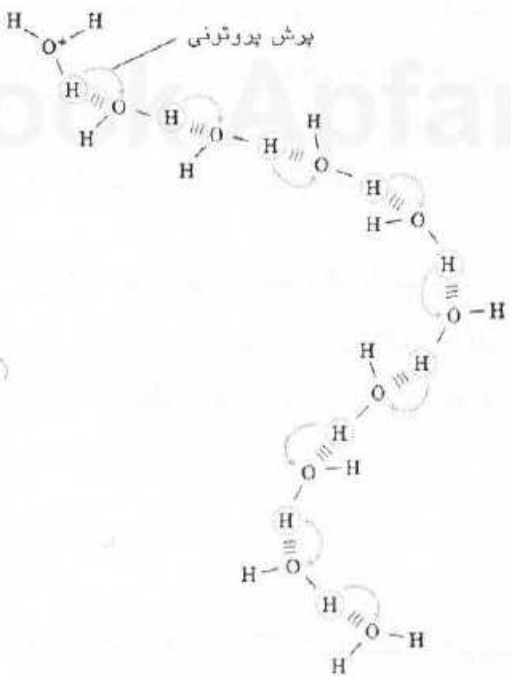


(a)



(b)

شکل ۲. برگچه‌های پرمانند گیاه حساس **(a)** بسته شده و می‌افتد **(b)** تا گیاه را از آسیب ساختمانی در برابر باد محافظت نماید.



شکل ۱۲-۴. پرش پروتونی. «پرش‌های» کوتاه پروتون‌ها بین یک سری ملکول‌های آب متصل به یکدیگر با پیوندهای هیدروژنی، منجر به حرکت خالص فوق‌العاده سریع یک پروتون در یک فاصله طولانی می‌گردد. وقتی یک یون هیدرونیوم (بالا چپ) یک پروتون از دست می‌دهد، یک ملکول آب کمی دورتر (پایین راست) یک پروتون را گرفته و تبدیل به یک یون هیدرونیوم می‌گردد. پرش‌های پروتونی، بسیار سریع‌تر از انتشار واقعی بوده و حرکت یونی بسیار بالای یون‌های هیدروژنی را در مقایسه با کاتیون‌های یک ظرفیتی دیگر، مثل Na^+ و K^+ را نشان می‌دهد.

پروتونی» حاصل شده، که در شکل ۱۲-۴ مشاهده می‌گردد. هیچ پروتونی فاصله زیادی را در حجم بزرگ محلول طی نمی‌نماید، بلکه یک سری پروتون بین ملکول‌های آبی که توسط پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل شده‌اند، پرش نموده و منجر به حرکت خالص یک پروتون در طول یک مسافت و در یک زمان به‌طورقابل‌توجه کوتاه می‌گردد. در نتیجه حرکت یونی بالای H^+ (و همچنین OH^- که سریعاً بوسیله پرش پروتونی، ولی در جهت مخالف، حرکت می‌نماید)، واکنش‌های اسید-باز در محلول‌های آبی عموماً و استثنائاً سریع هستند. به احتمال زیاد، پرش پروتونی در واکنش‌های بیولوژیکی انتقال پروتون نیز نقش دارد.

ازآنجایی که یونیزاسیون قابل‌برگشت برای ایفاء نقش آب در عملکرد سلولی مهم می‌باشد، می‌بایست راهی برای بیان کمی میزان یونیزاسیون آب داشته باشیم. مروری خلاصه بر بعضی خصوصیات واکنش‌های شیمیایی قابل‌برگشت، نشان خواهد داد که این امر عملی است.

موقعیت تعادلی هر واکنش شیمیایی توسط **ثابت تعادل**، K_{eq} (گاهی به‌طورساده به صورت K بیان می‌گردد) مشخص می‌شود. برای واکنش کلی

$$A + B \rightleftharpoons C + D \qquad (۴-۲)$$

ثابت تعادل را می‌توان برحسب غلظتهای مواد واکنشگر (A و B) و محصولات (C و D) در حالت تعادل، تعیین نمود:

$$K_{eq} = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

برای بیان دقیق این مطلب، اصطلاح غلظت را باید به‌عنوان *فعالیت* یا غلظت مؤثر هر ماده در محلول‌های غیرایده‌آل در نظر بگیریم. به استثناء کارهای بسیار صحیح، ثابت تعادل را می‌توان با اندازه‌گیری غلظت در حالت *تعادل* برآورد نمود. بنابه دلایلی که، خارج از محدوده این کتاب می‌باشد، ثابت‌های تعادل فاقد واحد هستند. هرچند، عموماً از واحدهای غلظت (M) در بیان تعادلی این کتاب استفاده شده تا یادآور آن باشد که مولاریته واحد غلظت مورد استفاده در K_{eq} است.

ثابت تعادل بدون تغییر بوده و برای هر واکنش شیمیایی خاص در دمای معین، میزان مشخصی است. این ثابت

Book.Apfarsi.ir

ترکیب مخلوط تعادلی نهایی را بدون توجه به میزان مواد واکنشگر و محصولات موجود در ابتدای واکنش، تعریف می‌نماید. برعکس، در صورت مشخص‌بودن غلظت تمامی واکنشگرها و محصولات، می‌توان ثابت تعادل را برای یک واکنش خاص و در یک دمای مشخص تعیین نمود. همانطور که در فصل ۱۴ خواهیم دید، تغییر انرژی آزاد (ΔG°) مستقیماً با K_{eq} ارتباط دارد.

یونیزاسیون آب توسط یک ثابت تعادل بیان می‌گردد

شدت یونیزاسیون آب در حالت تعادل (معادله ۱-۴) کوچک می‌باشد؛ در ۲۵°C، تنها حدود یک ملکول به ازاء هر 10^7 ملکول آب خالص در هر لحظه یونیزه می‌باشد. ثابت تعادل برای یونیزاسیون قابل‌برگشت آب (معادله ۱-۴) به صورت زیر می‌باشد:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{[H_2O]} \qquad (۴-۳)$$

در آب خالص در ۲۵°C، غلظت آب برابر ۵۵/۵ M (گرم‌های H_2O در ۱ L تقسیم بر وزن ملکولی آب (۱۸/۰۱۵ g/mol) / (۱,۰۰۰ g/L)) بوده و در ارتباط با غلظتهای بسیار پایین H^+ و OH^-، یعنی 1×10^{-7} M، اساساً ثابت می‌باشد. بدین ترتیب می‌توان ۵۵/۵ M را در معادله ثابت تعادل (۳-۴) قرار داد:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][OH^-]}{55.5\ \text{M}},$$

که با برابر خواهد بود با:

$$(55.5\ \text{M})(K_{eq}) = [H^+][OH^-] = K_w \qquad (۴-۴)$$

که در آن K_w برابر حاصل‌ضرب (K_{eq}) (۵۵/۵ M) بوده و حاصل‌ضرب یونی آب در ۲۵°C گفته می‌شود.

میزان K_{eq} تعیین‌شده با اندازه‌گیری هدایت الکتریکی آب خالص، برابر $1/8 \times 10^{-16}$ در ۲۵°C می‌باشد. با جایگزینی این مقدار در K_{eq} در معادله ۴-۴، حاصل‌ضرب یونی آب برابر خواهد بود با:

$$K_w = [H^+][OH^-] = (55.5\ \text{M})(1.8 \times 10^{-16}\ \text{M}) = 1.0 \times 10^{-14}\ \text{M}^2$$

بنابراین حاصل‌ضرب $[H^+][OH^-]$ در محلول‌های آبی همیشه برابر $1 \times 10^{-14}\ \text{M}^2$ در ۲۵°C می‌باشد. وقتی غلظت‌های H^+ و OH^- در یک محلول، مثل آب خالص، دقیقاً برابر هستند، گفته می‌شود که آن محلول در pH خنثی می‌باشد. در این pH، غلظت H^+ و OH^- را می‌توان از حاصل‌ضرب یونی آب به صورت زیر محاسبه نمود:

$$K_w = [H^+][OH^-] = [H^+]^2$$

با حل معادله برای $[H^+]$ خواهیم داشت:

$$[H^+] = \sqrt{K_W} = \sqrt{1 \times 10^{-14}\ \text{M}^2}$$

$$[H^+] = [OH^-] = 10^{-7}\ \text{M}$$

Book.Aparat.com

کادر ۲-۴. حاصل‌ضرب یونی آب: دو مسئله تشریحی

حاصل‌ضرب یونی آب، محاسبه غلظت یون H^+ و غلظت OH^-؛ و بر عکس، را ممکن ساخته است؛ دو مسئله زیر این موضوع را نشان می‌دهند.

۱. غلظت H^+ در محلول ۰/۱ M سود (NaOH) چقدر می‌باشد؟

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

با حل این مسئله برای $[H^+]$ خواهیم داشت:

$$[H^+] = \frac{K_w}{[OH^-]} = \frac{1 \times 10^{-14}\,M^2}{0.1\,M} = \frac{10^{-14}\,M^2}{10^{-1}\,M}$$
$$= 10^{-13}\,M \quad \text{(پاسخ)}$$

۲. غلظت OH^- در محلولی با غلظت H^+ برابر ۰/۰۰۰۱۳M چقدر می‌باشد؟

$$K_w = [H^+][OH^-]$$

با حل این مسئله برای $[OH^-]$ خواهیم داشت:

$$[OH^-] = \frac{K_w}{[H^+]} = \frac{1 \times 10^{-14}\,M^2}{0.00013\,M} = \frac{10^{-14}\,M^2}{1.3 \times 10^{-4}\,M}$$
$$= 7.7 \times 10^{-11}\,M \quad \text{(پاسخ)}$$

از آنجایی که محصول یونی آب ثابت است، هر زمان که $[H^+]$ بیش از 1×10^{-7} M باشد، می‌بایست $[OH^-]$ کمتر از 1×10^{-7} M باشد و بر عکس. وقتی $[H^+]$ بسیار بالا است، همانند غلظت موجود در محلول اسید کلریدریک، لازم است $[OH^-]$ بسیار پایین باشد. وقتی $[OH^-]$ مشخص است، می‌توان با استفاده از حاصل‌ضرب یونی آب، میزان $[H^+]$ را محاسبه نمود و بر عکس (کادر ۲-۴).

مقیاس pH غلظتهای H^+ و OH^- را نشان می‌دهد

حاصل‌ضرب یونی آب، K_w، اساس **مقیاس pH** می‌باشد (جدول ۵-۴). این مقیاس وسیله مناسبی برای تعیین غلظت H^+ (و بنابراین OH^-) در هر محلول آبی در دامنه بین یون هیدروژن ۱/۰ M و یون هیدروکسید ۱/۰ M می‌باشد. اصطلاح **pH** به صورت زیر تعریف می‌گردد:

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]} = -\log [H^+]$$

سمبل p به معنی «منفی لگاریتم» می‌باشد. در مورد یک محلول دقیقاً خنثی در ۲۵°C، که غلظت یون‌های هیدروژن آن برابر 1×10^{-7} M می‌باشد، pH را می‌توان به صورت زیر محاسبه نمود:

$$pH = \log \frac{1}{1.0 \times 10^{-7}} = \log (1.0 \times 10^7)$$
$$= \log 1.0 + \log 10^7 = 0 + 7 = 7$$

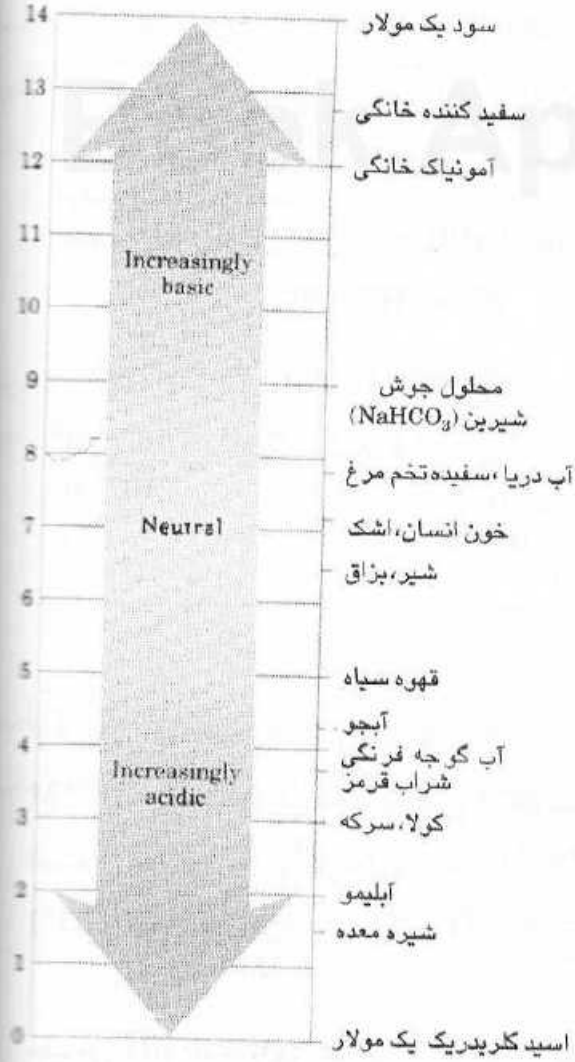
میزان ۷ برای pH یک محلول دقیقاً خنثی، عددی نیست که به‌طور دلخواه انتخاب شده باشد؛ این عدد

جدول ۵-۴. مقیاس pH

$[H^+]$ (M)	pH	$[OH^-]$ (M)	pOH*
10^0 (۱)	۰	10^{-14}	۱۴
10^{-1}	۱	10^{-13}	۱۳
10^{-2}	۲	10^{-12}	۱۲
10^{-3}	۳	10^{-11}	۱۱
10^{-4}	۴	10^{-10}	۱۰
10^{-5}	۵	10^{-9}	۹
10^{-6}	۶	10^{-8}	۸
10^{-7}	۷	10^{-7}	۷
10^{-8}	۸	10^{-6}	۶
10^{-9}	۹	10^{-5}	۵
10^{-10}	۱۰	10^{-4}	۴
10^{-11}	۱۱	10^{-3}	۳
10^{-12}	۱۲	10^{-2}	۲
10^{-13}	۱۳	10^{-1}	۱
10^{-14}	۱۴	10^0 (۱)	۰

* گاهی از pOH برای بیان بازیسیته، یا غلظت OH^-، یک محلول استفاده می‌شود؛ pOH بصورت $pOH = -\log [OH^-]$ تعریف می‌گردد که مشابه تعریف pH است. توجه نمائید که در تمامی موارد $pH + pOH = 14$ می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۴. pH چند محلول آبی

از مقدار مطلق حاصل‌ضرب یونی آب در ۲۵°C بدست آمده است که برحسب تصادف یک عدد گرد می‌باشد. محلول‌های دارای pH بالای ۷، قلیایی یا بازی می‌باشند؛ در این محلول‌ها غلظت OH^- بیش از غلظت H^+ است. برعکس، محلول‌های دارای pH کمتر از ۷، اسیدی هستند.

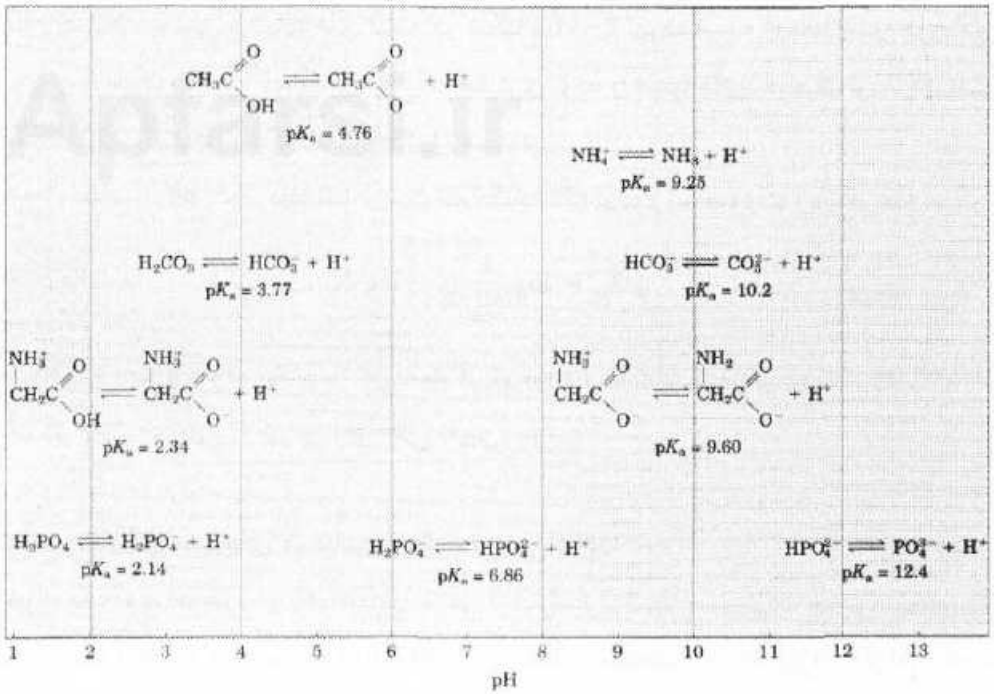
توجه داشته باشید که مقیاس pH لگاریتمی است. وقتی گفته می‌شود که دو محلول از نظر pH به اندازه یک واحد pH با یکدیگر اختلاف دارند، این به معنی آن است که غلظت H^+ موجود در یکی از این محلول‌ها ده برابر بیش از محلو ل دیگر می‌باشد ولی به ما نمی‌گوید که بزرگی مطلق این تفاوت چقدر است. در شکل ۱۳-۴، pH چند محلول آبی معمول آورده شده است. نوشیدنی کولا (pH برابر ۳/۰) دارای غلظت H^+ حدود ۱۰،۰۰۰ برابر خون (pH برابر ۷/۴) می‌باشد.

pH یک محلول آبی را می‌توان با استفاده از رنگهای معرف مختلف، از جمله لیتموس، فنل‌فتالئین و فنل‌رد، تعیین نمود که با جداشدن یک پروتون از ملکول معرف، تغییر رنگ می‌دهند. تعیین مقدار صحیح pH در آزمایشگاه‌های شیمی و بالینی با استفاده از یک الکترود شیشه‌ای به انجام می‌رسد که به‌طورانتخابی به غلظت یون‌های H^+ حساس بوده ولی حساسیتی به Na^+، K^+ و سایر کاتیون‌ها ندارد. در یک pHمتر، پیام حاصل از این نوع الکترودها تقویت شده و با پیام حاصل از یک محلول دارای pH کاملاً شناخته‌شده مقایسه می‌گردد.

اندازه‌گیری pH یکی از مهمترین آزمایشهای مورد استفاده در بیوشیمی می‌باشد که اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرد. pH بر روی ساختمان و فعالیت ماکروملکول‌های بیولوژیک اثر دارد؛ برای مثال، فعالیت کاتالیتیکی آنزیم‌ها شدیداً وابسته به pH می‌باشد (شکل ۱۹-۴ را ببینید). اندازه‌گیری pH خون و ادرار معمولاً در تشخیص‌های پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرد. برای مثال، pH پلاسمای خون مبتلایان به دیابت شدید اغلب کمتر از حد طبیعی ۷/۴ است؛ این حالت را اسیدوز گویند. در بعضی موارد دیگر بیماری‌ها، pH خون بیش از حد طبیعی بوده که به آن آلکالوز گویند.

اسیدها و بازهای ضعیف ثابت‌های تفکیک مشخصی دارند

اسیدهای هیدروکلریک، سولفوریک و نیتریک که معمولاً اسیدهای قوی نامیده می‌شوند، در محلول‌های آبی رقیق به‌طورکامل یونیزه می‌گردند؛ بازهای قوی، نظیر NaOH و KOH نیز کاملاً یونیزه می‌شوند. رفتار اسیدها و بازهای ضعیف که به‌طور کامل در آب یونیزه نمی‌گردند، برای بیوشیمیدانها اهمیت بیشتری دارد. این ترکیبات در سیستم‌های بیولوژیک متداول بوده و نقش‌های مهمی را در متابولیسم و تنظیم ایفاء می‌نمایند. با شرح چند



شکل ۱۴-۴. جفتهای اسید-باز کونژوگه از یک دهنده پروتون و یک گیرنده پروتون تشکیل شده‌اند. بعضی ترکیبات، نظیر اسید استیک و آمونیاک، تک‌پروتونی هستند؛ این ترکیبات می‌توانند تنها یک پروتون را از دست بدهند. ترکیبات دیگر دوپروتونی (H_2CO_3 و گلیسین) و سه‌پروتونی (H_3PO_4) می‌باشند. واکنش‌های تفکیک هر جفت نشان داده شده‌اند که هر کدام در یک شیب pH به انجام می‌رسند. ثابت تعادل یا تفکیک (K_a) و لگاریتم منفی آن، یعنی pK_a، برای هر واکنش نشان داده شده است.

اصطلاح، رفتار محلول‌های آبی اسیدها و بازهای ضعیف را بهتر می‌توان درک نمود.

اسیدها را می‌توان به‌عنوان دهنده‌های پروتونی و بازها را به‌عنوان گیرنده‌های پروتونی تعریف نمود. یک دهنده پروتون و گیرنده پروتونی مربوط به آن، مجموعاً **جفت اسید-باز کونژوگه** نامیده می‌شوند (شکل ۱۴-۴). اسید استیک (CH_3COOH)، یک دهنده پروتون، و آنیون استات (CH_3COO^-)، گیرنده پروتونی مربوطه، یک جفت اسید-باز کونژوگه را تشکیل می‌دهند که بواسطه واکنش دوطرفه زیر با یکدیگر ارتباط پیدا می‌کنند:

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

هر اسیدی دارای تمایل مشخصی برای ازدست‌دادن یک پروتون در محلول آبی است. هر چه اسید قویتر باشد، تمایل بیشتری برای ازدست‌دادن پروتون خواهد داشت. تمایل یک اسید (HA) برای دادن یک پروتون و ایجاد باز کونژوگه مربوطه (A^-) در واکنش قابل برگشت

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

با ثابت تعادل (K_{eq}) تعریف می‌کنند که برابر است با:

$$K_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]} = K_a$$

ثابت‌های تعادلی مربوط به واکنش‌های یونیزاسیون را **ثابت‌های تفکیک** یا یونیزاسیون گویند و اغلب با K_a نمایش

Book.Apfarsi.ir

می‌دهند. ثابت‌های تفکیک بعضی از اسیدهای آمینه در شکل ۱۴-۴ آورده شده است. اسیدهای قویتر، نظیر اسیدهای فسفریک و کربنیک، دارای ثابت‌های تفکیک بیشتری بوده و اسیدهای ضعیف‌تر، نظیر منوهیدروژن فسفات (HPO_4^{2-})، دارای ثابت‌های تفکیک کوچکتری هستند.

در شکل ۱۴-۴، مقادیر pK_a نشان داده شده است که مشابه pH بوده و به صورت زیر تعریف می‌گردد:

$$pK_a = \log \frac{1}{K_a} = -\log K_a$$

هر چه تمایل به تفکیک یک پروتون بیشتر باشد، اسید قویتر بوده و pK_a آن پایین‌تر خواهد بود. همانطور که خواهیم دید، pK_a هر اسید ضعیفی را می‌توان براحتی تعیین نمود.

منحنی‌های تیتراسیون pK_a اسیدهای ضعیف را مشخص می‌نماید

برای تعیین میزان یک اسید موجود در یک محلول خاص از تیتراسیون استفاده می‌گردد. حجم مشخصی از یک اسید توسط یک باز قوی، معمولاً هیدروکسید سدیم (NaOH)، دارای غلظت مشخص، تیتر می‌گردد. NaOH به صورت قطره قطره افزوده شده و در حضور یک معرف رنگی یا pHمتر تیتراسیون آنقدر ادامه می‌یابد تا تمامی اسید موجود مصرف (خنثی) گردد. غلظت اسید موجود در محلول ابتدایی را می‌توان از حجم و غلظت NaOH اضافه‌شده بدست آورد.

نمودار pH در برابر مقدار NaOH اضافه‌شده (یک **منحنی تیتراسیون**)، میزان pK_a اسید ضعیف را مشخص می‌نماید. تیتراسیون یک محلول ۰/۱ M اسید استیک (برای سادگی با HAc نمایش داده می‌شود) با هیدروکسید سدیم ۰/۱ M را در ۲۵°C در نظر بگیرید. در این فرایند دو واکنش تعادلی قابل‌برگشت شرکت دارند:

$$H_2O \rightleftharpoons H^+ + OH^- \qquad (۴-۵)$$

$$HAc \rightleftharpoons H^+ + Ac^- \qquad (۴-۶)$$

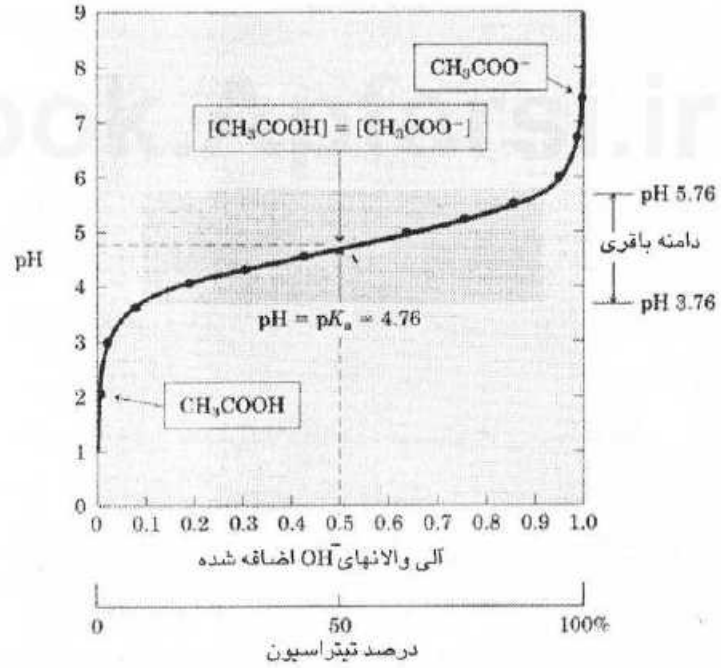
این تعادلها می‌بایست به‌طورهمزمان به ثبت‌های تعادلی مشخص خود برسند که به ترتیب برابرند با:

$$K_w = [H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14}\ M^2 \qquad (۴-۷)$$

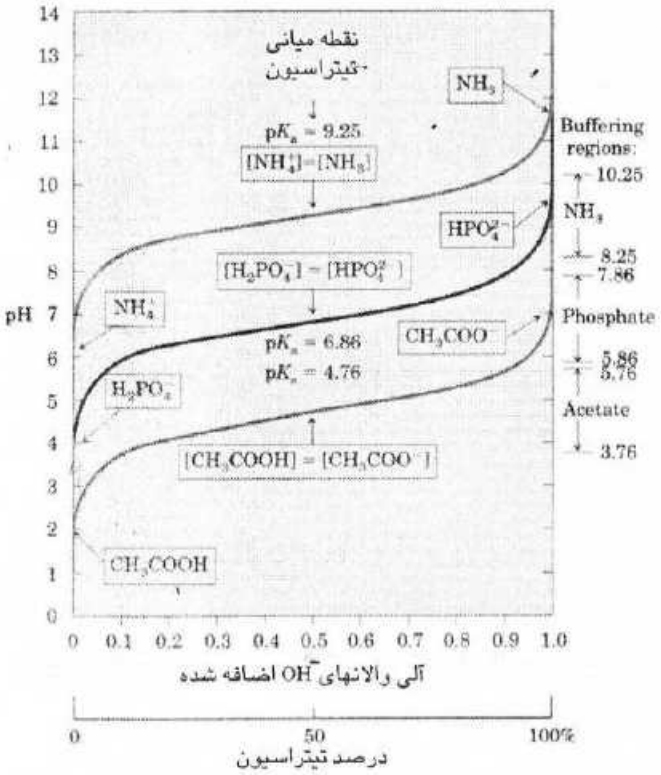
$$K_a = \frac{[H^+][Ac^-]}{[HAc]} = 1.74 \times 10^{-5}\ M \qquad (۴-۸)$$

در شروع تیتراسیون، قبل از افزودن NaOH، اسید استیک به میزان مختصر یونیزه می‌باشد که میزان آن را می‌توان از ثابت تفکیک مربوطه (معادله ۸-۴) محاسبه نمود.

با افزودن تدریجی NaOH، OH^- اضافه‌شده با H^+ آزاد ترکیب و تولید H_2O می‌نماید، میزان این ترکیب تا حدی است که ارتباط تعادلی در معادله ۷-۴ را تضمین نماید. با برداشت H^+، میزان بیشتری از HAc یونیزه شده تا به ثابت تعادل خود برسد (معادله ۸-۴). با افزودن مقادیر بیشتر NaOH در طی پیشرفت تیتراسیون، نتیجه خالص یونیزاسیون بیشتر و بیشتر HAc و تولید Ac^- می‌باشد. در نقطه میانی تیتراسیون، در حالتی که ۰/۵ اکی‌والان NaOH افزوده شده است، نیمی از اسید استیک ابتدایی یونیزه شده و بنابراین حالا [HAc] برابر گیرنده غلظت



شکل ۱۵-۴. منحنی تیتراسیون اسید استیک. بعد از افزودن هر قطره NaOH به محلول اسید استیک، pH مخلوط اندازه‌گیری می‌شود. نمودار این مقادیر در برابر میزان مصرف NaOH تا تبدیل کامل اسید استیک به شکل دپروتونه آن، یعنی استات، رسم شده و منحنی تیتراسیون بدست می‌آید. داخل کادرها، اشکال یونی غالب در نقاط مشخص شده را نشان می‌دهند. در وسط منحنی تیتراسیون، غلظتهای دهنده و گیرنده پروتون برابر بوده و pH از نظر عددی برابر pK_a می‌باشد. ناحیه سایه‌دار، ناحیه مفید برای قدرت بافری است که عموماً بین تیتراسیون ۱۰٪ و ۹۰٪ اسید ضعیف قرار دارد.



شکل ۱۶-۴. مقایسه منحنی‌های تیتراسیون سه اسید ضعیف CH_3COOH، $H_2PO_4^-$ و NH_4^+. اشکال یونی غالب در نقاط مشخص‌شده تیتراسیون، در داخل کادر آورده شده‌اند. نواحی دارای ظرفیت بافری در سمت راست مشخص می‌باشند. جفت‌های اسید-باز کونژوگه در نواحی که بین حدود ۱۰٪ تا ۹۰٪ دهنده‌های پروتونی آنها خنثی شده‌اند، بافرهای مؤثری هستند.

پروتونی، $[Ac^-]$، می‌باشد. در این نقطه میانی، یک ارتباط بسیار مهم وجود دارد: pH محلول اکی‌مولار اسید استیک و استات دقیقاً برابر pK_a اسیداستیک است ($pK_a = ۴/۷۶$؛ اشکال ۱۴-۴ و ۱۵-۴ را نیز ببینید). اساس این ارتباط، که در مورد تمامی اسیدهای ضعیف صادق می‌باشد، بزودی روشن خواهد گردید.

با پیشرفت تیتراسیون طی افزودن مقادیر بیشتر NaOH، اسید استیکی که هنوز یونیزه نشده، بتدریج به استات تبدیل می‌شود. نقطه پایان تیتراسیون در pH ۷/۰ می‌باشد: تمامی اسید استیک پروتونهای خود را به OH^- داده و ایجاد H_2O و استات می‌گردد. در سرتاسر تیتراسیون دو تعادل (معادلات ۵-۴ و ۵-۴) با یکدیگر وجود داشته و هرکدام همیشه مطابق با ثابت‌های تعادلی خود می‌باشند.

در شکل ۱۶-۴، منحنی‌های تیتراسیون سه اسید ضعیف با ثابت‌های تفکیک بسیار متفاوت با یکدیگر مقایسه شده‌اند: اسید استیک ($pK_a = ۴/۷۶$)، دی‌هیدروژن فسفات، $H_2PO_4^-$ ($pK_a = ۶/۸۶$) و یون آمونیوم، NH_4^+ ($pK_a = ۹/۲۵$). هرچند منحنی تیتراسیون این سه اسید دارای شکل مشابهی هستند، به علت داشتن قدرت‌های

Book.Apfarsi.ir

اسیدی مختلف، در طول محور PH واقع شده‌اند. اسید استیک قویترین اسید بوده (آسانتر پروتون خود را ازدست می‌دهد)، زیرا بیشترین K_a (کمترین pK_a) را در میان این سه اسید دارد. نیمی از اسید استیک در pH ۴/۷۶ یونیزه می‌باشد. دی‌هیدروژن فسفات، پروتون خود را سخت‌تر از دست داده و نیمی از آن در pH ۶/۸۶ یونیزه می‌باشد. یون آمونیوم ضعیف‌ترین اسید در میان این سه بوده و تا به pH ۹/۲۵ نرسد، نیمی از آن یونیزه نمی‌گردد.

مهمترین نقطه در منحنی تیتراسیون یک اسید ضعیف که در شکل نشان داده شده است، نقطه‌ای است که در آن اسید ضعیف و آنیون آن (یک جفت اسید-باز کونژوگه) به‌عنوان بافر عمل می‌نمایند.

بافری‌نمودن تغییرات pH در سیستم‌های بیولوژیک

تقریباً هر فرایند بیولوژیک وابسته به pH می‌باشد و هر تغییر کوچکی در pH منجر به تغییر بزرگی در سرعت آن فرایند می‌گردد. این موضوع نه تنها برای بسیاری از واکنش‌هایی که یون H^+ مستقیماً در آنها شرکت می‌نماید، بلکه همچنین برای واکنش‌هایی که یون‌های H^+ نقش آشکاری در آنها ندارند، صادق می‌باشد. آنزیم‌هایی که واکنش‌های سلولی را کاتالیز می‌نمایند و بسیاری از ملکول‌هایی که آنزیم‌ها بر روی آنها عمل می‌کنند، دارای گروه‌های قابل‌یونیزاسیون با pK_a مشخص می‌باشند. برای مثال، گروه‌های پروتونه آمینو و کربوکسیل اسیدهای آمینه و گروه‌های فسفات نوکلئوتیدها، به‌عنوان اسیدهای ضعیف عمل می‌نمایند؛ شکل یونی این ملکول‌ها بستگی به pH محیط اطراف آنها دارد. همانطور که قبلاً ذکر گردید، واکنش‌های متقابل یونی از جمله نیروهایی می‌باشند که یک پروتئین را فعال نموده و این امکان را فراهم می‌سازد که آنزیم سوبسترا خود را شناسایی نموده و به آن اتصال یابد.

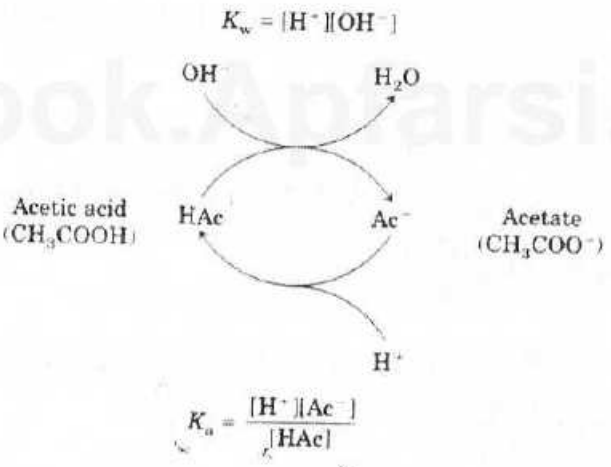
سلول‌ها و موجودات یک pH سیتوزولی ثابت و اختصاصی را حفظ نموده و در نزدیکی pH ۷، بیوملکول‌های خود را در حالت یونی مطلوب نگه می‌دارند. در موجودات پرسلولی، pH مایعات خارج‌سلولی نیز شدیداً تحت تنظیم بوده و ثبات pH اساساً توسط بافرهای بیولوژیک حاصل می‌گردد که خود مخلوطی از اسیدهای ضعیف و بازهای کونژوگه آنها می‌باشند.

در اینجا به شرح تعادلات یونیزاسیون پرداخته می‌شود که ارتباط کمی را بین pH یک محلول بافری و pK_a بافر نشان می‌دهند. بافری‌نمودن بیولوژیک با استفاده از سیستم‌های بافری فسفات و کربنات برای انسان شرح داده می‌شوند.

بافرها مخلوطی از اسیدهای ضعیف و بازهای کونژوگه آنها می‌باشند

بافرها سیستم‌های آبی هستند که تمایل دارند در برابر تغییرات pH در هنگام اضافه‌شدن مقادیر کم اسید (H^+) یا باز (OH^-)، مقاومت نمایند. یک سیستم بافری از یک اسید ضعیف (دهنده پروتون) و باز کونژوگه آن (گیرنده پروتون) تشکیل می‌شود. برای مثال، مخلوطی از غلظتهای برابر اسید استیک و یون استات که در نقطه میانی منحنی تیتراسیون شکل ۱۵-۴ دیده می‌شود، یک سیستم بافری است. منحنی تیتراسیون اسید استیک دارای ناحیه نسبتاً پهنی می‌باشد که حدود یک واحد pH در دو طرف pH ۴/۷۶ نقطه میانی آن امتداد دارد. در این ناحیه، میزان H^+ یا OH^- اضافه‌شده به سیستم دارای اثر کمتری بر روی pH، در مقایسه با همین میزان اضافه‌شده در خارج این دامنه بافری است. این ناحیه پهن، ناحیه بافری جفت بافری اسید استیک-استات می‌باشد. در نقطه میانی این ناحیه بافری، که غلظت دهنده پروتونی (اسید استیک) دقیقاً برابر گیرنده پروتونی (استات) است، قدرت بافری سیستم حداکثر می‌باشد؛ یعنی، با افزودن H^+ یا OH^-، حداقل تغییرات pH مشاهده می‌گردد. pH در این نقطه منحنی

Book Anfarsi.ir



شکل ۱۷-۴. جفت اسید استیک-استات به‌عنوان یک بافر. این سیستم قادر به برداشت H^+ یا OH^- از طریق تفکیک قابل‌برگشت اسید استیک می‌باشد. دهنده پروتون، اسید استیک (HAc)، حاوی ذخیره‌ای از H^+ می‌باشد که برای خنثی‌سازی OH^- اضافه‌شده به سیستم آزاد شده و تولید H_2O می‌نماید. علت انجام این واکنش این است که حاصل $[H^+][OH^-]$ به‌طورموقتی از K_w ($1 \times 10^{-14}\ M^2$) تجاوز می‌نماید. این تعادل سریعاً تنظیم شده، به‌طوریکه حاصل در ۲۵°C برابر $1 \times 10^{-14}\ M^2$ خواهد شد و بنابراین به‌طورموقتی غلظت H^+ را کاهش می‌دهد. ولی حالا خارج‌قسمت $[HAc]/[Ac^-][H^+]$ کمتر از K_a بوده، بنابراین HAc بیشتر تجزیه شده تا تعادل را حفظ نماید. به‌طورمشابه، باز کونژوگه، Ac^-، می‌تواند با یون‌های H^+ اضافه‌شده به سیستم واکنش دهد؛ دوباره، دو واکنش یونیزاسیون به‌طورهمزمان به تعادل می‌رسند. بنابراین یک جفت اسید-باز کونژوگه، نظیر اسید استیک و یون استات، تمایل به مقاومت در برابر تغییر pH در زمان اضافه‌شدن مقادیر کم اسید یا باز دارند. به‌طورساده، عمل بافری نتیجه دو واکنش قابل‌برگشت می‌باشد که به‌طورهمزمان رخ داده و نقاط تعادلی خود را به حدود ثابت‌های تعادل، K_w و K_a می‌رسانند.

تیتراسیون اسید استیک برابر pK_a آن می‌باشد. وقتی مقدار کمی H^+ یا OH^- افزوده می‌شود، pH سیستم بافری استات به میزان مختصری تغییر می‌یابد، ولی این تغییر در مقایسه با افزودن همین میزان H^+ (یا OH^-) به آب خالص یا محلولی از نمک یک اسید قوی و یک باز قوی، نظیر NaCl، که فاقد هر گونه قدرت بافری است، بسیار کوچک می‌باشد.

بافری‌شدن حاصل دو واکنش قابل‌برگشت تعادلی است که در محلولی با غلظتهای تقریباً برابر یک دهنده پروتونی و گیرنده پروتونی کونژوگه آن رخ می‌دهد. شکل ۱۷-۴، نحوه عمل یک سیستم بافری را شرح می‌دهد. هر وقت H^+ یا OH^- به یک بافر افزوده می‌شود، نتیجه یک تغییر کوچک در نسبت غلظتهای نسبی اسید ضعیف و آنیون آن و بنابراین تغییر کوچک در pH می‌باشد. کاهش غلظت یک جزء این سیستم، دقیقاً با افزایش در دیگری متعادل می‌گردد. جمع اجزاء بافری تغییر نکرده و تنها نسبت آنها دستخوش تغییر می‌گردد.

هر جفت اسید-باز کونژوگه دارای یک ناحیه pH مشخص می‌باشد که در آن به‌عنوان یک بافر مؤثر عمل می‌نماید (شکل ۱۶-۴). جفت $H_2PO_4^- / HPO_4^{2-}$ دارای یک pK_a ۶/۸۶ بوده و بنابراین می‌تواند به‌عنوان یک سیستم بافری مؤثر بین pH حدود ۵/۹ تا ۷/۹ عمل نماید؛ جفت NH_4^+ / NH_3 با pK_a برابر ۹/۲۵، می‌تواند به‌عنوان یک بافر در دامنه pH ۸/۳ و ۱۰/۳ عمل کند.

با یک بیان ساده pH، pK و غلظت بافر با یکدیگر مرتبط می‌شوند

منحنی‌های تیتراسیون اسید استیک، $H_2PO_4^-$ و NH_4^+ (شکل ۱۶-۴) دارای اشکال تقریباً مشابهی هستند که ارتباط یا اصول پایه‌ای را در آنها مطرح می‌نماید. درحقیقت همینطور می‌باشد. شکل هر منحنی تیتراسیون یک اسید ضعیف را می‌توان با **معادله هندرسن-هاسلباخ** شرح داد که برای درک عمل بافری و تعادل اسید-باز در خون و بافت‌های مهره‌داران مهم می‌باشد. به‌طورساده، این معادله یک راه مفید برای شروع مجدد بیان ثابت تفکیک یک اسید است. برای تفکیک یک اسید ضعیف HA به H^+ و A^-، معادله هندرسن-هاسلباخ را می‌توان به صورت زیر بدست آورد:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Book.Apfarsi.ir

ابتدا معادله را برای $[H^+]$ حل می‌کنیم:

$$[H^+] = K_a \frac{[HA]}{[A^-]}$$

سپس لگاریتم منفی هر دو طرف گرفته می‌شود:

$$-\log [H^+] = -\log K_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

با جایگزینی pH بجای $-\log [H^+]$ و pK_a بجای $-\log K_a$، خواهیم داشت:

$$pH = pK_a - \log \frac{[HA]}{[A^-]}$$

حال با معکوس‌نمودن $[A^-]$ $[HA]-\log$ که نیاز به تغییر علامت آن دارد، معادله هندرسن-هاسلباخ بدست می‌آید:

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

برای بیان عمومی‌تر از معادله زیر استفاده می‌گردد:

$$pH = pK_a + \log \frac{[\text{گیرنده پروتون}]}{[\text{دهنده پروتون}]}$$

این معادله منطبق بر منحنی تیتراسیون تمامی اسیدهای ضعیف بوده و ما را قادر می‌سازد تا چند ارتباط کمی مهم را از آن استخراج کنیم. برای مثال، این معادله نشان می‌دهد که چرا pK_a یک اسید ضعیف برابر pH محلول در نقطه میانی تیتراسیون آن می‌باشد. در آن نقطه، [HA] برابر $[A^-]$ بوده و

$$pH = pK_a + \log 1.0 = pK_a + 0 = pK_a$$

همانطور که در کادر ۳-۴ نشان داده شده است، همچنین معادله هندرسن-هاسلباخ محاسبه چندین پارامتر را ممکن ساخته است: (۱) pK_a، از روی مقادیر مشخص pH و نسبت مولی دهنده و گیرنده پروتون؛ (۲) pH، از روی مقادیر مشخص pK_a و نسبت مولی دهنده و گیرنده پروتون؛ و (۳) نسبت مولی دهنده و گیرنده پروتون در مقادیر مشخص pH و pK_a.

اسیدها و بازهای ضعیف، تغییرات pH سلول‌ها و بافت‌ها را بافری می‌نمایند

مایعات داخل‌سلولی و خارج‌سلولی موجودات پرسلولی دارای pH مشخص و تقریباً ثابتی هستند. اولین خط دفاعی موجودات در برابر تغییرات pH داخلی توسط سیستم‌های بافری تأمین می‌گردد. سیتوپلاسم بیشتر سلول‌ها دارای غلظتهای بالائی از پروتئین‌ها می‌باشند که خود دارای اسیدهای آمینه متعدد با گروه‌های عامل قابل یونیزاسیون‌به‌عنوان اسیدها یا بازهای ضعیف هستند. برای مثال، زنجیر جانبی هیستیدین (شکل ۱۸-۴) دارای pK_a برابر ۶/۰ می‌باشد؛ ازاینرو، پروتئین‌های حاوی ریشه‌های هیستیدین دارای قدرت بافری مؤثر در pH نزدیک خنثی می‌باشند. نوکلئوتیدهایی نظیر ATP، همراه با بسیاری از متابولیتهای دارای وزن ملکولی پایین، دارای گروه‌های قابل‌یونیزه بوده که می‌توانند به قدرت بافری سیتوپلاسم کمک نمایند. بعضی از اندامکهای و بخشهای خارج‌سلولی شدیداً تخصصی، دارای غلظتهای بالای ترکیباتی هستند که در ظرفیت بافری نقش دارند که از جمله آنها می‌توان به

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۴. حل مسائل با استفاده از معادله هندرسن-هاسلباخ

۱)وقتی در pH = ۴/۸۰، غلظت اسید لاکتیک برابر ۰/۰۱۰ M و غلظت لاکتات برابر ۰/۰۸۷ M می‌باشد، pK_a اسید لاکتیک را محاسبه نمائید.

$$pH = pK_a + \log \frac{[lactate]}{[lactic\ acid]}$$

$$pK_a = pH - \log \frac{[lactate]}{[lactic\ acid]}$$

$$= 4.80 - \log \frac{0.087}{0.010} = 4.80 - \log 8.7$$

$$= 4.80 - 0.94 = 3.86 \quad \text{(پاسخ)}$$

۲)pH مخلوطی از اسید استیک ۰/۱ M و استات سدیم ۰/۲ M را محاسبه نمائید. pK_a اسید استیک برابر ۴/۷۶ می‌باشد.

$$pH = pK_a + \log \frac{[acetate]}{[acetic\ acid]}$$

$$= 4.76 + \log \frac{0.2}{0.1} = 4.76 + 0.301$$

$$= 5.06 \quad \text{(پاسخ)}$$

۳)نسبت غلظتهای استات و اسید استیک مورد نیاز برای سیستم بافری با pH = ۵/۳۰ را محاسبه کنید.

$$pH = pK_a + \log \frac{[acetate]}{[acetic\ acid]}$$

$$\log \frac{[acetate]}{[acetic\ acid]} = pH - pK_a$$

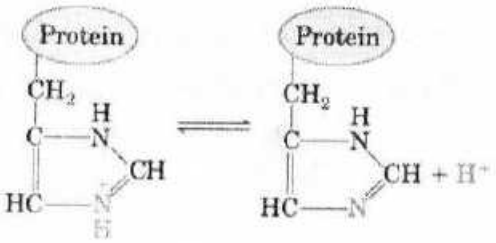
$$= 5.30 - 4.76 = 0.54$$

$$\frac{[acetate]}{[acetic\ acid]} = \text{antilog } 0.54 = 3.47 \quad \text{(پاسخ)}$$

بافر اسیدهای آلی واکوئل‌های سلول‌های گیاهی و بافرهای آمونیاکی ادرار اشاره نمود.

دو بافر بیولوژیک مهم شامل سیستم‌های فسفات و بیکربنات می‌باشند. سیستم بافری فسفات که در داخل سیتوپلاسم تمامی سلول‌ها وجود دارد، از $H_2PO_4^-$ به‌عنوان دهنده پروتون و HPO_4^{2-} به‌عنوان گیرنده پروتون تشکیل یافته است:

$$H_2PO_4^- \rightleftharpoons H^+ + HPO_4^{2-}$$



شکل ۱۸-۴. اسید آمینه هیستیدین، جزئی از پروتئین‌ها، یک اسید ضعیف می‌باشد. pK_a نیتروژن پروتونه این زنجیر جانبی برابر ۶/۰ است.

این سیستم بافری دارای بیشترین اثر در pH نزدیک به pK_a ۶/۸۶ خود بوده (اشکال ۱۴-۴ و ۱۶-۴) و بنابراین در برابر تغییرات pH در دامنه ۵/۹ تا ۷/۹ مقاومت می‌نماید. از اینرو سیستم بافری فسفات یک بافر مؤثر در مایعات بیولوژیک می‌باشد؛ برای مثال، در پستانداران، pH مایعات خارج‌سلولی و بیشتر بخشهای سیتوپلاسمی در دامنه ۶/۹ تا ۷/۴ قرار دارد.

پلاسمای خون تا حدودی توسط سیسم بیکربنات بافری می‌گردد که از اسید کربنیک (H_2CO_3) به‌عنوان دهنده پروتون و بیکربنات (HCO_3^-) به‌عنوان گیرنده پروتون تشکیل یافته است:

$$H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

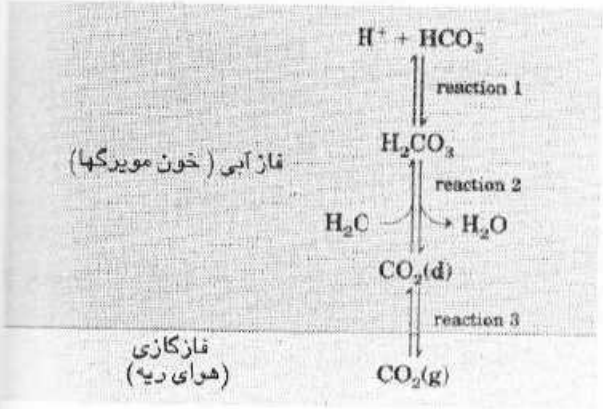
$$K_1 = \frac{[H^+][HCO_3^-]}{[H_2CO_3]}$$

Book.Apfarsi.ir

کادر ۴-۴. خون، ریه‌ها و بافر: سیستم بافری بیکربنات

در حیوانات دارای ریه، به دلیل آنکه H_2CO_3 پلاسمای خون در تعادل با ظرفیت ذخیره‌ای بالای CO_2 (g) در هوای ریه‌ها می‌باشد، سیستم بافری بیکربنات، یک بافر فیزیولوژیک مؤثر در نزدیکی pH ۷/۴ است. در این سیستم بافری، سه واکنش تعادلی قابل‌برگشت بین CO_2 گازی موجود در ریه‌ها و بیکربنات (HCO_3^-) موجود در پلاسما وجود دارد (شکل ۱). وقتی H^+ (برای مثال، از اسید لاکتیک تولیدی در هنگام فعالیت شدید عضلانی)، در هنگام عبور خون از میان بافت‌ها به گردش خون افزوده می‌گردد، واکنش ۱ به سمت تعادلی می‌رود که در آن غلظت H_2CO_3 افزایش می‌یابد. این تغییر همراه با افزایش غلظت CO_2 (d) در پلاسمای خون (واکنش ۲) و بنابراین افزایش فشار CO_2 (g) در ریه‌ها (واکنش ۳) می‌باشد؛ CO_2 از طریق تنفس دفع می‌گردد.

برعکس، وقتی pH پلاسمای خون (مثلاً با تولید NH_3 طی کاتابولیسم پروتئین) افزایش می‌یابد عکس این رویدادها رخ می‌دهد: غلظت H^+ پلاسمای خون کاهش یافته که همراه تفکیک بیشتر H_2CO_3 به H^+ و HCO_3^- می‌باشد. این امر سبب می‌گردد تا CO_2 (g) بیشتری از ریه‌ها در پلاسمای خون حل گردد. سرعت تنفس (سرعت ورود و خروج CO_2 در ریه‌ها) می‌تواند سریعاً این واکنش‌های تعادلی را تنظیم نموده تا pH تقریباً ثابت نگه داشته شود.



شکل ۱. در هنگام عبور پلاسمای خون از مویرگهای ریوی، CO_2 موجود در هوای ریه‌ها با بافر بیکربنات موجود در خون به تعادل می‌رسد. از آنجایی که، با تغییر در سرعت تنفس، می‌توان سریعاً غلظت CO_2 حل‌شده را تنظیم نمود، سیستم بافر بیکربنات خون در تعادل نزدیکی با مخزن بزرگی از CO_2 می‌باشد.

این سیستم بافری پیچیده‌تر از جفتهای اسید-باز کونژوگه می‌باشد، زیرا یکی از اجزاء آن، اسید کربنیک (H_2CO_3)، از دی‌اکسید کربن حل‌شده (d) و آب در واکنش دوطرفه زیر تولید می‌گردد:

$$CO_2(d) + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

$$K_2 = \frac{[H_2CO_3]}{[CO_2(d)][H_2O]}$$

دی‌اکسید کربن تحت شرایط طبیعی، یک گاز بوده و غلظت CO_2 حل‌شده حاصل تعادل CO_2 با فاز گازی است:

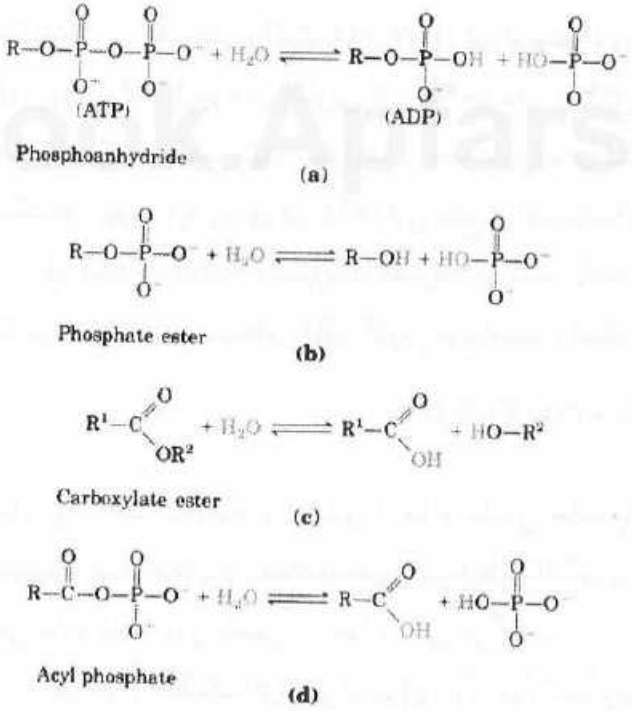
$$CO_2(g) \rightleftharpoons CO_2(d)$$

$$K_3 = \frac{[CO_2(d)]}{[CO_2(g)]}$$

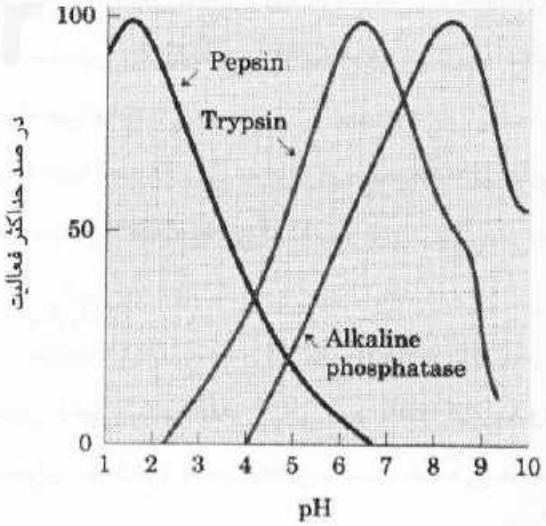
pH سیستم بافری بیکربنات بستگی به غلظت H_2CO_3 و HCO_3^-، اجزاء دهنده و گیرنده پروتون، دارد. غلظت H_2CO_3 به نوبه خود بستگی به غلظت CO_2 حل‌شده داشته که این نیز وابسته به غلظت CO_2 در فاز گازی، بنام فشار نسبی CO_2، می‌باشد. بنابراین pH بافر بیکربناتی در معرض فاز گازی. نهایتاً توسط غلظت HCO_3^- در فاز آبی و فشار نسبی CO_2 در فاز گازی تعیین می‌گردد (کادر ۴-۴).

پلاسمای خون انسان به‌طورطبیعی دارای pH نزدیک به ۷/۴ می‌باشد. ممکن است مکانیسمهای تنظیمی ناتوان شده و یا شدیداً درگیر شوند؛ این حالت ممکن است در مبتلایان به دیابت کنترل‌نشده شدید رخ دهد که طی آن تولید بیش از حد اسیدهای آلی منجر به اسیدوز شده و pH خون ممکن است به زیر ۶/۸ سقوط نموده و

Book Anfarsi.ir



شکل ۲۰-۴. شرکت آب در واکنش‌های بیولوژیک. ATP **(a)** یک فسفوانیدرید می‌باشد که طی یک واکنش کندانساسیون (جداشدن عناصر آب) بین ADP و فسفات تولید می‌گردد. R نمایشی از آدنوزین منوفسفات (AMP) می‌باشد. این واکنش کندانساسیون نیاز به انرژی دارد. هیدرولیز (افزودن عناصر آب) ATP منجر به رهاسازی مقدار مشابهی از انرژی می‌گردد. چندین واکنش کندانساسیون و هیدرولیز دیگر نیز نشان داده شده‌اند **(b)**، **(c)**، **(d)** که در سیستم‌های بیولوژیک معمول هستند.



شکل ۱۹-۴. pH مطلوب بعضی از آنزیم‌ها. پپسین یک آنزیم گوارشی است که به داخل شیره معده ترشح می‌گردد؛ تریپسین، آنزیم گوارشی که در روده باریک عمل می‌نماید؛ فسفاتاز قلیایی بافت استخوان، آنزیم هیدرولیتیکی که معتقدند در مینرالیزاسیون استخوان نقش دارد.

نتیجه منجر به آسیب سلولی جبران‌ناپذیر و مرگ گردد. در بیماریهای دیگر pH ممکن است تا میزان کشنده افزایش یابد. هرچند بسیاری از ویژگی‌های ساختمانی و عملکردی سلول تحت تأثیر pH قرار می‌گیرند، ولی این فعالیت کاتالیتیک آنزیم‌ها می‌باشد که حساسیت خاصی دارد. آنزیم‌ها به‌طورشاخص بیشترین فعالیت کاتالیتیک را در یک pH مشخص، بنام **pH مطلوب**، نشان می‌دهند (شکل ۱۹-۴). در هر طرف این pH مطلوب، فعالیت کاتالیتیکی آنزیم‌ها اغلب به‌طورشدید کاهش می‌یابد. بنابراین، یک تغییر کوچک در pH می‌تواند همرا با تفاوت بزرگی در سرعت بعضی واکنش‌های آنزیمی حیاتی باشد. از این‌رو، کنترل بیولوژیک pH سلول‌ها و مایعات بدن اهمیت اساسی در تمامی جوانب متابولیسم و فعالیت‌های سلولی دارد.

آب به‌عنوان یک واکنشگر

آب نه تنها حلالی است که در آن واکنش‌های شیمیایی سلول‌های زنده رخ می‌دهد، بلکه همچنین در بسیاری از موارد به‌عنوان یک شرکت‌کننده مستقیم در واکنش‌ها ایفاء نقش می‌نماید. تشکیل ATP از ADP و فسفات معدنی، مثالی از یک **واکنش کندانساسیون** (ص. ۸۱) می‌باشد که در آن عناصر آب با اتصال دو ملکول به یکدیگر، از میان آنها حذف می‌گردد (شکل a ۲۰-۴). عکس این واکنش، شکستن یک ملکول به دو ملکول با افزودن عناصر آب، یک **واکنش هیدرولیز** می‌باشد. واکنش‌های هیدرولیز مسئول دپلیمریزاسیون آنزیمی پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای

Book.Apfarsi.ir

نوکلئیک، نیز هستند. واکنش‌های هیدرولیز توسط آنزیم‌هایی بنام **هیدرولازها** انجام شده و همیشه انرژی‌زا هستند. ازاین‌رو، تولید پلیمرهای سلولی از زیرواحدهای آنها توسط واکنش ساده عکس هیدرولیز، انرژی‌گیر خواهد بود. همانطور که خواهیم دید، سلول‌ها با جفت‌نمودن واکنش‌های کندانساسیون انرژی‌گیر با فرایندهای انرژی‌زا، نظیر شکستن پیوند انیدریدی در ATP، این مانع ترمودینامیکی را برداشت می‌نمایند.

در هنگام مطالعه، اکسیژن را مصرف می‌کنید. (البته امیدواریم!) دی‌اکسید کربن و آب، محصولات انتهایی اکسیداسیون سوخت‌هایی نظیر گلوکز می‌باشند. واکنش کلی به صورت زیر خلاصه می‌گردد:

$$\underset{\text{Glucose}}{C_6H_{12}O_6} + 6O_2 \rightleftharpoons 6CO_2 + 6H_2O$$

بنابراین، «آب متابولیک» تولیدی از مواد غذایی جامد یا سوخت‌های ذخیره‌شده، آنقدر کافی می‌باشد که بدون خوردن آب، امکان زنده‌ماندن حیواناتی (نظیر کانگورو، موش صحرایی و شتر) را در مناطق بسیار خشکی فراهم می‌سازد که به‌طور طبیعی در آنها زندگی می‌کنند.

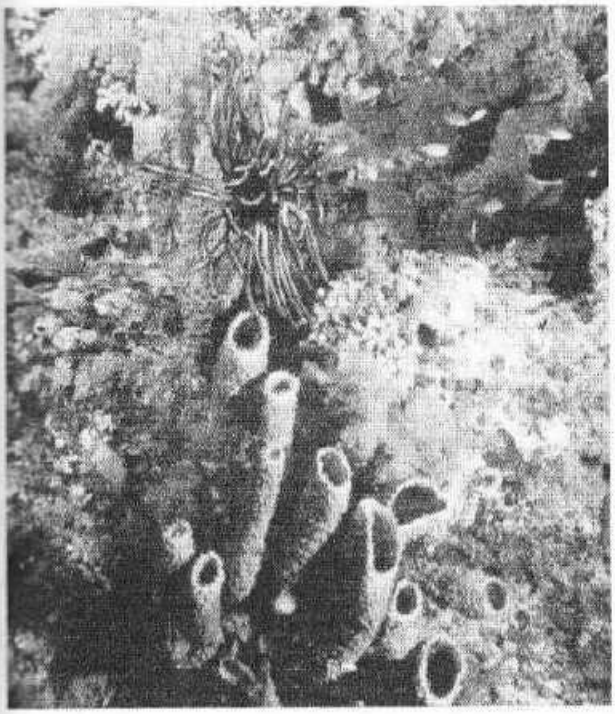
گیاهان و جلبک‌های سبز از انرژی نور خورشید برای شکستن ملکول آب در فرایند فتوسنتز استفاده می‌نمایند:

$$2H_2O + 2A \xrightarrow{\text{نور}} O_2 + 2AH_2$$

در این واکنش، A یک ترکیب گیرنده الکترون می‌باشد که برحسب نوع موجود فتوسنتتیک متفاوت است.

مناسب‌بودن محیط آبی برای موجودات زنده

موجودات به‌طورمؤثری با محیط آبی خود تطبیق پیدا نموده‌اند و حتی امکاناتی برای بهره‌برداری ازخصوصیات غیرمعمول آن ایجاد کرده‌اند. دمای ویژه بالای آب (انرژی حرارتی مورد نیاز برای افزایش درجه حرارت یک گرم آب به اندازه ۱ °C) برای سلول‌ها و موجودات مفید می‌باشد، زیرا این امکان را فراهم می‌سازد که آب به‌عنوان یک «بافر حرارتی» عمل نموده و درجه حرارت موجود را علی‌رغم تغییرات درجه حرارت هوا و همچنین تولید حرارت طی مسیرهای متابولیکی، در میزان نسبتاً ثابتی حفظ نماید. بعلاوه، بعضی مهره‌داران از انرژی گرمایی بالای تبخیر آب (جدول ۱-۴) با استفاده از (و بنابراین از دست‌دادن) گرمای اضافی بدن برای تبخیر عرق، بهره می‌برند. گیاهان از شدت بالای چسبندگی داخلی آب مایع، حاصل از پیوندهای هیدروژنی، به‌عنوان وسیله‌ای برای انتقال مواد غذایی حل‌شده از ریشه‌ها به برگها، طی فرایند



محیطهای آبی گونه‌های زیادی را دربر دارد. مرجان نرم، اسفنجها، bryozoans، و جلبکها بر روی این تپه دریایی جزایر فیلیپین با یکدیگر رقابت می‌نمایند.

بخارکردن[1] استفاده می‌کنند. حتی چگالی کمتر یخ در مقایسه با آب مایع دارای نتایج بیولوژیک مهمی در چرخه‌های زندگی موجودات آبزی می‌باشد. حوضچه‌های آبی از بالا به پایین یخ می‌زنند و لایه یخ موجود در بالا، آب زیر آن را در مقابل هوای سرد محافظت نموده و مانع از یخ‌زدن حوضچه (و موجودات آن) می‌گردد. چیزی که برای تمامی موجودات اساسی‌تر می‌باشد آن است که بسیاری از خصوصیات فیزیکی و بیولوژیک ماکروملکول‌های سلولی، به خصوص پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک، از واکنش‌های متقابل آنها با ملکول‌های آب محیط اطراف، حاصل می‌گردند. اثر آب بر روی دوره تکامل بیولوژیک عمیق و تعیین‌کننده بوده است. اگر اشکال مختلف حیات در محل دیگری از جهان ایجاد می‌شدند، غیرممکن می‌بود که مشابه انواع موجود در زمین می‌شدند، مگر اینکه در آن محل نیز آب به‌عنوان یک مایع به فراوانی در دسترس قرار می‌داشت.

خلاصه

آب فراوان‌ترین ترکیب موجود در موجودات زنده می‌باشد. نقطه انجماد، نقطه جوش و حرارت تبخیر آن نتیجه جاذبه‌های قوی داخل‌ملکولی به شکل پیوند هیدروژنی موجود در بین دو ملکول مجاور آب است. آب مایع متشکل از دسته‌های دارای اتصالات هیدروژنی با عمر کوتاه می‌باشد. قطبیت و ویژگی‌های ایجاد پیوند هیدروژنی آب آن را تبدیل به یک حلال قوی برای بسیاری از ترکیبات یونی و سایر ترکیبات قطبی نموده است. ترکیبات غیرقطبی، شامل CO_2، O_2 و N_2 حلالیت کمی در آب دارند.

در یک محلول آبی، چهار نوع واکنش متقابل ضعیف، شامل پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی، آبگریز و واندروالس، در داخل و بین ملکول‌ها ایجاد می‌گردد. هرچند این واکنش‌های متقابل در حالت تکی ضعیف می‌باشند، در حالت جمعی ایجاد نیروی پایدارکننده بسیار قوی برای پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاءها می‌کنند. واکنش‌های متقابل ضعیف (غیرکووالان) اهمیت زیادی نیز در کاتالیز آنزیمی، عملکرد آنتی‌بادی و واکنش‌های متقابل لیگاند-گیرنده دارند.

وقتی محلول‌های آبی با غلظتهای مختلف توسط یک غشاء نیمه‌تراوا از یکدیگر جدا می‌شوند، آب در جهت غلظت آبی کمتر، از غشاء عبور می‌نماید. این تمایل آب در عبور از غشاء نیمه‌تراوا (اسمز) ایجاد فشار اسموتیک می‌نماید. در مورد سلول‌های موجود در محلول‌های هیپوتونیک، حرکت اسموتیک آب از عرض غشاء پلاسمایی به داخل سلول، سبب تورم، ایجاد فشار تورگور، و در صورت عدم محافظت توسط دیواره محکم، منجر به لیز سلولی می‌گردد. خصوصیات کولیگاتیو محلول‌های آبی (نقاط ذوب و جوش، فشار بخار و فشار اسموتیک) بستگی به تعداد ذرات حل‌شده (یون‌ها، ملکول‌ها) داشته و ارتباطی با جرم ملکولی و خصوصیات شیمیایی آنها ندارد.

آب به میزان کمی یونیزه شده و تولید یون‌های H^+ و OH^- می‌نماید. حرکت سریع پروتونها در طول صفوف متشکل از ملکول‌های آبی که توسط پیوندهای هیدروژنی به یکدیگر متصل شده‌اند، سبب انتشار سریع پروتونها در آب می‌گردد. در محلول‌های آبی رقیق و براساس بیان $[H^+][OH^-] = 1 \times 10^{-14}\ M^2$ (در ۲۵ °C)، غلظت یون‌های H^+ و OH^- ارتباط عکس با یکدیگر دارند. غلظت یون هیدروژن در سیستم‌های بیولوژیک معمولاً برحسب pH بیان می‌گردد که به صورت $pH = -\log [H^+]$ تعریف می‌شود.

اسیدهابه صورت دهنده‌های پروتون و بازها به‌عنوان گیرنده‌های پروتون تعریف می‌شوند. یک جفت اسید-باز کونژوگه متشکل از یک دهنده پروتون (HA) و گیرنده پروتونی مربوط به آن (A^-) می‌باشد. تمایل یک اسید به ازدست دادن پروتونها را برحسب ثابت تفکیک آن ($K_a = [H^+][A^-]/[HA]$) یا تابعی از آن، یعنی pK_a، برابر $-\log K_a$، بیان می‌نمایند که می‌توان آن را از یک منحنی تیتراسیون بدست آورد. براساس معادله هندرسن-هاسلباخ، pH محلول یک اسید ضعیف، به‌طورکمی با pK_a آن و یا نسبت غلظت دهنده پروتون و گیرنده پروتون ارتباط دارد.

1. Transpiration

Book.Apfarsi.ir

یک جفت اسید-باز کونژوگه می‌تواند به‌عنوان بافر عمل نموده و در برابر تغییرات pH مقاومت نماید؛ ظرفیت این سیستم بافری در pH برابر pK_a آن بیشترین میزان می‌باشد. بسیاری از بیوملکول‌ها دارای گروه‌های عاملی هستند که در ظرفیت بافری نقش دارند. پروتئین‌ها، H_2CO_3/HCO_3^- و $H_2PO_4^-/HPO_4^{2-}$، مهمترین بافرهای بیولوژیک می‌باشند. فعالیت کاتالیتیک آنزیم‌ها شدیداً تحت اثر pH بوده و لازم است محیطی که در آن آنزیم عمل می‌نماید، در برابر تغییرات بزرگ pH بافری گردد.

آب تنها به‌عنوان حلالی نیست که در آن واکنش‌های متابولیکی انجام می‌گیرد؛ بلکه آب مستقیماً در بسیاری از فرایندها بیوشیمیایی، از جمله واکنش‌های هیدرولیز و کندانساسیون، شرکت می‌نماید. خصوصیات فیزیکی و شیمیایی آب برا ساختمان و عملکرد بیولوژیک مهم می‌باشد. تکامل زندگی بر روی زمین، به میزان زیادی تحت تأثیر هر دو خصوصیت حلالی واکنشگری آب بوده است.

قسمت دوم ساختمان و کاتالیز

۵ اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها
۶ ساختمان سه‌بعدی پروتئین‌ها
۷ عملکرد پروتئین
۸ آنزیم‌ها
۹ کربوهیدراتها و گلیکوبیولوژی
۱۰ نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک
۱۱ لیپیدها
۱۲ غشاءهای بیولوژیک و انتقال
۱۳ پیام‌رسانی بیولوژیک

در قسمت اول، ساختمان پیچیده و عملکرد سلول‌های زنده را با واحدهای منومریک نسبتاً ساده‌ای مقایسه نمودیم که از آنها ماکروملکول‌ها، کمپلکس‌های سوپراملکولی و اندامک‌های سلولی ساخته می‌شوند. قسمت دوم اختصاص به ساختمان و عملکرد کلاس‌های اصلی اجزاء تشکیل‌دهنده سلول دارد: اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها (فصول ۵ تا ۸)، قندها و پلی‌ساکاریدها (فصل ۹)، نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک (فصل ۱۰)، اسیدهای چرب و لیپیدها (فصل ۱۱) و بالاخره، غشاءها و پروتئین‌های پیام‌رسان غشایی (فصول ۱۲ و ۱۳). در هر مورد بحث را با در نظر گرفتن ساختمان کووالان زیرواحدهای ساده (اسیدهای آمینه، منوساکاریدها، نوکلئوتیدها و اسیدهای چرب) آغاز می‌کنیم. این زیرواحدها قسمت مهمی از زبان بیوشیمی را تشکیل می‌دهند؛ آشناشدن با این اجزاء برای درک موضوعات پیشرفته موجود در این کتاب و همچنین علم مهیج و سریعاً در حال پیشرفت بیوشیمی ضروری است.

شکل صفحه روبرو. نمایی از آنزیم کیموتریپسین، یکی از شناخته‌شده‌ترین کاتالیستهای بیولوژیک

بعد از شرح شیمی کووالان این واحدهای منومری، ساختمان ماکروملکول‌ها و کمپلکس‌های سوپراملکولی مشتق از آنها را مورد بررسی قرار خواهیم داد. یک موضوع جالب این است که این ماکروملکول‌های پلیمری در سیستم‌های زنده علی‌رغم بزرگی، مواد شیمیایی کاملاً منظمی با توالی‌های اختصاصی متشکل از واحدهای منومری هستند که منجر به ایجاد ساختمان‌ها و اعمال مشخص و متمایزی می‌گردند. این موضوع اساسی را می‌توان به سه اصل مرتبط تقسیم نمود: (۱) ساختمان بی‌همتا هر ملکول عملکرد آن را مشخص می‌نماید؛ (۲) واکنش‌های متقابل غیرکووالان نقش مهمی را در ساختمان و بنابراین عملکرد ماکروملکول‌ها ایفاء می‌کنند؛ و (۳) زیرواحدهای منومری موجود در ماکروملکول‌های پلیمری دارای توالی‌های اختصاصی هستند که شکلی از اطلاعات را نشان می‌دهند که وضعیت منظم زندگی به آن وابسته می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir

ارتباط بین ساختمان و عملکرد را می‌توان بخصوص در پروتئین‌ها مشاهده نمود که از نظر فعالیت، تنوع فوق‌العاده‌ای دارند. توالی پلیمری خاصی از اسیدهای آمینه تولید یک ساختمان فیبری قوی در مو و پشم می‌نماید؛ توالی دیگر، پروتئینی را برای انتقال اکسیژن در خون ایجاد می‌کند؛ و شکل دیگر به سایر پروتئین‌ها اتصال یافته و تجزیه پیوندهای موجود در بین اسیدهای آمینه آنها را کاتالیز می‌کند. به‌طورمشابه، اعمال اختصاصی پلی‌ساکاریدها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها را می‌توان به عنوان نمای مستقیمی از ساختمان شیمیایی آنها به همراه زیرواحدهای منومری مشخص آنها درک نمود که به شکل پلیمرهای وظیفه‌دار دقیقی به یکدیگر متصل شده‌اند. قندهایی که به یکدیگر متصل شده‌اند، به عنوان ذخایر انرژی و فیبرهای ساختمانی عمل نموده؛ نوکلئوتیدها به یکدیگر متصل شده و با ایجاد DNA و RNA، به عنوان مرکز اطلاعات موجود زنده ایفاء نقش کرده؛ و لیپیدهای متصل به یکدیگر، در ایجاد دولایه‌های غشایی شرکت می‌کنند. فصل ۱۳ بحث عملکرد بیوملکول‌ها را یکی نموده و نحوه تنظیم فعالیت بیوملکول‌های مختلف موجود در یک سلول یا بین اعضاء را برای حفظ هومئوستاز موجود زنده توسط سیستم‌های پیام‌رسان شرح می‌دهد.

همان‌طور که از واحدهای منومری به سمت پلیمرهای بزرگتر و بزرگتر به پیش می‌رویم، شیمی آنها از پیوندهای کووالان به سمت واکنش‌های متقابل غیرکووالان متمرکز می‌گردد. ویژگی‌های پیوندهای کووالان، هم در زیرواحدهای منومری و هم در پیوندهایی که آنها را در پلیمرها به یکدیگر متصل می‌نمایند، بر روی شکل ماکروملکول‌های بزرگ اثر دارد. هرچند، این واکنش‌های متقابل متعدد غیرکووالان می‌باشند که کونفورماسیون‌های طبیعی پایدار ملکول‌های بزرگ را تعیین نموده و به آنها انعطاف‌پذیری لازم جهت انجام اعمال بیولوژیک را اعطا می‌کنند. خواهیم دید که برای قدرت کاتالیتیک آنزیم‌ها، واکنش متقابل حیاتی بین جفت‌های بازی مکمل در اسیدهای نوکلئیک، آرایش و ایجاد ویژگی در لیپیدهای غشایی و در انجام واکنش متقابل بین هورمون یا یک فاکتور رشد با گیرنده غشایی آن، نیاز به این واکنش‌های متقابل غیرکووالان داریم.

اساس غنی‌بودن توالی زیرواحدهای منومری از اطلاعات، به‌طورکامل در بحث اسیدهای نوکلئیک در فصل ۱۰ مطرح خواهد شد. هرچند، پروتئین‌ها و بعضی از پلیمرهای قندی کوتاه (اولیگوساکاریدها) نیز ملکول‌های غنی از اطلاعات هستند. توالی اسیدهای آمینه، شکلی از اطلاعات می‌باشد که تاشدن پروتئین به یک ساختمان بی‌همتای سه‌بعدی را هدایت نموده و نهایتاً عملکرد پروتئین را تعیین می‌نماید. بعضی از اولیگوساکاریدها نیز دارای توالی‌ها و ساختمان‌های سه‌بعدی بی‌همتایی هستند که توسط سایر ماکروملکول‌ها شناسایی می‌شوند.

برای هر کلاس ملکول‌ها، یک سلسله مراتب ساختمانی مشابهی پیدا خواهیم نمود که در آن زیرواحدهایی با ساختمان مشخص توسط پیوندهایی با انعطاف‌پذیری محدود به یکدیگر متصل شده تا ماکروملکول‌هایی ایجاد نمایند که ساختمان سه‌بعدی آنها توسط واکنش‌های متقابل ضعیف تعیین می‌گردد. سپس این ماکروملکول‌ها با یکدیگر واکنش نموده تا ساختمان‌های سوپراملکولی و اندامک‌ها را ایجاد نمایند که به سلول امکان انجام اعمال متابولیکی متعدد را می‌دهند. روی هم‌رفته، ملکول‌هایی که در قسمت دوم شرح داده می‌شوند، «ماده» حیات هستند. بحث را با اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها آغاز می‌کنیم.

۵ اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها

پروتئین‌ها فراوان‌ترین ماکروملکول‌های بیولوژیک هستند که در تمامی سلول‌ها و تمامی قسمتهای سلولی یافت می‌شوند. پروتئین‌ها همچنین دارای تنوع زیادی می‌باشند؛ هزاران نوع پروتئین مختلف، با اندازه‌های متفاوت، از پپتیدهای نسبتاً کوچک تا پلیمرهای بزرگ دارای وزن‌های ملکولی در حد میلیون، ممکن است در یک سلول یافت شوند. بعلاوه، پروتئین‌ها اعمال بسیار متنوع بیولوژیک را انجام داده و مهمترین محصولات نهایی مسیرهای اطلاعاتی می‌باشند که در قسمت چهارم این کتاب مورد بحث قرار می‌گیرند. پروتئین‌ها ابزار ملکولی هستند که از طریق آنها اطلاعات ژنتیکی بیان می‌گردند. شروع بررسی ماکروملکول‌های بیولوژیک با پروتئین‌ها، که نامشان از کلمه یونانی *protos* به معنی «اولین» یا «جلوترین» گرفته شده است، مناسب می‌باشد.

کلید ساختمان هزاران پروتئین مختلف، زیرواحدهای منومری نسبتاً ساده آنها می‌باشد. تمامی پروتئین‌ها، شامل پروتئین‌های موجود در قدیمی‌ترین رده‌های باکتریایی تا پیچیده‌ترین اشکال حیات، از ۲۰ اسید آمینه یکسان ساخته شده‌اند که با توالی‌های مشخص خطی به طریق کووالان به یکدیگر متصل می‌باشند. از آنجایی‌که هر کدام از این اسیدهای آمینه دارای زنجیر جانبی با خصوصیات شیمیایی متفاوت می‌باشند، این گروه ۲۰ ملکولی پیش‌ساز را می‌توان به عنوان الفبای زبانی دانست که ساختمان پروتئین با آن نوشته می‌شود.

چیزی که بیشتر قابل‌ملاحظه می‌باشد این است که سلول‌ها می‌توانند با اتصال همین ۲۰ اسید آمینه با ترکیبات و توالی‌های بسیار متنوع، پروتئین‌هایی را تولید نمایند که ویژگی‌ها و فعالیتهای فوق‌العاده متنوعی دارند. موجودات مختلف می‌توانند با استفاده از این بلوک‌های ساختمانی محصولات بسیار متفاوتی، نظیر آنزیم‌ها، هورمونها، آنتی‌بادی‌ها، انتقال‌دهنده‌ها، عضله، پروتئین عدسی چشم، پر، تار عنکبوت، شاخ کرگدن، پروتئین‌های شیر، آنتی‌بیوتیک‌ها، سموم قارچی و تعداد زیادی از مواد دیگر با فعالیت‌های بیولوژیک متفاوت، ایجاد نمایند (شکل ۱-۵). از میان ین محصولات پروتئینی، آنزیم‌ها تنوع بیشتری داشته و اختصاصی‌تر می‌باشند. در واقع تمامی واکنش‌های سلولی توسط آنزیم‌ها کاتالیز می‌گردند.

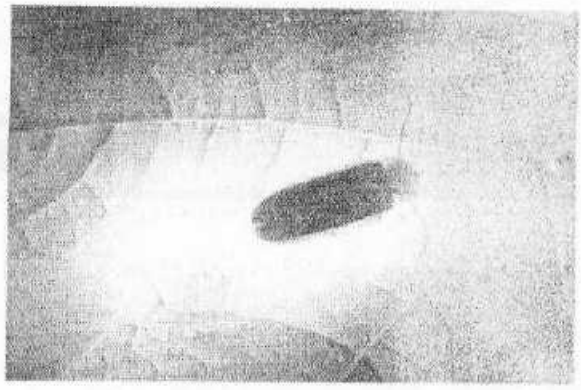
ساختمان و عمل پروتئین، موضوع این فصل و سه فصل بعدی می‌باشد. با شرحی در مورد خصوصیات پایه شیمیایی اسیدهای آمینه، پپتیدها و پروتئین‌ها آغاز می‌کنیم.

اسیدهای آمینه

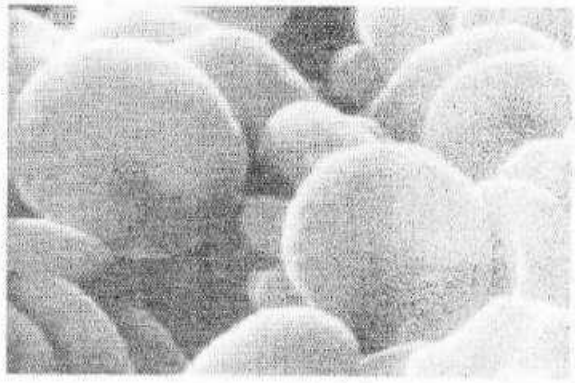
پروتئین‌ها، پلیمرهای حاصل از دهیدراتاسیون اسیدهای آمینه هستند که در آنها هر **ریشه اسید آمینه** توسط یک نوع پیوند کووالان به ریشه مجاور خود متصل شده است. (اصطلاح «ریشه[1]» اشاره به ازدست‌رفتن عناصر آب در هنگام اتصال یک اسید آمینه به اسید آمینه دیگر می‌نماید.) با روش‌های مختلف می‌توان پروتئین‌ها را به اجزاء اسید آمینه‌ای تشکیل‌دهنده آنها تجزیه (هیدرولیز) نمود؛ مطالعات اولیه پروتئین‌ها به‌طورطبیعی بر روی اسیدهای آمینه‌ای

1- Residue

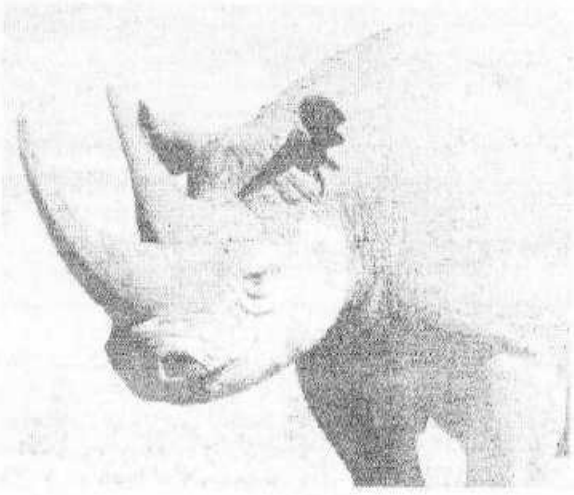
Book.Apfarsi.ir



(a)

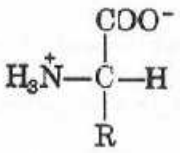


(b)



(c)

شکل ۱-۵. بعضی از پروتئین‌ها. (a) نور تولیدی توسط کرم شب‌تاب حاصل واکنشی با شرکت لوسیفرین (Luciferin) و ATP می‌باشد که توسط آنزیم لوسیفراز کاتالیز می‌گردد (کادر ۳-۱۴ را ببینید). **(b)** گلبول‌های قرمز خون حاوی مقادیر زیادی پروتئین انتقال دهنده اکسیژن، هموگلوبین، می‌باشد. **(c)** پروتئین کراتین که توسط تمامی مهره‌داران تولید می‌گردد، جزء ساختمانی اصلی مو، پولک، شاخ، پشم، ناخن و پر می‌باشد. کرگدن سیاه در حال انقراض می‌باشد، زیرا طبق یک افسانه شایع در بعضی قسمت‌های جهان پودر حاصل از شاخ آن دارای خصوصیات دارویی می‌باشد. در حقیقت خصوصیات شیمیایی پودر شاخ کرگدن تفاوتی با پودر سُم گاو یا ناخن انسان ندارد.



شکل ۲-۵. ساختمان عمومی یک اسید آمینه. به استثناء یک مورد، این ساختمان در تمامی α-آمینواسیدها دیده می‌شود. (این استثناء پرولین، یک اسید آمینه حلقوی می‌باشد.) گروه R یا زنجیر جانبی متصل به کربن α در هر اسید آمینه متفاوت است.

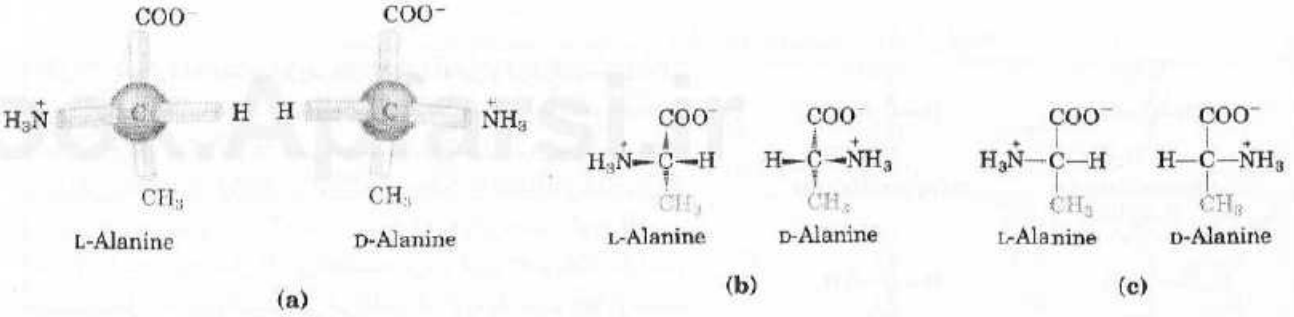
متمرکز می‌باشد که از هیدرولیز آنها آزاد می‌شوند. اولین اسید آمینه‌ای که کشف گردید، آسپاراژین در سال ۱۸۰۶ بود. آخرین مورد از ۲۰ اسید آمینه یافت شده، ترئونین بود که تا سال ۱۹۳۸ شناسایی نشده بود. تمامی اسیدهای آمینه دارای نام‌های معمول می‌باشند که در بعضی موارد از نام منبعی مشتق می‌شوند که اولین بار از آن جدا گردیدند. آسپاراژین اولین بار در مارچوبه[1] و گلوتامات در گلوتن گندم یافت شدند؛ تیروزین اولین بار از پنیر جدا گردید (نام این اسید آمینه از کلمه یونانی *tyros* به معنی «پنیر» مشتق شده است)؛ و گلیسین (کلمه یونانی *glykos* به معنی «شیرین») بخاطر مزه شیرین آن به این نام خوانده شد.

اسیدهای آمینه دارای خصوصیات ساختمانی مشترکی هستند

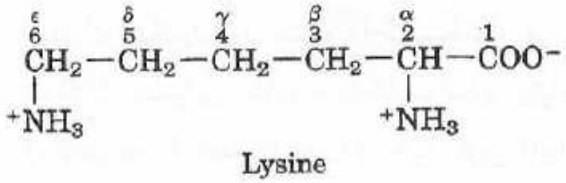
تمامی ۲۰ اسید آمینه موجود در پروتئین‌ها از نوع α-آمینواسیدها می‌باشند. این ملکول‌ها دارای یک گروه کربوکسیل و یک گروه آمینو هستند که به یک کربن (کربن α) اتصال دارند (شکل ۲-۵). اختلاف این اسیدهای آمینه از نظر نوع زنجیر جانبی یا **گروه‌های R** آنها می‌باشد که از نظر ساختمان، اندازه و بار الکتریکی متفاوت بوده و بر روی حلالیت اسیدهای آمینه در آب اثر می‌گذارد. این ۲۰ اسید آمینه شرکت‌کننده در سنتز پروتئین را اسیدهای آمینه استاندارد می‌نامند تا از اسیدهای آمینه نادرتر حاصل از تغییر اسیدهای آمینه بعد از قرارگیری در ساختمان پروتئین و

[1] Asparagus

Book Apfarsi.ir



شکل ۳-۵. ایزومر فضایی در α-آمینو اسیدها. (a) دو ایزومر فضایی آلانین، شامل L-آلانین و D-آلانین، تصاویر آینه‌ای غیرقابل‌انطباق (انانتیومر) یکدیگر می‌باشند. **(b,c)** دو روش قراردادی متفاوت برای نمایش ایزومرهای فضایی در فضا. در فرمول چشم‌اندازی **(b)** پیوندهای گوه-شکل توپر در بالای صفحه کاغذ بوده و پیوندهای منقطع در زیر آن قرار دارند. در فرمول تصویری **(c)** فرض بر این است که پیوندهای افقی در خارج صفحه قرار داشته و پیوندهای عمودی در زیر آن می‌باشند. هرچند فرمولهای تصویری اغلب مورد استفاده قرار می‌گیرند، همیشه برای نمایش کونفیگوراسیون اختصاصی ایزومر فضایی بکار نمی‌روند.



همچنین از بسیاری از انواع دیگر اسیدهای آمینه موجود در موجودات ولی نه در ساختمان پروتئین‌های آنها، تمایزداده شوند. برای نمایش ترکیب و توالی اسیدهای آمینه پلیمریزه‌شده در ساختمان پروتئین‌ها، از مخفف‌های سه حرفی و سمبل‌های یک حرفی اسیدهای آمینه استفاده می‌گردد (جدول ۱-۵، ص. ۱۳۵).

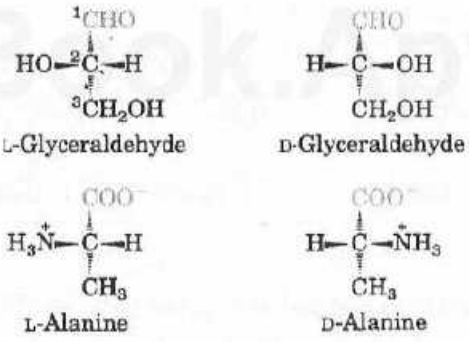
در عمل برای نشان‌دادن کربن‌های موجود در ساختمان یک اسید آمینه از دو روش قراردادی استفاده می‌شود که ممکن است گیج‌کننده باشد. کربن‌های موجود در گروه R را معمولاً بعد از کربن α به ترتیب با β، γ، δ، ε و غیره نشان می‌دهند. برای اکثر ملکول‌های آلی دیگر، اتم‌های کربن به‌طور ساده از یک انتها شماره‌گذاری شده و شماره‌گذاری از کربنی آغاز می‌گردد که استخلاف‌های آنها دارای اتم‌هایی با بیشترین عدد اتمی باشند. طبق این قرارداد اخیر، گروه کربوکسیل یک اسید آمینه را کربن ۱ و کربن α را کربن ۲ می‌نامند. در بعضی موارد، همانند اسیدهای آمینه دارای گروه‌های R هتروسیکلیک، سیستم نامگذاری یونانی مبهم بوده و بنابراین از روش عددگذاری استفاده می‌شود.

در مورد تمامی اسیدهای آمینه استاندارد، به استثناء گلیسین، کربن α به چهار گروه مختلف، شامل یک گروه کربوکسیل، یک گروه آمینو، یک گروه R و یک اتم هیدروژن متصل می‌باشد (شکل ۲-۵؛ در مورد گلیسین، گروه R اتم دیگر هیدروژن است). بنابراین کربن α یک **مرکز کایرال** می‌باشد (شکل ۹-۳ را ببینید). بخاطر آرایش چهاروجهی اربیتال‌های ایجادکننده پیوند در حول اتم کربن α، این چهار گروه مختلف می‌توانند دو آرایش فضایی متفاوت داشته باشند که تصاویر آینه‌ای غیرقابل‌انطباق یکدیگر می‌باشند (شکل ۳-۵). این دو شکل کلاسی از ایزومری‌های فضایی بنام **انانتیومرها** را تشکیل می‌دهند (شکل ۱۰-۳ را ببینید). تمامی ملکول‌های دارای مرکز کایرال، **فعالیت نوری** را نیز دارند، به عبارتی دیگر این ترکیبات نور پلاریزه را می‌چرخانند (کادر ۱-۳ را ببینید).

برای تعیین **کونفیگوراسیون مطلق** چهار استخلاف اتم‌های کربن نامتقارن از اصطلاحات اختصاصی مختلفی استفاده می‌گردد. کونفیگوراسیون مطلق قندهای ساده و اسیدهای آمینه با سیستم **D و L** (شکل ۴-۵) و براساس کونفیگوراسیون مطلق قند سه کربنه گلیسرآلدئید، مشخص می‌گردد که اولین بار توسط امیل فیشر[1] در سال ۱۸۹۱

1- Emil Fischer

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۵. ارتباط فضایی ایزومرهای فضایی آلانین و کونفیگوراسیون مطلق L- و D-گلیسرآلدئید. در این فرمولهای چشم‌اندازی، کربن‌ها به‌طور عمودی و اتم کایرال در مرکز قرار داده می‌شوند. شماره‌گذاری کربن‌های موجود در این ملکول‌ها با کربن آلدئیدی یا کربوکسیل موجود در انتها آغاز شده و از بالا به پایین، با شماره‌های ۱ تا ۳ مشخص می‌گردند. در این حالت، گروه R اسید آمینه (در اینجا گروه متیل آلانین) همیشه در زیر کربن α می‌باشد. L-آمینو اسیدها شامل α-آمینو اسیدهایی می‌باشند که گروه α-آمینو آنها در سمت چپ قرار دارد و D-آمینو اسیدها دارای α-آمینو در سمت راست می‌باشند.

معرفی شد. (فیشر گروه‌های موجود در اطراف کربن نامتقارن گلیسرآلدئید را می‌شناخت ولی لازم بود کونفیگوراسیون مطلق آنها را حدس بزند؛ حدس وی بعدها توسط آنالیز انکسار اشعه x تایید گردید.) برای تمامی ترکیبات کایرال، ایزومرهای فضایی که دارای کونفیگوراسیون مشابه L-گلیسرآلدئید هستند را با حرف L و آنهایی‌که دارای کونفیگوراسیون مشابه D-گلیسرآلدئید می‌باشند را با حرف D نشان می‌دهند. گروه‌های عامل L-آلانین با تبدیلات شیمیایی ساده، به L-گلیسرآلدئید ارتباط پیدا می‌کنند. بنابراین گروه کربوکسیل L-آلانین موقعیت عامل آلدئیدی در L-گلیسرآلدئید را در حول کربن کایرال پیدا می‌نماید، زیرا یک آلدئید براحتی به یک گروه کربوکسیل تبدیل (اکسیده) می‌گردد. از نظر تاریخی، حروف مشابه l و d برای نمایش به ترتیب چپ‌گردان (چرخش نور به چپ) و راست‌گردان (چرخش نور به راست) یک ترکیب مورد استفاده قرار می‌گرفتند (کادر ۱-۳ را ببینید). هرچند، تمامی L-آمینو اسیدها چپ‌گردان نبوده و برای اجتناب از ابهامات کونفیگوراسیون مطلق، قرارداد نشان داده شده در شکل ۴-۵ لازم می‌باشد. طبق قرارداد فیشر، L و D تنها اشاره به کونفیگوراسیون مطلق چهار استخلاف اطراف کربن کایرال می‌کنند.

سیستم دیگر برای تعیین کونفیگوراسیون در اطراف مرکز کایرال، **سیستم RS** (شرح داده‌شده در فصل ۳) می‌باشد که در اصطلاحات سیستماتیک شیمی آلی بکار رفته و کونفیگوراسیون ملکول‌های با بیش از یک مرکز کایرال را دقیق‌تر نشان می‌دهد.

ریشه‌های اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌ها از نوع ایزومرهای فضایی L هستند

تقریباً تمامی ترکیبات بیولوژیک دارای یک مرکز کایرال، تنها با یک شکل ایزومر فضایی، D یا L، در طبیعت وجود دارند. ریشه‌های اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌ها منحصراً از نوع ایزومرهای فضایی L هستند. ریشه‌های D-آمینو اسیدها تنها در چند پپتید عموماً کوچک، از جمله بعضی از پپتیدهای موجود در دیواره سلول باکتری و بعضی از آنتی‌بیوتیک‌های پپتیدی، وجود دارند.

قابل ذکر است که تمامی ریشه‌های اسید آمینه موجود در ساختمان پروتئین‌ها از نوع ایزومر فضایی L هستند. همان‌طور که در فصل ۳ اشاره گردید، وقتی ترکیبات کایرال طی واکنش‌های شیمیایی معمولی تولید می‌گردند، حاصل مخلوط راسمیکی از ایزومرهای D و L است که تشخیص و جداسازی آنها برای شیمیدان مشکل می‌باشد. ولی در یک سیستم زنده، ایزومرهای D و L، همانند دست راست و چپ، متفاوت می‌باشند. برای ایجاد

Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۵. خصوصیات و قراردادهای مربوط به اسیدهای آمینه استاندارد

اسید آمینه	نام‌های مخفف	وزن ملکولی	مقادیر pK_a				اندکس* هیدروپاتی	وجود در پروتئین‌ها †(٪)
			pK_1 (-COOH)	pK_2 ($-NH_3^+$)	pK_R (گروه R)	pI		
گروه‌های R غیرقطبی، آلیفاتیک								
گلیسین	G Gly	۷۵	۲/۳۴	۹/۶۰		۵/۹۷	-۰/۴	۷/۲
آلانین	A Ala	۸۹	۲/۳۴	۹/۶۹		۶/۰۱	۱/۸	۷/۸
والین	V Val	۱۱۷	۲/۳۲	۹/۶۲		۵/۹۷	۴/۲	۶/۶
لوسین	L Leu	۱۳۱	۲/۳۶	۶/۶۰		۵/۹۸	۳/۸	۹/۱
ایزولوسین	I Ile	۱۳۱	۲/۳۶	۹/۶۸		۶/۰۲	۴/۵	۵/۳
متیونین	M Met	۱۴۹	۲/۲۸	۹/۲۱		۵/۷۴	۱/۹	۲/۳
گروههای R آرماتیک								
فنیل‌آلانین	F Phe	۱۶۵	۱/۸۳	۹/۱۳		۵/۴۸	۲/۸	۳/۹
تیروزین	Y Tyr	۱۸۱	۲/۲۰	۹/۱۱	۱۰/۰۷	۵/۶۶	-۱/۳	۳/۲
تریپتوفان	W Trp	۲۰۴	۲/۳۸	۹/۳۹		۵/۸۹	-۰/۹	۱/۴
گروههای R قطبی، بدون‌بار								
سرین	S Ser	۱۰۵	۲/۲۱	۹/۱۵		۵/۶۸	-۰/۸	۶/۸
پرولین	P Pro	۱۱۵	۱/۹۹	۱۰/۹۶		۶/۴۸	۱/۶	۵/۲
ترئونین	T Thr	۱۱۹	۲/۱۱	۹/۶۲		۵/۸۷	-۰/۷	۵/۹
سیستئین	C Cys	۱۲۱	۱/۹۶	۱۰/۲۸	۸/۱۸	۵/۰۷	۲/۵	۱/۹
آسپاراژین	N Asp	۱۳۲	۲/۰۲	۸/۸۰		۵/۴۱	-۳/۵	۴/۳
گلوتامین	Q Gln	۱۴۶	۲/۱۷	۹/۱۳		۵/۶۵	-۳/۵	۴/۲
گروههای R با بار مثبت								
لیزین	K Lys	۱۴۶	۲/۱۸	۸/۹۵	۱۰/۵۳	۹/۷۴	-۳/۹	۵/۹
هیستیدین	H His	۱۵۵	۱/۸۲	۹/۱۷	۶/۰۰	۷/۵۹	-۳/۲	۲/۳
آرژینین	R Arg	۱۷۴	۲/۱۷	۹/۰۴	۱۲/۴۸	۱۰/۷۶	-۴/۵	۵/۱
گروههای R با بار منفی								
آسپارتات	D Asp	۱۳۳	۱/۸۸	۹/۶۰	۳/۶۵	۲/۷۷	-۳/۵	۵/۳
گلوتامات	E Glu	۱۴۷	۲/۱۹	۹/۶۷	۴/۲۵	۳/۲۲	-۳/۵	۶/۳

* مقیاسی مرکب از میزان آبگریزی و آبدوستی گروههای R؛ از این مقیاس می‌توان در اندازه‌گیری تمایل یک اسید آمینه به یک محیط آبی (مقادیر -) یا یک محیط آبگریز (مقادیر +) استفاده نمود. فصل ۱۲ را ببینید.

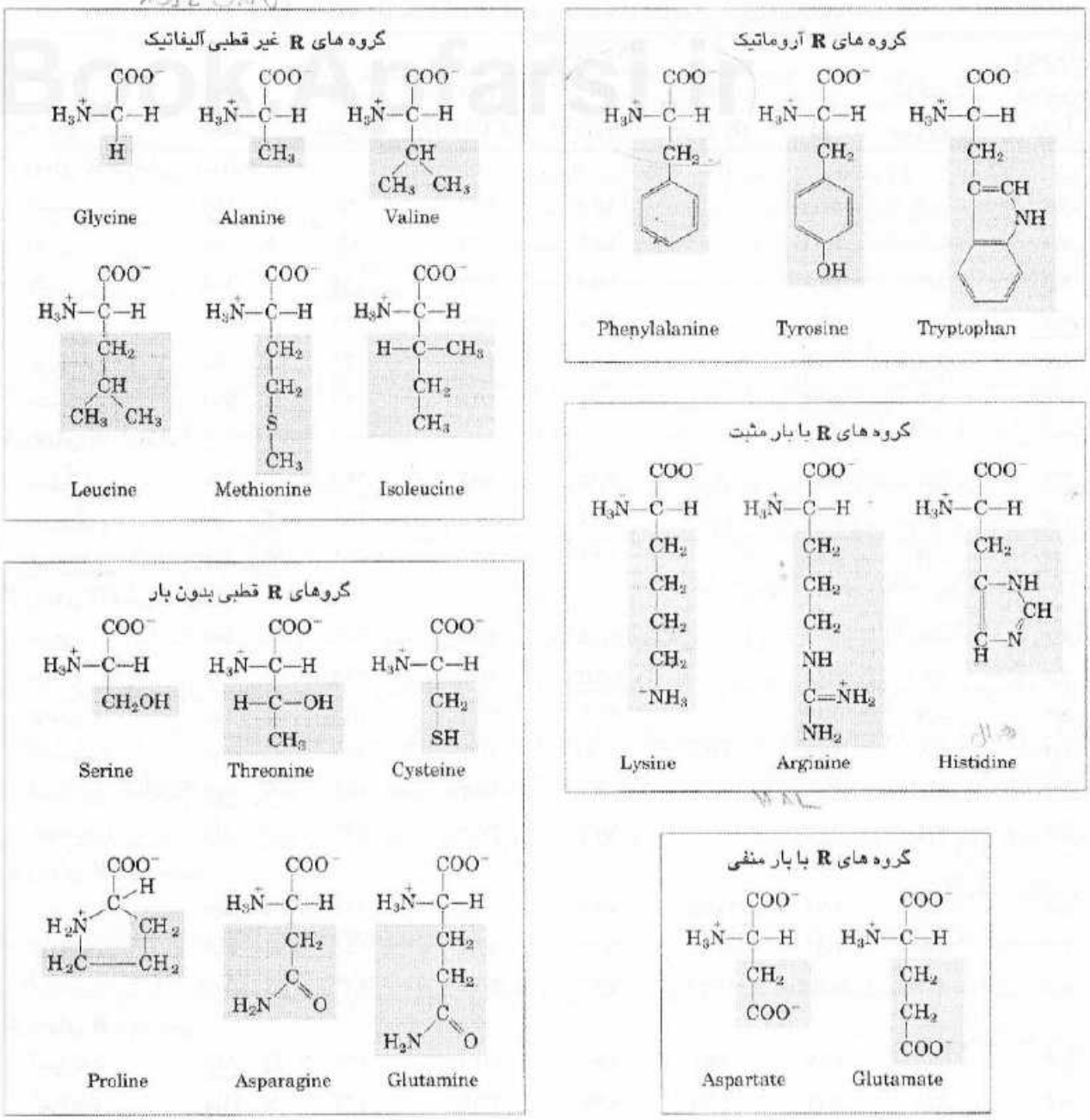
† درصد متوسط وجود در بیش از ۱،۱۵۰ پروتئین مختلف.

تحت ساختمان‌های تکراری پایدار در پروتئین‌ها (فصل ۶) عموماً لازم است که اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده آنها از یک سری ایزومر فضایی باشند. سلول‌ها می‌توانند به‌طوراختصاصی ایزومرهای L اسیدهای آمینه را سنتز نمایند، زیرا جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها نامتقارن بوده و در نتیجه واکنش‌هایی که آنها کاتالیز می‌نمایند، دارای ویژگی فضایی هستند.

اسیدهای آمینه را می‌توان براساس گروه R طبقه‌بندی نمود

شناخت ویژگی‌های شیمیایی اسیدهای آمینه استاندارد برای درک بیوشیمی ضروری است. براساس ویژگی‌های گروه‌های R، بخصوص قطبیت یا تمایل آنها به واکنش با آب در pH بیولوژیک (حدود ۷)، اسیدهای آمینه را می‌توان در پنج گروه اصلی قرار داد (جدول ۱-۵). قطبیت این گروه‌های R، تنوع زیادی از انواع غیرقطبی یا آبگریز

Book.Apfarsi.ir



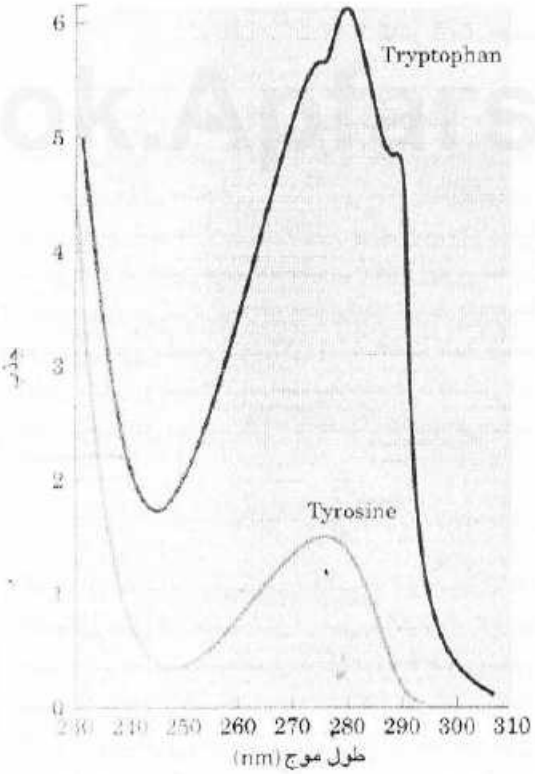
شکل ۵-۵. ۲۰ اسید آمینه استاندارد موجود در پروتئین‌ها. این فرمولهای ساختمانی، حالات یونیزه غالب اسیدهای آمینه را در pH ۷/۰ نشان می‌دهند. قسمت‌های فاقد سایه در تمامی اسیدهای آمینه مشترک هستند؛ قسمتهای دارای سایه، گروه‌های R را نشان می‌دهند. هر چند گروه R هیستیدین بدون بار نشان داده شده است، pK_a (جدول ۱-۵ را ببینید) آن طوری است که کسر کوچک ولی مهمی از این گروه‌ها در pH ۷/۰ بار مثبت دارند.

(نامحلول در آب) تا شدیداً قطبی یا آبدوست (محلول در آب)، دارد.

ساختمان ۲۰ اسید آمینه استاندارد در شکل ۵-۵ و بعضی از ویژگی‌های آنها در جدول ۱-۵ فهرست شده است. در داخل هر گروه، درجه‌بندی از نظر قطبی، اندازه و شکل گروه‌های R وجود دارد.

گروه‌های R آلیفاتیک غیرقطبی: گروه‌های R در این کلاس اسیدهای آمینه، غیرقطبی و آبگریز می‌باشند. زنجیرهای جانبی **آلانین، والین، لوسین** و **ایزولوسین** تمایل دارند تا در داخل پروتئین‌ها به‌صورت دسته در کنار یکدیگر قرار گرفته و از طریق واکنش‌های متقابل آبگریز سبب پایداری ساختمان پروتئین گردند. **گلیسین** ساده‌ترین ساختمان را دارد. هرچند این اسید آمینه رسماً غیرقطبی است، زنجیر جانبی آن آنقدر کوچک می‌باشد که در واقع هیچ همکاری را در

Book.Apfarsi.ir



شکل ۶-۵. جذب نور ماوراءبنفش توسط اسیدهای آمینه آروماتیک. مقایسه طیفهای جذب نوری اسیدهای آمینه آروماتیک تریپتوفان و تیروزین در pH۶/۰. این دو اسید آمینه به میزان برابر (10^{-3} M) و تحت شرایط مشابه وجود دارند. جذب نوری تریپتوفان چهار برابر بیش از تیروزین می‌باشد. توجه کنید که حداکثر جذب نوری در مورد هر دو این اسیدهای آمینه در نزدیکی ۲۸۰ nm می‌باشد. جذب اسید آمینه آروماتیک سوم، یعنی فنیل‌آلانین، (نشان داده نشده است) عموماً نقش کمی در خصوصیات جذبی پروتئین‌ها دارد.

واکنش‌های متقابل آبگریز ندارد. **متیونین**، یکی از دو اسید آمینه دارای سولفور، حاوی گروه تیواتر غیرقطبی در زنجیر جانبی خود می‌باشد.

گروه‌های R آروماتیک: **فنیل‌آلانین، تیروزین و تریپتوفان** با داشتن زنجیرهای جانبی آروماتیک، نسبتاً غیرقطبی (آبگریز) می‌باشند. تمامی این گروه‌ها می‌توانند در واکنش‌های متقابل آبگریز شرکت نمایند. گروه هیدروکسیل موجود در تیروزین، این اسید آمینه را قادر می‌سازد تا بتواند پیوندهای هیدروژنی تشکیل دهد؛ این گروه، عامل مهمی در بعضی آنزیم‌ها می‌باشد. به واسطه گروه هیدروکسیل تیروزین و نیتروژن حلقه اندولی تریپتوفان، این دو اسید آمینه به‌طور قابل توجهی بیش از فنیل‌آلانین، قطبی هستند.

تریپتوفان و تیروزین و به میزان کمتر فنیل‌آلانین، نور ماوراء بنفش را جذب می‌نمایند (شکل ۶-۵، کادر ۱-۵). این موضوع علت جذب قوی و مشخص نور توسط اکثر پروتئین‌ها در طول موج ۲۸۰ nm بوده و محققین از این خاصیت برای شناسایی پروتئین‌ها استفاده می‌نمایند.

گروه‌های R بدون‌بار قطبی: گروه‌های R این اسیدهای آمینه، در مقایسه با گروه‌های R اسیدهای آمینه غیرقطبی، بیشتر در آب محلول بوده و یا آبدوست‌تر می‌باشند، زیرا دارای گروه‌های عاملی هستند که می‌توانند با آب پیوند هیدروژنی برقرار نمایند. این کلاس اسیدهای آمینه شامل **سرین، ترئونین، سیستئین، پرولین، آسپاراژین** و **گلوتامین** می‌باشند. این قطبیت در مورد سرین و ترئونین به واسطه گروه‌های هیدروکسیل آنها بوده؛ در مورد سیستئین بخاطر گروه سولفیدریل آن است و در مورد آسپاراژین و گلوتامین به علت گروه‌های آمیدی آنها می‌باشد. پرولین ساختمان حلقوی متفاوتی داشته و قطبیت آن متوسط می‌باشد. گروه آمینو دوم (ایمینو) ریشه‌های Pro دارای کونفورماسیون سختی بوده که انعطاف‌پذیری ساختمانی نواحی پلی‌پپتیدی حاوی پرولین را کاهش می‌دهد.

آسپاراژین و گلوتامین، آمیدهای دو اسید آمینه، به ترتیب آسپارتات و گلوتامات، می‌باشند که آنها نیز در ساختمان پروتئین‌ها وجود دارند؛ در حضور اسید یا باز، این آمیدها به اسیدهای آمینه مربوطه هیدرولیز می‌گردند. سیستئین براحتی اکسیده شده و ایجاد یک اسید آمینه دیمر با اتصال کووالان بنام **سیستین** می‌نماید که در آن دو ملکول یا ریشه سیستئین توسط یک پیوند دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند (شکل ۷-۵). این ریشه‌های دارای اتصال دی‌سولفیدی، شدیداً آبگریز (غیرقطبی) می‌باشند. با ایجاد اتصالات کووالان بین قسمتهای مختلف یک ملکول پروتئین یا بین دو زنجیر پروتئینی مختلف، پیوندهای دی‌سولفیدی نقش اختصاصی را در ساختمان بسیاری

Book.Apfarsi.ir

کادر ۱-۵. جذب نور توسط ملکول‌ها: قانون لامبرت-بیر

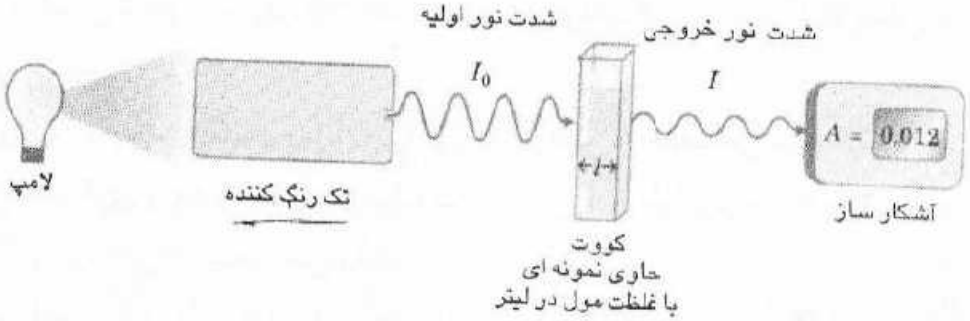
درست همانند تریپتوفان که نور را در طول موج ۲۸۰ nm جذب می‌نماید (شکل ۶-۵)، دامنه وسیعی از بیوملکول‌ها نور را در طول‌موجهای مشخصی جذب می‌کنند. اندازه‌گیری میزان جذب نور توسط اسپکتروفتومتر برای جستجو و شناسایی ملکول‌ها و همچنین برای اندازه‌گیری غلظت آنها در محلول مورد استفاده قرار می‌گیرد. کسر نور جذب‌شده توسط یک محلول در یک طول موج مشخص، بستگی به ضخامت لایه جذب‌کننده (طول مسیر) و غلظت ماده جذب‌کننده دارد (شکل ۱). قانون لامبرت-بیر این دو وابستگی را با یکدیگر ترکیب می‌نماید:

$$\log \frac{I_0}{I} = \epsilon c l$$

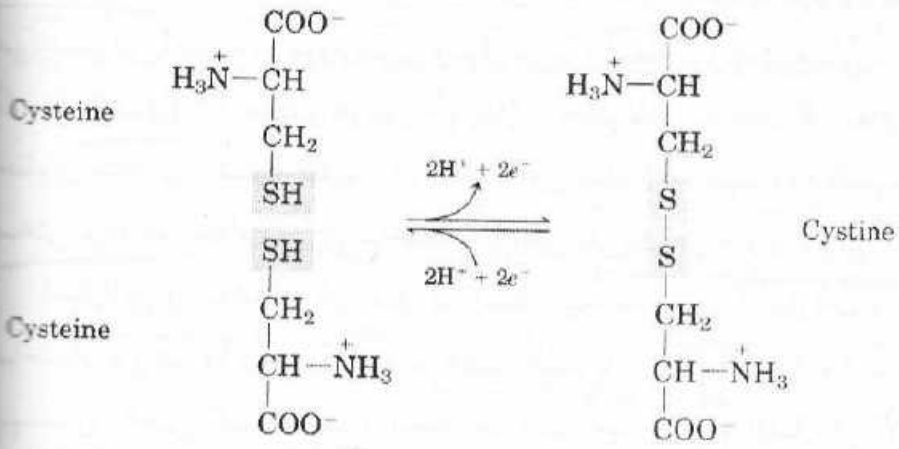
که در آن I_0 شدت نور ورودی، I شدت نور عبوری، ε ضریب خاموشی مولی (بر حسب لیتر در مول سانتیمتر)، c غلظت ماده جذب‌کننده (برحسب مول در لیتر) و l طول مسیر نمونه جذب‌کننده نور (برحسب سانتیمتر) می‌باشد. طبق قانون لامبرت-بیر، نور ورودی موازی و تک‌رنگ (با یک طول موج) بوده و ملکول‌های حلال و ماده حل‌شده دارای جهت‌های تصادفی هستند. بیان لگاریتمی (I_0/I) را **جذب نوری** نامیده و با A نمایش می‌دهند.

لازم به ذکر است که هر میلی‌متر پشت‌سرهم طول مسیر محلول جذب‌کننده در یک سلول ۱/۰ cm، مقدار ثابتی نور را جذب نکرده، بلکه کسر ثابتی از نور ورودی را جذب می‌نماید. هرچند، با داشتن یک لایه جذبی با طول مسیر ثابت، جذب A مستقیماً متناسب با غلظت ماده حل‌شده جذب‌کننده می‌باشد.

ضریب خاموشی مولی برحسب ماهیت ترکیب جذب‌کننده نور، حلال و طول موج، متفاوت می‌باشد؛ در صورتیکه شکل جذب‌کننده در تعادل با یک حالت یونیزه دارای خصوصیات جذبی متفاوت باشد، این ضریب بر حسب pH نیز متفاوت خواهد بود.



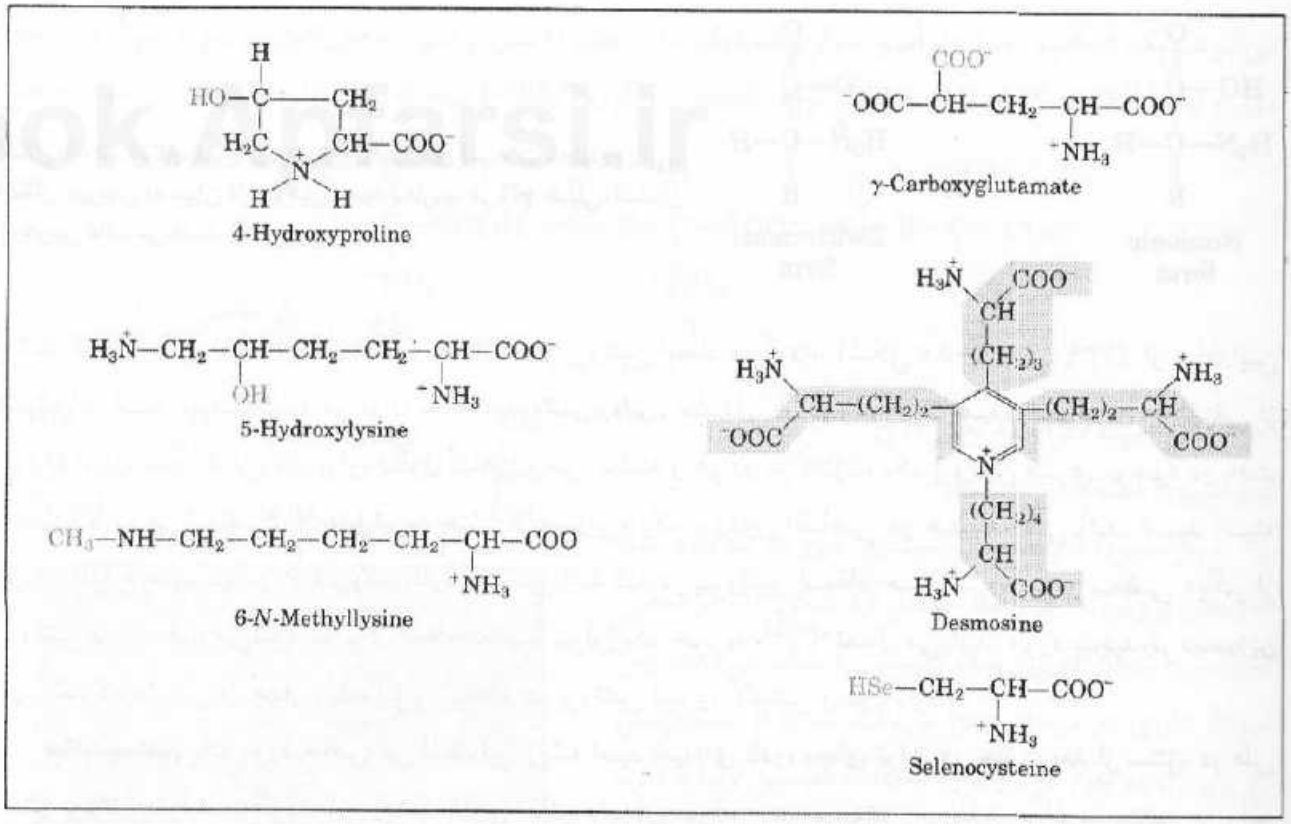
شکل ۱. اجزاء اصلی یک اسپکتروفتومتر. یک منبع نوری که نور را در یک طیف وسیع نشر می‌دهد. تک‌رنگ‌کننده، نور با طول موج مشخص را انتخاب نموده و عبور می‌دهد. نور تک‌رنگ حاصل از میان کووت حاوی نمونه از طول مسیر عبور نموده و متناسب با غلظت نمونه جذب‌کننده نور، مقداری از آن جذب می‌گردد. نور عبوری توسط یک آشکارساز اندازه‌گیری می‌شود.



شکل ۷-۵. تشکیل قابل‌برگشت یک پیوند دی‌سولفیدی توسط اکسیداسیون دو ملکول سیستئین. پیوندهای دی‌سولفیدی بین ریشه‌های Cys، ساختمان بسیاری از پروتئین‌ها را پایدار می‌نمایند.

از پروتئین‌ها ایفاء می‌نمایند.

گروه‌های R دارای بار مثبت (بازی): آبدوست‌ترین گروه‌های R مربوط به انواع دارای بارهای مثبت یا منفی می‌باشند. اسیدهای آمینه‌ای که در pH برابر ۷/۰، گروه‌های R آنها دارای بار مثبت قابل توجه می‌باشند، عبارتند از **لیزین** ک



شکل ۸-۵. اسیدهای آمینه غیراستاندارد. (a) چندین اسید آمینه غیراستاندارد در پروتئین‌ها یافت می‌شود. تمامی اینها از اسیدهای آمینه استاندارد مشتق می‌گردند. دسموزین از چهار ریشه Lys (چهار اسکلت کربنی سایه‌دار) تشکیل می‌شود. به استفاده از اعداد و حروف یونانی برای شناسایی اتم‌های کربن در این ساختمان‌ها توجه نمایید. (b) اورنیتین و سیترولین که در پروتئین‌ها وجود ندارند، ترکیبات واسطی در بیوسنتز آرژینین و چرخه اوره می‌باشند.

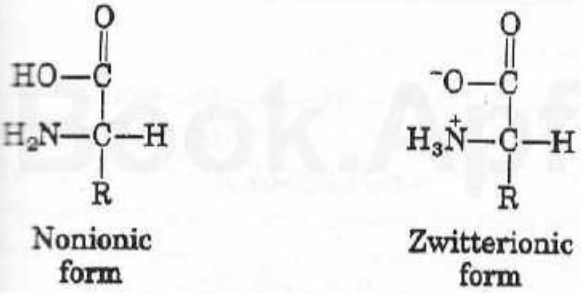
دارای یک گروه آمین اول دیگر در موقعیت ε زنجیر آلیفاتیک خود است؛ **آرژینین** که دارای یک گروه گوانیدینو با بار مثبت است؛ و **هیستیدین** که یک گروه ایمیدازول دارد. هیستیدین تنها اسید آمینه استانداردی است که زنجیر قابل یونیزه‌ای دارد که pK_a آن در نزدیک خنثی می‌باشد. در بسیاری از واکنش‌های آنزیمی، یک ریشه His با عمل به عنوان دهنده یا گیرنده یک پروتون، واکنش را تسهیل می‌نماید.

گروه‌های R دارای بار منفی (اسیدی): دو اسید آمینه دارای گروه‌های R با بار منفی در pH برابر ۷/۰، شامل **آسپارتات** و **گلوتامات** می‌باشند که هر کدام یک گروه کربوکسیل دیگر در زنجیر جانبی خود دارند.

اسیدهای آمینه غیراستاندارد نیز اعمال مهمی را انجام می‌دهند

علاوه بر ۲۰ اسید آمینه استاندارد، ممکن است در ساختمان اسیدهای آمینه، ریشه‌های دیگری وجود داشته

Book.Apfarsi.ir



شکل ۹-۵. اشکال غیریونی و زویتریون آسیدهای آمینه. در محلولهای آبی، اشکال غیریونی به میزان قابل‌توجهی وجود ندارند. در pH خنثی، اشکال زویتریون غالب می‌باشند.

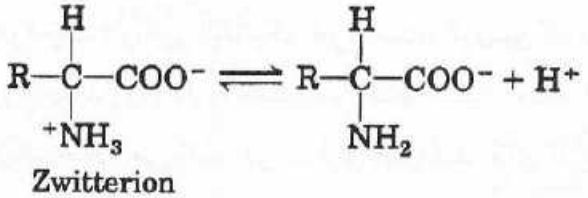
باشند که از تغییر ریشه‌های استاندارد بعد از سنتز پروتئین ایجاد می‌گردند (شکل ۸a-۵، ص. ۱۳۹). از میان این اسیدهای آمینه غیراستاندارد می‌توان به **۴-هیدروکسی‌پرولین**، مشتقی از پرولین و **۵-هیدروکسی‌لیزین**، مشتقی از لیزین، اشاره نمود. اولی در دیواره سلول گیاهی وجود داشته و هر دو در کلاژن، یک پروتئین فیبری موجود در بافت همبند، دیده می‌شوند. ۶-*N*-**متیل‌لیزین** جزئی از میوزین، یک پروتئین انقباضی در عضله، می‌باشد. اسید آمینه غیراستاندارد مهم دیگر **γ-کربوکسی‌گلوتامات** می‌باشد که در پروتئین انعقاد خون ترومبین و بعضی دیگر از پروتئین‌هایی یافت می‌شود که برای انجام فعالیت بیولوژیک خود به Ca^{2+} اتصال می‌یابند. مورد پیچیده‌تر **دسموزین** می‌باشد که مشتقی از چهار ریشه لیزین بوده و در پروتئین فیبری الاستین وجود دارد.

سلنوسیستئین یک مورد خاص می‌باشد. این ریشه اسید امینه‌ای نادر، بجای تولید در حالت بعد از سنتز، در طی سنتز پروتئین تولید می‌گردد. این ریشه حاوی سلنیوم بجای سولفور در سیستئین می‌باشد. سلنوسیستئین در واقع مشتقی از سرین بوده و در ساختمان بعضی از پروتئین‌های شناخته‌شده مشاهده می‌گردد.

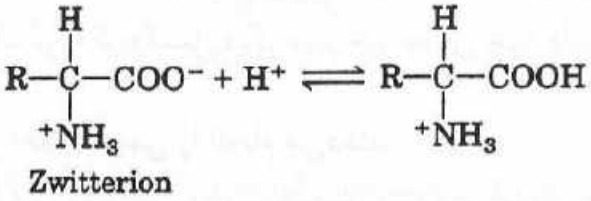
در داخل سلول‌ها، حدود ۳۰۰ اسید آمینه دیگر یافت شده است. این ترکیبات دارای اعمال متنوعی بوده ولی در ساختمان پروتئین شرکت نمی‌نمایند. **اورنیتین** و **سیترولین** (شکل ۸b-۵) نیاز به توجه خاص دارند، زیرا ترکیبات کلیدی در بیوسنتز آرژینین (فصل ۲۲) و در چرخه اوره (فصل ۱۸) می‌باشند.

اسیدهای آمینه می‌توانند به عنوان اسید یا باز عمل نمایند

وقتی اسیدهای آمینه در داخل آب حل می‌گردند، در داخل محلول به شکل یون دو قطبی یا **زویتریون** (کلمه آلمانی به معنی «یون هیبرید») دیده می‌شوند که در شکل ۹-۵ نشان داده شده است. یک زویتریون می‌تواند به صورت یک اسید (دهنده پروتون)



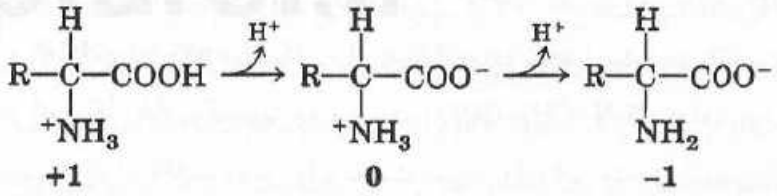
یا یک باز (گیرنده پروتون)

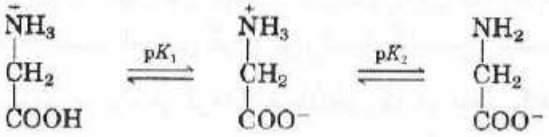


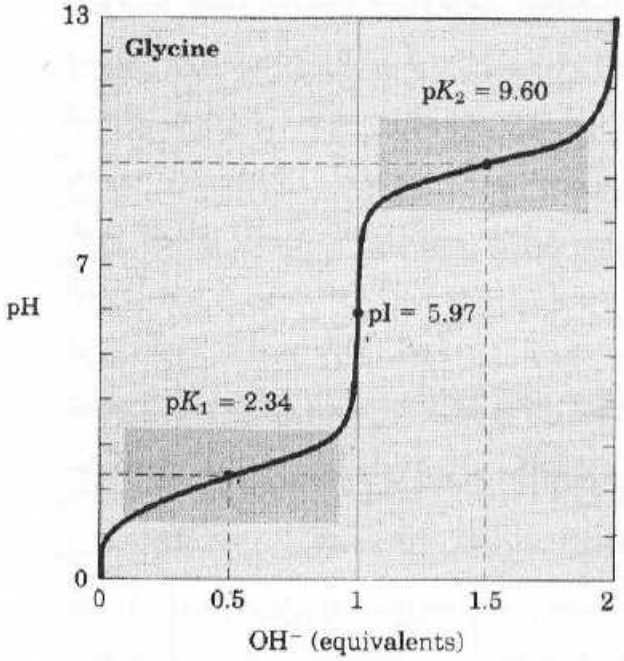
عمل نماید. موادی که این ماهیت دوگانه را دارند، **آمفوتری** بوده و گاهی **آمفولیت** (از «الکترولیت‌های آمفوتر») نامیده

Book Anfarsi.ir

می‌شوند. یک α-آمینو اسید منوآمینو منوکربوکسیلیک ساده، نظیر آلانین، وقتی به‌طورکامل پروتونه می‌گردد، اسید دی‌پروتیک[1] (با دو گروه اسیدی، شامل گروه COOH- و گروه $^+NH_3$-) بوده که می‌تواند دو پروتون از دست بدهد:







شکل ۱۰-۵. تیتراسیون یک اسید آمینه. در اینجا منحنی تیتراسیون محلول ۰/۱ M گلیسین در ۲۵°C نشان داده شده است. اشکال یونی که در نقاط کلیدی تیتراسیون وجود دارند، در بالای شکل نمایش داده شده‌اند. کادرهای سایه‌دار که در حدود pK_1 = ۲/۳۴ و pK_2 = ۹/۶۰ قرار دارند، نواحی دارای بیشترین قدرت بافری را نشان می‌دهند.

اسیدهای آمینه دارای منحنی‌های تیتراسیون مشخصی هستند

تیتراسیون اسید-باز مستلزم افزودن یا برداشت تدریجی پروتون‌ها می‌باشد (فصل ۴). شکل ۱۰-۵ منحنی تیتراسیون شکل دی‌پروتیک گلیسین را نشان می‌دهد. این نمودار دارای دو مرحله مجزا می‌باشد که با از دست‌رفتن دو پروتون موجود در دو گروه مختلف گلیسین ارتباط دارد. هر کدام از این مراحل، دارای شکلی مشابه منحنی تیتراسیون یک اسید منوپروتیک، نظیر اسید استیک (شکل ۱۵-۴) بوده و به همان طریق قابل بررسی است. در pH بسیار پایین، نوع یونی غالب گلیسین به صورت کاملاً پروتونه، یعنی $^+H_3N-CH_2-COOH$، می‌باشد. در نقطه میانی مرحله اول تیتراسیون، که در آن گروه COOH- گلیسین پروتون خود را از دست می‌دهد، غلظتهای برابر دهنده پروتون ($^+H_3N-CH_2-COOH$) و گیرنده پروتون ($^+H_3N-CH_2-COO^-$) وجود دارد. در نقطه میانی هر تیتراسیونی، زمانی به نقطه عطف می‌رسیم که pH برابر pK_a گروه پروتونه تیترشونده می‌باشد (شکل ۱۶-۴ را ببینید). برای گلیسین، این pH در نقطه میانی برابر ۲/۳۴ می‌باشد، بنابراین گروه COOH- آن دارای pK_a (در شکل ۱۰-۵ با pK_1 نشان داده شده است) برابر ۲/۳۴ است. (همان‌طور که در فصل ۴ اشاره گردید، pH و pK_a طریقه ساده بیان به ترتیب، غلظت‌های پروتونی و ثابت تعادل برای یونیزاسیون می‌باشند. pK_a معیاری از تمایل یک گروه برای ازدست دادن یک پروتون است، به‌طوری که این تمایل با افزایش یک واحد در pK_a به میزان ده برابر کاهش می‌یابد.) با پیشرفت تیتراسیون، در pH برابر ۵/۹۷ به نقطه مهم دیگری می‌رسیم. در اینجا نقطه عطف دیگری وجود دارد که در آن برداشت اولین پروتون اساساً کامل شده و برداشت پروتون دوم آغاز می‌گردد. در این pH، گلیسین بیشتر به

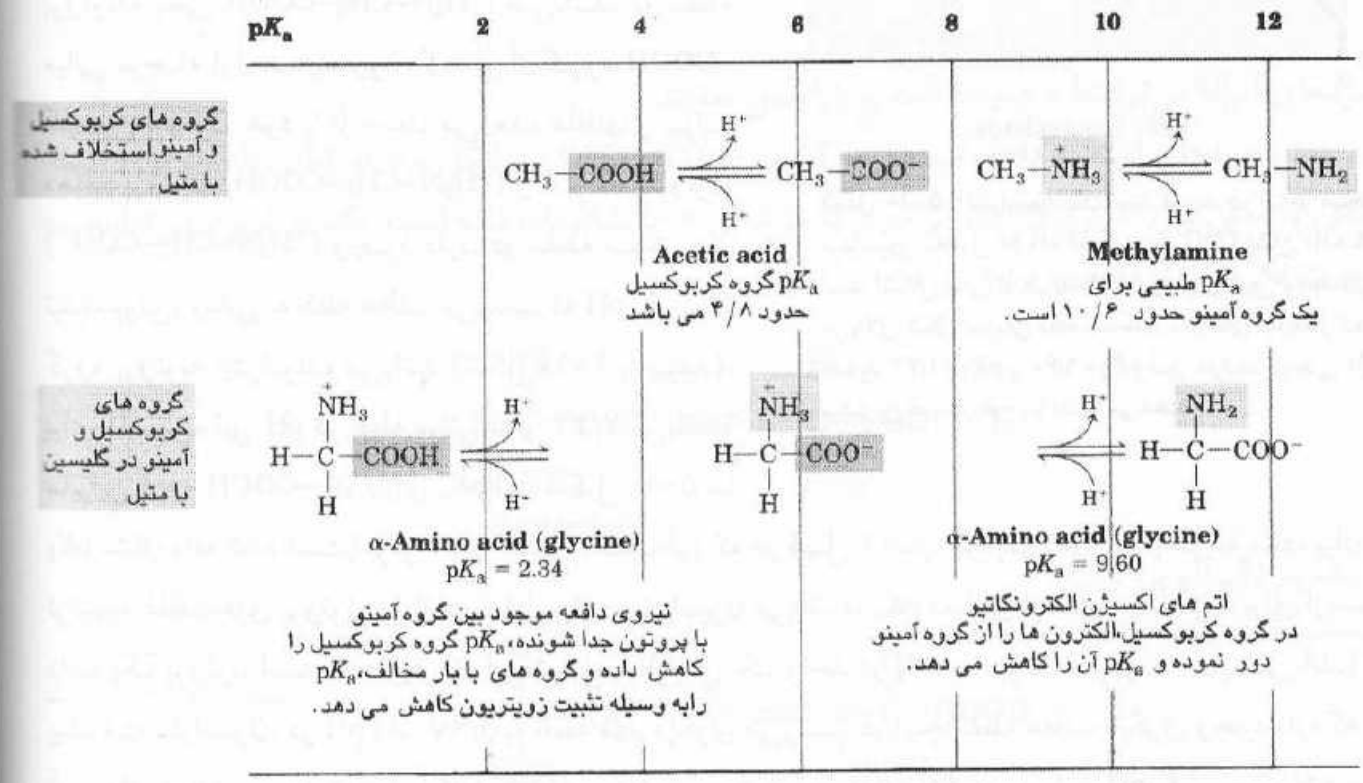
1- Diprotic

Book.Apfarsi.ir

صورت یون دوقطبی $^{+}H_3N-CH_2-COO^{-}$ وجود دارد. مجدداً به اهمیت این نقطه عطف در منحنی تیتراسیون (pI در شکل ۱۰-۵) برخواهیم گشت.

دومین مرحله تیتراسیون مربوط به برداشت یک پروتون از گروه $^{+}NH_3-$ گلیسین می‌باشد. pH نقطه میانی این مرحله ۹/۶۰ و برابر pK_a گروه $^{+}NH_3-$ (با pK_2 در شکل ۱۰-۵ نشان داده شده است) می‌باشد. تیتراسیون در pH حدود ۱۲ خاتمه می‌یابد که در آن شکل غالب گلیسین به صورت $H_2N-CH_2-COO^{-}$ خواهد بود.

از منحنی تیتراسیون گلیسین می‌توان نکات مهمی را برداشت نمود. اول، این منحنی کمیتی از pK_a هر کدام از دو گروه یونیزه‌شونده را بدست می‌دهد: ۲/۳۴ برای گروه COOH- و ۹/۶۰ برای گروه $^{+}NH_3-$. توجه داشته باشید که خاصیت اسیدی گروه کربوکسیل گلیسین، نسبت به گروه کربوکسیل اسید استیک، بیش از ۱۰۰ برابر است (ساده‌تر یونیزه می‌گردد)؛ همان‌طور که در فصل ۴ دیدیم، pK_a اسید استیک برابر ۴/۷۶ بوده که در حد متوسط گروه کربوکسیل متصل به زنجیر هیدروکربنی آلیفاتیک استخلاف‌نشده قرار دارد. تغییر pK_a گلیسین بخاطر وجود خاصیت دفع بین پروتون جداشونده و گروه آمینو با بار مثبت موجود در اتم کربن α می‌باشد که در شکل ۱۱-۵ نشان داده شده است. بارهای مخالف موجود در زویتریون حاصل، سبب پایداری شده و تعادل را به سمت راست می‌کشاند. به‌طورمشابه، pK_a گروه آمینو موجود در گلیسین، کمتر از pK_a متوسط یک گروه آمینو می‌باشد. این اثر تاحدودی به خاطر اتم‌های اکسیژن الکترونگاتیو موجود در گروه‌های کربوکسیل است که بدون توجه به بار گروه کربوکسیل، الکترون‌ها را به سمت خود کشانده و بدین ترتیب تمایل گروه آمینو برای از دست‌دادن پروتون را افزایش می‌دهند. از این‌رو، گروه α-آمینو دارای pK_a کمتری از یک آمین آلیفاتیک، نظیر متیل‌آمین، می‌باشد (شکل ۱۱-۵). به‌طور خلاصه، pK_a هر گروه عامل به میزان زیادی تحت تأثیر محیط شیمیایی اطراف آن می‌باشد، گاهی این پدیده در جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها برای تسریع مکانیسم واکنش‌هایی بکار می‌رود که وابسته به مقادیر تغییریافته pK_a



شکل ۱۱-۵. اثر محیط شیمیایی بر روی pK_a. مقادیر pK_a گروه‌های قابل‌یونیزه موجود در گلیسین کمتر از مقادیر مربوط به گروه‌های ساده کربوکسیل و آمینواستخلاف‌شده با متیل می‌باشد. این کاهش مقادیر pK_a بخاطر واکنش‌های متقابل داخل‌ملکولی است. گروه‌های شیمیایی که در نزدیکی آنها، مثلاً در جایگاه فعال یک آنزیم، قرار می‌گیرند، دارای اثرات مشابهی هستند.

گروه‌های دهنده/گیرنده پروتون ریشه‌های اختصاصی می‌باشند.

دومین اطلاعات بدست‌آمده از منحنی تیتراسیون گلیسین (شکل ۱۰-۵) این است که این اسید آمینه دارای دو ناحیه با قدرت بافری است (شکل ۱۷-۴ را ببینید). یکی از این نواحی، قسمت نسبتاً پهن منحنی است که حدود یک واحد pH در هر طرف اولین pK_a برابر ۲/۳۴ امتداد یافته و نشان می‌دهد که گلیسین بافر خوبی در نزدیکی این pH می‌باشد. ناحیه بافری دیگر در حدود pH برابر ۹/۶۰ قرار دارد. توجه داشته باشید که گلیسین در pH حدود ۷/۴ موجود در مایع خارج‌سلولی یا خون، بافر خوبی نمی‌باشد. در دامنه بافری گلیسین، معادله هندرسن-هاسلباخ (فصل ۴) را می‌توان برای محاسبه نسبت اشکال دهنده پروتون و گیرنده پروتون گلیسین مورد نیاز برای ساختن یک بافر در یک pH خاص، مورد استفاده قرار داد.

منحنی‌های تیتراسیون بار الکتریکی اسیدهای آمینه را نشان می‌دهند

اطلاعات مهم دیگری که از منحنی تیتراسیون یک اسید آمینه بدست می‌آید، ارتباط بین بار الکتریکی خالص آن و pH محلول می‌باشد. در pH ۵/۹۷، نقطه عطف بین دو مرحله در منحنی تیتراسیون، گلیسین غالباً به شکل دوقطبی، کاملاً یونیزه ولی بدون هیچ بار الکتریکی *خالص*، می‌باشد (شکل ۱۰-۵). میزانی از pH که در آن بار الکتریکی خالص برابر صفر می‌باشد را **نقطه ایزوالکتریک** یا **pH ایزوالکتریک**، با مخفف **pI**، گویند. برای گلیسین که در زنجیر جانبی خود فاقد گروه قابل یونیزاسیون می‌باشد، نقطه ایزوالکتریک میانگین ریاضی دو مقدار pK_a می‌باشد:

$$pI = \frac{1}{2}(pK_1 + pK_2) = \frac{1}{2}(2.34 + 9.60) = 5.97$$

همان‌طور که از شکل ۱۰-۵ مشخص می‌باشد، گلیسین در هر میزانی از pH در بالای pI خود دارای بار خالص منفی بوده و بنابراین در یک میدان الکتریکی به سمت الکترود مثبت (آند) حرکت می‌نماید. هرچه میزان pH محلول گلیسین دورتر از pI آن باشد، بار الکتریکی جمعیت ملکول‌های گلیسین بیشتر خواهد بود. برای مثال در pH ۱/۰، گلیسین تقریباً به‌طورکامل به شکل $H_3N-CH_2-COOH^+$، با بار خالص مثبت ۱/۰ می‌باشد. درحالیکه در pH ۲/۳۴، مخلوط مساوی از $H_3N-CH_2-COOH^+$ و $H_3N-CH_2-COO^-$ وجود داشته و متوسط بار خالص مثبت ۰/۵ می‌باشد. علامت و بزرگی بار خالص هر اسید آمینه در هر pH را می‌توان به همین طریق پیش‌بینی نمود.

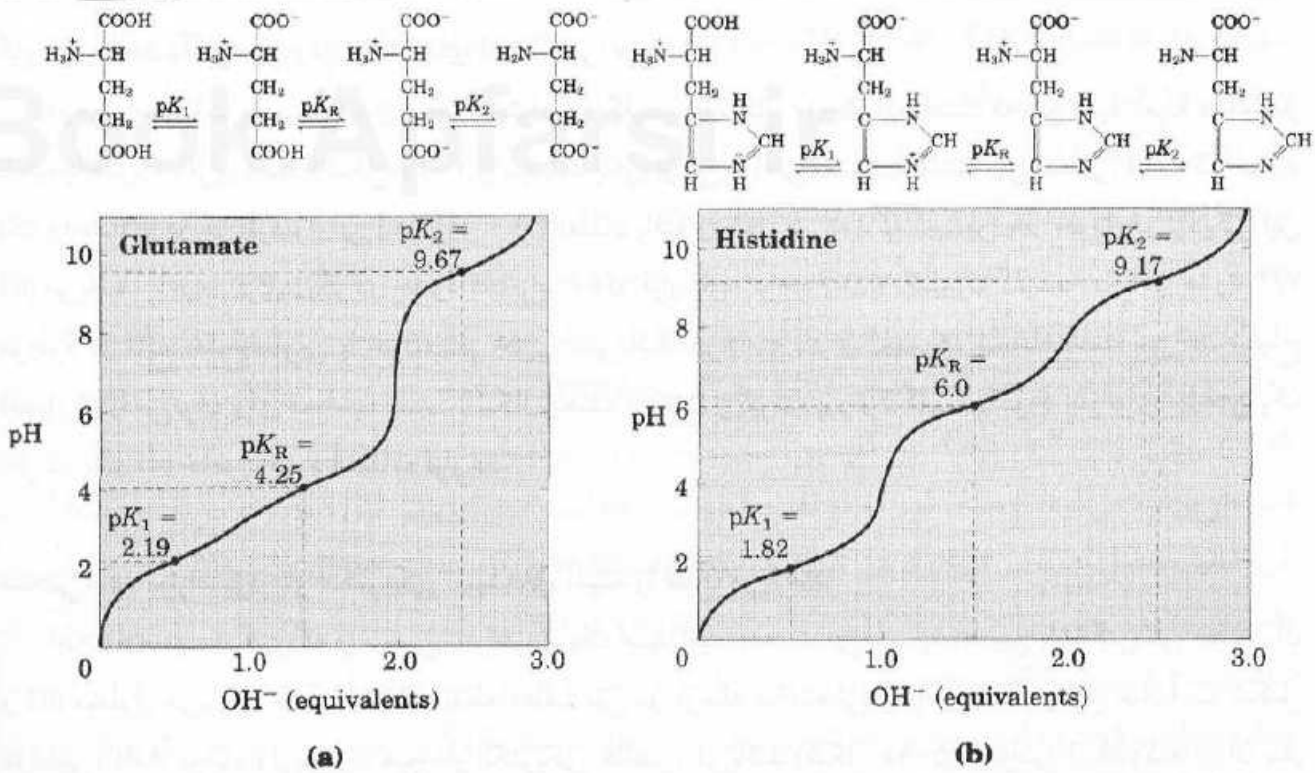
اسیدهای آمینه از نظر ویژگی‌های اسید-باز با یکدیگر متفاوت هستند

ویژگی‌های مشترک موجود در میان بسیاری از اسیدهای آمینه این امکان را فراهم می‌سازد که بتوان کلیات ساده‌شده‌ای را در مورد رفتارهای اسیدی-بازی آنها در نظر گرفت.

تمامی اسیدهای آمینه‌ای که دارای یک گروه α-آمینو، یک گروه α-کربوکسیل و یک گروه R غیرقابل‌یونیزاسیون هستند، منحنی تیتراسیون مشابه منحنی گلیسین دارند (شکل ۱۰-۵). این اسیدهای آمینه دارای pK_a بسیار مشابه، ولی غیریکسان، می‌باشند: pK_a گروه COOH- در دامنه ۱/۸ تا ۲/۴ و pK_a گروه $-NH_3^+$ در دامنه ۸/۸ تا ۱۱/۰ قرار می‌گیرد (جدول ۱-۵).

منحنی تیتراسیون اسیدهای آمینه دارای گروه R قابل یونیزاسیون، پیچیده‌تر بوده و در آن سه مرحله مربوط به سه مرحله یونیزاسیون ممکن دیده می‌شود؛ از اینرو، این اسیدهای آمینه دارای سه pK_a هستند. مرحله اضافه‌شده

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۵. منحنی‌های تیتراسیون **(a)** گلوتامات و **(b)** هیستیدین. pK_a گروه R در اینجا با pK_R نمایش داده شده است.

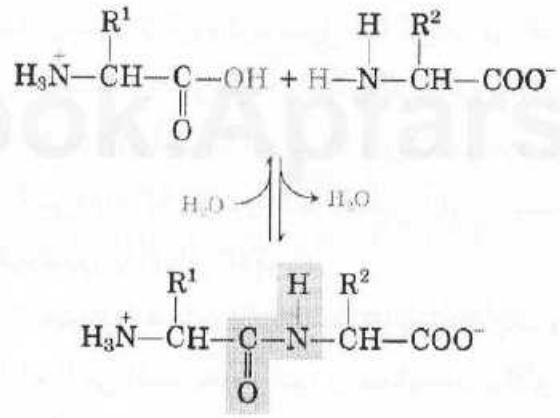
حاصل از یونیزاسیون گروه R، تا حدودی نزدیک یکی از دو مرحله دیگر می‌باشد. منحنی تیتراسیون دو اسید آمینه از این نوع، شامل گلوتامات و هیستیدین، در شکل ۱۲-۵ نشان داده شده است. این نقاط ایزوالکتریک، ماهیت گروه‌های R قابل‌یونیزاسیون موجود را نشان می‌دهند. برای مثال، گلوتامات دارای pI برابر ۳/۲۲ بوده که به‌طورقابل‌توجهی از گلیسین کمتر می‌باشد. این امر به واسطه وجود دو گروه کربوکسیل می‌باشد که متوسط مقدار pK_a آنها (۳/۲۲)، در ایجاد یک بار منفی خالص ۱- نقش دارد که با ۱+ مربوط به گروه آمینو متعادل می‌گردد. به‌طورمشابه، pI مربوط به هیستیدین، با دو گروه با بار مثبت در حالت پروتونه، برابر ۷/۵۹ (متوسط مقادیر pK_a گروه‌های آمینو و ایمیدازول) می‌باشد که بسیار بیشتر از گلیسین است.

در مورد رفتار اسیدی-بازی ۲۰ اسید آمینه استاندارد می‌توان به نکته عمومی مهم دیگری رسید. همان‌طور که قبلاً اشاره گردید، تحت شرایط عمومی تماس آزاد و باز با محیط آبی، تنها هیستیدین دارای گروه R جانبی ($pK_a = ۶/۰$) است که نقش قابل‌توجهی را در قدرت بافری‌نمودن در نزدیکی pH خنثی، pH معمول موجود در مایعات داخل‌سلولی و خارج‌سلولی اکثر حیوانات و باکتریها، ایفاء می‌نماید. هیچکدام از اسیدهای آمینه دیگر دارای زنجیر جانبی قابل‌یونیزاسیون با pK_a به اندازه کافی نزدیک به pH ۷/۰ نمی‌باشند تا بتوانند به عنوان یک بافر فیزیولوژیک مؤثر عمل نمایند (جدول ۱-۵).

پپتیدها و پروتئین‌ها

حال به پلیمرهای اسیدهای آمینه، یعنی **پپتیدها** و **پروتئین‌ها**، برمی‌گردیم. پپتیدهای موجود در سیستم‌های بیولوژیک، از نظر اندازه متفاوت بوده و ممکن است به صورت انواع کوچک با دو یا سه اسید آمینه تا انواع بسیار بزرگ متشکل از هزاران اسید آمینه دیده شوند. در اینجا بر ویژگی‌های شیمیایی پایه‌ای این پلیمرها تمرکز می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir



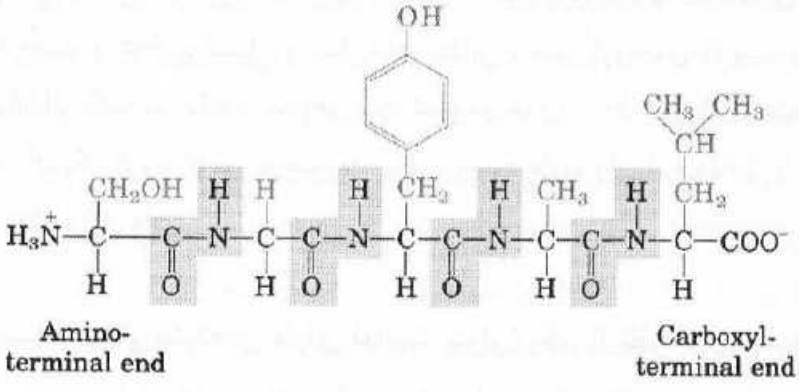
شکل ۱۳-۵. تشکیل یک پیوند پپتیدی بوسیله کندانساسیون. گروه α-آمینو یک اسید آمینه (با گروه R^2) به عنوان یک نوکلئوفیل عمل نموده (جدول ۴-۳ را ببینید) تا جایگزین گروه هیدروکسیل اسید آمینه دیگر (با گروه R^1) شده و ایجاد یک پیوند پپتیدی (سایه‌دار) نماید. گروه‌های آمینو نوکلئوفیلهای خوبی هستند، ولی گروه هیدروکسیل یک گروه جداشونده ضعیف بوده و براحتی جایگزین نمی‌گردد. در pH فیزیولوژیک، این واکنش به میزان قابل‌توجهی رخ نمی‌دهد.

پپتیدها زنجیرهای اسید آمینه‌ای می‌باشند

دو ملکول اسید آمینه می‌توانند به‌طورکووالان از طریق یک پیوند آمیدی یا **پیوند پپتیدی** به یکدیگر متصل شده و ایجاد یک دی‌پپتید را بنمایند. این پیوند با برداشت عناصر یک ملکول آب (دهیدراتاسیون) از گروه α-کربوکسیل یک اسید آمینه و α-آمینو اسید آمینه دیگر ایجاد می‌گردد (شکل ۱۳-۵). تشکیل پیوند پپتیدی مثالی از یک واکنش کندانساسیون است که یکی از کلاسهای معمول واکنش‌ها در سلول‌های زنده، می‌باشد. تحت شرایط بیوشیمیایی استاندارد، تعادل واکنش نشان داده شده در شکل ۱۳-۵ بیشتر به سمت مواد شرکت‌کننده در واکنش می‌باشد تا محصول آن. برای اینکه این واکنش از نظر ترمودینامیکی قابل انجام باشد، لازم است گروه کربوکسیل دچار تغییر شیمیایی شده و یا به طریقی فعال گردد که گروه هیدروکسیل آن راحت‌تر برداشت شود. یک روش شیمیایی برای حل این مشکل بعداً در این فصل ذکر خواهد شد. روش بیولوژیک تشکیل پیوند پپتیدی، موضوع اصلی فصل ۲۷ می‌باشد.

سه اسید آمینه می‌توانند توسط دو پیوند پپتیدی به یکدیگر متصل شده و ایجاد یک تری‌پپتید را بنمایند؛ به‌طورمشابه، اسیدهای آمینه با اتصال به یکدیگر ایجاد تتراپپتید و پنتاپپتید را می‌نمایند. وقتی تعدادی از اسیدهای آمینه به این طریق به یکدیگر اتصال می‌یابند، ساختمان حاصل را **اولیگوپپتید** گویند. وقتی تعداد این اسیدهای آمینه زیاد باشد، محصول را **پلی‌پپتید** می‌نامند. در ساختمان پروتئین‌ها ممکن است هزاران اسید آمینه وجود داشته باشد. هرچند گاهی اصطلاحات «پروتئین» و «پلی‌پپتید» بجای یکدیگر بکار می‌روند، ملکول‌هایی که به آنها پلی‌پپتید اطلاق می‌گردد، عموماً دارای وزن ملکولی کمتر از ۱۰،۰۰۰ می‌باشند.

شکل ۱۴-۵ ساختمان یک پنتاپپتید را نشان می‌دهد. همان‌طور که تاکنون ملاحظه شده است، اسید آمینه موجود در یک پپتید را اغلب یک ریشه (قسمت باقیمانده بعد از جداشدن یک اتم هیدروژن از گروه آمینو و یک عامل

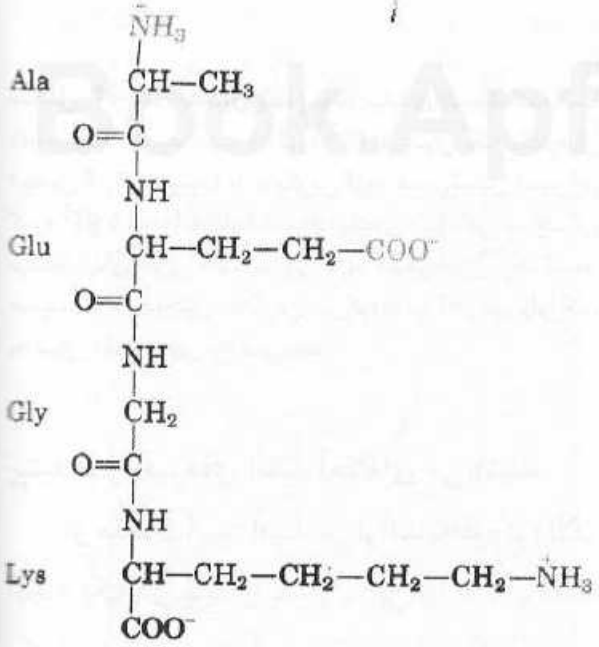


شکل ۱۴-۵. پنتاپپتید سرین‌گلیسیل‌تیروزیل‌آلانیل‌لوسین یا Ser-Gly-Tyr-Ala-Leu نامگذاری پپتیدها از ریشه انتهای آمینو آغاز می‌گردد که به‌طورقراردادی در سمت چپ قرار داده می‌شود. پیوندهای پپتیدی دارای سایه می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir

هیدروکسیل از گروه کربوکسیل آن) گویند. در یک پپتید، ریشه اسید آمینه موجود در انتهای دارای گروه α-آمینو آزاد را ریشه **انتهای آمینو** (یا انتهای N) و ریشه موجود در انتهای دیگر دارای یک گروه کربوکسیل آزاد را ریشه **انتهای کربوکسیل** (یا انتهای C) گویند.

هرچند هیدرولیز یک پیوند پپتیدی یک واکنش انرژی‌زا می‌باشد، بخاطر انرژی فعال‌شدن بالای آن، به آهستگی صورت می‌گیرد. در نتیجه، پیوندهای پپتیدی موجود در پروتئین‌ها کاملاً پایدار بوده و تحت اکثر شرایط داخل‌سلولی، نیمه‌عمری ($t_{1/2}$) حدود ۷ سال دارند.



شکل ۱۵-۵. آلانیل‌گلوتامیل‌گلیسیل‌لیزین. این تتراپپتید دارای یک گروه α-آمینو آزاد، یک گروه α-کربوکسیل آزاد و دو گروه قابل یونیزاسیون می‌باشد. گروه‌هایی که در pH ۷/۰ یونیزه هستند، نشان داده شده‌اند.

پپتیدها را می‌توان براساس خاصیت یونیزاسیون آنها تشخیص داد

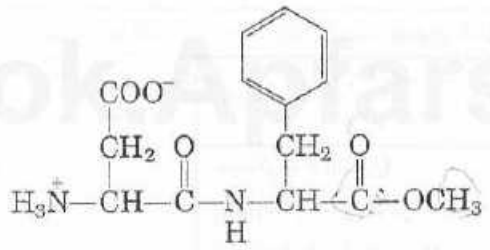
پپتیدها تنها دارای یک گروه α-آمینو آزاد و یک α-کربوکسیل آزاد، هر کدام در یک انتها، می‌باشند (شکل ۱۵-۵). این گروه‌ها همانند حالت موجود در اسیدهای آمینه آزاد، یونیزه بوده ولی بخاطر عدم‌وجود گروه‌های با بار مخالف بر روی کربن α، ثابتهای یونیزاسیون آنها متفاوت می‌باشد. گروه‌های α-آمینو و α-کربوکسیل تمامی اسیدهای آمینه غیرانتهایی در ایجاد پیوندهای کووالان پپتیدی شرکت نموده و ازاینرو یونیزه نبوده و نقشی را در رفتار اسید-بازی کلی پپتیدها ندارند. هرچند، گروه‌های R بعضی از اسیدهای آمینه موجود در یک پپتید، قادر به یونیزاسیون بوده (جدول ۱-۵) و این گروه‌ها در خصوصیت اسید-بازی کلی ملکول همکاری دارند (شکل ۱۵-۵). بنابراین رفتار اسید-بازی یک پپتید را می‌توان از روی گروه‌های آزاد α-آمینو و α-کربوکسیل و همچنین ماهیت و تعداد گروه‌های R قابل‌یونیزاسیون موجود در آن پیش‌بینی نمود. همانند اسیدهای آمینه آزاد، پپتیدها دارای منحنی‌های مشخص تیتراسیون و یک pH ایزوالکتریک (pI) خاص می‌باشند که در آن pH فاقد حرکت در میدان الکتریکی خواهند بود. همان‌طور که در ادامه این فصل ملاحظه خواهد گردید، از این ویژگی‌ها در بعضی از فن‌آوریها برای جداسازی پپتیدها و پروتئین‌ها استفاده می‌گردد. لازم به تأکید می‌باشد که وقتی یک اسید آمینه در ساختمان یک پپتید قرار می‌گیرد، مقدار pK_a گروه R قابل یونیزاسیون آن مقداری تغییر می‌نماید. ازدست‌رفتن بار گروه‌های α-آمینو و α-کربوکسیل، واکنش‌های متقابل با سایر گروه‌های R پپتیدی و عوامل محیطی دیگر می‌توانند بر روی pK_a اثر بگذارند. مقادیر pK_a فهرست شده در جدول ۱-۵ می‌تواند راهنمای خوبی برای تعیین دامنه pHای باشد که در آن یک گروه خاص به صورت یونیزه وجود دارد، ولی این مقادیر را نمی‌توان به‌طورقطعی برای پپتیدها مورد استفاده قرار داد.

پپتیدها و پلی‌پپتیدهای دارای فعالیت بیولوژیک، از نظر اندازه بسیار متفاوت هستند

در مورد ارتباط وزنهای ملکولی پپتیدها و پروتئین‌های دارای فعالیت بیولوژیک با عملکرد آنها، هیچ قاعده کلی

Book.Apfarsi.ir

وجود ندارد. اندازه پپتیدهایی که به‌طورطبیعی وجود دارند، ممکن است از دو تا هزاران اسید آمینه متفاوت باشد. حتی کوچکترین پپتیدها نیز دارای اعمال بیولوژیک مهم می‌باشند. دی‌پپتید L-آسپارتیل-L-فنیل‌آلانین متیل استر، به عنوان یک شیرین‌کننده مصنوعی می‌باشد که به‌طورتجارتی سنتز شده و با نام آسپارتام یا نوتراسوئیت[1] مشهور است.



L-Aspartyl-L-phenylalanine methyl ester
(aspartame)

بسیاری از پپتیدها اثرات خود را در غلظت‌های بسیار پایین اعمال می‌نمایند. برای مثال، تعدادی از هورمون‌های موجود در مهره‌داران (فصل ۲۳)، از جنس پپتیدهای کوچک می‌باشند. از جمله این هورمونها عبارتند از اکسی‌توسین (با ۹ ریشه اسید آمینه) که توسط هیپوفیز خلفی ترشح شده و انقباضات رحمی را تحریک می‌نماید؛ برادی‌کینین (۹ ریشه‌ای) که مانع التهاب بافت‌ها می‌گردد؛ و فاکتور آزادکننده تیروتروپین (۳ ریشه‌ای) که در هیپوتالاموس ساخته شده و رهاسازی هورمون دیگری، بنام تیروتروپین، از غده هیپوفیز قدامی را تحریک می‌کند. تعدادی از سموم قارچی، نظیر آمانیتین، و همچنین بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها نیز پپتیدهای کوچک می‌باشند.

ملکول‌های دارای اندازه قدری بزرگتر شامل پلی‌پپتیدهای کوچک و اولیگوپپتیدهایی نظیر هورمون انسولین پانکراس می‌باشند که از دو زنجیر پلی‌پپتیدی، یکی با ۳۰ و دیگری با ۲۱ ریشه اسید آمینه، تشکیل شده است. هورمون دیگر پانکراس، یعنی گلوکاگون، دارای ۲۹ ریشه بوده و با عمل انسولین مخالفت می‌نماید. کورتیکوتروپین یک هورمون ۳۹ ریشه‌ای مترشحه از غده هیپوفیز قدامی می‌باشد که قسمت قشری غده فوق‌کلیوی را تحریک می‌نماید.

زنجیرهای پلی‌پپتیدی موجود در پروتئین‌ها، چه طولی را دارند؟ همان‌طور که در جدول ۲-۵ نشان داده شده است، این طولها تنوع قابل‌توجهی را دارند. سیتوکروم c انسانی از ۱۰۴ ریشه اسید آمینه تشکیل شده است که در یک زنجیر به یکدیگر متصل هستند؛ کیموتریپسین گاوی دارای ۲۴۵ ریشه است. در انتهای این دامنه اندازه، تیتین[2] با حدود ۲۷,۰۰۰ ریشه اسید آمینه و وزن ملکولی تقریبی ۳,۰۰۰,۰۰۰ قرار دارد که به عنوان یکی از اجزاء تشکیل‌دهنده عضله مهره‌داران می‌باشد. اکثریت پلی‌پپتیدهای موجود در طبیعت، بسیار کوچکتر از این پروتئین بوده و کمتر از ۲,۰۰۰ ریشه اسید آمینه دارند.

تعدادی از پروتئین‌ها از یک زنجیر پلی‌پپتیدی تشکیل شده‌اند، ولی بقیه آنها، تحت عنوان پروتئین‌های **چندزیرواحدی**، متشکل از دو یا چند پلی‌پپتید بوده که به‌طورغیرکووالان به یکدیگر متصل می‌باشند (جدول ۲-۵). زنجیرهای پلی‌پپتیدی موجود در یک پروتئین چندزیرواحدی ممکن است یکسان و یا متفاوت باشند. درصورتیکه حداقل دو زنجیر مشابه باشد، پروتئین را **اولیگومر** گویند و واحدهای مشابه (متشکل از یک یا چند زنجیر پلی‌پپتیدی) را **پروتومر** می‌نامند. برای مثال، هموگلوبین از چهار زنجیر مشابه، شامل دو زنجیر مشابه α و دو زنجیر مشابه β، تشکیل شده است که توسط واکنش‌های متقابل غیرکووالان در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند. در ساختمان این پروتئین چندزیرواحدی، هر زیرواحد α به طریق مشابهی به یک زیرواحد β متصل می‌گردد، به‌طوریکه هموگلوبین را می‌توان به صورت تترامری از چهار زیرواحد پروتئینی مختلف و یا دیمری از پروتومر $\alpha\beta$ در نظر گرفت.

1- NeutraSweet 2- Titin

Book.Apfarsi.ir

جدول ۲-۵. خصوصیات ملکولی بعضی از پروتئین‌ها

	وزن ملکولی	تعداد ریشه‌ها	تعداد زنجیرهای پلی‌پپتیدی
سیتوکروم c (انسان)	۱۳,۰۰۰	۱۰۴	۱
ریبونوکلئاز A (پانکراس گاو)	۱۳,۷۰۰	۱۲۴	۱
لیزوزوم (سفیده تخم‌مرغ)	۱۳,۹۳۰	۱۲۹	۱
میوگلوبین (قلب اسب)	۱۶,۹۸۰	۱۵۳	۱
کیموتریپسین (پانکراس گاو)	۲۱,۶۰۰	۲۴۱	۳
کیموتریپسینوژن (گاو)	۲۲,۰۰۰	۲۴۵	۱
هموگلوبین (انسان)	۶۴,۵۰۰	۵۷۴	۴
آلبومین سرم (انسان)	۶۸,۵۰۰	۶۰۹	۱
هگزوکیناز (مخمر)	۱۰۲,۰۰۰	۹۷۲	۲
RNA پلیمراز (*E. coli*)	۴۵۰,۰۰۰	۴,۱۵۸	۵
آپولیپوپروتئین B (انسان)	۵۱۳,۰۰۰	۴,۵۳۶	۱
گلوتامین سنتتاز (*E. coli*)	۶۱۹,۰۰۰	۵,۶۲۸	۱۲
تیتین (انسان)	۲,۹۹۳,۰۰۰	۲۶,۹۲۶	۱

تعدادی از پروتئین‌ها دارای دو یا چند زنجیر پلی‌پپتیدی هستند که توسط پیوندهای کووالان به یکدیگر متصل می‌باشند. برای مثال، دو زنجیر پلی‌پپتیدی انسولین توسط پیوندهای دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. در این موارد، هر پلی‌پپتید را یک زیرواحد در نظر نمی‌گیرند، بلکه به‌طورساده به آنها زنجیر گفته می‌شود.

با تقسیم وزن ملکولی بر ۱۱۰ می‌توان تعداد حدودی ریشه‌های اسید آمینه موجود در یک پروتئین ساده فاقد گروه شیمیایی دیگر را محاسبه نمود. هرچند متوسط وزن ملکولی ۲۰ اسید آمینه استاندارد در حدود ۱۳۸ می‌باشد اسیدهای آمینه کوچکتر در پروتئین‌ها فراوانتر هستند؛ درصورتیکه نسبت وجود اسیدهای آمینه مختلف را در پروتئین‌ها در نظر بگیریم، آنگاه وزن ملکولی متوسط به ۱۲۸ نزدیک می‌گردد. از آنجایی‌که برای ایجاد هر پیوند پپتیدی، یک ملکول آب (وزن‌ملکولی برابر ۱۸) برداشت می‌گردد، وزن ملکولی متوسط یک ریشه اسید آمینه موجود در پروتئین‌ها برابر ۱۱۰ = ۱۸ - ۱۲۸ خواهد بود.

پلی‌پپتیدها دارای ترکیبات اسید آمینه‌ای مشخصی هستند

در اثر هیدرولیز اسیدی پپتیدها یا پروتئین‌ها، مخلوطی از α-آمینو اسیدهای آزاد بدست می‌آید. در اثر هیدرولیز کامل، هر نوع پروتئین نسبت یا مخلوط مشخصی از اسیدهای آمینه مختلف را ایجاد می‌نماید. ۲۰ اسید آمینه استاندارد تقریباً هرگز به مقادیر برابر در پروتئین‌ها وجود ندارند. تعدادی از اسیدهای آمینه ممکن است تنها یکبار در ساختمان یک پروتئین خاص وجود داشته باشند و یا اصلاً در آن مشاهده نگردند؛ درحالیکه بقیه ممکن است به تعداد زیاد دیده شوند. جدول ۳-۵ ترکیب مخلوط‌های اسید آمینه‌ای حاصل از هیدرولیز کامل سیتوکروم c و کیموتریپسینوژن (پیش‌ساز غیرفعال آنزیم گوارشی کیموتریپسین) گاوی را نشان می‌دهد. این دو پروتئین که اعمال بسیار متفاوتی دارند، از نظر تعداد نسبی هر کدام از اسیدهای آمینه موجود نیز تفاوت قابل توجهی را دارند.

Book.Apfarsi.ir

بعضی از پروتئین‌ها دارای گروه‌های شیمیایی غیر از اسیدهای آمینه هستند

بسیاری از پروتئین‌ها، مثل آنزیم‌های ریبونوکلئاز و کیموترپسینوژن، تنها حاوی ریشه‌های اسید آمینه‌ای بوده و در ساختمان آنها گروه‌های شیمیایی دیگری وجود نداشته و به آنها پروتئین‌های ساده اتلاق می‌گردد. هرچند، تعدادی از پروتئین‌ها به‌طوردائمی، علاوه بر ریشه‌های اسید آمینه، در ساختمان خود اجزاء شیمیایی دیگری را نیز دارند؛ به این ملکول‌ها **پروتئین‌های کونژوگه** گویند. قسمت غیراسید آمینه‌ای پروتئین کونژوگه را اغلب **گروه پروستتیک**[1] گویند. براساس ماهیت شیمیایی گروه پروستتیک، پروتئین‌های کونژوگه طبقه‌بندی می‌شوند (جدول ۴-۵)؛ برای مثال، **لیپوپروتئین‌ها** حاوی لیپید، **گلیکوپروتئین‌ها** حاوی گروه‌های قندی و **متالوپروتئین‌ها** حاوی یک فلز اختصاصی هستند. تعدادی از پروتئین‌ها دارای بیش از یک گروه پروستتیک می‌باشند. معمولاً گروه پروستتیک نقش مهمی را در عملکرد بیولوژیکی پروتئین ایفاء می‌نماید.

پروتئین‌ها دارای سطوح متعدد ساختمانی هستند

برای ماکرومولکول‌های بزرگ، نظیر پروتئین‌ها، توضیح و شناخت ساختمان در سطوح متعددی از پیچیدگی به انجام می‌رسد که در یک نوع سلسله مراتب تفهیمی مرتب شده‌اند. معمولاً برای پروتئین‌ها چهار سطح ساختمانی تعریف می‌گردد (شکل ۱۶-۵). شرح تمامی پیوندهای کووالان (اساساً پیوندهای پپتیدی و دی‌سولفیدی) که ریشه‌های

جدول ۳-۵. ترکیب اسید آمینه‌ای دو پروتئین *

اسید آمینه	تعداد ریشه‌های موجود در هر ملکول پروتئین	
	سیتوکروم c گاو	کیموترپسینوژن گاو
آلانین	۶	۲۲
آرژینین	۲	۴
آسپاراژین	۵	۱۵
آسپارتات	۳	۸
سیستئین	۲	۱۰
گلوتامین	۳	۱۰
گلوتامات	۹	۵
گلیسین	۱۴	۲۳
هیستیدین	۳	۲
ایزولوسین	۶	۱۰
لوسین	۶	۱۹
لیزین	۱۸	۱۴
متیونین	۲	۲
فنیل‌آلانین	۴	۶
پرولین	۴	۹
سرین	۱	۲۸
ترئونین	۸	۲۳
تریپتوفان	۱	۸
تیروزین	۴	۴
والین	۳	۲۳
کل	۱۰۴	۲۴۵

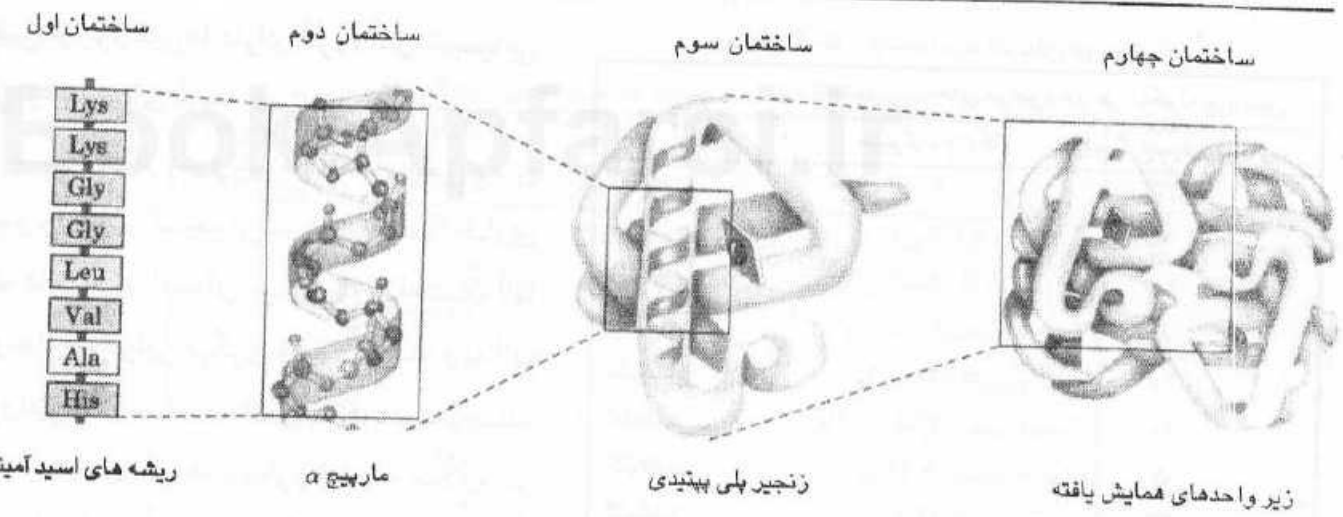
* توجه داشته باشید که در روشهای استاندارد هیدرولیز اسیدی پروتئین‌ها، آسپاراژین و گلوتامین به ترتیب به آسپارتات و گلوتامات تبدیل می‌شوند. بعلاوه، تریپتوفان تخریب می‌گردد. برای تعیین‌مقدار این اسیدهای آمینه، نیاز به روشهای اختصاصی است.

جدول ۴-۵. پروتئین‌های کونژوگه

کلاس	گروه(های) پروستتیک	مثال
لیپوپروتئین‌ها	لیپیدها	β_1-لیپوپروتئین خون
گلیکوپروتئین‌ها	کربوهیدراتها	ایمونوگلبولین G
فسفوپروتئین‌ها	گروههای فسفات	کازئین شیر
هموپروتئین‌ها	هم (پورفیرین آهن)	هموگلوبین
فلاووپروتئین‌ها	نوکلئوتیدهای فلاووینی	سوکسینات دهیدروژناز
متالوپروتئین‌ها	آهن	فریتین
	روی	الکل دهیدروژناز
	کلسیم	کالمودولین
	مولیبدنوم	دی‌نیتروژناز
	مس	پلاستوسیانین

1- Prosthetic

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۵. سطوح ساختمانی در پروتئین‌ها. *ساختمان اول* متشکل از توالی اسید آمینه‌ای است که توسط پیوندهای پپتیدی به یکدیگر متصل شده‌اند و حاوی پیوندهای دی‌سولفیدی هستند. پلی‌پپتید حاصل می‌تواند به صورت واحدهایی از *ساختمان دوم*، نظیر مارپیچ α، فنری گردد. این مارپیچ قسمتی از یک *ساختمان سوم* پلی‌پپتید تاشده می‌باشد که خود یکی از زیرواحدهای تشکیل‌دهنده *ساختمان چهارم* پروتئین چندزیرواحدی، در اینجا هموگلوبین، است.

اسید آمینه را در یک زنجیر پلی‌پپتیدی به یکدیگر متصل کرده‌اند را **ساختمان اول** آن گویند. مهمترین ویژگی ساختمان اول، *توالی* ریشه‌های اسید آمینه موجود در زنجیر می‌باشد. **ساختمان دوم** اشاره به سازماندهی‌های پایدار ریشه‌های اسید آمینه‌ای می‌نماید که منجر به ایجاد الگوهای ساختمانی تکراری می‌گردند. **ساختمان سوم** تمامی ویژگی‌های مربوط به تاشدن سه‌بعدی یک پلی‌پپتید را شرح می‌دهد. وقتی یک پروتئین از دو یا چند زیرواحد تشکیل شده است، آرایش فضایی آنها را **ساختمان چهارم** گویند.

کار با پروتئین‌ها

شناخت ما از ساختمان و عمل بسیاری از پروتئین‌ها، حاصل مطالعات انجام‌شده بر روی تعداد زیادی از پروتئین‌ها می‌باشد. برای مطالعه جزئیات هر پروتئین، ابتدا لازم است آن را از تمامی پروتئین‌های دیگر جدا نمود و همچنین لازم است برای تعیین ویژگی‌های آنها فن‌آوریهایی در دسترس باشد. روش‌های مورد نیاز از شیمی پروتئین مشتق شده که خود قدمتی به اندازه عمر بیوشیمی داشته و نقش مهمی را در تحقیقات بیوشیمیایی ایفاء می‌نماید.

پروتئین‌ها را می‌توان جدا و تخلیص نمود

قبل از اینکه بتوان خصوصیات، ترکیب اسید آمینه‌ای و توالی یک پروتئین را تعیین نمود، لازم است فرآورده خالصی از آن پروتئین بدست آورد. با توجه به اینکه در داخل سلول‌ها هزاران پروتئین مختلف وجود دارد، چطور می‌توان یک نوع خاص آن را تخلیص نمود؟ روش‌های مورد استفاده در جداسازی پروتئین‌ها براساس خصوصیاتی است، که ممکن است در یک پروتئین نسبت به پروتئین دیگر متفاوت باشد. برای مثال، بسیاری از پروتئین‌ها با ویژگی بالا به سایر بیوملکول‌ها متصل شده و این پروتئین‌ها را می‌توان براساس ویژگی‌های اتصالی آنها، جدا نمود.

منبع یک پروتئین عموماً سلول‌های بافتی یا میکروبی می‌باشند. اولین مرحله در هر روش خالص‌سازی پروتئین، تخریب این سلول‌ها برای رهاسازی پروتئین‌های موجود در آنها در داخل محلولی بنام **عصاره خام** می‌باشد. در صورت نیاز می‌توان از سانتریفوژ افتراقی برای تهیه فراکسیون‌های مختلف تحت‌سلولی یا جداسازی اندامک‌های

اختصاصی استفاده نمود (شکل ۲۰-۲ را ببینید).

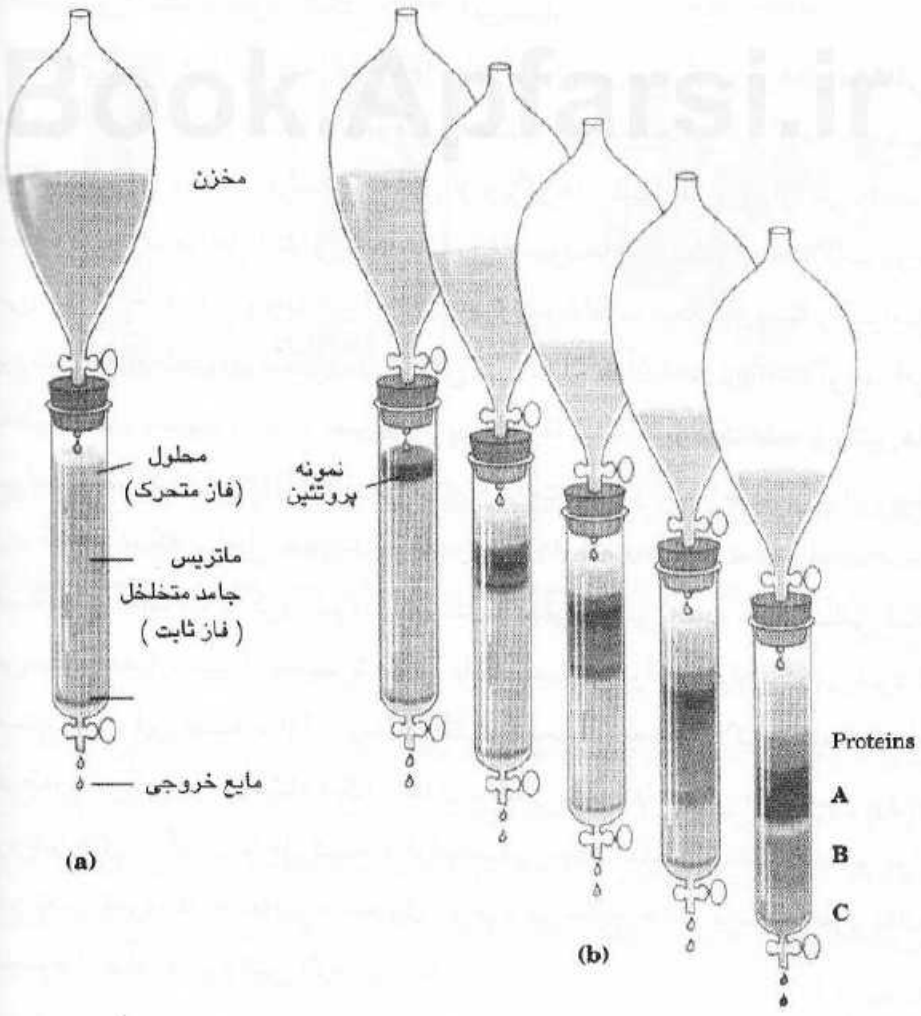
وقتی عصاره یا فرآورده اندامک‌ها آماده گردید، می‌توان از روش‌های مختلفی برای تخلیص یک یا چند پروتئین موجود در آن استفاده نمود. معمولاً این عصاره وارد مراحلی می‌گردد که همراه با جداسازی پروتئین‌ها به فراکسیون‌های مختلف براساس بعضی از ویژگی‌ها، نظیر اندازه یا بار، می‌باشند. این فرایند، **جداسازی فراکسیون‌ها** نامیده می‌شود. مراحل ابتدایی جداسازی فراکسیون‌ها با استفاده از اختلافات موجود در حلالیت پروتئین‌ها به انجام می‌رسد که خود تابع پیچیده‌ای از pH، حرارت، غلظت نمکی و سایر عوامل می‌باشد. به‌طورکلی، حلالیت پروتئین‌ها در غلظتهای نمکی بالا، کاهش می‌یابد که به آن «salting out» گویند. افزودن مقادیر مناسب نمک می‌تواند به‌طورانتخابی سبب رسوب تعدادی از پروتئین‌ها شده، درحالیکه بقیه پروتئین‌ها به شکل محلول باقی می‌مانند. سولفات آمونیوم ($(NH_4)_2SO_4$)، به علت حلالیت بالا در آب، اغلب برای این منظور مورد استفاده قرار می‌گیرد.

قبل از اینکه مراحل بعدی تخلیص را بتوان انجام داد، اغلب لازم است محلول حاوی پروتئین مورد نظر دستخوش تغییرات دیگری شود. برای مثال، **دیالیز** روشی است که براساس اندازه، پروتئین‌ها را از حلال جدا می‌نماید. عصاره نسبتاً تخلیص‌شده در داخل کیسه یا لوله‌ای قرار داده می‌شود که از غشاء نیمه‌تراوا درست شده است. وقتی این کیسه یا لوله در داخل ظرفی محتوی حجم بالائی از محلول بافری دارای قدرت یونی مناسب غوطه‌ور می‌گردد، این غشاء امکان تبادل نمک و بافر را داده ولی مانع عبور پروتئین‌ها می‌گردد. بنابراین طی دیالیز، پروتئین‌های بزرگ در داخل کیسه یا لوله غشایی حفظ شده ولی غلظت سایر مواد حل‌شده در فرآورده پروتئینی آن قدر تغییر نموده تا به تعادل با محلول موجود در خارج غشاء برسد. به‌طور مثال، دیالیز برای برداشت سولفات آمونیوم از فرآورده پروتئین لازم می‌باشد.

قوی‌ترین روش‌های جداسازی پرتئین‌ها با استفاده از **کروماتوگرافی ستونی** به انجام می‌رسد که براساس اندازه، بار، تمایل به اتصال و سایر ویژگی‌های پروتئین‌ها می‌باشد (شکل ۱۷-۵). یک ماده جامد منفذدار با ویژگی‌های شیمیایی مناسب (فاز ثابت) در داخل یک ستون نگه داشته شده و محلول بافری (فاز متحرک) از میان آن پالایش می‌شود. محلول حاوی پروتئین در بالای ستون قرار داده شده و سپس از لابلای ماتریکس جامد، همانند یک باند درحال پهن‌شدن در ناز مایع بزرگتر، عبور می‌نماید (شکل ۱۷b-۵). برحسب ویژگی‌های پروتئینی مورد نظر، تعدادی از پروتئین‌ها سریعتر و تعدادی دیگر آهسته‌تر از ستون عبور می‌نمایند. برای مثال، در کروماتوگرافی تعویض-کاتیونی (شکل ۱۸a-۵)، ماتریکس جامد دارای گروه‌های با بار منفی است. در فاز متحرک، پروتئین‌هایی که بار خالص مثبت دارند، آهسته‌تر از انواع دارای بار خالص منفی، از لابلای ماتریکس عبور می‌کنند، زیرا واکنش‌های متقابل بین این ملکول‌ها با فاز ثابت مانع حرکت آنها می‌گردد. دو نوع پروتئین را می‌توان به صورت دو باند مجزا جدا نمود. وسعت باند پروتئینی موجود در فاز متحرک (محلول پروتئین) تحت اثر جداسازی پروتئین‌ها با ویژگی‌های مختلف و توزیع انتشاری[1] آنها می‌باشد. هر چه طول ستون افزایش یابد، تفکیک دو نوع پروتئین مختلف دارای بارهای خالص متفاوت، عموماً بهتر انجام می‌شود. هرچند، سرعت جریان محلول پروتئینی معمولاً با افزایش طول ستون، کاهش می‌یابد. وقتی طول زمان مورد نیاز برای عبور از ستون افزایش می‌یابد، تفکیک می‌تواند در نتیجه توزیع انتشاری در هر باند پروتئینی، کاهش یابد.

1- Diffusional spreading

Book.Apfarsi.ir



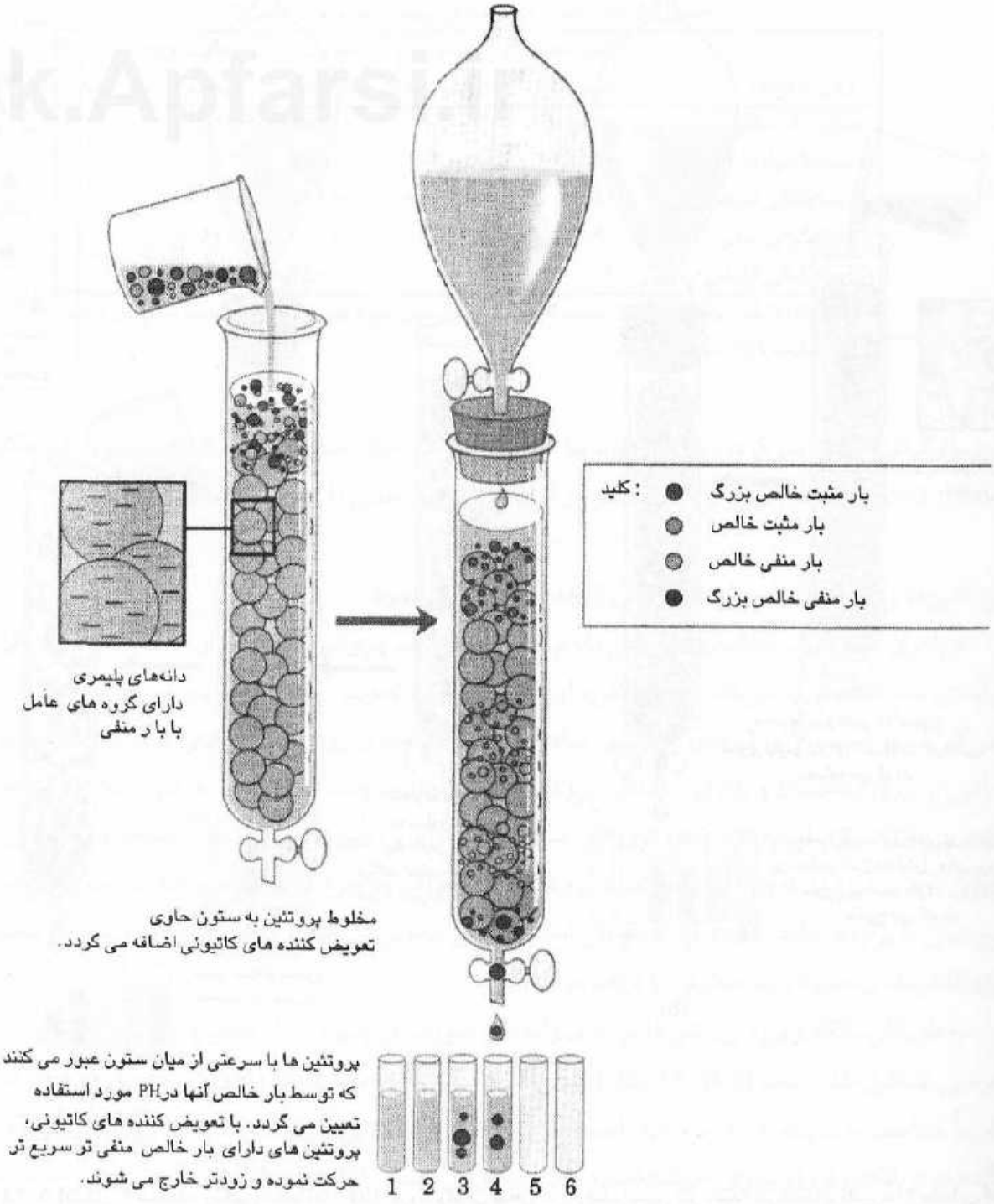
شکل ۱۷-۵. کروماتوگرافی ستونی. (a) اجزاء استاندارد یک ستون کروماتوگرافی. یک ماده جامد منفذدار در داخل ستونی قرار داده می‌شود که عموماً از شکلی از پلاستیک ساخته شده است. این ماده جامد (ماتریکس) فاز ثابت را تشکیل داده که از آن محلولی، فاز متحرک، عبور داده می‌شود. محلولی که از انتهای پایینی ستون خارج می‌گردد یا الوئنت (elluent)، به‌طورثابتی توسط مخزن موجود در انتهای بالائی جایگزین می‌گردد. (b) محلول پروتئینی که قرار است تفکیک گردد، در بالای ستون قرار داده شده تا به داخل ماتریکس نفوذ نماید. سپس محلول دیگری از بالا اضافه می‌گردد. محلول پروتئینی ایجاد یک باند در فاز متحرک نموده که در ابتدا ارتفاع آن معادل عمق محلول پروتئینی است که به ستون اضافه شده است. براساس واکنش‌های متفاوت پروتئین‌ها با ماده تشکیل‌دهنده ماتریکس، این ملکول‌ها با سرعتهای متفاوتی در ستون حرکت می‌نمایند. بنابراین با حرکت به سمت پایین ستون، باند پروتئینی کلی پهن‌تر می‌گردد. به‌تدریج انواع مختلف پروتئین‌ها (نظیر A، B و C) از یکدیگر جدا شده و هر کدام در باند پروتئینی پهن‌ترشده، ایجاد یک باند مجزا می‌نمایند. با افزایش طول ستون، جداسازی و تفکیک بهتر صورت می‌پذیرد. هرچند، هر باند خاص پروتئینی نیز براساس زمان توزیع انتشاری که سبب پهن‌ترشدن آن می‌گردد، قدرت تفکیک را کاهش می‌دهد. پروتئین A بخوبی از B و C جدا شده ولی توزیع انتشاری مانع از جداسازی کامل B و C در تحت این شرایط می‌گردد.

شکل ۱۸-۵ دو نوع کروماتوگرافی ستونی دیگر، غیر از تعویض یونی، را نشان می‌دهد.

یکی از روش‌های ظریف کروماتوگرافی امروزی **HPLC** یا **کروماتوگرافی مایع باکارآیی بالا** می‌باشد. HPLC با استفاده از پمپ‌های فشار بالا به انجام می‌رسد که سرعت حرکت ملکول‌های پروتئین را بطرف پایین در ستون افزایش داده و همچنین مواد به‌کار رفته در کروماتوگرافی نیز دارای کیفیت بالائی بوده که می‌توانند در برابر نیروی فشارنده جریان مقاومت نمایند. باکاهش زمان عبور از ستون، HPLC می‌تواند از طریق محدودنمودن توزیع انتشاری باندهای پروتئینی، قدرت تفکیک را به میزان زیادی افزایش دهد.

برای تخلیص پروتئین از روش‌های متفاوتی استفاده می‌گردد. در بیشتر موارد برای تخلیص کامل یک پروتئین لازم است روش‌های مختلف متعددی به‌طورمتوالی مورد استفاده قرار گیرند. انتخاب روش تاحدودی تجربی بوده و قبل از یافتن بهترین روش ممکن است پروتوکل‌های زیادی مورد بررسی قرار گیرد. با استفاده از روش‌های متکی بر فن‌آوریهای موجود برای جداسازی پروتئین‌های مشابه، اغلب می‌توان خطا را به حداقل رساند. پروتوکول‌های منتشرشده خالص‌سازی برای هزاران پروتئین دردسترس می‌باشد. درحالت کلی بهتر است روش‌های ارزان، نظیر

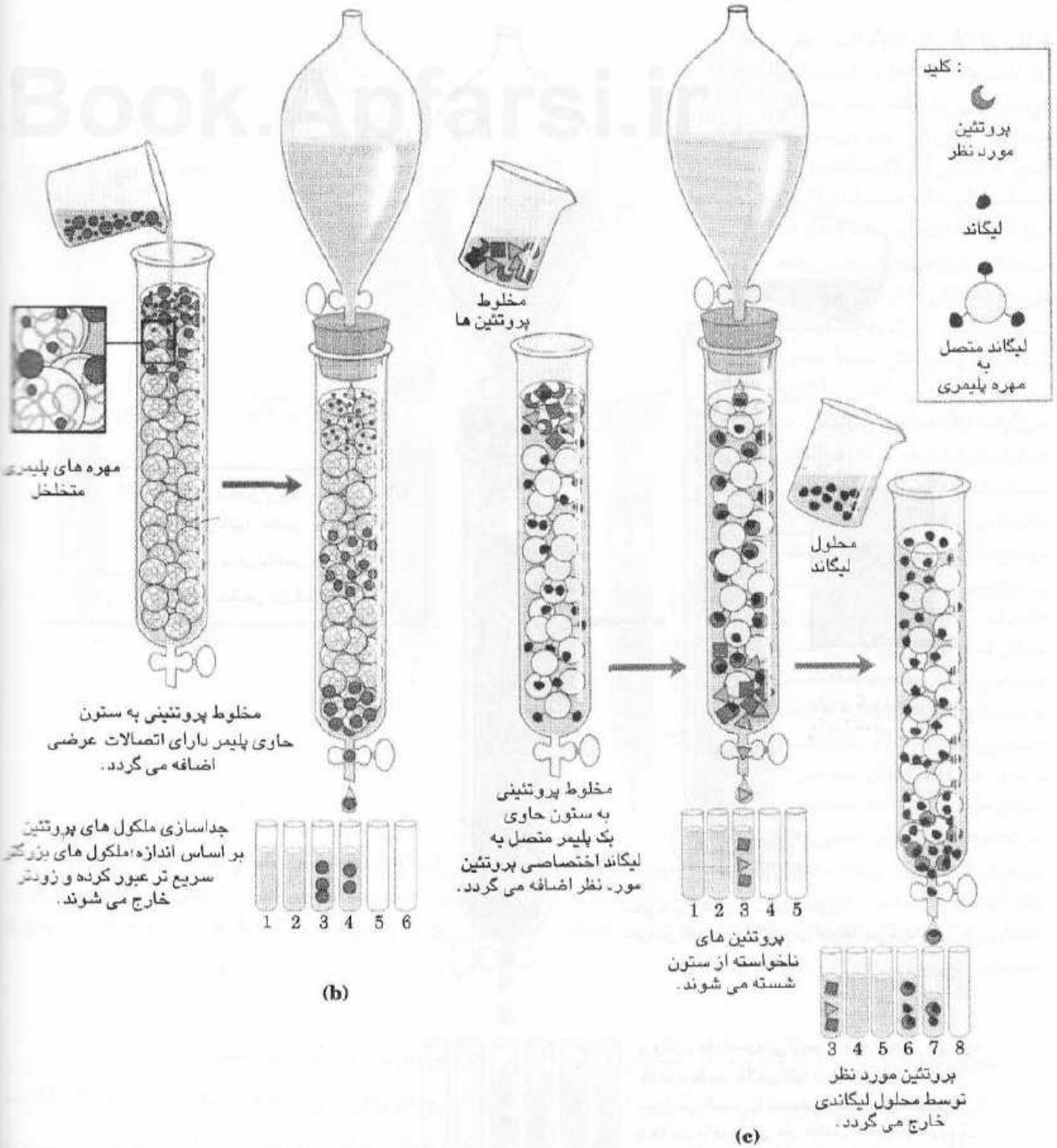
Book.Apfarsi.ir



(a)

شکل ۱۸-۵ [شکل ۲ ضمیمه رنگی]. سه روش کروماتوگرافی مورد استفاده در تخلیص پروتئین. (a) **کروماتوگرافی تعویض یونی** از تفاوت‌های موجود در علامت و بزرگی بارهای الکتریکی خالص پروتئین‌ها در یک pH خاص بهره می‌برد. ماتریکس ستون یک پلیمر سنتتیک می‌باشد که به آن گروه‌های باردار اضافه شده است. انواع دارای گروه‌های آنیونی اتصال‌یافته را **تعویض‌کننده‌های کاتیونی** و انواع دارای گروه‌های کاتیونی اتصال‌یافته را **تعویض‌کننده‌های آنیونی** می‌نامند. در اینجا کروماتوگرافی تعویض یونی با استفاده از یک تعویض‌کننده کاتیونی نشان داده شده است. تمایل هر پروتئین برای گروه‌های باردار موجود در ستون، تحت تأثیر pH (که وضعیت یونی ملکول را تعیین می‌نماید) و غلظت یون‌های نمکی آزاد رقابت‌کننده با آن در محیط اطراف قرار دارد. با تغییر تدریجی pH و یا غلظت نمکی فاز متحرک جهت ایجاد یک شیب pH یا نمکی، می‌توان جداسازی را به حد مطلوب رساند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۸-۵ [شکل ۳ ضمیمه رنگی] (دنباله). **(b) کروماتوگرافی صافی** که ژل فیلتراسیون نیز نامیده می‌شود، پروتئین‌ها را براساس اندازه جدا می‌نماید. ماتریکس ستون، پلیمری دارای اتصالات عرضی است که منافذی با اندازه انتخابی دارند. پروتئین‌های بزرگتر به دلیل اینکه نمی‌توانند وارد منافذ موجود در دانه‌ها گردند، یک مسیر مستقیم‌تر را در بین دانه‌ها طی می‌نمایند؛ درحالیکه پروتئین‌های کوچکتر، وارد منافذ شده و با عبور از یک مسیر پیچ و خم‌دار، آهسته‌تر در ستون پایین می‌روند. بنابراین پروتئین‌های بزرگتر سریعتر از انواع کوچکتر از ستون خارج می‌شوند. **(c) کروماتوگرافی گرایشی** پروتئین‌ها را براساس ویژگی‌های اتصالی آنها جدا می‌نماید. پروتئین‌هایی که در داخل ستون باقی می‌مانند آنهایی هستند که به‌طوراختصاصی به لیگاندهایی اتصال می‌یابند که خود دارای اتصالات عرضی به دانه‌ها هستند. (در بیوشیمی، اصطلاح «لیگاند» برای اشاره به گروهی مورد استفاده قرار می‌گیرد که به ماکروملکولی نظیر یک پروتئین اتصال می‌یابند.) بعد از اینکه پروتئین‌های اتصال‌نیافته و لیگاند از ستون شسته شدند، پروتئین اتصال‌یافته مورد نظر با استفاده از یک محلول حاوی لیگاند آزاد، از ستون شسته شده و خارج می‌گردد.

«Salting out» در ابتدا انجام شود که حجم نمونه زیادتر بوده و تعداد مواد مداخله‌کننده بیشترین میزان می‌باشد. روش‌های کروماتوگرافی اغلب در مرحله اولیه غیرعملی هستند، زیرا با افزایش اندازه نمونه، نیاز به محیط

Book.Apfarsi.ir

جدول ۵-۵. جدول خالص‌سازی مربوط به یک آنزیم فرضی*

روش یا مرحله	کسر حجم (میلی‌لیتر)	پروتئین تام (میلی‌گرم)	فعالیت (واحد)	فعالیت ویژه (واحد در میلی‌گرم)
عصاره خام سلولی	۱,۴۰۰	۱۰,۰۰۰	۱۰۰,۰۰۰	۱۰
رسوب با سولفات آمونیوم	۲۸۰	۳,۰۰۰	۹۶,۰۰۰	۳۲
کروماتوگرافی تعویض یونی	۹۰	۴۰۰	۸۰,۰۰۰	۲۰۰
کروماتوگرافی صافی	۸۰	۱۰۰	۶۰,۰۰۰	۶۰۰
کروماتوگرافی گرایشی	۶	۳	۴۵,۰۰۰	۱۵,۰۰۰

* تمامی اطلاعات موجود، وضعیت نمونه بعد از بکارگیری روش مورد نظر را نشان می‌دهند. فعالیت و فعالیت ویژه در صفحه ۱۵۹ تعریف شده‌اند.

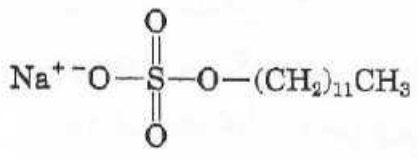
کروماتوگرافی بیشتر می‌گردد. به‌طورکلی، با تکمیل هر مرحله خالص‌سازی، اندازه نمونه کوچکتر شده (جدول ۵-۵) و استفاده از روش‌های کاملتر (و گران) در مراحل بعدی را عملی می‌نماید.

پروتئین‌ها را می‌توان با روش الکتروفورز جدا و شناسایی نمود

فن‌آوری مهم دیگر جداسازی پروتئین‌ها، براساس مهاجرت پروتئین‌های باردار در میدان الکتریکی، طی فرایندی بنام **الکتروفورز**، می‌باشد. به‌طورکلی، این روش‌ها برای تخلیص مقادیر زیاد پروتئین‌ها مورد استفاده قرار نمی‌گیرند، زیرا معمولاً روش‌های جایگزین ساده‌تری وجود داشته و روش‌های الکتروفورز اغلب دارای اثرات جانبی بر روی ساختمان و بنابراین عملکرد پروتئین‌ها می‌باشند. هرچند، الکتروفورز به عنوان یک روش جداسازی مفید می‌باشد. یکی از مزایای الکتروفورز این است که می‌توان پروتئین‌های جداشده را مشاهده نمود، و این به محقق امکان می‌دهد تا بتواند سریعاً تعداد پروتئین‌های مختلف موجود در مخلوط یا شدت خلوص یک فرآورده پروتئینی را برآورد نماید. الکتروفوز همچنین امکان تعیین بعضی از خصوصیات مهم پروتئین‌ها، نظیر نقطه ایزوالکتریک و حدود وزن ملکولی را فراهم می‌سازد.

به‌طورکلی، الکتروفورز پروتئین‌ها بر روی ژل‌هایی صورت می‌پذیرد که از پلیمر پلی‌آکریلامید با اتصالات عرضی تشکیل شده است (شکل ۱۹-۵). ژل پلی‌آکریلامید همانند یک غربال ملکولی عمل نموده و حرکت آنها را تقریباً متناسب با نسبت بار به جرم آنها، آهسته می‌نماید. شکل پروتئین نیز ممکن است بر روی حرکت پروتئین اثر بگذارد. در الکتروفورز، نیروی حرکت‌دهنده ماکروملکول، پتانسیل الکتریکی (E) می‌باشد. حرکت الکتروفورتیک ملکول (μ)، نسبت سرعت ذره (V) به پتانسیل الکتریکی است. حرکت الکتروفورتیک همچنین برابر بار خالص ملکول (Z) تقسیم بر ضریب اصطکاک (f) می‌باشد که تا حدودی شکل پروتئین را نشان می‌دهد. بنابراین:

$$\mu = \frac{V}{E} = \frac{Z}{f}$$

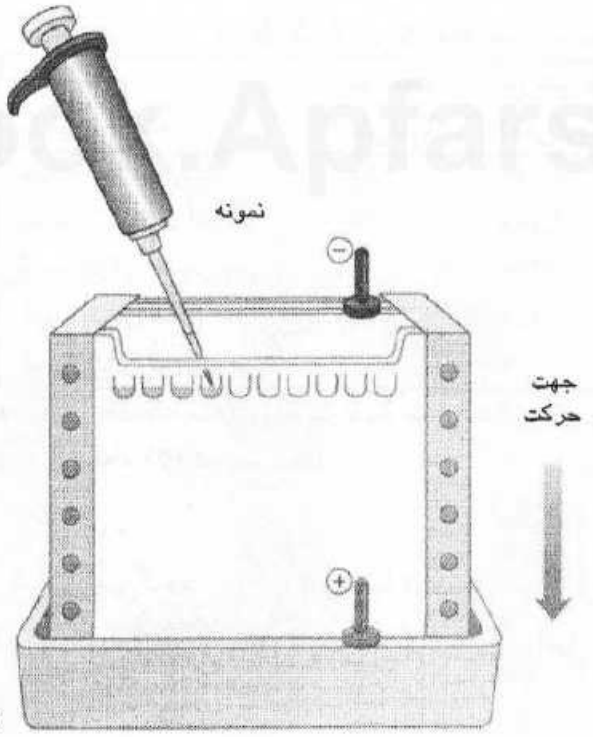


Sodium dodecyl sulfate
(SDS)

ازاینرو، حرکت یک پروتئین در یک ژل در هنگام الکتروفورز، تابعی از اندازه و شکل آن می‌باشد.

در یک روش الکتروفورتیک که به‌طورمعمول برای برآورد خلوص و وزن ملکولی بکار می‌رود، از دترژنت سدیم دودسیل سولفات (**SDS**) استفاده

Book.Apfarsi.ir





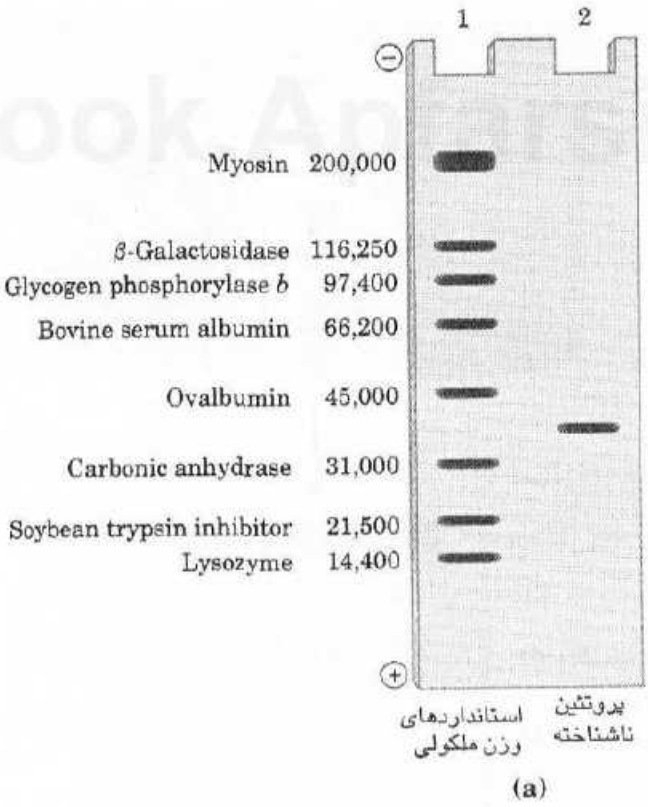
شکل ۱۹-۵. الکتروفورز. (a) نمونه‌های مختلف در داخل حفرات موجود در بالای ژل پلی‌آکریل‌آمید قرار داده می‌شوند. با ایجاد میدان الکتریکی، پروتئین‌ها در داخل ژل بحرکت درمی‌آیند. این ژل جریانهای انتقال گرما حاصل از شیبهای دمایی کوچک را به حداقل رسانده و مانع از حرکات پروتئینی غیر از انواع القاءشده توسط میدان الکتریکی می‌گردد. (b) بعد از الکتروفورز، با رنگ‌نمودن ژل با رنگی نظیر آبی کماسی که پروتئین‌ها را رنگ نموده و خود ژل را رنگ نمی‌نماید، پروتئین‌ها را می‌توان مشاهده نمود. هر باند موجود در ژل، یک پروتئین (یا یک زیرواحد پروتئینی) متفاوت را نشان می‌دهد؛ پروتئین‌های کوچکتر سریعتر از پروتئین‌های بزرگتر در داخل ژل حرکت نموده و بنابراین در نزدیک انتهای پایینی ژل قرار می‌گیرند. این ژل تخلیص آنزیم RNA پلیمراز را از باکتری *E.coli* نشان می‌دهد. خط اول، پروتئین را در عصاره خام سلولی نشان می‌دهد. خطوط بعدی (از چپ به راست) پروتئین‌های موجود بعد از هر مرحله خالص‌سازی را نشان می‌دهند. پروتئین خالص‌شده دارای چهار زیرواحد بوده که در آخرین خط در سمت راست دیده می‌شوند.

می‌گردد. SDS به اکثر پروتئین‌ها (احتمالاً بوسیله واکنش‌های متقابل آبگریز؛ فصل ۴ را ببینید) به میزانی اتصال می‌یابد که تقریباً متناسب با وزن ملکولی پروتئین است، این میزان در حدود یک ملکول SDS برای هر دو ریشه اسید آمینه می‌باشد. SDS اتصال‌یافته بار خالص منفی زیادی در پروتئین ایجاد نموده و با خنثی‌نمودن بار ابتدایی پروتئین، به هر پروتئین نسبت مشابه بار به جرم می‌دهد. بعلاوه، با اتصال SDS، کونفورماسیون طبیعی پروتئین تغییر یافته و اکثر پروتئین‌ها شکل یکسانی پیدا می‌نمایند. ازاینرو، الکتروفورز در حضور SDS، سبب جداسازی پروتئین‌ها تقریباً براساس تنها جرم (وزن ملکولی) آنها شده، به‌طوریکه پلی‌پپتیدهای کوچکتر حرکت سریعتری را پیدا می‌نمایند. بعد از الکتروفورز، با افزودن یک رنگ، مثل آبی کماسی که به پروتئین‌ها اتصال یافته و به خود ژل متصل نمی‌گردد، پروتئین‌ها رویت می‌شوند (شکل ۱۹b-۵). بدین ترتیب می‌توان پیشرفت یک روش تلخیص پروتئینی را زیر نظر گرفت، زیرا بعد از هر مرحله جداسازی، تعداد باندهای پروتئینی قابل‌مشاهده بر روی ژل کاهش می‌یابد. در مقایسه با موقعیت پروتئین‌هایی با وزن ملکولی شناخته شده، می‌توان وزن ملکولی یک پروتئین ناشناخته را بدست آورد (شکل ۲۰-۵). درصورتیکه پروتئین دارای دو یا چند زیرواحد باشد، این زیرواحدها در حضور SDS از یکدیگر جدا شده و باندهای مربوط به هر زیرواحد را می‌توان با الکتروفورز جدا نمود.

تمرکز ایزوالکتریک[1] روشی برای تعیین نقطه ایزوالکتریک (pI) یک پروتئین می‌باشد (شکل ۲۱-۵). با اختلاط

1- Isoelectric focusing

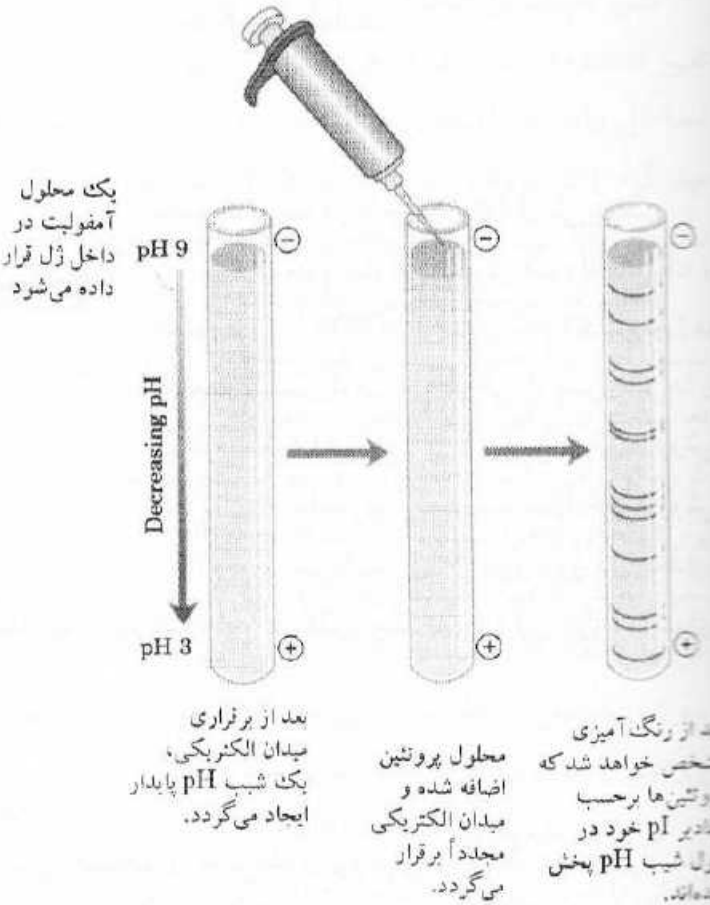
Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۵. تخمین وزن ملکولی یک پروتئین. حرکت الکتروفورتیک یک پروتئین بر روی ژل SDS پلی‌آکریلامید با وزن ملکولی (M_r) آن ارتباط دارد. (a) پروتئین‌های استاندارد دارای وزن ملکولی مشخص، الکتروفورز می‌شوند (خط ۱). از این پروتئین‌ها می‌توان برای تخمین وزن ملکولی پروتئین ناشناخته (خط ۲) استفاده نمود. **(b)** نمودار لگاریتم M_r پروتئین‌های شناخته‌شده در برابر حرکت آنها در طی الکتروفورز، به صورت خطی می‌باشد که خواندن وزن ملکولی پروتئین ناشناخته از روی این نمودار را ممکن می‌سازد.

جدول ۶-۵. نقاط ایزوالکتریک بعضی از پروتئین‌ها

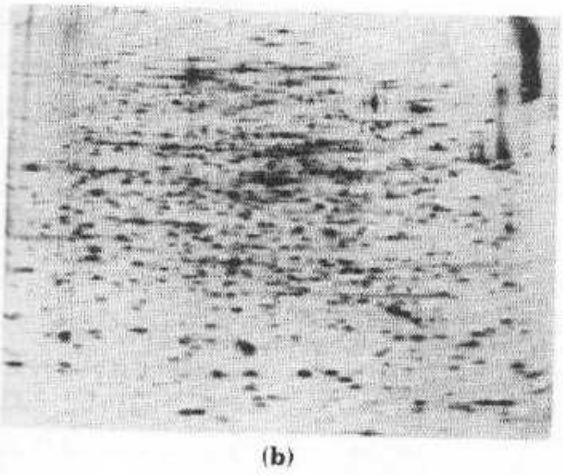
پروتئین	pI
پپسین	۱/۰ —
آلبومین تخم مرغ	۴/۶
آلبومین سرم	۴/۹
اوره‌آز	۵/۰
β-لاکتوگلوبولین	۵/۲
هموگلوبین	۶/۸
میوگلوبین	۷/۰
کیموترپسینوژن	۹/۵
سیتوکروم c	۱۰/۷
لیزوزوم	۱۱/۰



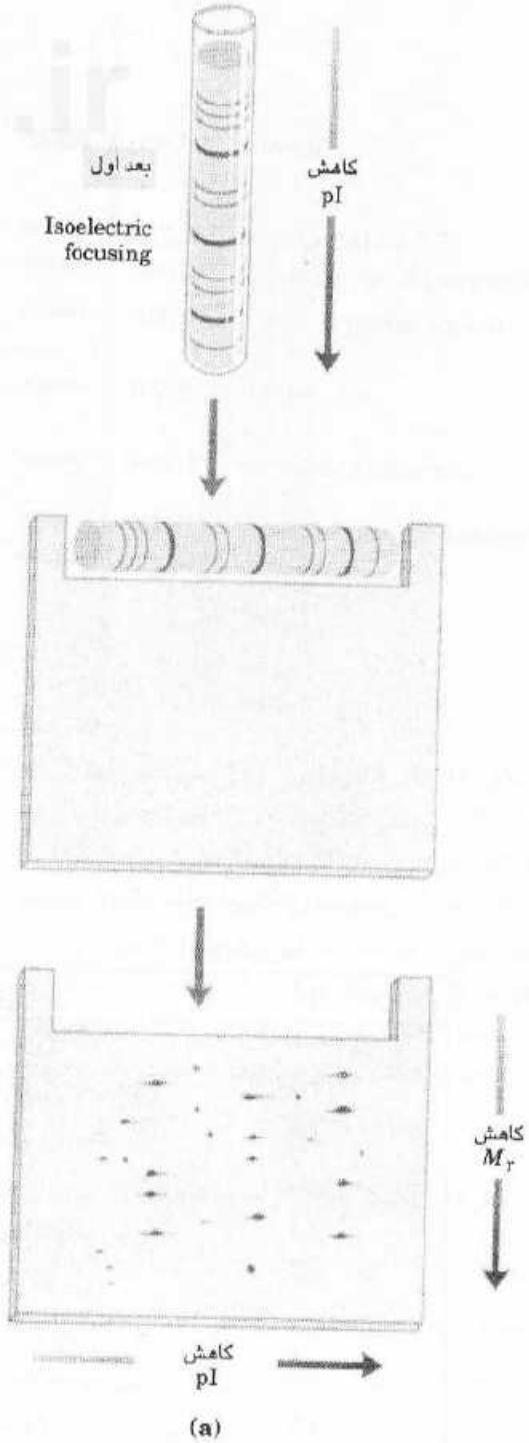
شکل ۲۱-۵. تمرکز ایزوالکتریک. این فن‌آوری پروتئین‌ها را براساس نقاط ایزوالکتریک آنها جدا می‌نماید. با افزودن آمفولیتهای مناسب، یک شیب پایدار pH در داخل ژل ایجاد می‌گردد. مخلوط پروتئینی در حفره‌ای در داخل ژل قرار داده می‌شود. با بکارگیری میدان الکتریکی، پروتئین‌ها وارد ژل شده و تا رسیدن به pH برابر با pI خود، حرکت می‌نمایند. بخاطر داشته باشید در pH = pI، بار خالص پروتئین صفر خواهد بود.

بازها و اسیدهای آلی دارای وزن ملکولی پایین (آمفولیتها ص. ۱۴۰ را ببینید)، و انتشار آنها در یک میدان الکتریکی ایجادشده در عرض ژل، یک شیب pH بوجود می‌آید. وقتی مخلوطی از پروتئین‌ها در این شیب قرار داده می‌شود، هر پروتئین تا رسیدن به pH برابر با pI خود در داخل ژل حرکت می‌نماید (جدول ۶-۵). بدین‌ترتیب، پروتئین‌های دارای نقاط ایزوالکتریک مختلف،

Book.Apfarsi.ir



(b)



(a)

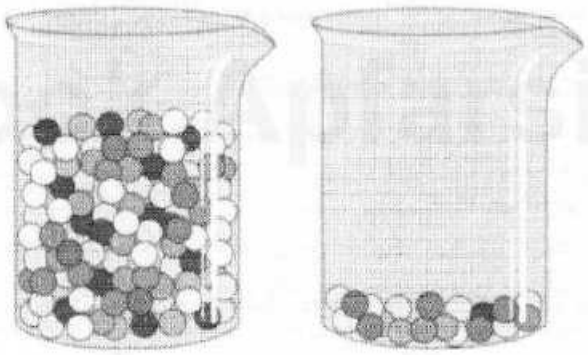
شکل ۲۲-۵. الکترونورز دوبعدی. (a) پروتئین‌ها ابتدا با استفاده از تمرکز ایزوالکتریک در یک ژل استوانه‌ای جدا می‌گردند. سپس این ژل به‌طورافقی بر روی یک ژل تخته-شکل قرار داده شده و پروتئین‌ها بوسیله الکتروفورز ژل SDS پلی‌اکریل‌آمید جدامی‌گردند. جداسازی افقی براساس تفاوت در pI بوده و جداسازی عمودی، اختلاف در اندازه را نشان می‌دهد. (b) با استفاده از این فن‌آوری، بیش از ۱,۰۰۰ پروتئین مختلف از *E. coli* جدا شده است.

به‌طورمتفاوت در داخل ژل انتشار می‌یابند.

با انجام متوالی تمرکز ایزوالکتریک و الکتروفورز با SDS در فرایندی بنام **الکتروفورز دو بعدی** می‌توان مخلوطی از پروتئین‌ها را تفکیک‌نمود (شکل ۲۲-۵). این فرایند روش تجزیه‌ای حساستری نسبت به تنها خود روش الکتروفورز می‌باشد. با الکتروفورز دو بعدی، پروتئین‌های دارای وزن ملکولی مشابه ولی با pI متفاوت یا پروتئین‌هایی با مقادیر مشابه pI ولی دارای وزنهای ملکولی متفاوت، تفکیک می‌گردند.

پروتئین‌های جدانشده را می‌توان تعیین مقدار نمود

برای تخلیص یک پروتئین لازم است که روشی برای جستجو و تعیین‌مقدار پروتئین مورد نظر در حضور تعداد زیادی پروتئین دیگر در هر مرحله از روش داشت. اغلب می‌بایست خالص‌ساری را با نداشتن اطلاعاتی در مورد اندازه و خصوصیات فیزیکی پروتئین یا کسری از جرم پروتئین تام موجود در نمونه که مربوط به آن پروتئین می‌باشد، انجام داد. برای پروتئین‌هایی که خاصیت آنزیمی دارند، میزان موجود در یک محلول یا عصاره بافتی را می‌توان برحسب اثر کاتالیتیک حاصل از آنزیم، یعنی، *افزایش* سرعت تبدیل سوبسترا به محصول واکنش در حضور



شکل ۲۳-۵ [شکل ۴ ضمیمه رنگی]. فعالیت در مقابل فعالیت ویژه. تفاوت بین این دو اصطلاح را می‌توان با استفاده از دو بشر حاوی مهره بیان نمود. در داخل هر دو بشر، تعداد مهره‌های قرمز یکسان بوده ولی تعداد مهره‌های دارای رنگهای دیگر، متفاوت می‌باشد. درصورتیکه این مهره‌ها پروتئین‌ها را نشان دهند، هر دو بشر *فعالیت* مشابهی را در مورد پروتئین مربوط به مهره‌های قرمز نشان می‌دهند. هرچند، بشر دوم دارای *فعالیت ویژه* بیشتری است، زیرا در آن مهره‌های قرمز کسر بزرگتری از کل مهره‌ها را شامل می‌گردد.

آنزیم، ارزیابی نمود. برای این منظور لازم است چند موضوع را بدانیم: (۱) معادله کلی واکنش کاتالیزشونده، (۲) روش آزمایشی برای جستجوی میزان کاهش سوبسترا یا افزایش محصول واکنش، (۳) نیاز آنزیم به کوفاکتورهایی نظیر یون‌های فلزی یا کوآنزیم‌ها، (۴) وابستگی فعالیت آنزیمی به غلظت سوبسترا، (۵) pH مطلوب، و (۶) ناحیه حرارتی که در آن آنزیم پایدار بوده و فعالیت بالائی را دارد. آنزیم‌ها معمولاً در pH مطلوب خود و در دامنه حرارتی ۲۵ تا ۳۸°C آزمایش می‌شوند. همچنین برای اینکه سرعت ابتدایی واکنش که به‌طورتجربی مورد سنجش قرار می‌گیرد، متناسب با غلظت آنزیم باشد (فصل ۸)، نیاز به غلظت‌های بسیار بالای سوبسترا می‌باشد.

طبق تعریف بین‌المللی، ۱/۰ واحد فعالیت آنزیمی به صورت میزان آنزیم مورد نیاز تعریف می‌گردد که سبب تغییر ۱/۰ μmol سوبسترا در هر دقیقه در ۲۵°C و در شرایط مطلوب اندازه‌گیری، می‌شود. اصطلاح **فعالیت** اشاره به تعدادکل واحدهای آنزیمی موجود در یک محلول می‌نماید. **فعالیت ویژه**، تعداد واحدهای آنزیمی موجود در هر میلی‌گرم از کل پروتئین می‌باشد (شکل ۲۳-۵). فعالیت ویژه معیاری از خلوص آنزیمی است: این فعالیت در هنگام تخلیص یک آنزیم، افزایش یافته و با خالص‌شدن آنزیم، به میزان حداکثر و ثابت می‌رسد (جدول ۵-۵).

بعد از هر مرحله تخلیص، فعالیت فرآورده (برحسب واحد) و میزان تام پروتئین به‌طورمستقل تعیین شده و نسبت این دو، فعالیت ویژه را تعیین می‌کند. به‌طورکلی، فعالیت و پروتئین تام در هر مرحله کاهش می‌یابد. کاهش فعالیت به دلیل آن است که همیشه مقداری از فعالیت به خاطر غیرفعال‌شدن یا واکنش‌های متقابل ناخواسته با مواد کروماتوگرافی یا سایر ملکول‌های موجود در محلول، از دست می‌رود. علت کاهش پروتئین تام، برداشت بیشتر پروتئین‌های ناخواسته و غیراختصاصی می‌باشد. در یک مرحله موفقیت‌آمیز، ازدست‌رفتن پروتئین غیراختصاصی بسیار بیشتر از میزان ازدست‌رفتن فعالیت می‌باشد؛ ازاینرو، حتی با کاهش فعالیت توتال، فعالیت ویژه افزایش می‌یابد. آنگاه اطلاعات در یک جدول خالص‌سازی مشابه جدول ۵-۵ جمع‌آوری می‌گردد. عموماً زمانی یک پروتئین خالص در نظر گرفته می‌شود که ادامه مراحل خالص‌سازی قادر به افزایش فعالیت ویژه نبوده و تنها یک پروتئین را بتوان (مثلاً با الکتروفورز) بدست آورد.

برای پروتئین‌هایی که فاقد فعالیت آنزیمی هستند، نیاز به روش‌های تعیین‌مقدار دیگری می‌باشد. پروتئین‌های انتقالی را می‌توان با اتصال آنها به ملکولی بررسی نمود که توسط آن پروتئین انتقال داده می‌شوند؛ برای سنجش هورمونها و سموم می‌توان از اثر بیولوژیکی تولیدی توسط آنها استفاده نمود؛ برای مثال، هورمونهای رشد سبب تحریک رشد بعضی از سلول‌های کشت‌شده می‌گردند. بعضی از پروتئین‌های ساختمانی، چنان جزء بزرگی از یک توده بافتی را تشکیل می‌دهند که می‌توان بدون نیاز به یک آزمون عملکردی، آنها را استخراج و تخلیص نمود. این روش‌ها به اندازه خود پروتئین‌ها متنوع هستند.

Book.Apfarsi.ir

ساختمان کووالان پروتئین‌ها

تخلیص یک پروتئین معمولاً تنها مقدمه‌ای برای موشکافی جزئیات بیوشیمیایی ساختمان و فعالیت آن می‌باشد. چه چیز سبب می‌گردد تا یک پروتئین تبدیل به آنزیم شده، دیگری ایجاد یک هورمون نموده یا به پروتئین ساختمانی تبدیل شده و یا اینکه به آنتی‌بادی تبدیل گردد؟ این ملکول‌ها از نظر شیمیایی چه تفاوت‌هایی را دارند؟ واضح‌ترین اختلاف، در ساختمان پروتئین‌ها دیده می‌شود و این اختلافات را می‌توان در هر سطحی از ساختمان‌های تعریف‌شده در شکل ۱۶-۵ مشاهده نمود.

به خصوص تفاوت در ساختمان اولیه می‌تواند روشنگر باشد. هر پروتئین دارای تعداد و توالی منحصری از ریشه‌های اسید آمینه می‌باشد. همان‌طور که در فصل ۶ ملاحظه خواهد شد، ساختمان اولیه هر پروتئین مشخص می‌نماید که چطور به یک ساختمان بی‌همتا سه‌بعدی تا گردد. در ادامه این فصل، تمرکز بر روی ساختمان اولیه می‌باشد. ابتدا به مدارک تجربی مبنی بر ارتباط نزدیک بین توالی اسید آمینه‌ای و عملکرد پروتئین می‌پردازیم، آنگاه نحوه تعیین توالی اسید آمینه را بررسی نموده و بالاخره به کاربردهای متعدد استفاده از این اطلاعات پرداخته می‌شود.

عملکرد یک پروتئین بستگی به توالی اسید آمینه‌ای آن دارد

باکتری *E. coli* بیش از ۳،۰۰۰ پروتئین مختلف تولید نموده و این تعداد در انسان ۵۰،۰۰۰ تا ۱۰۰،۰۰۰ می‌باشد. در هر دو این موارد، هر نوع پروتئین دارای ساختمان سه‌بعدی بی‌همتایی بوده و این ساختمان عملکرد بی‌همتای آن را سبب می‌گردد. هر نوع پروتئین دارای توالی اسید آمینه‌ای بی‌همتایی نیز می‌باشد. انتظار می‌رود که توالی اسید آمینه‌ای نقش اساسی در تعیین ساختمان سه‌بعدی یک پروتئین و نهایتاً عملکرد آن داشته باشد ولی آیا این انتظار صحیح است؟ بررسی سریع پروتئین‌ها و نحوه ایجاد تفاوت در توالی اسید آمینه‌ای آن، مدارک تجربی را فراهم می‌آورد که به اثبات ارتباط مهم بین توالی اسید آمینه‌ای و عملکرد بیولوژیک، کمک می‌نماید. اول، همان‌طور که تاکنون ذکر شده است، پروتئین‌های دارای اعمال مختلف، همیشه توالی‌های اسید آمینه‌ای متفاوتی را نیز دارند. دوم، هزاران بیماری ژنتیکی انسان، همراه با تولید پروتئین‌های ناقص می‌باشند. احتمالاً یک سوم این پروتئین‌ها به خاطر تنها یک تغییر در توالی اسید آمینه‌ای، دچار نقص شده‌اند؛ ازاینرو، درصورتیکه ساختمان اول تغییر پیدا نماید عملکرد پروتئین نیز ممکن است دستخوش تغییر گردد. بالاخره، وقتی پروتئین‌های دارای اعمال مشابه از گونه‌های مختلف با یکدیگر مقایسه می‌گردند، اغلب این پروتئین‌ها تشابهاتی در توالی اسید آمینه‌ای خود نیز دارند (کادر ۲-۵). یک مورد فوق‌العاده، اوبی‌کویتین می‌باشد که پروتئینی ۷۶ ریشه‌ای است و در تنظیم تخریب سایر پروتئین‌ها نقش دارد. توالی اسید آمینه‌ای اوبی‌کویتین در گونه‌های مختلف، از میمون تا انسان، یکسان می‌باشد.

آیا توالی اسید آمینه‌ای یک پروتئین خاص کاملاً ثابت بوده و یا اینکه متغییر است؟ حدود ۲۰ تا ۳۰٪ پروتئین‌های موجود در انسان، **پلی‌مورفیک** بوده و در جمعیت انسانی، واریته‌های مختلف آنها با توالی اسید آمینه‌ای متفاوت وجود دارد. بسیاری از این تغییرات در توالی، دارای اثر کم و یا فاقد اثر بر روی عملکرد پروتئین می‌باشد. بعلاوه، پروتئین‌هایی که عموماً عمل مشابهی را در گونه‌های دور از هم انجام می‌دهند، از نظر توالی اسید آمینه‌ای و اندازه کلی، تفاوت زیادی با یکدیگر دارند.

در توالی اسید آمینه‌ای پروتئین‌ها اغلب نواحیی وجود دارد که برای انجام اعمال بیولوژیک حیاتی می‌باشند. توالی اسید آمینه‌ای در نواحی دیگر ممکن است اثر قابل‌توجهی بر روی این اعمال نداشته باشد. قسمتی از توالی که

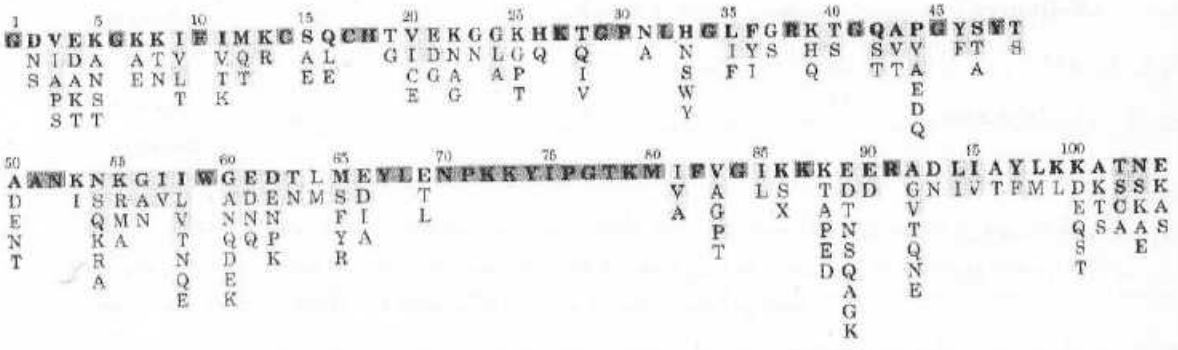
Book.Apfarsi.ir

کادر ۲-۵. همولوژی پروتئینی در بین گونه‌ها

پروتئین‌های همولوگ. پروتئین‌هایی هستند که از نظر تکاملی با یکدیگر ارتباط دارند. این پروتئین‌ها معمولاً دارای فعالیت‌های مشابهی در گونه‌های مختلف هستند؛ برای مثال، **سیتوکروم c** پروتئین میتوکندریایی حاوی آهن می‌باشد که در هنگام اکسیداسیون بیولوژیک در سلول‌های اوکاریوتی سبب انتقال الکترون‌ها می‌گردد. پروتئین‌های همولوگ موجود در گونه‌های مختلف ممکن است حاوی زنجیرهای پلی‌پپتیدی با طول مشابه یا تقریباً مشابه باشند. بسیاری از موقعیت‌های موجود در توالی اسید آمینه‌ای تمامی گونه‌ها توسط یک ریشه اشغال شده است که به آنها **ریشه‌های ثابت** (invariant residues) گفته می‌شود. سایر موقعیت‌ها، از نظر نوع ریشه اسید آمینه از یک گونه به گونه دیگر، تنوع قابل‌توجهی را نشان داده و بنابراین **ریشه‌های متغیر** (variant residues) نامیده می‌شوند.

اهمیت عملکردی همولوژی توالی با استفاده از سیتوکروم c (وزن ملکولی حدود ۱۳,۰۰۰) بخوبی شرح داده شده است که در اکثر گونه‌ها دارای حدود ۱۰۰ ریشه اسید آمینه می‌باشد. توالی‌های اسید آمینه‌ای ملکول‌های سیتوکروم c گونه‌های مختلفی تعیین شده است و ۲۷ ریشه موجود در تمامی گونه‌ها ثابت بوده (شکل ۱) و نشان می‌دهد این ریشه‌ها مهمترین ریشه‌ها در تعیین فعالیت بیولوژیک این پروتئین می‌باشند. ریشه‌های موجود در سایر موقعیت‌ها، در بین گونه‌ها قدری تنوع را نشان می‌دهند. درجات واضحی در تعداد تفاوت‌های مشاهده‌شده در ریشه‌های متغیر وجود دارد. در بعضی موقعیت‌ها، بعضی از جایگزینی‌ها توسط اسیدهای آمینه مشابه (برای مثال، جایگزینی Arg دارای بار مثبت بجای Lys دارای بار مثبت) صورت می‌گیرد؛ به اینها **جایگزینی‌های محافظه‌کارانه** (conservative substituations) اطلاق می‌گردد. در سایر موقعیت‌ها، جایگزینی‌ها محدودیت کمتری دارند (غیرمحافظه‌کارانه). همان‌طور که در فصل بعد خواهیم دید، زنجیرهای پلی‌پپتیدی پروتئین‌ها به کونفورماسیون‌های مشخص و اختصاصی تا می‌شوند که بستگی به توالی اسید آمینه آنها دارد. واضح است که اسیدهای آمینه ثابت، در مقایسه با انواع متغیر، اهمیت بیشتری برای ساختمان و فعالیت یک پروتئین دارند. شناسایی ریشه‌هایی که در هر کدام از این گروه‌ها قرار می‌گیرند، مرحله مهمی در مشخص‌شدن نحوه تبدیل توالی اسید آمینه‌ای به یک ساختمان سه‌بعدی اختصاصی می‌باشد.

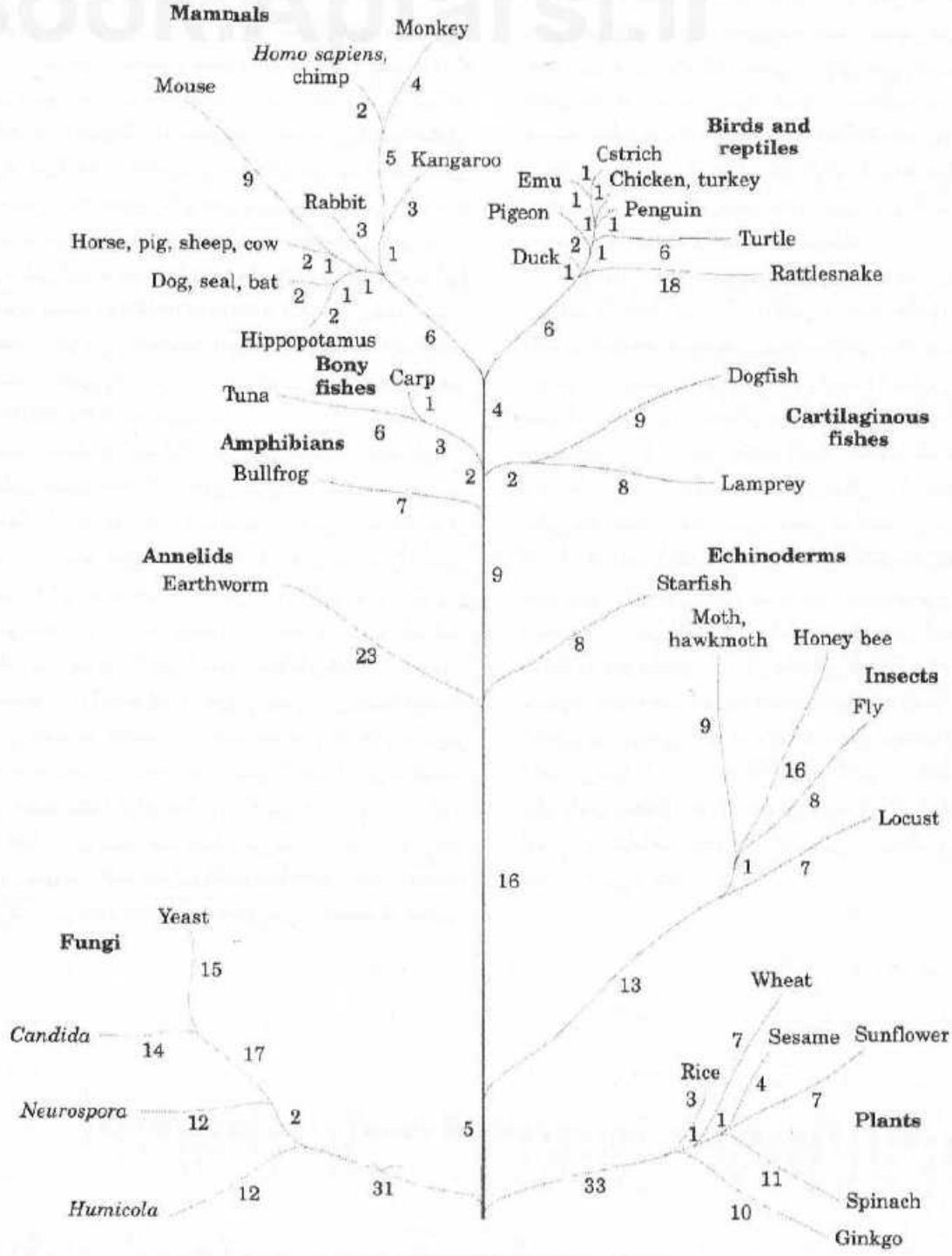
اسیدهای آمینه متغیر نوع دیگری از اطلاعات را نیز بدست می‌دهند. ارتباطات فیلوژنیک (تکاملی) وابسته حاصل از روش‌های تاکسونومیک، در بیوشیمی مورد بررسی و تایید تجربی قرار گرفته‌اند. بررسی توالی‌های سیتوکروم c و سایر پروتئین‌های همولوگ منجر به یک نتیجه‌گیری مهم شده است: تعداد ریشه‌های متفاوت موجود در پروتئین‌های دو گونه مختلف، متناسب با تفاوت فیلوژنیک بین آن گونه‌ها می‌باشد. برای مثال، ۴۸ ریشه اسید آمینه ملکول‌های سیتوکروم c اسب و مخمر که گونه‌های بسیار دوری از یکدیگر هستند، با یکدیگر متفاوت می‌باشد، درحالیکه ملکول‌های سیتوکروم c گونه‌های بسیار نزدیکتر مرغابی و مرغ، تنها در دو ریشه متفاوت می‌باشند. در حقیقت، توالی‌های اسید آمینه‌ای سیتوکروم c در بوقلمون و مرغ و همچنین در خوک، گاو و گوسفند با یکدیگر مشابه هستند. اطلاعات مربوط به تعداد تفاوت‌های ریشه‌ای بین پروتئین‌های همولوگ گونه‌های مختلف این امکان را فراهم می‌سازد تا بتوان شجره‌نامه‌های تکاملی را ساخت که مبداء و توالی ظهور گونه‌های مختلف در طی دوره تکاملی را نشان می‌دهند (شکل ۲). ارتباطات حاصل از تاکسونومی آناتومیک و بیوشیمیایی توافق نزدیکی با یکدیگر دارند.



شکل ۱ [شکل ۵ ضمیمه رنگی]. توالی اسید آمینه‌ای سیتوکروم c انسان. جایگزینی‌های اسید آمینه‌ای در سایر گونه‌ها در زیر هر ریشه آورده شده است. اسیدهای آمینه ثابت سایه زرد داشته، جایگزینی‌های محافظه‌کارانه با سایه آبی بوده و جایگزینی‌های غیرمحافظه کارانه بدون سایه می‌باشند. X یک اسید آمینه غیرمعمول بنام تری‌متیل‌لیزین است. مخفف‌های یک حرفی اسیدهای آمینه در جدول ۱-۵ آورده شده‌اند.

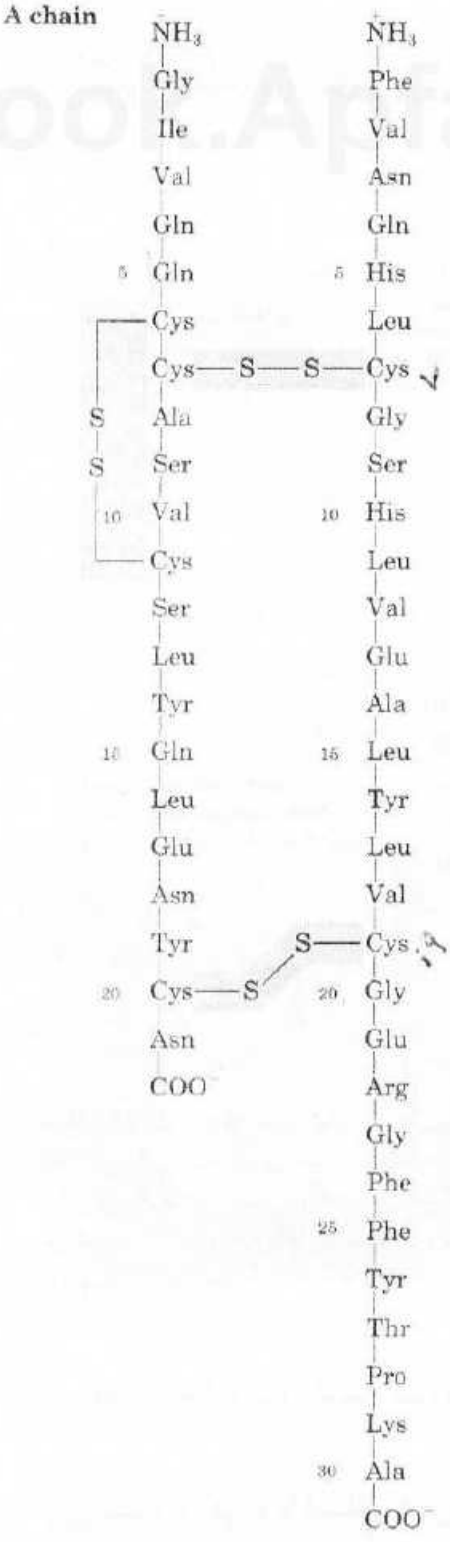
Book.Apfarsi.ir

کادر ۲-۵ (دنباله)



شکل ۲. شاخه‌های اصلی شجره‌نامه تکاملی اوکاریوتی از تعداد تفاوت‌های اسید آمینه‌ای موجود در بین ملکول‌های سیتوکروم c گونه‌های مختلف تشکیل یافته است. اعداد تعداد ریشه‌هایی را نشان می‌دهند که سیتوکروم c یک رده خاص موجود زنده از جد خود اختلاف دارد. نقاط شاخه، یک جد مشترک را نشان می‌دهند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۴-۵. توالی اسید آمینه‌ای انسولین گاوی. دو زنجیر پلی‌پپتیدی توسط اتصالات عرضی دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. زنجیر A مشابه نوع موجود در انسان، خوک، سگ، خرگوش نهنگ دریایی می‌باشد. زنجیرهای B گاو، خوک، سگ، بز و اسب مشابه هستند. چنین تشابهاتی بین پروتئین‌های مشابه گونه‌های مختلف در کادر ۲-۵ مورد بحث قرار گرفته است.

نقش حیاتی دارد، از پروتئینی به پروتئین دیگر متفاوت بوده و بدین‌ترتیب ارتباط‌دادن توالی به ساختمان سه‌بعدی و ساختمان به عمل را مشکل می‌نماید. هرچند قبل از اینکه این مشکل را بیشتر مورد توجه قرار دهیم، لازم است‌نحوه بدست‌آوردن اطلاعات مربوط به توالی را مورد بررسی قرار دهیم.

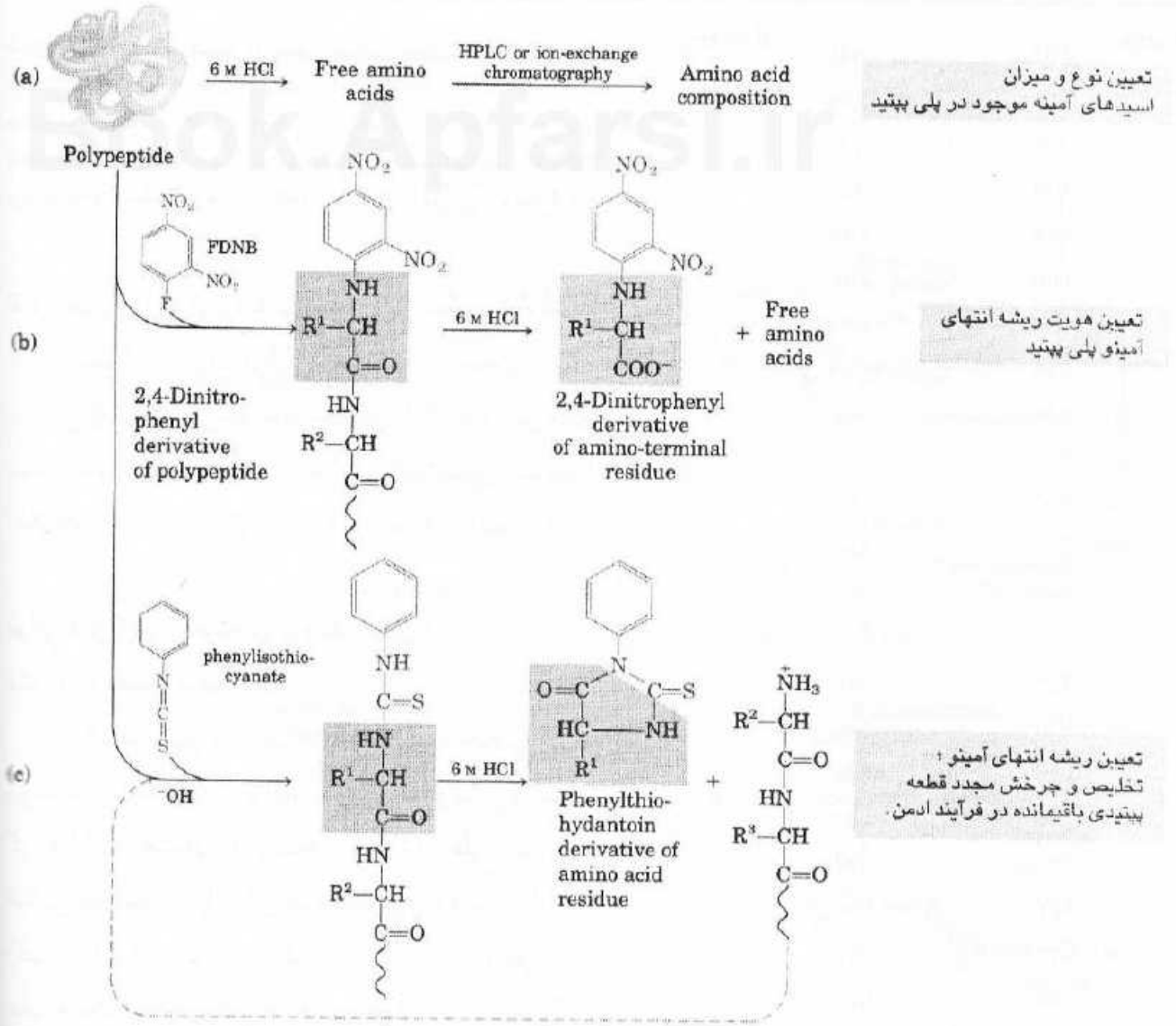
توالی‌های اسید آمینه‌ای پروتئین‌های متعددی تعیین شده است

دو کشف مهم در سال ۱۹۵۳، اهمیت خاصی در تاریخ بیوشیمی دارند. در آن سال، جیمز واتسون[1] و فرانسیس کریک[2] ساختمان دو رشته‌ای DNA را مطرح نموده و یک اساس ساختمانی را برای همانندسازی دقیق بیان نمودند (فصل ۱۰). این فرضیه واقعیت ملکولی موجود در پشت مفهوم یک ژن را روشن نمود. در همان سال، فردریک سنگر ریشه‌های اسید آمینه موجود در توالی زنجیرهای پلی‌پپتیدی هورمون انسولین را مشخص نمود (شکل ۲۴-۵) و بدین ترتیب سبب تعجب بسیاری از محققینی شد که مدتها معتقد بودند که تعیین توالی اسید آمینه‌ای یک پلی‌پپتید یک کار بی‌فایده و مشکل می‌باشد. سریعاً مشخص گردید که توالی نوکلئوتیدی DNA و توالی اسید آمینه‌ای پروتئین‌ها به طریقی با یکدیگر ارتباط دارند. تنها بعد از یک دهه از این کشفها، نقش توالی نوکلئوتیدی DNA در تعیین توالی اسید آمینه‌ای پروتئین آشکار شد (فصل ۲۷).

با استفاده از اصول کشف‌شده توسط سنگر، توالی‌های اسید آمینه‌ای مربوط به هزاران پروتئین مختلف متعلق به گونه‌های متعددی تعیین گردید. با انجام تغییرات متعدد و بهبودی، این روش‌ها در حال حاضر نیز مورد استفاده قرار می‌گیرند. حال تعیین توالی شیمیایی پروتئین، فهرستی از روش‌های جدیدتر را تکمیل می‌نماید که ایجاد کننده بزرگراههای متعددی برای بدست آوردن اطلاعات مربوط به توالی اسید آمینه می‌باشند. این اطلاعات برای هر

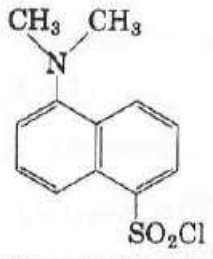
1- James Watson 2- Francis Crick

Book.Apfarsi.ir

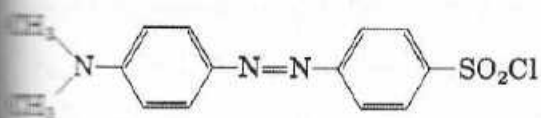


شکل ۲۵-۵. مراحل تعیین توالی یک پلی‌پپتید. (a) در اغلب موارد اولین مرحله در تعیین توالی یک پلی‌پپتید، تعیین ترکیب اسید آمینه‌ای و **(b)** شناسایی ریشه انتهای آمینو می‌باشد. در اینجا روش سنگر برای شناسایی ریشه انتهای آمینو نشان داده شده است. روش تخریب ادمن **(c)** توالی کل یک پپتید را نشان می‌دهد. برای پپتیدهای کوتاهتر، با این روش براحتی می‌توان کل توالی را بدست آورد و مراحل **(a)** و **(b)** اغلب حذف می‌شوند. روش‌های اخیر برای پلی‌پپتیدهای بزرگتری مفید هستند که برای تعیین توالی اغلب به پپتیدهای کوچکتر تجزیه می‌گردند (شکل ۳۷-۵ را ببینید).

زمینه‌ای از تحقیقات بیوشیمی ضروری هستند.



Dansyl chloride



Dabsyl chloride

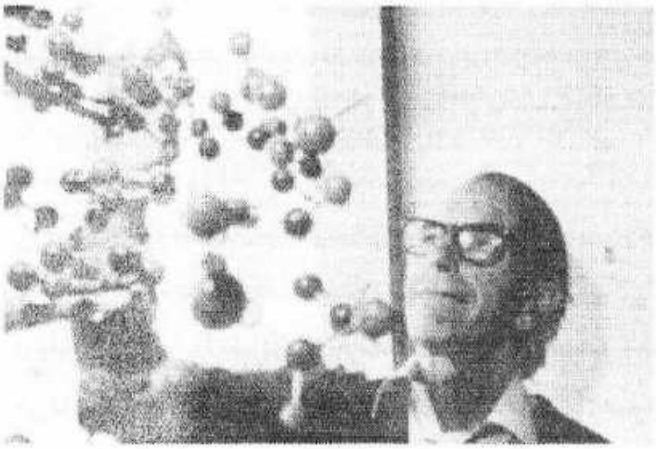
پلی‌پپتیدهای کوتاه با استفاده از روش‌های اتوماتیک تعیین توالی شده‌اند

روش‌های مختلفی برای بررسی ساختمان اول پروتئین مورد استفاده قرار می‌گیرد. یکی از این روش‌ها، هیدرولیز پروتئین و تعیین ترکیب اسید آمینه‌ای آن می‌باشد (شکل ۲۵a-۵). این اطلاعات اغلب در تفسیر نتایج سایر روش‌ها با ارزش می‌باشند. ازآنجایی‌که توالی اسید آمینه‌ای از

Book.Apfarsi.ir

یک پروتئین به پروتئین دیگر متفاوت است، این روش می‌تواند به عنوان نوعی انگشت‌نگاری در نظر گرفته شود. برای مثال، از این روش می‌توان برای تعیین اینکه آیا پروتئین‌های جدا شده توسط آزمایشگاههای مختلف یکسان می‌باشند، استفاده نمود. هرچند، هیدرولیز به تنهایی نمی‌تواند برای تعیین *توالی* اسیدهای آمینه موجود در یک پروتئین مورد استفاده قرار گیرد.

روشی که اغلب همراه با هیدرولیز مورد استفاده قرار می‌گیرد، نشاندار نمودن و تعیین هویت ریشه اسید آمینه موجود در انتهای آمینو می‌باشد (شکل ۲۵b-۵). برای این منظور، سنگر معرف ۱-فلورو-۲،۴-دی‌نیتروبنزن (FDNB) را تولید نمود. معرف‌های دیگر مورد استفاده برای نشاندارنمودن ریشه انتهای آمینو، دانسیل کلراید و دابسیل کلراید، مشتقاتی را تولید می‌نمایند که راحت‌تر از مشتقات دی‌نیتروفنیل قابل جستجو هستند. بعد از نشاندارشدن ریشه انتهای آمینو با یکی از این معرف‌ها، پلی‌پپتید به اجزاء اسید آمینه‌ای هیدرولیز شده و اسید آمینه نشاندار تعیین هویت می‌گردد. ازآنجایی‌که مرحله هیدرولیز سبب تخریب پلی‌پپتید می‌گردد، این روش را نمی‌توان برای تعیین توالی اسیدهای آمینه بعد از ریشه انتهای آمینو پلی‌پپتید مورد استفاده قرار داد. هرچند، این روش به تعیین تعداد پلی‌پپتیدهای موجود در یک پروتئین کمک می‌نماید که از نظر شیمیایی متفاوت بوده و هر کدام یک ریشه انتهای آمینو متفاوت دارند. برای مثال، وقتی انسولین با این روش مورد بررسی قرار گرفت، دو ریشه Phe و Gly (شکل ۲۴-۵) نشاندار شدند.



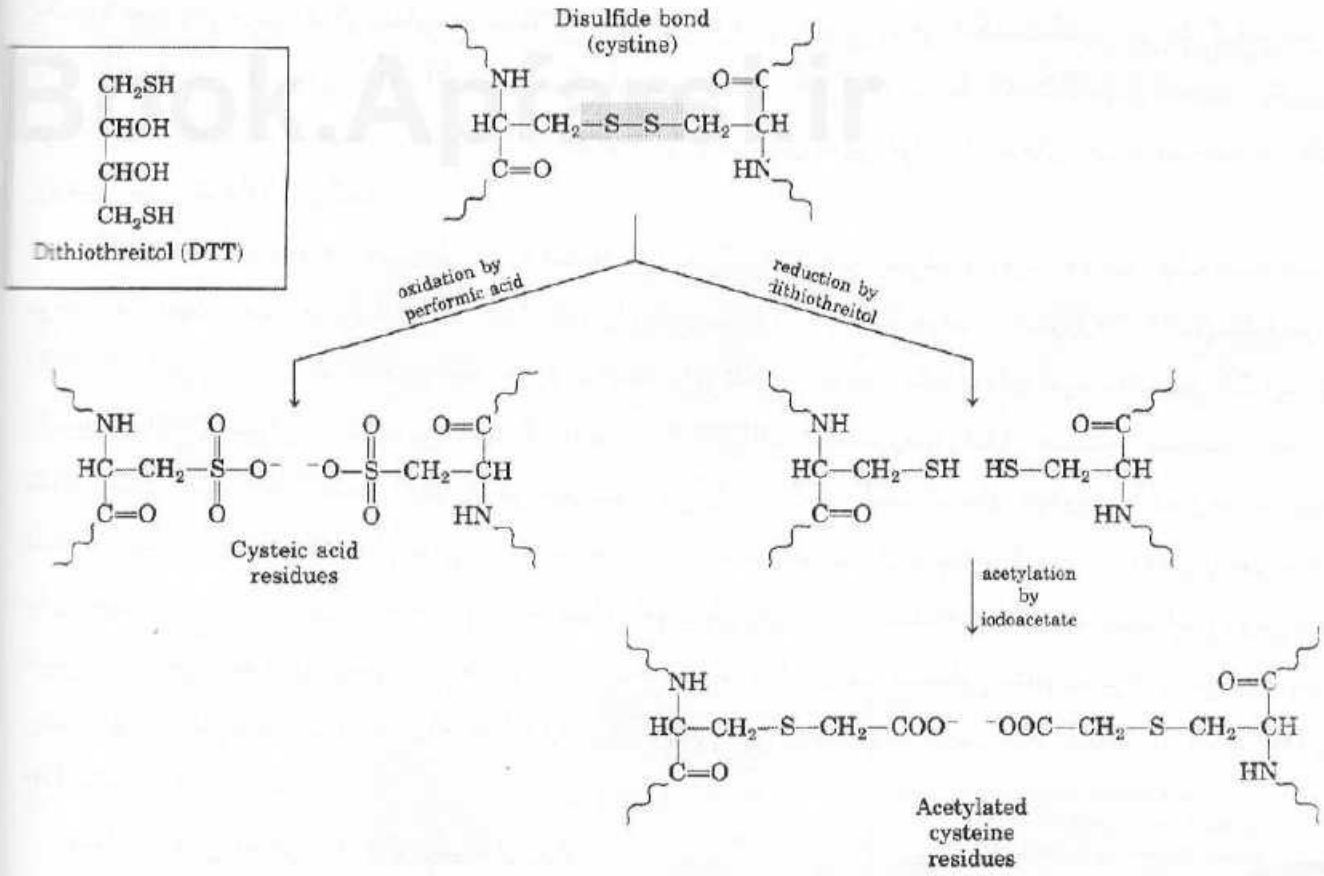
Frederick Sanger

برای تعیین توالی کل پلی‌پپتید، از روش شیمیایی استفاده می‌گردد که توسط پر ادمن[1] طراحی شده است. در روش **تخریب ادمن** تنها ریشه انتهای آمینو پپتید نشاندار و برداشت شده و سایر پیوندهای پپتیدی دیگر موجود دست‌نخورده باقی می‌مانند (شکل ۲۵c-۵). پپتید با فنیل‌ایزوتیوسیانات واکنش نموده و ریشه انتهای آمینو نهایتاً به صورت یک مشتق فنیل‌تیوهیدانتوئین جدا می‌گردد. بعد از برداشت و تعیین‌هویت ریشه انتهای آمینو، ریشه جدید انتهای آمینو را حالا می‌توان با همان سری از واکنش‌ها نشاندار، برداشت و شناسایی نمود. این روش آنقدر تکرار شده تا تمامی توالی شناسایی گردد. تخریب ادمن در ماشینی بنام **سکوناتور**[2] به انجام می‌رسد، که معرف‌ها را به نسبتهای مناسب مخلوط نموده، محصولات را جدا کرده، آنها را تعیین‌هویت نموده و نتایج را ثبت می‌نماید. این روش‌ها فوق‌العاده حساس می‌باشند. اغلب، تنها با استفاده از چند میکروگرم پروتئین، می‌توان آن را به‌طورکامل تعیین‌توالی کرد.

طول پلی‌پپتیدی را که می‌توان به‌طورصحیح با تخریب ادمن تعیین توالی نمود، بستگی به کارآیی تک تک مراحل شیمیایی آن دارد. پپتیدی را در نظر بگیرید که با توالی -Gly-Pro-Lys در انتهای آمینو آغاز می‌گردد. در صورتی که گلیسین با کارائی ۹۷٪ برداشت گردد، ۳٪ ملکول‌های پلی‌پپتیدی موجود در محلول حاوی ریشه

1- Pehr Edman 2- Sequenator

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۶-۵. شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی در پروتئین‌ها. دو روش معمول شرح داده شده است. اکسیداسیون یک ریشه سیستین توسط اسید پرفرمیک تولید دو ریشه اسید سیستئیک می‌نماید. برای جلوگیری از تشکیل مجدد پیوند دی‌سولفیدی، لازم است بعد از احیاء توسط دی‌تیوتریتول و ایجاد ریشه‌های سیستئین، گروه واکنشگر SH- تغییر یابد. این عمل با استیلاسیون توسط یدواستات به انجام می‌رسد.

گلیسین در انتهای آمینو خود خواهند بود. در مرحله دوم چرخه ادمن، ۹۷٪ اسیدهای آمینه آزادشده پرولین و گلیسین بوده، درحالیکه ۳٪ ملکول‌های پل‌پپتیدی ممکن است در انتهای آمینو دارای ریشه گلیسین (۰/۱٪) یا ریشه پرولین (۲/۹٪) باشند. در هر چرخه، پپتیدهایی که در چرخه‌های قبلی واکنش نکرده‌اند، در تولید اسید آمینه‌هایی شرکت می‌نمایند که با پیشرفت مراحل، زمینه را بیشتر و بیشتر نموده تا جایی‌که دیگر تعیین توالی اسید آمینه بعدی در توالی پپتیدی اصلی را غیرممکن می‌سازد. سکوناتورهای امروزی به کارآئی بیش از ۹۹٪ در هر چرخه رسیده‌اند که امکان تعیین توالی بیش از ۵۰ ریشه اسید آمینه مجاور را در یک پلی‌پپتید ممکن می‌سازند. ساختمان اول انسولین که توسط سنگر و همکارانش در طی ۱۰ سال کار مشخص گردید، حالا در طی یک تا دو روز تعیین می‌گردد.

پروتئین‌های بزرگ را می‌بایست در قطعات کوچکتر تعیین توالی نمود

به‌طور کلی، با افزایش طول زنجیر پلی‌پپتیدی، صحت کلی تعیین توالی اسیدهای آمینه آن کاهش می‌یابد. برای تعیین توالی صحیح پلی‌پپتیدهای بسیار بلندی که در پروتئین‌ها وجود دارند، لازم است ابتدا آنها را به قطعات کوچکتر شکست. برای این فرایند، مراحل متعددی وجود دارد. ابتدا، با استفاده از روش‌های شیمیایی یا آنزیمی، این پروتئین به یک سری قطعات اختصاصی تجزیه می‌گردد. در صورت وجود هر نوع پیوند دی‌سولفیدی، لازم است شکسته شود. سپس هر قطعه تخلیص شده و با روش ادمن تعیین توالی می‌گردد. نهایتاً، ترتیب قطعات موجود در پروتئین اولیه تعیین شده و پیوندهای دی‌سولفیدی (از هرنوع) مشخص می‌گردد.

شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی: پیوندهای دی‌سولفیدی با روش تعیین توالی تداخل می‌نمایند. یک ریشه سیستین

Book.Apfarsi.ir

(شکل ۷-۵) که یکی از پیوندهای پپتیدی آن در روش ادمن شکسته می‌شود، ممکن است از طریق پیوند دی‌سولفیدی خود به رشته پلی‌پپتیدی متصل باقی بماند. در شکل ۲۶-۵، دو روش برای شکستن غیرقابل‌برگشت پیوندهای دی‌سولفیدی معرفی شده است.

شکستن زنجیر پلی‌پپتیدی: روش‌های متعددی را می‌توان برای قطعه‌قطعه‌نمودن زنجیر پلی‌پپتیدی مورد استفاده قرار داد. آنزیم‌هایی بنام **پروتئاز**، هیدرولیز پیوندهای پپتیدی را کاتالیز می‌نمایند. تعدادی از پروتئازها تنها پیوندهای پپتیدی موجود در مجاورت بعضی ریشه‌های اسید آمینه را هیدرولیز می‌نمایند (جدول ۷-۵) و بنابراین سبب قطعه‌قطعه‌شدن زنجیر پلی‌پپتیدی به طرق قابل‌پیش‌بینی و قابل‌تکرار می‌گردند. بعضی مواد شیمیایی نیز پیوندهای پپتیدی موجود در مجاورت ریشه‌های اختصاصی را می‌شکنند.

جدول ۷-۵. ویژگی بعضی از روش‌های معمول مورد استفاده در قطعه‌قطعه‌نمودن زنجیرهای پلی‌پپتیدی

روش*	نقاط شکست†
تریپسین	Lys, Arg (C)
پروتئاز *Submaxillarus*	Arg (C)
کیموتریپسین	Phe, Trp, Tyr (C)
پروتئاز V8 از *Staphylococcus aureus*	Asp, Glu (C)
N-Asp-پروتئاز	Asp, Glu (N)
پپسین	Phe, Trp, Tyr (N)
آندوپروتئیناز Lys C	Lys (C)
برومید سیانوژن	Met (C)

* همگی به غیر از سیانوژن بروماید، پروتئاز هستند. همگی به طریق تجارتی دردسترس می‌باشند.

† ریشه‌هائی که نقطه شناسائی اولیه برای پروتئاز یا معرف هستند: شکست پیوند پپتیدی در سمت کربونیل (C) یا آمینو (N) ریشه‌های اسید آمینه نشان‌داده‌شده رخ می‌دهد.

از میان پروتئازها، آنزیم گوارشی تریپسین، بدون توجه به طول یا توالی اسید آمینه‌های موجود در زنجیر، تنها هیدرولیز پیوندهای پپتیدی را کاتالیز می‌نماید که در آنها گروه کربوکسیل مربوط به یک ریشه Lys یا Arg باشد. ازاینرو، تعداد پپتیدهای کوچکتری که توسط تریپسین ایجاد می‌گردند را می‌توان از تعداد کل ریشه‌های Lys و Arg موجود در پلی‌پپتید ابتدایی پیش‌بینی نمود که خود با هیدرولیز یک نمونه دست‌نخورده تعیین می‌شود (شکل ۲۷-۵). پلی‌پپتیدی با پنج ریشه Lys و یا Arg، معمولاً توسط تریپسین به شش پپتید کوچکتر تجزیه می‌گردد. بعلاوه تمامی این پپتیدها، به استثناء یکی، دارای یک ریشه Lys یا Arg در انتهای کربوکسیل می‌باشند. بعد از تولید قطعات توسط هیدرولیز تریپسین (یا آنزیم دیگر یا یک ماده شیمیایی)، این قطعات توسط روش‌های کروماتوگرافی یا الکتروفورز جدا می‌گردند.

تعیین توالی پپتیدها: هر قطعه پپتیدی حاصل از عمل تریپسین، به‌طورمجزا با روش ادمن تعیین توالی می‌گردد.

منظم‌نمودن قطعات پپتیدی: حال ترتیب (قطعات تریپسینی) در زنجیر پلی‌پپتیدی اولیه تعیین می‌گردد. نمونه دیگری از پلی‌پپتید دست‌نخورده با استفاده از آنزیم یا معرف دیگر شکسته می‌شود که پیوندهای پپتیدی را در محل دیگری غیر از محل اثر تریپسین تجزیه می‌کنند. برای مثال، سیانوژن‌بروماید تنها پیوندهای پپتیدی را می‌شکند که گروه کربوکسیل آنها مربوط به Met می‌باشد. سپس قطعات حاصل از این روش دوم نیز همانند روش قبل جدا و تعیین توالی می‌گردند.

توالی‌های اسید آمینه‌ای هر قطعه حاصل از دو روش متفاوت تجزیه‌ای، برای یافتن پپتیدهایی از روش دوم که همپوشان قطعات حاصل از روش تجزیه‌ای اول هستند، مورد بررسی قرار می‌گیرند (شکل ۲۷-۵). پپتیدهای همپوشان حاصل از روش دوم ترتیب صحیح قطعات پپتیدی حاصل از روش اول را تعیین می‌نمایند. در صورتی که

Book.Apfarsi.ir

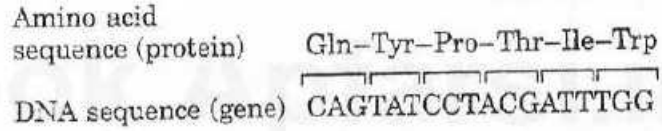


شکل ۲۷-۵. شکستن پروتئین‌ها همراه با تعیین توالی و مرتب‌نمودن آنها. ابتدا ترکیب اسید آمینه‌ای و ریشه انتهای آمینو یک نمونه سالم تعیین می‌گردد. سپس برای انجام کارآمد تعیین‌توالی، پیوندهای دی‌سولفیدی قبل از قطعه‌قطعه‌نمودن پروتئین، شکسته می‌شوند. در این مثال، تنها دو ریشه Cys (C) وجود داشته که تنها یکی از آنها دارای موقعیت احتمالی ایجاد پیوند دی‌سولفیدی است. در پلی‌پپتیدهای دارای سه یا تعداد بیشتری ریشه Cys، موقعیت پیوندهای دی‌سولفیدی احتمالی را می‌توان به صورت شرح‌داده‌شده در متن تعیین نمود. (مخفف‌های یک حرفی اسیدهای آمینه در جدول ۱-۵ آورده شده‌اند.)

اسید آمینه انتهای آمینو قبل از تجزیه ابتدایی شناسایی شده باشد، می‌توان از این اطلاعات در تعیین قطعه مشتق از انتهای آمینو استفاده نمود. دو سری از قطعات می‌توانند با یکدیگر مقایسه شده تا خطاهای احتمالی تعیین توالی هر قطعه مشخص گردد.

در صورتی که روش تجزیه دوم نتواند پیوستگی بین تمامی پپتیدهای حاصل از تجزیه اول را مشخص نماید، لازم است از روش تجزیه‌ای سوم و یا حتی چهارم استفاده نمود تا همپوشان(های) لازم بدست آیند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۸-۵. رابطه توالی‌های DNA و اسید آمینه. هر اسید آمینه توسط یک توالی اختصاصی سه نوکلئوتیدی در DNA کد می‌گردد. جزئیات کد ژنتیکی در فصل ۲۷ مورد بحث قرار می‌گیرد.

تعیین موقعیت پیوندهای دی‌سولفیدی: درصورتیکه در ساختمان اولیه پیوندهای دی‌سولفیدی وجود داشته باشد، بعد از تکمیل تعیین‌توالی، موقعیت آنها در مرحله بعدی تعیین می‌گردد. نمونه پروتئینی مجدداً با معرفی نظیر تریپسین، ولی این بار بدون شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی، تجزیه می‌گردد. وقتی پپتیدهای حاصل با الکتروفورز جدا و با پپتیدهای ابتدایی حاصل از تریپسین مقایسه شدند، برای هر پیوند دی‌سولفیدی، دو پپتید ابتدایی از دست رفته و یک پپتید جدید بزرگتر ظاهر خواهد گردید. دو پپتید ازدست رفته نواحی از پلی‌پپتید دست‌نخورده را نشان می‌دهند که توسط پیوند دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند.

با روش‌های دیگر نیز می‌توان توالی اسید آمینه‌ای را تعیین نمود

روش فوق تنها راه تعیین توالی اسید آمینه‌ها نمی‌باشد. روش‌های جدید براساس اسپکترومتری جرمی این امکان را فراهم می‌سازند تا بتوان پلی‌پپتیدهای کوتاهی (با ۲۰ تا ۳۰ ریشه اسید آمینه) را ظرف چند دقیقه تعیین توالی نمود (کادر ۳-۵، صص. ۱۷۲ ۱۷۰). بعلاوه ابداع روش‌های سریع تعیین توالی DNA (فصل ۱۰)، شرح کد ژنتیکی (فصل ۲۷) و ابداع فن‌آوری‌هایی برای جداسازی ژن‌ها (فصل ۲۹)، استنتاج توالی یک پلی‌پپتید را با تعیین توالی نوکلئوتیدهای موجود در ژن کدکننده آن ممکن ساخته است (شکل ۲۸-۵). فن‌آوریهای تعیین توالی‌های پروتئین و DNA، مکمل یکدیگر می‌باشند. وقتی ژن در دسترس می‌باشد، تعیین توالی DNA سریعتر و صحیح‌تر از تعیین توالی پروتئین می‌باشد. هم اکنون بسیاری از پروتئین‌ها با این روش غیرمستقیم، تعیین توالی می‌شوند. وقتی ژن در دسترس نباشد، تعیین توالی مستقیم پروتئین ضروری بوده و این روش می‌تواند اطلاعاتی (نظیر موقعیت پیوندهای دی‌سولفیدی) را بدست دهد که در توالی DNA وجود ندارد. بعلاوه، دانستن توالی اسید آمینه‌ای حتی یک قسمتی از یک پلی‌پپتید می‌تواند به میزان زیادی جداسازی ژن مربوطه را تسهیل نماید (فصل ۲۹).

سری روش‌هایی که هم‌اکنون برای بررسی پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در دسترس می‌باشند، خبر از نظم و انظباط جدید در کل بیوشیمی سلول می‌دهد. در حال حاضر، برای موجودات زنده، از ویروس‌ها گرفته تا باکتری‌ها و تا اوکاریوت‌های پرسلول، توالی کامل DNA موجود زنده، یا ژنوم آن، در دسترس می‌باشد (جدول ۱-۱ را ببینید). هزاران ژن تاکنون شناخته شده‌اند که در میان آنها انواعی وجود دارند که پروتئین‌هایی بدون عملکرد شناخته‌شده را کد می‌نمایند. برای شرح کل مکمل پروتئینی که توسط DNA موجود کد می‌گردد، محققین اصطلاح جدید پروتئوم[1] را ساخته‌اند. بررسی پروتئوم یک سلول، پیوست بسیار مهم و اطلاعات‌دهنده‌ای برای تکمیل توالی ژنومی آن می‌باشد. پروتئین‌های یک سلول جدا شده و با ژل الکتروفورز دوبعدی نمایش داده می‌شوند (شکل ۲۲-۵). لکه‌های پروتئینی مجزا را می‌توان از این ژل جدا نمود. پپتیدهای کوچک حاصل از پروتئین‌ها را با اسپکترومتری جرمی (کادر ۳-۵) تعیین توالی نموده و این توالی‌ها با توالی ژنومی برای تعیین هویت پروتئین، مقایسه می‌گردند. اغلب داشتن توالی یک قطعه شش تا هشت اسید آمینه‌ای برای اشاره دقیق به توالی کدکننده کل پروتئین کافی است.

1- Proteome

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۵. بررسی پروتئین‌ها با استفاده از اسپکترومتری جرمی

مدتها است که اسپکترومتری جرمی به عنوان یک وسیله ضروری در شیمی مطرح می‌باشد. ملکول‌های مورد بررسی، بنام **آنالیت**، ابتدا در خلاء یونیزه می‌شوند. وقتی ملکول‌های باردار جدید در یک میدان الکتریکی و یا مغناطیسی قرار می‌گیرند، مسیر حرکت آنها در این میدان تابعی از نسبت جرم به بار، m/z آنها خواهد بود. به این طریق می‌توان جرم (M) آنالیت را با دقت بسیار بالا تعیین نمود.

هرچند سالهای زیادی است که از اسپکترومتری جرمی استفاده می‌گردد، نمی‌توان آن را برای ماکروملکول‌هایی نظیر پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک بکار برد. اندازه‌گیری‌های m/z بر روی ملکول‌ها در فاز گازی انجام شده و حرارت یا سایر اعمال مورد نیاز برای بردن یک ماکروملکول به فاز گازی، معمولاً منجر به تخریب سریع آن می‌گردد. در سال ۱۹۸۸، برای رفع این مشکل، دو فن‌آوری متفاوت ابداع گردید. در یکی از این فن‌آوریها، پروتئین‌ها در یک ماتریکس جذب‌کننده نور قرار داده می‌شوند. با یک پالس کوتاه اشعه لیزری، پروتئین‌ها یونیزه شده و سپس از این ماتریکس جدا و وارد سیستم خلاء می‌گردند. این فرایند، با نام **اسپکترومتری جرمی جداسازی/یونیزاسیون لیزری با کمک ماتریکس** (matrix assisted laser desorption/ionization mass spectrometry; MALDI MS)، به‌طور موفقیت‌آمیزی برای اندازه‌گیری دامنه وسیعی از ماکروملکول‌ها مورد استفاده قرار گرفته است. در روش دوم که با موفقیت مشابه همراه بوده است، ماکروملکول‌های موجود در محلول با استفاده از نبرو، مستقیماً از مایع به فاز گازی رانده می‌شوند. محلولی از آنالینها از میان یک سوزن باردار عبور داده می‌شود که در یک پتانسیل الکتریکی بالا نگه داشته شده و محلول را به صورت غباری از قطرات ریز باردار پراکنده می‌نماید. حلال موجود در اطراف این ماکروملکول‌ها سریعاً تبخیر شده و یون‌های ماکروملکول‌های باردار به‌طورغیرتخریبی وارد فاز گازی می‌شوند. این فن‌آوری را **اسپکتروفتومتری جرمی الکترواسپری یونیزاسیونی** (Electrospray ionization mass spectrometry; ESI MS) گویند. پروتونهایی که در هنگام عبور از میان سوزن اضافه می‌گردند، بار اضافی به ماکروملکول می‌دهند. m/z ملکول را می‌توان در حجره خلاء اندازه‌گیری نمود.

اسپکترومتری جرمی اطلاعات زیادی برای تحقیق پروتئوم، آنزیم‌شناسی و شیمی پروتئینی در کل فراهم می‌آورد. این فن‌آوریها تنها نیاز به مقادیر ناچیز دارند و بنابراین براحتی می‌توان آنها را برای مقادیر کم پروتئین‌های استخراج‌شده با ژل الکتروفورز دوبعدی بکار برد. جرم ملکولی دقیقاً اندازه‌گیری‌شده یکی از پارامترهای مهم در تعیین هویت آن ملکول می‌باشد. وقتی جرم ملکولی دقیق یک پروتئین مشخص باشد، اسپکترومتری جرمی یک روش مناسب و صحیح برای جستجوی تغییرات جرمی ناشی از وجود کوفاکتورهای اتصال‌یافته، یون‌های فلزی اتصال‌یافته، تغییرات کووالان و غیره می‌باشد.

فرایند تعیین جرم ملکولی یک پروتئین با روش ESI MS در شکل ۱ شرح داده شده است. با تزریق به داخل فاز گازی، پروتئین تعداد متغییری پروتون یا بار مثبت از محیط دریافت می‌نماید. این امر همراه با تولید طیفی از ملکول‌های دارای نسبتهای متفاوت جرم به بار می‌باشد. هر قله متوالی مربوط به ملکول‌هایی است که در مقایسه با قله مجاور خود به اندازه ۱ بار و ۱ جرم (۱ پروتون) تفاوت دارد. جرم هر پروتئین را می‌توان از هر کدام از دو قله مجاور تعیین نمود. میزان m/Z اندازه‌گیری‌شده یک پیک برابر است با:

$$(m/z)_2 = \frac{M + n_2 X}{n_2}$$

که در آن M جرم پروتئین، n_2 تعداد بارها و X جرم گروه‌های اضافه‌شده (در این حالت پروتون) می‌باشد. به‌طورمشابه برای قله مجاور داریم:

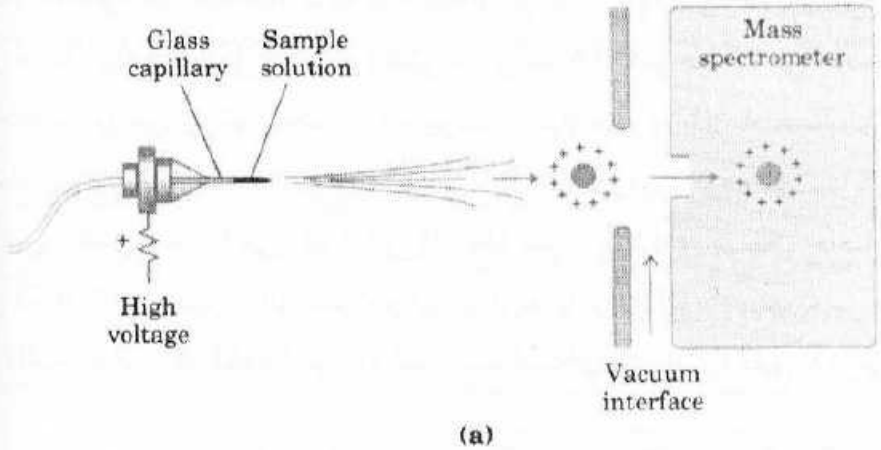
$$(m/z)_1 = \frac{M + (n_2 + 1)X}{n_2 + 1}$$

حالا دو مجهول (M و n_2) و دو معادله داریم. می‌توان معادله را ابتدا برای n_2 و سپس M حل نمود.

$$n_2 = \frac{(m/z)_2 - X}{(m/z)_2 - (m/z)_1}$$

$$M = n_2[(m/z)_2 - X]$$

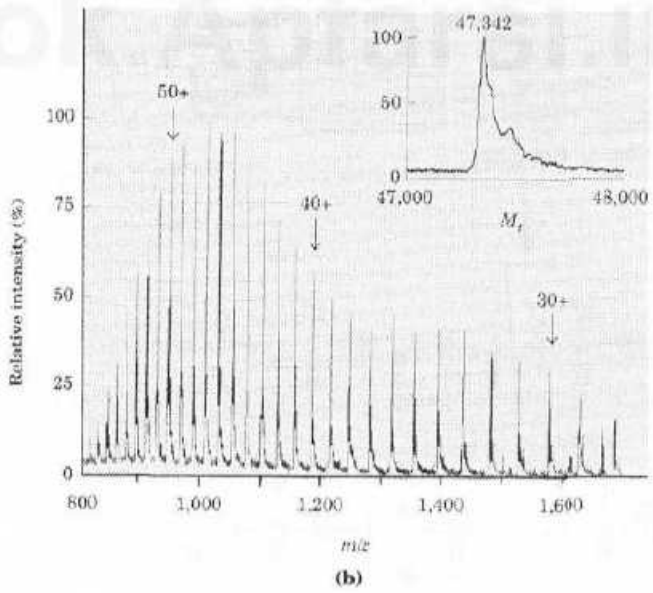
این محاسبه با استفاده از مقادیر m/z هر دو قله در یک طیف



شکل ۱. اسپکترومتری جرمی الکترواسپری یک پروتئین. (a) یک محلول پروتئینی با عبور از یک سوزن، تحت اثر یک میدان الکتریکی با ولتاژ بالا، به صورت قطرات شدیداً باردار پراکنده می‌شود. قطرات تبخیر شده و یون‌ها (همراه با پروتونهای اضافه‌شده در این حالت) برای اندازه‌گیری m/z وارد اسپکترومتر جرمی می‌شوند.

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۵ (دنباله)



(b)

شکل ۱. طیف حاصل (b) شامل خانواده‌ای ازقله‌ها می‌باشد که هر قله متوالی (از سمت راست به چپ) مربوط به ملکول بارداری با افزایش ۱ در هم جرم و هم بار است. در داخل شکل، تصویر همراه با تغییرات کامپیوتری این شکل آورده شده است.

نظیر طیفی که در شکل ۱b نشان داده شده است، معمولاً جرم پروتئین (در این حالت nerolysin k: ۴۷،۳۴۲ Da)، با خطای تنها ۰/۰۱٪ ± را بدست می‌دهد. با ایجاد چندین قله، تکرار محاسبات و گرفتن معدل نتایج، عموماً مقدار دقیقتری برای M بدست می‌آید. الگوریتمهای کامپیوتری می‌توانند طیف m/z را به یک قله واحد تبدیل نموده و بنابراین اندازه‌گیری بسیار صحیح جرم را ممکن سازند (شکل ۱b، داخل تصویر).

اسپکترومتری جرمی را همچنین می‌توان برای تعیین توالی قطعات کوتاه پلی‌پپتیدی بکار برد؛ این کاربرد به عنوان یک وسیله گرانبها در تعیین‌هویت سریع پروتئین‌های ناشناخته، می‌باشد. اطلاعات توالی با استفاده از یک فن‌آوری بنام MS پشت‌سرهم(tandem MS) MS/MS، استخراج می‌گردد. ابتدا محلول حاوی پروتئین مورد نظر در معرض یک پروتئاز یا معرف شیمیایی قرار می‌گیرد که با تجزیه هیدرولیتیک، آن را به مخلوطی از پپتیدهای کوتاهتر تبدیل می‌نماید. سپس این مخلوط به وسیله‌ای تزریق می‌گردد که دارای دو اسپکترومتر جرمی پشت‌سرهم می‌باشد (شکل ۲a، بالا). در اولی، مخلوط پپتیدی دسته‌بندی شده و قطعات یونیزه‌شده طوری دستکاری می‌شوند که تنها یکی از انواع متعدد پپتیدهای حاصل از مرحله هیدرولیز، از انتهای دیگر خارج گردد. سپس نمونه پپتید انتخاب‌شده که هر ملکول آن دارای یک بار در طول خود می‌باشد، از میان یک حجره خلاء موجود در بین دو اسپکترومتر عبور می‌نماید. در این سلول تصادمی، پپتید با برخورد پرانرژی به یک «گاز تصادمی»، (میزان کمی از یک گاز بی‌اثر هلیوم یا آرگون در داخل یک حجره خلاء)، بیشتر تجزیه می‌گردد. این روش برای شکستن بسیاری از قطعات موجود در نمونه طراحی شده است، به‌طوریکه هر پپتید خاص به‌طورمتوسط تنها در یک محل شکسته می‌شود. بیشتر شکست‌ها در پیوندهای پپتیدی صورت می‌پذیرد. این شکستن همراه با افزودن آب نبوده (این فرایند در حالت تقریباً خلاء صورت می‌پذیرد)، بنابراین محصولات ممکن است شامل رادیکال‌های یونی ملکولی، نظیر رادیکال‌های کربونیل، باشد (شکل ۲a، پایین). بار پپتید ابتدایی در یکی از این قطعات حاصل از آن باقی می‌ماند.

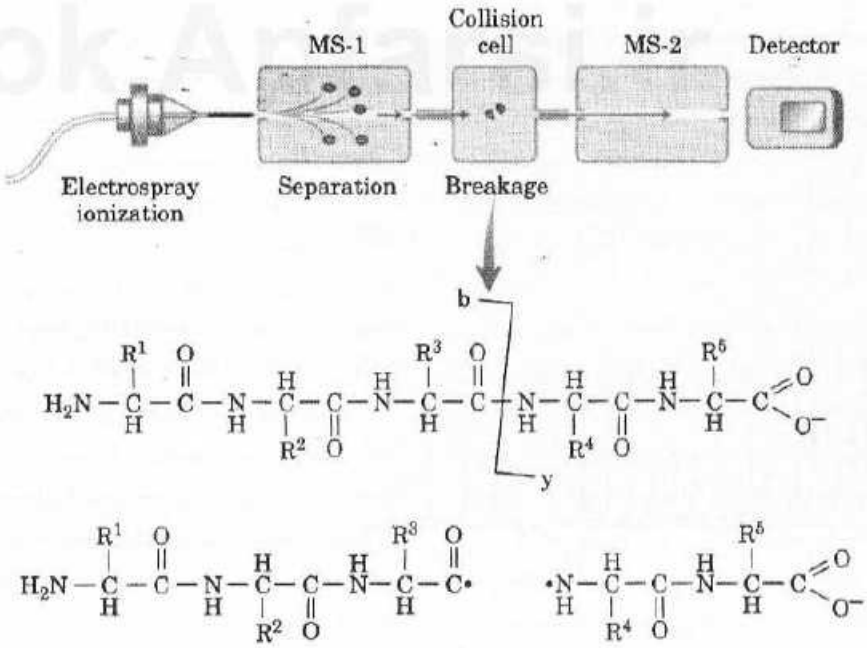
سپس اسپکترومتر دوم نسبتهای m/z تمامی قطعات باردار را اندازه‌گیری می‌نماید (قطعات بدون بار جستجو نمی‌شوند). این امر منجر به تولید یک یا چند سری قله می‌گردد. یک سری قله خاص (شکل ۲b) متشکل از تمامی قطعات بارداری است که با شکستن یک نوع پیوند (ولی در نقاط مختلف یک پپتید) ایجاد واز یک سمت پیوند شکسته‌شده، سمت انتهای کربوکسیل یا انتهای آمینو، مشتق شده‌اند. هر قله متوالی در یک سری دارای یک اسید آمینه کمتر از قله قبلی است. تفاوت در جرم قله به قله، اسید آمینه ازدست‌رفته را در هر حالت تعیین نموده و بنابراین توالی پپتید را تعیین می‌نماید. تنها ابهام در مورد لوسین و ایزولوسین می‌باشد که دارای جرم یکسانی می‌باشند.

بار موجود در پپتید را می‌توان در قطعه انتهای کربوکسیل یا انتهای آمینو حفظ نمود و پیوندهای غیر پپتیدی را می‌توان در فرایند قطعه‌قطعه کردن تجزیه نمود که معمولاً همراه با ایجاد سری‌های متعدد می‌باشد. دو سری برجسته عموماً دارای قطعات باردار مشتق از شکستن پیوندهای پپتیدی می‌باشند. سری حاوی قطعات انتهای کربوکسیل را می‌توان بدون ابهام از قطعات انتهای آمینو تمایز داد. از آنجایی که شکست‌های پیوندی در بین دو اسپکترومتر (در داخل سلول تصادمی) گروه‌های کامل کربوکسیل و آمینو را در محل‌های شکست بدست نمی‌دهند، تنها گروه‌های α-آمینو و α-کربوکسیل موجود در قطعات پپتیدی، آنهایی هستند که در دو انتها وجود دارند (شکل ۲a). در نتیجه این دو سری قطعات را می‌توان براساس تفاوت‌های جزئی جرم آنها، تمایز داد. توالی اسید آمینه‌ای حاصل از یک سری را می‌توان توسط دیگری تایید نمود و بدین‌ترتیب سبب اطمینان از اطلاعات توالی بدست‌آمده گردید.

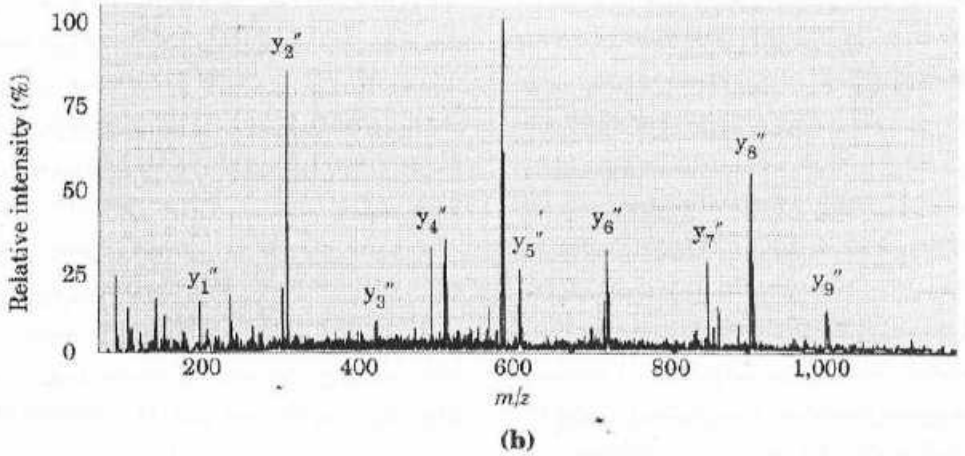
در مواردی که توالی یک ژن مشخص باشد، اغلب حتی یک

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۵ (دنباله)



(a)



(b)

شکل ۲. بدست‌آوردن اطلاعات توالی پروتئینی با اسپکترومتری جرمی پشت‌سرهم. (a) بعد از هیدرولیز پروتئولیتیک، محلول پروتئینی به داخل یک اسپکترومتر جرمی (MS-1) تزریق می‌گردد. پپتیدهای مختلف طوری دسته‌بندی می‌شوند که تنها یک نوع از آنها برای مرحله بعد انتخاب می‌گردد. پپتید انتخابی در حجره‌ای بین دو اسپکترومتر جرمی بیشتر قطعه‌قطعه شده و m/z هر قطعه توسط اسپکترومتر جرمی دوم (MS-2) اندازه‌گیری می‌شود. همان‌طور که نشان داده شده است، بسیاری از یون‌هایی که در مرحله دوم قطعه‌قطعه‌شدن ایجاد می‌گردند حاصل پیوندهای پپتیدی هستند. برحسب اینکه بار در سمت انتهای آمینو یا کربوکسیل باقی بماند، به ترتیب این یون‌ها را نوع-b و نوع-y می‌نامند. (b) طیف شاخصی که قلل آن قطعات پپتیدی را نشان می‌دهند که از یک نمونه یک پپتید کوچک (۱۰ ریشه‌ای) حاصل شده‌اند. قلل نشان داده شده از یون‌های نوع-y می‌باشند. بزرگترین قله بعد از y_5'' یک یون با بار دوگانه بوده و قسمتی از سری y نمی‌باشد. تفاوت این قلل متوالی در جرم یک اسید آمینه موجود در پپتید ابتدایی می‌باشد. در این حالت، توالی استنتاج‌شده به صورت Phe - Pro - Gly - Gln - (Ile / Leu) - Asn - Ala - Asp - (Ile / Leu) - Arg است. به ابهام موجود در بین Ile و Leu توجه نمایید که حتی ملکولی یکسانی دارند. در این مثال، قلل مشتق از یون‌های نوع-y غالب بوده و در نتیجه این طیف به میزان زیادی ساده شده است. این به دلیل آن است که ریشه Arg در انتهای کربوکسیل پپتید قرار داشته و بیشتر بارهای مثبت بر روی این ریشه حفظ شده است.

توالی کوتاه برای پیدانمودن همبستگی غیرمبهم یک پروتئین با ژن آن کافی می‌باشد. تعیین توالی با استفاده از اسپکترومتری جرمی نمی‌تواند جایگزین روش تخریبی ادمن گردد، ولی برای تحقیق پروتئوم در زمینه فهرست نمودن صدها پروتئین سلولی که ممکن است در روی یک ژل دوبعدی جدا شوند، مطلوب می‌باشد.

در دهه‌های آینده، جزئیات اطلاعات توالی ژنومی از صدها هزاران موجود زنده در دسترس قرار خواهد گرفت. توانایی در برقراری سریع ارتباط بین پروتئین‌ها با ژنها با استفاده از اسپکترومتری جرمی، استخراج از این منابع اطلاعاتی فوق‌العاده به میزان زیادی تسریع خواهد نمود.

تعدادی از این پروتئین‌ها تاکنون شناخته‌شده بوده و عملکرد آنها بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته است؛ بقیه مرموزتر می‌باشند. وقتی که بیشتر پروتئین‌ها با یک ژن مطابق باشند، تغییرات پروتئین سلولی را می‌توان در اثر تغییرات محیطی، غذایی، استرس یا بیماری بررسی نمود. این کار شواهدی را برای نوع فعالیت پروتئین‌هایی فراهم می‌آورد که اعمال آنها هنوز ناشناخته می‌باشد. بالاخره، این مطالعات کار انجام‌شده بر روی متابولیسم واسط سلولی و متابولیسم اسید نوکلئیک را تکمیل نموده تا سیمای جدید و کاملتری از بیوشیمی در سطح سلول‌ها و حتی موجودات فراهم آورد.

اطلاعات مهم بیوشیمیایی را می‌توان از توالی‌های اسید آمینه بدست آورد

دانستن توالی اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌ها می‌تواند اطلاعاتی را در مورد ساختمان سه‌بعدی و عمل، موقعیت سلولی و تکامل آن فراهم آورد. بسیاری از این اطلاعات از بررسی شباهتهای موجود با سایر توالی‌های شناخته‌شده بدست می‌آید. هزاران توالی شناخته شده و از طریق اینترنت در پایگاه‌های اطلاعاتی در دسترس می‌باشند. مقایسه یک توالی تازه بدست‌آمده با بانک اطلاعاتی وسیع توالی‌های ذخیره‌شده، اغلب ارتباطات هم تعجب‌آور و هم راهنما را نشان می‌دهد.

هنوز جزئیات دقیق نحوه تعیین ساختمان سه‌بعدی پروتئین‌ها توسط توالی اسید آمینه‌ای آنها مشخص نبوده و همیشه نمی‌توان عملکرد پروتئین را از روی توالی آن تعیین نمود. هرچند، براساس شباهتهای توالی اسید آمینه‌ای، بسادگی می‌توان خانواده‌های پروتئینی که مقداری خصوصیات ساختمانی و عملکردی مشابه دارند را تعیین نمود. پروتئین‌ها براساس میزان شباهت در توالی اسید آمینه‌ای، در خانواده‌های مختلف قرار می‌گیرند. اعضاء یک خانواده معمولاً در حدود ۲۵٪ یا مقدار بیشتری از توالی‌های خود یکسان بوده و پروتئین‌های موجود در این خانواده‌ها عموماً حداقل دارای بعضی خصوصیات ساختمانی و عملکردی مشترک هستند. هرچند، بعضی از این خانواده‌ها به واسطه تشابهاتی تنها در چند ریشه اسید آمینه تعریف می‌گردند که برای عملکرد مشخص آنها حیاتی هستند. در بسیاری از پروتئین‌هایی که از نظر عملکرد ارتباطی با یکدیگر ندارند، ممکن است تحت ساختمان‌های (در فصل ۶ به صورت «دومن» تعریف شده است) مشابهی وجود داشته باشد. اغلب این دومن‌ها به کونفیگوراسیون‌های ساختمانی تا می‌شوند که دارای میزان غیرمعمولی از پایداری بوده و یا برای یک محیط خاص اختصاصی می‌باشند. با استفاده از شباهت‌های ساختمانی و عملکردی موجود در خانواده‌های پروتئینی، می‌توان به ارتباطات تکاملی دست یافت.

بعضی از توالی‌های اسید آمینه‌ای به عنوان پیام‌هایی عمل می‌نمایند که موقعیت سلولی، تغییر شیمیایی و نیمه‌عمر یک پروتئین را تعیین می‌نمایند. توالی‌های پیام اختصاصی، معمولاً در انتهای آمینو، برای تعیین هدف بعضی از پروتئین‌هایی بکار می‌روند که بخارج سلول انتقال داده می‌شوند، در حالی که پروتئین‌های دیگر حاوی توالی پیام برای هدایت به هسته، سطح سلول، سیتوزول و سایر موقعیت‌های سلولی هدفدار می‌شوند. بعضی از توالی‌ها نیز به عنوان محل‌هایی برای اتصال گروه‌های پروستتیک، نظیر گروه‌های قندی در گلیکوپروتئین‌ها و لیپیدها در لیپوپروتئین‌ها عمل می‌نمایند. بعضی از این توالی‌ها بخوبی شناخته شده بوده و وقتی در توالی یک پروتئین تازه شناسایی‌شده قرار داشته باشند، بسادگی تشخیص داده می‌شوند.

Book.Apfarsi.ir

پپتیدها و پروتئین‌های کوچک را می‌توان به طریق شیمیایی سنتز نمود

بسیاری از پپتیدها به عنوان عوامل داروئی مفید عمل نموده و تولید آنها اهمیت تجارتی قابل توجهی را دارد. سه راه برای بدست‌آوردن یک پپتید وجود دارد: (۱) تخلیص از یک بافت که اغلب به علت غلظت بسیار پایین بعضی از پپتیدها، کار مشکلی است، (۲) مهندسی ژنتیک (فصل ۲۹) و (۳) سنتز شیمیایی. هم‌اکنون فن‌آوری‌های قوی، سنتز مستقیم شیمیایی را در بسیاری از موارد به یک موضوع جذاب تبدیل نموده‌اند. علاوه بر کاربردهای تجارتی، سنتز قسمتهای پپتیدی اختصاصی پروتئین‌های بزرگتر وسیله مهمی در مطالعه ساختمان و عملکرد پروتئین می‌باشد.


R. Bruce Merrifield

پیچیدگی پروتئین‌ها سبب شده تا روش‌های سنتتیک سنتی مواد شیمیایی آلی برای پپتیدهای دارای بیش از چهار یا پنج ریشه اسید آمینه، غیرعملی باشد. یکی از مشکلات، سختی تخلیص محصول بعد از هر مرحله می‌باشد. بیشتر این موانع در سال ۱۹۶۲ توسط بروس مریفیلد برطرف گردید. برای این منظور، وی سنتز پپتید را در هنگام اتصال آن از یک انتها به یک پایه جامد معمول نمود. این پایه یک پلیمر نامحلول (رزین) موجود در یک ستون، مشابه نوع مورد استفاده در روش‌های کروماتوگرافی، می‌باشد. سنتز پپتید بر روی این پایه با اضافه‌شدن یک اسید آمینه در هر زمان با استفاده از یک سری واکنش‌ها، به شکل یک چرخه تکراری، صورت می‌پذیرد (شکل ۲۹-۵). در هر مرحله متوالی چرخه، گروه‌های شیمیایی حفاظت‌کننده مانع انجام واکنش‌های ناخواسته می‌شوند.

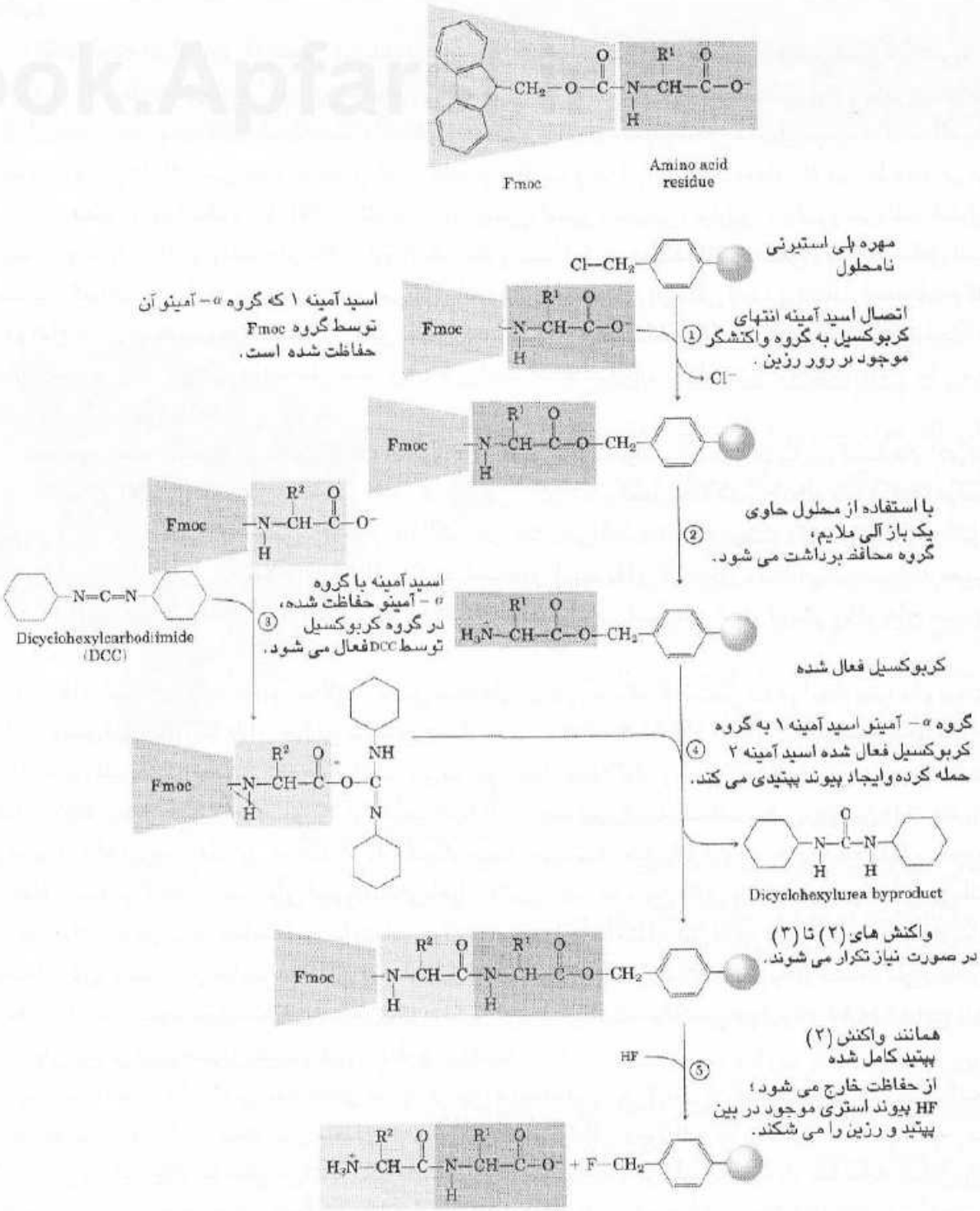
فن‌آوری سنتز شیمیایی پپتید به صورت اتوماتیک درآمده و هم‌اکنون انواع متعدد دستگاههای تجارتی دردسترس می‌باشد. با توجه به راندمان ۹۶/۰٪ در مقابل ۹۹/۸٪ برای افزودن هر اسید آمینه جدید، می‌توان از محاسبه راندمان کلی پپتیدهای دارای طولهای مختلف دریافت (جدول ۸-۵) که مهمترین محدودیت این فرایند، کارآئی هر چرخه شیمیایی است. واکنش غیرکامل در یک مرحله می‌تواند منجر به ایجاد یک ناخالصی (به صورت یک پپتید کوتاهتر) در آینده گردد. این روش شیمیایی به شکل مطلوب درآمده تا امکان سنتز پروتئین‌هایی با ۱۰۰ ریشه اسید آمینه ظرف چند روز با راندمان منطقی را فراهم سازد. از یک روش بسیار مشابه برای سنتز اسیدهای نوکلئیک استفاده می‌گردد (شکل ۳۷-۱۰). قابل ذکر است که با وجود مؤثر بودن در مقایسه با فرایندهای بیولوژیک، این روش ضعیف می‌باشد. همین پروتئین ۱۰۰ اسید آمینه‌ای با صحت عالی ظرف حدود ۵ ثانیه در یک سلول باکتری سنتز می‌گردد.

جدول ۸-۵. اثر راندمان هر مرحله بر روی راندمان کلی در سنتز پروتئین

تعداد ریشه‌ها در پلی‌پپتید نهائی	راندمان کلی پپتید نهائی (٪)، وقتی راندمان هر مرحله برابر است با:	
	٪۹۶/۰	٪۹۹/۸
۱۱	۶۶	۹۸
۲۱	۴۴	۹۶
۳۱	۲۹	۹۴
۵۱	۱۳	۹۰
۱۰۰	۱/۷	۸۲

انواع متعددی از روش‌های جدید اتصال مؤثر پپتیدها به یکدیگر، همایش پپتیدهای سنتزشده و ایجاد پروتئین‌های بزرگتر را ممکن ساخته است. با این روش‌ها، اشکال جدید پروتئین‌ها را می‌توان خلق نمود که گروه‌های شیمیایی آنها، شامل انواعی که نباید در یک پروتئین سلولی وجود داشته باشند، دقیقاً در محل قرار

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۹-۵. سنتز شیمیایی یک پپتید بر روی یک پایه پلیمری نامحلول. واکنش‌های (۱) تا (۴) برای ایجاد هر پیوند پپتیدی لازم می‌باشند. گروه ۹-فلورنیل‌متوکسی‌کربونیل (9-Fluorenylmethoxycarbonyl; Fmoc) مانع واکنش‌های ناخواسته در گروه α-آمینو ریشه می‌گردد. سنتز شیمیایی از انتهای کربوکسیل به انتهای آمینو صورت می‌پذیرد که عکس جهت سنتز پروتئین در داخل بدن می‌باشد (فصل ۲۷).

گرفته‌اند. این اشکال نوظهور، روش‌هایی را برای بررسی فرضیه‌های کاتالیز آنزیمی، ایجاد پروتئین‌هایی با خصوصیات جدید شیمیایی و در طراحی توالی‌های پروتئینی که به ساختمان‌های خاص تا می‌گردند، فراهم می‌آورند. این کاربرد اخیر آزمون نهایی برای ارتباط‌دادن ساختمان اول یک پپتید به ساختمان سه‌بعدی آن می‌باشد که در محلول بخود می‌گیرد. در فصل بعدی به ساختمان‌های منظم‌تر پروتئین‌ها می‌پردازیم.

Book.Apfarsi.ir

خلاصه

۲۰ اسید آمینه استانداردی که معمولاً در ساختمان پروتئین‌ها وجود دارند، حاوی یک گروه α-کربوکسیل، یک گروه α-آمینو و یک گروه R متفاوت می‌باشند. اتم کربن α تمامی اسیدهای آمینه، به استثناء گلیسین نامتقارن بوده و بنابراین حداقل به دو شکل ایزومر فضایی وجود دارند. تنها ایزومرهای فضایی L که با کونفیگوراسیون مطلق ملکول مرجع L-گلیسرآلدئید ارتباط دارند، در پروتئین‌ها یافت می‌شوند. اسیدهای آمینه براساس قطبیت و بار (در pH ۷) گروه‌های R خود، طبقه‌بندی می‌شوند. کلاس غیرقطبی و آلیفاتیک شامل آلانین، گلیسین، ایزولوسین، لوسین، متیونین، ترئونین و والین می‌باشد. فنیل‌آلانین، تریپتوفان و تیروزین دارای زنجیرهای جانبی آروماتیک بوده و نسبتاً آبگریز هستند. کلاس قطبی و بدون‌بار شامل آسپاراژین، سیستئین، گلوتامین، پرولین، سرین و ترئونین می‌باشد. اسیدهای آمینه دارای بار منفی (اسیدی) شامل آسپارتات و گلوتامات بوده و انوع دارای بار مثبت (بازی) شامل آرژینین، هیستیدین و لیزین هستند. اسیدهای آمینه غیراستاندارد نیز وجود دارند که ممکن است جزئی از پروتئین‌ها (حاصل تغییر ریشه‌های اسید آمینه استاندارد بعد از سنتز پروتئین) بوده و یا به صورت متابولیتهای آزاد عمل نمایند.

اسیدهای آمینه منوآمینو منوکربوکسیلیک (با گروه‌های R غیرقابل‌یونیزاسیون)، در pH پایین اسیدهای دی‌پروتیک ($^+H_3NCH(R)COOH$) هستند. با افزایش pH، یک پروتون از گروه کربوکسیل جدا شده و ایجاد یک ملکول دوقطبی یا زویتریون، $^+H_3NCH(R)COO^-$، می‌گردد که از نظر الکتریکی خنثی می‌باشد. با افزایش بیشتر pH، دومین پروتون نیز از دست رفته و تولید ملکول یونی $H_2NCH(R)COO^-$ می‌گردد. اسیدهای آمینه دارای گروه‌های R قابل‌یونیزاسیون، برحسب pH و pK_a گروه R، ممکن است شکل یونی دیگری را نیز داشته باشند. بنابراین اسیدهای آمینه از نظر ویژگی‌های اسیدی-بازی متفاوت می‌باشند.

اسیدهای آمینه می‌توانند به‌طورکووالان از طریق پیوندهای پپتیدی به یکدیگر متصل شده و ایجاد پپتیدها و پروتئین‌ها را بنمایند. به‌طورکلی، سلول‌ها دارای هزاران پروتئین مختلف هستند که هر کدام دارای عملکرد یا فعالیت بیولوژیک متفاوتی می‌باشند. پروتئین‌ها می‌توانند از نظر طول زنجیر پلی‌پپتیدی بسیار متنوع بوده و دارای ۱۰۰ تا چندین هزار ریشه اسید آمینه باشند. هرچند، بعضی از پپتیدهای موجود در طبیعت تنها دارای چند اسید آمینه هستند. بعضی پروتئین‌ها از چندین زنجیر پلی‌پپتیدی بنام زیرواحد تشکیل شده‌اند که به یکدیگر متصل می‌باشند. هیدرولیز پروتئین‌های ساده تنها منجر به تولید اسیدهای آمینه می‌گردد؛ پروتئین‌های کونژوگه دارای اجزاء دیگری، نظیر یک یون فلزی یا گروه پروستتیک آلی می‌باشند.

به‌طورکلی، چهار سطح شناخته‌شده ساختمان پروتئینی وجود دارد. ساختمان اول اشاره به توالی اسید آمینه‌ای و موقعیت پیوندهای دی‌سولفیدی می‌نماید. ساختمان دوم، ارتباط فضایی بین اسیدهای آمینه مجاور را در قطعات پلی‌پپتیدی نشان می‌دهد. ساختمان سوم، کونفورماسیون سه‌بعدی کل زنجیر پلی‌پپتیدی است. ساختمان چهارم نیز ارتباط فضایی زنجیرهای متعدد پلی‌پپتیدی (زیرواحدی) یک پروتئین را مطرح می‌نماید.

پروتئین‌ها با در نظر گرفتن تفاوت‌های موجود در بین آنها، تخلیص می‌گردند. پروتئین‌ها را می‌توان به‌طورانتخابی با افزودن بعضی املاح راسب نمود. انواع متعددی از روش‌های کروماتوگرافی وجود دارد که براساس تفاوت در اندازه، تمایلات اتصالی، بار و سایر ویژگی‌ها عمل می‌کنند. الکتروفورز می‌تواند پروتئین‌ها را براساس جرم یا بار جدا نماید. تمامی روش‌های تخلیص نیاز به روش‌هایی برای اندازه‌گیری یا ارزیابی پروتئین مورد نظر در حضور سایر پروتئین‌ها دارند.

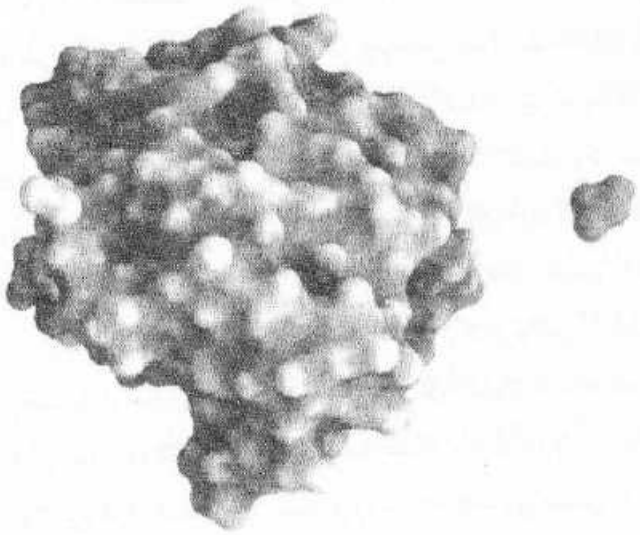
تفاوت در عملکرد پروتئینی حاصل تفاوت‌هایی در ترکیب و توالی اسید آمینه‌ای آنها می‌باشد. توالی‌های اسید آمینه‌ای با قطعه‌قطعه‌نمودن پلی‌پپتیدها به پپتیدهای کوچکتر با استفاده از معرف‌های شناخته‌شده‌ای که پیوندهای پپتیدی اختصاصی را می‌شکنند، تعیین توالی اسید آمینه‌ای هر قطعه با روش تخریبی اتوماتیک ادمن، و سپس مرتب‌نمودن قطعات با یافتن توالی‌های همپوشان بین قطعات حاصل از معرف‌های مختلف، استنتاج می‌گردد. توالی یک پروتئین را همچنین می‌توان از توالی نوکلئوتیدی ژن مربوط به آن در DNA استنتاج نمود. مقایسه توالی اسید آمینه‌ای یک پروتئین با هزاران توالی شناخته‌شده، اغلب اطلاعاتی در مورد ساختمان، عملکرد، موقعیت و تکامل آن پروتئین فراهم می‌آورد.

پروتئین‌ها و پپتیدهای کوتاه (با طول تا ۱۰۰ ریشه) را می‌توان به طریق شیمیایی سنتز نمود. این پپتید در حالی که به یک پایه جامد اتصال دارد، با افزودن یک اسید آمینه در هر زمان ساخته می‌شود.

Book.Apfarsi.ir

ساختمان سه‌بعدی پروتئین‌ها

۶



شکل ۱-۶. ساختمان آنزیم کیموتریپسین، یک پروتئین کروی. پروتئین‌ها ملکول‌های بزرگی هستند و خواهیم دید که هر کدام دارای یک ساختمان بی‌همتا می‌باشند. برای مقایسه اندازه، یک ملکول گلیسین (آبی) نشان داده شده است.

اسکلت کووالان یک پروتئین شاخص از هزاران پیوند پپتیدی تشکیل شده است. ازآنجایی‌که چرخش آزاد حول بسیاری از این پیوندها ممکن می‌باشد، این پروتئین می‌تواند تعداد نامحدودی کونفورماسیون بخود بگیرد. هرچند، هر کدام از پروتئین‌ها دارای عملکرد شیمیایی یا ساختمانی اختصاصی بوده که قویاً مطرح می‌نماید که هر کدام دارای یک ساختمان سه بُعدی بی‌همتا هستند (شکل ۱-۶). تا اواخر دهه ۱۹۲۰، چندین پروتئین، از جمله هموگلوبین (وزن‌ملکولی ۶۴،۵۰۰) و آنزیم اوره‌آز (وزن‌مولکولی ۴۸۳،۰۰۰)، به شکل کریستالی در آمدند. با توجه به اینکه دسته‌های منظم پروتئین‌های موجود در یک کریستال عموماً تنها زمانی می‌توانند تشکیل گردند که واحدهای ملکولی موجود در آنها مشابه باشند، کریستالیزه‌شدن بسیاری از پروتئین‌ها دلیل محکمی برای این واقعیت است که حتی پروتئین‌های بسیار بزرگ، موجودیت‌های شیمیایی منحصر و با ساختمان‌های بی‌همتا می‌باشند. این نتیجه‌گیری، تفکر پیرامون پروتئین‌ها و اعمال آنها را متحول نمود.

در این فصل ساختمان سه بُعدی پروتئین‌ها، با تأکید بر پنج موضوع، مورد بررسی قرار می‌گیرد. اول، ساختمان سه بُعدی یک پروتئین توسط توالی اسید آمینه‌ای آن تعیین می‌گردد. دوم، عملکرد یک پروتئین بستگی به ساختمان آن دارد. سوم، یک پروتئین جداشده دارای یک ساختمان بی‌همتا، یا تقریباً بی‌همتا، می‌باشد. چهارم، واکنش‌های متقابل غیرکووالان، مهمترین نیروهایی هستند که ساختمان اختصاصی یک پروتئین را حفظ می‌نمایند. بالاخره، در میان تعداد زیاد ساختمان‌های پروتئینی بی‌همتا، می‌توان بعضی از الگوهای ساختمانی مشترک را شناسایی نمود که به سازماندهی شناخت ما از معماری پروتئین کمک می‌نمایند.

این مطالب نباید طوری در نظر گرفته شوند که پروتئین‌های دارای ساختمان‌های سه بُعدی ساکن و بدون تغییر هستند. اغلب عملکرد پروتئینی، مستلزم تبدیل متقابل بین دو یا چند شکل ساختمانی است. جنبه‌های پویای ساختمان پروتئین، در فصول ۷ و ۸ مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

ارتباط بین توالی اسید آمینه‌ای یک پروتئین و ساختمان سه بُعدی آن، معمای پیچیده‌ای است که به تدریج منجر

BookAparsi.ir

به ایجاد فن‌آوری‌های جدیدی شد که در بیوشیمی امروزی مورد استفاده قرار می‌گیرند. بنوبه خود، شناخت ساختمان برای بحث پیرامون عملکرد پروتئین‌ها در فصل‌های بعدی ضروری است. با به‌کارگیری اصول پایه شیمی و فیزیک، می‌توان الگوهای موجود در پیچ و خم بیوشیمیایی ساختمان پروتئین را یافت و شناخت.

مروری کلی بر ساختمان پروتئین

آرایش فضایی اتم‌های موجود در یک پروتئین را **کونفورماسیون** گویند. کونفورماسیون‌های ممکن یک پروتئین شامل هر وضعیت ساختمانی است که بدون شکسته‌شدن پیوندهای کووالان قابل حصول هستند. تغییر در کونفورماسیون، برای مثال، در اثر چرخش حول پیوندهای یگانه ایجاد می‌گردد. از میان کونفورماسیون‌های متعددی که از نظر تئوری در یک پروتئین حاوی صدها پیوند یگانه ممکن است، یک یا چند نوع آن عموماً در شرایط بیولوژیک غالب می‌باشد. کونفورماسیونی که تحت یک سری شرایط وجود دارد، معمولاً نوعی است که از نظر ترمودینامیک پایدارترین بوده و کمترین انرژی آزاد گیبس (G) را دارد. پروتئین‌هایی که در هر کدام از وضعیت‌های تاشده وظیفه‌دار خود وجود دارند را پروتئین‌های **طبیعی**[1] گویند.

چه اصولی پایدارترین کونفورماسیون یک پروتئین را تعیین می‌نمایند؟ شناخت کونفورماسیون پروتئینی را می‌توان مرحله به مرحله از بحث ساختمان اول از فصل ۵ تا ساختمان‌های دوم، سوم و چهارم، بدست آورد. لازم است به این روش مرسوم، تأکید جدیدی بر ساختمان مافوق دوم[2] اضافه گردد که شامل یک سری الگوهای شناخته‌شده تاشدن پروتئینی قابل طبقه‌بندی است و زمینه سازماندهی مهمی را برای این کوشش پیچیده فراهم می‌آورد.

کونفورماسیون پروتئینی بیشتر توسط واکنش‌های متقابل ضعیف تثبیت می‌گردد

در زمینه ساختمان پروتئینی، اصطلاح **پایداری** را می‌توان بصورت تمایل در حفظ ساختمان طبیعی تعریف نمود. پروتئین‌های طبیعی تنها دارای **ثبات مرزی** هستند؛ ΔGای که حالات تاشده و ناشده را از یکدیگر جدا می‌نماید، در پروتئین‌های شاخص و در تحت شرایط فیزیولوژیک، در دامنه تنها ۲۰ تا ۶۵ kJ/mol قرار دارد. ازنظر تئوری، یک زنجیر پلی‌پپتیدی خاص می‌تواند کونفورماسیون‌های بی‌شمار مختلفی را کسب نماید و در نتیجه، حالت ناشده یک پروتئین، با درجه بالای آنتروپی کونفورماسیونی مشخص می‌گردد. این آنتروپی و پیوندهای هیدروژنی متعدد بین گروه‌های متعدد موجود در زنجیر پلی‌پپتیدی و حلال (آب)، تمایل دارند که حالت ناشده را حفظ نمایند. واکنش‌های متقابل شیمیایی که ضد این واکنش‌ها عمل نموده و سبب پایداری شکل طبیعی می‌گردند، شامل پیوندهای دی‌سولفیدی و واکنش‌های متقابل ضعیف (غیرکووالان)، یعنی پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل آبگریز و یونی، می‌باشند که در فصل ۴ مورد بررسی قرار گرفتند. درک نقش این واکنش‌های متقابل ضعیف بخصوص در شناخت نحوه تاشدن زنجیرهای پلی‌پپتیدی در ایجاد ساختمان‌های دوم و سوم و همچنین ترکیب با سایر پروتئین‌ها در ایجاد ساختمان‌های چهارم، اهمیت دارد.

برای شکستن یک پیوند کووالان حدود ۲۰۰ تا ۴۶۰ kJ/mol انرژی مورد نیاز می‌باشد، درحالیکه واکنش‌های متقابل ضعیف را می‌توان تنها با ۴ تا ۳۰ kJ/mol از بین برد. پیوندهای کووالان منحصر که در ایجاد کونفورماسیون طبیعی پروتئین‌ها نقش دارند، همانند پیوندهای دی‌سولفیدی متصل‌کننده قسمت‌های مجزا یک زنجیر پلی‌پپتیدی

1- Native 2- Supersecondary

Book.Apfarsi.ir

به‌طور آشکار قویتر از تک تک واکنش‌های متقابل ضعیف می‌باشند؛ با این وجود، واکنش‌های متقابل ضعیف، بعلت کثرت، دارای اهمیت بیشتری به عنوان نیروی تثبیت‌کننده در ساختمان پروتئین هستند. به‌طورکلی، کونفورماسیون پروتئینی که کمترین انرژی آزاد (یعنی پایدارترین کونفورماسیون) را دارد کونفورماسیونی است که بیشترین تعداد واکنش‌های متقابل ضعیف در آن مشاهده می‌گردد.

پایداری یک پروتئین تنها جمع انرژی‌های آزاد حاصل از تشکیل بسیاری از واکنش‌های متقابل ضعیف موجود در آن نمی‌باشد. قبل از تاشدن، هر گروه ایجادکننده پیوند هیدروژنی موجود در یک زنجیر تاشده پلی‌پپتیدی، با ملکول‌های آب ایجاد پیوند هیدروژنی می‌نماید، و برای هر پیوند هیدروژنی که در یک پروتئین ایجاد می‌شود، یک پیوند هیدروژنی (با قدرت مشابه) بین همان گروه و آب شکسته می‌شود. پایداری خالص حاصل از ایجاد یک واکنش متقابل ضعیف، یا تفاوت انرژی‌های آزاد حالات تاشده و تانشده، ممکن است نزدیک به صفر باشد. بنابراین برای شرح علت مساعدبودن کونفورماسیون طبیعی یک پروتئین، لازم است به مسائل دیگر توجه گردد.

دیدیم که نقش واکنش‌های متقابل ضعیف در پایداری پروتئینی را می‌توان براساس ویژگی‌های آب (فصل ۴) شناخت. آب خالص دارای شبکه‌ای از ملکول‌های H_2O همراه با اتصالات هیدروژنی می‌باشد. هیچ ملکول دیگری، پتانسیل ایجاد پیوندهای هیدروژنی آب را ندارد و سایر ملکول‌های موجود در یک محلول آبی، پیوند هیدروژنی آب را از بین می‌برند. وقتی آب یک ملکول آبگریز را احاطه می‌نماید، آرایش مطلوب پیوندهای هیدروژنی در یک قشر شدیداً سازمان‌یافته یا **لایه انحلالی**[1] ملکول‌های آب در مجاورت نزدیک آن ایجاد می‌گردد. افزایش نظم ملکول‌های آب موجود در این لایه انحلالی همراه با یک کاهش نامساعد در آنتروپی آب است. هرچند وقتی گروه‌های غیرقطبی در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند، بعلت اینکه هیچکدام از این گروهها تمام سطح خود را در معرض محلول قرار نمی‌دهند، وسعت لایه انحلالی کاهش می‌یابد. حاصل افزایش مساعد در آنتروپی می‌باشد. همانطور که در فصل ۴ شرح داده شد، این اصطلاح آنتروپی، نیروی پیشبرنده ترمودینامیکی اصلی برای به‌هم‌پیوستن گروه‌های آبگریز در یک محلول آبی است. به همین دلیل، زنجیرهای جانبی آبگریز اسیدهای آمینه تمایل دارند که در داخل پروتئین و دور از آب جمع شوند.

در شرایط فیزیولوژیک، تشکیل پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی در یک پروتئین به میزان زیادی حاصل این اثر آنتروپیک است. گروه‌های قطبی عموماً می‌توانند ایجاد پیوندهای هیدروژنی با آب نموده و بنابراین در آب محلول هستند. هرچند، تعداد پیوندهای هیدروژنی در هر واحد جرم عموماً برای آب خالص بیش از هر مایع یا محلول دیگری بوده و محدودیت‌هایی برای انحلال حتی قطبی‌ترین ملکول‌ها وجود دارد، زیرا وجود آنها منجر به کاهش خالص در میزان ایجاد پیوند هیدروژنی در هر واحد جرم می‌گردد. بنابراین، یک قشر انحلالی ساخته‌شده از ملکول‌های آب نیز به میزانی در اطراف ملکول‌های قطبی ایجاد می‌شود. اگر چه انرژی حاصل از تشکیل یک پیوند هیدروژنی داخل ملکولی یا واکنش متقابل یونی بین دو گروه قطبی در یک ماکروملکول، تا حدود زیادی با حذف چنین واکنش‌های متقابلی بین همان گروه‌ها و آب جبران می‌گردد، آزادسازی ملکول‌های آب سازمان‌یافته در هنگام تشکیل واکنش داخل‌ملکولی، یک نیروی پیشبرنده آنتروپیک برای تاشدن فراهم می‌آورد. ازاینرو، بیشتر تغییر خالص انرژی آزادی که در هنگام تشکیل واکنش‌های متقابل ضعیف در داخل یک پروتئین رخ می‌دهد، از افزایش آنتروپی در محلول آبی اطراف حاصل از دفن سطوح آبگریز فراهم می‌گردد. این افزایش آنتروپی بیش از ازدست‌رفتن

1- Solvation layer

Book.Apfarsi.ir

زیاد آنتروپی کونفورماسیونی در هنگام تبدیل‌شدن یک پلی‌پپتید به یک کونفورماسیون تاشده می‌باشد.

واکنش‌های آبگریز به‌طور آشکار در تثبیت یک کونفورماسیون پروتئینی دارای اهمیت می‌باشند؛ درون یک پروتئین عموماً یک هسته شدیداً متراکم از زنجیرهای جانبی آبگریز اسیدهای آمینه وجود دارد. وجود پارتنرهای مناسب برای ایجاد پیوندهای هیدروژنی یا واکنش‌های متقابل یونی بین هر گروه قطبی یا باردار در درون پروتئین، نیز مهم می‌باشد. بنظر می‌رسد که یک پیوند هیدروژنی نقش کمی را در پایداری یک ساختمان طبیعی دارد، ولی وجود گروه‌های باردار یا ایجادکننده پیوند هیدروژنی بدون پارتنر در داخل هسته آبگریز یک پروتئین، آنقدر می‌تواند ناپایدارکننده باشد که کونفورماسیون‌های دارای چنین گروهی اغلب از نظر ترمودینامیک غیرقابل نگهداری می‌باشند. تغییر انرژی آزاد مساعد حاصل از ترکیب چنین گروهی با یک پارتنر در محلول اطراف، می‌تواند بیش از تفاوت در انرژی آزاد بین حالات تاشده و تانشده باشد. به علاوه، پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های موجود در پروتئین‌ها به‌طور تعاونی ایجاد می‌شوند. تشکیل یک پیوند هیدروژنی، تشکیل پیوندهای هیدروژنی دیگر را تسهیل می‌نماید. نقش کلی پیوندهای هیدروژنی و سایر واکنش‌های متقابل غیرکووالان در تثبیت کونفورماسیون پروتئینی هنوز در حال ارزیابی است. واکنش متقابل گروه‌های دارای بار مخالف که ایجاد یک جفت یونی (پل نمکی) می‌کنند، نیز ممکن است یک اثر تثبیت‌کننده بر روی یک یا چند کونفورماسیون طبیعی بعضی از پروتئین‌ها داشته باشد.

اکثر الگوهای ساختمانی که در این فصل به آنها پرداخته می‌شود، دو قاعده ساده را مطرح می‌نمایند: (۱) ریشه‌های آبگریز بیشتر در داخل پروتئین و به دور از آب قرار گرفته و (۲) تعداد پیوندهای هیدروژنی موجود در داخل پروتئین به حداکثر می‌رسد. پروتئین‌های نامحلول و پروتئین‌های موجود در داخل غشاءها (که در فصل ۱۲ مورد بررسی می‌گیرند)، به علت عملکرد و محیط اطراف خود، از قواعدی پیروی می‌کنند که قدری متفاوت بوده ولی با این حال باز هم واکنش‌های متقابل ضعیف عناصر مهم ساختمانی هستند.

پیوند پپتیدی محکم بوده و در یک صفحه قرر دارد

پیوندهای کووالان نیز اثر مهمی بر روی کونفورماسیون یک پروتئین دارند. در اواخر دهه ۱۹۳۰، لینوس پائولینگ و رابرت کوری، یک سری مطالعات را انجام دادند که منتهی به پایه اطلاعاتی کنونی ما در مورد ساختمان پروتئین شد. آنها با بررسی دقیق پیوند پپتیدی آغاز نمودند. کربن‌های α ریشه‌های اسید آمینه مجاور توسط سه پیوند کووالان، با نظم $C_\alpha - C - N - C_\alpha$، از یکدیگر جدا می‌گردند. مطالعات انکسار اشعه-x بر روی کریستال اسیدهای آمینه و دی‌پپتیدها و تری‌پپتیدهای ساده نشان داد که پیوند C – N پپتیدی قدری کوتاهتر از پیوند C – N موجود در یک آمین ساده بوده و اتم‌های موجود در یک پیوند پپتیدی

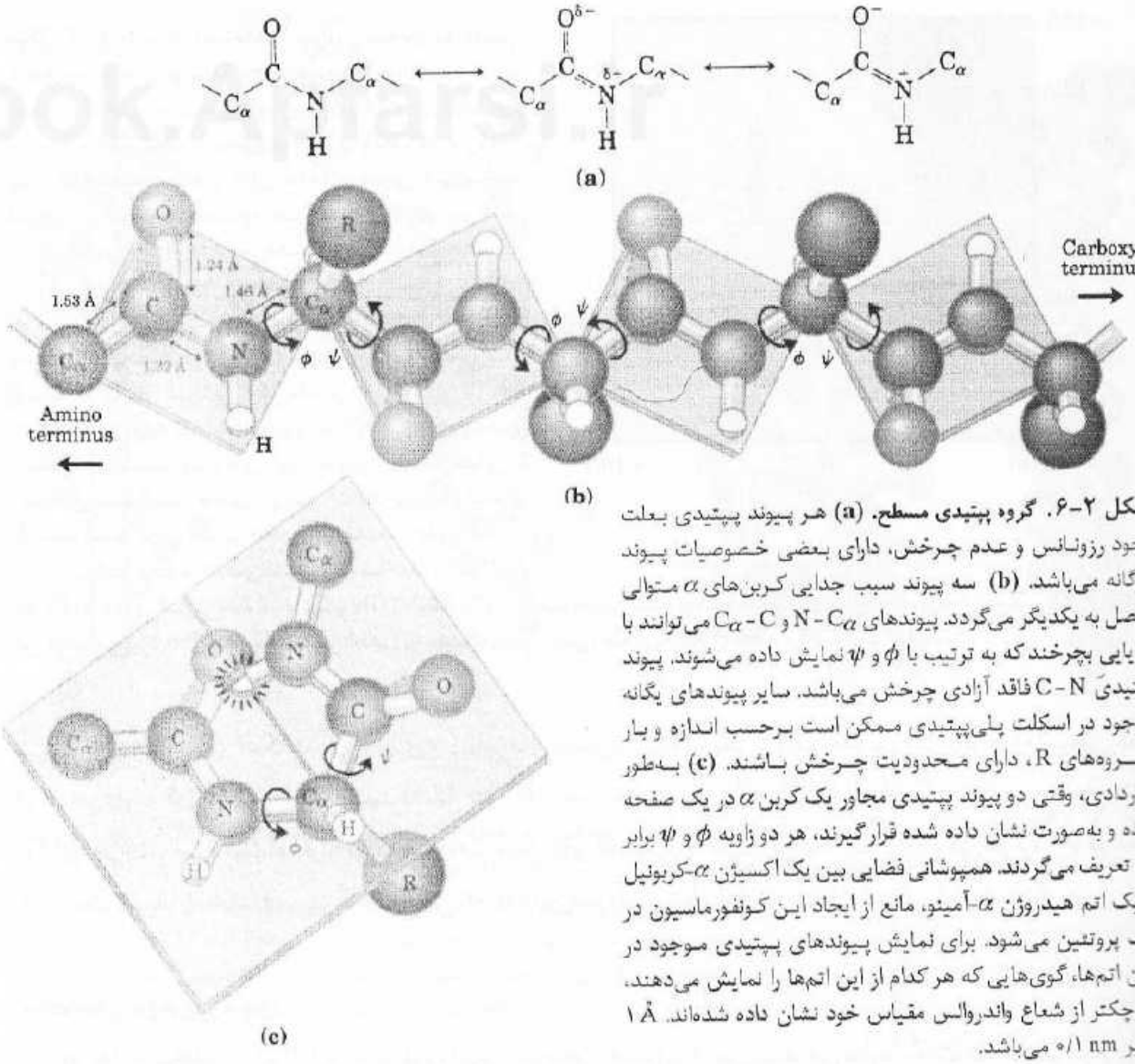


Linus Pauling
1901–1994



Robert Corey
1897–1971

Book.Apfarsi.ir

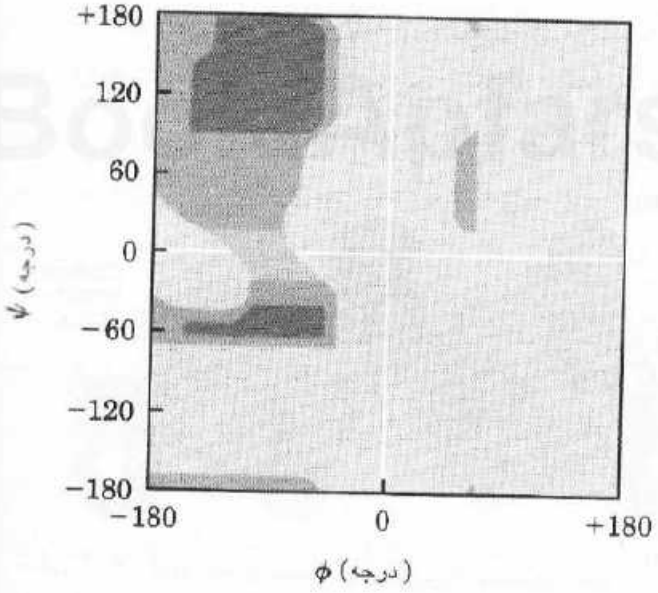


شکل ۲-۶. گروه پپتیدی مسطح. (a) هر پیوند پپتیدی بعلت وجود رزونانس و عدم چرخش، دارای بعضی خصوصیات پیوند دوگانه می‌باشد. **(b)** سه پیوند سبب جدایی کربن‌های α متوالی متصل به یکدیگر می‌گردد. پیوندهای $C_\alpha - N$ و $C - C_\alpha$ می‌توانند با زوایایی بچرخند که به ترتیب با ϕ و ψ نمایش داده می‌شوند. پیوند پپتیدیِ $C - N$ فاقد آزادی چرخش می‌باشد. سایر پیوندهای یگانه موجود در اسکلت پلی‌پپتیدی ممکن است برحسب اندازه و بار گروه‌های R، دارای محدودیت چرخش باشند. **(c)** به‌طور قراردادی، وقتی دو پیوند پپتیدی مجاور یک کربن α در یک صفحه بوده و به‌صورت نشان داده شده قرار گیرند، هر دو زاویه ϕ و ψ برابر ۰° تعریف می‌گردند. همپوشانی فضایی بین یک اکسیژن α-کربونیل و یک اتم هیدروژن α-آمینو، مانع از ایجاد این کونفورماسیون در یک پروتئین می‌شود. برای نمایش پیوندهای پپتیدی موجود در بین اتم‌ها، گوی‌هایی که هر کدام از این اتم‌ها را نمایش می‌دهند، کوچکتر از شعاع واندروالس مقیاس خود نشان داده شده‌اند. ۱ Å برابر ۰/۱ nm می‌باشد.

در یک صفحه قرار دارند. این موضوع یک رزونانس یا اشتراک نسبی دو جفت الکترون را بین اکسیژن کربونیل و نیتروژن آمیدی نشان داد (شکل ۲a-۶). اکسیژن کربنیل دارای بار نسبی منفی و نیتروژن آمیدی دارای بار نسبی مثبت بوده و بدین‌ترتیب ایجاد یک دوقطبی الکتریکی کوچک می‌نمایند. شش اتم گروه پپتیدی طوری در یک صفحه قرار می‌گیرند که اتم اکسیژن گروه کربونیل و اتم هیدروژن نیتروژن آمیدی نسبت به یکدیگر دارای وضعیت ترانس می‌باشند. با استفاده از این یافته‌ها، پائولینگ و کوری نتیجه گرفتند که پیوندهای $C - N$، بعلت داشتن خصوصیت نسبی پیوند دوگانه، نمی‌توانند به‌طور آزادانه چرخش نمایند. هرچند، چرخش حول پیوندهای $N - C_\alpha$ و $C - C_\alpha$ ممکن می‌باشد. بنابراین اسکلت یک زنجیر پلی‌پپتیدی را می‌توان بصورت یک سری صفحات سخت تصور نمود که بین صفحات متوالی آن نقطه مشترکی برای چرخش حول C_α وجود دارد (شکل ۶b-۲). این پیوندهای پپتیدی سخت، دامنه کونفورماسیون‌های احتمالی یک زنجیر پلی‌پپتیدی را محدود می‌سازند.

به‌طورقراردادی، زوایای پیوندی حاصل از چرخش حول C_α را با ϕ (phi) برای پیوند $N - C_\alpha$ و ψ (psi) برای $C_\alpha - C$ نمایش می‌دهند. مجدداً به‌طورقراردادی، وقتی پلی‌پپتید در کونفورماسیون کاملاً امتدادیافته باشد، هر دو زاویه ϕ و ψ برابر ۱۸۰° بوده و تمامی گروه‌های پپتیدی در یک صفحه قرار می‌گیرند (شکل ۶b-۲). اساساً، زوایای ϕ و ψ می‌توانند هر مقداری را بین ۱۸۰°- و ۱۸۰°+ داشته باشند، ولی بسیاری از این مقادیر به علت تداخل فضایی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳-۶. نمودار راماخاندران برای ریشه‌های L-آلانین. کونفورماسیون‌های پپتیدها توسط مقادیر زوایای ϕ و ψ تعریف می‌شوند. کونفورماسیون‌هایی ممکن در نظر گرفته می‌شوند که با محاسبات انجام شده بر اساس شعاع‌های واندروالس و زوایای پیوند شناخته‌شده، فاقد یا دارای تداخلات فضایی کمی باشند. ناحیه‌ای که دارای سایه خاکستری تیره می‌باشد، کونفورماسیون‌هایی را نشان می‌دهد که فاقد همپوشانی فضایی بوده و بنابراین کاملاً مجاز می‌باشند؛ رنگ خاکستری متوسط کونفورماسیون‌هایی را نشان می‌دهد که به خاطر تماس‌های اتمی نامساعد، در محدوده دو انتها دیده می‌شوند؛ ناحیه مشخص‌شده با سایه خاکستری کمرنگ، کونفورماسیون‌هایی را نشان می‌دهد که در صورت وجود یک انعطاف‌پذیری محدود در زوایای پیوندی، ممکن می‌باشند. عدم‌تقارن این نمودار از شیمی‌فضایی L ریشه‌های اسید آمینه حاصل می‌شود. نمودار سایر ریشه‌های L-اسید آمینه دارای زنجیر جانبی غیرمنشعب تقریباً مشابه می‌باشد. دامنه مجاز ریشه‌های اسید آمینه شاخه‌دار، نظیر Val، Ile و Thr، قدری کمتر از Ala است. ریشه Gly که کمتر دارای ممانعت فضایی است، دامنه وسیع‌تری از کونفورماسیون‌های ممکن را نشان می‌دهد. این دامنه در مورد Pro بسیار محدود می‌باشد، زیرا بواسطه زنجیر جانبی حلقوی، زاویه ϕ محدود به °۳۵- و °۸۵- است.

بین اتم‌های موجود در اسکلت پلی‌پپتیدی و زنجیرهای جانبی، مشاهده نمی‌گردند. به‌همین دلیل، کونفورماسیونی که در آن هر دو زاویه ϕ و ψ برابر °۰ می‌باشند (شکل ۲c-۶)، وجود ندارد؛ این حالت تنها به عنوان یک نقطه مرجع برای شرح زوایای چرخش مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقادیر مجاز ϕ و ψ زمانی به طریق گرافیک نشان داده می‌شود که ψ در مقابل ϕ در یک **نمودار راماخاندران** رسم گردد (شکل ۳-۶)؛ این نمودار توسط راماخاندران[1] معرفی شده است.

ساختمان دوم پروتئین

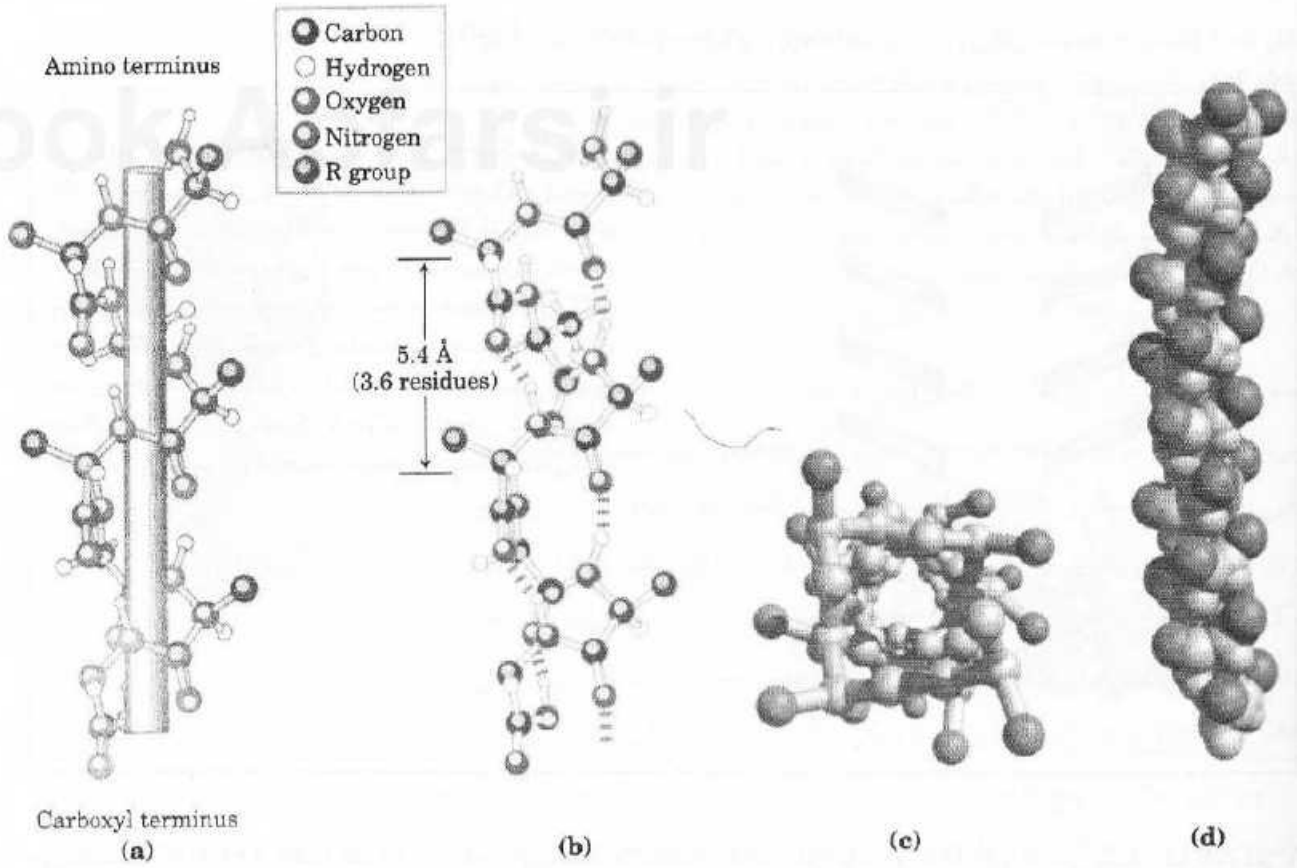
اصطلاح **ساختمان دوم** اشاره به کونفورماسیون موضعی قسمتی از پلی‌پپتید می‌نماید. بحث ساختمان دوم بیشتر در مورد الگوهای تاشدن منظم مشترک اسکلت پلی‌پپتیدی کاربرد دارد. چند نوع ساختمان دوم پایدار بوده و در پروتئین‌های مختلف دیده می‌شود. برجسته‌ترین این ساختمان‌ها، کونفورماسیون‌های α و β می‌باشد که در قسمت پایین شرح داده می‌شوند. با استفاده از اصول شیمیایی پایه و چند مشاهده تجربی، پائولینگ و کوری، وجود این ساختمان‌های دوم را در سال ۱۹۵۱، چندین سال قبل از روشن‌شدن کامل اولین ساختمان پروتئینی، پیش‌بینی کردند.

مارپیچ α یک ساختمان دوم معمول پروتئینی است

پائولینگ و کوری از اهمیت پیوندهای هیدروژنی در جهت‌گیری گروه‌های شیمیایی قطبی، نظیر گروه‌های C=O و N-H پیوند پپتیدی، آگاه بودند. آنها همچنین نتایج آزمایشات ویلیام استبوری[2] را داشتند که در دهه ۱۹۳۰، مطالعات اولیه اشعه-x را بر روی پروتئین‌ها رهبری نمود. استبوری نشان داد که پروتئین سازنده مو و تیغ‌های جوجه‌تیغی (پروتئین فیبری α-کراتین) دارای ساختمان منظمی است که هر ۵/۱۵ تا ۵/۲۰ Å تکرار می‌گردد. (Å، آنگستروم، به افتخار آندرس آنگستروم[3] فیزیکدان، برابر ۰/۱ nm، یک واحد SI نبوده ولی به‌طور

1- Ramachandran 2- William Astbury 3- Anders Ångström

Book.Apfarsi.ir



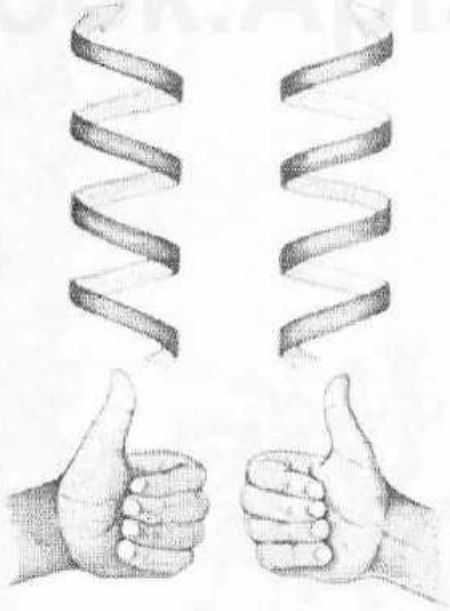
شکل ۴-۶ [شکل ۶ ضمیمه رنگی]. چهار مدل برای نمایش خصوصیات مختلف ساختمان مارپیچ α (a) تشکیل یک مارپیچ راست‌گردان. صفحات پیوندهای پپتیدی سخت، موازی با محور طولی مارپیچ می‌باشند که در اینجا بصورت یک میله عمودی نشان داده شده است. (b) مدل گوی و میله یک مارپیچ α راست‌گردان که پیوندهای هیدروژنی درون‌زنجیری را نشان می‌دهد. واحد تکراری یک چرخش مارپیچ با ۳/۶ ریشه می‌باشد. (c) مارپیچ α از یک انتها و به سمت پایین محور طولی مشاهده می‌گردد. به موقعیت گروه‌های R توجه نمایید که با گوی ارغوانی نشان داده شده‌اند. این مدل گوی و میله که برای تأکید آرایش مارپیچی بکار می‌رود، منجر به تصور کاذب میان‌تهی‌بودن مارپیچ می‌گردد، زیرا این گوی‌ها شعاع‌های واندوالس هر اتم را منعکس نمی‌نمایند. همانطور که در مدل فضاپرکن (d) نشان داده شده است، اتم‌های موجود در مرکز مارپیچ α در تماس نزدیک با یکدیگر می‌باشند.

وسیعی توسط زیست‌شناسان ساختمانی برای بیان فاصله‌های اتمی مورد استفاده قرار می‌گیرد.) پائولینگ و کوری با این اطلاعات و اطلاعات خود در مورد پیوند پپتیدی و به کمک مدل‌های دقیقاً ساخته‌شده، کونفورماسیون‌های محتمل ملکول‌های پروتئینی را تعیین نمودند.

ساده‌ترین آرایش زنجیر پلی‌پپتیدی دارای چنین پیوندهای پپتیدی سختی (ولی سایر پیوندهای یگانه دارای چرخش آزاد می‌باشند)، یک ساختمان مارپیچی می‌باشد که پائولینگ و کوری آن را **مارپیچ α** نامیدند (شکل ۴-۶). در این ساختمان، اسکلت پلی‌پپتیدی حول یک محور فرضی به‌طورمحکم پیچیده شده است که این محور به‌طور طولی در میان مارپیچ کشیده شده و گروه‌های R ریشه‌های اسید آمینه به سمت خارج اسکلت مارپیچ بیرون زده‌اند. واحد تکراری، یک چرخش مارپیچ می‌باشد که حدود ۵/۴ Å در طول محور طولی امتداد یافته است؛ این میزان قدری بیش از تکرار دوره‌ای است که استبوری در هنگام بررسی α-کراتین‌ها با اشعه-x ملاحظه نمود. ریشه‌های اسید آمینه موجود در مارپیچ α دارای کونفورماسیون‌هایی با ψ برابر ۴۵° - تا ۵۰° - و ϕ برابر ۶۰° - بوده و هر پیچ مارپیچ از ۳/۶ اسید آمینه تشکیل شده است. چرخش مارپیچی موجود در تمامی پروتئین‌ها از نوع راست‌گردان

Book.Apfarsi.ir

کادر ۱-۶. تشخیص راست‌گردان و چپ‌گردان



روش ساده‌ای برای تعیین راست‌گردان یا چپ‌گردان بودن یک ساختمان مارپیچی وجود دارد. دو دست خود را طوری مشت کنید که انگشتان شست مستقیم و به سمت بالا باشند. با در نظر گرفتن دست راست، مارپیچی را تصور کنید که پیچش آن همانند پیچش انگشت شست دست راست شما در جهت چهار انگشت دیگر (خلاف حرکت عقربه‌های ساعت) و به سمت بالا می‌باشد. مارپیچ حاصل راست‌گردان است. دست چپ شما، مارپیچ چپ‌گردان را نشان می‌دهد که با حرکت مارپیچی شست دست چپ شما به سمت بالا، در جهت عقربه‌های ساعت ایجاد می‌گردد.

می‌باشد (کادر ۱-۶). ثابت شده است که مارپیچ α ساختمان غالب موجود در α-کراتین‌ها می‌باشد. به‌طورکلی، حدود یک چهارم تمامی ریشه‌های اسید آمینه‌ای موجود در پلی‌پپتیدها به شکل مارپیچ‌های α وجود دارند، ولی میزان دقیق آن از یک پروتئین به پروتئین تفاوت زیادی دارد.

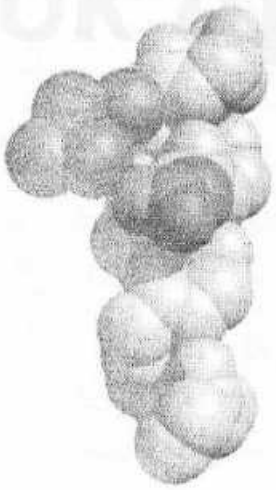
چرا مارپیچ α ساده‌تر از بسیاری دیگر از کونفورماسیون‌های ممکن ایجاد می‌گردد؟ تا حدودی پاسخ این است که یک مارپیچ α استفاده مطلوب را از پیوندهای هیدروژنی درونی را می‌نماید. این ساختمان توسط پیوند هیدروژنی موجود در بین اتم هیدروژن متصل به اتم نیتروژن الکترونگاتیو یک پیوند پپتیدی و اتم اکسیژن کربونیل الکترونگاتیو اسید آمینه چهارم موجود در سمت انتهای آمینو آن پیوند هیدروژنی، ایجاد می‌گردد (شکل ۴b-۶). در داخل مارپیچ α هر پیوند پپتیدی (به استثناء انواع موجود در نزدیکی هر انتهای مارپیچ) در ایجاد چنین پیوندهای هیدروژنی شرکت می‌نمایند. هر پیچ متوالی مارپیچ α توسط سه تا چهار پیوند هیدروژنی در مجاورت پیچ‌های دیگر قرار می‌گیرد. تمامی این پیوندهای هیدروژنی با یکدیگر، پایداری قابل‌توجه کل ساختمان مارپیچی را ایجاد می‌نمایند.

آزمایشات انجام شده دیگر با استفاده از ساختن مدل نشان می‌دهند که یک مارپیچ α می‌تواند در پلی‌پپتیدهایی ایجاد شود که از L- یا D-آمینو اسیدها تشکیل شده‌اند. هرچند، تمامی ریشه‌ها می‌بایست از یک سری ایزومر فضایی باشند؛ یک D-آمینو اسید سبب ازبین‌رفتن ساختمان منظم حاوی L-اسید آمینه‌ها می‌گردد، و برعکس. L-آمینو اسیدهایی که به‌طورطبیعی وجود دارند، می‌توانند ایجاد مارپیچ‌های α راست یا چپ‌گردان نمایند، ولی مارپیچ‌های چپ‌گردان در پروتئین‌ها مشاهده نشده است.

توالی اسیدهای آمینه بر روی مارپیچ α اثر دارد

تمامی پلی‌پپتیدها قادر به ایجاد مارپیچ α پایدار نمی‌باشند. واکنش‌های متقابل بین زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه می‌توانند سبب پایداری یا ناپایداری این ساختمان شوند. برای مثال: اگر یک زنجیر پلی‌پپتیدی دارای بلوک

Book.Apfarsi.ir



شکل ۵-۶ [شکل ۷ ضمیمه رنگی]. واکنش‌های متقابل بین گروه‌های R ریشه‌های اسید آمینه‌ای که در یک مارپیچ α، سه ریشه از یکدیگر فاصله دارند. در این مدل فضاپرکن، یک واکنش متقابل یونی بین Asp^{100} و Arg^{103} در یک ناحیه مارپیچ α پروتئین تروپونین C، یک پروتئین اتصالی کلسیم در عضله، نشان داده شده است. اسکلت پلی‌پپتیدی (کربن‌ها، نیتروژن‌های α-آمینو و اکسیژن‌های α-کربونیل) با رنگ خاکستری در یک قطعه مارپیچ به طول ۱۳ ریشه مشخص می‌باشند. تنها زنجیرهای جانبی که در اینجا نشان داده شده‌اند، مربوط به دو ریشه Asp (قرمز) و Arg (آبی) می‌باشد که با یکدیگر واکنش می‌نمایند.

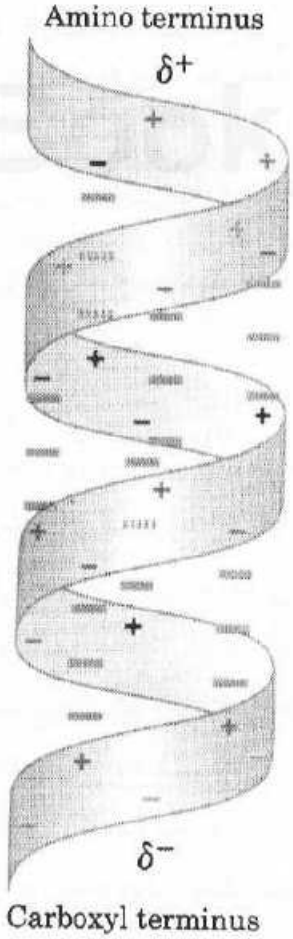
طویلی از ریشه‌های Glu باشد، این قطعه در pH۷/۰ ایجاد مارپیچ α نمی‌نماید. زیرا نیروی دافعه موجود در بین گروه‌های کربوکسیل دارای بار منفی ریشه‌های مجاور Glu بیش از نیروی پایدارکننده پیوندهای هیدروژنی بر روی مارپیچ α می‌باشد. به همین دلیل، وقتی تعداد زیادی ریشه Arg و یا Lys در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند، که در pH۷/۰ دارای بار مثبت هستند، یکدیگر را دفع نموده و مانع از تشکیل مارپیچ α می‌گردند. حجم و شکل ریشه‌های Asn، Ser، Thr و Leu نیز وقتی در نزدیکی یکدیگر قرار می‌گیرند، سبب ناپایداری مارپیچ α می‌شوند.

چرخش یک مارپیچ α سبب می‌گردد که واکنش‌های متقابل مهمی بین زنجیر جانبی یک اسید آمینه و زنجیر جانبی یک ریشه دیگر ایجاد شود که در فاصله سه (و گاهی چهار) ریشه‌ای آن اسید آمینه در هر طرف قرار دارد(شکل ۵-۶). اسیدهای آمینه دارای بار مثبت اغلب به فاصله سه ریشه از اسیدهای آمینه دارای بار منفی قرارگرفته که امکان ایجاد یک جفت آنیونی را می‌دهد. دو ریشه اسید آمینه آروماتیک معمولاً به همین طریق قرار گرفته که امکان ایجاد واکنش متقابل آبگریز را فراهم می‌سازد.

وجود ریشه Pro یا Gly بر روی تشکیل مارپیچ α اثر منفی دارد. در پرولین، اتم نیتروژن قسمتی از یک حلقه محکم بوده (شکل ۸b-۶ را ببینید) و چرخش حول پیوند $N - C_\alpha$ غیرممکن است. بنابراین، یک ریشه پرولین منجر به ایجاد یک خمیدگی در یک مارپیچ α و ناپایداری آن می‌گردد. به علاوه، اتم نیتروژن یک ریشه Pro موجود در اتصال پپتیدی، فاقد هیدروژن برای شرکت در ایجاد پیوندهای هیدروژنی با سایر ریشه‌ها می‌باشد. بنا به این دلایل، پرولین بندرت در مارپیچ α مشاهده می‌گردد. گلیسین نیز به دلیل متفاوتی، کمتر در مارپیچ‌های α مشاهده می‌شود: گلیسین دارای انعطاف‌پذیری کونفورماسیونی بیشتری نسبت به سایر اسیدهای آمینه می‌باشد. پلیمرهای گلیسین تمایل دارند ساختمان‌های فنری متفاوت از مارپیچ α ایجاد نمایند.

عامل دیگری که بر روی پایداری یک مارپیچ α در یک پلی‌پپتید تأثیر دارد، شباهت ریشه‌های اسید آمینه موجود در نزدیکی دو انتهای قطعه مارپیچ α می‌باشد. در هر پیوند پپتیدی، یک دوقطبی الکتریکی کوچک وجود دارد (شکل ۲a-۶). این دوقطبی‌ها از طریق پیوندهای هیدروژنی مارپیچ به یکدیگر متصل بوده و منجر به ایجاد یک دوقطبی خالص می‌گردد که به سمت پایین مارپیچ امتداد یافته و طول مارپیچ را افزایش می‌دهد (شکل ۶-۶). چهار ریشه اسید آمینه موجود در هر انتهای مارپیچ در ایجاد پیوندهای هیدروژنی کامل مارپیچ شرکت نمی‌کنند. در حقیقت، بارهای نسبی مثبت و منفی دوقطبی مارپیچ به ترتیب بر روی گروههای آمینو و کربونیل پپتیدی نزدیک دو انتهای آمینو و کربوکسیل مارپیچ قرار دارند. به همین دلیل، اسیدهای آمینه دارای بار منفی اغلب در نزدیکی انتهای آمینو قطعه مارپیچی قرار گرفته و در آنجا با بار مثبت دوقطبی مارپیچ یک واکنش متقابل پایدارکننده ایجاد می‌کنند:

Book.Apfarsi.ir



شکل ۶-۶ [شکل ۸ ضمیمه رنگی]. دوقطبی الکتریکی یک پیوند پپتیدی (شکل ۲:۶-۶ را ببینید) که از طریق پیوندهای هیدروژنی درون‌زنجیری در طول یک قطعه مارپیچ α انتقال یافته و ایجاد یک دوقطبی مارپیچی کلی می‌نماید. در این شکل، اجزاء آمینو و کربونیل هر پیوند پپتیدی به ترتیب با سمبل‌های + و - نشان داده شده‌اند. اجزاء آمینو و کربونیل بدون پیوند هیدروژنی که در پیوندهای پپتیدی موجود در هر دو انتهای ناحیه مارپیچ α وجود دارند، با رنگ قرمز نشان داده شده‌اند.

وجود یک اسید آمینه دارای بار مثبت در انتهای آمینو، سبب ناپایداری می‌گردد. قضیه مخالف در مورد انتهای کربوکسیل قطعه مارپیچ صادق می‌باشد.

بنابراین پایداری یک مارپیچ α تحت فشار پنج عامل قرار دارد: (۱) دفع (یا جذب) الکترواستاتیک بین ریشه‌های اسیدهای آمینه متوالی دارای گروه‌های R باردار، (۲) حجم گروه‌های R مجاور، (۳) واکنش‌های متقابل بین زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه که به فاصله سه (یا چهار) ریشه از یکدیگر قرار گرفته‌اند، (۴) وجود ریشه‌های Pro و Gly، و (۵) واکنش متقابل بین ریشه‌های اسید آمینه موجود در دو انتهای قطعه مارپیچی و دوقطبی ذاتی موجود در مارپیچ α. بنابراین، تمایل یک قطعه خاص از یک زنجیر پلی‌پپتیدی در ایجاد مارپیچ α بستگی به هویت و توالی ریشه‌های اسید آمینه موجود در آن قطعه دارد.

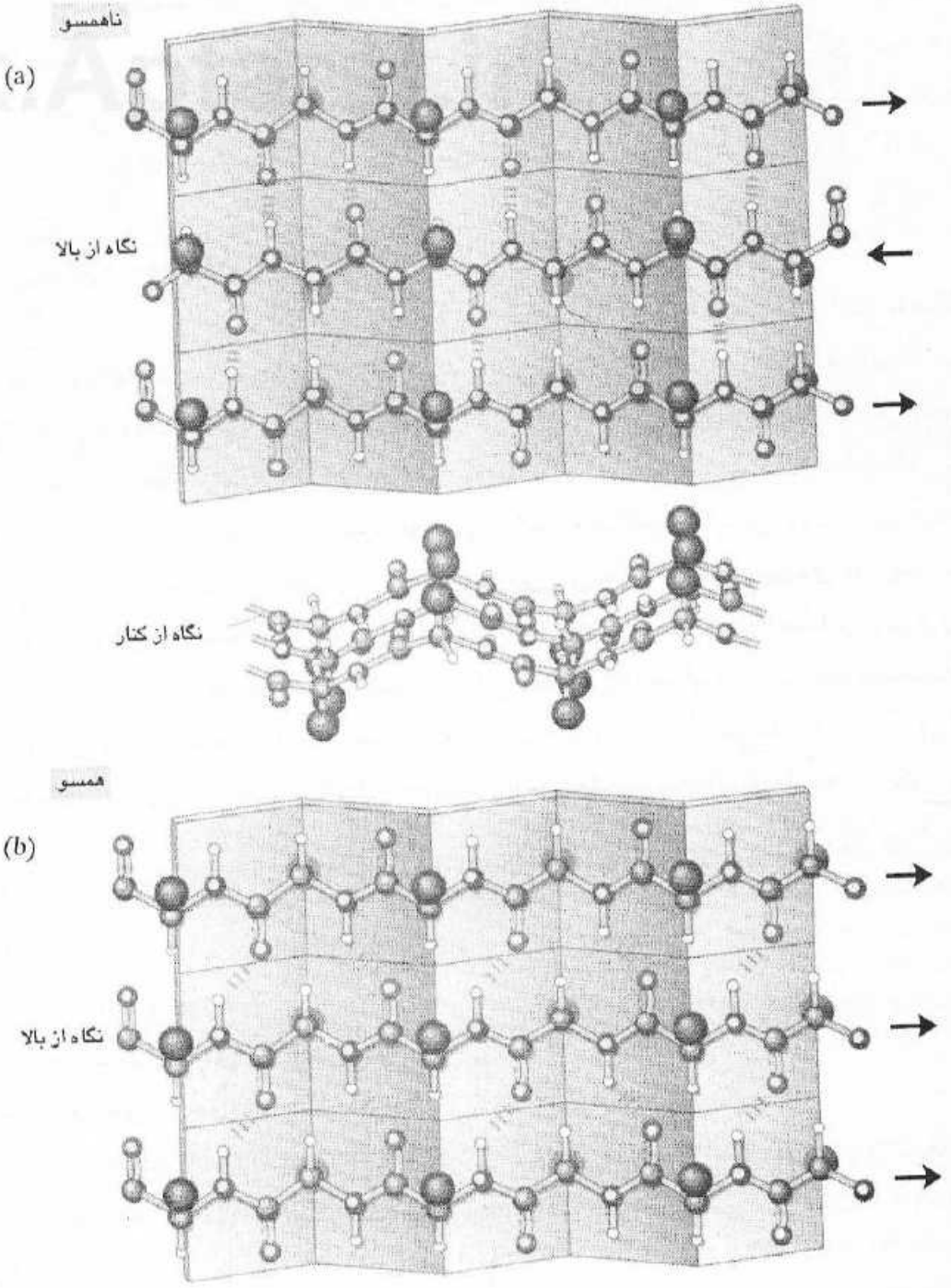
کونفورماسیون β، زنجیرهای پپتیدی را به‌صورت صفحه سازماندهی می‌نماید

پائولینگ و کوری نوع دوم ساختمان تکراری، بنام **کونفورماسیون β** را مطرح نمودند. این ساختمان کونفورماسیون امتدادیافته‌تری از زنجیرهای پلی‌پپتیدی بوده و ساختمان آن توسط آنالیز اشعه-x مورد تائید قرار گرفته است. در کونفورماسیون β اسکلت پلی‌پپتیدی به شکل یک ساختمان زیگزاگی، بجای مارپیچی، امتداد یافته است (شکل ۷-۶). این زنجیرهای زیگزاگی می‌توانند به‌طور پهلو به پهلو در کنار یکدیگر قرار گرفته و ایجاد ساختمانی مشابه یک سری چین نمایند. در این آرایش که **صفحه β** نامیده می‌شود، پیوندهای هیدروژنی بین قطعات مجاور زنجیر پلی‌پپتید برقرار می‌گردد. قطعات خاصی که یک صفحه β را ایجاد می‌نمایند، معمولاً بر روی زنجیر پلی‌پپتیدی در نزدیکی یکدیگر قرار دارند. ولی می‌توانند در توالی خطی پلی‌پپتید کاملاً از یکدیگر دور باشند؛ حتی ممکن است قطعاتی در زنجیرهای پلی‌پپتیدی مختلف باشند. گروه‌های R اسیدهای آمینه مجاور در جهت‌های مخالف از این ساختمان زیگزاگی خارج شده و همانند تصاویر شکل ۷-۶، ایجاد یک الگوی متناوب می‌نمایند.

زنجیرهای پلی‌پپتیدی مجاور در یک صفحه β می‌توانند بصورت موازی همسو و موازی ناهمسو (به ترتیب دارای جهت‌های آمینو به کربوکسیل یکسان و مخالف) باشند. این ساختمان‌ها قدری مشابه هستند، هرچند کونفورماسیون موازی همسو، دوره تکراری کوتاهتری (۶/۵ Å، در مقابل ۷ Å برای موازی ناهمسو) داشته و الگوهای پیوندهای هیدروژنی متفاوتی دارد.

بعضی ساختمان‌های پروتئینی، انواع اسیدهای آمینه‌ای که می‌توانند در صفحه β وجود داشته باشند را محدود

Book Apfarsi.ir



شکل ۷-۶. کونفورماسیون β زنجیرهای پلی‌پپتیدی. این نماهای بالائی و کناری، گروههای R خارج‌شده از صفحه β را نشان داده و بر روی شکل پلیسه‌ای حاصل از صفحات پیوندهای پپتیدی تأکید می‌نماید. (نام دیگر این ساختمان، صفحه پلیسه β می‌باشد.) اتصالات عرضی پیوند هیدروژنی بین زنجیرهای مجاور نیز نشان داده شده‌اند. (a) صفحه β موازی ناهمسو که در آن جهت انتهای آمینو به انتهای کربوکسیل زنجیرهای مجاور (پیکانها) مخالف می‌باشد. (b) صفحه β موازی همسو.

Book.Apfarsi.ir

می‌نمایند. وقتی دو یا چند صفحه β در نزدیکی هم در داخل یک پروتئین قرار می‌گیرند، گروههای R ریشه‌های اسید آمینه موجود در سطوح تماسی می‌بایست نسبتاً کوچک باشند. β-کراتین‌ها نظیر فیبروئین ابریشم و فیبروئین تارهای عنکبوت بسیار غنی از ریشه‌های Gly و Ala می‌باشند که دو اسید آمینه با کوچکترین R هستند. در حقیقت، *Gly* و *Ala* موجود در فیبروئین ابریشم، بصورت یک در میان در قسمتهای بزرگی از توالی آن وجود دارند.

پیچ‌های β در پروتئین‌ها معمول می‌باشند

در پروتئین‌های کروی که ساختمان متراکم تاشده‌ای دارند، حدود یک سوم ریشه‌های اسید آمینه به شکل پیچ و قوس قرار دارند که در آنها جهت زنجیرها عوض می‌شوند (شکل ۸-۶). اینها عناصر اتصالی هستند که بخشهای متوالی مارپیچ α و کونفورماسیون β را به یکدیگر متصل می‌نمایند. انواع بخصوص شایع شامل پیچ‌های β[1] می‌باشند که دو انتهای دو قطعه مجاور یک صفحه β موازی ناهمسو را به یکدیگر متصل می‌نمایند. این ساختمان یک پیچ ۱۸۰° می‌باشد که در آن چهار ریشه اسید آمینه شرکت نموده و اکسیژن کربونیل ریشه اسید آمینه اول با هیدروژن گروه آمینو اسید آمینه چهارم ایجاد یک پیوند هیدروژنی می‌نماید. گروههای پپتیدی دو ریشه میانی در ایجاد هیچ پیوند هیدروژنی بین‌ریشه‌ای شرکت نمی‌نمایند. ریشه Gly به دلیل کوچکی و انعطاف‌پذیری و ریشه Pro به دلیل اینکه پیوندهای پپتیدی حاوی نیتروژن ایمینو پرولین بسادگی کونفیگوراسیون سیس را اتخاذ نموده (شکل ۸b-۶) و این کونفیگوراسیون برای چرخش سریع مناسب است، اغلب در پیچ‌های β مشاهده می‌گردند. از انواع متعدد پیچ‌های β دو مورد معمول‌تر در شکل ۸-۶ نشان داده شده است. پیچ‌های β اغلب در نزدیکی سطح یک پروتئین دیده می‌شوند که در آنجا گروه‌های پپتیدی دو ریشه اسید آمینه میانی می‌توانند با آب ایجاد پیوند هیدروژنی نمایند. پیچ γ که کمتر دیده می‌شود، یک پیچ سه ریشه‌ای همراه با ایجاد یک پیوند هیدروژنی بین ریشه‌های اول و سوم می‌باشد.

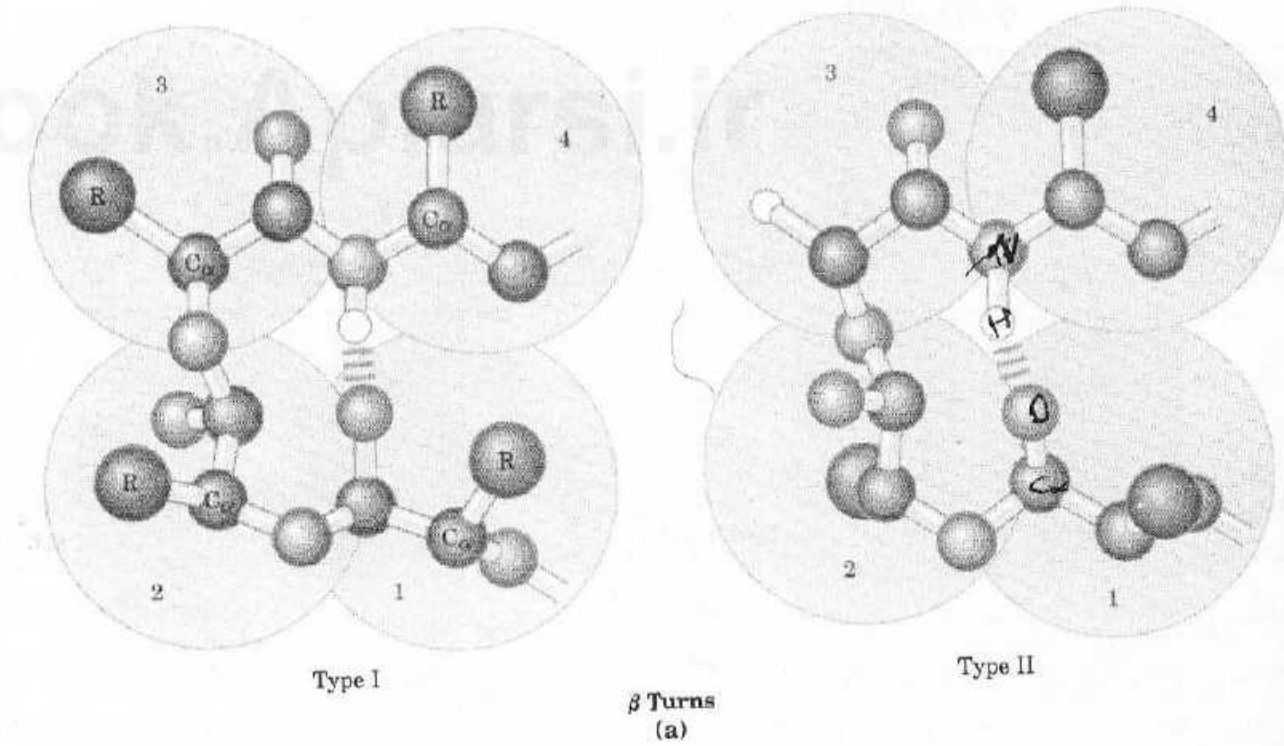
ساختمان‌های دوم معمول دارای زوایای پیوند و محتوی اسید آمینه‌ای مشخصی هستند

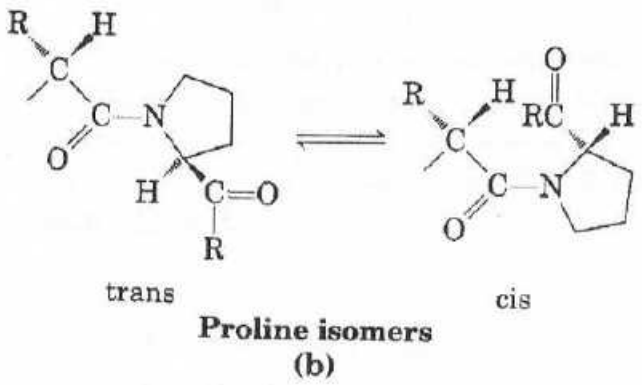
مارپیچ α و کونفورماسیون β ساختمان‌های دوم تکراری اصلی موجود در انواع مختلفی از پروتئین‌ها می‌باشند. هرچند، ساختمان‌های تکراری دیگری نیز در بعضی از پروتئین‌های اختصاصی (نظیر کلاژن؛ شکل ۱۳-۶ را ببینید) مشاهده می‌گردد.

هر نوع ساختمان دوم را می‌توان به‌طورکامل بوسیله زوایای ϕ و ψ در هر ریشه شرح داد. همانطور که در یک نمودار رامـخاندران مشاهده می‌گردد، مارپیچ α و کونفورماسیون β در داخل یک دامنه نسبتاً محدودی از ساختمان‌های مجاز فضایی قرار می‌گیرند (شکل ۹a-۶). بیشترین مقادیر ϕ و ψ حاصل از ساختمان‌های شناخته‌شده پروتئینی، در نواحی مورد انتظار قرار گرفته و بیشتر در نزدیکی مقادیر مارپیچ α و کونفورماسیون β پیش‌بینی‌شده متمرکز می‌باشند (شکل ۹b-۶). تنها ریشه اسید آمینه‌ای که اغلب در کونفورماسیون خارج از این نواحی دیده می‌شود، گلیسین می‌باشد. به دلیل زنجیر جانبی کوچک متشکل از یک اتم هیدروژن، یک ریشه گلیسین می‌تواند در کونفورماسیون‌هایی شرکت نماید که سایر اسیدهای آمینه به علت ممانعت فضایی نمی‌توانند.

1- β Turns

Book.Apfarsi.ir





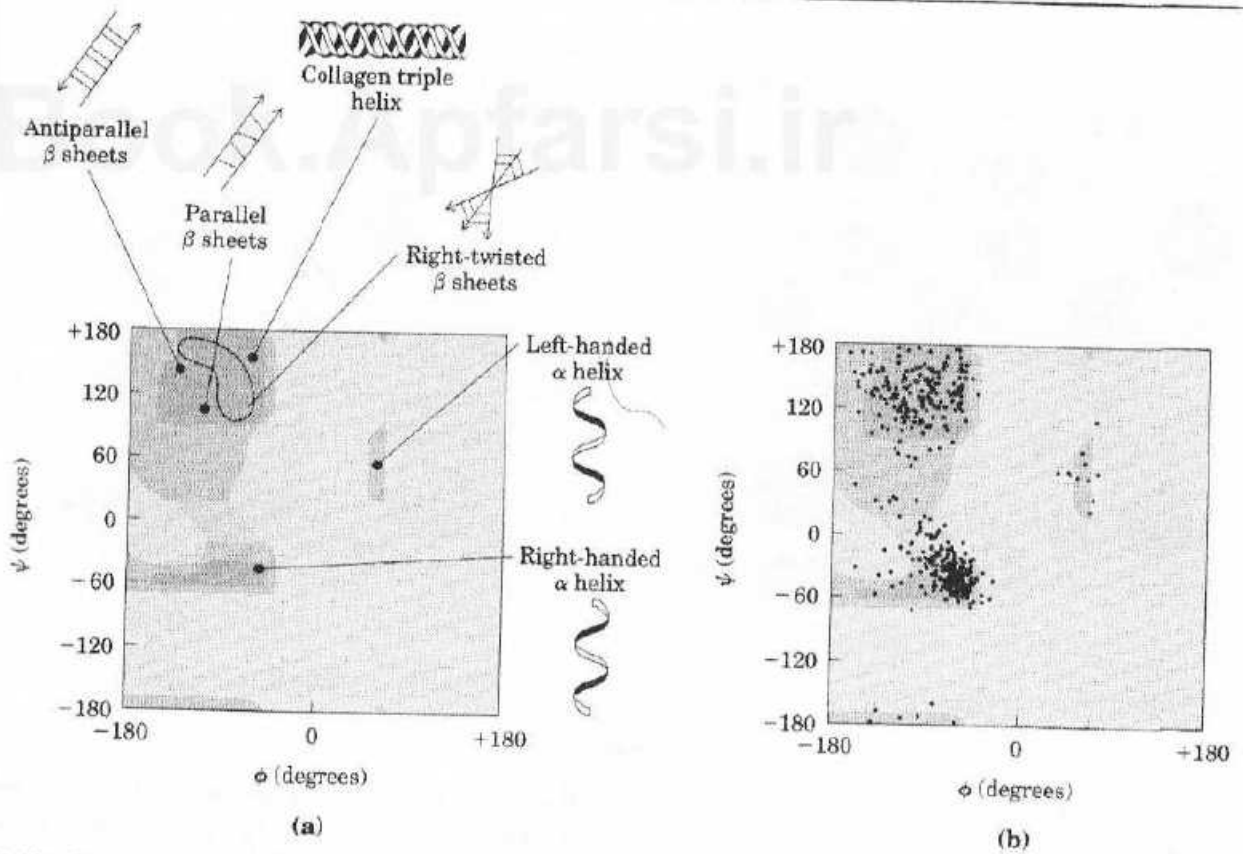
شکل ۸-۶. ساختمان پیچ‌های β (a) پیچ‌های β نوع I و نوع II معمولتر می‌باشند؛ فراوانی نوع I دو برابر نوع II است. در پیچ‌های β نوع I همیشه Gly به عنوان ریشه سوم وجود دارد. به پیوند هیدروژنی موجود در بین گروههای پپتیدی اولین و چهارمین ریشه توجه نمائید. (هر ریشه توسط قالبهای دایره‌ای بزرگ نشان داده شده‌است.) **(b)** ایزومرهای سیس و ترانس یک پیوند پپتیدی که در آن نیتروژن ایمینو پرولین شرکت دارد. ۹۹/۹۵٪ پیوندهای پپتیدی موجود در بین ریشه‌های اسید آمینه غیر از پرولین، بصورت کونفیگوراسیون ترانس می‌باشند. هرچند، حدود ۶٪ پیوندهای پپتیدی حاصل از نیتروژن ایمینو پرولین، دارای کونفیگوراسیون سیس بوده که بسیاری از آنها در پیچ‌های β دیده می‌شوند.

بعضی از اسیدهای آمینه بهتر از سایر اسیدهای آمینه با انواع مختلف ساختمان‌های دوم سازگار می‌باشند. خلاصه کلی از این احتمالات در شکل ۱۰-۶ آمده است. بعضی از تمایلات، نظیر حضور معمول ریشه‌های Pro و Gly در پیچ‌های β و تقریباً عدم وجود آنها در مارپیچ‌های α را می‌توان به سادگی براساس فشارهای شناخته‌شده موجود در ساختمان‌های دوم مختلف، بیان نمود. سایر تمایلات موجود را می‌توان براساس اندازه یا بار زنجیر جانبی توجیه نمود، ولی تمامی تمایلات نشان داده‌شده در شکل ۱۰-۶ شناخته شده نمی‌باشند.

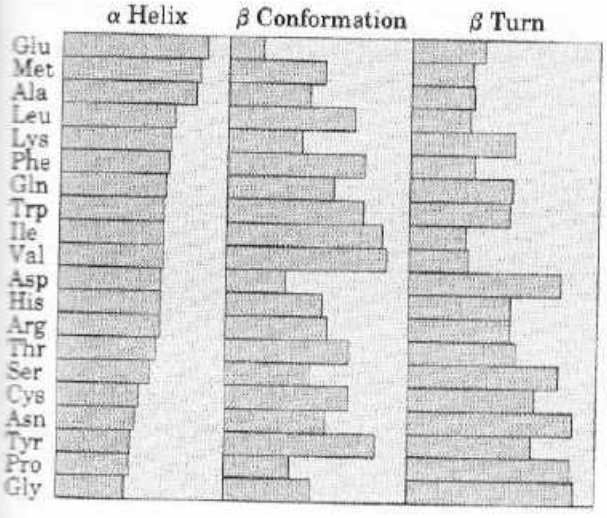
ساختمان‌های سوم و چهارم پروتئین

آرایش سه بُعدی کلی تمامی اتم‌های موجود در یک پروتئین را **ساختمان سوم** پروتئین می‌نامند. درحالیکه اصطلاح ساختمان دوم اشاره به آرایش فضایی ریشه‌های اسید آمینه‌ای می‌نماید که در ساختمان اول مجاور یکدیگر می‌باشند، ساختمان سوم شامل خصوصیات توالی اسید آمینه‌ای است که *دامنه طویلتری* دارد. اسیدهای آمینه‌ای که در زنجیر پلی‌پپتیدی دور از یکدیگر و در قطعات دارای ساختمان دوم متفاوت قرار دارند، ممکن است در داخل یک

Book.Apfarsi.ir



شکل ۹-۶. نمودارهای راماخاندران برای ساختمان‌های مختلف. **(a)** مقادیر ϕ و ψ ساختمان‌های دوم مختلف مجاز بر روی نمودار شکل ۳-۶ قرار داده شده‌اند. هرچند مارپیچ‌های α چپ‌گردان ریشه‌های اسید آمینه متعددی از نظر تئوری ممکن می‌باشد، ولی در پروتئین‌ها دیده نشده‌اند. **(b)** مقادیر ϕ و ψ تمامی ریشه‌های اسید آمینه، به استثناء Gly، در آنزیم پیروات کیناز (جداشده از خرگوش) بر روی نموداری از کونفورماسیون‌هایی که از نظرتئوری مجاز هستند (شکل ۳-۶)، قرار داده شده‌اند. ریشه‌های کوچک قابل‌انعطاف Gly در خارج دامنه‌های مورد انتظار قرار می‌گیرند.



شکل ۱۰-۶. احتمالات نسبی وجود یک اسید آمینه خاص در سه نوع معمول ساختمان دوم.

ساختمان کاملاً تاشده یک پروتئین با یکدیگر واکنش نمایند. موقعیت خمیدگی‌ها (مثلاً پیچ‌های β) در زنجیر پلی‌پپتیدی و جهت و زاویه این پیوندها بوسیله تعداد و موقعیت ریشه‌های اختصاصی تولیدکننده خمیدگی، نظیر Pro، Thr، Ser و Gly، تعیین می‌گردند. قطعاتی از زنجیرهای پلی‌پپتیدی که با یکدیگر واکنش می‌نمایند، توسط انواع مختلف واکنش‌های متقابل پیوندی ضعیف (و گاهی توسط پیوندهای کووالانسی نظیر اتصالات عرضی دی‌سولفیدی) موجود در بین این قطعات، در کنار یکدیگر نگه داشته می‌شوند.

بعضی از پروتئین‌ها دارای دو یا چند زنجیر یا زیرواحد پلی‌پپتیدی هستند که ممکن است مشابه و یا متفاوت باشند. آرایش این زیرواحدهای پروتئینی در کمپلکس‌های سه بُعدی، **ساختمان چهارم** را ایجاد می‌نماید. برای در نظرگرفتن این سطوح بالاتر ساختمانی، طبقه‌بندی پروتئین‌ها به دو گروه اصلی **پروتئین‌های فیبری** که

Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۲۶. ساختمان‌های دوم و خصوصیات پروتئین‌های فیبری

ساختمان	خصوصیات	مثال‌هائی از انواع موجود
مارپیچ α، با اتصالات عرضی بواسطه پیوندهای دی‌سولفیدی	ساختمان‌های حفاظتی محکم و نامحلول با سختی و انعطاف‌پذیری متفاوت	α-کراتین، پر و ناخن
کونفورماسیون β	فیلمان‌های نرم، قابل‌انعطاف	فیبروئین ابریشم
مارپیچ سه‌تائی کلاژن	قدرت کششی بالا، بدون کشش	کلاژن تاندون‌ها، ماتریکس استخوان

زنجیرهای پلی‌پپتیدی آنها بصورت رشته‌ها یا صفحات طویل آرایش می‌یابند و **پروتئین‌های کروی** که زنجیرهای پلی‌پپتیدی آنها به شکل کروی تا می‌گردند، مفید می‌باشد. این دو گروه از نظر ساختمانی با یکدیگر تفاوت دارند: پروتئین‌های فیبری معمولاً از یک نوع ساختمان دوم تشکیل می‌شوند؛ در حالی که پروتئین‌های کروی اغلب چند نوع ساختمان دوم را شامل می‌گردند. این گروه‌ها از نظر فعالیت نیز متفاوت می‌باشند؛ ساختمان‌های حمایت‌کننده، ایجادکننده شکل و شرکت‌کننده در حفاظت خارجی مهره‌داران، از پروتئین‌های فیبری تشکیل شده‌اند، در حالی که بیشتر آنزیم‌ها و پروتئین‌های تنظیمی از انواع پروتئین‌های کروی می‌باشند. بعضی از پروتئین‌های فیبری دارای یک نقش کلیدی در تکامل شناخت امروزی ما در مورد ساختمان پروتئین بوده و مثال‌های واضحی برای برقراری ارتباط بین ساختمان و عملکرد یک پروتئین می‌باشند. قبل از برگشت به الگوهای پیچیده‌تر تاشدن که در پروتئین‌های کروی مشاهده می‌گردند، بحث را با پروتئین‌های فیبری ادامه می‌دهیم.

پروتئین‌های فیبری برای عملکرد ساختمانی تطبیق داده شده‌اند

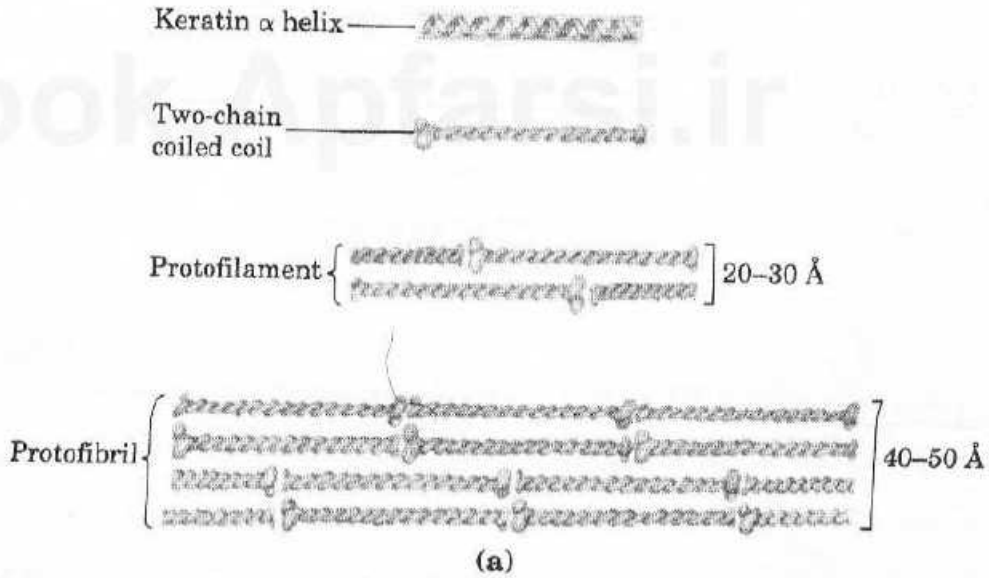
کراتین α، کلاژن و فیبروئین ابریشم بخوبی ارتباط بین ساختمان پروتئین و فعالیت فیزیولوژیک را بیان می‌نمایند (جدول ۱-۶). پروتئین‌های فیبری دارای خصوصیات مشترکی هستند که به ساختمان آنها قدرت و یا انعطاف‌پذیری می‌دهد. در هر حالت، واحد ساختمانی پایه، یک قسمت تکراری ساده از ساختمان دوم می‌باشد. تمامی پروتئین‌های فیبری در آب نامحلول هستند که علت آن وجود تراکم بالائی از ریشه‌های اسید آمینه آبگریز در داخل و در سطح پروتئین می‌باشد. این سطوح آبگریز با اتصال بسیاری از زنجیرهای پلی‌پپتیدی به یکدیگر، ایجاد کمپلکس‌های سوپراملکولی استادانه‌ای می‌نمایند. سادگی ساختمان پایه پروتئین‌های فیبری، آنها را بخصوص برای شرح بعضی از خصوصیات پایه‌ای ساختمان پروتئین اشاره‌شده در بالا، مفید نموده است.

کراتین α: کراتین‌های α برای ایجاد قدرت بوجود آمده‌اند. این پروتئین‌ها که در پستانداران یافت می‌شوند، تقریباً تمامی وزن خشک مو، پشم، ناخن، پنجه، تیغ جوجه تیغی، شاخ و بیشتر لایه خارجی پوست را تشکیل می‌دهند. کراتین‌های α قسمتی از یک خانواده بزرگتر پروتئین‌ها بنام پروتئین‌های فیلمان حدواسط[1] (IF) می‌باشند. سایر پروتئین‌های IF در اسکلت سلولی سلول‌های حیوانی وجود دارند. تمامی پروتئین‌های IF دارای یک فعالیت ساختمانی بوده و خصوصیات ساختمانی مشترکی دارند که با کراتین‌های α شرح داده می‌شوند.

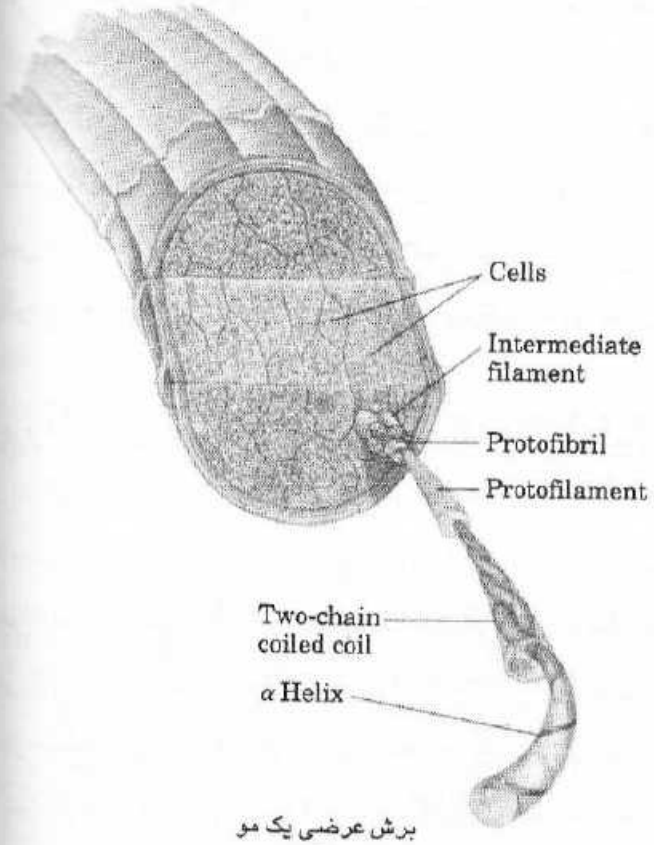
مارپیچ کراتین α یک مارپیچ α راست‌گردان می‌باشد که در بسیاری از پروتئین‌های دیگر نیز وجود دارد. فرانسیس کریک و لینوس پائولینگ در اوایل دهه ۱۹۵۰ به‌طورمستقل مطرح نمودند که مارپیچ‌های کراتین α به‌صورت یک

1- Intermediate filament

Book.Apfarsi.ir



(a)



برش عرضی یک مو

(b)

شکل ۱۱-۶. ساختمان یک مو. (a) کراتین α یک مارپیچ α طویل، با عناصر قدری ضخیم‌تر در نزدیکی دو انتهای آمینو و کربوکسیل، می‌باشد. جفتهای این مارپیچ‌ها به شکل چپ‌گردان درهم پیچیده و ایجاد فنرهای فنری‌شده دوزنجیری می‌نمایند. سپس اینها به شکلی با یکدیگر ترکیب می‌شوند که ساختمان‌های با نظم بالاتر، بنام پروفیلمان‌ها یا پروفیبریل‌ها، را ایجاد می‌کنند. حدود چهار پروفیبریل (۳۲ رشته کراتین α) با یکدیگر ترکیب شده تا تولید یک فیلمان حد واسط را بنمایند. به نظر می‌رسد دو فنر فنری‌شده دوزنجیری مجزا، در تحت ساختمان‌های مختلف به یکدیگر می‌پیچند، ولی جهت چرخش و سایر جزئیات ساختمانی آن نامشخص می‌باشد. **(b)** یک مو دسته‌ای از فیلمان‌های متعدد کراتین α می‌باشد که از تحت‌ساختمان‌های نشان داده‌شده در **(a)** ایجاد می‌شوند.

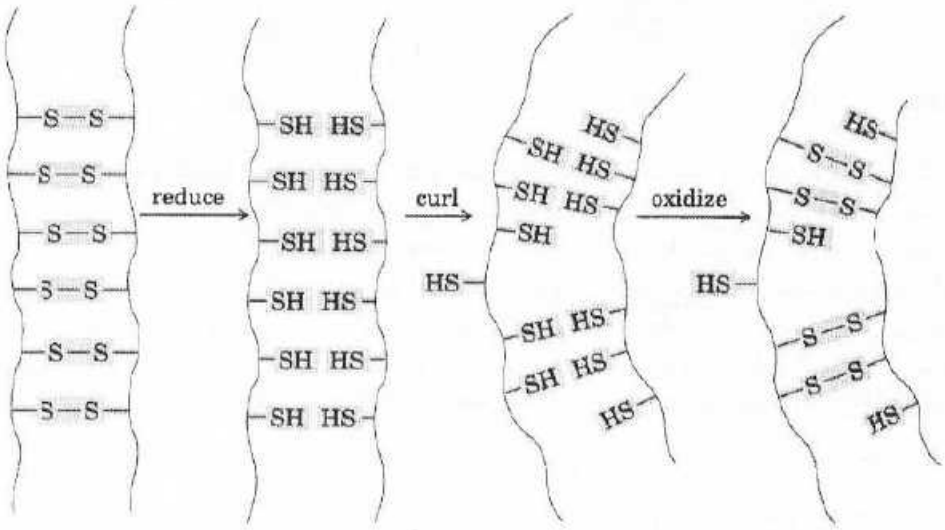
فنر فنری‌شده[1] آرایش می‌یابند. دو رشته کراتین α به‌طور موازی همسو (انتهای آمینو هر دو در یک سمت) حول یکدیگر پیچیده تا یک فنر فنری‌شده ابرپیچیده[2] ایجاد نمایند. درست همانند رشته‌هایی که به دور یکدیگر پیچیده تا طناب قوی را ایجاد نمایند، این ابرپیچش قدرت کلی این ساختمان را تقویت می‌نماید (شکل ۱۱-۶). پیچش محور یک مارپیچ α برای ایجاد یک فنر فنری‌شده، اختلاف بین ۵/۴ Å هر چرخش پیش‌بینی‌شده مارپیچ α توسط پائولینگ و کوری با ساختمان تکراری ۵/۱۵ تا ۵/۲ Å مشاهده‌شده در انکسار اشعه-x مو (ص. ۱۸۲) را توجیه می‌کند. مسیر مارپیچی این ابرپیچ‌ها، برخلاف مارپیچ α چپ‌گردان می‌باشد. سطح تماس دو مارپیچ α از ریشه‌های اسید آمینه آبگریز تشکیل شده و گروه‌های R آنها با یک الگوی منظم درهم‌قفل‌شونده به یکدیگر متصل می‌گردند. این امر سبب می‌شود تا زنجیرهای پلی‌پپتیدی در داخل این ابرپیچش چپ‌گردان در نزدیکی یکدیگر متراکم گردند. تعجب‌آور نخواهد بود که کراتین α غنی از ریشه‌های آبگریز Ala، Val، Leu، Ile، Met و Phe می‌باشد.

یکی از پلی‌پپتیدهای مجزای موجود در فنر فنری‌شده کراتین α دارای ساختمان سوم نسبتاً ساده‌ای است که خود

1- Coiled coil 2- Supertwisted coiled coil

کادر ۲-۶. فر دائمی در مهندسی بیوشیمی

وقتی مو در معرض حرارت مرطوب قرار می‌گیرد، می‌تواند امتداد یابد. در سطح مکولی، مارپیچ‌های α موجود در کراتین α مو آنقدر امتداد یافته تا به امتداد کامل کونفورماسیون β برسند. با سردشدن، این ملکول‌ها به‌طورخودبخودی به کونفورماسیون مارپیچی α برمی‌گردند. «قابلیت امتداد یافتن» کراتین‌های α، به همراه اتصالات عرضی متعدد دی‌سولفیدی آنها، اساس فر دائمی می‌باشند. موئی که قرار است فر داده شود، ابتدا حول جسمی با شکل مناسب پیچیده می‌شود. سپس از یک محلول احیاءکننده، معمولاً ترکیبی حاوی گروه تیول یا سولفیدریل (SH-)، به همراه حرارت استفاده می‌شود. عامل احیاءکننده با احیاء هر پیوند دی‌سولفیدی و ایجاد دو ریشه Cys، اتصالات عرضی را می‌شکند. حرارت مرطوب پیوندهای هیدروژنی را از بین برده و سبب می‌گردد تا ساختمان مارپیچی α زنجیرهای پلی‌پپتیدی باز شوند. بعد از مدتی محلول احیاءکننده برداشت شده و یک عامل اکسیدان اضافه می‌گردد تا پیوندهای دی‌سولفیدی جدیدی را بین جفت‌های ریشه‌های Cys زنجیرهای پلی‌پپتیدی مجاور ایجاد نماید، ولی این جفت‌ها همان جفت‌های ابتدایی نمی‌باشند. بعد از شستشو مو و سردشدن، زنجیرهای پلی‌پپتیدی به کونفورماسیون مارپیچی α خود برمی‌گردند. حال فیبرهای مو دارای فر مورد نظر می‌باشند، زیرا اتصالات عرضی دی‌سولفیدی جدید مقداری فشار یا پیچش بر روی دسته‌های فنرهای مارپیچی α موجود در فیبرهای مو ایجاد کرده‌اند. بعلت رشد مو، فر دائمی واقعاً دائمی نمی‌باشد؛ در مو جدیدی که جایگزین مو قدیم می‌گردد. کراتین α دارای الگوی طبیعی بدون فر پیوندهای دی‌سولفیدی است.

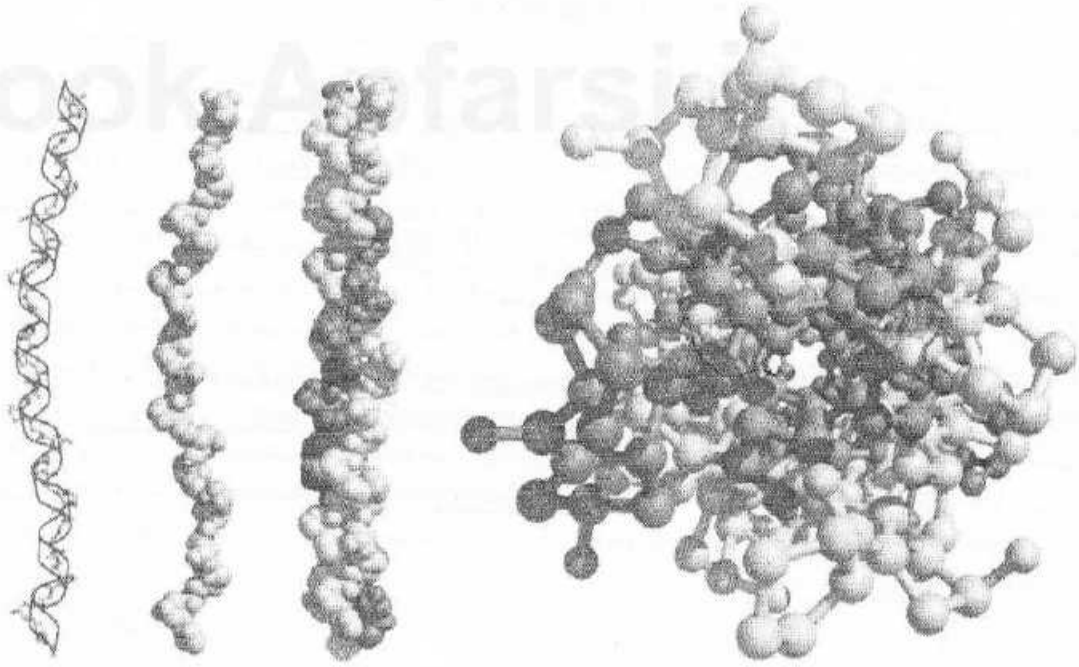


حاصل یک ساختمان دوم مارپیچی α می‌باشد که محور مارپیچی آن به شکل ابرمارپیچ[1] چپ‌گردان پیچش نموده است. پیچش دو پلی‌پپتید مارپیچ α حول یکدیگر، مثالی از ساختمان چهارم می‌باشد. فنرهای فنری‌شده این نوع، اجزاء ساختمانی معمول موجود در پروتئین‌های فیلمانی و در پروتئین میوزین عضله می‌باشند (شکل ۲۹-۷ را ببینید). ساختمان چهارم کراتین α می‌تواند کاملاً پیچیده باشد. بسیاری از فنرهای فنری‌شده قادرند بصورت کمپلکس‌های سوپراملکولی، نظیر آرایش کراتین α در ایجاد فیلمان حدواسط مو (شکل ۱۱b-۶)، همایش یابند.

با ایجاد اتصالات عرضی کووالان بین زنجیرهای پلی‌پپتیدی موجود در داخل «طناب‌های» چندمارپیچی[2] و بین زنجیرهای مجاور موجود در یک همایش سوپراملکولی، قدرت پروتئین‌های فیبری افزایش می‌یابد. در کراتین‌های α، اتصالات عرضی که ساختمان چهارم را پایدار می‌نمایند، پیوندهای دی‌سولفیدی هستند (کادر ۲-۶). در سخت‌ترین و محکم‌ترین کراتین‌های α، نظیر انواع موجود در شاخ کرگدن، تا ۱۸٪ ریشه‌ها را سیستئین‌هایی تشکیل می‌دهند که در پیوندهای دی‌سولفیدی شرکت می‌نمایند.

1- Superhelix 2- Multihelical

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۶ [شکل ۹ ضمیمه رنگی]. **ساختمان کلاژن.** **(a)** زنجیر α کلاژن دارای یک ساختمان دوم تکراری بی‌همتا می‌باشد. این توالی تکراری تری‌پپتیدی Gly - X - Pro یا Gly - X - HyPro، ایجاد یک ساختمان مارپیچی چپ‌گردان با سه ریشه در هر دور می‌نماید. توالی تکراری مورد استفاده برای ایجاد این مدل، Gly - X - HyPro می‌باشد. **(b)** مدل فضاپرکن همان زنجیر α **(c)** سه تا از این زنجیرها (با رنگهای خاکستری، آبی و آبی تیره نشان داده شده‌اند) بصورت راست‌گردان بدور یکدیگر می‌پیچند. **(d)** ابرمارپیچ سه‌رشته‌ای کلاژن که به طریق گوی و میله از یک انتها نشان داده شده است. ریشه‌های Gly با رنگ قرمز مشخص می‌باشند. گلیسین بخاطر خاطردازه کوچک خود، در اتصالات محکم موجود در محل تماس این سه‌زنجیر، مورد نیاز می‌باشد. گوی‌های نمایش‌داده‌شده در این شکل، شعاع‌های واندروالس هر اتم را نشان نمی‌دهند. برخلاف چیزی که در اینجا بنظر می‌رسد، مرکز این ابرمارپیچ سه‌رشته‌ای خالی نبوده، بلکه شدیداً متراکم است.

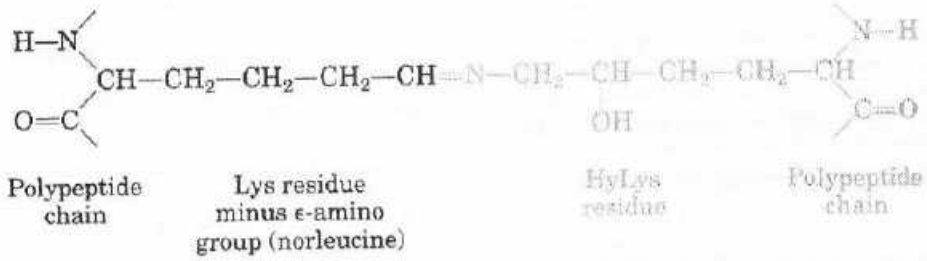
کلاژن: همانند کراتین‌های α، کلاژن برای فراهم‌سازی قدرت ایجاد شده است. کلاژن در بافت همبند تاندون‌ها، غضروف، ماتریکس آلی استخوان و قرنیه چشم وجود دارد. مارپیچ کلاژن یک ساختمان دوم بی‌همتا می‌باشد که کاملاً از مارپیچ α متفاوت است. این مارپیچ چپ‌گردان بوده و در هر دور سه ریشه اسید آمینه دارد (شکل ۱۲-۶). کلاژن نیز یک فنر فنری‌شده است ولی ساختمان سوم و چهارم متفاوتی دارد: سه پلی‌پپتید مجزا، بنام زنجیرهای α (با مارپیچ‌های α اشتباه نشوند)، حول یکدیگر می‌پیچند (شکل ۱۲c-۶). این پیچش ابرمارپیچی در کلاژن راست‌گردان بوده که مخالف با مارپیچ چپ‌گردان زنجیرهای α می‌باشد.

کلاژن شامل ۳۵٪ گلیسین، ۱۱٪ آلانین، ۲۱٪ پرولین و هیدروکسی‌پرولین (HyPro، یک اسید آمینه غیراستاندارد؛ شکل ۸-۵ را ببینید) می‌باشد. محصول غذایی ژلاتین که از کلاژن مشتق می‌شود دارای ارزش غذایی کمی به عنوان یک پروتئین است، زیرا از نظر اسیدهای آمینه ضروری مورد نیاز در رژیم غذایی، فوق‌العاده ضعیف می‌باشد. محتوی اسید آمینه‌ای غیرمعمول کلاژن به خاطر نشارهای ساختمانی بی‌همتای موجود در مارپیچ کلاژن است. توالی اسید آمینه‌ای کلاژن عموماً یک واحد تکراری سه‌پپتیدی، Gly - X - Pro یا Gly - X - HyPro می‌باشد که در آن X می‌تواند هر ریشه اسید آمینه باشد. تنها Gly می‌تواند در اتصالات بسیار محکم بین زنجیرهای α قرار گیرد (شکل ۱۲d-۶)؛ ریشه‌های Pro امکان پیچش تیز مارپیچ کلاژن را فراهم می‌آورد. توالی اسید آمینه و ساختمان

Book Anfarsi.ir

چهارم ابرمارپیچی کلاژن، بسته‌بندی بسیار نزدیک سه رشته پلی‌پپتید را ممکن می‌سازد.

پیچیدن محکم زنجیرهای α در مارپیچ سه‌تایی کلاژن، قدرت کششی ایجاد می‌نماید که بیش از قدرت کششی یک سیم پولادی با مقطع عرضی برابر خواهد بود. فیبریلهای کلاژن (شکل ۱۳-۶)، همایش‌های سوپراملکولی متشکل از ملکول‌های مارپیچ سه‌تایی کلاژن (گاهی به عنوان ملکول‌های تروپوکلاژن نامیده می‌شوند) هستند که به طرق مختلفی به یکدیگر متصل شده و ایجاد درجات مختلفی از قدرت کششی را می‌نمایند. زنجیرهای α ملکول‌های کلاژن و ملکول‌های کلاژن فیبریل‌ها بوسیله انواع غیرمعمولی از پیوندهای کووالان به‌صورت عرضی به یکدیگر متصل می‌شوند که در آنها ریشه‌های Lys و HyLys (هیدروکسی‌لیزین؛ شکل ۸-۵ را ببینید)، یا His دخالت دارند. این اتصالات ایجاد ریشه‌های اسید آمینه غیراستانداردی نظیر دهیدروهیدروکسی‌لیزینونورلوسین می‌نمایند. افزایش سختی و خصوصیت شکننده بافت همبند افراد مسن، حاصل تجمع اتصالات عرضی کووالان در فیبریل‌های کلاژن می‌باشد.



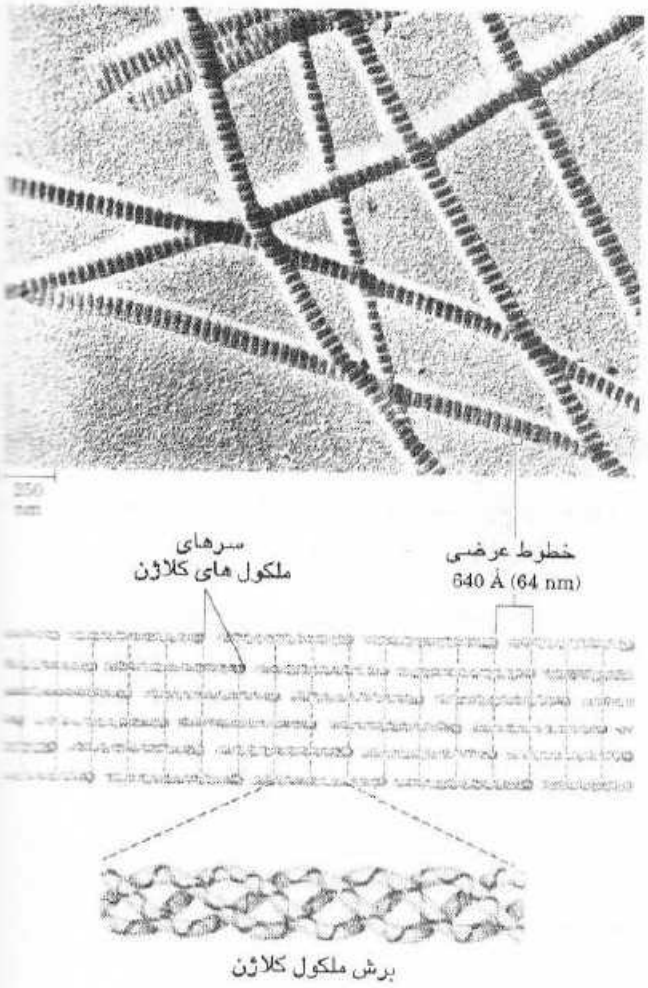
Dehydrohydroxylysinonorleucine

در یک پستاندار شاخص، بیش از ۳۰ نوع ساختمانی مختلف کلاژن وجود دارد که در بافتهای خاصی یافت می‌گردند و هر کدام از نظر ساختمان و عملکرد قدری با دیگری متفاوت هستند. بعضی از نقص‌های ژنتیکی انسان در ساختمان کلاژن، ارتباط نزدیک بین توالی اسید آمینه و ساختمان سه بُعدی موجود در این پروتئین را بیان می‌نماید. استئوژنز ایمپرفکتا[1] با تشکیل غیرطبیعی استخوان در اطفال مشخص شده و سندروم اهلر-دانلوس[2] همراه با مفاصل شل می‌باشد. هر کدام از این حالات می‌توانند کشنده باشند و هر دو در اثر جایگزینی یک اسید آمینه با گروه R بزرگتر (نظیر Cys یا Ser) به جای یک ریشه Gly در هر زنجیر α (یک ریشه Gly متفاوت در هر هنجاری) ایجاد می‌گردند. این جایگزینی‌های تک-ریشه‌ای دارای یک اثر مصیبت‌بار بر روی عملکرد کلاژن می‌باشد، زیرا سبب اختلال در تکرار Gly-X-Pro می‌شود که ایجادکننده ساختمان مارپیچی بی‌همتای کلاژن می‌باشد. با توجه به نقش Gly در مارپیچ سه‌تایی (شکل ۱۲d-۶)، نمی‌توان آن را با هر ریشه اسید آمینه دیگر جایگزین نمود، بدون اینکه اثرات زیان‌آوری بر روی ساختمان آن نداشته باشد.

فیبروئین ابریشم: فیبروئین، پروتئین موجود در ابریشم است که توسط حشرات و عنکبوت تولید می‌گردد. زنجیرهای پلی‌پپتید این پروتئین غالباً دارای کونفورماسیون β می‌باشد. فیبروئین غنی از ریشه‌های Ala و Gly بوده که امکان بسته‌بندی نزدیک صفحات β و آرایش درهم قفل‌شده گروه‌های R را فراهم می‌سازد (شکل ۱۴-۶). این ساختمان کلی با ایجاد پیوندهای هیدروژنی وسیع بین تمامی اتصالات پپتیدی موجود در پلی‌پپتیدهای هر صفحه β و همچنین به‌وسیله حداکثر واکنش‌های متقابل واندروالس ممکن موجود در بین صفحات، تثبیت می‌گردد. ابریشم

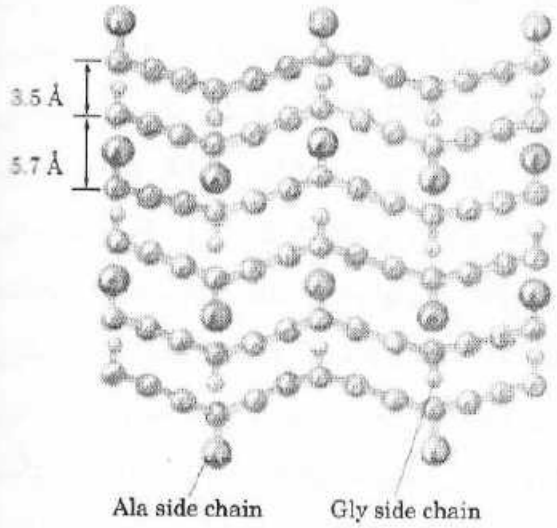
1- Osteogenesis imperfecta
2- Ehlers-Danlos syndrome

Book.Apfarsi.ir

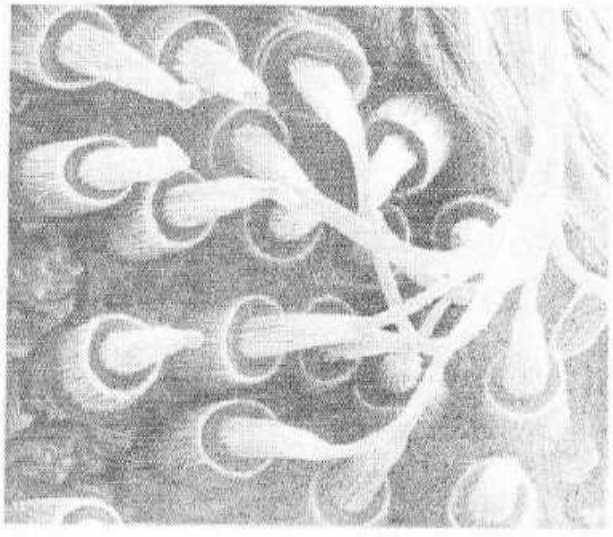


شکل ۱۳-۶. ساختمان فیبریلهای کلاژن. کلاژن (وزن‌ملکولی ۳۰۰,۰۰۰) یک ملکول میله‌ای شکل با حدود ۳,۰۰۰ Å طول و تنها ۱۵ Å ضخامت می‌باشد. سه زنجیر α کلاژن که به طریق مارپیچی درهم پیچیده‌اند، ممکن است توالی‌های مختلفی را داشته باشند. ولی هر کدام دارای حدود ۱,۰۰۰ ریشه اسید آمینه هستند. فیبریل‌های کلاژن از ملکول‌های کلاژن ایجاد شده است که به طریق پله‌ای در کنار یکدیگر قرار گرفته و با یکدیگر ایجاد اتصالات عرضی می‌کنند. عمق اختصاصی و شدت اتصالات عرضی برحسب بافت متفاوت بوده و در میکروگراف الکترونی ایجاد خطوط عرضی مشخصی را می‌نمایند. در مثالی که در اینجا نشان داده شده است، صفی از گروه‌های سر هر ملکول چهارم، ایجاد خطوطی به فاصله ۶۴۰ Å می‌نماید.

خاصیت ارتجاعی ندارد، زیرا کنفورماسیون β شدیداً امتدادیافته می‌باشد (شکل ۷-۶؛ شکل ۱۵-۶ را نیز ببینید). هرچند، به علت اینکه این صفحات توسط واکنش‌های متقابل ضعیف متعدد، بجای پیوندهای کووالانسی نظیر پیوندهای دی‌سولفیدی، در کنار یکدیگر قرار گرفته‌اند، این ساختمان قابل‌انعطاف می‌باشد.



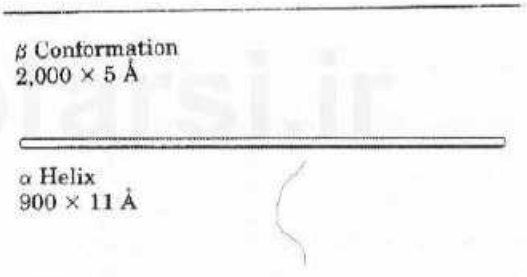
(a)



(b)

شکل ۱۴-۶. ساختمان ابریشم. فیبرهای مورد استفاده برای ساختن لباس ابریشمی یا تارهای عنکبوت، از پروتئین فیبروئین تشکیل شده‌اند. (a) فیبروئین از لایه‌های موازی ناهمسو صفحات β غنی از ریشه‌های Ala و Gly تشکیل شده است. همانطور که در این شکل مشخص می‌باشد زنجیرهای جانبی کوچک درهم‌قفل‌شده امکان بسته‌بندی نزدیک هر صفحه لایه‌ای را ممکن می‌سازد. (b) رشته‌های فیبروئین که از اسفنکتر یک عنکبوت در این میکروگراف الکترونی خارج می‌شوند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۵-۶. ساختمان پروتئین‌های کروی متراکم و متنوع است. آلبومین سرم انسان (وزن ملکولی ۶۴،۰۰۰) دارای ۵۸۵ اسید آمینه در یک زنجیر می‌باشد. در اینجا بعاد حدودی زنجیر پلی‌پپتیدی واحد آن در حالاتی نشان داده شده است که تمام ملکول به شکل کونفورماسیون β امتدادیافته یا مارپیچ α باشد. در این شکل همچنین اندازه واقعی این پروتئین در حالت کروی طبیعی آن نمایش داده شده است که با اندازه‌گیریهای فیزیکوشیمیایی تعیین شده است؛ برای انطباق با این ابعاد، لازم است زنجیر پلی‌پپتیدی به‌طور شدیداً متراکم تا شده باشد.

تنوع ساختمانی، انعکاس‌دهنده تنوع فعالیت در پروتئین‌های کروی است

در یک پروتئین کروی، قطعات مختلفی از یک زنجیر پلی‌پپتیدی (یا زنجیرهای متعدد پلی‌پپتیدی)، بر روی یکدیگر تا می‌شوند. همانطورکه در شکل ۱۵-۶ شرح داده شده است، این تاشدن سبب ایجاد یک شکل متراکم در مقایسه با پلی‌پپتیدهای دارای کونفورماسیون کاملاً امتدادیافته می‌گردد. این تاشدن همچنین سبب ایجاد تنوع ساختمانی مورد نیاز برای انجام اعمال بیولوژیک مختلف می‌شود. پروتئین‌های کروی شامل آنزیم‌ها، پروتئین‌های انتقالی، پروتئین‌های موتوری، پروتئین‌های تنظیمی، ایمونوگلبولین‌ها و پروتئین‌های دارای بسیاری از اعمال دیگر می‌باشند.

با شروع هزاره جدید، تعداد ساختمان‌های پروتئینی سه بُعدی شناخته‌شده در حد هزاران پروتئین بوده و هر دو سال یکبار دو برابر می‌شود. این ثروت اطلاعات ساختمانی، در حال متحول نمودن شناخت ما از ساختمان پروتئین، ارتباط ساختمان با فعالیت و حتی مسیرهای تکاملی رسیدن پروتئین‌ها به وضعیت کنونی آنها، می‌باشد.

بحث ما پیرامون ساختمان کروی پروتئین با اصولی آغاز می‌گردد که از ساختمان‌های پروتئینی اولیه شرح‌داده شده، جمع‌آوری شده‌اند. در ادامه جزئیات تحت ساختمان پروتئینی و طبقه‌بندی مقایسه‌ای مورد بررسی قرار می‌گیرد. این بحث‌ها تنها به خاطر اطلاعات وسیعی ممکن می‌گردد که از طریق اینترنت و منابعی نظیر بانک اطلاعات پروتئین[1] (PDB) و آرشیو ساختمان‌های سه بُعدی ماکروملکول‌های بیولوژیک بدست آمده‌اند.

میوگلوبین سورشته اولیه را در مورد پیچیدگی ساختمان پروتئین کروی فراهم نمود

اولین قدم در شناخت ساختمان سه بُعدی یک پروتئین کروی با مطالعات انکسار اشعه-x میوگلوبین توسط جان کندرو[2] و همکارانش در دهه ۱۹۵۰، برداشته شد. میوگلوبین یک پروتئین کوچک (وزن ملکولی ۱۶،۷۰۰)، اتصال‌یابنده به اکسیژن در سلول‌های عضلانی می‌باشد. این پروتئین هم به‌عنوان ذخیره اکسیژن و هم در تسریع انتشار اکسیژن در بافت عضلانی دارای انقباض سریع، ایفاء نقش می‌نماید. میوگلوبین یک زنجیر پلی‌پپتیدی متشکل از ۱۵۳ ریشه اسید آمینه با توالی شناخته‌شده و یک گروه پروتوپورفیرین آهن، یا هم، می‌باشد. همین گروه هم در هموگلوبین، پروتئین اتصالی اکسیژن موجود در گلبول‌های قرمز، یافت شده و مسئول رنگ قرمز-قهوه‌ای شدید

1- Protein Data Bank 2- Jhon Kendrew

Book.Apfarsi.ir

میوگلوبین و هموگلوبین می‌باشد. میوگلوبین بخصوص در عضلات حیوانات شیرجه‌رو، نظیر وال، فوک و گراز دریایی فراوان می‌باشد؛ عضلات این حیوانات آن‌قدر غنی از این پروتئین است که رنگ قهوه‌ای دارند. ذخیره و انتشار اکسیژن توسط میوگلوبین عضله به این حیوانات این امکان را می‌دهد که مدت‌های زمانی طولانی در زیر آب باقی بمانند.

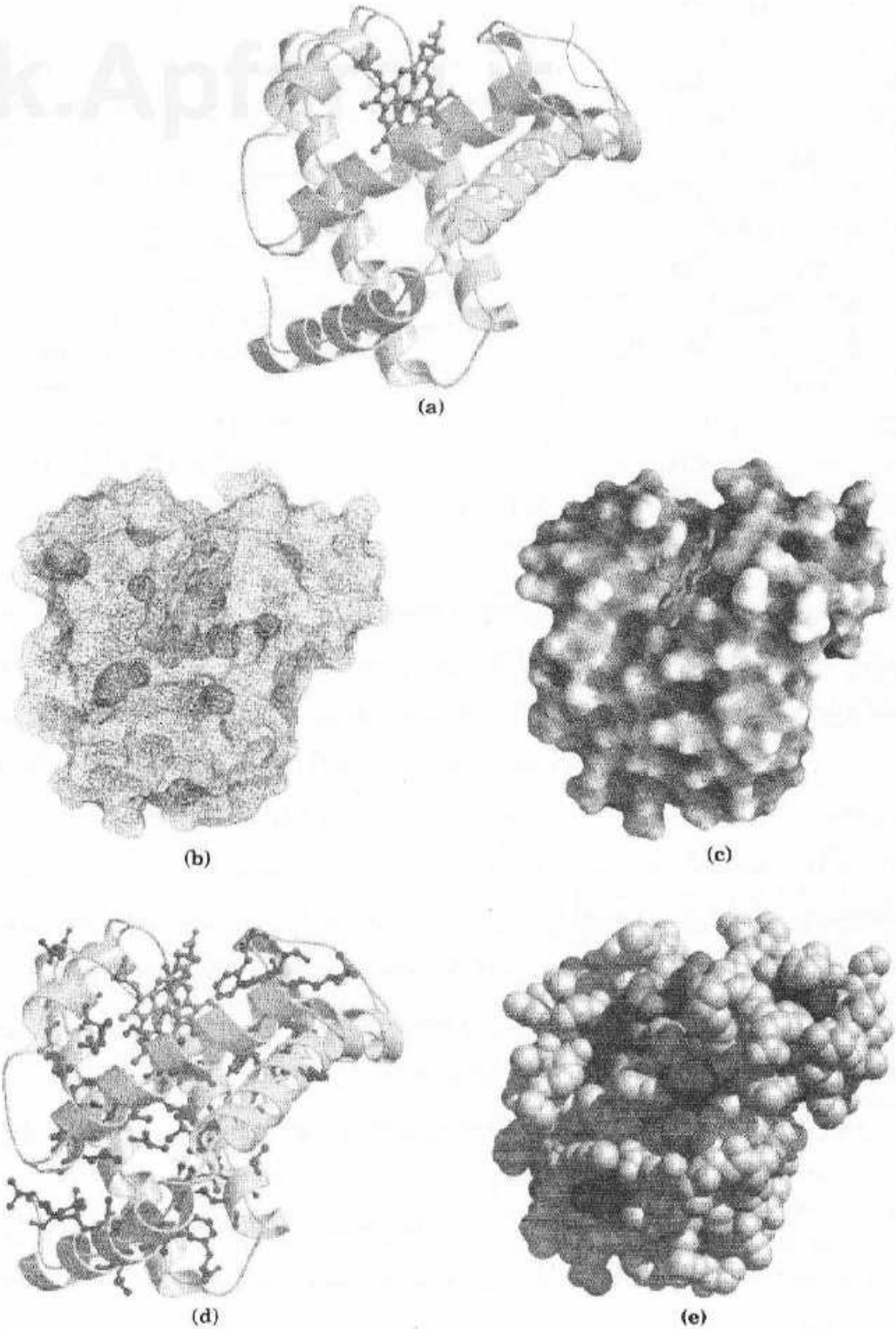
شکل ۱۶-۶ چندین تصویر از میوگلوبین را نشان می‌دهد که تمامی آنها نمایشی از نحوه تاشدن این زنجیر پلی‌پپتیدی در سه بُعد، یا ساختمان سوم، را به تصویر کشیده‌اند. گروهی که توسط پروتئین احاطه‌شده است، هم می‌باشد. اسکلت ملکول میوگلوبین از هشت قطعه مارپیچ α تقریباً مستقیم تشکیل شده است که توسط خمیدگی‌هایی به یکدیگر متصل می‌شوند و تعدادی از این خمیدگی‌ها از نوع پیچ β هستند. بلندترین مارپیچ α دارای ۲۳ ریشه اسید آمینه بوده و کوتاهترین آنها تنها ۷ ریشه دارد؛ تمامی مارپیچ‌ها از نوع راست‌گردان می‌باشند. بیش از ۷۰٪ ریشه‌های اسید آمینه موجود در میوگلوبین در این نواحی مارپیچ α قرار دارند. بررسی با اشعه-x، موقعیت دقیق هر گروه R را آشکار نموده است که تقریباً تمامی فضای موجود در داخل این زنجیر تاشده را اشغال می‌کند.

از ساختمان میوگلوبین نتیجه‌گیریهای مهمی می‌شود. موقعیت زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه، ساختمانی را نشان می‌دهند که بیشتر پایداری خود را از واکنش‌های متقابل آبگریز بدست می‌آورند. بیشتر گروههای R آبگریز در داخل ملکول میوگلوبین قرار گرفته و از تماس با آب اجتناب می‌نمایند. تمامی گروههای R قطبی، به استثناء دو مورد، در سطح خارجی ملکول قرار گرفته و همگی هیدراته هستند. ملکول هموگلوبین آنقدر متراکم می‌باشد که داخل آن تنها اتاقی برای چهار ملکول آب وجود دارد. این هسته آبگریز متراکم، شاخص پروتئین‌های کروی است. کسر فضایی که توسط اتم‌ها در یک مایع آلی اشغال می‌شود، ۰/۴ تا ۰/۶ بوده و در یک کریستال شاخص، این کسر برابر ۰/۷۰ تا ۰/۷۸ می‌باشد که نزدیک به میزان حداکثر از نظر تئوری است. در یک پروتئین کروی، این کسر در حدود ۰/۷۵، در مقایسه با کسر موجود در یک کریستال، می‌باشد. در این محیط متراکم، واکنش‌های متقابل ضعیف سبب تقویت یکدیگر می‌شوند. برای مثال، زنجیرهای جانبی غیرقطبی موجود در این هسته آن قدر نزدیک می‌باشند که واکنش‌های متقابل واندروالس دامنه-کوتاه، همکاری قابل‌توجهی در پایداری واکنش‌های متقابل هیدروفوبی دارند.

استنتاج ساختمان میوگلوبین بعضی از انتظارات را تایید نمود و بعضی اجزاء جدید ساختمان دوم را نشان داد. همان‌طور که توسط پائولینگ و کوری پیش‌بینی‌شده بود، تمامی پیوندهای پپتیدی دارای کونفیگوراسیون مسطح ترانس می‌باشند. مارپیچ‌های α موجود در میوگلوبین، اولین مدرک تجربی مستقیم وجود این نوع ساختمان دوم را فراهم نمود. سه ریشه از چهار ریشه Pro میوگلوبین در خمیدگی‌ها یافت می‌شوند (به خاطر دارید که پرولین، با زاویه پیوندی ϕ ثابت و نداشتن یک گروه N-H پیوند پپتیدی برای شرکت در ایجاد پیوندهای هیدروژنی، با ساختمان مارپیچ α بسیار ناسازگار می‌باشد). چهارمین رینه Pro در داخل یک مارپیچ α قرار داشته و در آنجا برای ایجاد یک پیچ برای بسته‌بندی محکم مارپیچ مورد نیاز می‌باشد. سایر خمیدگی‌ها دارای ریشه‌های Ser، Thr و Asn می‌باشند؛ این اسیدهای آمینه از میان انواعی هستند که وقتی در نزدیک یکدیگر در توالی اسید آمینه‌ای قرار می‌گیرند، حجم و شکل آنها با ساختمان مارپیچی α ناسازگار می‌باشد (ص. ۱۸۵).

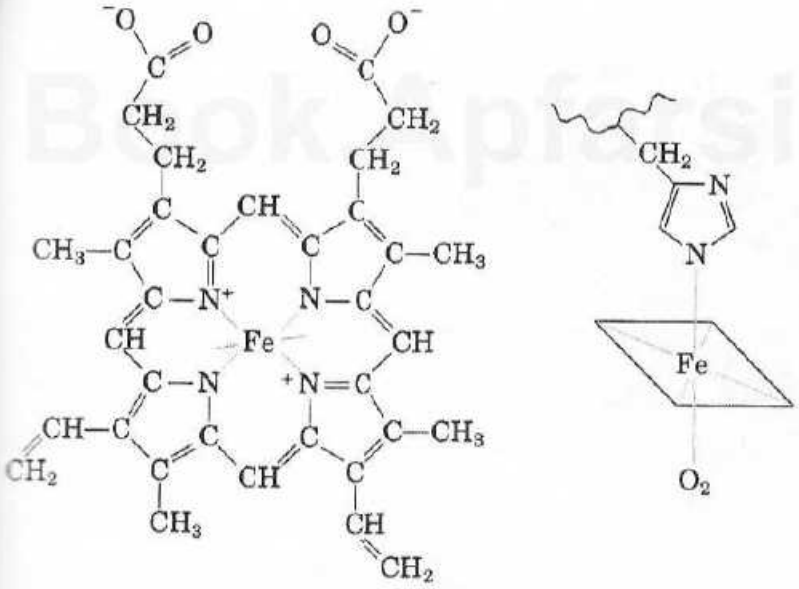
گروه هِم مسطح در داخل شکاف یا پاکتی در داخل ملکول میوگلوبین قرار دارد. اتم آهن موجود در مرکز گروه هم دارای دو موقعیت ایجاد پیوند (کوئوردینانس) عمود بر صفحه هم می‌باشد (شکل ۱۷-۶). یکی از این

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۶ [شکل ۱۰ ضمیمه رنگی]. **ساختمان سوم میوگلوبین نهنگ دریایی.** جهت پروتئین در تمامی تصاویر مشابه بوده و گروه هم با رنگ قرمز نشان داده شده است. علاوه بر نمایش ساختمان میوگلوبین، این شکل مثال‌هایی از روش‌های متعدد نمایش ساختمان پروتئین را نشان می‌دهد. **(a)** اسکلت پلی‌پپتیدی بصورت نمایش روبانی معرفی‌شده توسط جان ریچاردسون (Jhon Richardson) که نواحی ساختمان دوم را نشان می‌دهد. نواحی مارپیچی α مشخص می‌باشد. **(b)** یک تصویر «درهم» (mesh) با تأکید بر سطح پروتئین. **(c)** یک تصویر سطحی با نمایش حدود محیطی که برای مشاهده پاکت‌هایی در پروتئین مفید می‌باشد که امکان اتصال ملکول‌های دیگر در آن وجود دارد. **(d)** یک نمایش روبانی همراه با زنجیرهای جانبی (آبی) هرکدام از ریشه‌های آبگریز Leu، Ile، Val و Phe. **(e)** یک مدل فضاپرکن با تمامی زنجیرهای جانبی. هر اتم با کره‌ای مشخص شده است که شعاع واندروالس آن را نشان می‌دهد. ریشه‌های آبگریز با رنگ آبی نمایش داده شده‌اند که بیشتر آنها به دلیل اینکه در داخل پروتئین مدفون می‌باشند، مشاهده نمی‌گردند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۷-۶. گروه هم. این گروه در میوگلوبین، هموگلوبین، سیتوکرومها و بسیاری از پروتئین‌های همی دیگر وجود دارد. **(a)** هم حاوی یک ساختمان حلقوی آلی پیچیده، بنام پروتوپورفیرین، می‌باشد که به آن یک اتم آهن در حالت فرو (Fe^{2+}) اتصال یافته است. این اتم آهن دارای شش پیوند کوئوردیناس می‌باشد که چهار پیوند آن در صفحه و متصل به ملکول پورفیرین بوده و دو پیوند دیگر عمود بر صفحه هستند. **(b)** در میوگلوبین و هموگلوبین، یکی از پیوندهای عمودی کوئوردیناس به اتم نیتروژن یک ریشه His اتصال دارد. پیوند دیگر «باز» بوده و به عنوان جایگاه اتصالی برای ملکول O_2 عمل می‌نماید.

موقعیت‌ها به گروه R ریشه His موقعیت ۹۳ متصل شده و دیگری جایگاهی برای اتصال ملکول O_2 است. در داخل این پاکت، دسترسی گروه هم به حلال شدیداً محدود می‌باشد. این محدودیت برای عملکرد آن ضروری است، زیرا گروه‌های هم آزاد در یک محلول اکسیژنه سریعاً از حالت فرو (Fe^{2+}) که از نظر ایجاد اتصال قابل‌برگشت با O_2 فعال می‌باشد، به حالت فریک (Fe^{3+}) که به O_2 اتصال نمی‌یابد، اکسیده می‌گردد.

شناخت ساختمان میوگلوبین برای اولین بار به محققین این امکان را داد تا جزئیات ارتباط بین ساختمان و عمل یک پروتئین را درک کنند. از آن به بعد، صدها پروتئین در معرض بررسی‌های مشابه قرار گرفته‌اند. امروزه، فن‌آوری‌هایی نظیر اسپکتروسکوپی NMR، اطلاعات انکسار اشعه-x را تکمیل نموده و اطلاعات بیشتری در مورد ساختمان یک پروتئین فراهم می‌نمایند (کادر۳-۶). تعیین توالی در حال انجام DNA ژنومی موجودات زنده متعدد (فصل ۲۹)، هزاران ژن را شناسایی نموده است که پروتئین‌هایی با توالی شناخته‌شده ولی با فعالیت نامشخص راکد می‌نمایند. بینش اولیه ما در مورد اینکه این پروتئین‌ها چه کاری را انجام می‌دهند، اغلب از این شناخت هنوز محدود ما حاصل می‌شود که چطور ساختمان اولیه، ساختمان سوم را تعیین نموده و چطور ساختمان چهارم، فعالیت را مشخص می‌نماید.

پروتئین‌های کروی ساختمان‌های سوم متنوعی دارند

با مشخص‌شدن ساختمان‌های سوم صدها پروتئین کروی دیگر توسط انکسار اشعه-x روشن شد که میوگلوبین تنها یکی از روش‌های متعددی را نشان می‌دهد که یک زنجیر پلی‌پپتیدی می‌تواند تاشود. در شکل ۱۸-۶ ساختمان‌های مربوط به سیتوکروم c لیزوزیم و ریبونوکلئاز مقایسه شده‌اند. تمامی اینها دارای توالی‌های اسید آمینه‌ای و ساختمان سوم متفاوتی هستند که تفاوت فعالیت آنها را نشان می‌دهد. تمامی این پروتئین‌ها نسبتاً کوچک بوده و کار بر روی آنها ساده می‌باشد، بنابراین بررسی ساختمانی آنها راحت‌تر خواهد بود. سیتوکروم c جزئی از زنجیر تنفس میتوکندری (فصل ۱۹) بوده و همانند میوگلوبین، یک پروتئین همی است. این پروتئین از یک زنجیر پلی‌پپتیدی واحد با حدود ۱۰۰ ریشه (وزن‌ملکولی ۱۲،۴۰۰) تشکیل شده است و یک گروه هم دارد. در این حالت، پروتوپورفیرین گروه هم، به‌طورکووالان به پلی‌پپتید متصل می‌باشد. تنها ۴۰٪ این پلی‌پپتید، در مقایسه با ۷۰٪

Book Apfarsi.ir

کادر ۳-۶. روش‌های تعیین ساختمان سه بُعدی یک پروتئین.

انکسار اشعه-x

فواصل اتم‌ها در یک شبکه کریستالی را می‌توان با اندازه‌گیری محل و شدت نقاط تولیدی بر روی یک فیلم عکاسی با استفاده از پرتوئی از اشعه‌های-x با طول موج خاص، بعد از انکسار پرتو توسط الکترون‌های اتم‌ها، تعیین نمود. برای مثال، بررسی کریستال‌های کلرید سدیم با اشعه-x نشان می‌دهد که یون‌های Na^+ و Cl^- بصورت یک شبکه مکعبی ساده آرایش یافته‌اند. فواصل انواع مختلف اتم‌های موجود در ملکول‌های آلی پیچیده، حتی انواع بسیار بزرگ مثل پروتئین‌ها، را نیز می‌توان با روش انکسار اشعه-x بررسی نمود. هرچند، این فن‌آوری برای بررسی کریستال ملکول‌های پیچیده، بسیار دشوارتر از کریستال‌های ساده نمک می‌باشد. وقتی الگوی تکراری، کریستالی به بزرگی یک پروتئین می‌باشد، اتم‌های متعدد موجود در کریستال هزاران نقطه انکساری را بدست می‌دهند که لازم است با کامپیوتر تجزیه و تحلیل گردند.

این فرایند را می‌توان در سطح مقدماتی با در نظر گرفتن نحوه تولید تصاویر در یک میکروسکوپ نوری، درک نمود. نور خارج‌شده از یک منبع نقطه‌ای بر روی یک شیء متمرکز می‌گردد. امواج نورانی توسط شیء متفرق شده و این امواج تفرق‌یافته توسط یک سری عدسی مجدداً ترکیب شده و ایجاد تصویری بزرگتر از شیء می‌نمایند. کوچکترین شیء که ساختمان آن را می‌توان با چنین سیستمی تعیین نمود (یعنی قدرت تفکیک میکروسکوپ) توسط طول‌موج نور (در این حالت، نور مرئی با طول موجی در دامنه ۴۰۰ تا ۷۰۰ nm) تعیین می‌گردد. اشیایی که کوچکتر از نصف طول موج نور ابتدایی می‌باشند، قابل تفکیک نیستند. برای مشاهده اشیایی به کوچکی پروتئین‌ها، می‌بایست از اشعه‌های-x استفاده نمود که در دامنه ۰/۷ تا ۱/۵Å (۰/۰۷ - ۰/۱۵nm) قرار دارند. هرچند عدسی‌هایی برای ترکیب اشعه‌های-x و در نتیجه ایجاد یک تصویر وجود ندارد؛ به همین دلیل، الگوی اشعه‌ای x انکساریافته مستقیماً جمع‌آوری شده و با استفاده از فن‌آوری‌های وابسته به ریاضی، از آنها یک تصویر ساخته می‌شود.

میزان اطلاعات حاصل از کریستالوگرافی اشعه-x بستگی به شدت نظم ساختمانی موجود در نمونه دارد. مطالعات اولیه بر روی الگوهای انکساری پروتئین‌های فیبری که بصورت دسته‌های نسبتاً منظمی در مو و پشم وجود دارند، چندین پارامتر ساختمانی مهم را مشخص نمود. هرچند، دسته‌های منظم تولیدشده توسط پروتئین‌های فیبری، کریستالی نمی‌باشند؛ این ملکول‌ها پهلو به پهلو در کنار یکدیگر قرار گرفته و همگی در یک جهت نیستند. جزئیات بیشتر اطلاعات ساختمان سه بُعدی پروتئین‌ها نیاز به یک کریستال پروتئینی شدیداً منظم دارد. کریستالیزاسیون پروتئینی تجربی بوده و ساختمان بسیاری از پروتئین‌ها هنوز به دلیل مشکل بودن کریستالیزاسیون آنها، مشخص نشده است. افرادی که دارای تجربه کارهای عملی هستند، تولید کریستال‌های پروتئینی را به درکنارهم قراردادن توده‌ای از توپ‌های بولینگ با استفاده از چسب سلوفانی مقایسه می‌نمایند.

از نظر عملی، مراحل متعددی در بررسی ساختمانی با اشعه-x وجود دارد (شکل ۱). وقتی یک کریستال بدست آمد، در مقابل یک پرتو اشعه-x، در بین منبع اشعه-x و یک آشکارکننده، قرار داده شده و یک دسته منظم از نقاط بنام بازتابش ایجاد می‌گردد. این نقاط حاصل پرتو انکساریافته اشعه-x بوده و هر اتم موجود در ملکول در ایجاد هر نقطه نقش دارد. از الگوی کلی انکساری نقاط، با استفاده از یک فن‌آوری کامپیوتری بنام Fourier transform، یک نقشه پروتئینی ایجاد می‌گردد که چگالی الکترونی را نشان می‌دهد. در اینجا، کامپیوتر به عنوان «عدسی‌های تخمینی» عمل می‌نمایند. سپس مدلی برای این ساختمان ساخته می‌شود که با نقشه چگالی-الکترونی سازگار می‌باشد.

جان کندرو دریافت که الگوی انکسار اشعه-x کریستال میوگلوبین (جدا شده از عضلات نهنگ دریایی)، بسیار پیچیده بوده و دارای حدود ۲۵،۰۰۰ بازتاب می‌باشد. تجزیه کامپیوتری این بازتاب‌ها در چند مرحله انجام گردید. در هر مرحله، تفکیک بهتر شد، تا در سال ۱۹۵۹ موقعیت تمامی اتم‌های غیرهیدروژنی موجود در این پروتئین تکمیل گردید. توالی اسید آمینه‌ای این پروتئین، حاصل از تجزیه شیمیایی، با این مدل ملکولی سازگار بود. از آن‌پس، ساختمان هزاران پروتئین پیچیده‌تر از میوگلوبین، با میزان تفکیک مشابه، تعیین شده است.

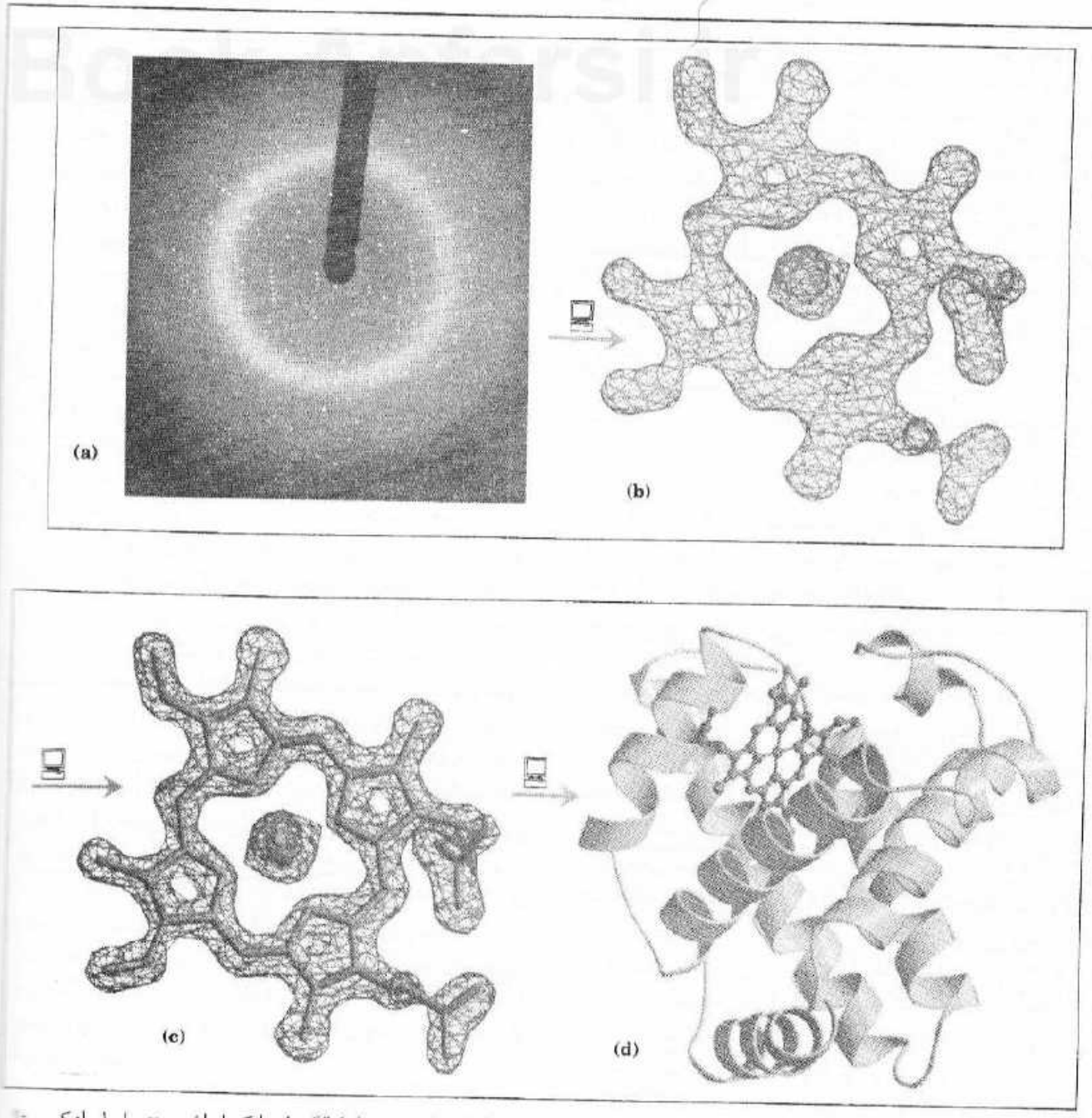
محیط فیزیکی موجود در داخل یک کریستال، مشابه محیط موجود در محلول یا یک سلول زنده نمی‌باشد. برای تعیین ساختمان یک کریستال از طریق تجزیه آن، نیاز به زمان می‌باشد و مطالعات انکسار اشعه-x اطلاعات کمی در مورد حرکت ملکولی در داخل پروتئین فراهم می‌آورد. کونفورماسیون پروتئین‌ها در حالت کریستالی می‌تواند تحت تأثیر عوامل غیرفیزیولوژیک، نظیر تماس‌های پروتئین-پروتئین فرعی موجود در داخل کریستال، قرار گیرد. هرچند، وقتی ساختمان‌های حاصل از تجزیه این کریستال‌ها با اطلاعات ساختمانی حاصل از روش‌های دیگر (نظیر NMR، در پایین شرح داده می‌شود) مقایسه می‌گردد، ساختمان حاصل از کریستال تقریباً همیشه یک کونفورماسیون دارای فعالیت پروتئین را نشان می‌دهد. کریستالوگرافی اشعه-x را می‌توان بطور موفقیت‌آمیزی برای پروتئین‌هایی بکار برد که برای بررسی با NMR بسیار بزرگ هستند.

رزونانس مغناطیسی هسته

یک روش تکمیلی مهم برای تعیین ساختمان‌های سه بُعدی ماکروملکول‌ها، رزونانس مغناطیسی هسته (Nuclear Magnetic Resonance; NMR) می‌باشد. فن‌آوری‌های امروزی NMR برای تعیین ساختمان‌های ماکروملکول‌هایی نظیر کربوهیدراتها، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌های دارای اندازه کوچک و متوسط بکار می‌روند. یکی از مزایای مطالعه به روش NMR آن است که می‌توان آن را بر روی ماکروملکول‌های موجود در محلول انجام داد، درحالیکه کریستالوگرافی اشعه-x محدود به ملکول‌هایی می‌باشد که می‌توانند کریستالیزه گردند. NMR همچنین می‌تواند ساختمان دینامیک پروتئین، از جمله تغییرات کونفورماسیونی، تاشدن پروتئینی و واکنش‌های متقابل با سایر ملکول‌ها، را نشان دهد.

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۶ (ادامه)



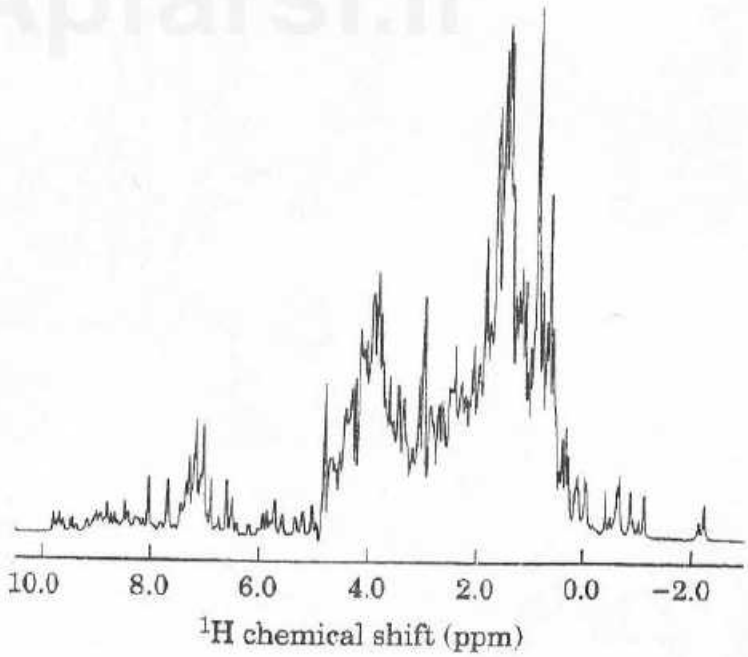
شکل ۱. مراحل تعیین ساختمان میوگلوبین نهنگ دریایی بوسیله کریستالوگرافی اشعه-x **(a)** الگوهای انکسار اشعه-x حاصل از کریستال این پروتئین. **(b)** اطلاعات استخراج‌شده از الگوهای انکساری برای محاسبه نقشه سه بُعدی چگالی-الکترونی این پروتئین بکار می‌رود. چگالی الکترونی تنها یک قسمت، بنام هم، نشان داده شده است. (c) نواحی با چگالی الکترونی بیشتر، موقعیت هسته اتم‌ها را نشان داده و این اطلاعات برای ایجاد ساختمان نهایی بکار می‌رود. در اینجا، ساختمان هم بصورت نقشه چگالی-الکترونی نمایش داده شده است. **(d)** ساختمان کامل‌شده میوگلوبین نهنگ دریایی، شامل هم.

NMR تجلی مومنتوم چرخشی هسته، یا خاصیت مکانیکی کوآنتومی هسته‌های اتمی، می‌باشد. تنها بعضی از اتم‌ها، شامل ^{1}H، ^{13}C، ^{15}N، ^{19}F و ^{31}P دارای نوعی چرخش هسته‌ای هستند که منجر به تولید سیگنال NMR می‌گردند. چرخش هسته‌ای سبب تولید یک دوقطبی مغناطیسی می‌شود. وقتی یک میدان مغناطیسی قوی در محلول حاوی یک نوع ماکرومولکول مورد استفاده قرار می‌گیرد، دوقطبی‌های مغناطیسی در این میدان با دو جهت همسو (با انرژی پایین) یا ناهمسو (با انرژی بالا) صف‌آرایی می‌نمایند. یک پالس کوتاه (حدود $10\ \mu s$) از انرژی الکترومغناطیسی دارای فرکانس مناسب (فرکانس رزونانت که در دامنه فرکانس رادیوئی است) با زوایای قائمه به هسته‌های به صف‌درآمده در این میدان مغناطیسی داده می‌شود. با تبدیل هسته‌ها به حالت پرانرژی، مقداری انرژی جذب شده و طیف جذبی حاصل، حاوی اطلاعاتی در مورد هویت هسته‌ها و محیط شیمیایی اطراف آنها می‌باشد. میانگین نتایج این آزمایشات گرفته شده نسبت سیگنال به نویز (سیگنال زمینه‌ای موجود) افزایش داده شده و یک طیف NMR مشابه شکل ۲ ایجاد می‌گردد.

^{1}H بخصوص در آزمایشات NMR مهم می‌باشد، زیرا حساسیت

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۶ (ادامه)



شکل ۲. یک طیف تک‌بُعدی NMR گلوبینی از یک کرم آبزی. این پروتئین و میوگلوبین نهنگ دریایی، آنالوگهای ساختمانی بسیار مشابهی می‌باشند که متعلق به یک خانواده ساختمان پروتئینی بوده و هر دو در انتقال اکسیژن نقش دارند.

بالائی داشته و به فراوانی وجود دارد. در مورد ماکروملکول‌ها، طیف ^{1}H NMR می‌تواند کاملاً پیچیده باشد. حتی یک پروتئین کوچک دارای صدها اتم ^{1}H بوده که منجر به ایجاد یک طیف NMR تک‌بُعدی می‌گردد که برای تجزیه و تحلیل، پیچیده خواهد بود. با ابداع فن‌آوری‌های دوبُعدی NMR (شکل ۳)، تجزیه و تحلیل ساختمانی پروتئین‌ها ممکن شده است. این روش‌ها امکان اندازه‌گیری جفت‌شدن وابسته به فاصله چرخش‌های هسته‌ای موجود در اتم‌های مجاور از طریق فضا (nuclear Overhauser effect; NOE) در روشی بنام (NOESY) یا جفت‌شدن چرخش‌های هسته‌ای در اتم‌های متصل به یکدیگر با پیوندهای کووالان (Total Correlation Spectroscopy; TOCSY) را ممکن ساخته‌اند.

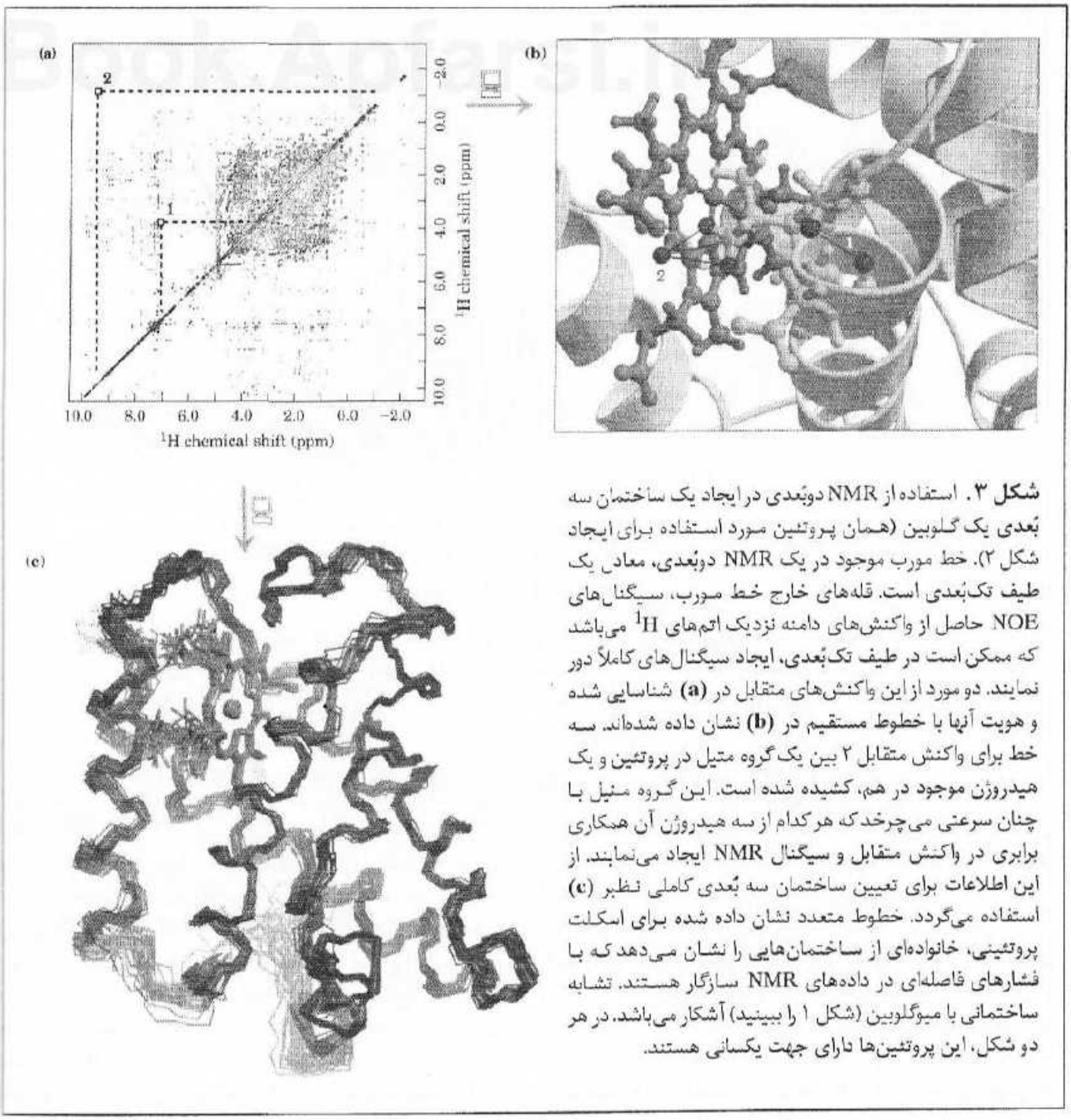
تبدیل یک طیف دوبُعدی NMR به ساختمان سه بُعدی کامل می‌تواند فرایند دشواری باشد. سیگنال‌های NOE اطلاعاتی را در مورد فواصل موجود در بین اتم‌ها فراهم می‌آورد، ولی برای قابل استفاده بودن این فواصل، لازم است اتم‌های ایجادکننده هر سیگنال شناسایی شوند. آزمایشات تکمیلی TOCSY می‌تواند به تشخیص سیگنال‌های NOE مربوط به اتم‌هایی کمک نماید که توسط پیوندهای کووالان به یکدیگر متصل شده‌اند. بعضی الگوهای سیگنالی NOE با ساختمان‌های دومی نظیر مارپیچ‌های α مرتبط هستند. از مهندسی ژنتیک امروزی (فصل ۲۹) می‌توان برای تهیه پروتئین‌هایی استفاده نمود که دارای ایزوتوپ‌های نادر ^{13}C و ^{15}N هستند. سیگنال‌های تنظیم خودکار NMR حاصل از این اتم‌ها و جفت‌شدن آنها با سیگنال‌های ^{1}H حاصل از این جایگزینی‌ها، در تعیین سیگنال‌های خاص ^{1}H NOE کمک‌کننده هستند. دانستن توالی اسید آمینه‌ای پروتئین نیز به این فرایند کمک می‌نماید.

برای ایجاد یک ساختمان سه بُعدی، فشارهای فاصله‌ای، همراه با فشارهای هندسی نظیر کایرالیتی، شعاع‌های واندروالس و طول و زوایای پیوند، به یک کامپیوتر داده می‌شود. کامپیوتر خانواده‌ای از ساختمان‌های وابسته را ایجاد می‌نماید که دامنه کونفورماسیون‌های سازگار با فشارهای فاصله‌ای NOE را نشان می‌دهند (شکل ۳c). ابهام در ساختمان‌های ایجادشده توسط NMR تا حدودی به دلیل نوسانات (تنفس) ملکولی در داخل یک ساختمان پروتئینی موجود در محلول می‌باشد که با جزئیات بیشتر در فصل ۷ مورد بحث قرار می‌گیرد. ابهام آزمایشی طبیعی نیز می‌تواند مؤثر باشد.

وقتی یک ساختمان پروتئینی توسط کریستالوگرافی اشعه-x و NMR تعیین می‌گردد، عموماً ساختمان‌های حاصل بخوبی موافق می‌باشند. در بعضی موارد، موقعیت‌های دقیق زنجیرهای جانبی خاص اسید آمینه‌ای در قسمت خارجی پروتئین متفاوت می‌باشند. این اختلاف به خاطر اثرات ناشی از فشردگی ملکول‌های پروتئین مجاور در یک کریستال است. این دو فن‌آوری با یکدیگر اساس افزایش سریع دسترسی به اطلاعات ساختمانی ماکروملکول‌های سلول‌های زنده می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۶ (ادامه)

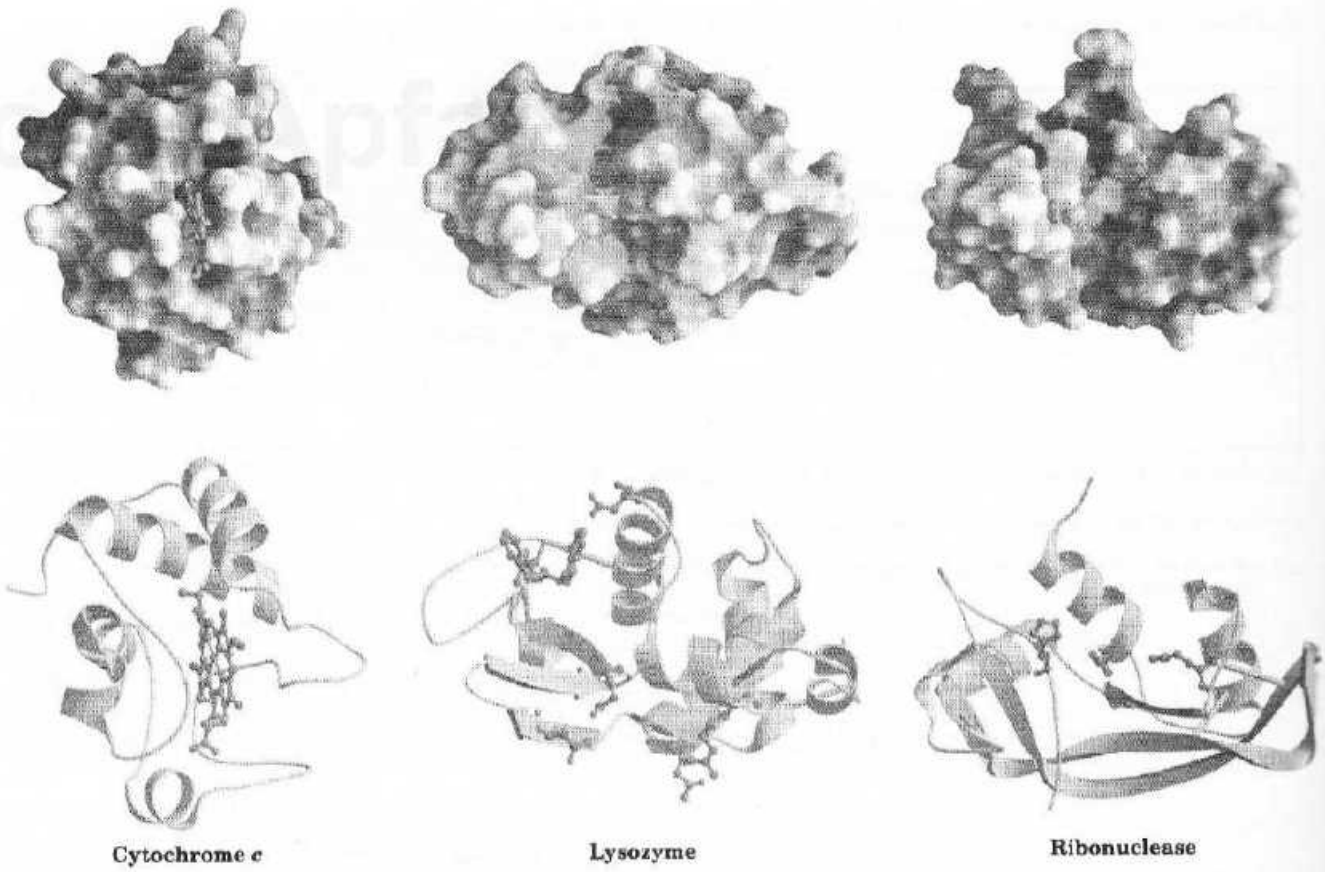


شکل ۳. استفاده از NMR دوبُعدی در ایجاد یک ساختمان سه بُعدی یک گلوبین (همان پروتئین مورد استفاده برای ایجاد شکل ۲). خط مورب موجود در یک NMR دوبُعدی، معادل یک طیف تک‌بُعدی است. قله‌های خارج خط مورب، سیگنال‌های NOE حاصل از واکنش‌های دامنه نزدیک اتم‌های ^{1}H می‌باشد که ممکن است در طیف تک‌بُعدی، ایجاد سیگنال‌های کاملاً دور نمایند. دو مورد از این واکنش‌های متقابل در **(a)** شناسایی شده و هویت آنها با خطوط مستقیم در **(b)** نشان داده شده‌اند. سه خط برای واکنش متقابل ۲ بین یک گروه متیل در پروتئین و یک هیدروژن موجود در هم، کشیده شده است. این گروه متیل با چنان سرعتی می‌چرخد که هر کدام از سه هیدروژن آن همکاری برابری در واکنش متقابل و سیگنال NMR ایجاد می‌نمایند. از این اطلاعات برای تعیین ساختمان سه بُعدی کاملی نظیر **(c)** استفاده می‌گردد. خطوط متعدد نشان داده شده برای اسکلت پروتئینی، خانواده‌ای از ساختمان‌هایی را نشان می‌دهد که با فشارهای فاصله‌ای در داده‌های NMR سازگار هستند. تشابه ساختمانی با میوگلوبین (شکل ۱ را ببینید) آشکار می‌باشد. در هر دو شکل، این پروتئین‌ها دارای جهت یکسانی هستند.

زنجیر میوگلوبین، بصورت قطعات مارپیچی α وجود دارد. بقیه زنجیر سیتوکروم c دارای پیچ‌های β و قطعات فنری نامنظم و امتدادیافته می‌باشد.

لیزوزیم (وزن‌ملکولی ۱۴,۶۰۰) آنزیمی است که به فراوانی در سفیده تخم‌مرغ و اشک انسان وجود داشته و تجزیه هیدرولیتیک پلی‌ساکاریدهای موجود در دیواره‌های سلولی بعضی خانواده‌های باکتریایی را کاتالیز می‌نماید. لیزوزیم به دلیل آنکه می‌تواند سبب لیز یا تخریب دیواره سلول باکتری گردد، به عنوان یک عامل باکتری‌کش عمل می‌نماید. همانند سیتوکروم c، حدود ۴۰٪ از ۱۲۹ ریشه اسید آمینه به‌صورت قطعات مارپیچی α وجود داشته ولی آرایش آن متفاوت بوده و مقداری ساختمان صفحه β نیز دیده می‌شود (شکل ۱۸-۶). چهار پیوند دی‌سولفیدی در پایداری این ساختمان نقش دارد. مارپیچ‌های α در داخل یک شکاف طویل در سمتی از ملکول بنام جایگاه فعال

Book Anfarsi.ir



شکل ۱۸-۶ [شکل ۱۱ ضمیمه رنگی]. ساختمان‌های سه بُعدی چند پروتئین کوچک. در اینجا سیتوکروم c، لیزوزیم و ریبونوکلئاز نشان داده شده‌اند. گروه‌های عامل کلیدی (هم در سیتوکروم c زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه در جایگاه فعال لیزوزیم و ریبونوکلئاز) به رنگ قرمز نشان داده شده‌اند. پیوندهای دی‌سولفیدی رنگ زرد دارند. هر کدام از این پروتئین‌ها بصورت سطحی و روبانی، با یک جهت، نشان داده شده‌اند. در نمایش‌های روبانی، نواحی کونفورماسیون β با پیکان‌های پهن و مارپیچ‌های α به‌صورت روبان‌های فنری مشخص شده‌اند.

وجود داشته که محل اتصال سوبسترا و کاتالیز می‌باشد. پلی‌ساکارید باکتریایی که سوبسترای لیزوزیم می‌باشد، در داخل این شکاف قرار می‌گیرد.

ریبونوکلئاز، پروتئین کروی کوچک دیگر (وزن‌ملکولی ۱۳،۷۰۰)، آنزیمی است که توسط پانکراس بداخل روده کوچک ترشح شده و در آنجا هیدرولیز بعضی از پیوندهای موجود در اسیدهای نوکلئیک مواد غذایی را کاتالیز می‌نماید. ساختمان سوم این پروتئین که توسط تجزیه اشعه-x تعیین شده است، نشان می‌دهد که قسمت کمی از این زنجیر پلی‌پپتیدی ۱۲۴ اسید آمینه‌ای، بصورت کونفورماسیون مارپیچی α بوده ولی دارای قطعات متعددی با کونفورماسیون β می‌باشد (شکل ۱۸-۶). همانند لیزوزیم، ریبونوکلئاز دارای چهار پیوند دی‌سولفیدی بین قوس‌های زنجیر پلی‌پپتیدی است.

در پروتئین‌های کوچک، احتمال کمتری وجود دارد تا ریشه‌های آبگریز به یک قسمت داخلی آبگریز پناه ببرند؛ هر چه پروتئین کوچکتر باشد، نسبت حجم به سطح کمتر خواهد بود. پروتئین‌های کوچک همچنین دارای پتانسیل کمتر ایجاد واکنش‌های متقابل برای تثبیت آنها می‌باشند. این موضوع نشان می‌دهد که چرا بسیاری از پروتئین‌های کوچکتر، نظیر انواع نشان داده شده در شکل ۱۸-۶، توسط چند پیوند کووالان پایدار می‌گردند. برای مثال، لیزوزیم و ریبونوکلئاز دارای اتصالات دی‌سولفیدی بوده و گروه هم در سیتوکروم c با پیوند کووالان از دو سمت به زنجیر پلی‌پپتیدی اتصال یافته و سبب پایداری قابل‌توجه کل ساختمان پروتئینی می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir

جدول ۲-۶ نسبت‌های مارپیچ α و کونفورماسیون β (بیان‌شده بصورت درصد ریشه‌ها در هر ساختمان دوم) را در چندین پروتئین کروی تک زنجیره‌ای کوچک نشان می‌دهد. هر کدام از این پروتئین‌ها دارای ساختمان متفاوتی هستند که منطبق بر فعالیت بیولوژیک خاص آنها بوده، ولی در کل دارای چند خصوصیت مشترک مهم می‌باشند. هر کدام از این پروتئین‌ها به‌طورکامل تاشده و در هر مورد زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه آبگریز در جهت داخل ملکول (دور از آب) و زنجیرهای جانبی آبدوست در سطح قرار دارند. این ساختمان‌ها همچنین توسط پیوندهای هیدروژنی متعدد و چندین واکنش متقابل یونی پایدار می‌شوند.

جدول ۲-۶. مقادیر تقریبی مارپیچ α و کونفورماسیون β در تعدادی از پروتئین‌های تک زنجیره‌ای*

پروتئین (کل ریشه‌ها)	ریشه (٪) مارپیچ α	کونفورماسیون β
کیموتریپسین (۲۴۷)	۱۴	۴۵
ریبونوکلئاز (۱۲۴)	۲۶	۳۵
کربوکسی‌پپتیداز (۳۰۷)	۳۸	۱۷
سیتوکروم c (۱۰۴)	۳۹	۰
لیزوزیم (۱۲۹)	۴۰	۱۲
میوگلوبین (۱۵۳)	۷۸	۰

* قسمت‌هائی از زنجیرهای پلی‌پپتیدی که به صورت مارپیچ α یا کونفورماسیون β نیستند، به شکل خمیدگی‌ها و قطعات نامنظم فنری یا امتدادیافته می‌باشند. گاهی قطعات مارپیچ α و کونفورماسیون β قدری از ابعاد و هندسه طبیعی منحرف می‌شوند.

بررسی بسیاری از پروتئین‌های کروی، الگوهای ساختمانی مشترکی را آشکار می‌نماید

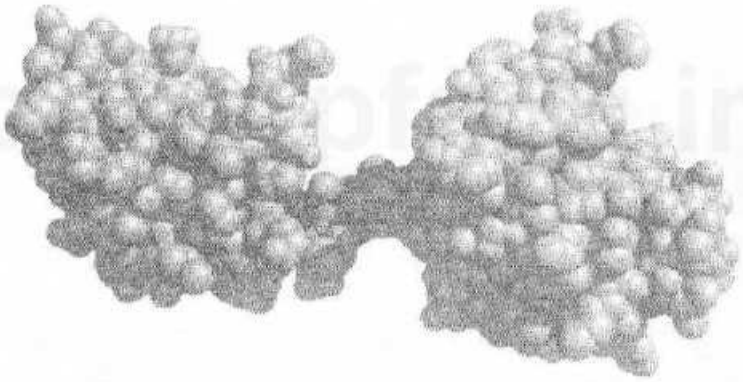
برای دانشجویان تازه‌کار، بهترین روش فراگیری ساختمان‌های سوم بسیار پیچیدهٔ بزرگتر از انواع موجود در شکل ۱۸-۶، تمرکز بر روی الگوهای ساختمانی است که در پروتئین‌های مختلف و اغلب غیروابسته وجود دارند. ساختمان سه بُعدی یک پروتئین کروی شاخص را می‌توان بصورت همایشی از قطعات پلی‌پپتیدی با کونفورماسیون‌های مارپیچ α و صفحه β در نظر گرفت که توسط قطعات اتصالی به یکدیگر متصل شده‌اند. این ساختمان را می‌توان بوسیله تعریف نحوه انباشتن این قطعات بر روی یکدیگر و نحوه آرایش قطعات اتصالی، شرح داد. این امر پایگاه‌های اطلاعاتی را فراهم می‌آورد که امکان مقایسه ساختمان‌های پروتئینی را فراهم نموده و پایگاه‌های اطلاعاتی دیگر مورد استفاده برای مقایسه توالی‌های پروتئینی را تکمیل می‌نمایند.

شناخت یک ساختمان سه بُعدی کامل براساس تجزیه و تحلیل قسمت‌های مختلف آن به انجام می‌رسد. ابتدا اصطلاحاتی مطرح می‌گردد که برای شرح تحت‌ساختمان‌های[1] پروتئینی مورد استفاده قرار می‌گیرند، سپس به قواعد تاشدن برمی گردیم که از بررسی ساختمان بسیاری از پروتئین‌ها بدست می‌آیند.

ساختمان‌های فوق‌دوم[2] که **موتیف**[3] یا به‌طورساده خمیدگی[4] نامیده می‌شوند، آرایش‌های بخصوص پایدار عناصر متعدد ساختمان دوم و اتصالات بین آنها می‌باشند. هیچ توافق همگانی بین بیوشیمیدان‌ها در استفاده از این سه اصطلاح وجود نداشته و اغلب بجای یکدیگر مورد استفاده قرار می‌گیرند. این اصطلاحات همچنین برای دامنه وسیعی از ساختمان‌ها بکار می‌روند. موتیف‌های شناخته‌شده از انواع ساده تا انواع پیچیده متفاوت بوده و گاهی در داخل واحدهای تکراری یا ترکیبات آنها دیده می‌شوند. یک موتیف بزرگ ممکن است کل یک پروتئین را شامل

1- Substructures 2- Supersecondary strustures 3- Motif
4- Fold

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۹-۶ [شکل ۱۲ ضمیمه رنگی]. دومن‌های ساختمانی موجود در تروپونین C. این پروتئین اتصالی کلسیم که در عضلات وجود دارد، دارای دومن‌های مجزا اتصالی کلسیم می‌باشد که با رنگ‌های آبی و ارغوانی نمایش داده شده‌اند.

شود. تاکنون با یک موتیف بخوبی مطالعه‌شده، یعنی فنر فنری‌شده کراتین α آشنا شده‌ایم که در تعدادی دیگر از پروتئین‌ها نیز یافت می‌شود.

پلی‌پپتیدهای دارای بیش از چند صد ریشه اسید آمینه که به دو یا چند واحد کروی پایدار تا می‌شوند را دومن[1] گویند. در بسیاری از موارد، یک دومن از یک پروتئین بزرگ، حتی بعد از جداسازی آن از بقیه زنجیر پلی‌پپتیدی (برای مثال، با شکست پروتئولیتیک)، ساختمان صحیح سه بُعدی خود را حفظ می‌نماید. ممکن است بنظر برسد که در پروتئینی با دومن‌های متعدد، هر دومن دارای یک لوب کروی مجزا می‌باشد (شکل ۱۹-۶)، ولی معمولاً تماس‌های وسیع موجود در بین دومن‌ها، مشاهده تک تک دومن‌ها را مشکل می‌سازد. دومن‌های مختلف، اغلب دارای اعمال متفاوتی، نظیر اتصال به ملکول‌های کوچک یا واکنش متقابل با سایر پروتئین‌ها، هستند. پروتئین‌های کوچک معمولاً تنها یک دومن دارند (این دومن خود پروتئین می‌باشد).

تاشدن پلی‌پپتیدها در معرض یک دسته فشارهای فیزیکی و شیمیایی می‌باشد. درنظر گرفتن چند قاعده برجسته مربوط به تاشدن، معرفی چند موتیف ساده را ممکن نموده است.

۱) واکنش‌های متقابل آبگریز همکاری زیادی در پایداری ساختمان‌های پروتئینی دارند. برای تدفین گروه‌های R اسیدهای آمینه آبگریز، جهت دوری آنها از آب، نیاز به حداقل دولایه ساختمان دوم می‌باشد. این دو لایه توسط دو موتیف ساده، شامل **قوس** $\beta-\alpha-\beta$[2] و **گوشه** $\alpha-\alpha$[3] (شکل ۲۰a-۶)، ساخته می‌شود.

۲) وقتی مارپیچ‌های α و صفحات β هر دو با یکدیگر در پروتئین‌ها وجود دارند، در لایه‌های مختلف ساختمانی قرارخواهند گرفت. زیرا اسکلت یک قطعه پلی‌پپتیدی با کونفورماسیون β (شکل ۷-۶) نمی‌تواند براحتی با یک مارپیچ α موجود در کنار آن ایجاد پیوند هیدروژنی نماید.

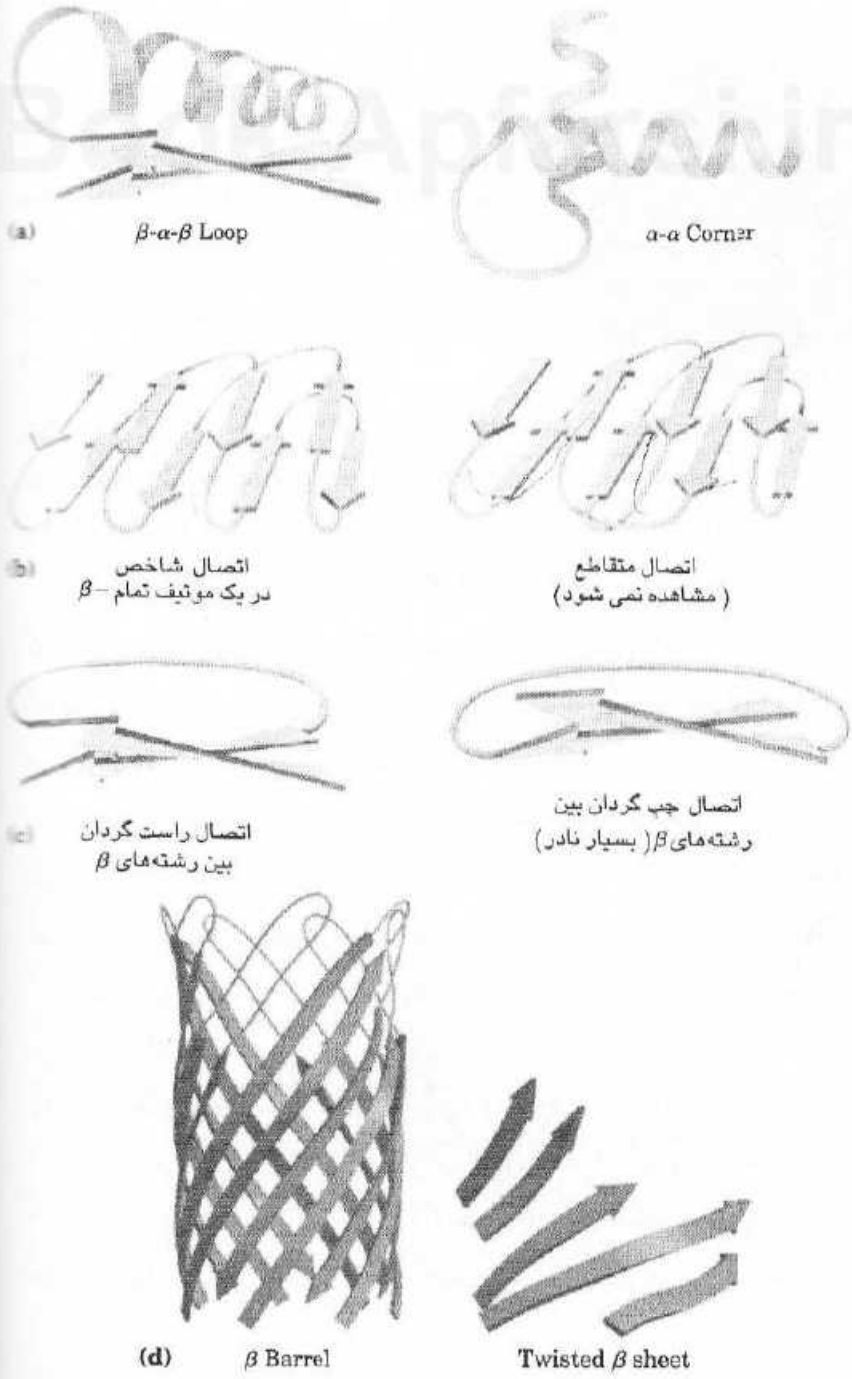
۳) قطعات پلی‌پپتیدی که در ساختمان اول مجاور یکدیگر قرار دارند، معمولاً در ساختمان تاشده، بصورت فشرده در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. هرچند، قطعات دور موجود در یک پلی‌پپتید ممکن است در ساختمان سوم در کنار یکدیگر قرار گیرند، ولی این معمول نمی‌باشد.

۴) اتصالات موجود در بین عناصر ساختمان دوم نمی‌توانند به یکدیگر متصل شده و ایجاد گره نمایند.

۵) وقتی هر قطعه قدری در جهت راست‌گردان بچرخد، کونفورماسیون β بیشترین پایداری را بدست می‌آورد. این امر بر روی آرایش صفحات β نسبت به یکدیگر و مسیر اتصال پلی‌پپتیدی آنها تأثیر می‌گذارد. برای مثال، دو رشته موازی β می‌بایست توسط یک رشته متقاطع به یکدیگر متصل گردند (شکل ۲۰c-۶). اساساً این اتصال متقاطع دارای یک کونفورماسیون راست‌گردان یا چپ‌گردان می‌باشد. اتصالات راست‌گردان تمایل دارند که از اتصالات

1- Domain 2- $\beta-\alpha-\beta$ loop 3- $\alpha-\alpha$ corner

Book.Apfarsi.ir



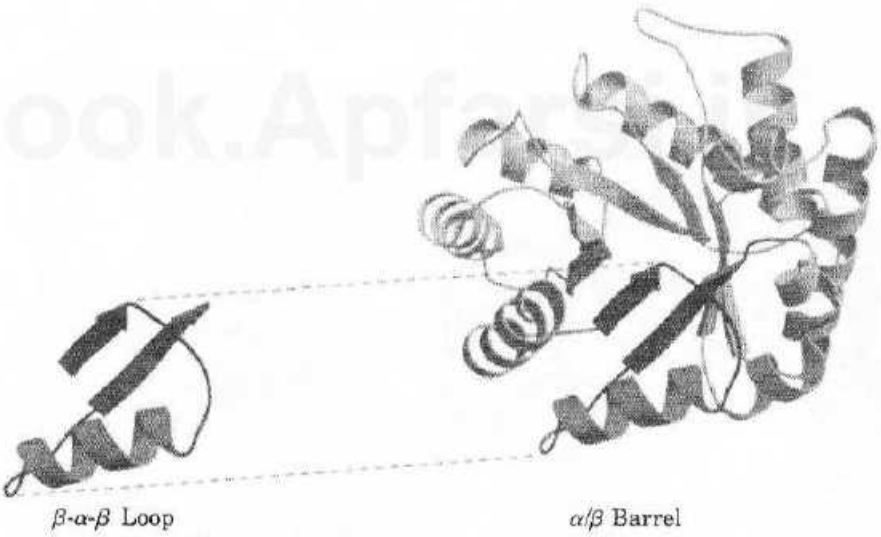
شکل ۲۰-۶. الگوهای پایدار تاشدن در پروتئین‌ها. (a) دو موتیف ساده معمولی که دو لایه ساختمان دوم ایجاد می‌نمایند. زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه موجود در حدفاصل عناصر ساختمان دوم از آب به دور می‌باشند. توجه کنید که رشته‌های β در قوس β - α - β تمایل دارند که به طریق راست‌گردان بچرخند. **(b)** اتصالات موجود در بین رشته‌های β در صفحات β لایه‌ای. این رشته‌ها از یک انتها نشان داده شده‌اند و هیچ چرخشی در این شکل وجود ندارد. اتصالات ضخیم مربوط به نزدیکترین انتهاها به بیننده بوده و اتصالات نازک مربوط به انتهاهای دورتر می‌باشند. اتصالات موجود در یک انتهای خاص (مثلاً نزدیک به بیننده)، از روی یکدیگر عبور نمی‌نمایند. **(c)** به خاطر پیچش در رشته‌های β اتصالات بین رشته‌ها عموماً راست‌گردان می‌باشند. اتصالات چپ‌گردان می‌بایست زوایای عبوری تیزتری داشته باشند و ایجاد آنها مشکل‌تر است. **(d)** دو آرایش رشته‌ای β به خاطر داشتن تمایل رشته‌ها به پیچش، پایدار می‌گردند. این لوله β یک دومن واحد از α-هموگلوبین باکتری *Staphylococcus aureus* می‌باشد. صفحه β پیچیده، از یک دومن فتولیاز *E. coli* است.

چپ‌گردان کوتاهتر باشند و با زوایای کوچکتری خم شوند؛ از اینرو تولید آنها ساده‌تر می‌باشد. وقتی قطعات زیادی در کنار یکدیگر قرار داده می‌شوند، پیچش صفحات β نیز منجر به پیچش مشخصی در ساختمان حاصل می‌گردد. دو مثال از ساختمان‌های حاصل لوله β[1] و صفحه β پیچیده[2] (شکل ۲۰d-۶) می‌باشد که هسته بسیاری از ساختمان‌های بزرگتر را ایجاد می‌نمایند.

با استفاده از این قواعد، موتیف‌های پیچیده را می‌توان از انواع ساده‌تر ایجاد نمود. برای مثال، یک سری قوس‌های β - α - β[3]، با آرایش ایجادکننده یک لوله، ساختمان پایداری را ایجاد می‌نمایند و این موتیف معمول با **لوله** α / β[4] نامند (شکل ۲۱-۶). در این ساختمان، هر قطعه β موازی، توسط یک قطعه مارپیچی α به قطعه مجاور خود اتصال می‌یابد. تمامی اتصالات راست‌گردان می‌باشند. لوله α / β در بسیاری از آنزیم‌ها، و اغلب همراه با یک

1- β Barrel 2- Twisted β sheet 3- β − α − β Loops 4-α/β Barrel

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۱-۶. ساخته‌شدن موتیفهای بزرگ از انواع کوچک. لوله α/β یک موتیف معمولی می‌باشد که از تکرار موتیف ساده‌تر قوس β-α-β ایجاد می‌گردد. این لوله α/β دومنی از آنزیم پیروات کیناز خرگوش است.

جایگاه اتصالی برای یک کوفکتور و یا سوبسترا به شکل یک پاکت در نزدیکی انتهای لوله، دیده می‌شود. توجه داشته باشید که دومن‌هایی که الگوهای تاشدن مشابهی را نشان می‌دهند، گفته می‌شود که دارای موتیف مشابهی هستند، هر چند اگر اجزاء سازنده مارپیچ‌های α و صفحات β آنها ممکن است از نظر طول متفاوت باشند.

موتیف‌های پروتئینی اساس طبقه‌بندی ساختمانی پروتئین هستند

همانطور که دیدیم، با در نظر گرفتن تحت‌ساختمان‌ها، پیچیدگی‌های ساختمان سوم کاهش می‌یابد. برای توجه بیشتر به این موضوع، محققین محتویات کامل پایگاه‌های اطلاعاتی را برحسب سلسله مراتب سطوح ساختمانی، سازماندهی کرده‌اند. پایگاه اطلاعاتی «طبقه‌بندی ساختمانی پروتئین‌ها[1]» (SCOP)، مثال خوبی از این حرکت بسیار مهم در بیوشیمی می‌باشد. در بالاترین سطح طبقه‌بندی، پایگاه اطلاعاتی SCOP طرحی با کاربرد معمول را اقتباس می‌نماید که در آن ساختمان‌های پروتئینی به چهار کلاس تقسیم می‌شوند: همه α، همه β، α/β (که در آن قطعات α و β در بین یکدیگر قرار دارند) و $\alpha+\beta$ (که در آن نواحی α و β قدری از یکدیگر جدا می‌باشند) (شکل ۲۲-۶). در داخل هر کلاس دهها تا صدها آرایش متفاوت تاشدن وجود داشته که از تحت‌ساختمان‌های قابل‌شناسایی روبه فزونی ساخته می‌شوند. بعضی از آرایش‌های تحت‌ساختمانی بسیار معمول بوده، در حالی که مواردی از آنها تنها در یک پروتئین دیده می‌شوند. شکل ۲۲-۶ انواعی از موتیف‌ها را نشان می‌دهد که در این چهار کلاس ساختمان پروتئینی قرار دارند. انواعی که نشان داده شده‌اند، تنها نمونه کوچکی از صدها موتیف شناخته‌شده می‌باشند. هرچند، تعداد الگوهای تاشدن بی‌نهایت نمی‌باشد. با افزایش سرعت تشریح ساختمان‌های پروتئینی جدید، کسری از ساختمان‌های پروتئینی که حاوی موتیف جدید هستند، به‌طور پیوسته کاهش می‌یابد. ممکن است کمتر از ۱،۰۰۰ خمیدگی یا موتیف مختلف در تمامی پروتئین‌ها وجود داشته باشد. شکل ۲۲-۶ نشان می‌دهد که چطور پروتئین‌های واقعی می‌توانند براساس وجود موتیف‌هایی که تاکنون مورد بحث قرار داده‌ایم، سازماندهی شوند. دو سطح بالا، یعنی **کلاس** و **خمیدگی**، کاملاً ساختمانی هستند. در زیر این سطح، گروه‌بندی براساس ارتباطات تکاملی است.

گفته می‌شود پروتئین‌های دارای تشابه قابل‌توجه در توالی اولیه و یا دارای ساختمان و یا عملکرد مشابه قابل‌نمایش، در یک **خانواده** قرار دارند. معمولاً در داخل یک خانواده پروتئینی، یک ارتباط تکاملی قوی، آشکار

1- Structural Classification of Proteins

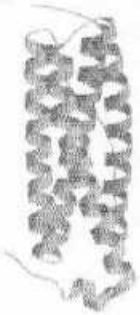
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

All α



1ao6
Serum albumin
Serum albumin
Serum albumin
Serum albumin
Human (*Homo sapiens*)



1bcf
Ferritin-like
Ferritin-like
Ferritin
Bacterioferritin (cytochrome b_1)
Escherichia coli



1gai
α/α toroid
Glycosyltransferases of the superhelical fold
Glucoamylase
Glucoamylase
Aspergillus awamori, variant x100



1enh
DNA-binding 3-helical bundle
Homeodomain-like
Homeodomain
engrailed Homeodomain
Drosophila melanogaster

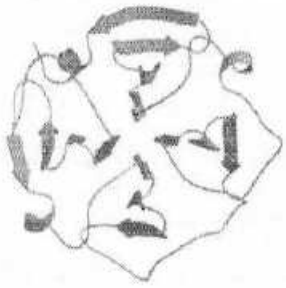
All β



1hoe
α-Amylase inhibitor
α-Amylase inhibitor
α-Amylase inhibitor
HOE-467A
Streptomyces tendae 4158



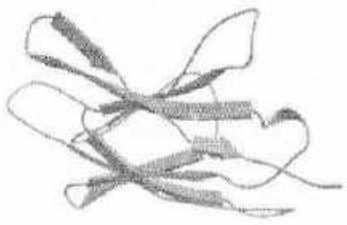
1lxa
Single-stranded left-handed β helix
Trimeric LpxA-like enzymes
UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
Escherichia coli



1pex
Four-bladed β propeller
Hemopexin-like domain
Hemopexin-like domain
Collagenase-3 (MMP-13), carboxyl-terminal domain
Human (*Homo sapiens*)

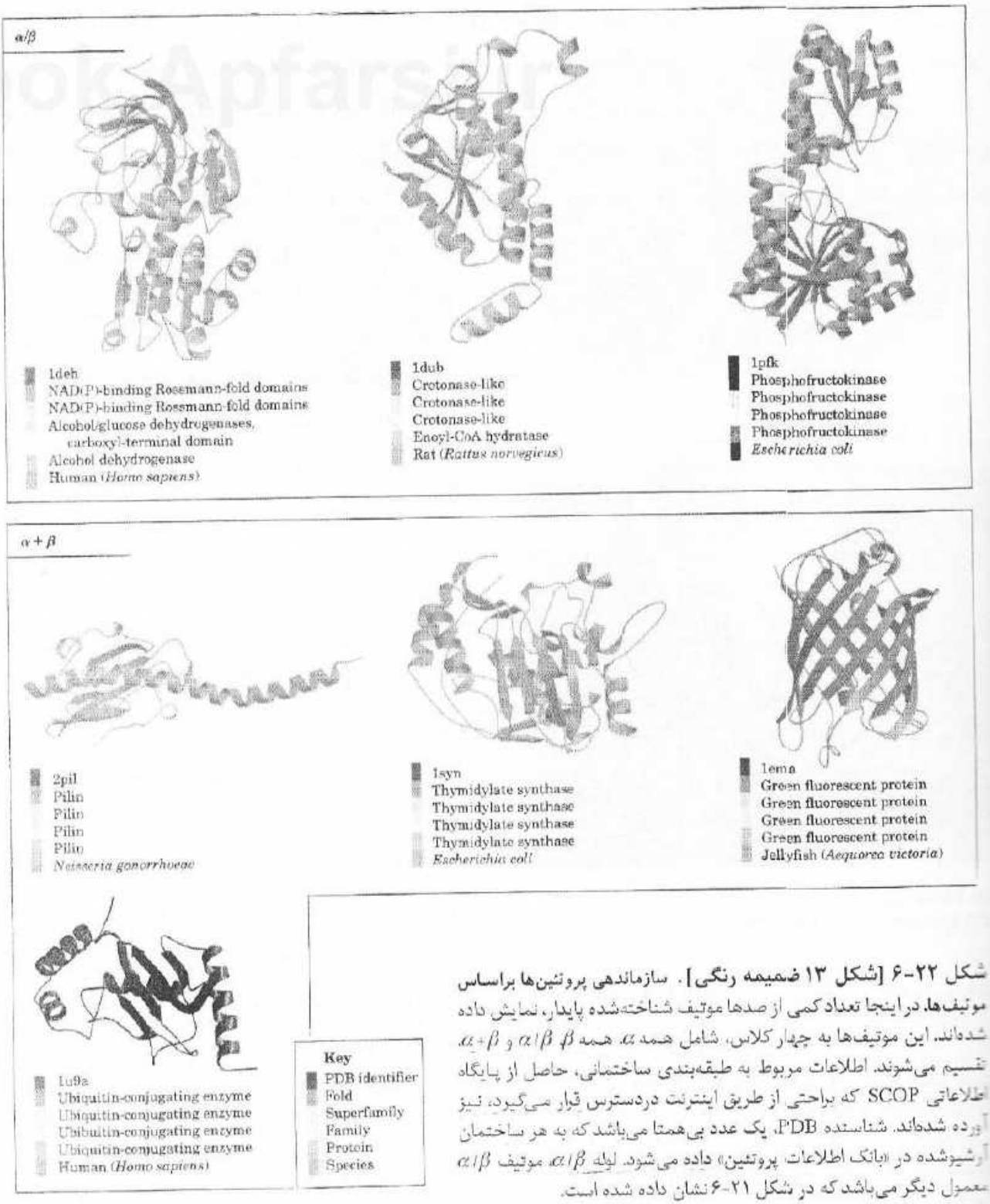


1jpc
β-Prism II
α-D-Mannose-specific plant lectins
α-D-Mannose-specific plant lectins
Lectin (agglutinin)
Snowdrop (*Galanthus nivalis*)



1cd8
Immunoglobulin-like β sandwich
Immunoglobulin
Antibody variable domain-like
CD8
Human (*Homo sapiens*)

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۲-۶ [شکل ۱۳ ضمیمه رنگی]. سازماندهی پروتئین‌ها براساس موتیف‌ها. در اینجا تعداد کمی از صدها موتیف شناخته‌شده پایدار، نمایش داده شده‌اند. این موتیف‌ها به چهار کلاس، شامل همه α، همه β، α/β و $\alpha+\beta$ تقسیم می‌شوند. اطلاعات مربوط به طبقه‌بندی ساختمانی، حاصل از پایگاه اطلاعاتی SCOP که براحتی از طریق اینترنت دردسترس قرار می‌گیرد، نیز آورده شده‌اند. شناسنده PDB، یک عدد بی‌همتا می‌باشد که به هر ساختمان آرشیوشده در «بانک اطلاعات پروتئین» داده می‌شود. لوله α/β موتیف معمول دیگر می‌باشد که در شکل ۲۱-۶ نشان داده شده است.

می‌باشد. برای مثال، خانواده گلوبین دارای پروتئین‌های مختلف متعددی است (نظیر پروتئین‌هایی که در مثال‌های کادر ۳-۶ مورد استفاده قرار گرفتند و یا مجدداً در فصل بعد مورد مطالعه قرار می‌گیرند) که از نظر ساختمانی و توالی مشابه میوگلوبین هستند.

دو یا چند خانواده دارای تشابه توالی ابتدایی کم، گاهی از یک موتیف ساختمانی اصلی استفاده نموده و دارای

Book.Apfarsi.ir

تشابهاتی در فعالیت هستند؛ این خانواده‌ها به عنوان **فوق‌خانواده‌ها**[1] طبقه‌بندی می‌شوند. یک ارتباط تکاملی بین خانواده‌های موجود در یک فوق خانواده، محتمل بنظر می‌رسد، حتی اگر تمایزات زمانی و عملکردی، و بنابراین فشارهای تطبیقی مختلف، بسیاری از ارتباطات مشخص‌کننده موجود در بین توالی‌ها را پاک کرده باشد.

مرتب‌های ساختمانی بخصوص در تعریف خانواده‌ها و فوق خانواده‌های پروتئینی مهم می‌باشند. بهبود طبقه‌بندی و سیستم‌های مقایسه‌ای پروتئین‌ها به‌طور غیرقابل‌اجتنابی منجر به شرح ارتباطات عملکردی جدید می‌گردد. با توجه به نقش مرکزی پروتئین‌ها در سیستم‌های زنده، این مقایسه‌های ساختمانی می‌توانند به روشن‌شدن بسیاری از طرائق بیوشیمی، از پیدایش پروتئین‌های خاص تا تاریخچه پیدایش مسیرهای متابولیکی کامل، کمک نماید.

ساختمان‌های چهارم پروتئینی متفاوت بوده و از دیمرهای ساده تا کمپلکس‌های بزرگ دیده می‌شوند



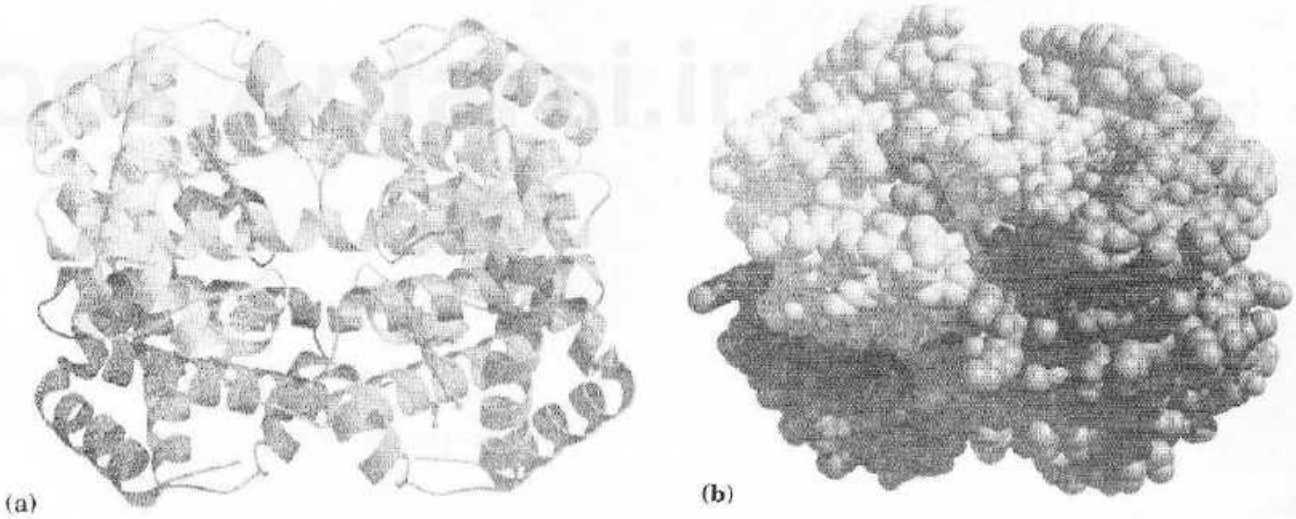
Max Perutz (left)
John Kendrew, 1917–1997 (right)

بسیاری از پروتئین‌ها از زیرواحدهای متعددی ساخته شده‌اند. با به‌هم‌پیوستن زنجیرهای پلی‌پپتیدی، اعمال مختلفی به انجام می‌رسد. بسیاری از پروتئین‌های چند زیرواحدی، دارای نقش‌های تنظیمی هستند؛ اتصال ملکول‌های کوچک ممکن است بر روی واکنش‌های متقابل بین زیرواحدها اثر گذاشته و منجر به تغییرات بزرگی در فعالیت پروتئین در پاسخ با تغییرات کوچک غلظت سوبسترا یا ملکول‌های تنظیمی گردد (فصل ۸). در موارد دیگر، زیرواحدهای مجزا می‌توانند اعمال مجزا ولی مرتبطی، نظیر کاتالیز و تنظیم، را انجام دهند. بعضی به‌هم‌پیوستن‌ها، نظیر پروتئین‌های فیبری که در ابتدای این فصل مورد بررسی قرار گرفتند و پروتئین‌های پوششی ویروس‌ها، اساساً دارای اعمال ساختمانی هستند. بعضی از همایش‌های پروتئینی بسیار بزرگ، جایگاه واکنش‌های مرکب چندمرحله‌ای می‌باشند. یکی از این نوع مثال‌ها، ریبوزوم‌ها هستند که از چندین دوجین زیرواحد پروتئینی همراه با تعدادی از ملکول‌های RNA ساختمانی تشکیل شده و محل سنتز پروتئین می‌باشند.

به یک پروتئین چندزیرواحدی، **مولتیمر** نیز اطلاق می‌گردد. پروتئین‌های مولتیمری می‌توانند از دو تا صدها زیرواحد تشکیل شده باشند. یک مولتیمر متشکل از تنها چند زیرواحد را اغلب **اولیگومر** گویند. در صورتی که مولتیمر از چند زیرواحد غیریکسان تشکیل شده باشد، ساختمان کلی پروتئین می‌تواند نامتقارن و کاملاً پیچیده باشد. هرچند، بیشتر مولتیمرهای دارای زیرواحدهای یکسان یا گروه‌های تکراری متشکل از زیرواحدهای غیریکسان، معمولاً دارای آرایش متقارن، می‌باشند. واحد ساختمانی تکراری در چنین پروتئین مولتیمری، چه به‌صورت تنها یک زیرواحد یا گروهی از زیرواحدها، را **پروتومر** گویند.

1- Superfamilies

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۶ [شکل ۱۴ ضمیمه رنگی]. ساختمان چهارم داکسی‌هموگلوبین. تجزیه و تحلیل انکسار اشعه-x داکسی‌هموگلوبین (هموگلوبین بدون ملکول‌های اکسیژن متصل به گروه‌های هم) نشان می‌دهد که چطور چهار زیرواحد پلی‌پپتیدی در کنار یکدیگر متراکم می‌گردند. **(a)** یک مدل فضاپرکن. زیرواحدهای α با رنگ خاکستری و آبی روشن و زیرواحدهای β با رنگ صورتی و آبی تیره، نشان داده شده‌اند. توجه کنید که گروه‌های هم (قرمز) نسبتاً از یکدیگر دور می‌باشند.

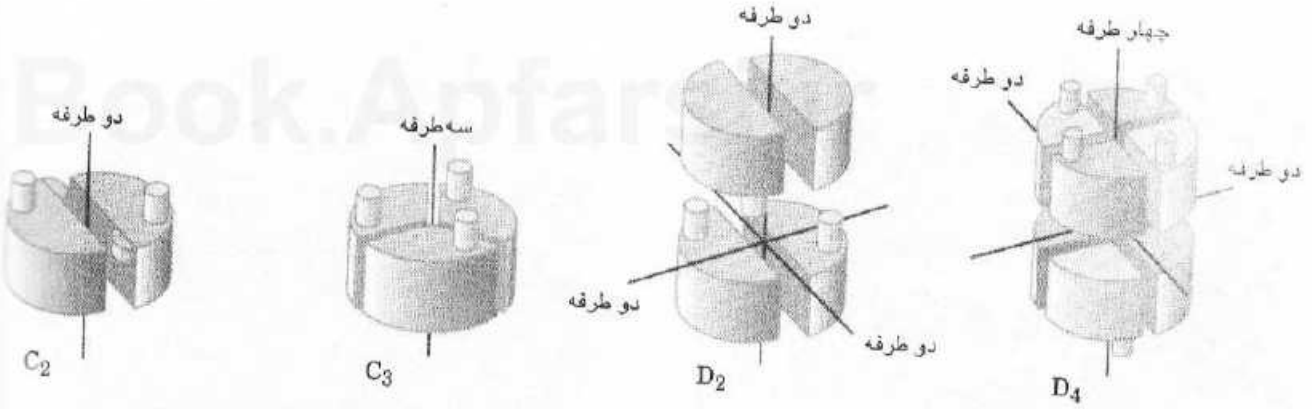
اولین پروتئین اولیگومری که ساختمان سه بُعدی آن تعیین گردید، هموگلوبین (وزن‌ملکولی ۶۴.۵۰۰) بود که از چهار زنجیر پلی‌پپتیدی و چهار گروه پروستتیک هم حاوی اتم‌های آهن به شکل فرو (Fe^{2+}) تشکیل شده است (شکل ۱۷-۶). قسمت پروتئینی، بنام گلوبین، از دو زنجیر α (هر کدام با ۱۴۱ اسید آمینه) و دو زنجیر β (هر کدام با ۱۴۶ اسید آمینه) تشکیل شده است. توجه داشته باشید که در این حالت، α و β اشاره‌ای به ساختمان دوم نمی‌کنند. چون هموگلوبین چهار برابر بزرگتر از میوگلوبین می‌باشد، برای تعیین ساختمان سه بُعدی آن با انکسار اشعه x نیاز به صرف زمان بیشتری بود که بالاخره توسط ماکس پروتز، جان کندرو و همکارانشان در سال ۱۹۵۹ تعیین گردید. زیرواحدهای هموگلوبین بصورت جفت‌های قرینه قرار گرفته (شکل ۲۳-۶) و هر جفت از یک زیرواحد α و یک زیرواحد β تشکیل می‌شود. بنابراین هموگلوبین را می‌توان بصورت یک ترامر و یا دیمری از پروتومرهای $\alpha\beta$ شرح داد.

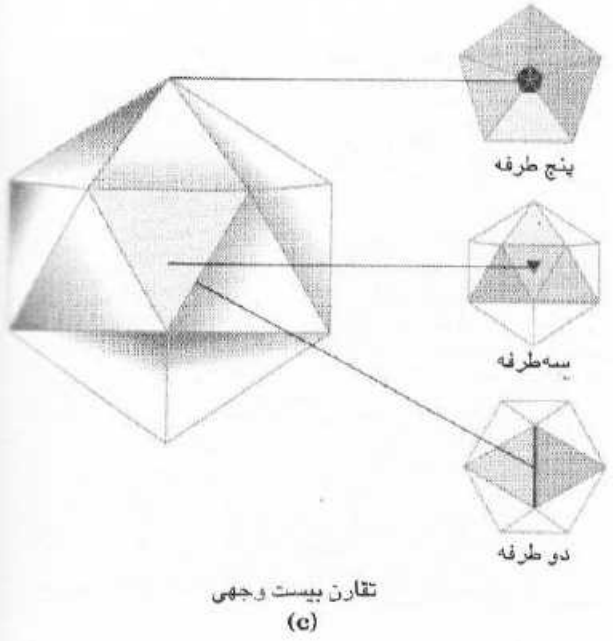
به‌طور کلی، زیرواحدهای مشابه پروتئین‌های مولتیمری در یک یا یک سری محدود از الگوهای قرینه آرایش می‌یابند. شرح ساختمان این پروتئین‌ها نیاز به شناخت قراردادهای مورد استفاده در تعریف تقارن‌ها دارد. اولیگومرها می‌توانند **تقارن چرخشی**[1] یا **تقارن مارپیچی**[2] داشته باشند؛ یعنی، هر کدام از زیرواحدها می‌توانند بوسیله چرخش حول یک یا چند محور چرخشی یا بوسیله یک چرخش مارپیچی، بر روی یکدیگر قرار گیرند. در پروتئین‌های دارای تقارن چرخشی، زیرواحدها حول محورهای چرخشی متراکم شده و ساختمان‌های بسته را ایجاد می‌نمایند. پروتئین‌های دارای تقارن مارپیچی تمایل به ایجاد ساختمان‌هایی دارند که در انتهاها بازتر بوده و زیرواحدها به شکل مارپیچی اضافه می‌گردند.

اشکال متعدد تقارن چرخشی وجود دارد. ساده‌ترین آنها، **تقارن حلقوی**[3] است که مستلزم چرخش حول یک محور می‌باشد (شکل ۲۴a-۶). وقتی زیرواحدها را می‌توان با چرخش حول یک محور بر روی یکدیگر قرار داد، این پروتئین دارای تقارنی است که طبق قرارداد بصورت C_n (C برای حلقوی، n برای تعداد زیرواحدهایی که توسط

1- Rotational symmetry 2- Helical symmetry 3- Cyclic symmetry

Book.Apfarsi.ir





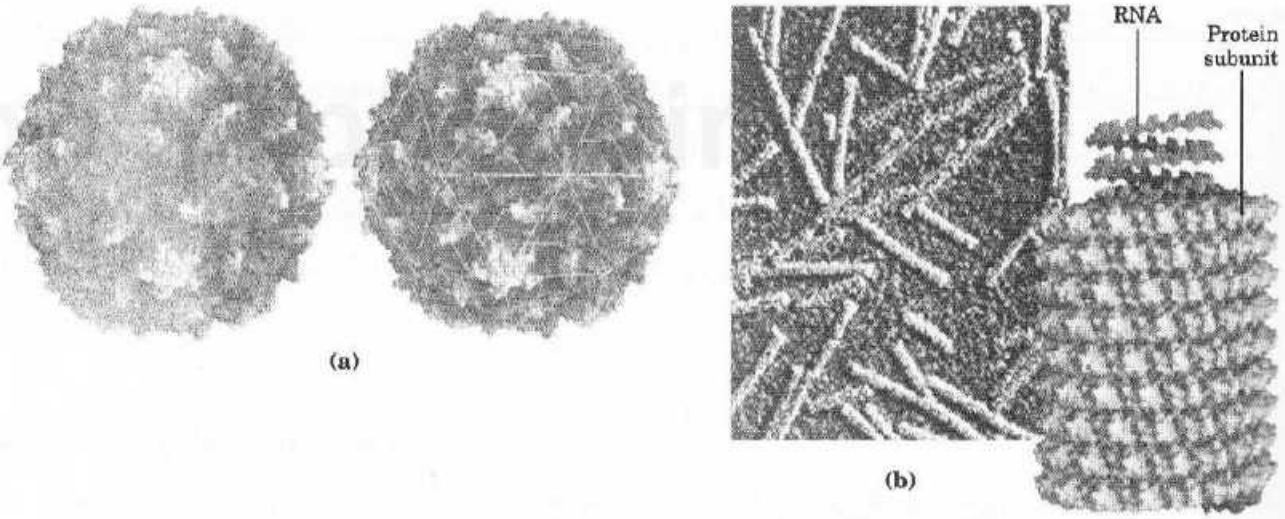
شکل ۲۴-۶. تقارن چرخشی در پروتئین‌ها. (a) در تقارن حلقوی، زیرواحدها با چرخش حول یک محور n طرفه با یکدیگر ارتباط دارند که در آن n تعداد زیرواحدهای مرتبط می‌باشد. محورها با خطوط تیره نشان داده شده‌اند؛ اعداد مقادیر n می‌باشند. (b) در تقارن دووجهی، تمامی زیرواحدها را می‌توان با چرخش حول یک یا هر دو محور، که یکی از آنها دوطرفه می‌باشد، به یکدیگر مرتبط نمود. تقارن D_2 معمولترین می‌باشد. (c) تقارن بیست‌وجهی. ارتباط‌دادن تمامی ۲۰ سمت مثلثی یک بیست وجهی نیاز به چرخش حول یک یا چند تا از سه محور چرخشی دارد: دوطرفه، سه‌طرفه و پنج‌طرفه. نمای انتهایی هر کدام از این محورها در سمت راست نشان داده شده است.

این محور با یکدیگر مرتبط می‌شوند) تعریف می‌گردد. خود این محور به عنوان یک محور چرخشی n طرفه بیان می‌گردد. پروتومرهای $\alpha\beta$ هموگلوبین (شکل ۲۳-۶) با یک تقارن C_2 با یکدیگر مرتبط می‌باشند. تقارن چرخشی با پیچیدگی بیشتر، **تقارن دووجهی**[1] می‌باشد که در آن یک محور چرخشی دو طرفه، سبب تقسیم یک محور n طرفه در زوایای قائمه می‌شود. این تقارن به‌صورت D_n تعریف می‌گردد (شکل b ۲۴-۶). پروتئینی با تقارن دووجهی دارای پروتومرهای $2n$ می‌باشد.

پروتئین‌های دارای تقارن حلقوی یا دووجهی، بخصوص معمول می‌باشند. وجود تقارن‌های چرخشی پیچیده‌تر ممکن بوده ولی تنها چند مورد آنها به‌طورمنظم مشاهده می‌گردند. تقارن بیست‌وجهی[2]، نمونه‌ای از این تقارن‌ها می‌باشد. یک بیست‌وجهی، یک چندوجهی منظم ۱۲ گوشه است که ۲۰ مثلث مساوی دارد (شکل ۲۴c-۶). هر بیست‌وجهی دارای سه محور چرخشی بوده و با چرخش حول یک یا چند مورد از این محورها، هر سمت این بیست‌وجهی می‌تواند منطبق بر دیگری شود. این ساختمان در پوشش‌های ویروسی یا کپسیدها معمول می‌باشد. پولیوویروس دارای یک کپسید بیست‌وجهی است (شکل ۲۵a-۶). هر مثلث از سه پروتومر تشکیل شده

1- Dihedral symmetry 2- Icosahedral symmetry

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۵-۶. کپسیدهای ویروسی. (a) پولیوویروس. پروتئین‌های پوششی پولیوویروس بصورت بیست‌وجهی با قطر ۳۰۰ Å همایش می‌یابند. تقارن بیست‌وجهی نوعی از تقارن چرخشی می‌باشد (شکل ۲۴c-۶ را ببینید). در سمت چپ، یک تصویر دارای حدود سطحی کپسید پولیوویروس مشاهده می‌گردد. در تصویر سمت راست، خطوط برای نمایش محورهای تقارن، مشخص شده‌اند. **(b)** ویروس موزائیک تنباکو. این ویروس میله‌ای شکل (همانطور که در میکروگراف الکترونی نشان داده شده است) ۳،۰۰۰ Å طول و ۱۸۰ Å قطر دارد؛ این ویروس دارای یک تقارن مارپیچی است.

و هر پروتومر حاوی یک نسخه از چهار زنجیر پلی‌پپتیدی مختلف می‌باشد که سه تا از آنها در سطح خارجی قابل دسترسی است. شصت پروتومر ۲۰ سطح این غلاف بیست‌وجهی، ماده ژنتیکی (RNA) را در بر می‌گیرند.

نوع اصلی دیگر تقارن موجود در اولیگومرها، یعنی تقارن مارپیچی، نیز در کپسیدها دیده می‌شود. ویروس موزائیک تنباکو، یک فیلمان مارپیچی راست‌گردان متشکل از ۲،۱۳۰ زیرواحد مشابه می‌باشد (شکل ۲۵b-۶). این ساختمان سیلندری RNA ویروس را در بر می‌گیرد. پروتئین‌ها و زیرواحدهایی که در فیلمان‌های مارپیچی آرایش می‌یابند، همچنین می‌توانند ساختمان‌های فیبری بلندی، نظیر فیلمان‌های اکتین عضله را ایجاد نمایند (شکل ۳۰-۷).

محدودیت‌هایی در اندازه پروتئین‌ها وجود دارد

اندازه نسبتاً بزرگ پروتئین‌ها انعکاسی از اعمال آنها می‌باشد. برای مثال، عملکرد یک آنزیم نیاز به یک ساختمان پایدار حاوی یک پاکت با اندازه مناسب جهت قرارگیری سوبسترا در آن و کاتالیز واکنش آنزیمی، دارد. هرچند، دو عامل، شامل ظرفیت کدنمودن ژنتیکی اسیدهای نوکلئیک و صحت فرایند بیوسنتز پروتئین، سبب محدودیت اندازه پروتئین می‌گردد. استفاده از نسخه‌های متعدد یک یا چند پروتئین برای ساختن یک ساختمان بزرگ احاطه‌کننده ژنوم (کپسید) برای ویروس‌ها بسیار مهم می‌باشد، زیرا به این طریق ماده ژنتیکی را حفظ می‌نمایند. همانطور که اشاره شده است، ارتباط خطی بین توالی یک ژن در اسید نوکلئیک و توالی اسید آمینه در پروتئینی که توسط آن کد می‌گردد، وجود دارد (کادر ۲-۵ را ببینید). اسیدهای نوکلئیک موجود در ویروس‌ها برای کدنمودن اطلاعات مورد نیاز یک پروتئین غلافی متشکل از یک پلی‌پپتید واحد، بسیار کوچک می‌باشد. با استفاده از نسخه‌های متعدد پلی‌پپتیدهای بسیار کوچکتر، نیاز به اسید نوکلئیک بسیار کوتاهتری برای کدنمودن زیرواحدهای کپسید می‌باشد و اسید نوکلئیک می‌تواند بارها و بارها به‌طور کارآمد مورد استفاده قرار گیرد. سلول‌ها همچنین از کمپلکس‌های بزرگ پلی‌پپتیدها در عضله، مژه‌ها، اسکلت سلولی و سایر ساختمان‌ها استفاده می‌نمایند. به‌سادگی ساختن نسخه‌های متعدد یک پلی‌پپتید کوچک کارآمدتر از ساختن یک نسخه از یک پروتئین بسیار بزرگتر می‌باشد. در حقیقت، بیشتر

Book.Apfarsi.ir

پروتئین‌های دارای وزن ملکولی بیش از ۱۰۰,۰۰۰، دارای زیرواحدهای متعدد مشابه یا غیرمشابه هستند. عامل دومی که اندازه پروتئین‌ها را محدود می‌نماید، فراوانی خطا در مرحله سنتز پروتئین می‌باشد. فراوانی خطا (حدود یک خطا در هر ۱۰,۰۰۰ ریشه اسید آمینه‌ای که اضافه می‌گردد) پایین می‌باشد، ولی وقتی قرار است پروتئین بسیار بزرگی سنتز گردد، حتی همین میزان پایین خطا می‌تواند منجر به احتمال بالای تولید یک پروتئین آسیب‌دیده شود. به‌طورساده، احتمال قرارگرفتن یک اسید آمینه «غلط» در یک پروتئین، برای پروتئینی با اندازه بزرگتر بیش از نوع با اندازه کوچکتر می‌باشد.

دناتوراسیون و تاشدن پروتئینی

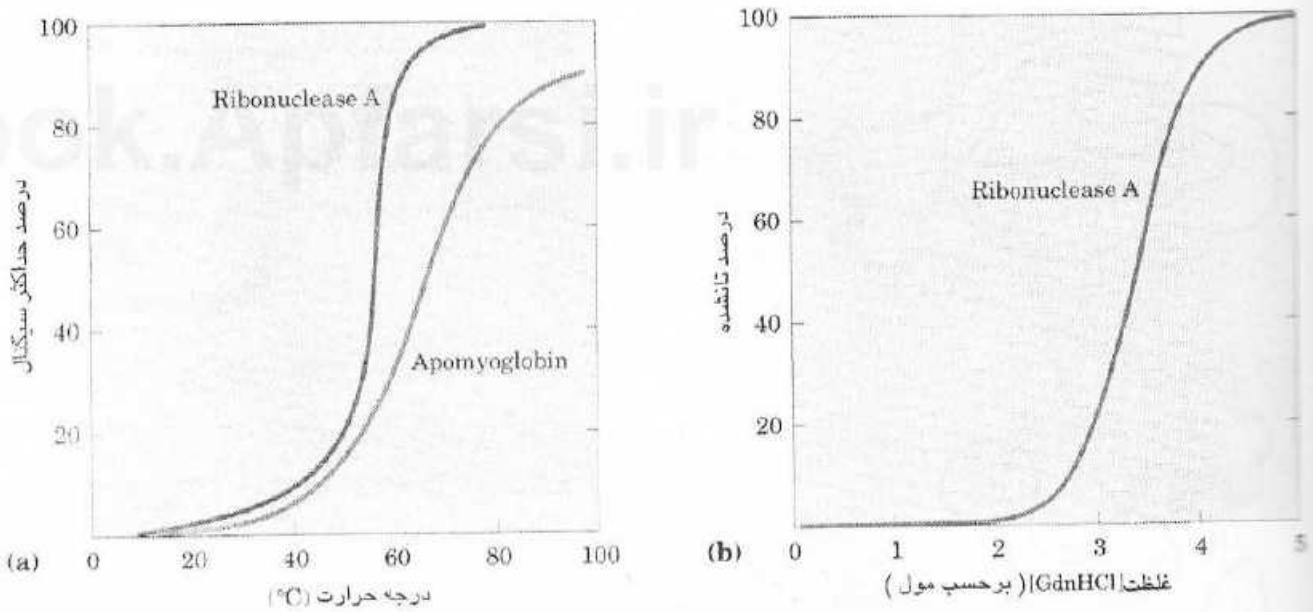
موجودیت تمامی پروتئین‌ها در سطح ریبوزوم، به شکل یک توالی خطی از ریشه‌های اسید آمینه آغاز می‌گردد (فصل ۲۷). برای کسب کونفورماسیون طبیعی، لازم است این پلی‌پپتید در هنگام و بعد از سنتز تا گردد. دیدیم که یک کونفورماسیون پروتئینی طبیعی، دارای پایداری مرزی است. خفیف‌ترین تغییرات در محیط پروتئینی می‌تواند منجر به تغییرات ساختمانی شود که روی عملکرد پروتئین اثر می‌گذارد. حال به بررسی تحولی می‌پردازیم که این حالات تاشده و تانشده رخ می‌دهد.

از بین رفتن ساختمان پروتئین سبب از بین رفتن عملکرد آن می‌گردد

ساختمان‌های پروتئینی برای انجام وظیفه در یک محیط سلولی خاص ایجاد شده‌اند. شرایط متفاوت از شرایط سلولی می‌تواند منجر به تغییرات بزرگ و کوچک در ساختمان پروتئین گردد. وقتی ساختمان سه بُعدی پروتئینی به اندازه‌ای از دست برود که قادر به انجام فعالیت خود نباشد، به این فرایند **دناتوراسیون** گفته می‌شود. حالت دناتوره لزوماً معادل بازشدن کامل و اتخاذ کونفورماسیون اتفاقی نمی‌باشد. تحت بسیاری از شرایط، پروتئین‌های دناتوره به شکل نسبتاً تاشده‌ای وجود دارند که کمتر شناخته شده می‌باشند.

بیشتر پروتئین‌ها توسط حرارت دناتوره می‌گردند که به طریق پیچیده‌ای بر روی واکنش‌های متقابل ضعیف (اساساً پیوندهای هیدروژنی) موجود در پروتئین اثر می‌کند. درصورتیکه درجه حرارت به آهستگی افزایش داده شود، تا زمان از دست‌رفتن ناگهانی ساختمان (و عملکرد) در یک دامنه باریکی از درجه حرارت، کونفورماسیون پروتئین عموماً سالم باقی می‌ماند (شکل ۲۶-۶). ناگهانی بودن این تغییر، مطرح می‌نماید که بازشدن یک فرایند تعاونی است: ازدست‌رفتن ساختمان یک قسمت پروتئین، قسمت‌های دیگر را ناپایدار می‌نماید. اثرات حرارت بر روی پروتئین‌ها هنوز بسادگی قابل‌پیش‌بینی نمی‌باشد. پروتئین‌های بسیار پایدار به حرارت موجود در باکتری‌های ترموفیلیک، برای عمل در درجه حرارت بالا (حدود ۱۰۰°C) ایجاد شده‌اند. ساختمان این پروتئین‌ها اغلب تنها به مقدار کمی از پروتئین‌های مشابه موجود در باکتری‌هایی نظیر *Escherichia coli* متفاوت هستند. چطور این تفاوت‌های کوچک سبب افزایش پایداری در برابر درجه حرارت‌های بالا می‌گردد، هنوز نامشخص می‌باشد.

پروتئین‌ها نه تنها توسط حرارت، بلکه همچنین توسط مقادیر بالای pH، بعضی حلال‌های آلی قابل اختلاط نظیر الکل یا استن، بعضی مواد محلول نظیر اوره یا گوانیدین هیدروکلراید، یا دترژنت‌ها، دناتوره می‌گردند. هر کدام از این معرف‌های دناتوره‌کننده، طرز عمل نسبتاً ملایمی را نشان می‌دهند، به‌طوریکه هیچ پیوند کووالانسی در زنجیر پلی‌پپتیدی شکسته نمی‌شود. حلال‌های آلی، اوره و دترژنت‌ها اساساً با از بین بردن واکنش‌های متقابل آبگریز



شکل ۲۶-۶. دناتوراسیون پروتئین. نتایج حاصل از دناتوراسیون پروتئینی در اثر دو تغییر محیطی مختلف، نشان داده شده است. در هر دو حالت، تغییر از شکل تاشده به تانشده نسبتاً ناگهانی بوده که حالت تعاونی در فرایند بازشدن را مطرح می‌نماید. **(a)** دناتوراسیون حرارتی آپومیوگلوبین (میوگلوبین فاقد گروه پروستتیک هم) و ریبونوکلئاز A (همراه با پیوندهای دی‌سولفیدی سالم؛ شکل ۲۷-۶ را ببینید) است. نقطه میانی دامنه درجه حرارتی که در بالای آن دناتوراسیون رخ می‌دهد را درجه حرارت ذوب، یا T_m، می‌نامند. دناتوراسیون آپومیوگلوبین با استفاده از circular dichroism، پایش شده است که فن‌آوری برای اندازه‌گیری میزان ساختمان مارپیچی یک ماکرومولکول می‌باشد. دناتوراسیون ریبونوکلئاز A با پایش تغییرات فلورسانس داخلی این پروتئین حاصل از تغییر در محیط ریشه‌های Trp، ردیابی شده است. **(b)** دناتوراسیون ریبونوکلئاز A حاوی پیوندهای دی‌سولفیدی دست‌نخورده، توسط گوانیدین هیدروکلراید (GdnHCl)، همراه با پایش توسط circular dichrosm.

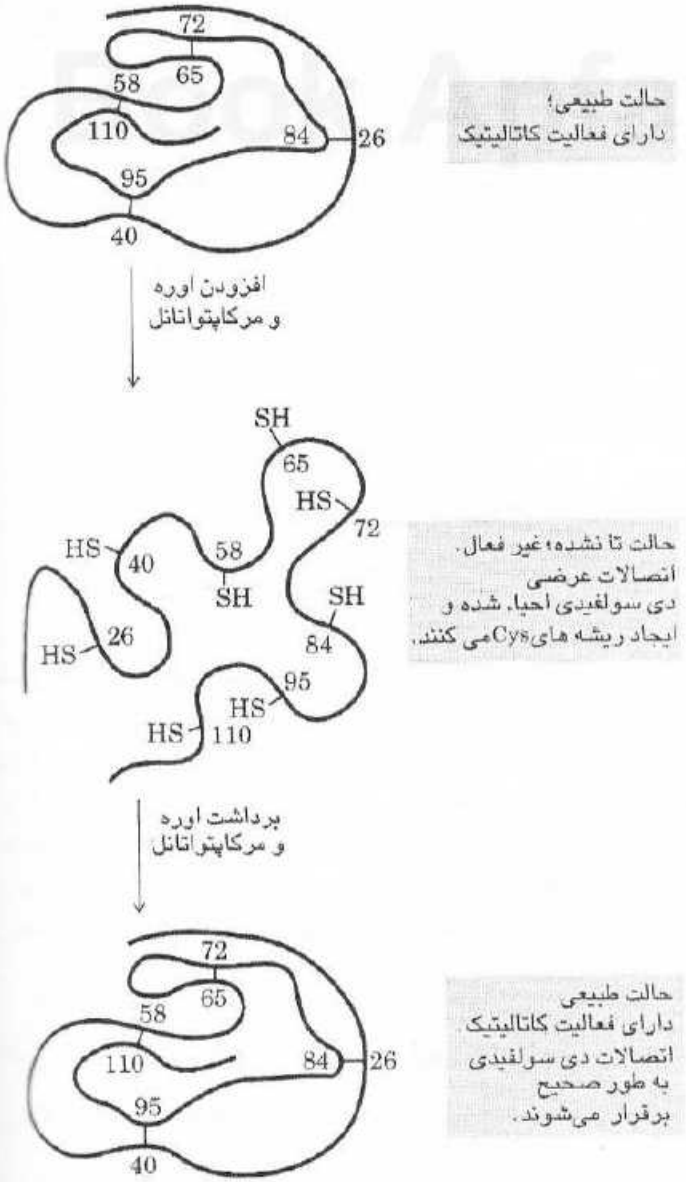
عمل می‌نمایند که هسته پایدار پروتئین‌های کروی را ایجاد می‌نمایند؛ مقادیر بالا و پایین pH بار خالص موجود در پروتئین را تغییر داده و سبب دفع الکترواستاتیک و ازبین رفتن بعضی از اتصالات هیدروژنی می‌گردد. حالات دناتوره حاصل از این اعمال مختلف، لزوماً برابر نمی‌باشند.

توالی اسید آمینه‌ای ساختمان چهارم را تعیین می‌نماید

ساختمان سوم یک پروتئین کروی توسط توالی اسید آمینه‌ای آن مشخص می‌گردد. مهمترین مدرک این موضوع از آزمایشاتی بدست می‌آید که نشان می‌دهند دناتوراسیون بعضی از پروتئین‌ها قابل‌برگشت می‌باشد. بعضی از پروتئین‌های کروی دناتوره‌شده با حرارت، مقادیر بالا و پایین pH یا معرف‌های دناتوره‌کننده، با برگشت به شرایطی که در آن کونفورماسیون طبیعی پایدار است، مجدداً ساختمان طبیعی و فعالیت خود را باز می‌یابند. این فرایند را **رناتوراسیون** گویند.

یک مثال کلاسیک دناتوراسیون و رناتوراسیون، ریبونوکلئاز می‌باشد. ریبونوکلئاز خالص را می‌توان در یک محلول غلیظ اوره حاوی یک عامل احیاءکننده، به‌طورکامل دناتوره نمود. عامل احیاءکننده چهار پیوند دی‌سولفیدی را شکسته و ایجاد چهار ریشه Cys آزاد می‌نماید و اوره واکنش‌های متقابل پایدارکننده آبگریز را مختل نموده و بدین‌ترتیب کل پلی‌پپتید را از کونفورماسیون تاشده آن آزاد می‌کند. دناتوراسیون ریبونوکلئاز همراه با ازدست‌رفتن کامل فعالیت کاتالیتیکی آن می‌باشد. با برداشت اوره و عامل احیاءکننده، ریبونوکلئاز دناتوره دارای پیچ‌های اتفاقی به‌طورخودبخودی به ساختمان سوم صحیح مجدداً تا شده و به‌طورکامل فعالیت کاتالیتیکی خود را باز می‌یابد

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۷-۶. رناتوراسیون ریبونوکلئاز دناتوره ناشده. برای دناتوراسیون ریبونوکلئاز اوره و برای احیاء و بنابراین شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی و ایجاد ریشه‌های Cys، مرکاپتوانانل ($HOCH_2CH_2SH$) مورد استفاده قرار گرفته است. رناتوراسیون مستلزم تشکیل مجدد اتصالات عرضی دی‌سولفیدی بدطورصحیح می‌باشد.

(شکل ۲۷-۶). تاشدن مجدد ریبونوکلئاز آنقدر صحیح می‌باشد که چهار پیوند دی‌سولفیدی داخل زنجیری مجدداً در همان موقعیت‌های موجود در ریبونوکلئاز طبیعی، در ملکول رناتوره‌شده برقرار می‌شود. با محاسبات ریاضی، این هشت ریشه Cys، می‌توانند به ۱۰۵ طریق متفاوت بدطوراتفاقی با هم ایجاد چهار پیوند دی‌سولفیدی کنند. در حقیقت، زمانی پیوندهای دی‌سولفیدی دارای انتشار اتفاقی و تصادفی خواهند بود که این پیوندها در حضور عامل دناتوره‌کننده، تشکیل شوند که این نشاندهنده نیاز به واکنش‌های متقابل اتصالی ضعیف برای کسب موقعیت‌های صحیح و کونفورماسیون طبیعی، می‌باشد.

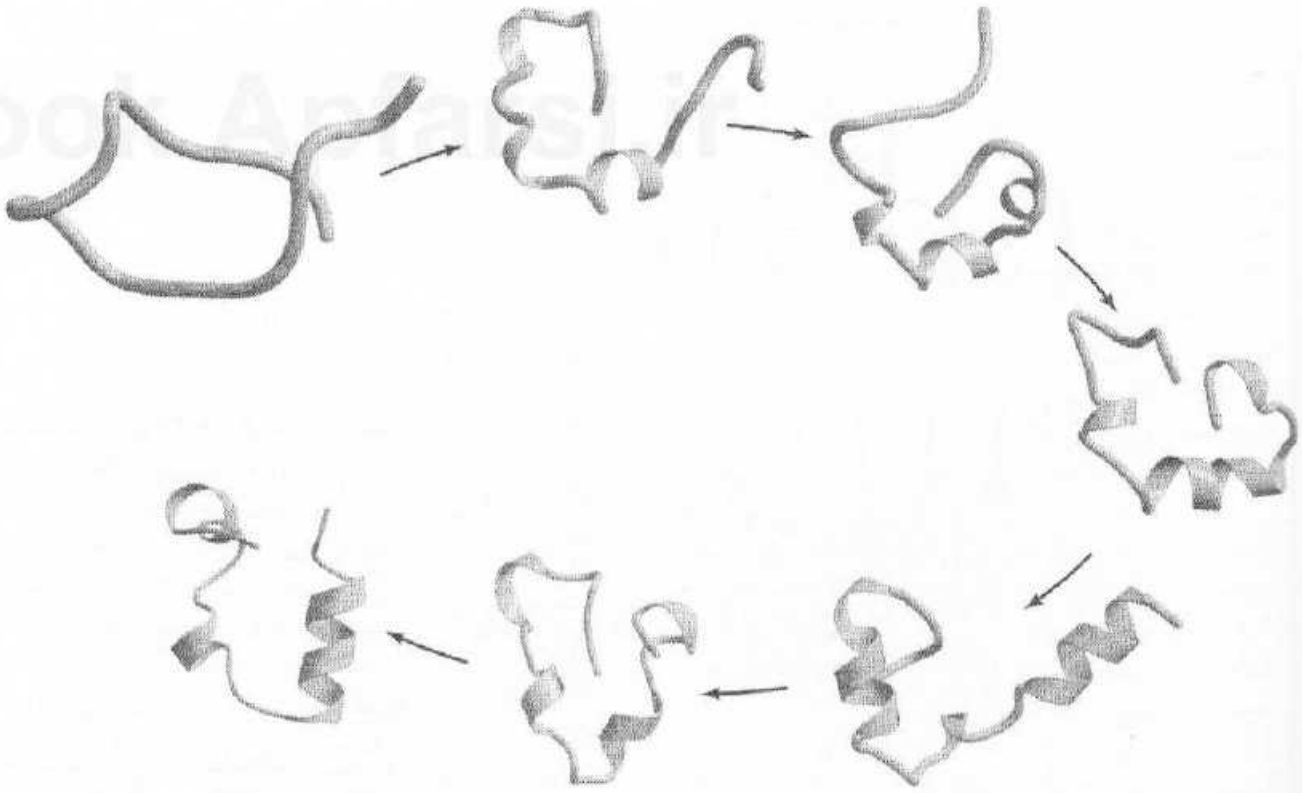
آزمایش کلاسیکی که توسط کریستین آنفینسن[1] در دهه ۱۹۵۰ انجام گردید، اولین مدرک در مورد وجود اطلاعات لازم برای تاشدن زنجیر به ساختمان سه بُعدی طبیعی در توالی اسید آمینه‌ای یک پلی‌پپتید است. بعدها، نتایج مشابهی با استفاده از سنتز شیمیایی ریبونوکلئاز دارای فعالیت کاتالیتیک، بدست آمد. این موضوع احتمال اینکه آلودگی جزئی در فراورده تخلیص‌شده ریبونوکلئاز آنفینسن ممکن است در رناتوراسیون آنزیم نقش داشته باشد، را رد نمود و بنابراین هیچ شک دیگری را باقی نگذاشت که این آنزیم به‌طورخودبخودی تا می‌گردد.

پلی‌پپتیدها سریعاً طی یک فرایند مرحله به مرحله تا می‌گردند

در سلول‌های زنده، پروتئین‌ها با سرعت بسیار بالا از اسیدهای آمینه ساخته می‌شوند. برای مثال، سلول‌های *E. coli* می‌توانند یک ملکول پروتئینی کامل با فعالیت بیولوژیک حاوی ۱۰۰ ریشه اسید آمینه را در حدود ۵ ثانیه در ۳۷°C سنتز نمایند. چطور این نوع زنجیرهای پلی‌پپتیدی، کونفورماسیون طبیعی خود را بدست می‌آورند؟ با فرض اینکه هر ریشه اسید آمینه می‌تواند به‌طور متوسط ۱۰ کونفورماسیون مختلف بخود بگیرد، 10^{100} کونفورماسیون مختلف برای این پلی‌پپتید ممکن می‌باشد. حالتی را تصور کنید که این پروتئین طی یک فرایند تصادفی

1- Christian Anfinsen

Book Anfarsi.ir



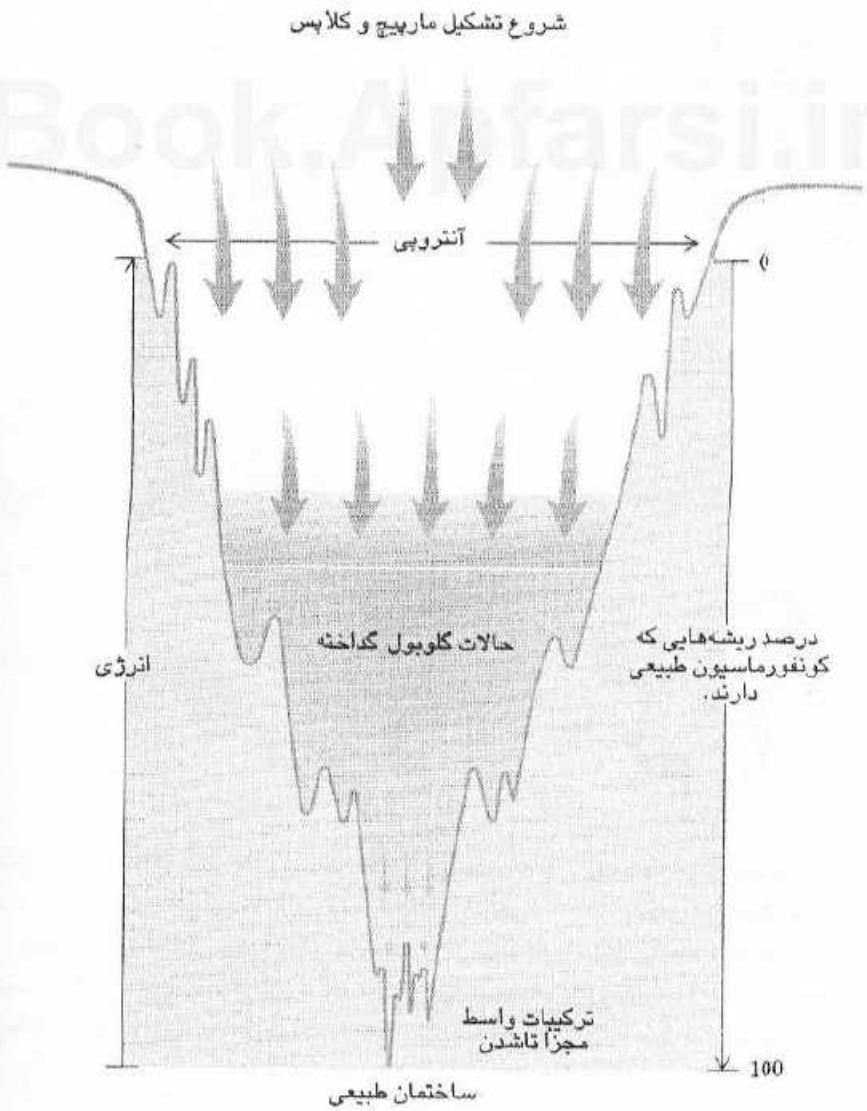
شکل ۲۸-۶. یک مسیر تاشدن ظاهرسازی‌شده. مسیر تاشدن یک تحت‌دومن پروتئین ۳۶ ریشه‌ای ویلین (villin) توسط کامپیوتر ظاهرسازی شده است. این فرایند با پپتید دارای خمیدگی‌های تصادفی و ۳،۰۰۰ ملکول آب احاطه‌کننده در داخل «محفظه آب» آغاز گردید. حرکات ملکولی این پپتید و اثرات ملکول‌های آب در نقشه‌برداری از مسیرهای احتمالی ایجاد ساختمان نهایی، در میان تعداد بی‌شماری ساختمان دیگر، مورد توجه قرار گرفت. این تاشدن ظاهرسازی‌شده از نظر تئوری در یک زمان $1\,\mu s$ به انجام رسید؛ هرچند، محاسبه نیاز به یکپارچه‌نمودن نیم بیلیون مرحله با استفاده از سوپرکامپیوترهای Cray داشت که هر کدام دو ماه طول کشید.

به‌طور خودبخودی طوری تا می‌شد که در آن تمامی کونفورماسیون‌های ممکن حول هر پیوند یگانه در اسکلت آن مورد آزمایش قرار می‌گرفت تا شکل فعال بیولوژیک طبیعی حاصل گردد. درصورتیکه هر کونفورماسیون در کوتاهترین زمان ممکن (حدود 10^{-13} ثانیه، یا زمان مورد نیاز برای یک لرزش ملکولی واحد) نمونه‌برداری می‌شد، حدود 10^{77} سال برای نمونه‌گیری تمامی کونفورماسیون‌های ممکن زمان لازم می‌بود. بنابراین، تاشدن پروتئینی نمی‌تواند یک فرایند به‌طورکامل تصادفی باشد. می‌بایست راه‌های کوتاه‌شده‌ای نیز وجود داشته باشد. این مشکل در ابتدا توسط سیروس لوینتال[1] در سال ۱۹۶۸ مطرح گردید و به همین دلیل گاهی به‌عنوان پارادوکس (گفته به ظاهر غلط) لوینتال مطرح می‌شود.

بدون شک مسیر تاشدن یک زنجیر پلی‌پپتیدی بزرگ پیچیده بوده و تمامی اصول هدایت‌کننده این فرایند مشخص نشده‌اند. هرچند، مطالعات وسیع انجام‌شده چندین مدل خوش‌ظاهر را مطرح می‌نمایند. در یک مدل، فرایندتاشدن طی یک سری مراحل پشت‌سرهم به انجام می‌رسد. ابتدا ساختمان‌های موضعی ایجاد می‌گردد. بعضی از توالی‌های اسید آمینه‌ای، بواسطه فشارهایی که تاکنون مورد بررسی قرار گرفته‌اند، بسادگی ایجاد مارپیچ‌های α یا صفحات β می‌نمایند. به دنبال آن، بواسطه واکنش‌های متقابل دامنه-بلند، دو مارپیچ α در کنار یکدیگر قرار گرفته و ایجاد ساختمان‌های فوق دوم پایدار می‌کنند. این فرایند ادامه‌یافته تا دومن‌های کامل ایجاد شده و کل ملکول تاگردد (شکل ۲۸-۶). در مدل دیگری، بواسطه واکنش‌های متقابل آبگریز موجود در بین ریشه‌های غیرقطبی، تاشدن با

1- Cyrus Levinthal

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۹-۶. ترمودینامیک تاشدن‌پروتئین بصورت یک قیف انرژی آزاد. در بالا، تعداد کونفورماسیون‌ها و بنابراین آنتروپی کونفورماسیونی، بزرگ می‌باشد. تنها کسر کوچکی از واکنش‌های متقابل داخل‌ملکولی موجود در کونفورماسیون طبیعی، وجود دارد. با پیشرفت تاشدن ترمودینامیکی مسیر به سمت پایین، تعداد حالات موجود (و آنتروپی) کاهش‌یافته، میزان پروتئین دارای کونفورماسیون طبیعی افزایش یافته و انرژی آزاد کاهش می‌یابد. گودی‌های موجود در کناره‌های قیف، ترکیبات حالت واسط نیمه‌پایدار تاشدن را نشان می‌دهند که ممکن است در بعضی موارد، فرایند تاشدن را آهسته نمایند.

کلاپس خودبخودی پلی‌پپتید به یک حالت فشرده آغاز می‌گردد. حالت «کلاپس آبگریز» ایجادشده، ممکن است دارای محتوی بالائی از ساختمان دوم باشد، ولی بسیاری از زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه کاملاً ثابت نشده‌اند. این حالت کلاپس را اغلب **گلوبول گداخته**[1] گویند.

احتمالاً بسیاری از پروتئین‌ها طی فرایندی تا می‌گردند که از خصوصیات هر دو مدل استفاده می‌کنند. بجای ادامه یک مسیر واحد، ممکن است جمعیت ملکول‌های پپتیدی، راه‌های متنوعی را برای رسیدن به یک هدف طی نمایند. در طی این راه‌ها و با نزدیک‌شدن به تکمیل فرایند تاشدن، تعداد انواع مختلف کونفورماسیون‌های به‌طورنسبی تاشده، کاهش می‌یابد.

از نظر ترمودینامیکی، فرایند تاشدن را می‌توان همانند یک نوع قیف انرژی آزاد در نظر گرفت (شکل ۲۹-۶). حالات تانشده بوسیله شدت بالای آنتروپی کونفورماسیونی و انرژی آزاد نسبتاً بالا مشخص می‌گردد. با پیشرفت تاشدن، باریک‌شدن قیف نشانه کاهشی در تعداد انواع کونفورماسیون‌های موجود می‌باشد. گودی‌های کوچک موجود در کناره‌های این قیف انرژی آزاد، ترکیبات واسط نیمه‌پایداری را نشان می‌دهند که می‌توانند به‌طورمختصر فرایند تاشدن را آهسته نمایند. در انتهای قیف، تعداد ترکیبات واسط تاشده کاهش یافته و به یک کونفورماسیون طبیعی (یا یکی از انواع موجود در سری کوچک کونفورماسیون‌های طبیعی) می‌رسد.

نقص در تاشدن پروتئینی ممکن است اساس ملکولی دامنه وسیعی از ناهنجاری‌های ژنتیکی انسان باشد. برای

1- Molten Globule

Book.Apfarsi.ir

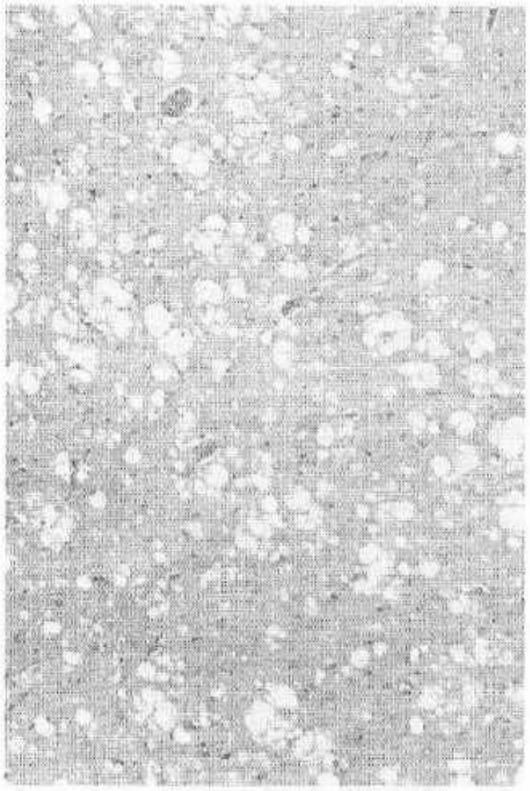
کادر ۴-۶. مرگ ناشی از تاشدن غلط: بیماری‌های پرایونی

بنظر می‌رسد پروتئینی که به غلط تاشده است، عامل ایجادکننده تُعدادی از بیماری‌های مضمحل‌کننده مغزی در پستانداران می‌باشد. شاید شناخته‌شده‌ترین این بیماری‌ها، بیماری جنون گاوی (Mad Cow Disease) است که شیوع آن در بهار ۱۹۹۶ جزء مهمترین خبرهای بین‌المللی بود. بیماری‌های مرتبط، شامل بیماری Kuru و Creutzfeldt-Jakob در انسان و scrapie در گوسفند می‌باشد. گاهی به این بیماریها، آنسفالیت‌های اسفنجی‌شکل گویند، زیرا در اغلب موارد ظاهر مغز مبتلا بصورت سوراخ سوراخ می‌باشد (شکل ۱). علائم شاخص شامل زوال عقلی و ازدست‌رفتن هماهنگی است.

در دهه ۱۹۶۰، محققین فرآورده‌هایی از این عوامل ایجادکننده بدست آوردند که اسید نوکلئیک نداشتند. در این زمان، پروتئینی بودن این عوامل توسط تیکوا آلپر (Tiovah Alper) مطرح گردید. در ابتدا، این نظریه یک بدعت بود. تا آن زمان، تمامی عوامل شناخته‌شده ایجادکننده بیماری (ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها و غیره)، حاوی اسید نوکلئیک بودند و بیماریزایی آنها با تکثیر ژنتیکی ارتباط داشت. هرچند، ادامه تحقیقات طی سه دهه، اساساً توسط استنلی پروسینر (Stanley Prusiner)، مدارکی را نشان داد که آنسفالوپاتی‌های اسفنجی‌شکل متفاوت می‌باشند.

عامل عفونی یک پروتئین واحد (وزن‌مولکول ۲۸،۰۰۰) می‌باشد که پروسینر آن را پروتئین پرایونی (Prion Protein: PrP) نامید. پروتئین پرایونی یک جزء طبیعی بافت مغزی در تمامی پستانداران می‌باشد ولی عمل آن نامشخص است. بنظر می‌رسد سوش‌های موش خانگی فاقد ژن PrP (و بنابراین خود پروتئین) از بیماری خاصی رنج نمی‌برند. بیماری زمانی دیده می‌شود که کونفورماسیون PrP طبیعی‌سلول، PrP^C، تغییریافته و بصورت PrP^{Sc} (Sc نشاندهنده Scrapie) دیده شود. واکنش متقابل PrP^{Sc} با PrP^C، مورد اخیر را به PrP^{Sc} تبدیل می‌نماید. این تبدیل همراه با شروع اثری است که پروتئین‌های سلولی بیشتر و بیشتری به شکل ایجادکننده بیماری تبدیل می‌گردند. مکانیسم ایجاد آنسفالوپاتی اسفنجی‌شکل در حضور PrP^{Sc} نامشخص می‌باشد.

در اشکال ارثی بیماری‌های پرایونی، جهشی در ژن کدکننده PrP، تغییری در یک اسید آمینه ایجاد می‌نماید که معتقدند تبدیل PrP^C به PrP^{Sc} را محتمل‌تر می‌نماید. شناخت کامل بیماری‌های پرایونی نیاز به اطلاعات جدیدی پیرامون نحوه اثر پروتئین پرایونی بر روی فعالیت مغز و همچنین اطلاعات ساختمانی بیشتر در مورد هر دو شکل PrP دارد.



شکل ۱. یک برش نازک مغز از بیمار مبتلا به بیماری Creutzfeldt-Jakob که دژنراسیون اسفنجی‌شکل (واکوئلی) را نشان می‌دهد؛ این دژنراسیون مشخص‌ترین ویژگی بافتی است. واکوئل‌ها (نقاط سفید) داخل‌سلولی بوده و بیشتر در قسمت‌های پیش و پس‌سیناپسی نورون‌ها دیده می‌شوند. واکوئل‌های موجود در این شکل دارای قطر متفاوت ۲۰ تا ۱۰۰ μm می‌باشند.

مثال، فیبروز کیستیک ناشی از نقص‌هایی در یک پروتئین متصل به غشاء، بنام تنظیم‌کننده هدایت ترانس‌ممبران فیبروز کیستیک[1] (CFTR)، می‌باشد که به عنوان کانال یون‌های کلر عمل می‌نماید. معمول‌ترین جهش ایجادکننده فیبروز کیستیک، حذف یک ریشه Phe در موقعیت ۵۰۸ در CFTR است که سبب تاشدن نامناسب پروتئین می‌گردد (کادر ۳-۱۲ را ببینید). بسیاری از جهش‌های ایجادکننده بیماری در کلاژن (ص. ۱۹۵) نیز منجر به نقص در تاشدن می‌گردند. افزایش شناخت در مورد فرایند تاشدن پروتئین، ممکن است منجر به درمان‌های جدید این بیماری‌ها و بسیاری از بیماری‌های دیگر شود (کادر ۴-۶).

1- Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

Book.Apfarsi.ir

تاشدن بعضی از پروتئین‌ها به کمک سایر پروتئین‌ها صورت می‌پذیرد

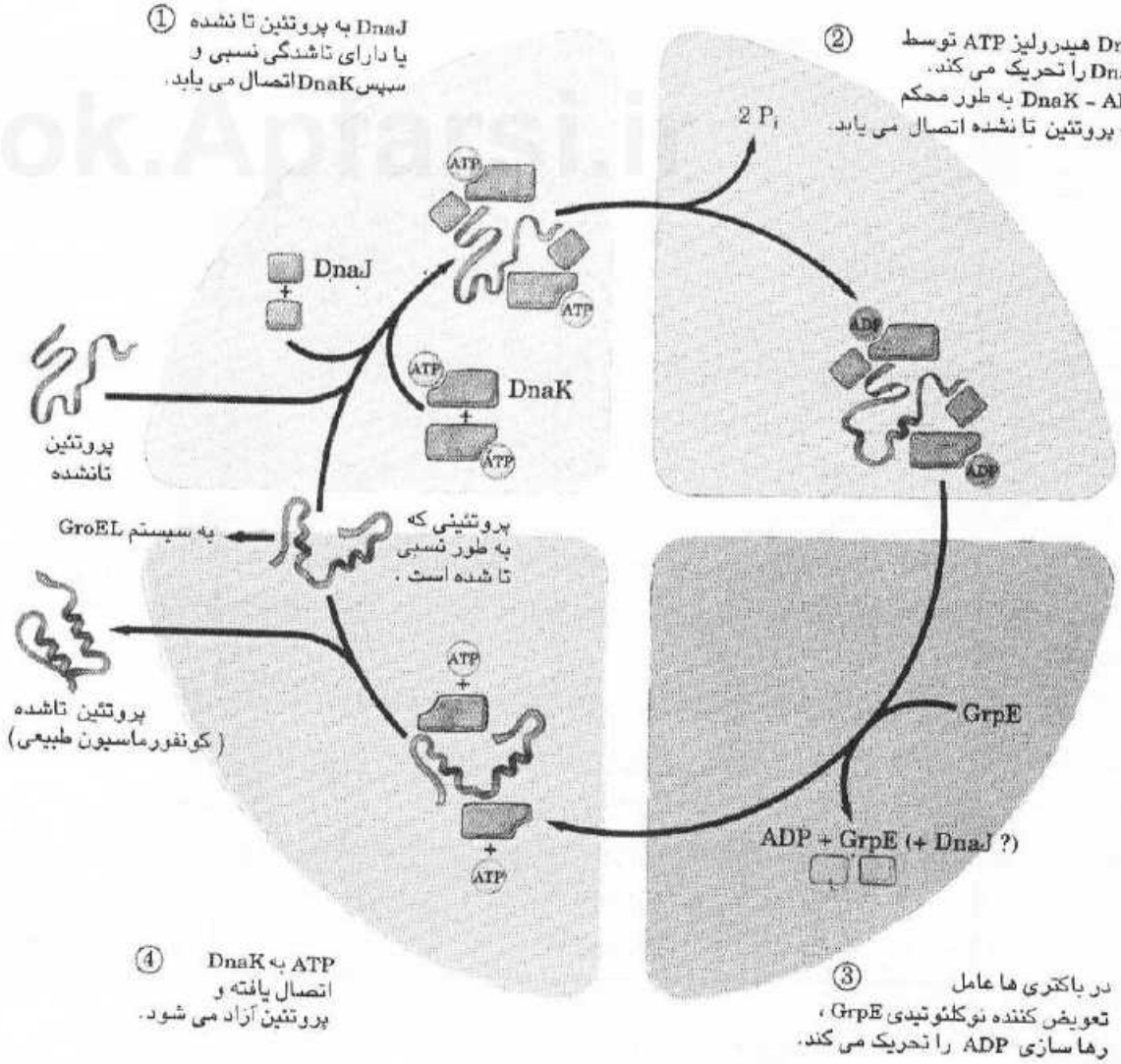
تمامی پروتئین‌ها طی سنتز در داخل سلول، به‌طورخودبخودی تا نمی‌شوند. تاشدن بسیاری از پروتئین‌ها با عمل پروتئین‌های اختصاصی تسهیل می‌گردد. **چاپرون‌های ملکولی**، پروتئین‌هایی هستند که با پلی‌پپتیدهایی واکنش می‌نمایند که به‌طورنسبی و یا به‌طورغلط تا شده‌اند؛ بدین‌ترتیب چاپرون‌ها مسیرهای صحیح تاشدن را تسهیل نموده و یا محیط‌های کوچکی فراهم می‌آورند که در آن تاشدن قابل انجام است. دو کلاس از چاپرون‌های ملکولی بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. هر دو این چاپرون‌ها در موجودات مختلف، از باکتری‌ها گرفته تا انسان، یافت می‌شوند. اولین کلاس، خانواده‌ای از پروتئین‌ها بنام **Hsp70**، عموماً با وزن ملکولی در حدود ۷۰،۰۰۰، بوده و در سلول‌هایی فراوان‌تر می‌باشند که تحت اثرات ناشی از حرارت‌های بالا قرار دارند (به همین دلیل به آنها پروتئین‌های شوک حرارتی با وزن ملکولی ۷۰،۰۰۰ یا Hsp70[1] گویند). Hsp70 به نواحی از پلی‌پپتیدهای بازنشده متصل می‌گردد که غنی از ریشه‌های آبگریز بوده و بدین‌ترتیب مانع از تجمع نامناسب آنها می‌شود. ازاینرو، این چاپرون‌ها «حفاظت» پروتئین‌هایی می‌گردند که توسط حرارت دناتوره شده و یا پپتیدهایی را محافظت می‌نمایند که در حال سنتز بوده و هنوز تا نشده‌اند. پروتئین‌های Hsp70 همچنین تاشدن بعضی از پروتئین‌ها را تا زمانی مهار می‌نمایند که از غشاءها عبور نکرده‌اند (در فصل ۲۷ مورد بحث قرار می‌گیرند). بعضی از چاپرون‌ها همایش ساختمان چهارم پروتئین‌های اولیگومری را نیز تسهیل می‌نمایند. پروتئین‌های Hsp70 در چرخه‌ای که نیاز به همکاری پروتئین‌های متعدد دیگر (از جمله کلاسی بنام Hsp40) و هیدرولیز ATP دارد، به پلی‌پپتیدها متصل شده و آنها را آزاد می‌نمایند. شکل ۳۰-۶ تاشدن وابسته به چاپرون را نشان می‌دهد که برای چاپرون‌های DnaK و DnaJ در *E.coli*، همولوگ‌های مشابه Hsp70 و Hsp40 اوکاریوتی، شرح داده شده است. پروتئین‌های DnaK و DnaJ اولین بار به عنوان پروتئین‌هایی شناسایی شدند که برای همانندسازی بعضی ملکول‌های DNA ویروسی لازم بودند (به همین دلیل با مخفف «Dna» نمایش داده می‌شوند).

کلاس دوم چاپرون‌ها را **چاپرونین** گویند. این چاپرون‌ها، کمپلکس‌های پروتئینی استادانه‌ای هستند که برای تاشدن تعدادی از پروتئین‌های سلولی لازم می‌باشند که به‌طورخودبخودی تا نمی‌گردند. در *E.coli* حدود ۱۰ تا ۱۵٪ پروتئین‌های سلولی برای تاشدن تحت شرایط طبیعی نیاز به سیستم چاپرونینی، بنام GroEL/GroES، دارند (وقتی سلول‌ها در استرس حرارتی می‌باشند، تا ۳۰٪ نیاز به این کمک دارند). این پروتئین‌ها برای اولین بار زمانی شناخته شدند که مشخص گردید برای رشد (به همین دلیل با «Gro» مشخص می‌گردند) بعضی ویروس‌های باکتریایی لازم هستند. پروتئین‌های تانشده در داخل پاکت‌هایی از کمپلکس GroEL قرار داشته که به‌طورموقتی توسط «سرپوش» GroES کلاهکدار می‌گردند (شکل ۳۱-۶). GroEL متحمل تغییرات کونفورماسیونی اساسی شده که همراه با هیدرولیز ATP و اتصال و رهاسازی GroES بوده و تاشدن پلی‌پپتید احاطه شده را تسهیل می‌نماید. هرچند ساختمان چاپرونین GroEL/GroES شناخته شده می‌باشد، بسیاری از جزئیات مکانیسم آن هنوز نامشخص باقی مانده است.

بالاخره، مسیرهای تاشدن تعدادی از پروتئین‌ها نیاز به دو آنزیم دارد که واکنش‌های ایزومریزاسیون را کاتالیز می‌کنند. **پروتئین دی‌سولفید ایزومراز (PDI)** یک آنزیم با انتشار وسیع می‌باشد که جابجایی پیوندهای دی‌سولفیدی را آنقدر کاتالیز می‌نماید تا پیوندهای موجود در کونفورماسیون طبیعی ایجاد گردند. از اعمال دیگر PDI، کاتالیز حذف

1- *H*eat *s*hock *p*roteins

Book.Apfarsi.ir

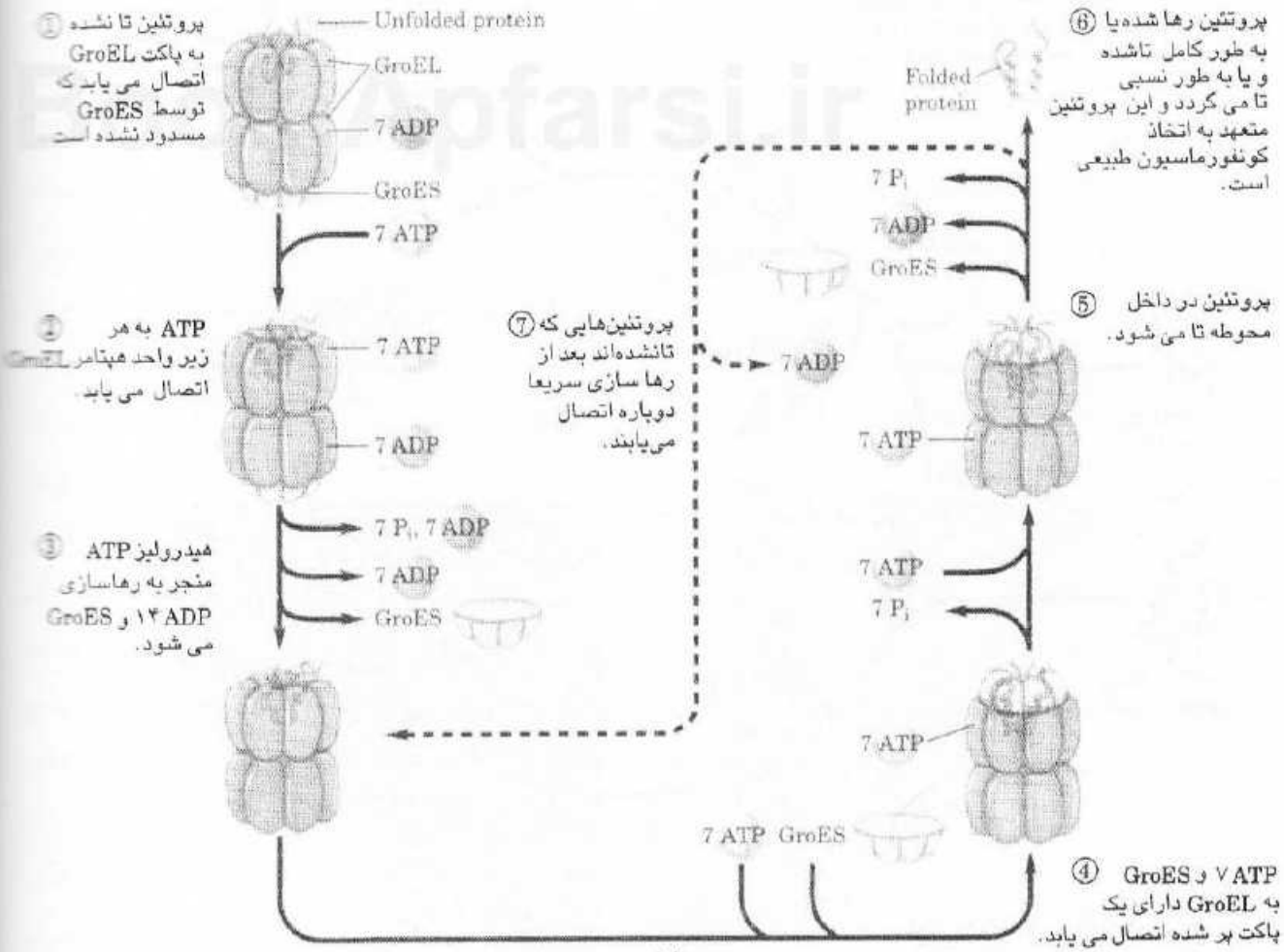


شکل ۳۰-۶. چاپرون‌ها در تاشدن پروتئینی. مسیر حلقوی که چاپرون‌ها به پلی‌پپتیدها اتصال یافته و از آنها رها می‌شوند. در مورد پروتئین‌های چاپرونی DnaK و DnaJ موجود در *E. coli* آنالوگ‌های چاپرون‌های اوکاریوتی Hsp70 و Hsp40. این چاپرون‌ها به‌طورفعال تاشدن سوبسترای پروتئینی را تسریع نمی‌نمایند، بلکه مانع از تجمع پپتیدهای تاشده می‌گردند. برای جمعیتی از پلی‌پپتیدها، کسری از پلی‌پپتیدهای رهاشده در انتهای چرخه، دارای کونفورماسیون طبیعی هستند. بقیه مجدداً به DnaK اتصال یافته و یا به سیستم چاپرونینی برگردانده می‌شوند (GroEL؛ شکل ۳۱-۶ را ببینید). در باکتری‌ها، پروتئینی بنام GrpE به‌طورموقت با DnaK در این چرخه واکنش نموده و جدایی ADP و احتمالاً DnaJ را تسریع می‌نماید. هیچ آنالوگ اوکاریوتی برای GrpE شناخته نشده است.

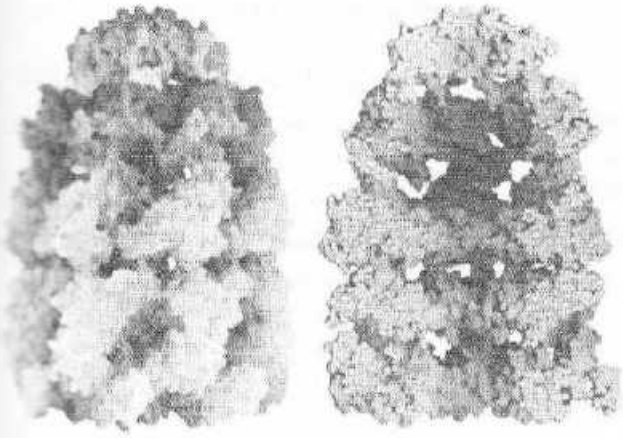
ترکیبات واسط تاشدن دارای اتصالات عرضی دی‌سولفیدی نامناسب می‌باشد. **پپتید پیرولیل سیس-ترانس ایزومراز (PPI)** تبدیل متقابل ایزومرهای سیس و ترانس پیوندهای پپتیدی پرولین را کاتالیز می‌کند (شکل ۸b-۶) که می‌تواند یک مرحله آهسته در تاشدن پروتئین‌هایی باشد که در ساختمان آنها چند پیوند با کونفورماسیون سیس وجود دارد.

احتمالاً انجام فرایند تاشدن پروتئین در محیط متراکم سلولی، در مقایسه با لوله آزمایش، پیچیده‌تر می‌باشد. با ادامه موشکافی فرایند تاشدن، ممکن است کلاس‌های بیشتر پروتئین‌های شناسایی گردند که در تسهیل تاشدن شرکت دارند.

Book.Apfarsi.ir



(a)



(b)

شکل ۳۱-۶. چاپرونین‌ها در تاشدن پروتئینی. (a) مسیری متصور برای عمل چاپرونین‌های GroEL (عضوی از خانواده پروتئین Hsp60) و GroES موجود در *E. coli*. هر کمپلکس GroEL متشکل از دو پاکت بزرگ بوده که خود از دو حلقه هپتامری (هر زیرواحد با وزن‌ملکولی ۵۷,۰۰۰) تشکیل شده‌اند. GroES، این نیز یک هپتامر (وزن‌ملکولی هر زیرواحد ۱۰,۰۰۰)، یکی از پاکت‌های GroEL را مسدود می‌نماید. **(b)** تصاویر سطحی و برشی کمپلکس GroEL/GroES. تصویر برشی، وجود یک فضای داخلی بزرگ را نشان می‌دهد که سایر پروتئین‌ها در داخل آن قرار می‌گیرند.

خلاصه

هر پروتئینی دارای یک ساختمان بی‌همتای سه بُعدی است که انعکاسی از فعالیت آن می‌باشد. ساختمان پروتئین توسط واکنش‌های متقابل ضعیف پایدار می‌گردد. واکنش‌های متقابل آبگریز بیشترین نقش را در پایداری شکل کروی اکثر پروتئین‌های محلول دارد؛ پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی، در ساختمان اختصاصی به حد مطلوب می‌رسند که بیشترین پایداری ترمودینامیکی را دارد.

ماهیت پیوندهای کووالان در زنجیر پلی‌پپتیدی، فشارهایی را بر ساختمان آن تحمیل می‌نمایند. پیوند پپتیدی دارای خصوصیت یک پیوند دوگانه نسبی است که کل گروه پپتیدی را در یک کونفیگوراسیون صفحه‌ای سخت قرار می‌دهد. پیوندهای $N-C_\alpha$ و $C_\alpha-C$ را می‌توان به ترتیب با ϕ و ψ، نمایش داد. درصورتیکه مقادیر زوایای ϕ و ψ تمامی ریشه‌های اسید آمینه

Book.Apfarsi.ir

موجود در یک قطعه پلی‌پپتیدی مشخص باشد، ساختمان دوم آن را می‌توان کاملاً تعیین نمود.

ساختمان سوم، ساختمان سه بُعدی کامل یک زنجیر پلی‌پپتیدی، را می‌توان با بررسی ساختمان‌های معمول پایداری شناخت که نام‌های متغییری نظیر ساختمان‌های فوق‌دوم، موتیف‌ها یا خمیدگی‌ها، به آنها داده می‌شود. موتیف‌ها از اشکال ساده تا انواع بسیار پیچیده متفاوت می‌باشند. به‌طورکلی، هزاران ساختمان پروتئینی شناخته‌شده، همایش یافته و ایجاد تنها چند صد موتیف می‌نمایند که بعضی از آنها بسیار معمول می‌باشند. نواحی از پلی‌پپتیدها که می‌توانند به‌طور مستقل تاگردند را دومن گویند. پروتئین‌های کوچک عموماً دارای یک دومن واحد می‌باشند، درحالیکه پروتئین‌های بزرگ ممکن است چندین دومن داشته باشند.

دو کلاس عمومی پروتئین‌ها، شامل پروتئین‌های فیبری و کروی، وجود دارد. پروتئین‌های فیبری که اساساً جهت اعمال ساختمانی می‌باشند، دارای عناصر ساده تکراری ساختمان دوم بوده و مدلهایی برای مطالعات اولیه پروتئین‌ها بوده‌اند. با استفاده از اطلاعات بدست آمده از پروتئین‌های فیبری، دو ساختمان دوم اصلی، شامل مارپیچ α و کونفورماسیون β قابل‌شناسایی است. هر دو این ساختمان‌ها بوسیله وجود حداکثر پیوندهای هیدروژنی ممکن بین پیوندهای پپتیدی موجود در یک اسکلت پلی‌پپتیدی مشخص می‌شوند. پایداری این ساختمان‌ها در داخل یک پروتئین، تحت تأثیر محتوی اسید آمینه‌های آنها و همچنین موقعیت نسبی ریشه‌های اسیدهای آمینه موجود در توالی آنها می‌باشد. نوع دیگری از ساختمان دوم که در پروتئین‌ها معمول می‌باشد، پیچ β است.

در پروتئین‌های فیبری نظیر کراتین‌ها و کلاژن، یک نوع ساختمان دوم غالب می‌باشد. زنجیرهای پلی‌پپتیدی بصورت ابرفنرهایی به شکل طناب، ایجاد دستجات بزرگتری را نموده که قدرت زیادی دارند. صفحات β فیبروئین ابریشم در کنار یکدیگر قرار گرفته تا ایجاد یک ساختمان قوی ولی قابل‌انعطاف نمایند.

پروتئین‌های کروی دارای ساختمان‌های سوم پیچیده‌تری هستند که اغلب دارای چندین نوع ساختمان دوم در یک زنجیر پلی‌پپتیدی می‌باشند. اولین ساختمان پروتئین کروی که با استفاده از روش‌های انکسار اشعه-x تعیین گردید، میوگلوبین بود. این ساختمان تایید نمود که ساختمان دوم (مارپیچ α) پیش‌بینی‌شده، در پروتئین‌ها وجود دارد؛ ریشه‌های اسید آمینه آبگریز در داخل پروتئین قرار دارند؛ و پروتئین‌های کروی متراکم هستند. تحقیق بعدی بر روی ساختمان بسیاری از پروتئین‌های کروی، این نتیجه‌گیری‌ها را حمایت نمود و همچنین نشان داد که تنوع زیادی می‌تواند در ساختمان سوم وجود داشته باشد.

ساختمان‌های پیچیده پروتئین‌های کروی را می‌توان با بررسی تحت ساختمان‌های آنها، شامل موتیف‌ها و دومن‌ها، تجزیه و تحلیل نمود. در پایگاه‌های اطلاعاتی ساختمان پروتئین، ساختمان‌ها معمولاً به چهار کلاس، شامل همه α همه β α/β و $\alpha+\beta$ تقسیم می‌شوند. پروتئین‌های اختصاصی موجود در هر کلاس، براساس داشتن ارتباط در توالی، ساختمان و عملکرد، بصورت خانواده‌ها و یا فوق‌خانواده‌هایی گروه‌بندی می‌شوند.

ساختمان چهارم اشاره به واکنش متقابل بین زیرواحدهای پروتئین‌های چندزیرواحدی (مولتیمری) یا همایش‌های پروتئینی بزرگتر می‌نماید. بعضی از پروتئین‌های مولتیمری دارای واحدهای تکراری هستند که از یک زیرواحد یا یک گروه زیرواحدها، بنام پروتومر، تشکیل شده‌اند. پروتومرها معمولاً از طریق تقارن چرخشی و مارپیچی با یکدیگر ارتباط دارند. بهترین پروتئین مولتیمری مطالعه‌شده، هموگلوبین می‌باشد.

ساختمان سه بُعدی پروتئین‌ها را می‌توان با استفاده از مواد یا شرایطی که واکنش‌های متقابل ضعیف را مختل می‌نمایند، طی فرایندی بنام دناتوراسیون، از بین برد. دناتوراسیون سبب ازبین رفتن فعالیت پروتئین شده که ارتباط بین ساختمان و فعالیت را نشان می‌دهد. بعضی از پروتئین‌های دناتوره‌شده (مثلاً ریبونوکلئاز) می‌توانند به‌طورخودبخودی به پروتئین دارای فعالیت بیولوژیک رناتوره گردند که نشان‌دهنده نقش توالی اسیدهای آمینه در تعیین ساختمان سوم پروتئین می‌باشد.

تاشدن پروتئین‌ها در داخل سلول‌ها ممکن است طی مسیرهای مختلف صورت پذیرد. ابتدا، نواحی از ساختمان دوم و سوم ممکن است ایجاد شده و به دنبال آن تاشدن به ساختمان‌های فوق دوم انجام شود. همایش‌های بزرگ ترکیبات واسط تاشده، سریعاً به یک کونفورماسیون طبیعی واحد تبدیل می‌شوند. در مورد بسیاری از پروتئین‌ها، تاشدن توسط چاپرون‌های HsP 70 و توسط چاپرونین‌ها تسهیل می‌گردد. تشکیل پیوند دی‌سولفیدی ؛ ایزومریزاسیون سیس-ترانس پیوندهای پپتیدی پرولین، توسط آنزیم‌های اختصاصی کاتالیز می‌گردند.

Book.Apfarsi.ir

۷ عملکرد پروتئین

شناخت ساختمان سه‌بُعدی یک پروتئین، نقش مهمی را در درک نحوه فعالیت‌های پروتئینی دارد. هرچند، ساختمانی که در دو بُعد بر روی صفحه نمایش داده می‌شود، دارای ظاهر فریب‌آمیز ساکن می‌باشد. پروتئین‌ها ملکول‌های پویایی هستند که اعمال آنها به‌طور ثابتی بستگی به واکنش‌های متقابل آنها با سایر ملکول‌ها داشته و این واکنش‌های متقابل به روش‌های مختلف مهم فیزیولوژیکی، تحت تأثیر تغییرات جزئی یا گاهی برجسته کونفورماسیون پروتئینی قرار می‌گیرند.

در این فصل، نحوه انجام واکنش متقابل پروتئین‌ها با سایر ملکول‌ها و چگونگی ارتباط بین واکنش‌های متقابل آنها با ساختمان پویا پروتئین را بررسی می‌نمائیم. مشکل می‌توان اهمیت واکنش‌های متقابل ملکولی بر روی یک عملکرد پروتئینی را بیش از حد مورد تأکید قرار داد. در فصل ۶، دیدیم که عملکرد پروتئین‌های فیبری به‌عنوان عناصر سلولی و بافتی، بستگی به واکنش‌های متقابل پایدار و طولانی مدت چهارم بین زنجیرهای پلی‌پپتیدی مشابه دارد. همانطور که در این فصل ملاحظه خواهید کرد، اعمال بسیاری از پروتئین‌های دیگر مستلزم واکنش‌هایی با انواع مختلفی از پروتئین‌ها می‌باشد. بیشتر این واکنش‌های متقابل زودگذر هستند، ولی ممکن است این واکنش‌ها، اساس فرایندهای پیچیده فیزیولوژیک، نظیر انتقال اکسیژن، فعالیت سیستم ایمنی و انقباض عضلانی باشند؛ جزئیات این موضوعات در این فصل مورد بررسی قرار می‌گیرد. پروتئین‌هایی که این فرایندها را انجام می‌دهند، اصول کلیدی زیر را در عملکرد پروتئینی شرح می‌دهند که با بعضی از آنها در فصل قبلی آشنا شدیم:

اعمال بسیاری از پروتئین‌ها مستلزم اتصال قابل‌برگشت سایر ملکول‌ها به پروتئین‌ها می‌باشد. ملکولی که به‌طور قابل برگشت به یک پروتئین اتصال می‌یابد را **لیگاند** نامند. یک لیگاند ممکن است هر ملکولی، نظیر یک پروتئین دیگر، باشد. ماهیت زودگذر واکنش‌های متقابل پروتئین-لیگاند برای زندگی حیاتی بوده که به موجودات این امکان را می‌دهند تا بتوانند به‌طور سریع و قابل‌برگشت به تغییرات ایجادشده در شرایط محیطی و متابولیکی پاسخ دهند.

یک لیگاند به محلی بر روی پروتئین بنام **جایگاه اتصالی** متصل می‌گردد که از نظر اندازه، شکل، بار و ویژگی آبگریزی یا آبدوستی، مکمل لیگاند می‌باشد. بعلاوه، این واکنش متقابل اختصاصی است: پروتئین می‌تواند بین هزاران ملکول موجود در محیط خود تمایز قائل شده و به‌طورانتخابی تنها به یک یا چند مورد آنها اتصال یابد. یک پروتئین خاص ممکن است دارای جایگاه‌های اتصالی مجزا برای چندین لیگاند مختلف باشد. این واکنش‌های متقابل ملکولی اختصاصی برای حفظ درجات بالای نظم در یک سیستم زنده حیاتی هستند. (اتصال ملکول‌های آب یک استثناء می‌باشد که ممکن است به‌طورضعیف و غیراختصاصی با بسیاری از قسمت‌های یک پروتئین واکنش نماید. در فصل ۸، آب به‌عنوان یک لیگاند اختصاصی برای بسیاری از آنزیم‌ها مورد توجه قرار می‌گیرد.)

Book.Apfarsi.ir

پروتئین‌ها قابل انعطاف هستند. تغییرات کونفورماسیونی ممکن است جزئی بوده و انعکاسی از جنبش‌های ملکولی و حرکات ریشه‌های اسید آمینه در سراسر پروتئین باشد. وقتی پروتئینی دچار چنین تغییراتی می‌گردد، گاهی گفته می‌شود پروتئین «نفس می‌کشد». تغییرات کونفورماسیونی در بعضی موارد نیز ممکن است کاملاً برجسته باشد، به‌طوریکه قطعات اصلی ساختمان پروتئین تا چند نانومتر حرکت نمایند. تغییرات کونفورماسیونی اختصاصی اغلب برای عملکرد یک پروتئین ضروری است.

اتصال یک پروتئین به لیگاند خود اغلب همراه با تغییرات کونفورماسیونی پروتئین می‌باشد که جایگاه اتصالی را برای لیگاند کامل‌تر نموده و سبب اتصال محکم‌تر می‌گردد. تطابق ساختمانی که بین پروتئین و لیگاند رخ می‌دهد را **انطباق القاءشده**[1] گویند.

در یک پروتئین چندزیرواحدی، یک تغییر کونفورماسیونی در یک زیرواحد اغلب بر روی کونفورماسیون زیرواحد دیگر نیز تأثیر دارد.

واکنش‌های متقابل بین لیگاندها و پروتئین‌ها ممکن است تحت تنظیم باشد که معمولاً این تنظیم از طریق واکنش‌های متقابل اختصاصی با یک یا چند لیگاند دیگر صورت می‌پذیرد. لیگاندهای اخیر، ممکن است سبب تغییرات کونفورماسیونی در پروتئین شوند که بر روی اتصال لیگاند اول اثر می‌گذارند.

آنزیم‌ها حالت خاصی از فعالیت پروتئینی را دارند. آنزیم‌ها با اتصال به سایر پروتئین‌ها، سبب تغییر شیمیایی آنها می‌گردند؛ این پروتئین‌ها واکنش‌ها را کاتالیز می‌نمایند. ملکول‌هایی که تحت تأثیر آنزیم‌ها قرار می‌گیرند، بجای لیگاند، **سوبسترا** نامیده می‌شوند و به جایگاه اتصال لیگاند آنها نیز **جایگاه کاتالیتیک** یا **جایگاه فعال** گفته می‌شود. در این فصل بر روی اعمال غیرکاتالیتیک پروتئین‌ها تأکید می‌گردد. در فصل ۸ به کاتالیز توسط آنزیم‌ها پرداخته می‌شود که موضوع اصلی بیوشیمی است. خواهید دید که موضوعات این فصل (اتصال، ویژگی و تغییرات کونفورماسیونی)، به همراه عوامل اصلی پروتئین‌ها در عمل بر روی مواد واکنشگر و ایجاد تغییرات شیمیایی، در فصل بعدی ادامه می‌یابد.

اتصال قابل‌برگشت یک پروتئین به یک لیگاند: پروتئین‌های اتصالی-اکسیژن

میوگلوبین و هموگلوبین احتمالاً پروتئین‌هایی هستند که بیشترین مطالعات بر روی آنها انجام شده و بیشترین اطلاعات را از آنها داریم. اینها اولین پروتئین‌هایی بودند که ساختمان سه‌بُعدی آنها مشخص گردید و اطلاعات امروزی ما در مورد میوگلوبین و هموگلوبین حاصل کار هزاران بیوشیمیدان در طی بیش از چند دهه می‌باشد. از همه مهمتر، این پروتئین‌ها خصوصیتی را شرح می‌دهند که در بیشتر فرایندهای بیوشیمیایی نقش مرکزی دارد: اتصال قابل‌برگشت لیگاند به یک پروتئین. این مدل کلاسیک فعالیت پروتئینی، مطالب زیادی را در مورد نحوه عمل پروتئین‌ها به ما می‌دهد.

اکسیژن می‌تواند به یک گروه پروستتیک هِم اتصال یابد

اکسیژن در محلول‌های آبی حلالیت ضعیفی داشته (جدول ۳-۴ را ببینید) و در صورتی که تنها در سرم خون حل گردد، نمی‌تواند به مقدار کافی به بافت‌ها انتقال داده شود. انتشار اکسیژن از میان بافت‌ها نیز در فواصل بیش از

1- Induced fit

Book.Apfarsi.ir

چند میلی‌متر، نامناسب می‌باشد. پیدایش حیوانات بزرگتر چندسلولی وابسته به پیدایش پروتئین‌هایی بوده است که بتوانند اکسیژن را منتقل و ذخیره نمایند. هرچند، هیچکدام از زنجیرهای جانبی اسید آمینه موجود در پروتئین‌ها برای اتصال برگشت‌پذیر ملکول‌های اکسیژن مناسب نمی‌باشند. این نقش توسط بعضی فلزات انتقالی، نظیر آهن و مس، به انجام می‌رسد که دارای تمایل قوی برای اتصال به اکسیژن می‌باشند. موجودات چندسلولی از ویژگی‌های فلزات، معمولاً آهن، برای انتقال اکسیژن استفاده می‌نمایند. هرچند، آهن آزاد تولید اشکال شدیداً راکنشگر اکسیژن نظیر رادیکال‌های هیدروکسیل را تسریع نموده که می‌توانند به DNA و سایر ماکروملکول‌ها آسیب برسانند. به همین دلیل، آهن مورد استفاده توسط سلول‌ها به‌صورت اتصال‌یافته به سایر ترکیبات وجود دارند که آن را مخفی نموده و یا تمایل آن را برای شرکت در واکنش کاهش می‌دهند. (در موجودات پرسلولی (بخصوص در آنهایی که لازم است آهن به‌عنوان حامل اکسیژن، در فواصل طولانی حمل گردد)، آهن اغلب در داخل یک گروه پروستتیک متصل به یک پروتئین، بنام هم، قرار دارد. (یک گروه پروستتیک ترکیبی است که به‌طوردائمی به یک پروتئین متصل بوده و در عملکرد آن پروتئین نقش دارد.)

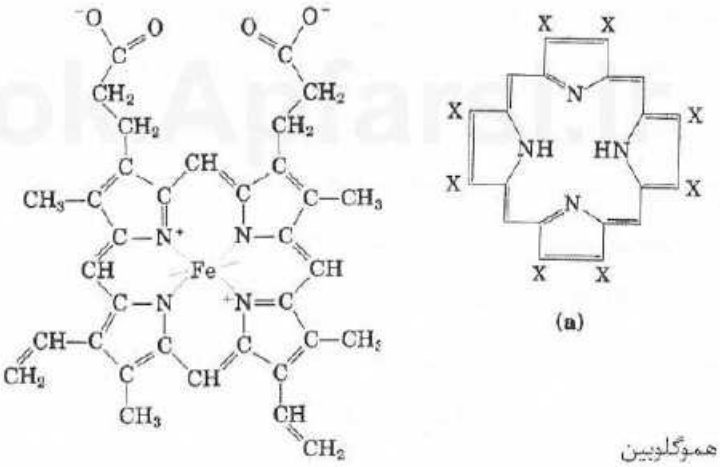
هم از یک ساختمان حلقوی آلی پیچیده، بنام پروتوپورفیرین، تشکیل شده است که به آن یک اتم آهن در وضعیت فرو (Fe^{2+}) اتصال یافته است (شکل ۱-۷). این اتم آهن دارای شش پیوند کوئوردیناتس می‌باشد که چهار پیوند آن به چهار اتم نیتروژن موجود در ساختمان سیستم حلقوی پورفیرین و دو پیوند دیگر به‌صورت عمود بر این پورفیرین قرار دارند. اتم‌های نیتروژن شرکت‌کننده در پیوندهای کوئوردیناتس (که یک خصوصیت الکترون دهندگی دارند) مانع از تبدیل آهن به شکل فریک (Fe^{3+}) می‌گردند. آهن در حالت Fe^{2+} به‌طور برگشت‌پذیر به اکسیژن متصل شده، ولی در حالت Fe^{3+} به اکسیژن اتصال نمی‌یابد. هم در تعدادی از پروتئین‌های حامل اکسیژن، و همچنین بعضی پروتئین‌های دیگر، نظیر سیتوکروم‌های شرکت‌کننده در واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء (انتقال الکترون) (فصل ۱۹) وجود دارد.

در ملکول‌های هم آزاد، واکنش اکسیژن در یکی از دو پیوند کوئوردیناتس «باز» آهن (عمود بر صفحه ملکول پورفیرین، در بالا و پایین) می‌تواند منجر به تبدیل غیرقابل‌برگشت Fe^{2+} به Fe^{3+} گردد. در پروتئین‌های حاوی هم، با مخفی‌نمودن هم در عمق یک ساختمان پروتئینی، به علت ایجاد محدودیت در دسترسی به این دو پیوند کوئوردیناتس باز، این واکنش مهار می‌گردد. یکی از این دو پیوند کوئوردیناتس توسط نیتروژن زنجیر جانبی یک ریشه His اشغال می‌گردد. پیوند دیگر نیز محل اتصال اکسیژن ملکولی (O_2) می‌باشد (شکل ۲-۷). با اتصال اکسیژن، ویژگی‌های الکترونی آهن هم تغییر می‌یابد؛ این موضوع علت تغییر رنگ ارغوانی تیره خون وریدی فاقد اکسیژن به قرمز روشن خون شریانی غنی از اکسیژن می‌باشد. بعضی از ملکول‌های کوچک، نظیر منواکسید کربن (CO) و اکسید نیتریک (NO) تمایل بیشتری، نسبت به O_2، برای ایجاد پیوند کوئوردیناتس با آهن هم دارند. با اتصال یک ملکول CO به هم، O_2 خارج می‌گردد که علت سمیت شدید CO برای موجودات هوازی است. با احاطه و مخفی‌نمودن هم، پروتئین‌های حامل اکسیژن، دسترسی CO و ملکول‌های کوچک دیگر را به آهن هم محدود می‌نمایند.)

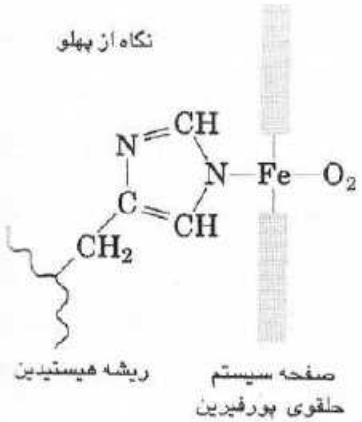
میوگلوبین دارای یک جایگاه واحد اتصالی برای اکسیژن می‌باشد

میوگلوبین (وزن‌ملکول ۱۶،۷۰۰، با مخفف Mb) یک پروتئین اتصالی نسبتاً ساده اکسیژن می‌باشد که تقریباً در تمامی پستانداران، بخصوص در بافت عضلانی، دیده می‌شود. این پروتئین در عضلات پستانداران شیرجه‌رو، نظیر

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱-۷. هم. گروه هم موجود در میوگلوبین، هموگلوبین و بسیاری از پروتئین‌های دیگر، که پروتئین‌های همی نامیده می‌شوند. هم از یک ساختمانی حلقوی آلی پیچیده، بنام پروتوپورفیرین IX، تشکیل شده است که یک اتم آهن در وضعیت فرو (Fe^{2+}) به آن متصل می‌باشد. پورفیرین‌ها که از میان آنها پروتوپورفیرین IX تنها یک مثال می‌باشد، از چهار حلقه پیرولی تشکیل شده‌اند که توسط پل‌های ستنی (methene) به یکدیگر اتصال یافته (a) و استخلاف‌هایی در یک یا چند موقعیت نشان‌داده شده با X آنها وجود دارد. دو نمایش از هم در (b) و (c) دیده می‌شود. اتم هم دارای شش پیوند کوئوردینانس می‌باشد: چهار تا در صفحه سیستم حلقوی پورفیرینی و متصل به این سیستم و دو تا عمود بر این سیستم (d).



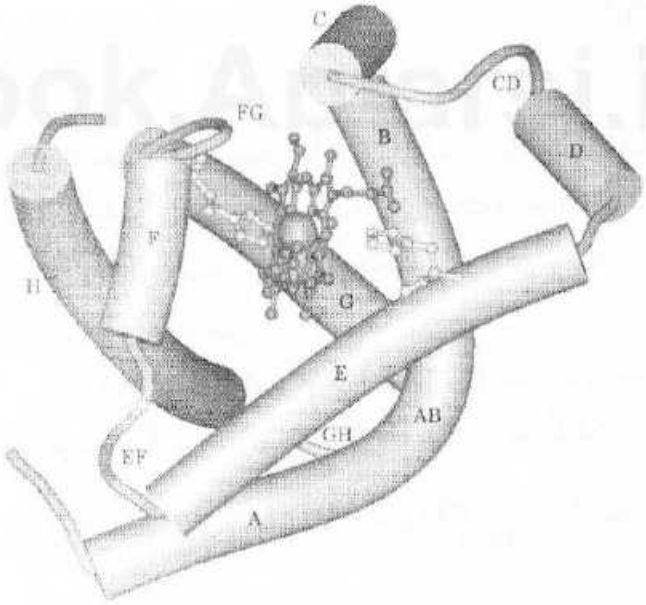
شکل ۲-۷. نمای جانبی گروه هم. در این نمای جانبی، دو پیوند کوئوردینانس Fe^{2+} عمود بر سیستم حلقوی پورفیرینی نشان داده شده است. یکی از این دو پیوند توسط یک ریشه His اشغال شده که گاهی هیستیدین نزدیک نامیده می‌شود. پیوند دیگر، جایگاهی برای اتصال اکسیژن می‌باشد. چهار پیوند کوئوردینانس باقیمانده در صفحه سیستم مسطح حلقه پورفیرینی و متصل به آن قرار دارند.

فک و وال فراوانی خاصی دارد که می‌بایست برای گردش طولانی‌مدت در زیر دریا، ذخیره کافی اکسیژن را داشته باشند. پروتئین‌های مشابه میوگلوبین دارای انتشار وسیعی بوده و حتی در موجودات تک‌سلولی نیز وجود دارند. میوگلوبین اکسیژن را برای دوره‌هایی که نیاز به اکسیژن بالا می‌باشد، ذخیره نموده و انتشار آن به بافت‌های نیازمند اکسیژن را تسهیل می‌نماید.

میوگلوبین پلی‌پپتید واحدی با ۱۵۳ ریشه اسید آمینه و یک ملکول هم است. میوگلوبین شاخص خانواده‌ای از پروتئین‌ها، بنام **گلوبین‌ها**، می‌باشد که دارای ساختمان‌های اول و سوم مشابه هستند. این پلی‌پپتید از هشت قطعه α-مارپیچی تشکیل شده است که توسط خمیدگی‌هایی به یکدیگر متصل شده‌اند (شکل ۳-۷). حدود ۷۵٪ ریشه‌های اسید آمینه این پروتئین در این مارپیچ‌های α وجود دارد.

هر بحثی پیرامون فعالیت پروتئینی، ناچاراً نیازمند ساختمان پروتئینی است. با معرفی چند قرارداد ساختمانی مخصوص گلوبین‌ها، بحث در مورد میوگلوبین ساده‌تر می‌گردد. همانطور که در شکل ۳-۷ نشان داده است، قطعات

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳-۷. ساختمان میوگلوبین. هشت قطعه مارپیچ α (در اینجا به‌صورت استوانه نشان داده شده‌اند) با حروف A تا H نامگذاری می‌شوند. ریشه‌های غیرمارپیچی موجود در خمیدگی‌ها متصل‌کننده این مارپیچ‌ها، براساس قطعاتی که به یکدیگر متصل می‌نمایند، به‌صورت AB، CD، EF و غیره، مشخص می‌گردند. بعضی از خمیدگی‌ها، نظیر BC و DE، وجود نداشته و فاقد هرگونه ریشه‌ای می‌باشند؛ این خمیدگی‌ها به‌طورطبیعی نامگذاری نمی‌گردند. (قطعه کوتاهی که بین D و E وجود دارد، اشکال نمایش کامپیوتری است.) هم در داخل پاکتی قرار می‌گیرد که بیشتر توسط مارپیچ‌های E و F ساخته شده است، هرچند ریشه‌های اسید آمینه دیگر قطعات نیز در ایجاد این پاکت همکاری دارند.

مارپیچی از A تا H نامیده می‌شوند. هر ریشه اسید آمینه ممکن است توسط موقعیت آن در توالی اسید آمینه‌ای یا موقعیت آن در داخل توالی یک قطعه مارپیچ α خاص مشخص گردد. برای مثال، ریشه His که با هم در میوگلوبین ایجاد پیوند کوئوردینانس می‌نماید، His^{93} (نود و سومین ریشه اسید آمینه از انتهای آمینو توالی پلی‌پپتیدی میوگلوبین) می‌باشد که His F8 (هشتمین ریشه α-مارپیچ F) نیز نامیده می‌شود. خمیدگی‌های موجود در این ساختمان با AB، CD، EF و غیره مشخص می‌گردند که قطعات α-مارپیچی متصل‌شده به یکدیگر را نشان می‌دهند.

واکنش‌های متقابل پروتئین-لیگاند را می‌توان به‌طورکمی شرح داد

فعالیت میوگلوبین به توانایی آن در اتصال به اکسیژن و همچنین به رهاسازی آن در موارد مورد نیاز، وابسته است. در بیوشیمی، اغلب فعالیت حول یک واکنش متقابل قابل‌برگشت لیگاند-پروتئین از این نوع دور می‌زند. ازاینرو، بیان کمی این واکنش متقابل قسمت مهمی از تحقیقات بیوشیمیایی را شامل می‌گردد.

به‌طورکلی، اتصال قابل‌برگشت یک پروتئین (P) به یک لیگاند (L) را می‌توان با یک **بیان تعادلی** ساده شرح داد:

$$P + L \rightleftharpoons PL \qquad (۷-۱)$$

این واکنش با یک ثابت تعادل، K_a، مشخص می‌گردد.

$$K_a = \frac{[PL]}{[P][L]} \qquad (۷-۲)$$

اصطلاح K_a یک **ثابت پیوستگی** [1] (با K_a که ثابت تفکیک یک اسید را مشخص می‌نماید، اشتباه نگردد؛ ص. ۱۱۵ را ببینید) می‌باشد. این ثابت پیوستگی، معیاری از تمایل لیگاند L برای پروتئین است. K_a دارای واحد M^{-1} بوده و مقادیر بالاتر K_a، تمایل بیشتر لیگاند به پروتئین را نشان می‌دهد. تغییر آرایش معادله ۲-۷ نشان می‌دهد که نسبت پروتئین متصل‌شده به آزاد مستقیماً با غلظت لیگاند آزاد ارتباط دارد:

1- Association constant

Book.Apfarsi.ir

$$K_a[L] = \frac{[PL]}{[P]} \qquad (۷-۳)$$

وقتی غلظت لیگاند بسیار بیشتر از غلظت جایگاه‌های اتصالی لیگاند می‌باشد، اتصال لیگاند به پروتئین، تغییر قابل توجهی را در غلظت لیگاند آزاد (اتصال‌نیافته) ایجاد نمی‌نماید؛ بعبارتی دیگر، [L] ثابت باقی می‌ماند. این حالت را می‌توان به‌طوروسیعی برای اکثر لیگاندهایی بکار برد که به پروتئین‌های موجود در سلول‌ها اتصال یافته و بیان تعادل اتصالی ما را ساده می‌کنند.

بنابراین، می‌توان این تعادل اتصالی را از نقطه نظر کسری از جایگاه‌های اتصالی لیگاند موجود در روی پروتئین که توسط لیگاند اشغال نشده‌اند، θ (تتا)، در نظر گرفت:

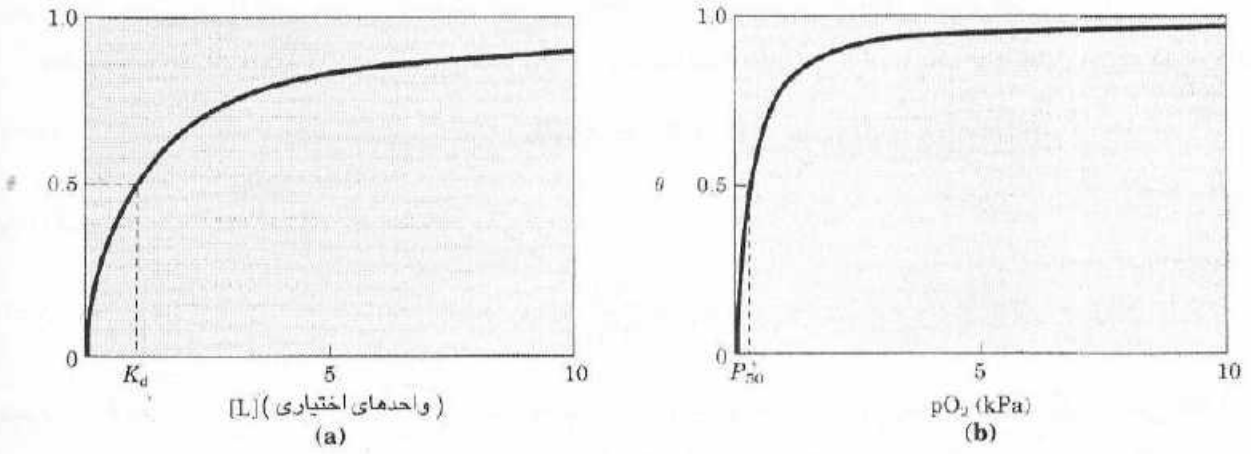
$$\theta = \frac{\text{جایگاه‌های اتصالی اشغال‌شده}}{\text{کل جایگاه‌های اتصالی}} = \frac{[PL]}{[PL] + [P]} \qquad (۷-۴)$$

با جایگزینی $K_a[L][P]$ برای $[PL]$ (معادله ۳-۷ را ببینید) و جابجایی اصطلاحات، خواهیم داشت:

$$\theta = \frac{K_a[L][P]}{K_a[L][P] + [P]} = \frac{K_a[L]}{K_a[L] + 1} = \frac{[L]}{[L] + \frac{1}{K_a}} \qquad (۷-۵)$$

اصطلاح K_a را می‌توان از نمودار θ در مقابل غلظت لیگاند آزاد، [L]، تعیین نمود (شکل a ۴-۷). هر معادله‌ای به شکل $x = y/(y+z)$ یک منحنی هیپربولیک را مشخص نموده و بنابراین θ یک تابع هیپربولیک [L] می‌باشد. با افزایش [L]، کسر جایگاه‌های اتصالی لیگاندی اشغال شده به شکل مماس با محور به اشباع می‌رسد. غلظتی از لیگاند که در آن نیمی از جایگاه‌های اتصالی لیگاندی موجود در دسترس اشغال شده باشند (در $\theta = ۰/۵$)، معادل $1/K_a$ است.

گاهی در نظر گرفتن ثابت تفکیک، K_d، ساده‌تر است که خود عکس K_a ($K_d = 1/K_a$) بوده و بر حسب واحد



شکل ۴-۷. نمایش‌های گرافیکی اتصال لیگاندی. نمودار کسری از جایگاه‌های اتصالی لیگاندی اشغال‌شده، θ، در برابر غلظت لیگاند آزاد رسم شده است. هر دو منحنی به‌صورت هیپربول‌های مستطیلی می‌باشند. **(a)** یک منحنی اتصالی فرضی برای لیگاند L. غلظتی از L که در آن نیمی از جایگاه‌های دردسترس اشغال می‌گردند، معادل $1/K_a$ یا K_d است. این منحنی در θ برابر ۱ به شکل خط مماس افقی و در $1/K_a = -1$ = [L] به صورت خط مماس عمودی (نشان داده نشده است) می‌باشد. **(b)** منحنی که اتصال اکسیژن به میوگلوبین را نشان می‌دهد. فشار نسبی O_2 در هوای بالای محلول برحسب کیلوپاسکال (kPa) بیان شده است. میوگلوبین به‌طورمحکم، با $P_{0.5}$ تنها ۰/۲۶ kPa، به اکسیژن متصل می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir

غلظت مولار (M) بیان می‌گردد. K_d ثابت تعادل آزادسازی لیگاند می‌باشد. بنابراین معادلات فوق به‌صورت زیر تغییر می‌یابند:

$$K_d = \frac{[P][L]}{[PL]} \qquad (۷-۶)$$

$$[PL] = \frac{[P][L]}{K_d} \qquad (۷-۷)$$

$$\theta = \frac{[L]}{[L] + K_d} \qquad (۷-۸)$$

وقتی [L] برابر K_d باشد، نیمی از جایگاه‌های اتصالی لیگاند اشغال خواهد بود. در مقادیر [L] کمتر از K_d لیگاند کمی به پروتئین اتصال می‌یابد. برای اشغال ۹۰٪ جایگاه‌های اتصالی لیگاندی دردسترس، می‌بایست [L]، ۹ برابر بیش از K_d باشد. در عمل، برای بیان تمایل یک پروتئین برای یک لیگاند، K_d بیشتر از K_a مورد استفاده قرار می‌گیرد. توجه داشته باشید که هر چه مقدار K_d کمتر باشد، تمایل لیگاند به پروتئین بیشتر خواهد بود. روابط ریاضی اشاره‌شده را می‌توان به شکل ساده بیان نمود: K_d غلظت مولی لیگاندی است که در آن نیمی از جایگاه‌های اتصالی لیگاندی موجود اشغال می‌شوند. در این حالت گفته می‌شود، پروتئین از لیگاند نیمه‌اشباع است. هر چه یک پروتئین محکمتر به یک لیگاند اتصال یابد، غلظت کمتری از لیگاند برای اشغال نیمی از جایگاه‌های اتصالی مورد نیاز بوده و بنابراین میزان K_d کمتر خواهد بود. ثابت تفکیک چندین پروتئین در جدول ۱-۷ آمده است.

اتصال اکسیژن به میوگلوبین از الگوهای فوق پیروی می‌نماید، ولی چون اکسیژن یک گاز می‌باشد، لازم است

جدول ۱-۷. ثابت‌های تفکیک چند پروتئین

پروتئین	لیگاند	$^*K_d (M)$
آویدین (سفیده تخم‌مرغ)†	بیوتین	۱×۱۰^{-۱۵}
گیرنده انسولین (انسان)	انسولین	۱×۱۰^{-۱۰}
ایمنوگلبولین ضد HIV (انسان) ‡	gp41 (پروتئین سطحی HIV-1)	۴×۱۰^{-۱۰}
پروتئین اتصالی نیکل	Ni^{2+}	۱×۱۰^{-۷}
کالمودولین (موش صحرائی)§	Ca^{2+}	۳×۱۰^{-۶}
		۲×۱۰^{-۵}

* ثابت تفکیک گزارش‌شده تنها برای شرایط خاصی از محلول معتبر می‌باشد که تحت آن شرایط اندازه‌گیری انجام شده است. با تغییر غلظت نمک، pH یا سایر متغیرها در محلول، مقادیر K_d یک واکنش متقابل پروتئین-لیگاند، گاهی با چندین برگی، می‌تواند تغییر نماید.

† واکنش متقابل آویدین و کوفکتور آنزیمی بیوتین از جمله قویترین واکنشهای متقابل غیرکووالان بیوشیمیائی شناخته‌شده می‌باشد.

‡ این ایمونوگلبولین در هنگام تولید یک واکسن بر علیه HIV بدست آمده است. ایمونوگلوبولین‌ها (بعداً در این فصل مورد بحث قرار می‌گیرند)، بسیار متغیر هستند و K_d گزارش‌شده در اینجا را نباید برای تمامی ایمونوگلبولین‌ها در نظر گرفت.

§ کالمودولین دارای چهار جایگاه اتصالی برای کلسیم می‌باشد. مقادیر آورده‌شده در اینجا، مربوط به جایگاههای با بیشترین و کمترین تمایل اتصالی می‌باشند که در یک سری اندازه‌گیری بدست آمده‌اند.

Book.Apfarsi.ir

دستکاری‌های جزئی در معادلات صورت دهیم. به‌طورساده می‌توان غلظت اکسیژن حل‌شده را بجای [L] در معادله ۸-۷ قرار داد:

$$\theta = \frac{[O_2]}{[O_2] + K_d} \qquad (۷-۹)$$

از آنجایی که برای هر لیگاندی، K_d برابر $[O_2]$ لازم برای اشغال نیمی از جایگاه‌های اتصالی لیگاندی موجود، یا $[O_2]_{0.5}$، می‌باشد، معادله ۹-۷ به‌صورت زیر خواهد شد:

$$\theta = \frac{[O_2]}{[O_2] + [O_2]_{0.5}} \qquad (۷-۱۰)$$

هرچند، غلظت یک ماده قرار در محلول، همواره متناسب با فشار نسبی موجود در فاز گازی بالای محلول می‌باشد. در آزمایشات انجام‌شده با استفاده از O_2 به‌عنوان لیگاند، فشار نسبی اکسیژن یا pO_2، ساده‌تر از غلظت اکسیژن حل‌شده قابل‌اندازه‌گیری است. درصورتیکه فشار نسبی اکسیژن را در $[O_2]_{0.5}$ به‌صورت P_{50} تعریف کنیم، معادله ۱۰-۷ به شکل زیر تبدیل خواهد گردید:

$$\theta = \frac{pO_2}{pO_2 + P_{50}} \qquad (۷-۱۱)$$

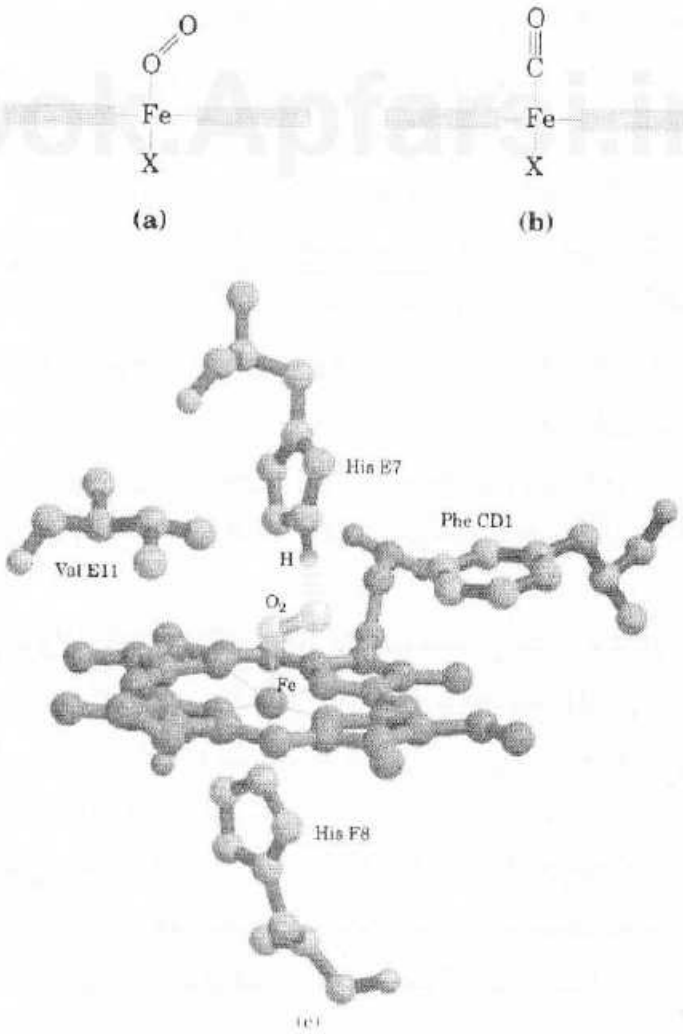
شکل ۴b-۷ منحنی اتصالی میوگلوبین را نشان می‌دهد که در آن θ با pO_2 ارتباط داده شده است.

ساختمان پروتئینی بر نحوه اتصال لیگاند تأثیر می‌گذارد

اتصال یک لیگاند به یک پروتئین اغلب پیچیده‌تر از طرحی است که توسط معادلات فوق مطرح می‌گردد. این واکنش متقابل به میزان زیادی تحت تأثیر ساختمان پروتئین بوده و اغلب همراه با تغییرات کونفورماسیونی می‌باشد. برای مثال، وقتی هم جزئی از ساختمان میوگلوبین باشد، ویژگی اتصال آن به لیگاندهای مختلف تغییر می‌یابد. CO به ملکول‌های آزاد هم بیش از ۲۰،۰۰۰ برابر بهتر از O_2، اتصال می‌یابد (K_d یا P_{50} برای اتصال به CO بیش از ۲۰،۰۰۰ برابر کمتر از میزان آن برای O_2 می‌باشد)، ولی وقتی هم به میوگلوبین اتصال می‌یابد، این میزان به ۲۰۰ برابر کاهش می‌یابد. این تفاوت تاحدودی به خاطر ممانعت فضایی می‌باشد. وقتی O_2 به هم آزاد اتصال پیدا می‌نماید، محور ملکول اکسیژن نسبت به پیوند Fe - O زاویه‌دار می‌باشد (شکل ۵a-۷). برعکس وقتی CO به هم آزاد اتصال می‌یابد، اتم‌های Fe، C و O در یک خط مستقیم قرار می‌گیرند (شکل ۵b-۷). (در هر دو حالت، ایجاد پیوند انعکاسی از هندسه اربیتال‌های هیبرید در هر لیگاند می‌باشد.) در میوگلوبین، His^{64} (His E7)، در سمت اتصال به O_2 هم، از آهن هم برای ایجاد پیوند کوئوردینانس بسیار دور بوده ولی با یک لیگاند متصل به هم واکنش می‌نماید. این ریشه که هیستیدین دور نامیده می‌شود، اثری بر روی اتصال O_2 ندارد (شکل ۵c-۷)، ولی ممکن است مانع اتصال خطی CO شده و توجیهی برای کاهش اتصال CO به هم موجود در میوگلوبین (و هموگلوبین) فراهم می‌نماید. این اثر بر روی اتصال CO، از نظر فیزیولوژیک مهم می‌باشد، زیرا CO محصول فرعی است که طی متابولیسم سلولی به میزان کمی تولید می‌گردد. به نظر می‌رسد که عوامل دیگری نیز در تعدیل واکنش متقابل هم با CO در این پروتئین‌ها نقش دارند که هنوز شناخته نشده‌اند.

اتصال O_2 به هم در میوگلوبین نیز وابسته به حرکات ملکولی، یا «نفس کشیدن» ساختمان پروتئین می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۵-۷. اثرات فضایی بر روی اتصال لیگاندها به هم موجود در میوگلوبین. (a) اکسیژن به طریقی به هم متصل می‌گردد که با محور O_2 ایجاد زاویه می‌نماید، این کونفورماسیون اتصالی براحتی در میوگلوبین دیده می‌شود. **(b)** منواکسید کربن به هم آزاد طوری متصل می‌گردد که محور CO عمود بر صفحه حلقه پورفیرینی می‌باشد. به خاطر تداخل فضایی ناشی از هیستیدین دور (His E7)، CO در هم موجود در میوگلوبین دارای آرایش کاملاً عمودی نبوده و قدری زاویه در آن ایجاد می‌گردد. این اثر سبب تضعیف اتصال CO به میوگلوبین می‌گردد. **(c)** نمای دیگر که آرایش ریشه‌های اسید آمینه کلیدی را در اطراف هم میوگلوبین نشان می‌دهد. O_2 از طریق پیوند هیدروژنی به هیستیدین دور (His^{64}، His E7) متصل می‌گردد.

ملکول هم عمیقاً در پلی‌پپتید تاشده مدفون بوده و هیچ مسیر مستقیمی برای رفتن اکسیژن از محلول اطراف به درون جایگاه اتصال لیگاند، وجود ندارد. درصورتیکه این پروتئین سخت می‌بود، O_2 نمی‌توانست به میزان قابل‌اندازه‌گیری وارد پاکت همی شده و از آن خارج گردد. هرچند، حرکات سریع ملکولی زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه، سبب ایجاد حفرات موقتی در ساختمان این پروتئین شده و O_2 از طریق این حفرات راه خود را به داخل یا خارج پیدا می‌نماید. شبیه‌سازی‌های کامپیوتری تغییرات سریع ساختمانی در میوگلوبین نشان می‌دهد که مسیرهای متعددی از این نوع وجود دارد. یکی از راه‌های اصلی با چرخش زنجیر جانبی هیستیدین دور (His^{64}) حاصل می‌گردد که در مقیاس زمانی نانوثانیه (10^{-9} s) رخ می‌دهد. حتی تغییرات کونفورماسیونی جزئی می‌تواند برای فعالیت پروتئینی مهم باشد.

اکسیژن در خون توسط هموگلوبین انتقال داده می‌شود

تقریباً تمامی اکسیژنی که در خون حیوانات حمل می‌گردد، به هموگلوبین موجود در گلبول‌های قرمز خون متصل می‌باشد. گلبول‌های قرمز طبیعی انسان، دیسک‌های مقعرالطرفین کوچک (با قطر ۶ تا ۹ μm) می‌باشند. این سلول‌ها از سلول‌های ریشه‌ای پیش‌ساز بنام **هیموسیتوبلاست‌ها** ساخته می‌شوند. در طی فرایند بالغ‌شدن، سلول ریشه‌ای تولید سلول‌های دختری می‌نمایند که مقادیر زیادی هموگلوبین ساخته و سپس اندامک‌های داخل‌سلولی (هسته، میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی) را از دست می‌دهند. بنابراین گلبول‌های قرمز خون، سلول‌های غیرکاملی هستند که قادر به تکثیر نبوده و در انسان تنها ۱۲۰ روز عمر دارند. فعالیت اصلی گلبول‌های قرمز، حمل هموگلوبین می‌باشد که با غلظت بسیار بالا (حدود ۳۴٪ وزن) و به‌صورت محلول در سیتوزول وجود دارد.

در هنگام عبور خون شریانی از ریه‌ها و سپس قلب و بافت‌های محیطی، هموگلوبین حدود ۹۶٪ از اکسیژن

Book.Apfarsi.ir

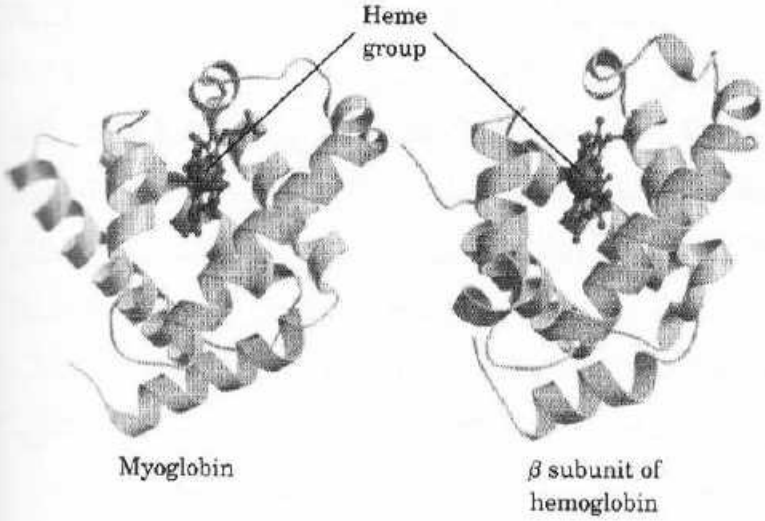
اشباع می‌باشد. در خون وریدی که به قلب برمی گردد، میزان اشباع هموگلوبین از اکسیژن به ۶۴٪ می‌رسد. بنابراین، هر ۱۰۰ mL خونی که از میان یک بافت عبور می‌نماید، حدود یک سوم اکسیژن حمل‌شده، معادل ۶/۵ mL از گاز O_2 در فشار اتمسفر و دمای بدن، را آزاد می‌سازد.

میوگلوبین با منحنی اتصالی هیپربولیک خود برای اکسیژن (شکل ۶-۷b)، نسبت به تغییرات کوچک در میزان اکسیژن حل‌شده نسبتاً غیرحساس بوده و بنابراین به‌عنوان یک پروتئین ذخیره‌ای اکسیژن عمل می‌نماید. هموگلوبین با زیرواحدها و جایگاه‌های متعدد اتصال به اکسیژن، برای انتقال اکسیژن مناسب‌تر می‌باشد. همانطور که خواهیم دید، واکنش‌های متقابل موجود در بین زیرواحدهای یک پروتئین چندزیرواحدی می‌تواند پاسخ شدیداً حساسی را به تغییرات کوچک در غلظت لیگاندی سبب گردد. واکنش‌های متقابل بین زیرواحدهای موجود در هموگلوبین منجر به تغییرات کونفورماسیونی می‌گردد که تمایل این پروتئین به اکسیژن را تغییر می‌دهد. تعدیل اتصال اکسیژن به این پروتئین ناقل O_2 این امکان را فراهم می‌سازد تا به تغییرات ایجادشده در نیاز بافت‌ها به اکسیژن، پاسخ دهد.

زیرواحدهای هموگلوبین از نظر ساختمانی مشابه میوگلوبین می‌باشند

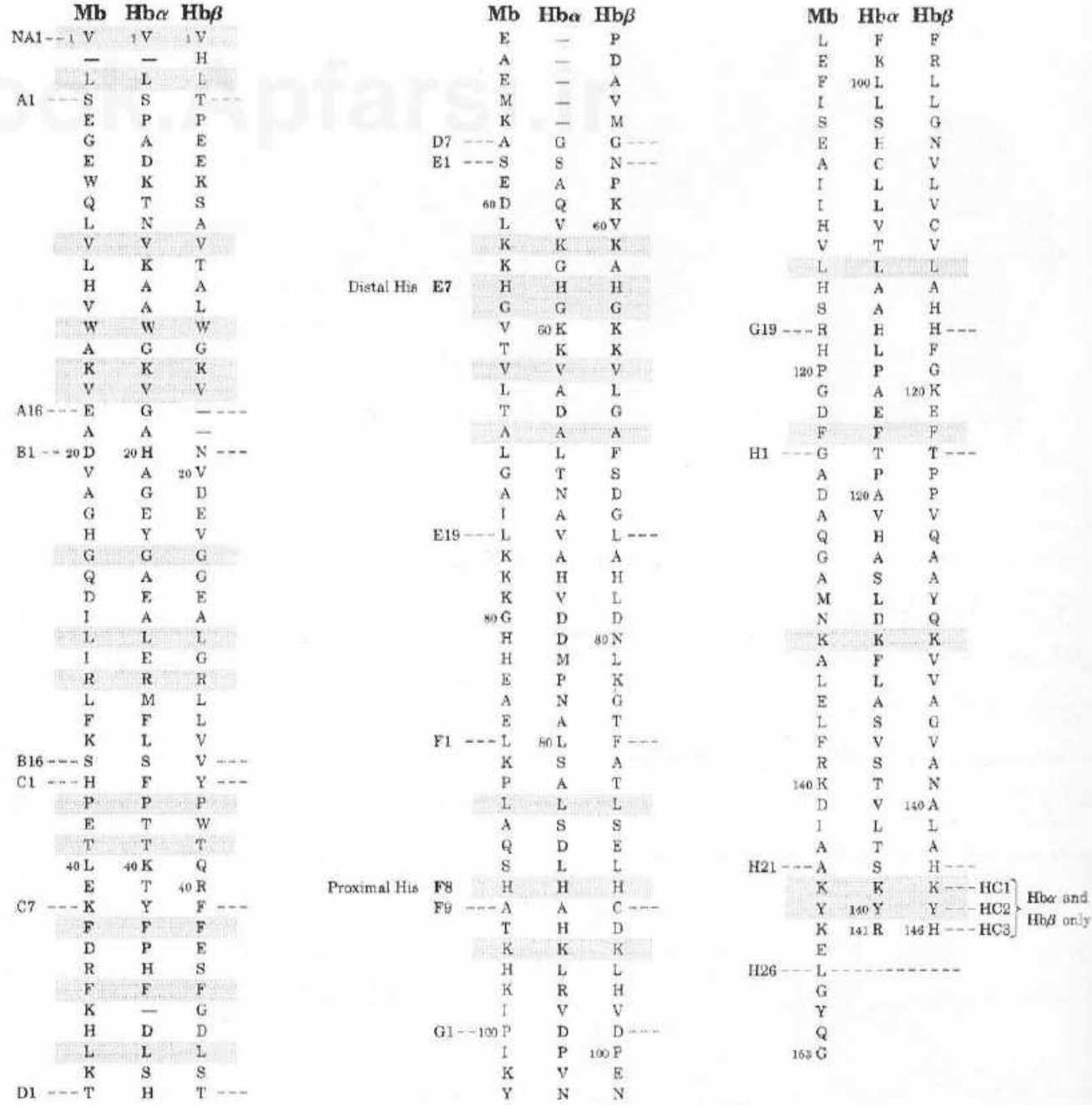
هموگلوبین (وزن‌ملکولی ۶۴،۵۰۰؛ با مخفف Hb) یک ملکول تقریباً کروی با قطری حدود ۵/۵ nm می‌باشد. این ملکول یک پروتئین تترامر با چهار گروه پروستتیک هم می‌باشد که هر ملکول آن به یک زنجیر پلی‌پپتیدی اتصال یافته است. هموگلوبین بالغین از دو نوع گلوبین، شامل دو زنجیر α (هرکدام با ۱۴۱ اسید آمینه) و دو زنجیر β (هرکدام با ۱۴۶ اسید آمینه) تشکیل شده است. هرچند کمتر از نصف ریشه‌های موجود در توالی‌های پلی‌پپتیدی زیرواحدهای α و β با یکدیگر مشابه هستند، ساختمان سه‌بُعدی این دو نوع زیرواحد بسیار مشابه می‌باشد. بعلاوه، ساختمان اینها بسیار شبیه ساختمان میوگلوبین است (شکل ۶-۷)، در حالی که توالی‌های اسید آمینه‌ای این سه پلی‌پپتید تنها در ۲۷ موقعیت یکسان می‌باشند (شکل ۷-۷). هر سه این پلی‌پپتیدها، عضو خانواده گلوبین پروتئین‌ها هستند. برای نامگذاری مارپیچ‌های موجود در پلی‌پپتیدهای هموگلوبین، از همان روش بکار رفته در مورد میوگلوبین استفاده شده، به استثناء اینکه زیرواحد α فاقد مارپیچ کوتاه D می‌باشد. قسمت اعظم پاکت اتصالی هم در مارپیچ‌های E و F ساخته می‌شود.

ساختمان چهارم هموگلوبین، واکنش‌های متقابل قوی را بین زیرواحدهای غیریکسان نشان می‌دهد. در سطح تماس $\alpha_1\beta_1$ (و همچنین $\alpha_2\beta_2$)، بیش از ۳۰ ریشه دخالت داشته و این اتصال آنقدر قوی می‌باشد که حتی مجاورت



شکل ۶-۷. مقایسه‌ای بین ساختمان‌های میوگلوبین و زیرواحد β هموگلوبین.

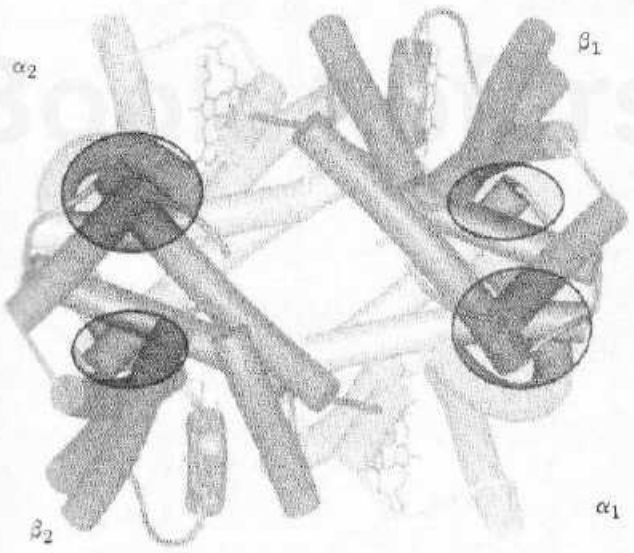
Book.Apfarsi.ir



شکل ۷-۷ [شکل ۱۵ ضمیمه رنگی]. توالی‌های اسید آمینه‌ای میوگلوبین وال و زنجیرهای α و β هموگلوبین انسان. خطوط منقطع مرزهای مارپیچ را مشخص می‌نمایند. به استثناء مارپیچ ازدست‌رفته D در Hbα، این صفوف اجازه استفاده از حروف‌گذاری متداولی را فراهم می‌سازند که بر روی موقعیت‌های مشترک ریشه‌های اسید آمینه مشابه (سایه‌دار) در هر سه ساختمان تأکید می‌نماید. ریشه‌های دارای سایه در تمامی گلوبین‌های شناخته شده حفظ شده‌اند. توجه داشته باشید که یک نامگذاری حروفی و عددی مشترک برای اسیدهای آمینه در دو یا سه ساختمان مختلف، لزوماً با یک موقعیت مشترک در توالی خطی اسیدهای آمینه در پلی‌پپتید ارتباط ندارد. برای مثال، ریشه هیستیدین دور در تمامی این سه ساختمان، His E7 می‌باشد، ولی این ریشه مربوط به His^{64}، His^{58} و His^{63}، به ترتیب در Mb، Hbα و Hbβ است. ریشه‌های غیرمارپیچی موجود در دوانتهای آمینو و کربوکسیل که قبل از اولین قطعه مارپیچ α (A) و بعد از آخرین قطعه مارپیچ α (H) قرار دارند، به ترتیب با NA و HC مشخص شده‌اند.

ملایم هموگلوبین با اوره منجر به تجزیه این تترامر به دیمرهای $\alpha\beta$ شده و این دیمرها سالم باقی می‌مانند. در سطح تماس $\alpha_1\beta_2$ (و $\alpha_2\beta_1$)، ۱۹ ریشه دخالت دارد (شکل ۸-۷). در این سطوح تماسی، واکنش‌های متقابل آبگریز غالب بوده، ولی ممکن است پیوندهای هیدروژنی متعدد و چند جفت یونی (گاهی پل‌های نمکی نامیده می‌شوند) نیز وجود داشته باشد که اهمیت آنها در قسمت پایین مورد بررسی قرار داده می‌شود.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۷. واکنش‌های متقابل غالب در بین زیرواحدها. در این شکل، زیرواحدهای α روشن و زیرواحدهای β تیره می‌باشند. قویترین واکنش‌های متقابل زیرواحدی (مشخص‌شده) بین زیرواحدهای غیریکسان رخ می‌دهد. وقتی اکسیژن اتصال می‌یابد، تماس $\alpha_1\beta_1$ تغییر کمی می‌نماید ولی تماس $\alpha_1\beta_2$ دچار تغییر بزرگی همراه با شکستن چندین جفت یونی می‌گردد.

با اتصال اکسیژن، هموگلوبین دچار یک تغییر ساختمانی می‌گردد

بررسی با اشعه-x دو کونفورماسیون اصلی، شامل **حالت R** و **حالت T**، را برای هموگلوبین نشان می‌دهد. هر چند در هر دو این حالات، اکسیژن به هموگلوبین اتصال می‌یابد، ولی تمایل حالت R برای اتصال به اکسیژن به‌طور قابل توجه‌ای بیشتر می‌باشد. اتصال اکسیژن سبب پایداری حالت R می‌شود. وقتی در شرایط تجربی اکسیژن وجود ندارد، حالت T پایدارتر بوده و بنابراین کونفورماسیون غالب **داکسی‌هموگلوبین** می‌باشد. T و R به ترتیب از لغات «سخت[1]» و «شل[2]» ریشه می‌گیرند، زیرا حالت T توسط جفت‌های یونی بیشتر پایدار می‌گردد که بسیاری از آنها در سطح تماس $\alpha_1\beta_2$ (و $\alpha_2\beta_1$) قرار دارند (شکل ۹-۷). اتصال O_2 به هموگلوبین در حالت T سبب آغاز یک تغییر کونفورماسیونی به سمت حالت R می‌گردد. وقتی تمامی ملکول متحمل چنین تغییری شد، ساختمان هر زیرواحد تغییر مختصری نموده، ولی جفت‌های زیرواحدی $\alpha\beta$ با چرخش و عبور از روی یکدیگر، پاکت موجود در بین زیرواحدهای β را باریک می‌نمایند (شکل ۱۰-۷). در طی این فرایند، بعضی از جفت‌های یونی پایدارکننده حالت T شکسته شده و بعضی از انواع جدید مجدداً تشکیل می‌گردند.

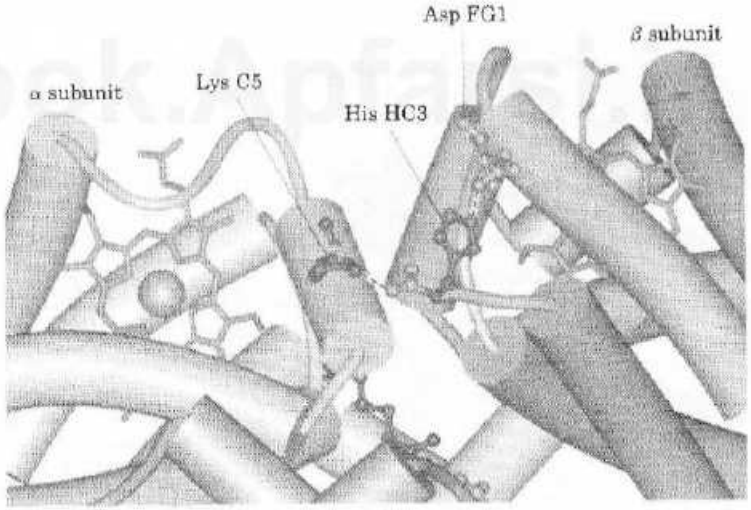
ماکس پروتز[3] مطرح نمود که تغییر $T \rightarrow R$ با ایجاد تغییراتی در موقعیت زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه کلیدی موجود در اطراف هم آغاز می‌گردد. در حالت T، این پورفیرین قدری چروکیده بوده که سبب می‌گردد تا آهن هم قدری به سمت هیستیدین نزدیک (His F8) بیرون بیافتد. با اتصال O_2، هم کونفورماسیون مسطح‌تری را بدست می‌آورد که همراه با تغییر موقعیت هیستیدین نزدیک و مارپیچ F متصل به آن می‌باشد (شکل ۱۱-۷). بعلاوه، یک ریشه والین در مارپیچ E (Val E11)، به‌طورنسبی هم را در حالت T مسدود نموده و می‌بایست از مسیر اتصال اکسیژن خارج گردد (شکل ۱۰-۷). این تغییرات منجر به تنظیم جفت‌های یونی در سطح تماس $\alpha_1\beta_2$ می‌شود.

هموگلوبین به‌طورتعاونی به اکسیژن اتصال می‌یابد

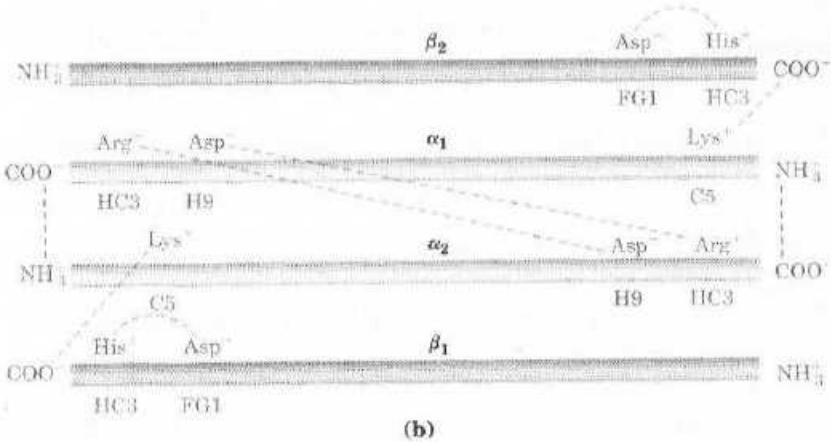
هموگوبین می‌بایست در درون ریه‌ها که دارای pO_2 حدود ۱۳/۳ kPa می‌باشند، به‌طورمؤثری به اکسیژن متصل شده و در بافت‌ها که دارای pO_2 حدود ۴ kPa هستند، اکسیژن را آزاد نمایند. میوگلوبین یا هر پروتئین اتصالی دیگری

1- Tense 2- Relaxed 3- Max Perutz

Book.Apfarsi.ir

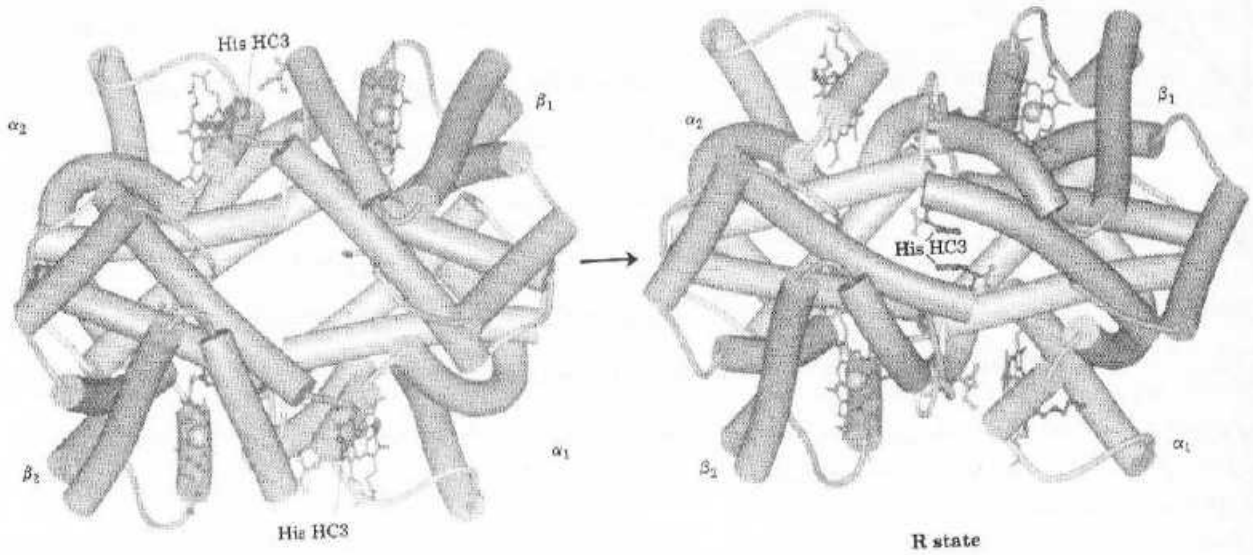


(a)



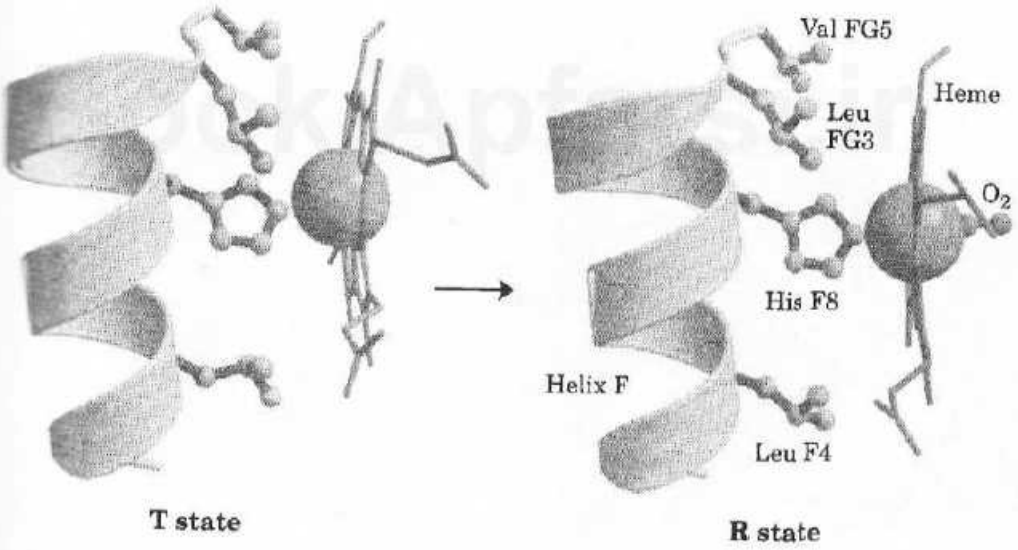
(b)

شکل ۹-۷. چند جفت یونی در تثبیت حالت T داکسی‌هموگلوبین. (a) نمای نزدیکی از یک قسمت در ملکول داکسی‌هموگلوبین در حالت T. واکنش‌های متقابل بین جفت‌های یونی His HC3 و Asp FG1 زیرواحد β و بین Lys C5 زیرواحد α و گروه α-کربوکسیل His HC3 زیرواحد β با خطوط منقطع نشان داده شده است. (به خاطر داشته باشید که HC3 ریشه انتهای کربوکسیل زیرواحد β می‌باشد.) (b) واکنش‌های متقابل بین این جفت‌های یونی و سایر قسمت‌هایی که در (a) نشان داده نشده‌اند، در این شکلِ زنجیرهای پلی‌پپتیدی استدادیافته هموگلوبین مشخص می‌باشند.

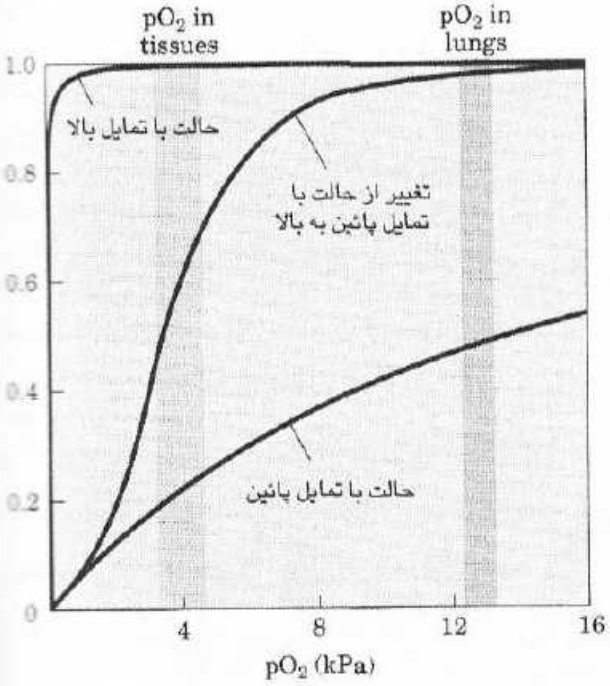


شکل ۱۰-۷ [شکل ۱۶ ضمیمه رنگی]. تغییر R ⇌ T. در این اشکال داکسی‌هموگلوبین، زیرواحدهای β آبی روشن و زیرواحدهای α خاکستری می‌باشند. زنجیرهای جانبی دارای بار مثبت و انتهاهای زنجیری که در جفت‌های یونی نقش دارند، به رنگ آبی نشان داده شده و پارتنرهای با بار منفی آنها صورتی می‌باشند. Lys C5 هر زیرواحد α و Asp FG1 هر زیرواحد β مشخص بوده ولی نشاندار نشده‌اند (با شکل ۹a-۷ مقایسه نمایید). توجه داشته باشید که جهت این ملکول قدری متفاوت از شکل ۹-۷ می‌باشد. با تبدیل حالت T به حالت R، جفت‌های زیرواحدی به‌طورواساسی جابجا شده و بر روی بعضی جفت‌های یونی تأثیر می‌گذارند. از همه مشخص‌تر، ریشه‌های His HC3 در دو انتهای کربوکسیل زیرواحدهای β می‌باشند که در حالت T در ایجاد جفت‌های یونی شرکت نموده ولی در حالت R به سمت مرکز ملکول چرخش نموده و دیگر در ایجاد جفت یونی شرکت نمی‌نمایند. نتیجه برجسته دیگر تغییر R ⇌ T، باریک‌شدن پاکت بین زیرواحدهای β می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۷. تغییرات کونفورماسیون نزدیک هم بر روی اتصال O_2. تغییر موقعیت مارپیچ F در هنگام اتصال به O_2 یکی از عواملی است که معتقدند که تغییر $T \rightarrow R$ را آغاز می‌نماید.



شکل ۱۲-۷. یک منحنی اتصالی سیگموئید (تعاونی). یک منحنی سیگموئید را می‌توان به‌صورت منحنی هیپربدی در نظر گرفت که تغییر از حالت با تمایل کم به حالت با تمایل بالا را نشان می‌دهد. اتصال تعاونی، همانطورکه با منحنی سیگموئید مشخص می‌گردد، هموگلوبین را به تفاوت‌های کم غلظت O_2 بین بافت‌ها و ریه‌ها حساستر نموده و سبب می‌گردد تا هموگلوبین بتواند در ریه‌ها که pO_2 بالاتری دارند به اکسیژن متصل شده و در سطح بافت‌ها که pO_2 کمتری دارند، آن را رها سازد.

که براساس یک منحنی هیپربولیک به اکسیژن متصل می‌گردد، بنا به دلیل شرح داده شده در شکل ۱۲-۷، برای چنین فعالیتی مناسب نمی‌باشد. پروتئینی که دارای تمایل بالائی برای اتصال به O_2 است، در ریه‌ها به‌طور مؤثری به اکسیژن متصل شده ولی میزان زیادی از آن را در سطح بافت‌ها آزاد نمی‌سازد. در صورتی که این پروتئین با تمایل پایین به اکسیژن اتصال یابد تا رهاسازی آن در سطح بافت ممکن باشد، آنگاه قادر به برداشت اکسیژن در ریه‌ها نخواهد بود.

هموگلوبین این مشکل را با تغییر از یک حالت با تمایل پایین (حالت T) به حالت با تمایل بالا (حالت R) در اثر اتصال ملکول‌های بیشتر O_2 حل نموده است. در نتیجه، هموگلوبین دارای یک منحنی اتصالی هیپرید S شکل یا سیگموئید برای اکسیژن می‌باشد (شکل ۱۲-۷). یک پروتئین تک‌واحدی با یک جایگاه اتصال به لیگاند، نمی‌تواند یک منحنی اتصالی سیگموئید داشته باشد؛ حتی اگر این اتصال همراه با تغییر در کونفورماسیون باشد، به علت اینکه هر ملکول لیگاند به‌طور مستقل اتصال یافته و نمی‌تواند بر روی اتصال ملکول دیگر اثر داشته باشد، بازهم منحنی سیگموئید ایجاد نمی‌گردد. برعکس، اتصال O_2 به زیرواحدهای مجزا هموگوبین می‌تواند منجر به تغییر تمایل زیرواحدهای مجاور به O_2 گردد. اولین ملکول O_2 که با داکسی‌هموگلوبین واکنش می‌نماید، دارای اتصال سست می‌باشد، زیرا به زیرواحدی در حالت T اتصال می‌یابد. هرچند، اتصال آن منجر به تغییرات کونفورماسیونی شده که به زیرواحدهای مجاور منتقل و اتصال ملکول‌های بعدی O_2 را راحت‌تر می‌نماید. با اتصال

Book.Apfarsi.ir

O_2 به زیرواحد اول، تغییر $T \rightarrow R$ در زیرواحد دوم ساده‌تر صورت می‌پذیرد. آخرین (چهارمین) ملکول O_2 در شرایطی به یک هم در یک زیرواحد اتصال می‌یابد که از قبل در حالت R بوده و بنابراین با تمایل بیشتری نسبت به ملکول اول اتصال می‌یابد.

یک **پروتئین آلوستریک**، پروتئینی است که اتصال یک لیگاند به یک جایگاه آن سبب تغییر ویژگی‌های اتصالی جایگاه دیگر در همان پروتئین گردد. اصطلاح آلوستریک از کلمات یونانی *allos* به معنی «دیگر» و *stereos* به معنی «جامد» یا «شکل» ریشه گرفته است. پروتئین‌های آلوستریک آنهایی هستند که دارای «اشکال دیگر» یا کونفورماسیون‌های دیگری می‌باشند که با اتصال لیگاندهایی بنام تعدیل‌کننده‌ها[1] القاء می‌شوند. تغییرات کونفورماسیونی حاصل از تعدیل‌کننده(ها) سبب تبدیل متقابل اشکال دارای فعالیت کمتر و بیشتر یک پروتئین به یکدیگر می‌گردد. تعدیل‌کننده‌های آلوستریک ممکن است مهارکننده یا فعال‌کننده باشند. وقتی لیگاند طبیعی و تعدیل‌کننده یکسان هستند، این واکنش متقابل را **هموتروپیک** گویند. وقتی تعدیل‌کننده ملکولی دیگری غیر از لیگاند طبیعی است، واکنش متقابل را **هتروتروپیک** نامند. بعضی از پروتئین‌ها دارای دو یا چند تعدیل‌کننده می‌باشند و بنابراین می‌توانند هر دو واکنش هموتروپیک و هتروتروپیک را داشته باشند.

اتصال تعاونی یک لیگاند به یک پروتئین مولتیمری، نظیر اتصال O_2 به هموگلوبین، شکلی از اتصال آلوستریکی می‌باشد که اغلب در پروتئین‌های مولتیمری مشاهده می‌گردد. اتصال یک لیگاند بر روی تمایلات هر جایگاه اتصالی پرنشده باقیمانده، اثر گذاشته و O_2 را می‌توان هم به‌عنوان لیگاند طبیعی و هم به‌عنوان یک تعدیل‌کننده فعال‌ساز هموتروپیک در نظر گرفت. بر روی هر زیرواحد، تنها یک جایگاه اتصالی برای O_2 وجود دارد، بنابراین اثرات آلوستریکی که منجر به حالت تعاونی می‌گردد، به واسطه تغییرات کونفورماسیونی به انجام می‌رسد که توسط واکنش‌های متقابل زیرواحد-زیرواحد از یک زیرواحد به زیرواحد دیگر انتقال می‌یابد. وجود یک منحنی اتصالی سیگموئید، نشانه اتصال تعاونی است. این نوع اتصال امکان ایجاد پاسخ بسیار حساس‌تری به غلظت لیگاند را فراهم نموده و برای فعالیت بسیاری از پروتئین‌های چندزیرواحدی مهم می‌باشد. اصول آلوستری در آنزیم‌های تنظیمی نیز کاربرد داشته که در فصل ۸ مورد بررسی قرار خواهد گرفت.

اتصال تعاونی لیگاند را می‌توان به‌طورکمی شرح داد

اتصال تعاونی اکسیژن به هموگلوبین برای اولین بار توسط آرچی‌بالد هیل[2] در سال ۱۹۱۰ شرح داده شد. برای پروتئینی با تعداد جایگاه‌های اتصالی n تعادل معادله ۱-۷ به‌صورت زیر خواهد بود:

$$P + nL \rightleftharpoons PL_n \qquad (۷-۱۲)$$

و ثابت پیوستگی آن برابر است با:

$$K_a = \frac{[PL_n]}{[P][L]^n} \qquad (۷-۱۳)$$

برای بیان θ (معادله ۸-۷) داریم:

1- Modulators 2- Archibald Hill

Book.Apfarsi.ir

$$\theta = \frac{[\mathrm{L}]^n}{[\mathrm{L}]^n + K_\mathrm{d}} \qquad (۷-۱۴)$$

با جابجایی اجزاء معادله و سپس گرفتن لگاریتم خواهیم داشت:

$$\frac{\theta}{1-\theta} = \frac{[L]^n}{K_\mathrm{d}} \qquad (۷-۱۵)$$

$$\log\left(\frac{\theta}{1-\theta}\right) = n \log [\mathrm{L}] - \log K_\mathrm{d} \qquad (۷-۱۶)$$

معادله ۱۶-۷، **معادله هیل** بوده و نمودار $\log [\theta / (1-\theta)]$ در مقابل $\log [\mathrm{L}]$ را **نمودار هیل** گویند. براساس این معادله، نمودار هیل می‌بایست دارای شیب n باشد. هرچند، شیبی که به‌طورتجربی بدست می‌آید، تعداد جایگاه‌های اتصالی را نشان نداده، بلکه انعکاسی از واکنش متقابل بین آنها است. بنابراین شیب نمودار هیل با n_H یا **ضریب هیل**، نشان داده می‌شود که معیاری از میزان اثر تعاونی می‌باشد. وقتی n_H برابر ۱ می‌باشد، اتصال لیگاند تعاونی نبوده و این حالت می‌تواند، در صورت عدم وجود ارتباط بین زیرواحدها، حتی در یک پروتئین چندزیرواحدی مشاهده گردد. وقتی n_H بیش از ۱ می‌باشد، نشانه وجود اثر تعاونی مثبت در اتصال لیگاندی می‌باشد. این حالت در مورد هموگلوبین مشاهده می‌گردد که اتصال یک ملکول لیگاند، اتصال ملکول‌های دیگر را تسهیل می‌نماید. حد بالای تئوری n_H زمانی حاصل می‌گردد که n_H برابر n گردد. در این حالت، اتصال کاملاً تعاونی می‌باشد: تمامی جایگاه‌های اتصالی پروتئین به‌طور همزمان به لیگاند متصل بوده و هیچ ملکول پروتئینی در هیچ شرایطی وجود ندارد که به‌طورنسبی توسط لیگاند اشباع شده باشد. در عمل، هیچگاه به این حد نمی‌رسیم و مقدار اندازه‌گیری‌شده n_H همواره کمتر از تعداد واقعی جایگاه‌های اتصالی لیگاند در پروتئین می‌باشد.

یک n_H کمتر از ۱، نشانه اثر تعاونی منفی می‌باشد که در آن اتصال یک ملکول لیگاند مانع اتصال ملکول‌های دیگر لیگاند می‌گردد. موارد تائیدشده اثر تعاونی منفی نادر می‌باشند.

برای استفاده معادله هیل در اتصال اکسیژن به هموگلوبین، مجدداً لازم است که $\mathrm{pO_2}$ را بجای $[\mathrm{L}]$ و P_{50} را بجای K_d قرار دهیم:

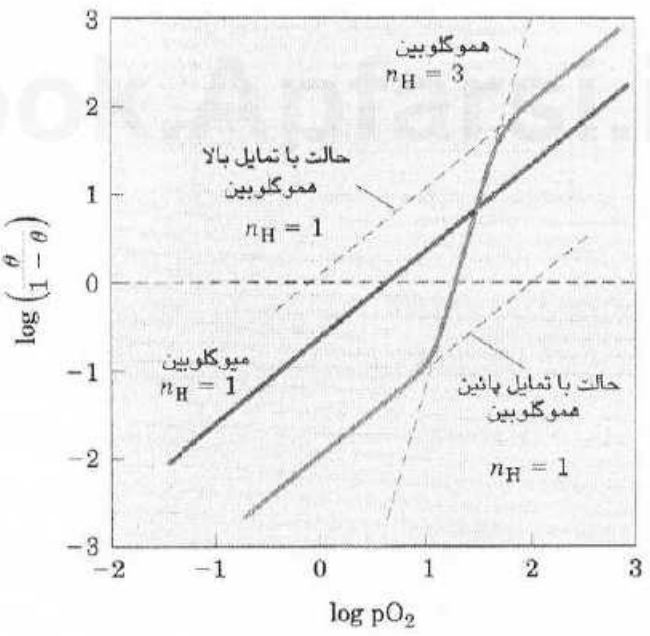
$$\log\left(\frac{\theta}{1-\theta}\right) = n \log \mathrm{pO_2} - \log P_{50} \qquad (۷-۱۷)$$

نمودارهای هیل میوگلوبین و هموگلوبین در شکل ۱۳-۷ آورده شده است.

دو مدل، مکانیسم‌هایی را برای اتصال تعاونی مطرح می‌نمایند

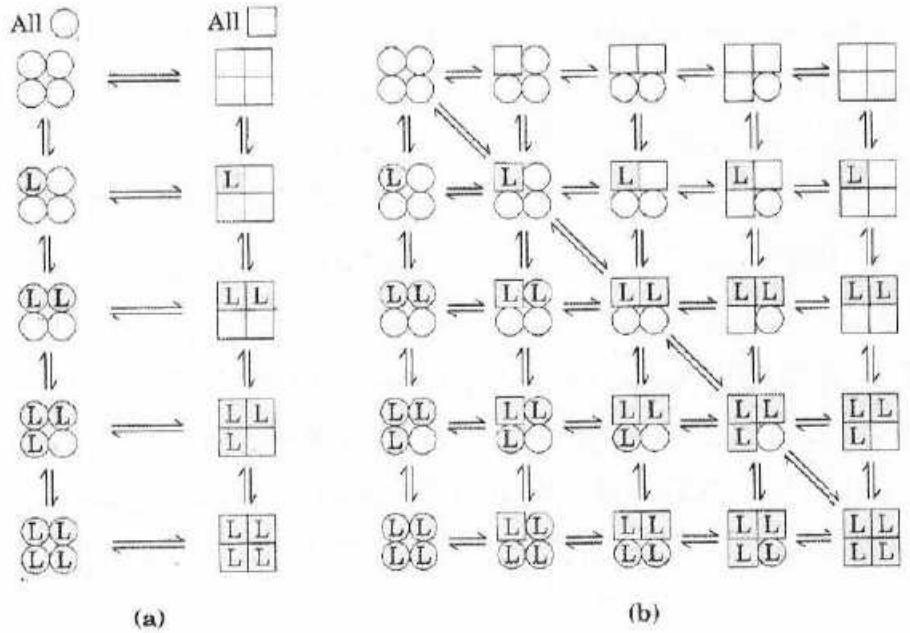
در حال حاضر بیوشیمیدان‌ها اطلاعات زیادی در مورد حالات T و R هموگلوبین دارند، ولی مطالبی زیادی در مورد نحوه تغییر $\mathrm{T} \rightarrow \mathrm{R}$ برای یادگرفتن باقی مانده است. دو مدل اتصال تعاونی لیگاندها به پروتئین‌های دارای جایگاه‌های متعدد اتصالی، اثرات عمیقی را بر تفکر روی این مشکل داشته است.

Book.Anfarsi.ir



شکل ۱۳-۷. نمودارهای هیل اتصال اکسیژن به میوگلوبین و هموگلوبین. وقتی n_H برابر ۱ می‌باشد، اثر تعاونی وجود ندارد. حداکثر اثر تعاونی در مورد هموگلوبین تقریباً مربوط به n_H برابر ۳ می‌باشد. توجه داشته باشید که با وجود اینکه این مقدار یک اثر تعاونی بالا را نشان می‌دهد، ولی n_H کمتر از n یا تعداد جایگاه‌های اتصالی اکسیژن بر روی هموگلوبین، می‌باشد. این موضوع در مورد پروتئینی که رفتار آلوستریک را نشان می‌دهد، طبیعی است.

اولین مدل توسط ژاکوب مونود[1]، جفری ویمن[2] و جین-پیر چانگئوکس[3] در سال ۱۹۶۵ معرفی گردید و **مدل MWC** یا **مدل هماهنگ**[4] نامیده شد (شکل ۱۴a-۷). بر اساس مدل هماهنگ، زیرواحدهای یک پروتئین اتصالی تعاونی از نظر عملکرد مشابه بوده و هر زیرواحد می‌تواند (حداقل) دو کونفورماسیون داشته باشد و تمامی زیرواحدها به‌طور همزمان متحمل تغییر از یک کونفورماسیون به کونفورماسیون دیگر می‌شوند. در این مدل، هیچ پروتئینی دارای زیرواحدهای با کونفورماسیون متفاوت نمی‌باشد. دو کونفورماسیون در حالت تعادل هستند. لیگاند می‌تواند به هر کدام از کونفورماسیون‌ها متصل گردد ولی اتصال به هر کدام با تمایل مختلف به انجام می‌رسد. اتصال



شکل ۱۴-۷. دو مدل عمومی برای تبدیل متقابل اشکال غیرفعال و فعال پروتئین‌های دارای اتصال تعاونی به لیگاند. با وجود اینکه این مدل‌ها را می‌توان برای هر پروتئینی (از جمله هر آنزیمی؛ فصل ۸) بکار برد که اتصال تعاونی را نشان می‌دهد، چهار زیرواحد در اینجا نشان داده شده است که علت آن مطرح‌شدن این مدل‌ها در ابتدا برای هموگلوبین می‌باشد. در مدل هماهنگ یا مدل همه-یا-هیچ (a)، تمامی زیرواحدها در یک کونفورماسیون، یا همه ○ (غیرفعال یا با تمایل پایین) یا همه □ (فعال یا با تمایل بالا)، قرار دارند. براساس تعادل، K_1 موجود در بین اشکال ○ و □، اتصال یک یا چند لیگاند (L)، تعادل را به طرف شکل □ می‌کشاند. زیرواحدهای متصل به L سایه‌دار می‌باشند. در مدل متوالی، (b) هر زیرواحد می‌تواند به‌صورت ○ یا □ وجود داشته باشد. بنابراین کونفورماسیون‌های متعددی ممکن می‌باشد.

1- Jacques Monod 2- Jeffries Wyman 3- Jean-Pierre Changeux 4- Concerted model

Book.Apfarsi.ir

متوالی ملکول‌های لیگاند به کونفورماسیون دارای تمایل پایین (که در غیاب لیگاند پایدارتر است)، تغییر به کونفورماسیون با تمایل بالا را محتمل‌تر می‌سازد.

در مدل دوم، بنام **مدل متوالی**[۱] (شکل ۱۴b-۷)، که در سال ۱۹۶۶ توسط دانیل کوشلند[۲] و همکارانش مطرح گردید، اتصال لیگاند می‌تواند سبب تغییر کونفورماسیونی در یک زیرواحد مجزا گردد. یک تغییر کونفورماسیونی در یک زیرواحد سبب تغییر مشابهی در زیرواحد مجاور شده و به موجب آن اتصال ملکول لیگاند دوم محتمل‌تر می‌گردد. در مقایسه با مدل هماهنگ، در این مدل حالات حدواسط بیشتری وجود دارد. این دو مدل متقابلاً منحصر نمی‌باشند؛ ممکن است مدل هماهنگ به‌عنوان حالت محدودکننده «همه یا هیچ» مدل متوالی در نظر گرفته شود. در فصل ۸ و در هنگام بررسی آنزیم‌های آلوستریک، از این دو مدل استفاده می‌شود.

هموگلوبین حامل H^+ و CO_2 نیز می‌باشد

علاوه بر حمل تقریباً تمامی اکسیژن مورد نیاز سلول‌ها از ریه‌ها به بافت‌ها، هموگلوبین دو محصول انتهایی تنفس سلولی، یعنی H^+ و CO_2، را نیز از بافت‌ها به ریه‌ها و کلیه‌ها منتقل نموده تا دفع گردند. CO_2 حاصل از اکسیداسیون مواد سوختی آلی در میتوکندری‌ها، هیدراته شده و ایجاد بیکربنات می‌نماید:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^-$$

این واکنش توسط **کربنیک انیدریداز** کاتالیز می‌گردد که بخصوص در گلبول‌های قرمز وجود دارد. دی‌اکسید کربن در محلول‌های آبی زیاد محلول نمی‌باشد و در صورت عدم تبدیل به بیکربنات، ایجاد حباب‌هایی در بافت‌ها و خون می‌نماید. همانطور که از معادله فوق مشخص می‌باشد، هیدراتاسیون CO_2 منجر به افزایش غلظت H^+ (و کاهش pH) در بافت‌ها می‌گردد. اتصال اکسیژن به هموگلوبین تحت تأثیر عمیق pH و غلظت CO_2 می‌باشد، به‌طوریکه تبدیل متقابل CO_2 و بیکربنات اهمیت زیادی در تنظیم اتصال اکسیژن و رهاسازی آن در خون دارد.

هموگلوبین حدود ۲۰٪ کل H^+ و CO_2 تولیدی در بافت‌ها را به ریه‌ها و کلیه‌ها منتقل می‌نماید. اتصال H^+ و CO_2 ارتباط معکوسی با اتصال اکسیژن دارد. در pH نسبتاً پایین و غلظت بالای CO_2 بافت‌های محیطی، تمایل هموگلوبین به اکسیژن با اتصال H^+ و CO_2 کاهش می‌یابد و O_2 بداخل بافت‌ها آزاد می‌گردد. برعکس، در مویرگ‌های ریوی، با دفع CO_2 و در نتیجه افزایش pH، تمایل هموگلوبین به اکسیژن افزایش یافته و O_2 بیشتری برای انتقال به بافت‌های محیطی به هموگلوبین اتصال می‌یابد. این اثر H^+ و CO_2 بر روی اتصال و آزادسازی اکسیژن توسط هموگلوبین را **اثر بوهر** می‌نامند که در سال ۱۹۰۴ توسط کریستین بوهر[۳]، فیزیکدان دانمارکی (و پدر نیلز بوهر[۴])، کشف گردید.

تعادل اتصالی یک ملکول اکسیژن به هموگلوبین را می‌توان به‌صورت زیر نمایش داد:

$$Hb + O_2 \rightleftharpoons HbO_2$$

ولی این نحوه بیان کامل نمی‌باشد. برای درنظرگرفتن اثر غلظت H^+ بر روی این تعادل، واکنش فوق را به‌صورت

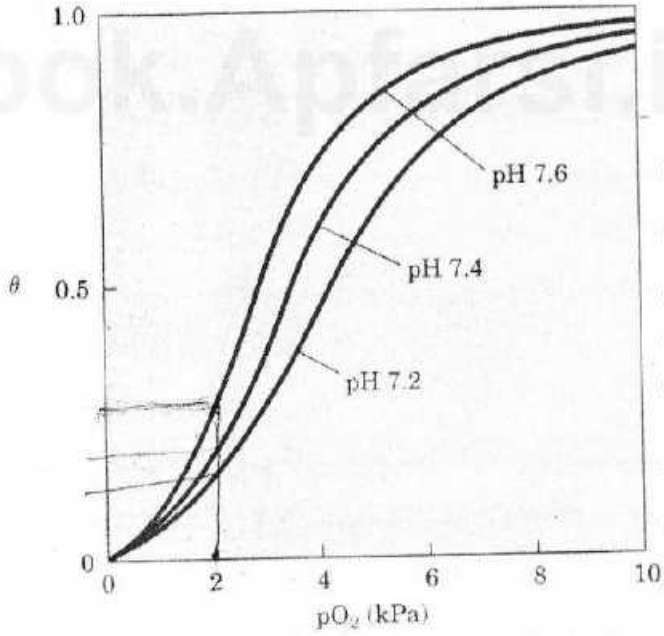
1- Sequential model 2- Daniel Koshland 3- Christian Bohr 4- Niels Bohr

Book.Apfarsi.ir

می‌نویسیم:

$$HHb^+ + O_2 \rightleftharpoons HbO_2 + H^+$$

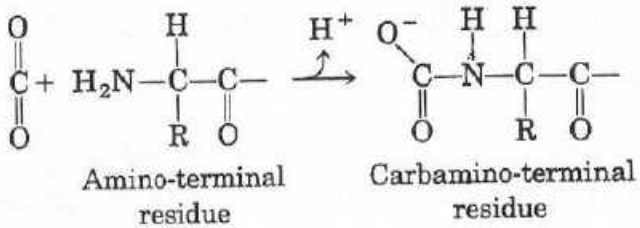
که در آن HHb^+ شکل پروتونه هموگلوبین را نشان می‌دهد. این معادله به ما می‌گوید که منحنی اشباع اکسیژنی هموگلوبین تحت تأثیر غلظت H^+ قرار دارد (شکل ۷-۱۵). O_2 و H^+، هر دو، به هموگلوبین متصل می‌گردند، ولی تمایلات آنها عکس می‌باشد. وقتی غلظت اکسیژن بالا است، همانند ریه‌ها، هموگلوبین به O_2 اتصال یافته و پروتون‌ها آزاد می‌گردند. وقتی غلظت اکسیژن پایین می‌باشد، همانند بافت‌های محیطی، H^+ اتصال یافته و اکسیژن آزاد می‌شود.



شکل ۷-۱۵. اثر pH بر روی اتصال اکسیژن به هموگلوبین. pH خون ریه‌ها ۷/۶ و بافت‌ها ۷/۲ می‌باشد. اندازه‌گیری‌های تجربی اتصال به هموگلوبین، اغلب در pH ۷/۴ صورت می‌پذیرد.

اکسیژن و H^+ به جایگاه‌های مشابهی در روی هموگلوبین اتصال نمی‌یابند. اکسیژن به اتم‌های آهن موجود در جزء هم اتصال یافته، درحالیکه H^+ به ریشه‌های مختلف اسید آمینه موجود در این پروتئین اتصال می‌یابد. His^{146} (His HC3) زیرواحدهای β نقش مهمی را در اثر بوهر دارد. وقتی این ریشه پروتونه می‌گردد، یکی از جفت‌های یونی را، با Asp^{94} (Asp FG1)، ایجاد می‌نماید که سبب پایداری داکسی‌هموگلوبین در حالت T می‌گردد (شکل ۹-۷). این جفت یونی سبب پایداری شکل پروتونه His HC3 شده و در نتیجه به آن یک pK_a غیرطبیعی بالا در حالت T، می‌دهد. این pK_a در حالت R به حد طبیعی ۶/۰ خود کاهش می‌یابد، زیرا این جفت یونی ایجاد نشده و این ریشه به میزان زیادی در اکسی‌هموگلوبین در pH برابر ۷/۶ موجود در خون ریه‌ها، غیرپروتونه می‌باشد. با افزایش غلظت H^+، پروتونه‌شدن His HC3، از طریق تغییر به حالت T، سبب تسریع در رهاسازی اکسیژن می‌گردد. پروتونه‌شدن ریشه‌های انتهای آمینو زیرواحدهای α بر روی بعضی ریشه‌های دیگر His، و احتمالاً سایر گروه‌ها، دارای اثر مشابهی است.

مشاهده گردید که چهار زنجیر پلی‌پپتیدی هموگلوبین نه تنها در مورد اتصال O_2 به گروه‌های هم خود، بلکه همچنین در مورد اتصال H^+ به ریشه‌های اختصاصی اسیدهای آمینه، با یکدیگر ارتباط دارند. اما هنوز داستان باقی است. هموگلوبین همچنین به CO_2 اتصال یافته که مجدداً این اتصال ارتباط معکوسی با اتصال اکسیژن دارد. دی‌اکسید کربن به‌صورت یک گروه کربامات به گروه α-آمینو در انتهای آمینو هر زنجیر گلوبین اتصال یافته و ایجاد کربامینوهموگلوبین می‌نماید:

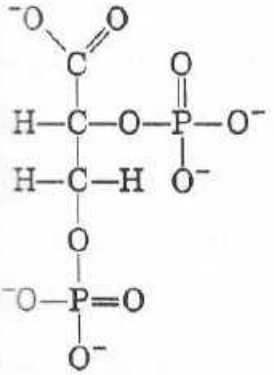


Book.Apfarsi.ir

این واکنش همراه با تولید H^+ بوده که به اثر بوهر کمک می‌نماید. کربامات‌های اتصال‌یافته همچنین پل‌های نمکی دیگری (در شکل ۹-۷ نشان داده نشده‌اند) ایجاد می‌کنند که به تثبیت حالت T و رهاسازی اکسیژن کمک می‌نمایند.

وقتی غلظت دی‌اکسید کربن بالا می‌باشد، همانند بافت‌های محیطی، مقداری CO_2 به هموگلوبین اتصال یافته و تمایل هموگلوبین به O_2 کاهش می‌یابد. برعکس، وقتی هموگلوبین به ریه‌ها می‌رسد، غلظت بالای اکسیژن سبب اتصال O_2 و آزادسازی CO_2 می‌گردد. این ظرفیت تبادل اطلاعات لیگاند اتصال‌یافته از یک زیرواحد به زیرواحد دیگر می‌باشد که ملکول هموگلوبین را برای انتقال یکپارچه و هماهنگ O_2، CO_2 و H^+ توسط گلبول‌های قرمز، به زیبایی منطبق نموده است.

اتصال اکسیژن به هموگلوبین توسط ۲،۳-بیس‌فسفوگلیسرات تنظیم می‌گردد


2,3-Bisphosphoglycerate

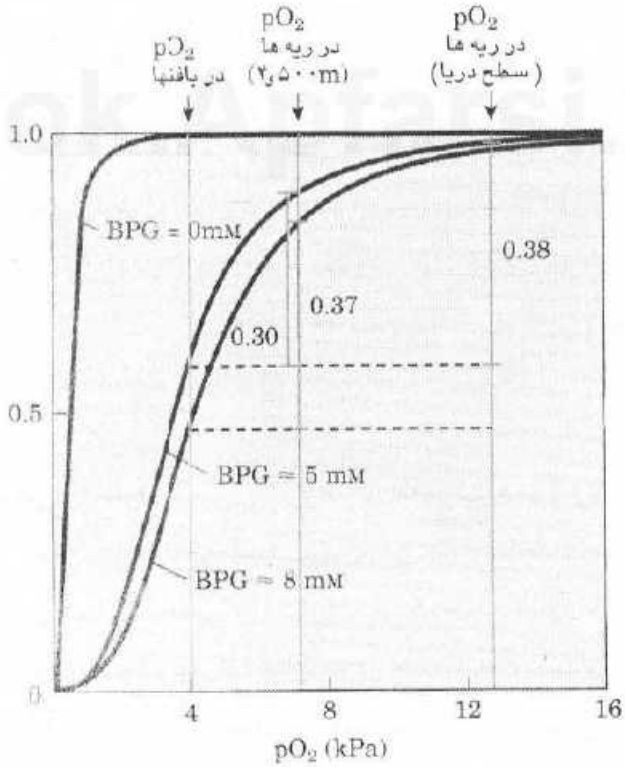
واکنش متقابل **۲،۳-بیس‌فسفوگلیسرات** (BPG) با هموگلوبین، مثالی از تعدیل آلوستریک هتروتروپیک می‌باشد. BPG با غلظت‌های نسبتاً بالائی در گلبول‌های قرمز وجود دارد. وقتی هموگلوبین جدا می‌گردد، حاوی مقادیر قابل‌توجه BPG اتصال‌یافته به آن می‌باشد که به سختی می‌توان آن را به‌طورکامل برداشت نمود. در حقیقت، منحنی که تاکنون برای اتصال O_2 به هموگلوبین مورد بررسی قرار دادیم، در حضور BPG متصل به آن بدست آمده است. ۲،۳-بیس‌فسفوگلیسرات سبب کاهش شدید تمایل هموگلوبین به اکسیژن می‌گردد؛ ارتباط معکوسی بین اتصال O_2 و اتصال BPG وجود دارد. بدین ترتیب می‌توان فرایند اتصالی دیگری را برای هموگلوبین شرح داد:

$$HbBPG + O_2 \rightleftharpoons HbO_2 - BPG$$

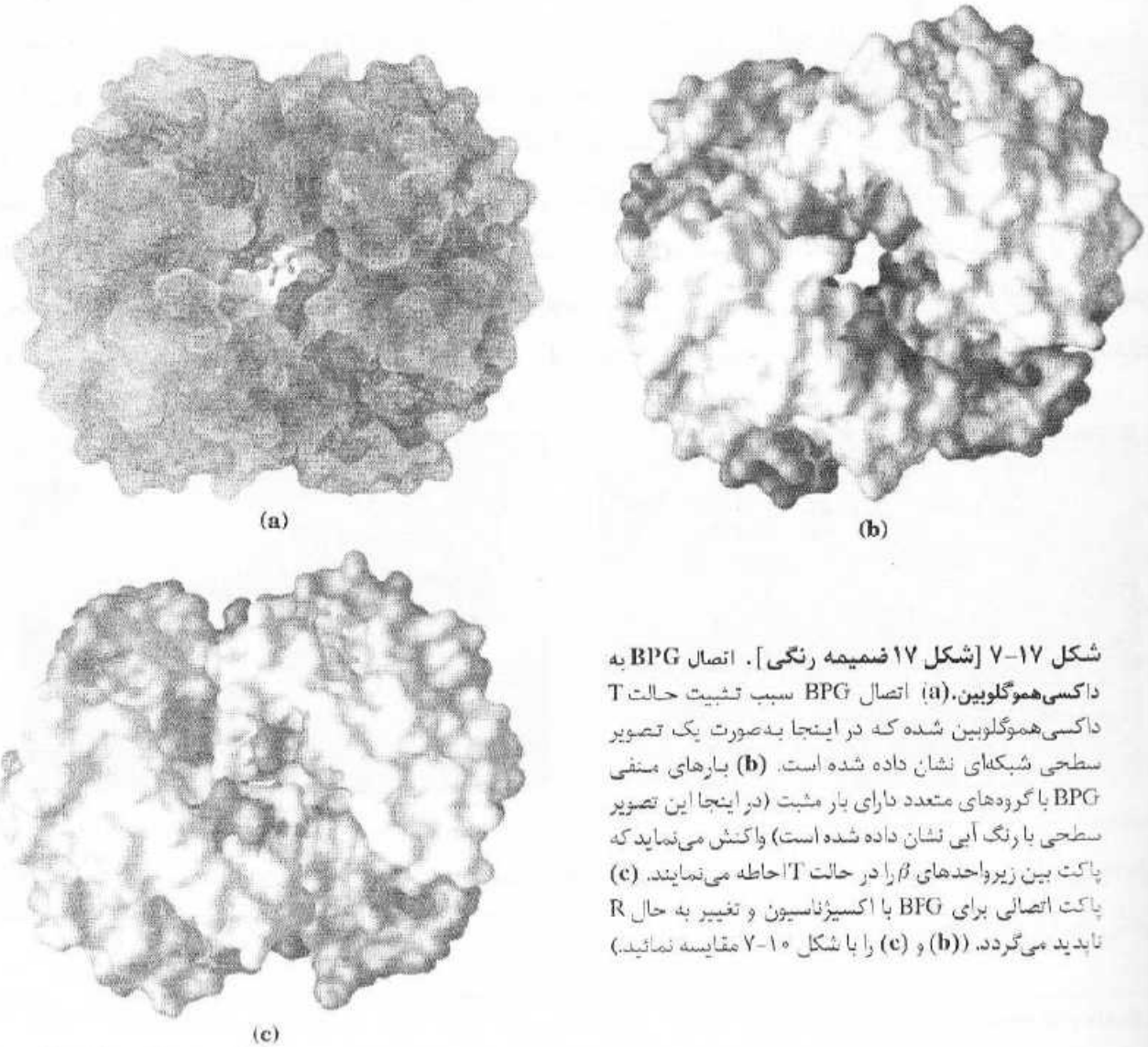
BPG در جایگاهی دور از جایگاه اتصالی اکسیژن متصل شده و سبب تنظیم تمایل اتصالی O_2 در ارتباط با pO_2 موجود در ریه‌ها می‌گردد. BPG نقش مهمی را در تطابق فیزیکی به pO_2 موجود در ارتفاع بالا ایفاء می‌نماید. برای انسان سالمی که در سطح دریا زندگی می‌نماید، اتصال O_2 به هموگلوبین طوری تنظیم می‌گردد که میزان O_2 تحویلی به بافت‌ها حدوداً برابر ۴۰٪ حداکثر میزانی است که می‌تواند در گردش خون حمل نماید (شکل ۱۶-۷). حال اگر همین فرد سریعاً به ناحیه کوهستانی با ارتفاع ۴،۵۰۰ متر انتقال داده شود که pO_2 آن به‌طورقابل‌توجهی کمتر است، تحویل O_2 به بافت‌ها کاهش می‌یابد. هرچند، بعد از چند ساعت ماندن در این ارتفاع بالا، غلظت BPG خون شروع به افزایش نموده و در نتیجه تمایل هموگلوبین به اکسیژن کاهش می‌یابد. این تنظیم میزان BPG تنها اثر ناچیزی بر روی اتصال O_2 به هموگلوبین در ریه‌ها دارد، ولی اثر آن در رهاسازی اکسیژن در سطح بافت‌ها قابل‌توجه می‌باشد. در نتیجه، میزان اکسیژن تحویلی به بافت‌ها در حدود ۴۰٪ اکسیژن انتقالی در گردش خون حفظ می‌شود. با برگشت فرد به سطح دریا، این حالت معکوس می‌گردد. افزایش غلظت BPG موجود در گلبول‌های قرمز در مبتلایان به **هیپوکسی** نیز دیده می‌شود؛ این حالت ناشی از کاهش اکسیژناسیون بافت‌ها به دلیل اختلال در عملکرد ریه‌ها یا سیستم گردش خون می‌باشد.

BPG در حفره بین زیرواحدهای β در حالت T به هموگلوبین متصل می‌شود (شکل ۱۷-۷). این حفره توسط ریشه‌های اسید آمینه دارای بار مثبت مفروش شده و با گروه‌های دارای بار منفی در BPG واکنش می‌نماید. برخلاف

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۷. اثر BPG بر روی اتصال اکسیژن به هموگلوبین. غلظت BPG در خون انسان طبیعی حدود 5 mM در سطح دریا و حدود 8 mM در ارتفاعات بالا می‌باشد. توجه کنید که وقتی BPG به‌طورکامل وجود ندارد، هموگلوبین به‌طور کاملاً محکم به اکسیژن متصل می‌گردد و منحنی اتصالی هیپربولیک بنظر می‌رسد. در حقیقت، وقتی BPG از هموگلوبین برداشت می‌گردد، ضریب هیل اندازه‌گیری‌شده برای اتصال تعاونی O_2، تنها به میزان کمی (از ۳ به حدود ۲/۵) کاهش می‌یابد، ولی قسمت بالارونده منحنی سیگموئید به ناحیه کوچکی در نزدیکی مبدأ محدود می‌شود. در سطح دریا، هموگلوبین تقریباً در ریه‌ها از O_2 اشباع شده، ولی در سطح بافتی تنها ۶۰٪ اشباع است، بنابراین حدود ۴۰٪ حداکثر اکسیژنی که در خون قابل حمل می‌باشد، در بافت‌ها آزاد می‌گردد. در ارتفاعات بالا، تحویل اکسیژن به بافت‌ها حدود یک چهارم کاهش یافته و به ۳۰٪ میزان حداکثر می‌رسد. هرچند، افزایش BPG سبب کاهش تمایل هموگلوبین به O_2 شده، به‌طوریکه حدود ۴۰٪ میزان اکسیژن حمل‌شده مجدداً به بافت‌ها تحویل داده می‌شود.



شکل ۱۷-۷ [شکل ۱۷ ضمیمه رنگی]. **اتصال BPG به داکسی‌هموگلوبین.** (a) اتصال BPG سبب تثبیت حالت T داکسی‌هموگلوبین شده که در اینجا به‌صورت یک تصویر سطحی شبکه‌ای نشان داده شده است. (b) بارهای منفی BPG با گروه‌های متعدد دارای بار مثبت (در اینجا این تصویر سطحی با رنگ آبی نشان داده شده است) واکنش می‌نماید که پاکت بین زیرواحدهای β را در حالت T احاطه می‌نمایند. (c) پاکت اتصالی برای BPG با اکسیژناسیون و تغییر به حال R ناپدید می‌گردد. ((b) و (c) را با شکل ۱۰-۷ مقایسه نمائید.)

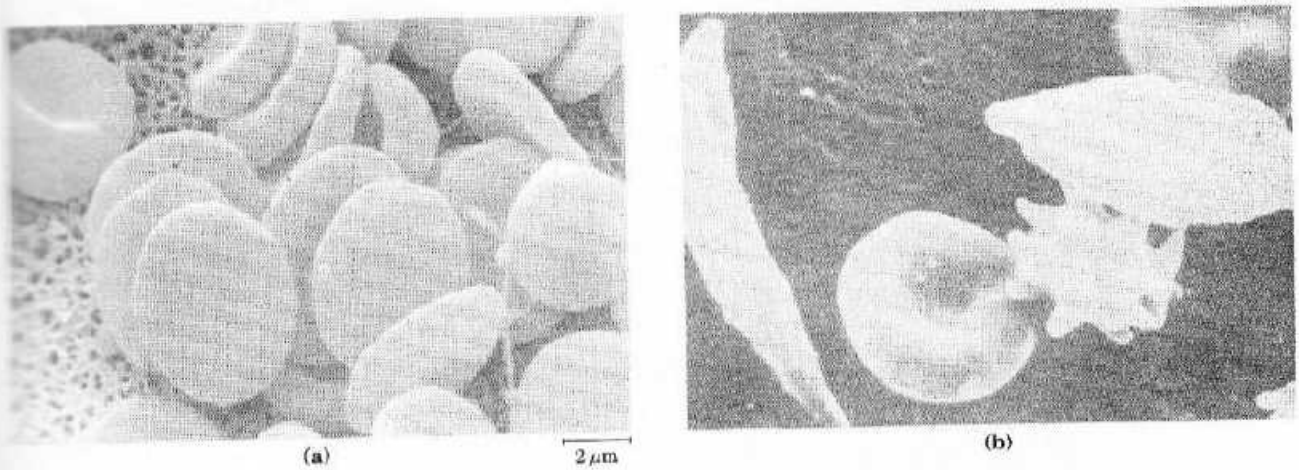
Book.Apfarsi.ir

O_2، تنها یک ملکول BPG به هر تترامر هموگلوبین اتصال می‌یابد. BPG با تثبیت حالت T، سبب کاهش تمایل هموگلوبین به اکسیژن می‌گردد. تغییر T به R سبب باریک‌شدن پاکت اتصالی BPG و مانع اتصال PBG می‌گردد. در غیاب BPG، هموگوبین براحتی به حالت R تبدیل می‌شود.

تنظیم اتصال اکسیژن به هموگلوبین توسط BPG دارای نقش مهمی در تکامل جنینی است. از آنجایی که لازم است جنین اکسیژن را از خون مادر استخراج نماید، می‌بایست هموگلوبین جنینی دارای تمایل بیشتری از هموگلوبین مادر برای O_2 باشد. در جنین، بجای زیرواحد β، سنتز زیرواحد γ صورت گرفته و تولید هموگلوبین $\alpha_2\gamma_2$ می‌گردد. این تترامر، نسبت به هموگلوبین بالغین، دارای تمایل کمتری به BPG بوده و مسئول تمایل بالاتر به O_2 می‌باشد.

کم‌خونی سلول داسی یک بیماری ملکولی هموگلوبین می‌باشد

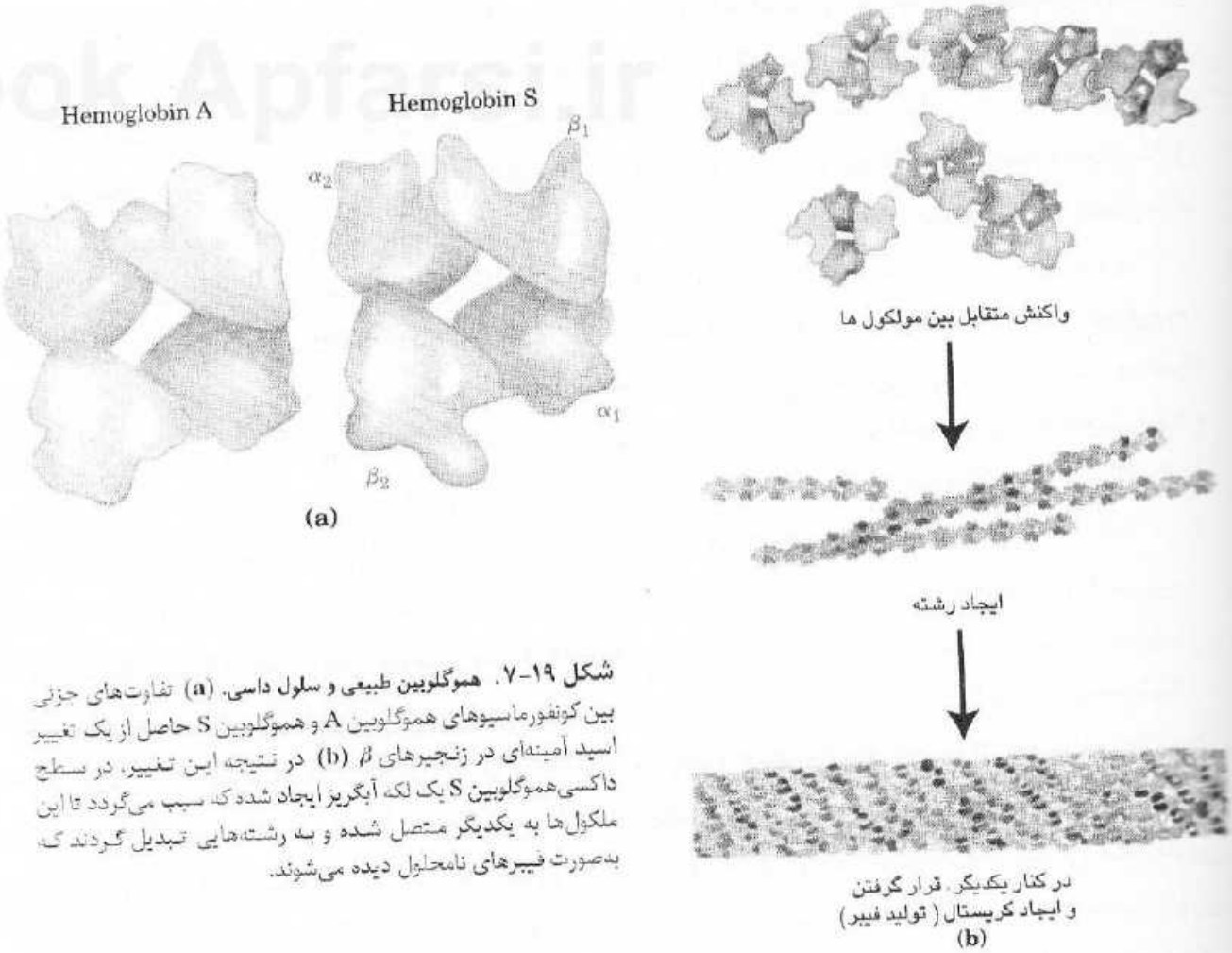
اهمیت زیاد توالی اسید آمینه‌ای در تعیین ساختمان‌های دوم، سوم و چهارم پروتئین‌های کروی و بنابراین اعمال بیولوژیک آنها، بخوبی در بیماری ارثی کم‌خونی سلول داسی[1] انسان قابل‌شرح می‌باشد. از لحاظ ژنتیکی، بیش از ۳۰۰ نوع هموگلوبین شناخته‌شده در جمعیت‌های انسانی وجود دارد. بیشتر این انواع ناشی از تفاوت‌هایی در یک ریشه اسید آمینه می‌باشند. در اغلب موارد این اثرات بر روی ساختمان و عملکرد جزئی بوده، ولی گاهی می‌توانند وخیم باشد. از آنجایی که انسان عموماً دارای دو نسخه از هر ژن می‌باشد، یک فرد ممکن است دو نسخه از یک آلل (هموزیگوت آن ژن) یا یک نسخه از هر دو آلل مختلف (هتروزیگوت) را داشته باشد. کم‌خونی سلول داسی یک بیماری ژنتیکی است که در آن مبتلایان، آلل هموگلوبین سلول داسی را از هر دو والد دریافت می‌نمایند. گلبول‌های قرمز این افراد کمتر بوده و غیرطبیعی نیز می‌باشند. علاوه بر تعداد زیاد غیرمعمول سلول‌های نارس، خون حاوی گلبول‌های قرمز زیادی با ساختمان دراز، نازک و هلالی شکل می‌باشند که همانند تیغه یک داس بنظر می‌رسند (شکل ۱۸-۷). وقتی هموگلوبین تولیدکننده سلول داسی (با نام هموگلوبین S) داکسیژنه می‌گردد، نامحلول شده و ایجاد پلیمرهایی را می‌نماید که به شکل فیبرهای توبولی تجمع می‌یابند (شکل ۱۹-۷). هموگلوبین طبیعی (هموگلوبین A) در هنگام داکسیژناسیون محلول باقی می‌ماند. این فیبرهای نامحلول هموگلوبین S داکسیژنه علت



شکل ۱۸-۷. مقایسه گلبول‌های قرمز با شکل فنجان‌مانند طبیعی (a) وگلبول‌های قرمز دارای اشکال متغیر در کم‌خونی سلول داسی (b). این سلول‌ها از حالت طبیعی تا اشکال خاردار یا داسی متفاوت می‌باشند.

1- Sickle cell anemia

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۹-۷. هموگلوبین طبیعی و سلول داسی. (a) تفاوت‌های جزئی بین کوئفورماسیوهای هموگلوبین A و هموگلوبین S حاصل از یک تغییر اسید آمینه‌ای در زنجیرهای β (b) در نتیجه این تغییر، در سطح داکسی‌هموگلوبین S یک لکه آبگریز ایجاد شده که سبب می‌گردد تا این ملکول‌ها به یکدیگر متصل شده و به رشته‌هایی تبدیل گردند که به‌صورت فیبرهای نامحلول دیده می‌شوند.

ایجاد شکل داسی گلبول‌های قرمز بوده و با افزایش داکسیژناسیون خون، نسبت سلول‌های داسی افزایش شدیدی پیدا می‌نمایند.

این خصوصیات تغییریافته هموگلوبین S به واسطه یک جایگزینی اسید آمینه‌ای، به‌صورت قرارگیری Val بجای Glu در موقعیت ۶ دو زنجیر β می‌باشد. گروه R والین فاقد بار الکتریکی بوده، در حالی که گلوتامات دارای یک بار منفی در pH ۷/۴ می‌باشد. بنابراین هموگلوبین S دو بار منفی، یکی در هر زنجیر β، کمتر از هموگلوبین A دارد. جایگزینی Val بجای Glu ایجاد نقاط تماسی «چسبنده» آبگریزی در موقعیت ۶ زنجیر β می‌نماید که در سطح خارجی ملکول قرار می‌گیرد. این نقاط چسبنده سبب می‌گردد تا داکسی‌هموگلوبین S به‌طور غیرطبیعی به یکدیگر متصل شده و تولید تجمعات طویل فیبری نمایند که مشخصه این ناهنجاری است.

کم‌خونی سلول داسی در افرادی دیده می‌شود که از نظر آلل سلول داسی ژن کدکننده زنجیر β هموزیگوت هستند. افرادی که تنها یک آلل سلول داسی را از یکی از والدین خود دریافت می‌نمایند و بنابراین هتروزیگوت هستند، دچار حالت خفیف‌تری از این ناهنجاری بنام صفت سلول داسی[1] می‌شوند: تنها ۱٪ گلبول‌های قرمز این افراد در اثر داکسیژناسیون، داسی می‌شوند. در صورت اجتناب از فعالیت شدید یا دوری از سایر استرس‌های سیستم گردش خون، ممکن است این افراد عمر طبیعی داشته باشند.

1- Sickle cell trait

Book.Apfarsi.ir

مبتلایان به کم‌خونی سلول داسی از بحران‌های مکرری رنج می‌برند که در اثر فعالیت بدنی ایجاد می‌گردند. این افراد دچار ضعف، گیجی و کوتاهی تنفس، به همراه سوفل‌های قلبی و افزایش نبض می‌گردند. بعلت شکنندگی بالا و پارگی راحت سلول‌های داسی، میزان هموگلوبین خون این افراد حدود نصف میزان طبیعی ۱۵ تا ۱۶ g/L بوده و این امر منجر به کم‌خونی می‌گردد. یکی از عواقب جدی‌تر، انسداد مویرگ‌ها توسط سلول‌های بلند و دارای شکل غیرطبیعی است که همراه با درد شدید و اختلال در عملکرد بافت‌ها می‌باشد؛ این موضوع یکی از دلایل اصلی مرگ زودرس در بسیاری از مبتلایان به این بیماری است.

بدون درمان پزشکی، مبتلایان به کم‌خونی سلول داسی معمولاً در دوران کودکی فوت می‌کنند. با این وجود آلل سلول داسی در قسمت‌های خاصی از آفریقا به‌طورتعجب‌آوری بالا می‌باشد. بررسی تداوم آللی که در افراد هموزیگوت بسیار خطرناک است، منتهی به این یافته شد که این آلل منجر به ایجاد مقاومت در برابر اشکال کشنده مالاریا در افراد هموزیگوت می‌گردد که حائز اهمیت است. انتخاب طبیعی منجر به ایجاد یک جمعیت آللی شده است که اثرات جدی حالت هموزیگوت را با مقاوت به مالاریا در حالت هتروزیگوت متعادل نموده است.

واکنش‌های متقابل مکمل بین پروتئین‌ها و لیگاندها:
سیستم ایمنی و ایمونوگلبولین‌ها

بحث پیرامون پروتئین‌های اتصالی اکسیژن نشان داد که چطور کونفورماسیون این پروتئین‌ها بر روی اتصال لیگاندهای کوچک (O_2 یا CO) به گروه هم اثر می‌گذارد. هرچند، بیشتر واکنش‌های متقابل پروتئین-لیگاند نیازی به یک گروه پروستتیک ندارند. بلکه، جایگاه اتصالی یک لیگاند در بیشتر موارد همانند جایگاه اتصالی هموگلوبین برای BPG می‌باشد؛ این جایگاه به‌صورت شکافی در داخل پروتئینی است که توسط ریشه‌های اسید آمینه طوری مفروش شده است که واکنش متقابل اتصالی را بسیار اختصاصی می‌نماید. حتی وقتی لیگاندها تنها تفاوت‌های جزئی از نظر ساختمانی دارند، تمایز مؤثر بین آنها در جایگاه‌های اتصالی صورت می‌پذیرد.

تمامی مهره‌داران دارای یک سیستم ایمنی هستند که قادر به تشخیص ملکول‌های «خودی» از «غیرخودی» و سپس تخریب ملکول‌هایی است که به‌عنوان غیرخودی تشخیص داده می‌شوند. به این طریق، سیستم ایمنی ویروس‌ها، باکتری‌ها و سایر عوامل بیماریزا و ملکول‌های تهدیدکننده موجود زنده را از بین می‌برد. در سطح فیزیولوژیک، پاسخ سیستم ایمنی به یک مهاجم شامل یک سری واکنش‌های متقابل پیچیده و هماهنگ بین کلاس‌های متعدد پروتئینی، ملکولی و انواع سلول‌ها می‌باشد. هرچند، در سطح پروتئین‌های مجزا، پاسخ ایمنی نشان می‌دهد که چطور یک سیستم شدیداً حساس و اختصاصی بیوشیمیایی، براساس اتصال قابل‌برگشت لیگاند به پروتئین‌ها ساخته می‌شود.

پاسخ ایمنی شامل سلول‌ها و پروتئین‌های اختصاصی می‌باشد

ایمنی توسط انواع متفاوتی از **گلبول‌های سفیدخون**، شامل **ماکروفاژها** و **لنفوسیت‌ها**، فراهم می‌گردد که همگی از سلول‌های ریشه‌ای تمایز نیافته در مغز استخوان حاصل می‌شوند. گلبول‌های سفید می‌توانند از گردش خون خارج شده و در بافت‌ها گشت بزنند؛ هر کدام از این سلول‌ها قادر به تولید یک یا چند پروتئین می‌باشند که ملکول‌های پیام‌رسان یک عفونت احتمالی را شناسایی نموده و به آنها اتصال می‌یابند.

Book.Apfarsi.ir

پاسخ ایمنی از دو سیستم مکمل، شامل سیستم‌های ایمنی هومورال و سلولی، تشکیل می‌شود. **سیستم ایمنی هومورال** (کلمه لاتین *humor* به معنی «مایع») بر علیه عفونت‌های باکتریایی و ویروس‌های خارج‌سلولی (انواعی که در مایعات بدن وجود دارند) عمل نموده ولی می‌توانند به پروتئین‌های خاصی که به این سیستم معرفی می‌شوند نیز پاسخ دهند. **سیستم ایمنی سلولی** سبب از بین رفتن سلول‌های میزبان آلوده به ویروس‌ها و همچنین بعضی از انگل‌ها و بافت‌های خارجی می‌شود.

پروتئین‌هایی که در قلب پاسخ ایمنی هومورال قرار دارند، پروتئین‌های محلولی بنام **آنتی‌بادی‌ها** یا **ایمونوگلبولین‌ها** می‌باشند که اغلب به‌صورت مخفف Ig نشان داده می‌شوند. ایمونوگلبولین‌ها به باکتری‌ها، ویروس‌ها و ملکول‌های بزرگ خارجی اتصال یافته و آنها را برای تخریب نشاندار می‌نمایند. ایمونوگلبولین‌ها ۲۰٪ پروتئین خون را تشکیل داده و توسط **لنفوسیت‌های B** یا **سلول‌های B** تولید می‌گردند؛ علت نامگذاری این سلول‌ها، تولید کامل آنها در مغز استخوان[1] می‌باشد.

عواملی که در قلب پاسخ ایمنی سلولی قرار دارند، کلاسی از **لنفوسیت‌های T** یا **سلول‌های T** (علت این نامگذاری سپری‌شدن مراحل انتهایی تکامل آنها در تیموس[2] است)، بنام **سلول‌های سیتوتوکسیک T** (**سلول‌های T_C**، با نام دیگر سلول‌های کشنده T) می‌باشند. شناسایی سلول‌های عفونت‌یافته و یا انگل‌ها مستلزم وجود پروتئین‌هایی بنام **گیرنده‌های سلول-T** در سطح سلول‌های T_C می‌باشد. همانطور که در فصل ۲ (ص. ۳۷) اشاره گردید، گیرنده‌ها پروتئین‌هایی هستند که معمولاً در سطح خارجی سلول‌ها یافت شده و از میان غشاء پلاسمایی خارج شده‌اند؛ این پروتئین‌ها با شناسایی و اتصال به لیگاندهای خارج‌سلولی، تغییراتی را در داخل سلول سبب می‌گردند.

علاوه بر سلول‌های سیتوتوکسیک T، **سلول‌های کمک‌کننده T** (**سلول‌های T_H**) نیز وجود دارند که نقش آنها در تولید پروتئین‌های پیام‌رسان محلول، بنام سیتوکین‌ها، است؛ اینترلوکین‌ها از جمله این پروتئین‌ها می‌باشند. سلول‌های T_H با ماکروفاژها واکنش متقابل دارند. جدول ۲-۷ اعمال گلبول‌های سفید مختلف سیستم ایمنی را خلاصه نموده است.

هر پروتئین شناسایی در سیستم ایمنی، چه آنتی‌بادی تولیدی توسط یک سلول B و چه یک گیرنده موجود در سطح یک سلول T، به‌طوراختصاصی به ساختمان شیمیایی خاصی متصل شده و آن را از تمامی ساختمان‌های دیگر تمایز می‌دهد. انسان قادر به تولید بیش از 10^8 آنتی‌بادی مختلف با ویژگی‌های اتصالی متفاوت می‌باشد. این تنوع فوق‌العاده، شناسایی هر ساختمان شیمیایی موجود در سطح یک ویروس یا سلول مهاجم توسط یک یا چند آنتی‌بادی را ممکن

جدول ۲-۷. بعضی از انواع گلبولهای سفید مرتبط با سیستم ایمنی

نوع سلول	عمل
ماکروفاژها	بلعیدن ذرات بزرگ و سلولها با فاگوستوز
لنفوسیت‌های B (سلول‌های B)	تولید و ترشح آنتی‌بادی‌ها
لنفوسیت‌های T (سلول‌های T)	
سلول‌های T سیتوتوکسیک یا کشنده (T_C)	واکنش متقابل با سلولهای میزبان عفونت‌یافته از طریق گیرنده‌های موجود در سطح سلول T
سلول‌های T کمک‌کننده	واکنش متقابل با ماکروفاژها و ترشح سیتوکین‌هائی (اینترلوکین‌هائی) که تکثیر سلول‌های T_C، T_H و B را تحریک می‌کنند.

1- *B*one marrow 2- *T*hymus

BookAparsi.ir

می‌سازد. تنوع آنتی‌بادی حاصل همایش‌مجدد تصادفی یک سری قطعات ژن ایمونوگلوبولین از طریق مکانیسم‌های نوترکیبی ژنتیکی می‌باشد که در فصل ۲۵ مورد بحث قرار می‌گیرند.

بعضی ویژگی‌های واکنش‌های متقابل بین آنتی‌بادی‌ها یا گیرنده‌های سلول T و ملکول‌هایی که به آنها اتصال می‌یابند، برای سیستم ایمنی بی‌همتا بوده و از یک فرهنگ اختصاصی برای شرح آنها استفاده می‌شود. هر ملکول یا عامل بیماریزایی که بتواند پاسخ ایمنی را تحریک نماید، **آنتی‌ژن** نامیده می‌شود. یک آنتی‌ژن ممکن است یک ویروس، یک دیواره سلول باکتری، یا یک پروتئین خاص یا ماکروملکول دیگر باشد. آنتی‌بادی‌های متعددی ممکن است به یک آنتی‌ژن مرکب اتصال یابند. یک آنتی‌بادی یا یک گیرنده سلول T تنها به یک ساختمان ملکولی در داخل آنتی‌ژن، بنام **شاخص آنتی‌ژنی** یا **اپی‌توپ** اتصال می‌یابد.

پاسخ سیستم ایمنی به ملکول‌های کوچک که ترکیب واسط و یا محصول معمول متابولیسم سلولی هستند، منجر به تولید پروتئین خاصی نمی‌گردد. ملکول‌های دارای وزن ملکولی کمتر از ۵،۰۰۰ عموماً آنتی‌ژنیک نمی‌باشند. هرچند، ملکول‌های کوچک می‌توانند به‌طورکووالان به پروتئین‌های بزرگ در آزمایشگاه اتصال یافته و در این حالت ممکن است منجر به تحریک پاسخ ایمنی گردند. این ملکول‌های کوچک را **هاپتن** گویند. آنتی‌بادیهای تولیدی در پاسخ به هاپتن‌های متصل به پروتئین، می‌توانند به همان ملکول‌های کوچک هاپتن در حالت آزاد متصل گردند. گاهی از این نوع آنتی‌بادی‌ها در ابداع آزمون‌های تجزیه‌ای که در پایان این فصل شرح داده می‌شوند و یا به‌عنوان آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک (شرح داده‌شده در کادر ۳-۸) استفاده می‌گردد.

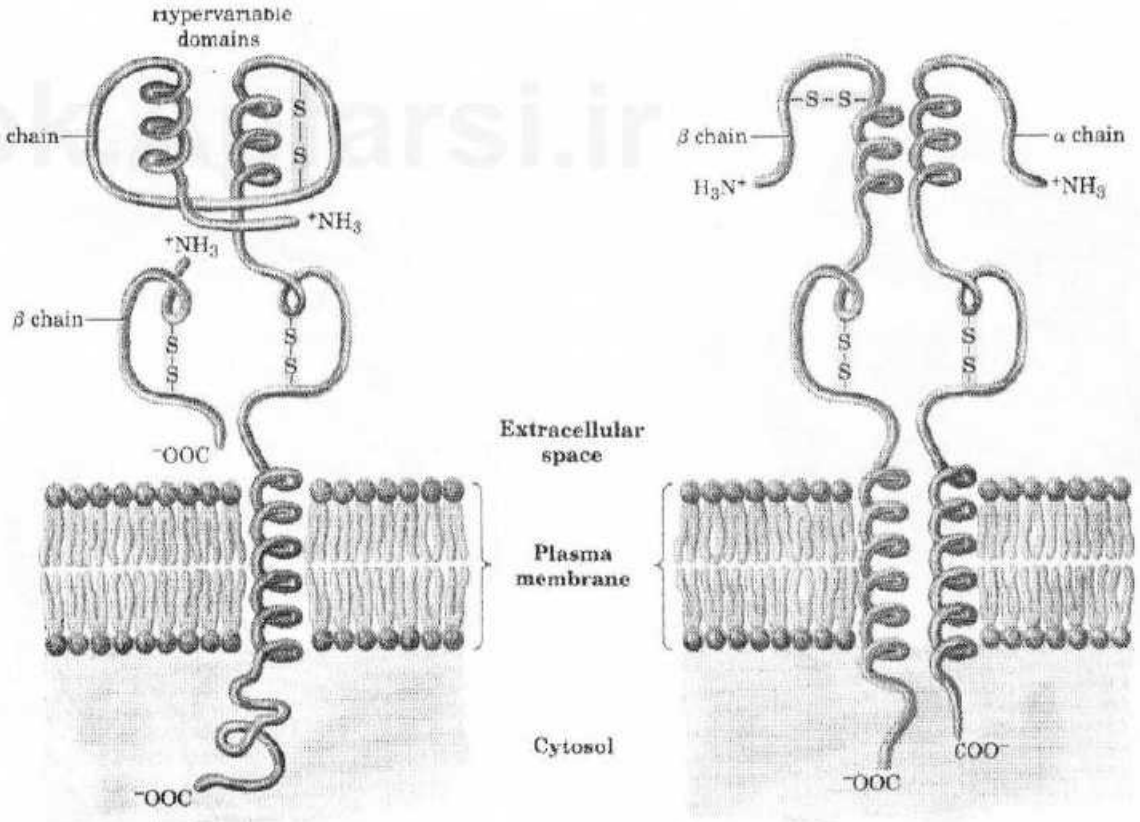
واکنش‌های متقابل بین آنتی‌بادی و آنتی‌ژن بسیار بهتر از ویژگی‌های اتصالی گیرنده‌های سلول T، شناخته شده است. هر چند قبل از تمرکز بر روی آنتی‌بادی‌ها، ابتدا لازم است به بررسی جزئیات سیستم ایمنی هومورال و سلولی بپردازیم.

تمایز خودی از غیرخودی با استفاده از پپتیدهای موجود در سطح سلول‌ها صورت می‌پذیرد

سیستم ایمنی می‌بایست عوامل بیماریزا را تشخیص داده و از بین ببرد، ولی می‌بایست همچنین پروتئین‌های طبیعی موجود میزبان («خودی») را شناسایی نموده و آنها را از بین نبرد. جستجوی آنتی‌ژن‌های پروتئینی در میزبان به واسطه **پروتئین‌های (کمپلکس اصلی سازگاری نسجی) MHC**[1] انجام می‌گردد. پروتئین‌های MHC به قطعات پپتیدی پروتئین‌های هضم‌شده در داخل سلول اتصال یافته و آنها را در سطح سلول به سلول دیگری عرضه می‌نمایند. این پپتیدها به‌طور طبیعی از هضم پروتئین‌های شاخص سلولی بدست آمده، ولی در طی یک عفونت ویروسی، پروتئین‌های ویروسی نیز هضم شده و توسط پروتئین‌های MHC عرضه می‌گردند. قطعات پپتیدی پروتئین‌های خارجی که توسط پروتئین‌های MHC به نمایش گذاشته می‌شوند، آنتی‌ژن‌های سیستم ایمنی هستند که به‌عنوان غیرخودی شناسایی می‌شوند. گیرنده‌های سلول T به این قطعات اتصال یافته و مراحل بعدی پاسخ ایمنی را ادامه می‌دهند. دو کلاس پروتئین‌های MHC وجود دارد که از نظر توزیع در بین انواع مختلف سلولی و منبع پروتئین‌های هضم‌شده‌ای که پپتیدهای آنها را به نمایش می‌گذارند، با یکدیگر متفاوت می‌باشند (شکل ۲۰-۷).

پروتئین‌های **کلاس MHC I** (شکل ۲۱-۷) در سطح تمامی سلول‌های مهره‌داران وجود دارند. انواع بی‌شماری از این پروتئین‌ها در انسان وجود داشته که آنها را در میان چندشکلی‌ترین پروتئین‌ها قرار می‌دهند. از آنجایی‌که افراد

1- Major Histocompatibility complex



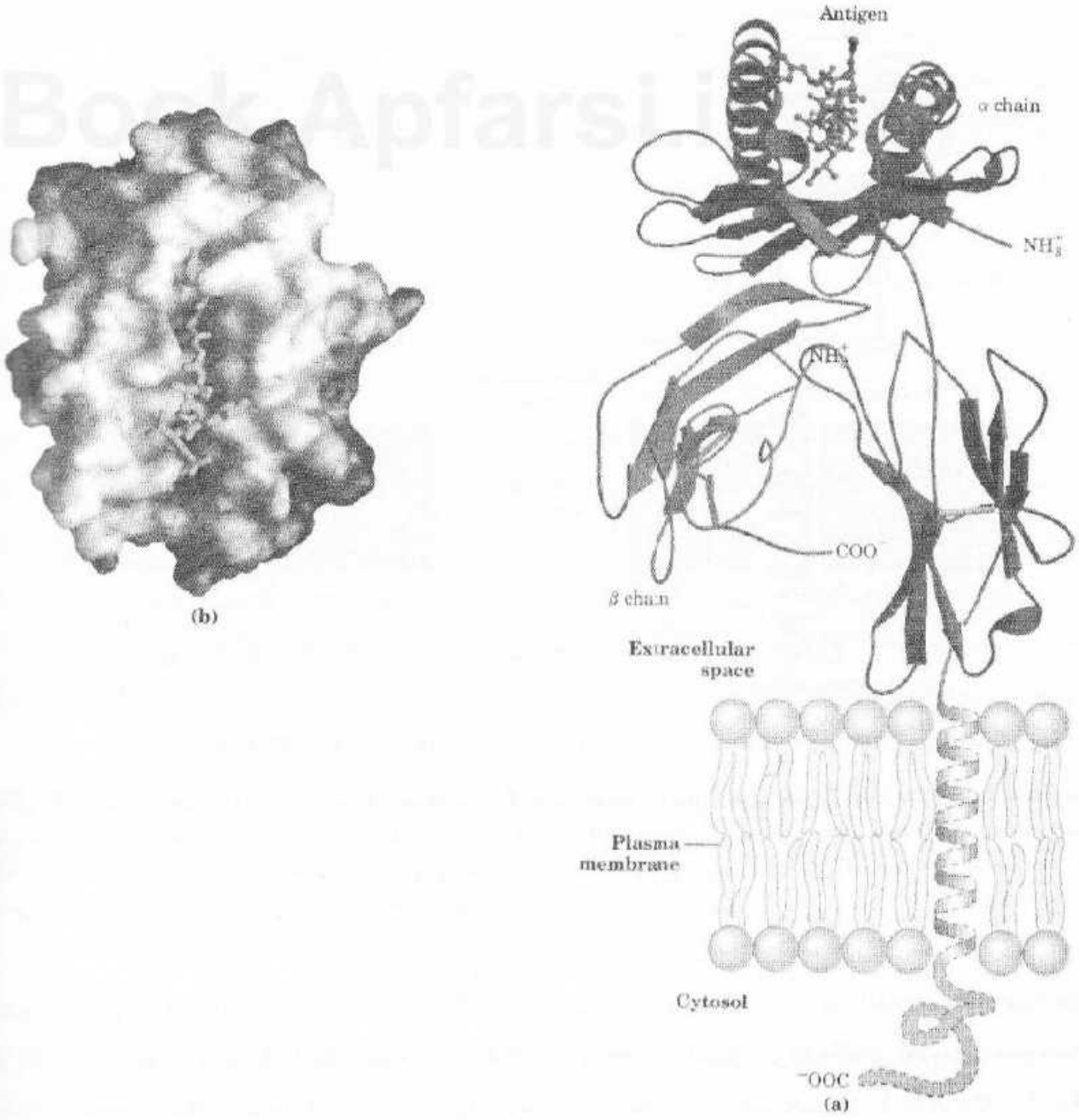
شکل ۲۰-۷. پروتئین‌های MHC. این پروتئین‌ها از دو زنجیر α و β تشکیل شده‌اند. در پروتئین‌های کلاس MHC I (a)، زنجیر β ثابت بوده ولی توالی اسید آمینه‌ای زنجیر α شدت بالائی از تنوع را نشان می‌دهد که در دومن‌های اختصاصی این پروتئین دیده می‌شود که در سطح خارج سلولی ظاهر می‌گردند. انسان تا شش زنجیر α مختلف برای پروتئین‌های کلاس MHC I دارد. در پروتئین‌های کلاس MHC II (b)، هر دو زنجیر α و β نواحی با تنوع نسبتاً شدید در نزدیک انتهای آمینو خود دارند.

متفاوت تا شش نوع مختلف پروتئین کلاس MHC I تولید می‌نمایند، وجود یک سری مشابه در دو فرد غیرمحتمل می‌باشد. پروتئین‌های کلاس MHC I به پپتیدهایی متصل شده و آنهایی را نمایش می‌دهند که از تخریب پروتئولیتیک و توسازی تصادفی پروتئین‌های داخل‌سلولی حاصل می‌گردند. این کمپلکس‌های پپتیدی و پروتئین‌های کلاس MHC I، اهداف تشخیصی گیرنده‌های سلول T در سلول‌هالی T_C سیستم ایمنی سلولی می‌باشند. الگوی عمومی شناسایی سیستم ایمنی ابتدا توسط رولف زینکرناگل[1] و پیتر دوئرتی[2] در سال ۱۹۷۴ شرح داده شد.

هر سلول T_C دارای نسخه‌های متعددی از تنها یک نوع گیرنده می‌باشد که برای یک کمپلکس پروتئین کلاس MHC I-پپتید خاص، اختصاصی است. برای اجتناب از ایجاد یک ضایعه در سلول‌های T_C که برای تخریب سلول‌های طبیعی فعال می‌شوند، بلوغ سلول‌های T_C در تیموس شامل یک فرایند انتخابی سخت می‌باشد که طی آن بیش از ۹۵٪ سلول‌های T_C تکامل‌یافته را حذف می‌نمایند؛ در میان این سلول‌های حذف‌شده، انواع سلول‌هایی وجود دارد که ممکن است پروتئین‌های کلاس MHC I نمایش‌دهنده پپتیدهای حاصل از پروتئین‌های سلولی خود موجود را شناسایی و به آنها اتصال یابند. سلول‌های T_C که باقی مانده و بالغ می‌شوند، شامل انواع دارای گیرنده‌های سلولی T هستند که به پروتئین‌های خود موجود زنده متصل نمی‌گردند. حاصل، جمعیتی از سلول‌ها می‌باشد که به پپتیدهای خارجی متصل به پروتئین‌های کلاس MHC I سلول میزبان، اتصال می‌یابند. این

1- Rolf Zinkernagel 2- Peter Doherty

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۱-۷ [شکل ۱۸ ضمیمه رنگی]. ساختمان یک پروتئین MHCI انسانی. (a) این تصویر تاحدودی از ساختمان تعیین‌شده قسمت خارج‌سلولی این پروتئین حاصل شده است. زنجیر α این پروتئین MHC با رنگ خاکستری نشان داده شده است و زنجیر کوچک β آبی می‌باشد. یک لیگاند اتصال‌یافته، پپتیدی مشتق از HIV، با رنگ قرمز مشخص می‌باشد. **(b)** نمای بالا، تصویری را از جایگاهی نشان می‌دهد که پپتید متصل و به نمایش گذاشته می‌شوند. پپتید HIV (قرمز) این محل را اشغال می‌نماید. این قسمت پروتئین کلاس MHCI با گیرنده‌های سلول T واکنش متقابل می‌نماید.

واکنش‌های متقابل اتصالی منجر به تخریب سلول‌های عفونت‌یافته با ویروس‌ها و انگل‌ها می‌گردد. وقتی یک عضو پیوند می‌شود، سلول‌های Tc به پروتئین‌های کلاس MHCI خارجی آن نیز متصل شده و سبب رد پیوند می‌گردند.

پروتئین‌های **کلاس MHCII** در سطح چند نوع سلول اختصاصی، شامل ماکروفاژها و لنفوسیت‌های B، دیده می‌شوند که آنتی‌ژن‌های خارجی را برداشت می‌نمایند. همانند پروتئین‌های کلاس MHCI، پروتئین‌های کلاس MHCII شدیداً چندشکلی بوده و انواع زیادی را در جمعیت انسانی دارند. هر انسان قادر به تولید تا ۱۲ نوع بوده و بنابراین غیرممکن خواهد بود که دو نفر دارای یک سری مشابه از این انواع باشند. پروتئین‌های

Book.Apfarsi.ir

کلاس MHC II به پپتیدهایی متصل شده و آنهایی را نمایش می‌دهند که از پروتئین‌های سلولی مشتق نشده و حاصل پروتئین‌های خارجی هستند که توسط سلول‌ها خورده می‌شوند. گیرنده‌های سلول T موجود در سطح سلول‌های کمک‌کننده T مختلف، می‌توانند به این کمپلکس‌های پروتئین کلاس MHC II-پپتید حاصل، متصل گردند. سلول‌های T_H، همانند سلول‌های T_C، دچار یک انتخاب سخت در تیموس شده و آنهایی که پروتئین‌های سلولی خود فرد را شناسایی می‌نمایند، با این فرایند حذف می‌گردند.

علی‌رغم حذف اکثر سلول‌های T_C و T_H در طی فرایند انتخاب در تیموس، تعداد بسیار زیادی باقی مانده که پاسخ ایمنی را سبب می‌گردند. هر سلول باقیمانده دارای یک نوع خاص گیرنده سلول T می‌باشد که به یک ساختمان شیمیایی خاص اتصال می‌یابد. سلول‌های T که در داخل گردش خون و بافت‌ها گشت می‌زنند، حامل میلیون‌ها ویژگی اتصالی مختلف در گیرنده‌های سلول T می‌باشند. در داخل جمعیت شدیداً متنوع سلول T، همیشه سلول‌های آماده‌ای وجود دارند که می‌توانند به‌طور اختصاصی به هر آنتی‌ژنی متصل گردند که احتمال ظهور آن وجود دارد. بیشتر این سلول‌ها هرگز با یک آنتی‌ژن خارجی برخورد نکرده تا به آن اتصال یابند؛ این سلول‌ها ظرف چند روز از بین رفته و توسط نسل جدیدی از سلول‌های T جایگزین شده و بدین‌ترتیب گشت بی‌پایان در جستجوی یک واکنش متقابل جهت شروع پاسخ ایمنی کامل را ادامه می‌دهند.

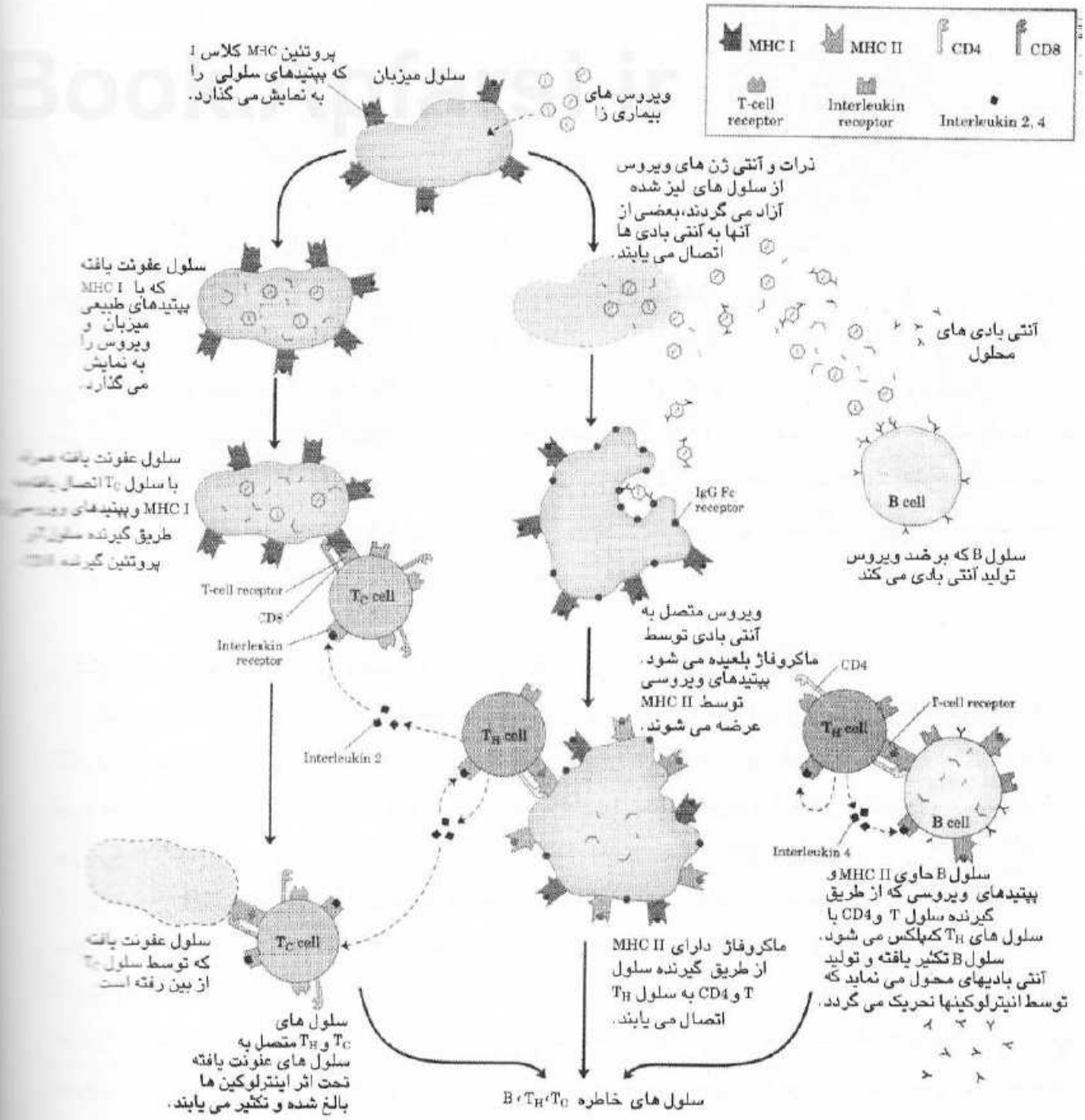
واکنش‌های متقابل ملکولی در سطوح سلولی، پاسخ ایمنی را آغاز می‌نمایند

یک آنتی‌ژن جدید اغلب نشانه یک عفونت می‌باشد؛ پیامی برای سیستم ایمنی مبنی براینکه یک ویروس یا انگل دیگر ممکن است سریعاً در داخل بدن موجود زنده رشد نماید. آن تعداد کم سلول‌های T و سلول‌های B حاوی گیرنده‌ها یا آنتی‌بادی‌های متصل‌شونده به این آنتی‌ژن، می‌بایست به‌طور سریع و انتخابی تکثیر یافته و عفونت را از بین ببرند. با شرح یک عفونت ویروسی فرضی، نحوه انجام این فرایند مشخص می‌گردد.

وقتی یک ویروس به یک سلول حمله می‌کند، از امکانات سلولی برای همانندسازی اسید نوکلئیک خود و ساختن پروتئین‌های ویروسی استفاده می‌نماید. وقتی ماکروملکول‌های ویروسی در داخل سلول قرار دارند، آنتی‌بادی‌های سیستم ایمنی تقریباً به آنها دسترسی ندارند. هرچند، بعضی از پروتئین‌های کلاس MHC I که مسیر خود را به سمت سطح سلول عفونت‌یافته پیدا می‌نمایند، عموماً قطعات پپتیدی از پروتئین‌های ویروسی را به نمایش می‌گذارند که خود توسط لنفوسیت‌های T_C شناسایی می‌گردند. وقتی ویروس‌های بالغ از سلول عفونت‌یافته آزاد شده و مدت زمانی را در محیط خارج‌سلولی سپری می‌کنند، در برابر سیستم ایمنی هومورال آسیب‌پذیر می‌شوند. تعدادی از این ویروس‌ها توسط ماکروفاژها بلعیده می‌شوند؛ ماکروفاژها تنها آنتی‌ژن‌هایی را می‌خورند که توسط آنتی‌بادی‌های تولیدی توسط یک سلول B مشخص شناسایی می‌گردند. قطعات پپتید ویروسی در سطوح ماکروفاژها و سلول‌های B، به‌صورت کمپلکس با پروتئین‌های کلاس MHC II، به نمایش گذاشته شده و این آنتی‌ژن‌های پپتیدی پاسخ ایمنی چندشاخه‌ای را سبب می‌گردند که نیاز به سلول‌های B، سلول‌های T_C و سلول‌های T_H دارد (شکل ۲۲-۷).

کمپلکس‌های پروتئین‌های کلاس MHC I-پپتید موجود در سلول‌های عفونت‌یافته به‌عنوان ماده خارجی شناسایی شده و سلول‌های T_C از طریق گیرنده‌های سلول T دارای ویژگی اتصالی مناسب، به آنها اتصال می‌یابند. گیرنده‌های سلول T تنها به آنتی‌ژن‌های پپتیدی پاسخ می‌دهند که به‌صورت کمپلکس با پروتئین‌های کلاس MHC I

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۲-۷. مرور کلی پاسخ ایمنی به یک عفونت ویروسی. مراحل در متن شرح داده شده‌اند.

می‌باشند. سلول‌های T_C دارای گیرنده دیگری، بنام **CD8**، هستند که کورسپتور نیز نامیده شده و واکنش‌های متقابل اتصالی گیرنده‌های سلول T و پروتئین‌های MHC را تسریع می‌نماید (شکل ۲۲-۷، قسمت میانی سمت چپ). سلول‌های T_C بعلت اینکه سلول‌های دچار عفونت ویروسی که از طریق گیرنده‌های سلول T به آنها متصل شده‌اند را از بین می‌برند، سلول‌های T کشنده نامیده می‌شوند. مرگ سلولی به واسطه مکانیسم‌های متعددی به انجام می‌رسد که تمامی آنها بخوبی شناخته نشده‌اند. یکی از این مکانیسم‌ها، مستلزم رهاسازی پروتئینی بنام **پرفورین**[1] می‌باشد

(1) Perforin

Book.Apfarsi.ir

که به غشاء پلاسمایی سلول هدف اتصال یافته و تجمع می‌یابد؛ حاصل این فرایند، ایجاد منافذ ملکولی است که ظرفیت تنظیم محیط داخل سلولی را از بین می‌برد. سلول‌های T_C همچنین فرایندی را بنام **مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده** یا **آپوپتوزیس** (معمولاً به‌صورت app-a-toe-sis تلفظ می‌شود) القاء می‌نمایند که طی آن سلول متصل به سلول‌های T_C، متحمل تغییرات متابولیکی شده که سریعاً منجر به مرگ سلول می‌گردد.

در صورتی که قرار است تعداد زیادی از سلول‌های عفونت‌یافته به ویروس تخریب گردند، می‌بایست سلول‌های T_C دارای ویژگی خص، به‌طور انتخابی تکثیر یابند. برای پایان این ماجرا، سلوهای T_C کمپلکس شده با یک سلول عفونت‌یافته، تولید گیرنده‌های سطح سلولی برای پیام‌رسانی پروتئین‌هایی بنام **اینترلوکین‌ها** می‌نمایند. اینترلوکین‌ها توسط انواع مختلفی از سلول‌ها ترشح شده و تکثیر تنها سلول‌های T و B را تحریک می‌نمایند که دارای گیرنده‌های مورد نیاز اینترلوکین هستند. از آنجایی که سلول‌های T و B تنها زمانی تولید گیرنده‌های اینترلوکینی می‌نمایند که با آنتی‌ژن ایجاد کمپلکس کرده‌اند، تنها سلول‌های سیستم ایمنی تکثیر می‌یابند که قادرند به آنتی‌ژن پاسخ دهند. این فرایند تولید جمعیت سلولی به واسطه تکثیر تحریک‌شده یک سلول اجدادی خاص، را **انتخاب کلونی** گویند.

به‌طور مشابه گیرنده‌های سلول T موجود در سطح سلول‌های T_H به پپتیدهایی اتصال می‌یابند که با پروتئین‌های کلاس MHC II ایجاد کمپلکس نموده و در سطح ماکروفاژها و لنفوسیت‌های B نمایش داده می‌شوند. سلول‌های T_H نیز دارای کورسپتوری بنام **CD4** هستند که واکنش‌های متقابل بین گیرنده‌های سلول T را تسریع می‌نمایند. این واکنش متقابل اتصالی کلی، هماهنگ با پیام‌های ملکولی ثانویه که اخیراً در حال شناسایی هستند، سلول‌های T_H را فعال می‌نمایند. زیرجمعیت سلول‌های T_H فعال‌شده، یک پروتئین پیام کوچک بنام اینترلوکین-۲ (IL-2؛ وزن‌ملکولی ۱۵,۰۰۰) را ترشح می‌نمایند که منجر به تکثیر سلول‌های T_C و سلول‌های T_H مجاور دارای گیرنده‌های مناسب این اینترلوکین می‌گردد. این امر سبب افزایش شدید سلول‌های سیستم ایمنی می‌شود که قادر به شناسایی و پاسخ به آنتی‌ژن هستند. زیرجمعیت دیگر سلول‌های T_H فعال‌شده با ماکروفاژها یا لنفوسیت‌های B تولیدکننده اینترلوکین-۴ (IL-4؛ وزن‌ملکولی ۲۰,۰۰۰) ایجاد کمپلکس نموده که تکثیر سلول‌های Bای را تحریک می‌نماید که این آنتی‌ژن را شناسایی می‌نمایند (شکل ۲۲-۷، قسمت پایین سمت راست). تا زمانی که آنتی‌ژن مناسب وجود دارد، تکثیر سلول‌های B، T_C و T_H ادامه پیدا می‌نماید.

سلول‌های B تکثیریافته، تخریب هر ویروس یا سلول باکتری خارج‌سلولی را تسریع می‌نماید. ابتدا این سلول‌ها مقادیر زیادی آنتی‌بادی محلول ترشح می‌نمایند که به آنتی‌ژن اتصال می‌یابند. این اتصال آنتی‌بادی، یک سیستم سلولی با حدود ۲۰ پروتئین را بخدمت گرفته که بعلت تکمیل و تسریع عمل آنتی‌بادیها، مجموعاً **کمپلمان** نامیده می‌شوند. پروتئین‌های کمپلمان سبب تخریب پوشش بسیاری از ویروس‌ها شده و یا در عفونت‌های باکتریایی سبب ایجاد منافذی در دیواره سلول‌های باکتریایی شده که منجر به تورم و پارگی آنها در اثر شوک اسموتیک می‌گردند.

برخلاف سلول‌های T، سلول‌های B برای حذف سلول‌های تولیدکننده آنتی‌بادی بر علیه پروتئین‌های میزبان (خودی)، در تیموس انتخاب نمی‌گردند. هرچند، سلول‌های B تا زمانی که توسط سلول‌های T_H برای تکثیر تحریک نشده‌اند، همکاری زیدی در پاسخ ایمنی نمی‌نمایند. سلول‌های T_H در داخل تیموس انتخاب شده و سلول‌های T که قادر به تحریک سلول‌های B تولیدکننده آنتی‌بادی بر ضد میزبان هستند، باقی نخواهند ماند.

سلول‌های T_H خودشان تنها دارای نقش غیرمستقیمی در تخریب سلول‌های عفونت‌یافته و عوامل بیماریزا بوده، ولی این نقش برای کل پاسخ ایمنی مهم می‌باشد. اهمیت این همکاری بوسیله اپیدمی حاصل از HIV

Book.Apfarsi.ir

(ویروس نقص ایمنی انسان[۱])، ویروس ایجاد کننده ایدز (سندروم نقص ایمنی اکتسابی، AIDS[۲])، بخوبی مشخص می‌گردد. اهداف اولیه عفونت HIV، سلول‌های T_H می‌باشند. حذف این سلول‌ها به‌طور پیشرونده‌ای ظرفیت‌های سیستم ایمنی را از بین می‌برد.

وقتی آنتی‌ژن از بین می‌رود، سلول‌های ایمنی فعال‌شده عموماً ظرف چند روز از طریق مرگ سلولی برنامه ریزی‌شده می‌میرند. هرچند، تعدادی از سلول‌های B و T به **سلول‌های خاطره** تبدیل می‌شوند. این سلول‌ها دارای عمر طولانی بوده و وقتی اولین بار آنتی‌ژن ظاهر می‌گردد، مستقیماً در پاسخ ایمنی اولیه شرکت نمی‌کنند. بلکه این سلول‌ها برای همیشه در گردش خون باقی مانده و آماده پاسخ‌دهی به ظهور مجدد همان آنتی‌ژن می‌گردند. با برخورد این سلول‌های خاطره با آنتی‌ژن مورد نظر، پاسخ ایمنی ثانویه‌ای آغاز شده که به خاطر وجود افزایش کلونی قبلی، عموماً سریع‌تر و شدیدتر می‌باشد. با این مکانیسم، مهره‌دارانی که یکبار با یک ویروس یا عامل بیماریزای دیگر تماس داشته‌اند، در تماس بعدی می‌توانند سریعاً به آن پاسخ دهند. این اساس ایمنی طولانی مدتی است که با واکسیناسیون و ایمنی طبیعی حاصل از عفونت‌های تکراری با یک سوش ویروسی، به وجود می‌آید.

آنتی‌بادی‌ها دارای دو جایگاه مشابه اتصال به آنتی‌بادی هستند

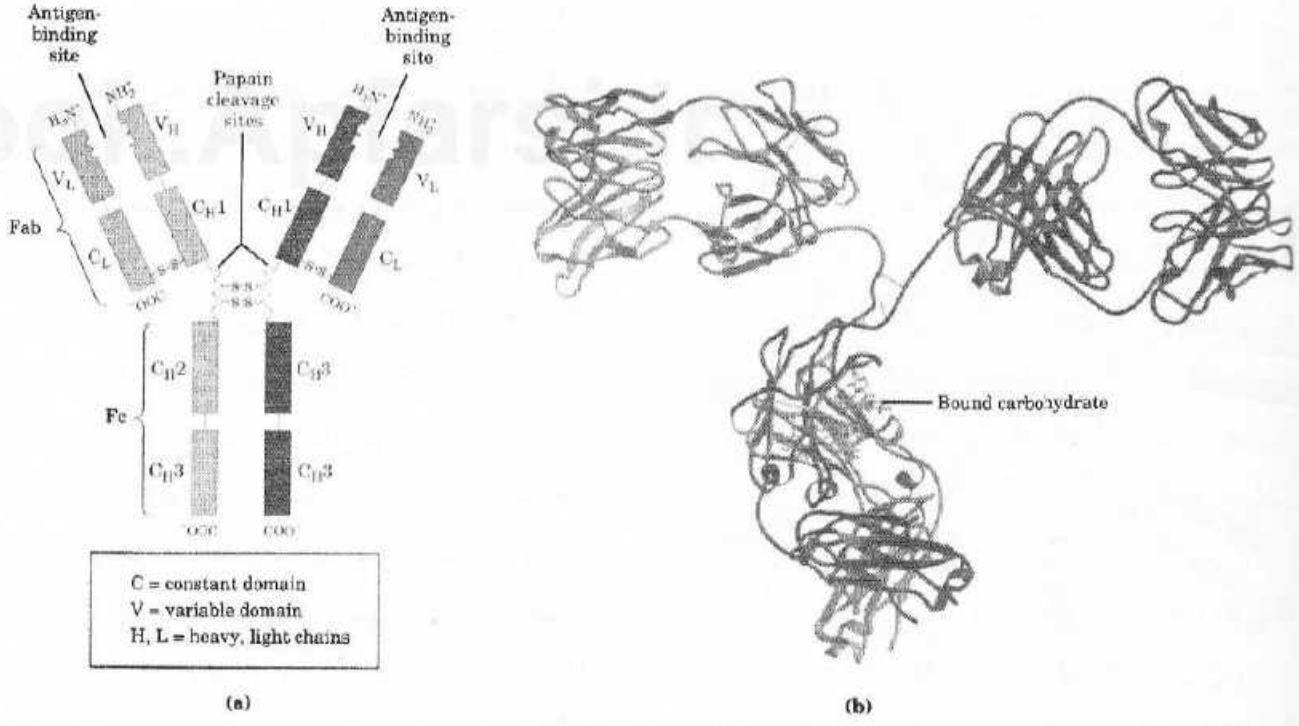
ایمونوگلوبولین G (IgG)، کلاس اصلی ملکول‌های آنتی‌بادی است که یکی از فراوانترین پروتئین‌های موجود در سرم خون می‌باشد. IgG از چهار زنجیر پلی‌پپتیدی، دو زنجیر بزرگ بنام زنجیرهای سنگین و دو زنجیر کوچک بنام زنجیر سبک، تشکیل شده است که توسط پیوندهای غیرکووالان و دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده و ایجاد کمپلکسی با وزن ملکولی ۱۵۰،۰۰۰ می‌کنند. زنجیرهای سنگین ملکول IgG در یک انتها با یکدیگر واکنش نموده و سپس به‌صورت شاخه درآمده تا به‌طورمجزا به زنجیرهای سبک متصل شده و ایجاد یک ملکول Y شکل نماید (شکل ۲۳-۷). پروتئازها قادر به شکستن این ایمونوگلوبولین در محل «لولاها» می‌باشند که پایه ملکول IgG را از شاخه‌های آن جدا می‌نمایند. پروتئاز پاپایین سبب جداشدن قطعه پایه، بنام Fc[۳] (نامگذاری بعلت قابلیت ساده کریستالیزه‌شده آن می‌باشد)، و دو شاخه، بنام Fab[۴] (قطعات اتصال به آنتی‌ژن) می‌گردد. هر شاخه دارای یک‌جایگاه اتصال به آنتی‌ژن می‌باشد.

ساختمان پایه ایمونوگلوبولین‌ها برای اولین بار توسط ژرالد ادلمن[۵] و رادنی پورتر[۶] مشخص گردید. هر زنجیر از دومن‌های قابل‌شناسایی تشکیل شده است که تعدای از آنها از نظر توالی و ساختمان از یک IgG به IgG دیگر ثابت و تعدادی نیز متغیر هستند. دومن‌های ثابت دارای ساختمان مشخصی بنام **چین ایمونوگلوبولینی** است که یک موتیف ساختمانی به خوبی حفظ‌شده در کلاس تمام-β می‌باشد. سه دومن ثابت از این نوع در هر زنجیر سنگین و یکی در هر زنجیر سبک وجود دارد. هر زنجیر سنگین و سبک دارای یک دومن متغیر هستند که در آنها بیشترین میزان تنوع توالی ریشه‌های اسید آمینه مشاهده می‌گردد. دومن‌های متغیر در ایجاد جایگاه اتصالی آنتی‌ژن نقش دارند (شکل ۲۴-۷).

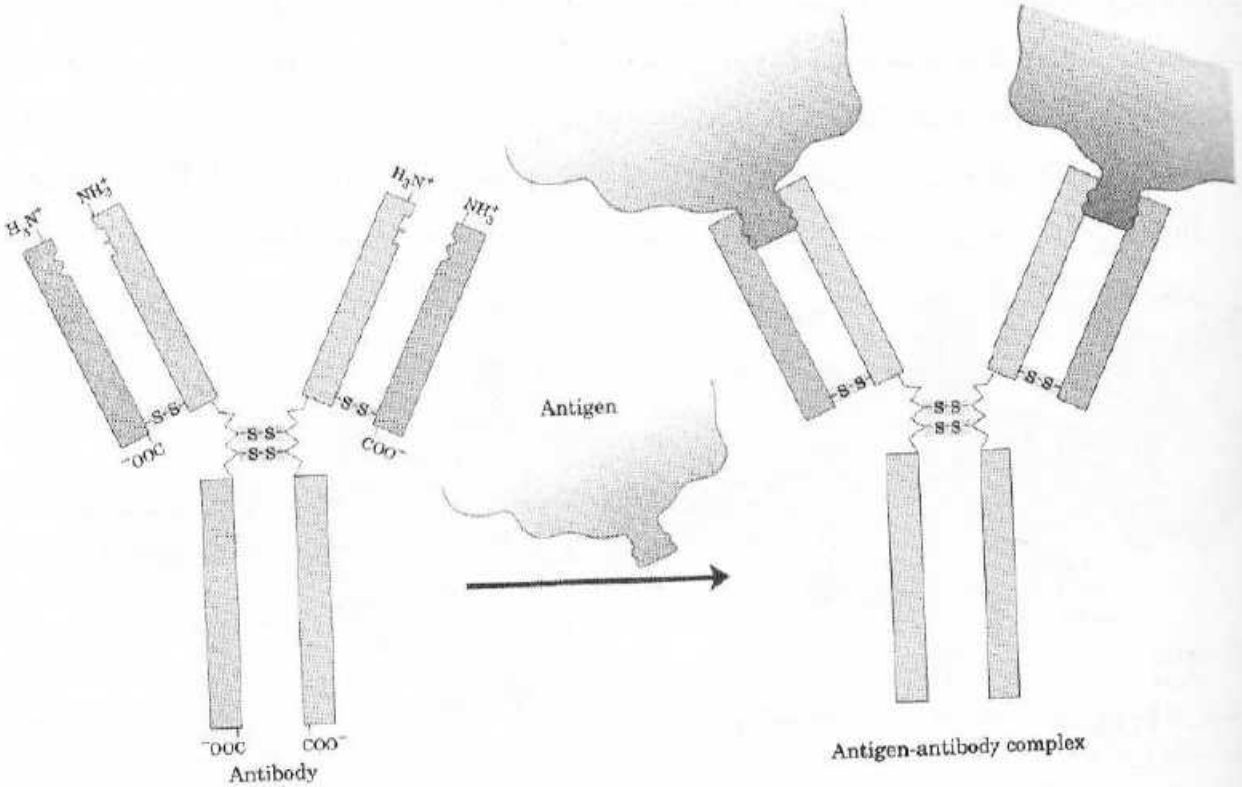
در بسیاری از مهره‌داران، IgG تنها یکی از پنج کلاس ایمونوگلبولین‌ها می‌باشد. هر کدام از این کلاس‌ها دارای یک نوع زنجیر سنگین هستند که با α، δ، ε، γ و μ، به‌ترتیب برای IgA، IgD، IgE، IgG و IgM مشخص می‌گردند.

1- Human immunodeficiency virus
2- Acquired Immune Deficiency Syndrome
3- Crystalizable *fragment*
4- *Antigen-binding fragment*
5- Gerald Edelman
6- Rodney Porter

Book.Apfarsi.ir



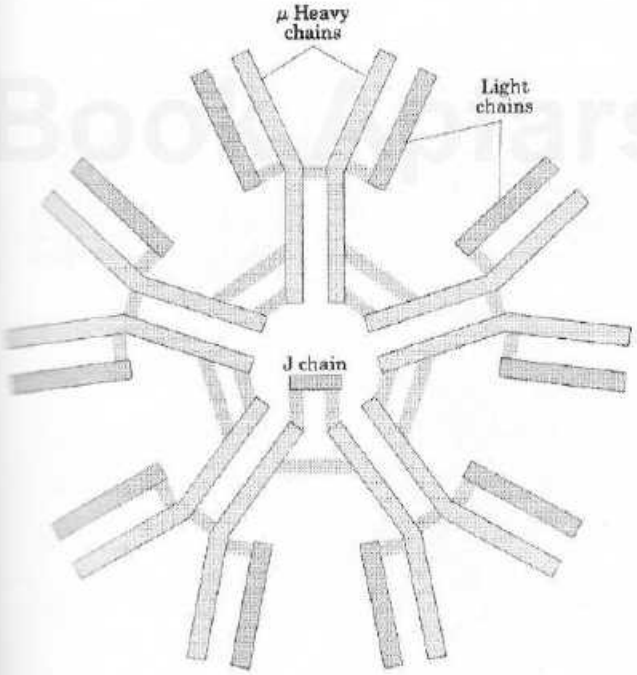
شکل ۲۳-۷ [شکل ۱۹ ضمیمه رنگی]. ساختمان ایمونوگلوبولین G. **(a)** جفت‌های زنجیر سبک و سنگین به یکدیگر متصل شده وایجاد یک ملکول Y شکل را می‌نمایند. با ترکیب دومن‌های متغیر یک زنجیر سبک (V_L) و یک زنجیر سنگین (V_H)، دو جایگاه برای اتصال آنتی‌ژن ایجاد می‌گردد. در اثر پاپایین، قسمت‌های **Fab** و Fc از ناحیه لولا جدا می‌گردند. قسمت Fc حاوی کربوهیدرات نیز می‌باشد. **(b)** یک مدل رویانی اولین ملکول کامل IgG که کریستالیزه و از نظر ساختمانی مورد بررسی قرار گرفته است. هرچند این ملکول دارای دو زنجیر سنگین مشابه (با سایه آبی) و دو زنجیر سبک مشابه (با سایه قرمز) می‌باشد، به‌صورت کونفورماسیون نامتقارن نشان داده شده، کریستالیزه می‌گردد. انعطاف‌پذیری کونفورماسیونی ممکن است برای فعالیت ایمونوگلوبولین‌ها مهم باشد. (به‌نظر می‌رسد اولین دومن زنجیر سمت راست قطعه Fc ، به‌جای C_H3، دومن C_H2 صحیح است. مترجم)



شکل ۲۴-۷. اتصال IgG به یک آنتی‌ژن. برای ایجاد یک تطابق مطلوب با آنتی‌ژن، جایگاه‌های IgG اغلب دچار تغییرات کونفورماسیونی کوچکی می‌گردند. این نوع انطباق القاءشده در مورد بسیاری از واکنش‌های متقابل پروتئین-لیگاند دیده می‌شود.

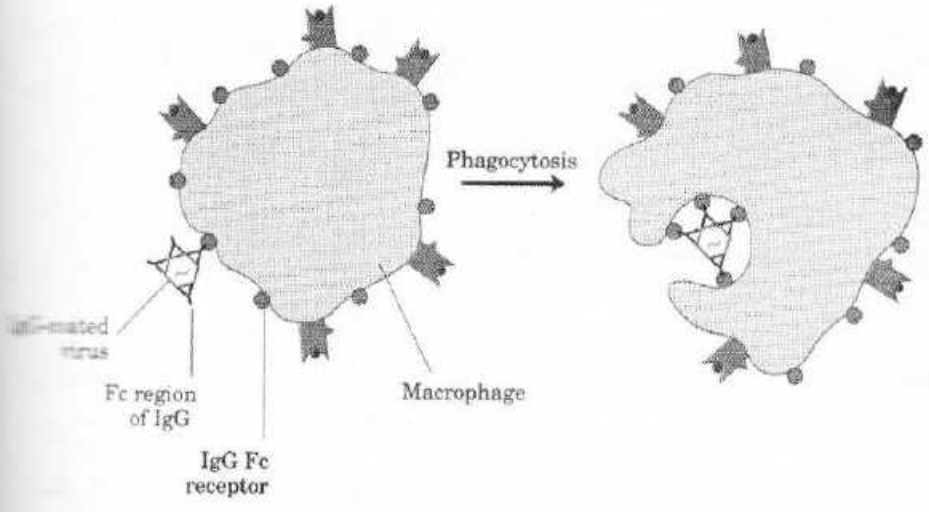
Book.Apfarsi.ir

در تمامی کلاس‌های ایمونوگلوبولینی دو نوع زنجیر سبک κ و λ وجود دارد. ساختمان کلی **IgD** و **IgE** مشابه ساختمان IgG می‌باشد. **IgM** یا به‌صورت منومری متصل به غشاء یا به‌صورت پنتامری ترشح‌شده، حاصل از اتصال عرضی این واحد ساختمانی پایه، وجود دارد (شکل ۲۵-۷). **IgA** اساساً در ترشحات، نظیر بزاق، اشک و شیر وجود داشته و ممکن است به شکل منومر، دیمر یا تریمر دیده شود. IgM اولین آنتی‌بادی است که توسط لنفوسیت‌های B ساخته شده و آنتی‌بادی اصلی در مراحل ابتدایی یک پاسخ ایمنی اولیه می‌باشد. بعضی از سلول‌های B بزودی شروع به تولید IgD (با همان جایگاه اتصالی آنتی‌ژنی مشابه IgM تولیدی توسط همان سلول) نموده ولی نقش IgD واضح نمی‌باشد.



شکل ۲۵-۷. پنتامر IgM واحدهای ایمونوگلبولینی. این پنتامر دارای اتصالات عرضی دی‌سولفیدی است. زنجیر J پلی‌پپتیدی با وزن مولکولی ۲۰,۰۰۰ می‌باشد که در IgA و IgM وجود دارد.

IgG که در بالا شرح داده شد، آنتی‌بادی اصلی پاسخ‌های ایمنی ثانویه می‌باشد که تولید آن توسط سلول‌های B حافظه آغاز می‌گردد. به‌عنوان قسمتی از پاسخ ایمنی به آنتی‌ژن‌ها، IgG فراوانترین ایمونوگلوبولین موجود در خون می‌باشد. وقتی IgG به یک باکتری یا ویروس مهاجم متصل می‌گردد، نه تنها سیستم کمپلمان را فعال می‌نماید، بلکه همچنین بعضی از گلبول‌های سفید نظیر ماکروفاژها را فعال نموده تا مهاجم را بلعیده و تخریب نمایند. کلاس دیگری از گیرنده‌های موجود در سطح ماکروفاژها ناحیه Fc ملکول IgG را شناسایی نموده و به آن اتصال می‌یابد. وقتی این گیرنده‌های Fc به یک کمپلکس آنتی‌بادی - عامل بیماریزا اتصال می‌یابد، ماکروفاژ این کمپلکس را با فرایند فاگوسیتوز می‌بلعد (شکل ۲۶-۷).



شکل ۲۶-۷. فاگوسیتوز یک ویروس متصل به آنتی‌بادی توسط یک ماکروفاژ. نواحی Fc آنتی‌بادی‌های متصل به گیرنده‌های Fc موجود در سطح ماکروفاژ، سبب تحریک ماکروفاژ در بلع و تخریب ویروس می‌گردد.

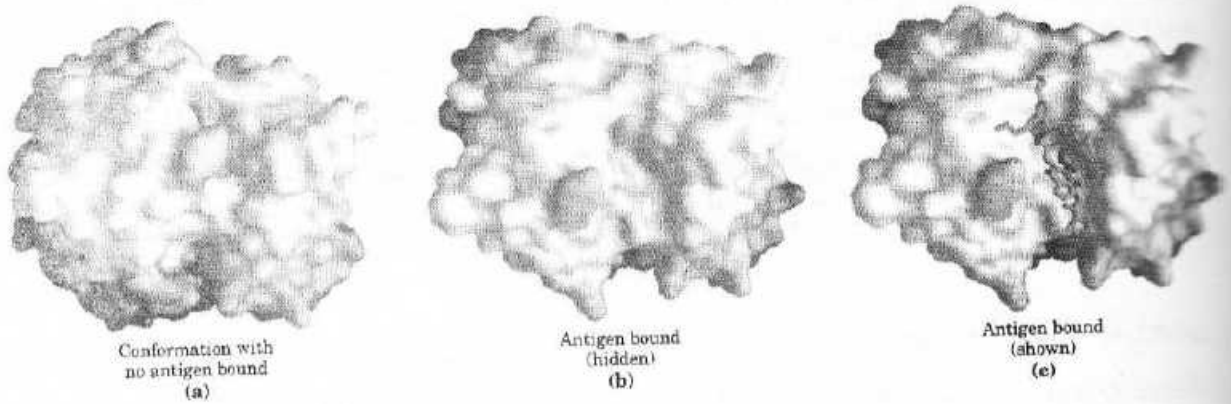
Book.Apfarsi.ir

IgE نقش مهمی را در پاسخ آلرژیک بازی نموده و با بازوفیل‌ها (لکوسیت‌های فاگوسیتیک) در گردش خون و ماست سل‌های ترشح‌کننده هیستامین که انتشار وسیعی در بافت‌ها دارند، واکنش می‌نماید. این ایمونوگلوبولین از طریق ناحیه Fc خود به گیرنده‌های اختصاصی موجود در سطح بازوفیل‌ها یا ماست سل‌ها اتصال می‌یابد. به این شکل، IgE به‌عنوان یک نوع گیرنده برای آنتی‌ژن عمل می‌کند. با اتصال آنتی‌ژن، این سلول‌ها القاء شده و شروع به ترشح هیستامین و سایر آمین‌های فعال بیولوژیک می‌نمایند که سبب اتساع و افزایش نفوذپذیری عروق خونی می‌گردند. معتقدند که این اثرات بر روی عروق خونی سبب تسهیل حرکت سلول‌های سیستم ایمنی به محل‌های التهاب می‌گردند. به علاوه آنها علائمی را ایجاد می‌کنند که به‌طور طبیعی همراه با آلرژی‌ها می‌باشند. گرده و سایر آلرژن‌ها به‌عنوان ترکیبات خارجی شناسایی شده و سبب آغاز پاسخ ایمنی می‌گردند که به‌طور طبیعی در مورد عوامل بیماریزا دیده می‌شوند.

آنتی‌بادی‌ها به‌طور محکم و اختصاصی به آنتی‌ژن اتصال می‌یابند

ویژگی اتصال یک آنتی‌بادی بوسیله ریشه‌های اسید آمینه موجود در دومن‌های متغیر زنجیرهای سبک و سنگین تعیین می‌گردد. بسیاری از ریشه‌های موجود در این دومن‌ها، متغیر هستند ولی نه به‌طورکامل. بعضی از قسمت‌ها، بخصوص محل‌هایی که جایگاه اتصال آنتی‌ژن را می‌پوشانند، بسیار متغیر بوده و تفاوت زیادی دارند. ویژگی واکنش‌های آنتی‌ژن - آنتی‌بادی، حاصل مکمل شیمیایی بودن آنتی‌ژن و جایگاه اتصالی اختصاصی آن، از نظر شکل و موقعیت گروه‌های باردار، غیرقطبی و ایجادکننده پیوند هیدروژنی، می‌باشد. برای مثال، یک جایگاه اتصالی با یک گروه دارای بار منفی ممکن است به یک آنتی‌ژن دارای بار مثبت در موقعیت مکمل آن اتصال یابد. در بسیاری از موارد، زمانی حالت مکمل‌بودن ایجاد می‌گردد که ساختمان‌های آنتی‌ژن و جایگاه اتصالی به یکدیگر نزدیک‌شده و با هم واکنش‌های متقابل انجام دهند. آنگاه تغییرات کونفورماسیونی که در آنتی‌بادی و یا آنتی‌ژن رخ می‌دهد، امکان واکنش کامل گروه‌های مکمل را فراهم می‌سازد. این مثالی از یک انطباق تطبیقی می‌باشد (شکل ۲۷-۷).

واکنش متقابل آنتی‌بادی-آنتی‌ژن کاملاً قوی بوده و دارای K_d پایین 10^{-10} M می‌باشد (بیاد دارید که هر چه K_d



شکل ۲۷-۷ [شکل ۲۰ ضمیمه رنگی]. انطباق القاءشده اتصال یک آنتی‌ژن به IgG. ملکولی که به‌صورت طرح سطحی نشان داده شده است، قطعه Fab یک IgG می‌باشد. آنتی‌ژنی که این IgG به آن متصل می‌گردد، پپتید کوچکی مشتق از HIV است. دو ریشه از زنجیر سنگین (آبی) و یک ریشه از زنجیر سبک (صورتی) رنگ شده‌اند تا نقاط مرئی را به‌عنوان مرجع فراهم آورند. **(a)** نمای قطعه Fab در جایگاه اتصال آنتی‌ژن با نگاه به سمت پایین. **(b)** همان نما، ولی در اینجا قطعه Fab در کونفورماسیون «اتصال‌یافته» می‌باشد؛ برای بدست‌آوردن تصویر واضح‌تری از جایگاه اتصالی تغییریافته، آنتی‌ژن حذف شده است. توجه کنید که به چه نحو این حفره اتصالی بزرگ‌شده و موقعیت چندین گروه تغییر یافته است. **(c)** همان نمای **(b)**، ولی با وجود آنتی‌ژن در جایگاه اتصالی به‌صورت یک ساختمان قلمی قرمز.

Book.Apfarsi.ir

پایین‌تر باشد، واکنش متقابل اتصالی قویتر خواهد بود). K_d انعکاسی از انرژی حاصل از واکنش‌های متقابل مختلف یونی، ایجادکننده پیوند هیدروژنی، آبگریز و واندروالس، می‌باشد که اتصال را تثبیت می‌نمایند. انرژی اتصالی لازم برای تولید K_d برابر 10^{-10} M، حدود 65 kJ/mol می‌باشد.

بعضی از این ویژگی‌ها توسط کمپلکسی از یک پپتید مشتق از HIV (یک مدل آنتی‌ژنی) و یک ملکول Fab شرح داده می‌شود (شکل ۲۷-۷). تغییرات ساختمانی حاصل از این اتصال آنتی‌ژنی، بخصوص در این مثال برجسته می‌باشد.

واکنش‌های آنتی‌بادی-آنتی‌ژن اساس انواع مختلفی از روش‌های مهم تجزیه‌ای هستند

تمایل و ویژگی اتصالی فوق‌العاده آنتی‌بادی‌ها، آنها را به معرف‌های تجزیه‌ای باارزشی تبدیل نموده است. دو نوع فرآورده آنتی‌بادی، شامل انواع پلی‌کلونال و منوکلونال، مورد استفاده قرار می‌گیرد. **آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال** توسط لنفوسیت‌های B مختلف مربوط به یک آنتی‌ژن، نظیر یک پروتئین تزریقی به یک حیوان، تولید می‌شوند. سلول‌های موجود در جمعیت لنفوسیت‌های B تولید آنتی‌بادی‌هایی می‌نمایند که به اپی‌توپ‌های اختصاصی مختلفی در آنتی‌ژن اتصال می‌یابند. بنابراین فرآورده‌های پلی‌کلونال شامل مخلوطی از آنتی‌بادی‌ها می‌باشند که قسمت‌های مختلفی از آن پروتئین را شناسایی می‌نمایند. برعکس، **آنتی‌بادی‌های منوکلونال** توسط جمعیتی از سلول‌های مشابه B (یک **کلون**) ساخته می‌شوند که در کشت سلولی رشد یافته‌اند. این آنتی‌بادی‌ها یک دست بوده و همگی آنها یک اپی‌توپ را می‌شناسند. فن‌آوری‌های تولید آنتی‌بادی‌های منوکلونال توسط جورج کوهلر و سزار میل‌استین ابداع گردید.



César Milstein



Georges Köhler

ویژگی آنتی‌بادی‌ها دارای کاربردهای عملی است. یک آنتی‌بادی انتخابی می‌تواند به‌طورکووالان به یک رزین متصل شده و در یک ستون کروماتوگرافی مشابه نوع نشان داده شده در شکل ۱۸c-۵، بکار رود. وقتی مخلوطی از پروتئین‌ها به ستون اضافه می‌گردد، این آنتی‌بادی به‌طور اختصاصی به پروتئین مورد نظر اتصال یافته و آن را داخل ستون نگه می‌دارد، درحالیکه سایر پروتئین‌ها از ستون شسته شده و خارج می‌گردند. سپس می‌توان این پروتئین مورد نظر را با استفاده از یک محلول نمکی یا عامل دیگر، از ستون خارج نمود. این یک وسیله قوی برای تخلیص پروتئین می‌باشد.

در فن‌آوری تجزیه‌ای استادانه دیگر، آنتی‌بادی به یک ترکیب رادیواکتیو یا هر معرف دیگری که براحتی قابل‌جستجو می‌باشد، اتصال داده می‌شود. وقتی این آنتی‌بادی به پروتئین هدف اتصال می‌یابد، این ماده نشانگر وجود پروتئین را در محلول و یا موقعیت آن در ژل و یا حتی یک سلول زنده را مشخص می‌نماید. انواع مختلفی از این روش در شکل ۲۸-۷ شرح داده شده است.

با روش ELISA[1] می‌توان وجود یک آنتی‌ژن را در یک نمونه سریعاً غربال یا تعیین‌مقدار نمود.

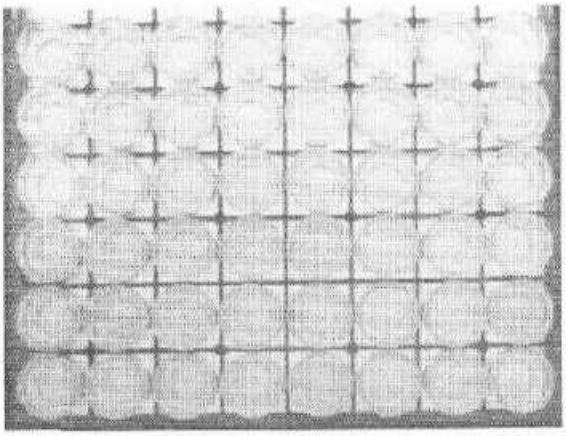
---

1. Enzyme - link immunosorbent assay

Book.Apfarsi.ir

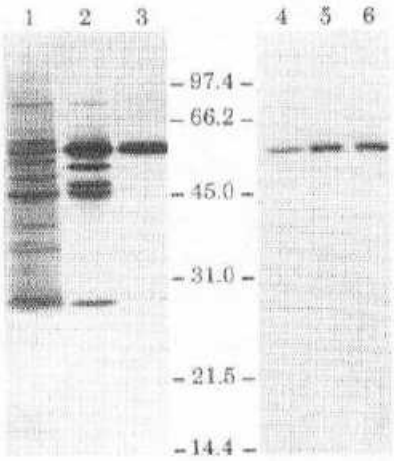


(a)



ELISA assay

(b)



SDS gel Immunoblot

(c)

شکل ۲۸-۷. فن‌آوری‌های آنتی‌بادی. واکنش اختصاصی یک انتی‌بادی با یک آنتی‌ژن، اساس فن‌اوری‌های متعددی است که یک پروتئین اختصاصی را در یک نمونه مرکب شناسایی و تعیین‌مقدار می‌نمایند. **(a)** نمایش شماتیک روش کلی. **(b)** یک آزمایش برای جستجوی آنتی‌بادی‌های ضد ویروس هرپس سیمپلکس (HSV) در نمونه خون. حفرات توسط آنتی‌ژن HSV پوشیده شده که در مرحله بعد، آنتی‌بادی‌های ضد HSV موجود در خون بیمار به آن متصل خواهند شد. آنتی‌بادی دوم یک IgG ضد انسانی می‌باشد که به Horseradish peroxidase متصل شده است. نمونه‌های خونی که مقادیر بیشتری آنتی‌بادی ضد HSV دارند، تولید رنگ زرد بیشتری می‌نمایند. **(c)** یک ایمونوبلات. خطوط ۱ تا ۳ از یک ژل SDS می‌باشند؛ نمونه‌های حاصل از مراحل متوالی تخلیص یک پروتئین کیناز جدا شده و توسط آبی کماسی رنگ شده‌اند. خطوط ۴ تا ۶ همان نمونه‌ها را نشان می‌دهند، ولی این نمونه‌ها به طریق الکتروفورتیک، بعد از جداسازی بر روی یک ژل SDS، به یک غشاء نیتروسلولزی منتقل شده‌اند. سپس این غشاء با استفاده از آنتی‌بادی ضد پروتئین کیناز نشاندار می‌گردد. اعداد موجود در کنار ژل و ایمونوبلات، وزن‌های ملکولی ($\times 10^{-3}$) را نشان می‌دهند.

(شکل ۲۸a-۷). پروتئین‌های موجود در یک نمونه به یک سطح خنثی، معمولاً یک پلیت پلی‌استیرنی ۹۶ حفره‌ای، جذب می‌شوند. برای مسدودنمودن یا جلوگیری از جذب پروتئین‌های دیگر در مراحل بعدی، این سطح با یک محلول حاوی یک پروتئین غیراختصاصی ارزان (اغلب کازئین پودر شیر خشک بدون چربی)، شسته می‌شود. سپس محلولی از آنتی‌بادی اولیه (آنتی بادی ضد پروتئین مورد نظر) به این سطح اضافه می‌شود. آنگاه آنتی‌بادی‌های اتصال نیافته شسته شده و محلولی حاوی آنتی ضد آنتی‌بادی اضافه می‌گردد. این آنتی‌بادی دوم به یک آنزیم اتصال یافته که واکنشی را در جهت تولید یک محصول رنگی کاتالیز می‌نماید. بعد از خارج‌نمودن آنتی‌بادی دوم اتصال‌نیافته

Book.Apfarsi.ir

با شستشو، سوبسترا آنزیم متصل به آنتی‌بادی افزوده می‌شود. تولید محصول (با شدت رنگ مشخص می‌گردد) متناسب با غلظت پروتئین مورد نظر در نمونه می‌باشد.

در یک آزمون ایمونوبلات (شکل ۲۸c-۷)، پروتئین‌هایی که با روش ژل الکتروفورز جدا شده‌اند، به یک غشاء نیتروسلولزی منتقل می‌گردند. جایگاه‌های خالی این غشاء (همانند روش ELISA) مسدود شده و به ترتیب با آنتی‌بادی اول، آنتی‌بادی دوم متصل به آنزیم و سپس سوبسترا مجاور می‌گردد. رسوب رنگی تنها در طول باندی ایجاد می‌گردد که حاوی پروتئین مورد نظر باشد. با استفاده از روش ایمونوبلات، جستجوی یک جزء ناچیز در یک نمونه ممکن شده و یک برآورد حدودی از وزن ملکولی آن فراهم می‌آورد.

در فصول بعدی، سایر مسائل مربوط به آنتی‌بادی‌ها را مورد بررسی قرار خواهیم داد. آنتی‌بادی‌ها در طب بسیار مهم هستند و می‌توانند مطالب زیادی در مورد ساختمان پروتئین‌ها و عمل ژن‌ها به ما بدهند.

واکنش‌های متقابل پروتئینی به واسطه انرژی شیمیایی: اکتین، میوزین و موتورهای ملکولی

موجودات حرکت می‌کنند. سلول‌ها حرکت می‌کنند. اندامک‌ها و ماکروملکول‌های موجود در داخل سلول‌ها حرکت می‌کنند. اکثر این حرکات ناشی از فعالیت کلاس افسون‌کننده‌ای از موتورهای ملکولی پروتئینی است که با استفاده از سوخت شیمیایی که معمولاً از ATP مشتق می‌گردد، تجمعات بزرگ پروتئین‌های موتوری متحمل تغییرات چرخه‌ای می‌شوند که این تغییرات همراه با ایجاد یک نیروی واحد جهت‌دار می‌باشد؛ نظیر نیروی کوچکی که در هنگام تقسیم سلولی کروموزوم‌ها را از یکدیگر جدا می‌کند، و یا نیروی بزرگی که سبب جست ناگهانی گربه بزرگ جنگل به هوا می‌گردد.

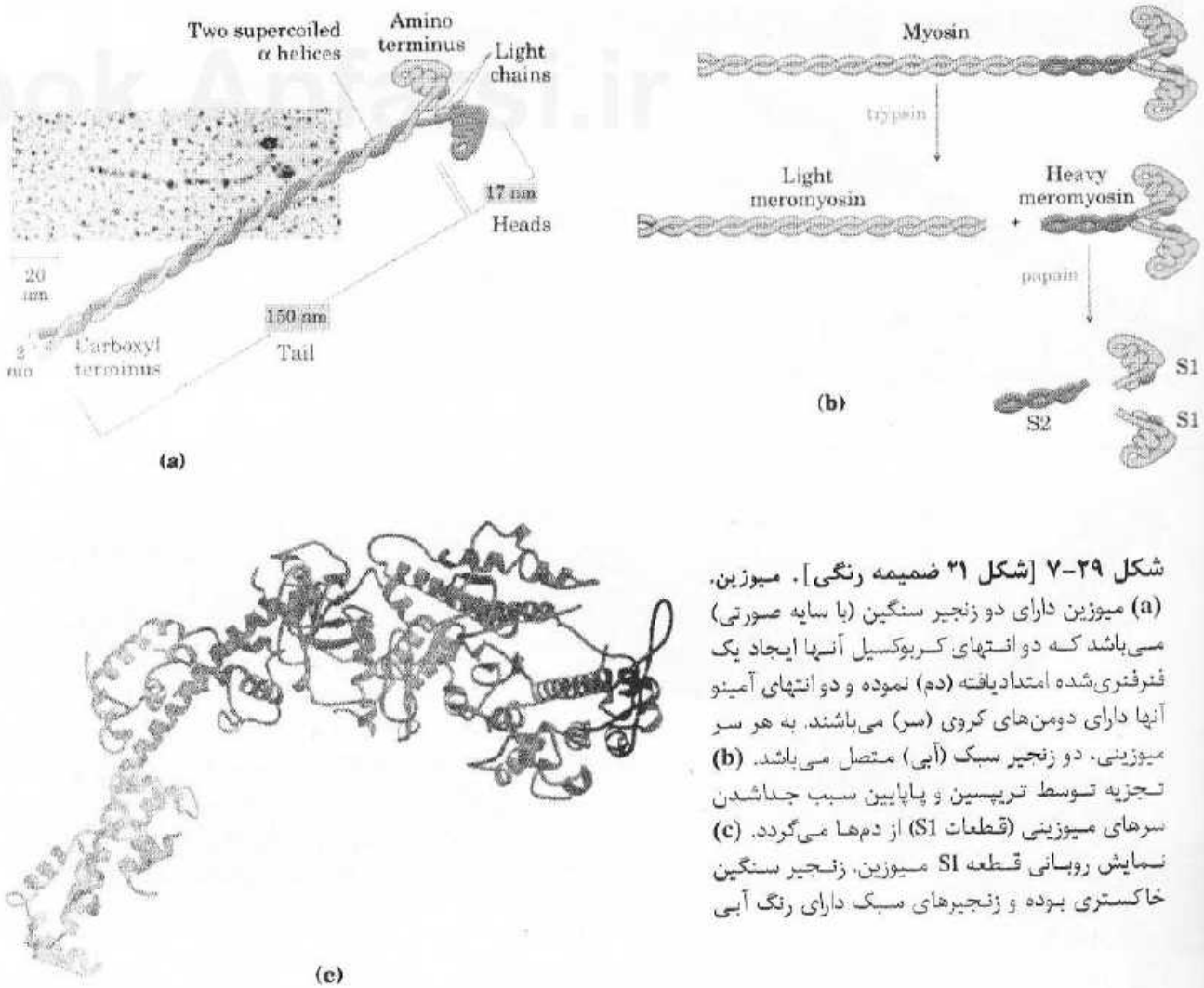
واکنش‌های متقابل بین پروتئین‌های موتوری، همانطور که قابل پیش‌بینی است، حاصل آرایش‌های مکمل واکنش‌های متقابل یونی، ایجادکننده پیوند هیدروژنی، آبگریز و واندروالس در جایگاه‌های اتصالی پروتئین می‌باشند. هرچند در پروتئین‌های موتوری، به‌طوراستثنایی، این واکنش‌های متقابل در سطوح بالائی از سازماندهی فضایی و به‌طورموقتی به انجام می‌رسند.

پروتئین‌های موتوری در انقباض عضلات، مهاجرت اندامک‌ها در طول میکروتوبول‌ها، چرخش فلاژل باکتری و حرکت بعضی از پروتئین‌ها در طول DNA، نقش دارند. همانطور که در فصل ۲ ذکر گردید، پروتئین‌هایی شامل کینزین‌ها و دینین‌ها در طول میکروتوبول‌ها در سلول‌ها حرکت نموده و بدنبال خود اندامک‌ها را کشانده و یا در هنگام تقسیم سلولی، در سازماندهی مجدد کروموزومی شرکت می‌نمایند (شکل ۱۹-۲ را ببینید). واکنش متقابل دینین با میکروتوبول‌ها منجر به حرکت تاژک‌ها و مژک‌های اوکاریوتی می‌گردند. حرکت فلاژلی در باکتری‌ها مستقیم یک موتور چرخشی پیچیده در پایه تاژک است (شکل ۳۲-۱۹ را ببینید). هلیکازها، پلیمرازها و سایر پروتئین‌های شرکت‌کننده در متابولیسم DNA، در هنگام انجام اعمال خود در طول DNA حرکت می‌کنند (فصل ۲۵). در اینجا بر روی پروتئین‌های انقباضی عضله اسکلتی مهره‌داران به‌عنوان نمونه‌ای از پروتئین‌های تبدیل‌کننده انرژی شیمیایی به حرکت، متمرکز می‌شویم که بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند.

اکتین و میوزین پروتئین‌های اصلی عضله هستند

نیروی انقباضی عضله حاصل واکنش متقابل دو پروتئین اکتین و میوزین می‌باشد. این پروتئین‌ها به‌صورت

Book.Apfarsi.ir



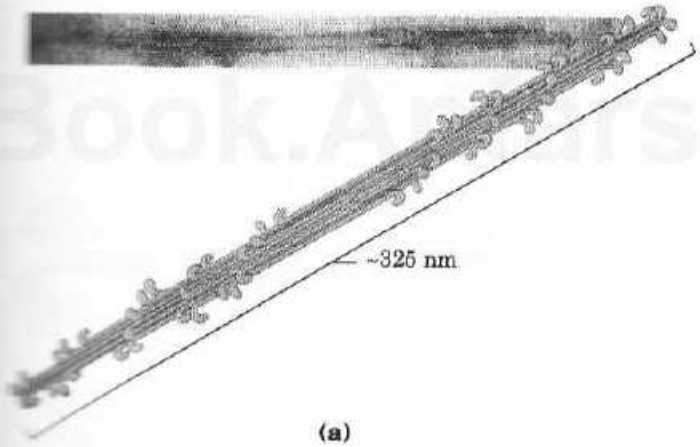
شکل ۲۹-۷ [شکل ۳۱ ضمیمه رنگی]. میوزین. **(a)** میوزین دارای دو زنجیر سنگین (با سایه صورتی) می‌باشد که دو انتهای کربوکسیل آنها ایجاد یک فنرفنری‌شده امتدادیافته (دم) نموده و دو انتهای آمینو آنها دارای دومن‌های کروی (سر) می‌باشند. به هر سر میوزینی، دو زنجیر سبک (آبی) متصل می‌باشد. **(b)** تجزیه توسط تریپسین و پاپایین سبب جداشدن سرهای میوزینی (قطعات S1) از دم‌ها می‌گردد. **(c)** نمایش رویانی قطعه S1 میوزین. زنجیر سنگین خاکستری بوده و زنجیرهای سبک دارای رنگ آبی

فیلمان‌هایی سازمان یافته‌اند که برای ایجاد انقباض، متحمل واکنش‌های متقابل زودگذر و لغزش در کنار یکدیگر می‌گردند. اکتین و میوزین با یکدیگر بیش از ۸۰٪ توده پروتئینی عضله را شامل می‌شوند.

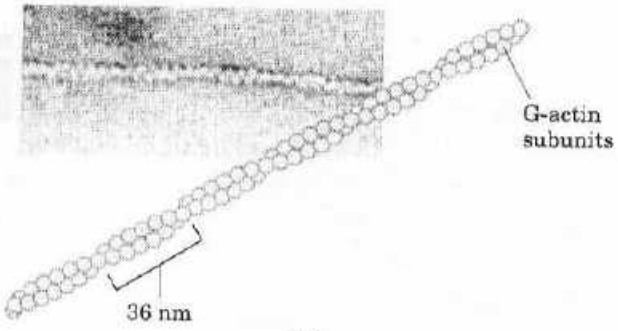
میوزین (وزن‌ملکولی ۵۴۰,۰۰۰) دارای شش زیرواحد بوده که دو زیرواحد آن سنگین (وزن‌ملکولی ۲۲۰,۰۰۰) و چهار زیرواحد دیگر سبک (وزن‌ملکولی ۲۰,۰۰۰) می‌باشند. زنجیرهای سنگین بیشترین میزان ساختمان کلی این پروتئین را تشکیل می‌دهند. دو انتهای کربوکسیل این دو زنجیر، به‌صورت مارپیچ‌های α امتدادیافته بوده که مشابه α-کراتین، به‌صورت یک فنرفنری‌شده چپ‌گردان فیبری بدور یکدیگر پیچیده‌اند (شکل ۲۹a-۷). در دو انتهای آمینو، هر زنجیر سنگین دارای یک دومن کروی بزرگ حاوی یک جایگاه برای هیدرولیز ATP می‌باشد. زنجیرهای سبک به این دومن‌های کروی متصل می‌گردند. وقتی میوزین تحت اثر ملایم پروتئاز تریپسین قرار می‌گیرد، بیشتر دم فیبری آن شکسته شده و این پروتئین به اجزایی بنام مرومیوزین تقسیم می‌گردد (شکل ۲۹b-۷). دومن کروی، بنام تحت قطعه ۱ میوزین[1] یا S1، یا به‌طورساده گروه سر میوزین، در اثر تجزیه توسط پاپایین از مرومیوزین سنگین جدا می‌گردد. قطعه S1 حاصل از این روش، دومن موتوری بوده و انقباض عضلانی را ممکن می‌سازد. قطعات S1 را می‌توان کریستالیزه نمود و ساختمان آنها تعیین شده است. ساختمان کلی قطعه S1 تعیین‌شده توسط ایوان

1- Myosin subfragment 1

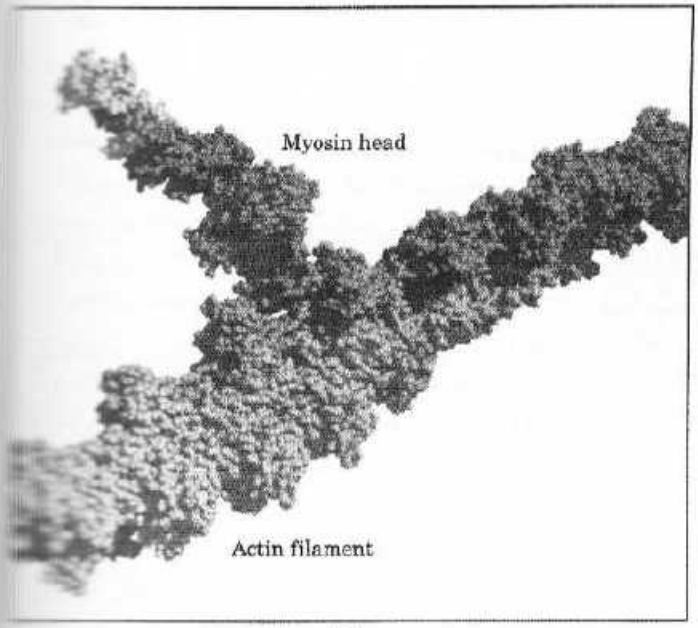
Book.Apfarsi.ir



(a)



(b)



(c)

شکل ۳۰-۷ [شکل ۲۲ ضمیمه رنگی]. اجزاء اصلی عضله. **(a)** ملکول‌های میوزین مجتمع شده و ایجاد یک ساختمان دو قطبی بنام فیلمان ضخیم می‌نمایند. **(b)** اکتین-F همایش فیلمانی منومرهای اکتین-G هستند که دو به دو پلیمریزه شده و ایجاد ظاهری از دو فیلمان را می‌نمایند که به‌صورت راست‌گردان حول یکدیگر پیچیده شده‌اند. یک میکروگراف الکترونی و یک مدل اکتین-F نشان داده شده است. **(c)** مدل فضاپرکن یک فیلمان اکتین (قرمز) و یک سر میوزینی (خاکستری و دو سایه آبی) متصل به یک منومر اکتینی در داخل یک فیلمان.

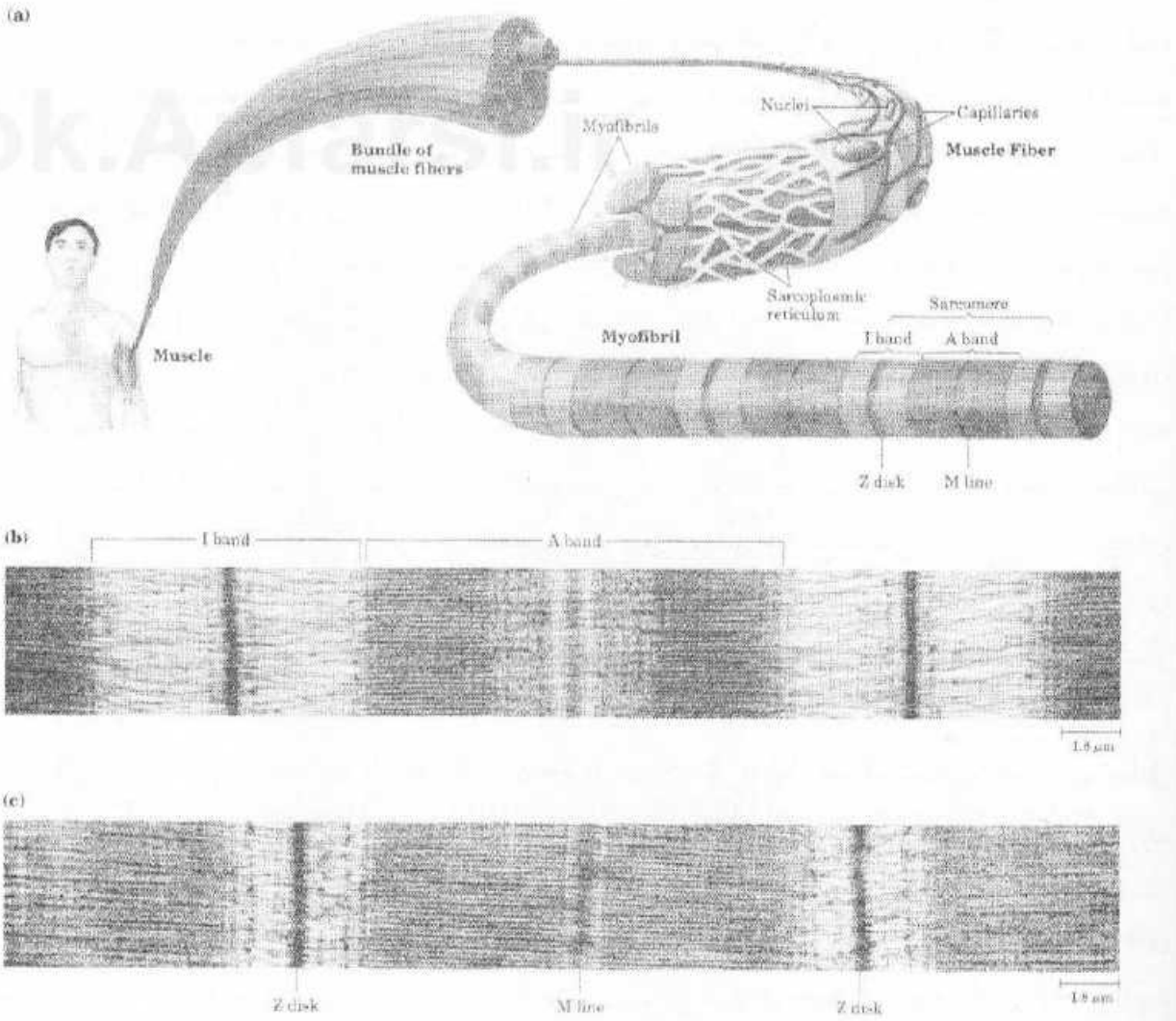
رایمنت[۱] و هازل هالدن[۲] در شکل ۲۹c-۷ نشان داده شده است.

در سلول‌های عضلانی، ملکول‌های میوزین با یکدیگر مجتمع شده و ایجاد ساختمانی بنام **فیلمانهای ضخیم** می‌نمایند (شکل ۳۰a-۷). این ساختمان‌های میله مانند به‌عنوان هسته واحد انقباضی عمل می‌کنند. در داخل یک فیلمان ضخیم، چند صد ملکول میوزین به شکلی سازمان یافته‌اند که «دم‌های» فیبری آنها به یکدیگر متصل شده و ایجاد یک ساختمان طویل دوقطبی می‌نمایند. دومن‌های کروی، به‌صورت صفوف متراکم منظم از هر انتهای این ساختمان خارج می‌گردند.

دومین پروتئین اصلی عضله، یعنی **اکتین**، تقریباً در تمامی سلول‌های اوکاریوتی به فراوانی وجود دارد. در عضله، ملکول‌های منومری اکتین، بنام اکتین-G[۳] (اکتین گلوبولی، وزن‌ملکولی ۴۲,۰۰۰)، به یکدیگر متصل شده و ایجاد یک پلیمر طویل بنام اکتین-F[۴] نمایند. **فیلمان نازک** (شکل ۳۰ b-۷) متشکل از اکتین-F همراه با پروتئین‌های تروپونین[۵] و تروپومیوزین[۶] می‌باشد. قسمت‌های فیلمانی فیلمان‌های نازک، با اضافه‌شدن ملکول‌های منومری اکتین به یک انتها، همایش می‌یابند. با اضافه‌شدن هر منومر، ATP به آن متصل شده و سپس ATP به ADP هیدرولیز

1- Ivan Rayment
2- Hazel Halden
3- *G*lobular actin
4- *F*ilamentous actin
5- Troponin
6- Tropmyosin

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۱-۷. ساختمان عضله اسکلتی. **(a)** فیبرهای عضلانی متشکل از سلول‌های واحد، طویل و چندهسته‌ای هستند که از ادغام سلول‌های متعدد پیش‌ساز ایجاد می‌شوند. در داخل فیبرها، میوفیبریل‌های متعددی (در اینجا برای سادگی تنها شش مورد نشان داده شده است) وجود دارد که توسط شبکه سارکوپلاسمی غشایی احاطه شده‌اند. سازماندهی فیلمان‌های ضخیم و نازک در میوفیبریل، به آن ظاهر مخطط می‌دهد. همانطور که در میکروگراف‌های الکترونی عضله شل **(b)** و منقبض **(c)** نشان داده شده است، وقتی عضله منقبض می‌گردد، باندهای I باریک شده و دیسک‌های Z به یکدیگر نزدیک می‌شوند.

می‌گردد، بنابراین تمامی ملکول‌های اکتین موجود در این فیلمان به‌صورت متصل به ADP می‌باشند. هرچند، این هیدرولیز ATP توسط اکتین تنها در هنگام همایش فیلمان‌ها صورت می‌پذیرد و این موضوع هیچ نقش مستقیمی در مصرف انرژی در هنگام انقباض عضلانی ندارد. هر منومر اکتین موجود در فیلمان نازک می‌تواند به‌طور محکم و اختصاصی به یک گروه سر میوزین اتصال یابد (شکل ۳۰c-۷).

پروتئین‌های دیگری فیلمان‌های نازک و ضخیم را به شکل ساختمانهای منظم، سازماندهی می‌کنند

عضله اسکلتی از دسته‌های موازی **فیبرهای عضلانی** تشکیل شده است که در آنها هر فیبر یک سلول بسیار بزرگ، چند هسته‌ای و با قطر ۲۰ تا ۱۰۰ μm می‌باشد که از ادغام سلول‌های متعدد با یکدیگر حاصل شده و اغلب طول عضله را طی می‌نماید. هر فیبر بنوبه خود حاوی حدود ۱،۰۰۰ **میوفیبریل** با قطر ۲ μm می‌باشد که هر کدام از تعداد

Book.Apfarsi.ir

زیادی فیلمان‌های نازک و ضخیم به شکل صفوف منظم و به‌صورت کمپلکس با پروتئین‌های دیگر، تشکیل شده است (شکل ۳۱-۷). سیستمی متشکل از وزیکول‌های غشایی پهن بنام **شبکه سارکوپلاسمی** هر میوفیبریل را احاطه نموده است. در زیر میکروسکوپ الکترونی، فیبرهای عضلانی نواحی با چگالی الکترونی بالا و پایین را به شکل متناوب، بنام **باندهای A** و **I**، نشان می‌دهند (شکل ۳۱b,c-۷). باندهای A و I حاصل آرایش فیلمان‌های ضخیم و نازک می‌باشند که در کنار یکدیگر قرار گرفته و تاحدودی با یکدیگر همپوشانی دارند. باند I ناحیه‌ای از برش عرضی این دسته می‌باشد که تنها فیلمان‌های نازک را دارد. باند تاریکتر A در طول فیلمان ضخیم امتداد داشته و ناحیه‌ای را شامل می‌گردد که در آن فیلمان‌های موازی ضخیم و نازک با یکدیگر همپوشانی دارند. باند I توسط یک ساختمان نازک بنام **دیسک Z** تقسیم می‌گردد؛ دیسک Z عمود بر فیلمان‌های نازک بوده و به‌عنوان لنگری عمل می‌نماید که به آن فیلمان‌های نازک اتصال یافته‌اند. باند A نیز توسط یک خط نازک، بنام **خط M** یا دیسک M که یک ناحیه با چگالی بالای الکترونی در وسط فیلمان‌های ضخیم می‌باشد، تقسیم می‌گردد. واحد انقباضی متشکل از دسته‌های فیلمان‌های ضخیم که در دو انتها دارای دسته‌های فیلمان‌های نازک می‌باشند را **سارکومر** گویند. آرایش دسته‌های جداشده سبب می‌گردد تا فیلمان‌های ضخیم و نازک (با مکانیسمی که در قسمت زیر شرح داده می‌شود) در کنار یکدیگر لغزش نموده و سبب کوتاه‌شدن پیشرونده هر سارکومر گردد (شکل ۳۲-۷).

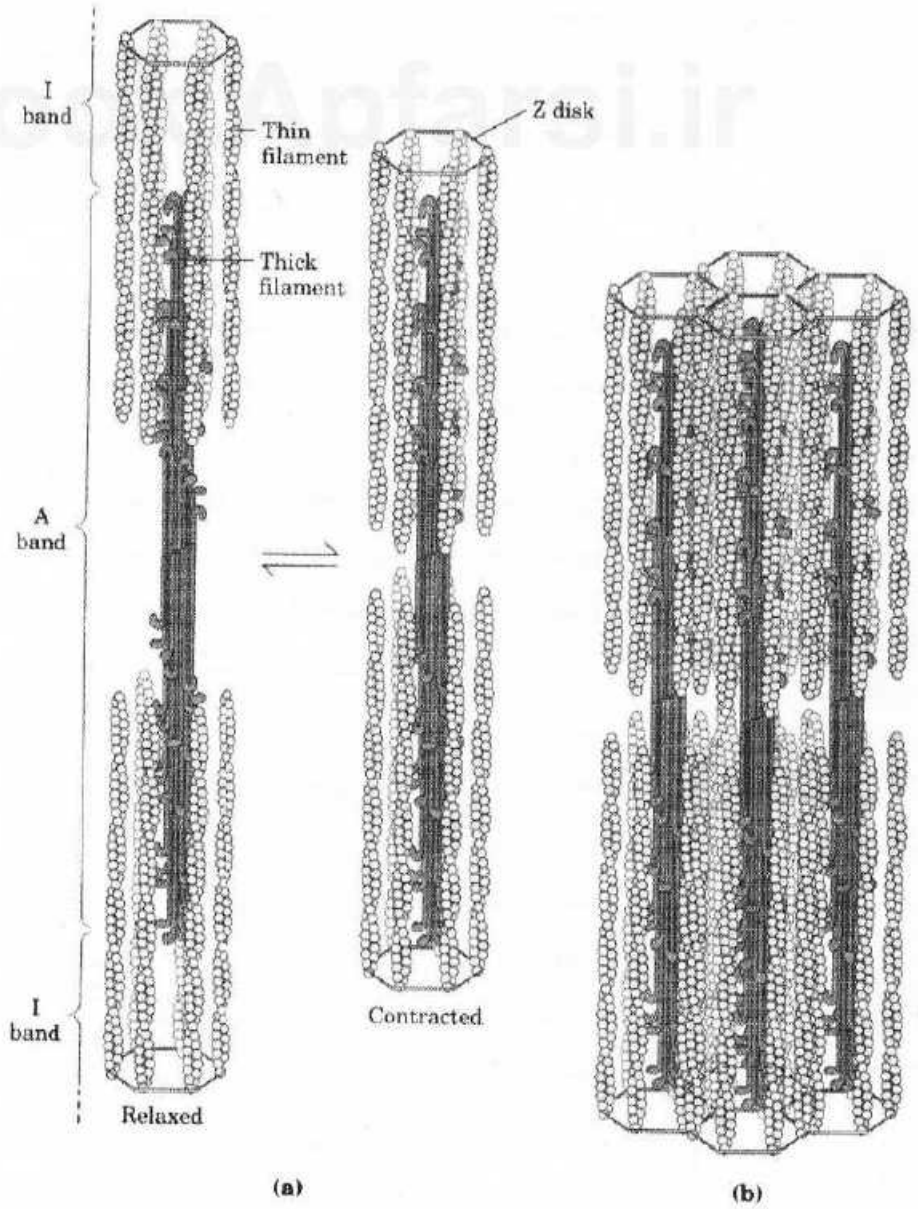
فیلمان‌های نازک اکتین از یک انتها با یک الگوی منظم به دیسک Z متصل می‌گردند. این همایش شامل پروتئین‌های جزئی عضلانی **α-اکتینین**[1]، **دسمین**[2] و **ویمنتین**[3] می‌باشد. فیلمان‌های نازک همچنین حاوی پروتئین بزرگی بنام **نبولین**[4] (با حدود ۷،۰۰۰ ریشه اسید آمینه) هستند که معتقدند همانند یک مارپیچ α بلند در کل طول این فیلمان قرار می‌گیرد. خط M به‌طورمشابهی فیلمان‌های ضخیم را سازماندهی می‌نماید. این خط حاوی پروتئین‌های **پارامیوزین**، **پروتئین-C** و **پروتئین-M** می‌باشد. کلاس دیگری از پروتئین‌ها، بنام **تیتین‌ها**[5]، فیلمان‌های ضخیم را به دیسک Z اتصال داده و سازماندهی دیگری را در این ساختمان کلی ایجاد می‌نمایند؛ تیتین‌ها بزرگترین زنجیر واحد پلی‌پپتیدی شناخته‌شده می‌باشند (تیتین عضله قلب انسان دارای ۲۶،۹۲۶ ریشه اسید آمینه است). از میان اعمال ساختمانی این پروتئین‌ها این است که نبولین و تیتین به‌عنوان «خط‌کش‌های ملکولی» عمل نموده و به ترتیب طول فیلمان‌های نازک و ضخیم را تنظیم می‌نمایند. تیتین از دیسک Z تا خط M امتداد یافته و طول خود سارکومر را تنظیم نموده و مانع امتداد بیش از حد عضله می‌گردد. طول مشخص سارکومر از یک بافت عضلانی به بافت عضلانی دیگر در یک موجود مهره‌دار متفاوت بوده که تا حدودی به دلیل بیان انواع مختلف تیتین می‌باشد.

فیلمان‌های ضخیم میوزین در طول فیلمان‌های نازک اکتین می‌لغزند

واکنش متقابل بین اکتین و میوزین، همانند این واکنش‌ها در بین تمامی پروتئین‌ها و لیگاندهای دیگر، مستلزم پیوندهای ضعیف می‌باشد. وقتی ATP به میوزین متصل نمی‌باشد، یک سمت گروه سر میوزین به‌طور محکم به اکتین اتصال می‌یابد (شکل ۳۳-۷). وقتی ATP به میوزین متصل شده و به ADP و فسفات هیدرولیز می‌گردد، یک سری تغییرات کونفورماسیونی هماهنگ چرخه‌ای رخ داده که طی آن میوزین زیرواحد اکتین-F را رها نموده و به زیرواحددورتر دیگری در طول فیلمان نازک اتصال می‌یابد.

1- α-Actinin 2- Desmin 3- Vimentin 4- Nebulin
5- Titins

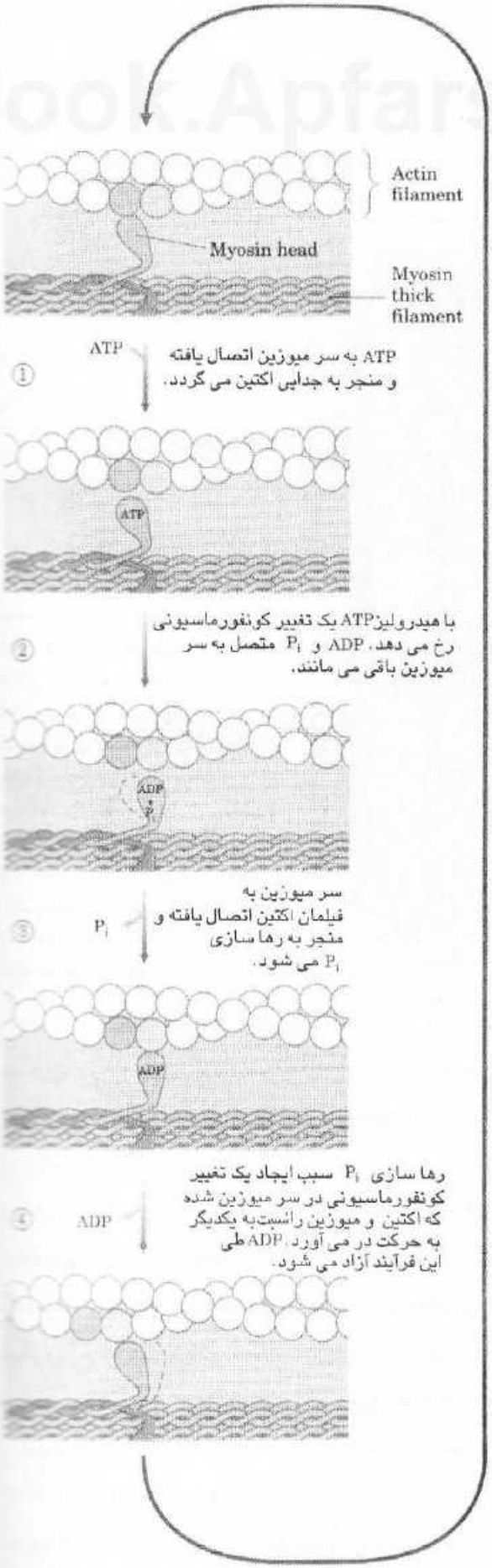
Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۲-۷. انقباض عضلانی. فیلمان‌های ضخیم ساختمان‌های دو قطبی هستند که حاصل به هم پیوستن ملکول‌های متعدد میوزین می‌باشند. **(a)** انقباض عضلانی با لغزش فیلمان‌های ضخیم و نازک در کنار یکدیگر رخ می‌دهد، به طوری که دیسک‌های Z موجود در مجاورت باندهای I به یکدیگر نزدیک می‌شوند. **(b)** جداسازی فیلمان‌های ضخیم و نازک به طریقی صورت می‌پذیرد که هر فیلمان ضخیم توسط شش فیلمان نازک احاطه می‌گردد.

این چرخه دارای چهار مرحله اصلی است (شکل ۳۳-۷). (۱) ATP به میوزین متصل شده و شکافی در ملکول میوزین باز می‌گردد؛ این امر به نحوی سبب ایجاد اختلال در واکنش متقابل بین اکتین و میوزین می‌شود که حاصل آن آزادشدن اکتین می‌باشد. (۲) سپس هیدرولیز ATP سبب ایجاد یک تغییر کونفورماسیونی در این پروتئین به وضعیت «پرانرژی» شده که سر میوزین را حرکت داده و جهت آن را در مقایسه با فیلمان نازک کتین تغییر می‌دهد. آنگاه میوزین به‌طورضعیف به یک زیرواحد دیگر اکتین-F متصل می‌گردد که نسبت به اکتین-F رهاشده، به دیسک Z نزدیکتر می‌باشد. (۳) با رهاشدن محصول فسفات هیدرولیز ATP از میوزین، تغییر کونفورماسیونی دیگری رخ داده که در آن شکاف میوزینی بسته شده که سبب استحکام اتصال میوزین-اکتین می‌گردد. (۴) بلافاصله در مرحله آخر، یک «حرکت قدرتی» رخ داده که طی آن کونفورماسیون سر میوزین به حالت استراحت اولیه برگشته و جهت آن نسبت به اکتین اتصال‌یافته طوری تغییر می‌نماید که دم میوزین را به سمت دیسک Z می‌کشاند. سپس ADP رها شده تا چرخه کامل گردد. هر چرخه تولید حدود ۳ تا ۴ pN (پیکونیوتن) نیرو نموده و فیلمان ضخیم را حدود ۵ تا ۱۰ nm در مقایسه با فیلمان نازک حرکت می‌دهد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۳-۷. مکانیسم ملکولی انقباض عضلانی. تغییرات کونفورماسیونی در سر میوزین با مراحل چرخه هیدرولیتیک ATP جفت می‌گردد که سبب جدایی میوزین از یک زیرواحد اکتین و سپس اتصال آن به زیرواحد دیگر دورتری در طول فیلمان اکتین می‌شود. به این طریق سرهای میوزین در طول فیلمان‌های نازک دچار لغزش شده و فیلمان ضخیم را بطرف فیلمان نازک می‌کشاند.

از آنجایی که سرهای متعدد میوزینی در یک فیلمان ضخیم وجود دارد، در هر لحظه تعدادی (احتمالاً ۱٪ تا ۳٪) به فیلمان‌های نازک اتصال دارند. این امر مانع از لغزش به عقب فیلمان‌های ضخیم در هنگام رهاسازی زیرواحد اکتین متصل به سر میوزین می‌گردد. بنابراین فیلمان ضخیم به‌طور فعال از پهلوی فیلمان‌های نازک مجاور به سمت جلو می‌لغزد. این فرایند که بین سارکومرهای متعدد موجود در یک فیبر عضلانی به‌طورهماهنگ انجام می‌شود، سبب انقباض عضلانی می‌گردد.

واکنش متقابل بین اکتین و میوزین می‌بایست طوری تنظیم گردد که انقباض تنها در پاسخ به پیام‌های مناسب سیستم عصبی صورت پذیرد. این تنظیم به وسیله کمپلکسی از دو پروتئین **تروپومیوزین** و **تروپونین** به انجام می‌رسد. تروپومیوزین به فیلمان نازک اتصال یافته و جایگاه‌های اتصال گروه‌های سر میوزین را مسدود می‌نماید. تروپونین یک پروتئین اتصالی Ca^{2+} می‌باشد. یک موج عصبی سبب رهاسازی Ca^{2+} از شبکه سارکوپلاسمی می‌گردد. این Ca^{2+} آزادشده به تروپونین متصل شده (واکنش متقابل دیگر پروتئین-لیگاند) و با ایجاد تغییرات کونفورماسیونی در کمپلکس های تروپومیوزین-تروپونین، جایگاه‌های اتصالی میوزین در فیلمان‌های نازک را در معرض قرار داده و انقباض رخ می‌دهد.

عملکرد عضلات اسکلتی نیاز به دو فعالیت ملکولی، شامل اتصال و کاتالیز، دارد که در پروتئین‌ها معمول می‌باشد. واکنش متقابل اکتین-میوزین، یک واکنش متقابل پروتئین-لیگاند مشابه واکنش‌های

Book.Apfarsi.ir

متقابل بین ایمونوگلوبولین‌ها و آنتی‌ژن‌ها، قابل‌برگشت بوده و تغییری در مواد شرکت‌کننده ایجاد نمی‌کند. هرچند، وقتی ATP به میوزین اتصال می‌یابد، به ADP و Pi هیدرولیز می‌گردد. میوزین تنها یک پروتئین اتصالی اکتین نمی‌باشد، بلکه به‌عنوان یک آنزیم ATPase نیز عمل می‌نماید. فعالیت آنزیم‌ها در کاتالیز تغییرات شیمیایی، موضوع فصل بعدی است.

خلاصه

در اغلب موارد، فعالیت پروتئین‌ها با انجام واکنش‌های متقابل با سایر پروتئین‌ها صورت می‌پذیرد. ملکولی که به یک پروتئین اتصال می‌یابد را یک لیگاند گویند و جایگاه موجود در پروتئین که لیگاند به آن اتصال می‌یابد را جایگاه اتصالی نامند. پروتئین‌ها سخت نبوده و با اتصال به یک لیگاند، دچار تغییرات کونفورماسیونی می‌گردند که به این فرایند انطباق القاءشده اتلاق می‌گردد. در یک پروتئین چندزیرواحدی، اتصال یک لیگاند به یک زیرواحد ممکن است بر روی اتصال لیگاند به سایر زیرواحدها اثر داشته باشد. اتصال لیگاند قابل تنظیم است. پروتئین‌های اتصالی اکسیژن، پروتئین‌های سیستم ایمنی و پروتئین‌های موتوری، مدل‌های مفیدی برای شرح این اصول می‌باشند.

میوگلوبین و هموگلوبین دارای گروه پروستتیکی بنام هم هستند که به آن اکسیژن اتصال می‌یابد. هم از یک اتم آهن Fe^{2+} تشکیل یافته است که با ایجاد پیوند کوئوردینانس در داخل یک پورفیرین قرار گرفته است. بعضی از ملکول‌های کوچک دیگر، نظیر CO و NO، نیز می‌توانند به هم اتصال یابند. میوگلوبین یک پلی‌پپتید واحد با هشت ناحیه مارپیچی α می‌باشد که توسط خمیدگی‌هایی به یکدیگر متصل شده‌اند. این پروتئین دارای یک ملکول هم می‌باشد که در پاکتی موجود در عمق داخلی این پلی‌پپتید واقع شده است. اتصال قابل‌برگشت ساده را می‌توان با استفاده از یک ثابت پیوستگی K_a یا یک ثابت تفکیک K_d بیان نمود. برای یک پروتئین منومری، کسری از جایگاه‌های اتصالی که لیگاند به آنها اتصال یافته است، تابع هیپربولیکی از غلظت لیگاند می‌باشد. از آنجایی که O_2 یک گاز می‌باشد، اصطلاح P_{50} بجای K_d بکار می‌رود که فشار نسبی اکسیژن برای اشباع نیمی از جایگاه‌های اتصالی اکسیژن را نشان می‌دهد. ورود و خروج O_2 بستگی به حرکات ملکولی کوچک بنام «نفس کشیدن» ملکول میوگلوبین دارد.

هموگلوبین بالغین طبیعی از چهار زیرواحد حاوی هم، دو زیرواحد α و دو زیرواحد β تشکیل یافته است. این زیرواحدها ساختمان مشابهی با یکدیگر و با میوگلوبین دارند. واکنش‌های متقابل قوی بین زیرواحدهای غیریکسان (α و β) وجود دارد. هموگلوبین به دو حالت قابل‌تبدیل‌به یکدیگر، به نام‌های T و R، مشاهده می‌گردد. حالت T توسط پل‌های نمکی متعددی پایدار شده و در غیاب اکسیژن پایدارتر می‌باشد. اتصال اکسیژن سبب تغییر به حالت R می‌گردد.

اتصال اکسیژن به هموگلوبین هم آلوستریک و هم تعاونی است. اثرات اتصال O_2 به یک جایگاه اتصالی هموگلوبین بر روی اتصال O_2 به سایر جایگاه‌ها، مثالی از اتصال آلوستریک می‌باشد. تغییرات کونفورماسیونی بین حالات T و R، به واسطه واکنش‌های متقابل زیرواحد–زیرواحد وساطت می‌گردد که منجر به شکلی از رفتار آلوستریک بنام اتصال تعاونی می‌شود. اتصال تعاونی همراه با ایجاد یک منحنی سیگموئید بوده که می‌توان آن را با نمودار هیل بررسی نمود. دو مدل اصلی برای توجیه اتصال تعاونی لیگاندها به پروتئین‌های چندزیرواحدی وجود دارد. در مدل هماهنگ، تمامی زیرواحدها در هر زمان خاص، دارای کونفورماسیون مشابهی بوده و کل ملکول بین دو کونفورماسیون ممکن دچار تغییر قابل‌برگشت می‌گردد. اتصال متوالی ملکول‌های لیگاند به کونفورماسیون با تمایل پایین، سبب تسهیل تغییر آن به کونفورماسیون با تمایل بالا می‌گردد. در مدل متوالی، هر زیرواحد می‌تواند به‌طورمجزا دچار تغییرات کونفورماسیونی گردد. اتصال یک لیگاند به یک زیرواحد همراه با تغییر کونفورماسیون آن زیرواحد بوده که منجر به تسهیل تغییرات مشابه و اتصال سایر لیگاندها به سایر زیرواحدها می‌گردد.

هموگلوبین همچنین به H^+ و CO_2 اتصال می‌یابد. در هر دو مورد، اتصال منجر به تشکیل جفت‌های یونی می‌گردد که حالت T را تثبیت نموده و اتصال O_2 تضعیف می‌گردد، پدیده‌ای که به آن اثر بوهر گویند. اتصال H^+ و CO_2 به هموگلوبین در بافت‌ها سبب تسریع در رهاسازی O_2 شده و اتصال O_2 در ریه‌ها سبب تسریع در رهاسازی H^+ و CO_2 می‌گردد. اتصال اکسیژن

Book.Apfarsi.ir

به هموگلوبین توسط ۳،۲-بیس‌فسفوگلیسرات نیز تعدیل می‌شود که در حالت T اتصال یافته و سبب پایداری آن می‌گردد.

کم‌خونی سلول داسی یک بیماری ژنتیکی است که با جایگزینی یک اسید آمینه (Val بجای Glu) در موقعیت ۶ زنجیرهای β هموگلوبین بوجود می‌آید. این جایگزینی سبب ایجاد وصله آبگریزی بر روی سطح این پروتئین شده که منجر به تجمع ملکول‌ها و ایجاد دسته‌های فیبری می‌گردد. این دسته‌ها به گلبول قرمز ظاهر داسی می‌دهند. این حالت هموزیگوت همراه با مسائل جدی پزشکی می‌باشد.

پاسخ ایمنی به واسطه واکنش‌های متقابل بین یک دسته گلبول‌های سفید اختصاصی و پروتئین‌های مربوط به آنها، صورت می‌پذیرد. لنفوسیت‌های T تولید گیرنده‌های T را می‌نمایند. لنفوسیت‌های B ایمونوگلبولین‌ها را ترشح می‌نمایند. تمامی سلول‌ها تولید پروتئین‌های MHC می‌نمایند که پپتیدهای میزبان (خودی) یا آنتی‌ژنی (غیرخودی) را در سطح سلول خود به نمایش می‌گذارند. سلول‌های T کمک‌کننده تکثیر سلول‌های B و سلول‌های T سیتوکسیکی را القاء می‌نمایند که ایمونوگلبولین‌ها و یا گیرنده‌های سلول T را تولید می‌کنند که به نوبه خود به آنتی‌ژن‌های اختصاصی متصل می‌گردند؛ به این فرایند انتخاب کلونی گویند.

انسان دارای پنج کلاس ایمونوگلبولینی است که هر کدام دارای فعالیت بیولوژیک متفاوتی هستند. فراوانترین این ایمونوگلبولین‌ها IgG، یک پروتئین Y-شکل متشکل از دو زنجیر سبک و دو زنجیر سنگین، می‌باشد. دومن‌های موجود در نزدیکی دو انتهای بالائی Y، در بین جمعیت بزرگ ملکول‌های IgG، بسیار متغیر بوده و ایجاد دو جایگاه برای اتصال به آنتی‌ژن می‌نمایند. یک ایمونوگلبولین خاص معمولاً تنها به قسمتی از یک آنتی‌ژن بزرگ، بنام اپی‌توپ، اتصال می‌یابد. اتصال اغلب همراه با تغییر کونفورماسیونی در IgG، یا انطباق القاءشده توسط آنتی‌ژن، می‌باشد.

واکنش‌های متقابل پروتئین-لیگاند در پروتئین‌های موتوری به شدت خاصی از سازماندهی فضایی و موقتی می‌رسند. انقباض عضلانی حاصل واکنش‌های متقابل بین اکتین و میوزین می‌باشد که همراه با هیدرولیز ATP توسط میوزین خواهد بود. میوزین از دو زنجیر سنگین و چهار زنجیر سبک تشکیل شده است که ایجاد یک دومن فنرفنری‌شده فیبری (دم) و یک دومن کروی (سر) می‌نمایند. ملکول‌های میوزین به‌صورت فیلمان‌های ضخیمی سازماندهی می‌گردند که در کنار فیلمان‌های نازک متشکل از اکتین، می‌لغزند. هیدرولیز ATP در میوزین همراه با یک سری تغییرات کونفورماسیونی در سر میوزین بوده که منجر به جدایی میوزین از زیرواحد اکتین-F و اتصال نهایی آن به زیرواحد دیگر اکتین-F می‌شود که در ناحیه‌ای دورتر در طول این فیلمان نازک، قرار دارد. بنابراین میوزین در طول فیلمان‌های اکتین می‌لغزد. انقباض عضلانی توسط رهاسازی Ca^{2+} از شبکه سارکوپلاسمی تحریک می‌گردد. Ca^{2+} به پروتئین تروپونین اتصال یافته و سبب یک تغییر کونفورماسیونی در کمپلکس تروپونین-تروپومیوزین می‌شود که همراه با آغاز چرخه واکنش‌های متقابل اکتین-میوزین می‌باشد.

۸ آنزیم‌ها

دو شرط اساسی برای حیات وجود دارد. اول، موجود زنده باید بتواند خود را همانندسازی نماید (موضوعی که در قسمت چهارم این کتاب مورد بررسی قرار می‌گیرد)؛ دوم، موجود می‌بایست بتواند واکنش‌های شیمیایی را به‌طورکارآمد و انتخابی کاتالیز نماید. نقش مرکزی کاتالیز ممکن است برای بعضی از دانشجویانی که تازه بیوشیمی را آغاز نموده‌اند، تعجب‌آور باشد، ولی شرح آن ساده است. همان‌طور که در فصل ۱ اشاره گردید، سیستم‌های زنده از انرژی محیطی استفاده می‌نمایند. برای مثال، بسیاری از افراد مقادیر قابل توجهی ساکارز (قند معمول) را به‌عنوان یک سوخت، یا به شکل انواع مختلف غذاها و نوشیدنی‌های شیرین یا به‌صورت خود قند، مصرف می‌نمایند. تبدیل سوکروز به CO_2 و H_2O در حضور اکسیژن یک فرایند شدیداً انرژی‌زا بوده و انرژی آزادی را رها می‌سازد که می‌تواند صرف فکرکردن، حرکت‌کردن، چشیدن یا دیدن گردد. چطور یک کیسه قند می‌تواند سال‌ها نگه داشته شود، ولی در آن تبدیل قابل توجهی به CO_2 و H_2O رخ ندهد. هرچند این فرایند شیمیایی از نظر ترمودینامیک قابل انجام است، ولی بسیار آهسته می‌باشد! درحالیکه وقتی این سوکروز توسط انسان (یا تقریباً هر موجود دیگر) مصرف گردد، ظرف چند ثانیه انرژی خود را آزاد می‌نماید. تفاوت در کاتالیز می‌باشد. بدون کاتالیز، واکنش‌های شیمیایی مورد نیاز برای حفظ حیات در مقیاس زمانی مفید قابل انجام نمی‌باشند.

حال توجه خود را به کاتالیست‌های واکنش در سیستم‌های بیولوژیک، یعنی آنزیم‌ها، معطوف می‌نماییم که برجسته‌ترین و اختصاصی‌ترین پروتئین‌ها می‌باشند. آنزیم‌ها دارای قدرت کاتالیتیک فوق‌العاده بوده که اغلب فراتر از کاتالیست‌های سنتتیک یا آلی می‌باشند. آنزیم‌ها برای سوبسترای خود ویژگی بالائی دارند، واکنش‌های شیمیایی را به میزان خیلی زیادی تسریع می‌کنند و در محلول‌های آبی و تحت شرایط ملایم درجه حرارت و pH عمل می‌نمایند. موارد کمی از کاتالیست‌های غیربیولوژیک، دارای تمامی این خصوصیات هستند.

آنزیم‌ها در هر فرایند بیوشیمیایی دارای نقش مرکزی هستند. با عمل در طی توالی‌های سازمان‌یافته، آنزیم‌ها هزاران مرحله واکنش‌های شیمیایی را کاتالیز می‌کنند که طی آنها ملکول‌های مواد غذایی تجزیه شده، انرژی شیمیایی حفظ و تغییر شکل داده شده و ماکروملکول‌های بیولوژیک از پیش‌سازهای ساده سنتز می‌گردند. با عمل آنزیم‌های تنظیمی، مسیرهای متابولیک شدیداً هماهنگ شده و یک فعل و انفعال هماهنگ را بین بسیاری از فعالیت‌های مختلف ضروری برای حفظ حیات، ایجاد می‌نمایند.

مطالعه آنزیم‌ها دارای اهمیت عملی بی‌اندازه‌ای است. در بعضی از بیماری‌ها، بخصوص ناهنجاری‌های ژنتیکی ارثی، ممکن است کمبود یا عدم وجود کامل یک یا چند آنزیم وجود داشته باشد. در مورد حالات دیگر بیماری، علت ممکن است افزایش فعالیت یک آنزیم باشد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در پلاسما، گلبول‌های قرمز، یا نمونه‌های بافتی در تشخیص بعضی از بیماری‌ها دارای اهمیت است. بسیاری از داروها اثر خود را از طریق انجام واکنش با آنزیم‌ها اعمال می‌نمایند. آنزیم‌ها ابزار عملی مهمی در پزشکی و همچنین در صنعت شیمی، پردازش مواد

Book.Apfarsi.ir

غذایی و کشاورزی می‌باشند.

بحث را با شرح ویژگی‌های آنزیم‌ها و اصول زمینه‌ای قدرت کاتالیتیکی آنها آغاز نموده، سپس کینتیک آنزیم‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد که بیشتر چهارچوب هر بحث آنزیمی را تشکیل می‌دهد. آنگاه، مثالهای اختصاصی مکانیسم‌های آنزیمی ارائه شده تا اصول ذکر شده در ابتدای این فصل را شرح دهند. بالاخره، این بحث را با آنزیم‌های تنظیمی به اتمام می‌رسانیم.



Eduard Buchner
1860–1917



James Sumner
1887–1955



J.B.S. Haldane
1892–1964

مقدمه‌ای بر آنزیم‌ها

بیشتر تاریخ بیوشیمی، تاریخ تحقیق آنزیمی است. کاتالیز بیولوژیکی برای اولین بار در اواخر قرن هجدهم، طی مطالعات انجام‌شده بر روی هضم گوشت توسط ترشحات معده، شناسایی و شرح داده شد و این تحقیقات در قرن نوزدهم با آزمایشات تبدیل نشاسته به قند توسط بزاق و عصاره‌های گیاهی مختلف، ادامه یافت. در دهه ۱۸۵۰، لوئی پاستور نتیجه گرفت که تخمیر قند به الکل توسط مخمر، به وسیله «خمیر مایه» کاتالیز می‌گردد. وی معتقد بود که این خمیرهای مایه غیرقابل‌جداسازی از ساختمان سلول‌های مخمری زنده می‌باشند، تصوری که ویتالیسم[1] نامیده شد و برای سال‌های زیادی رواج داشت. سپس در سال ۱۸۹۷، ادوارد بوخنر کشف نمود که عصاره مخمر می‌تواند قند را به الکل تخمیر نموده و بدین‌ترتیب ثابت نمود تخمیر توسط ملکول‌هایی تسریع می‌گردد که بعد از جداشدن از سلول‌ها، همچنان فعالیت خود را ادامه می‌دهند. فردریک کوهن[2] این ملکول‌ها را آنزیم نامید. وقتی موضوعات ویتالیستیک زندگی رد شدند، جداسازی آنزیم‌های جدید و بررسی خصوصیات آنها منجر به پیشرفت علم بیوشیمی گردید.

جداسازی و کریستالیزه‌نمودن اوره‌آز در سال ۱۹۲۶ توسط جیمز سامنر منجر به رفع موانع در مطالعات اولیه آنزیم‌شناسی گردید. سامنر دریافت که کریستالهای اوره‌آز تماماً از پروتئین تشکیل شده و ساختمان تمامی آنزیم‌ها را پروتئینی در نظر گرفت. با توجه به نبود مثالهای دیگر، این نظریه برای مدت زمانی بحث‌انگیز بود. در دهه ۱۹۳۰ و بعد از کریستالیزه‌نمودن پپسین، تریپسین و سایر آنزیم‌های گوارشی و مشخص‌شدن جنس پروتئینی آنها توسط جان نورتروپ[3] و موزز کونیتز[4] بود که استنباط سامنر به‌طور وسیعی پذیرفته شد. در طی این فاصله، هالدان یک مقاله به نام «آنزیم‌ها» نوشت. هرچند ماهیت ملکولی آنزیم‌ها هنوز به‌طور کامل تصدیق نشده بود، هالدان مطرح نمود که می‌بایست واکنش‌های متقابل ضعیف بین آنزیم و سوبسترای آن در تغییر سوبسترا و کاتالیز یک واکنش نقش داشته باشد. این تفکر در قلب دانستنی‌های موجود ما در مورد کاتالیز آنزیمی قرار دارد.

در ادامه قرن بیستم، تحقیقات زیادی بر روی آنزیم‌هایی صورت گرفته است که

1. Vitalism 2. Fredrick Kuhne 3. Jhon Northrop 4. Moses Kunitz

Book.Apfarsi.ir

واکنش‌های متابولیسم سلولی را کاتالیز می‌نمایند. این تحقیقات منجر به تخلیص هزاران آنزیم، همراه با شناسایی ساختمان و مکانیسم بیوشیمیایی بسیاری از آنها و دانش کلی در مورد نحوه عمل آنها شده است.

Book.Apfarsi.ir

اکثر آنزیم‌ها ساختمان پروتئینی دارند

به استثناء گروه کوچکی از ملکول‌های RNA کاتالیتیک (فصل ۲۶)، تمامی آنزیم‌ها ساختمان پروتئینی دارند. فعالیت کاتالیتیکی این آنزیم‌ها بستگی به یکپارچگی کونفورماسیون پروتئینی طبیعی آنها دارد. درصورتیکه یک آنزیم دناتوره شده و یا به زیرواحدهای خود تجزیه گردد، فعالیت کاتالیتیک معمولاً از دست می‌رود. وقتی یک آنزیم به اسیدهای آمینه خود تجزیه گردد، به‌طور قطع فعالیت آن از بین می‌رود. بنابراین، ساختمانهای اول، دوم، سوم و چهارم آنزیم‌های پروتئینی برای فعالیت آنها ضروری می‌باشد.

آنزیم‌ها همانند پروتئین‌های دیگر، دارای وزن‌های ملکولی بین ۱۲,۰۰۰ تا بیش از یک میلیون می‌باشند. بعضی از آنزیم‌ها برای فعالیت، علاوه بر ریشه‌های اسید آمینه خود، نیاز به گروه‌های شیمیایی دیگری ندارند. درحالیکه سایر آنزیم‌ها نیاز به جزء شیمیایی دیگری بنام **کوفکتور** دارند که ممکن است یک یا چند یون معدنی، نظیر Fe^{2+}، Mg^{2+}، Mn^{2+} و Zn^{2+} (جدول ۱-۸)، یا یک ملکول آلی یا فلزی-آلی پیچیده بنام **کوآنزیم** (جدول ۲-۸)، باشد. بعضی از آنزیم‌ها برای فعالیت، هم به کوآنزیم و هم به یک یا چند یون فلزی نیاز دارند. یک کوآنزیم یا یون فلزی که به‌طور محکم و یا حتی کووالان به پروتئین آنزیم متصل شده است را **گروه پروستتیک** گویند. یک آنزیم دارای فعالیت کاتالیتیک، به همراه کوآنزیم

جدول ۱-۸. بعضی از عناصر معدنی که به عنوان کوفاکتور آنزیم‌ها عمل می‌کنند

Cu^{2+}	سیتوکروم اکسیداز
Fe^{2+} یا Fe^{3+}	سیتوکروم اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز
K^{+}	پیروات کیناز
Mg^{2+}	هگزوکیناز، گلوکز ۶-فسفاتاز، پیروات کیناز
Mn^{2+}	آرژیناز، ریبونوکلئوتید ردوکتاز
Mo	دی‌نیتروژناز
Ni^{2+}	اوره‌آز
Se	گلوتاتیون پراکسیداز
Zn^{2+}	کربنیک انیدراز، الکل دهیدروژناز کربوکسی‌پپتیدازهای A و B

جدول ۲-۸. بعضی از کوآنزیم‌هائی که به‌عنوان حاملین موقتی اتم‌ها یا گروه‌های عامل عمل می‌کنند.*

کوآنزیم	مثال‌هایی از انتقال گروه‌های شیمیایی	پیش‌ساز موجود در رژیم غذائی پستانداران
بیوسیتین	CO_2	بیوتین
کوآنزیم آ	گروه‌های آسیل	اسید پانتوتنیک و سایر ترکیبات
۵′-داکسی‌آدنوزیل‌کوبالامین (کوآنزیم B_{12})	اتم‌های H و گروه‌های آلکیل	ویتامین B_{12}
فلاوین آدنین نوکلئوتید	الکترون‌ها	ریبوفلاوین (B_2)
لیپوآت	الکترون‌ها و گروه‌های آسیل	عدم نیاز در رژیم غذائی
نیکوتینامید آدنین دی‌نوکلئوتید	یون هیدرید ($:H^-$)	نیکوتینیک اسید (نیاسین)
پیریدوکسال فسفات	گروه‌های آمینو	پیریدوکسین (ویتامین B_6)
تتراهیدروفولات	گروه‌های یک کربنه	فولات
تیامین پیروفسفات	آلدئیدها	تیامین (ویتامین B_1)

* ساختمان و نحوه عمل این کوآنزیم‌ها در قسمت سوم این کتاب شرح داده می‌شود.

Book.Apfarsi.ir

جدول ۳-۸. طبقه‌بندی بین‌المللی آنزیم‌ها*

عدد	کلاس	نوع واکنش کاتالیزی
۱	اکسیدوردوکتازها	انتقال الکترون‌ها (یون‌های هیدرید یا اتم‌های H)
۲	ترانسفرازها	واکنش‌های انتقال گروه
۳	هیدرولازها	واکنش‌های هیدرولیز (انتقال گروه‌های عامل به آب)
۴	لیازها	افزودن گروهها به پیوندهای دوگانه یا ایجاد پیوندهای دوگانه با برداشت گروهها
۵	ایزومرازها	انتقال گروهها در داخل ملکول‌ها جهت ایجاد اشکال ایزومری
۶	لیگازها	تشکیل پیوندهای C - C، C - S، C - O و C - N در طی واکنش‌های کندانساسیون و همراه با تجزیه ATP

* آنزیم‌ها، انتقال الکترون‌ها، اتم‌ها یا گروه‌های عامل را کاتالیز می‌کنند. بنابراین، براساس نوع واکنش انتقالی، دهنده گروه و گیرنده گروه طبقه‌بندی و کدگذاری می‌شوند.

و یا یون‌های فلزی متصل به آن را **هولوآنزیم** گویند. قسمت پروتئینی چنین آنزیمی را **آپوآنزیم** یا **آپوپروتئین** می‌نامند. کوآنزیم‌ها به‌عنوان حاملین موقتی گروه‌های عامل اختصاصی عمل می‌نمایند. این ترکیبات اغلب از ویتامین‌ها می‌باشند که خود مواد غذایی آلی مورد نیاز به مقادیر کم در رژیم غذایی هستند. کوآنزیم‌ها با جزئیات بیشتر در مسیرهای متابولیکی مورد بحث در قسمت سوم این کتاب، بررسی خواهند گرفت.

بالاخره، بعضی پروتئین‌های آنزیمی به‌طریق کووالان با فسفریلاسیون، گلیکوزیلاسیون و سایر فرایندها دستخوش تغییر می‌شوند. بسیاری از این تغییرات در تنظیم فعالیت آنزیمی نقش دارند.

آنزیم‌ها براساس واکنش‌هایی که کاتالیز می‌کنند، طبقه‌بندی می‌گردند

بسیاری از آنزیم‌ها با افزودن پسوند«-از» به نام سوبسترا خود یا کلمه یا عبارتی که فعالیت آنها را نشان می‌دهد نامگذاری می‌گردند. بدین‌ترتیب، اوره‌آز هیدرولیز اوره و DNA پلیمراز پلیمریزاسیون نوکلئوتیدها برای تولید DNA را کاتالیز می‌نمایند. آنزیم‌های دیگر، نظیر پپسین و تریپسین، نام‌هایی دارند که نه سوبسترا و نه واکنش آنها را مشخص می‌نمایند. گاهی یک آنزیم دارای دو یا چند نام بوده و یا دو آنزیم مختلف نام یکسانی را دارند. به خاطر این ابهامات و همچنین به دلیل افزایش تعداد آنزیم‌های تازه کشف‌شده، از یک سیستم بین‌المللی برای نامگذاری و طبقه‌بندی آنزیم‌ها استفاده می‌گردد. در این سیستم، آنزیم‌ها به شش کلاس اصلی تقسیم می‌گردند که هر کدام براساس نوع واکنشی که کاتالیز می‌کنند، دارای زیرکلاس‌هایی هستند (جدول ۳-۸). هر کدام از این آنزیم‌ها توسط چهار عدد مربوط به طبقه‌بندی و یک نام سیستماتیک مشخص‌کننده نوع واکنش کاتالیزشونده، مشخص می‌گردند. به‌عنوان مثال، نام سیستماتیک رسمی آنزیم کاتالیزکننده واکنش

$$\text{ATP} + \text{D-glucose} \longrightarrow \text{ADP} + \text{D-glucose 6-phosphate}$$

به‌صورت *ATP: گلوکز فسفوترانسفراز می‌باشد که نشان‌دهنده کاتالیز انتقال یک گروه فسفریل از ATP به گلوکز* می‌باشد. عدد کمیسیون آنزیمی (عدد E.C.[1]) این آنزیم به‌صورت ۲.۷.۱.۱ می‌باشد. عدد اول (۲)، نام کلاس (ترانسفراز) آنزیم را مشخص نموده؛ عدد دوم (۷)، مربوط به زیرکلاس (فسفوترانسفراز) بوده؛ عدد سوم (۱)، یک

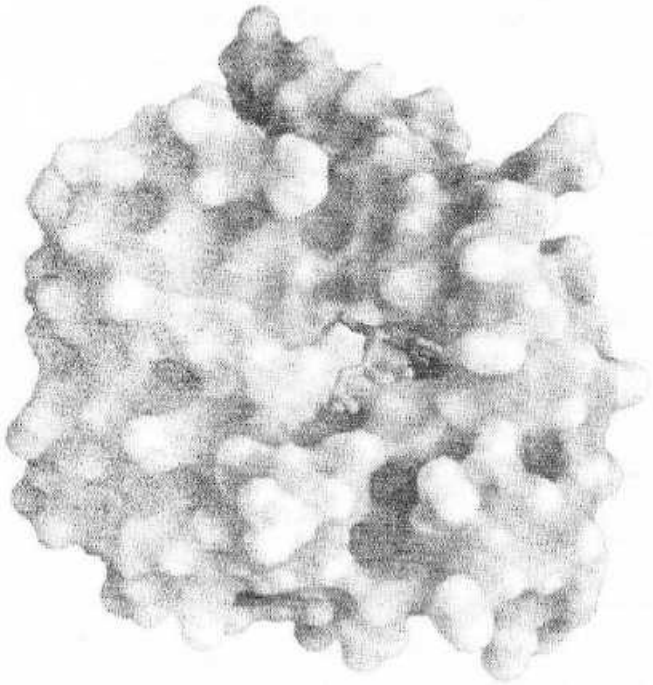
1. Enzyme commission

Book.Apfarsi.ir

فسفوترانسفراز با گروه هیدروکسیل به‌عنوان گیرنده را مشخص کرده؛ و عدد چهارم (۱)، D-گلوکز به‌عنوان گیرنده فسفر را نشان می‌دهد. در مورد بسیاری از آنزیم‌ها، بیشتر از نام‌های غیرسیستماتیک استفاده می‌گردد که در مورد آنزیم اخیر این نام هگزوکیناز می‌باشد.

فهرست کامل و شرح هزاران آنزیم شناخته‌شده فراتر از حدود این کتاب می‌باشد. در این فصل اساساً به اصول و خصوصیات متداول در مورد تمامی آنزیم‌ها پرداخته می‌شود.

نحوه عمل آنزیم‌ها



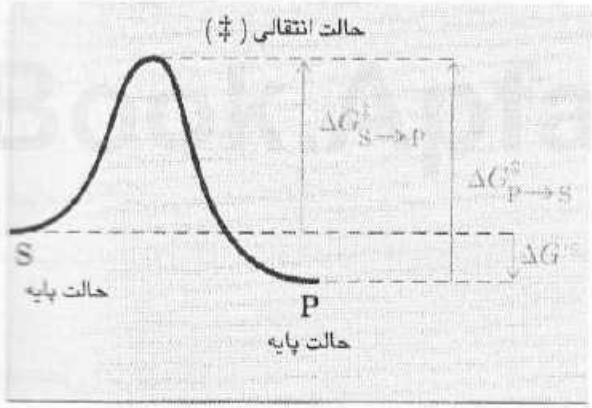
شکل ۱-۸ [شکل ۲۳ ضمیمه رنگی]. اتصال یک سوبسترا به جایگاه فعال در یک آنزیم. آنزیم کیموتریپسین با سوبسترا متصل به آن برنگ قرمز نشان داده شده است. بعضی از اسیدهای آمینه کلیدی جایگاه فعال به صورت لکه‌های قرمز در سطح آنزیم مشخص می‌باشند.

کاتالیز آنزیمی واکنش‌ها برای سیستم‌های زنده ضروری است. تحت شرایط بیولوژیک، واکنش‌های کاتالیزنشده آهسته هستند؛ بیشتر ملکول‌های بیولوژیک در pH خنثی و حرارت ملایم محیط داخلی سلول‌ها، کاملاً پایدار می‌باشند. به علاوه، بسیاری از واکنش‌های معمول بیوشیمی همراه با رخدادهای شیمیایی، نظیر تشکیل زودگذر ترکیبات واسط باردار ناپایدار یا تصادم دو یا چند ملکول در جهت‌های دقیق برای انجام واکنش، هستند که در شرایط سلولی نامساعد و یا غیرممکن می‌باشند. واکنش‌های مورد نیاز برای هضم غذا، فرستادن پیام‌های عصبی یا انقباض یک عضله، بدون کاتالیز با سرعت مناسب صورت نمی‌پذیرند.

آنزیم با فراهم‌نمودن یک محیط کوچک که در آن یک واکنش خاص از نظر انرژتیک عملی‌تر می‌گردد، این مشکلات را حل می‌نماید. خصوصیت متمایزکننده یک واکنش آنزیمی این است که در داخل یک پاکت موجود در ساختمان آنزیم، بنام **جایگاه فعال**، به انجام می‌رسد (شکل ۱-۸). ملکولی که به جایگاه فعال آنزیم متصل شده و آنزیم بر روی آن اثر می‌نماید را **سوبسترا** گویند. سطح جایگاه فعال توسط ریشه‌های اسید آمینه‌ای مفروش شده است که گروه‌های استخلاف‌شده آنها با سوبسترا واکنش نموده و تغییر شیمیایی آن را کاتالیز می‌نمایند. کمپلکس آنزیم سوبسترا که وجود آن برای اولین بار در سال ۱۸۸۰ توسط آدولف ورتز[1] فرض شد، برای عمل آنزیمی ضروری است. این کمپلکس همچنین نقطه آغاز بررسی‌های ریاضی است که رفتار کینتیک واکنش‌های آنزیمی و شرح تئوری مکانیسم‌های آنزیمی را مشخص می‌نمایند.

1. Adolphe Wurtz

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲-۸. نمودار پیشرفت واکنش برای یک واکنش شیمیایی. نمودار انرژی آزاد سیستم در مقابل پیشرفت واکنش $S \rightleftharpoons P$ رسم شده است. نموداری از این نوع، تغییرات انرژی را در طول واکنش نشان داده و محور افقی (پیشرفت واکنش)، انعکاسی از تغییرات شیمیایی پیشرونده (مثلاً شکستن یا ایجاد پیوند)، همانند تبدیل S به P، می‌باشد. انرژی‌های فعال‌سازی، $\Delta G^{\ddagger}$، برای واکنش‌های $S \rightarrow P$ و $P \rightarrow S$ نشان داده شده است. $\Delta G^{\circ\prime}$، تغییر انرژی آزاد استاندارد کل در جهت $S \rightarrow P$ می‌باشد.

آنزیم‌ها بر روی سرعت واکنش اثر دارند و نه تعادل آن

یک واکنش ساده آنزیمی را می‌توان به‌صورت زیر نوشت:

$$E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E + P \qquad (۸-۱)$$

که در آن E، S و P به ترتیب آنزیم، سوبسترا و محصول می‌باشند. ES و EP نیز به ترتیب، کمپلکس‌های زودگذر آنزیم با سوبسترا و محصول را نشان می‌دهند.

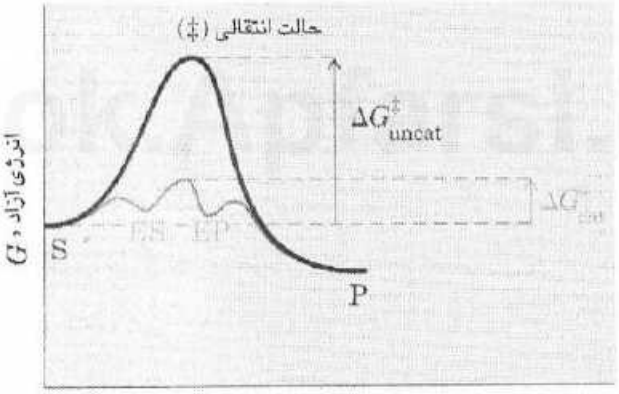
برای درک کاتالیز، ابتدا لازم است فرق مهم بین تعادل واکنش (در فصل ۴ مورد بحث قرار گرفت) و سرعت واکنش را مورد توجه قرار دهیم. عملکرد یک کاتالیست در جهت افزایش سرعت واکنش می‌باشد. کاتالیست اثری بر روی *تعادل* واکنش ندارد. هر واکنش، نظیر $S \rightleftharpoons P$، را می‌توان توسط نموداری از مختصات واکنش، یا تصویری از تغییرات انرژی در طی واکنش، نشان داد (شکل ۲-۸). همان‌طور که در فصول ۱ و ۳ اشاره گردید، سیستم‌های بیولوژیک براساس انرژی آزاد (G)، تعریف می‌گردند. در نمودار پیشرفت واکنش، منحنی انرژی آزاد سیستم در برابر پیشرفت واکنش ترسیم می‌گردد. نقطه شروع واکنش در هر دو جهت (به سمت جلو یا عقب) واکنش را **حالت پایه**[1] گویند که در آن میزان انرژی آزاد سیستم توسط میانگین ملکولی (S یا P)، تحت یک سری شرایط خاص تعیین می‌گردد. برای توصیف تغییرات آزاد واکنش‌ها، شیمیدان‌ها یک شرایط استاندارد (دمای ۲۹۸K، فشار نسبی هر گاز در ۱ atm یا ۱۰۱/۳kPa؛ غلظت هر کدام از مواد حل شده ۱ M) را تعریف نموده و تغییر انرژی آزاد این سیستم واکنش را به‌صورت ΔG° یا **تغییر انرژی آزاد استاندارد** بیان می‌نمایند. از آنجایی که غلظت یون‌های H^+ در سیستم‌های بیولوژیک به مراتب کمتر از ۱ M می‌باشد، بیوشیمیدان‌ها $\Delta G^{\circ\prime}$ یا **تغییر انرژی آزاد استاندارد بیوشیمیایی** یا تغییر انرژی آزاد استاندارد در *pH* برابر ۷/۰، را تعریف نموده‌اند که در سراسر این کتاب از آن استفاده می‌گردد. تعریف کامل‌تر $\Delta G^{\circ\prime}$ در فصل ۱۴ آمده است.

تعادل بین S و P انعکاسی از تفاوت در انرژی‌های آزاد حالات پایه آنها می‌باشد. در مثال نشان داده شده در شکل ۲-۸، انرژی آزاد حالت پایه P کمتر از انرژی مربوط به S می‌باشد، زیرا $\Delta G^{\circ\prime}$ واکنش منفی بوده و تعادل به سمت P می‌باشد. موقعیت و جهت تعادل تحت تأثیر هیچ کاتالیستی قرار نمی‌گیرد.

تعادل مساعد به معنی این نیست که تبدیل $S \rightarrow P$ با سرعت قابل جستجو به انجام می‌رسد. سرعت یک واکنش

1. Ground state

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳-۸. نمودار پیشرفت واکنش جهت مقایسه واکنشهای دارای کاتالیز آنزیمی و واکنش‌های بدون کاتالیز. در واکنش S → P، ترکیبات واسط ES و EP میزان حداقل را در منحنی پیشرفت انرژی واکنش آنزیمی دارند. اصطلاحات $\Delta G^{\ddagger}_{uncat}$ و $\Delta G^{\ddagger}_{cat}$ مربوط به انرژی‌های فعال‌سازی واکنش‌های بدون کاتالیز و با کاتالیز می‌باشند. وقتی آنزیم واکنش را کاتالیز می‌نماید، انرژی فعال‌سازی برای کل فرایند کمتر می‌باشد.

وابسته به یک پارامتر کاملاً متفاوت می‌باشد. یک سد انرژی بین S و P وجود دارد که انرژی مورد نیاز برای به صف درآوردن گروه‌های واکنش‌کننده، ایجاد تغییرات ناپایدار زودگذر، نوآرایی‌های پیوندی و سایر تغییرات لازم برای پیشرفت واکنش در هر جهت می‌باشد. این موضوع توسط «تپه» انرژی در اشکال ۲-۸ و ۳-۸ شرح داده شده است. برای انجام واکنش، لازم است ملکول‌ها بر این سد غلبه نموده و بنابراین باید به یک سطح انرژی بالاتر برسند. در قله این تپه انرژی، نقطه‌ای وجود دارد که در آن تغییر به S یا P، هر دو به یک اندازه ممکن می‌باشد (در هر دو، واکنش روبه پایین است). این وضعیت را **حالت انتقالی**[1] گویند. حالت انتقالی، ترکیب شیمیایی نیست که پایداری قابل توجهی را داشته باشد و نباید با ترکیب واسط یک واکنش (نظیر EP یا ES) اشتباه گردد. به‌طورساده این حالت یک لحظه ملکولی زودگذر می‌باشد که در آن حوادثی نظیر شکستن پیوند، ایجاد پیوند و ایجاد بار، تا نقطه‌ای به پیش رفته است که در آن ازبین رفتن سوبسترا یا محصول با احتمال یکسان ممکن می‌باشد. تفاوت بین مقادیر انرژی حالت پایه و حالت انتقالی را **انرژی فعال‌سازی** ($\Delta G^{\ddagger}$) گویند. سرعت یک واکنش، انعکاسی از این انرژی فعال‌سازی است؛ هر چه انرژی فعال‌سازی بیشتر باشد، واکنش آهسته‌تر خواهد بود. با افزایش درجه حرارت و به موجب آن افزایش تعداد ملکول‌های دارای انرژی لازم برای غلبه بر انرژی فعال‌سازی، سرعت واکنش را می‌توان افزایش داد. به طریق دیگر می‌توان انرژی فعال‌سازی را با اضافه‌نمودن یک کاتالیست کاهش داد (شکل ۳-۸). *کاتالیست‌ها با کاهش انرژی فعال‌سازی سبب افزایش سرعت می‌گردند.*

آنزیم‌ها همانند سایر کاتالیست‌ها اثری بر روی تعادل واکنش ندارند. پیکانهای دوطرفه موجود در معادله ۱-۸ این موضوع را نشان می‌دهند که هر آنزیم کاتالیزکننده واکنش S → P، قادر به کاتالیز واکنش P → S نیز می‌باشد. نقش آنزیم‌ها در تسریع تبدیل متقابل S و P می‌باشد. آنزیم در این فرایند مورد استفاده قرار نگرفته و تعادل تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. هرچند، در حضور آنزیم، به علت افزایش سرعت واکنش، تعادل بسیار سریعتر حاصل می‌گردد.

این اصل عمومی را می‌توان در تبدیل سوکروز و اکسیژن به دی‌اکسید کربن و آب شرح داد:

$$C_{12}H_{22}O_{11} + 12O_2 \rightleftharpoons 12CO_2 + 11H_2O$$

این تبدیل که طی یک سری واکنش‌های مجزا به وقوع می‌پیوندد، دارای یک $\Delta G'^{\circ}$ بسیار بزرگ و منفی بوده و در حالت تعادل، میزان سوکروز موجود ناچیز می‌باشد. با این وجود سوکروز یک ترکیب پایدار است، زیرا سد انرژی فعال‌سازی که باید قبل از واکنش سوکروز با اکسیژن برطرف گردد، کاملاً بزرگ می‌باشد. سوکروز را می‌توان به همراه

1. Transition state

Book.Apfarsi.ir

اکسیژن در یک ظرف و بدون انجام واکنش، تقریباً به‌طور نامحدودی نگهداری نمود. هرچند، در داخل سلول سوکروز سریعاً طی یک سری واکنش‌های آنزیمی به CO_2 و H_2O تجزیه می‌گردد. این آنزیم‌ها نه تنها واکنش‌ها را تسریع می‌نمایند، بلکه همچنین آنها را سازماندهی و کنترل نموده تا بیشتر انرژی آزادشده به اشکال شیمیایی دیگر تبدیل شده که خود برای انجام وظایف دیگر در اختیار سلول قرار می‌گیرند. مسیر واکنشی که توسط آن سوکروز (و قندهای دیگر) تجزیه می‌گردند، مسیر اصلی تولید انرژی برای سلول‌ها بوده (شکل ۱-۱۶ را ببینید) و آنزیم‌های این مسیر اجازه می‌دهند که این توالی واکنش‌ها در طی یک مقیاس زمانی به انجام برسند تا از نظر بیولوژیک مفید باشند.

در عمل هر واکنش ممکن است دارای مراحل متعددی از جمله تولید و تجزیه ترکیبات شیمیایی زودگذر بنام **ترکیبات واسط واکنش** باشد[1]. وقتی واکنش $S \rightleftharpoons P$ توسط یک آنزیم کاتالیز می‌گردد، کمپلکسهای ES و EP، ترکیبات واسط می‌باشند (معادله ۱-۸)؛ این ترکیبات دره‌هایی را در نمودار مختصات واکنش اشغال می‌نمایند (شکل ۳-۸). وقتی مراحل متعددی در یک واکنش رخ می‌دهد، سرعت کلی توسط مرحله (یا مراحل) دارای بیشترین انرژی فعال‌سازی تعیین می‌گردد که به آن **مرحله محدودکننده سرعت**[2] اتلاق می‌شود. در حالت ساده، مرحله محدودکننده سرعت، نقطه‌ای در نمودار است که بیشترین انرژی را برای تبدیل متقابل S و P دارد. در عمل، مرحله محدودکننده سرعت می‌تواند با شرایط واکنش تغییر نموده و برای بسیاری از واکنش‌های آنزیمی ممکن است مراحل متعدد آن دارای انرژی‌های فعال‌سازی مشابهی باشند که به معنی آن است که تمامی آنها به‌طورنسبی محدودکننده سرعت می‌باشند.

همان‌طور که در فصل ۱ اشاره گردید، انرژی‌های فعال‌سازی، سدهای انرژی در برابر واکنش‌های شیمیایی هستند؛ این سدها برای خود حیات بسیار مهم می‌باشند. پایداری یک ملکول با ارتفاع سد فعال‌سازی آن افزایش می‌یابد. بدون چنین سدهای انرژی، ماکروملکول‌های پیچیده به‌طورخودبخودی به اشکال ملکولی بسیار ساده‌تر تبدیل می‌شدند و ساختمان‌های پیچیده و شدیداً منظم و فرایندهای متابولیکی سلول‌ها نمی‌توانستند وجود داشته باشند. آنزیم‌ها برای کاهش *انتخابی* انرژی‌های فعال‌سازی واکنش‌هایی ایجاد شده‌اند که برای بقاء سلول مورد نیاز هستند.

سرعت و تعادل واکنش دارای تعاریف ترمودینامیکی دقیقی هستند

تعادل واکنش به‌طورپیچیده‌ای به $\Delta G'^{\circ}$ و سرعت واکنش به $\Delta G^{\ddagger}$ مرتبط می‌باشد. تعریف پایه این ارتباطات ترمودینامیکی، مرحله بعدی شناخت نحوه کار آنزیم‌ها می‌باشد.

حالت تعادلی نظیر $S \rightleftharpoons P$ به‌صورت یک **ثابت تعادل**، K_{eq} یا به‌طورساده K نشان داده می‌شود (فصل ۴). در شرایط استانداردی که برای مقایسه فرایندهای بیوشیمیایی مورد استفاده قرار می‌گیرد، ثابت تعادل را با K'_{eq} (یا K') نمایش می‌دهند:

$$K'_{eq} = \frac{[P]}{[S]} \qquad (۸-۲)$$

---

۱. توجه داشته باشید که اصطلاحات «مرحله» و «ترکیب واسط» در این فصل اشاره به ترکیب شیمیایی در یک مسیر واکنشی یک واکنش کاتالیزشونده توسط یک آنزیم می‌نمایند. در متن مسیرهای متابولیکی دارای چندین آنزیم (قسمت سوم این کتاب)، این اصطلاحات طور متفاوت بکار می‌روند. یک واکنش آنزیمی کامل را اغلب یک «مرحله» در یک مسیر گویند و محصول یک واکنش آنزیمی (که سوبسترا آنزیم بعدی در مسیر است) را یک «ترکیب واسط» نامند.

2. Rate-limiting step

Book.Apfarsi.ir

با استفاده از ترمودینامیک، ارتباط بین K'_{eq} و $\Delta G'^{\circ}$ را می‌توان به‌صورت زیر بیان نمود:

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{eq} \qquad (۸-۳)$$

که در آن R ثابت گازها، معادل ۸/۳۱۵ J/mol.K و T دمای مطلق، ۲۹۸ K (۲۵°C)، می‌باشند. معادلهٔ ۳-۸ در فصل ۱۴ بیشتر مورد بررسی قرار خواهد گرفت. نکته مهم در اینجا آن است که ثابت تعادل مستقیماً با تغییر انرژی آزاد استاندارد کل واکنش ارتباط دارد (جدول ۴-۸). یک مقدار منفی بزرگ $\Delta G'^{\circ}$، یک تعادل مساعد واکنش را نشان می‌دهد؛ ولی همان‌طور که تاکنون ذکر شده است، به آن معنی نیست که واکنش با سرعت بالا انجام می‌شود.

جدول ۴-۸. ارتباط بین K'_{eq} و $\Delta G'^{\circ}$ (معادله ۳-۸ را ببینید)

K'_{eq}	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)
10^{-6}	۳۴/۲
10^{-5}	۲۸/۵
10^{-4}	۲۲/۸
10^{-3}	۱۷/۱
10^{-2}	۱۱/۴
10^{-1}	۵/۷
۱	۰/۰
10^{1}	-۵/۷
10^{2}	-۱۱/۴
10^{3}	-۱۷/۱

سرعت هر واکنش توسط غلظت واکنشگر(ها) و یک ثابت سرعت، معمولاً با k نشان می‌دهند، مشخص می‌گردد. برای واکنش تک‌ملکولی $S \rightarrow R$، سرعت واکنش (V) که میزان واکنش‌کننده S در هر واحد زمان را نشان می‌دهد، توسط معادله سرعت بیان می‌گردد:

$$V = k[S] \qquad (۸-۴)$$

در این واکنش، سرعت تنها وابسته به غلظت S می‌باشد که به آن واکنش درجه اول گویند. فاکتور k یک ثابت تناسب است که احتمال واکنش تحت یک شرایط خاص (pH، دما و غیره) را نشان می‌دهد. در اینجا، k یک ثابت سرعت درجه اول بوده و دارای واحد زمان معکوس، مثل s^{-1}، می‌باشد. درصورتیکه یک واکنش درجه اول دارای ثابت سرعت k برابر $0/03\,s^{-1}$ باشد، آن را می‌توان اینطور (به‌طورکمی) تفسیر نمود که ۳٪ از S موجود ظرف یک ثانیه به P تبدیل می‌گردد. واکنشی با ثابت سرعت $2000\,s^{-1}$ در کسر کوچکی از یک ثانیه انجام خواهد شد. درصورتیکه سرعت واکنش به غلظت دو ترکیب مختلف وابسته باشد و یا واکنش بین دو ملکول یکسان انجام گیرد، واکنش درجه دوم بوده و k ثابت سرعت درجه دوم با واحد $M^{-1}s^{-1}$ خواهد بود. آنگاه معادله سرعت برابر خواهد بود با:

$$V = k[S_1][S_2] \qquad (۸-۵)$$

با استفاده از تئوری حالت انتقالی، می‌توان عبارتی را استخراج نمود که بزرگی یک ثابت سرعت را با انرژی فعال‌سازی مرتبط می‌سازد:

$$k = \frac{\mathbf{k}T}{h} e^{-\Delta G^{\ddagger}/RT} \qquad (۸-۶)$$

که در آن $\mathbf{k}$ ثابت بولتزمن[1] و h ثابت پلنکس[2] می‌باشند. نکته مهم در اینجا این است که ارتباط بین ثابت سرعت k و انرژی فعال‌سازی $\Delta G^{\ddagger}$ معکوس و نمایی است. به عبارتی ساده‌تر، این موضوع اساس این گفته می‌باشد که انرژی فعال‌سازی کمتر، به معنی سرعت بیشتر واکنش بوده و برعکس.

حال به کار و نحوه عمل آنزیم برمی‌گردیم.

1. Boltzmann constant 2. Planck's constant

Book.Apfarsi.ir

قدرت کاتالیتیکی و ویژگی آنزیم‌ها توسط چند اصل بیان می‌گردد

آنزیم‌ها کاتالیست‌های فوق‌العاده‌ای هستند. فزایش سرعت توسط آنزیم‌ها در دامنه 10^5 تا 10^{17} برابر می‌باشد (جدول ۵-۸). به علاوه، آنزیم‌ها بسیار اختصاصی هستند و براحتی سوبستراهای دارای ساختمانهای مشابه را تشخیص می‌دهند. چطور می‌توان این افزایش سرعت بالا و شدیداً انتخابی را توجیه نمود؟ انرژی مورد نیاز برای کاهش قابل‌توجه انرژی‌های فعال‌سازی برای واکنش‌های اختصاصی از کجا تأمین می‌گردد؟

جدول ۵-۸. مواردی از افزایش سرعت واکنش‌ها توسط آنزیم‌ها

سیکلوفیلین (Cyclophilin)	10^5
کربنیک انیدراز	10^7
تریوز فسفات ایزومراز	10^9
کربوکسی‌پپتیدار A	10^{11}
فسفوگلوکوموتاز	10^{12}
سوکسینیل‌کوآ ترانسفراز	10^{13}
اوره‌آز	10^{14}
اوروتیدین منوفسفات دکربوکسیلاز	10^{17}

پاسخ به این سئوالات دارای دو قسمت مجزا ولی درهم‌پیچیده می‌باشد. اولین قسمت در مورد نوآرایی‌های پیوندهای کووالان در طی واکنش آنزیمی است. انواع مختلف واکنش‌های شیمیایی بین گروه‌های عامل (زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه اختصاصی، یون‌های فلزی و کوآنزیم‌ها) موجود در سوبستراها و آنزیم‌ها رخ می‌دهند. گروه‌های عامل کاتالیتیک موجود در یک آنزیم ممکن است با یک سوبسترا ایجاد یک پیوند کووالان زودگذر نموده و آن را برای واکنش فعال سازد، یا بعضی از این گروه‌ها ممکن است به‌طورموقتی از سوبسترا به گروهی در آنزیم منتقل گردند. در بسیاری از موارد، این واکنش‌ها تنها در جایگاه فعال آنزیم انجام می‌شوند. آنزیم‌ها با فراهم‌نمودن مسیر دیگر واکنش که انرژی پایین‌تری دارد، انرژی فعال‌سازی را کاهش می‌دهند (و به موجب آن واکنش را تسریع می‌کنند).

قسمت دوم این توجیه در واکنش‌های متقابل غیرکووالان بین آنزیم و سوبسترا می‌باشد. بیشتر انرژی مورد نیاز برای کاهش انرژی‌های فعال‌سازی از واکنش‌های متقابل ضعیف غیرکووالان بین سوبسترا و آنزیم حاصل می‌شوند. عاملی که آنزیم‌ها را از بیشتر کاتالیست‌های غیرآنزیمی مجزا می‌نماید، تشکیل یک کمپلکس ES اختصاصی است. واکنش متقابل بین آنزیم و سوبسترا در این کمپلکس بواسطه همان نیروهایی تقویت می‌گردد که ساختمان پروتئین را تثبیت می‌کنند (نظیر پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل یونی و آبگریز؛ فصل ۶). تشکیل هر کدام از واکنش‌های متقابل ضعیف در کمپلکس ES، همراه با رهاسازی کوچک انرژی آزاد می‌باشد که مقداری پایداری به این واکنش‌های متقابل ایجاد می‌نماید. انرژی حاصل از واکنش‌های متقابل آنزیم-سوبسترا را **انرژی اتصالی** گویند. اهمیت این انرژی فراتر از تثبیت ساده واکنش متقابل آنزیم-سوبسترا می‌باشد. *انرژی اتصالی یک منبع اصلی انرژی آزاد می‌باشد که توسط آنزیم‌ها برای کاهش انرژی‌های فعال‌سازی واکنش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد.*

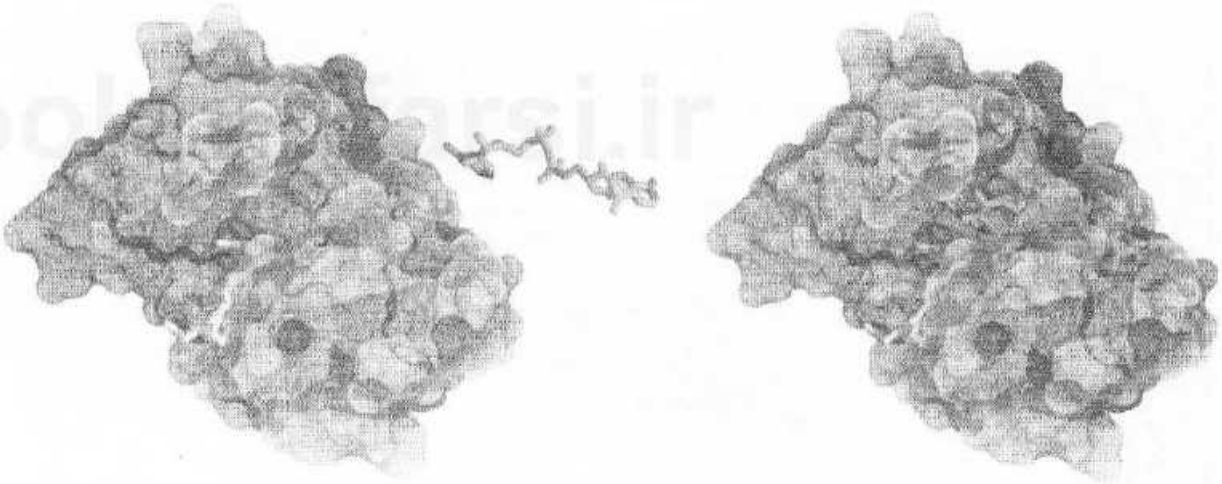
دو اصل اساسی و مرتبط زیر، نحوه بکارگیری انرژی اتصالی غیرکووالان توسط آنزیم‌ها را توجیه می‌نمایند:

۱) بیشتر قدرت کاتالیتیکی آنزیم‌ها نهایتاً از انرژی آزادی حاصل می‌شود که طی تشکیل پیوندهای متعدد ضعیف و واکنش‌های متقابل بین آنزیم و سوبسترا رها می‌گردد. این انرژی اتصالی در ویژگی و همچنین کاتالیز نقش دارد.

۲) در حالت انتقالی، بیشترین میزان واکنش‌های متقابل ضعیف دیده می‌شود؛ جایگاه‌های فعال آنزیم مکمل سوبسترا نبوده بلکه مکمل حالات انتقالی است که طی واکنش آنزیمی و در هنگام تبدیل‌شدن به محصول سوبسترا از آن عبور می‌نماید.

این مطالب برای درک آنزیم‌ها مهم بوده و در ادامه موضوع اصلی بحث می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۸ [شکل ۲۴ ضمیمه رنگی]. اشکال مکمل یک سوبسترا و جایگاه اتصالی آن بر روی آنزیم. آنزیم دی‌هیدروفولات ردوکتاز همراه با سوبسترا آن، یعنی $NADP^+$ (قرمز)، به‌صورت آزاد (چپ) و اتصال‌یافته (راست) نشان داده شده است. سوبسترا دیگر اتصال‌یافته، یعنی تتراهیدروفولات (زرد)، نیز مشاهده می‌گردد. $NADP^+$ به پاکتی اتصال می‌یابد که از نظر شکل و خصوصیات یونی مکمل آن می‌باشد. در حقیقت، همان‌طور که در فصل ۷ دیدیم، مکمل‌بودن پروتئین و لیگاند (در این حالت سوبسترا) به ندرت کامل است. در اغلب موارد، واکنش متقابل یک پروتئین با یک لیگاند، همراه با تغییراتی در کونفورماسیون یکی یا هر دو آنها می‌باشد که به این فرایند انطباق القاءشده گویند. کاملاً مکمل‌نبودن آنزیم و سوبسترا (در اینجا نشان داده نشده است) برای کاتالیز آنزیمی مهم می‌باشد.

واکنش‌های متقابل ضعیف بین آنزیم و سوبسترا در حالت انتقالی مطلوب می‌باشد

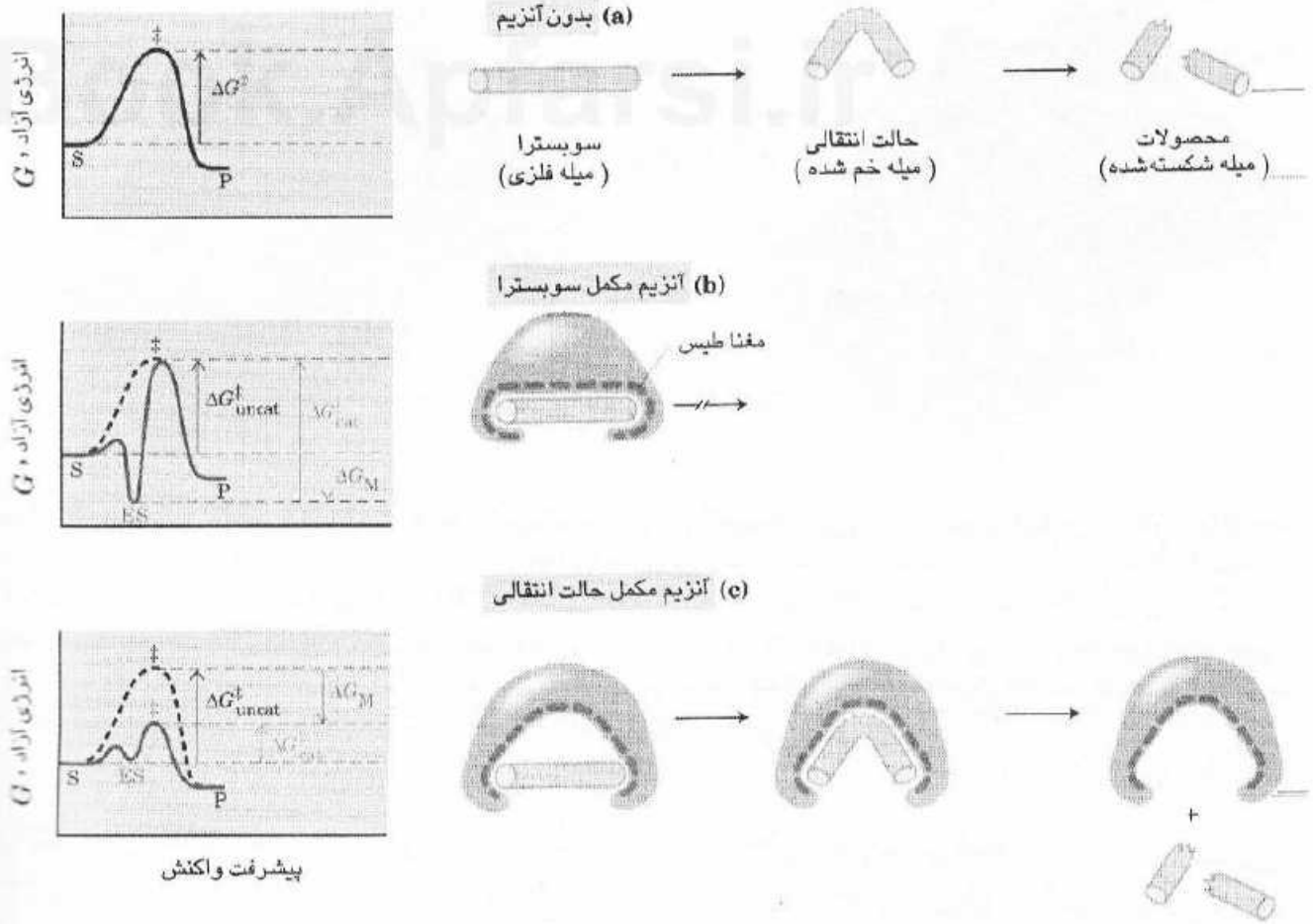
چطور یک آنزیم از انرژی اتصالی برای کاهش انرژی فعال‌سازی یک واکنش استفاده می‌نماید؟ تشکیل کمپلکس ES خود توجیه‌کننده این مطلب نیست ولی لازمه آغاز بحث پیرامون مکانیسم‌های آنزیمی می‌باشد. مطالعات امیل فیشر بر روی ویژگی آنزیمی در سال ۱۸۹۴ منجر به نظریه وی شد که آنزیم‌ها از نظر ساختمانی مکمل سوبستراهای خود بوده و بنابراین همانند «قفل و کلید» با یکدیگر جفت می‌شوند (شکل ۴-۸).

این نظریه زیبا که واکنش متقابل اختصاصی (منحصر) بین دو ملکول بیولوژیک توسط سطوح ملکولی با اشکال مکمل به انجام می‌رسد، اثر عمیقی در تکامل بیوشیمی داشت و چنین واکنش‌های متقابلی در قلب بسیاری از فرایندهای بیوشیمیایی قرار گرفت. هرچند، فرضیه «قفل و کلید» در صورت استفاده در کاتالیز آنزیمی، ممکن است منجر به گمراهی گردد. آنزیمی که کاملاً مکمل سوبسترا خود باشد، یک آنزیم بسیار ضعیف خواهد بود.

واکنش فرضی شکستن یک میله[1] فلزی مغناطیسی را در نظر بگیرید. واکنش کاتالیزنشده در شکل ۸-۵a نشان داده شده است. حال دو آنزیم فرضی (دو میله‌شکن[2]) را در نظر بگیرید که این واکنش را کاتالیز نموده و هر دو آنها از نیروهای مغناطیسی به‌عنوان جایگزینی برای انرژی اتصالی مورد استفاده توسط آنزیم‌های واقعی، بهره می‌برند. در ابتدا آنزیمی را تصور کنید که کاملاً مکمل سوبسترا می‌باشد (شکل ۸-۵ b). جایگاه فعال این میله‌شکن، پاکتی است که از مغناطیس مفروش شده است. برای انجام واکنش (شکستن)، لازم است میله به حالت انتقالی واکنش برسد، در حالی که میله به‌طور محکم و کاملاً مکمل در جایگاه فعالی قرار دارد که نمی‌تواند تا گردد، زیرا در اثر تاشدن مقداری از واکنش‌های متقابل مغناطیسی بین میله و آنزیم از بین خواهد رفت. چنین آنزیمی مانع از انجام واکنش آنزیمی شده و بجای آن سوبسترا را پایدار می‌نماید. در نمودار پیشرفت واکنش (شکل ۸-۵ b)، این نوع کمپلکس ES دارای انرژی است که سوبسترا به سختی می‌تواند از آن فرار نماید. چنین آنزیمی مفید نخواهد بود.

1. Stick 2. Stickase

Book.Apfarsi.ir

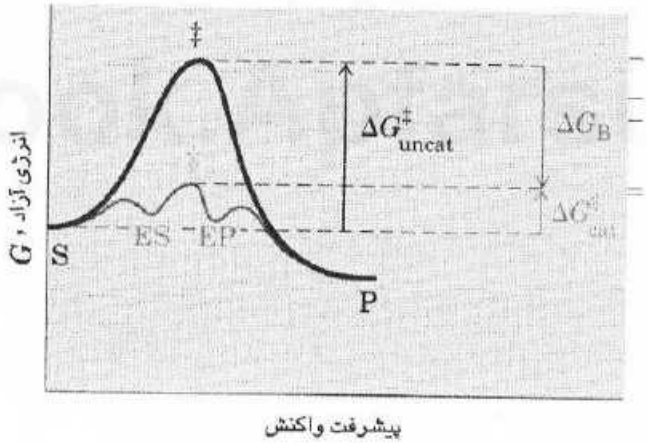


شکل ۵-۸. یک آنزیم فرضی (میله‌شکن) برای کاتالیز شکستن یک میله فلزی. (a) قبل از شکسته‌شدن، ابتدا لازم است میله خم گردد (حالت انتقالی). در هر دو مثال میله‌شکن، واکنش‌های متقابل مغناطیسی بجای واکنش‌های متقابل پیوندی ضعیف بین آنزیم و سوبسترا عمل می‌کنند. **(b)** میله‌شکنی با یک پاکت پوشیده از مغناطیس که مکمل ساختمان میله (سوبسترا) می‌باشد، سبب پیداری سوبسترا می‌گردد. حالت‌های مغناطیسی موجود در بین میله و میله‌شکن مانع از تاشدن می‌گردد. **(c)** آنزیمی که مکمل حالت انتقالی و کنش می‌باشد، به ناپایدارنمودن میله کمک نموده و در کاتالیز واکنش همکاری می‌کند. انرژی اتصالی واکنش‌های متقابل مغناطیسی سبب جبران انرژی آزاد مورد نیاز برای تاشدن میله می‌گردد. نمودارهای پیشرفت واکنش (راست) ماحصل انرژی مکمل‌بودن با سوبسترا را در مقابل مکمل‌بودن با حالت انتقالی نشان می‌دهد (کمپلکس‌های EP حذف شده‌اند). ΔG_M تفاوت بین انرژی‌های حالت انتقالی واکنش‌های کاتالیزشده و بدون کاتالیز را نشان داده و حاصل واکنش‌های متقابل مغناطیسی بین میله و میله‌شکن می‌باشد. وقتی آنزیم مکمل سوبسترا می‌باشد (b)، کمپلکس ES پایدارتر بوده و دارای انرژی آزاد کمتری در حالت پایه در مقایسه با سوبسترای تنها است. نتیجه افزایشی در انرژی فعال‌سازی می‌باشد.

مطالب امروزی کاتالیز آنزیمی که اولین بار توسط هالدان در سال ۱۹۳۰ مطرح گردید، توسط لینوس پائولینگ[1] در سال ۱۹۶۴ بطریق استادانه‌ای بیان شد: برای کاتالیز واکنش‌ها، یک آنزیم می‌بایست مکمل *حالت انتقالی* واکنش باشد. این به آن معنی است که واکنش‌های متقابل مطلوب (از طریق پیوندهای ضعیف) بین سوبسترا و آنزیم، تنها در حالت انتقالی رخ می‌دهند. شکل ۵-۸ c نشان می‌دهد که چنین آنزیمی چطور عمل می‌نماید. وقتی میله فلزی اتصال می‌یابد، تنها یک سری از واکنش‌های مغناطیسی ممکن در ایجاد کمپلکس ES مورد استفاده قرار می‌گیرند. هنوز برای اینکه سوبسترا به حالت انتقالی برسد، لازم است انرژی آزاد آن افزایش یابد. هرچند، حالا، این افزایش انرژی آزاد مورد نیاز برای کشاندن میله به کونفورماسیون تاشده و به‌طورنسبی شکسته‌شده، توسط واکنش‌های متقابل مغناطیسی (انرژی اتصالی) جبران می‌گردد که بین آنزیم و سوبسترادر حالت انتقالی بوجود می‌آیند. بسیاری

1. Linus Pauling

Book.Apfarsi.ir



شکل ۶-۸. نقش انرژی اتصالی در کاتالیز. برای کاهش ان فعال‌سازی یک واکنش، لازم است سیستم میزان انرژی معادل ه کاهش $\Delta G^{\ddagger}$ بدست آورد. بیشتر این انرژی از انرژی اتصالی (ΔG_B حاصل از تشکیل واکنش‌های متقابل ضعیف بین سوبسترا و آنزیم حالت انتقالی، تأمین می‌گردد. نقش ΔG_B مشابه نقش ΔG_M شکل ۵-۸ می‌باشد.

از این واکنش‌های متقابل مستلزم شرکت قسمتهایی از میله می‌باشد که از نقطه شکست دور هستند؛ بنابراین واکنش‌های بین میله‌نکن و قسمتهای غیرواکنش‌کننده میله، مقداری از انرژی مورد نیاز برای کاتالیز شکستن میله را فراهم می‌آورند. این «پرداخت انرژی» معادل یک انرژی فعال‌سازی پایین‌تر و سرعت واکنش بیشتر می‌باشد.

آنزیم‌های واقعی از اصول مشابهی استفاده می‌نمایند. بعضی واکنش‌های متقابل ضعیف در کمپلکس ES ایجاد شده، ولی زمانی این واکنش‌های متقابل بین سوبسترا و آنزیم به حد کامل مکمل‌بودن می‌رسند که سوبسترا به حالت انتقالی برسد. انرژی آزاد (انرژی اتصالی) رهاشده در طی این واکنش‌های متقابل، به‌طورنسبی انرژی مورد نیاز برای رسیدن به قله انرژی را جبران می‌نماید. جمع انرژی فعال‌سازی نامساعد (مثبت) $\Delta G^{\ddagger}$ و انرژی اتصالی مساعد (منفی) ΔG_B منجر به انرژی فعال‌سازی *خالص* کمتر می‌گردد (شکل ۶-۸). حتی در آنزیم، حالت انتقالی یک شکل پایدار نبوده، بلکه یک نقطه کوتاه زمانی است که طی آن سوبسترا در قله یک تپه انرژی قرار دارد. هرچند، سرعت واکنش‌های آنزیمی به مراتب بیش از فرایندهای بدون کاتالیز می‌باشد، زیرا این تپه کوچکتر است. اصل مهم این است که *واکنش‌های متقابل پیوندی ضعیف بین آنزیم و سوبسترا، نیروی پیشبرنده اصلی را برای کاتالیز آنزیمی فراهم می‌آورند*. گروه‌هایی از سوبسترا که در این واکنش‌های متقابل ضعیف شرکت می‌نمایند، می‌توانند در فاصله دوری از پیوندهایی باشند که قرار است شکسته شده و یا تغییر یابند. واکنش‌های متقابل ضعیفی که تنها در حالت انتقالی ایجاد می‌گردند، آنهایی هستند که همکاری اصلی را در کاتالیز دارند.

نیاز به واکنش‌های متقابل ضعیف متعدد برای انجام کاتالیز، یکی از دلایلی است که چرا آنزیم‌ها (و بعضی کوآنزیم‌ها) بسیار بزرگ هستند. لازم است یک آنزیم گروه‌های عامل را برای ایجاد واکنش‌های یونی، پیوندهای هیدروژنی و سایر واکنش‌های متقابل فراهم نماید و همچنین می‌بایست این گروه‌ها را دقیقاً در محل‌هایی قرار دهد که انرژی اتصالی در حالت انتقالی به حد مطلوب برسد.

انرژی اتصالی در ویژگی واکنش و کاتالیز نقش دارد

آیا می‌توانیم به‌طورکمی نشان دهیم که انرژی اتصالی مسئول افزایش شدید سرعت واکنش‌ها توسط آنزیم‌ها می‌باشد؟ بلی. به‌عنوان یک مرجع، معادله ۶-۸ این محاسبه را برای ما ممکن می‌سازد که برای تسریع ۱۰ برابر یک واکنش درجه اول در شرایط معمولی موجود در سلول‌ها، نیاز به کاهش $\Delta G^{\ddagger}$ در حدود ۵/۷ kJ/mol می‌باشد. انرژی حاصل از تشکیل یک واکنش متقابل ضعیف، عموماً ۴ تا ۳۰ kJ/mol می‌باشد. بنابراین انرژی کلی حاصل از تشکیل

Book.Apfarsi.ir

چنین واکنش‌های متقابلی، برای کاهش انرژی فعال‌سازی به میزان ۶۰ تا ۱۰۰ kJ/mol کافی است که جهت توجیه افزایش زیاد سرعت واکنش‌های آنزیمی مورد نیاز است.

همین انرژی اتصالی که انرژی مورد نیاز برای کاتالیز را فراهم می‌آورد، سبب ایجاد **ویژگی** آنزیم، یا توانایی آنزیم در تمایز بین یک سوبسترا و یک ملکول رقابت‌کننده، نیز می‌گردد. به‌طور ذهنی، ویژگی براحتی از کاتالیز تمایز داده می‌شود، ولی این تمایز به‌طورتجربی مشکلتر می‌باشد، زیرا کاتالیز و ویژگی حاصل یک پدیده هستند. در صورتی که یک جایگاه فعال آنزیمی دارای گروه‌های عاملی باشد که به‌طورمطلوب برای ایجاد انواعی از واکنش‌های متقابل ضعیف با یک سوبسترا خاص در حالت انتقالی آرایش یافته باشند، آن آنزیم دیگر قادر نخواهد بود که با همان شدت با هر ملکول دیگری واکنش نماید. برای مثال، اگر سوبسترا دارای یک گروه هیدروکسیل باشد که با یک ریشه Glu موجود بر روی آنزیم ایجاد پیوند هیدروژنی نماید، هر ملکولی که فاقد آن گروه هیدروکسیل خاص باشد، سوبسترای ضعیف‌تری برای آن آنزیم خواهد بود. به علاوه، هر ملکول دارای یک گروه عامل اضافی که آنزیم برای آن فاقد پاکت یا جایگاه اتصالی باشد، از آنزیم بیرون رانده خواهد شد. به‌طورکلی، ویژگی حاصل ایجاد واکنش‌های متقابل ضعیف بین آنزیم و ملکول سوبسترای اختصاصی آن می‌باشد.

اصول کلی اشاره شده در بالا را می‌توان بوسیله انواعی از مکانیسم‌های شناخته‌شده کاتالیتیک شرح داد. این مکانیسم‌ها متقابلاً منحصر نبوده و یک آنزیم خاص ممکن است چندین بار در طی مکانیسم کلی عمل خود، وارد عمل گردد. اغلب تعیین کمی نقش هر مکانیسم کاتالیتیک در سرعت و یا ویژگی هر واکنش آنزیمی مشکل می‌باشد.

انرژی اتصالی نیروی غالب پیشبرنده در مکانیسم‌های متعدد بوده و می‌تواند در بعضی موارد نیروی اصلی و گاهی تنها نیروی شرکت‌کننده در کاتالیز باشد. در نظر بگیرید که برای انجام یک واکنش نیاز به چه چیزهایی می‌باشد. عوامل فیزیکی و ترمودینامیکی برجسته‌ای که در $\Delta G^{\ddagger}$، سد واکنش، نقش دارند عبارتند از: (۱) تغییر در آنتروپی، به شکل آزادی چرخش دو ملکول در محلول؛ (۲) قشری از ملکول‌های آب دارای پیوند هیدروژنی که اکثر بیوملکول‌ها را در محلول آبی احاطه نموده و به تثبیت آنها کمک می‌نمایند؛ (۳) تغییر شکل سوبستراها که می‌بایست در بسیاری از واکنش‌ها رخ دهد؛ و (۴) نیاز به آرایش مناسب گروه‌های عامل کاتالیتیک بر روی آنزیم. انرژی اتصالی می‌تواند برای غلبه بر تمامی این سدها مورد استفاده قرار گیرد.

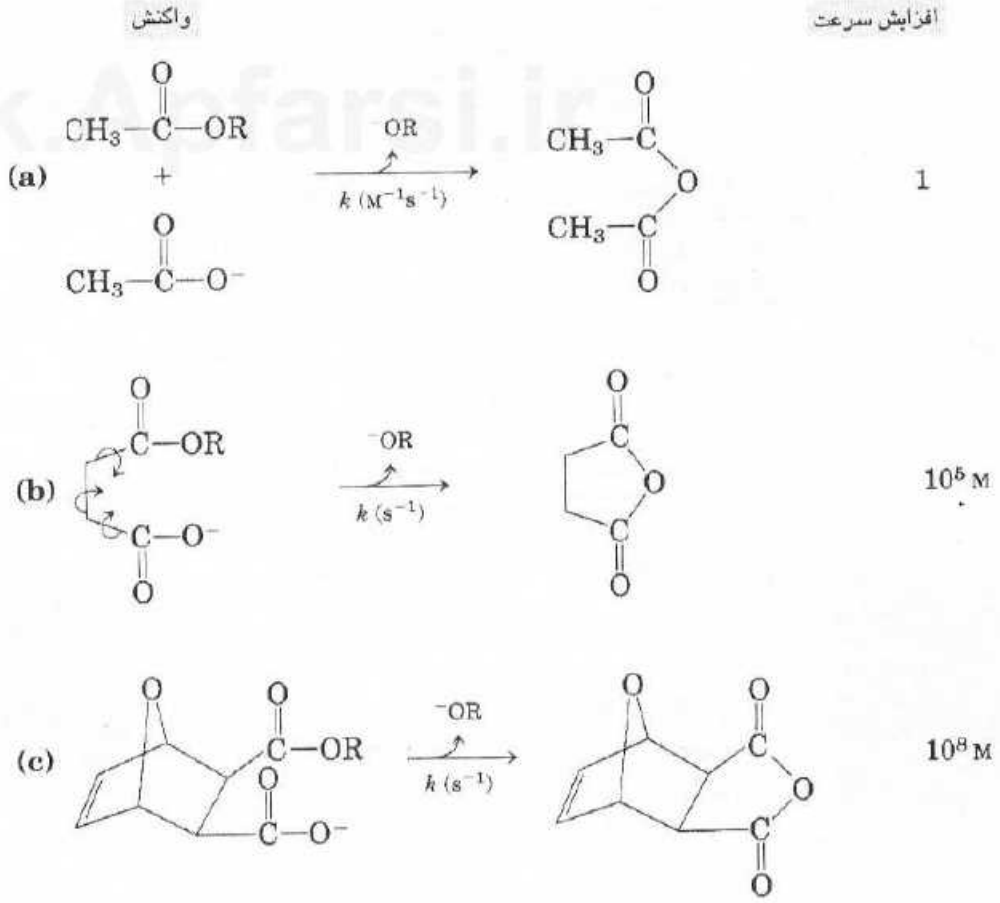
کاهش قابل توجه حرکت نسبی دو سوبسترایی که با یکدیگر که واکنش می‌نمایند، یا **کاهش آنتروپی**، یکی از فواید آشکار اتصال آنها به یک آنزیم می‌باشد. انرژی اتصالی سوبستراها را در موقعیت مناسب برای واکنش قرار می‌دهد؛ این فرایند نقش اساسی در کاتالیز دارد، زیرا تصادمهای موفق بین ملکول‌ها در محلول می‌تواند فوق‌العاده نادر باشد. سوبستراها می‌توانند به‌طور دقیق بر روی آنزیم قرار گرفته و به این ترتیب به وسیله گروهی از واکنش‌های متقابل ضعیف بین هر سوبسترا و گروه‌های دارای موقعیت استراتژیک بر روی آنزیم، ملکول‌های سوبسترا در موقعیت‌های مناسب قرار می‌گیرند. مطالعات نشان داده است که تحت فشاربودن حرکت دو واکنشگر می‌تواند سبب افزایش تا 10^8 M سرعت گردد (شکل ۷-۸).

تشکیل پیوندهای ضعیف بین سوبسترا و آنزیم نیز می‌تواند منجر به **حلال‌زدایی**[1] سوبسترا گردد. واکنش‌های متقابل آنزیم-سوبسترا جایگزین اکثر یا تمامی پیوندهای هیدروژنی بین سوبسترا و آب می‌گردد.

انرژی اتصالی حاصل از واکنش‌های متقابل ضعیف که تنها در حالت انتقالی واکنش ایجاد می‌گردد، برای جبران

1. Desolvation

Book.Apfarsi.ir



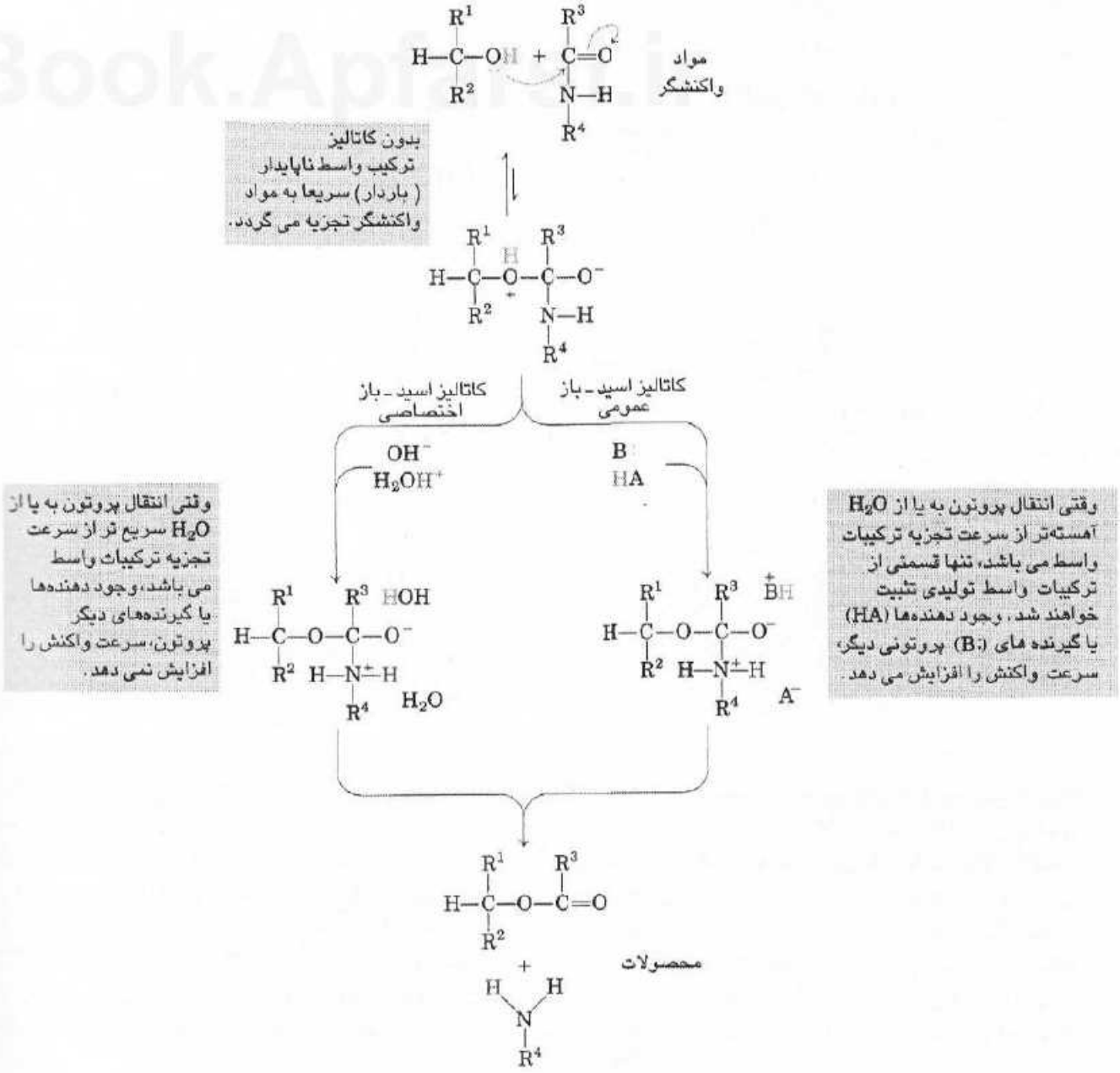
شکل ۷-۸. افزایش سرعت باکاهش آنتروپی. واکنش‌های یک استر با یک گروه کربوکسیلات در ایجاد یک انیدرید نشان داده شده است. گروه R در تمامی موارد یکسان می‌باشد. **(a)** در این واکنش دوملکولی، ثابت سرعت k درجه دوم و با واحد $M^{-1}s^{-1}$ می‌باشد. **(b)** وقتی دو گروه واکنش‌کننده در یک ملکول وجود دارند، واکنش سریعتر می‌باشد. برای این واکنش تک‌ملکولی، k دارای واحد s^{-1} می‌باشد. با تقسیم ثابت سرعت **(b)** بر ثابت سرعت **(a)**، فزایش سرعتی در حدود 10^{5} M بدست می‌آید. (این افزایش دارای واحد مولاریتی می‌باشد، زیرا یک واکنش تک‌ملکولی را با یک واکنش دوملکولی مقایسه کرده‌ایم.) بطریق دیگر، اگر واکنشگر موجود در **(b)** در غلظت ثابت ۱ M موجود می‌بود، گروه‌های واکنشگر به شکلی عمل می‌کردند که گوئی با غلظت 10^{5} M وجود دارند. توجه داشته باشید که واکنشگر موجود در **(b)** دارای آزادی چرخش حول سه پیوند (با پیکان‌های منحنی نشان داده شده‌اند) است، واین نیز کاهش اساسی در آنتروپی را در مقایسه با **(a)** نشان می‌دهد. در صورتی که پیوندهایی که در **(b)** چرخش می‌نمایند، همانند **(c)** تحت فشار باشند، آنتروپی بیشتر کاهش یافته و افزایش سرعتی در حدود 10^{8} M در مقایسه با **(a)** ایجاد می‌گردد.

ترمودینامیکی هر تغییر (اساساً توزیع مجدد الکترونی) مورد نیاز سوبسترا برای انجام واکنش، بکار می‌رود.

بالاخره، با اتصال سوبسترا، خود آنزیم دچار تغییراتی در کونفورماسیون می‌شود که توسط واکنش‌های متقابل ضعیف متعدد با سوبسترا القاء می‌گردد. به این تغییر **انطباق القاءشده**[1] گفته می‌شود که مکانیسم فرض‌شده در سال ۱۹۵۸ توسط دانیل کوشلند[2] می‌باشد. انطباق القاءشده سبب می‌گردد تا گروه‌های عامل اختصاصی موجود در آنزیم، در موقعیت مناسب برای کاتالیز قرار گیرند. این تغییر کونفورماسیونی همچنین سبب تشکیل واکنش‌های متقابل ضعیف دیگری در حالت انتقالی می‌شود. در هر حالت، کونفورماسیون جدید آنزیمی، ویژگی‌های کاتالیتیک را افزایش می‌دهد. همان‌طور که دیدیم، انطباق القاءشده یک خصوصیت معمول برای اتصال قابل‌برگشت لیگاندها به پروتئین‌ها (فصل ۷) می‌باشد. انطباق القاءشده در واکنش متقابل تقریباً هر آنزیمی با سوبسترای خود نیز مهم می‌باشد.

1. Induced fit
2. Daniel Koshland

Book.Apfarsi.ir



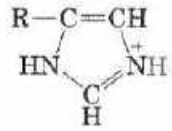
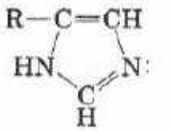
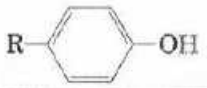
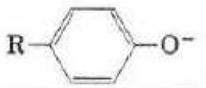
شکل ۸-۸. ایجاد بار غیرمساعد در طی شکستن یک آمید و ازبین‌بردن آن باکاتالیز. در اینجا هیدرولیز یک پیوند پپتیدی نشان داده شده است که همان واکنشی است که توسط کیموتریپسین و سایر پروتئازها کاتالیز می‌گردد. ایجاد بار نامساعد بوده و می توان آنرا با دادن یک پروتون توسط H_3O^+ (کاتالیز اسیدی اختصاصی) یا HA (کاتالیز اسیدی عمومی) برطرف نمود که در آن HA می‌تواند هر اسیدی باشد. به‌طورمشابه، آنرا می‌توان با استخراج پروتون توسط OH^- (کاتالیز بازی اختصاصی) یا :B (کاتالیز بازی عمومی) خنثی نمود که در آن :B می‌تواند هر بازی باشد.

گروه‌های کاتالیتیک اختصاصی در کاتالیز نقش دارند

وقتی یک سوبسترا به یک آنزیم متصل می‌گردد، قرارگیری گروه‌های وظیفه‌دار در موقعیتهای مناسب، با استفاده از مکانیسم‌های مختلف، شامل کاتالیز اسید - باز عمومی، کاتالیزکووالان و کاتالیز فلزی یونی، به تشکیل و تجزیه پیوند کمک می‌کنند. این مکانیسم‌ها از مکانیسم‌های متکی بر انرژی اتصالی متفاوت هستند، زیرا عموماً مستلزم واکنش متقابل زودگذر کووالان با یک سوبسترا یا انتقال گروه به یا از یک سوبسترا می‌باشند.

کاتالیز اسید-باز عمومی: بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی مستلزم تشکیل ترکیبات واسط ناپایدار باردار می‌باشند که تمایل دارند سریعاً به اجزاء واکنشگر تشکیل دهنده خود تجزیه و بنابراین واکنش را آهسته نمایند (شکل ۸-۸).

Book.Apfarsi.ir

ریشه های اسید آمینه	شکل اسید عمومی (دهنده پروتون)	شکل باز عمومی (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		

شکل ۹-۸. اسیدهای آمینه در کاتالیز اسید-باز عمومی. بسیاری از واکنش‌ها توسط دهنده‌های پروتونی (اسیدهای عمومی) یا گیرنده‌های پروتونی (بازهای عمومی) تسریع می‌شوند. جایگاه‌های فعال بعضی آنزیم‌ها دارای گروه‌های وظیفه‌دار اسید آمینه، نظیر انواع نشان داده شده در اینجا، هستند که در فرایند کاتالیتیک بعنوان دهنده‌ها یاگیرنده‌های پروتون به‌عنوان می‌نمایند.

ترکیبات واسط باردار اغلب می‌توانند با انتقال یا برداشت پروتون از سوبسترا یا ترکیب واسط، ایجاد ترکیباتی کنند که تجزیه آنها به محصولات، آسان‌تر از تجزیه به واکنشگرها صورت می‌پذیرد. برای واکنش‌های غیرآنزیمی، انتقالات پروتونی می‌تواند تنها به کمک اجزاء آب و یا با همکاری دهنده‌ها یا گیرنده‌های پروتونی ضعیف دیگر انجام می‌شود. کاتالیزی که تنها از یون‌های H^+ (H_3O^+) یا OH^- موجود در آب استفاده می‌نماید را **کاتالیز اسید-باز اختصاصی** گویند. در صورتی که انتقال پروتون‌ها بین ترکیبات واسط و آب، سریعتر از تجزیه ترکیب واسط به مواد واکنشگر رخ دهد، ترکیب واسط ایجادشده در هر زمان، به‌طورمؤثری تثبیت می‌شود. در این حالت، هیچ کاتالیز دیگری به واسطه سایر گیرنده‌ها و دهنده‌های پروتونی رخ نخواهد داد. هرچند در بسیاری از موارد، آب کافی نمی‌باشد. اصطلاح **کاتالیز اسید-باز عمومی** اشاره به انتقالات پروتونی می‌نماید که بواسطه سایر کلاس‌های ملکولی به انجام می‌رسند. برای واکنش‌های غیرآنزیمی در محلول‌های آبی، این کاتالیز تنها زمانی رخ می‌دهد که ترکیب واسط ناپایدار واکنش، سریع‌تر از انتقال پروتون از آب یا به آب، به واکنشگرها تجزیه گردد. در این حالت، انواعی از اسیدهای آلی ضعیف می‌توانند به‌عنوان دهنده‌های پروتونی یا بازهای آلی ضعیف می‌توانند به‌عنوان گیرنده‌های پروتونی عمل نموده و نقش آب را تکمیل نمایند.

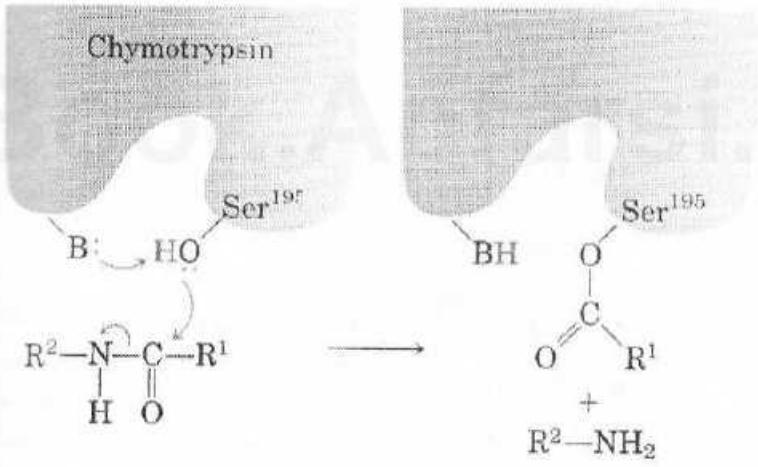
در جایگاه فعال یک آنزیم، تعدادی از زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه می‌توانند به‌طورمشابه به‌عنوان دهنده یا گیرنده پروتون عمل نمایند (شکل ۹-۸). این گروه‌ها می‌توانند به‌طوردقیق در جایگاه فعال آنزیم قرار گرفته و امکان انتقالات پروتونی را فراهم نمایند، این موضوع سبب می‌گردد که سرعت 10^2 تا 10^3 برابر افزایش یابد. این نوع کاتالیز در اکثر آنزیم‌ها دیده می‌شود.

کاتالیز کووالان: در این نوع کاتالیز، یک پیوند کووالان زودگذر بین آنزیم و سوبسترا ایجاد می‌گردد. هیدرولیز یک پیوند پپتیدی را بین گروه‌های A و B، در نظر بگیرید:

$$A—B \xrightarrow{H_2O} A + B$$

در حضور یک کاتالیست کووالان (یک آنزیم با یک گروه نوکلئوفیل :X)، واکنش به‌صورت زیر خواهد بود:

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۰-۸. کاتالیز کووالان و اسید-باز عمومی. اولین مرحله در واکنش کاتالیزی توسط کیموتریپسین، مرحله آسیلاسیون می‌باشد. گروه هیدروکسیل Ser^{195} در واکنشی به کمک کاتالیز باز عمومی (باز زنجیر جانبی His^{57} می‌باشد)، به‌عنوان نوکلئوفیل عمل می‌نماید. این امر سبب ایجاد مسیر جدیدی برای تجزیه هیدرولیتیک یک پیوند پپتیدی می‌گردد. کاتالیز تنها زمانی به انجام می‌رسد که مسیر جدید سریعتر از واکنش کاتالیزنشده باشد. واکنش کیموتریپسین با جزئیات بیشتر در شکل ۱۹-۸ شرح داده شده است.

$$A{-}B + X: \longrightarrow A{-}X + B \xrightarrow{H_2O} A + X: + B$$

این امر سب تغییر مسیر واکنش شده و تنها زمانی منجر به کاتالیز می‌گردد که این مسیر جدید دارای انرژی فعال‌سازی کمتری نسبت به مسیر بدون کاتالیز باشد. هر دو این مراحل جدید می‌بایست سریعتر از واکنش بدون کاتالیز باشند. تعدادی از زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه، شامل تمامی موارد موجود در شکل ۹-۸، و گروه‌های وظیفه‌دار بعضی از کوفکتورهای آنزیمی، می‌توانند به‌عنوان نوکلئوفیل در تشکیل پیوندهای کووالان با سوبستراها عمل نمایند. این کمپلکسهای کووالان همیشه متحمل واکنش دیگری برای تولید مجدد آنزیم آزاد می‌گردند. پیوند کووالان ایجادشده بین آنزیم و سوبسترا می‌تواند یک سوبسترا را برای واکنش بعدی بطریقی فعال نماید که معمولاً برای کوآنزیم یا گروه خاصی اختصاصی است.

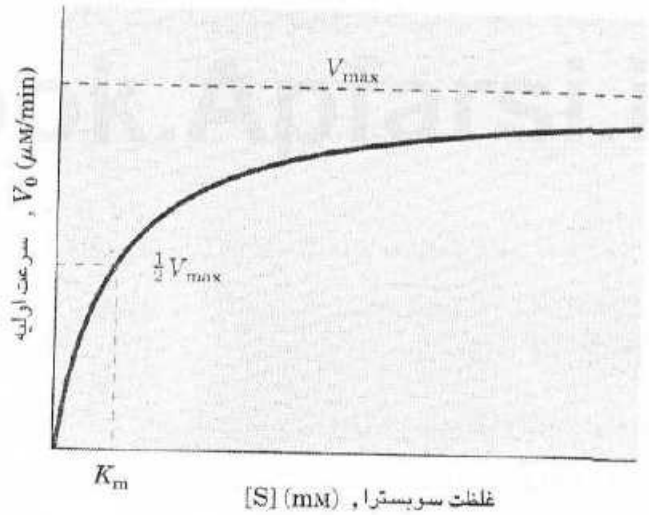
کاتالیز فلزی یونی: فلزاتی که اتصال محکمی به آنزیم دارند و یا همراه با سوبسترا از محلول برداشت می‌شوند، به روش‌های مختلف می‌توانند در کاتالیز شرکت نمایند. واکنش‌های متقابل یونی بین یک فلز متصل به آنزیم و یک سوبسترا، می‌تواند به جهت‌گیری سوبسترا برای واکنش یا تثبیت حالات انتقالی باردار واکنش، کمک نمایند. برای این منظور از واکنش‌های متقابل اتصالی ضعیفی استفاده می‌گردد که قبلاً شرح داده شدند. فلزات همچنین می‌توانند با انجام تغییرات قابل‌برگشتی در وضعیت اکسیداسیون یون‌های فلزی، واکنش‌های اکسیداسیون-احیاء را وساطت نمایند. تقریباً یک سوم تمامی آنزیم‌های شناخته‌شده نیاز به یک یا چند یون فلزی برای کاتالیز دارند.

بیشتر آنزیم‌ها ترکیبی از مکانیسم‌های کاتالیتیکی مختلف را برای افزایش سرعت مورد استفاده قرار می‌دهند. واکنش کاتالیزشونده توسط کیموتریپسین، مثال خوبی برای استفاده توأم کاتالیز کووالان و کاتالیز اسید-باز عمومی است. اولین مرحله، شکستن یک پیوند پپتیدی است که همراه با تشکیل یک اتصال کووالان بین یک ریشه Ser در روی آنزیم و قسمتی از سوبسترا می‌باشد؛ این واکنش توسط کاتالیز باز عمومی بواسطه سایر گروه‌های موجود در آنزیم تسریع می‌گردد (شکل ۱۰-۸). واکنش کیموتریپسین با جزئیات بیشتر در این فصل شرح داده خواهد شد.

کینتیک آنزیمی به‌عنوان راهی برای شناخت مکانیسم آنزیمی

معمولاً روش‌های متعددی برای مطالعه مکانیسم عمل آنزیم‌های تخلیص‌شده مورد استفاده قرار می‌گیرد. دانش مربوط به ساختمان سه‌بعدی پروتئین اطلاعات مهمی را فراهم نموده و ارزش اطلاعات ساختمانی به میزان زیادی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۸. اثر غلظت سوبسترا بر روی سرعت اولیه یک واکنش آنزیمی. V_{max} را تنها می‌توان از روی چنین نموداری تخمین زد، زیرا V_0 به V_{max} نزدیک شده ولی هرگز کاملاً به آن نمی‌رسد. غلظت سوبستراپی که در آن V_0 نصف سرعت حداکثر می‌باشد، ثابت میکائیلیس-منتن یا K_m می‌باشد. غلظت آنزیم در چنین آزمایشی آنقدر پایین می‌باشد که، حتی در موارد [S] کم و نسبتاً کم، $[E] << [S]$ خواهد بود. واحدهای نشان داده شده شاخص واکنش‌های آنزیمی بوده و تنها برای نشان‌دادن معنی V_0 و [S] آورده شده‌اند.

توسط شیمی پروتئینی کلاسیک و جهش‌زایی هدایت‌شده به محل[1] (تغییر توالی اسید آمینه یک پروتئین توسط مهندسی ژنتیک؛ فصل ۲۹ را ببینید) افزایش یافته است. این فن‌آوری‌ها به آنزیم‌شناس‌ها امکان می‌دهند که نقش هر اسید آمینه را در ساختمان و عمل آنزیم بررسی نمایند. هرچند، روش اصلی برای مطالعه مکانیسم یک واکنش آنزیمی، تعیین سرعت واکنش و نحوه تغییر آن در پاسخ به تغییرات پارامترهای آنزیم می‌باشد که به آن **کینتیک آنزیمی** گفته می‌شود. این روش قدیمی‌ترین روش برای شناخت مکانیسم آنزیمی بوده و تا به امروز به‌عنوان مهمترین باقی مانده است. در این قسمت، کینتیک آنزیم‌ها به‌طورکلاسیک مورد بررسی قرار می‌گیرد. اطلاعات بیشتر را می‌توان از منابع آورده‌شده در انتهای این فصل پیدا نمود.

غلظت سوبسترا بر روی سرعت واکنش‌های آنزیمی اثر دارد

یک عامل کلیدی مؤثر بر روی سرعت واکنش کاتالیزشده توسط یک آنزیم خالص در محیط آزمایشگاه، غلظت سوبسترا، [S]، می‌باشد. هرچند، تغییرات [S] در طی دوره واکنش با تبدیل سوبسترا به محصول، مطالعه اثرات غلظت سوبسترا را پیچیده می‌نماید. یک روش ساده‌شده در آزمایشات کینتیکی، اندازه‌گیری **سرعت ابتدایی**، V_0، در زمانی می‌باشد که [S] عموماً بسیار بیشتر از غلظت آنزیم، [E]، می‌باشد. حال اگر زمان بعد از شروع یک واکنش، به اندازه کافی کوچک باشد، تغییرات [S] ناچیز بوده و می‌توان [S] را ثابت درنظر گرفت.

اثر [S] متفاوت بر روی V_0 در غلظت ثابت آنزیم، در شکل ۱۱-۸ نشان داده شده است. در غلظت نسبتاً پایین سوبسترا، V_0 تقریباً به‌طور خطی با افزایش [S] افزایش می‌یابد. در غلظت‌های بالاتر سوبسترا، V_0 در پاسخ به افزایش [S]، کمتر و کمتر افزایش می‌یابد و بالاخره، به نقطه‌ای می‌رسیم که بعد از آن افزایش V_0 در پاسخ به افزایش [S] دیگر مشاهده نمی‌گردد. این ناحیه کفه‌مانند V_0 نزدیک به **سرعت حداکثر**، V_{max}، می‌باشد.

کمپلکس ES کلید درک این رفتار کینتیکی می‌باشد که ما بحث پیرامون کاتالیز را با آن آغاز نمودیم. الگوی کینتیک شکل ۱۱-۸، در سال ۱۹۰۳ ویکتور هنری[2] و ورتز[3]، را به این نظریه هدایت نمود که ترکیب یک آنزیم با ملکول سوبسترای خود و ایجاد یک کمپلکس ES، مرحله ضروری در کاتالیز آنزیمی است. این نظریه به یک تئوری کلی در مورد عمل آنزیمی، بخصوص توسط لئونور میکائلیس و ماد منتن در سال ۱۹۱۳ منجر گردید. طبق فرضیه

1. Site-directed mutagenesis
2. Victor Henri
3. Wurtz

Book.Apfarsi.ir

آنها ابتدا آنزیم به‌طوربرگشت‌پذیر با سوبسترا خود ترکیب شده و در یک مرحله قابل‌برگشت نسبتاً سریع، ایجاد یک کمپلکس آنزیم-سوبسترا می‌نماید:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \qquad (۸-۷)$$

سپس کمپلکس ES در مرحله دوم آهسته‌تر، تجزیه شده و تولید آنزیم آزاد و محصول P واکنش را می‌نماید:

$$ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P \qquad (۸-۸)$$



Leonor Michaelis
1875–1949



Maud Menten
1879–1960

چون واکنش آهسته‌تر دوم (۸-۸) سرعت کل واکنش را محدود می‌نماید، سرعت کلی واکنش می‌بایست متناسب با غلظت مواد واکنش‌کننده در مرحله دوم، یعنی ES، باشد.

در هر لحظه از یک واکنش آنزیمی، آنزیم به دو شکل آزاد یا ترکیب‌نشده E و شکل ترکیب‌شده ES، وجود دارد. در [S] پایین، بیشتر آنزیم به شکل آزاد E وجود دارد. در اینجا سرعت واکنش متناسب با [S] می‌باشد، زیرا با افزایش [S]، تعادل معادله ۷-۸ بیشتر به سمت تشکیل مقدار بیشتری ES کشانده می‌شود. حداکثر سرعت ابتدایی واکنش آنزیمی (V_{max}) زمانی ایجاد می‌گردد که تمامی آنزیم به شکل ES بوده و غلظت E آزاد تقریباً صفر باشد. تحت این شرایط، آنزیم از سوبسترای خود «اشباع‌شده» و افزایش بیشتر [S] تأثیری بر روی سرعت نخواهد داشت. این حالت زمانی وجود دارد که [S] به اندازه کافی بالا بوده تا اساساً تمامی آنزیم آزاد به شکل ES تبدیل گردد. بعد از تجزیه کمپلکس ES و تولید محصول P، آنزیم آزاد شده تا واکنش ملکول دیگر سوبسترا را کاتالیز نماید. این اثر اشباع یک صفت متمایزکننده کاتالیست‌های آنزیمی بوده و مسئول ایجاد حالت کفه در شکل ۱۱-۸ می‌باشد.

وقتی در ابتدا آنزیم با مقادیر مازاد سوبسترا مخلوط می‌گردد، یک دوره اولیه، **حالت قبل‌پایدار**[۱] وجود دارد که در طی آن غلظت ES روبه افزایش می‌باشد. این دوره آنقدر کوتاه می‌باشد که نمی‌توان بسادگی آن را مشاهده نمود. واکنش سریعاً به یک **حالت پایدار**[۲] می‌رسد که در آن [ES] (و غلظت هر ترکیب واسط دیگری) در طی زمان، تقریباً ثابت باقی می‌ماند. مفهوم یک حالت پایدار در سال ۱۹۲۵ توسط بریجز[۳] و هالدان[۴] مورد استفاده قرار گرفت. به‌طور کلی، اندازه‌گیری‌شده، انعکاسی از حالت پایدار می‌باشد، ولو اینکه V_0 محدود به ابتدای دوره واکنش باشد، و بررسی این سرعت‌های اولیه را **کینتیک حالت پایدار** گویند.

ارتباط بین غلظت سوبسترا و سرعت واکنش را می‌توان به‌طورکمی بیان نمود

منحنی که ارتباط بین [S] و V_0 را بیان می‌نماید (شکل ۱۱-۸)، دارای همان شکل کلی اکثر آنزیم‌ها می‌باشد. این

1. Pre-steady state 2. Steady state 3. Briggs 4. Haldane

Book.Apfarsi.ir

منحنی شبیه یک هذلولی راست‌گوشه[1] است) که می‌توان با استفاده از معادله میکائیلیس-منتن بطریق جبری بیان نمود. میکائیلیس و منتن این معادله را با شروع از فرضیه پایه خود بدست آوردند که مرحله محدودکننده سرعت در واکنش‌های آنزیمی، تجزیه کمپلکس ES به محصول و آنزیم آزاد می‌باشد. این معادله به‌صورت زیر نوشته می‌شود:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \qquad (۸-۹)$$

اصطلاحات مهم شامل [S]، V_0، V_{max} و ثابتی بنام ثابت میکائلیس یا K_m می‌باشد. تمامی این اصطلاحات بطریق تجربی بسادگی قابل اندازه‌گیری هستند.

در اینجا منطق پایه و مراحل جبری ریشه امروزی معادله میکائیلیس-منتن را مورد بررسی قرار می‌دهیم که شامل فرض حالت پایدار بریجز و هالدان می‌باشد. این ریشه با دو مرحله پایه‌ای آغاز می‌گردد که نیاز به تشکیل و تجزیه ES (معادلات ۸-۷ و ۸-۸) دارد. در ابتدای واکنش، غلظت محصول، [P]، ناچیز بوده و برای ساده نمودن می‌توان از k_{-2} (که واکنش عکس از P به S را نشان می‌دهد) صرفنظر نمود. این فرض مهم نبوده ولی کار ما را ساده می‌کند. پس کل واکنش به‌صورت زیر خلاصه می‌گردد:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \overset{k_2}{\rightleftharpoons} E + P \qquad (۸-۱۰)$$

V_0 با تجزیه ES در جهت تولید محصول مشخص شده که خود توسط [ES] تعیین می‌گردد:

$$V_0 = k_2[ES] \qquad (۸-۱۱)$$

چون [ES] در معادله ۸-۱۱ را نمی‌توان به‌طورتجربی و ساده اندازه‌گیری نمود، باید با یافتن بیان دیگری برای [ES] آغاز کنیم. ابتدا، اصطلاح $[E_t]$ را معرفی می‌کنیم که غلظت تام آنزیم (مجموع آنزیم آزاد و متصل به سوبسترا) می‌باشد. آنگاه غلظت آنزیم آزاد را می‌توان به‌صورت $[E_t] - [ES]$ نمایش داد. همچنین به علت اینکه [S] به‌طور معمول بسیار بیشتر از $[E_t]$ می‌باشد، مقدار سوبسترایی که در هر زمان خاص به آنزیم متصل شده است، در مقایسه با [S] ناچیز خواهد بود. با در نظر گرفتن این شرایط در ذهن، مراحل زیر ما را به بیان V_0 بر حسب پارامترهای قابل‌اندازه‌گیری به‌طورساده رهنمون خواهد نمود.

مرحله ۱. سرعت تشکیل و تجزیه ES به‌وسیله ثابت‌های k_1 (تشکیل) و $k_{-1} + k_2$ (تجزیه) به‌صورت زیر تعیین می‌گردد:

$$\text{Rate of ES formation} = k_1([E_t] - [ES])[S] \qquad (۸-۱۲)$$

$$\text{Rate of ES breakdown} = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \qquad (۸-۱۳)$$

مرحله ۲. حال فرض مهمی در نظر گرفته می‌شود، مبنی بر آن که سرعت ابتدایی واکنش، حالت پایداری را نشان می‌دهد که در آن [ES] ثابت می‌باشد، یعنی، سرعت تشکیل ES برابر سرعت تجزیه آن می‌باشد. این را فرض حالت پایدار گویند. در حالت پایدار، معادلات ۸-۱۲ و ۸-۱۳ را می‌توان برابر در نظر گرفت:

1. Rectangular hyperbola

Book.Apfarsi.ir

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES] \qquad (۸-۱۴)$$

مرحله ۳. حال با استفاده از یک سری عملیات جبری، معادله ۱۴-۸ را برای [ES] حل می‌کنیم. ابتدا سمت چپ را ضرب کرده و سمت راست را ساده می‌کنیم:

$$k_1[E_t][S] - k_1[ES][S] = (k_{-1} + k_2)[ES] \qquad (۸-۱۵)$$

با افزودن $k_1[ES][S]$ به هر دو طرف و ساده نمودن داریم:

$$k_1[E_t][S] = (k_1[S] + k_{-1} + k_2)[ES] \qquad (۸-۱۶)$$

حال معادله را برای [ES] حل می‌کنیم:

$$[ES] = \frac{k_1[E_t][S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2} \qquad (۸-۱۷)$$

این معادله را می‌توان با ترکیب ثابتهای تعادل، ساده‌تر نمود:

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + (k_2 + k_{-1})/k_1} \qquad (۸-۱۸)$$

اصطلاح $(k_2 + k_{-1})/k_1$ را **ثابت میکائیلیس**، K_m، گویند. با قراردادن این ثابت، معادله ۱۸-۸ به‌صورت زیر ساده می‌گردد:

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{K_m + [S]} \qquad (۸-۱۹)$$

مرحله ۴. حال می‌توان V_0 را برحسب [ES] بیان نمود. با جایگزینی سمت راست معادله ۱۹-۸ بجای [ES] در معادله ۱۱-۸ خواهیم داشت:

$$V_0 = \frac{k_2[E_t][S]}{K_m + [S]} \qquad (۸-۲۰)$$

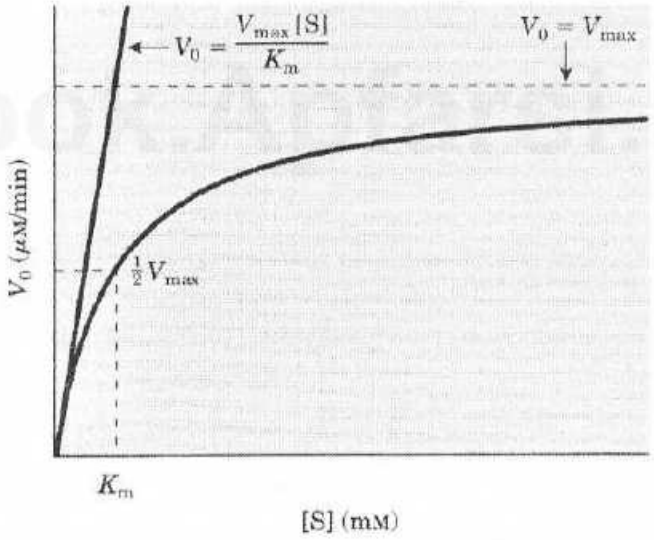
این معادله را می‌توان بیشتر ساده نمود. از آنجایی که حداکثر سرعت در زمانی رخ می‌دهد که آنزیم اشباع است، یا $[ES] = [E_t]$، V_{max} را می‌توان به‌صورت $k_2[E_t]$ تعریف نمود. با جایگزینی در معادله ۲۰-۸، معادله ۹-۸ به‌دست می‌آید:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

این **معادله میکائیلیس-منتن** یا **معادله سرعت**، برای یک واکنش آنزیمی تک‌سوبسترایی می‌باشد. این معادله بیانی از ارتباط کمی بین سرعت اولیه V_0، سرعت اولیه حداکثر[1] V_{max} و غلظت ابتدایی سوبسترا [S] می‌باشد که همگی از طریق ثابت میکائیلیس K_m، با یکدیگر مرتبط می‌گردند. توجه داشته باشید که K_m دارای واحد غلظت می‌باشد.

1. Maximum initial velocity

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۸. وابستگی سرعت اولیه به غلظت سوبسترا. این شکل پارامترهای کینتیکی را نشان می‌دهد که تعیین‌کننده حدود منحنی در [S] پایین و بالا می‌باشند در [S] پایین، $K_m >> [S]$ بوده و اصطلاح [S] در مخرج معادله میکائیلیس-منتن (معادله ۹-۸) بی‌معنی می‌گردد. در این حالت، معادله به $V_0 = V_{max}[S]/K_m$ ساده شده و همان‌طور که مشاهده می‌گردد، V_0 یک ارتباط خطی با [S] پیدا می‌نماید. در غلظت‌های بالای [S]، که در آن $K_m << [S]$ می‌باشد، اصطلاح K_m در مخرج معادله میکائیلیس-منتن بی‌معنی شده و معادله به‌صورت $V_0 = V_{max}$ ساده‌می‌شود؛ این موضوع موافق با حالت کفه‌ای می‌باشد که در [S] بالا مشاهده می‌گردد. بنابراین، معادله میکائیلیس-منتن با وابستگی مشاهده‌شده V_0 به [S] سازگار بوده و شکل منحنی توسط عبارات V_{max}/K_m در [S] پایین و V_{max} در [S] بالا تعیین می‌گردد.

این معادله متناسب با مشاهدات تجربی است؟ بلی: می‌توان با در نظر گرفتن حالات محدودی که در آنها [S] بسیار بالا یا بسیار پایین می‌باشد، همانند شکل ۱۲-۸، این موضوع را تائید نمود.

یک ارتباط عددی مهم حاصل از معادله میکائیلیس-منتن در حالت خاصی است که در آن V_0 دقیقاً برابر نصف V_{max} می‌باشد (شکل ۱۲-۸). آنگاه

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]} \qquad (۸-۲۱)$$

با تقسیم طرفین معادله بر V_{max}، خواهیم داشت:

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \qquad (۸-۲۲)$$

با حل معادله برای K_m، خواهیم داشت که $K_m + [S] = 2[S]$، یا

$$K_m = [S], \qquad \text{when } V_0 = \tfrac{1}{2}V_{max} \qquad (۸-۲۳)$$

این معادله یک تعریف بسیار مفید عملی را برای K_m نشان می‌دهد: K_m برابر غلظتی از سوبسترا می‌باشد که در آن V_0 برابر نصف V_{max} می‌باشد.

معادله میکائیلیس-منتن (معادله ۹-۸) را می‌توان بطریق جبری به شکلی تبدیل نمود که برای تعیین عملی K_m و V_{max} (کادر ۱-۸) و همان‌طور که بعداً شرح داده خواهد شد، در بررسی عمل یک مهارکننده (کادر ۲-۸ را ببینید) مفید می‌باشد.

پارامترهای کینتیک برای مقایسه فعالیتهای آنزیمی بکار می‌روند

تمایز بین معادله میکائیلیس-منتن و مکانیسم کینتیک اختصاصی که در ابتدا پایه این معادله بر آن نهاده شده است، مهم می‌باشد. این معادله، رفتار کینتیکی آنزیم‌های بسیار زیادی را مشخص نموده و تمامی آنزیم‌هایی که وابستگی هیپربولیک V_0 بر [S] را نشان می‌دهند، از **کینتیک میکائیلیس-منتن** پیروی می‌نمایند. قاعده عملی $K_m = [S]$ در زمان $V_0 = \frac{1}{2}V_{max}$ (معادله ۲۳-۸)، در مورد تمامی آنزیم‌هایی صادق است که از معادله میکائیلیس-منتن پیروی

Book.Apfarsi.ir

کادر ۱-۸. تغییر معدله میکائیلیس-منتن: نمودار معکوس دوطرفه

معادله میکائیلیس-منتن

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

را می‌توان از نظر جبری به معادلاتی تبدیل نمود که برای تهیه نمودار اطلاعات تجربی مفیدتر می‌باشند. یکی از این تغییرات معمول، به‌طورساده با معکوس‌نمودن هر دو طرف معادله میکائیلیس-منتن حاصل می‌گردد.

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{max}[S]}$$

با جدانمودن اجزاء صورت کسر سمت راست معادله خواهیم داشت

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{[S]}{V_{max}[S]}$$

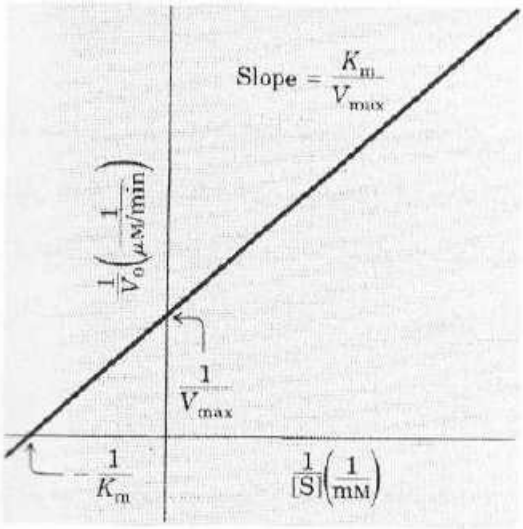
که به‌صورت زیر ساده می‌گردد

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

این شکل معادله میکائیلیس-منتن را **معادله لینویور-برک** (Lineweaver-Burk equation) گویند. برای آنزیم‌هایی که از رابطه میکائیلیس-منتن پیروی می‌نمایند، نمودار $1/V_0$ در مقابل $1/[S]$ («معکوس دوطرفه» V_0 در برابر $[S]$) می‌باشد که یک خط راست ایجاد می‌نماید (شکل ۱). این خط دارای شیبی برابر K_m/V_{max} می‌باشد که محور $1/V_0$ را در $1/V_{max}$ و محور $1/[S]$ را در $-1/K_m$ قطع می‌نماید. مزیت بزرگ این نمایش معکوس دوطرفه که معادله لینویور-برک نامیده می‌شود، این است که امکان تعیین‌مقدار صحیح‌تر V_{max} را فراهم می‌آورد که با استفاده از یک نمودار ساده V_0 در برابر $[S]$ تنها می‌توان آن را تخمین زد.

تغییرات دیگر معادله میکائیلیس-منتن نیز وجود دارد که هر کدام مزایای خاصی در ارزیابی اطلاعات کینیک آنزیم‌ها دارند.

نمودار معکوس دوطرفه سرعت واکنش‌ها، در تمایز بین انواع مختلف مکانیسم‌های واکنش‌های آنزیمی (شکل ۱۴-۸ را ببینید) و بررسی مهارکننده‌های آنزیمی مفید می‌باشد.



شکل ۱. نمودار معکوس دوطرفه یا لینویور-برک.

می‌نمایند. (موارد استثناء اصلی کینتیک میکائیلیس-منتن، آنزیمای تنظیمی می‌باشند که در پایان این فصل مورد بررسی قرار خواهند گرفت.) با این وجود، معدله میکائیلیس-منتن متکی بر مکانیسم واکنش دو مرحله‌ای ساده فرض‌شده توسط میکائیلیس و منتن نمی‌باشد (معادله ۱۰-۸). بسیاری از آنزیم‌هایی که از معادله میکائیلیس-منتن پیروی می‌کنند، دارای مکانیسم‌های واکنش کاملاً متفاوتی هستند و آنزیم‌هایی که واکنش‌های شش یا هشت مرحله قابل‌شناسایی را کاتالیز می‌نمایند، همان رفتار کینتیک حالت پایدار را اغلب نشان می‌دهند. گرچه معادله ۲۳-۸ برای بسیاری از آنزیم‌ها صادق می‌باشد، هم بزرگی و هم معنی واقعی V_{max} و K_m می‌توانند از یک آنزیم به آنزیم دیگر متفاوت باشد. این موضوع یک محدودیت مهم برای کینتیک آنزیمی در حالت پایدار می‌باشد. V_{max} و K_m پارامترهایی هستند که می‌توان آنها را برای هر آنزیم خاص به‌طورتجربی بدست آورد، ولی این پارامترها به تنهایی اطلاعات کمی را در مورد تعداد، سرعت یا ماهیت شیمیایی مراحل مجزای موجود در یک واکنش بدست می‌دهند. با این وجود، کینتیک حالت پایدار، زبان استانداردی است که توسط آن کارآئی‌های کاتالیتیک آنزیم‌ها مشخص شده و با یکدیگر مقایسه می‌گردند. حال به کاربرد و تفسیر اصطلاحات V_{max} و K_m برمی‌گردیم.

در شکل ۱۲-۸ یک روش گرافیکی ساده برای بدست‌آوردن مقدار تقریبی K_m نشان داده شده است. روش

Book.Apfarsi.ir

مناسب‌تر استفاده از **نمودار معکوس دوطرفه**[1] می‌باشد که در کادر ۱-۸ نمایش داده شده است. مقادیر K_m می‌توانند از آنزیمی به آنزیم دیگر و حتی بین سوبسترای‌های مختلف یک آنزیم، تفاوت قابل‌توجهی را داشته باشد (جدول ۶-۸). این اصطلاح گاهی (اغلب به‌طورنامناسب) به‌عنوان معیاری از تمایل یک آنزیم به سوبسترای خود، مورد استفاده قرار می‌گیرد. معنی واقعی K_m بستگی به ویژگی‌های اختصاصی مکانیسم واکنش، نظیر تعداد و سرعتهای نسبی مراحل مجزای واکنش دارد. برای واکنش‌های دارای دو مرحله داریم:

$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \qquad (۸-۲۴)$$

وقتی k_2 محدودکننده سرعت می‌باشد، $k_{-1} > k_2$ بوده، K_m به k_{-1}/k_1 ساده شده و ثابت **تفکیک**، یا K_d کمپلکس ES تعریف می‌گردد. وقتی این شرایط وجود دارد K_m تمایل آنزیم به سوبسترا را در کمپلکس ES نشان نمی‌دهد. هرچند، این حالت در مورد اکثر آنزیم‌ها کاربرد ندارد. گاهی $k_{-1} >> k_2$ بوده و آنگاه $K_m = k_2/k_1$ خواهد بود. در موارد دیگر k_2 و k_{-1} قابل قیاس هستند و K_m تابع پیچیده‌تری از تمامی سه ثابت سرعت خواهد بود (معادله ۲۴-۸). معادله میکائیلیس-منتن و رفتار اشباعی مشخص آنزیم هنوز کاربرد داشته ولی K_m را نمی‌توان به‌عنوان معیار ساده‌ای از تمایل سوبسترا در نظر گرفت. حتی موارد شایع‌تر، حالاتی هستند که در آنها بعد از تشکیل ES، واکنش وارد مراحل متعددی می‌گردد؛ در این موارد K_m می‌تواند تابع بسیار پیچیده‌ای از ثابت‌های سرعت متعدد باشد.

مقدار کمی V_{max} نیز از یک آنزیم به آنزیم دیگر بسیار متفاوت است. اگر یک آنزیم با مکانیسم دو مرحله‌ای میکائیلیس-منتن واکنش نماید، V_{max} معادل $k_2[E_t]$ خواهد بود که در آن k_2 محدودکننده سرعت می‌باشد. هرچند تعداد مراحل واکنش و هویت مرحله (مراحل) محدودکننده، سرعت می‌تواند از یک آنزیم به آنزیم دیگر متفاوت باشد. برای مثال، حالت کاملاً معمولی را در نظر بگیرید که در آن مرحله رهاسازی محصول ($EP \rightarrow E + P$)، محدودکننده سرعت باشد. در اوایل واکنش (که [P] پایین می‌باشد)، واکنش کلی را می‌توان به‌صورت زیر در نظر گرفت:

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} EP \overset{k_3}{\rightleftharpoons} E + P \qquad (۸-۲۵)$$

در این حالت، بیشتر آنزیم به شکل EP در حالت اشباع بوده و $V_{max} = k_3[E_t]$ می‌باشد. تعریف یک ثابت سرعت عمومی‌تر، یعنی k_{cat} مفید می‌باشد که سرعت محدودکننده هر واکنش آنزیمی را در حالت اشباع نشان می‌دهد. وقتی مراحل متعددی در یک واکنش وجود داشته و یکی از آنها واضحاً محدودکننده سرعت باشد، k_{cat} معادل ثابت سرعت همان مرحله محدودکننده خواهد بود. برای واکنش ساده معادله ۱۰-۸، $k_{cat} = k_2$ بوده و برای واکنش معادله ۲۵-۸، $k_{cat} = k_3$ می‌باشد. وقتی چندین مرحله به‌طورنسبی محدودکننده سرعت هستند، k_{cat} می‌تواند تابع

جدول ۶-۸. K_m تعدادی از آنزیم‌ها و سوبسترا‌ها

آنزیم	سوبسترا	K_m (mM)
کاتالاز	H_2O_2	۲۵
هگزوکیناز (مغز)	ATP	۰/۴
	D-گلوکز	۰/۰۵
	D-فروکتوز	۱/۵
کربونیک انیدریداز	HCO_3^-	۲۶
کیموتریپسین	گلیسیل تیروزینیل گلیسین	۱۰۸
	N-بنزوئیل تیروزینامید	۲/۵
β-گالاکتوزیداز	D-لاکتوز	۴/۰
ترئونین دهیدراتاز	L-ترئونین	۵/۰

1. Double-reciprocal plot

Book.Apfarsi.ir

جدول ۷-۸. اعداد نوسازی (K_{cat}) چند آنزیم

آنزیم	سوبسترا	$K_{cat}(s^{-1})$
کاتالاز	H_2O_2	۴۰,۰۰۰,۰۰۰
کربنیک انیدریداز	HCO_3^-	۴۰۰,۰۰۰
استیل‌کولین‌استراز	استیل‌کولین	۱۴۰,۰۰۰
β-لاکتاماز	بنزیل‌پنی‌سیلین	۲,۰۰۰
فوماراز	فومارات	۸۰۰
پروتئین (RecA) (یک ATPase)	ATP	۰/۴

مرکبی از چند ثابت سرعت باشد که هر مرحله خاص واکنش را تعریف می‌نماید. در معادله میکائیلیس-منتن، $k_{cat} = V_{max} / [E_t]$ بوده و معادله ۹-۸ به‌صورت زیر تبدیل می‌گردد:

$$V_0 = \frac{k_{cat}[E_t][S]}{K_m + [S]} \qquad (۸-۲۶)$$

ثابت k_{cat} یک ثابت سرعت درجه اول بوده و بنابراین دارای واحد معکوس زمان می‌باشد. به این ثابت عدد نوسازی[1] نیز اتلاق می‌گردد. این عدد معادل تعداد ملکول‌های سوبسترایی است که در یک زمان خاص توسط یک ملکول آنزیم در زمان اشباع‌بودن آنزیم از سوبسترا، به محصول تبدیل می‌گردد. اعداد نوسازی چندین آنزیم در جدول ۷-۸ آورده شده است.

پارامترهای کینتیکی k_{cat} و K_m عموماً برای مطالعه و مقایسه آنزیم‌های مختلف، با مکانیسم واکنش ساده یا پیچیده، مفید می‌باشند. هر آنزیمی دارای مقادیر مطلوب k_{cat} و K_m است که انعکاسی از محیط سلولی، غلظتی از سوبسترا که به‌طور طبیعی آنزیم در داخل بدن با آن مواجه می‌گردد و شیمی واکنش تحت کاتالیز، می‌باشد.

پارامترهای k_{cat} و K_m، همچنین به ما این امکان را می‌دهد تا کارآئی کینتیک آنزیم‌ها را ارزیابی نمائیم، ولی برای این ارزیابی هیچکدام از این پارامترها به تنهایی کافی نمی‌باشند. دو آنزیمی که واکنش‌های مختلف را کاتالیز می‌نمایند، ممکن است دارای k_{cat} (عدد نوسازی) یکسانی باشند ولی با این وجود سرعت این واکنش‌ها در حالت بدون کاتالیز ممکن است متفاوت بوده و بنابراین میزان افزایش سرعت توسط این آنزیم‌ها ممکن است بسیار متفاوت باشد. به‌طورتجربی، K_m یک آنزیم در حدود غلظت سلولی سوبسترا خود می‌باشد. آنزیمی که بر روی سوبسترایی با غلظت بسیار پایین سلولی عمل می‌کند، معمولاً دارای K_m کمتری نسبت به آنزیمی است که روی سوبسترایی با غلظت بیشتر اثر می‌کند.

بهترین راه برای مقایسه کارآئی‌های کاتالیتیک آنزیم‌های مختلف یا نوسازی سوبستراهای مختلف توسط یک آنزیم، مقایسه نسبت k_{cat} / K_m دو واکنش می‌باشد. این پارامتر که گاهی **ثابت ویژگی**[2] نامیده می‌شود، ثابت سرعت برای تبدیل $E + S$ به $E + P$ می‌باشد. وقتی $K_m >> [S]$ باشد، معادله ۲۶-۸ به‌صورت زیر تبدیل می‌گردد:

$$V_0 = \frac{k_{cat}}{K_m}[E_t][S] \qquad (۸-۲۷)$$

V_0 در این حالت بستگی به غلظت دو واکنشگر، یعنی $[E_t]$ و $[S]$، دارد؛ ازاینرو، این یک معادله سرعت درجه دوم و ثابت

1. Turnover number 2. Specifity constant

Book.Apfarsi.ir

جدول ۸-۸. آنزیم‌هائی که k_{cat} / K_m آنها نزدیک به حد کنترل‌شده انتشار (10^8 تا 10^9 $M^{-1}s^{-1}$) می‌باشد

آنزیم	سوبسترا	k_{cat} (S^{-1})	K_m (M)	k_{cat} / K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
استیل‌کولین‌استراز	استیل‌کولین	$1/4 \times 10^4$	9×10^{-5}	$1/6 \times 10^8$
کربنیک انیدریداز	CO_2	1×10^6	$1/2 \times 10^{-2}$	$8/3 \times 10^7$
	HCO_3^-	4×10^5	$2/6 \times 10^{-2}$	$1/5 \times 10^7$
کاتالاز	H_2O_2	4×10^7	1/1	4×10^7
کروتوناز (Crotonase)	کروتونیل‌کوآ	$5/7 \times 10^3$	2×10^{-5}	$2/8 \times 10^8$
فوماراز	فومارات	8×10^2	5×10^{-6}	$1/6 \times 10^8$
	مالات	9×10^2	$2/5 \times 10^{-5}$	$3/6 \times 10^7$
β-لاکتاماز	بنزیل‌پنی‌سیلین	$2/0 \times 10^3$	2×10^{-5}	1×10^8
تریوز فسفات ایزومراز	گلیسرآلدئید ۳-فسفات	$4/3 \times 10^3$	$4/7 \times 10^{-4}$	$2/4 \times 10^8$

k_{cat} / K_m یک ثابت سرعت درجه دوم با واحد $M^{-1}s^{-1}$ می‌باشد. حد بالائی برای k_{cat} / K_m وجود دارد که بوسیله سرعت انتشار E و S با یکدیگر در محلول، تعیین می‌گردد. این حد کنترل‌شده انتشار[1] برابر با 10^8 تا 10^9 $M^{-1}s^{-1}$ بوده و بسیاری از آنزیم‌ها دارای k_{cat} / K_m نزدیک به این دامنه می‌باشند (جدول ۸-۸ را ببینید). گفته می‌شود که چنین آنزیم‌هایی به کمال رسیده‌اند. توجه داشته باشید که مقادیر مختلف k_{cat} و K_m می‌توانند ایجاد نسبت حداکثر را بنمایند.

بسیاری از آنزیم‌ها واکنش‌هایی را با دو یا چند سوبسترا کاتالیز می‌نمایند

دیدیم که چطور [S] بر روی سرعت یک واکنش ساده آنزیمی ($S \rightarrow P$) با تنها یک ملکول سوبسترا، تأثیر می‌گذارد. هرچند، در بسیاری از واکنش‌های آنزیمی دو (و گاهی بیش از دو) ملکول سوبسترا مختلف به آنزیم متصل شده و در واکنش شرکت می‌نمایند. برای مثال، در واکنشی که توسط هگزوکیناز کاتالیز می‌گردد، سوبستراها شامل ملکول‌های ATP و گلوکز و محصولات شامل ملکول‌های ADP و گلوکز ۶-فسفات می‌باشند:

$$\text{ATP} + \text{glucose} \longrightarrow \text{ADP} + \text{glucose 6-phosphate}$$

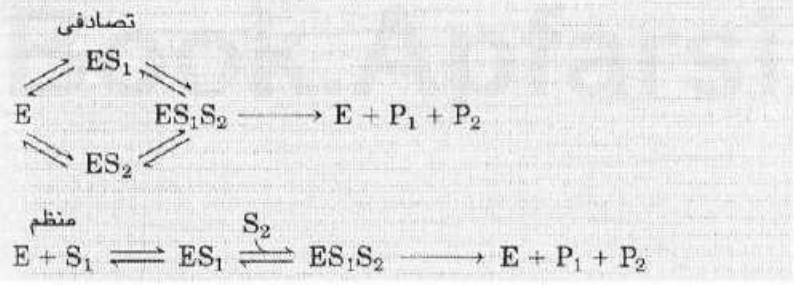
سرعت چنین واکنش‌های دو سوبسترایی را نیز می‌توان با روش میکائیلیس-منتن مورد بررسی قرار داد. هگزوکیناز دارای یک K_m مشخص برای هر کدام از دو سوبسترا خود می‌باشد (جدول ۶-۸).

واکنش‌های آنزیمی دارای دو سوبسترا معمولاً مستلزم انتقال یک اتم یا یک گروه عامل از یک سوبسترا به سوبسترا دیگر می‌باشند. این واکنش‌ها توسط یکی از چندین مسیر مختلف به انجام می‌رسند. در بعضی موارد، هر دو سوبسترا به‌طور همزمان در نقطه‌ای از دوره واکنش به آنزیم متصل شده و ایجاد یک کمپلکس سه‌تایی غیرکووالان می‌کنند (شکل ۱۳a-۸). چنین کمپلکسی ممکن است با اتصال سوبستراها طی یک توالی اتفاقی یا با نظم خاص، تشکیل گردد. در صورتی که قبل از اتصال سوبسترای دوم، سوبسترای اول به محصول تبدیل و جدا گردد، کمپلکس سه‌تایی ایجاد نمی‌شود. مثالی از این نوع، مکانیسم پینگ-پنگی[2] یا جایگزینی دوگانه[3] می‌باشد (شکل ۱۳b-۸) می‌باشد. کینتیک حالت پایدار اغلب می‌تواند به تمایز بین این احتمالات کمک نماید (شکل ۱۴-۸).

1. Diffusion-controlled limit
2. Ping-pong mechanism
3. Double displacement

Book.Apfarsi.ir

(a) واکنش آنزیمی که در آن کمپلکس سه تایی تشکیل می شود.



(b) واکنش آنزیمی که در آن کمپلکس سه تایی تشکیل نمی شود.

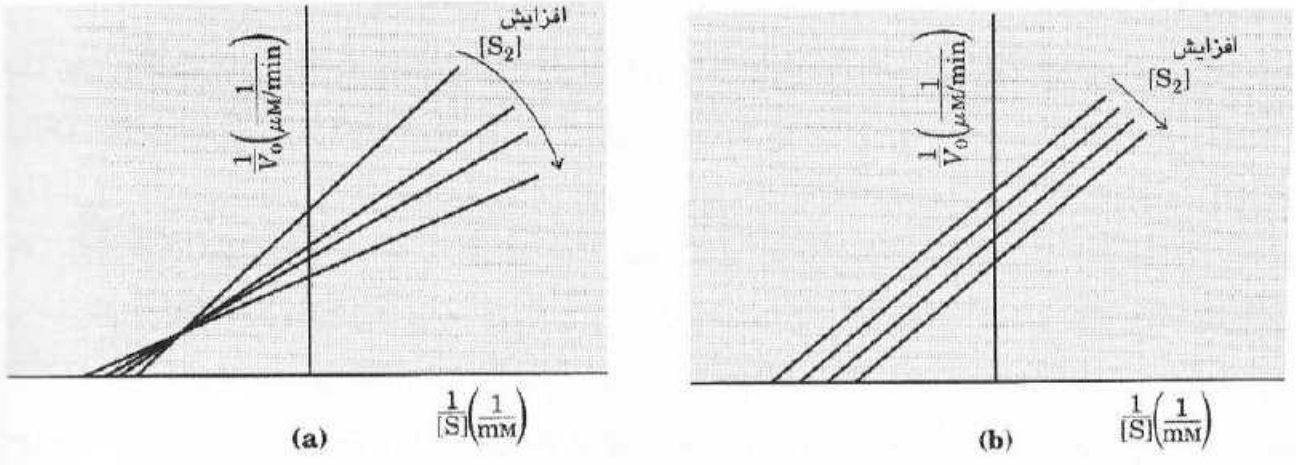


شکل ۱۳-۸. مکانیسم‌های معمول برای واکنش‌های آنزیمی دوسوبسترایی. در (a) آنزیم و هر دو سوبسترا به یکدیگر متصل شده تا ایجاد یک ساختمان سه‌تایی بنمایند. در اتصال منظم، ابتدا لازم است سوبسترا ۱ متصل شود تا سوبسترا ۲ بتواند به آنزیم متصل گردد. در اتصال تصادفی، سوبستراها می‌توانند با هر ترتیبی اتصال یابند. در (b) یک کمپلکس آنزیم-سوبسترا تشکیل شده، یک محصول کمپلکس را ترک نموده، آنزیم تغییریافته با ملکول دیگر سوبسترا ایجاد کمپلکس دوم راکرده و با جداشدن محصول دوم، آنزیم مجدداً به شکل اولیه برمی‌گردد. سوبسترا ۱ ممکن است یک گروه عامل را به آنزیم منتقل نموده (تا ایجاد E' دارای تغییر کووالان گردد) که بعداً به سوبسترا ۲ انتقال داده می‌شود. این واکنش پینگ-پنگی یا جایگزینی دوگانه می‌باشد.

کینتیک حالت قبل‌پایدار می‌تواند مدرکی برای مراحل اختصاصی واکنش فراهم نماید

کینتیک به‌عنوان روش اولیه برای مطالعه مراحل در یک واکنش آنزیمی معرفی گردید و محدودیتهای معمولترین پارامترهای کینتیکی در فراهم‌سازی چنین اطلاعاتی، شرح داده شد. دو پارامتر تجربی مهمی که توسط کینتیک حالت پایدار فراهم می‌گردند، شامل k_{cat} و k_{cat}/K_m می‌باشند. تنوع در این پارامترها حاصل از تغییرات ایجادشده در pH و درجه حررت، می‌تواند اطلاعات بیشتری در مورد مراحل یک مسیر واکنش فراهم نماید. در حالت واکنش‌های دوسوبسترایی، کینتیک حالت پایدار می‌تواند به تعیین تشکیل یک کمپلکس سه‌تایی در طی یک واکنش کمک نماید (شکل ۱۴-۸). برای رسیدن به سیمای کامل‌تر، عموماً نیاز به روش‌های کینتیکی جامع‌تر می‌باشد که فراتر از محدوده این کتاب است. در اینجا به‌طورخلاصه یکی از مهمترین روشهای کینتیکی برای مطالعه مکانیسم‌های واکنش کینتیک حالت قبل‌پایداری، ارائه می‌گردد.

شرح کامل یک واکنش آنزیمی نیاز به اندازه‌گیری مستقیم سرعت مراحل منحصر واکنش، مثلاً اندازه‌گیری



شکل ۱۴-۸. آنالیز کینتیک حالت پایدار واکنش‌های دوسوبسترایی. در این نمودار معکوس دو طرفه (کادر ۱-۸ را ببینید)، غلظت سوبسترا ۱ متغییر بوده، درحالیکه غلظت سوبسترا ۲ ثابت نگه داشته می‌شود. این عمل برای مقادیر مختلف $[S_2]$ ادامه یافته و خطوط مجزای متعددی ایجاد می‌گردد. تقاطع خطوط نشان می‌دهد که یک کمپلکس سه‌تایی در طی واکنش ایجاد شده است (a)؛ خطوط موازی نشاندهنده یک سیستم پینگ-پنگی یا جایگزینی دوگانه می‌باشد (b).

اتصال آنزیم به سوبسترا و ایجاد کمپلکس ES، دارد. در طی حالت قبل پایداری می‌توان سرعت بسیاری از مراحل واکنش را به‌طورمستقل اندازه‌گیری نمود. ازآنجایی‌که حالت قبل‌پایداری عموماً بسیار کوتاه است، برای این عمل اغلب نیاز به فن‌آوری‌های تخصصی برای مخلوط‌نمودن و نمونه‌برداری بسیار سریع می‌باشد. یکی از اهداف، بدست‌آوردن یک تصویر کمی و کامل از تغییرات انرژی در طی واکنش می‌باشد. همان‌طورکه تاکنون ذکر شده است، سرعت و تعادل واکنش وابسته به تغییرات انرژی آزادی است که در طی واکنش رخ می‌دهد. اندازه‌گیری مراحل منحصر واکنش آشکار می‌سازد که چطور انرژی توسط یک آنزیم اختصاصی مورد استفاد قرار می‌گیرد که یک جزء مهم مکانیسم کل واکنش می‌باشد. در بعضی موارد، اندازه‌گیری سرعت‌های هر مرحله خاص در یک واکنش آنزیمی چندمرحله‌ای ممکن شده است. چندین مثال در مورد کاربرد کینتیک حالت قبل‌پایداری در توضیحات مربوط به آنزیم‌های اختصاصی در قسمتهای بعدی این فصل آمده است.

آنزیم‌ها در معرض مهار هستند

مهارکننده‌های آنزیمی عوامل ملکولی هستند که با کاتالیز تداخل نموده و واکنش‌های آنزیمی را آهسته و یا متوقف می‌سازند. آنزیم‌ها تمامی فرایندهای سلولی را کاتالیز می‌نمایند، بنابراین نباید تعجب‌آور باشد که مهارکننده‌های آنزیمی از جمله مهمترین عوامل فارماکولوژیک شناخته شده می‌باشند. برای مثال، آسپیرین (استیل سالیسیلات) آنزیم کاتالیزکننده اولین مرحله سنتز پروستاگلاندینها را مهار می‌نماید که در بسیاری از فرایندها، از جمله ایجاد درد، مؤثر هستند. مطالعه مهارکننده‌های آنزیمی همچنین اطلاعات مهمی را در مورد مکانیسم‌های آنزیمی فراهم نموده و به تعیین بعضی مسیرهای متابولیکی کمک نموده است. دو کلاس بزرگ مهارکننده‌ها، شامل قابل‌برگشت و غیرقابل‌برگشت، وجود دارد.

مهار قابل‌برگشت می‌تواند رقابتی، نارقابتی و یا مخلوط باشد

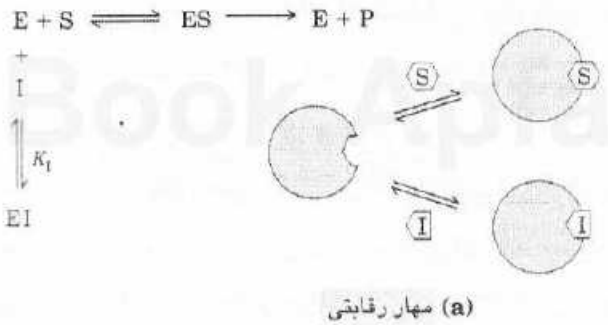
یک نوع معمول **مهار قابل‌برگشت**، مهار رقابتی می‌باشد (شکل a ۱۵-۸). یک **مهارکننده رقابتی** با سوبسترا برای جایگاه فعال آنزیم رقابت می‌نماید. با اشغال جایگاه فعال آنزیم توسط مهارکننده (I)، از اتصال سوبسترا به آنزیم ممانعت به عمل خواهد آمد. در اغلب موارد، مهارکننده‌های رقابتی ترکیباتی هستند که مشابه سوبسترا بوده و با آنزیم ترکیب شده تا ایجاد کمپلکس EI بنمایند، ولی این اتصال منتهی به کاتالیز نمی‌گردد. حتی ترکیبات زودگذر مهارکننده‌های رقابتی دارای اثرات منفی بر روی کارآئی آنزیم می‌باشند. با در نظرگرفتن هندسه ملکولی مهارکننده‌هایی که مشابه سوبسترا هستند، به نتایجی می‌رسیم که کدام قسمت‌های سوبسترای طبیعی به آنزیم اتصال می‌یابد. با استفاده از کینتیک حالت پایدار، مهار رقابتی را می‌توان به‌طور کمی بررسی نمود. در حضور یک مهارکننده رقابتی، معادله میکائیلیس-منتن (معادله ۹-۸) به شکل زیر تبدیل می‌گردد:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + [S]} \qquad (۸-۲۸)$$

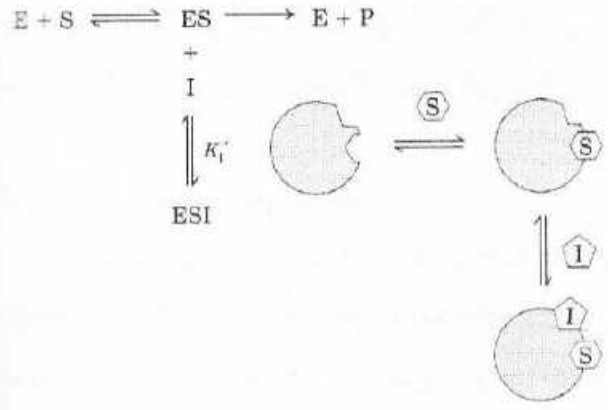
که در آن

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

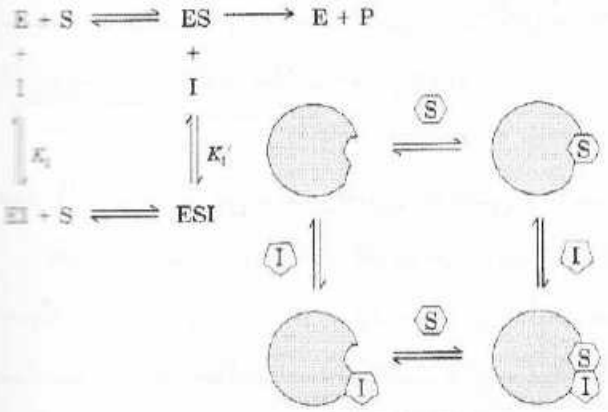
Book.Apfarsi.ir



(a) مهار رقابتی



(b) مهارنارقابتی



(c) مهار مخلوط

شکل ۱۵-۸. سه نوع مهار قابل‌برگشت. (a) مهارکننده‌های رقابتی به جایگاه فعال آنزیم اتصال می‌یابند. (b) مهارکننده‌های نارقابتی به محل دیگری در آنزیم، ولی تنها به کمپلکس ES اتصال می‌یابند. K_I ثابت تعادل برای مهارکننده متصل‌شونده به آنزیم بوده، درحالیکه K_I' ثابت تعادل مهارکننده متصل‌شونده به ES می‌باشد. (c) مهارکننده‌های مخلوط، به محل‌های دیگر اتصال‌یافته ولی ممکن است به E یا ES اتصال یابند.

$$K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

معادله ۸-۲۸ خصوصیات مهم مهارکننده‌های رقابتی را شرح می‌دهد. αK_m یا K_m در زمان حضور مهارکننده، به‌طور تجربی تعیین شده که اغلب «K_m ظاهری» نامیده می‌شود.

از آنجایی که مهارکننده به‌طور برگشت‌پذیر به آنزیم اتصال می‌یابد، می‌توان تنها با افزودن سوبسترای بیشتر، رقابت را بنفع سوبسترا تغییر داد. وقتی [S] از [I] بسیار بیشتر باشد، احتمال اتصال مهارکننده به آنزیم، به حداقل رسیده و واکنش V_{max} طبیعی را نشان خواهد داد. هرچند، غلظتی از سوبسترا که در آن سرعت ابتدائی به نصف سرعت حداکثر می‌رسد، یا K_m ظاهری، در حضور یک مهارکننده به اندازه فاکتور α افزایش نشان خواهد داد. این اثر بر روی K_m ظاهری و بدون اثر بر روی V_{max}، از مشخصات مهار رقابتی بوده و براحتی با استفاده از نمودار معکوس دوطرفه (کادر ۲-۸)، آشکار می‌گردد. از همین نمودار می‌توان ثابت تعادل اتصال مهارکننده، K_I را بدست آورد.

برای درمان مسمومیت حاصل از مصرف متانل، یک حلال موجود در ضدیخ گازی، از رقابت برای اتصال به جایگاه فعال استفاده می‌گردد. آنزیم کبدی الکل دهیدروژناز سبب تبدیل متانل به فرمالدئید شده که برای بافت‌ها مضر می‌باشد. کوری یکی از نتایج معمول خوردن متانل است، زیرا چشم‌ها حساسیت خاصی به فرمالدئید دارند. اتانل به‌عنوان سوبسترای دیگری برای الکل دهیدروژناز، به‌طورمؤثری با متانل رقابت می‌نماید. این اثر اتانل بسیار شبیه یک مهارکننده رقابتی است، با این تفاوت که خود اتانل نیز یک سوبسترا بوده و غلظت آن با گذشت زمان و با تبدیل آن به استالدئید توسط این آنزیم، کاهش می‌یابد. درمان مسمومیت با متانل با تزریق داخل وریدی تدریجی اتانل با سرعتی صورت می‌پذیرد که غلظت کنترل‌شده‌ای از آن را برای چند ساعت در گردش خون حفظ نماید. این امر منجر به کاهش تولید فرمالدئید شده و تا زمانی که کلیه‌ها متانل را به‌صورت غیرمضر در ادرار دفع می‌نمایند، خطر آن را کاهش می‌دهد.

اغلب دو نوع دیگر مهار برگشت‌پذیر، شامل انواع نارقابتی و مخلوط، در مورد آنزیم‌های تک‌سوبسترایی مطرح

Book.Apfarsi.ir

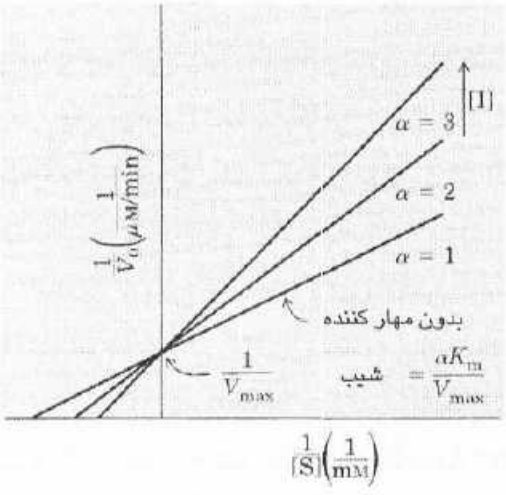
کادر ۲-۸. آزمون‌های کینتیک برای تعیین مکانیسم‌های مهاری

با استفاده از نمودار معکوس دوطرفه (کادر ۱-۸ را ببینید) بسادگی می‌توان مشخص نمود که یک مهارکننده به‌صورت رقابتی، نارقابتی و یا مخلوط عمل می‌نماید. دو سری آزمایش سرعت انجام شده و در هر سری غلظت آنزیم ثابت نگه داشته می‌شود. در سری اول، [S] نیز ثابت بوده و اثر افزایش غلظت مهارکننده [I] بر روی V_o بررسی می‌گردد (نشان داده نشده است). در سری دوم [I] ثابت بوده و [S] تغییر داده می‌شود. نتایج به‌صورت نمودارهای $1/V_o$ در برابر $1/[S]$ رسم می‌گردند.

شکل ۱ یک سری نمودار معکوس دوطرفه را نشان می‌دهد که یکی از آنها در غیاب مهارکننده و دو نمودار دیگر در دو غلظت متفاوت مهارکننده بدست آمده‌اند. افزایش [I]، خطوطی را ایجاد می‌نماید که در نقطه‌ای مشترک، محور $1/V_o$ را قطع نموده ولی دارای شیبهای متفاوتی هستند. ازآنجایی‌که محل قطع محور $1/V_o$ در نقطه $1/V_{max}$ می‌باشد، V_{max} در حضور مهارکننده تغییری نمی‌نماید. بعبارتی دیگر، بدون توجه به غلظت یک مهارکننده، درصورتیکه غلظت سوبسترا به اندازه کافی بالا باشد، مهارکننده را از جایگاه فعال آنزیم خارج خواهد نمود. در بالای شکل، معادله تغییریافته ۸-۲۸ دیده می‌شود که نمودار براساس آن رسم شده است. مقدار α را می‌توان از تغییر شیب در هر مقداری از [I] محاسبه نمود. با داشتن [I] و α، می‌توان با استفاده از فرمول زیر K_I را محاسبه نمود:

معادله
$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I}$$

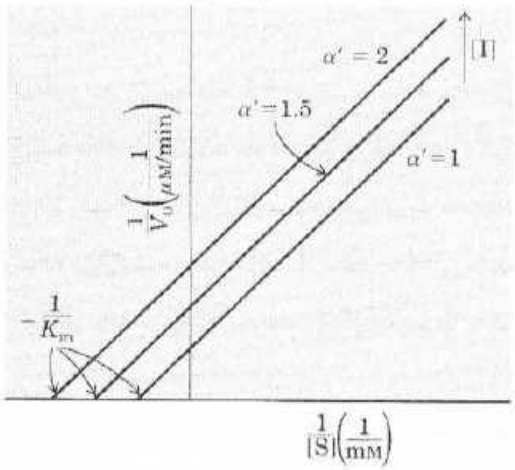
$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\alpha K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



شکل ۱. مهار رقابتی

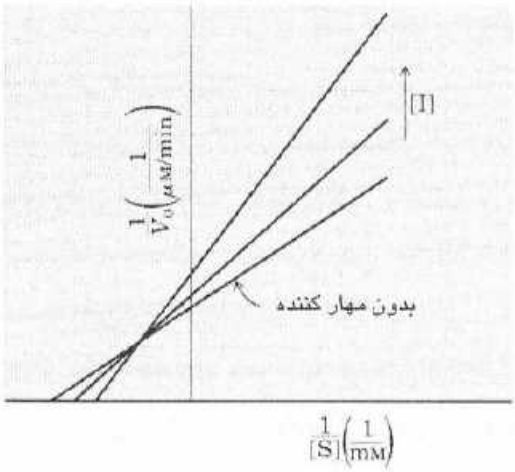
در مورد مهار نارقابتی و مخلوط، نیز می‌توان نمودارهای مشابهی رسم نمود که در اشکال ۲ و ۳ نشان داده شده‌اند. تغییر محلهای تقاطع با محورها، تغییر در مقادیر V_{max} و K_m را نشان می‌دهند.

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$



شکل ۲. مهار نارقابتی

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\alpha K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$



شکل ۳. مهار مخلوط

می‌گردد ولی در عمل تنها در مورد آنزیم‌هایی دیده می‌شوند که دارای دو یا چند سوبسترا هستند (نوعی از مهارکننده مخلوط، مهارکننده غیررقابتی بوده که در قسمت پایین شرح داده شده و نباید آن را با مهارکننده نارقابتی

Book.Apfarsi.ir

اشتباه گرفت مترجم). یک **مهارکننده نارقابتی** (شکل ۸-۱۵b) در محلی غیر از جایگاه فعال سوبسترا متصل شده و برخلاف مهارکننده رقابتی، تنها به کمپلکس ES اتصال می‌یابد. در حضور یک مهارکننده نارقابتی، معادله میکائیلیس-منتن به‌صورت زیر تغییر می‌یابد:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + \alpha'[S]} \qquad (۸-۲۹)$$

که در آن

$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I}$$

و

$$K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

همان‌طور که در معادله ۸-۲۹ شرح داده شد، در غلظتهای بالای سوبسترا، V_0 به V_{max}/α' نزدیک می‌شود. بنابراین، یک مهارکننده نارقابتی، V_{max} اندازه‌گیری‌شده را کاهش می‌دهد. در این حالت، K_m ظاهری نیز کاهش می‌یابد، زیرا [S] مورد نیاز برای رسیدن به نصف V_{max} نیز به اندازه فاکتور α' کاهش می‌یابد.

یک **مهارکننده مخلوط** (شکل ۸-۱۵c) نیز به محلی غیر از جایگاه فعال سوبسترا متصل شده، ولی می‌تواند به E یا ES اتصال یابد. معادله سرعت مهار مخلوط به‌صورت زیر می‌باشد:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{\alpha K_m + \alpha'[S]} \qquad (۸-۳۰)$$

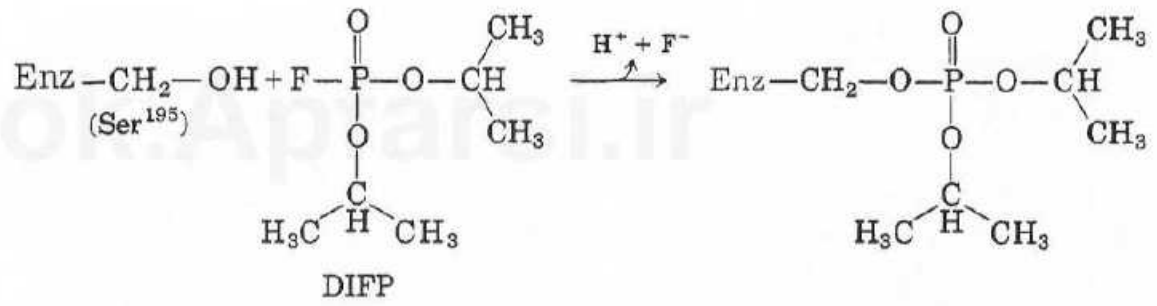
که در آن α و α' قبلاً تعریف شده‌اند. حالت خاصی که در آن $\alpha = \alpha'$ می‌باشد، بندرت در عمل مشاهده شده و به‌طورکلاسیک به‌عنوان **مهار غیررقابتی** تعریف می‌شود. معادله ۸-۳۰ را بررسی نمائید تا ببینید چرا یک مهارکننده غیررقابتی روی V_{max} اثر داشته ولی بر روی K_m اثری ندارد.

در عمل، مهار نارقابتی و مخلوط تنها برای آنزیم‌های دارای دو یا چند سوبسترا (S_1، S_2 و غیره) مشاهده می‌گردد و در بررسی‌های تجربی چنین آنزیم‌هایی بسیار مهم هستند. وقتی یک مهارکننده به جایگاهی اتصال یابد که به‌طور طبیعی توسط S_1 اشغال می‌شود، ممکن است به‌عنوان یک مهارکننده مخلوط یا نارقابتی S_1 عمل کند. الگوهای مهاری واقعی مشاهده شده بستگی به منظم و یا تصادفی‌بودن ترتیب اتصال S_1 و S_2، و بنابراین ترتیب اتصال سوبستراها و جداشدن محصولات از جایگاه فعال دارد. اغلب، استفاده از یکی از محصولات واکنش به‌عنوان یک مهارکننده می‌تواند مفید باشد. وقتی تنها یکی از دو محصول واکنش موجود باشد، واکنش معکوس رخ نخواهد داد. هرچند، یک محصول عموماً به قسمتی از جایگاه فعال اتصال یافته و بنابراین به‌عنوان مهارکننده عمل می‌نماید. مطالعات مهاری اغلب استادانه بوده و می‌تواند جزئیات مکانسیم یک‌واکنش دوسوبسترایی را مشخص نماید.

مهار برگشت‌ناپذیر یک وسیله مهم در تحقیق آنزیمی و فارماکولوژی است

مهارکننده‌های برگشت‌ناپذیر انواعی از مهارکننده‌ها هستند که به یک گروه عامل ضروری برای فعالیت آنزیم متصل و یا آن را ازبین می‌برند و یا سبب ایجاد یک ترکیب پایدار غیرکووالان با آنزیم می‌شوند. تشکیل یک اتصال کووالان بین یک مهارکننده برگشت‌ناپذیر و آنزیم معمول می‌باشد. مهارکننده‌های برگشت‌ناپذیر، وسایل مفید دیگری برای

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۸. مهارکننده غیرقابل‌برگشت. واکنش کیموتریپسین با دی‌ایزوپروپیل‌فلوروفسفات (DIFP) به‌طورغیرقابل‌برگشت سبب مهار آنزیم می‌شود. از این اثر می‌توان نتیجه گرفت که Ser^{195} ریشه کلیدی Ser جایگاه فعال در کیموتریپسین می‌باشد.

مطالعه مکانیسم‌های واکنش می‌باشند. اسیدهای آمینه دارای اعمال کاتالیتیکی کلیدی در جایگاه فعال را گاهی می‌توان با تعیین اینکه کدام اسید آمینه بعد از غیرفعال‌شدن آنزیم، به‌طوربرگشت‌ناپذیر به مهارکننده اتصال یافته است، شناسایی نمود. مثالی از این نوع در شکل ۱۶-۸ آمده است.

یک کلاس اختصاصی مهارکننده‌ها را **غیرفعال‌کننده‌های کشنده**[1] تشکیل می‌دهند. این ترکیبات تازمانیکه به جایگاه فعال یک آنزیم اختصاصی متصل نشده‌اند، نسبتاً غیرواکنشگر می‌باشند. یک غیرفعال‌کننده کشنده طوری طراحی می‌گردد که در چند مرحله شیمیایی ابتدایی واکنش آنزیمی طبیعی شرکت نموده ولی به جای تبدیل‌شدن به محصول طبیعی، به یک ترکیب بسیار واکنشگر تبدیل شده که به‌طوربرگشت‌ناپذیر به آنزیم متصل می‌گردد. به این ترکیبات، **غیرفعال‌کننده‌های متکی به مکانیسم**[2]، نیز اتلاق می‌گردد، زیرا برای فعال‌نمودن آنزیم، از مکانیسم واکنش آنزیم طبیعی استفاده می‌نمایند. غیرفعال‌کننده‌های کشنده نقش مهمی را در طراحی معقول داروئی دارند که یک روش امروزی برای بدست آوردن عوامل داروئی است که در آنها سوبستراهای تازه براساس اطلاعات حاصل از سوبستراهای شناخته‌شده و مکانیسم‌های واکنش، سنتز می‌گردند. یک غیرفعال‌کننده کشنده با طراحی خوب، برای یک آنزیم اختصاصی می‌باشد، این ترکیب غیرواکنشگر بوده، مگر این که وارد جایگاه فعال آنزیم گردد؛ بنابراین، داروهایی از این نوع می‌توانند عوارض جانبی کمتری داشته باشند (کادر ۲-۲۲ را ببینید).

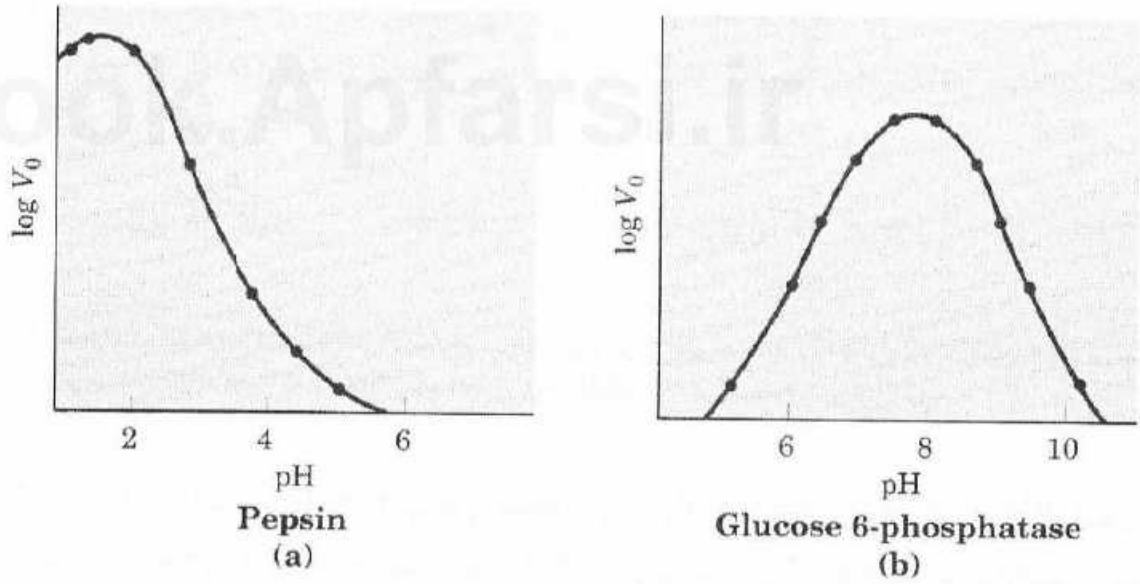
فعالیت آنزیمی تحت تأثیر pH قرار می‌گیرد

آنزیم‌ها دارای یک pH (یا دامنه pH) مطلوب می‌باشند که در آن حداکثر فعالیت را نشان داده (شکل ۱۷-۸) و در pH بالاتر یا پایین‌تر از آن، فعالیت آنها کاهش می‌یابد. این موضوع تعجب‌آور نمی‌باشد. زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه موجود در جایگاه فعال ممکن است به‌صورت اسیدها یا بازهای ضعیف عمل نمایند که این عمل آنها بستگی به حفظ آنها در یک حالت یونیزاسیون خاص دارد؛ به علاوه، زنجیرهای جانبی سایر اسیدهای آمینه موجود در محلهای دیگر ساختمان پروتئین نیز در واکنش‌های متقابلی شرکت می‌نمایند که برای ایجاد و حفظ ساختمان پروتئین مفید هستند. برای مثال، برداشت یک پروتون از ریشه His، ممکن است سبب حذف یک واکنش متقابل یونی گردد که برای تثبیت کونفورماسیون فعال آنزیم ضروری است. یک علت کمتر معمول حساسیت به pH، تیتراسیون یک گروه موجود در سوبسترا می‌باشد.

دامنه pH که در آن آنزیم از نظر فعالیت دچار تغییر می‌گردد، می‌تواند نشان دهنده نوع اسید آمینه شرکت‌کننده در

1. Suicide inactivators 2. Mechanism-based inactivators

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۷-۸. نمودار فعالیت pH دو آنزیم. این دو نمودار با اندازه‌گیری سرعتهای اولیه واکنش در بافرهای دارای pH مختلف بدست آمده‌اند. چون pH در مقیاس لگاریتمی بوده و تغییرات ده برابر در $[H^+]$ را نشان می‌دهد، تغییرات V_0 نیز بر روی یک مقیاس لگاریتمی ترسیم شده است. pH مطلوب فعالیت یک آنزیم عموماً در نزدیکی pH محیطی است که به‌طورطبیعی آنزیم در آن وجود دارد. **(a)** پپسین، که بعضی پیوندهای پپتیدی پروتئین‌ها را در هنگام هضم در معده، هیدرولیز می‌نماید، دارای pH مطلوب حدود ۱/۶ می‌باشد. pH شیره معده بین ۱ و ۲ است. **(b)** گلوکز ۶-فسفاتاز سلول‌های کبدی، با pH مطلوب حدود ۷/۸، مسئول رهاسازی گلوکز بداخل گردش خون می‌باشد. pH طبیعی سیتوزول سلول‌های کبدی حدود ۷/۲ می‌باشد.

فعالیت آنزیم باشد (جدول ۱-۵). برای مثال، تغییری در pH نزدیک ۷/۰ اغلب انعکاسی از تیتراسیون یک ریشه His است. هرچند لازم است اثرات pH را با توجه به چند نکته تفسیر نمود. در محیط تقریباً متراکم پروتئینی ممکن است pK_a ریشه‌های جانبی اسیدهای آمینه دچار تغییرات قابل‌توجه گردند. برای مثال، بار مثبت موجود در مجاورت یک ریشه Lys می‌تواند pK_a آن را کاهش دهد و وجود بار منفی در مجاورت آن، سبب افزایش pK_a می‌گردد. چنین اثراتی گاهی منجر به تغییر میزان pK_a به میزان دو یا بیشتر واحد pH از میزان طبیعی آن (اسید آمینه آزاد) می‌گردد. در آنزیم استواستات دکربوکسیلاز، یک ریشه Lys (با pK_a طبیعی ۱۰/۵) وجود دارد که بخاطر اثرات الکترواستاتیک بارهای مثبت مجاور آن، دارای pK_a برابر ۶/۶ می‌باشد.

مثال‌هایی از واکنش‌های آنزیمی

تا به اینجا اصول کلی کاتالیست‌ها و معرفی چند پارامتر کینتیکی برای استفاده در شرح فعالیت آنزیمی، مورد بحث قرار گرفتند. اصول و کینتیک در کادر ۳-۸ با یکدیگر آورده شده‌اند؛ در این کادر بعضی مدارک مربوط به نقش مرکزی حالت انتقالی و مکمل‌بودن در کاتالیز آنزیمی شرح داده شده است. حال به بررسی چند مثال از مکانیسم‌های واکنش آنزیمی می‌پردازیم.

درک مکانیسم کامل عمل یک آنزیم خالص‌شده نیاز به شناسایی تمامی سوبستراها، کوفکتورها، محصولات و تنظیم‌کننده‌های آن دارد. به علاوه داشتن اطلاعاتی به شرح زیر نیز لازم می‌باشد: (۱) توالی موقتی که طی آن ترکیبات واسط متصل به آنزیم تولید می‌شوند، (۲) ساختمان هر ترکیب واسط و هر حالت انتقالی، (۳) سرعت تبدیلات بین ترکیبات واسط، (۴) ارتباط ساختمانی آنزیم با هر ترکیب واسط، و (۵) انرژی که تمامی گروههای واکنش‌کننده برای ایجاد کمپلکسهای ترکیب واسط و حالات انتقالی فراهم می‌آورند. احتمالاً هیچ آنزیمی وجود

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۸. شواهدی از مکمل‌بودن آنزیم-حالت انتقالی.

به دلیل عمر کوتاه، مطالعه حالت انتقالی یک واکنش مشکل می‌باشد. هرچند برای درک کاتالیز آنزیمی، لازم است واکنش متقابل بین آنزیم و این لحظه بی‌دوام در طی دوره واکنش آنزیمی مورد بررسی قرار گیرد. برای انجام کاتالیز لازم است آنزیم و حالت انتقالی مکمل یکدیگر باشند، زیرا تپه انرژی که حالت انتقالی برقرار آن قرار می‌گیرد، چیزی است که می‌بایست آنزیم برای کاتالیز، آن را کاهش دهد. چطور می‌توان مکمل‌بودن آنزیم - حالت انتقالی را نشان داد؟ خوشبختانه، روش‌های مختلف، قدیمی و جدید، برای حل این مشکل وجود دارد که هر کدام از آنها مدارکی در خصوص حمایت از اصل کلی عمل آنزیمی فراهم می‌آورند.

ارتباطات موجود بین ساختمان و فعالیت

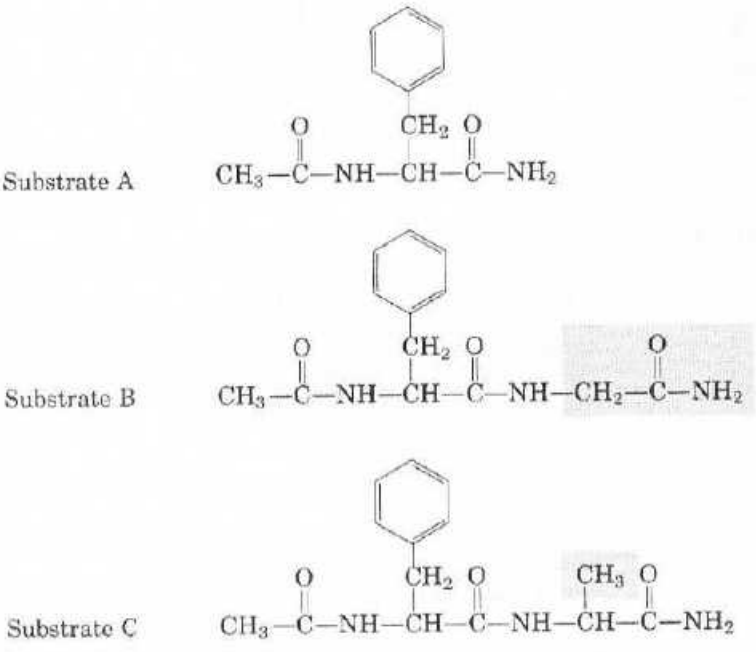
در صورتی که آنزیم‌ها مکمل حالات انتقالی واکنش‌ها باشند، آنگاه لازم است تعدای از گروه‌های عامل موجود در سوبسترا و آنزیم در حالت انتقالی، و بهتر از کمپلکس ES، با یکدیگر واکنش نمایند. تغییر این گروه‌ها می‌بایست اثر کمی بر روی کمپلکس ES داشته‌باشد و بنابراین نباید بر روی پارامترهای کینتیکی (ثابت تفکیک، K_d؛ یا گاهی K_m، درصورتیکه $K_d = K_m$) اثر داشته باشند که تعادل $E + S \rightleftharpoons ES$ را نشان می‌دهند. هرچند به علت اینکه سوبسترای اتصال‌یافته به آنزیم فاقد واکنش‌های متقابل اتصالی مورد نیاز برای کاهش انرژی فعال‌سازی است، تغییر همین گروه‌ها می‌بایست اثر زیادی بر روی سرعت کلی واکنش (k_{cat} یا k_{cat}/K_m) داشته باشد.

مثال جالب این اثر در کینتیک، در یک سری سوبستراهای وابسته برای آنزیم کیموتریپسین مشاهده می‌گردد (شکل ۱). کیموتریپسین به‌طور طبیعی هیدرولیز پیوندهای پپتیدی مجاور اسیدهای آمینه آروماتیک را کاتالیز می‌نماید. سوبستراهای نشان داده‌شده در شکل ۱، مدل‌های کوچکتر مناسبی برای سوبستراهای طبیعی (پلی‌پپتیدهای بلند و پروتئین‌ها؛ فصل ۵ را ببینید) هستند. گروه‌های شیمیایی اضافه‌شده به هر سوبسترا (A به B به C) داری سایه هستند. همان‌طور که در جدول نشان داده شده است، واکنش متقابل بین آنزیم و این گروه‌های عامل اضافه‌شده دارای حداقل اثر بر روی K_m (در اینجا با K_d نشان داده شده است) بوده ولی اثر مثبت قابل توجهی بر روی k_{cat} و k_{cat}/K_m دارد. این چیزی است که در صورت همکاری بزرگ این واکنش‌های متقابل در تثبیت حالت انتقالی، انتظار خواهیم داشت. این نتایج همچنین نشان می‌دهند که سرعت یک واکنش می‌تواند به میزان زیادی تحت اثر واکنش‌های متقابل آنزیم-سوبسترا قرار گیرند که از نظر فیزیکی دور از پیوندهای کووالانی می‌باشند که در طی واکنش کاتالیز آنزیمی دچار تغییر می‌شوند. کیموتریپسین با جزئیات بیشتر در صفحه ۳۰۹ مورد بررسی قرار گرفته است.

روش تجربی تکمیلی، تغییر آنزیم، به‌صورت حذف بعضی واکنش‌های متقابل آنزیم-سوبسترا با جایگزینی اسیدهای آمینه اختصاصی به‌طریق جهش‌زایی هدایت‌شده به محل می‌باشد (شکل ۱۵-۲۹ را ببینید). نتایج این آزمایشات نیز اهمیت اتصال آنزیم در تثبیت حالت انتقالی را نشان می‌دهد.

آنالوگ های حالت-انتقالی

هرچند مشاهده مستقیم حالات انتقالی ممکن نمی‌باشد، اغلب شیمیدان‌ها، براساس اطلاعات موجود در مورد مکانیسم‌های واکنش، ساختمان تقریبی یک حالت انتقالی را پیش‌بینی می‌نمایند. طبق تعریف، حالت انتقالی آن‌قدر زودگذر و ناپایدار



k_{cat} (s^{-1})	K_m (mM)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
0.06	31	2
0.14	15	10
2.8	25	114

شکل ۱. اثرات تغییرات ساختمانی کوچک سوبسترا بر روی پارامترهای کینتیک هیدرولیز آمیدی توسط کیموتریپسین.

Book.Apfarsi.ir

ادامهٔ کادر ۳-۸

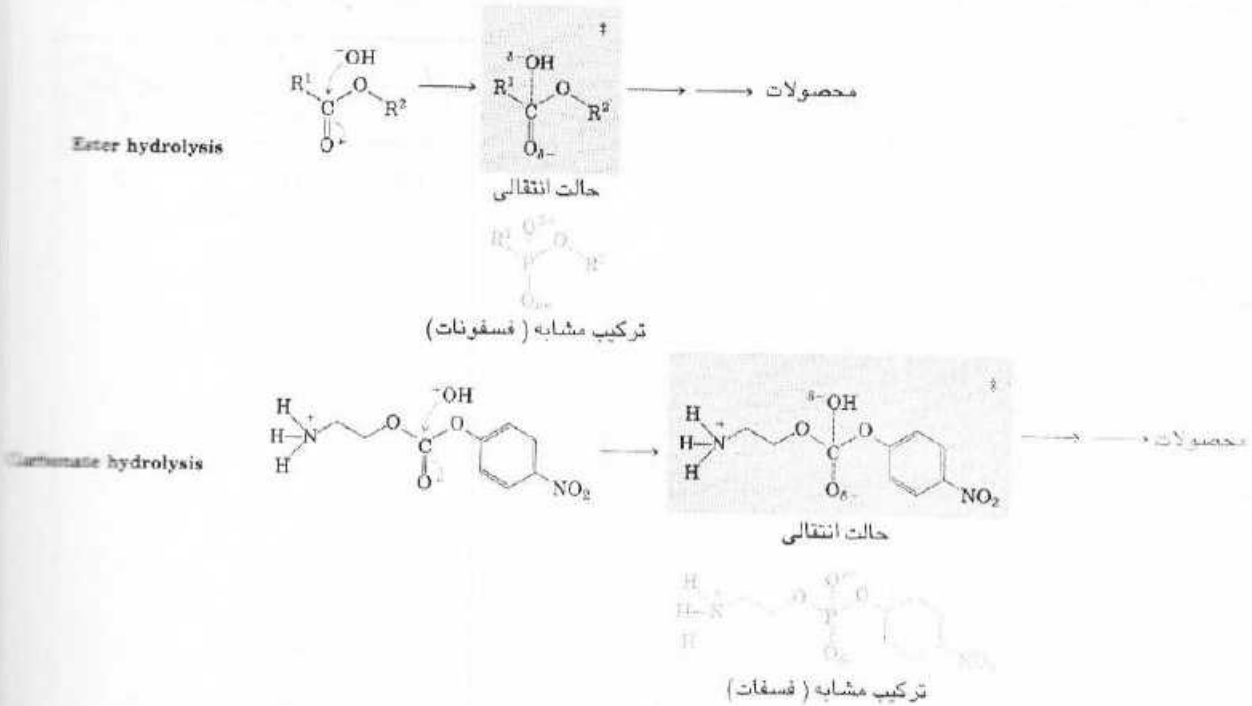
می‌باشد که اندازه‌گیری مستقیم واکنش اتصالی بین آن و آنزیم غیرممکن است. هرچند، در بعضی موارد، می‌توان ملکول‌های پایداری را طراحی نمود که مشابه حالات انتقالی هستند. به این ترکیبات آنالوگ‌های **حالت انتقالی** اتلاق می‌گردد. اصولاً می‌بایست این ترکیبات محکم‌تر از سوبسترای موجود در کمپلکس ES، به آنزیم اتصال یابند، زیرا در مقایسه با خود سوبسترا، می‌بایست انطباق بیشتری با جایگاه فعال داشته باشند (یعنی، تعداد بیشتری واکنش متقابل ضعیف تشکیل دهند). تفکر استفاده از آنالوگ‌های حالت انتقالی توسط پائولینگ در دهه ۱۹۴۰ مطرح گردید و با استفاده از تعدادی از آنزیم‌ها پی‌گیری شده است. محدودیت این آزمایشات در این است که یک آنالوگ حالت انتقالی نمی‌تواند کاملاً از یک حالت انتقالی تقلید نماید. هرچند، تعدادی از آنالوگ‌ها، در مقایسه با سوبسترای طبیعی، 10^2 تا 10^6 برابر قویتر به جایگاه‌های فعال آنزیمی متصل می‌گردند که در حقیقت مکمل حالات انتقالی هستند. از همین اصول هم‌اکنون به‌طور معمول در صنعت داروسازی برای طراحی داروهای جدید استفاده می‌گردد. داروهای ضد HIV، بدام مهارکننده‌های پروتئاز، به‌صورت آنالوگ‌های حالت انتقالی طراحی می‌شوند که به‌طورمحکم به جایگاه پروتئاز HIV اتصال می‌یابند.

آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک

درصورتیکه بتوان یک آنالوگ حالت انتقالی را برای واکنش S → P طراحی نمود، آنگاه می‌توان انتظار داشت که با اتصال محکم یک آنتی‌بادی به این آنالوگ، واکنش S → P کاتالیز گردد.

آنتی‌بادیها (ایمونوگلوبولینها؛ شکل ۲۳-۷ را ببینید) اجزاء کلیدی پاسخ ایمنی هستند. وقتی از یک آنالوگ حالت انتقالی به‌عنوان یک اپی‌توپ اتصال‌یافته به پروتئین برای تحریک تولید آنتی‌بادی استفاده شود، آنتی‌بادیهای متصل‌شونده به آن، کاتالیست‌های پتانسیل واکنش مربوطه خواهند بود. این استفاده «آنتی‌بادی‌های کاتالیست»، که برای اولین بار توسط ویلیام جنکس (William Jencks) در سال ۱۹۶۹ مطرح گردید، با ابداع فن‌آوریهای آزمایشگاهی تولید آنتی‌بادیهای مشابه متصل‌شونده به یک آنتی‌ژن (آنتی‌بادیهای منوکلونال؛ فصل ۷ را ببینید)، عملی گردید.

کارهای اولیه انجام شده در آزمایشگاههای ریچارد لرنر (Richard Lerner) و پیتر شولتز (Peter Schultz) منجر به جداسازی تعدادی از آنتی‌بادیهای منوکلونال گردید که هیدرولیز استرهای کربناتها را کاتالیز می‌نمودند (شکل ۲). در این واکنش‌ها حمله آب (^-OH) بر روی کربن کربونیل تولید یک حالت انتقالی چهاروجهی می‌نماید که در آن یک بار منفی نسبی بر روی اکسیژن کربونیل ایجاد می‌شود. ترکیبات فسفات از ساختمان و توزیع بار این حالت انتقالی در هیدرولیز استری تقلید نموده که آنها را به آنالوگهای مناسب حالت انتقالی تبدیل کرده است؛ ترکیبات فسفات برای واکنش‌های هیدرولیز کربنات مورد استفاده قرار می‌گیرند. مشخص شده است که آنتی‌بادیهایی که به‌طورمحکم به فسفات یا ترکیب فسفات اتصال می‌یابند، به اندازه 10^3 تا 10^4 برابر واکنش هیدرولیز کربنات یا استر مربوطه را تسریع می‌نمایند. بررسی‌های ساختمانی چند مورد از این آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک نشان می‌دهد که بعضی زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه آنها طوری



شکل ۲. حالات انتقالی موردانتظار برای واکنش‌های هیدرولیز استر و کربنات، به ترتیب، فسفات و ترکیبات فسفاته، آنالوگهای حالت انتقالی خوبی برای این واکنش‌ها ایجاد می‌نمایند.

Book.Apfarsi.ir

ادامهٔ کادر ۳-۸

مرتب شده‌اند که می‌توانند به میزان زیادی با سوبسترا در حالت انتقالی واکنش نمایند. آنتی‌بادی‌های کاتالیتیک عموماً به کارآئی کاتالیتیک آنزیم‌ها نمی‌رسند، ولی با این وجود کاربردهای طبی و صنعتی آنها در حال	ظهور می‌باشد. برای مثال، آنتی‌بادیهای کاتالیتیک طراحی‌شده برای تخریب کوکائین برای کمک در درمان اعتیاد به کوکائین، تحت بررسی می‌باشد.

ندارد که اطلاعات امروزی ما در مورد آن، تمامی این نیازها را به‌طورکامل برطرف نماید. هرچند، دهها سال تحقیق، اطلاعاتی در مورد مکانیسم عمل صدها آنزیم را مشخص نموده است و در بعضی موارد این اطلاعات همراه با جزئیات زیاد می‌باشد.

مکانیسم‌های واکنش، اصول را شرح می‌دهند

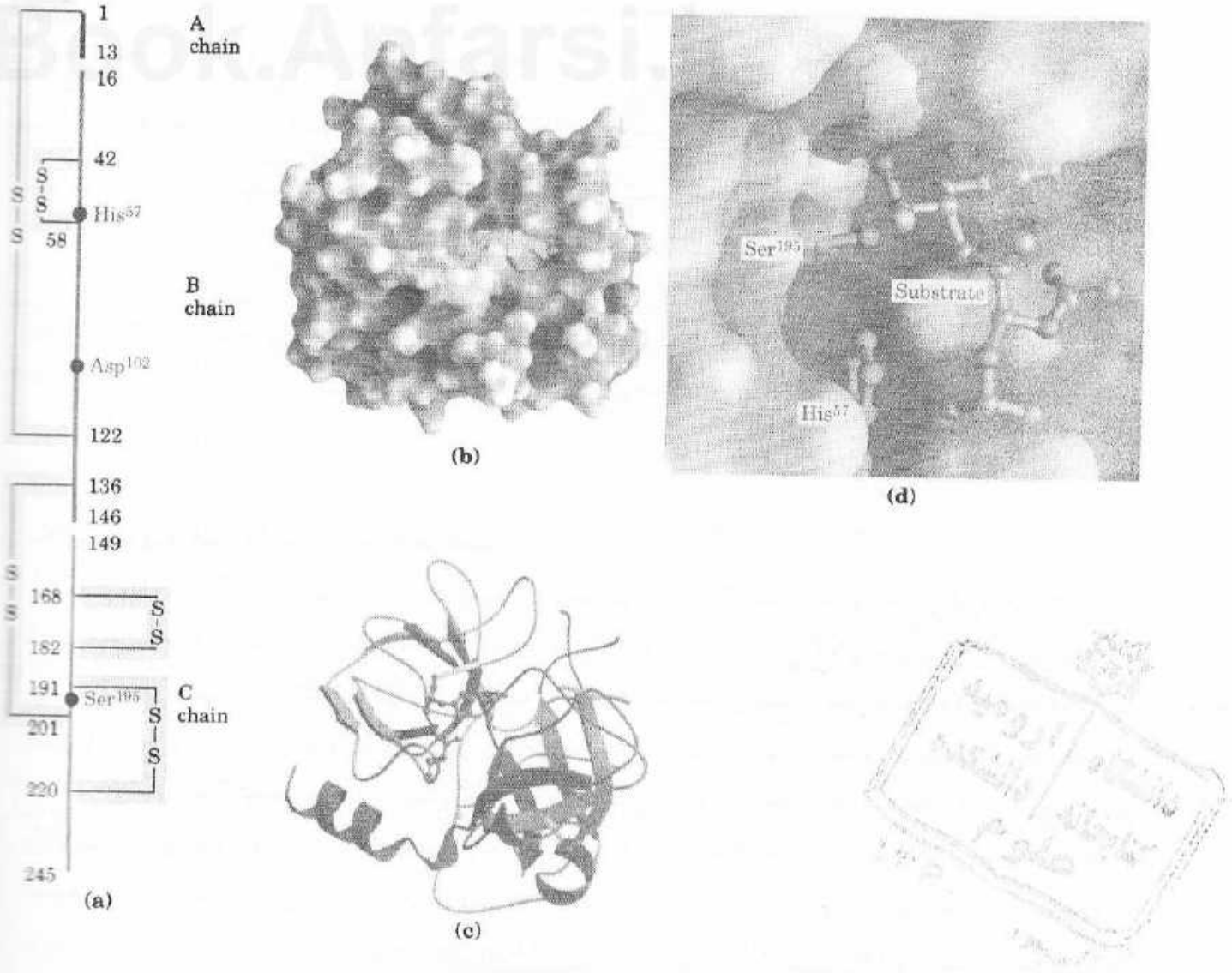
در اینجا مکانیسم سه آنزیم، شامل کیموتریپسین، هگزوکیناز و انولاز، مورد بحث قرار می‌گیرد. این آنزیم‌ها به این دلیل انتخاب نشده‌اند که شناخته‌شده‌ترین آنزیم‌ها می‌باشند و یا اینکه تمامی کلاس‌های شیمی آنزیمی را تحت پوشش قرار می‌دهند، بلکه انتخاب آنها به این علت بوده است که به‌طورواضح بعضی اصول مورد استفاده در این فصل را شرح می‌دهد. این بحث برروی اصول انتخابی همراه با چند آزمایش کلیدی متمرکز می‌باشد که به جمع‌آوری این اصول کمک نموده‌اند. بیشتر جزئیات مکانیسمی و شواهد تجربی حذف شده و در هیچ حالتی مکانیسم‌های توضیح داده شده، شرح کاملی برای افزایش سرعت کاتالیتیک توسط این آنزیم‌ها فراهم نمی‌آورند.

کیموتریپسین: کیموتریپسین (وزن‌ملکولی ۲۵،۰۰۰) یک پروتئاز، آنزیم کاتالیزکننده هیدرولیز پیوندهای پپتیدی، می‌باشد. این پروتئاز اختصاصی برای شکستن پیوندهای پپتیدیی ویژگی دارد که در مجاورت ریشه‌های اسید آمینه آروماتیک قرار دارند (جدول ۷-۵). ساختمان سه‌بعدی کیموتریپسین همراه با تأکیدی بر گروه‌های وظیفه‌دار موجود در جایگاه فعال آن در شکل ۱۸-۸ نشان داده شده است. واکنشی که توسط این آنزیم کاتالیز می‌گردد، اساس تثبیت حالت انتقالی را شرح داده و همچنین یک مثال کلاسیک از کاتالیز اسید-باز عمومی و کاتالیز کووالان فراهم می‌آورد.

کیموتریپسین سرعت هیدرولیز پیوند پپتیدی را حداقل به اندازه 10^9 برابر افزایش می‌دهد. این آنزیم حمله مستقیم ملکول آب به پیوند پپتیدی را کاتالیز نمی‌نماید؛ بلکه، ایجاد یک ترکیب واسط زودگذر آسیل-آنزیم می‌نماید. ازاینرو، این واکنش دارای دو فاز اصلی (شکل ۱۹-۸) می‌باشد. در فاز آسیلاسیون، پیوند پپتیدی شکسته شده و یک پیوند استری بین کربن کربونیل پپتید و آنزیم ایجاد می‌گردد. در فاز دآسیلاسیون، این اتصال استری هیدرولیز شده و مجدداً آنزیم غیرآسیله تولید می‌شود. نوکلئوفیل فاز آسیلاسیون، اکسیژن Ser^{195} می‌باشد. به‌طورطبیعی گروه هیدروکسیل سرین در pH خنثی پروتونه است، ولی Ser^{195} کیموتریپسین توسط پیوند هیدروژنی به His^{57} اتصال یافته که خود توسط پیوند هیدروژنی به Asp^{102} متصل می‌باشد. به این سه ریشه اسید آمینه اغلب تریاد کاتالیتیک[1] گویند. وقتی اکسیژن Ser^{195} به کربن کربونیل پیوند پپتیدی حمله می‌نماید، His^{57} دارای پیوند هیدروژنی، به‌عنوان یک باز عمومی، پروتون سرین را برداشت نموده و Asp^{102} دارای بار منفی، بار مثبت

1. Catalytic triad

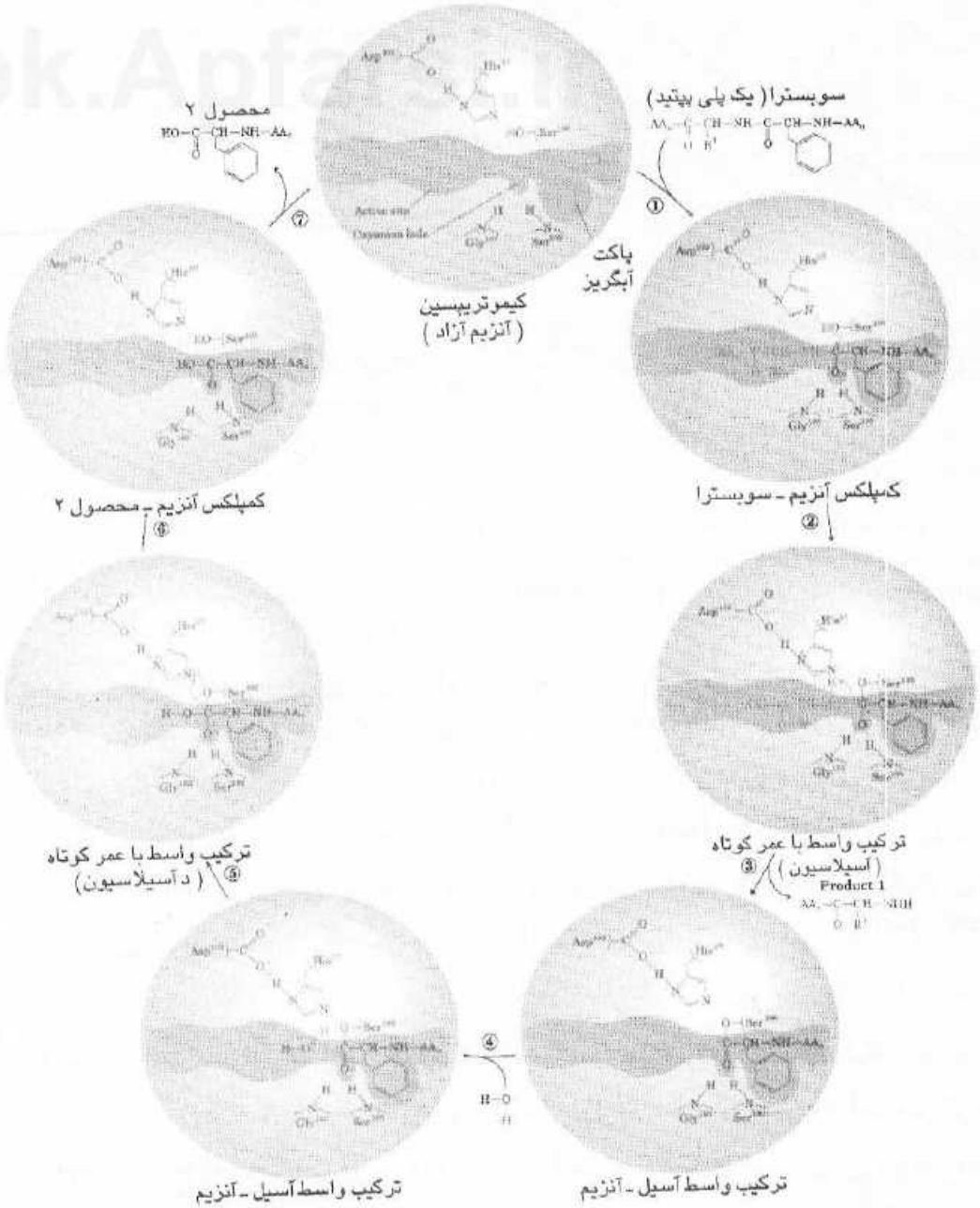
Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۸-۸ [شکل ۲۵ ضمیمه رنگی قسمت d, c, b]. ساختمان کیموتریپسین. (a) نمایشی از ساختمان اولیه که پیوندهای دی‌سولفیدی و ریشه‌های اسید آمینه‌ای که برای کاتالیز مهم هستند را نشان می‌دهد. این پروتئین از سه زنجیر پلی‌پپتیدی تشکیل شده است که توسط پیوندهای دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. (شماره‌گذاری ریشه‌ها در کیموتریپسین در شکل ۳۱-۸ شرح داده شده است؛ شماره‌های ۱۴، ۱۵، ۱۹۶ و ۱۴۷ ازدست می‌روند.) ریشه‌های اسید آمینه جایگاه فعال در ساختمان سه‌بعدی درکنار یکدیگر قرار می‌گیرند. **(b)** ترسیمی از این آنزیم با تاکید بر سطح آن. پاکتی که زنجیر جانبی اسید آمینه سوبسترا به آن متصل می‌گردد، با رنگ سبز نشان داده شده است. ریشه‌های کلیدی جایگاه فعال شامل Ser^{195}، His^{57} و Asp^{102} با رنگ قرمز نشان داده شده‌اند. نقش این ریشه‌ها در کاتالیز در شکل ۱۹-۸ شرح داده شده است. **(c)** اسکلت پلی‌پپتیدی به‌صورت یک ساختمان نواری. پیوندهای دی‌سولفیدی به رنگ زرد هستند؛ زنجیرهای A، B و C همانند قسمت **(a)** رنگ شده‌اند. **(d)** جایگاه فعال بازشده با سوبسترایی (سبز) که متصل شده است. دو ریشه جایگاه فعال، شامل Ser^{195} و His^{57} (قرمز)، تا حدودی مشاهده می‌شوند. Ser^{195} به گروه کربونیل سوبسترا (اکسیژن به رنگ ارغوانی) حمله می‌نماید؛ بار منفی ایجاد شده بر روی این اکسیژن توسط حفره اکسی‌آنیون (نیتروژنهای آمیدی به رنگ نارنجی)، همانند شکل ۱۹-۸، تثبیت می‌گردد. در سوبسترا، زنجیر جانبی اسید آمینه و نیتروژن آمیدی پیوند پپتیدی مورد نظر برای هیدرولیز، به رنگ آبی می‌باشد.

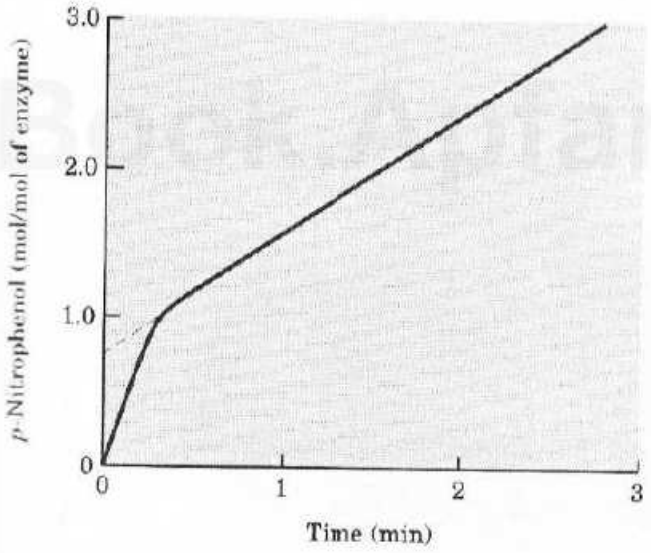
ایجادشده بر روی این ریشه His را تثبیت می‌نماید. این امر مانع از پیدایش یک بار مثبت بسیار ناپایدار بر روی هیدروکسیل Ser^{102} شده و آن را نوکلئوفیل‌تر می‌نماید. His^{57} همچنین می‌تواند به‌عنوان یک دهنده پروتون عمل نموده و گروه آمینو را در قسمت جداشونده سوبسترا (گروه جداشونده) پروتونه نماید. یک سری انتقالات پروتونی مشابه در مرحله دآسیلاسیون رخ می‌دهد.

Book.Apfarsi.ir

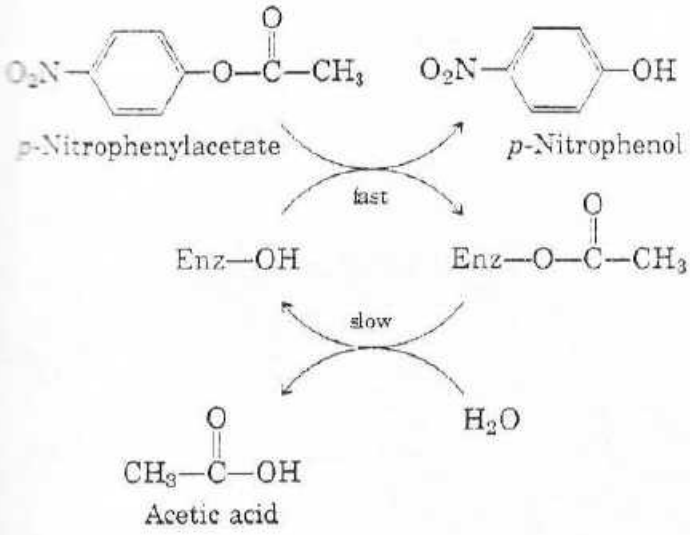


شکل ۱۹-۸. مراحل تجزیه هیدرولیتیک یک پیوند پپتیدی توسط کیموتریپسین. سوبسترا (یک پلی‌پپتید یا پروتئین) به جایگاه فعال اتصال می‌یابد. پیوند پپتیدی که قرار است هیدرولیز گردد، با اتصال به زنجیر جانبی اسید آمینه آبگریز (در این مثال یک ریشه Phe) در یک پاکت آبگریز اختصاصی موجود بر روی آنزیم، در محل قرار می‌گیرد. این واکنش از دو فاز تشکیل شده است. در مراحل ۱ تا ۳، تشکیل یک ترکیب واسط کووالان آسیل-آنزیم با تجزیه پیوند پپتیدی جفت می‌گردد (فاز آسیلاسیون). در مراحل ۴ تا ۷، طی دآسیلاسیون، آنزیم آزاد مجدداً ایجاد می‌گردد (فاز دآسیلاسیون). در هر دو فاز، اکسیژن کربونیل سوبسترا یک بار منفی در ترکیب واسط چهاروجهی کسب می‌نماید. این بار توسط پیوندهای هیدروژنی بین نیتروژنهای آمید Gly^{193} و Ser^{195} پایدار می‌گردد؛ پیوند هیدروژنی متصل به Gly^{193} تنها در این ترکیب واسط دارای عمر کوتاه و در حالات انتقالی منتهی به تشکیل و تجزیه آن، ایجاد می‌شود. دآسیلاسیون عکس آسیلاسیون بوده و در آن آب بجای جزء آمینی سوبستراعمل می‌نماید. ریشه‌های His و Asp در یک تریاد کاتالیتیک همکاری نموده وکاتالیز بازی عمومی مراحل ۲ و ۵ وکاتالیز اسیدی عمومی مراحل ۳ و ۷ را ممکن می‌سازند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۸. کینتیک حالت قبل‌پایداری برای یک ترکیب واسط آسیل-آنزیم. هیدرولیز پارا-نیتروفنیل‌استات توسط کیموتریپسین با رهاسازی پارا-نیتروفنل (یک محصول رنگی) اندازه‌گیری می‌شود. در ابتدا، طی یک انفجار سریع، مقداری پارا-نیتروفنل تقریباً با استویکیومتری معادل میزان آنزیم موجود، آزاد می‌گردد. این موضوع فاز سریع آسیلاسیون واکنش را نشان می‌دهد. در ادامه سرعت آهسته می‌شود، زیرا تولید مجدد آنزیم محدود به سرعت آهسته‌تر فاز دآسیلاسیون می‌باشد.



وقتی اکسیژن Ser^{195} به گروه کربونیل سوبسترا حمله می‌کند، یک ترکیب واسط با عمر کوتاه ایجاد می‌گردد که در آن اکسیژن کربونیل یک بار منفی کسب می‌نماید. این بار در داخل پاکتی بر روی آنزیم، بنام حفره اکسی‌آنیون، ایجاد شده و بوسیله پیوندهای هیدروژنی ایجادشده توسط نیتروژن‌های دو پیوند پپتیدی موجود در اسکلت کیموتریپسینی، پایدار می‌شود. تنها یکی از این پیوندهای هیدروژنی در این ترکیب واسط و در حالات انتقالی برای تشکیل و تجزیه آن دیده می‌شود؛ وجود این پیوند سبب کاهش انرژی مورد نیاز برای رسیدن به این حالات می‌گردد. این مثالی در مورد استفاده از انرژی اتصالی در کاتالیز می‌باشد.

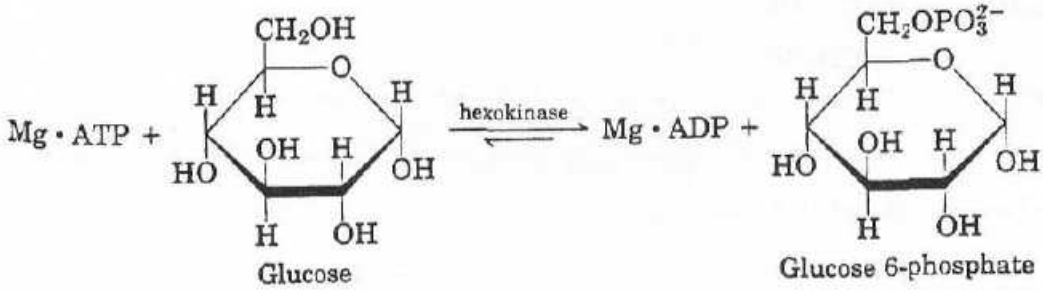
اولین مدرک در مورد یک ترکیب واسط کووالان آسیل-آنزیم، از کاربرد کلاسیک کینتیک حالت قبل پایداری به‌دست آمد. علاوه بر عمل بر روی پلی‌پپتیدها، کیموتریپسین می‌تواند هیدرولیز استرها و آمیدهای کوچک را کاتالیز نماید. این واکنش‌ها در مقایسه با هیدرولیز پپتیدها دارای سرعت بسیار کمتری است. زیرا با سوبستراهای کوچک انرژی اتصالی کمتری دردسترس خواهد بود، هرچند مطالعه آنها ساده‌تر می‌باشد. بررسی‌های انجام‌شده توسط بی. اس. هارتلی[1] و بی. آ. کیلبی[2] نشان داد که هیدرولیز استر پارا-نیتروفنیل‌استات توسط کیموتریپسین که با اندازه‌گیری رهاسازی پارا-نیتروفنل زیر نظر گرفته می‌شود، همراه با یک انفجار سریع قبل از رسیدن به یک سرعت آهسته‌تر می‌باشد (شکل ۲۰-۸). این محققین نتیجه‌گیری کردند که این فاز انفجاری مربوط به رهاسازی یک ملکول پارا-نیتروفنل به ازاء هر ملکول آنزیم موجود می‌باشد. هارتلی و کیلبی مطرح نمودند که این حالت ناشی از آسیلاسیون سریع تمامی ملکول‌های آنزیم (همراه با رهاسازی پارا-نیتروفنل) بوده و سرعت تولید مجدد آنزیم آزاد در مرحله بعد، محدود به دآسیلاسیون آهسته می‌باشد. نتایج مشابهی با آنزیم‌های متعدد دیگر بدست آمده است. مشاهده فاز انفجاری مثال دیگری در مورد استفاده از کینتیک در تقسیم یک واکنش به مراحل تشکیل‌دهنده آن می‌باشد.

هگزوکیناز: هگزوکیناز یک آنزیم دو سوبسترایی می‌باشد (وزن‌ملکولی ۱۰۰,۰۰۰) که تبدیل متقابل گلوکز و ATP

1. B.S. Hartley 2. B.A. Kilby

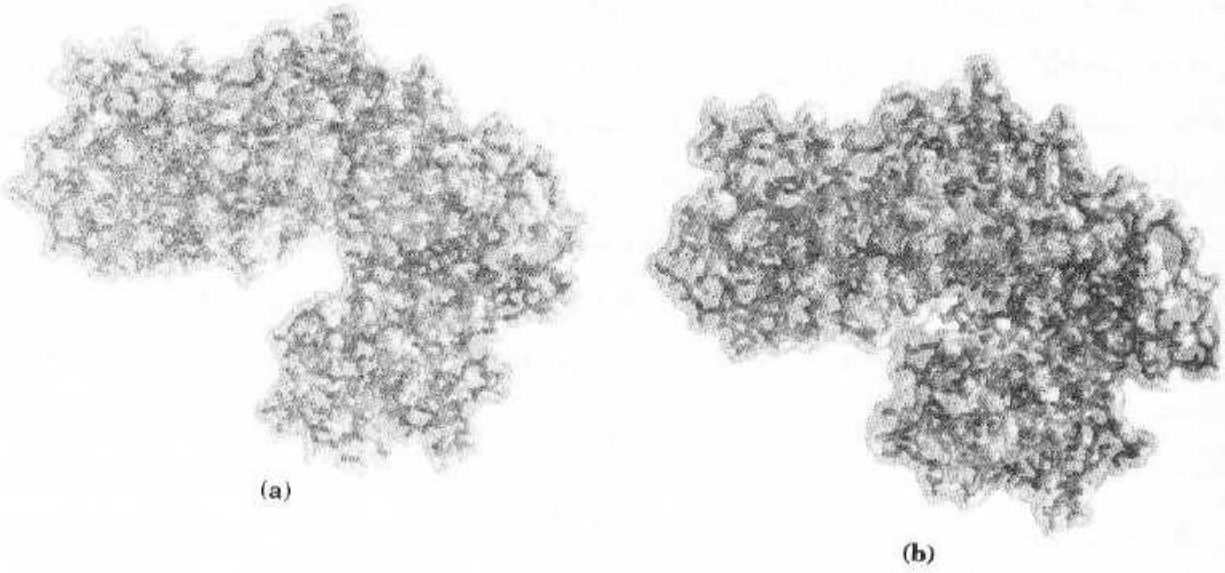
Book.Apfarsi.ir

گلوکز ۶-فسفات و ADP را کاتالیز می‌نماید. ADP و ATP، هر کدام به شکل کمپلکسی با یون فلزی Mg^{2+} به آنزیم اتصال می‌یابند. هیدروکسیل موجود در کربن ۶ گلوکز (که به آن γ-فسفریل ATP انتقال داده می‌شود) از نظر انجام واکنش شیمیایی مشابه ٌب بوده و آب به‌طور آزاد وارد جایگاه فعال آنزیم می‌گردد. با اینحال، هگزوکیناز گلوکز و آب را از یکدیگر تمایز داده و 10^6 برابر گلوکز را ترجیح می‌دهد.



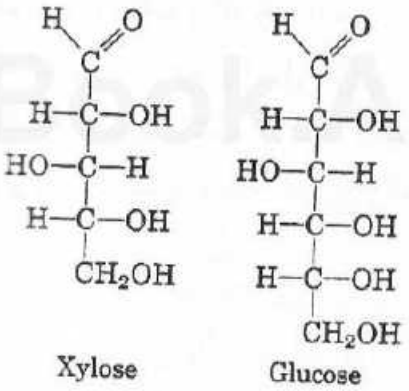
هگزوکیناز می‌تواند به‌واسطه ایجاد تغییر کونفورماسیونی در آنزیم، در هنگام اتصال سوبستراهای مناسب، بین گلوکز و آب تمایز قائل شود (شکل ۲۱-۸). بنابراین هگزوکیناز مثال خوبی از قالب القاءشده می‌باشد. وقتی گلوکز وجود ندارد، آنزیم در کونفورماسیون غیرفعال بوده که در آن زنجیرهای جانبی اسید آمینه جایگاه فعال، خارج از موقعیت لازم برای واکنش می‌باشد. با اتصال گلوکز (ولی نه آب) و Mg.ATP، انرژی اتصالی حاصل از این واکنش متقابل سبب یک تغییر کونفورماسیونی در هگزوکیناز و القاء شکل دارای فعالیت کاتالیتیک می‌گردد.

این نتیجه‌گیری با استفاده از مطالعات کینتیک تقویت می‌گردد. قند پنج کربنه گزیلوز به استثناء داشتن یک کربن کمتر، از نظر شیمی فضایی مشابه گلوکز می‌باشد، به هگزوکیناز اتصال یافته ولی در موقعیتی خواهد بود که نمی‌تواند فسفریله گردد. هرچند، با افزودن گزیلوز به مخلوط واکنش، سرعت هیدرولیز ATP افزایش می‌یابد. از قرار معلوم، اتصال گزیلوز برای القاء یک تغییر در هگزوکیناز به سمت کونفورماسیون فعال کافی بوده و به موجب آن آنزیم «گول خورده» و آب را فسفریله می‌نماید.



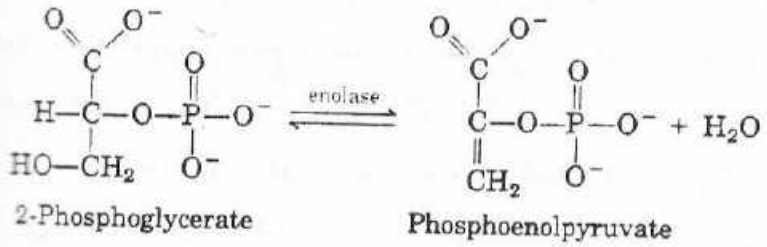
شکل ۲۱-۸. قالب القاءشده در هگزوکیناز. دو انتهای آنزیم U شکل هگزوکیناز **(a)** با اتصال D-گلوکز و القاء یک تغییر کونفورماسیونی، به سمت یکدیگر کشیده می‌شوند **(b)**.

Book.Apfarsi.ir



واکنش هگزوکیناز همچنین نشان می‌دهد که ویژگی آنزیمی همیشه یک موضوع ساده اتصال یک ترکیب و عدم اتصال ترکیب دیگر نمی‌باشد. در مورد هگزوکیناز، ویژگی در حالت تشکیل کمپلکس ES مشاهده نشده، بلکه در سرعتهای نسبی مراحل کاتالیتیکی بعدی دیده می‌شود. آب از جایگاه فعال خارج نمی‌گردد، ولی سرعت واکنش در حضور گیرنده وظیفه‌دار گروه فسفریل (گلوکز) افزایش می‌یابد. قالب القاءشده تنها یک سیمای مکانیسم کاتالیتیک هگزوکیناز می‌باشد؛ همانند کیموتریپسین، هگزوکیناز از روشهای کاتالیتیک متعددی استفاده می‌نماید. برای مثال، ریشه‌های اسید آمینه جایگاه فعال (آنهایی‌که در اثر تغییر کونفورماسیونی حاصل از اتصال سوبسترا در موقعیت مناسب قرار می‌گیرند) در کاتالیز اسید-باز و تثبیت حالت انتقالی ایفاء نقش می‌کنند.

انولاز: این آنزیم مرحله‌ای از گلیکولیز، یعنی دهیدراتاسیون قابل‌برگشت ۲-فسفوگلیسرات به فسفوانول‌پیروات، را کاتالیز می‌نماید (فصل ۱۵):



انولاز مخمر (وزن‌ملکولی ۹۶,۰۰۰)، دیمری با ۴۳۶ اسید آمینه در هر زیرواحد می‌باشد. واکنش انولاز، نوعی کاتالیز فلزی یونی را شرح داده و مثال دیگری از کاتالیز اسید-باز عمومی و تثبیت حالت انتقالی می‌باشد. این واکنش در دو مرحله به انجام می‌رسد (شکل ۲۲a-۸). ریشه Lys^{345} به‌عنوان یک کاتالیست بازی عمومی عمل نموده و در اولین مرحله یک پروتون از کربن ۲ موجود در ۲-فسفوگلیسرات دریافت می‌نماید؛ Glu^{211} به‌عنوان یک کاتالیست اسیدی عمومی عمل نموده و در دومین مرحله یک پروتون به گروه جداشونده OH- می‌دهد.

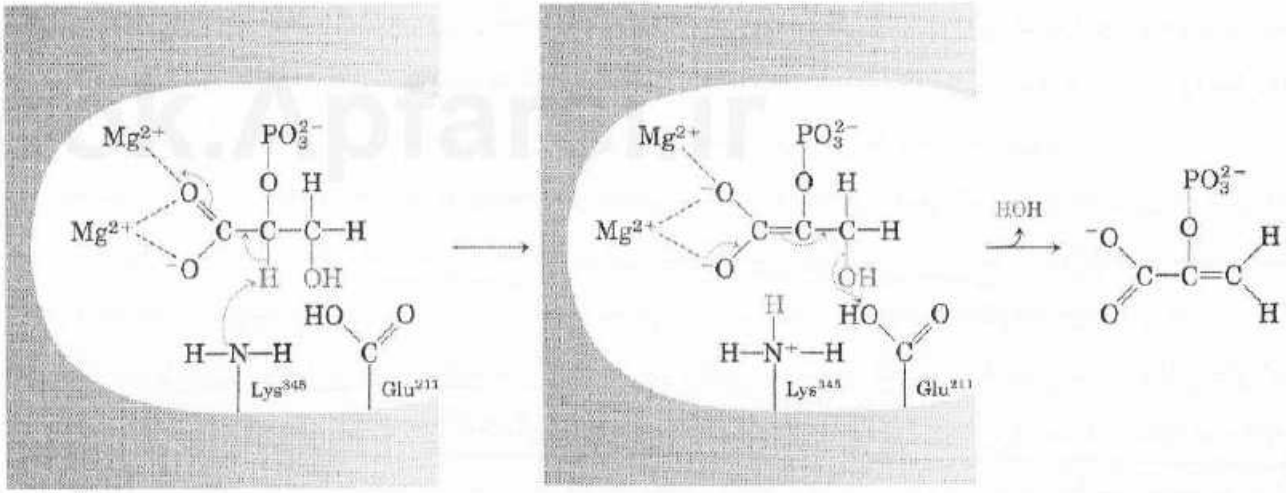
پروتون کربن ۲ در ۲-فسفوگلیسرات زیاد اسیدی نبوده و بنابراین بسادگی برداشت نمی‌گردد. هرچند، در جایگاه فعال آنزیم، ۲-فسفوگلیسرات متحمل واکنش‌های متقابل یونی قوی با دو یون Mg^{2+} موجود می‌گردد (شکل ۲۲b-۸) که (با کاهش pK_2) پروتون کربن ۲ را اسیدی‌تر نموده و برداشت آن را تسهیل می‌نماید. ایجاد پیوند هیدروژنی با سایر ریشه‌های اسید آمینه جایگاه فعال نیز به مکانیسم کلی کمک می‌نماید. واکنش‌های متقابل مختلف سبب پایداری ترکیب واسط انولات و حالت انتقالی شده که تشکیل آن را به پیش می‌برد.

در این بحث‌های مربوط به مکانیسم‌های آنزیمی، نقش اختصاصی کوآنزیم‌ها در فعالیت کاتالیتیک بسیاری از آنزیم‌ها، آورده نشده است. عمل کوآنزیم‌ها از نظر شیمیایی متفاوت بوده و در قسمت سوم این کتاب با رسیدن به هر مورد، آن را مورد بحث قرار خواهیم داد.

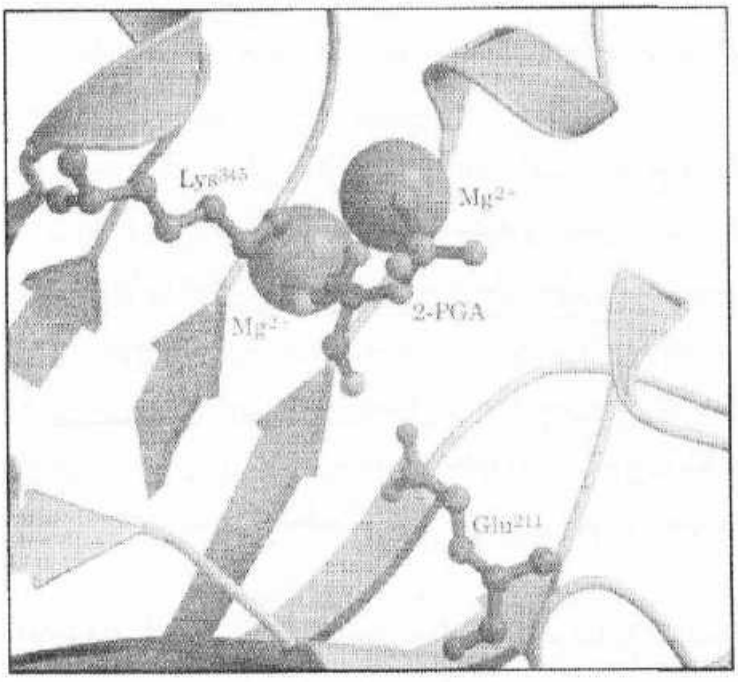
آنزیم‌های تنظیمی

در متابولیسم سلولی، گروه‌های آنزیمی به‌طورمتوالی در مسیرهای مختلف با یکدیگر عمل نموده تا منجر به انجام فرایند متابولیکی، نظیر تبدیل چندواکنشی گلوکز به لاکتات در عضله اسکلتی یا سنتز چندواکنشی یک اسید

Book.Apfarsi.ir



(a)



(b)

شکل ۲۲-۸. واکنش دو مرحله‌ای که توسط انولاز کاتالیز می‌گردد. **(a)** مکانیسم تبدیل ۲-فسفوگلیسرات (2-PGA) به فسفوانول‌پیروات توسط انولاز. گروه کربوکسیل 2-PGA با دو یون منیزیوم ایجاد دو پیوند داتیو در جایگاه فعال می‌نماید. یک پروتون توسط کاتالیز بازی عمومی (Lys^{345}) برداشت می‌گردد. ترکیب واسط انولی حاصل توسط دو یون Mg^{2+} تثبیت می‌شود. حذف بعدی OH- توسط کاتالیز اسیدی عمومی (Glu^{211}) تسهیل می‌گردد. **(b)** سوبسترا 2-PGA در ارتباط با یون‌های منیزیوم، Lys^{345} و Glu^{211}، در جایگاه فعال آنزیم. اتم‌های هیدروژن نشان داده نشده‌اند.

آمینه از پیش‌سازهای ساده‌تر در سلول باکتری، گردند. در چنین سیستم‌های آنزیمی، محصول واکنش اولین آنزیم، سوبسترا آنزیم بعدی بوده و به همین ترتیب ادامه می‌یابد.

اکثر آنزیم‌های موجود در هر سیستم از الگوهای کینتیکی پیروی می‌نمایند که تاکنون شرح داده شده‌اند. هرچند در هر مسیر متابولیکی، حداقل یک آنزیم وجود دارد که به دلیل کاتالیز آهسته‌ترین واکنش یا واکنش محدودکننده سرعت، جریان کل مسیر را تنظیم می‌نماید. به علاوه، این **آنزیم‌های تنظیمی** در پاسخ به بعضی پیام‌ها، افزایش یا کاهش فعالیت را نشان می‌دهند. تنظیم سرعت واکنش‌های کاتالیزشونده توسط آنزیم‌های تنظیمی و بنابراین تنظیم سرعت کل توالی‌های متابولیکی، به سلول این امکان را می‌دهد که نیازهای خود به انرژی و بیوملکول‌های لازم برای رشد و ترمیم را تغییر دهد.

در اکثر سیستم‌های چندآنزیمی، اولین آنزیم توالی یک آنزیم تنظیمی است. کاتالیز حتی چند واکنش ابتدایی یک مسیر که منجر به یک محصول ناخواسته می‌گردد، انرژی و متابولیت‌ها را از فرایندهای مهمتر منحرف می‌نماید.

Book.Apfarsi.ir

بنابراین، محل مناسب تنظیم یک مسیر در نقطه تعهد به آن توالی متابولیکی است. سایر آنزیم‌های موجود در مسیر معمولاً به میزان مورد نیاز برای ایجاد فعالیت کاتالیتیکی بالا، وجود دارند؛ عموماً این آنزیم‌ها قادرند که واکنش‌های خود را با سرعتی کاتالیز نمایند که سوبسترا موردنیاز را از واکنش‌های قبلی به دست می‌آورند.

فعالیت آنزیم‌های تنظیمی با روش‌های مختلفی تنظیم می‌گردد. دو کلاس اصلی آنزیم‌های تنظیمی در مسیرهای متابولیکی وجود دارد. **آنزیم‌های آلوستریک** از طریق اتصال غیرکووالان قابل‌برگشت ترکیبات تنظیمی بنام **تعدیل‌کننده‌های آلوستریک** تنظیم می‌شوند که عموماً شامل متابولیت‌های کوچک یا کوفکتورها می‌باشند. سایر آنزیم‌ها با تغییر کووالان قابل‌برگشت تنظیم می‌گردند. هر دو کلاس آنزیم‌های تنظیمی مذکور بیشتر پروتئین‌های چند زیرواحدی بوده و در بعضی موارد جایگاه(های) تنظیمی و جایگاه فعال آنها بر روی زیرواحدهای مجزا قرار دارند.

حداقل دو مکانیسم دیگر تنظیم آنزیمی وجود دارد. بعضی از آنزیم‌ها وقتی پروتئین‌های تنظیمی متفاوت به آنها اتصال می‌یابند، تحریک و یا مهار می‌شوند. تعدادی دیگر از آنزیم‌ها با برداشت قطعات پپتیدی طی تجزیه پروتئولیتیک، فعال می‌گردند؛ برخلاف تنظیم به واسطه افکتور[1]، تنظیم توسط تجزیه پروتئولیتیک غیرقابل‌برگشت می‌باشد. مثال‌های مهمی از هر دو این مکانیسم‌ها در فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر گوارش، انعقاد خون، فعالیت هورمونی و بینایی، مشاهده می‌گردد.

رشد و بقاء سلولی بستگی به استفاده مناسب از منابع دارد که با بکارگیری آنزیم‌های تنظیمی ممکن شده است. برای انجام انواع مختلف تنظیم در سیستم‌های متفاوت، تنها یک قاعده وجود ندارد. تا حدودی، تنظیم آلوستریک (غیرکووالان) امکان تنظیم ظریف مسیرهای متابولیکی را سبب می‌گردد که به‌طور مداوم ولی در سطوح مختلف فعالیتی برحسب تغییر در شرایط سلولی لازم می‌باشند. تنظیم توسط تغییر کووالان ممکن است به‌صورت همه یا هیچ عمل نماید (این حالت معمولاً در مورد تجزیه پروتئولیتیک مشاهده می‌گردد) و یا ممکن است منجر به تغییرات اساسی در فعالیت گردد. در تعدادی از آنزیم‌های تنظیمی، انواع متعدد تنظیم مشاهده می‌شود. بقیه این فصل به بحث پیرامون تنظیم آنزیمی اختصاص داده شده است.

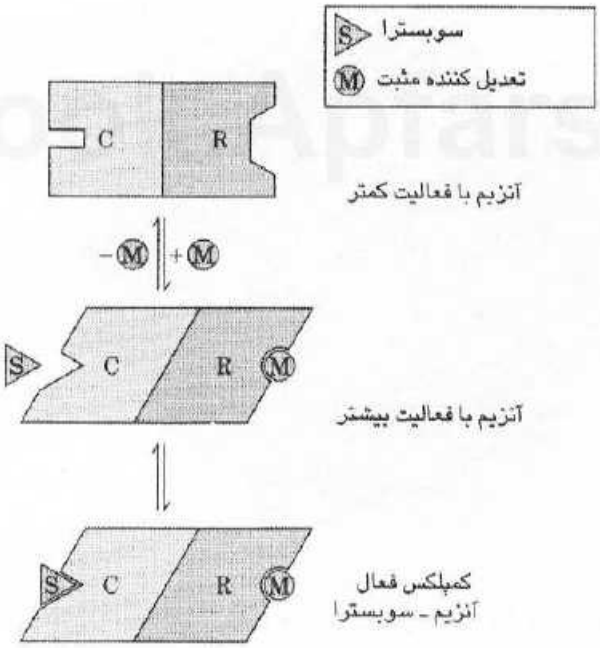
آنزیم‌های آلوستریک در پاسخ به اتصال یک تعدیل‌کننده، دچار تغییرات کونفورماسیونی می‌شوند

همان‌طور که در فصل ۷ مشاهده گردید، پروتئین‌های آلوستریک آنهایی هستند که با اتصال تعدیل‌کننده‌ها، کونفورماسیون‌ها یا «اشکال دیگری» در آنها القاء می‌گردد. همین مفهوم برای بعضی از آنزیم‌های تنظیمی بکار می‌رود که با القاء تغییرات کونفورماسیونی ناشی از یک یا چند تعدیل‌کننده، اشکال با فعالیت بالا و با فعالیت پایین یک آنزیم به یکدیگر تبدیل می‌گردند. تعدیل‌کننده‌های آنزیم‌های آلوستریک ممکن است مهاری یا تحریکی باشند در اغلب موارد فعال‌کننده خود سوبسترا می‌باشد؛ آنزیم‌های تنظیمی که سوبسترا و تعدیل‌کننده آنها یکسان می‌باشد را هموتروپیک گویند. این اثر مشابه اتصال O_2 به پروتئین غیرآنزیمی هموگلوبین می‌باشد (فصل ۷)؛ اتصال سوبسترا سبب تغییرات کونفورماسیونی می‌گردد که بر روی فعالیت بعدی سایر جایگاه‌های اتصالی موجود در پروتئین اثر می‌گذارد. وقتی تعدیل‌کننده ملکولی غیر از سوبسترا باشد، آنزیم را هتروتروپیک گویند.

توجه داشته باشید که تعدیل‌کننده‌های آلوستریک را نباید با مهارکننده‌های نارقابتی و مخلوط اشتباه نمود. هر

1. Effector-mediated

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۸. واکنش‌های متقابل زیرواحدی در یک آنزیم آلوستریک و واکنش متقابل آن با مهارکننده‌ها و فعال‌کننده‌ها. در بسیاری از آنزیم‌های آلوستریک، جایگاه اتصالی سوبسترا و جایگاه(های) اتصالی تعدیل‌کننده بر روی زیرواحدهای مختلف واقع شده‌اند که به ترتیب زیرواحدهای کاتالیتیک (C) و تنظیمی (R) نامیده می‌شوند. اتصال تعدیل‌کننده (تحریکی) مثبت (M) به جایگاه اختصاصی خود بر روی زیرواحد تنظیمی، از طریق یک تغییر کونفورماسیونی به‌زیرواحد کاتالیتیک اطلاع داده می‌شود. این تغییر سبب فعال‌شدن زیرواحد کاتالیتیک شده که امکان اتصال سوبسترا (S) به آن را با تمایل بالا سبب می‌گردد. با جداشدن این تعدیل‌کننده از زیرواحد تنظیمی، آنزیم به شکل غیرفعال یا با فعالیت کمتر تبدیل می‌شود.

چند این مهارکننده‌ها به جایگاه دیگری بر روی آنزیم اتصال می‌یابند، لزوماً منجر به تغییر کونفورماسیونی در بین اشکال فعال و غیرفعال نمی‌شوند و اثرات کنیتیکی آنها متفاوت می‌باشد.

خصوصیات آنزیم‌های آلوستریک تفاوت قابل توجهی در مقایسه با ویژگی‌های مربوط به آنزیم‌های غیرتنظیمی ساده دارند. بعضی از این تفاوتها ساختمانی می‌باشند. علاوه بر جایگاه فعال، آنزیم‌های آلوستریک عموماً دارای یک یا چند جایگاه تنظیمی یا آلوستریک برای اتصال تعدیل‌کننده‌ها هستند (شکل ۲۳-۸). همان‌طور که یک جایگاه فعال آنزیمی برای سوبسترا خود اختصاصی است، هر جایگاه تنظیمی نیز برای تعدیل‌کننده خود اختصاصی است. آنزیم‌های دارای تعدیل‌کننده‌های متعدد عموماً دارای جایگاه‌های اتصالی اختصاصی مجزایی برای هر کدام از آنها می‌باشند. در آنزیم‌های هموتروپیک، جایگاه فعال و جایگاه تنظیمی یکسان می‌باشند.

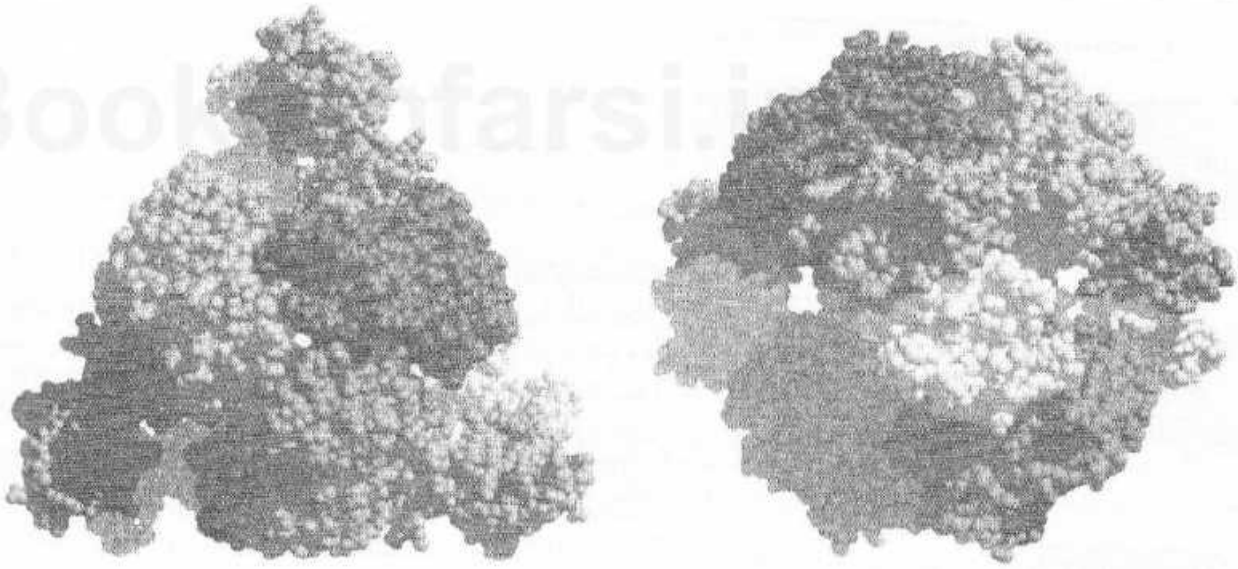
به‌طورکلی، آنزیم‌های آلوستریک بزرگتر و پیچیده‌تر از آنزیم‌های غیرآلوستریک هستند. اکثر آنها دارای در یا چند زنجیر پلی‌پپتیدی یا زیرواحد هستند. آسپارتات ترانس‌کربامیلاز که اولین واکنش بیوسنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدینی را کاتالیز می‌نماید (شکل ۳۴-۲۲ را ببینید)، دارای ۱۲ زنجیر پلی‌پپتیدی است که به شکل زیرواحدهای کاتالیتیک و تنظیمی سازماندهی نده‌اند. شکل ۲۴-۸ ساختمان چهارم این آنزیم را نشان می‌دهد که از بررسی با اشعه-x بدست آمده است.

مرحله تنظیمی در بسیاری از مسیرها توسط یک آنزیم آلوستریک کاتالیز می‌گردد

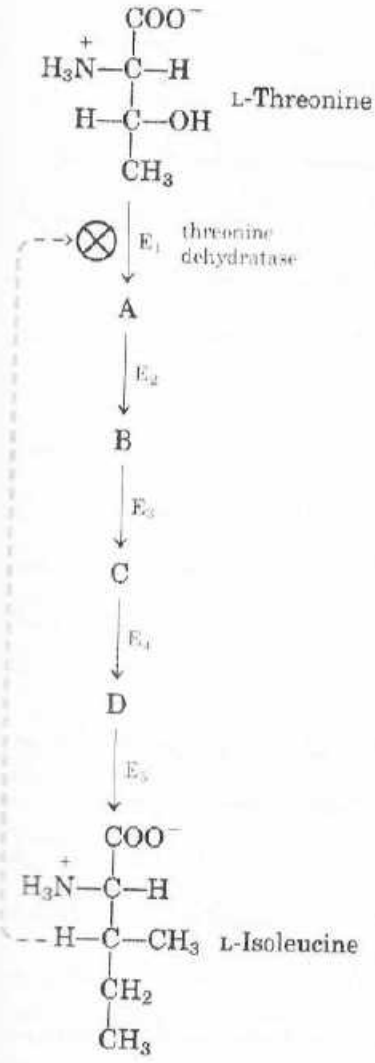
در بعضی از سیستم‌های چندآنزیمی، آنزیم تنظیمی به‌طوراختصاصی توسط محصول انتهایی مسیر مهار می‌گردد، اما این اثر در زمانی مشاهده می‌شود که غلظت محصول انتهایی از نیازهای سلولی تجاوز نماید. با کاهش فعالیت این آنزیم تنظیمی، به‌علت کاهش سوبسترا تمامی آنزیم‌های بعدی مسیر، سرعت این واکنش‌ها نیز کاهش می‌یابد. بدین‌ترتیب میزان تولید محصول انتهایی مسیر با نیازهای سلولی متعادل می‌گردد. این نوع تنظیم را **مهار پس‌نوردی**[1] گویند. تجمع محصول انتهایی مسیر نهایتاً کل مسیر را آهسته می‌نماید.

1. Feedback inhibition

Book.Apfarsi.ir



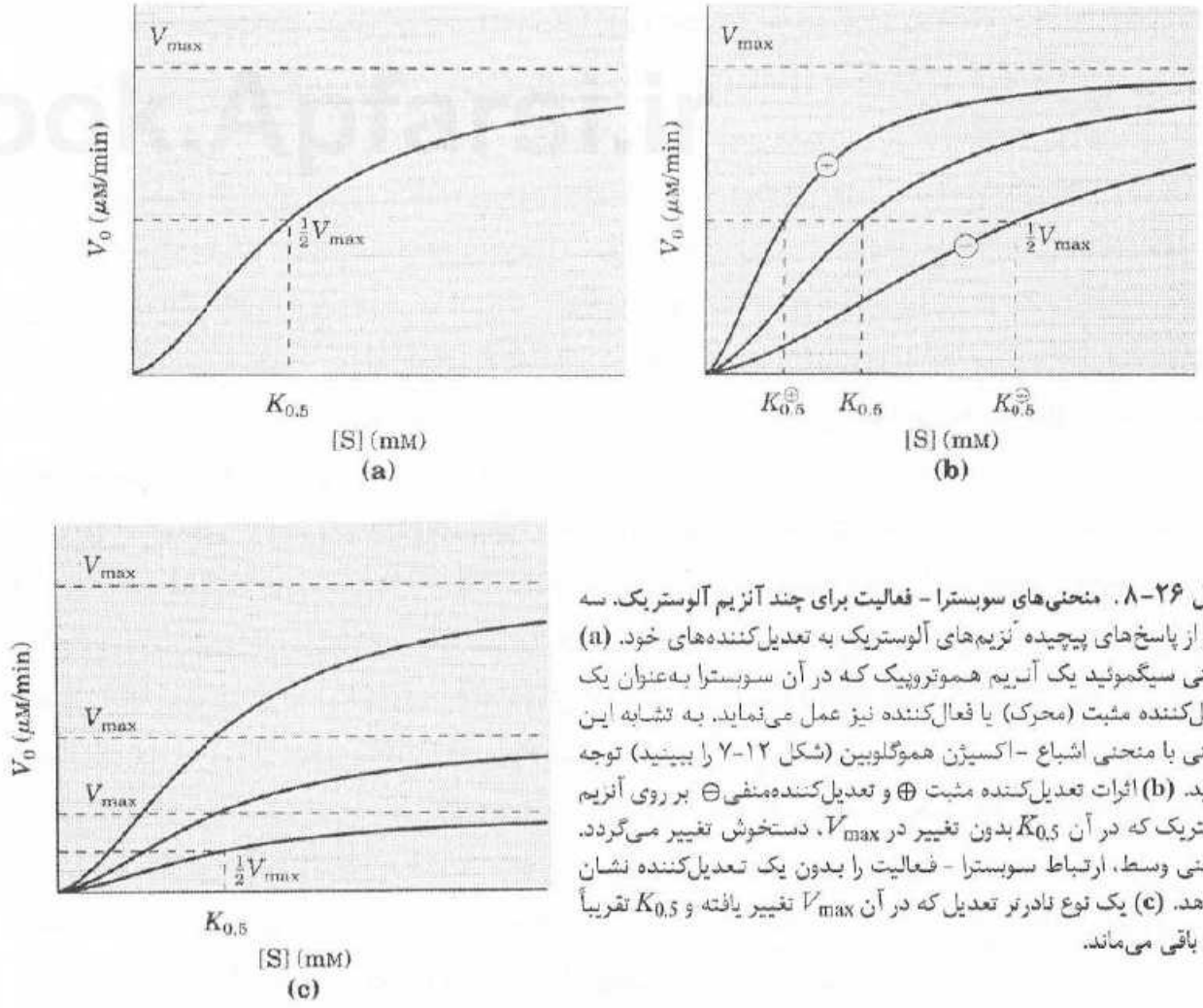
شکل ۲۴-۸ [شکل ۲۶ ضمیمه رنگی]. دو نما از **آنزیم تنظیمی آسپارتات ترانس‌کربامیلاز**. این آنزیم تنظیمی آلوستریک دارای دو قسمت کاتالیتیک فشرده، هر کدام متشکل از سه زنجیر پلی‌پپتیدی کاتالیتیک (با سایه‌های آبی و ارغوانی) و سه قسمت تنظیمی، هر کدام متشکل از دو زنجیر پلی‌پپتیدی تنظیمی (با رنگ قرمز و زرد)، می‌باشد. قسمت‌های تنظیمی ایجاد نقاط یک مثلث را نموده که زیرواحدهای کاتالیتیک را احاطه می‌کنند. با اتصال تعدیل‌کننده، تغییرات بزرگی در کونفورماسیون و فعالیت آنزیم ایجاد می‌گردد. نقش این آنزیم در سنتز نوکلئوتیدها و جزئیات تنظیم آن در فصل ۲۲ بررسی خواهد گردید.



شکل ۲۵-۸. مهار پس‌نوردی. تبدیل L - ترئونین به L - ایزولوسین توسط توالی از پنج آنزیم (E_1 تا E_5) کاتالیز می‌گردد. ترئونین دهیدراتاز (E_1) به‌طور اختصاصی و آلوستریک توسط L - ایزولوسین، محصول انتهایی این توالی، مهار می‌گردد، ولی چهار ترکیب واسط دیگر (A تا D) اثری بر روی آن ندارند. مهار پس‌نوردی با یک خط منقطع پس‌نوردی و سمبل ⊗ بر روی پیکان واکنش ترئونین دهیدراتاز نشان داده شده است. در طول این کتاب از همین روش استفاده شده است.

یکی از اولین مثال‌های کشف‌شده مهار پس‌نوردی آلوستریک، سیستم آنزیمی باکتریایی کاتالیزکننده تبدیل L-ترئونین به L-ایزولوسین در طی پنج مرحله می‌باشد (شکل ۲۵-۸). در این سیستم، اولین آنزیم، یعنی ترئونین دهیدراتاز، توسط محصول آخرین واکنش این مسیر، یعنی ایزولوسین، مهار می‌گردد. این مثالی از یک مهار آلوستریک هتروتروپیک می‌باشد. ایزولوسین به‌عنوان یک مهارکننده کاملاً اختصاصی است. هیچ ترکیب واسط دیگری در این مسیر سبب مهار ترئونین دهیدراتاز نشده و هیچ آنزیم دیگری در این مسیر توسط ایزولوسین مهار نمی‌گردد. ایزولوسین به جایگاه فعال متصل نشده، بلکه اتصال آن به جایگاه اختصاصی دیگری بر روی آنزیم، یعنی جایگاه‌تنظیمی، صورت می‌پذیرد. این اتصال غیرکووالان و براحتی قابل‌برگشت می‌باشد؛ به‌طوریکه با کاهش غلظت ایزولوسین، فعالیت ترئونین دهیدراتاز افزایش می‌یابد. بنابراین، فعالیت ترئونین دهیدراتاز به‌طور سریع و

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۶-۸. منحنی‌های سوبسترا - فعالیت برای چند آنزیم آلوستریک. سه مثال از پاسخ‌های پیچیده آنزیم‌های آلوستریک به تعدیل‌کننده‌های خود. **(a)** منحنی سیگموئید یک آنزیم هموتروپیک که در آن سوبسترا به‌عنوان یک تعدیل‌کننده مثبت (محرک) یا فعال‌کننده نیز عمل می‌نماید. به تشابه این منحنی با منحنی اشباع -اکسیژن هموگلوبین (شکل ۱۲-۷ را ببینید) توجه نمایید. **(b)** اثرات تعدیل‌کننده مثبت ⊕ و تعدیل‌کننده‌منفی ⊖ بر روی آنزیم آلوستریک که در آن $K_{0.5}$ بدون تغییر در V_{max}، دستخوش تغییر می‌گردد. منحنی وسط، ارتباط سوبسترا - فعالیت را بدون یک تعدیل‌کننده نشان می‌دهد. **(c)** یک نوع نادرتر تعدیل که در آن V_{max} تغییر یافته و $K_{0.5}$ تقریباً ثابت باقی می‌ماند.

قابل‌برگشت به تغییرات غلظت سلولی ایزولوسین پاسخ می‌دهد.

ویژگی‌های کینتیک آنزیم‌های آلوستریک از رفتار میکائیلیس-منتن پیروی نمی‌کنند

آنزیم‌های آلوستریک ارتباطاتی بین V_0 و [S] را نشان می‌دهند که متفاوت از کینتیک میکائیلیس-منتن است. وقتی [S] به اندازه کافی بالا می‌باشد، این آنزیم‌ها اشباع می‌گردند، ولی در مورد بعضی از آنزیم‌های آلوستریک، وقتی نمودار V_0 در برابر [S] رسم می‌شود (شکل ۲۶-۸)، بجای منحنی هیپربولیک شاخص آنزیم‌های غیرتنظیمی، یک منحنی سیگموئید حاصل می‌گردد. هرچند بر روی این منحنی سیگموئید می‌توان مقداری از [S] را پیدا نمود که در آن V_0 برابر نصف سرعت حداکثر می‌باشد، ولی نمی‌توان آن را به‌عنوان K_m در نظر گرفت، زیرا این منحنی از ارتباط هیپربولیک میکائیلیس-منتن پیروی نمی‌نماید. در این حالت اغلب از $[S]_{0.5}$ یا $K_{0.5}$ برای نشان‌دادن غلظت سوبسترایی استفاده می‌گردد که منجر به نصف سرعت حداکثر واکنش توسط یک آنزیم آلوستریک می‌شود (شکل ۲۶-۸).

به‌طورکلی، رفتارکینتیکی سیگموئیدی نشان‌دهنده واکنش‌های متقابل تعاونی بین زیرواحدهای پروتئینی متعدد می‌باشد. بعبارتی دیگر، تغییرات ساختمانی یک زیرواحد منجر به تغییرات ساختمانی زیرواحدهای مجاور آن می‌گردد؛ این اثر بواسطه واکنش‌های متقابل غیرکووالان در سطح (سطوح) زیرواحد-زیرواحد به‌انجام می‌رسد. این اصول بخصوص در هنگام اتصال O_2 به هموگلوبین مشخص می‌باشد (فصل ۷). رفتار کینتیکی سیگموئیدی

Book.Apfarsi.ir

توسط مدل‌های هماهنگ و متوالی واکنش‌های متقابل زیرواحدی شرح داده می‌شود (شکل ۱۴-۷ را ببینید).

آنزیم‌های آلوستریک هموتروپیک عموماً دارای زیرواحدهای متعددی هستند. همان‌طور که قبلاً اشاره گردید، یک جایگاه اتصالی ممکن است به‌عنوان هر دو جایگاه فعال و تنظیمی عمل نماید. سوبسترا می‌تواند به‌عنوان یک تعدیل‌کننده مثبت (یک فعال‌کننده) باشد، زیرا زیرواحدها به‌طور تعاونی عمل می‌نمایند: اتصال یک ملکول سوبسترا به یک جایگاه اتصالی سبب تغییر کونفورماسیون آنزیمی و تسریع اتصال ملکول‌های بعدی سوبسترا می‌گردد. با افزایش [S]، این اثر منجر به افزایش سیگموئیدی، به جای هیپربولیکی، در V_0 می‌گردد. یکی از ویژگی‌های کینتیک سیگموئیدی این است که تغییرات کوچک یک تعدیل‌کننده می‌تواند همراه با تغییرات بزرگی در فعالیت باشد. همان‌طور که از شکل ۲۶-۸ a مشخص می‌باشد، یک افزایش نسبتاً کوچک در [S] در قسمت شیب منحنی منجر به افزایش تعاونی بزرگی در V_0 می‌گردد.

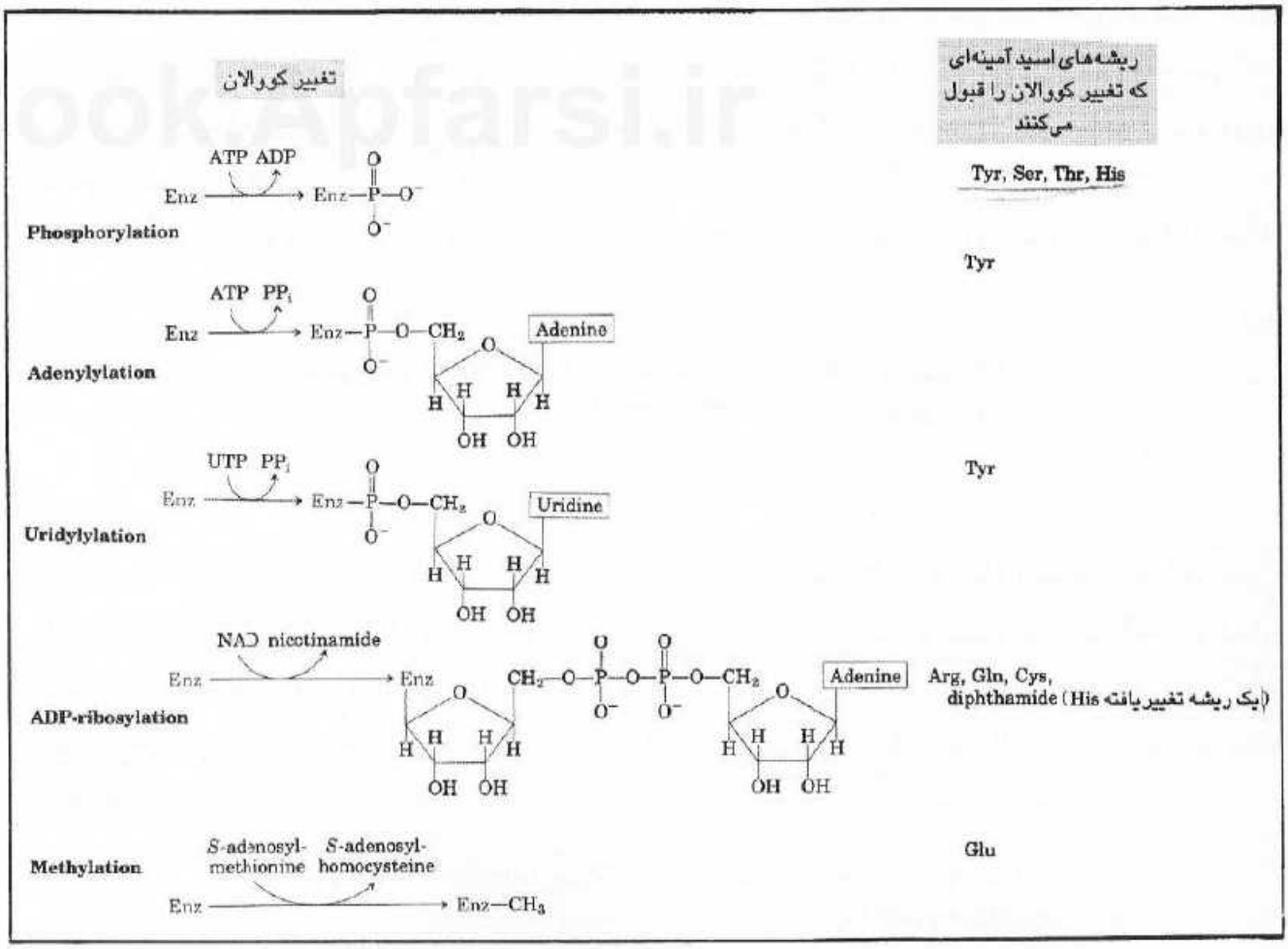
برای آنزیم‌های آلوستریک هتروتروپیک، که تعدیل‌کننده آن متابولیتی غیر از خود سوبسترا می‌باشد، عمومیت‌دادن شکل منحنی اشباع - سوبسترا مشکل می‌باشد. یک فعال‌کننده ممکن است منحنی را همراه با کاهش $K_{0.5}$ ولی بدون تغییر V_0، بیشتر به سمت هیپربولیک کشانده و بنابراین منجر به افزایش سرعت واکنش در یک غلظت ثابت سوبسترا گردد (V_0 برای هر مقداری از [S] بیشتر می‌باشد) (شکل ۲۶-۸ b، منحنی بالا). آنزیم‌های آلوستریک هتروتروپیک دیگر با افزایش V_{max} همراه با تغییر کم در $K_{0.5}$ به یک فعال‌کننده پاسخ می‌دهند (شکل ۲۶-۸ c). یک تعدیل‌کننده منفی (یک مهارکننده) ممکن است یک منحنی سیگموئیدتر اشباع - سوبسترا را با افزایشی در $K_{0.5}$ نشان دهد (شکل ۲۶-۸ b، منحنی پایین). بنابراین آنزیم‌های آلوستریک هتروتروپیک انواع مختلف پاسخ‌ها را در منحنی‌های فعالیت - سوبسترا خود نشان می‌دهند، زیرا تعدادی دارای تعدیل‌کننده‌های مهاری بوده و بعضی تعدیل‌کننده‌های مثبت و عده‌ای نیز هر دو را دارند.

بعضی از آنزیم‌های تنظیمی دچار تغییر کووالان قابل‌برگشت می‌گردند

در کلاس مهم دیگر آنزیم‌های تنظیمی، فعالیت آنزیمی با تغییر کووالان ملکول آنزیم تعدیل می‌گردد. گروه‌های تغییردهنده شامل گروه‌های فسفریل، آدنیلیل، اوریدیلیل، آدنوزین دی‌فسفات ریبوزیل و متیل، می‌باشد (شکل ۲۷-۸). این گروه‌ها عموماً توسط آنزیم‌های مجزایی به‌طورکووالان به آنزیم تنظیمی مورد نظر متصل و یا از آن برداشت می‌شوند.

مثالی از متیلاسیون، پروتئین کموتاکسیس گیرنده متیل در باکتریها می‌باشد. این پروتئین قسمتی از سیستمی است که سبب حرکت یک باکتری به سمت یک ماده جذب‌کننده (مثلاً قند) در یک محلول و یا فرار از مواد شیمیایی دافع می‌گردد. عامل متیله‌کننده *S*-آدنوزیل‌متیونین (AdoMet) می‌باشد که در فصل ۱۸ شرح داده می‌شود. ADP-ریبوزیلاسیون یک واکنش جالب در مورد تنها چند پروتئین می‌باشد. ADP-ریبوز از نیکوتینامید آدنین دی‌نوکلئوتید (NAD) مشتق می‌گردد (شکل ۴۱-۱۰ را ببینید). این نوع تغییر در آنزیم باکتریایی دی‌نیتروژناز ردوکتاز مشاهده شده و منجر به تنظیم فرایند مهم فیکساسیون بیولوژیک نیتروژن می‌شود. به علاوه، هر دو سم دیفتری و وبا، آنزیم‌هایی هستند که ADP-ریبوزیلاسیون (و غیرفعال‌سازی) آنزیم‌ها یا پروتئین‌های کلیدی سلول را کاتالیز می‌نمایند. سم دیفتری بر روی فاکتور طویل‌سازی ۲، یک پروتئین شرکت‌کننده در سنتز پروتئین، اثر نموده و آن را غیرفعال می‌سازد. سم وبا با عمل بر روی یک پروتئین (یک پروتئین G که قسمتی از یک مسیر پیام‌رسانی است

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۷-۸. مثالهایی از واکنش‌های تغییر آنزیمی.

شکل ۲۸-۱۳ را ببینید)، نهایتاً منجر به پاسخ‌های فیزیولوژیک متعددی، نظیر ازدست‌رفتن حجم عظیمی از مایعات بدن و گاهی مرگ، می‌شود.

فسفریلاسیون بیشترین تغییرات تنظیمی شناخته‌شده را سبب می‌گردد؛ یک سوم تا یک دوم تمامی پروتئین‌های یک سلول اوکاریوتی فسفریله می‌باشند. بعضی از پروتئین‌ها تنها دارای یک ریشه فسفریله هستند، در حالی که تعدادی دیگر دارای چندین ریشه بوده و همچنین موارد کمی نیز دارای چندین دوجین جایگاه، برای فسفریلاسیون می‌باشند. این نحوه تغییر کووالان نقش مهم و مرکزی را در تعداد زیادی از مسیرهای تنظیمی داشته و به همین دلیل در قسمت پایین جزئیات آن مورد بررسی قرار می‌گیرد.

گروه‌های فسفریل بر روی ساختمان و فعالیت کاتالیتیک پروتئین‌ها اثر دارند

اتصال گروه‌های فسفریل به ریشه‌های اختصاصی اسید آمینه یک پروتئین توسط **پروتئین کینازها** کاتالیز می‌گردد؛ برداشت گروه‌های نسفریل نیز توسط پروتئین فسفاتازها به انجام می‌رسد. افزودن یک گروه فسفریل به یک ریشه Ser، Thr و Tyr، یک گروه باردار را در ناحیه‌ای قرار می‌دهد که قبلاً به‌طورضعیف قطبی بوده است. اکسیژنهای یک گروه فسفریل می‌توانند با یک یا چند گروه، معمولاً گروه‌های آمیدی اسکلت پپتیدی در شروع یک مارپیچ α یا گروه گوانیدینوم زنجیر جانبی Arg، در یک پروتئین ایجاد پیوند هیدروژنی نمایند. دو بار منفی موجود در یک زنجیر

Book.Apfarsi.ir

جانبی فسفریله همچنین می‌تواند ریشه‌های مجاور دارای بار منفی (Asp یا Glu) را دفع کند. (هیچ زنجیر جانبی اسید آمینه‌ای تغییرنیافته، دو بار منفی ندارد.) وقتی این زنجیر جانبی تغییریافته در ناحیه‌ای از پروتئین واقع شود که برای ساختمان سه‌بعدی آن اهمیت خاصی دارد، می‌توان انتظار داشت که فسفریلاسیون اثرات عمیقی بر روی کونفورماسیون پروتئینی و بنابراین اتصال سوبسترا و کاتالیز داشته باشد.

یکی از مثالهای مهم تنظیم توسط فسفریلاسیون را می‌توان در گلیکوژن فسفریلاز (وزن‌ملکولی ۹۴,۵۰۰) عضله و کبد (فصل ۱۵) مشاهده نمود که واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید:

$$\underset{\text{Glycogen}}{(\text{Glucose})_n} + P_i \longrightarrow \underset{\substack{\text{Shortened}\\ \text{glycogen}\\ \text{chain}}}{(\text{glucose})_{n-1}} + \text{glucose 1-phosphate}$$

گلوکز ۱-فسفات تولیدی در این واکنش می‌تواند برای سنتز ATP در عضله بکار رفته و یا در کبد به گلوکز آزاد تبدیل گردد. گلیکوژن فسفریلاز به دو شکل وجود دارد: فسفریلاز *a* با فعالیت بیشتر و فسفریلاز *b* با فعالیت کمتر (شکل ۲۸-۸). فسفریلاز *a* دارای دوزیرواحد بوده که هر کدام آنها یک ریشه Ser دارند که در گروه هیدروکسیل آن فسفریله می‌شود. این ریشه‌های سرین فسفات برای حداکثر فعالیت آنزیمی لازم می‌باشند. آنزیم دیگری بنام فسفریلاز فسفاتاز می‌تواند این گروه‌های فسفریل را از فسفریلاز *a* بطریق هیدرولیز برداشت نماید:

$$\underset{\text{(More active)}}{\text{Phosphorylase } a} + 2H_2O \longrightarrow \underset{\text{(Less active)}}{\text{phosphorylase } b} + 2P_i$$

طی این واکنش، فسفریلاز *a* با شکسته‌شدن پیوندهای کووالان دو سرین فسفات، یکی در هر کدام از زیرواحدهای گلیکوژن فسفریلاز، به فسفریلاز *b* تبدیل می‌گردد.

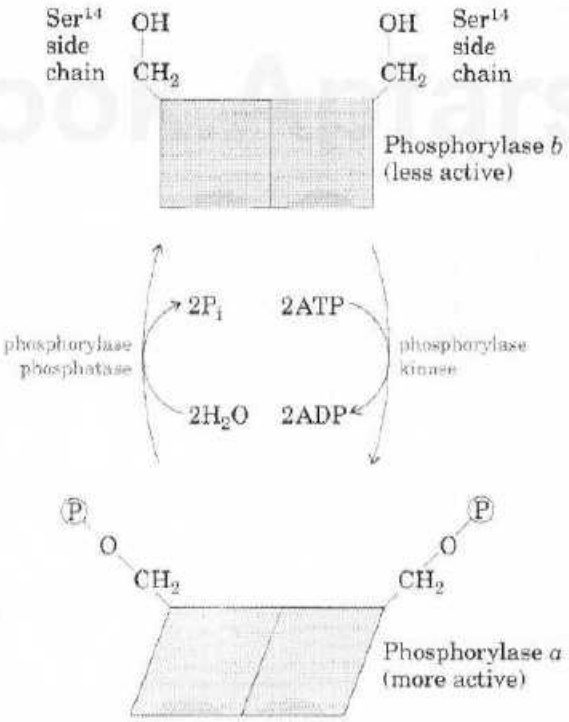
فسفریلاز *b* بنوبه خود می‌تواند توسط آنزیم دیگری بنام فسفریلاز کیناز که انتقال گروه‌های فسفریل را از ATP به گروه‌های هیدروکسیل دو ریشه اختصاصی Ser در فسفریلاز *b* کاتالیز می‌نماید، مجدداً به‌طورکووالان به فسفریلاز *a* فعال گردد.

$$\underset{\text{(Less active)}}{2\text{ATP} + \text{phosphorylase } b} \longrightarrow 2\text{ADP} + \underset{\text{(More active)}}{\text{phosphorylase } a}$$

تجزیه گلیکوژن در عضلات اسکلتی و کبد با تغییراتی در نسبت این دو شکل گلیکوژن فسفریلاز، تنظیم می‌گردد. اشکال *a* و *b* از نظر ساختمان دوم، سوم و چهارم با یکدیگر متفاوت هستند؛ در هنگام تبدیل متقابل این دو شکل به یکدیگر، جایگاه فعال متحمل تغییراتی در ساختمان و در نتیجه تغییراتی در فعالیت کاتالیتیک می‌گردد.

تنظیم گلیکوژن فسفریلاز توسط فسفریلاسیون، اثرات افزودن یک گروه فسفات هم بر روی ساختمان و هم بر روی فعالیت کاتالیتیک را نشان می‌دهد (شکل ۲۹-۸). در حالت غیرفسفریله، هر زیرواحد این پروتئین بطریقی تا می‌شوند که ۲۰ ریشه انتهای آمینو آن، شامل تعدادی از ریشه‌های بازی، را به ناحیه‌ای می‌برد که چندین اسید آمینه اسیدی در آن قرار دارد؛ این امر سبب ایجاد واکنش‌های متقابل الکترواستاتیکی می‌گردد که این کونفورماسیون را تثبیت می‌نماید. فسفریلاسیون Ser^{14} با این واکنش‌های متقابل تداخل نموده و با خارج‌کردن دومن انتهای آمینو از

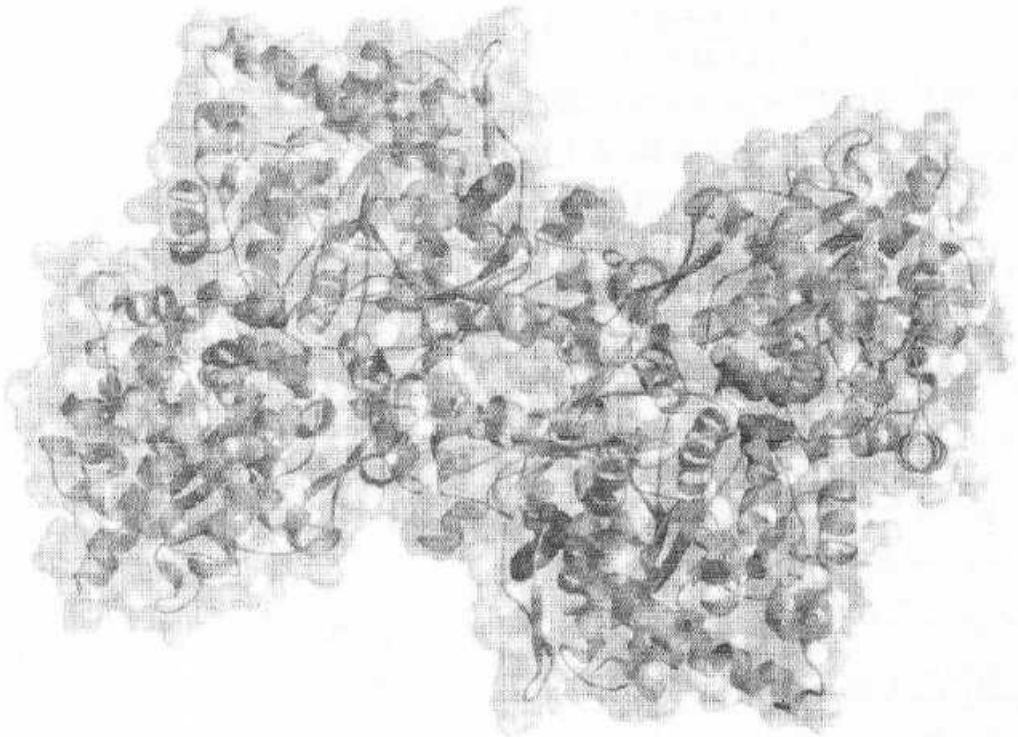
Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۸-۸. تنظیم فعالیت گلیکوژن فسفریلاز توسط تغییر کووالان. در شکل فعالتر آنزیم، یعنی فسفریلاز *a* ریشه‌های اختصاصی Ser، یکی در هر زیرواحد، فسفریله می‌باشند. با برداشت آنزیمی این گروه‌های فسفریل، توسط فسفریلاز فسفاتاز، فسفریلاز *a* به شکل دارای فعالیت کمتر یا فسفریلاز *b* تبدیل می‌گردد. فسفریلاز *b* می‌تواند با عمل فسفریلاز کیناز، مجدداً به فسفریلاز *a* فعال تبدیل گردد.

محیط اسیدی، امکان واکنش متقابل بین P-Ser و چندین زنجیر جانبی Arg را فراهم می‌سازد. در این کونفورماسیون، آنزیم فعال‌تر می‌باشد.

فسفریلاسیون یک آنزیم می‌تواند به طریق دیگری، یعنی تغییر تمایل اتصال سوبسترا، بر روی کاتالیز تأثیر بگذارد. برای مثال، وقتی ایزوسیترات دهیدروژناز (یک آنزیم چرخه اسید سیتریک؛ فصل ۱۶) فسفریله می‌شود، دفع الکترواستاتیک گروه فسفریل مانع از اتصال ایزوسیترات



شکل ۲۹-۸ [شکل ۲۷ ضمیمه رنگی]. تنظیم گلیکوژن فسفریلاز. به علت نقش مرکزی آن در متابولیسم واسط، گلیکوژن فسفریلاز در معرض سطوح تنظیمی متعددی است. این شکل واضح ملکول متقارن گلیکوژن فسفریلاز *a*، جایگاه‌های تنظیم توسط تغییر کووالان (فسفریلاسیون Ser^{14}، زرد) و فعال‌سازی آلوستریک توسط AMP (آبی‌تیره) بر روی هر دو زیرواحد را نشان می‌دهد. گلوکز (قرمز) به جایگاه فعال اتصال می‌یابد. پیریدوکسال فسفات (PLP؛ آبی روشن) مشتقی از ویتامین B_6 می‌باشد که یک کوفکتور متصل‌شده آنزیمی است. در گلیکوژن فسفریلاز، PLP در کاتالیز اسید-باز عمومی شرکت می‌نماید که نقش غیرمعمولی برای این کوفکتور می‌باشد؛ اعمال شاخص‌تر این ویتامین با جزئیات بیشتر در فصل ۱۸ مورد بحث قرار خواهد گرفت. به فاصله بین جایگاه‌های تنظیمی و جایگاه فعال آنزیم توجه کنید.

Book.Apfarsi.ir

جدول ۹-۸. توالی‌های مشترک پروتئین کیناز‌ها*

پروتئین کیناز	توالی مشترک و ریشه فسفریله*
پروتئین کیناز A	-X-R-(R/K)-X-(*S*/*T*)-B-
پروتئین کیناز G	-X-R-(R/K)-X(*S*/*T*)-X-
پروتئین کیناز C	-(R/K)-(R/K)-X-(*S*/*T*)-B-(R/K)-(R/K)-
پروتئین کیناز B	-X-R-X-(*S*/*T*)-X-K-
Ca^{2+} / کالمودولین کیناز I	-B-X-R-X-X-(*S*/*T*)-X-X-X-B-
Ca^{2+} / کالمودولین کیناز II	-B-X-(R/K)-X-X-(*S*/*T*)-X-X-
کیناز زنجیر سبک میوزین (عضله صاف)	-K-K-R-X-X-*S*-X-B-B-
فسفریلاز *b* کیناز	-*K-R-K-Q-I-S-V-R*-
کیناز تنظیمی توسط پیام خارج‌سلولی (ERK)	-P-X-(*S*/*T*)-P-P-
پروتئین کیناز وابسته به سیکلین (cdc2)	-X-(*S*/*T*)-P-X-(K/R)-
کازئین کیناز I	-(Sp-Tp)-X-X-(X)-(*S*/*T*)-B
کازئین کیناز II	-X-(*S*/*T*)-X-X-(E/D/Sp/Yp)-X-
کیناز گیرنده β-آدرنرژیک	$-(D/E)_n$-(*S*/*T*)-X-X-X-
رودوپسین کیناز	$-X-X-(S/T)-(E)_n$-
کیناز گیرنده انسولین	-X-E-E-E-*Y*-M-M-M-M-*K-K-S-R-G-D-Y-M-T-M-Q-I-G-K-K-K-L-P-A-T-G-D-Y-M-N-M-S-P-V-G-L-*
کیناز گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی (EGF)	-*E-E-E-E-Y-F-E-L-V*-

* در اینجا توالی مشترک استنتاج‌شده (به شکل رومی) و توالی‌های واقعی سوبستراهای شناخته‌شده (به شکل ایتالیک) نشان داده شده‌اند. ریشه‌های Ser (S)، Thr (T) یا Tyr (Y) که فسفریله می‌شوند، تیره می‌باشند؛ تمامی ریشه‌های اسید آمینه به صورت مخفف یک حرفی آورده شده‌اند (جدول ۱-۵ را ببینید). X می‌تواند هر اسید آمینه‌ای باشد؛ B می‌تواند هر اسید آمینه آبگریزی باشد؛ Sp، Tp و Yp، به ترتیب اشکال فسفریله Ser، Thr و Tyr هستند.

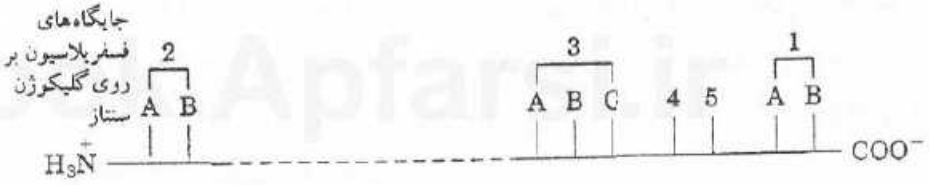
(یک اسید تری‌کربوکسیلیک) به جایگاه فعال می‌گردد.

واکنش‌های متقابل بین زیرواحدهای پروتئین‌های ساختمانی چندزیرواحدی را می‌توان با فسفریلاسیون جایگاه واکنش متقابل تغییر داد. برای مثال، فسفریلاسیون پروتئین‌های اسکلت سلولی بر روی همایش آنها در ایجاد ساختمان‌های سوپراملکولی تأثیر دارد. گزارش شده است که پروتئین-۲ متصل به میکروتوبول، تا ۳۰ جایگاه برای فسفریلاسیون دارد.

فسفریلاسیون‌های متعدد امکان کنترل تنظیمی دقیق را می‌دهند

ریشه‌های Ser، Thr و Tyr که در پروتئین‌های تنظیمی فسفریله می‌شوند، در موتیف‌های ساختمانی معمولی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۰-۸. فسفریلاسیون‌های تنظیمی متعدد. آنزیم گلیکوژن سنتاز دارای حداقل ۹ جایگاه مجزا در ۵ ناحیه مشخص‌شده می‌باشد که به فسفریلاسیون توسط یکی از پروتئین کینازهای سلولی حساس هستند. بنابراین فعالیت این آنزیم در پاسخ به پیام‌های مختلف قابل تغییر می‌باشد. ازاینرو، تنظیم تنها به‌واسطه یک کلید (روشن/خاموش) به انجام نرسیده، بلکه به شکل تنظیم ظریف در یک دامنه وسیع فعالیت صورت می‌پذیرد.

کیناز	جایگاه‌های فسفریله گلیکوژن سنتاز	شدت غیرفعال‌شدن سنتاز
پروتئین کیناز A	4 ،2 ،1B ،1A	+
پروتئین کیناز G	2 ،1B ،1A	+
پروتئین کیناز C	1A	+
Ca^{2+}/کالمودولین کیناز	2 ،1B	+
فسفریلاز *b* کیناز	2	+
کازئین کیناز I	حداقل در ۹ جایگاه	++++
کازئین کیناز II	5	۰
گلیکوژن سنتاز کیناز ۳	3C ،3B ،3A	+++
گلیکوژن سنتاز کیناز ۴	2	+

بنام توالی‌های مشترک، وجود دارند که توسط کینازهای پروتئینی اختصاصی شناسایی می‌گردند (جدول ۹-۸). بعضی از کینازها بازوفیلی بوده و فسفریلاسیون ریشه‌های دارای همسایه‌های بازی را ترجیح می‌دهند؛ تعدادی دیگر از پروتئین کینازها سوبستراهای دیگری، برای مثال یک ریشه موجود در نزدیکی یک پرولین، را ترجیح می‌دهند. هرچند، توالی اولیه تنها عامل مهم در تعیین فسفریلاسیون با عدم فسفریلاسیون یک ریشه خاص نمی‌باشد. در اثر تاشدن پروتئینی، ریشه‌هایی در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند که در توالی اولیه از هم دور هستند و ساختمان سه‌بعدی حاصل می‌تواند مشخص نماید که آیا یک پروتئین کیناز می‌تواند به یک ریشه خاص دسترسی پیدا کند و آن را به‌عنوان یک سوبسترا شناسایی نماید. یکی از عوامل مؤثر بر ویژگی سوبسترا بعضی پروتئین کینازها، نزدیکی ریشه‌های دیگر فسفریله می‌باشد.

تنظیم بواسطه فسفریلاسیون اغلب کاملاً پیچیده می‌باشد. بعضی از پروتئین‌ها دارای توالی‌های مشترکی هستند که توسط پروتئین کینازهای متعددی شناسایی شده که هر کدام از آنها می‌توانند این پروتئین‌ها را فسفریله نموده و فعالیت آنزیمی آنها را تغییر دهند. در بعضی موارد، فسفریلاسیون دارای سلسله مراتبی است: یک ریشه خاص تنها زمانی فسفریله می‌گردد که ریشه مجاور آن در ابتدا فسفریله شده باشد. برای مثال، گلیکوژن سنتاز با فسفریلاسیون ریشه‌های Ser اختصاصی غیرفعال شده و فعالیت این پروتئین همچنین حداقل توسط چهار پروتئین کیناز دیگر تعدیل می‌گردد که چهار جایگاه دیگر موجود در پروتئین را فسفریله می‌نمایند (شکل ۳۰-۸). تا زمانی‌که یک جایگاه توسط کازئین کیناز II فسفریله نشده است، این پروتئین سوبسترایی برای گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ نمی‌باشد. بعضی از فسفریلاسیون‌ها سبب مهار بیشتر گلیکوژن سنتاز می‌گردند و انجام همزمان تعدادی از فسفریلاسیون‌ها دارای اثرات جمعی می‌باشند. این فسفریلاسیون‌های تنظیمی متعدد، پتانسیلی را برای تعدیل فوق‌العاده ظریف فراهم می‌آورند.

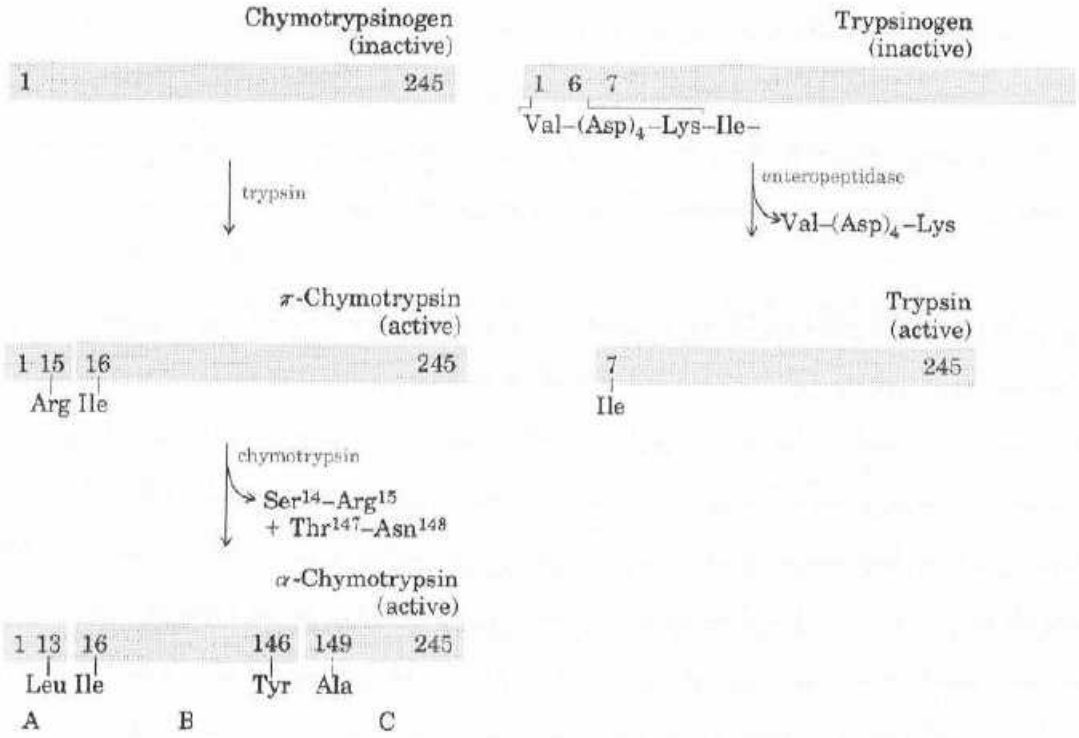
برای عمل به‌عنوان یک مکانیسم تنظیمی، لازم است فسفریلاسیون قابل‌برگشت باشد. به‌طورکلی، گروه‌های فسفریل توسط آنزیم‌های مختلفی افزوده و برداشت می‌گردند و از این‌رو این فرایندها را می‌توان به‌طورمجزا تنظیم نمود. سلول‌ها حاوی خانوادهایی از فسفوپروتئین فسفاتازها می‌باشند که استرهای P-Ser ،P-Thr و p-Tyr

Book.Apfarsi.ir

اختصاصی را هیدرولیز نموده و Pi را آزاد می‌نمایند. فسفوپروتئین فسفاتازهای شناخته‌شده تنها بر روی زیرمجموعه‌ای از فسفوپروتئین‌ها اثر می‌کنند، ولی در مقایسه با پروتئین کینازها، ویژگی سوبسترا کمتری را نشان می‌دهند. هرچند فسفوپروتئین فسفاتازها هنوز همانند پروتئین کینازها به‌طورکامل مورد مطالعه قرار نگرفته‌اند، احتمالاً آنها نیز در تنظیم فرایندهای سلولی و متابولیسم مهم می‌باشند.

در دو نوع تنظیم، نیاز به تجزیه پروتئولیتیک یک پیش‌ساز آنزیمی می‌باشد

در مورد بعضی از آنزیم‌ها، تولید شکل فعال آنزیمی نیاز به تجزیه پیش‌ساز آنزیمی بنام **زیموژن** دارد. بسیاری از آنزیم‌های پروتئولیتیک (پروتئازهای) معده و پانکراس به این طریق تنظیم می‌گردند. کیموتریپسین و تریپسین در ابتدا، به‌ترتیب، به‌صورت کیموتریپسینوژن و تریپسینوژن سنتز می‌گردند (شکل ۳۱-۸). تجزیه اختصاصی این پیش‌سازها سبب تغییرات کونفورماسیونی در آنها می‌گردد که جایگاه فعال آنزیم را در معرض قرار می‌دهد. از آنجایی‌که این نوع فعال‌شدن غیرقابل‌برگشت می‌باشد، نیاز به مکانیسم‌های دیگری برای غیرفعال‌نمودن آنها می‌باشد. پروتئازها توسط پروتئین‌های مهارکننده‌ای غیرفعال می‌گردند که به‌طور بسیار محکم به جایگاه فعال آنزیم اتصال می‌یابند. برای مثال، مهارکننده پانکراتیک تریپسین (وزن‌ملکولی ۶،۰۰۰) به تریپسین اتصال یافته و آن را مهار می‌نماید؛ α_1-آنتی‌تریپسین (وزن ملکولی ۵۳،۰۰۰) اساساً سبب مهار الاستاز نوتروفیلی (نوعی گلبول سفید) می‌گردد. کمبود α_1-آنتی‌تریپسین که ممکن است در اثر استعمال دخانیات ایجاد گردد، همراه با آسیبهای ریوی، نظیر آمفیزم، می‌باشد.



شکل ۳۱-۸. فعال‌شدن زیموژنها توسط تجزیه پروتئولیتیک، در اینجا تولید کیموتریپسین و تریپسین از پیش‌سازهای خود نشان داده شده است. توالی‌های اولیه زنجیرهای پلی‌پپتیدی به‌صورت میل‌هایی نمایش داده شده‌اند. اسیدهای آمینه موجود دو انتهای قطعات پلی‌پپتیدی که طی پروتئولیز حاصل می‌شوند، در زیر میل‌ها مشخص شده‌اند. اعداد، ریشه‌های اسید آمینه و موقعیت آنها را در توالی اولیه زیموژنها، کیموتریپسین و کیموتریپسین، مشخص می‌نمایند (ریشه انتهای آمینو شماره ۱ می‌باشد). به خاطر دارید که سه زنجیر پلی‌پپتیدی (A، B و C) کیموتریپسین توسط پیوندهای دی‌سولفیدی به یکدیگر متصل می‌شوند (شکل ۱۸-۸ را ببینید).

Book.Apfarsi.ir

پروتئازها تنها پروتئین‌هایی نمی‌باشند که با پروتئولیز فعال می‌گردند. هرچند، در موارد دیگر، پیش‌سازهایی وجود دارند که زیموژن نامیده نشده و بیشتر **پروپروتئین** یا **پروآنزیم** نامیده می‌شوند. برای مثال، پروتئین بافت همبند کلاژن در ابتدا به شکل پیش‌ساز پروکلاژن محلول سنتز می‌گردد. سیستم انعقادی خون دارای مثالهای متعدد دیگری در مورد فعال‌شدن پروتئولیتیک پروتئین‌ها می‌باشد. فیبرین، پروتئین لخته خون، در اثر پروتئولیز پروتئین غیرفعال فیبرینوژن تولید می‌شود. پروتئاز مسئول این فعال‌سازی، ترومبین (از نظر بسیاری خصوصیات مشابه کیموترپسین) می‌باشد که خود از پروتئولیز پروتئین (در این حالت یک زیموژن) پروترومبین حاصل می‌شود. انعقاد خون بواسطه یک آبشار پیچیده به انجام می‌رسد که طی آن زیموژنهای متعددی فعال می‌گردند.

بعضی آنزیم‌های تنظیمی از مکانیسم‌های تنظیمی متعددی استفاده می‌نمایند

گلیکوژن فسفریلاز اولین واکنش مسیری را کاتالیز می‌نماید که گلوکز ذخیره‌شده را وارد مسیرهای متابولیسم تولید انرژی می‌نماید (فصل ۱۵). این واکنش یک مرحله مهم متابولیکی است و تنظیم آن پیچیده می‌باشد. هرچند تنظیم اولیه این واکنش از طریق تغییر کووالان می‌باشد، همان‌طور که در شکل ۲۸-۸ آمده است، گلیکوژن فسفریلاز بطریق غیرکووالان آلوستریک توسط AMP که فعال‌کننده فسفریلاز *b* می‌باشد و همچنین ملکول‌های متعدد دیگر، به‌عنوان مهارکننده، تعدیل می‌گردد.

در چهار راه‌های متابولیکی کلیدی، آنزیم‌های تنظیمی پیچیده دیگری وجود دارند. گلوتامین سنتتاز باکتریایی که یکی از مراحل ورود نیتروژن احیاءشده به متابولیسم سلولی را کاتالیز می‌نماید (فصل ۲۲)، یکی از پیچیده‌ترین آنزیم‌های تنظیمی شناخته‌شده می‌باشد. این آنزیم به‌طریق آلوستریک (حداقل توسط هشت تعدیل‌کننده آلوستریک متفاوت) و تغییر کووالان قابل‌برگشت تنظیم می‌گردد. همچنین این آنزیم با اتصال به پروتئین‌های تنظیمی دیگر تنظیم می‌شود، در این فصل به‌طورخلاصه به این مکانیسم اشاره شده و در مسیرهای اختصاصی متابولیکی بیشتر به آن پرداخته خواهد شد.

مزیت چنین پیچیدگی در تنظیم فعالیت آنزیمی چیست؟ فصل را با تأکید بر اهمیت مرکزی کاتالیز برای هر شکل حیات آغاز نمودیم. کنترل کاتالیز نیز برای حیات اهمیت فراوانی دارد. درصورتیکه تمامی واکنش‌های ممکن در یک سلول به‌طور همزمان کاتالیز می‌گردید، ماکروملکول‌ها و متابولیت‌ها سریعاً به اشکال شیمیایی ساده‌تر تجزیه می‌شدند. ازاینرو، تنها واکنش‌هایی در سلول کاتالیز می‌گردند که در آن زمان خاص مورد نیاز هستند. وقتی منابع شیمیایی فراوان هستند، گلوکز و سایر متابولیت‌ها سنتز و ذخیره می‌گردند. وقتی این منابع کاهش می‌یابند، ذخایر شیمیایی برای متابولیسم سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرند. انرژی شیمیایی با صرفه‌جوئی مصرف می‌شود، مسیرهای متابولیکی مختلف برحسب نیازهای سلولی قطعه قطعه می‌گردند. وجود کاتالیست‌های قوی که هر کدام برای یک واکنش خاص اختصاصی هستند، تنظیم این واکنش‌ها را ممکن ساخته است. این امر بنوبه خود منجر به ایجاد هماهنگی شدیداً تنظیم‌شده و پیچیده‌ای شده است که آن را زندگی می‌نامیم.

خلاصه

زندگی وابسته به وجود کاتالیست‌های قوی و اختصاصی، یعنی آنزیم‌ها، می‌باشد. در واقع هر واکنش بیوشیمیایی توسط یک آنزیم کاتالیز می‌گردد. به استثناء چند ملکول کاتالیتیک RNA، تمامی آنزیم‌های شناخته‌شده پروتئینی می‌باشند. آنزیم‌ها کاتالیست‌های فوق‌العاده کارآمدی هستند که معمولاً سرعت واکنش را 10^5 تا 10^{17} برابر افزایش می‌دهند. بعضی از آنزیم‌ها برای فعالیت نیاز به کوفکتور شیمیایی دارند که ممکن است به‌طور سست یا محکم به آنزیم متصل شده باشند. آنزیم‌ها براساس نوع واکنش اختصاصی که کاتالیز می‌نمایند، طبقه‌بندی می‌شوند.

Book.Apfarsi.ir

واکنش‌های آنزیمی با تشکیل یک کمپلکس بین سوبسترا و آنزیم (یعنی کمپلکس ES) مشخص می‌گردند. این اتصال در داخل یک پاکت موجود در ساختمان آنزیم، بنام جایگاه فعال، صورت می‌پذیرد. عمل آنزیم‌ها و سایر کاتالیست‌ها در کاهش انرژی فعال‌سازی و به موجب آن تسریع سرعت واکنش می‌باشد. آنزیم اثری بر روی تعادل واکنش ندارد.

انرژی مورد استفاده در افزایش سرعت واکنش آنزیمی از واکنش‌های متقابل (پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل آبگریز و یونی) بین سوبسترا و آنزیم تأمین می‌گردد. جایگاه فعال آنزیم طوری ساخته می‌شود که این واکنش‌های متقابل ضعیف در حالت انتقالی واکنش به بهترین وجهی شکل گرفته و بنابراین حالت انتقالی را پایدار می‌سازند. انرژی که از ایجاد واکنش‌های متقابل ضعیف متعدد بین آنزیم و سوبسترا (انرژی اتصالی) ایجاد می‌گردد، اساسی بوده و می‌تواند علت افزایش سرعت واکنش باشد. نیاز به انجام واکنش‌های متقابل متعدد، یکی از علتهای اندازه بزرگ آنزیم‌ها می‌باشد. انرژی اتصالی می‌تواند برای کاهش آنتروپی سوبسترا، تغییرشکل سوبسترا و ایجاد تغییرات کونفورماسیونی در آنزیم (انطباق القاءشده) بکار رود. همین انرژی اتصالی، ویژگی مورد نیاز آنزیمها برای سوبسترای خود را فراهم می‌آورند. سایر مکانیسم‌های کاتالیتیک شامل کاتالیز عمومی اسید-باز و کاتالیز کووالان می‌باشد. جزئیات مکانیسم واکنش بسیاری از آنزیم‌ها مورد مطالعه قرار گرفته است.

کینتیک روش مهمی برای مطالعه مکانیسم‌های آنزیمی است. بیشتر آنزیم‌ها دارای خصوصیات کینتیکی مشترکی هستند. با افزایش غلظت سوبسترا، فعالیت کاتالیتیک غلظت ثابتی از آنزیم، به‌طریق هیپربولیک افزایش یافته و به حداکثر مشخصی بنام سرعت V_{max} می‌رسد که در آن تمامی آنزیم‌های موجود به شکل کمپلکس ES می‌باشند. غلظتی از سوبسترا که نیمی از سرعت V_{max} را ایجاد می‌نماید، ثابت میکائیلیس یا K_m گویند که برای هر آنزیمی که بر روی یک سوبسترا خاص عمل می‌نماید، میزان مشخصی است. معادله میکائیلیس-منتن

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

سرعت اولیه یک واکنش آنزیمی را از طریق K_m ثابتی با غلظت سوبسترا و V_{max} مرتبط می‌نماید. K_m و V_{max} را می‌توان اندازه‌گیری نمود؛ این پارامترها برای آنزیم‌های مختلف متفاوت می‌باشند. حد سرعت یک واکنش آنزیمی در حالت اشباع، توسط ثابت k_{cat} تعریف می‌گردد که عدد نوسازی نیز نامیده می‌شود. نسبت k_{cat}/K_m معیاری خوبی از کارآئی کاتالیتیک می‌باشد. معادله میکائیلیس-منتن در مورد واکنش‌های دوسوبسترایی نیز کاربرد دارد که ممکن است با ایجاد یک کمپلکس سه‌تایی یا به‌طریق جایگزینی دوگانه (پینگ-پنگی) به انجام برسند. هر آنزیمی دارای یک pH (یا دامنه pH) مطلوب می‌باشد که در آن حداکثر فعالیت را نشان می‌دهد.

با تغییر برگشت‌ناپذیر یک گروه عامل ضروری برای فعالیت آنزیمی، یک آنزیم می‌تواند غیرفعال گردد. آنزیم‌ها همچنین با اتصال قابل‌برگشت بعضی ملکول‌ها، مهار می‌گردند. مهارکننده‌های رقابتی به‌طوربرگشت‌پذیری با سوبسترا برای اتصال به جایگاه فعال آنزیم رقابت می‌نمایند، ولی توسط آنزیم تغییر نمی‌یابند. مهارکننده‌های نارقابتی تنها به کمپلکس ES، در محلی متفاوت از جایگاه فعال، متصل می‌گردند. در مهار مخلوط، مهارکننده می‌تواند به E یا ES اتصال یابد که این اتصال نیز در محلی غیر از محل اتصال سوبسترا صورت می‌پذیرد.

بعضی از آنزیم‌ها فعالیت مسیرهای متابولیک را در داخل سلول‌ها تنظیم می‌نمایند. در مهار پس‌نوردی، محصول یک مسیر، اولین آنزیم آن مسیر را مهار می‌نماید. فعالیت بعضی از آنزیم‌های تنظیمی، بنام آنزیم‌های آلوستریک، توسط اتصال برگشت‌پذیر یک تعدیل‌کننده به یک جایگاه تنظیمی، تنظیم می‌گردد. این تعدیل‌کننده‌ها ممکن است مهاری یا تحریکی بوده و ممکن است خود سوبسترا و یا هر ملکول دیگر باشند. رفتار کینتیک آنزیم‌های آلوستریک، واکنش‌های متقابل تعاونی را بین زیرواحدهای آنزیمی نشان می‌دهد. سایر آنزیم‌های تنظیمی توسط تغییر کووالان یک گروه عامل اختصاصی مورد نیاز برای فعالیت آنزیمی، تعدیل می‌گردند. بخصوص فسفریلاسیون ریشه‌های اسید آمینه، یک راه معمول برای تنظیم فعالیت آنزیمی است. بسیاری از آنزیم‌های پروتئولیتیک دارای پیش‌سازهای غیرفعالی بنام زیموژن می‌باشند؛ برای تبدیل زیموژنها به پروتئازهای فعال، لازم است پپتیدهای غیرفعال کوچکی از آنها جدا گردد.

Book.Apfarsi.ir

کربوهیدرات‌ها و گلیکوبیولوژی ۹

کربوهیدرات‌ها فراوان‌ترین بیوملکول‌های موجود در زمین می‌باشند. هر ساله، بیش از ۱۰۰ بیلیون تن H_2O و CO_2، طی فتوسنتز به سلولز و سایر محصولات گیاهی تبدیل می‌گردد. بعضی از کربوهیدرات‌ها (قند و نشاسته) یک رژیم غذایی عمده در بیشتر قسمت‌های جهان بوده و اکسیداسیون کربوهیدرات‌ها مسیر اصلی تولید انرژی در بیشتر سلول‌های غیرفتوسنتیک می‌باشد. پلیمرهای نامحلول کربوهیدرات به عنوان عناصر ساختمانی و حفاظتی در دیواره سلولی باکتری‌ها و گیاهان و بافت‌های همبند حیوانات عمل می‌نمایند. سایر پلیمرهای کربوهیدراتی، مفاصل اسکلتی را نرم نموده و در شناسایی و چسبندگی بین سلول‌ها شرکت می‌کنند. پلیمرهای پیچیده‌تر کربوهیدرات‌ها با اتصال کووالان به پروتئین‌ها و لیپیدها، به عنوان پیام‌هایی جهت تعیین موقعیت داخل سلولی یا سرنوشت متابولیک این ملکول‌های هیبرید، بنام **گلیکوکونژوگه‌ها**[1]، عمل می‌کنند. در این فصل کلاس‌های اصلی کربوهیدرات‌ها و گلیکونژوگه‌ها معرفی شده و چند مثال در مورد نقش‌های متعدد ساختمانی و عملکردی آنها ذکر می‌گردد.



قوزه‌های پنبه آماده برداشت فیبر پنبه از سلولز تشکیل شده است؛ سلولز یک پلی‌ساکارید با خصوصیات فیزیکی و شیمیایی است که کیفیت موردنظر در بافتنی‌های پنبه‌ای را ایجاد می‌کند. هزاران سال است که گیاه پنبه کشت شده و برای تولید بافتنی به‌کار می‌رود.

کربوهیدرات‌ها غالباً آلدئیدها یا کتون‌های پلی‌هیدروکسی حلقوی و یا مواد تولیدکننده این ترکیبات در هنگام هیدرولیز می‌باشند. بسیاری، ولی نه تمامی آنها، از فرمول $(CH_2O)_n$ پیروی نموده ولی بعضی از انواع همچنین دارای نیتروژن، فسفر و یا سولفور هستند.

از نظر اندازه، سه کلاس اصلی کربوهیدرات‌ها، شامل منوساکاریدها، اولیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها (کلمه «ساکارید» از لغت یونانی *sakcharon* به معنی «قند» گرفته شده است)، وجود دارد. **منوساکاریدها** یا قندهای ساده

1- Glycoconjugates

Book.Apfarsi.ir

دارای یک واحد پلی‌هیدروکسی آلدئیدی یا کتونی هستند. فراوان‌ترین منوساکاریدهای موجود در طبیعت، D-گلوکز شش کربنه می‌باشد که گاهی دکستروز نامیده می‌شود.

اولیگوساکاریدها زنجیرهای کوتاهی از واحدها یا ریشه‌های منوساکاریدی هستند که توسط اتصالات مشخصی بنام پیوندهای گلیکوزیدی به یکدیگر اتصال یافته‌اند. فراوان‌ترین قندهای این گروه شامل **دی‌ساکاریدها** می‌باشند که از دو واحد قندی تشکیل شده‌اند. مورد شاخص، سوکروز یا قند نیشکر می‌باشد که از قندهای شش کربنه D-گلوکز و D-فروکتوز تشکیل یافته است. تمامی منوساکاریدها و دی‌ساکاریدها دارای نام‌هایی هستند که به پسوند «وز» ختم می‌گردد. در سلول‌ها، بیشتر اولیگوساکاریدها دارای سه یا چند واحد منوساکاریدی، به صورت آزاد موجود نبوده، بلکه به ملکول‌های غیرقندی (لیپیدها یا پروتئین‌ها) در گلیکوکونژوگه‌ها متصل می‌باشند.

پلیمرهای قندی در دامنه پیوسته‌ای از نظر اندازه وجود دارند. پلیمرهایی با بیش از ۲۰ واحد منوساکاریدی را عموماً **پلی‌ساکارید** می‌نامند. ممکن است در ساختمان پلی‌ساکاریدها صدها یا هزاران واحد قندی وجود داشته باشد. بعضی از ملکول‌های پلی‌ساکاریدی، نظیر سلولز، به شکل زنجیر خطی بوده، در حالی که بعضی دیگر، نظیر گلیکوژن، به‌صورت زنجیرهای منشعب می‌باشند. هر دو محصول گیاهی نشاسته و سلولز از واحدهای تکراری D-گلوکز تشکیل شده‌اند، ولی از نظر نوع اتصال گلیکوزیدی با یکدیگر متفاوت بوده و در نتیجه خصوصیات و اعمال بیولوژیکی کاملاً متفاوتی دارند.

منوساکاریدها و دی‌ساکاریدها

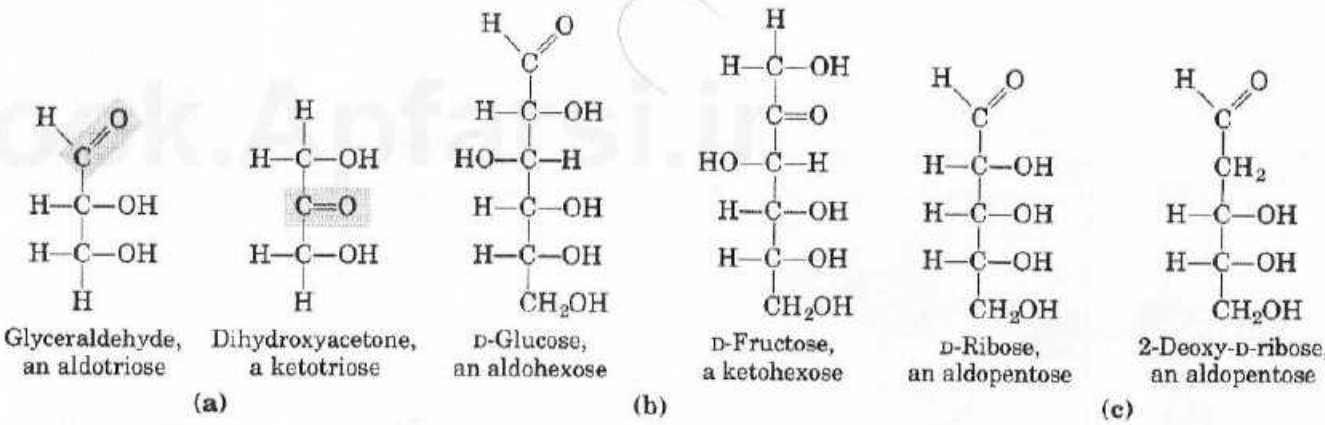
منوساکاریدها، به عنوان ساده‌ترین شکل کربوهیدرات‌ها، آلدئیدها یا کتون‌هایی با یک یا چند گروه هیدروکسیل می‌باشند؛ منوساکاریدهای شش کربنه گلوکز و فروکتوز دارای پنج گروه هیدروکسیل می‌باشند. اتم‌های کربنی که به آنها گروه‌های هیدروکسیل اتصال یافته‌اند، اغلب مراکز کایرالی هستند که منجر به ایجاد ایزومرهای فضایی قندی متعدد موجود در طبیعت می‌شوند. بحث را با شرح خانواده‌های منوساکاریدی که اسکلت آنها از سه تا هفت کربن تشکیل شده است، آغاز نموده و طی آن اشکال ساختمانی و ایزومری فضایی این ترکیبات را همراه با نحوه نمایش ساختمان‌های سه بعدی آنها بر روی صفحه توضیح داده می‌شود. سپس واکنش‌های متعدد شیمیایی گروه‌های کربونیل منوساکاریدها مورد بررسی قرار می‌گیرد. طی یکی از این واکنش‌ها (افزودن یک گروه هیدروکسیل از درون همان ملکول)، تولید اشکال حلقوی قندهای پنج و شش کربنه (که در محیط آبی غالب هستند) می‌گردد؛ این واکنش همراه با ایجاد یک مرکز کایرال جدید و بنابراین پیچیدگی بیشتر شیمی فضایی این کلاس از ترکیبات می‌باشد. به همین دلیل اصطلاحات مشخص‌کننده کونفیگوراسیون حول هر اتم کربن در شکل حلقوی و نحوه نمایش این ساختمان‌ها بر روی کاغذ با جزئیات بیشتر شرح داده خواهد شد؛ این روش برای درک بهتر متابولیسم کربوهیدرات‌ها مفید می‌باشد که بعداً مورد بحث قرار می‌گیرد.

بعلاوه در این فصل چند مشتق منوساکاریدی مهم معرفی خواهد شد که در فصول بعدی با آنها مواجه می‌شویم.

دو خانواده منوساکاریدها شامل آلدوزها و کتوزها می‌باشند

منوساکاریدها ترکیبات جامد کریستالی بی‌رنگی می‌باشند که براحتی در آب حل شده ولی در حلال‌های آلی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱-۹. نمونه‌هایی از منوساکاریدها. **(a)** دو تریوز، یک آلدوز و یک کتوز. گروه کربونیل هر کدام سایه‌دار می‌باشد. **(b)** دو هگزوز معمول. **(c)** اجزاء پنتوز اسیدهای نوکلئیک. D-ریبوز جزیی از ساختمان اسید ریبونوکلئیک (RNA) بوده و ۲-داکسی‌D-ریبوز جزیی از ساختمان اسید داکسی‌ریبونوکلئیک (DNA) می‌باشد.

نامحلول هستند. اکثر منوساکاریدها دارای مزه شیرین می‌باشند. اسکلت منوساکاریدهای معمول را زنجیرهای کربنی غیرمنشعبی تشکیل می‌دهند که تمامی اتم‌های کربن آنها دارای پیوند یگانه هستند. در شکل زنجیر باز، یکی از این اتم‌های کربن با یک پیوند دوگانه به یک اتم اکسیژن اتصال یافته و ایجاد یک گروه کربونیل می‌نماید؛ سایر اتم‌های کربن دارای یک گروه هیدروکسیل می‌باشند. درصورتیکه این گروه کربونیل در انتهای زنجیر کربنی (یعنی به شکل گروه آلدئید) باشد، منوساکارید یک **آلدوز** خواهد بود؛ در حالی که اگر در هر موقعیت دیگر قرار داشته (به شکل گروه کتو) باشد، قند یک **کتوز** خواهد بود. دو تریوز سه کربنه گلیسرآلدئید (یک آلدوتریوز) و دی‌هیدروکسی‌استن (یک کتوتریوز) ساده‌ترین منوساکاریدها را تشکیل می‌دهند (شکل ۱a-۹).

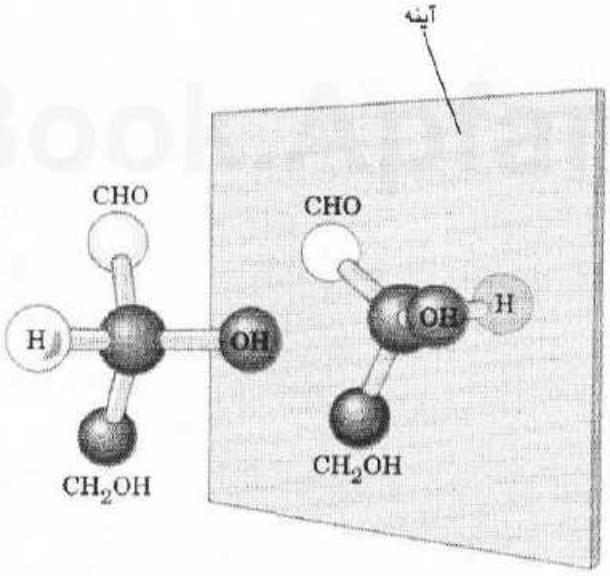
منوساکاریدهای دارای چهار، پنج، شش و هفت اتم کربن را به ترتیب، تتروز، پنتوز، هگزوز و هپتوز گویند. آلدوزها و کتوزهای هر کدام از این طولهای زنجیره‌ای وجود دارد: آلدوتتروز و کتوتتروز، آلدوپنتوز و کتوپنتوز و غیره. هگزوزها که شامل آلدوهگزوز D-گلوکز و کتوهگزوز D-فروکتوز می‌باشند، فراوان‌ترین منوساکاریدهای موجود در طبیعت هستند. آلدوپنتوز D-ریبوز و ۲-داکسی-D-ریبوز (شکل ۱c-۹) در ساختمان نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک وجود دارند.

منوساکاریدها دارای مراکز نامتقارن هستند

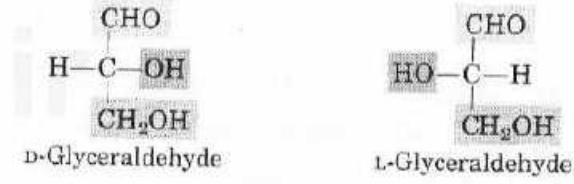
تمامی منوساکاریدها، به غیر از دی‌هیدروکسی‌استن، دارای یک یا چند اتم کربن نامتقارن (کایرال) بوده و بنابراین به‌صورت اشکال ایزومری دارای فعالیت نوری وجود دارند (صفحات ۷۰-۶۹). ساده‌ترین آلدوز، یعنی گلیسرآلدئید، دارای یک مرکز کایرال (اتم کربن میانی) بوده و بنابراین دارای دو ایزومر نوری یا انانتیومر می‌باشد (شکل ۲-۹). بطورقراردادی، یکی از این دو شکل به‌صورت ایزومر D و دیگری به شکل ایزومر L نمایش داده می‌شود. همانند سایر بیوملکول‌های دارای مراکز کایرال، کونفیگوراسیون‌های مطلق قندها با استفاده از کریستالوگرافی اشعه-x شناخته می‌شود. برای نمایش ساختمان‌های سه‌بعدی قندها بر روی کاغذ، اغلب از **فرمول طرح فیشر** استفاده می‌گردد (شکل ۲-۹).

به‌طور کلی، ملکولی با n مرکز کایرال، می‌تواند 2^n ایزومر فضایی داشته باشد. گلیسرآلدئید دارای $2^1 = 2$ ایزومر

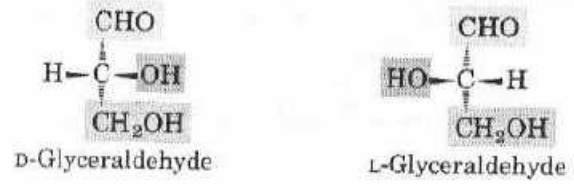
Book.Apfarsi.ir



مدل های گوی و میله



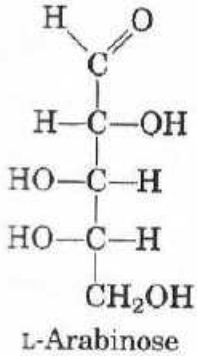
فرمولهای طرح فیشر



فرمولهای چشم اندازی

شکل ۲-۹. سه روش برای نمایش ایزومرهای فضایی گلیسرآلدئید. این ایزومرهای فضایی تصاویر آینه‌ای یکدیگر می‌باشند. مدل‌های گوی و میله، کونفیگوراسیون واقعی ملکول‌ها را نشان می‌دهد. به‌طور قراردادی، در فرمول‌های طرح فیشر پیوندهای افقی در بالای صفحه و به سمت خواننده بوده و پیوندهای عمودی در زیر صفحه و دور از خواننده می‌باشند. به خاطر دارید (شکل ۷-۳ را ببینید) که در فرمول‌های چشم‌اندازی، پیوند گوه‌شکل توپر ▶ به سمت خواننده بوده و انواع هاشورخورده |||| آن دور از خواننده می‌باشد.

فضایی است؛ آلدوهگزوزها با چهار مرکز کایرال، ۱۶ = 2^4 ایزومر فضایی دارند. ایزومرهای فضایی منوساکاریدها با هر طول زنجیر کربنی را می‌توان در دو گروه قرار داد که از نظر کونفیگوراسیون حول دورترین مرکز کایرال از کربن کربونیل، با یکدیگر متفاوتند. انواعی که کونفیگورسیون آنها در این کربن مرجع مشابه D-گلیسرآلدئید می‌باشد را ایزومر D نامیده ولی انواع مشابه L-گلیسرآلدئید ر ایزومر L می‌نامند. وقتی در طرح فیشر، گروه هیدروکسیل این کربن مرجع در سمت راست قرار دارد، قند ایزومر D بوده و وقتی در سمت چپ باشد، ایزومر L خواهد بود. از ۱۶ آلدوز ممکن، هشت مورد دارای شکل D بوده و هشت مورد دیگر به‌صورت L می‌باشند. بیشتر هگزوزهای موجود در موجودات زنده از نوع ایزومر D هستند.

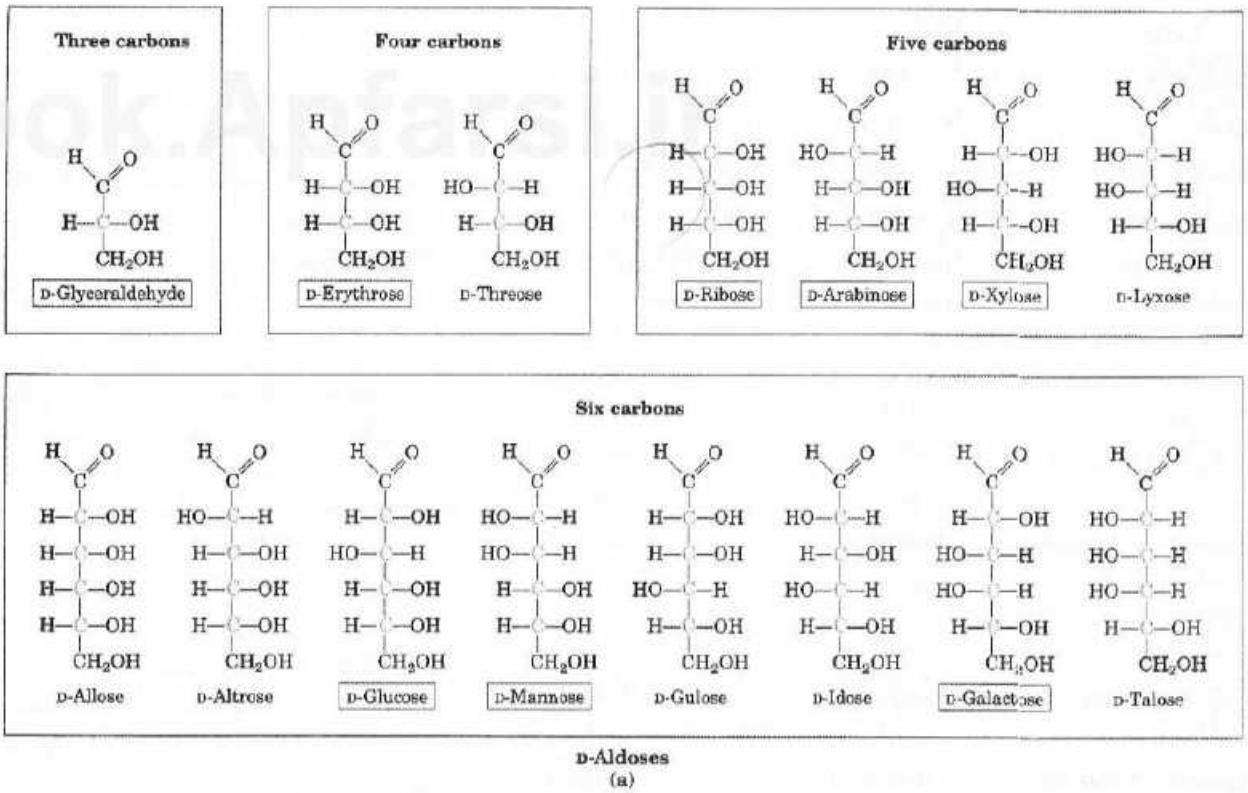


شکل ۳-۹ ساختمان ایزومرهای فضایی D تمامی آلدوزها و کتوزهای دارای سه تا شش اتم کربن را نشان می‌دهد. اتم‌های کربن قند از انتهای زنجیر که به گروه کربونیل نزدیکتر می‌باشد، شماره‌گذاری می‌شوند. هر کدام از هشت D - آلدوهگزوزی که از نظر شیمی فضایی کربن‌های ۲، ۳ و ۴ متفاوتند، نام خود را دارند: D-گلوکز، D-گالاکتوز، D-مانوز و غیره (شکل a ۳-۹). نام کتوزهای چهار و پنج کربنه با قراردادن «اُول»[1] در داخل نام آلدوز مربوطه ساخته می‌شود؛ برای مثال، D-ریبولوز، کتوپنتوز مربوط به آلدوپنتوز D-ریبوز می‌باشد. کتوهگزوزها به طریق دیگری نام‌گذاری می‌شوند، مثل فروکتوز (از کلمه یونانی *fructus* به معنی «میوه»؛ میوجات غنی از این قند هستند) و سوربوز (از کلمه یونانی *Sorbus*، جنس خاکستر کوهستان[2] که دارای دانه‌های غنی از الکل قندی مربوطه سوربیتول می‌باشد). دو قندی که تنها از نظر کونفیگوراسیون حول یک اتم کربن با یکدیگر متفاوتند را **اپیمر** می‌نامند برای مثال D-گلوکز و D-مانوز که تنها از نظر موقعیت فضایی کربن ۲ با یکدیگر متفاوتند و یا D-گلوکز و

1- -ul-

2- Mountain ash

Book.Apfarsi.ir

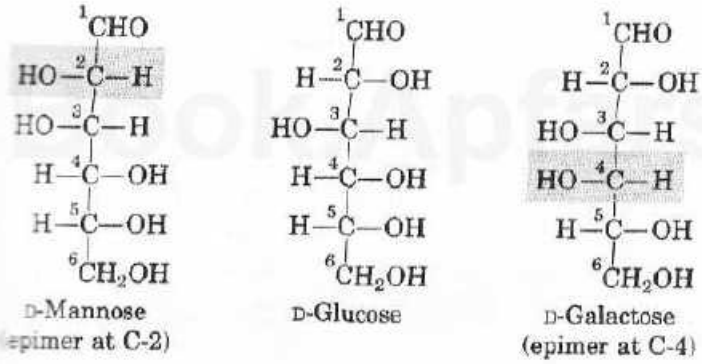


شکل ۳-۹. سری‌های (a) D-آلدولازها و (b) D-کتوزها، شامل انواع سه تا شش کربنه که با فرمولهای طرح فیشر نمایش داده شده‌اند. در تمامی این ایزومرهای D، کربن کایرال دارای بیشترین فاصله از کربن کربنیل، کونفیگوراسیونی مشابه کربن کایرال موجود در D-گلیسرآلدئید دارد. قندهایی که نامشان در داخل کادر آورده شده است، در طبیعت معمولترین انواع می‌باشند؛ در فصول بعدی مجدداً با این قندها برخورد خواهیم نمود.

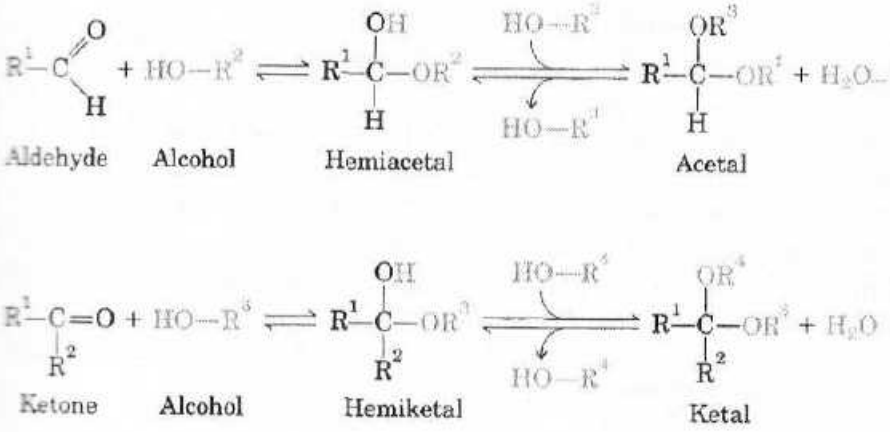
D-گالاکتوز که از نظر کربن ۴ متفاوتند (شکل ۴-۹)، اپیمر یکدیگر می‌باشند.

بعضی از قندها به شکل ایزومر L در طبیعت وجود دارند، مثل L-آرابینوز و ایزومرهای L بعضی مشتقات قندی که به عنوان اجزاء معمول گلیکوکونژوگه‌ها می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۹. اپیمرها. D-گلوکز و دواپیمر آن به شکل فرمولهای طرح فیشر نمایش داده شده‌اند. هر کدام از این اپیمرها تنها از نظر کونفیگوراسیون حول یک مرکز کایرال (سایه‌دار) با D-گلوکز تفاوت دارند.



شکل ۵-۹. تشکیل نیمه‌استال و نیمه‌کتال. یک آلدئید و یا یک کتون می‌تواند با یک الکل به نسبت ۱:۱ واکنش نموده تا به ترتیب ایجاد یک نیمه‌استال یا نیمه‌کتال نماید؛ حاصل این واکنش ایجاد یک مرکز کایرال جدید در کربن کربنیل می‌باشد. با جایگزینی ملکول الکل دوم تولید یک استال یا کتال می‌شود. وقتی الکل دوم قسمتی از یک ملکول دیگر قندی باشد، پیوند حاصل یک پیوند گلیکوزیدی (ص. ۳۳۸) خواهد بود.

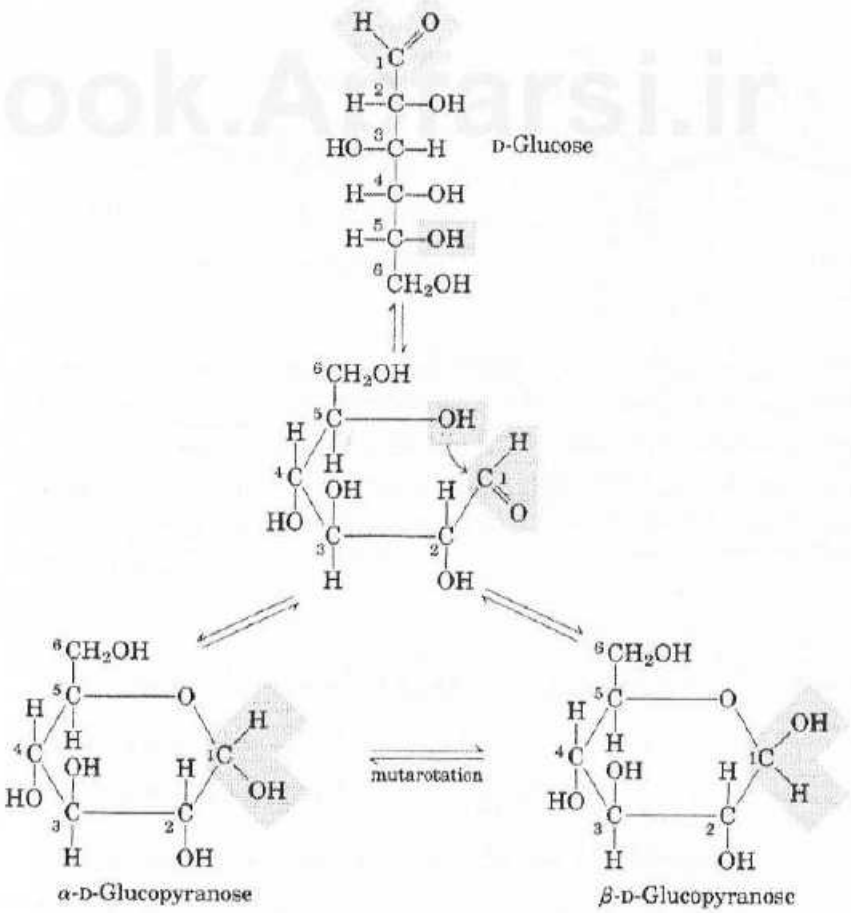
منوساکاریدهای معمول دارای ساختمان‌های حلقوی هستند

برای سادگی، تاکنون ساختمان آلدوزها و کتوزهای مختلف به‌صورت زنجیر مستقیم نمایش داده شده‌اند (اشکال ۳-۹ و ۴-۹). در حقیقت، در محیط آبی، آلدوتتروزها و تمامی منوساکاریدهای دارای بیش از چهار اتم کربن، غالباً به شکل ساختمان‌های حلقوی هستند که در آنها گروه کربونیل با یک پیوند کووالان به اکسیژن یکی از گروه‌های هیدروکسیل موجود در طول زنجیر، متصل شده است. تشکیل این ساختمان‌های حلقوی بواسطه واکنش عمومی بین آلدئیدها یا کتون‌ها و الکل‌ها و ایجاد مشتقاتی بنام **نیمه‌استال** یا **نیمه‌کتال** می‌باشد (شکل ۵-۹) که حاوی یک اتم کربن نامتقارن بیشتر بوده و بنابراین می‌توانند به دو شکل فضایی وجود داشته باشند. برای مثال، D-گلوکز در محلول به‌صورت نیمه‌استال داخل‌ملکولی وجود دارد که در آن گروه هیدروکسیل آزاد کربن ۵ با کربن آلدئیدی واکنش نموده و با تبدیل کربن اخیر به یک کربن نامتقارن، تولید دو ایزومر فضایی بنام‌های α و β می‌کند (شکل ۶-۹). به‌دلیل شباهت با حلقه شش اتمی پیران، این ترکیبات حلقوی شش اتمی را **پیرانوز** می‌نامند (شکل ۷-۹). نام‌های سیستماتیک دو شکل حلقوی D-گلوکز، شامل α-D-گلوکوپیرانوز و β-D-گلوکوپیرانوز می‌باشد.

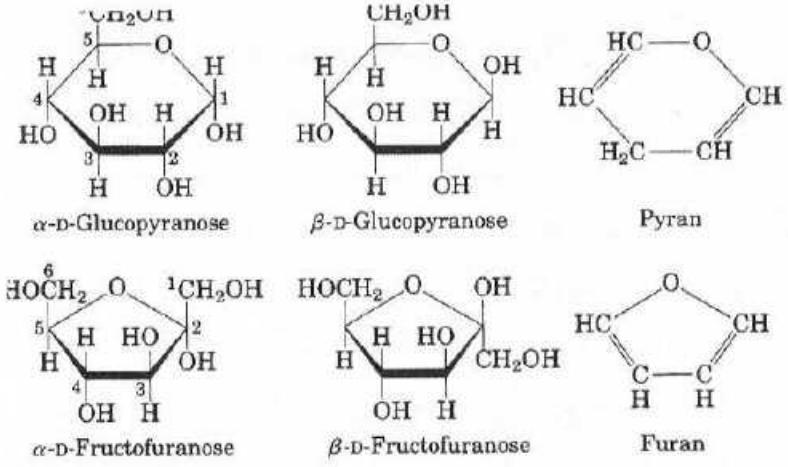
آلدوهگزوزها همچنین می‌توانند ایجاد حلقه‌های پنج اتمی نمایند که به خاطر شباهت به حلقه پنج اتمی فوران به آنها، **فورانوز** گویند. هرچند، حلقه شش اتمی آلدوپیرانوز بسیار پایدارتر از حلقه آلدوفورانوز بوده و در محلول‌های آلدوهگزوز، غالب می‌باشد. تنها آلدوزهای دارای حداقل پنج کربن می‌توانند ایجاد حلقه‌های پیرانوز نمایند.

اشکال ایزومری منوساکاریدهایی که تنها از نظر کونفیگوراسیون حول کربن نیمه‌استال یا نیمه‌کتال با یکدیگر اختلاف دارند را **آنومر** گویند. اتم کربن نیمه‌استال یا کربونیل نیز **کربن آنومری** نامیده می‌شود. در محلول‌های آبی، آنومرهای α و β D-گلوکز از طریق فرایندی بنام **موتاروتاسیون** قابل‌تبدیل به یکدیگر هستند. بنابراین، محلولی از α-D-گلوکز و محلولی از β-D-گلوکز نهایتاً به مخلوطی تبدیل می‌شوند که از نظر فعالیت نوری تعادل یکسانی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۶-۹. تشکیل دو شکل حلقوی D-گلوکز. واکنش بین گروه آلدئیدی کربن ۱ و گروه هیدروکسیل کربن ۵، همراه با ایجاد یک اتصال نیمه‌استال و تولید دو ایزومر فضایی، یعنی آنومرهای α و β می‌باشد که تنها از نظر شیمی فضایی حول کربن نیمه‌استال با یکدیگر متفاوت هستند. تبدیل متقابل آنومرهای α و β به یکدیگر را موتاروتاسیون گویند.



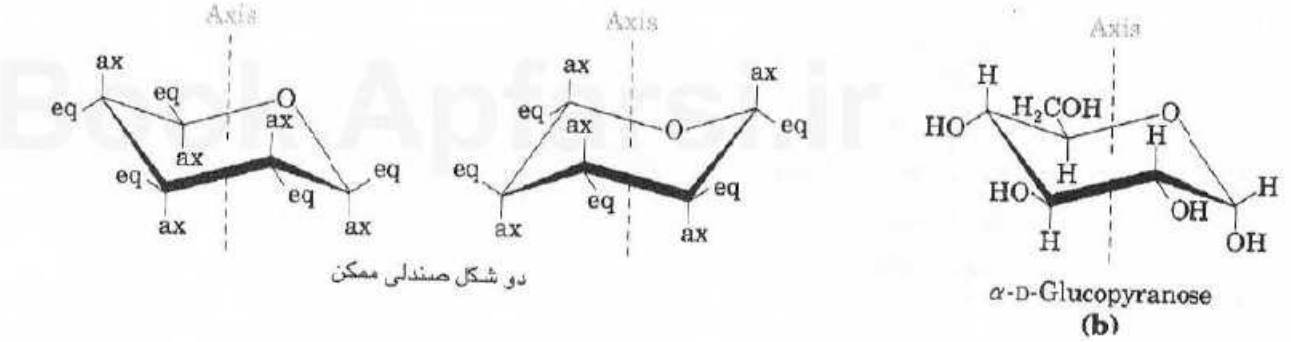
شکل ۷-۹. پیرانوزها و فورانوزها. اشکال پیرانوزی D-گلوکز و اشکال فورانوزی D-فروکتوز در اینجا به‌صورت فرمول‌های چشم‌اندازی هاورث نشان داده‌شده‌اند. لبه‌هچشم‌اندازی‌که به خواننده نزدیکتر می‌باشند، با خطوط تیره مشخص شده‌اند. گروه‌های هیدروکسیل موجود در پایین صفحه حلقه در این فرمول‌های چشم‌اندازی هاورث، در سمت راست طرح قیشر قرار می‌گیرند (با شکل ۶-۹ مقایسه نمائید). برای مقایسه، پیران و فوران نشان داده شده‌اند.

دارند. این مخلوط حاوی حدود یک سوم α-D-گلوکز و دو سوم β-D-گلوکز، و مقادیر بسیار اندکی از اشکال خطی و حلقوی پنج اتمی (گلوکوفورانوز) می‌باشد.

کتوهگزوزها نیز به اشکال آنومری α و β وجود دارند. در این ترکیبات، گروه هیدروکسیل موجود در کربن ۵ (یا ۶) با گروه کتو کربن ۲ واکنش داده و ایجاد یک حلقه فورانوزی (یا پیرانوزی) دارای یک اتصال نیمه‌کتال می‌نماید (شکل ۷-۹)؛ آنومر معمول‌تر در حالت وجود اشکال یا مشتقات مخلوط، β-D-فروکتوفورانوز می‌باشد.

فرمول چشم‌اندازی هاورث همانند آنهایی که در شکل ۷-۹ نشان داده شده است، برای نمایش اشکال حلقوی منوساکاریدها مورد استفاده قرار می‌گیرد. هرچند، حلقه شش اتمی پیرانوز مسطح نمی‌باشد، ولی تمایل دارد به یکی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۹. فرمولهای کونفورماسیونی پیرانوزها. (a) دو صندلی حاصل از حلقه پیرانوزی. استخلافهای کربن‌های حلقه ممکن است محوری (axial; ax) یا استوایی (equatorial; eq)باشند؛ استخلاف‌های محوری موازی با محور عمودی هستند که از میان حلقه عبور می‌نماید و استخلافهای استوایی تقریباً عمود بر این محور می‌باشند. به‌طور کلی، استخلاف‌های موجود در موقعیت‌های استوایی کمتر در معرض ممانعت فضایی حاصل از استخلافهای مجاور بوده و کونفورماسیونهای دارای استخلافهای بزرگ در موقعیتهای استوایی مساعدتر می‌باشند. کونفورماسیون دیگر، یعنی «قایق» (نشان داده نشده اشت)، تنها در مشتقات دارای استخلافهای بسیار حجیم دیده می‌شود **(b)** یک کونفورماسیون صندلی برای α-D-گلوکوپیرانوز.

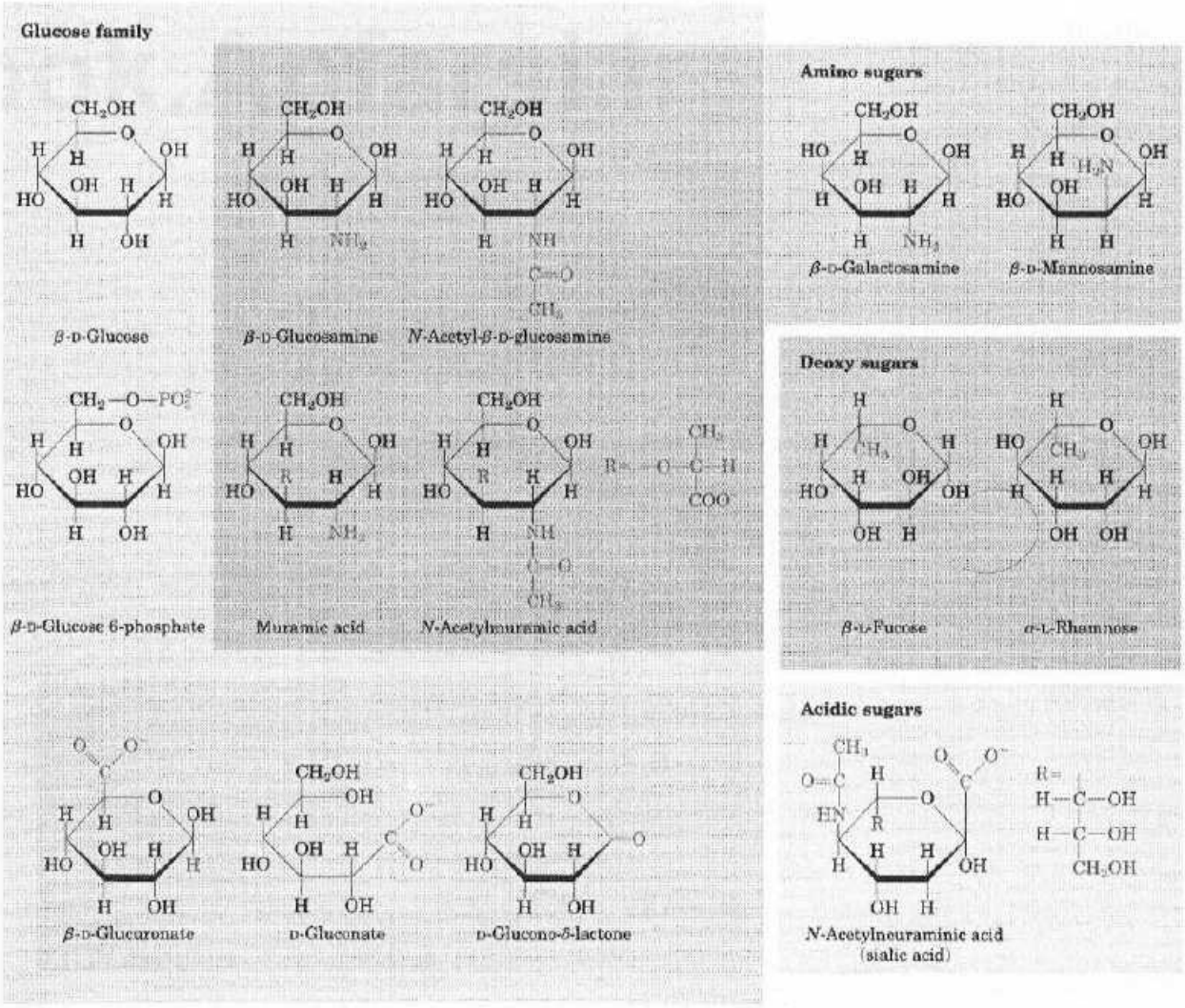
از دو کونفورماسیون «صندلی» وجود داشته باشد (شکل ۸-۹). همانطور که در فصل ۳ ملاحظه گردید، در کونفورماسیون ملکولی بدون شکسته‌شدن پیوندهای کووالان قابل تبدیل به یکدیگر بوده ولی دو کونفیگوراسیون تنها بعد از شکسته‌شدن پیوند کووالان (برای مثال پیوند اتم اکسیژن حلقه در کونفیگوراسیون‌های α و β) می‌توانند به یکدیگر تبدیل شوند. همانطورکه بعداً خواهیم دید، کونفورماسیونهای سه بعدی اختصاصی منوساکاریدها در تعیین خصوصیات بیولوژیک و اعمال بعضی از پلی‌ساکاریدها مهم می‌باشد.

موجودات مشتقات مختلف هگزوز را دارند

علاوه بر هگزوزهای ساده نظیر گلوکز، گالاکتوز و مانوز، مشتقات قندی وجود دارد که در آنها یک گروه هیدروکسیل موجود در ترکیب مادر توسط گروه دیگری استخلاف شده و یا یک اتم کربن به گروه کربوکسیل اکسیده شده است (شکل ۹-۹). در گلوکزآمین، گالاکتوزآمین و مانوزآمین، گروه هیدروکسیل کربن ۲ ترکیب مادر توسط گروه آمینو استخلاف شده است. این گروه آمینو تقریباً در تمامی موارد با اسید استیک، مثل حالت *N*-استیل‌گلوکزآمین، ترکیب می‌گردد. این گلوکزآمین قسمتی از پلیمرهای ساختمانی متعدد، نظیر انواع مرجود در دیواره سلول باکتری، می‌باشد. دیواره سلول باکتری‌ها همچنین حاوی مشتقی از گلوکز بنام *N*-استیل‌مورامینیک اسید است که در آن اسید لاکتیک (یک اسید کربوکسیلیک سه کربنه) با اتصال اتری به اکسیژن کربن ۳ در *N*-استیل‌گلوکزآمین متصل می‌باشد. جایگزینی یک هیدروژن به جای گروه هیدروکسیل کربن ۶ در L-گالاکتوز یا L-مانوز به ترتیب تولید L-فوکوز و L-رامنوز می‌نماید؛ این قندهای داکسی در پلی‌ساکاریدهای گیاهی و در اجزاء اولیگوساکاریدی پیچیده گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهایی دیده می‌شوند که بعداً مورد بررسی قرار می‌گیرند.

با اکسیداسیون کربن کربنیل (آلدئید) گلوکز به کربن کربوکسیل، اسید گلوکونیک تولید می‌گردد؛ سایر آلدوزها تولید **اسیدهای آلدونیک** دیگر را می‌کنند. اکسیداسیون کربن موجود در انتهای دیگر زنجیر کربنی (کربن ۶) گلوکز، گالاکتوز یا مانوز، تولید **اسیدهای اورونیک** مربوطه، به ترتیب شامل اسید گلوکورونیک، گالاکتورونیک و مانورونیک را می‌کند. هر دو اسید آلدونیک و اورونیک ایجاد استرهای پایداری را بنام لاکتون می‌کنند (شکل ۹-۹، پایین چپ). علاوه بر این مشتقات اسیدی هگزوزها، یک قند اسیدی ۹ کربنه، بنام *N*-استیل‌نورامینیک اسید (اسید سیالیک)

Book.Apfarsi.ir

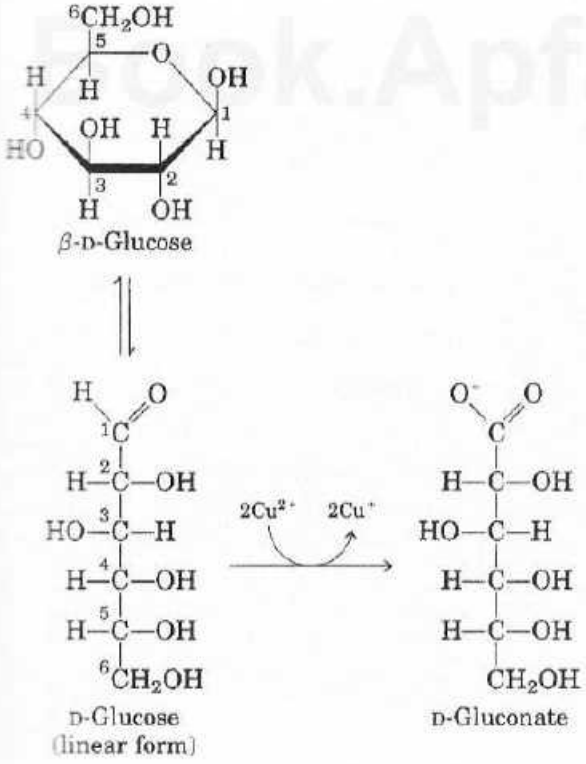


شکل ۹-۹. بعضی از مشتقات قندی که در بیولوژی مهم هستند. در قندهای امینو، یک گروه NH_2- جایگزین یکی از گروه‌های OH- در هگزوز مادر می‌شود. جایگزینی H- بجای OH- تولید یک قند داکسی می‌نماید. توجه داشته باشید که قندهای داکسی که در اینجا نمایش داده شده‌اند، در طبیعت به‌صورت ایزومرهای L وجود دارند. قندهای اسیدی حاوی یک گروه کربوکسیلات می‌باشند که در pH خنثی یک بار منفی پیدا می‌نمایند. D-گلوکونو-δ-لاکتون از تشکیل یک اتصال استری بین گروه کربوکسیلات کربن ۱ و گروه هیدروکسیل کربن ۵ (یا کربن δ) در D-گلوکونات حاصل می‌گردد.

مشتقی از *N*-استیل مانوزآمین، قابل ذکر می‌باشد که در ساختمان بسیاری از گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدهای حیوانات وجود دارد. گروه‌های کربوکسیل مشتقات قندی اسیدها در pH برابر ۷ یونیزه بوده و بنابراین به شکل صحیح به‌صورت کربوکسیلات‌ها، مثل گلوکورونات، گالاکتورونات و غیره، خوانده می‌شوند.

در سنتز و متابولیسم کربوهیدرات‌ها، ترکیبات واسط موجود اغلب خود قندها نبوده و در واقع مشتقات فسفریله آنها می‌باشد. کندانساسیون اسید فسفریک با یک گروه هیدروکسیل یک قند تولید استر فسفات آن، مثل گلوکز ۶-فسفات، را می‌نماید (شکل ۹-۹). فسفات‌های قندی در pH خنثی نسبتاً پایدار بوده و یک بار منفی دارند. یکی از اثرات فسفریلاسیون قند در داخل سلول، بدام افتادن آن در داخل سلول می‌باشد؛ به‌طور کلی سلول‌ها فاقد انتقال‌دهنده‌های غشایی برای انتقال قندهای فسفریله از عرض غشاء می‌باشند. فسفریلاسیون همچنین قندها را برای تغییرات شیمیایی بعدی، فعال می‌نماید. مشتقات فسفریله متعدد مهمی در فصل بعدی مورد بحث قرار می‌گیرند.

Book.Apfarsi.ir



(a)

D-Glucose + O_2 $\xrightarrow{\text{glucose oxidase}}$ D-Glucono-δ-lactone + H_2O_2

(b)

شکل ۱۰-۹. قندها به عنوان عوامل احیاءکننده. (a) اکسیداسیون کربن آنومری گلوکز و سایر قندها، اساس واکنش فهلینگ می‌باشد. یون مس یک ظرفیتی (Cu^+) تولیدی در شرایط قلیایی، رسوب قرمز اکسید مس یک ظرفیتی را ایجاد می‌نماید. در شکل نیمه‌استال (حلقوی)، کربن ۱ گلوکز نمی‌تواند توسط Cu^{2+} اکسیده گردد. هرچند، شکل زنجیر-باز در تعادل با شکل حلقوی بوده و نهایتاً واکنش اکسیداسیون به سمت کامل‌شدن پیش می‌رود. واکنش با Cu^{2+} به سادگی نشان داده شده در اینجا نمی‌باشد؛ علاوه بر D-گلوکونات، در اثر قطعه‌قطعه‌شدن گلوکز، اسیدهایی با زنجیر کوتاهتر نیز تولید می‌گردند. **(b)** غلظت گلوکز خون معمولاً با اندازه‌گیری میزان تولید H_2O_2 در واکنش گلوکز اکسیداز تعیین می‌گردد. در مخلوط واکنش، آنزیم دیگری بنام پراکسیداز وجود دارد که واکنش H_2O_2 با یک ترکیب بیرنگ و تولید یک ترکیب رنگی را کاتالیز می‌نماید؛ سپس میزان رنگ تولیدی بطریق اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری می‌شود.

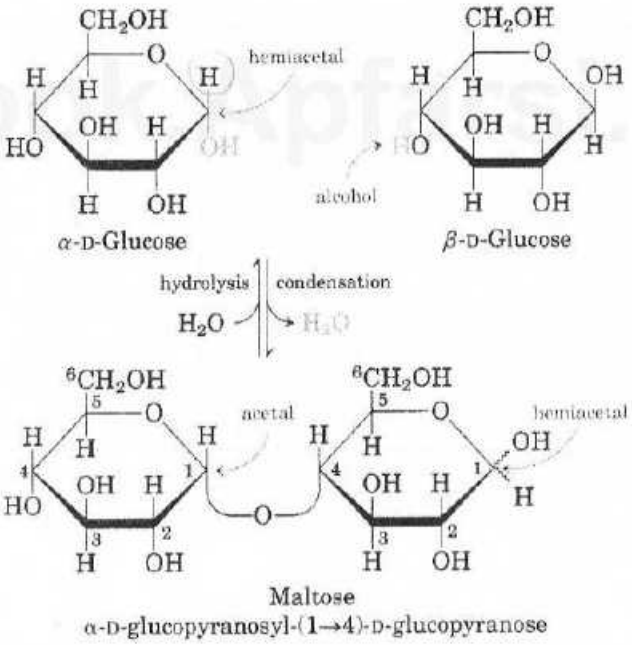
منوساکاریدها عوامل احیاءکننده هستند

منوساکاریدها را می‌توان بوسیله عوامل اکسیدکننده نسبتاً خفیف، نظیر یون فریک (Fe^{3+}) یا کوپریک (Cu^{2+})، اکسیده نمود (شکل ۱۰a-۹). کربن کربونیل به گروه کربوکسیل اکسیده می‌شود. گلوکز و سایر قندهایی که قادر به احیاء یون فریک یا کوپریک می‌باشند را **قندهای احیاءکننده** می‌نامند. این خاصیت اساس واکنش فهلینگ می‌باشد که یک آزمون کیفی برای جستجوی قندهای احیاءکننده است. با اندازه‌گیری میزان عامل اکسیدکننده‌ای که توسط یک ملکول قندی احیاء شده است، می‌توان غلظت آن قند را برآورد نمود. برای سالهای متمادی، از این روش برای جستجوی مقادیر افزایش‌یافته گلوکز در خون و ادرار جهت تشخیص دیابت قندی استفاده می‌شد. هم‌اکنون، روش‌های حساستر اندازه‌گیری گلوکز خون با استفاده از آنزیم گلوکز اکسیداز، مورد استفاده قرار می‌گیرد (شکل ۱۰b-۹).

دی‌ساکاریدها دارای یک پیوند گلیکوزیدی می‌باشند

دی‌ساکاریدهایی (نظیر مالتوز، لاکتوز و سوکروز) از دو منوساکارید تشکیل شده‌اند که توسط یک **پیوند O-گلیکوزیدی** بطورکووالان به یکدیگر متصل هستند؛ این پیوند زمانی تشکیل می‌شود که گروه هیدروکسیل یک قند با کربن آنومری قند دیگر واکنش می‌کند (شکل ۱۱-۹). این واکنش همراه با تولید یک استال از یک نیمه‌استال (نظیر گلوکوپیرانوز) و یک الکل (یک گروه هیدروکسیل از ملکول قند دوم) می‌باشد (شکل ۵-۹). وقتی کربن آنومری در پیوند گلیکوزیدی شرکت می‌کند، نمی‌تواند توسط یون کوپریک یا فریک اکسیده گردد. قند حاوی اتم کربن آنومری نمی‌تواند به شکل خطی وجود داشته باشد و دیگر به عنوان قند احیاءکننده عمل نمی‌کند. در شرح دی‌ساکاریدها و پلی‌ساکاریدها، انتهای یک زنجیر دارای کربن آنومری آزاد (یعنی عدم شرکت آن در پیوند گلیکوزیدی) را معمولاً **انتهای احیاءکننده** گویند. پیوندهای گلیکوزیدی بسادگی توسط اسید هیدرولیز شده ولی به قلیاها مقاوم می‌باشند. بنابراین در حرارت جوش، اسید رقیق منجر به هیدرولیز دی‌ساکاریدها به منوساکاریدهای آزاد تشکیل‌دهنده آن

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۹. تولید مالتوز. یک دی‌ساکارید با اتصال دو منوساکارید (در اینجا، دو ملکول D-گلوکز) به یکدیگر، از طریق کندانساسیون گروه OH- (الکلی) یک ملکول گلوکز (راست) با نیمه‌استال داخل‌ملکولی ملکول دیگر گلوکز (چپ)، همراه با حذف یک ملکول H_2O و تشکیل یک پیوند O-گلیکوزیدی، ایجاد می‌گردد. عکس این واکنش، هیدرولیز می‌باشد که H_2O با حمله به پیوند گلیکوزیدی آن را می‌شکند. ملکول مالتوز حاوی یک نیمه‌استال احیاءکننده در کربن ۱ می‌باشد که در پیوند گلیکوزیدی شرکت نمی‌نماید. ازآنجایی که ممکن است موتوروتاسیون سبب تبدیل متقابل آنومرهای α و β این نیمه‌استال گردد، پیوندهای موجود در این موقعیت با خطوط مواج نمایش داده شده‌اند تا نشان دهند این ملکول ممکن است به‌صورت α یا β وجود داشته باشد.

می‌گردد. شکل دیگر پیوند گلیکوزیدی بین کربن آنومری یک قند و اتم نیتروژن در گلیکوپروتئین‌ها می‌باشد (شکل ۲۵-۹ را ببینید). این پیوندهای N-گلیکوزیلی در تمامی نوکلئوتیدها نیز وجود دارند (فصل ۱۰).

دی‌ساکارید مالتوز (شکل ۱۱-۹) از دو واحد D-گلوکز با اتصال گلیکوزیدی بین کربن ۱ (کربن آنومری) یک ریشه گلوکز و کربن ۴ ریشه دیگر تشکیل شده است. از آنجایی که کربن آنومری آزاد (کربن ۱ ریشه گلوکز موجود در سمت راست شکل ۱۱-۹) قابل اکسیداسیون می‌باشد، مالتوز یک دی‌ساکارید احیاءکننده است. کونفیگوراسیون اتم کربن آنومری موجود در اتصال گلیکوزیدی از نوع α می‌باشد. ریشه گلوکزی که کربن آنومری آزاد دارد می‌تواند به شکل α- یا β-پیرانوزی وجود داشته باشد.

برای نامگذاری دی‌ساکاریدهایی نظیر مالتوز و بخصوص در نامگذاری اولیگوساکاریدهای پیچیده‌تر، قواعد متعددی وجود دارد. بطورقراردادی، انتهای غیراحیاءکننده در سمت چپ نوشته شده و نام ترکیب به‌صورت زیر ساخته می‌شود. (۱) کونفیگوراسیون (α یا β) کربن آنومری متصل‌کننده واحد منوساکاریدی اول (در سمت چپ) به واحد دوم ذکر می‌شود. (۲) سپس نام ریشه غیراحیاء کننده آورده شده و برای تمایز بین ساختمان حلقوی پنج و شش اتمی، از نام‌های «فورانو» یا «پیرانو» نیز استفاده می‌شود. (۳) دو اتم کربنی که توسط پیوند گلیکوزیدی به یکدیگر متصل شده‌اند، در داخل پرانتز نشان داده شده و نحوه اتصال این دو توسط یک پیکان نمایش داده می‌شود؛ برای مثال، (۴ ← ۱) نشان می‌دهد که کربن ۱ اولین ریشه قندی به کربن ۴ ریشه دوم متصل شده است. (۴) نام ریشه دوم قید می‌شود. در صورت وجود ریشه سوم، دومین پیوند گلیکوزیدی به همان شکل بیان می‌گردد. (برای کوتاه‌نمودن نام پلی‌ساکاریدهای پیچیده، اغلب از مخفف سه حرفی منوساکاریدها استفاده می‌گردد که در جدول ۱-۹ آمده است.) طبق این قرارداد برای نامگذاری اولیگوساکاریدها، مالتوز عبارتست از α-D-گلوکوپیرانوزیل (۴ ← ۱)-D-گلوکوپیرانوز. از آنجایی که بیشتر

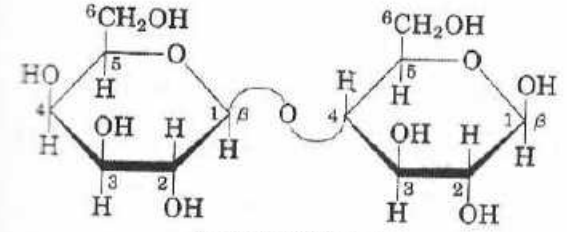
Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۹. مخففهای مورد استفاده برای منوساکاریدهای معمول و تعدادی از مشتقات آنها

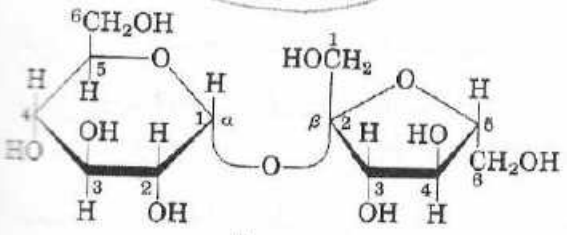
Abequose	Abe	Glucuronic acid	GlcA
Arabinose	Ara	Galactosamine	GalN
Fructose	Fru	Glucosamine	GlcN
Fucose	Fuc	*N*-Acetylgalactosamine	GalNAc
Galactose	Gal	*N*-Acetylglucosamine	GlcNAc
Glucose	Glc	Muramic acid	Mur
Mannose	Man	*N*-Acetylmuramic acid	Mur2Ac
Rhamnose	Rha	*N*-Acetylneuraminic acid (sialic acid)	Neu5Ac
Ribose	Rib		
Xylose	Xyl		

قندهایی که در این کتاب مورد بحث قرار میگیرند از نوع انانتیومر D بوده و شکل پیرانوزی هگزوزها غالب است، بهطور کلی از روش کوتاهشده نام فرمولی این ترکیبات به همراه کونفیگوراسیون کربن آنومری و نام کربنهایی که با پیوند گلیکوزیدی به یکدیگر متصل شدهاند، استفاده میگردد. در این شکل مخفف نویسی، مالتوز بهصورت Glc (α1 → 4) Glc نمایش داده میشود.

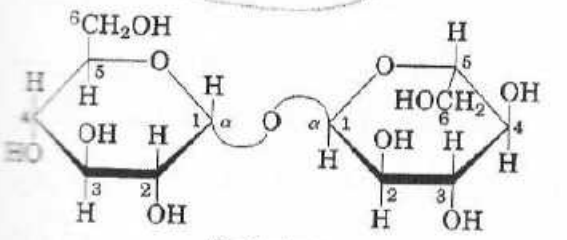
دیساکارید لاکتوز(شکل ۱۲-۹) که بدنبال هیدرولیز تولید D-گالاکتوز و D-گلوکز مینماید، در حالت طبیعی تنها در شیر وجود دارد. کربن آنومری ریشه گلوکز قابل اکسیداسیون بوده و بنابراین لاکتوز یک قند احیاءکننده میباشد. نام مخفف لاکتوز بهصورت Gal (β1 → 4) Glc است. سوکروز (قند خوراکی) دیساکاریدی از گلوکز و فروکتوز میباشد. برخلاف مالتوز و لاکتوز، سوکروز فاقد اتم کربن آنومری آزاد بوده و هر دو کربن آنومری دو واحد منوساکاریدی آن در ایجاد پیوند گلیکوزیدی شرکت مینمایند (شکل ۱۲-۹). بنابراین سوکروز یک قند احیاءکننده نمیباشد. دیساکاریدهای غیراحیاءکننده را بهعنوان گلیکوزیدها نامگذاری میکنند؛ موقعیتهای اتصالی راکربنهای آنومری تشکیل میدهند. در این حالت برای نامگذاری مخفف، از یک پیکان دو سر استفاده میگردد که کونفیگوراسیونهای آنها را مشخص میکند. برای مثال نام مخفف سوکروز بهصورت



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



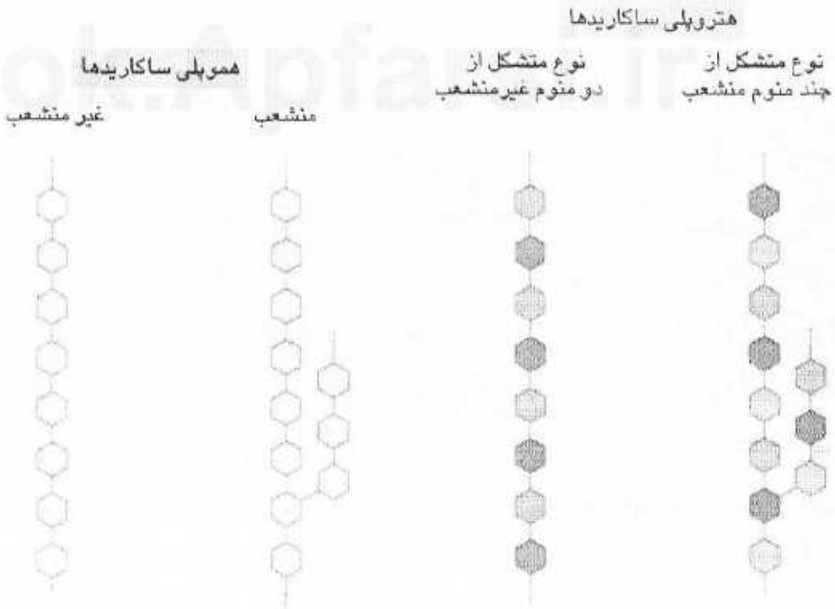
Sucrose
β-D-fructofuranosyl α-D-glucopyranoside
Fru(β2↔1α)Glc



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

شکل ۱۲-۹. بعضی از دیساکاریدهای معمول. ساختمان مالتوز در شکل ۱۱-۹. این دیساکاریدها بهصورت فرمولهای چشماندازی هاورث نمایش داده شدهاند. برای هر دیساکارید، نام معمول به همراه نام کامل سیستماتیک و مخفف مربوطه آورده شده است.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۹. پلی‌ساکاریدها ممکن است از یک، دو و یا چند منوساکارید مختلف، به‌صورت زنجیرهای مستقیم یا منشعب با طول‌های متفاوت ایجاد شده باشند.

Fru ($1\alpha \leftrightarrow 2\beta$) Glc یا Glc ($2\beta \leftrightarrow 1\alpha$) Fru استفاده می‌گردد. سوکروز محصول واسط اصلی فتوسنتز بوده و در بسیاری از گیاهان شکل اصلی انتقال قند از برگها به سایر قسمت‌های بدن گیاه می‌باشد. ترهالوز، Glc ($\alpha 1 \leftrightarrow \alpha 1$) Glc (شکل ۱۲-۹) دی‌ساکاریدی از D-گلوکز می‌باشد که همانند سوکروز، غیراحیاءکننده است. این دی‌ساکارید یکی از اجزاء اصلی مایع در گردش (همولنف) حشرات بوده و به عنوان یک ترکیب ذخیره‌ای انرژی عمل می‌کند.

پلی‌ساکاریدها

اکثر کربوهیدرات‌های موجود در طبیعت پلی‌ساکارید، پلیمرهای با وزن‌ملکولی متوسط تا بالا، می‌باشند. پلی‌ساکاریدها، یا با نام دیگر **گلیکانها**، از نظر نوع واحد منوساکاریدی تکرارشونده، طول زنجیر، نوع پیوندهای گلیکوزیدی بین واحدها و میزان انشعاب، از یکدیگر متفاوتند. **هموپلی‌ساکاریدها** تنها از یک منومر تشکیل شده‌اند، در حالی که، **هتروپلی‌ساکاریدها** شامل دو یا چند نوع قند هستند (شکل ۱۳-۹). بعضی از هموپلی‌ساکاریدها به عنوان اشکال ذخیره‌ای منوساکاریدهایی عمل می‌کنند که به عنوان سوخت بکار می‌روند؛ نشاسته و گلیکوژن هموپلی‌ساکاریدهایی از این نوع می‌باشند. سایر هموپلی‌ساکاریدها (برای مثال، سلولز و کیتین) به عنوان عناصر ساختمانی در دیواره سلولی گیاهان و اسکلت خارجی حیوانات ایفاء نقش می‌کنند. هتروپلی‌ساکاریدها در بافت خارج‌سلولی تمامی موجودات شرکت دارند. برای مثال، قسمتی از لایه سخت پوشش سلول باکتری (پپتیدوگلیکان) از هتروپلی‌ساکاریدی تشکیل شده است که در ساختمان خود دارای دو واحد منوساکاریدی تکراری است. در بافت‌های حیوانی، فضای خارج‌سلولی توسط انواع مختلفی از هتروپلی‌ساکاریدها اشغال شده است که با ایجاد یک ماتریکس، سلول‌ها را در کنار یکدیگر نگه داشته و سبب ایجاد شکل و همچنین حفاظت و پشتیبانی سلول‌ها، بافت‌ها و اعضاء می‌گردد.

برخلاف پروتئین‌ها، پلی‌ساکاریدها عموماً فاقد وزن ملکولی مشخص هستند. این تفاوت به خاطر مکانیسم‌های همایش این دو نوع پلیمر می‌باشد. همانطور که در فصل ۲۷ خواهیم دید، پروتئین‌ها از روی یک قالب (RNA پیک) دارای توالی و طول مختلف و به کمک آنزیم‌هایی سنتز می‌گردد که دقیقاً از این قالب پیروی می‌کنند. در حالی که قالبی برای سنتز پلی‌ساکاریدها وجود نداشته و برنامه سنتز پلی‌ساکاریدها بستگی به آنزیم‌هایی دارد که

Book.Apfarsi.ir

پلیمریزاسیون واحدهای منومری را کاتالیز می‌نمایند.

نشاسته و گلیکوژن سوختهای ذخیره‌ای هستند

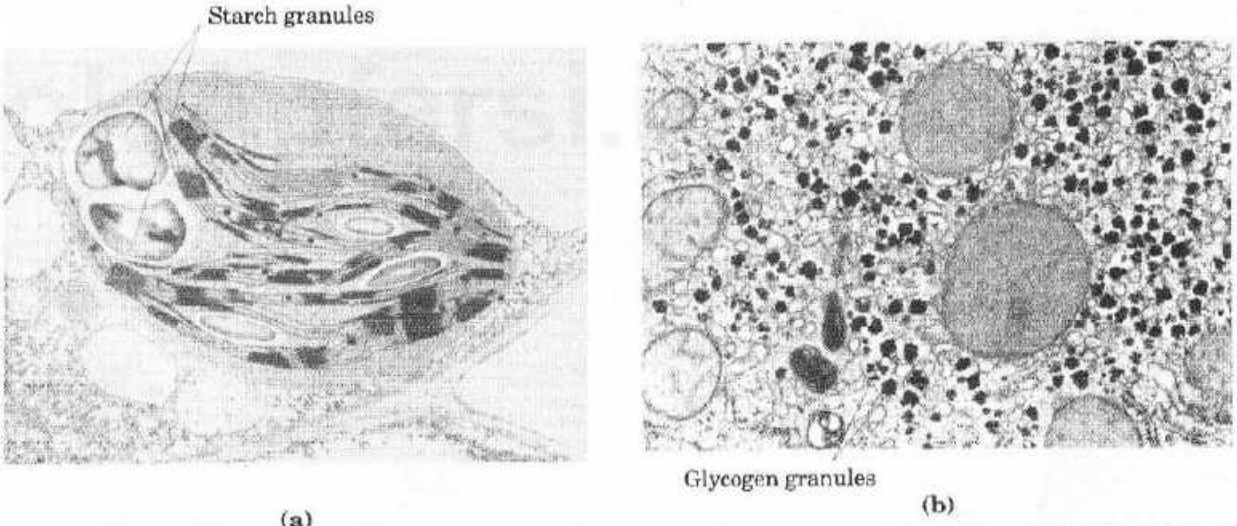
مهمترین پلی‌ساکاریدهای ذخیره‌ای شامل نشاسته در گیاهان و گلیکوژن در سلول‌های حیوانی می‌باشند. هر دو این پلی‌ساکاریدها در داخل سلول و به شکل دسته‌های بزرگ یا گرانول وجود دارند (شکل ۱۴-۹). نشاسته و گلیکوژن ملکول‌های شدیداً هیدراته‌ای هستند که علت آن در دسترس داشتن تعداد زیادی گروه هیدروکسیل برای ایجاد پیوند هیدروژنی با آب است. بیشتر سلول‌های گیاهی دارای توانایی تولید نشاسته بوده ولی بخصوص در گیاهان دارای برجستگی، نظیر سیب‌زمینی، و غلات، نظیر ذرت، فراوان می‌باشد.

نشاسته متشکل از دو پلیمر گلوکز شامل آمیلوز و آمیلوپکتین است (شکل ۱۵-۹). آمیلوز از زنجیرهای بلند و غیرمنشعب ریشه‌های D-گلوکز با اتصالات ($\alpha 1 \rightarrow 4$) تشکیل شده است. این زنجیرها از نظر وزن ملکولی از چند هزار تا بیش از یک میلیون متفاوت می‌باشند. آمیلوپکتین نیز دارای وزن ملکولی بالایی (تا ۱۰۰ میلیون) بوده ولی برخلاف آمیلوز شدیداً منشعب می‌باشد. اتصالات گلیکوزیدی متصل‌کننده دو ریشه متوالی گلوکز در آمیلوپکتین به‌صورت ($\alpha 1 \rightarrow 4$) بوده و نقاط شاخه (یکی در هر ۲۴ تا ۳۰ ریشه) دارای اتصالات ($\alpha 1 \rightarrow 6$) است.

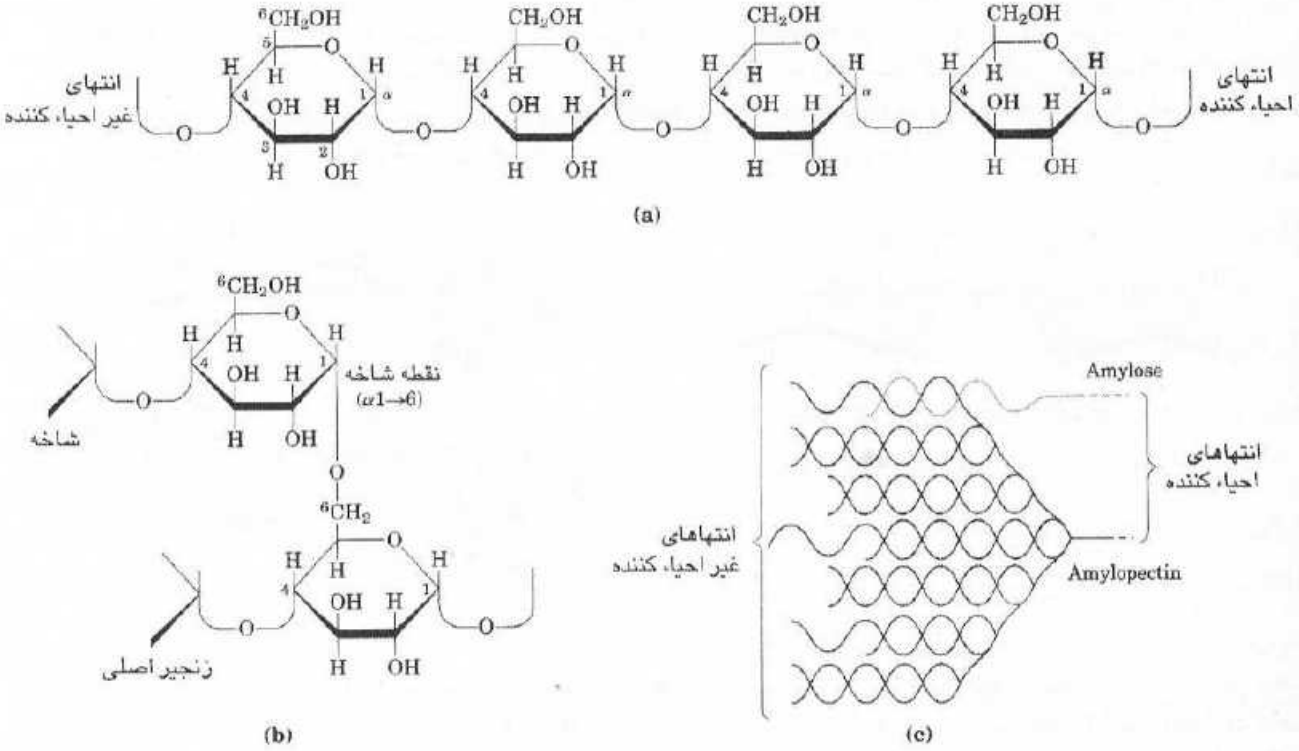
گلیکوژن پلی‌ساکارید ذخیره‌ای اصلی موجود در سلول‌های حیوانی است. همانند آمیلوپکتین، گلیکوژن پلیمری از واحدهای گلوکز با اتصالات ($\alpha 1 \rightarrow 4$) و شاخه‌های دارای اتصال ($\alpha 1 \rightarrow 6$) می‌باشد، ولی نسبت به نشاسته، دارای انشعابات بیشتر (یک شاخه در هر ۸ تا ۱۲ ریشه) و تراکم زیادتری است. گلیکوژن بخصوص در کبد یافت شده که ممکن است تا ۷٪ وزن خالص آن را شامل گردد؛ گلیکوژن همچنین ممکن است در عضله اسکلتی موجود باشد. گلیکوزن‌های موجود در سلول‌های کبدی به‌صورت گرانول‌های بزرگی (شکل ۱۴b-۱۹) وجود دارند که خود از دسته‌های گرانول‌های کوچکتر متشکل از ملکول‌های شدیداً شاخه‌دار گلیکوژن با وزن ملکولی متوسط چندین میلیون، تشکیل شده‌اند. این گرانول‌های گلیکوژن همچنین دارای آنزیم‌های مسئول سنتز و تجزیه گلیکوژن می‌باشند که به‌طور محکم به آنها متصل هستند.

از آنجایی که هر شاخه گلیکوژن به یک قند غیراحیاءکننده (قند فاقد کربن آنومری آزاد) ختم می‌گردد، ملکول گلیکوژن به تعداد شاخه‌های خود دارای انتهای غیراحیاءکننده بوده ولی تنها یک انتهای احیاءکننده دارد. وقتی گلیکوژن به عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرد، در هر زمان یک واحد گلوکز از انتهاهای غیراحیاءکننده برداشت می‌گردد. آنزیم‌های تجزیه‌کننده که بر روی انتهاهای غیراحیاءکننده اثر می‌نمایند، می‌توانند بطورهمزمان بر روی شاخه‌های متعدد عمل کرده و تبدیل پلیمر به منوساکارید را تسریع نمایند.

چرا گلوکز به شکل منومری ذخیره نمی‌گردد؟ طبق محاسبات انجام‌شده، میزان گلیکوژن ذخیره‌شده در سلول‌های کبدی معادل غلظت گلوکز ۰/۴ M می‌باشد. غلظت واقعی گلیکوژن که نامحلول بوده و نقش کمی در اسمولاریتی سیتوزولی دارد، در حدود ۱/۰۱ μM می‌باشد. درصورتیکه ۰/۴ M گلوکز در داخل سیتوزول وجود می‌داشت، اسمولاریتی بطورخطرناکی افزایش می‌یافت و سبب ورود اسموتیک آب به داخل سلول و احتمالاً پارگی سلول می‌شد (شکل ۱۱-۴ را ببینید). بعلاوه، با غلظت داخل‌سلولی ۰/۴ M گلوکز و غلظت خارج‌سلولی حدود ۵ mM (غلظت موجود در خون پستانداران)، تغییر انرژی آزاد لازم برای ورود گلوکز به داخل سلول، در مقابل این شیب غلظتی بسیار بالا، به‌طور گزافی زیاد می‌بود.



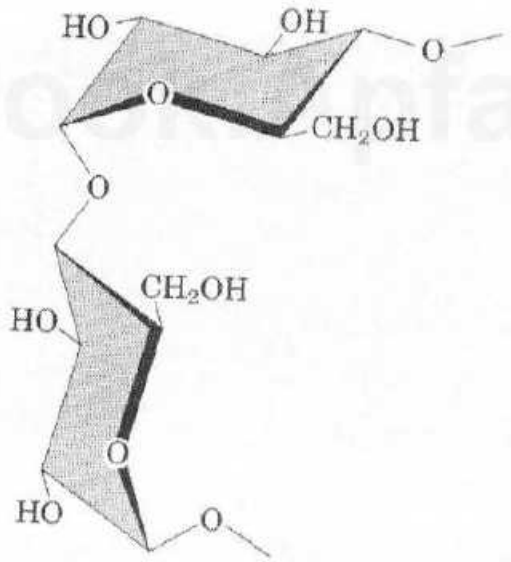
شکل ۱۴-۹. میکروگرافهای الکترونی گرانولهای نشاسته و گلیکوژن. **(a)** گرانولهای بزرگ نشاسته در یک کلروپلاست. نشاسته در کلروپلاست از D-گلوکز حاصل از فتوسنتز، ساخته می‌شود **(b)** گرانولهای گلیکوژن در یک سلول کبدی. این گرانولها در داخل سیتوزول تولید شده و بسیار کوچکتر (حدود ۰/۱ μm) از گرانولهای نشاسته (حدود ۱/۰ μm) هستند.



شکل ۱۵-۹. آمیلوز و آمیلوپکتین، به عنوان پلی‌ساکاریدهای موجود در نشاسته. **(a)** یک قطعه کوتاه آمیلوز، به‌صورت یک پلیمر خطی ریشه‌های D-گلوکز با اتصال (۴ → ۱α). یک زنجیر واحد می‌تواند چندین هزار ریشه گلوکز داشته باشد. آمیلوپکتین دارای قطعاتی با همین اتصالات بین ریشه‌ها در بین نقاط شاخه می‌باشد. **(b)** یک نقطه شاخه (۶→۱α) آمیلوپکتین. **(c)** دسته‌ای از آمیلوز و آمیلوپکتین همانند چیزی که معتقدند که در گرانول‌های نشاسته وجود دارد. رشته‌های آمیلوپکتین با یکدیگر یا با رشته‌های آمیلوز ایجاد ساختمان‌های مارپیچی دوتایی می‌نمایند. در هنگام بحرکت‌درآمدن نشاسته در داخل سلول جهت تولید انرژی، ریشه‌های گلوکز موجود در انتهای غیراحیاءکننده شاخه‌های خارجی، بطریق آنزیمی و یکی در هر زمان برداشت می‌شوند. گلیکوژن دارای ساختمان مشابهی بوده ولی انشعابات بیشتری داشته و متراکم‌تر است.

ساختمان سه‌بعدی گلیکوژن در شکل ۱۶-۹ نشان داده شده است و با ساختمان سلولز در قسمت پایین مقایسه شده است.

Book.Apfarsi.ir



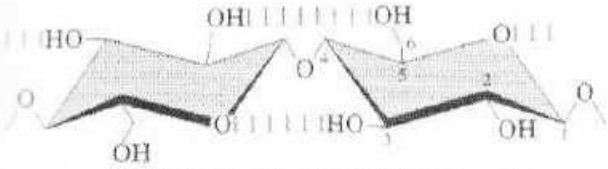
واحدهای گلوکز با اتصالات (α1→4)

(a)



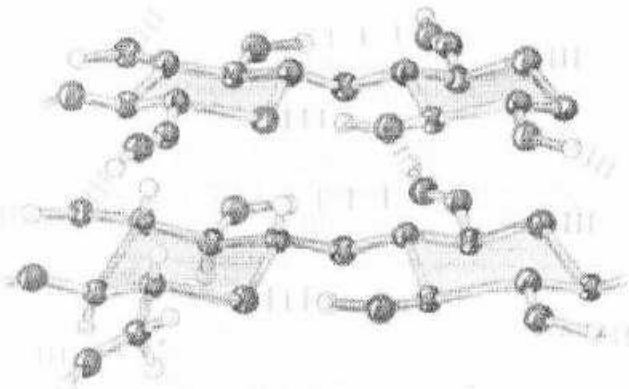
(b)

شکل ۱۶-۹. ساختمان نشاسته (آمیلوز). **(a)** در پایدارترین کونفورماسیون صندلی‌های سخت مجاور، زنجیر پلی‌ساکاریدی دارای پیچش می‌باشد که برخلاف سلولز خطی (شکل ۱۷-۹ را ببینید) است. **(b)** قطعه‌ای از آمیلوز. کونفورماسیون اتصالات (۴ ← ۱α) در آمیلوز، آمیلوپکتین و گلیکوژن سبب می‌گردد تا این پلیمرها ساختمان‌های مارپیچی شدیداً فنری را بدست آورند. این ساختمان‌های متراکم، گرانولهای متراکم نشاسته و گلیکوژن ذخیره‌ای را بوجود می‌آورند که در بسیاری از سلول‌ها دیده می‌شوند.



واحدهای D - گلوکز با اتصالات (β1→4)

(a)



(b)

شکل ۱۷-۹. ساختمان سلولز. **(a)** دو واحد یک زنجیر سلولز؛ ریشه‌های D-گلوکز دارای اتصال (۴ ← ۱β) می‌باشند. ساختمان‌های سخت صندلی می‌توانند نسبت به یکدیگر چرخش نمایند. **(b)** قطعاتی از دو زنجیر موازی سلولز که کونفورماسیون ریشه‌های D-گلوکز و اتصالات عرضی پیوند هیدروژنی را نشان می‌دهند. در واحد هگزوز موجود در پایین سمت چپ، تمامی اتم‌های هیدروژن نشان داده شده‌اند؛ در سه واحد هگزوز دیگر، برای شفاف‌بودن، تمامی هیدروژنهای متصل به کربن که در ایجاد پیوندهای هیدروژنی شرکت نمی‌کنند، حذف شده‌اند.

سلولز و کیتین هموپلی‌ساکاریدهای ساختمانی می‌باشند

سلولز یک ماده فیبری، سخت و نامحلول در آب می‌باشد که در دیواره سلول‌های گیاهی و بخصوص ساقه، ریشه، تنه و تمامی نواحی چوبی دیگر بدن گیاه وجود دارد. سلولز بیشترین میزان چوب را تشکیل داده و پنبه تقریباً سلولز خالص است. همانند آمیلوز و زنجیرهای اصلی آمیلوپکتین و گلیکوژن، ملکول سلولز یک هموپلی‌ساکارید خطی غیرمنشعب، حاوی ۱۰,۰۰۰ تا ۱۵,۰۰۰ واحد D-گلوکز می‌باشد. ولی یک تفاوت مهم وجود دارد: واحدهای گلوکز موجود در سلولز دارای کونفیگوراسیون β بوده (شکل ۱۷-۹)، در حالی که واحدهای گلوکز موجود در

Book.Apfarsi.ir

آمیلوز، آمیلوپکتین و گلیکوژن دارای کونفیگواسیون α می‌باشند. ریشه‌های گلوکز موجود در سلولز دارای پیوندهای گلیکوزیدی (β۱ → ۴) هستند. این تفاوت سبب می‌گردد تا ساختمان سه بعدی و خصوصیات فیزیکی سلولز بسیار متفاوت از آمیلوز باشد.

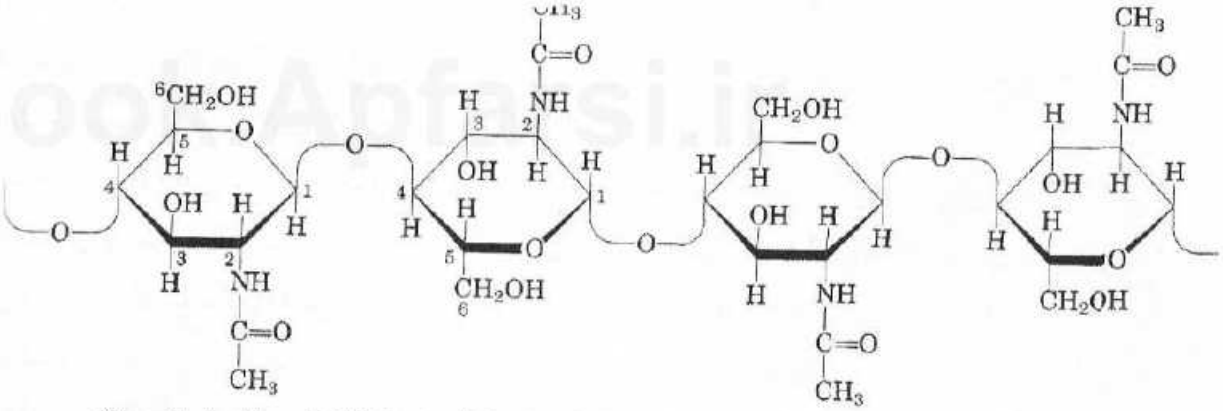
ساختمان سه بعدی ماکرومولکول‌های کربوهیدرات بستگی به همان اصول ساختمان پلی‌پپتیدی دارد: زیرواحدهای با ساختمان کم و بیش محکم حاصل از پیوندهای کووالان ایجاد ساختمان‌های ماکرومولکولی سه بعدی می‌نمایند که توسط واکنش‌های متقابل ضعیف پایدار می‌گردند. به علت وجود تعداد بسیار زیاد گروه‌های هیدروکسیل در پلی‌ساکاریدها، ایجاد اتصالات هیدروژنی دارای اثرات مهمی بر روی ساختمان آنها می‌باشد. پلیمرهای β-D-گلوکز، نظیر سلولز، را می‌توان به‌صورت یک سری حلقه‌های پیرانوزی سخت نمایش داد که توسط یک اتم اکسیژن بین دو اتم کربن (پیوند گلیکوزیدی) به یکدیگر متصل شده‌اند. حول هر دو پیوند C-O متصل‌کننده دو ریشه، چرخش آزاد وجود دارد (شکل ۱۷a-۹). پایدارترین کونفورماسیون برای این پلیمر، حالتی است که در آن هر صندلی به اندازه ۱۸۰° نسبت به صندلی مجاور چرخش نموده و ایجاد یک زنجیر امتدادیافته مستقیم می‌نماید. با قرارگرفتن زنجیرهای متعدد در کنار یکدیگر، یک شبکه پایدارکننده پیوندهای هیدروژنی درون‌زنجیری و بین‌زنجیری ایجاد شده که تولید فیبرهای سوپرا ملکولی پایدار مستقیمی می‌کند که دارای قدرت کششی زیادی است (شکل ۱۷b-۹). قدرت کششی سلولز آن را یک ماده مفید در طی تمدنهای هزاران ساله نموده است. بسیاری از محصولات تولیدی، از جمله کاغذ، مقوای نازک، ابریشم مصنوعی، سفالهای مجزاکننده و سایر مواد بسته‌بندی و ساختمانی، از سلولز مشتق می‌گردند. به دلیل ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین‌زنجیری وسیع بین ملکول‌های سلولز، ظرفیت پیوند هیدروژنی آنها پرشده و بنابراین محتوی آب این مواد پایین است.

برخلاف فیبرهای مستقیم تولیدی بوسیله پلیمرهای دارای اتصالات (β۱ → ۴)، نظیر سلولز، مساعدترین کونفورماسیون برای پلیمرهای دارای اتصالات (α۱ → ۴) واحدهای D-گلوکز، نظیر نشاسته و گلیکوژن، ساختمان مارپیچی شدیداً پیچ‌دار می‌باشد که توسط پیوندهای هیدروژنی پایدار شده‌اند (شکل ۱۶-۹).

گلیکوژن و نشاسته‌ای که توسط مواد غذایی وارد بدن می‌شوند، توسط آنزیم‌های α-آمیلاز موجود در ترشحات بزاقی و روده که بر روی پیوندهای گلیکوزیدی (α۱ → ۴) اثر دارند، هیدرولیز می‌شوند. اکثر حیوانات، به دلیل نداشتن آنزیم لازم برای هیدرولیز اتصالات (β۱ → ۴)، نمی‌توانند از سلولز به عنوان ماده سوختی استفاده نمایند. موریانه‌ها تنها به دلیل داشتن یک میکروارگانیسم همزیست بنام *Trichonympha* که آنزیم سلولاز مورد نیاز برای هیدرولیز اتصالات (β۱ → ۴) موجود در بین ریشه‌های گلوکز را دارد، براحتی سلولز (و بنابراین چوب) را هضم می‌نمایند. باکتری‌ها و قارچهای فاسدکننده چوب نیز سلولاز را تولید می‌کنند. تنها مهره‌دارانی که می‌توانند از سلولز به عنوان غذا استفاده نمایند، شامل گاو و سایر نشخوارکنندگان (گوسفند، بز، شتر و زرافه) می‌باشند. قسمت معده اضافی (سیرابی) نشخوارکنندگان دارای باکتری‌ها و آغازیانی است که سلولاز را تولید می‌کنند.

کیتین یک هموپلی‌ساکارید مرکب از ریشه‌های *N*-استیل‌گلوکزآمین با اتصالات β می‌باشد (شکل ۱۸-۹). تنها تفاوت شیمیایی کیتین با سلولز در استخلاف گروه هیدروکسیل کربن ۲ با یک گروه آمینواستیله می‌باشد. کیتین ایجاد فیبرهای امتداد یافته‌ای نظیر سلولز نموده و همانند سلولز توسط حیوانات مهره‌دار قابل‌هضم نمی‌باشد. کیتین جزء اصلی اسکلت خارجی سخت تقریباً یک میلیون گونه بندپایان (برای مثال، حشرات و خرچنگ) را تشکیل داده و احتمالاً بعد از سلولز، دومین پلی‌ساکارید فراوان در طبیعت می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۸-۹. یک قطعه کوتاه از کیتین، هموپلیمری از واحدهای *N*-استیل-D-گلوکزآمین با اتصال ($\beta 1 \rightarrow 4$).

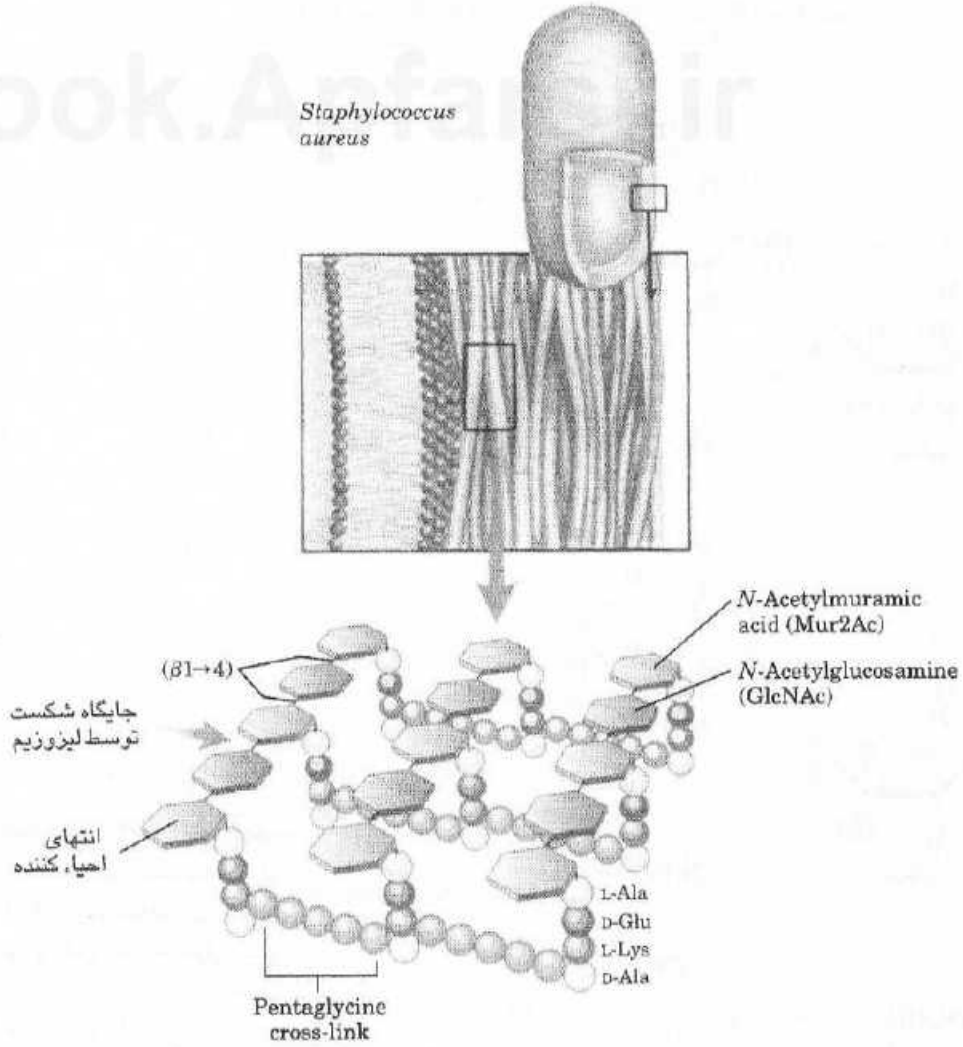
دیواره‌های سلول باکتری حاوی پپتیدوگلیکانها می‌باشند

جزء سخت دیواره‌های سلول باکتری را یک هتروپلیمر متشکل از واحدهای یک‌درمیان *N*-استیل‌گلوکزآمین و *N*-استیل‌مورامیک اسید با اتصالات ($\beta 1 \rightarrow 4$) تشکیل می‌دهد (شکل ۱۹-۹). این پلیمرهای خطی در داخل دیواره سلول به‌صورت پهلو به پهلو در کنار یکدیگر قرار گرفته و بین آنها اتصالات عرضی از پپتیدهای کوتاه وجود دارد. ساختمان دقیق دیواره بستگی به نوع باکتری دارد. اتصالات عرضی پپتیدی، زنجیرهای پلی‌ساکاریدی را به شکل یک صفحه قوی به یکدیگر جوش داده که تمام سلول باکتری را پوشانده و مانع تورم و لیز سلولی به‌واسطه ورود اسموتیک آب به داخل سلول می‌گردد. آنزیم لیزوزیم با هیدرولیز نمودن پیوند گلیکوزیدی ($\beta 1 \rightarrow 4$) موجود در بین *N*-استیل‌گلوکزآمین و *N*-استیل‌مورامیک اسید، باکتری‌ها را از بین می‌برد. لیزوزیم به میزان قابل توجهی در اشک وجود داشته که احتمالاً به‌عنوان یک دفاع در برابر عفونت‌های باکتریایی چشم عمل می‌نماید. لیزوزیم همچنین توسط بعضی ویروس‌های باکتریایی تولید شده تا آزادسازی آنها را از سلول باکتری، به‌عنوان یک مرحله ضروری در چرخه عفونت ویروسی، تضمین نماید. پنی‌سیلین و آنتی‌بیوتیک‌های وابسته با مهار سنتز این اتصالات عرضی، دیواره سلول را در برابر لیز اسموتیک تضعیف نموده و سبب مرگ باکتری‌ها می‌گردند (کادر ۱-۲۰ را ببینید).

گلیکوزآمینوگلیکان‌ها اجزاء ماتریکس خارج‌سلولی می‌باشند

فضای خارج‌سلولی موجود در بافت‌های حیوانات پرسلولی توسط یک ماده ژل مانند، بنام **ماتریکس خارج‌سلولی** یا ماده زمینه‌ای، پر شده که سلول‌ها را در کنار یکدیگر نگه داشته و یک مسیر خلل و فرج‌دار برای انتشار مواد غذایی و اکسیژن به سلول‌ها فراهم می‌کند. ماتریکس خارج‌سلولی از یک شبکه به یکدیگر متصل‌شده هتروپلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های فیبری نظیر کلاژن، الاستین، فیبرونکتین و لامینین، تشکیل شده است. این هتروپلی‌ساکاریدها یا **گلیکوزآمینوگلیکان‌ها** می‌نامند که خانواده‌ای از پلیمرهای خطی متشکل از واحدهای دی‌ساکاریدی تکراری می‌باشند (شکل ۲۰-۹). یکی از این دو منوساکارید همیشه *N*-استیل‌گلوکزآمین یا *N*-استیل‌گالاکتوزآمین بوده و دیگری در اکثر موارد یک اسید اورونیک، معمولاً اسید D-گلوکورونیک یا L-یدورونیک می‌باشد. در بعضی از گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، یک یا چند گروه هیدروکسیل قند آمینو با سولفات استریفیه شده است. ترکیب گروه‌های سولفات با گروه‌های کربوکسیلات ریشه‌های اسید اورونیک در گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، چگالی بسیار بالایی از بارهای منفی ایجاد می‌نماید. برای اجتناب از نیروهای دفعی بین گروه‌های باردار مجاور، این ملکول‌ها در داخل محلول یک

Book.Apfarsi.ir

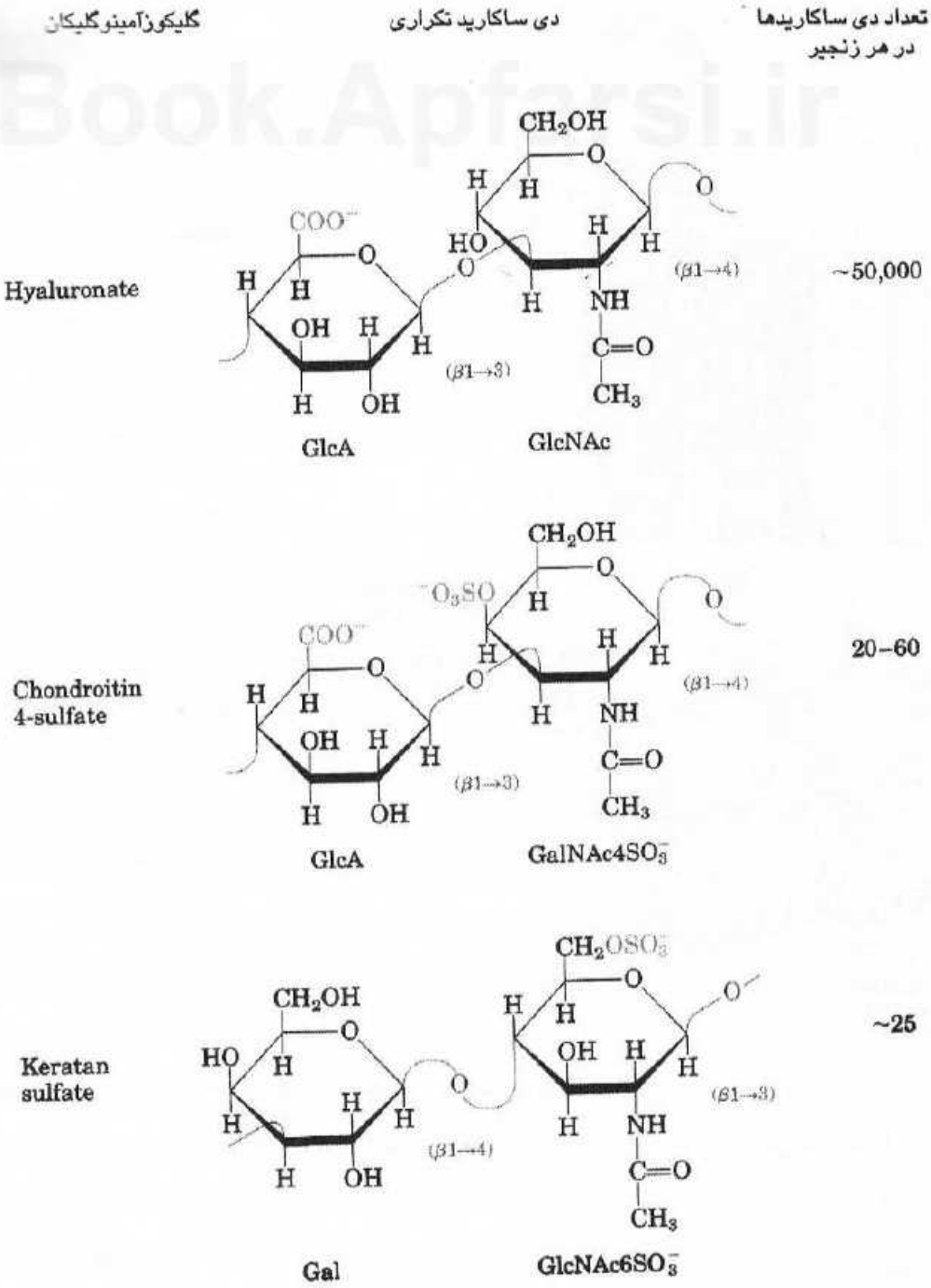


شکل ۱۹-۹. پپتیدوگلیکان. این پپتیدوگلیکان دیواره سلولی *Staphylococcus aureus* یک باکتری گرم مثبت، می‌باشد. پپتیدها (رشته‌هایی از میپردها) با اتصال کوالان به ریشه‌های *N*-استیل‌موراميک اسید موجود در رشته‌های پلی‌ساکاریدی مجاور متصل شده‌اند. به مخلوطی از اسیدهای آمینه L و D در این پپتیدها توجه نمائید. باکتری‌های گرم مثبت نظیر *S. aureus* در اتصال عرضی دارای یک پنتاگلیسین می‌باشند. باکتری‌های گرم منفی نظیر *E. coli* فاقد این پنتاگلیسین بوده و بجای آن، ریشه D-آلانین انتهایی یک تتراپپتید مستقیماً از طریق L-لیزین یا یک اسید آمینه لیزین-مانند، اسید دی‌آمینوپیملیک، به تتراپپتید مجاور اتصال می‌یابد.

کونفورماسیون کاملاً امتدادیافته اتخاذ می‌نمایند. برای شناسایی اختصاصی توسط لیگاندهای پروتئینی مختلف، الگوهای اختصاصی ریشه‌های قندی سولفاته و غیرسولفاته در گلیکوزآمینوگلیکان‌ها ایجاد شده است که بطریق الکترواستاتیک به این ملکول‌ها اتصال می‌یابند. گلیکوزآمینوگلیکان‌ها با اتصال به پروتئین‌های خارج‌سلولی، ایجاد **پروتئوگلیکان‌ها** را می‌نمایند (در قسمت پایین مورد بحث قرار می‌گیرند).

گلیکوزآمینوگلیکان **اسید هیالورونیک** (هیالورونات در pH فیزیولوژیک) حاوی ریشه‌های یک‌درمیان D-گلوکورنیک اسید و *N*-استیل‌گلوکزآمین می‌باشد (شکل ۲۰-۹). وزن ملکولی هیالوروناتی که در آن تا ۵۰،۰۰۰ تکرار این واحد دی‌ساکاریدی پایه وجود دارد، به بیش از یک میلیون می‌رسد؛ این گلیکوزآمینوگلیکان محلول‌های شفاف شدیداً چسبنده ایجاد می‌کند که به عنوان مواد نرم‌کننده در مایع سینویال مفاصل عمل نموده و یک ثبات ژل مانند به مایع عدسی چشم مهره‌داران می‌دهد (کلمه یونانی *hyalos* به معنی «شیشه» می‌باشد: هیالورونات می‌تواند یک ظاهر شیشه‌ای یا نیمه‌شفاف داشته باشد). هیالورونات همچنین یک جزء ضروری ماتریکس خارج‌سلولی غضروف و تاندون‌ها می‌باشد که به خاطر واکنش‌های متقابل قوی با سایر اجزاء ماتریکس به قدرت کششی و الاستیسیته بافت کمک می‌کند. هیالورونیداز که توسط بعضی باکتری‌های بیماریزا تولید می‌گردد، می‌تواند اتصالات گلیکوزیدی هیالورونات را هیدرولیز نموده و بافت را به تهاجم باکتریایی حساس‌تر نماید. در بسیاری از موجودات، آنزیم مشابهی در اسپرم سبب هیدرولیز پوشش گلیکوزآمینوگلیکان خارجی اطراف تخمک شده که امکان نفوذ

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۹. واحدهای تکراری بعضی از گلیکوزآمینوگلیکان‌های معمول ماتریکس خارج‌سلولی. این ملکول‌ها کوپلیمر ریشه‌های یک در میان اسید اورونیک و قند آمینو، همراه با استرهای سولفات در هر کدام از موقعیت‌ها، می‌باشند. گروه‌های کربوکسیلات گروه‌های یونیزه بار شدیداً منفی را در این پلیمرها ایجاد می‌نمایند.

اسپرم را فراهم می‌سازد.

گلیکوزآمینوگلیکان‌های دیگر دو تفاوت با هیالورونات دارند، یکی اینکه عموماً پلیمرهای بسیار کوتاهتری هستند و دوم اینکه بطورکووالان به پروتئین‌های اختصاصی اتصال یافته‌اند (پروتوگلیکان‌ها، در قسمت پایین مورد بحث قرار می‌گیرند). کندروایتین سولفات (کلمه یونانی *chondros* به معنی «غضروف») در ایجاد قدرت کششی غضروف، تاندونها، لیگامانها و دیواره‌های آئورت، نقش دارد. درماتان سولفات (*derma* یونانی به معنی «پوست») در انعطاف‌پذیری پوست نقش داشته و در عروق خونی و دریچه‌های قلبی نیز یافت می‌شود. کراتان سولفات‌ها (*keras* یونانی به معنی «شاخ») فاقد اسید اورونیک بوده و محتوی سولفات آنها متغییر است. این گلیکوزآمینوگلیکان در قرنیه، غضروف، استخوان و انواعی از ساختمان‌های شاخی سلول‌های مرده، نظیر شاخ، مو، سُم، ناخن‌ها و پنجه‌ها، وجود دارد. هپارین (*hepar* یونانی به معنی «کبد») یک ضدانعقاد طبیعی است که در ماست سل‌ها ساخته شده و

جدول ۲-۹. ساختمان و نقش بعضی از پلی‌ساکاریدها

پلیمر	نوع*	واحد تکراری†	اندازه (تعداد واحد منوساکاریدی)	اعمال
نشاسته				ذخیره انرژی: در گیاهان
آمیلوز	هموـ	خطی، Glc (۴ ← ۱ α)	۵۰ - ۵,۰۰۰	
آمیلوپکتین	هموـ	Glc (۴ ← ۱ α) با Glc (۶ ← ۱ α) شاخه‌ها در هر ۲۴ تا ۳۰ ریشه	تا 10^6	
گلیکوژن	هموـ	Glc (۴ ← ۱ α) با Glc (۶ ← ۱ α) شاخه‌ها در هر ۸ تا ۱۲ ریشه	تا ۵۰,۰۰۰	ذخیره انرژی: در باکتری‌ها و سلولهای حیوانی
سلولز	هموـ	Glc (۴ ← ۱ β)	تا ۱۵,۰۰۰	ساختمانی: در گیاهان به دیواره سلولی سختی و استحکام می‌دهد
کیتین	هموـ	GlcNAc (۴ ← ۱ β)	بسیار بزرگ	ساختمانی: در حشرات، عنکبوت و سخت‌پوستان به اسکلت خارجی سختی و استحکام می‌دهد
پپتیدوگلیکان	هتروـ اتصال پپتیدها	(۴ ← ۱ β) Mur2Ac (۴) GlcNAc (۱ β)	بسیار بزرگ	ساختمانی: در باکتریها به پوشش سلولی سختی و استحکام می‌دهد
هیالورونات	هتروـ اسیدی	(۳ ← ۱ β) GlcA (۴) GlcNAc (۱ β)	تا ۱۰۰,۰۰۰	ساختمانی: در مهره‌داران بعنوان ماتریکس پوست و بافت همبند؛ چسبندگی و نرمی در مفاصل

* هر پلیمر بصورت یک هموپلی‌ساکارید (همو-) یا هتروپلی‌ساکارید (هترو-) طبقه‌بندی شده است.

† اسامی مخفف واحدهای تکراری موجود در پپتیدوگلیکان و هیالورونات نشان می‌دهند که این پلیمرها از واحدهای تکراری دی‌ساکاریدی تشکیل شده‌اند که در آن GlcNAc یک واحد دی‌ساکاریدی با پیوند (۴ ← ۱) β به اولین ریشه واحد دی‌ساکارید بعدی اتصال دارد.

به داخل خون آزاد و در آنجا با اتصال به پروتئین ضدانعقادی آنتی‌ترومبین III، آن را فعال و مانع انعقاد می‌گردد. این واکنش شدیداً الکترواستاتیک می‌باشد؛ هپارین در میان تمامی ماکروملکول‌های شناخته‌شده، دارای بیشترین چگالی بار منفی است. برای جلوگیری از انعقاد نمونه خون گرفته شده برای آزمایشات بالینی و یا انتقال خون، معمولاً هپارین اضافه می‌گردد.

تکنیک، خصوصیات، نقش و محل وجود پلی‌ساکاریدهایی که در این قسمت شرح داده شدند، در جدول ۲-۹ خلاصه شده است.

گلیکوکونژوگه‌ها: پروتئوگلیکان‌ها، گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها

علاوه بر نقش مهم آنها به عنوان سوختهای ذخیره‌ای (نشاسته، گلیکوژن) و مواد ساختمانی (سلولز، کیتین، پپتیدوگلیکان)، پلی‌ساکاریدها (و اولیگوساکاریدها) به عنوان حاملین اطلاعات عمل می‌کنند: اینها به عنوان علائمی برای تعیین مقصد بعضی از پروتئین‌ها و به عنوان ترکیبات واسطی در واکنش‌های متقابل سلول-سلول و واکنش‌های متقابل بین سلول‌ها و ماتریکس خارج‌سلولی ایفاء نقش می‌کنند. ملکول‌های اختصاصی حاوی کربوهیدرات که در شناسایی و چسبندگی سلول-سلول، مهاجرت سلولی در هنگام تکامل، انعقاد خون، پاسخ ایمنی و ترمیم زخم شرکت می‌کنند، براساس چند مورد از اعمال متعدد آنها نامگذاری می‌شوند. در بیشتر این موارد، کربوهیدرات‌های اطلاعاتی بطورکووالان به یک پروتئین یا یک لیپید اتصال یافته و ایجاد **گلیکوکونژوگه‌هایی** را

Book.Apfarsi.ir

می‌نمایند که ملکول‌هایی با فعالیت بیولوژیک هستند.

پروتئوگلیکان‌ها ماکروملکول‌هایی در سطح سلول یا ماتریکس خارج‌سلولی هستند که در آنها یک یا چند زنجیر گلیکوزآمینوگلیکان بطورکووالان به یک پروتئین غشایی یا یک پروتئین ترشحی اتصال می‌یابد. معمولاً بخش گلیکوزآمینوگلیکان، بیشترین میزان پروتئوگلیکان را تشکیل داده، از نظر ساختمانی غالب بوده و اغلب محل فعالیت بیولوژیکی است. در بسیاری از موارد این فعالیت بیولوژیکی بواسطه جایگاهای اتصالی متعدد به انجام می‌رسند که احتمال ایجاد پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل الکترواستاتیک با سایر پروتئین‌های موجود در سطح سلول یا ماتریکس خارج‌سلولی، در آنها زیاد می‌باشد. پروتئوگلیکان‌ها اجزاء اصلی بافت‌های همبند، نظیر غضروف، می‌باشند که در آنها واکنش‌های متقابل غیرکووالان متعدد موجود با سایر پروتئوگلیکان‌ها، پروتئین‌ها، و گلیکوزآمینوگلیکان‌ها سبب ایجاد قدرت و حالت ارتجاعی می‌گردد.

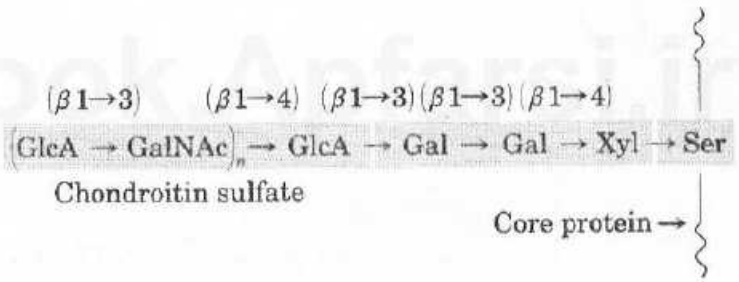
گلیکوپروتئین‌ها دارای یک یا چند اولیگوساکارید با پیچیدگی متفاوت هستند که توسط پیوند کووالان به پروتئین اتصال یافته‌اند. این ترکیبات در سطح خارجی غشاء پلاسمایی، ماتریکس خارج‌سلولی و در خون وجود دارند. در داخل سلول‌ها، گلیکوپروتئین‌ها در اندامکهای اختصاصی، نظیر کمپلکسهای گلژی، گرانولهای ترشحی و لیزوزومها یافت می‌گردند. قسمت‌های اولیگوساکاریدی گلیکوپروتئین‌ها کمتر از زنجیرهای گلیکوزآمینوگیکانها یکنواخت می‌باشند؛ این قسمت‌ها از نظر اطلاعات غنی بوده و ایجاد جایگاههای شدیداً اختصاصی برای شناسایی و اتصال با تمایل بالا به سایر پروتئین‌ها می‌نمایند.

گلیکولیپیدها لیپیدهای غشایی هستند که در آنها گروه‌های سر قطبی را اولیگوساکاریدها تشکیل داده که همانند گلیکوپروتئین‌ها، به عنوان جایگاههای اختصاصی برای شناسایی توسط پروتئین‌های اتصال‌یابنده به کربوهیدرات‌ها، شناسایی می‌گردند.

گلیکوبیولوژی، یا مطالعه ساختمان و عمل گلیکوکونژوگه‌ها، یکی از فعالترین و هیجان‌انگیزترین قسمت‌های بیوشیمی و بیولوژی می‌باشد. در اینجا تنها چند مثال برای شرح تنوع ساختمانی و دامنه فعالیت بیولوژیک گلیکوکونژوگه‌ها، آورده می‌شود. بیوسنتز پلی‌ساکاریدها، از جمله گلیکوزآمینوگلیکان‌ها در فصل ۲۰ مورد بحث قرار گرفته و همایش اولیگوساکاریدها بر روی گلیکوپروتئین‌ها در فصل ۲۷ شرح داده می‌شود.

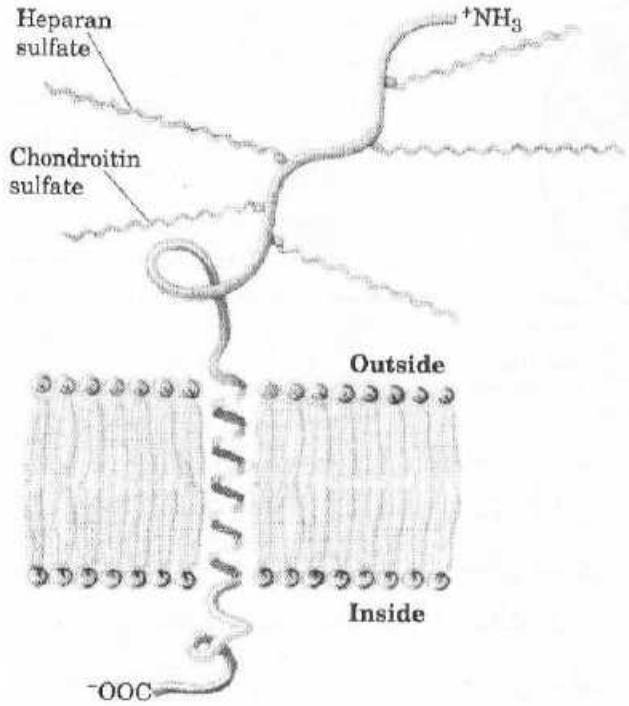
پروتئوگلیکان‌ها، ماکروملکول‌های حاوی گلیکوزآمینوگلیکان‌ها در سطح سلول و ماتریکس خارج‌سلولی هستند

واحد پایه پروتئوگلیکان از یک «هسته پروتئینی» تشکیل شده است که گلیکوزآمینوگلیکان‌ها با پیوند کووالان به آنها متصل شده‌اند. برای مثال، ماتریکس صفحه‌مانند خارج‌سلولی (لامینا پایه) که گروه‌های سازماندهی‌شده سلول‌ها را از یکدیگر جدا می‌نماید، حاوی خانواده‌ای از پروتئین‌های هسته‌ای (وزن‌ملکولی بین ۲۰,۰۰۰ تا ۴۰,۰۰۰) هستند که به هر کدام چندین زنجیر هپاران سولفات بطورکووالان اتصال یافته است. (هپاران سولفات از نظر ساختمانی مشابه هپارین بوده ولی دارای تراکم کمتر استرهای سولفات است) نقطه اتصالی معمولاً یک ریشه Ser می‌باشد که به آن گلیکوزآمینوگلیکان از طریق یک پل تری‌ساکاریدی متصل می‌گردد (شکل ۲۱-۹). این ریشه Ser عموماً در توالی -Ser-Gly-X-Gly- (در این توالی X می‌تواند هر اسید آمینه‌ای باشد) قرار می‌گیرد، ولی هر پروتئینی با این توالی حاوی یک گلیکوزآمینوگلیکان اتصال‌یافته نمی‌باشد. بسیاری از پروتئوگلیکان‌ها به داخل



شکل ۲۱-۹. ساختمان پروتئوگلیکان که پل تری‌ساکاریدی را نشان می‌دهد. یک رابط تری‌ساکاریدی شاخص یک گلیکوزآمینوگلیکان (در اینجا کندروایتین سولفات) را به ریشه Ser موجود در هسته پروتئینی متصل می‌نماید. ریشه گزیلوز موجود در انتهای احیاءکننده این رابط توسط کربن آنومری خود به گروه هیدروکسیل این ریشه Ser اتصال می‌یابد.

ماتریکس خارج‌سلولی ترشح شده، ولی بعضی از آنها پروتئین‌های غشایی داخلی هستند. برای مثال، پروتئین هسته‌ای سین‌دکان[1] (وزن‌ملکولی ۵۶,۰۰۰) دارای یک دومین ترانس‌ممبران و یک دومین خارج‌سلولی حاوی سه زنجیر سولفات هپاران و دو زنجیر سولفات کندروایتین می‌باشد که هر کدام به یک ریشه Ser اتصال یافته‌اند (شکل ۲۲-۹). بخش‌های هپاران سولفات به انواع مختلفی از لیگاندهای خارج‌سلولی اتصال یافته و به موجب آن واکنش متقابل بین لیگاند و گیرنده‌های اختصاصی موجود در سطح سلول را تعدیل می‌نمایند.



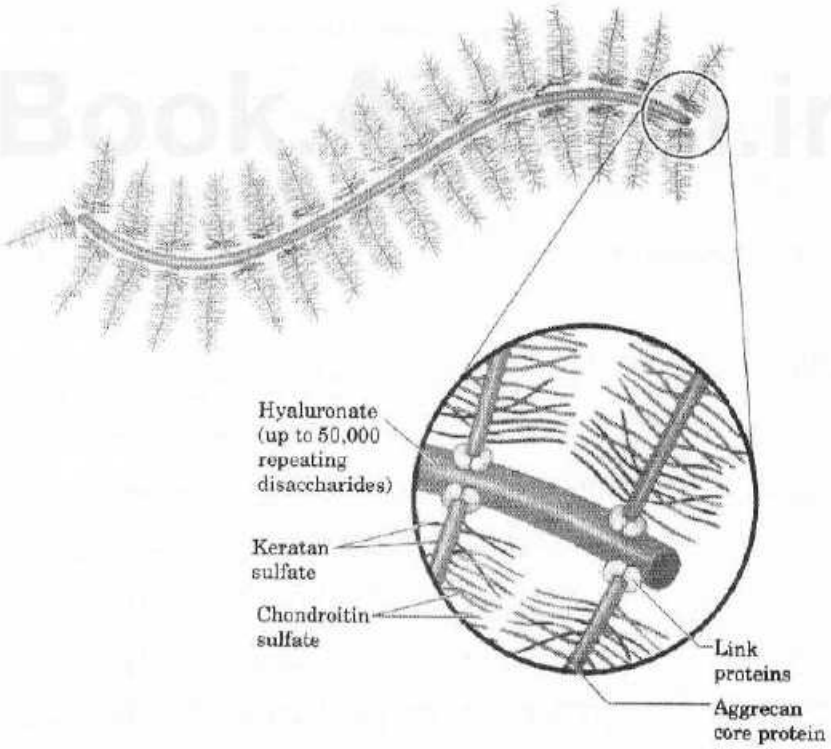
شکل ۲۲-۹. ساختمان پروتئوگلیکان یک پروتئین داخل غشایی. این شکل شماتیک، سین دکان، یک پروتئین مرکزی غشاء پلاسمایی را نشان می‌دهد. دومین انتهای آمینو در سمت خارج‌سلولی بطورکووالان (توسط رابط‌های تری‌ساکاریدی مشابه رابط نشان‌داده شده در شکل ۲۱-۹) به سه زنجیر هپاران سولفات و دو زنجیر کندروایتین سولفات متصل می‌گردد.

بعضی از پروتئوگلیکان‌ها قادر به ایجاد **تجمعات پروتئوگلیکانی** هستند که خود همایش‌های متعدد سوپرامولکولی از تعداد زیادی پروتئین هسته‌ای می‌باشند که همگی به یک ملکول هیالورونات اتصال دارند. پروتئین هسته‌ای اگرکان (وزن ملکولی حدود ۲۵۰,۰۰۰) دارای زنجیرهای متعدد کندروایتین سولفات و کراتان سولفات بوده که از طریق رابط‌های سه‌قندی به ریشه‌های Ser موجود در هسته پروتئینی اتصال یافته تا یک منومر اگرکان با وزن ملکولی حدود ۲×۱۰^{۶} حاصل گردد. وقتی یکصد یا تعداد بیشتری از این هسته‌های پروتئینی «آرایش‌یافته» به یک ملکول امتدادیافته هیالورونات اتصال می‌یابد (شکل ۲۳-۹)، تجمع پروتئوگلیکانی حاصل (وزن‌ملکولی بیش از ۲×۱۰^{۸}) به همراه میزان آبی که آن را هیدراته نموده، حجمی در حدود یک سلول باکتری را اشغال می‌نماید! اگرکان قویاً با کلاژن موجود در ماتریکس خارج‌سلولی غضروف واکنش متقابل نموده و در تکامل آن و ایجاد قدرت کششی همکاری می‌نماید.

پروتئین‌های فیبری ماتریکس، نظیر کلاژن، الاستین و فیبرونکتین، به این پروتئوگلیکان‌های متعدد خارج سلولی درهم پیچیده و ایجاد شبکه‌ای حاوی اتصالات عرضی می‌نماید که قدرت و انعطاف‌پذیری را به کل

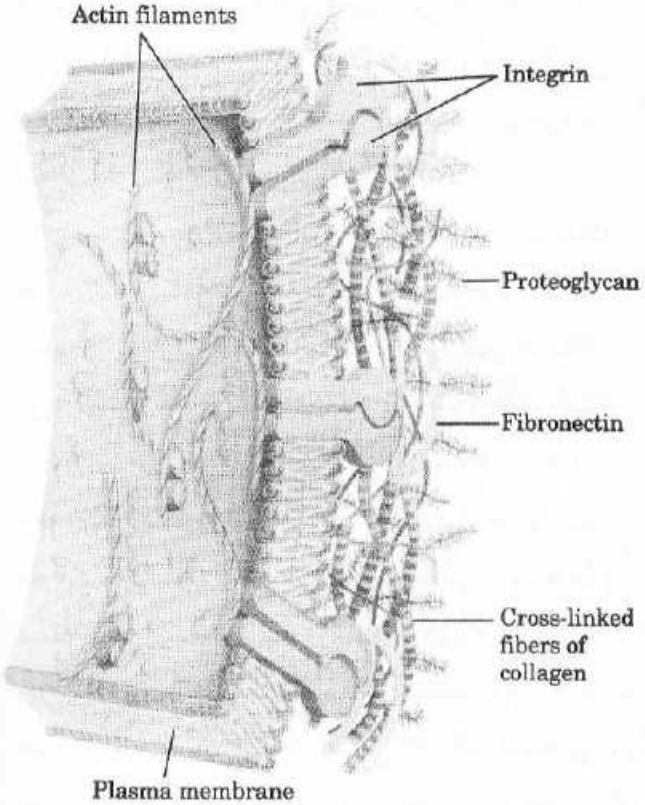
1- Syndecan

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۹. یک تجمع پروتئوگلیکانی در ماتریکس خارج‌سلولی. یک ملکول بسیار طویل هیالورونات بطورغیرکووالان به حدود ۱۰۰ ملکول پروتئین مرکزی اگرکان اتصال یافته است. به هر ملکول اگرکان، زنجیرهای متعدد کندروایتین سولفات و کراتان سولفات به‌طور کووالان اتصال دارد. پروتئین‌های رابط در محل اتصال بین هر پروتئین مرکزی و اسکلت هیالورونت، واکنش‌های متقابل بین پروتئین مرکزی و هیالورونات را وساطت می‌نمایند.

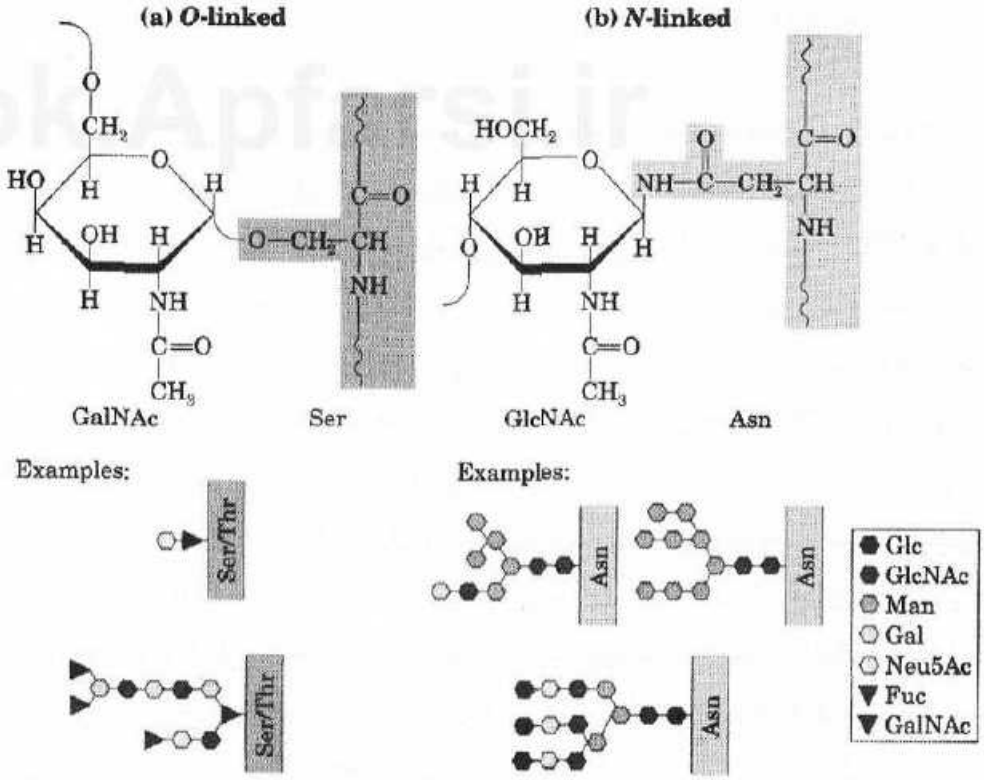
ماتریکس خارج‌سلولی می‌دهد. بعضی از این پروتئین‌ها دارای جایگاههای اتصالی برای ملکول‌های مختلف متعدد ماتریکس می‌باشند. برای مثال، فیبرونکتین دارای دومن‌های مجزایی برای اتصال به فیبرین، هپاران سولفات، کلاژن و خانواده‌ای از پروتئین‌های غشاء پلاسمایی بنام اینتگرین‌ها[1] می‌باشند که پیام‌رسانی بین داخل سلول و ماتریکس خارج‌سلولی را وساطت می‌نمایند (شکل ۱۹-۱۲ را ببینید). اینتگرین‌ها بنوبه خود دارای جایگاه‌های اتصالی برای تعدادی دیگر از ماکرو‌ملکول‌های خارج‌سلولی می‌باشند. سیمای واکنش‌های متقابل سلول-ماتریکس که ایجاد می‌گردد (شکل ۲۴-۹)، دسته‌ای از و کنش‌های متقابل بین ملکول‌های سلولی و خارج‌سلولی را نشان می‌دهد. این واکنش‌های متقابل تنها در لنگراندازی سلول‌ها به ماتریکس خارج‌سلولی نقش نداشته، بلکه همچنین مسیرهایی را فراهم می‌آورد که مهاجرت سلول‌ها را در بافت درحال



شکل ۲۴-۹. واکنش‌های متقابل بین سلول‌ها و ماتریکس خارج‌سلولی. همبستگی بین سلول‌ها و پروتئوگلیکان ماتریکس خارج‌سلولی، توسط یک پروتئین غشایی (اینتگرین) و یک پروتئین خارج‌سلولی (در این مثال، فیبرونکتین) وساطت می‌گردد. به همبستگی نزدیک بین فیبرهای کلاژن با فیبرونکتین و پروتئوگلیکان‌ها توجه نمائید.

1- Integrines

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۵-۹ [شکل ۲۸ ضمیمه رنگی]. اتصالات اولیگوساکاریدی در گلیکوپروتئین‌ها. (a) اولیگوساکاریدهای دارای اتصالات *O*-گلیکوزیدی، یک پیوند گلیکوزیدی با گروه هیدروکسیل ریشه‌های Ser یا Thr (با سایه صورتی) دارند که در اینجا با GalNAc به عنوان قند موجود در انتهای احیاءکننده اولیگوساکارید نشان داده شده است. یک زنجیر ساده و یک زنجیر مرکب نمایش داده شده است. (همانطور که قبلاً اشاره گردید، Neu5Ac یا *N*-استیل‌نورامینیک اسید، معمولاً اسید سیالیک نامیده می‌شود.) (b) اولیگوساکاریدهای دارای اتصالات *N*-گلیکوزیدی، یک پیوند *N*-گلیکوزیل به نیتروژن آمیدی یک ریشه Asn (با سایه سبز) دارند که در اینجا با GlcNAc به عنوان قند انتهایی نمایش داده شده است. سه نوع معمول زنجیرهای اولیگوساکاریدی در گلیکوپروتئین‌های دارای اتصال *N*-گلیکوزیدی نشان داده شده است. شرح کامل ساختمان اولیگوساکاریدها نیاز به مشخص‌نمودن موقعیت و شیمی فضایی (α یا β) هر اتصال گلیکوزیدی دارد.

توسعه، هدایت نموده و از طریق اینتگرین‌ها، اطلاعات را در هر دو جهت از عرض غشاء پلاسمایی، انتقال می‌دهند.

پروتئوگلیکان‌های ماتریکس برای پاسخ سلول‌ها به بعضی فاکتورهای رشد خارج‌سلولی ضروری هستند. برای مثال، فاکتور رشد فیبروبلاستی (FGF)، یک پیام پروتئینی خارج‌سلولی که تقسیم سلولی را تحریک می‌کند، ابتدا به بخش‌های هپاران سولفات ملکول‌های سین‌دکان در غشاء پلاسمایی سلول هدف اتصال می‌یابد. سپس سین‌دکان، FGF را به گیرنده پلاسمایی اختصاصی FGF ارائه داده و تنها بعد از آن FGF با گیرنده خود واکنش متقابل نموده و تقسیم سلولی را آغاز می‌نماید.

گلیکوپروتئین‌ها، کونژوگه‌های غنی از اطلاعات حاوی اولیگوساکاریدها می‌باشند

گلیکوپروتئین‌ها کونژوگه‌های کربوهیدرات-پروتئینی هستند که در آنها بخشهای کربوهیدراتی کوچکتر و از نظر ساختمانی متنوع‌تر از گلیکوزآمینوگلیکان‌های موجود در پروتئوگلیکان‌ها می‌باشند. این کربوهیدرات از طریق یک اتصال گلکیوزیدی بین کربن آنومری خود و گروه OH یک ریشه Ser یا Thr (اتصال-*O*) یا نیتروژن آمیدی یک ریشه Asn (اتصال-*N*) متصل می‌گردد (شکل ۲۵-۹). بعضی از گلیکوپروتئین‌ها دارای یک ریشه Asn بوده ولی بسیاری از آنها بیشتر از یک ریشه دارند؛ کربوهیدرات ممکن است ۱ تا ۷۰٪ یا حتی میزان بیشتری از گلیکوپروتئین را شامل

Book.Apfarsi.ir

گردد. ساختمان تعدادی از اولیگوساکاریدهای دارای اتصال $-O$ یا $-N$ در گلیکوپروتئین‌های مختلف شناسایی شده است؛ شکل ۲۵-۹ چند مورد شاخص را نشان می‌دهد.

همان‌طور که در فصل ۱۲ خواهیم دید، سطح خارجی غشاء پلاسمایی دارای گلیکوپروتئین‌های مختلفی است که خود صفوفی از اولیگوساکاریدها با اتصال کووالان و پیچیدگی مختلف می‌باشند. یکی از شناخته‌شده‌ترین گلیکوپروتئین‌های غشایی، گلیکوفورین A غشاء گلبول‌های قرمز می‌باشد (شکل ۱۰-۱۲). ۶۰٪ این گلیکوپروتئین را کربوهیدرات، به شکل ۱۶ زنجیر اولیگوساکاریدی (در کل شامل ۶۰ تا ۷۰ ریشه کربوهیدرات) تشکیل می‌دهد که به‌طور کووالان به ریشه‌های اسید آمینه موجود در نزدیکی انتهای آمینو زنجیر پلی‌پپتید اتصال یافته‌اند. از میان این زنجیرهای اولیگوساکاریدی، ۱۵ زنجیر از طریق اتصال $-O$ به ریشه‌های Ser یا Thr و یکی از طریق اتصال $-N$ به یک ریشه Asn اتصال دارد.

بسیاری از پروتئین‌هایی که توسط سلول‌های اوکاریوتی ترشح می‌گردند، از جمله اکثر پروتئین‌های خونی، گلیکوپروتئینی هستند. برای مثال، ایمونوگلبولین‌ها (آنتی‌بادی‌ها) و بعضی از هورمونها، نظیر هورمون محرک فولیکولی، هورمون تولیدکننده جسم زرد و هورمون محرک تیروئید، ساختمان گلیکوپروتئینی دارند. بسیاری از پروتئین‌های شیر، نظیر آلبومین شیر، و بعضی از پروتئین‌های ترشحی توسط پانکراس (مثل ریبونوکلئاز)، همانند اکثر پروتئین‌های موجود در لیزوزوم، حاوی کربوهیدرات می‌باشند.

مزایای بیولوژیک افزودن اولیگوساکاریدها به پروتئین‌ها به‌طور کامل مشخص نمی‌باشد. دسته‌های بسیار آبدوست کربوهیدراتی، قطبیت و حلالیت پروتئین‌هایی که به آن اتصال یافته‌اند را تغییر می‌دهند. زنجیرهای اولیگوساکاریدی که به پروتئین‌های تازه‌ساخته‌شده در دستگاه گلژی افزوده می‌شوند، ممکن است بر روی توالی حوادث خم‌شدن پلی‌پپتید که ساختمان سوم پروتئین را تعیین می‌کند، نیز اثر داشته باشند (شکل ۳۶-۲۷ را ببینید)؛ واکنش‌های متقابل فضایی بین پپتید و اولیگوساکارید ممکن است از یک روش خم‌شدن جلوگیری نموده و دیگری را مساعدت نماید. وقتی تعداد زیادی زنجیر اولیگوساکاریدی دارای بار منفی در ناحیه‌ای از پروتئین جمع می‌شود، دفع بار بین آنها، ایجاد یک ساختمان امتدادیافته میله‌ای شکل را در آن ناحیه مساعدت می‌کند. بزرگی و بار منفی زنجیرهای اولیگوساکاریدی نیز سبب حفاظت بعضی از پروتئین‌ها از حملات بعضی از آنزیم‌های پروتئولیتیک می‌گردد.

ماورای این اثرات فیزیکی کلی بر روی ساختمان پروتئین، زنجیرهای اولیگوساکاریدی موجود در گلیکوپروتئین‌ها دارای اثرات بیولوژیکی اختصاصی‌تری هستند. قبلاً تفاوت بین توالی‌های خطی غنی از اطلاعات را در مورد اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها و نظم یکنواخت هموپلی‌ساکاریدهایی نظیر سلولز را مورد بحث قرار دادیم (شکل ۲۳-۳ را ببینید). اولیگوساکاریدهای متصل به گلیکوپروتئین‌ها عموماً یکنواخت نبوده و به میزان زیادی غنی از اطلاعات ساختمانی هستند. زنجیرهای اولیگوساکاریدی موجود در شکل ۲۵-۹ را در نظر بگیرید که انواع شاخص موجود در بسیاری از گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند. پیچیده‌ترین نوع نشان‌داده‌شده، حاوی ۱۴ ریشه منوساکاریدی از ۴ نوع مختلف می‌باشد که بطورمتفاوت به صورت (۲ ← ۱)، (۳ ← ۱)، (۴ ← ۱)، (۶ ← ۱)، (۳ ← ۲) و (۶ ← ۲)، و بعضی با کونفیگوراسیون α و بعضی دیگر β متصل شده‌اند. تعداد تبدیلات و ترکیبات احتمالی انواع منوساکاریدها و اتصالات در یک اولیگوساکارید با این اندازه، نجومی می‌باشد. بنابراین هرکدام از این اولیگوساکاریدهای موجود در شکل ۲۵-۹ یک ویژگی بی‌همتا دارند و آن قابلیت شناسایی توسط آنزیم‌ها یا

Book.Apfarsi.ir

گیرنده‌هایی است که با آن واکنش متقابل دارند. مواردی شناخته شده است که در آنها پروتئین تولیدی در دو بافت، از نظر الگوهای گلیکوزیلاسیون با یکدیگر اختلاف داشته‌اند. برای مثال، پروتئین اینترفرون انسانی IFN-β1 تولیدی در سلول‌های تخمدان دارای زنجیرهای اولیگوساکاریدی است که با انواع موجود در همان پروتئین تولیدی در سلول‌های اپی‌تلیال پستان متفاوت است. اهمیت بیولوژیک این **گلیکوفورم‌های بافتی** ناشناخته بوده ولی زنجیرهای اولیگوساکاریدی به طریقی یک علامت ویژگی بافتی را نشان می‌دهند.

گلیکولیپیدها و لیپوپلی‌ساکاریدها اجزاء غشایی هستند

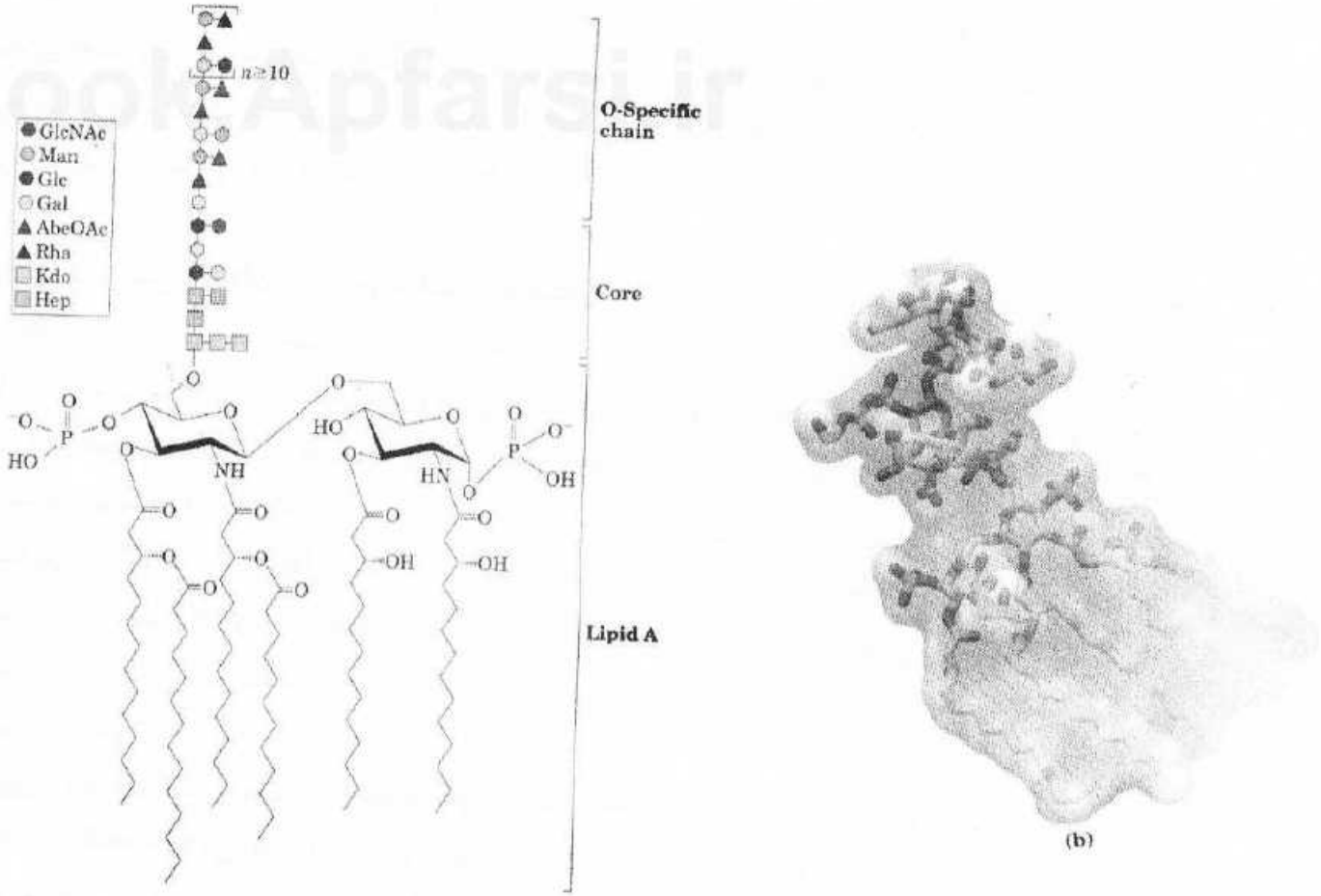
گلیکوپروتئین‌ها تنها اجزاء سلولی نمی‌باشند که زنجیرهای مرکب اولیگوساکاریدی را دارند؛ بعضی از لیپیدها نیز دارای اولیگوساکاریدهایی با اتصال کووالان می‌باشند. **گانگلیوزیدها** لیپیدهای غشایی سلول‌های اوکاریوتی هستند که در آنها گروه سر قطبی (قسمتی از لیپید که سطح خارجی غشاء را می‌سازد) را اولیگوساکارید مرکبی حاوی اسید سیالیک (شکل ۹-۹) و سایر ریشه‌های منوساکاریدی تشکیل می‌دهند. بعضی از بخشهای اولیگوساکاریدی گانگلیوزیدها، مثل انواعی که گروه‌های خونی را تعیین می‌نمایند (شکل ۱۲-۱۱ را ببینید)، مشابه انواع موجود در بعضی گلیکوپروتئین‌ها بوده و بنابراین در تعیین نوع گروه خونی نیز نقش دارند. همانند بخشهای اولیگوساکاریدی موجود در گلیکوپروتئین‌ها، این لیپیدهای غشایی عموماً، شاید همیشه، در سطح خارجی غشاء پلاسمایی یافت می‌شوند.

لیپوپلی‌ساکاریدها قسمت سطحی غالب موجود در غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی نظیر *E. coli* و *Salmonella typhimurium* می‌باشند. این ترکیبات اهداف آغازکننده تولید آنتی‌بادی‌ها توسط سیستم ایمنی مهره‌داران در پاسخ به عفونت باکتریایی بوده و بنابراین شاخص‌های مهمی در تعیین سروتیپ سوش‌های باکتریایی می‌باشند (سروتیپ‌ها سوش‌هایی هستند که براساس ویژگی‌های آنتی‌ژنیکی تشخیص داده می‌شوند). لیپوپلی‌ساکاریدهای *S.typhimurium* دارای شش اسید چرب متصل به دو ریشه گلوکزآمین می‌باشند که یکی از آنها محل اتصال یک کمپلکس اولیگوساکاریدی است (شکل ۲۶-۹). *E. coli* دارای لیپوساکاریدهای مشابه، ولی بی‌همتایی است. لیپوپلی‌ساکاریدهای بعضی از باکتری‌ها برای انسان و سایر حیوانات سمی بوده و برای مثال، این سموم مسئول کاهش خطرناک فشار خونی هستند که در سندروم شوک سمی حاصل از عفونت باکتری‌های گرم منفی دیده می‌شود.

واکنش‌های متقابل اولیگوساکارید-لکتین بسیاری از فرایندهای بیولوژیک را وساطت می‌نمایند

لکتین‌ها که در تمامی موجودات وجود دارند، پروتئین‌هایی هستند که تمایل و ویژگی بالایی برای اتصال به کربوهیدرات‌ها دارند. بعضی از عوامل ایجادکننده پیوندهای هیدروژنی موجود در موقعیتهای حیاتی دومن شناسایی کربوهیدراتی هر نوع پروتئین به اولیگوساکاریدهای اختصاصی اتصال می‌یابند و ازاینرو، لکتین‌ها بسادگی بین قندهای بسیار مشابه تمایز قائل می‌شوند (جدول ۳-۹). لکتین‌ها در انواع زیادی از فرایندهای شناسایی و چسبندگی سلول-سلول شرکت می‌نمایند. در اینجا به ذکر چند مثال از نقش لکتین‌ها در طبیعت پرداخته می‌شود. در آزمایشگاه، لکتین‌های خالص‌شده برای جستجو و جداسازی گلیکوپروتئین‌های دارای بخشهای اولیگوساکاریدی مختلف، به عنوان معرفهای مفید مورد استفاده قرار می‌گیرند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۶-۹. لیپوپلی‌ساکاریدهای باکتریایی. (a) شکل شماتیک لیپوپلی‌ساکارید غشاء خارجی *Salmonella typhimurium* Kdo عبارتست از ۳-داکسی-D-مانواکتانوئیک اسید که *ketodeoxyoctulosonic acid* نیز نامیده می‌شود. Hep عبارتست از L-گلیسرو-D-مانوهپتوز؛ AbeOAc عبارتست از abequose (یک ۶،۳-دی‌داکسی‌هگزوز) که بر روی یکی از هیدروکسیلهای خود استیله شده است. شش اسید چرب در قسمت لیپید A این ملکول وجود دارد. گونه‌های مختلف باکتریایی، تفاوتهای جزیی در ساختمان‌های لیپوپلی‌ساکاریدی دارند، ولی همگی آنها یک ناحیه لیپیدی (لیپید A)، یک اولیگوساکارید مرکزی و یک زنجیر «اختصاصی O» دارند که مورد اخیر شاخص اصلی سروتیپ (واکنش ایمونولوژیکی) باکتری است. غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی *S. typhimurim* و *E. coli* دارای ملکول‌های متعدد لیپوپلی‌ساکارید می‌باشند که تمامی سطح سلول را با زنجیرهای اختصای O می‌پوشاند. **(b)** مدل ملکولی فضاپرکن لیپوپلی‌ساکارید *E. coli*

ریشه‌های اسید سیالیک (Neu5Ac) موجود در انتهاهای زنجیرهای اولیگوساکاریدی بسیاری از گلیکوپروتئین‌های پلاسمایی (شکل ۲۵-۹)، پروتئین را در برابر برداشت و تخریب کبدی حفاظت می‌نماید. برای مثال، سرولوپلاسمین، یک گلیکوپروتئین انتقال‌دهنده مس، دارای زنجیرهای اولیگوساکاریدی متعددی است که به اسید سیالیک ختم می‌شوند. یکی از راههای نشاندارنمودن پروتئین‌های «مسن» برای تخریب و جایگزینی در بدن، برداشت ریشه‌های اسید سیالیک توسط آنزیم سیالیداز می‌باشد. غشاء پلاسمایی سلول‌های کبدی دارای ملکول‌های لکتینی (گیرنده‌های آسیالوگلیکوپروتئین؛ «آسیالو» به معنی «نداشتن اسید سیالیک») است که بطوراختصاصی به زنجیرهای اولیگوساکاریدی حاوی ریشه‌های گالاکتوز متصل می‌گردد که دیگر فاقد ریشه اسید سیالیک انتهایی برای «حفاظت» می‌باشند. واکنش متقابل گیرنده-سرولوپلاسمین، سبب آغاز آندوسیتوز و تخریب سرولوپلاسمین می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir

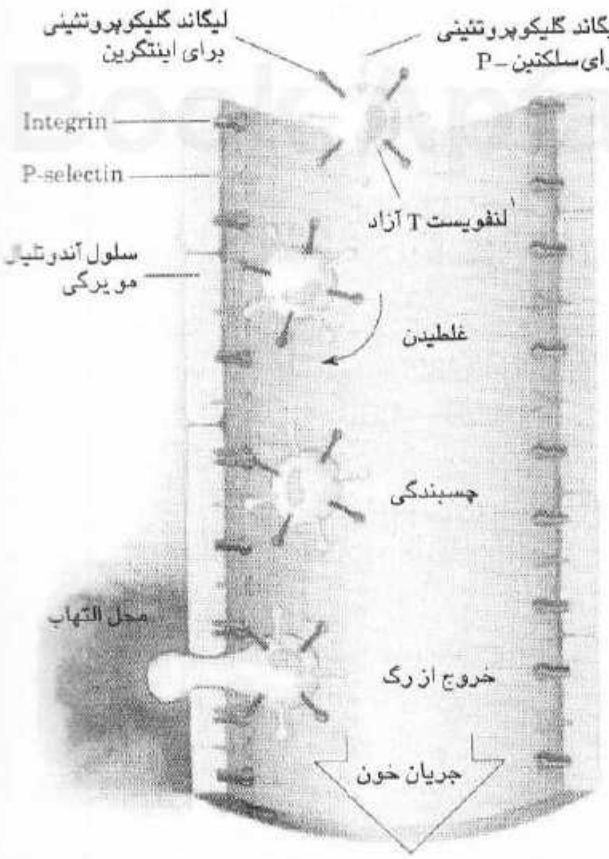
جدول ۳-۹. لکتین‌ها و لیگاندهای اولیگوساکاریدی که به آنها اتصال می‌یابند

Lectin family and lectin	Abbreviation	Ligand(s)
Plant		
Concanavalin A	ConA	Manα1—OCH_3
Griffonia simplicifolia lectin 4	GS4	Lewis b (Le^b) tetrasaccharide
Wheat germ agglutinin	WGA	Neu5Ac(α2→3)Gal(β1→4)Glc GlcNAc(β1→4)GlcNAc
Ricin		Gal(β1→4)Glc
Animal		
Galectin-1		Gal(β1→4)Glc
Mannose-binding protein A	MBP-A	High-mannose octasaccharide
Viral		
Influenza virus hemagglutinin	HA	Neu5Ac(α2→6)Gal(β1→4)Glc
Polyoma virus protein 1	VP1	Neu5Ac(α2→3)Gal(β1→4)Glc
Bacterial		
Enterotoxin	LT	Gal
Cholera toxin	CT	GM1 pentasaccharide

مکانیسم مشابهی مسئول برداشت گلبول‌های قرمز مسن از گردش خون پستانداران می‌باشد. گلبول‌های قرمز تازه سنتزشده دارای گلیکوپروتئین‌های غشایی متعدد حاوی زنجیرهای اولیگوساکاریدی هستند که به اسید سیالیک ختم می‌گردند. در صورتی که مقداری خون گرفته شده و در محیط آزمایشگاه با استفاده از سیالیداز ریشه‌های اسید سیالیک برداشت و مجدداً گلبول‌ها به گردش خون برگشت داده شوند، ظرف چند ساعت گلبول‌های قرمزی که به این طریق تغییر یافته‌اند، از گردش خون ناپدید شده، در حالی که گلبول‌های دارای اولیگوساکاریدهای دست‌نخورده (گلبول‌هایی که از گردش خون خارج ولی مجدداً بدون مجاورت با سیالیداز به گردش خون برگشته‌اند)، چندین روز در گردش خون باقی می‌مانند.

بعضی از هورمون‌های پپتیدی که در خون گردش می‌کنند، دارای بخشهای اولیگوساکاریدی هستند که اثر قوی بر روی عمر آنها در گردش خون دارند. هورمون تولیدکننده جسم زرد و تیروتروپین (در متن کتاب اصلی محل ترشح این هورمون‌ها به اشتباه آدرنال ذکر شده است! در حالی که این دو از هیپوفیز ترشح می‌شوند مترجم)، دارای اولیگوساکاریدهایی با اتصال-N هستند که به دی‌ساکارید $GalNAc4SO_3^-(\beta1\rightarrow4)GlcNAc$ ختم می‌شوند و این دی‌ساکارید توسط یک لکتین (گیرنده) سلول‌های کبدی شناسایی می‌گردد. ($GalNAc4SO_3^-$ عبارتست از N-استیل‌گالاکتوزآمینی که به روی OH- کربن ۴ سولفاته شده است.) واکنش متقابل گیرنده-هورمون، برداشت و تخریب هورمون تولیدکننده جسم زرد و تیروتروپین را وساطت نموده و غلظت آنها را در گردش خون کاهش می‌دهد. بنابراین مقادیر خونی این هورمونها همراه با یک افزایش دوره‌ای (به خاطر ترشح توسط غده) و بدنبال آن کاهش (بواسطه تخریب توسط سلول‌های کبدی) می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۷-۹. نقش واکنش‌های متقابل لکتین-لیگاند در حرکت لنفوسیت به سمت محل یک عفونت یا آسیب. با انجام واکنش‌های متقابل بین ملکول‌های سلکتین-P موجود در غشاءهای پلاسمایی سلول‌های آندوتلیال مویرگی و لیگاندهای گلیکوپروتئینی سلکتین-P موجود در سطح سلول T، سرعت گردش لنفوسیت T در مویرگ کاهش می‌یابد. وقتی این سلول با ملکول‌های متوالی سلکتین-P واکنش می‌نماید، سلول T در طول سطح مویرگ غلط می‌خورد. در محلی نزدیک به التهاب، واکنش‌های متقابل قویتر بین اینتگرین در سطح مویرگی و لیگاند آن در سطح سلول T منجر به چسبندگی محکم می‌گردد. سلول T غلطیدن را متوقف نموده و بواسطه پیام‌هایی که از محل التهاب صادر می‌گردد، از دیواره مویرگ عبور نموده و به سمت محل التهاب می‌رود.

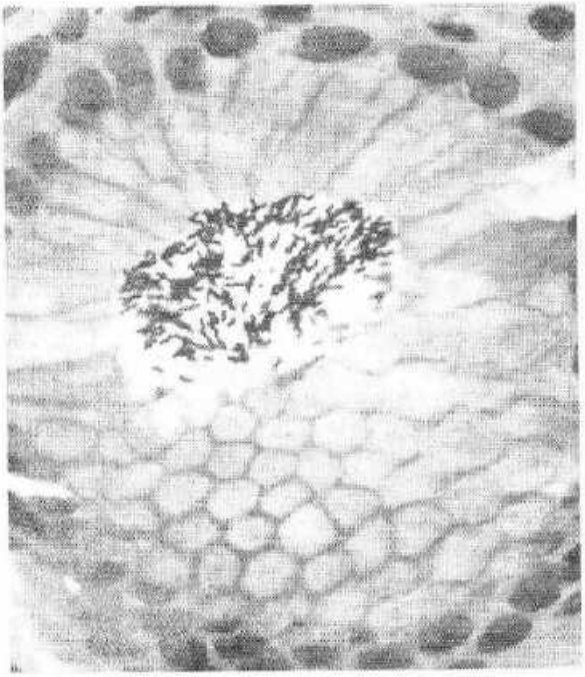
سلکتین‌ها خانواده‌ای از لکتین‌های موجود در غشاءهای پلاسمایی می‌باشند که شناسایی و چسبندگی سلول-سلول را در دامنه وسیعی از فرایندهای سلولی وساطت می‌نمایند. یکی از این فرایندها عبور سلول‌های ایمنی (لنفوسیت‌های T) از مابین دیواره مویرگی، از خون به بافت‌ها، و به محل‌های عفونت و التهاب می‌باشد (شکل ۲۷-۹). در محل یک عفونت،سلکتین-P موجود در سطح سلول‌های اپی‌تلیال مویرگی با یک اولیگوساکارید اختصاصی موجود در گلیکوپروتئین‌های لنفوسیتهای T در حال گردش، واکنش می‌نماید. این واکنش سرعت سلول‌های T را آهسته نموده و بعد از چسبیدن به این گیرنده‌ها، سلول‌های T در طول سلول‌های اپی‌تلیال مفروش‌کننده مویرگ می‌غلطند. به واسطه واکنش متقابل دوم، بین ملکول‌های اینتگرین موجود در غشاء پلاسمایی سلول T و پروتئین چسبان موجود در سطح سلول اپی‌تلیال، سلول T متوقف شده و امکان عبور سلول T از دیواره مویرگی و ورود آن به بافت‌های عفونت‌یافته برای شروع حمله ایمنی را فراهم می‌سازد.

بعضی از میکروب‌های بیماریزا دارای لکتین‌هایی هستند که چسبندگی باکتری به سلول‌های میزبان و یا ورود سم به داخل سلول‌ها را وساطت می‌نمایند. باکتری که معتقدند مسئول اکثر زخم‌های معده می‌باشد، یعنی *Helicobacter pylori*، از طریق واکنش متقابل بین لکتین‌های غشاء باکتری و اولیگوساکاریدهای اختصاصی گلیکوپروتئین‌های سلول‌های اپی‌تلیال معده، به سطح داخلی معده اتصال می‌یابد (شکل ۲۸-۹). از میان جایگاههای اتصالی که توسط *H. pylori* مورد شناسایی قرار می‌گیرد، اولیگوساکارید Le^b است که به عنوان قسمتی از شاخص گروه خونی نوع O می‌باشد. این مشاهده نشان می‌دهد که چرا بروز زخم معده در افراد دارای گروه خونی نوع O حدود هفت برابر بیش از افراد دارای گروه‌های خونی A یا B می‌باشد. آنالوگهای اولیگوساکارید Le^b که بطریق شیمیایی سنتز می‌گردند، ممکن است در درمان این نوع زخم مفید باشد. با تجویز خوراکی، این ترکیبات می‌توانند از طریق رقابت با گلیکوپروتئین‌های معده‌ای برای اتصال به لکتین باکتری، مانع اتصال باکتری (و بنابراین عفونت) گردند.

ملکول سم وبا (که توسط *Vibrio cholerae* تولید می‌گردد) بعد از ورود به داخل سلول‌های اپی‌تلیال روده که مسئول جذب آب از روده می‌باشند، سبب آغاز اسهال می‌گردد. این سم از طریق اولیگوساکارید گانگلیوزید GM1

Book.Apfarsi.ir

یک گلیکولیپید (به اشتباه در متن کتاب اصلی، فسفولیپید ذکر شده است! مترجم) غشایی (کادر ۲-۱۱، شکل ۱ را ببینید)، موجود در سطح سلول‌های اپی‌تلیال روده، به سلول هدف خود اتصال می‌یابد. به‌طور مشابه سم سیاه‌سرفه تولیدی توسط *Bordetela pertussis*، باکتری ایجادکننده سیاه‌سرفه، تنها بعد از واکنش با یک اولیگوساکارید (یا احتمالاً چندین اولیگوساکارید) دارای یک ریشه اسید سیالیک انتهایی، وارد سلول‌های هدف می‌گردد. شناخت جزئیات جایگاههای اتصالی اولیگوساکاریدی این سموم (لکتین‌ها) ممکن است منجر به تولید ترکیبات مشابه سمی، بطریق مهندسی ژنتیک، برای استفاده در واکسنها گردد. این ترکیبات مشابه سمی، به علت نداشتن جایگاه اتصالی کربوهیدرات، فاقد توانایی اتصال و ورود به داخل سلول بوده و ممکن است بی‌ضرر باشند ولی ممکن است پاسخ ایمنی را تحریک نموده و به این طریق سبب حفاظت گیرنده واکسن در صورت مجاورت با سم طبیعی گردند.



شکل ۲۸-۹. *Helicobacter pylori* متصل‌شده به سطح معده. این باکتری بواسطه انجام واکنش‌های متقابل بین یک لکتین موجود در سطح باکتری و اولیگوساکارید Le^b (یک آنتی‌ژن گروه خونی) اپی‌تلیوم معده، منجر به ایجاد زخمهای معده می‌گردد.

بسیاری از ویروس‌های انسانی، از جمله ویروس انفلوانزا، از طریق واکنش‌های متقابل با اویگوساکاریدهای موجود در سطح سلول میزبان، به این سلول‌ها دسترسی می‌یابند. لکتین ویروس انفلوانزا، پروتئین HA می‌باشد که در فصل ۱۲ شرح داده خواهد شد. این پروتئین HA برای ورود ویروس و ایجاد عفونت ضروری است. صفحات ۴۰۶-۴۰۵ و شکل ۱۲-۲۱a را ببینید).

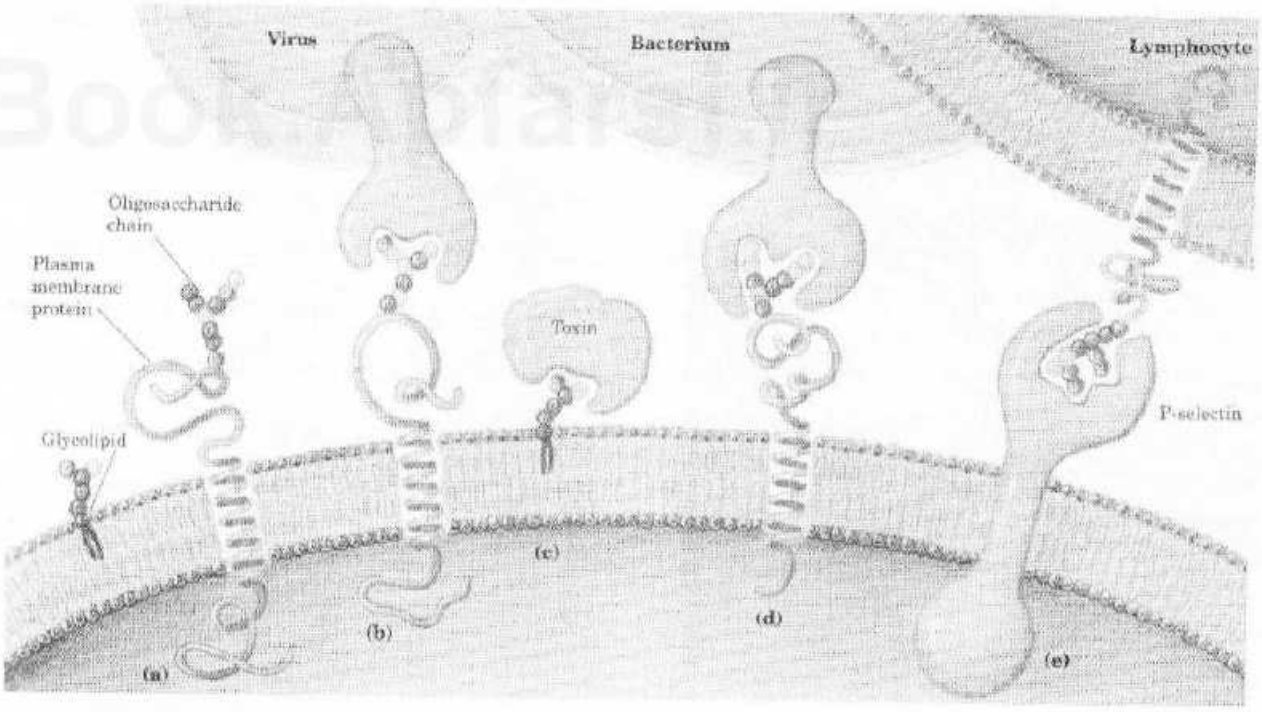
شکل ۲۹-۹ انواع واکنش‌های متقابل بیولوژیکی را خلاصه نموده است که توسط اتصال کربوهیدراتی وساطت می‌گردند.

آنالیز کربوهیدرات‌ها

تصدیق رو به افزایش اهمیت ساختمان اولیگوساکاریدها در شناسایی بیولوژیک، انگیزه قوی را برای ابداع روش‌هایی جهت بررسی ساختمان و شیمی‌فضایی اولیگوساکاریدهای مرکب ایجاد نموده است. برخلاف اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها، آزمایش اولیگوساکاریدها پیچیده می‌باشد، زیرا این ترکیبات به‌صورت منشعب هستند و یا توسط اتصالات مختلف به یکدیگر متصل شده‌اند. برای چنین بررسی، به‌طور کلی اولیگوساکاریدها از کونژوگه‌های پروتئینی و لیپیدی خود جدا شده و سپس برای مشخص‌نمودن موقعیت یا شیمی‌فضایی پیوند، در معرض تجزیه مرحله به مرحله قرار می‌گیرند. اسپکترومتری جرمی و اسپکتروسکوپی NMR نیز در تشخیص ساختمان اولیگوساکاریدی گرانبها بوده‌اند.

بخش‌های اولیگوساکاریدی گلیکوپروتئین‌ها یا گلیکولیپیدها را می‌توان توسط آنزیم‌های تخلیص‌شده آزاد نمود:

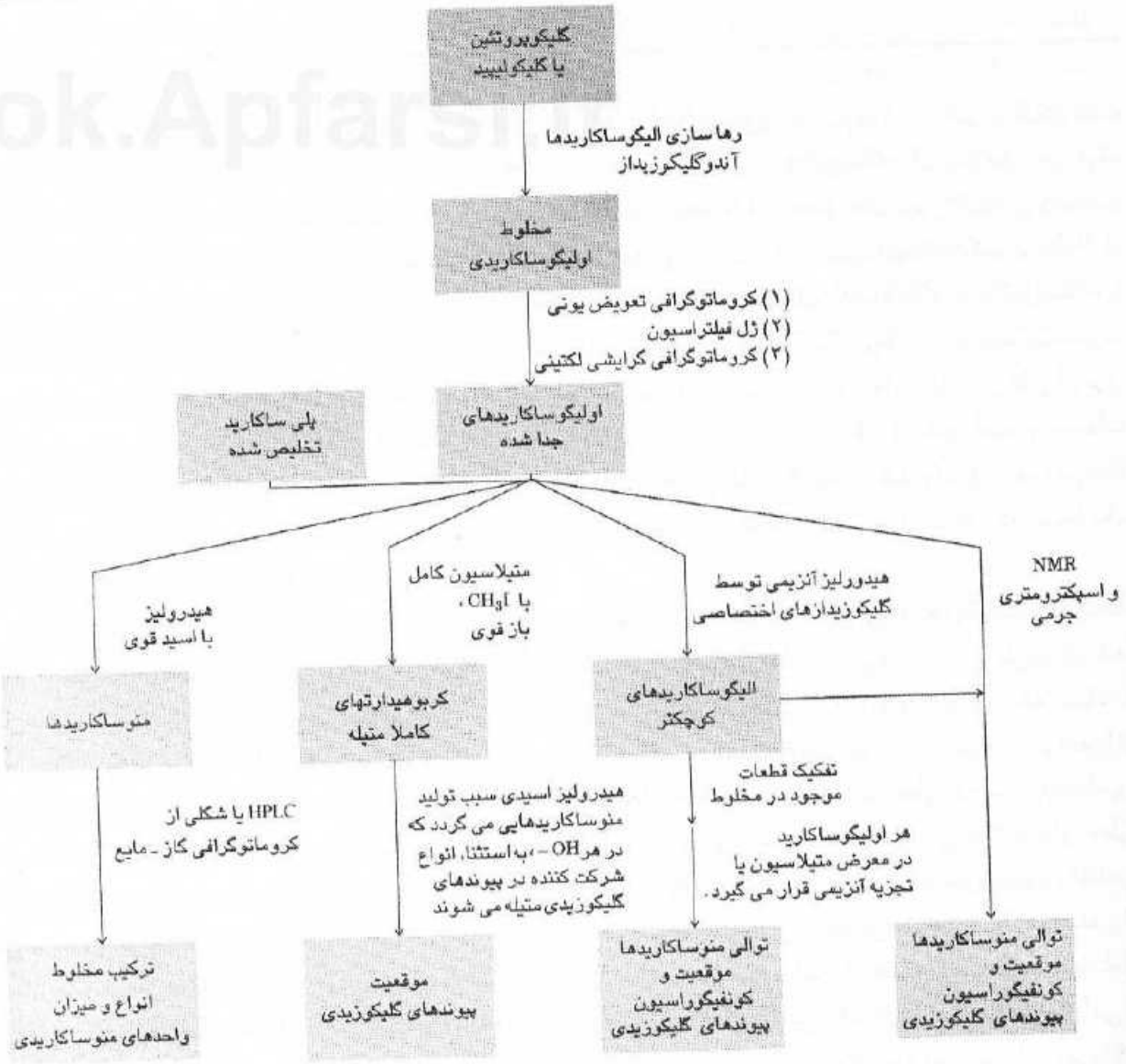
Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۹-۹. نقش اولیگوساکاریدها در شناسایی و چسبندگی به سطح سلول. (a) اولیگوساکاریدهای دارای ساختمان‌های بی‌همتا (نشان‌داده‌شده با رشته‌هایی از گوی)، به عنوان جزیی از گلیکوپروتئین‌ها یا گلیکولیپیدهای موجود در سطح غشاءهای پلاسمایی، با ویژگی و تمایل بالا با لکتین‌های موجود در محیط‌های خارج‌سلولی واکنش می‌نمایند. (b) ویروسهایی که سلول‌های حیوانی را عفونی می‌نمایند، نظیر ویروس انفلوانزا، در اولین مرحله عفونت به گلیکوپروتئین‌های موجود در سطح سلول اتصال می‌یابند. (c) سموم باکتریایی، نظیر سموم وبا و سیاه‌سرفه، قبل از ورود به داخل سلول، به یک گلیکولیپید سطحی اتصال می‌یابند. (d) بعضی از باکتری‌ها، نظیر *Helicobacter pylori* ابتدا به سلول‌ها اتصال یافته و سپس در محل تکثیر نموده و یا سلول‌های حیوانی را عفونی می‌نمایند. (e) لکتین‌هایی بنام سلکتین‌ها در غشاء پلاسمایی بعضی از سلول‌ها، بعضی واکنش‌های متقابل سلول-سلول، نظیر واکنش‌های متقابل بین لنفوسیتهای T و سلول‌های آندوتلیال دیواره مویرگی در محل یک عفونت، را وساطت می‌نمایند.

از جمله این آنزیم‌ها می‌توان به گلیکوزیدازها که بطور اختصاصی اتصالات *O*- و *N*- متصل‌کننده اولیگوساکاریدها را می‌شکنند و یا لیپازها که گروه‌های سر قطبی را برداشت می‌نمایند، اشاره نمود. با استفاده از همان فن‌آوریهای مورد استفاده در جداسازی پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه، شامل رسوب توسط حلال، کروماتوگرافی تعویض یونی و کروماتوگرافی فیلتراسیون ژلی (جداسازی بر اساس اندازه) (شکل ۱۸-۵ را ببینید)، مخلوط‌های کربوهیدراتی به اجزاء سازنده تفکیک می‌شوند (شکل ۳۰-۹). لکتین‌های دارای خلوص بالا که بطورکووالان به زمینه نامحلول متصل شده‌اند، معمولاً در کروماتوگرافی گرایشی کربوهیدرات‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (شکل ۱۸c-۵). با هیدرولیز اولیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها در اسید قوی، مخلوطی از منوساکاریدها تولید می‌گردد که بعد از تبدیل به مشتقات فرار مناسب، ممکن است توسط کروماتورافی گاز-مایع جداسازی و تعیین هویت شده (ص.۴۳۶) تا ترکیب کلی پلیمر مشخص گردد. برای پلیمرهای خطی نظیر آمیلوز، موقعیت پیوندهای گلیکوزیدی با مجاورت پلی‌ساکارید سالم با متیل یدید در محیط بازی قوی برای تبدیل تمامی گروه‌های هیدروکسیل آزاد به متیل اترهای مقاوم به اسید، تعیین می‌گردد. تنها گروه‌های هیدروکسیل آزادی که در مشتقات منوساکاریدی ایجاد می‌شوند آنهایی خواهند بود که در پیوندهای گلیکوزیدی شرکت کرده‌اند. برای تعیین توالی ریشه‌های منوساکاریدی، شامل انشعابات در صورت وجود، از اگزوگلیکوزیدازهای دارای ویژگی شناخته‌شده برای برداشت مرحله به مرحله ریشه‌های منوساکاریدی از انتها(ها)ی غیراحیاءکننده، استفاده می‌گردد. ویژگی این اگزوگلیکوزیدازها، اغلب استثناء

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۰-۹. روش‌های آزمایش کربوهیدرات‌ها. کربوهیدراتی که در اولین مرحله از آزمایش تخلیص می‌گردد، اغلب برای شناسایی کامل نیاز به تمامی چهار روش تجزیه‌ای دارد.

موقعیت و شیمی‌فضایی این اتصالات را ممکن می‌سازد.

آزمایش اولیگوساکاریدها وابستگی رو به افزایشی به اسپکترومتری جرمی و اسپکتروسکوپی NMR با تمایز بالا دارد. آنالیز NMR به تنهایی، بخصوص برای اولیگوساکاریدهای دارای اندازه متوسط، می‌تواند اطلاعاتی در مورد توالی، موقعیت اتصال و کونفیگوراسیون کربن آنومری فراهم آورد. پلی‌ساکاریدها و اولیگوساکاریدهای بزرگ را می‌توان در معرض آندوگلیکوزیدازها قرار داد تا با شکستن پیوندهای گلیکوزیدی اختصاصی داخلی، تولید اولیگوساکاریدهای کوچکتر متعددی گردد که قابل آزمایش هستند. برای تعیین معمولی ساختمان اولیگوساکاریدی، روش‌های اتوماتیک و کیتهای تجارتی وجود دارد، ولی تعیین توالی اولیگوساکاریدهای منشعب دارای بیش از یک نوع پیوند، در مقایسه با تعیین توالی‌های خطی پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک که منومرهای متصل‌شده توسط یک نوع پیوند می‌باشند، مشکل بزرگتری است.

Book.Apfarsi.ir

خلاصه

کربوهیدرات‌ها آلدئیدها یا کتون‌های پلی‌هیدروکسی هستند که غالباً به شکل حلقوی وجود دارند؛ این ترکیبات ممکن است به‌صورت منوساکاریدها (آلدوزها یا کتوزها)، اولیگوساکاریدها (با چندین واحد منوساکاریدی) و پلی‌ساکاریدها (ملکول‌های بزرگ خطی یا منشعب حاوی واحدهای متعدد منوساکاریدی) دیده شوند. منوساکاریدها دارای حداقل یک کربن نامتقارن هستند و بنابراین به اشکال ایزومر فضایی وجود دارند. معمولترین قندهای موجود در طبیعت، نظیر ریبوز، گلوکز، فروکتوز و مانوز، از سری D می‌باشند. قندهای ساده با تعداد چهار یا بیشتر کربن، ممکن است به شکل نیمه‌استالها یا نیمه‌کتالهای حلقوی بسته، یا به‌صورت فورانوز (حلقه پنج اتمی) یا به‌صورت پیرانوز (حلقه شش اتمی)، مشاهده گردند. فورانوزها و پیرانوزها به‌صورت آنومرهای α و β وجود دارند که می‌توانند طی فرایند موتوروتاسیون به یکدیگر تبدیل گردند. قندهایی که کربن‌های آنومری قابل اکسیداسیون آزاد دارند را قندهای احیاءکننده می‌نامند. مشتقات زیادی از قندهای ساده، نظیر قندهای آمینو و مشتقات استیله آنها، اسیدهای آلدونیک و اسیدهای اورونیک، در داخل سلول‌های زنده وجود دارند. گروه‌های هیدروکسیل منوساکاریدها می‌توانند همچنین ایجاد استرهای فسفات و سولفات نمایند. دی‌ساکاریدها از دو منوساکارید تشکیل شده‌اند که توسط یک پیوند گلیکوزیدی به یکدیگر متصل هستند.

پلی‌ساکاریدها (گلیکان‌ها) حاوی ریشه‌های متعدد منوساکاریدی هستند که با پیوند گلیکوزیدی به یکدیگر متصل شده‌اند. بعضی از پلی‌ساکاریدها (نشاسته و گلیکوژن) به عنوان اشکال ذخیره‌ای کربوهیدرات‌ها عمل می‌نمایند؛ این پلی‌ساکاریدها پلیمرهای منشعب با وزن ملکولی بالای گلوکز می‌باشند که در زنجیرهای اصلی اتصالات (α ۱ ← ۴) و در نقاط شاخه اتصالات (α ۱ ← ۶) دارند. سایر پلی‌ساکاریدها دارای نقش ساختمانی در دیواره سلولی و اسکلت خارجی می‌باشند. سلولز (در گیاهان) از واحدهای D-گلوکز با اتصالات (β ۱ ← ۴) تشکیل شده است؛ کیتین (اسکلت خارجی حشرات)، پلیمر خطی *N*-استیل‌گلوکزآمین با اتصالات (β ۱ ← ۴) می‌باشد. دیواره‌های سلول باکتری حاوی پپتیدوگلیکانها می‌باشند که خود شامل پلی‌ساکاریدهای خطی متشکل از ریشه‌های یک در میان *N*-استیل‌موارامیک اسید و *N*-استیل‌گلوکزآمین بوده که توسط زنجیرهای پپتیدی کوتاهی بطورعرضی به یکدیگر متصل شده‌اند. ماتریکس خارج‌سلولی احاطه‌کننده بافت‌های حیوانی، حاوی انواع مختلفی از گلیکوزآمینوگلیکان‌ها می‌باشند که پلیمرهای خطی یک درمیان واحدهای قند آمینو و اسید اورونیک هستند. اینها شامل هیالورونات، پلیمری با وزن ملکولی بالا از ریشه‌های یک در میان *N*-استیل-D-گلوکزآمین و D-گلوکورونیک اسید، و انواعی از هتروپلی‌ساکاریدهای کوتاهتر، سولفاته و بسیار اسیدی، نظیر هپاران سولفات، کندروایتین سولفات، کراتان سولفات و درماتان سولفات، می‌باشند.

بسیاری از اولیگوساکاریدها موجود در سلول به‌صورت گلیکوکونژوگه (ملکول‌های هیبریدی که در آن بخش کربوهیدراتی بطورکووالان به یک پروتئین یا لیپید اتصال دارد) دیده می‌شوند. پروتئوگلیکان‌ها، پروتئین‌هایی (نظیر پروتئین‌های مرکزی سیندکان و اگرکان) هستند که به آنها یک یا چند زنجیر گلیکوزآمینوگلیکان بطورکووالان متصل بوده و عموماً در سطح خارجی سلول‌ها و یا در ماتریکس خارج‌سلولی یافت می‌شوند. در بیشتر بافت‌ها، ماتریکس خارج‌سلولی حاوی انواع مختلفی از پروتئوگلیکان‌ها و پروتئین‌های چسبنده (نظیر فیبرونکتین)، و همچنین تجمعات بزرگ پروتئوگلیکانی است؛ مورد اخیر متشکل از پروتئوگلیکان‌های متعددی است که بطورغیرکووالان به یک ملکول بزرگ اسید هیالورونیک متصل می‌باشند.

گلیکوپروتئین‌ها دارای اولیگوساکاریدهایی با اتصالات کووالان هستند که در مقایسه با گلیکوزآمینوگلیکان‌ها، کوچکتر و از نظر ساختمانی پیچیده‌تر بوده و بنابراین حاوی اطلاعات بیشتری هستند. بسیاری از پروتئین‌های سطح سلولی و خارج‌سلولی، و همچنین بسیاری از پروتئین‌های ترشحی، از انواع گلیکوپروتئین‌ها می‌باشند. قسمت‌های کربوهیدراتی این ملکول‌ها به عنوان نشانه‌های بیولوژیک عمل نموده که توسط لکتین‌ها (پروتئین‌هایی که به‌طور انتخابی و با تمایل بالا به زنجیرهای اولیگوساکاریدی اتصال می‌یابند) «خوانده» می‌شوند. واکنش‌های متقابل بین لکتین‌ها و اولیگوساکاریدهای اختصاصی، نقش مرکزی را در شناسایی و چسبندگی سلول-سلول دارند. در مهره‌داران، دم‌های اولیگوساکاریدی سرعت تخریب بعضی از هورمون‌های پپتیدی، پروتئین‌های موجود در گردش خون و سلول‌های خونی را تعیین می‌نمایند. سلکتین‌ها عبارتند از لکتین‌های غشاء پلاسمایی که به زنجیرهای کربوهیدراتی موجود در ماتریکس خارج‌سلولی یا در سطوح سلول‌های دیگر اتصال

Book.Apfarsi.ir

یافته و به موجب آن جریانی از اطلاعات را بین سلول و ماتریکس و یا بین سلول‌ها وساطت می‌نمایند. چسبندگی عوامل بیماریزا باکتریایی و ویروسی (از جمله *Helicobacter* سموم وبا و سیاه سرفه و ویروس انفلوانزا) به اهداف سلولی خود از طریق اتصال لکتین‌های موجود در این عوامل بیماریزا به اولیگوساکاریدهای موجود در سطح سلول هدف، صورت می‌پذیرد.

ساختمان اولیگوساکاریدها و پلی‌ساکاریدها بوسیله ترکیبی از روش‌ها مورد بررسی قرار می‌گیرد: هیدرولیز آنزیمی برای تعیین شیمی فضایی و تولید قطعات کوچکتر برای تجزیه بیشتر؛ آزمایش متیلاسیون برای تعیین موقعیت پیوندهای گلیکوزیدی؛ اسپکترومتری جرمی، تخریب مرحله به مرحله و اسپکتروسکوپی NMR برای تعیین توالی‌ها؛ و اسپکتروسکوپی NMR با قدرت تفکیک بالا برای تعیین کونفیگوراسیون‌های موجود در محل کربن‌های آنومری.

Book.Apfarsi.ir

۱۰ نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک

نوکلئوتیدها اعمال متعددی را در متابولیسم سلولی انجام می‌دهند. این ملکول‌ها به عنوان شکل رایج انرژی در بین واکنش‌های مختلف متابولیکی بوده؛ به عنوان رابط‌های شیمیایی ضروری در پاسخ سلول‌ها به هورمون‌ها و سایر محرک‌های خارج سلولی عمل نموده؛ در ساختمان کوفکتورهای آنزیمی و ترکیبات واسط متابولیک شرکت کرده؛ و بالاخره، به عنوان اجزاء سازنده اسیدهای نوکلئیک، شامل اسید داکسی‌ریبونوکلئیک (DNA) و اسید ریبونوکلئیک (RNA)، عمل نموده که خود مخازن ملکولی اطلاعات ژنتیکی هستند. ساختمان هر پروتئین و نهایتاً هر بیوملکول و جزء سلولی، محصولی از اطلاعات موجود در توالی نوکلئوتیدی اسیدهای نوکلئیک سلول می‌باشد. توانایی ذخیره و انتقال اطلاعات ژنتیکی از نسلی به نسل بعدی، شرط اساسی زندگی است.

در این فصل مروری بر ماهیت شیمیایی نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک موجود در اکثر سلول‌ها شده و جزئیات بیشتر عمل اسیدهای نوکلئیک در قسمت چهارم این کتاب درسی بررسی می‌شود.

چند اصل

توالی آمینو اسیدی هر پروتئین موجود در سلول و توالی نوکلئوتیدی هر ملکول RNA، توسط توالی نوکلئوتیدی موجود در DNA سلول تعیین می‌گردد. قطعه‌ای از ملکول DNA، حاوی اطلاعات لازم جهت سنتز یک محصول بیولوژیک وظیفه‌دار[1]، نظیر پروتئین یا RNA، را **ژن** گویند. تعجب‌آور نخواهد بود که سلول شاخصی با هزاران ژن، دارای ملکول‌های بسیار بزرگ باشد. ذخیره و انتقال اطلاعات ژنتیکی، تنها اعمال شناخته‌شده DNA هستند.

ملکول‌های RNA اعمال بیشتری را انجام داده و کلاس‌های مختلفی از آنها در داخل سلول یافت می‌شود. ملکول‌های **RNA ریبوزومی** (rRNA) در ساختمان ریبوزوم‌ها شرکت نموده که خود محل سنتز پروتئین‌ها می‌باشند. ملکول‌های **RNA پیک** (mRNA) به عنوان ترکیبات واسط، مسئول انتقال اطلاعات ژنتیکی از یک یا چند ژن به یک ریبوزوم بوده تا در آنجا پروتئین‌های مربوطه را سنتز نماید. ملکول‌های **RNA ناقل** (tRNA)، ملکول‌های تطبیق‌کننده باوفایی هستند که اطلاعات موجود در mRNA را به توالی اختصاصی از اسیدهای آمینه ترجمه می‌نمایند. علاوه بر این کلاس‌های اصلی، انواع وسیعی از ملکول‌های دیگر RNA وجود دارد که در قسمت چهارم بیشتر مورد بحث قرار می‌گیرند.

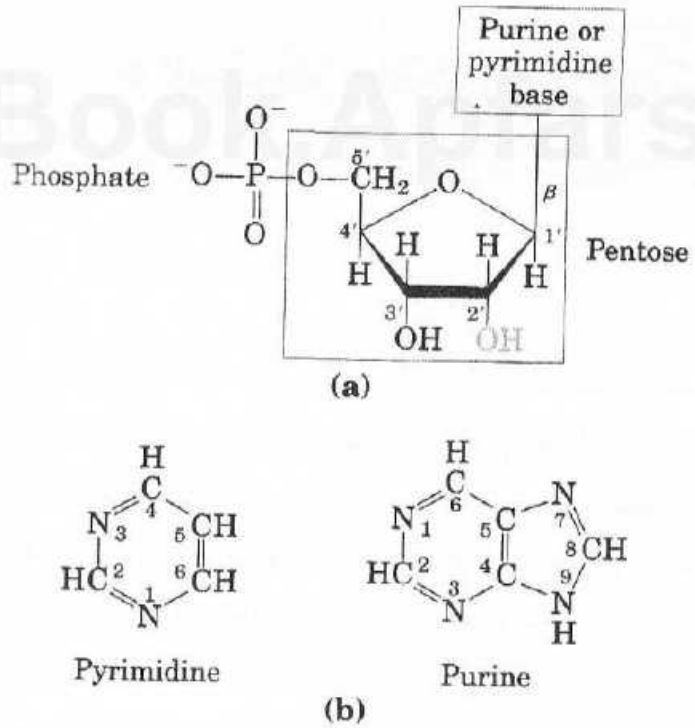
نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک دارای بازها و پنتوزهای خاصی هستند

نوکلئوتیدها از سه جزء ساختمانی اصلی تشکیل شده‌اند: (۱) یک باز نیتروژنی (حاوی نیتروژن)، (۲) یک پنتوز، و (۳) یک فسفات (شکل ۱-۱۰). ملکول فاقد گروه فسفات را یک **نوکلئوزید** گویند. بازهای نیتروژنی موجود در

1- fuctional

Book.Apfarsi.ir

نوکلئوتیدها، از دو ترکیب مادر، بنام‌های **پیریمیدین** و **پورین**، مشتق می‌شوند. بازها و پنتوزهای موجود درنوکلئوزیدهای معمول، ترکیبات هتروسیکلیکی[1] هستند که در حلقه آنها علاوه بر اتم کربن، اتم دیگری (در اینجا نیتروژن) نیز وجود دارد. برای سادگی در نامگذاری و شناسایی ترکیبات متعدد مشتق‌شده از بازهای مادر پیریمیدینی و پورینی، اتم‌های کربن و نیتروژن آنها شماره‌گذاری می‌گردد. قاعده شماره‌گذاری حلقه پنتوز در فصل ۹ اشاره گردید، ولی به شماره اتم‌های کربن پنتوزهای موجود در نوکلئوتیدها و نوکلئوزیدها یک پریم (′) داده می‌شود تا از شماره اتم‌های موجود در بازهای نیتروژنی متمایز گردند.



شکل ۱-۱۰. ساختمان نوکلئوتیدها. (a) ساختمان عمومی که نحوه متداول شماره‌گذاری حلقه پنتوز را نشان می‌دهد. این یک ریبونوکلئوتید است. در داکسی‌ریبونوکلئوتیدها، H- جایگزین گروه OH- کربن ′۲ می‌شود. **(b)** ترکیبات مادر بازهای پیریمیدینی و پورینی نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک با شماره‌گذاری متداول.

باز هر نوکلئوتید توسط یک پیوند $N-\beta-$ گلیکوزیل (از نیتروژن ۱ پیریمیدین‌ها و نیتروژن ۹ پورین‌ها) به کربن ′۱ و گروه فسفات آن توسط یک پیوند استری به کربن ′۵ ریبوز متصل می‌گردد. همانند تشکیل پیوند $O-$گلیکوزیدی (رجوع به شکل ۲۵-۹)، پیوند $N-\beta-$ گلیکوزیل با برداشت یک ملکول آب (گروه هیدروکسیل از پنتوز و هیدروژن از باز) تشکیل می‌گردد.

هر دو ملکول DNA و RNA، دارای دو باز پورینی اصلی، شامل **آدنین**(A) و **گوانین** (G)، و همچنین دو باز اصلی پیریمیدینی هستند. در هر دو این ملکول‌ها، یکی از بازهای پیریمیدینی **سیتوزین** (C) بوده ولی دومین باز پیریمیدینی اصلی موجود در DNA و RNA را به ترتیب **تیمین** (T) و **اوراسیل** (U) تشکیل می‌دهند. تنها در موارد نادر ممکن است تیمین در RNA و اوراسیل در DNA دیده شود. ساختمان پنج باز اصلی در شکل ۲-۱۰ نشان داده شده و علائم و اختصارات مربوط به نوکلئوتیدها و نوکلئوزیدهای آنها در جدول ۱-۱۰ فهرست شده است.

در ساختمان اسیدهای نوکلئیک دو نوع پنتوز وجود دارد. واحدهای تکراری داکسی‌نوکلئوتیدی موجود در DNA حاوی ′۲- داکسی-D-ریبوز بوده، در حالی که واحدهای ریبونوکلئوتیدی RNA محتوی D-ریبوز می‌باشند. در نوکلئوتیدها، هر دو پنتوز، به شکل $\beta-$ فورانوزی (حلقه پنج اتمی بسته) وجود دارند. همانطور که در شکل ۳-۱۰ ملاحظه می‌گردد، حلقه پنتوز مسطح نبوده ولی به یکی از انواع کونفورماسیون‌هایی مشاهده می‌شود که اغلب به‌صورت **چروکیده**[2] بیان می‌گردند.

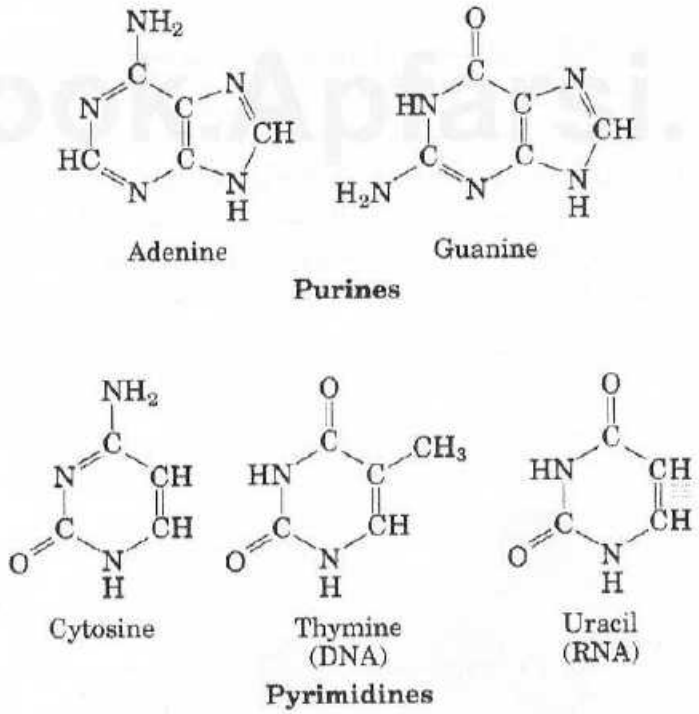
ساختمان‌ها و نام‌های چهار **داکسی‌ریبونوکلئوتید** (داکسی‌ریبونوکلئوزید ′۵- فسفات)، واحدهای ساختمانی ملکول‌های DNA، و چهار **ریبونوکلئوتید** (ریبونوکلئوزید ′۵- فسفات)، واحدهای ساختمانی ملکول‌های RNA، در شکل ۴-۱۰ نشان داده شده است. توالی‌های بلند و اختصاصی نوکلئوتیدهای A، T، G و C در DNA، محزن

1- Heterocyclic 2- Puckered

Book.Apfarsi.ir

اطلاعات ژنتیکی می‌باشند.

هرچند نوکلئوتیدهای حاوی بازهای پورینی و پیریمیدینی اصلی، معمول‌تر می‌باشند، ممکن است در هر دو ملکول DNA و RNA، چند باز فرعی نیز وجود داشته باشد (شکل ۵-۱۰). در DNA، این بازها اغلب شامل اشکال متیله بازهای اصلی بوده و در بعضی ملکول‌های DNA ویروسی ممکن است تعدادی از این بازها به شکل هیدروکسی‌متیله یا گلوکزیله دیده شوند. بازهای تغییریافته و یا غیرمعمول موجود در ملکول‌های DNA، اغلب در تنظیم و یا حفاظت از اطلاعات ژنتیکی نقش دارند. انواع مختلفی از بازهای فرعی نیز در ملکول‌های RNA، بخصوص در tRNA، یافت می‌شود.



شکل ۲-۱۰. بازهای پورینی و پیریمیدینی اصلی اسیدهای نوکلئیک. بعضی از نام‌های معمول این بازها براساس نحوه کشف آنها می‌باشد. برای مثال، اولین بار گوانین از guano (کود پرنده) و تیمین از بافت تیموس جدا شدند.

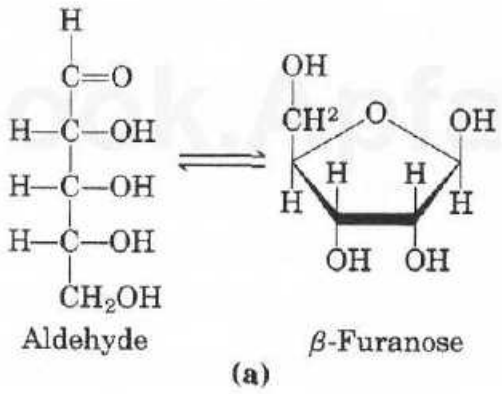
علائم و اصطلاحات مربوط به بازهای فرعی ممکن است گیج‌کننده باشد. همانند بازهای اصلی، بسیاری از این بازها دارای نام‌های متداول می‌باشند. ازجمله این بازها می‌توان به هیپوگزانتین و اینوزین در نوکلئوزیدهای مربوط به آنها در شکل ۵-۱۰ اشاره نمود. وقتی یک اتم در حلقه پورینی و یا پیریمیدینی

جدول ۱-۱۰. اصطلاحات نوکلئوتیدی و اسید نوکلئیکی

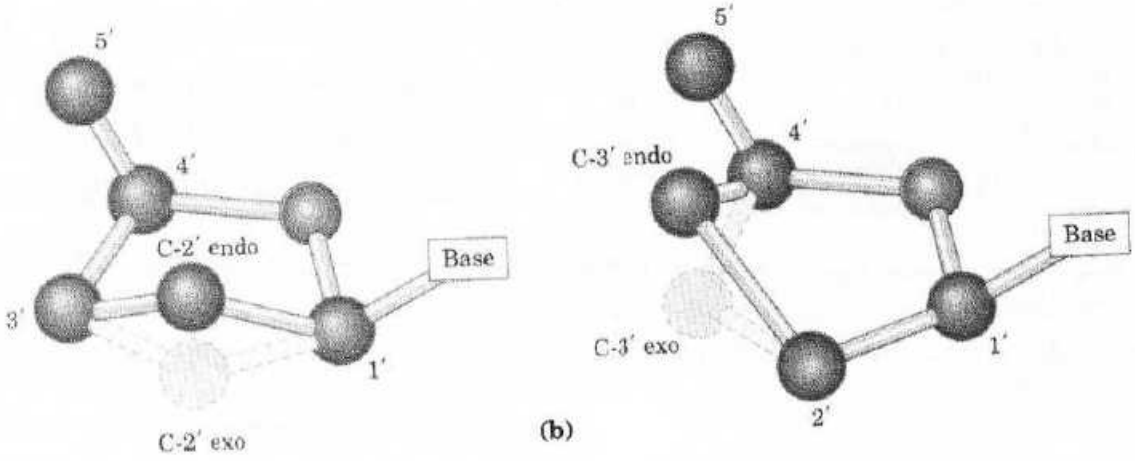
باز	نوکلئوزید*	نوکلئوتید*	اسید نوکلئیک
پورین‌ها			
آدنین	آدنوزین	آدنیلات	RNA
	داکسی‌آدنوزین	داکسی‌آدنیلات	DNA
گوانین	گوانوزین	گوانیلات	RNA
	داکسی‌گوانوزین	داکسی‌گوانیلات	DNA
پیریمیدین‌ها			
سیتوزین	سیتیدین	سیتیدیلات	RNA
	داکسی‌سیتیدین	داکسی‌سیتیدیلات	DNA
تیمین	تیمیدین یا	تیمیدیلات یا	DNA
	داکسی‌تیمیدین	داکسی‌تیمیدیلات	
اوراسیل	اوریدین	اوریدیلات	RNA

* نوکلئوزید و نوکلئوتید هر دو اصطلاحاتی هستند که هر دو شکل ریبو- و داکسی‌ریبو- را دربر می‌گیرند. توجه داشته باشید که در اینجا ریبونوکلئوزیدها و ریبونوکلئوتیدها به شکل ساده نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها(برای مثال، ریبوآدنوزین به صورت آدنوزین) و داکسی‌ریبونوکلئوزیدها و داکسی‌ریبونوکلئوتیدها به شکل ساده داکسی‌نوکلئوزیدها یا داکسی‌نوکلئوتیدها(برای مثال، داکسی‌ریبوآدنوزین به صورت داکسی‌آدنوزین) نشان داده شده‌اند. هر دو شکل نامگذاری قابل‌قبول بوده، ولی اسامی خلاصه بیشتر بکار می‌روند. از این نظر، تیمین یک استثناء می‌باشد؛ نام ریبوتیمیدین برای مشخص‌نمودن وجود غیرمعمول آن در RNA بکار می‌رود.

Book Anfarsi.ir



شکل ۳-۱۰. کونفورماسیون‌های ریبوز. (a) در محلول، اشکال زنجیری (آلدئیدی) و حلقه‌ای (β-فورانوز) ریبوز آزاد در حال تعادل هستند. RNA تنها حاوی شکل حلقه‌ای β-D- ریبوفورانوزی است. داکسی‌ریبوز نیز در داخل محلول دارای چنین تبدیلاتی است ولی در DNA تنها به شکل β-۲′-داکسی -D- ریبوفورانوزی است. **(b)** ریبوفورانوز موجود در نوکلئوتیدها می‌تواند به چهار کونفورماسیون چروکیده دیده شود. در تمامی موارد، چهار اتم از پنج اتم در یک صفحه قرار دارند. پنجمین اتم (C-2′ و C-3′)، در مقایسه با اتم C-5′، ممکن است در همان سمت (آندو) یا در سمت مخالف (اگزو) صفحه قرار گیرد.



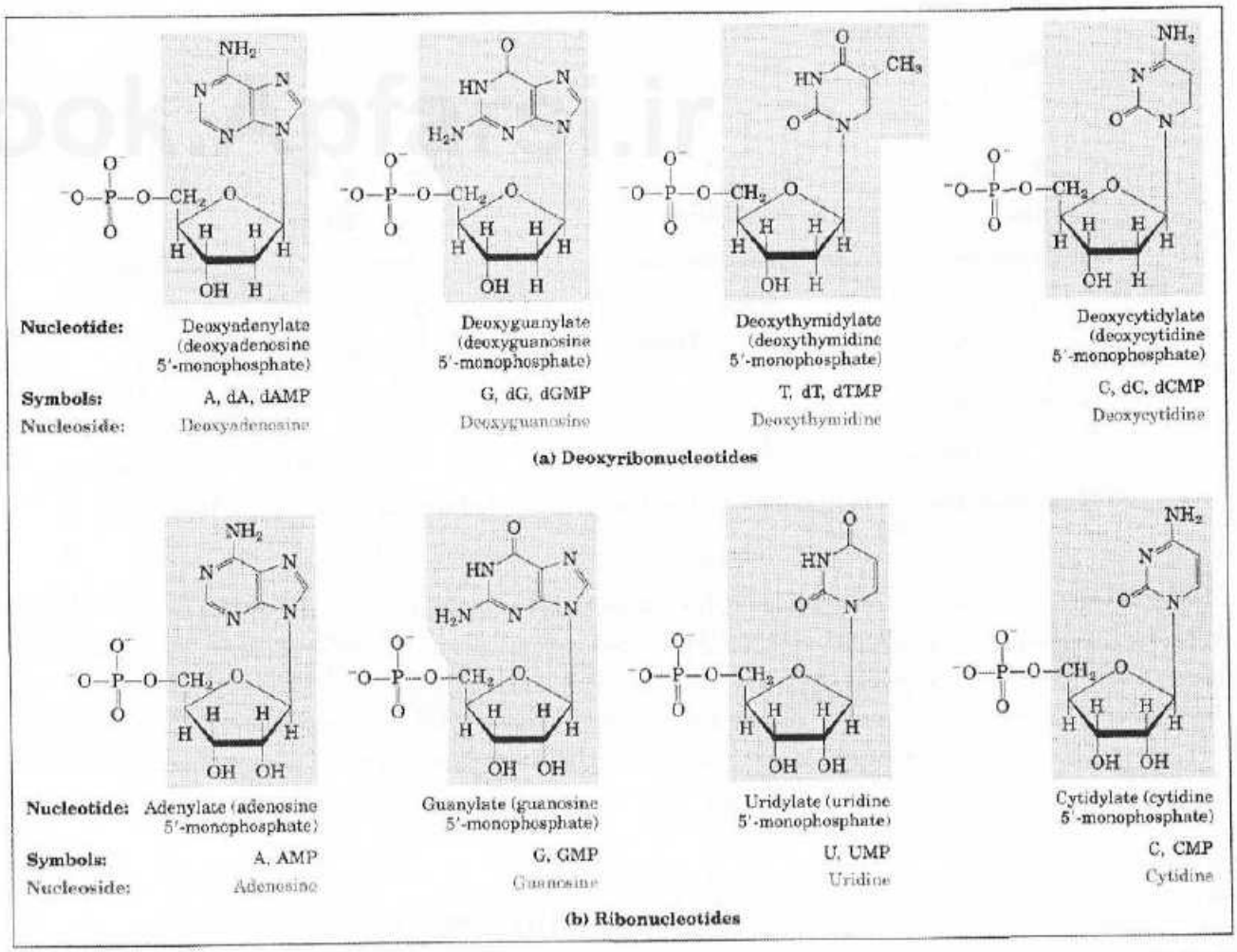
استخلاف می‌گردد، قاعده معمول (مورد استفاده در اینجا) این است که به‌طور ساده محل استخلاف با شماره آن مشخص گردد، مثل ۵- متیل‌سیتوزین، ۷- متیل‌گوانین و ۵- هیدروکسی‌متیل‌سیتوزین که در شکل ۵-۱۰ به‌صورت نوکلئوزید نمایش داده شده‌اند. اتمی که استخلاف به آن متصل شده است (نیتروژن، کربن و غیره) مشخص نمی‌شود. وقتی اتم استخلافی در خارج ساختمان حلقه قرار دارد، این قاعده به شکلی تغییر می‌نماید که در آن نوع اتم نوشته شده و شماره موقعیتی از حلقه که به آن اتم مورد نظر متصل شده است، به شکل اندیس بالا مشخص می‌گردد. به‌طوری که نیتروژن آمین متصل به C6 آدنین به‌صورت N^6 نمایش داده شده و به‌طور مشابه اکسیژن کربنیل و نیتروژن آمینو موجود بر روی C6 و C2 گوانین، به ترتیب به‌صورت O^6 و N^2 مشخص می‌گردند. N^6- متیل‌آدنوزین و N^2- متیل‌گوانوزین (شکل ۵-۱۰)، مثال‌هایی از این نوع نامگذاری‌ها می‌باشند.

در داخل سلول‌ها همچنین ممکن است نوکلئوتیدهایی دیده شوند که گروه‌های فسفات آنها در موقعیت‌هایی غیر از کربن ۵′ قرار داشته باشد (شکل ۶-۱۰). **منوفسفات‌های ۲′- ۳′-حلقوی ریبونوکلئوزیدی** ترکیبات واسط قابل جداسازی هستند و **منوفسفات‌های ۳′-ریبونوکلئوزیدی** محصولات انتهایی هیدرولیز RNA توسط بعضی از ریبونوکلئازها می‌باشند. سایر انواع شامل آدنوزین منوفسفات ۳′- ۵′- حلقوی (cAMP) و گوانوزین منوفسفات ۳′ - ۵′- حلقوی (cGMP) بوده که در پایان این فصل اشاره می‌شوند.

پیوندهای فسفودی‌استری سبب اتصال نوکلئوتیدهای متوالی در اسیدهای نوکلئیک می‌شوند

نوکلئوتیدهای متوالی موجود در هر دو ملکول DNA و RNA، به‌طور کووالان توسط پل‌های فسفاتی به

Book.Apfarsi.ir



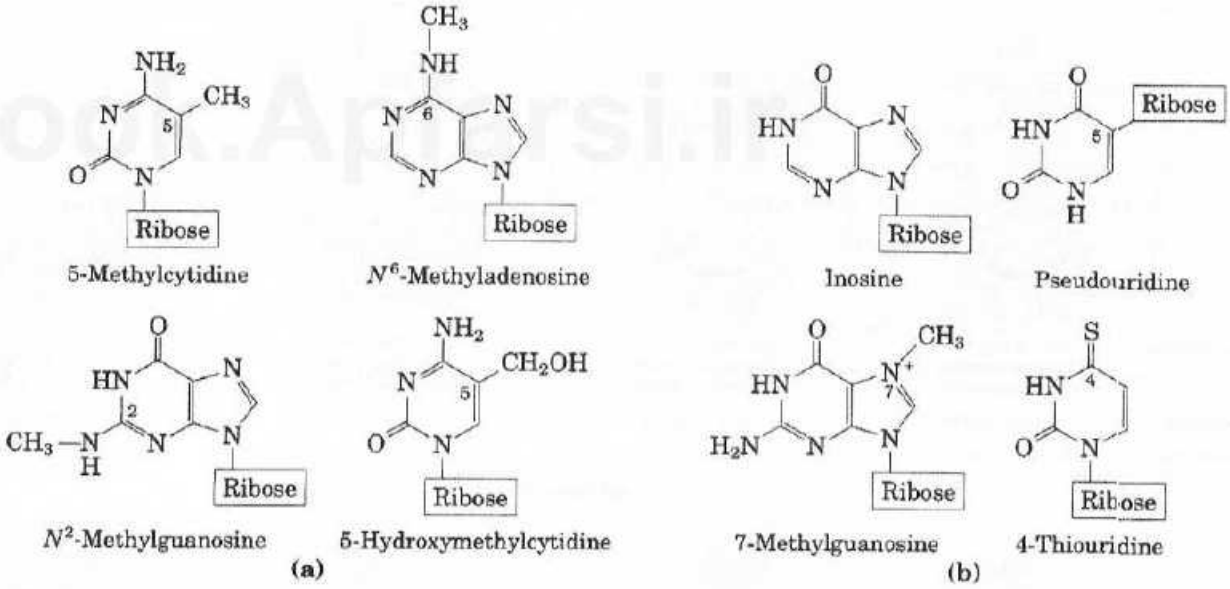
شکل ۴-۱۰. داکسی‌ریبونوکلئوتیدها و ریبونوکلئوتیدهای موجود در اسیدهای نوکلئیک. تمامی نوکلئوتیدها به شکل آزاد در pH برابر ۷/۰ نشان داده شده‌اند. واحدهای نوکلئوتیدی **(a)** DNA معمولاً به‌صورت A، G، T و C، و گاهی به‌صورت dA، dG، dT و dC نشان داده شده و انواع مربوط به **(b)** RNA به‌صورت A، G، U و C نمایش داده می‌شوند. داکسی‌ریبونوکلئوتیدها در شکل آزاد معمولاً با مخفف dAMP، dGMP، dTMP و dCMP معرفی شده و به همین ترتیب ریبونوکلئوتیدها با AMP، GMP، UMP و CMP برای هر نوکلئوتید، بدنبال نام متداول‌تر، نام کامل در داخل پرانتز آورده می‌شود. در تمامی مخفف‌های فوق، گروه فسفات در موقعیت ′۵ در نظر گرفته شده است. قسمت نوکلئوزیدی هر ملکول سایه دارد. در این شکل و شکل‌های بعدی، کربن‌های حلقه نشان داده نمی‌شوند.

یکدیگر متصل می‌شوند. این پل‌ها به شکل **اتصالات فسفودی‌استری** هستند که سبب پیوند گروه ′۵- هیدروکسیل یک واحد نوکلئوتیدی به گروه ′۳- هیدروکسیلی نوکلئوتید بعدی می‌گردد (شکل ۷-۱۰). ازاینرو، اسکلت کووالان اسیدهای نوکلئیک از ریشه‌های یک در میان فسفات و ریبوز تشکیل شده و اتم‌های نیتروژنی موجود در بازها ممکن است به‌صورت گروه‌های جانبی در نظر گرفته شوند که در فواصل منظمی به این اسکلت اتصال یافته‌اند. اسکلت هر دو ملکول DNA و RNA آبدوست می‌باشد. گروه‌های فسفات، با pKa حدود صفر، کاملاً یونیزه بوده و در pH برابر ۷ دارای بار منفی هستند. عموماً این بارهای منفی توسط بارهای مثبت پروتئین‌ها، یون‌های فلزی و پلی‌آمین‌ها، خنثی می‌گردند.

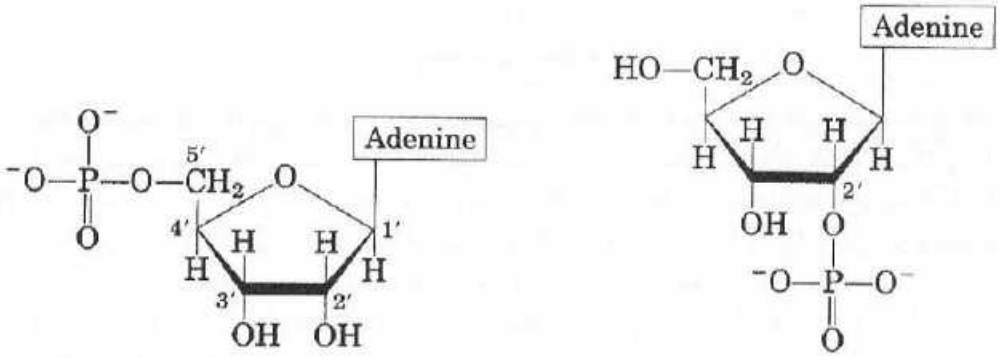
تمامی اتصالات فسفودی‌استری موجود در طول یک زنجیر، دارای جهت یکسانی بوده (شکل ۷-۱۰) و به هر رشته خطی اسید نوکلئیک، قطبیت[1] اختصاصی و دو انتهای مجزای ′۵ و ′۳ می‌دهد. طبق تعریف، **انتهای ′۵** فاقد نوکلئوتید در موقعیت ′۵ بوده و **انتهای ′۳** فاقد نوکلئوتید در انتهای ′۳ می‌باشد. سایر گروه‌ها (در بیشتر موارد

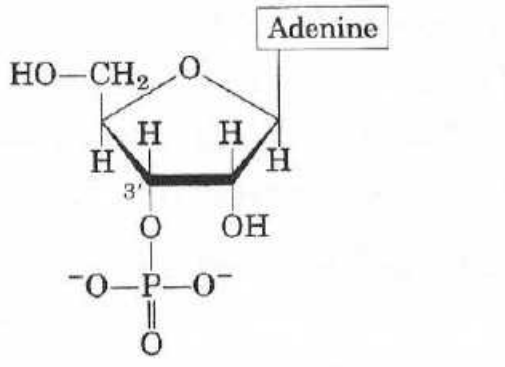
1- Polarity

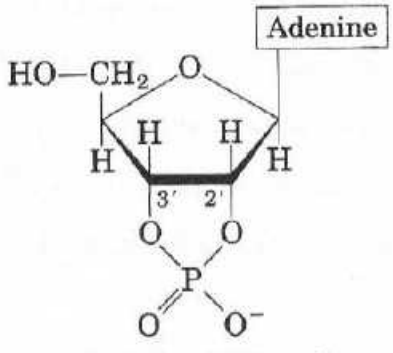
Book.Apfarsi.ir



شکل ۵-۱۰. بعضی از بازهای فرعی پورینی و پیریمیدینی به شکل نوکلئوزیدی. (a) بازهای فرعی DNA. ۵-متیل‌سیتیدین در DNA حیوانات و گیاهان آلی، N^6-متیل‌آدنوزین در DNA باکتریال و ۵-هیدروکسی‌متیل‌سیتوزین در DNA باکتری‌های آلوده شده توسط بعضی باکتریوفاژها وجود دارند. (b) در ملکول‌های tRNA تعدادی باز فرعی وجود دارد. اینوزین حاوی باز هیپوگزانتین است. توجه داشته باشید که پسودواوریدین همانند اوریدین دارای اوراسیل بوده ولی تفاوت آنها در محل اتصال اوراسیل به ریبوز می‌باشد. در اوریدین، اوراسیل از طریق N-1 به قند متصل شده که نقطه اتصالی طبیعی برای پیریمیدین‌ها می‌باشد؛ ولی اتصال پسودواوریدین از طریق C-5 می‌باشد.

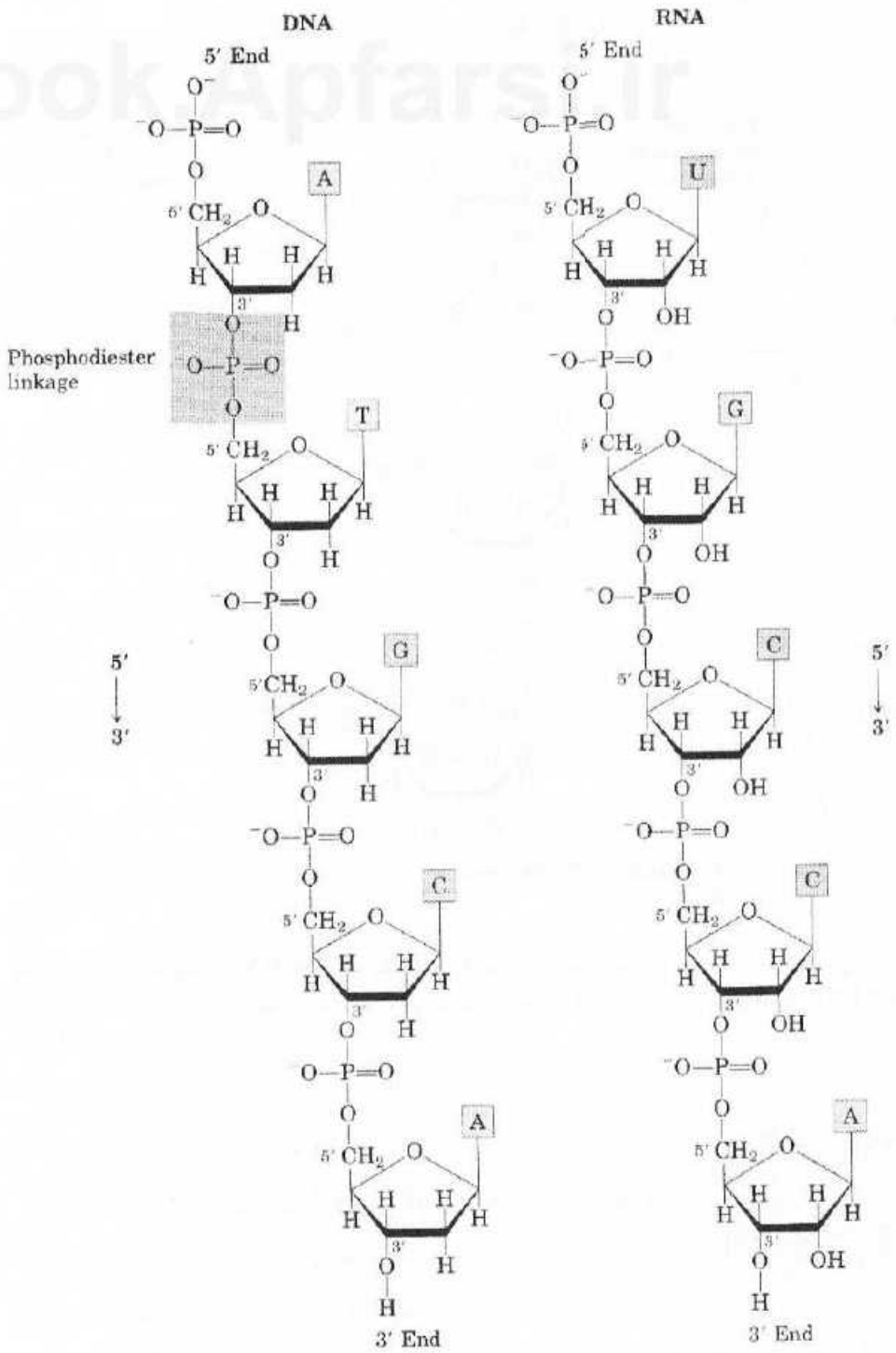






شکل ۶-۱۰. چند منوفسفات آدنوزینی. آدنوزین ۲′- منوفسفات، ۳′- منوفسفات و ۲′، ۳′- حلقوی منوفسفات به طریق آنزیمی و هیدرولیز قلیایی RNA تولید می‌شوند.

Book.Anfarsi.ir



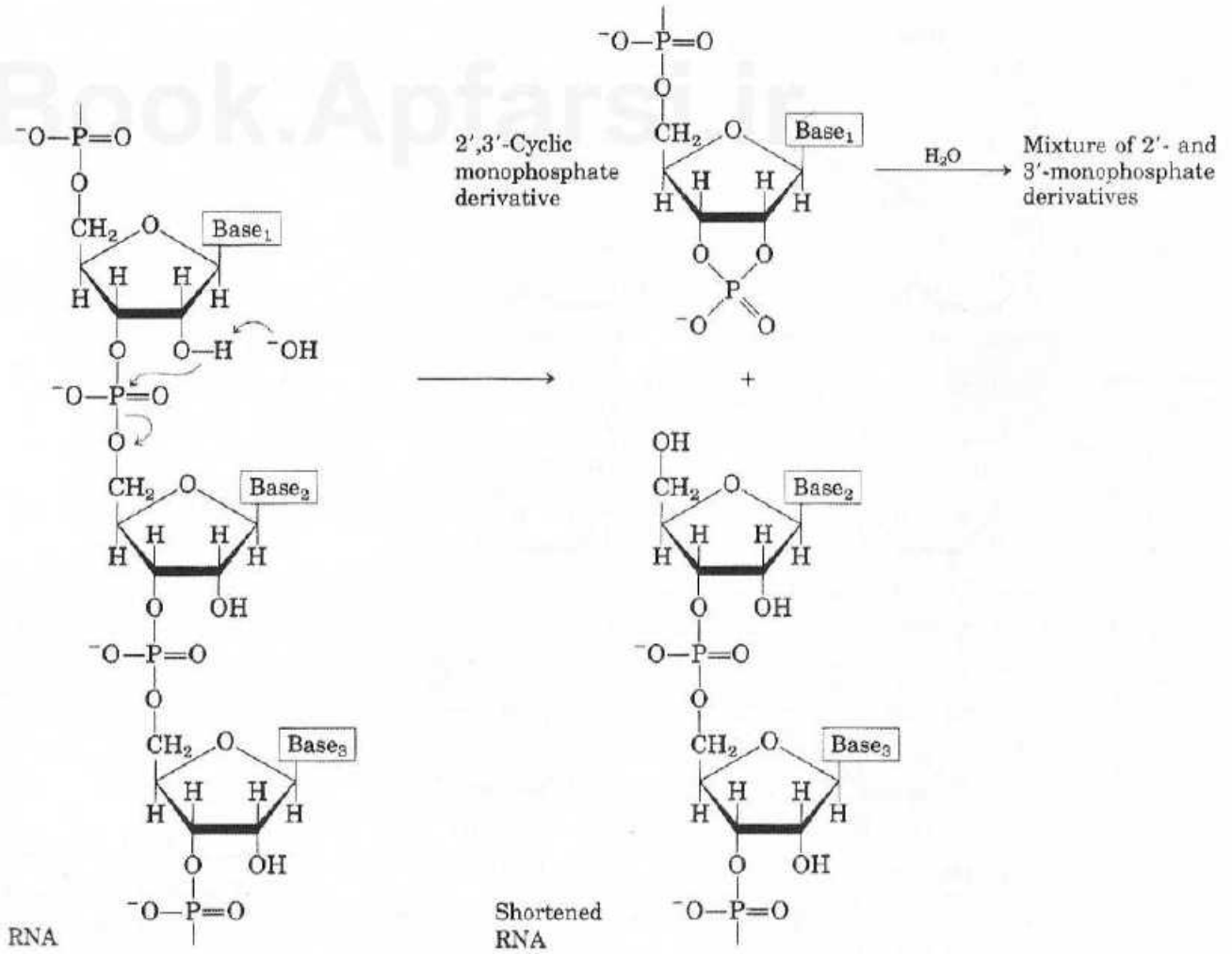
شکل ۷-۱۰. اتصالات فسفودی‌استری در اسکلت کووالان DNA و RNA. پیوندهای فسفودی‌استری (یکی از آنها در DNA سایه‌دار شده است) سبب اتصال نوکلئوتیدهای متوالی به یکدیگر می‌گردند. اسکلت متشکل از واحدهای یک درمیان پنتوز و فسفات، در هر دو نوع اسید نوکلئیک شدیداً قطبی است. انتهای ′۵ ماکروملکول فاقد نوکلئوتید در موقعیت ′۵ بوده و انتهای ′۳ آن در موقعیت ′۳ نوکلئوتید ندارد.

یک یا چند فسفات) ممکن است در یک یا هر دو انتها دیده شوند (شکل ۸-۱۰).

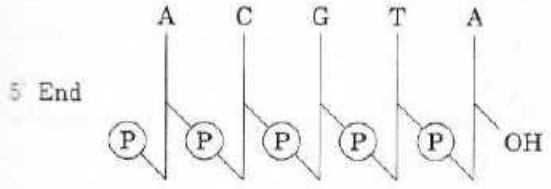
اسکلت کووالان ملکول‌های DNA و RNA در معرض هیدرولیز غیرآنزیمی آهسته پیوندهای فسفودی‌استری هستند. در لوله آزمایش، ملکول RNA سریعاً تحت شرایط قلیایی هیدرولیز می‌شود، ولی ملکول DNA به این شرایط مقاوم است؛ گروه‌های ′۲- هیدروکسیلی که در RNA موجود ولی DNA فاقد آنها می‌باشد، مستقیماً در این فرایند نقش دارند. ′۲-′۳- منوفسفات‌های حلقوی، اولین محصولات اثر قلیا بر روی RNA بوده که سریعاً به مخلوطی از نوکلئوزیدهای ′۲- و ′۳- منوفسفات هیدرولیز می‌شوند.

به‌طور شماتیک می‌توان توالی‌های نوکلئوتیدی اسیدهای نوکلئیک را به شکل قطعه‌ای از DNA با پنج واحد

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۱۰. هیدرولیز RNA تحت شرایط قلیایی. گروه ´۲- هیدروکسیل به عنوان یک نوکلئوفیل در استخلاف داخل‌ملکولی عمل می‌نماید. مشتق ´۲، ´۳- حلقوی منوفسفات به مخلوطی از منوفسفات‌های ´۲- و ´۳- هیدرولیز می‌گردد. DNA که فاقد گروه ´۲- هیدروکسیل می‌باشد در شرایط مشابه پایدار است.



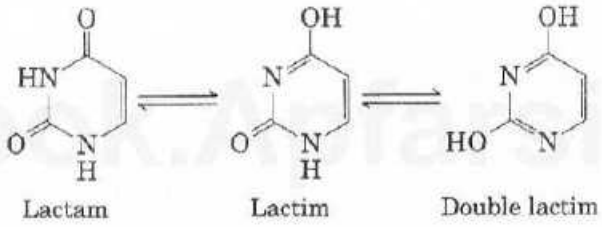
نوکلئوتیدی نشان‌داده شده، نمایش داد. در این حالت گروه‌های فسفات به‌صورت P در نظر گرفته شده و هر داکسی‌ریبوز به‌صورت یک خط عمودی ترسیم می‌گردد که کربن ´۱ آن در بالا و کربن ´۵ در پایین باشد (ولی باید در نظر داشت که این قند در اسیدهای نوکلئیک همیشه به شکل حلقه بسته β- فورانوز وجود دارد). خطوط اتصالی بین نوکلئوتیدها (که از میان P عبور می‌نمایند) به‌صورت مورب از میان (کربن ´۳) داکسی‌ریبوز یک نوکلئوتید به انتهای (کربن ´۵) نوکلئوتید دیگر امتداد می‌یابد. به‌طور قراردادی، ساختمان زنجیر اسید نوکلئیک همواره با انتهای ´۵ در سمت چپ و انتهای ´۳ در سمت راست، یعنی در جهت ´۳ ← ´۵ نوشته می‌شود. نمایش ساده‌تر این پنتاداکسی‌ریبونوکلئوتید به‌صورت $pA\text{-}C\text{-}G\text{-}T\text{-}A_{OH}$ یا pApCpGpTpA و یا pACGTA می‌باشد.

اسید نوکلئیک کوتاه را **اولیگونوکلئوتید**[1] گویند. اصطلاح «کوتاه» تا حدودی قراردادی است، ولی عموماً

1- Oligonucleotide

Book.Apfarsi.ir

پلیمرهای دارای ۵۰ نوکلئوتید یا کمتر از آن را اولیگونوکلئوتید گویند. اسید نوکلئیک بلندتر را **پلی‌نوکلئوتید**[1] نامند.

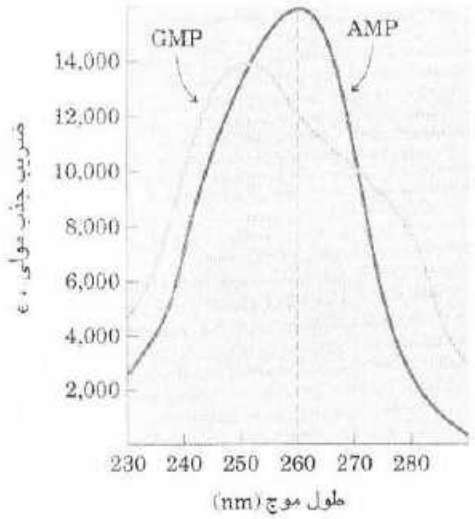


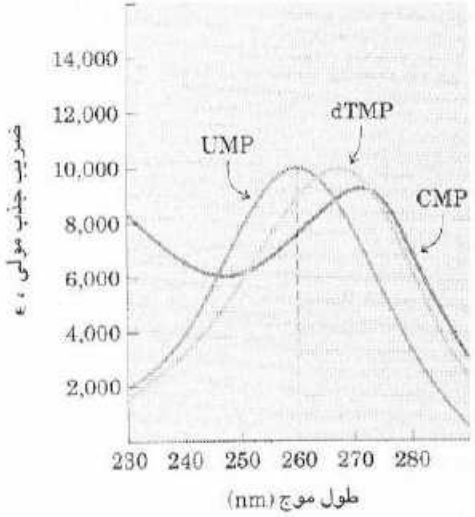
شکل ۹-۱۰. اشکال توتومری اوراسیل. شکل لاکتام در pH برابر ۷/۰ غالب بوده و سایر اشکال با کاهش pH غالب‌تر می‌شوند. سایر پیریمیدین‌های آزاد و پورین‌های آزاد نیز دارای اشکال توتومری بوده ولی کمتر مشاهده می‌گردند.

خصوصیات بازهای نوکلئوتیدی بر روی ساختمان سه‌بعدی اسیدهای نوکلئیک تأثیر دارند

پیریمیدین‌ها و پورین‌های آزاد ترکیبات بازی ضعیفی می‌باشند و به همین دلیل به آنها باز گویند. این ترکیبات دارای خصوصیات شیمیایی هستند که بر روی ساختمان و نهایتاً عمل اسیدهای نوکلئیک تأثیر می‌گذارند. پورین‌ها و پیریمیدین‌های موجود در DNA و RNA، ملکول‌های شدیداً کونژوگه (دارای پیوند دوگانه یک در میان) می‌باشند (شکل ۲-۱۰). این ویژگی اثرات عمیقی بر روی ساختمان، انتشار الکترونی و جذب نوری اسیدهای نوکلئیک دارد. رزونانس موجود در بین اتم‌های حلقه، به اکثر پیوندها خصوصیات پیوند دوگانه نسبی را می‌دهد. یکی از نتایج این است که پیریمیدین‌ها مسطح بوده و پورین‌ها با مختصری چروکیدگی، تقریباً مسطح هستند. بر حسب pH، بازهای پورینی و پیریمیدینی آزاد ممکن است به دو یا چند شکل توتومری وجود داشته باشند. برای مثال، اوراسیل به‌صورت لاکتیم، لاکتام و لاکتیم دوبل، وجود دارد (شکل ۹-۱۰). اشکال نشان داده شده در شکل ۲-۱۰، توتومرهایی هستند که در pH برابر ۷/۰ غالب می‌باشند. در نتیجه وجود رزونانس، تمامی بازهای نوکلئوتیدی، نور UV را جذب نموده و اسیدهای نوکلئیک بوسیله یک جذب نوری قوی در طول‌موج حدود ۲۶۰nm مشخص می‌گردند (شکل ۱۰-۱۰).

بازهای پورینی و پیریمیدینی در pH حدود خنثی سلولی، آبگریز بوده و در آب نسبتاً نامحلول می‌باشند. در pH



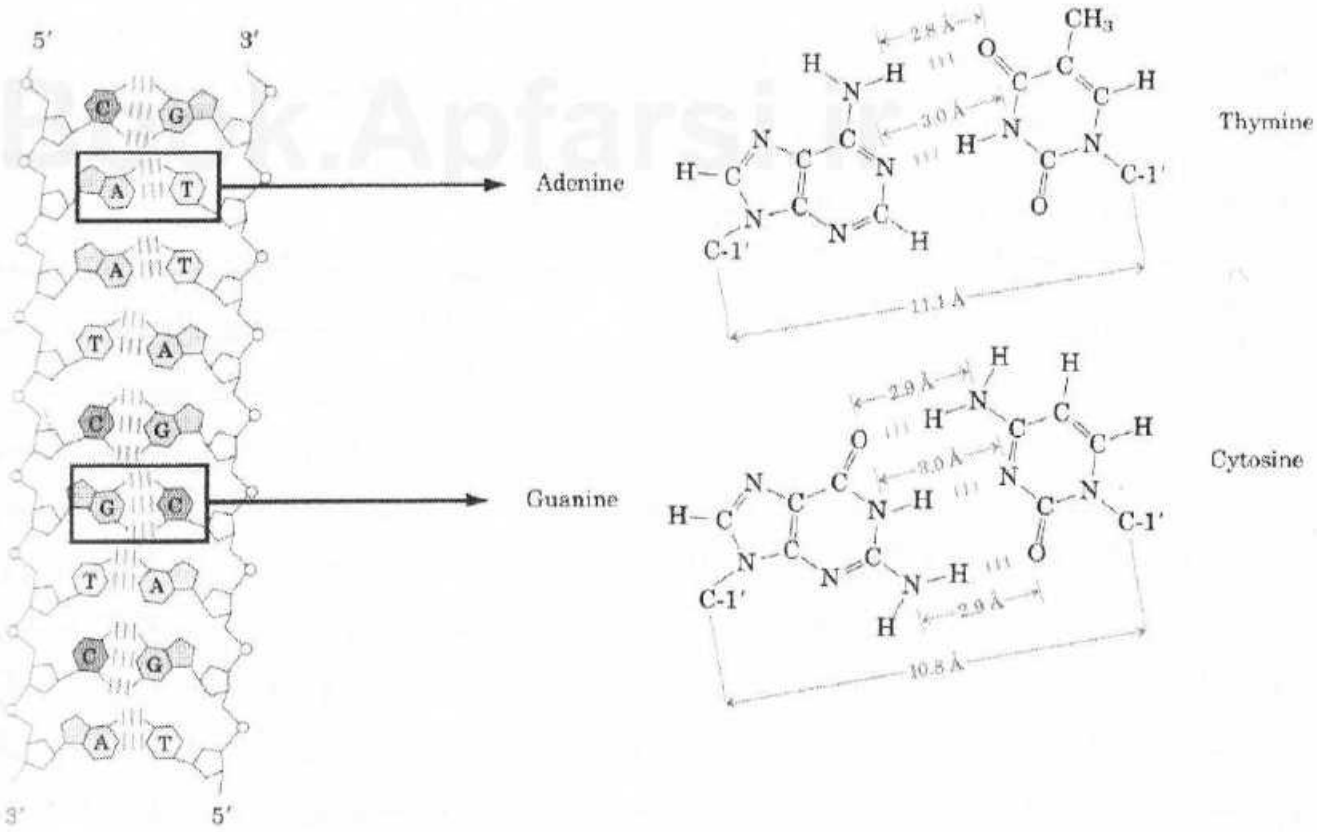


ضریب جذب مولی در ۲۶۰ nm ϵ_{260} ($M^{-1}cm^{-1}$)	
AMP	15,400
GMP	11,700
CMP	7,500
UMP	9,900
dTMP	9,200

شکل ۱۰-۱۰. طیف جذبی نوکلئوتیدهای معمول. طیف‌های جذبی به‌صورت نمودار ضریب جذبی مولار در طول‌موج‌های مختلف نشان داده شده‌اند. ضرایب جذبی مولار در ۲۶۰nm و pH برابر ۷/۰ (ϵ_{260}) در جدول فهرست شده‌اند. طیف‌های جذبی ریبونوکلئوتیدها و داکسی‌ریبونوکلئوتیدها و همچنین نوکلئوزیدهای مربوطه، ضرورتاً مشابه می‌باشد. برای اندازه‌گیری جذب نوری مخلوطی از نوکلئوتیدها، از طول موج ۲۶۰nm (خط عمودی) استفاده می‌گردد.

1- Polynucleotide

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۱۰. الگوهای ایجاد پیوند هیدروژنی در جفت‌های بازی تعریف‌شده توسط واتسون-کریک. در اینجا و قسمتهای دیگر، پیوندهای هیدروژنی با خطوط موازی نشان داده می‌شوند.

اسیدی و یا قلیایی، این بازها باردار شده و حلالیت آنها در آب افزایش می‌یابد. واکنش‌های متقابل متراکم‌کننده[1] آبگریز یکی از دو طریق مهم واکنش‌های متقابل بین بازها در اسیدهای نوکلئیک می‌باشد. طی این واکنش‌ها دو یا چند باز به شکلی روی هم (مشابه توده‌ای از سکه‌ها) قرار می‌گیرند که صفحات حلقه‌های آنها موازی خواهد بود. همچنین این تراکم مستلزم ترکیبی از واکنش‌های متقابل واندروالس و دوقطبی-دوقطبی می‌باشد. تراکم بازها، تماس آنها را با آب به حداقل رسانده و همانطور که بعداً اشاره خواهد گردید، واکنش‌های متقابل تراکم بازها نقش مهمی را در ثبات ساختمان سه‌بعدی اسیدهای نوکلئیک دارد.

مهمترین گروه‌های وظیفه‌دار پورین‌ها و پیریمیدین‌ها شامل نیتروژنهای حلقه، گروههای کربونیل و گروه‌های آمینو خارج حلقه می‌باشند. پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های آمینو و کربونیل، دومین طریق مهم واکنش‌های متقابل بین بازها در ملکول‌های اسید نوکلئیک است. پیوندهای هیدروژنی بین بازها این امکان را فراهم می‌سازد که دو (و گاهی سه یا چهار) زنجیر مکمل اسید نوکلئیک به یکدیگر متصل گردند. مهمترین الگوهای ایجاد پیوند هیدروژنی توسط جیمز واتسون و فرانسیس کریک در سال ۱۹۵۳ شرح داده شد که در آن به‌طور اختصاصی A به T (یا U) و G به C متصل می‌گردد (شکل ۱۱-۱۰). این دو نوع **جفت‌های بازی** در RNA و DNA دورشته‌ای استاندارد غالب بوده و توتومرهای نشان داده شده در شکل ۲-۱۰ مسئول ایجاد این الگوها می‌باشند. همانطور که در ادامه این فصل بحث خواهد گردید، ایجاد این جفت بازهای اختصاصی امکان دوبرابرشدن اطلاعات ژنتیک را فراهم می‌سازد.

1- Stacking

Book.Apfarsi.ir

ساختمان اسید نوکلئیک



James Watson



Francis Crick

کشف ساختمان DNA توسط واتسون و کریک در سال ۱۹۵۳، حادثه مهمی در علم بود که علاوه بر ایجاد یک نظم کاملاً جدید، اثراتی بر روی بسیاری از نظم‌های موجود گذاشت. دانش حاضر ما در مورد ذخیره و استفاده از اطلاعات ژنتیکی سلول، براساس این کشف بوده و هم‌اکنون لازمه بحث در هر قسمت بیوشیمی، داشتن زمینه‌ای از نحوه انتقال اطلاعات ژنتیکی توسط سلول می‌باشد. در این فصل به بررسی ساختمان DNA، حوادث رخ‌داده در جهت کشف این ساختمان و یافته‌های جدید پرداخته می‌شود. به‌علاوه، ساختمان RNA نیز معرفی می‌گردد.

همانند ساختمان پروتئین (فصل ۶)، گاهی توصیف ساختمان اسید نوکلئیک در سطوح مختلف پیچیدگی (ساختمان‌های اول، دوم و سوم) مفید می‌باشد. ساختمان اول یک اسید نوکلئیک، ساختمان کووالان و توالی نوکلئوتیدی آن می‌باشد. هر ساختمان منظم و پایداری که ممکن است توسط قسمتی و یا تمامی نوکلئوتیدهای موجود در یک اسید نوکلئیک ایجاد گردد را می‌توان به عنوان ساختمان دوم در نظر گرفت. تمامی ساختمان‌هایی که در قسمت‌های باقیمانده این فصل مورد بحث قرار می‌گیرند، تحت ساختمان دوم می‌باشند. تاشدن پیچیده کروموزوم‌های بزرگ در داخل کروماتین اوکاریوتی و نوکلوئیدهای[1] باکتریایی را عموماً به‌عنوان ساختمان سوم در نظر می‌گیرند که در فصل ۲۴ مورد بررسی قرار می‌گیرد.

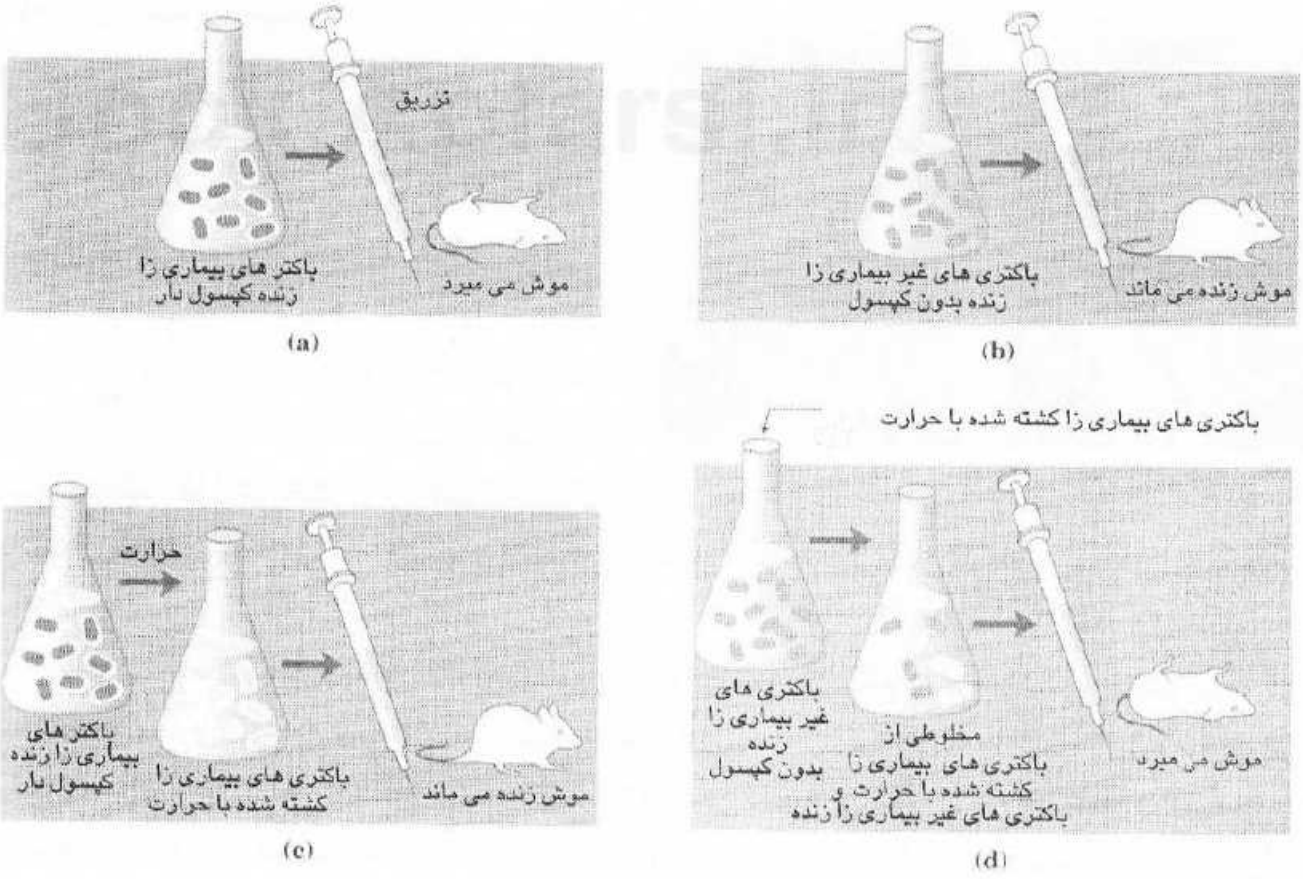
DNA اطلاعات ژنتیکی را ذخیره می‌نماید

تحقیقات بیوشیمیایی بر روی DNA توسط فردریچ میچر[2] شروع شد که اولین مطالعات شیمیایی سیستماتیک را بر روی هسته‌های سلول انجام داد. در سال ۱۸۶۸، میچر یک ماده حاوی فسفر را از هسته سلول‌های چرکی (گلبولهای سفید) موجود در باندژهای دورریخته‌شده جراحی، جدا نمود و نام آن را «نوکلئین»[3] نهاد. وی دریافت که نوکلئین از دو قسمت اسیدی و بازی تشکیل شده است که امروزه مشخص‌شده که به ترتیب DNA و پروتئین می‌باشند. میچر سپس ماده اسیدی مشابهی را در سر سلول‌های اسپرم ماهی آزاد پیدا کرد. هرچند این محقق به‌طور نسبی نوکلئین را خالص نمود و خصوصیات آن را مطالعه کرد، ساختمان کووالان (اول) DNA (که در شکل ۷-۱۰ نشان داده شده است)، با اطمینان تا دهه ۱۹۴۰ مشخص نگردید.

میچر و بسیاری از افراد دیگر معتقد بودند که نوکلئین (اسید نوکلئیک) به طریقی با وراثت سلولی ارتباط دارد. ولی اولین مدرک مستقیم نشان‌دهنده نقش DNA در انتقال ژنتیکی، طی کشف انجام‌شده توسط اوسوالد آوری[4]، کولین مک‌لود[5] و مکلین مک‌کارتی[6] در سال ۱۹۴۴ بدست آمد. این سه محقق دریافتند که DNA جداشده از سوش بیماری‌زا *Streptococcus pneumoniae* (پنوموکک) می‌تواند به‌طور ژنتیکی سبب تغییر سوش غیربیماری‌زا

1- Nucleoids
2- Friedrich Meischer
3- Nuclein
4- Oswald T. Avery
5- Colin Macload
6- Maclyn McCarty

Book.Apfarsi.ir



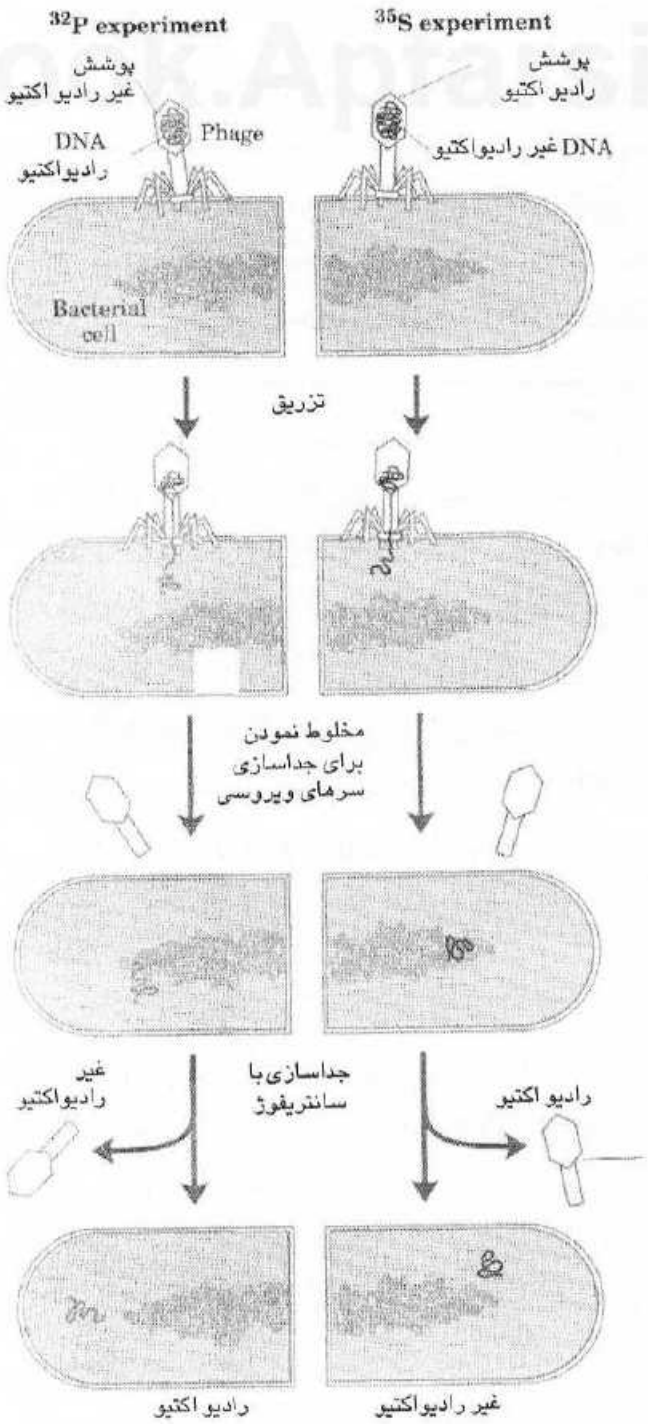
شکل ۱۲-۱۰. آزمایش آوری - مک‌لود - مک‌کارتی. وقتی سوش کپسول‌دار پنوموکک **(a)** به موش خانگی تزریق گردد، کشنده خواهد بود. در حالی که، سوش بدون‌کپسول **(b)**، همانند سوش کپسول‌دار حرارت‌داده‌شده **(c)** بی‌ضرر می‌باشد. آزمایش قبلی فردریک گریفت نشان داده بود که افزودن باکتریهای بیماریزا کشته‌شده با حرارت (بی‌ضرر برای موش خانگی) به سوش غیربیماریزا زنده، آن را برای همیشه به باکتری کپسول‌دار بیماریزا وکشنده **(d)** تبدیل می‌نماید. وی نتیجه گرفت که یک عامل تغییردهنده در باکتریهای بیماریزا وارد باکتریهای غیربیماری‌زا شده و آنها را بیماری‌زا و کپسول‌دار نموده است.

آوری و همکارانش این عامل تغییردهنده را، DNA معرفی نمودند. آنها DNA را از پنوموکک بیماریزا کشته شده توسط حرارت جدا کردند و تا آنجا که امکان داشت، پروتئین‌های همراه آنرا به‌طور کامل برداشت و سپس این DNA را به باکتری‌های غیربیماری‌زا اضافه نمودند **(e)**. این پنوموکک‌های غیربیماری‌زا برای همیشه به سوش بیماری‌زا تغییر یافتند. DNA وارد باکتری‌های غیربیماری‌زا شده و ژن‌های لازم برای بیماریزایی و تولید کپسول در داخل کروموزوم سوش غیربیماری‌زا قرار گرفت. تمامی نسل‌های بعدی این باکتری‌ها بیماریزا و کپسول‌دار بودند.

این باکتری به شکل بیماری‌زا گردد (شکل ۱۲-۱۰). آوری و همکارانش نتیجه گرفتند که DNA استخراجی از سوش بیماری‌زا، حامل پیام ژنتیکی جهت ایجاد بیماری‌زایی است که می‌تواند به ارث برسد. این نتایج را هیچکس نپذیرفت، زیرا ناخالصی‌های پروتئینی همراه DNA می‌توانست به عنوان حامل اطلاعات ژنتیکی در نظر گرفته شود. این احتمال به زودی با این مشاهده رد شد که مجاورت آنزیم‌های پروتئولیتیک با DNA، فعالیت تغییر سوش غیربیماریزا به بیماریزا را از بین نمی‌برد ولی در حضور داکسی‌ریبونوکلئازها (آنزیم‌های هیدرولیزکننده DNA) این فعالیت ازدست می‌رود.

در آزمایش مهم دوم، دلیل مستقلی برای نقش DNA در انتقال اطلاعات ژنتیکی بدست آمد. در سال ۱۹۵۲،

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۱۰. آزمایش هرشی - چیس. دو دسته از ذرات باکتریوفاژ T2 تهیه و با ایزوتوپ نشاندار شدند. یکی از مواد رادیوکتیو، ^{32}P بود که برای نشاندار نمودن گروههای فسفات DNA به‌کار رفت و دیگری ^{35}S که برای نشاندارنمودن اسیدهای آمینه حاوی گوگرد موجود در پوشش پروتئینی (کپسید) ویروس مورد استفاده قرار گرفت (باید توجه نمود که DNA سلول فاقد گوگرد بوده و پروتئین ویروسی فاقد فسفر می‌باشد.) سپس این دو سری فاژ نشاندار برای ایجاد عفونت به سوسپانسیونهای مجزا حاوی باکتریهای غیرنشاندار اضافه شدند. هر کدام از این سوسپانسیونهای سلول‌های عفونت‌یافته در یک مخلوط‌کن مخلوط‌شده تا کپسیدهای ویروسی از باکتریها جدا گردند. سپس باکتریها و پوششهای ویروسی خالی (با نام اشباح) توسط سانتریفوژ جدا شدند. سلول‌های عفونت‌یافته با فاژ نشاندار با ^{32}P حاوی ^{32}P بودند که نشان می‌دهد که DNA ویروسی وارد سلول شده است؛ اشباح ویروسی فاقد رادیواکتیویتی بودند. سلول‌های عفونت‌یافته به فاژهای نشاندار با ^{35}S، بعد از جدا نمودن کپسید، فاقد رادیواکتیویته بودند. مدتی بعد از برداشت پوششهای ویروسی، نسل بعدی ذرات ویروسی (در شکل نشان داده نشده است) تولید شدند که نشان می‌دهد که پیام ژنتیک لازم برای همانندسازی آنها توسط DNA ویروسی، و نه پروتئین آن، در اختیار سلول قرار داده شده است.

دو محقق بنام‌های آلفرد هرشی[1] و مارتا چیس[2] از فسفر رادیواکتیو (^{32}P) و سولفور رادیواکتیو (^{35}S) استفاده نمودند تا نشان دهند وقتی ویروس باکتریایی (باکتریوفاژ) T2 در میزبان خود، یعنی E.coli، ایجاد عفونت می‌نماید، DNA حاوی فسفر ذره ویروسی، و نه پروتئین حاوی سولفور پوشش ویروسی، وارد سلول شده و اطلاعات ژنتیکی لازم برای همانندسازی ویروس را در اختیار سلول میزبان قرار می‌دهد (شکل ۱۳-۱۰).

این آزمایشات مهم اولیه و بسیاری از آزمایش‌های دیگر نشان می‌دهند که DNA تنها جزء کروموزومی حامل اطلاعات ژنتیکی سلول‌های زنده می‌باشد.

ملکول‌های DNA دارای ترکیبات بازی مشخصی هستند

یکی از مهمترین مدارک کلیدی در مورد تعیین ساختمان DNA از مطالعات اروین شارگاف[3] و همکارانش در اواخر دهه ۱۹۴۰ بدست آمده است. این محققین دریافتند که چهار باز نوکلئوتیدی موجود در DNA در موجودات متفاوت، به نسبت‌های مختلفی وجود داشته و مقادیر بعضی از این بازها با یکدیگر ارتباط نزدیکی دارند. این

1- Alfered D. Hershey 2- Martha Chase 3- Erwin Chargaff

Book.Apfarsi.ir

اطلاعات که از ملکول‌های DNA گونه‌های بسیار زیاد و مختلف بدست آمدند، منجر به نتیجه‌گیریهای زیر توسط شارگاف گردید:

۱ - ترکیب بازی DNA عموماً از گونه‌ای به گونه دیگر متفاوت است.

۲ - نمونه‌های DNA جداشده از بافت‌های مختلف یک گونه دارای ترکیب بازی مشابهی است.

۳ - ترکیب بازی DNA هر گونه با افزایش سن، تغییر تغذیه و یا تغییر محیط، تغییر نمی‌نماید.

۴ - در تمامی ملکول‌های DNA سلولی، بدون توجه به گونه، تعداد ریشه‌های آدنوزین برابر تعداد ریشه‌های تیمیدین (یعنی A=T) و همچنین تعداد ریشه‌های گوانوزین برابر تعداد ریشه‌های سیتوزین (یعنی G=C) می‌باشد. با استفاده از این ارتباطات مشخص می‌گردد که مجموع بازهای پورینی برابر مجموع بازهای پیریمیدینی است؛ یعنی A+G=T+C.

گاهی به این ارتباطات کمی، **قواعد شارگاف** اتلاق می‌گردد که توسط بسیاری از محققین تایید شده است. این اطلاعات، کلیدی برای تعیین ساختمان سه‌بعدی DNA و ارائه راهنمایی جهت درک نحوه کدشدن اطلاعات ژنتیکی در DNA و انتقال آن از نسلی به نسل دیگر بود.



Rosalind Franklin
1920-1958

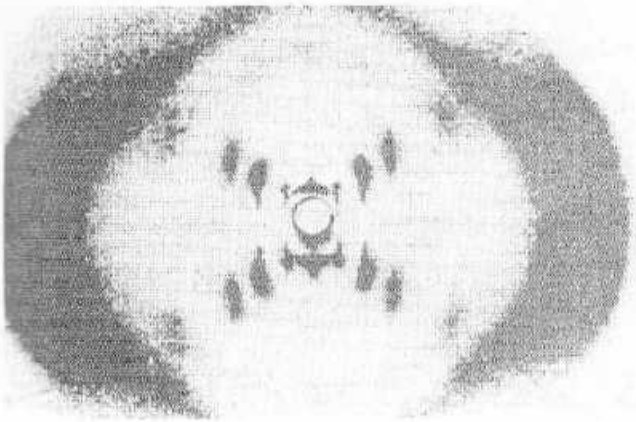


Maurice Wilkins

DNA به‌صورت یک مارپیچ دوتایی است

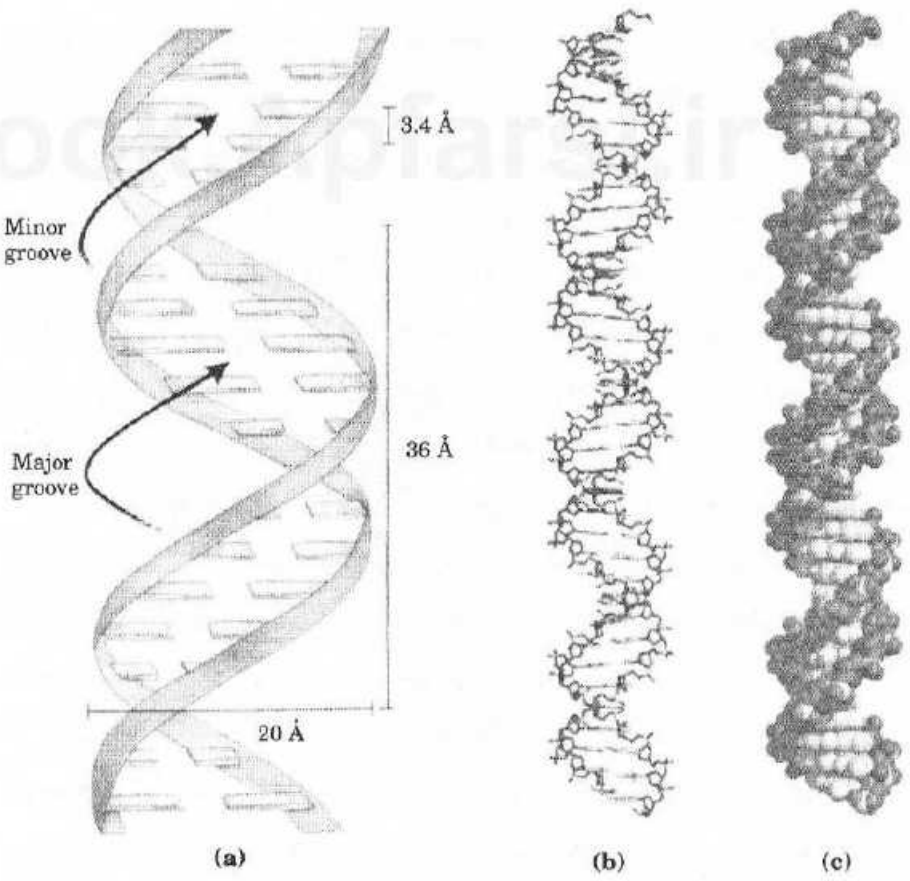
برای روشن‌ساختن بیشتر ساختمان DNA، روزالین فرانکلین و موریس ویلکینز از روش قوی انکسار اشعه x (کادر ۳-۶) برای آنالیز فیبرهای DNA استفاده نمودند. در اوایل دهه ۱۹۵۰، آنها نشان دادند که DNA یک الگوی مشخص انکسار اشعه x را ایجاد می‌نماید (شکل ۱۴-۱۰). از این الگو نتیجه گرفته شد که ملکول‌های DNA مارپیچی بوده و در طول محور طولی خود دارای دو حالت تناوبی، یکی اولیه در هر ۳/۴Å و دیگری ثانویه در هر ۳۴Å، است. آنگاه لازم بود که مدل سه‌بعدی از ملکول DNA طراحی شود که نه تنها اطلاعات مربوط به انکسار اشعه x، بلکه همچنین برابربودن اختصاصی A=T و G=C حاصل از کشف شارگاف و سایر خصوصیات شیمیایی DNA را توجیه نماید.

واتسون و کریک در سال ۱۹۵۳ مدل سه‌بعدی برای ساختمان DNA فرض نمودند که برای تمامی اطلاعات موجود مناسب بود. این مدل از دو زنجیر مارپیچی تشکیل شده بود که حول یک محور چرخیده و ایجاد یک مارپیچ دوتایی راست‌گردان می‌کرد (برای



شکل ۱۴-۱۰. الگوی انکسار اشعه x ملکول DNA. نقاطی که در مرکز ایجاد یک صلیب می‌نمایند، نشانه ساختمان مارپیچی است. باندهای متراکم موجود در سمت راست و چپ، حاصل بازهای پشت‌سرهم می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۵-۱۰. مدل واتسون-کریک ساختمان DNA. مدل ابتدایی که توسط واتسون و کریک فرض گردید، دارای ۱۰ جفت باز یا ۳۴ Å (۳/۴ nm) در هر دور مارپیچ بود؛ هرچند، اندازه‌گیری‌های بعدی نشان داد که ۱۰/۵ جفت باز یا ۳۶ Å (۳/۶ nm) در هر دور مارپیچ وجود دارد. **(a)** نمایش شماتیک که ابعاد مارپیچ را نشان می‌دهد. **(b)** نمایش قلمی که اسکلت بازهای متراکم را نشان می‌دهد. **(c)** مدل فضاپرکن.

درک مفهوم راست و چپ‌گردان یک ساختمان مارپیچی به کادر ۱-۶ مراجعه نمائید). اسکلت‌های آبدوست تشکیل شده از گروه‌های یک در میان داکسی‌ریبوز و فسفات، در سمت خارج این مارپیچ دوتایی قرار داشته و در تماس با محیط آبی اطراف می‌باشند. حلقه فورانوزی هر داکسی‌ریبوز دارای کونفورماسیون آندو $C2'$ است. بازهای پورینی و پیریمیدینی هر دو رشته نیز به شکلی در داخل مارپیچ دوتایی روی هم متراکم شده‌اند که ساختمان‌های حلقوی تقریباً مسطح آبگریز آنها در فاصله بسیار نزدیکی از یکدیگر و عمود بر محور طولی قرار گرفته‌اند. در سطح این مارپیچ و به‌واسطه جفت‌شدن زاویه‌دار دو رشته یک **دهانه اصلی (بزرگ)**[1] و یک **دهانه فرعی (کوچک)**[2] ایجاد می‌گردد (شکل ۱۵-۱۰). هر باز نوکلئوتیدی یک رشته در همان صفحه با باز رشته مقابل جفت می‌گردد. واتسون و کریک دریافتند که جفت‌های بازی دارای اتصالات هیدروژنی شرح‌داده شده در شکل ۱۱-۱۰ (G با C و A با T)، بهترین حالت ممکن در این ساختمان بوده و بنابراین استدلالی برای قانون شارگاف می‌باشد که در هر ملکول DNA، مقادیر G با C و A با T برابر می‌باشد. ذکر این نکته مهم می‌باشد که بین G و C سه پیوند هیدروژنی برقرار شده که به شکل G≡C نمایش داده شده ولی بین A و T تنها دو پیوند هیدروژنی ایجاد می‌گردد که با A=T نشان داده می‌شود. به همین دلیل وقتی نسبت G≡C به A=T موجود در رشته‌های جفت‌شده ملکول‌های DNA بالاتر باشد، جدانمودن آنها نیز مشکل‌تر خواهد بود. جفت‌شدن‌های دیگر بازها (با درجات مختلف)، سبب ناپایداری ساختمان مارپیچ دوتایی می‌گردد.

وقتی واتسون و کریک مدل خود را ساختند، لازم بود تا مشخص نمایند که آیا پیوندهای $3'$-$5'$-فسفودی‌استری موجود در دو رشته مارپیچ دوتایی DNA در یک جهت بوده و یا در خلاف جهت یکدیگر می‌باشند؛

1- Major groove 2- Minor groove

Book.Apfarsi.ir

به عبارتی دیگر آیا این رشته‌ها **موازی همسو**[1] می‌باشند و یا اینکه **موازی ناهمسو**[2] هستند. رشته‌های موازی ناهمسو مدل منطقی‌تری را ایجاد می‌نماید و مطالعات بعدی با DNA پلیمرازها (فصل ۲۵) شواهد تجربی را فراهم نمود که این رشته‌ها در واقع موازی ناهمسو هستند، موضوعی که نهایتاً با آنالیز اشعه x تائید شد.

برای نمایش دوره‌های تناوبی موجود در الگوهای انکسار اشعه x، واتسون و کریک مدل‌های ملکولی را تغییر داده تا به ساختمانی رسیدند که در آن بازهای متراکم که به‌طور عمودی در داخل مارپیچ قرار داشتند، ۳/۴Å از یکدیگر دور بودند؛ دومین تکرار با فاصله ۳۴Å نیز بخاطر وجود ۱۰ جفت باز در هر چرخش کامل مارپیچ دوتایی درنظر گرفته شد. در محلول آبی، این ساختمان قدری از ساختمان موجود در فیبرها متفاوت بوده و دارای ۱۰/۵ جفت باز در هر چرخش مارپیچ می‌باشد (شکل ۱۵-۱۰).

همانطور که در شکل ۱۶-۱۰ نشان داده شده است، دو زنجیر پلی‌نوکلئوتیدی موازی ناهمسو از نظر توالی بازی یا ترکیب مشابه نمی‌باشند. بلکه این زنجیرها **مکمل**[3] یکدیگر هستند. در هر محلی از زنجیر که آدنین وجود دارد، تیمین در مقابل آن و بر روی زنجیر دیگر مارپیچ قرار گرفته و به‌طور مشابه در مقابل گوانین‌های موجود در یک زنجیر، سیتوزین در زنجیر دیگر دیده می‌شود.

همان‌طور که قبلاً اشاره گردید، مارپیچ دوتایی یا دوبلکس DNA توسط دو نیرو، شامل پیوندهای هیدروژنی موجود در بین جفت بازهای مکمل (شکل ۱۱-۱۰) و واکنش‌های متقابل تراکم بازی، در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. مکمل‌بودن رشته‌های DNA به علت ایجاد پیوند هیدروژنی بین جفت‌های بازی می‌باشد. واکنش‌های متقابل تراکم بازی، که برای تعیین بازهای متراکم‌شده، فاقد ویژگی است، بیشترین نقش را در پایداری مارپیچ دوتایی دارد.

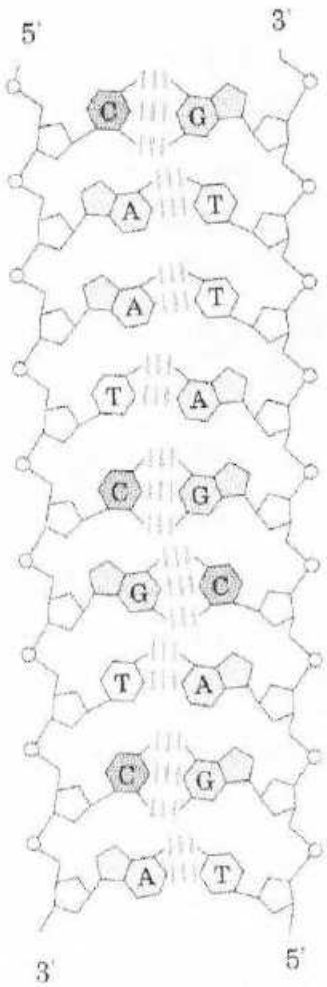
خصوصیات مهم مدل مارپیچ دوتایی ساختمان DNA توسط مدارک و شواهد شیمیایی و بیولوژیکی بیشتری مورد حمایت می‌باشد. بعلاوه، این مدل، مکانیسمی را برای انتقال اطلاعات ژنتیکی مطرح می‌نماید. ویژگی ضروری این مدل، مکمل‌بودن دو رشته DNA می‌باشد. همانطور که واتسون و کریک قبل از دسترسی به اطلاعات تاییدکننده، مشاهده نمودند، این ساختمان می‌تواند به‌طور منطقی با (۱) جداشدن دو رشته و (۲) سنتز یک رشته مکمل برای هر کدام از رشته‌ها، همانندسازی شود. ازآنجایی‌که نوکلئوتیدهای موجود در هر زنجیر جدید در توالی قرار می‌گیرند که توسط قواعد اشاره‌شده جفت‌شدن بازها تعیین می‌گردد، هر رشته قدیمی به عنوان یک قالب برای هدایت سنتز یک رشته مکمل به‌کار می‌رود (شکل ۱۷-۱۰). این انتظارات بطریق تجربی تائید شدند که شروعی برای یک انقلاب در دانش وراثت بیولوژیکی ما بود.

DNA می‌تواند اشکال سه‌بعدی مختلفی را داشته باشد

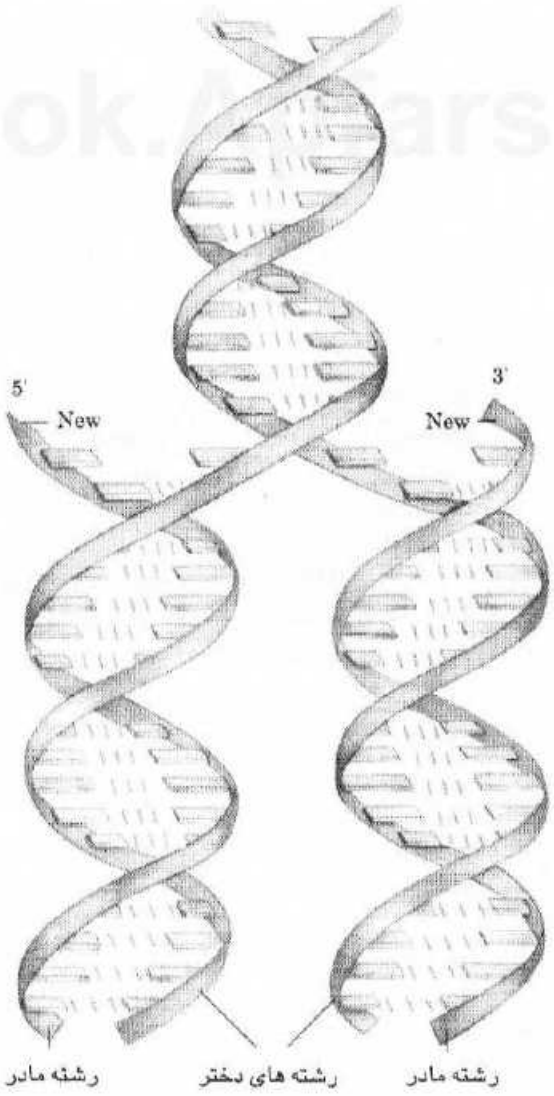
ملکول DNA انعطاف‌پذیری قابل‌توجهی دارد. در اسکلت قند-فسفات (فسفوداکسی‌ریبوز) این ملکول ممکن است چرخش قابل ملاحظه‌ای در حول تعدادی از پیوندها دیده شده و تغییرات حرارتی می‌تواند منجر به خمیدگی، کشیدگی و جدایی (ذوب) دو رشته گردد. ساختمان DNA موجود در سلول‌ها، تفاوت‌های متعدد مهمی با ساختمان DNA واتسون-کریک دارد. تعدادی یا تمامی این ساختمان‌ها در متابولیسم DNA نقش‌های مهمی را ایفاء می‌نمایند. عموماً این تغییرات ساختمانی اثری بر روی ویژگی‌های DNA تعریفی توسط واتسون و کریک، شامل وجود رشته‌های مکمل، رشته‌های موازی ناهمسو و لزوم تشکیل جفت‌بازهای $A = T$ و $G \equiv C$، ندارند.

1- Parallel 2- Antiparallel 3- Complementary

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۱۰. رشته‌های مکمل در مارپیچ دورشته‌ای DNA. رشته‌های مکمل، موازی ناهمسو DNA که از قواعد جفت‌شدن واتسون و کریک پیروی می‌کنند. رشته‌های جفت‌شده موازی ناهمسو از نظر ترکیب بازی متفاوتند: رشته سمت چپ دارای ترکیب $A_3T_2G_1C_3$ بوده و رشته سمت راست ترکیب $A_2T_3G_3C_1$ را دارد. وقتی این رشته‌ها در جهت ′۵ به ′۳ خوانده شوند، از نظر توالی نیز با یکدیگر متفاوت خواهند بود. به برابری بازها در مارپیچ توجه کنید: A=T و G=C.

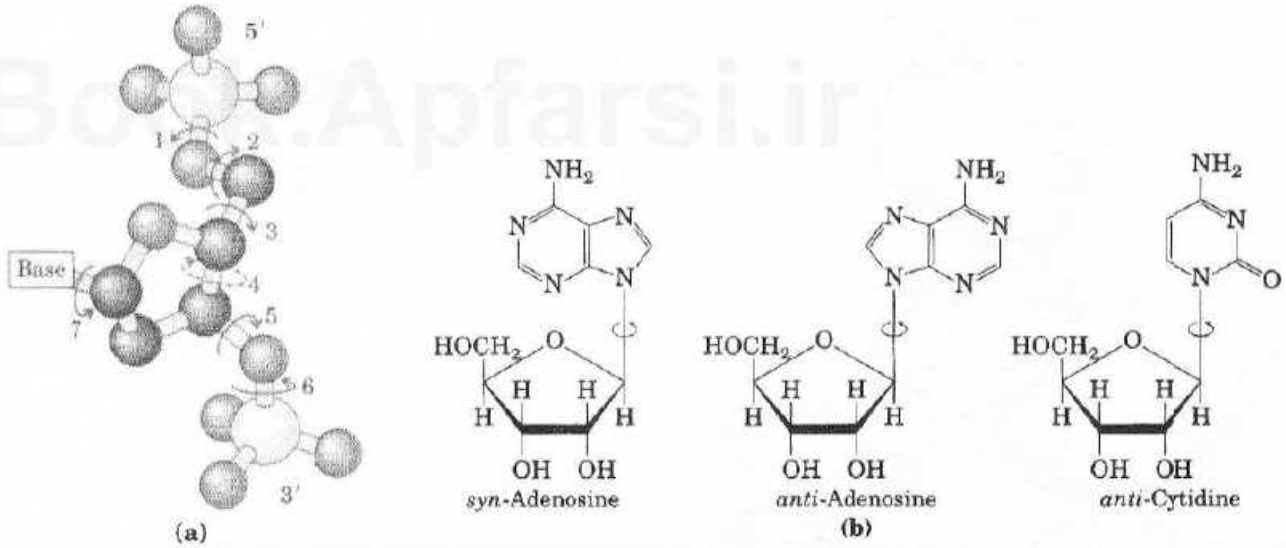


شکل ۱۷-۱۰. همانندسازی DNA طبق نظریه واتسون و کریک. رشته‌های ابتدایی یا مادری از یکدیگر جدا شده و هر رشته به عنوان قالبی برای سنتز رشته مکمل دختر به‌کار می‌رود.

تنوع ساختمانی DNA سه موضوع، شامل کونفورماسیون‌های مختلف ممکن داکسی‌ریبوز، چرخش حول پیوندهای ایجادکننده اسکلت فسفوداکسی‌ریبوز (شکل ۱۰-۱۸a) و چرخش آزاد حول پیوند ′C1-*N*-گلیکوزیل (شکل ۱۰-۱۸b)، را مطرح می‌نماید. بخاطر فشارهای فضایی، پورین‌های موجود در نوکلئوتیدهای پورینی، نسبت به داکسی‌ریبوز، می‌توانند به دو کونفورماسیون پایدار، بنامهای syn و anti وجود داشته باشند (شکل ۱۰-۱۸b). پیریمیدین‌ها به علت وجود تداخل‌های فضایی بین قند و اکسیژن کربونیل در کربن ۲ پیریمیدین، عموماً دارای کونفورماسیون anti می‌باشند.

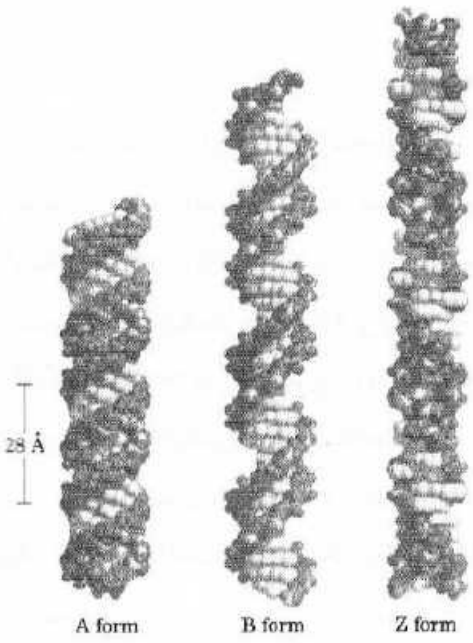
به ساختمان واتسون-کریک، **DNA شکل B** یا B-DNA نیز اتلاق می‌گردد. تحت شرایط فیزیولوژیک، شکل B پایدارترین ساختمان برای یک ملکول DNA با توالی اتفاقی بوده و بنابراین در مطالعه ویژگی‌های DNA، به عنوان مرجع مقایسه مورد استفاده قرار می‌گیرد. **اشکال A** و **Z**، دو شکل دیگر ساختمانی هستند که ساختمان کریستالی آنها

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۸-۱۰. تنوع ساختمانی در DNA. (a) کونفورماسیون یک نوکلئوتید در DNA تحت اثر چرخش حدود هفت پیوند مختلف می‌باشد. شش تا از پیوندها دارای چرخش آزاد می‌باشند. محدودیت چرخش حول پیوند ۴ منجر به چروکیدگی حلقه می‌گردد که در آن یکی از اتم‌های موجود در حلقه پنج اتمی فورانوز در خارج صفحه چهار اتم دیگر قرار می‌گیرد. برحسب اینکه این اتم در همان سمت صفحه C-5 قرار داشته و یا در سمت مخالف آن می‌باشد، آندو یا اگزو نامیده می شود (شکل ۱۰-۳b را نیز مشاهده نمائید). **(b)** در مورد چهار باز موجود در نوکلئوتیدها، تنها دو کونفورماسیون موردنظر syn و anti، در ارتباط با آرایش فضایی باز نسبت به واحد قندی وجود دارد. پیریمیدین‌ها عموماً با کونفورماسیون anti دیده می‌شوند.

	شکل A	شکل B	شکل Z
چرخش مرپیچ	راست‌گردان	راست‌گردان	چپ‌گردان
قطر	~ ۲۶ Å	~ ۲۰ Å	~ ۱۸ Å
جفت بازهای موجود در هر چرخش مارپیچ	۱۱	۱۰/۵	۱۲
افزایش طول مارپیچ به ازاء هر جفت باز	۲/۶ Å	۳/۴ Å	۳/۷ Å
زاویه انحراف هر باز نسبت به محور مارپیچ	۲۰°	۶°	۷°
کونفورماسیون چروکیده قند	کربن ´۳ آندو	کربن ´۲ آندو	کربن ´۲ آندو برای پیریمیدین‌ها؛ کربن ´۳ آندو برای پورین‌ها
کونفورماسیون پیوند گلیکوزیل	anti	anti	anti برای پیریمیدین‌ها؛ syn برای پورین‌ها



شکل ۱۹-۱۰. مقایسه اشکال A، B و Z ملکول DNA. هر کدام از ساختمان‌هایی که در اینجا نشان داده شده‌اند، دارای ۳۶ جفت باز هستند. بازها به رنگ سفید، اتم‌های فسفات برنگ زرد و اکسیژن‌های فسفات و ریبوزها بر رنگ آبی نمایش داده شده‌اند. رنگ آبی، رنگ استاندارد برای نمایش رشته‌های DNA در فصول قبلی مورد استفاده قرار گرفته است. بعضی از خصوصیات این سه شکل DNA در جدول خلاصه شده است.

بخوبی مشخص شده است. این سه کونفورماسیون DNA، همراه با خلاصه‌ای از خصوصیات آنها در شکل ۱۹-۱۰ نشان داده شده‌اند. در بسیاری از محلول‌هایی که نسبتاً تهی از آب هستند، شکل A ترجیح داده می‌شود. این شکل DNA به شکل مارپیچ دوتایی راست‌گردان می‌باشد، ولی مارپیچ آن پهن‌تر بوده و بجای ۱۰/۵ جفت باز موجود در هر چرخش مارپیچ B-DNA، ۱۱ جفت باز

Book.Apfarsi.ir

وجود دارد. صفحه جفت‌های بازی در A – DNA حدود °۲۰ نسبت به محور مارپیچ کج شده است. این تغییرات ساختمانی سبب عمیق‌ترشدن دهانه اصلی و کم‌عمق‌ترشدن دهانه فرعی می‌گردد. معرف‌هایی که برای تسهیل تبدیل DNA به کریستال به‌کار می‌روند، اغلب تمایل به دهیدراته‌نمودن آن دارند، ازاینرو اکثر ملکول‌های کوتاه DNA به شکل A کریستالی می‌گردند.

DNA شکل Z دارای ساختمان بسیار متفاوتی از B-DNA است و واضح‌ترین تفاوت آن، چرخش چپ‌گرد مارپیچ Z-DNA می‌باشد. در هر چرخش مارپیچ، ۱۲ جفت باز وجود داشته و ساختمان آن باریکتر و بلندتر به‌نظر می‌رسد. اسکلت این DNA دارای ظاهر زیگزاگی است. بعضی از توالی‌های نوکلئوتیدی تمایل بیشتری برای ایجاد مارپیچ‌های چپ‌گردان Z دارند. از نمونه‌های برجسته می‌توان به توالی‌هایی اشاره نمود که به‌طور یک در میان دارای بازهای پورینی و پیریمیدینی، بخصوص ریشه‌های یک در میان C و G یا 5 – methyl – C و G، هستند. برای تشکیل مارپیچ چپ‌گردان در Z – DNA، ریشه‌های پورین به حالت syn قرار گرفته و پیریمیدین‌های موجود در لابلای آنها، کونفورماسیون anti می‌گیرند. در Z-DNA، دهانه اصلی به‌صورت عریان آشکار بوده و دهانه فرعی باریک و عمیق می‌باشد.

وجود A – DNA در داخل سلول نامشخص بوده ولی شواهدی مبنی بر وجود قطعات کوتاه[1] Z – DNA در پروکاریوت‌ها و اوکاریوت‌ها وجود دارد. ممکن است این قطعات نقش مهمی را در تنظیم بیان بعضی از ژن‌ها و یا در نوترکیبی ژنی بازی نمایند.

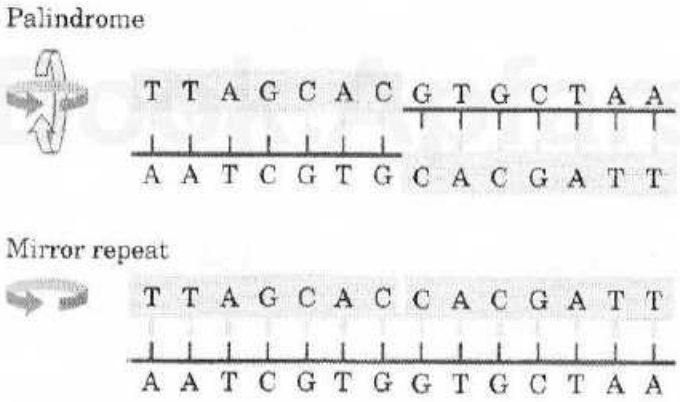
بعضی از توالی‌های DNA ساختمان‌های غیرمعمول اتخاذ می‌نمایند

انواع دیگری از ساختمان‌های DNA در داخل کروموزوم‌های بزرگتر یافت شده است که وابسته به توالی آنها بوده و ممکن است بر روی عملکرد و متابولیسم قطعات DNA موجود در مجاورت خود اثر بگذارند. برای مثال، وقتی تعداد چهار یا تعداد بیشتری ریشه آدنوزین در مارپیچ DNA وجود دارد، خمیدگی ایجاد می‌شود. وجود شش ریشه آدنوزین پشت‌سرهم منجر به خمیدگی در حدود °۱۸ می‌گردد. خمیدگی حاصل از این توالی‌ها یا سایر توالی‌ها، ممکن است در اتصال بعضی پروتئین‌ها به DNA مهم باشند.

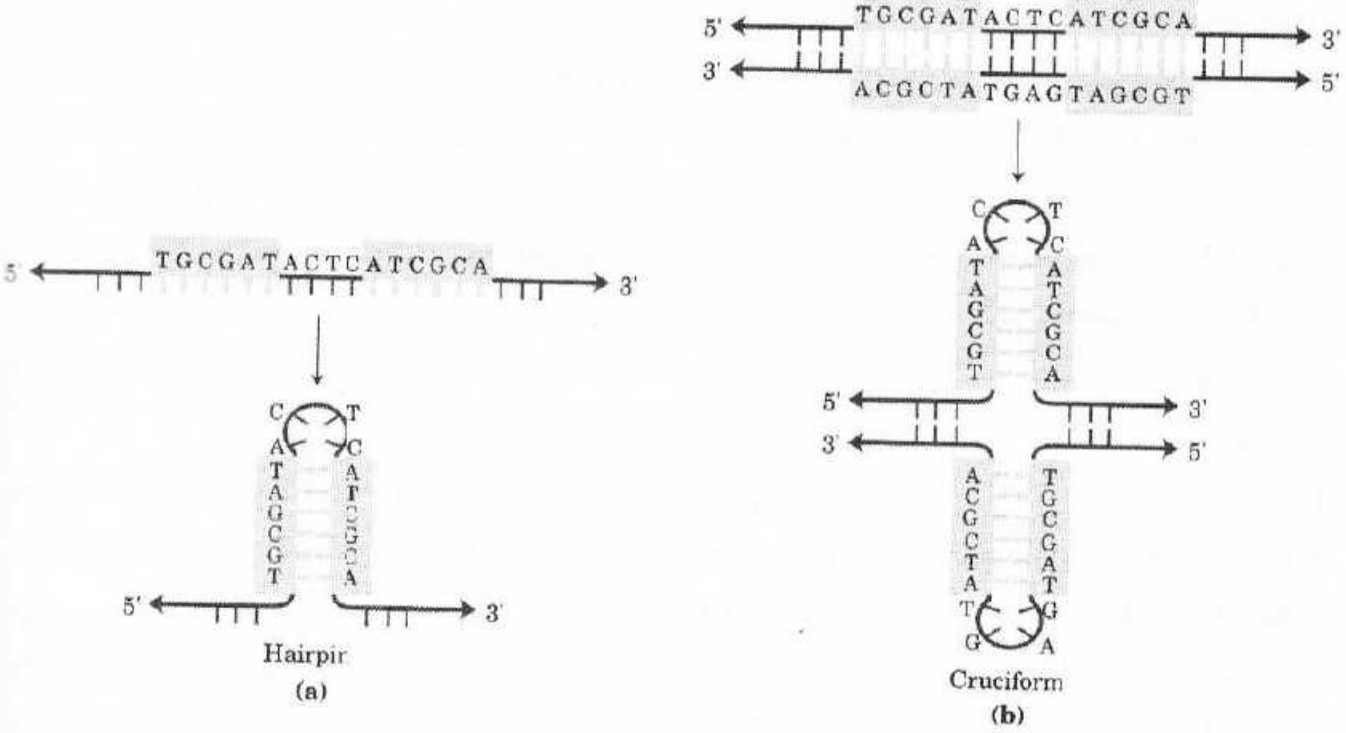
یک نوع نسبتاً معمول توالی DNA، توالی **پالیندروم**[2] می‌باشد. پالیندروم کلمه، عبارت و یا جمله‌ای، نظیر ROTATOR و NURSES RUN، می‌باشد که هجی یکسانی از هر طرف دارد. این اصطلاح به نواحی از DNA با **تکرارهای معکوس**[3] از توالی بازی اتلاق می‌شود که بر روی هر دو رشته DNA دارای تقارن دوطرفه می‌باشند (شکل ۲۰–۱۰). به طوری که در داخل هر رشته DNA، این توالی‌ها مکمل یکدیگر بوده و می‌توانند ایجاد ساختمان‌های سنجاقی[4] یا صلیبی[5] نمایند (شکل ۲۱–۱۰). در صورتی که توالی معکوس در هر رشته DNA وجود داشته باشد، به آن **تکرار آینه‌ای**[6] گویند. تکرارهای آینه‌ای فاقد توالی‌های مکمل در داخل زنجیر خود بوده و بنابراین قادر به ایجاد ساختمان‌های سنجاقی و یا صلیبی نمی‌باشند. این نوع توالی‌ها در ملکول‌های بسیار بزرگ DNA وجود داشته و می‌توانند شامل چند جفت باز تا هزاران جفت باز باشند. مشخص نمی‌باشد که چه میزانی از پالیندروم‌های موجود در سلول، ایجاد ساختمان‌های صلیبی می‌نمایند؛ هرچند، در *E. coli*، قدری ساختمان

1- Tract
2- Palindrome
3- Inverted repeat
4- Hairpin
5- Cruciform
6- Mirror Repeat

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۱۰. پالیندروم‌ها و تکرارهای آینه‌ای. پالیندروم‌ها توالی‌هایی در اسیدهای نوکلئیک دورشته می‌باشند که تقارن دوطرفه دارند. همان‌طور که با پیکان‌ها نشان داده شده است، برای اینکه یک توالی تکراری (توالی سایه‌دار) بر روی توالی دیگر قرار داده شود، لازم است حدود ۱۸۰° حول محور افقی و سپس ۱۸۰° درجه حول محور عمودی چرخش نماید. از طرفی دیگر، تکرار آینه‌ای دارای یک توالی متقارن در داخل هر زنجیر می‌باشد. قرارگیری یک تکرار بر روی دیگری تنها نیاز به یک چرخش ۱۸۰° حول محور عمودی دارد.



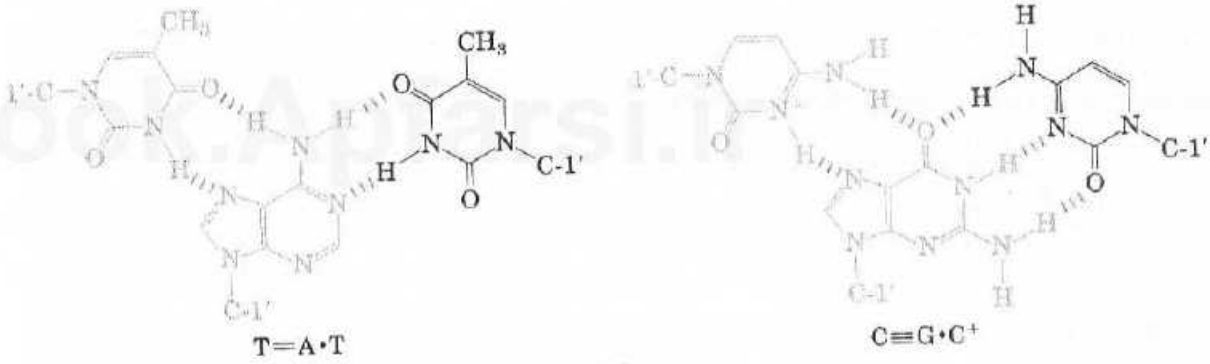
شکل ۲۱-۱۰. سنجاق‌ها و صلیب‌ها. توالی‌های پالیندرومی DNA (یا RNA) از طریق تشکیل جفت باز درون‌زنجیری، می‌توانند ساختمان‌های مختلفی را ایجاد نمایند. **(a)** وقتی تنها یک رشته DNA (یا RNA) در این ساختمان شرکت دارد، به آن سنجاق گویند. **(b)** ولی وقتی هر دو رشته ملکول DNA دورشته‌ای شرکت دارند، به آن صلیب گفته می‌شود. سایه، توالی‌های نامتقارنی را نشان می‌دهد که می‌توانند با توالی‌های مکمل موجود در همان رشته و یا رشته مکمل ایجاد جفت باز نمایند.

صلیبی یافت شده است. وجود توالی‌های خود-مکمل[1] سبب می‌گردد تا تک رشته‌های جداشده DNA (یا RNA) موجود در محلول ایجاد ساختمان‌های پیچیده حاوی سنجاق‌های متعدد نمایند.

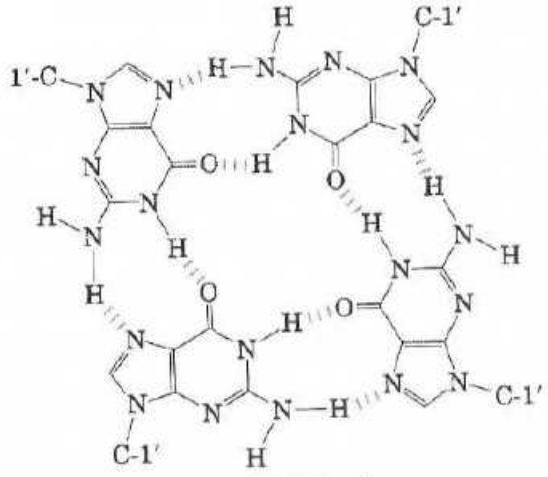
چندین ساختمان غیرمعمول DNA وجود دارد که در ایجاد آنها سه و یا حتی چهار رشته نقش دارند. این ساختمان‌ها مورد توجه محققین می‌باشند، زیرا بسیاری از آنها در محل‌هایی ظاهر می‌شوند که حوادث مهم متابولیسم DNA (نظیر همانندسازی، نوترکیبی و رونویسی) شروع و یا تنظیم می‌گردند. نوکلئوتیدهای شرکت‌کننده در ایجاد جفت بازهای واتسون - کریک (شکل ۱۱-۱۰) قادر به ایجاد پیوندهای هیدروژنی دیگر، بخصوص با گروه‌های عامل موجود در دهانه اصلی، می‌باشند. برای مثال، یک ریشه سیتیدین (در صورت

1- Self-complementary

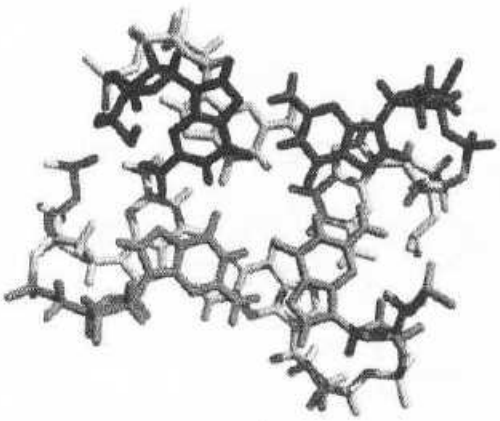
Book.Apfarsi.ir



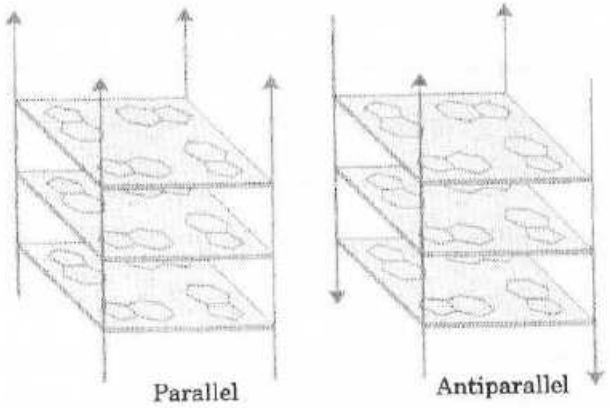
(a)



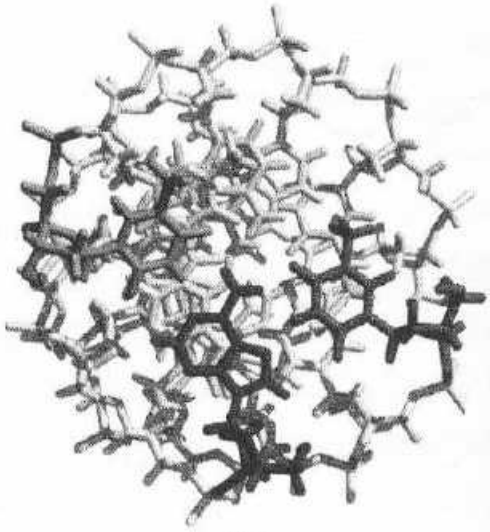
(c)



(d)



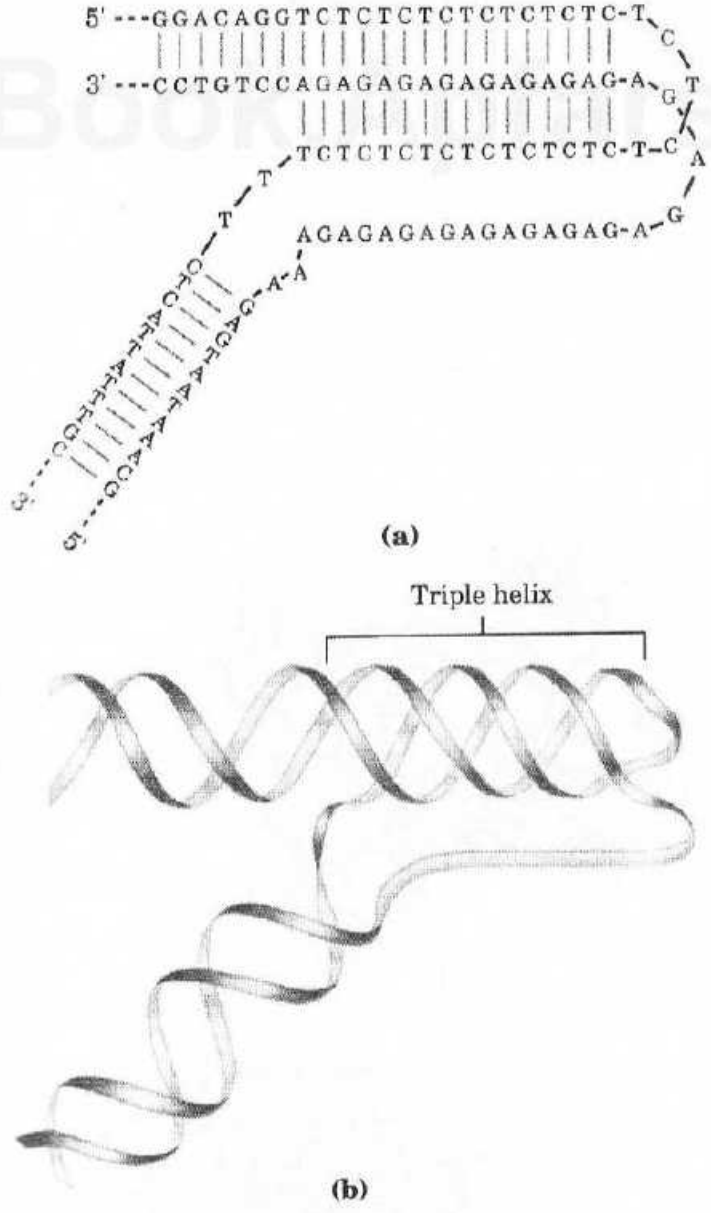
(e)



(b)

شکل ۲۲-۱۰. ساختمان‌های DNA دارای سه یا چهار رشته DNA. (a) الگوهای ایجاد جفت‌های بازی در یک شکل شناخته‌شده DNA سه‌رشته. (b) ملکول مارپیچی سه‌رشته‌ای DNA حاوی دو رشته پیریمیدینی (پلی T) و یک رشته پورینی (پلی A). رشته‌های آبی پرنگ و آبی کمرنگ موازی ناهمسو بوده و توسط الگوهای جفت-بازی واتسون - کریک به هم مرتبط می‌باشند. رشته سوم (همه پیریمیدین) ارغوانی رنگ موازی رشته پورینی بوده و از طریق پیوندهای هیدروژنی غیر- واتسون - کریک جفت می‌شود. این ملکول سه‌رشته‌ای از انتها و با پنج ترکیب سه‌تایی نشان داده شده است. تنها ترکیب سه‌تایی که به ناظر نزدیکتر است، رنگی می‌باشد. (c) الگوی ایجاد جفت باز در ساختمان چهاررشته‌ای گوانوزین. (d) دو ترکیب چهارتایی (Tetraplet) متوالی ایجاد یک ساختمان چهاررشته G می‌نمایند. (e) انواع ممکن یک ملکول چهار رشته G براساس جهت رشته‌ها.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۱۰. H-DNA. یک توالی یک در میان ریشه‌های T و C را می‌توان به‌صورت یک توالی تکرار آینه‌ای در نظر گرفت که در مرکز آن یک ریشه T یا C وجود دارد **(a)**. این توالی‌ها ایجاد یک ساختمان غیر طبیعی می‌نمایند که در آن رشته‌های موجود در یک نیمه توالی تکراری آینه‌ای جدا شده و رشته حاوی پیریمیدین (ریشه‌های یک در میان T و C) بر روی نیمه دیگر تکراری تاشده و ایجاد یک ملکول سه رشته‌ای می‌نماید **(b)**. رشته پورینی (ریشه‌های یک در میان A و G) جفت‌نشده باقی می‌ماند. این ساختمان ایجاد یک خم تیز در این DNA می‌نماید.

پروتونه‌شدن) می‌تواند با ریشه گوانوزین ایجاد جفت باز G≡C نموده و به همین ترتیب یک تیمیدین با آدنوزین تشکیل جفت باز A=T دهد (شکل ۲۲-۱۰). به افتخار کارست هوگستین[1] که اولین بار در سال ۱۹۶۳، پتانسیل ایجاد این جفت‌های غیرمعمول را شناسایی نمود، اتم‌های پورینی شرکت‌کننده در ایجاد پیوند هیدروژنی DNA سه‌رشته[2]، شامل N-7، O^6 و N^6، را اغلب **موقعیت‌های هوگستین** و جفت بازهای غیر-واتسون - کریک حاصل را **جفت‌های هوگستین** می‌نامند. وجود جفت‌بازهای هوگستین، امکان تشکیل ملکول‌های **DNA سه‌رشته** را فراهم می‌آورد. از آنجایی‌که ایجاد ترکیب سه‌تایی[3] $C{\equiv}G.C^+$ نیاز به سیتوزین پروتونه دارد، ملکول‌های DNA سه‌رشته (شکل ۲۲a-۱۰) در pH پایین بیشترین پایداری را دارند. در این ملکول سه‌تایی، pK_a سیتوزین از مقدار طبیعی ۴/۲ تغییر نموده و به بیش از ۷/۵ می‌رسد. همچنین این ملکول‌ها بسادگی در توالی‌های طولانی ایجاد می‌گردند که در یک رشته خاص تنها پورین‌ها و یا پیریمیدین‌ها را دارند. تعدادی از ملکول‌های سه‌رشته DNA از دو رشته پیریمیدینی و یک رشته پورینی تشکیل شده و تعدادی دیگر دارای دو رشته پورینی و یک رشته پیریمیدینی هستند.

چهار رشته DNA نیز می‌توانند بایکدیگر جفت شده و ایجاد DNA چهاررشته‌ای[4] نمایند. ولی این شکل تنها در توالی‌های DNA دارای نسبت بالای ریشه‌های گوانوزین، بسادگی قابل تشکیل می‌باشد (شکل ۲۲c,d-۱۰). **چهاررشته G** یا گوانوزینی در شرایط بسیار متفاوت، کاملاً پایدار می‌باشد. همانطور که در شکل ۲۲e-۱۰ نشان داده شده است، جهت‌گیری رشته‌های موجود در چهاررشته می‌تواند متفاوت باشد.

در قطعات کوتاه پلی‌پیریمیدینی یا پلی‌پورینی، یک ساختمان خاص خارجی DNA، بنام **H-DNA**، یافت می‌شود که یک تکرار آینه‌ای نیز دارد. مثال ساده این ملکول، قطعه طویلی از ریشه‌های یک در میان T و C می‌باشد

1- Karst Hoogsteen 2- Triplex DNA 3- Triplet 4- Tetraplex (Quadruplex)

Book Anfarsi.ir

(شکل ۲۳-۱۰). خصوصیات ساختمانی H-DNA در شکل سه‌رشته‌ای شرح‌داده شده در شکل ۲۲a,b-۱۰، نمایان می‌باشد. دو تا از این سه رشته موجود در مارپیچ سه‌رشته‌ای H-DNA، حاوی پیریمیدین بوده و رشته سوم محتوی پورین می‌باشد.

در ملکول DNA موجود در داخل سلول‌های زنده، محل‌هایی که توسط بسیاری از پروتئین‌های اتصالی DNA با ویژگی توالی (فصل ۲۸) شناسایی می‌گردند. به شکل پالیندروم آرایش یافته و توالی‌های پلی‌پیریمیدینی یا پلی‌پورینی ایجادکننده مارپیچ‌های سه‌رشته‌ای یا حتی H-DNA، در داخل نواحی یافت می‌شوند که در تنظیم بیان بعضی از ژن‌های اوکاریوتی نقش دارند. اصولاً، رشته‌های DNA سنتزشده با این توالی‌ها جفت شده و با ایجاد ملکول DNA سه‌رشته، سبب قطع بیان ژن می‌شوند. این روش کنترل متابولیسم سلولی بخاطر داشتن کاربرد در پزشکی و کشاورزی، اهمیت رو به افزایشی در تجارت پیدا نموده است.

ملکول‌های RNA پیک زنجیرهای پلی‌پپتیدی را کد می‌نمایند

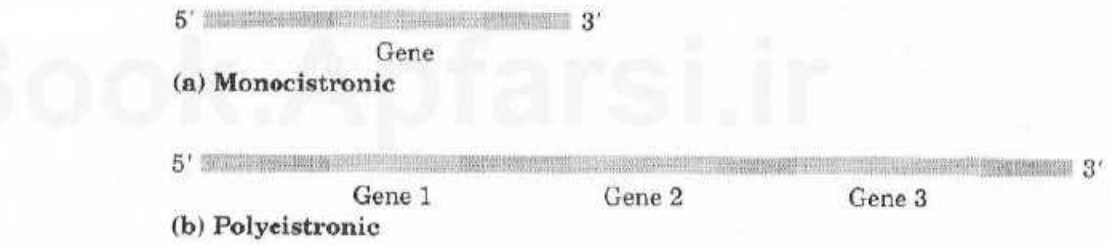
حال به‌طور خلاصه توجه خود را از ساختمان DNA به بیان اطلاعات ژنتیکی موجود در آن معطوف می‌نماییم. ملکول RNA، به عنوان دومین شکل اصلی اسیدهای نوکلئیک موجود در داخل سلول، دارای اعمال متعددی است. در بیان ژن، ملکول RNA به عنوان یک ترکیب واسط عمل می‌نماید که با استفاده اطلاعات کدشده در DNA، توالی اسید آمینه‌ای یک پروتئین وظیفه‌دار را تعیین می‌نماید.

با توجه به اینکه قسمت اعظم DNA اوکاریوت‌ها در داخل هسته قرار داشته ولی سنتز پروتئین بر روی ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی به انجام می‌رسد، نیاز به ملکول دیگری غیر از DNA می‌باشد تا پیام ژنتیکی را از هسته به سیتوپلاسم منتقل نماید. در دهه ۱۹۵۰، RNA به عنوان نامزد منطقی مطرح شد: RNA در هر دو قسمت هسته‌ای و سیتوپلاسمی وجود داشته و افزایش سنتز پروتئین همراه با افزایش میزان RNA سیتوپلاسمی و افزایش سرعت نوسازی آن است. این شواهد و سایر مشاهدات سبب شد تا بسیاری از محققین ملکول RNA را به عنوان حامل اطلاعات ژنتیکی از DNA به ماشین بیوسنتز پروتئین یا ریبوزوم، مطرح نمایند. در سال ۱۹۶۱، فرانکوئیس ژاکوب[1] و ژاکوس مونود[2] سیمای واحدی (و صحیحی) در مورد بسیاری از ویژگی‌های این فرایند ارائه دادند. آنها نام RNA پیک (mRNA) را برای قسمتی از کل ملکول‌های RNA سلولی در نظر گرفتند که اطلاعات ژنتیکی را از DNA به ریبوزوم‌ها منتقل نموده و در آنجا به عنوان قالبی برای تعیین توالی‌های آمینو اسیدی زنجیر پلی‌پپتیدی به‌کار می‌روند. هرچند ملکول‌های mRNA ژن‌های مختلف ممکن است از نظر طول تفاوت زیادی با یکدیگر داشته باشند، ملکول‌های mRNA یک ژن خاص عموماً دارای اندازه مشخصی هستند. فرایند ایجاد mRNA از قالب DNA را رونویسی گویند.

در پروکاریوت‌ها ممکن است یک ملکول واحد mRNA، یک یا چند زنجیر پلی‌پپتیدی را کد نماید. در صورتی که mRNA تنها یک زنجیر پلی‌پپتیدی را کد نماید، به آن **منوسیسترونی**[3] گویند، در حالی که اگر دو یا چند پلی‌پپتید مختلف توسط ملکول mRNA کد گردد، به آن **پلی‌سیسترونی**[4] اتلاق می‌گردد. در اوکاریوت‌ها، اکثر ملکول‌های mRNA از نوع منوسیسترونی می‌باشند. (برای اهداف این بحث، «سیسترون» به معنی «ژن» است. این اصطلاح

1- Francois Jacob 2- Jacques Monod 3- Monocistronic 4- Polycistronic

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۴-۱۰ [شکل ۲۹ ضمیمه رنگی]. ملکول mRNA پروکاریوتی. اشکال شماتیک ملکول‌های mRNA منوسیسترونی (a) و پلی‌سیسترونی (b) پروکاریوت‌ها را نشان می‌دهد. قطعات قرمز، RNA کدکننده یک محصول ژنی و قطعات خاکستری نیز RNA غیرکدکننده را نشان می‌دهند. در رونوشت پلی‌سیسترونی، RNA غیرکدکننده سه ژن را جدا می‌نماید.



شکل ۲۵-۱۰. الگوی شاخص ملکول RNA تک‌رشته‌ای راست‌گردان فشرده.

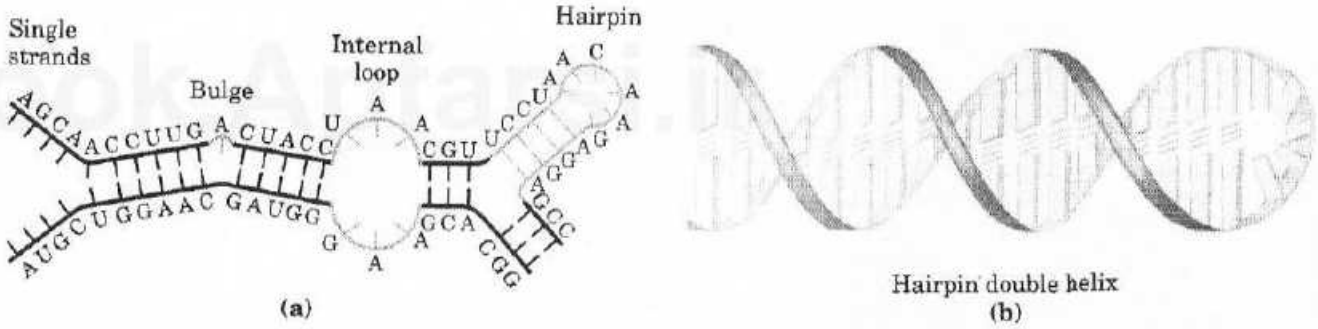
دارای ریشه‌های تاریخی در علم ژنتیک بوده و تعریف ژنتیکی قبلی آن، فراتر از این کتاب می‌باشد.) حداقل طول یک ملکول mRNA توسط طول زنجیر پلی‌پپتیدی کدشونده توسط آن تعیین می‌گردد. برای مثال، پلی‌پپتیدی با ۱۰۰ ریشه اسید آمینه، نیاز به توالی کدکننده با حداقل ۳۰۰ نوکلئوتید در RNA می‌باشد، زیرا هر اسید آمینه توسط یک ترکیب سه‌نوکلئوتیدی کد می‌گردد (این موضوع و سایر جزئیات سنتز پروتئین در فصل ۲۷ بحث می‌شود). هرچند ملکول‌های mRNA که از DNA رونویسی می‌شوند، همیشه قدری بزرگتر از طول لازم برای کدنمودن توالی (یا توالی‌های) پلی‌پپتیدی است. این توالی‌های اضافی غیرکدکننده RNA، نقش تنظیمی در سنتز پروتئین دارند. ساختمان عمومی ملکول‌های mRNA پروکاریوتی در شکل ۲۴-۱۰ خلاصه شده است.

بسیاری از ملکول‌های RNA دارای ساختمان سه‌بعدی پیچیده‌تری هستند

RNA پیک تنها یکی از چندین کلاس RNA سلولی است. ملکول‌های RNA ناقل به عنوان ملکول‌های تطبیق‌دهنده در سنتز پروتئین شرکت می‌نمایند؛ این ملکول‌ها از یک طرف به‌طور کووالان به یک اسید آمینه اتصال یافته‌اند و از طرف دیگر به شکلی با mRNA جفت می‌گردند که اسید آمینه را در توالی صحیح پلی‌پپتید در حال رشد قرار می‌دهند. ملکول‌های RNA ریبوزومی، اجزاء ساختمانی ریبوزوم هستند. بعلاوه انواع متنوع دیگری از ملکول‌های RNA با عملکرد اختصاصی وجود دارد که بعضی از آنها (بنام ریبوزیم) فعالیت آنزیمی دارند. جزئیات تمامی این مطالب در فصل ۲۶ آمده است. این اعمال متنوع و اغلب پیچیده ملکول‌های RNA، انعکاسی از تنوع ساختمانی بیشتر ملکول‌های RNA در مقایسه با ملکول‌های DNA می‌باشد.

محصول رونویسی DNA همواره یک ملکول تک رشته RNA است. این تک رشته تمایل به داشتن کونفورماسیون مارپیچی راست‌گردان داشته که همراه با واکنش‌های تراکم بازی است (شکل ۲۵-۱۰) که خود بین دو پورین، در مقایسه با حالت بین یک پورین و یک پیریمیدین یا بین دو پیریمیدین، قویتر می‌باشد. واکنش متقابل بین پورین - پورین آنقدر قوی است که پیریمیدین جداکننده دو پورین اغلب از الگوی فشردگی خارج شده تا دو پورین

Book.Apfarsi.ir



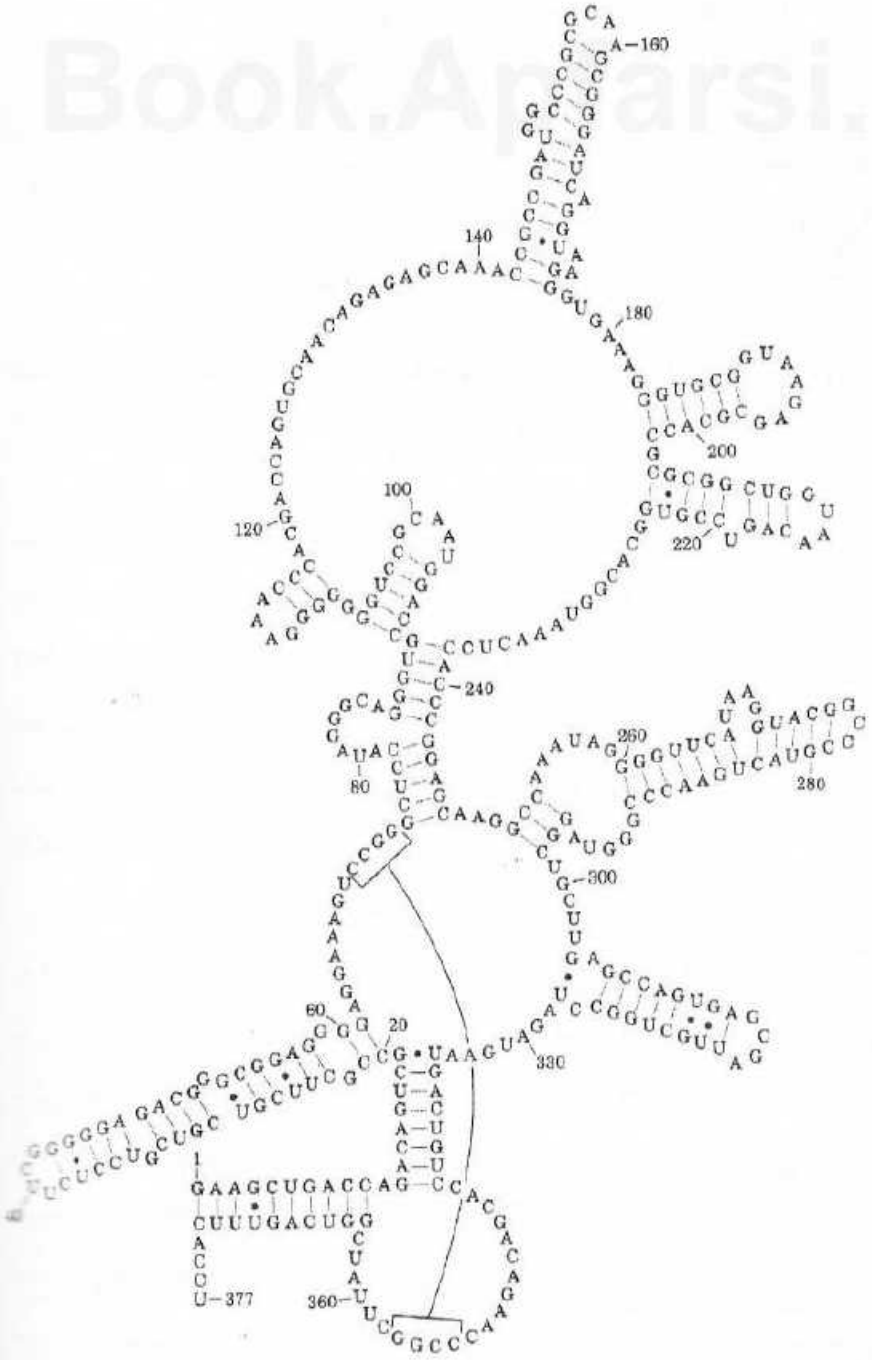
شکل ۲۶-۱۰. ساختمان دوم ملکول‌های RNA. (a) تحدب (Bulge)، قوس داخلی و قوس سنجاقی. همانطور که برای یک سنجاق نشان داده شده است ، نواحی جفت‌شده عموماً به شکل مارپیچ راست‌گردان A می‌باشند(b).

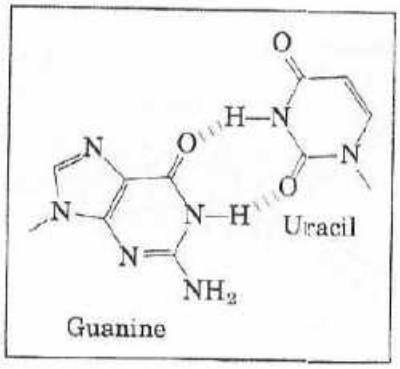
بتوانند با یکدیگر واکنش نمایند. وجود هر نوع توالی مکمل در ملکول سبب ایجاد ساختمان‌های پیچیده‌تر می‌گردد. RNA می‌تواند با نواحی مکمل موجود در RNA یا DNA ایجاد جفت باز نماید. ایجاد این جفت‌های بازی از الگوی DNA پیروی می‌نماید: G با C و A با U (یا ریشه T که به‌طور اتفاقی در بعضی از ملکول‌های RNA وجود دارد) جفت می‌گردد. یک تفاوت این است که ایجاد جفت باز بین G و U (غیرمعمول در DNA) در RNA نسبتاً معمول می‌باشد (شکل ۲۷-۱۰ را ببینید). همانند DNA، رشته‌های جفت‌شده در ملکول‌های دو رشته RNA یا RNA-DNA موازی و ناهمسو هستند.

RNA فاقد ساختمان دوم منظم ساده است تا بتواند به عنوان نقطه مرجع ، همانند مارپیچ دوتایی DNA، به‌کار رود. ساختمان‌های سه‌بعدی بسیاری از ملکول‌های RNA، همانند ساختمان پروتئین‌ها ، پیچیده و بی‌همتا می‌باشند. واکنش‌های متقابل ضعیف ، بخصوص واکنش‌های تراکم بازی ، همانند نقش آنها در ساختمان DNA، نقش مهمی را در تثبیت ساختمان ملکول‌های RNA دارند. در محل‌های وجود توالی‌های مکمل ، ساختمان دو رشته‌ای غالب از نوع مارپیچ دو رشته‌ای راست‌گردان شکل A می‌باشد. مارپیچ‌های شکل Z در داخل آزمایشگاه (تحت شرایط املاح بسیار بالا و دمای بالا) ساخته شده است. شکل B ملکول RNA تاکنون مشاهده نشده است. قطع مارپیچ منظم شکل A در اثر عدم تطابق یا تطابق ناسازگار بازها در یک یا هر دو رشته معمول بوده و منجر به ایجاد برآمدگی‌ها یا قوس‌های داخلی می‌شود (شکل ۲۶-۱۰). قوس‌های سنجاقی بین توالی‌های تقریباً خود - مکمل تشکیل می‌شود. پتانسیل ایجاد ساختمان‌های مارپیچی جفت - باز در بسیاری از ملکول‌های RNA وسیع بوده (شکل ۲۷-۱۰) و قوس‌های حاصل معمول‌ترین نوع ساختمان ثانویه در RNA می‌باشند. اغلب توالی‌های بازی اختصاصی کوتاه (مثل UUCG) در انتهاهای قوس‌های RNA وجود داشته و در ایجاد قوس‌های محکم و پایدار نقش دارند. این توالی‌ها ممکن است به عنوان نقاط شروع خمیدگی ملکول RNA در ایجاد ساختمان سه‌بعدی دقیق عمل نمایند. پیوندهای هیدروژنی که جزء جفت‌های بازی واتسون - کریک نمی‌باشند ، عوامل مهم دیگر در ایجاد ساختمان‌های RNA هستند. برای مثال ، گروه ۲′- هیدروکسیل ریبوز می‌تواند با گروههای دیگر ایجاد پیوند هیدروژنی نماید. بعضی از این خصوصیات در ساختمان ملکول RNA ناقل فنیل‌آلانین در مخمر (tRNA مسئول قراردادن فنیل‌آلانین در داخل زنجیر پلی‌پپتیدی) و در دو آنزیم RNAای یا ریبوزیم ، که عملشان همانند آنزیم‌های پروتئینی وابسته به ساختمان‌های سه‌بعدی آنها می‌باشد ، مشاهده می‌گردد (شکل ۲۸-۱۰).

بررسی ساختمان RNA و ارتباط بین ساختمان و عملکرد آن ، میدان تحقیقی نوظهوری است که دارای بسیاری

Book.Apfarsi.ir



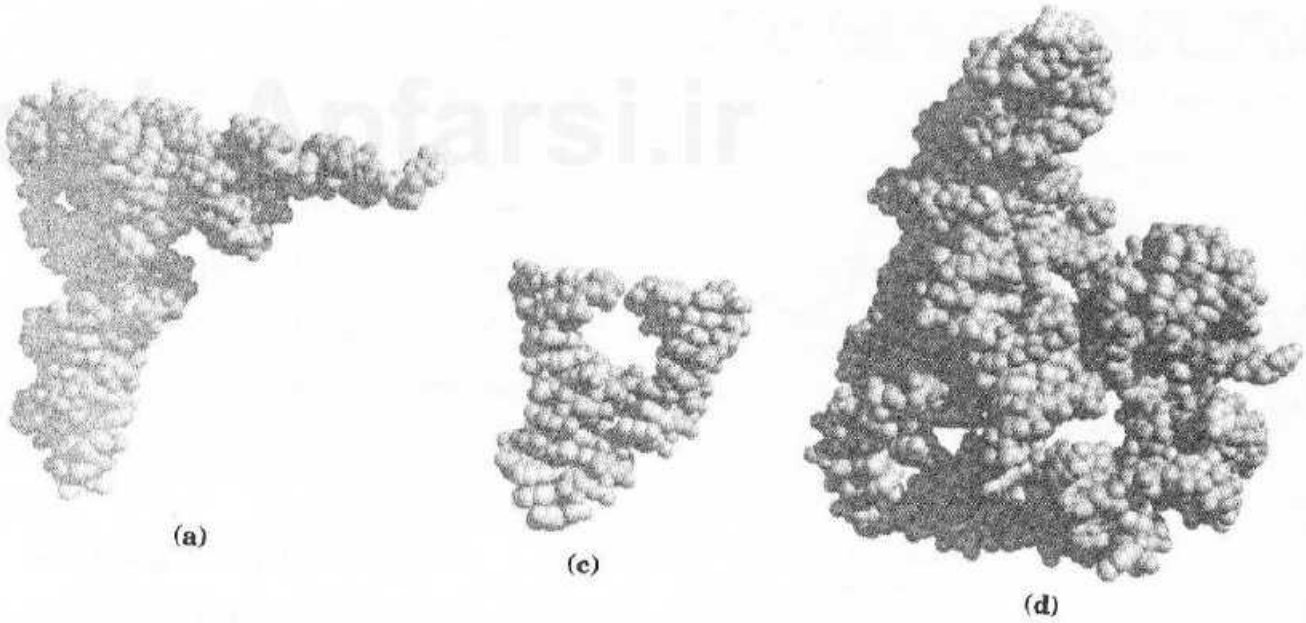


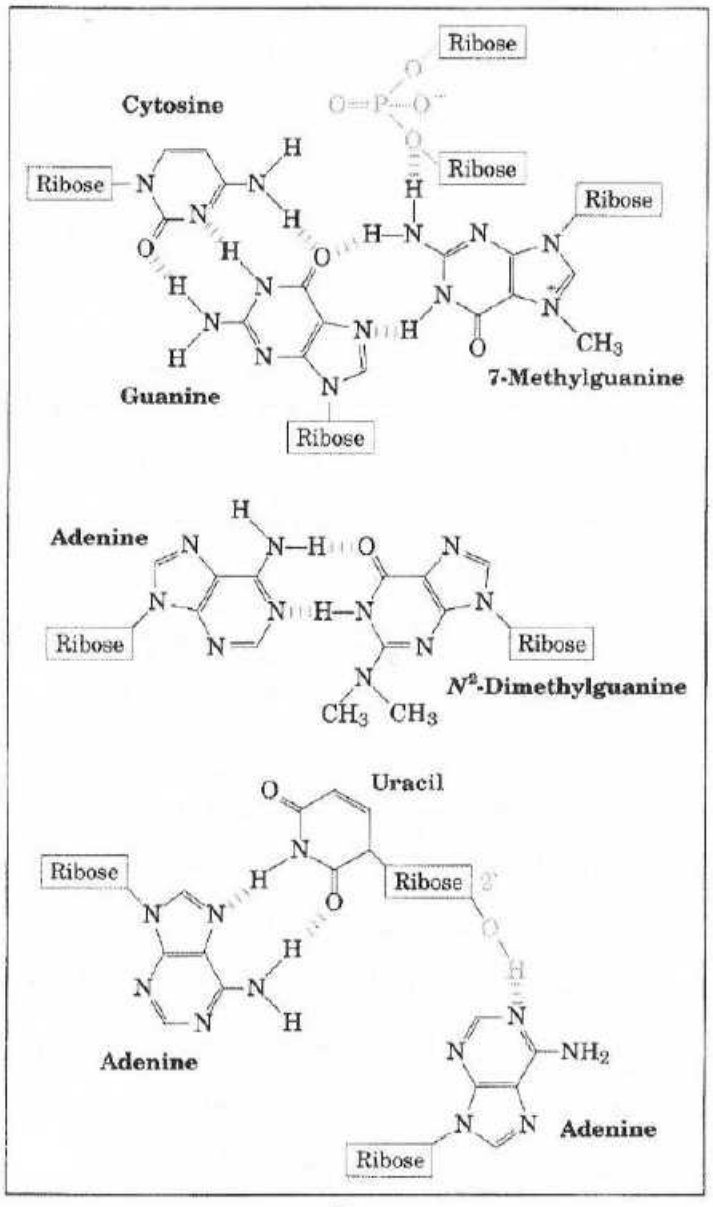
شکل ۲۷-۱۰. ساختمان‌های مارپیچی یک ملکول RNA که ایجاد جفت باز نموده است. شکلی که در اینجا نشان داده شده است ساختمان دوم احتمالی جزء M1 RNA آنزیم RNase P در *E. coli* می‌باشد که قوس‌های متعددی را دارد. RNase P که جزء پروتئینی نیز دارد (نشان داده نشده است)، در پردازش ملکول‌های RNA ناقل نقش دارد (فصل ۲۶).دو پرانتز موجود، توالی‌های مکمل دیگری را نشان می‌دهد که ممکن است در ساختمان سه‌بعدی با یکدیگر جفت شوند. نقاط جفت‌های بازی غیر - واتسون -کریک G = U را نشان می‌دهند. توجه داشته باشید که جفت‌های بازی G = U تنها زمانی تشکیل می‌شوند که رشته‌های ازقبل سنتزشده RNA خم شده تا با یکدیگر جفت گردند. در هنگام سنتز RNA، هیچ آنزیم RNA پلیمرازی وجود ندارد تا U را در مقابل G، یا برعکس، قرار دهد.

از پیچیدگی‌های مشابه بررسی ساختمان پروتئین می‌باشد. با افزایش آگاهی ما در مورد اعمال متعدد ملکول‌های RNA، اهمیت درک ساختمان RNA بیشتر می‌شود.

شیمی اسید نوکلئیک

برای درک نحوه عمل اسیدهای نوکلئیک، لازم است علاوه بر ساختمان، خصوصیات شیمیایی آنها را نیز بدانیم. نقش DNA به عنوان یک مخزن اطلاعات ژنتیک، تاحدودی بستگی به ثبات ذاتی آن دارد. در غیاب کاتالیزورهای آنزیمی، تغییرات شیمیایی عموماً به آهستگی رخ می‌دهند. هرچند، ذخیره طولانی‌مدت و بدون تغییر اطلاعات برای یک سلول آنقدر مهم می‌باشد که حتی واکنش‌های بسیار آهسته‌ای که سبب تغییر ساختمان DNA می‌گردند، ممکن است اهمیت فیزیولوژیک داشته باشند. فرایندهایی نظیر ایجاد سرطان و افزایش سن ممکن است نهایتاً ارتباطی با تغییرات غیرقابل‌برگشت و در حال افزایش DNA داشته باشند. تغییرات غیرتخریبی دیگری،



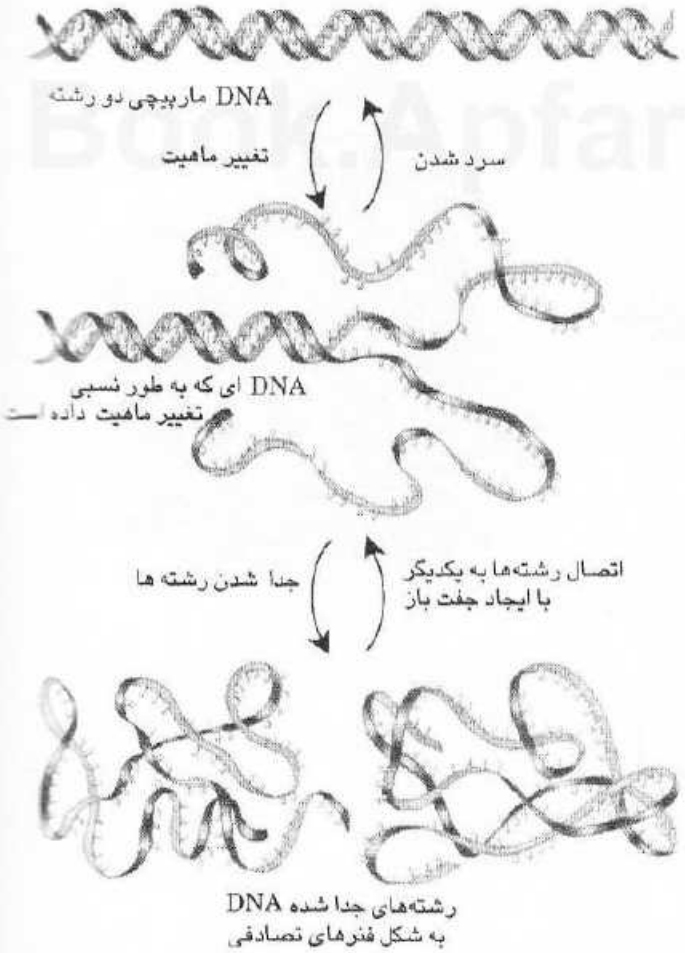


(b)

شکل ۲۸-۱۰. ساختمان سه‌بعدی در RNA. (a) ساختمان سه‌بعدی phenylalanine tRNA در مخمر. در این tRNA، چندین الگوی غیرمعمول ایجاد جفت باز وجود دارد. **(b)** به درگیری اکسیژن ریبوز موجود در یک پیوند فسفودی‌استری و گروه ´۲-هیدروکسیل ریبوز دیگر توجه نمایید. (c) یک ریبوزوم سرچکشی (بخاطر اینکه ساختمان دوم موجود در جایگاه فعال آنزیم به شکل سر یک چکش می‌باشد، به این نام خوانده می‌شود)، مشتق از بعضی از ویروس‌های گیاهی. ریبوزیم‌ها یا RNAهای آنزیمی، واکنش‌های مختلفی را، اساساً در متابولیسم RNA، کاتالیز می‌نمایند. همان‌طور که در مورد آنزیم‌های پروتئینی در فصل ۸ شرح داده شد، ساختمان‌های سه‌بعدی پیچیده این ملکول‌های RNA، انعکاسی از پیچیدگی فرایند کاتالیزی آنها می‌باشد. **(d)** قطعه‌ای از ملکول mRNA بنام اینترون، از تک یاخته مژکداری بنام *Tetrahymena thermophila*. این اینترون (یک ریبوزیم)، برش خود را از بین دو اگزون در یک رشته mRNA کاتالیز می‌نماید (اینترون‌ها و اگزون‌ها در فصل ۲۶ بحث می‌شوند).

Book.Apfarsi.ir

جداشدن رشته‌هایی که می‌بایست همانندسازی و یا رونویسی شوند، نیز ممکن است دیده شود. علاوه بر روشن‌نمودن فرایندهای فیزیولوژیک، دانش ما در مورد شیمی اسیدهای نوکلئیک، نقش مهمی را در ایجاد فن‌آوری‌های قوی دارد که در بیولوژی ملکولی، پزشکی و پزشکی قانونی به‌کار می‌روند. حال به بررسی خصوصیات شیمیایی DNA و تعدادی از این فن‌آوری‌ها می‌پردازیم.



شکل ۲۹-۱۰. تغییرماهیت و برگشت ماهیت (سردشدن) قابل‌برگشت DNA.

ملکول‌های DNA و RNA دورشته‌ای می‌توانند دناتوره شوند

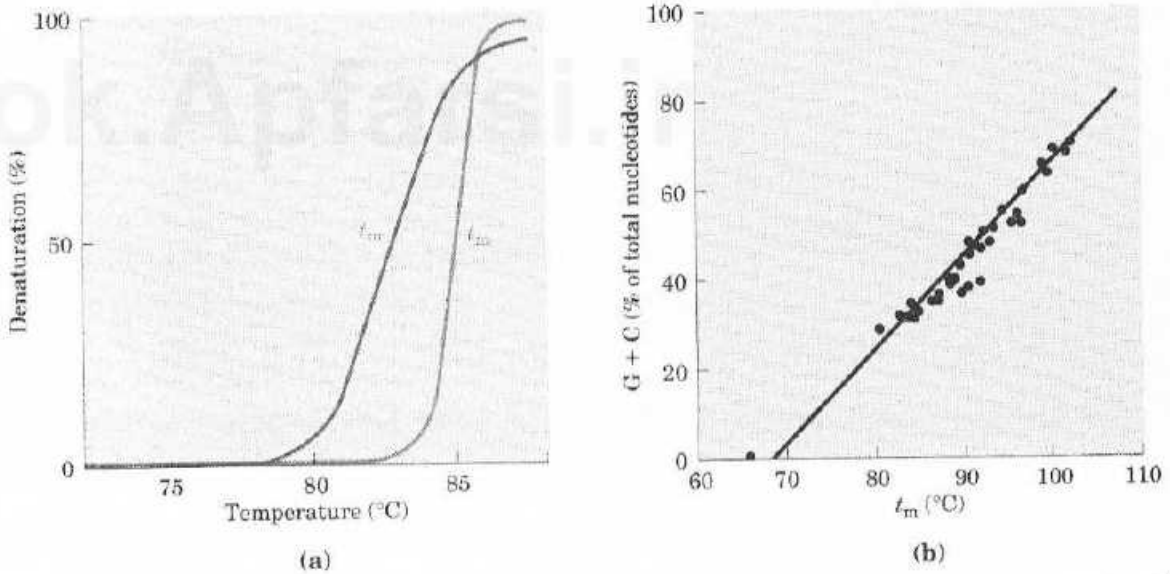
محلولهای DNA جداشده طبیعی در pH برابر ۷/۰ و در حرارت اتاق (۲۵°C) دارای ویسکوزیته بسیار بالائی هستند. وقتی این محلول‌ها در مقادیر pH بسیار بالا یا پایین و یا در حرارت‌های بیش از ۸۰°C قرار داده می‌شوند، به دلیل ایجاد یک تغییر فیزیکی در ساختمان DNA، ویسکوزیته آنها شدیداً کاهش می‌یابد. درست همانطوریکه حرارت و مقادیر pH بسیار بالا یا پایین سبب تغییر ماهیت یا دناتوراسیون[1] پروتئین‌های کروی می‌گردند، این شرایط سبب تغییر ماهیت یا ذوب‌شدن[2] مارپیچ دوتایی DNA می‌شوند. شکسته‌شدن پیوندهای هیدروژنی موجود در بین جفت‌های بازی و تراکم بازی، سبب بازشدن مارپیچ دوتایی و جداشدن کامل دو رشته در تمام و یا در قسمتی از طول (تغییر ماهیت نسبی) ملکول می‌گردد. طی این فرایند، هیچ پیوند کووالانی در DNA شکسته نمی‌شود (شکل ۲۹-۱۰).

تا زمانیکه هنوز قطعه‌ای از مارپیچ دوتایی با طول یک دوجین ریشه یا بیشتر به شکل جدانشده و دورشته‌ای است، برگشت ماهیت یا رناتوراسیون[3] سریع صورت می‌پذیرد. وقتی درجه حرارت یا pH به میزان قابل‌زیست برای اکثر موجودات برمی‌گردد، قطعات جداشده دو رشته به‌طور خودبخودی به هم متصل شده یا دوباره سردشده[4] تا ملکول دورشته‌ای سالم ایجاد گردد (شکل ۲۹-۱۰). هرچند، در صورتی که دو رشته به‌طور کامل از یکدیگر جدا شده باشند، برگشت ماهیت طی دو مرحله به انجام می‌رسد. در اولین مرحله که نسبتاً آهسته می‌باشد، دو رشته همدیگر را در اثر تصادم‌های اتفاقی پیدا نموده و ایجاد یک قطعه کوتاهی از مارپیچ دورشته‌ای مکمل می‌نمایند. سپس در مرحله دوم که بسیار سریعتر می‌باشد، بازهای جفت‌نشده باقیمانده به‌طور متوالی با یکدیگر جفت شده و با اتصال دو رشته به یکدیگر، مارپیچ دورشته‌ای حاصل می‌گردد.

واکنش متقابل نزدیک بین بازهای متراکم موجود در یک اسید نوکلئیک، سبب می‌گردد تا جذب نور UV آن، در

1- Denaturation 2- Melting 3- Renaturation 4- Anneal

Book.Apfarsi.ir



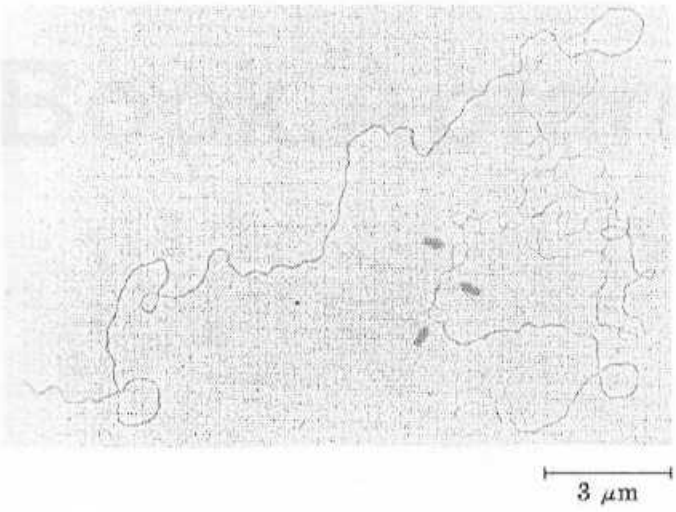
شکل ۳۰-۱۰. تغییر ماهیت ملکول DNA توسط حرارت. **(a)** منحنی تغییر ماهیت یا ذوب‌شدن دو نمونه DNA. درجه حرارت در نقطه وسط تغییر (t_m)، نقطه ذوب می‌باشد؛ این نقطه وابسته به pH و قدرت یونی و همچنین اندازه و ترکیب بازی DNA می‌باشد. **(b)** ارتباط بین t_m و محتوی G≡C ملکول DNA.

مقایسه با محلول حاوی میزان نوکلئوتید آزاد یکسان، کاهش یافته و زمانی که دو رشته مکمل DNA با یکدیگر جفت می‌گردند، کاهش جذب بیشتر خواهد بود. این پدیده را اثر هیپوکروماتیک گویند. تغییرماهیت یک ملکول اسید نوکلئیک دو رشته دارای اثرات عکس بوده و افزایش جذب را اثر هیپرکروماتیک گویند. ازاینرو، با زیرنظر قراردادن تغییرات جذب نور UV می‌توان تغییر DNA دورشته‌ای به تک رشته‌ای را جستجو نمود.

وقتی ملکول‌های DNA ویروس‌ها یا باکتری‌های موجود در محلول به آرامی حرارت داده می‌شوند، تغییر ماهیت می‌یابند (شکل ۳۰-۱۰). هر نوع DNA دارای دمای تغییر ماهیت یا نقطه ذوب (t_m) مشخصی می‌باشد: هرچه محتوی جفت بازهای G≡C بالاتر باشد، نقطه ذوب DNA بیشتر خواهد بود. زیرا برای جداسازی جفت بازهای G≡C با سه پیوند هیدروژنی، نیاز به انرژی بیشتری نسبت به جفت بازهای A=T است. با تعیین مقدار دقیق نقطه ذوب یک نمونه DNA، تحت شرایط ثابت pH و قدرت یونی، می‌توان تخمینی از محتوی بازی آن بدست آورد. در صورت کنترل دقیق شرایط تغییر ماهیت، نواحی از جفت بازهای A=T به‌طور اختصاصی تغییر ماهیت داده، در حالی که بیشتر ملکول DNA به‌صورت دو رشته باقی می‌ماند. این نواحی تغییرماهیت داده (بنام حباب) را می‌توان با میکروسکوپ الکترونی مشاهده نمود (شکل ۳۱-۱۰). جداسازی رشته‌های DNA در هنگام فرایندهایی نظیر همانندسازی و رونویسی در داخل بدن ضروری است. همانطور که خواهیم دید، محل‌هایی از DNA که این فرایندها از آن محل‌ها آغاز می‌گردند، اغلب غنی از جفت بازهای A=T هستند.

ملکول‌های دورشته‌ای متشکل از دو رشته RNA یا متشکل از یک رشته RNA و یک رشته DNA (هیبریدهای *RNA-DNA*) نیز قابل‌تغییرماهیت می‌باشند. جالب توجه است که ملکول‌های دو رشته RNA، پایدارتر از ملکول‌های دو رشته DNA هستند. در pH خنثی، تغییر ماهیت یک ملکول RNA دورشته‌ای مارپیچی اغلب نیاز به درجه حرارتی دارد که ۲۰°C یا بیشتر بالاتر از درجه حرارت مورد نیاز برای تغییرماهیت یک ملکول DNA با توالی قابل‌مقایسه خواهد بود. به‌طور کلی، پایداری هیبرید RNA-DNA حدواسط ملکول‌های دورشته RNA و DNA می‌باشد. اساس فیزیکی این تفاوت‌ها در پایداری ساختمان‌های دو رشته نامشخص است.

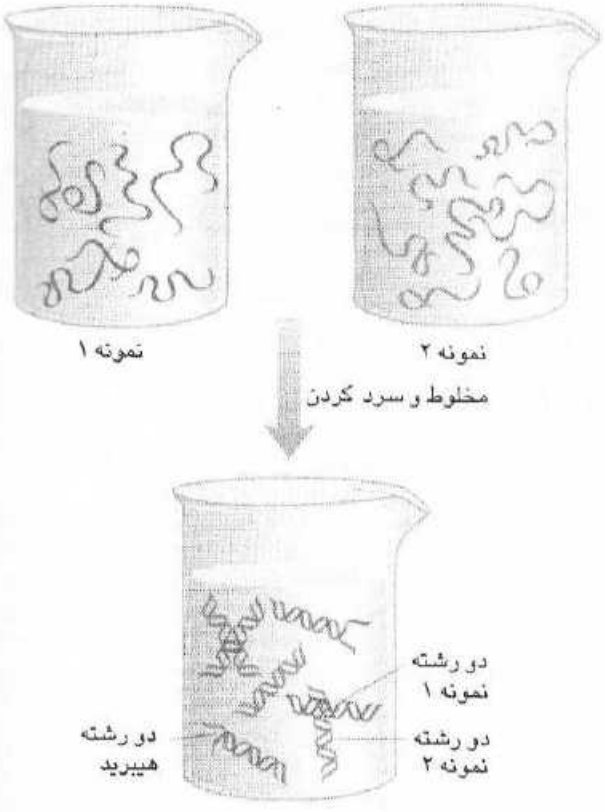
Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۱-۱۰. ملکول DNA که به‌طور نسبی تغییر ماهیت داده است. این ملکول DNA به‌طور نسبی تغییر ماهیت داده و سپس ثابت شده تا مانع از برگشت ماهیت در هنگام آماده‌سازی نمونه گردد. روش مورد استفاده برای سایه‌زدن جهت نشان‌دان DNA در این میکروگراف الکترونی، قطر ملکول را حدود پنج برابر بزرگتر و اکثر جزئیات مارپیچ را حذف کرده است. با این وجود، اندازه‌گیری طول قابل انجام بوده و نواحی تک رشته قابل تمایز از نواحی دورشته‌ای می‌باشند. پیکان‌ها حباب‌های تک رشته‌ای را نشان می‌دهند که در آنها تغییر ماهیت رخ داده است. این نواحی تغییر ماهیت داده غنی از جفت‌های بازی A=T و شدیداً قابل تکرار هستند.

اسیدهای نوکلئیک گونه‌های مختلف، می‌توانند هیبرید تشکیل دهند

از توانایی دو رشته مکمل DNA در جفت‌شدن با رشته دیگر می‌توان در جستجو توالی‌های مشابه در دو گونه مختلف یا در داخل ژنوم یک گونه خاص استفاده نمود. در صورتی که ملکول‌های دورشته DNA سلول‌های انسان و سلول‌های موش خانگی توسط حرارت به‌طور کامل تغییر ماهیت داده و سپس با یکدیگر مخلوط و برای ساعت‌ها در درجه حرارت ۶۵°C قرار داده شوند، بیشتر رشته‌های DNA به یکدیگر متصل می‌گردند. اکثر رشته‌های DNA موش خانگی با رشته‌های مکمل DNA موش خانگی جفت شده و اکثر رشته‌های DNA انسانی نیز به‌طور مشابه به رشته‌های مکمل DNA انسانی متصل می‌گردند. هرچند، مقداری از رشته‌های DNA موش خانگی به رشته‌های DNA انسان متصل شده و **ایجاد ملکول‌های دو رشته دورگه یا هیبریدی** می‌نمایند که در آنها یک رشته DNA موش خانگی با قطعاتی از یک رشته DNA انسانی ایجاد جفت باز کرده است (شکل ۳۲-۱۰). این موضوع انعکاسی از وراثت تکاملی است؛ موجودات مختلف عموماً دارای تعدادی ملکول RNA و پروتئین با اعمال مشابه هستند که اغلب ساختمان‌های مشابهی را نیز دارند. در بسیاری از موارد، ملکول‌های DNA



شکل ۳۲-۱۰ [شکل ۳۰ ضمیمه رنگی]. هیبریدیزاسیون DNA. دو نمونه DNA مورد مقایسه، به‌طور کامل با حرارت تغییر ماهیت داده می‌شوند. وقتی دو محلول مخلوط و به آهستگی سرد می‌گردند، رشته‌های DNA به جفت‌های مکمل طبیعی خود متصل و ایجاد ملکول دو رشته می‌نمایند. در صورتی که دو ملکول DNA دارای توالی‌های مشابه قابل‌توجهی باشند، تمایل به ایجاد ملکول‌های دورشته نسبی یا هیبرید، با یکدیگر دارند هرچه تشابه توالی بین دو ملکول DNA بیشتر باشد، تعداد هیبریدهای تشکیلی زیادتر خواهد بود. تشکیل هیبرید را می‌توان به طرق متعدد اندازه‌گیری نمود. برای سهولت اندازه‌گیری، یکی از ملکول‌های DNA معمولاً با یک رادیواکتیو نشاندار می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir

کدکننده این ملکول‌های RNA و پروتئین، توالی‌های مشابهی را دارند. هرچه ارتباط تکاملی بین دو گونه نزدیکتر باشد، ملکول‌های DNA آنها بیشتر با یکدیگر هیبرید می‌شوند. برای مثال، DNA انسانی به میزان بیشتری با DNA موش صحرایی، در مقایسه با DNA مخمر، ایجاد هیبرید می‌نماید.

توانایی رشته‌های DNA گونه‌های مختلف در ایجاد هیبرید، اساس فن‌آوری‌های قوی برای پرداختن به ژنتیک ملکولی نوین می‌باشد. در صورت داشتن رشته مکمل مناسب DNA (که معمولاً به طریقی نشاندار شده) جهت ایجاد هیبرید، می‌توان یک توالی اختصاصی DNA یا ژن را در حضور توالی‌های متعدد دیگر جستجو نمود (فصل ۲۹). DNA مکمل ممکن است از گونه‌های دیگر و یا از همان گونه بوده و یا با استفاده از فن‌آوری‌هایی که بعداً در این فصل شرح داده خواهند شد، در آزمایشگاه به طریق شیمیایی سنتز شوند. از فن‌آوری‌های ایجاد هیبرید می‌توان برای جستجوی یک RNA اختصاصی به جای DNA نیز استفاده نمود. جداسازی و تعیین‌هویت ژنها و ملکول‌های RNA اختصاصی براساس فن‌آوری‌های ایجاد هیبرید می‌باشد. با استفاده از این فن‌آوری‌ها، شناسایی اشخاص براساس یک تار مو باقیمانده در محل وقوع جرم یا پیش‌گوئی بیماری، دهها سال قبل از ظهور علائم، ممکن شده است (کادر ۱-۲۹).

نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک دچار تغییرات غیرآنزیمی می‌شوند

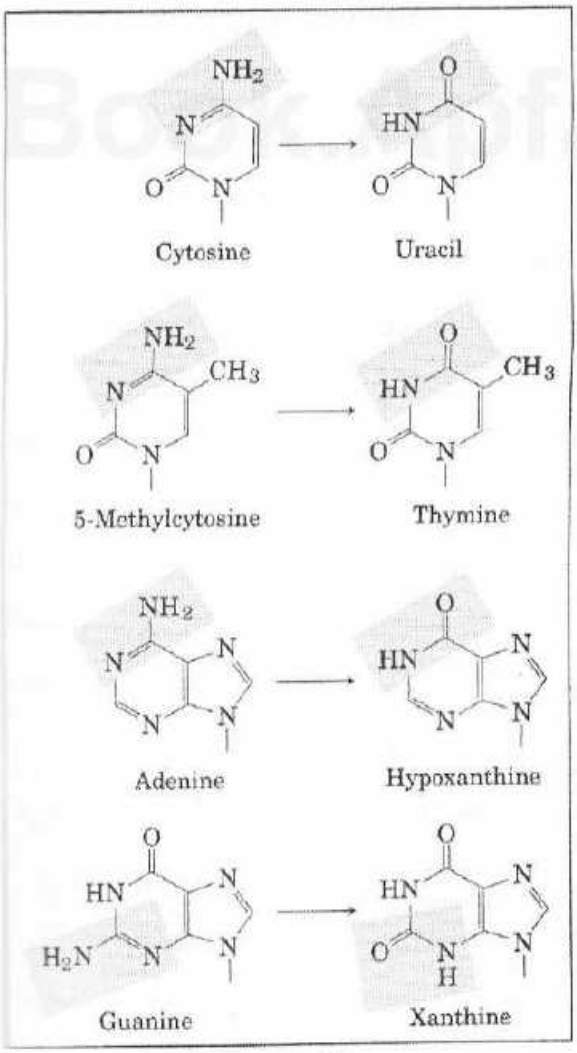
نوکلئوتیدها و بازهای پورینی یا پیریمیدینی همراه آنها، دچار تغییرات خودبخودی در ساختمان کووالان خود می‌شوند. به‌طور کلی سرعت این واکنش‌ها بسیار پایین بوده ولی دارای اهمیت فیزیولوژیک هستند؛ زیرا سلول‌ها ظرفیت بسیار پایین‌ی برای تحمل این تغییرات در اطلاعات ژنتیکی خود دارند. در صورتی که تغییرات ساختمانی ایجاد شده در DNA سبب تغییرات دائمی در اطلاعات ژنتیکی کدشونده توسط آن گردد، به این تغییرات جهش[1] گویند. شواهد و مدارک زیادی در ارتباط با تجمع جهش‌ها و فرایندهای افزایش سن و ایجاد سرطان وجود دارد.

تعداد زیادی از بازها ممکن است گروههای آمینو خارج حلقه‌ای خود را به‌طور خودبخودی از دست داده و دآمینه شوند (شکل ۳۳a-۱۰). برای مثال، تحت شرایط موجود در یک سلول شاخص، طی هر ۲۴ ساعت حدود یک ریشه سیتیدین، به ازاء هر 10^7 ریشه سیتیدین موجود در DNA، به اوراسیل دآمینه می‌گردد. در یک سلول پستانداران، روزانه به‌طور متوسط حدود ۱۰۰ حادثه خودبخودی رخ می‌دهد. دآمیناسیون آدنین و گوانین حدود ۱۰۰ برابر آهسته‌تر انجام می‌گیرد.

واکنش دآمیناسیون آهسته سیتیدین بی‌ضرر به نظر می‌رسد، ولی احتمالاً علت آن استفاده از تیمین بجای اوراسیل در DNA می‌باشد. اوراسیل به عنوان محصول دآمیناسیون سیتوزین براحتی توسط سیستم‌های ترمیمی در داخل DNA تشخیص داده شده و برداشت می‌گردد (فصل ۲۵). در صورتی که DNA به‌طور طبیعی حاوی اوراسیل می‌بود، آنگاه تشخیص اوراسیل حاصل از دآمیناسیون سیتیدین مشکل‌تر می‌شد و ممکن بود اوراسیل‌های ترمیم‌نشده، به علت جفت‌شدن با آدنین در زمان همانندسازی، منجر به تغییرات دائمی گردند. دآمیناسیون سیتوزین می‌توانست بتدریج منجر به کاهش جفت‌های بازی G≡C و افزایش جفت‌های بازی A=T در DNA تمامی سلول‌ها شود. به‌طوری که بعد از گذشت هزاران سال، دآمیناسیون سیتوزین همراه با حذف جفت‌های بازی G≡C و کدهای ژنتیکی وابسته به آنها می‌بود. قرارگیری تیمین به عنوان یکی از چهار باز موجود در DNA،

1- Mutation

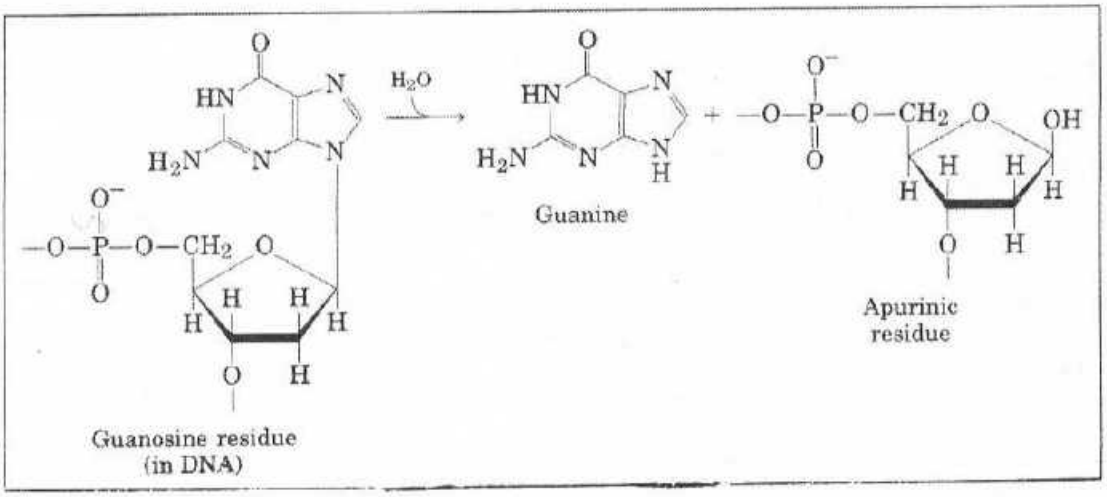
Book Apfarsi.ir



شکل ۳۳-۱۰. چند واکنش غیرآنزیمی شناخته‌شده نوکلئوتیدها. (a) واکنش‌های دآمیناسیون. تنها باز نشان داده شده است. **(b)** دپوریناسیون که طی آن یک پورین در اثر هیدرولیز پیوند β-N-گلیکوزیل ازدست می‌رود. داکسی‌ریبوز باقی‌مانده بعداز دپوریناسیون بسادگی از شکل β-فورانوزی به شکل آلدئیدی تبدیل می‌شود (شکل ۳-۱۰ را ببینید). سایر واکنش‌های غیرآنزیمی در اشکال ۳۴-۱۰ و ۳۵-۱۰ شرح داده شده‌اند.

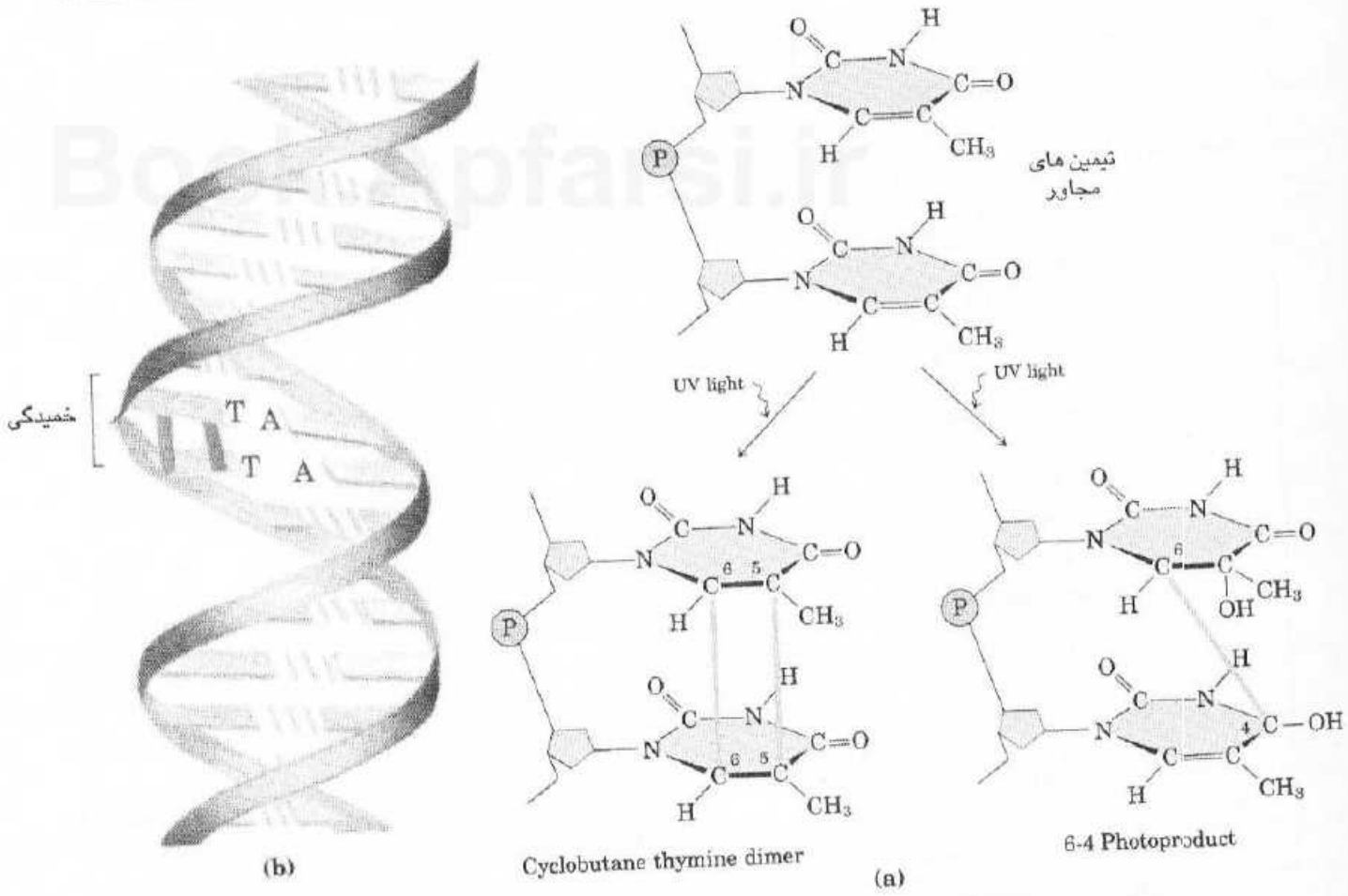
یکی از نکات مهم در طی تکامل بوده که ایجاد یک ذخیره طولانی‌مدت اطلاعات ژنتیکی را ممکن نموده است.

واکنش مهم دیگر در داکسی‌ریبونوکلئوتیدها، هیدرولیز پیوند N-β-گلیکوزیل بین باز و قند می‌باشد (شکل ۳۳b-۱۰). این واکنش در مورد پورین‌ها بیش از پیریمیدین‌ها صورت می‌پذیرد. در شرایط سلولی شاخص، روزانه حدوداً یکی از هر 10^5 پورین (۱۰،۰۰۰ در هر سلول پستانداران) از DNA حذف می‌گردد. دپوریناسیون ریبونوکلئوتیدها و RNA بسیار آهسته‌تر بوده و عموماً فاقد اهمیت فیزیولوژیک است. در لوله آزمایش، ازدست‌رفتن پورین‌ها را می‌توان توسط اسید رقیق افزایش داد. قراردادن DNA در pH برابر ۳ سبب برداشت انتخابی بازهای پورینی و



ایجاد مشتقی بنام اسید آپورینیک می‌گردد.

سایر واکنش‌ها در حضور اشعه تسریع می‌گردند. نور UV ترکیب دو گروه اتیلن و ایجاد یک حلقه سیکلوبوتان را القاء می‌نماید. در داخل سلول، همین واکنش بین دو باز پیریمیدینی مجاور موجود در اسیدهای نوکلئیک سبب ایجاد دیمرهای سیکلوبوتان پیریمیدین می‌گردد. این واقعه بیشتر بین دو ریشه پیریمیدینی مجاور موجود بر روی یک رشته DNA مشاهده می‌شود (شکل ۳۴-۱۰). نوع دوم دیمر پیریمیدینی، بنام محصول نوری ۴-۶، نیز در

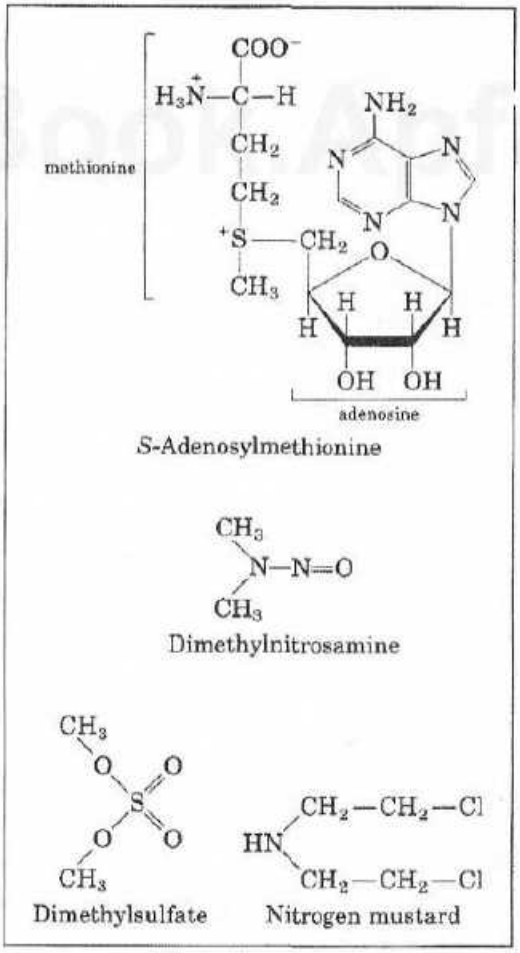


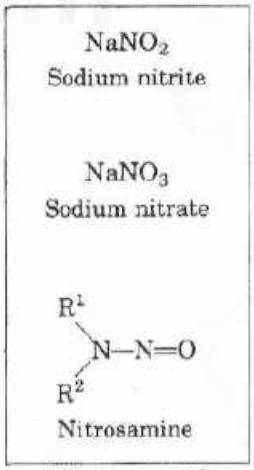
شکل ۳۴-۱۰. تشکیل دیمرهای پیریمیدینی در حضور نور UV. (a) در واکنش (سمت چپ) بین کربن ۵ و کربن ۶ ریشه‌های مجاور پیریمیدین، حلقه سیکلوبوتیل ایجاد می‌گردد. در واکنش دیگر (سمت راست)، با ایجاد اتصال بین کربن ۶ یک پیریمیدین و کربن ۴ پیریمیدین مجاور، یک محصول نوری ۴-۶ تشکیل می‌شود. **(b)** در محل ایجاد دیمر پیریمیدینی سیکلوبوتان، DNA خمیدگی پیدا می‌کند.

حضور تشعشع UV تشکیل می‌گردد. اشعه یونیزان (اشعه x و اشعه گاما) قادر به بازنمودن و قطعه‌قطعه کردن حلقه‌های بازی و همچنین شکستن اسکلت کووالان اسیدهای نوکلئیک است.

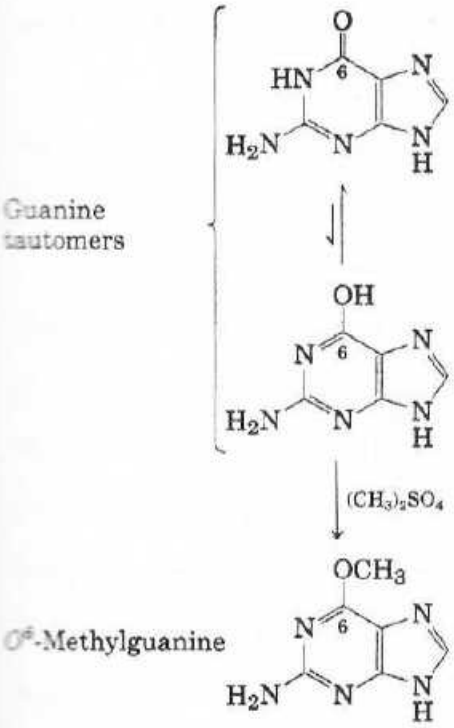
در واقع وقتی هر شکل حیات در معرض اشعه پرانرژی قرار گیرد، تغییرات شیمیایی در DNA آن رخ می‌دهد. تشعشع نزدیک UV (طول موج بین ۲۰۰ تا ۴۰۰nm)، که قسمت مهمی از طیف خورشید را تشکیل می‌دهد، منجر به تشکیل دیمر پیریمیدینی و سایر تغییرات شیمیایی در DNA باکتریها و سلول‌های پوست انسان می‌گردد. ما در معرض میدان ثابتی از اشعه یونیزان به شکل اشعه‌های کیهانی می‌باشیم که تا زمین نفوذ نموده و همچنین در تماس با تشعشعاتی هستیم که از عناصر رادیواکتیو، نظیر رادیوم، پلوتونیوم، اورانیوم، رادون، ^{14}C و ^{3}H خارج می‌شوند. شکل دیگر اشعه یونیزان، اشعه x مورد استفاده در بررسی‌های پزشکی و دندانپزشکی و همچنین در اشعه درمانی سرطان و سایر بیماری‌ها است. برآورد شده است که تشعشعات UV و یونیزان مسئول حدود ۱۰٪ صدمات DNA می‌باشد که توسط عوامل محیطی ایجاد می‌گردند.

ملکول DNA همچنین ممکن است توسط مواد شیمیایی آسیب ببیند که به‌صورت محصولات صنعتی وارد محیط می‌شوند. این محصولات ممکن است در ابتدا مضر نبوده ولی طی متابولیسم سلولی به انواع مضر تبدیل گردند. دو کلاس برجسته این عوامل (شکل ۳۵-۱۰) شامل (۱) عوامل دآمینه‌کننده، بخصوص اسید نیترو (HNO_2)





شکل ۳۵-۱۰. عوامل شیمیایی که سبب آسیب DNA می‌شوند. (a) پیش‌سازهای اسید نیترو که واکنش‌های دآمیناسیون را تسریع می‌نمایند. (b) عوامل آلکیله‌کننده.



یا ترکیبات متابولیزه‌شونده به اسید نیترو و نیترات‌ها، و (۲) عوامل آلکیله‌کننده، می‌باشند.

اسید نیترو که از پیش‌سازهای آلی، نظیر نیتروزآمین‌ها و از املاح نیتریت و نیترات ساخته می‌شود، سبب تسریع دآمیناسیون بازها می‌گردد. هر دو این عوامل، به‌عنوان محافظ، برای جلوگیری از رشد باکتریهای سمی به مواد غذایی اضافه می‌گردند. در صورتی که این مواد به این طریق مورد استفاده قرار گیرند، به‌نظر نمی‌رسد که سبب افزایش قابل‌توجه خطر ابتلاء به سرطان گردند. احتمالاً این امر ناشی از استفاده اندک آن و داشتن نقش ناچیز در کل صدمه واردشده به DNA می‌باشد. (مصرف مواد غذایی فاسدشده به علت عدم مصرف این محافظهای غذایی، به مراتب برای سلامتی انسان خطرناکتر می‌باشد.)

عوامل آلکیله‌کننده می‌توانند بعضی از بازها را در DNA تغییر دهند. برای مثال، دی‌متیل‌سولفات با قابلیت بالای واکنش شیمیایی (شکل ۳۵b-۱۰)، می‌تواند سبب متیلاسیون گوانین به O^6-متیل‌گوانین گردد که دیگر قادر به ایجاد جفت بازی با سیتوزین نمی‌باشد. واکنش‌های مشابه زیادی توسط عوامل آلکیله‌کننده‌ای که به‌طور طبیعی در داخل سلول وجود دارند، نظیر S-آدنوزین متیونین، به انجام می‌رسد.

Book.Apfarsi.ir

احتمالاً مهمترین منبع تغییرات تولیدکننده جهش در DNA، آسیب اکسیداتیو است. انواع برانگیخته اکسیژن، نظیر پراکسید هیدروژن، رادیکال‌های هیدروکسیل و رادیکال‌های سوپراکسید در تماس با اشعه و یا در طی متابولیسم هوازی به عنوان یک محصول فرعی تولید می‌گردند. سلول‌ها دارای یک سیستم دفاعی، شامل آنزیمهایی نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیس‌موتاز، هستند که با تبدیل این اشکال واکنشگر به محصولات بی‌ضرر، سبب برداشت آنها می‌گردند.

این تنها مثالی از واکنش‌های شناخته‌شده‌ای است که سبب آسیب به DNA می‌شوند. بسیاری از ترکیبات سرطان‌زا موجود در غذا، آب یا هوا، از طریق ایجاد تغییرات بازی در DNA، اثرات خود را در ایجاد سرطان ایفاء می‌نمایند. بااین‌وجود، سلامت DNA به عنوان یک پلیمر بهتر از RNA یا پروتئین حفظ می‌شود، زیرا DNA تنها ماکروملکولی است که از سیستم‌های بیوشیمیایی ترمیم سود می‌برد. این فرایندهای ترمیمی (شرح در فصل ۲۵) سبب کاهش شدید آسیب DNA می‌گردند.

بعضی از بازهای DNA متیله می‌باشند

بعضی از بازهای نوکلئوتیدی موجود در ملکول DNA بطریق آنزیمی متیله می‌شوند. آدنین و سیتوزین بیش از گوانین و تیمین متیله می‌گردند. متیلاسیون عموماً در نواحی یا توالی‌های خاصی از ملکول DNA به انجام می‌رسد. در بعضی موارد عملکرد متیلاسیون بخوبی مشخص بوده ولی در مواردی نیز نامشخص می‌باشد. تمامی DNA متیلازهای شناخته‌شده از S-آدنوزین متیونین به عنوان دهنده گروه متیل استفاده می‌نمایند. *E. coli* دارای دو سیستم متیلاز برجسته می‌باشد. یکی از این سیستم‌ها به عنوان قسمتی از مکانیسم دفاعی عمل نموده که به سلول در تشخیص DNA خودی از DNA خارجی کمک می‌نماید. این سیستم DNA خود را متیله نموده و ملکول‌های DNA فاقد گروههای متیل (خارجی) را تخریب می‌کند (به این سیستم، سیستم محدودنمودن - تغییردادن[1] اتلاق می‌گردد؛ فصل ۲۹ را ببینید). سیستم دیگر سبب متیلاسیون ریشه‌های آدنوزین موجود در داخل توالی‌های (۳′)GATC(۵′) به N^6-متیل‌آدنوزین می‌گردد (شکل ۵a-۱۰). این واکنش متیلاسیون توسط DAM متیلاز[2] صورت می‌پذیرد که جزئی از سیستم ترمیم‌کننده جفت‌های بازی غیرسازگاری است که گاهی طی همانندسازی DNA تشکیل می‌شوند (فصل ۲۵).

در سلول‌های اوکاریوتی، حدود ۵٪ ریشه‌های سیتیدین موجود در DNA به ۵- متیل‌سیتیدین متیله می‌شوند (شکل ۵a-۱۰). متیلاسیون در توالی‌های CpG شایع‌تر بوده که سبب تولید قرینه methyl-CpG بر روی هر دو رشته DNA می‌گردد. در ملکول‌های بزرگ DNA اوکاریوتی، میزان متیلاسیون توالی‌های CpG برحسب ناحیه متفاوت است. متیلاسیون سبب توقف مهاجرت قطعات DNA، بنام ترانس‌پوسونها، می‌شود که در فصل ۲۵ شرح داده شده‌اند. متیلاسیونهای سیتوزین دارای اهمیت ساختمانی نیز هستند. وجود ۵-متیل‌سیتوزین در یک توالی CpG یک در میان، به میزان زیادی تمایل قطعه DNA در گرفتن شکل Z را افزایش می‌دهد.

توالی رشته‌های طویل DNA را می‌توان تعیین نمود

توالی نوکلئوتیدی مهمترین خصوصیت ملکول DNA در ظرفیت آن به عنوان ذخیره اطلاعات می‌باشد. تا اواخر

1- Restriction-modification

2- *DNA adenine methylation* methylase

Book.Apfarsi.ir

دهه ۱۹۷۰، تعیین توالی یک اسید نوکلئیک با حتی پنج یا ده نوکلئوتید مشکل و بسیار پرزحمت بود. با ابداع دو فن‌آوری جدید در سال ۱۹۷۷، یکی توسط آلن ماکسام[۱] و والتر ژیلبرت[۲] و دیگری توسط فردریک سنگر[۳]، تعیین توالی ملکول‌های حتی بزرگتر با سهولتی قابل انجام شد که حتی تصور آن در چند دهه قبل هم نمی‌شد. این فن‌آوری‌ها براساس افزایش شناخت شیمی نوکلئوتیدها و متابولیسم DNA، و روش‌های الکتروفورتیک برای جداسازی رشته‌های مختلف DNA می‌باشند که تنها از نظر یک نوکلئوتید با یکدیگر تفاوت دارند. الکتروفورز DNA مشابه الکتروفورز پروتئین می‌باشد (شکل ۱۹-۵ را ببینید). در هنگام کار با ملکول‌های کوتاه DNA (تا چند صد نوکلئوتید)، اغلب از پلی‌آکریلامید به عنوان ماتریکس ژلی استفاده شده، در حالی که اگر DNA طول بیشتری داشته باشد، عموماً آگارز به‌کار می‌رود.

اصول کلی هر دو روش تعیین‌توالی سنگر و ماگسام - ژیلبرت، کوتاه‌نمودن (قطعه‌قطعه‌کردن) رشته DNA به چهار سری از قطعات نشاندار می‌باشد. واکنش تولیدکننده هر کدام از این سری‌ها دارای ویژگی بازی بوده و بنابراین طول قطعات DNA حاصل بستگی به موقعیت‌های باز مورد نظر در داخل توالی DNA دارد. برای مثال، اولیگونوکلئوتید دارای توالی pAATCGACT در انتهای ´۵ (انتهای چپ) نشاندار شده و در اثر واکنشی که این DNA را بعد از هر ریشه C می‌شکند، دو قطعه نشاندار تولید می‌گردد: یکی چهار نوکلئوتیدی و دیگری هفت نوکلئوتیدی. در حالی که اگر واکنش سبب شکستن DNA بعد از G شود، تنها یک قطعه پنج نوکلئوتیدی حاصل می‌شود. چون این قطعات در انتهای ´۵ خود با رادیواکتیو نشاندار شده‌اند، تنها قطعه سمت ´۵ محل شکست در داخل ژل دیده می‌شود. اندازه قطعات بستگی به موقعیت‌های نسبی ریشه‌های C و G در این توالی دارد. وقتی سری قطعات مربوط به هر چهار نوکلئوتید با روش الکترفورز در کنار یکدیگر جدا شوند، ایجاد نردبانی از باندها می‌شود که از آن می‌توان توالی را مستقیماً قرائت نمود (شکل ۳۶-۱۰). در اینجا تنها روش سنگر شرح داده می‌شود، زیرا از نظر فن‌آوری ساده‌تر بوده و کاربرد وسیع‌تری دارد. این روش نیاز به سنتز آنزیمی یک رشته DNA مکمل رشته مورد بررسی با استفاده از یک پرایمر نشاندار با رادیواکتیو و دی‌داکسی‌نوکلئوتیدها دارد.

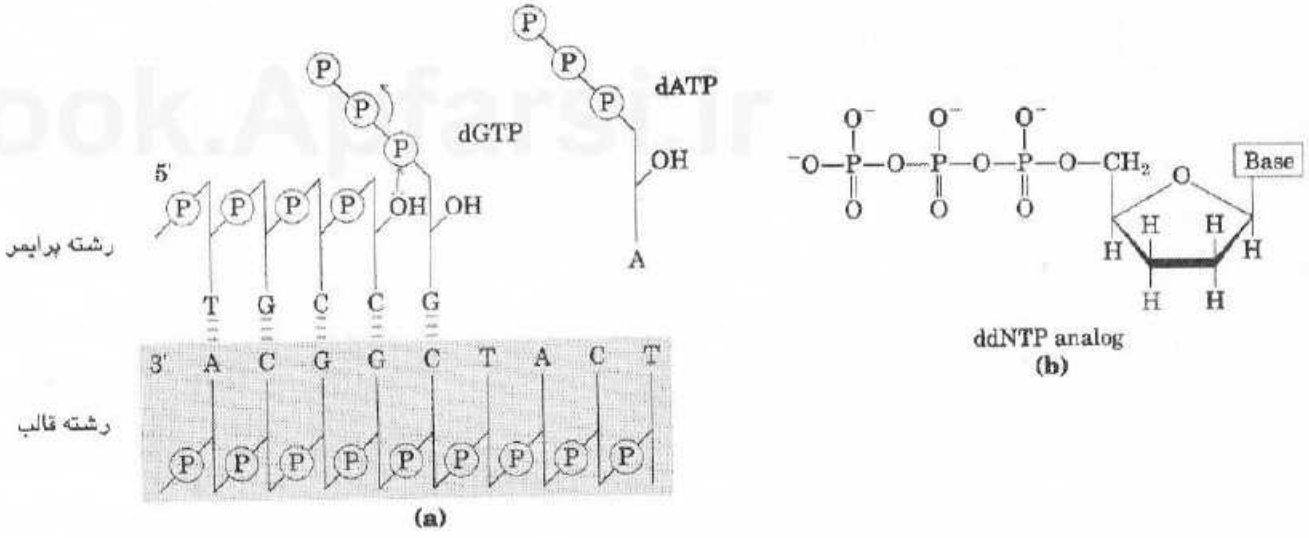
با تغییر روش تعیین‌توالی سنگر و استفاده از دی‌داکسی‌نوکلئوتیدها نشاندار با دم فلورسنت دارای رنگ متفاوت، تعیین‌توالی DNA بسادگی قابل‌اتوماتیک‌شدن می‌باشد (شکل ۳۷-۱۰). با این فن‌آوری، تعیین‌توالی رشته DNA حاوی چندین هزار نوکلئوتید ظرف چند ساعت ممکن شده است و پروژه‌های تعیین‌توالی ملکول‌های بسیار بزرگ DNA در حال پیشرفت می‌باشد. جاه‌طلبانه‌ترین اینها، تعیین توالی ژنوم انسانی است که در آن تمامی ۳ بیلیون جفت باز موجود در DNA سلول انسانی در حال تعیین‌توالی می‌باشد.

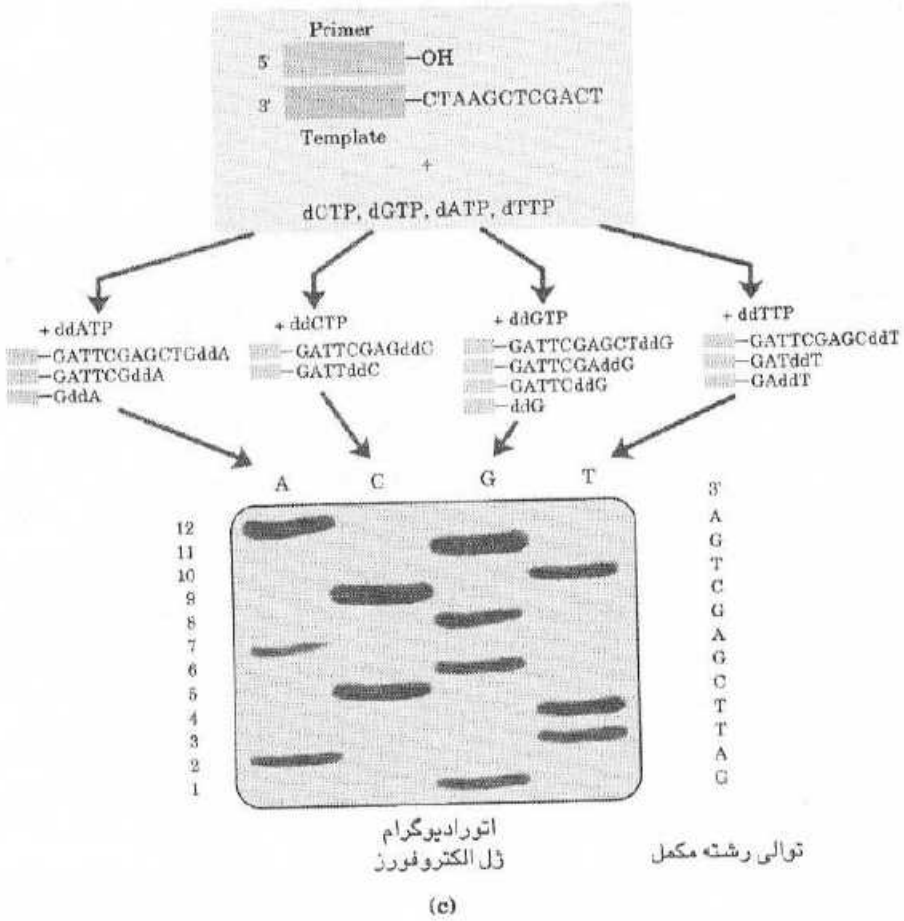
سنتز شیمیایی DNA اتوماتیک شده است

فن‌آوری دیگری که راه را برای پیشرفت‌های متعدد بیوشیمیایی باز نموده است، سنتز شیمیایی اولیگونوکلئوتیدها با هر توالی انتخابی است. روش‌های شیمیایی سنتز اسیدهای نوکلئیک در ابتدا توسط گابیند خورانا[۴] و همکارانش در دهه ۱۹۷۰ آغاز گردید. بهبود و اتوماتیک‌شدن این روش‌ها، سنتز سریع و صحیح رشته‌های DNA را ممکن ساخته است. این سنتز با استفاده از اصول مشابهی که توسط مریفیلد[۵] در سنتز پپتید

1- Alan Maxam 2- Waliwr Gilbert 3- Frederick Sanger 4- Gobind Khorana
5- Merrifield

Book.Apfarsi.ir

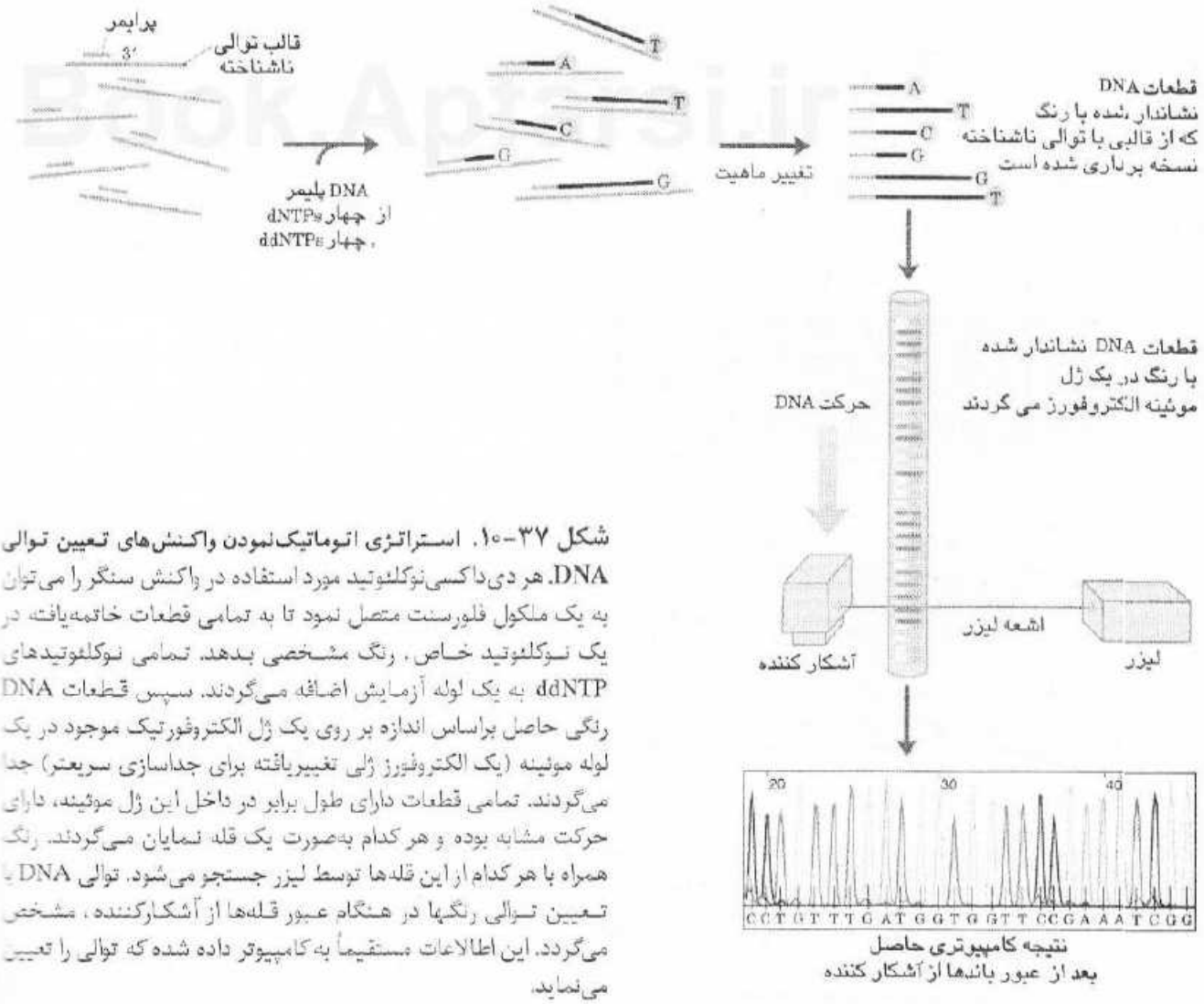




شکل ۳۶-۱۰. تعیین توالی DNA با روش سنگر. این روش بر اساس مکانیسم سنتز DNA توسط DNA پلیمرازها می‌باشد (فصل ۲۵). DNA(a) پلیمرازها نیاز به یک پرایمر (یک رشته کوتاه اولیگونوکلئوتیدی) برای افزودن نوکلئوتیدها به آن و یک رشته قالب برای هدایت انتخاب هر نوکلئوتید جدید دارند. در سلول‌ها، گروه ´۳- هیدروکسیل پرایمر با داکسی‌نوکلئوزید تری‌فسفات (dNTP) ورودی واکنش نموده و ایجاد یک پیوند فسفودی‌استری جدید می‌نماید. در روش تعیین توالی سنگر برای توقف سنتز از آنالوگهای دی‌داکسی‌نوکلئوزید تری‌فسفات (ddNTP) استفاده می‌گردد. (b) (نام دیگر روش سنگر، روش دی‌داکسی است.) وقتی یک ddNTP بجای یک dNTP قرار می‌گیرد، طویل‌سازی رشته بعد افزودن این آنالوگ، به علت نداشتن گروه ´۳- هیدروکسیل مورد نیاز برای مرحله بعدی، متوقف می‌گردد.

(c) ملکول DNA برای تعیین توالی به‌صورت یک قالب مورد استفاده قرار گرفته و یک پرایمر کوتاه که به روش رادیواکتیو یا فلورسنت نشاندار شده است، به آن متصل می‌شود. وقتی مقادیر کم یک ddNTP، برای مثال ddCTP، به سیستم واکنش اضافه می‌گردد که سایر مواد مورد نیاز برای واکنش را در حد طبیعی دارد، سنتز رشته‌ها در بعضی از محل‌هایی که به‌طور طبیعی dC قرار می‌گیرد، به‌طور ناقص خاتمه می‌یابد. در حضور مقادیر زیاد dCTP و ddCTP با غلظت کمتر، شانس قرارگیری این آنالوگ بجای dC کم می‌باشد. هرچند، غلظت ddCTP آنقدر خواهد بود که هر کدام از رشته‌های تازه در حال سنتز، امکان برداشت حداقل یک ریشه ddCTP را در یکی از نقاط سنتز داشته باشد. نتیجه داشتن محلولی حاوی مخلوطی از قطعات نشاندار بوده که هرکدام با یک ریشه C خاتمه پیدا کرده‌اند. هر ریشه C در این توالی تولید یک سری از قطعات با طول مشخص می‌نماید که به علت داشتن اندازه مختلف، با الکتروفورز قابل جداسازی بوده و هر کدام یک موقعیت ریشه C را نشان می‌دهند. این روش به‌طور مجزا برای هرکدام از چهار ملکول ddNTP انجام شده و توالی را می‌توان مستقیماً از یک اتورادیوگرام بر روی ژل قرائت نمود. به دلیل حرکت سریعتر قطعات کوتاهتر، قطعات نزدیک به انتهای ژل، موقعیت‌های نوکلئوتیدی نزدیکتر به پرایمر (انتهای ´۵) را نشان داده و توالی (در جهت ´۵ به ´۳) از پایین به بالا خوانده می‌شود. باید توجه نمود که توالی حاصل مربوط به رشته مکمل رشته مورد بررسی می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۷-۱۰. استراتژی اتوماتیک‌نمودن واکنش‌های تعیین توالی DNA. هر دی‌داکسی‌نوکلئوتید مورد استفاده در واکنش سنگر را می‌توان به یک ملکول فلورسنت متصل نمود تا به تمامی قطعات خاتمه‌یافته در یک نوکلئوتید خاص، رنگ مشخصی بدهد. تمامی نوکلئوتیدهای ddNTP به یک لوله آزمایش اضافه می‌گردند. سپس قطعات DNA رنگی حاصل براساس اندازه بر روی یک ژل الکتروفورتیک موجود در یک لوله موئینه (یک الکتروفورز ژلی تغییریافته برای جداسازی سریعتر) جدا می‌گردند. تمامی قطعات دارای طول برابر در داخل این ژل موئینه، دارای حرکت مشابه بوده و هر کدام به‌صورت یک قله نمایان می‌گردند. رنگ همراه با هر کدام از این قله‌ها توسط لیزر جستجو می‌شود. توالی DNA یا تعیین توالی رنگها در هنگام عبور قله‌ها از آشکارکننده، مشخص می‌گردد. این اطلاعات مستقیماً به کامپیوتر داده شده که توالی را تعیین می‌نماید.

به‌کار رفته، صورت می‌پذیرد (شکل ۲۹-۵ را ببینید) و رشته در حال رشد متصل به محیط جامد باقی می‌ماند (شکل ۳۸-۱۰). کارایی هر مرحله افزودن نوکلئوتید بسیار بالا بوده که امکان سنتز پلیمرهایی با ۷۰ یا ۸۰ نوکلئوتید را در آزمایشگاههای معمولی و رشته‌های طویلتر را در بعضی آزمایشگاهها فراهم می‌آورد. دسترسی به پلیمرهای نسبتاً ارزان DNA با توالی‌های از قبل‌تعیین‌شده، امکان قوی برای تمامی عرصه‌های بیوشیمیایی است.

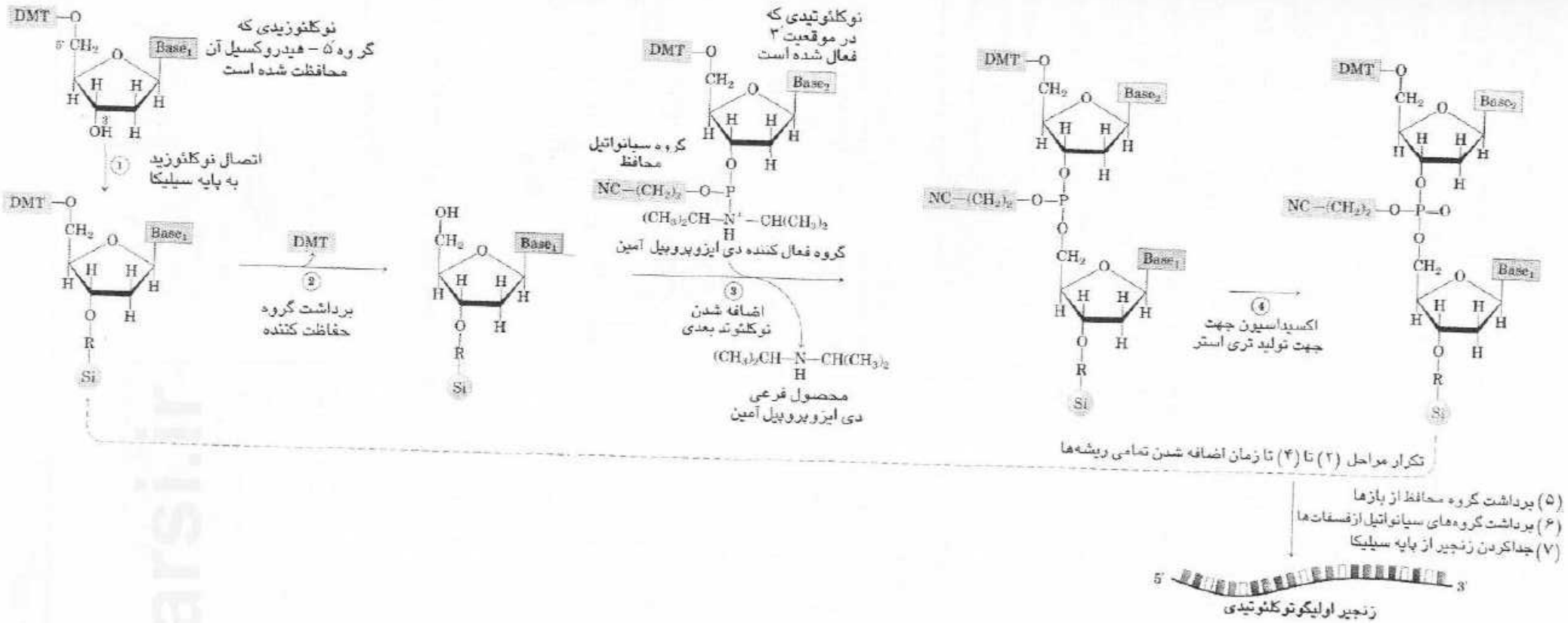
سایر اعمال نوکلئوتیدها

علاوه بر نقش به عنوان واحدهای تشکیل‌دهنده ساختمان اسیدهای نوکلئیک، نوکلئوتیدها اعمال متعدد دیگری را در داخل سلول انجام می‌دهند. این اعمال شامل عمل به عنوان ناقلین انرژی، اجزاء تشکیل‌دهنده کوفکتورهای آنزیمی و پیامبرهای شیمیایی می‌باشد.

نوکلئوتیدها ناقل انرژی شیمیایی در داخل سلول‌ها هستند

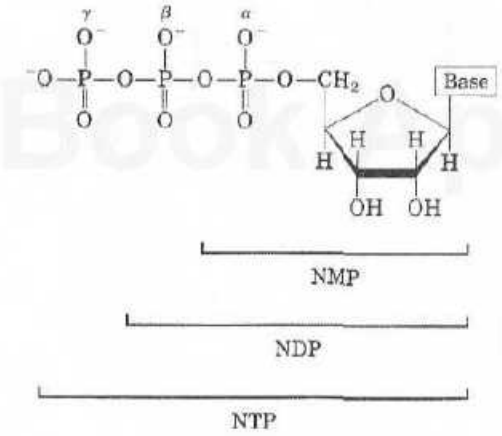
به گروه فسفات دارای اتصال کووالان به گروه ۵′ هیدروکسیل ریبونوکلئوتیدها، ممکن است یک یا دو گروه فسفات دیگر متصل گردد. ملکول‌های حاصل را به ترتیب نوکلئوزید منو، دی یا تری‌فسفاتها گویند (شکل ۳۹-۱۰).

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۸-۱۰. سنتز شیمیایی DNA. مفهوم سنتز اتوماتیک DNA مشابه سنتز پایه - جامد پلی‌پپتیدها می‌باشد. اولیگونوکلئوتید بر روی یک زمینه جامد (سیلیکا) ساخته می‌شود، به‌طوری که در هر زمان یک نوکلئوتید طی یک سری واکنش‌های شیمیایی تکراری با استفاده از پیش‌سازهای نوکلئوتیدی محافظت‌شده، اضافه می‌گردد. (۱) اولین نوکلئوزید (که انتهای ′۳ خواهد بود) از طریق گروه ′۳- هیدروکسیل خود به پایه سیلیکایی (با کمک یک گروه اتصالی، R) متصل شده و گروه ′۵- هیدروکسیل آن توسط یک گروه دی‌متوکسی‌تری‌تیل (DMT) حساس به اسید محافظت می‌شود. سایر گروههای موجود در تمامی بازها نیز از نظر شیمیایی تحت محافظت قرار می‌گیرند. (۲) گروه DMT محافظت‌کننده با شستشو ستون توسط اسید قابل‌برداشت می‌باشد (گروه DMT رنگی بوده و بنابراین واکنش بطریق اسپکتروفتومریک قابل‌پی‌گیری است). (۳) نوکلئوتید بعدی توسط یک گروه دی‌ایزوپروپیل‌آمین فعال‌شده و با نوکلئوتید متصل‌شده واکنش نموده و ایجاد یک اتصال ′۵ و ′۳ می‌نماید که در مرحله (۴) توسط ید اکسیده شده و تولید یک پیوند فسفودی‌استری می‌کند. (یکی از اکسیژنهای فسفات حامل یک گروه محافظت‌کننده سیانواتیل می‌باشد.) واکنش‌های (۲) تا (۴) تا اضافه‌شدن تمامی نوکلئوتیدها ادامه می‌یابد. در هر مرحله، قبل از اضافه‌شدن نوکلئوتید بعدی، نوکلئوتید اضافی برداشت می‌گردد. در مراحل (۵) و (۶) گروههای باقیمانده محافظت‌کننده موجود بر روی بازها و فسفاتها برداشت شده و در مرحله (۷) اولیگونوکلئوتید از زمینه جامد جدا و تخلیص می‌گردد. سنتز شیمیایی RNA قدری پیچیده‌تر می‌باشد، زیرا نیاز به حفاظت گروه ′۲- هیدروکسیل ریبوز، بدون داشتن اثرات جانبی بر روی گروه ′۳- هیدروکسیل آن دارد.

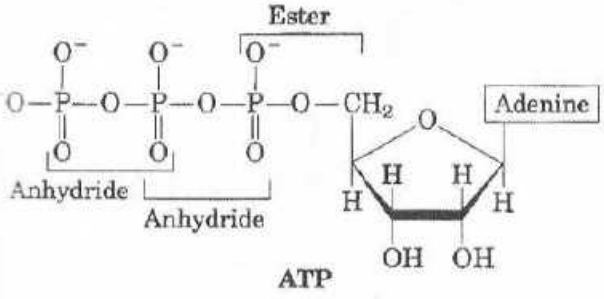
Book.Apfarsi.ir

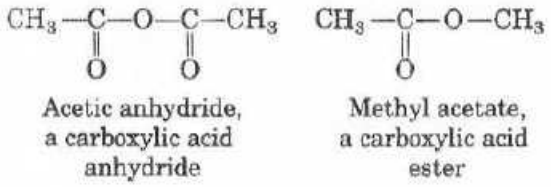


مخفف های ریبونوکلئوزید ۵′ - فسفات ها			
Base	Mono-	Di-	Tri-
Adenine	AMP	ADP	ATP
Guanine	GMP	GDP	GTP
Cytosine	CMP	CDP	CTP
Uracil	UMP	UDP	UTP

مخفف های داکسی ریبونوکلئوزید ۵′ - فسفات ها			
Base	Mono-	Di-	Tri-
Adenine	dAMP	dADP	dATP
Guanine	dGMP	dGDP	dGTP
Cytosine	dCMP	dCDP	dCTP
Thymine	dTMP	dTDP	dTTP

شکل ۳۹-۱۰. ساختمان عمومی نوکلئوزید ′۵- منو، دی- و تری‌فسفات‌ها (ملکول‌های NMP، NDP و NTP) و مخفف‌های استاندارد آنها. در داکسی‌ریبونوکلئوزید فسفاتها (ملکول‌های dNMP، dNDP و dNTP)، پنتوز ′۲- داکسی -D- ریبوز می‌باشد.





شکل ۴۰-۱۰. پیوندهای استر فسفات و فسفوانیدرید ملکول ATP. هیدرولیز یک پیوند انیدریدی انرژی بیشتری از هیدرولیز یک پیوند استری می‌نماید. برای مقایسه یک انیدرید اسید کربوکسیلیک و یک استر اسید کربوکسیلیک نشان داده شده است.

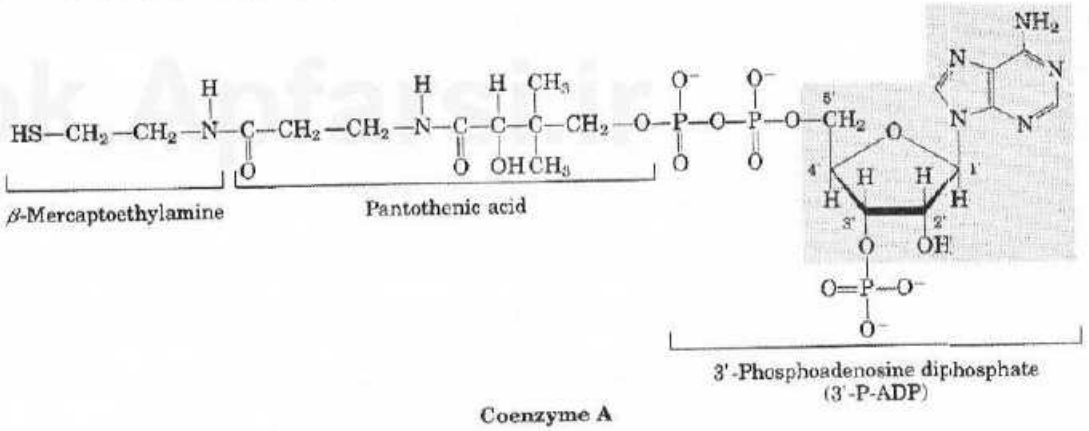
از سمت ریبوز، این سه گروه فسفات را به ترتیب با حروف α، β و γ نامگذاری می‌کنند. در اثر هیدرولیز نوکلئوزید تری‌فسفات‌ها، انرژی شیمیایی رها می‌گردد که منجر به انجام بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی می‌شود. آدنوزین ′۵- تری‌فسفات یا ATP، نوکلئوتیدی است که بیشترین کاربرد را برای این منظور دارد، هرچند UTP، GTP و CTP نیز در بعضی از واکنش‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. همانطور که در فصول ۲۵ و ۲۶ بحث خواهد شد، نوکلئوزید تری‌فسفات‌ها همچنین به عنوان پیش‌سازهای فعال‌شده در سنتز DNA و RNA به کار می‌روند.

انرژی حاصل از هیدرولیز ATP و سایر نوکلئوزید تری‌فسفات‌ها، بخاطر ساختمان گروه تری‌فسفات آنها می‌باشد. پیوند بین ریبوز و گروه فسفات α یک اتصال استری است. در حالی که اتصالات بین گروههای α و β و همچنین β و γ، از نوع فسفوانیدریدی است (شکل ۴۰-۱۰). تحت شرایط استاندارد، هیدرولیز اتصال استری منجر به رهاسازی ۱۴kJ/mol انرژی شده ولی هیدرویز هر پیوند انیدریدی تولید حدود ۳۰kJ/mol انرژی می‌نماید. اغلب هیدرولیز ATP نقش مهم ترمودینامیکی در بیوسنتز دارد. وقتی هیدرولیز ATP با یک واکنش دارای تغییر انرژی آزاد مثبت جفت گردد، تعادل فرایند کلی را به سمت تولید محصول موردنظر تغییر می‌دهد (ارتباط بین ثابت تعادل و تغییر انرژی آزاد را در معادله ۳-۸ صفحه ۲۸۱ بخاطر بیاورید).

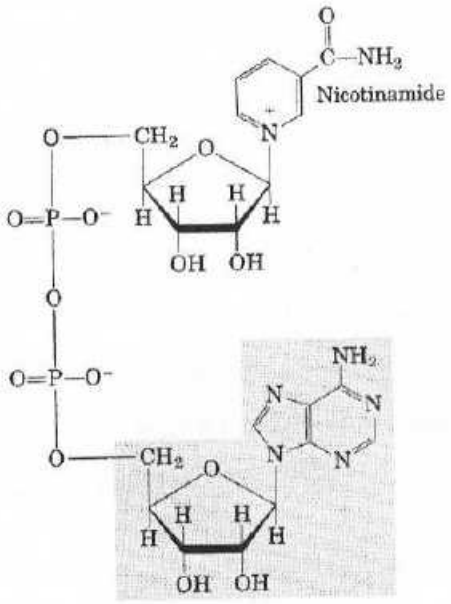
نوکلئوتیدهای آدنینی در ساختمان بسیاری از کوفکتورهای آنزیمی وجود دارند

بسیاری از کوفکتورهای آنزیمی که اعمال متعدد شیمیایی را انجام می‌دهند، در ساختمان خود حاوی آدنوزین هستند (شکل ۴۱-۱۰). این کوفکتورها به غیر از داشتن جزء آدنوزینی، فاقد هر گونه ارتباط ساختمانی با یکدیگر

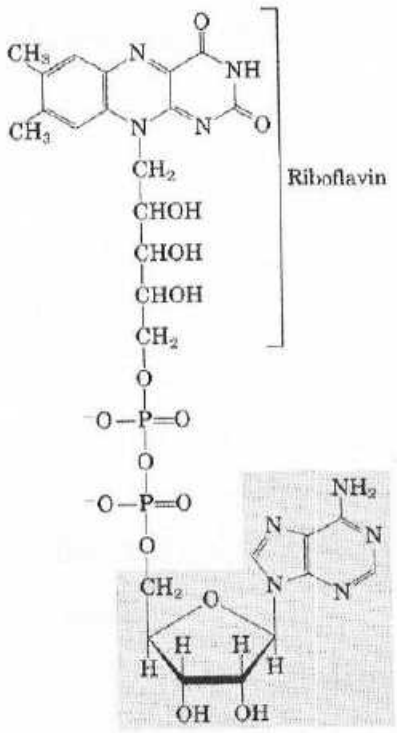
Book Anfarsi.ir



Coenzyme A



Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+)



Flavin adenine dinucleotide (FAD)

شکل ۴۱-۱۰. بعضی از کوآنزیمهای حاوی آدنوزین. قسمت آدنوزینی دارای سایه می‌باشد. کوآنزیم‌آ (CoA) در واکنش‌های انتقال گروه آسیل شرکت می‌نماید؛ این گروه آسیل (مثلاً گروه استیل یا استواستیل) ازطریق یک پیوند تیواستری به قسمت β-مرکاپتواتیل‌آمینی کوآ متصل می‌باشد. NAD^+ در انتقال هیدرید و FAD، شکل فعال ویتامین B_2 (ریبوفلاوین)، در انتقال الکترون شرکت می‌نماید. کوآنزیم دیگر حاوی آدنوزین، شکل فعالی از ویتامین B_{12} یا ۵'- داکسی‌آدنوزیل‌کوبالامین می‌باشد (کادر ۲-۱۷ را ببینید)، که در انتقال داخل‌ملکولی گروه بین دو کربن مجاور شرکت می‌نماید.

می‌باشند. در هیچکدام از این کوفکتورها، قسمت آدنوزینی مستقیماً نقشی در عمل کوآنزیم ندارد، ولی برداشت آدنوزین عموماً سبب کاهش شدید فعالیت کوفکتوری می‌گردد. برای مثال، برداشت نوکلئوتید آدنوزینی (۳'-فسفوآدنوزین دی‌فسفات) از استواستیل‌کوآ، مشتق کوآنزیمی استواستات، سبب می‌شود که قابلیت این سوبسترا برای واکنش β- کتوآسیل - کوآ ترانسفراز (آنزیمی در متابولیسم لیپیدها) به میزان یک میلیون برابر کاهش یابد. هرچند جزئیات نیاز به آدنوزین مورد بررسی قرار نگرفته است، احتمالاً در انرژی اتصالی بین آنزیم و سوبسترا (یا کوفکتور) نقش دارد که هم در کاتالیز و هم در تثبیت کمپلکس آنزیم - سوبسترا ابتدایی به‌کار می‌رود (فصل ۸). در مورد β-کتوآسیل - کوآ ترانسفراز، بنظر می‌رسد قسمت نوکلئوتیدی کوآنزیم A به‌صورت یک دسته اتصالی عمل

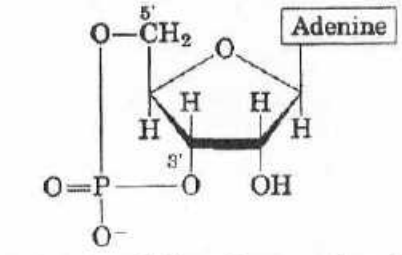
Book.Apfarsi.ir

می‌نماید که سبب کشاندن سوبسترا (استواستیل - کوآ) به داخل جایگاه فعال می‌گردد. اعمال مشابهی ممکن است برای قسمت نوکلئوزیدی کوفکتورهای نوکلئوتیدی وجود داشته باشد.

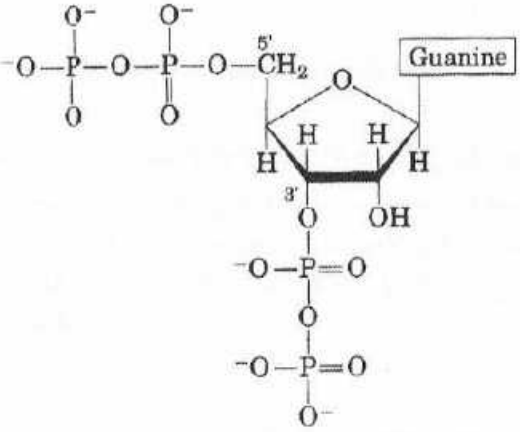
چرا در این ساختمان‌ها از آدنوزین استفاده می‌شود؟ در اینجا احتمالاً شکلی از اقتصاد تکاملی نقش دارد. مطمئناً آدنوزین از نظر میزان ایجاد انرژی پتانسیل اتصالی، بی‌همتا نمی‌باشد. اهمیت استفاده از آدنوزین احتمالاً ارتباط زیادی با ویژگی شیمی فضایی آن نداشته و بیشتر مربوط به مزیت تکاملی استفاده از یک ترکیب برای اعمال متعدد می‌باشد. وقتی ATP منبع عمومی انرژی شیمیایی شد، سیستم‌هایی برای سنتز مقادیر زیاد ATP نسبت به سایر نوکلئوتیدها، طراحی شدند؛ به دلیل فراوانی، منطقاً ATP شانس بیشتری برای شرکت در انواع مختلفی از ساختمان‌ها پیدا نمود. این اقتصاد به ساختمان پروتئینی بسط داده شد. در انواع وسیعی از آنزیمها، دومن پروتئینی برای اتصال به آدنوزین وجود دارد. این نوع دومن که به آن **خم اتصالی نوکلئوتیدی**[1] اتلاق می‌شود، در بسیاری از آنزیم‌هایی یافت می‌گردد که به ATP و کوفکتورهای نوکلئوتیدی متصل می‌شوند.

بعضی از نوکلئوتیدها ملکول‌های تنظیمی هستند

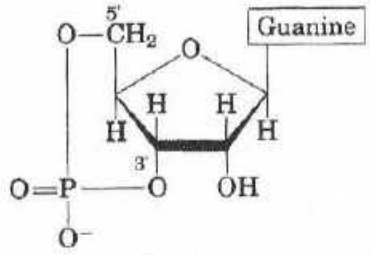
سلول‌ها در اثر تحریک توسط هورمون‌ها یا سایر پیام‌های شیمیایی خارجی، به محیط خود پاسخ می‌دهند. واکنش متقابل بین این پیام‌های شیمیایی خارج‌سلولی (پیامبرهای اول) با گیرنده‌های موجود در سطح سلول، اغلب منجر به تولید **پیامبرهای ثانویه**[2] در داخل سلول می‌شود که بنوبه خود سبب تغییرات تطبیقی در داخل سلول می‌گردند (فصل ۱۳). در اغلب موارد، پیامبر دوم یک نوکلئوتید می‌باشد (شکل ۴۲-۱۰). یکی از معمولترین این پیامبرها آدنوزین ´۳، ´۵- **حلقوی منوفسفات (cAMP یا AMP حلقوی)** است که توسط آنزیم آدنیلات سیکلاز موجود در سطح داخلی غشاء پلاسمایی از ATP تولید می‌شود. در حقیقت، AMP حلقوی در تمامی سلول‌ها، به غیر از



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



Guanosine 3'-diphosphate,5'-diphosphate
(guanosine tetraphosphate)
(ppGpp)



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

شکل ۴۲-۱۰. سه نوکلئوتید تنظیمی.

1- Nucleotide binding fold

2- Secondary messengers

Book Anfarsi.ir

سلول‌های گیاهی، دارای اعمال تنظیمی است. گوانوزین ´۳، ´۵- حلقوی منوفسفات (cGMP) که در بسیاری از سلول‌ها یافت می‌شود نیز دارای اعمال تنظیمی است.

نوکلئوتید تنظیمی دیگر، یعنی ppGpp (شکل ۴۲-۱۰)، در پاسخ به کاهش سنتز پروتئین در هنگام فقر اسیدهای آمینه در باکتریها تولید می‌شود. این نوکلئوتید مانع سنتز ملکول‌های rRNA و tRNA (شکل ۲۶-۲۸ را ببینید) لازم برای سنتز پروتئین شده و بدین‌ترتیب از تولید اسیدهای نوکلئیک غیرضروری ممانعت بعمل می‌آورد.

خلاصه

نوکلئوتیدها اعمال متنوع مهمی را در داخل سلول انجام می‌دهند. نوکلئوتیدها به عنوان زیرواحدهای اسیدهای نوکلئیک، حامل اطلاعات ژنتیک هستند. این ملکول‌ها همچنین ناقلین اصلی انتقال انرژی شیمیایی در داخل سلول بوده، در ساختمان بعضی از کوفکتورهای آنزیمی شرکت نموده و به عنوان پیامبرهای ثانویه سلولی به‌کار می‌روند.

هر نوکلئوتید از باز نیتروژنی (پورین یا پیریمیدین)، یک قند پنتوز و یک یا چند گروه فسفات تشکیل شده است. اسیدهای نوکلئیک، پلیمرهای نوکلئوتیدی هستند که توسط اتصالات فسفودی‌استری بین ´۵ هیدروکسیل یک پنتوز و ´۳ هیدروکسیل پنتوز بعدی، به یکدیگر متصل شده‌اند. دو نوع اسید نوکلئیک، شامل DNA و RNA، وجود دارد. نوکلئوتیدهای موجود در RNA دارای ریبوز بوده و بازهای پیریمیدینی آنها را اوراسیل و سیتوزین تشکیل می‌دهند. در DNA، نوکلئوتیدها حاوی ´۲-داکسی‌ریبوز بوده و بازهای پیریمیدینی آنها را عموماً تیمین و سیتوزین تشکیل می‌دهند. پورین‌های اصلی موجود در هر دو ملکول RNA و DNA شامل آدنین و گوانین می‌باشند.

شواهد زیادی نشان می‌دهد که DNA حامل اطلاعات ژنتیکی است. بخصوص آزمایش مک‌لود-مک‌کارتی نشان داد که DNA ایزوله شده از یک سوش باکتریایی می‌تواند وارد سلول سوش دیگر شده و با تغییر ژنوم آن سبب ایجاد بعضی خصوصیات قابل‌وراثت دهنده در گیرنده گردد. آزمایش هرشی-چیس نیز نشان داد که این DNA ویروس، و نه پوشش پروتئینی آن، است **که پیام ژنتیک را برای همانندسازی ویروس در سلول میزبان حمل می‌نماید.**

از مطالعات انکسار اشعه x فیبرهای DNA توسط فرانکلین و ویلکینز و کشف شارگاف مبنی بر وجود مقادیر برابر بازها در DNA (A=T و G=C)، واتسون و کریک ساختمان DNA را به‌صورت دو زنجیر موازی ناهمسو در نظر گرفتند که دارای آرایش مارپیچ دورشته‌ای راست‌گردان می‌باشد. جفت‌های بازی مکمل، A=T و G≡C، با تشکیل پیوند هیدروژنی در داخل مارپیچ ایجاد شده و اسکلت‌های آبدوست قند-فسفات در خارج قرار می‌گیرند. این جفت‌های بازی عمود بر محور طولی متراکم شده‌اند و ۳/۴Å از یکدیگر فاصله دارند؛ در هر دور کامل چرخش مارپیچ دورشته‌ای، ۱۰/۵ جفت باز وجود دارد.

ملکول DNA می‌تواند به چندین شکل ساختمانی دیده شود. در ساختمان‌های کریستالی DNA، دو شکل متفاوت از شکل B واتسون-کریک، بنامهای اشکال A و Z، وجود دارد. مارپیچ شکل A، در مقایسه با مارپیچ شکل B با توالی یکسان، کوتاهتر بوده و قطر بیشتری دارد. شکل Z مارپیچ چپ‌گرد است. بعضی اشکال متفاوت ساختمانی منجر به خمیدگی در ملکول DNA شده که ایجاد آنها بستگی به توالی نوکلئوتیدی دارد. رشته‌های DNA دارای توالی‌های تکراری معکوس مکمل یکدیگر، می‌توانند ایجاد ساختمان‌های سنجاقی یا صلیبی نمایند. بعضی قطعات پلی‌پیریمیدینی و پلی‌پورینی قادرند با رشته‌ها یا ملکول‌های دو رشته‌ای دیگر حاوی توالی مناسب، جفت شده و ایجاد ملکول DNA سه رشته یا چهار رشته نمایند. قطعات پلی‌پیریمیدینی که به شکل توالی‌های تکراری آینه‌ای هستند نیز می‌توانند ساختمان مارپیچ سه‌تایی، بنام H-DNA، ایجاد نمایند.

RNA پیک وسیله‌ای است که توسط آن اطلاعات لازم برای سنتز از DNA به ریبوزوم‌ها منتقل می‌گردد. RNA ناقل و RNA، ریبوزومی نیز در سنتز پروتئین نقش دارند. ملکول RNA می‌تواند ساختمان ملکولی پیچیده‌ای داشته باشد، به‌طوری که تک‌رشته‌های RNA، اغلب به‌صورت سنجاق، نواحی دو رشته و قوسهای پیچیده دیده می‌شوند.

با گرم‌نمودن و یا در pH بسیار بالا یا پایین، رشته‌های موجود در ملکول DNA طبیعی به‌طور برگشت‌پذیر باز و از یکدیگر

جدا (ذوب) می‌شوند. به دلیل پایداری بیشتر جفت‌های G≡C از جفت‌های A=T، نقطه ذوب ملکول‌های DNA غنی از جفت‌های G≡C بیشتر از ملکول‌های DNA غنی از جفت‌های A=T می‌باشد. ملکول‌های DNA تک‌رشته‌ای تغییرماهیت‌داده دوگونه متفاوت می‌توانند ایجاد ملکول دو رشته‌ای هیبرید نمایند که شدت ایجاد این هیبرید بستگی به میزان شباهت بین توالی‌های آنها دارد. ایجاد هیبرید اساس فن‌آوری‌های مهمی است که برای مطالعه و جداسازی ژنها و ملکول‌های RNA اختصاصی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

ملکول DNA یک پلیمر نسبتاً پایداری است. به‌طوری که واکنش‌های خودبخودی، نظیر دآمیناسیون بعضی از بازها، هیدرولیز پیوندهای *N*-گلیکوزیل بین باز و قند، ایجاد دیمرهای پیریمیدینی در حضور اشعه و آسیب اکسیداتیو، با سرعت بسیار پایین انجام می‌شوند؛ هرچند همین میزان نیز به دلیل ظرفیت سلولی بسیار پایین در تحمل تغییرات ماده ژنتیکی، اهمیت دارد. توالی‌های DNA را می‌توان تعیین نمود و همچنین می‌توان با به‌کارگیری پروتوکل‌های ساده اتوماتیک و استفاده از روش‌های شیمیایی و آنزیمی، پلیمرهای DNA را سنتز کرد.

ATP حامل اصلی انرژی شیمیایی در داخل سلول می‌باشد. وجود یک قسمت آدنوزینی در انواع مختلفی از کوفکتورهای آنزیمی ممکن است با نیازهای اتصالی - انرژی ارتباط داشته باشد. AMP حلقوی حاصل از ATP طی واکنش آدنیلات سیکلاز، یک پیامبر دوم معمول می‌باشد که در پاسخ به هورمون‌ها یا سایر پیام‌های شیمیایی تولید می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir

۱۱ لیپیدها

لیپیدهای بیولوژیک گروهی از ترکیبات می‌باشند که از نظر شیمیایی تنوع زیادی داشته و خصوصیت تعریف‌کننده مشترک این ترکیبات، عدم حلالیت آنها در آب می‌باشد. اعمال بیولوژیک لیپیدها، همانند شیمی آنها، متنوع است. چربی‌ها و روغن‌ها، اشکال ذخیره‌ای اصلی انرژی در بسیاری از موجودات زنده می‌باشند. فسفولیپیدها و استرول‌ها، عناصر ساختمانی اصلی غشاءهای بیولوژیک هستند. سایر لیپیدها، هرچند به مقادیر نسبتاً کمی وجود دارند، اعمال مهمی را به‌عنوان کوفکتورهای آنزیمی، عوامل امولسیفیه کننده، هورمون‌ها و پیامبرهای داخل‌سلولی، انجام می‌دهند. در این فصل هر کدام از این لیپیدها، با تأکید بر ساختمان شیمیایی و ویژگی‌های فیزیکی آنها، معرفی می‌گردند.

لیپیدهای ذخیره‌ای

چربی‌ها و روغن‌ها که تقریباً به‌طور همگانی به‌عنوان اشکال ذخیره‌ای انرژی در موجودات زنده مورد استفاده قرار می‌گیرند، مشتقاتی از **اسیدهای چرب** می‌باشند. اسیدهای چرب مشتقات هیدروکربنی هستند که با همان وضعیت اکسیداسیون پایین (یعنی، به شکل شدیداً احیاءشده) هیدروکربن‌های موجود در سوخت‌های فسیلی، وجود دارند. اکسیداسیون سلولی اسیدهای چرب (به CO_2 و H_2O)، همانند سوختن سریع و کنترل‌شده سوخت‌های فسیلی در موتورهای احتراق داخلی، شدیداً انرژی‌زا می‌باشد.

در اینجا به معرفی ساختمان و اصطلاحات مربوط به اسیدهای چربی پرداخته می‌شود که در موجودات زنده بیشتر یافت می‌شوند. برای نمایش تنوع ساختمانی و ویژگی‌های فیزیکی این خانواده از ترکیبات، دو نوع از ترکیبات حاوی اسیدهای چرب، شامل تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و موم‌ها، شرح داده می‌شوند.

اسیدهای چرب مشتقات هیدروکربنی هستند

اسیدهای چرب، اسیدهای کربوکسیلیکی هستند که تعداد کربن‌های موجود در ساختمان آنها از ۴ تا ۳۶ (C_4 تا C_{36}) متفاوت می‌باشد. در بعضی از اسیدهای چرب، این زنجیر کاملاً اشباع (فاقد پیوندهای دوگانه) بوده و بدون شاخه می‌باشد؛ در اسیدهای چرب دیگر، این زنجیر دارای یک یا چند پیوند دوگانه است (جدول ۱-۱۱). تعدادی از ملکول‌های اسید چرب، در ساختمان خود حلقه‌های سه کربنه، گروه‌های هیدروکسیل یا شاخه‌های گروه متیل دارند. در ساده‌ترین روش، این ترکیبات براساس طول (تعداد کربن‌های موجود در زنجیر) و تعداد پیوندهای دوگانه‌ای مشخص می‌گردند که توسط دو نقطه از یکدیگر جدا شده‌اند؛ برای مثال، اسید پالمیتیک ۱۶ کربنه اشباع با مخفف ۱۶:۰، و اسید اولئیک ۱۸ کربنه دارای یک پیوند دوگانه با مخفف ۱۸:۱، مشخص می‌شوند. موقعیت هر پیوند دوگانه توسط اعداد بالانگاشته بعد از Δ (دلتا) نمایش داده می‌شوند؛ یک اسید چرب ۲۰ کربنه دارای یک پیوند دوگانه بین کربن‌های ۹ و ۱۰ (شماره‌گذاری کربن ۱ از کربن کربوکسیل آغاز می‌گردد) و پیوند دوگانه دیگر بین

Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۱۱. تعدادی از اسیدهای چرب موجود در طبیعت

Carbon skeleton	Structure*	Systematic name†	Common name (derivation)	Melting point (°C)	Solubility at 30 °C (mg/g solvent)	
					Water	Benzene
12:0	$CH_3(CH_2)_{10}COOH$	*n*-Dodecanoic acid	Lauric acid (Latin *laurus*, "laurel plant")	44.2	0.063	2,600
14:0	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	*n*-Tetradecanoic acid	Myristic acid (Latin *Myristica*, nutmeg genus)	53.9	0.024	874
16:0	$CH_3(CH_2)_{14}COOH$	*n*-Hexadecanoic acid	Palmitic acid (Latin *palma*, "palm tree")	63.1	0.0083	348
18:0	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	*n*-Octadecanoic acid	Stearic acid (Greek *stear*, "hard fat")	69.6	0.0034	124
20:0	$CH_3(CH_2)_{18}COOH$	*n*-Eicosanoic acid	Arachidic acid (Latin *Arachis*, legume genus)	76.5		
24:0	$CH_3(CH_2)_{22}COOH$	*n*-Tetracosanoic acid	Lignoceric acid (Latin *lignum*, "wood" + *cera*, "wax")	86.0		
16:1(Δ^9)	$CH_3(CH_2)_5CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	*cis*-9-Hexadecenoic acid	Palmitoleic acid	−0.5		
18:1(Δ^9)	$CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	*cis*-9-Octadecenoic acid	Oleic acid (Latin *oleum*, "oil")	13.4		
18:2($\Delta^{9,12}$)	$CH_3(CH_2)_4CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	*cis*-,*cis*-9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid (Greek *linon*, "flax")	−5		
18:3($\Delta^{9,12,15}$)	$CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$	*cis*-,*cis*-,*cis*-9,12,15-Octadecatrienoic acid	α-Linolenic acid	−11		
20:4($\Delta^{5,8,11,14}$)	$CH_3(CH_2)_4CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_3COOH$	*cis*-,*cis*-,*cis*-,*cis*-5,8,11,14-Icosatetraenoic acid	Arachidonic acid	−49.5		

* تمامی اسیدها به اشکال غیریونیزه نشان داده شده‌اند. در pH۷، تمامی اسیدهای چرب دارای یک کربوکسیلات یونیزه هستند. توجه داشته باشید که شماره اتم‌های کربن از کربوکسیل آغاز می‌گردد.

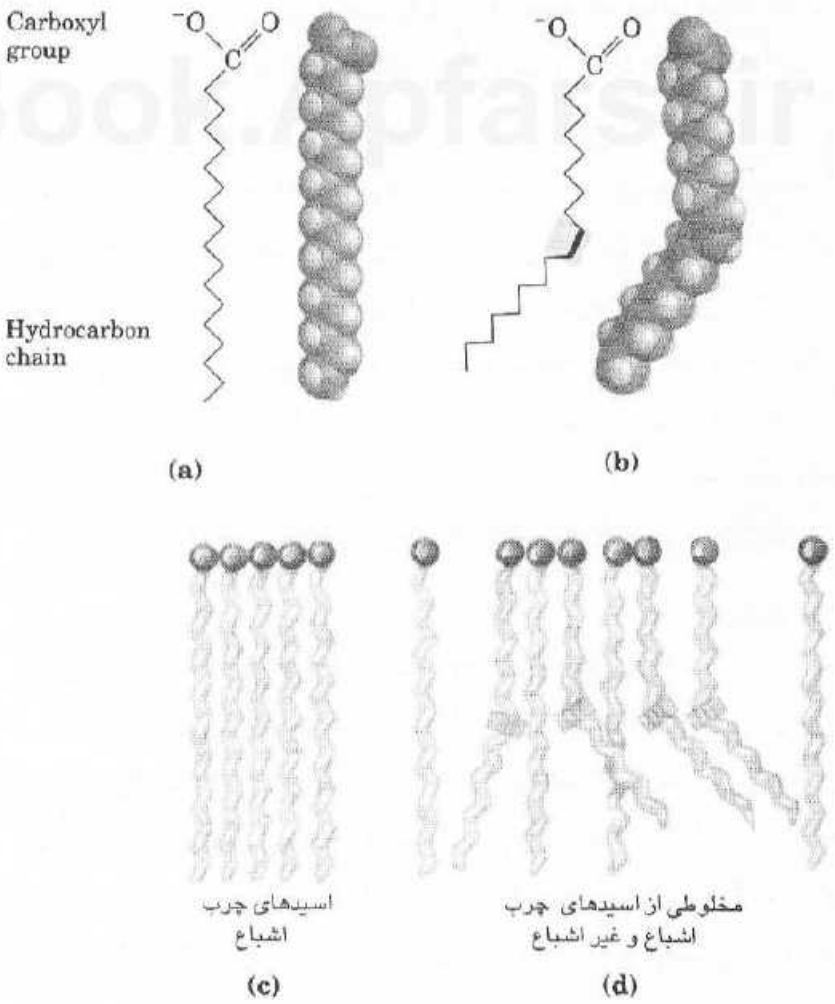
† پیشوند -*n* به معنی ساختمان غیرمنشعب «طبیعی» است. برای مثال «dodecanoic»، تنها ۱۲ اتم کربن را مشخص نموده که می‌تواند به اشکال مختلف شاخه‌دار آرایش یابند؛ «*n*-dodecanic»، شکل خطی و غیرمنشعب را نشان می‌دهد. در مورد اسیدهای چرب غیراشباع، کونفیگوراسیون هر پیوند دوگانه مشخص شده است؛ در اسیدهای چرب بیولوژیک، تقریباً همیشه کونفیگوراسیون از نوع سیس می‌باشد.

کربن‌های ۱۲ و ۱۳، به صورت ۲۰:۲($\Delta^{9,12}$) نمایش داده می‌شود. معمول‌ترین اسیدهای چرب موجود، دارای تعداد کربن زوج بوده که در یک زنجیر غیرمنشعب ۱۲ تا ۲۴ کربنه قرار می‌گیرند (جدول ۱-۱۱). همانطور که در فصل ۲۱ خواهیم دید، تعداد زوج کربن‌ها به خاطر نحوه سنتز این ترکیبات می‌باشد که مستلزم کندانساسیون واحدهای استات (دو کربنه) است.

در مورد موقعیت پیوندهای دوگانه نیز، الگوی خاصی وجود دارد؛ در اکثر اسیدهای چرب غیراشباع دارای یک پیوند دوگانه، این پیوند دوگانه بین کربن‌های ۹ و ۱۰ (Δ^9) قرار داده شده و سایر پیوندهای دوگانه موجود در اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه، عموماً در Δ^{12} و Δ^{15} دیده می‌شوند. (از این نظر اسید آراشیدونیک یک استثناء می‌باشد.) پیوندهای دوگانه اسیدهای چرب غیراشباع دارای چند پیوند دوگانه هرگز در مجاورت یکدیگر یا به صورت کونژوگه (وجود یک پیوند یگانه بین دو پیوند دوگانه، همانند -CH=CH-CH=CH-) دیده نشده، بلکه توسط یک گروه متیلن از یکدیگر جدا می‌گردند (-CH=CH-CH_2-CH=CH-). تقریباً در تمامی اسیدهای چرب غیراشباع موجود در طبیعت، پیوندهای دوگانه از نوع کونفیگوراسیون سیس می‌باشند.

خصوصیات فیزیکی اسیدهای چرب و ترکیبات حاوی آنها، به میزان زیادی توسط طول و شدت غیراشباع بودن

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱-۱۱. متراکم‌شدن اسیدهای چرب به شکل تجمعات پایدار. میزان تراکم بستگی به شدت اشباع دارد. **(a)** دو شکل نمایشی اسید استاریک کاملاً اشباع (استئارات در pH ۷) به شکل کونفورماسیون امتدادیافته معمول آن. هر قطعه خط زیگزاگی نمایشی از یک پیوند یگانه بین دو کربن مجاور می‌باشد. **(b)** پیوند دوگانه سیس (سایه‌دار) در اسید اولئیک (اولئات) مانع چرخش شده و یک خمیدگی سخت را در دم هیدروکربنی ایجاد می‌نماید. تمامی پیوندهای دیگر موجود در زنجیر دارای آزادی چرخش هستند. **(c)** اسیدهای چرب کاملاً اشباع در شکل امتداد یافته، تقریباً به شکل صفوف کریستالی متراکم شده و این حالت توسط واکنش‌های متقابل متعدد آبگریز پایدار می‌گردد. **(d)** وجود یک یا چند پیوند دوگانه، با ایجاد این تراکم شدید تداخل نموده و ایجاد تجمعاتی با پایداری کمتر می‌نماید.

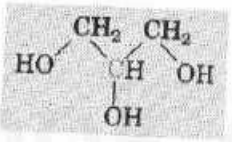
زنجیر هیدروکربنی مشخص می‌گردد. زنجیر هیدروکربنی غیرقطبی مسئول حلالیت ضعیف اسیدهای چرب در آب می‌باشد. برای مثال، میزان حلالیت اسید لوریک (۱۲:۰، وزن‌ملکولی ۲۰۰) در آب برابر ۰/۰۶۳ mg/g بوده که بسیار کمتر از حلالیت (۱،۱۰۰ mg/g) گلوکز (وزن‌ملکولی ۱۸۰) است. هر چه زنجیر هیدروکربنی بلندتر و پیوندهای دوگانه کمتر باشد، حلالیت در آب کمتر می‌شود. گروه اسید کربوکسیلیک قطبی بوده (و در pH خنثی یونیزه شده) و مسئول حلالیت مختصر اسیدهای چرب زنجیر کوتاه در آب می‌باشند.

نقاط ذوب نیز شدیداً تحت تأثیر طول و شدت غیراشباع‌بودن زنجیر هیدروکربنی است. در دمای اتاق (۲۵°C)، اسیدهای چرب ۱۲:۰ تا ۲۴:۰ دارای قوام مومی بوده، درحالیکه اسیدهای چرب غیراشباع با این طول‌ها به صورت روغن‌های مایع می‌باشند. این تفاوت در نقطه ذوب ناشی از تفاوت در شدت متراکم‌شدن ملکول‌های اسید چرب (شکل ۱-۱۱) است. در ترکیبات کاملاً اشباع، چرخش آزاد حول هر پیوند کربن-کربن به این زنجیر هیدروکربنی انعطاف‌پذیری زیادی می‌دهد؛ پایدارترین کونفورماسیون، شکل کاملاً امتدادیافته می‌باشد که در آن ممانعت فضایی اتم‌های مجاور به حداقل می‌رسد. این ملکول‌ها می‌توانند به صورت صفوف تقریباً کریستالی درکنار یکدیگر متراکم شده و در این حالت اتم‌های موجود در طول آنها در تماس واندروالس با اتم‌های موجود در ملکول‌های مجاور می‌باشند. در اسیدهای چرب غیراشباع، وجود پیوند سیس منجر به ایجاد یک خمیدگی در زنجیر هیدروکربنی می‌گردد. اسیدهای چرب دارای یک یا چند خمیدگی از این نوع، نمی‌توانند همانند اسیدهای چرب کاملاً اشباع، در کنار یکدیگر متراکم شده و بنابراین واکنش‌های متقابل بین آنها ضعیف‌تر خواهد بود. بعلت نیاز به انرژی حرارتی

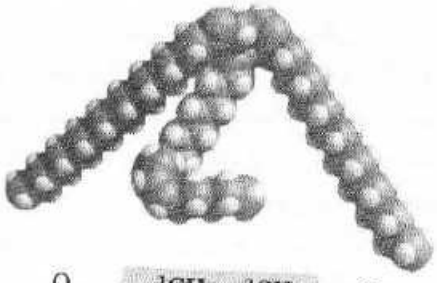
Book.Apfarsi.ir

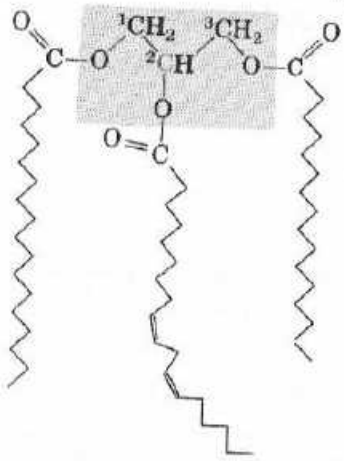
کمتر برای به‌هم‌ریختن این صفوف دارای نظم ضعیف، نقاط ذوب اسیدهای چرب غیراشباع، به میزان زیادی کمتر از اسیدهای چرب اشباع با همان طول می‌باشد.

در مهره‌داران، اسیدهای چرب آزاد (اسیدهای چرب غیراستریفیه دارای یک گروه کربوکسیلات آزاد) در داخل گردش خون با اتصال غیرکووالان به یک حامل پروتئینی، بنام آلبومین سرمی، حرکت می‌نمایند. هرچند، بیشتر اسیدهای چرب موجود در پلاسمای خون، به صورت مشتقات اسید کربوکسیلیک نظیر استرها یا آمیدها هستند، به خاطر نداشتن گروه کربوکسیل باردار، عموماً این مشتقات اسیدهای چرب، نسبت به اسیدهای چرب آزاد، حلالیت کمتری در آب دارند.



Glycerol





1-Stearoyl, 2-linoleoyl, 3-palmitoyl glycerol, a mixed triacylglycerol

شکل ۲-۱۱. گلیسرول و یک تری‌آسیل‌گلیسرول. تری‌آسیل‌گلیسرول مخلوطی که در اینجا نشان داده شده است، دارای سه اسید چرب مختلف متصل به اسکلت گلیسرولی می‌باشد. وقتی دو اسید چرب مختلف به کربن‌های ۱ و ۳ اتصال می‌یابد، آنگاه کربن ۲ یک مرکز کایرال خواهد بود (ص. ۶۹).

تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، استرهای اسید چرب می‌باشند

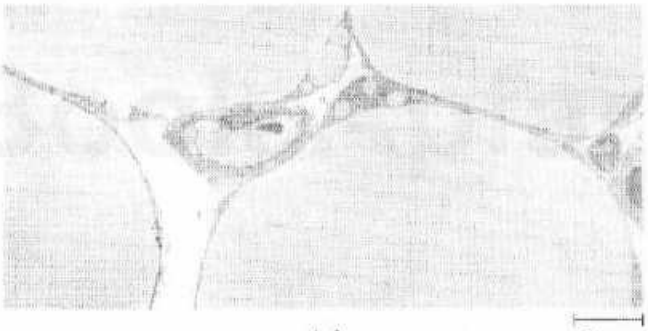
ساده‌ترین لیپیدهای ساخته‌شده از اسیدهای چرب را **تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها** تشکیل می‌دهند که تری‌گلیسرید، چربی یا چربی خنثی نیز نامیده می‌شوند. تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها متشکل از سه اسید چرب می‌باشند که هر کدام با یک اتصال استری به یکی از گروه‌های هیدروکسیل گلیسرول متصل شده‌اند (شکل ۲-۱۱). ترکیباتی که دارای سه اسید چرب مشابه هستند، تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ساده نامیده شده و نامگذاری آنها براساس نوع اسید چرب موجود در آنها می‌باشد. برای مثال، تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ساده ۱۶:۰، ۱۸:۰ و ۱۸:۱، به ترتیب تری‌پالمیتین، تری‌استئارین و تری‌اولئین، نامیده می‌شوند. (در متن کتاب اصلی به غلط ترتیب «تری‌استئارین، تری‌پالمیتین است. «مترجم») اکثر تری‌آسیل‌گلیسرول‌های موجود در طبیعت از نوع مخلوط بوده که در آنها دو یا چند اسید چرب مختلف وجود دارد. برای نامگذاری این ترکیبات، لازم است نام و موقعیت هر اسید چرب استریفیه‌شده مشخص گردد.

از آنجایی که گروه‌های هیدروکسیل قطبی گلیسرول و کربوکسیلات قطبی اسیدهای چرب در داخل اتصالات استری قرار می‌گیرند، تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها ملکول‌های غیرقطبی آبگریز، و ضرورتاً نامحلول در آب، می‌باشند. لیپیدها وزن مخصوص کمتری در مقایسه با آب دارند و این موضوع توجیه می‌نماید که چرا مخلوط آب و روغن (روغن و سرکه در سس سالاد) ایجاد دو فاز می‌نمایند؛ روغن با داشتن وزن مخصوص کمتر، در سطح فاز آبی شناور می‌گردد.

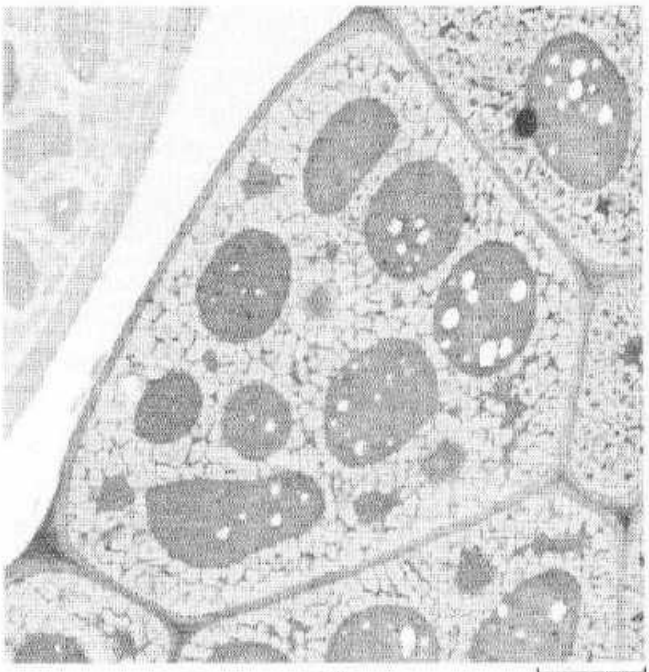
تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها به‌عنوان انرژی ذخیره‌شده و عایق عمل می‌نمایند

در بیشتر سلول‌های اوکاریوتی، تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها یک فاز مجزا میکروسکوپی، به صورت قطرات چربی در سیتوزول آبی ایجاد نموده و به‌عنوان ذخایر مواد سوختی متابولیک عمل می‌نمایند (شکل ۳-۱۱). در مهره‌داران

Book Anfarsi.ir



(a)



(b)

شکل ۳-۱۱. ذخایر چربی در سلول‌ها. (a) برش عرضی چهار سلول چربی خوکچه هندی که قطرات بزرگ چربی را نشان می‌دهد که تقریباً تمامی سلول را پر کرده‌اند. در این برش عرضی، چندین مویرگ نیز مشاهده می‌گردد. (b) برش عرضی یک سلول cotyledon از یک دانه گیاه *Arabidopsis*. ساختمان‌های بزرگ تیره اجسام پروتئینی هستند که توسط روغن‌های ذخیره‌شده موجود در اجسام روغنی با رنگ روشن، احاطه شده‌اند.

سلول‌های اختصاصی، بنام سلول‌های چربی، مقادیر زیادی از تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها را به صورت قطرات چربی ذخیره می‌نمایند که تقریباً به‌طور کامل سلول را پر می‌کنند. تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها همچنین به صورت روغن در داخل دانه‌های بسیاری از گیاهان ذخیره‌شده و انرژی و پیش‌سازهای بیوسنتیک مورد نیاز در هنگام جوانه‌زدن دانه را فراهم می‌آورند (شکل ۳b-۱۱). سلول‌های چربی و دانه‌های جوانه‌زن حاوی آنزیم‌های **لیباز** هستند که با هیدرولیز تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ذخیره‌شده، اسیدهای چرب را آزاد نموده تا به مناطق نیازمند به آنها به‌عنوان سوخت، انتقال داده شوند.

دو مزیت مهم برای استفاده از تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها به‌عنوان سوخت‌های ذخیره‌ای، در مقایسه با پلی‌ساکاریدهایی نظیر گلیکوژن و نشاسته، وجود دارد. اول، به علت اینکه اتم‌های کربن اسیدهای چرب احیاءشده‌تر از نندها می‌باشند، اکسیداسیون تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها همراه با رهاسازی دوبرابر انرژی، در مقایسه با گرم به گرم کربوهیدرات‌ها، خواهد بود. دوم، چون تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها آبگریز هستند و بنابراین غیرهیدراته می‌باشند، موجود زنده‌ای که حامل چربی به‌عنوان سوخت می‌باشد، لزومی به حمل وزن اضافی آب هیدراتاسیون ندارد که همراه با پلی‌ساکاریدهای ذخیره‌شده (۲g به ازاء هر گرم پلی‌ساکارید) وجود دارد. انسان دارای بافت چربی است که اساساً از سلول‌های چربی موجود در زیر پوست، حفره شکمی و غدد پستانی، تشکیل شده است. ۱۵ تا ۲۰ kg تری‌آسیل‌گلیسرول ذخیره‌شده در سلول‌های چربی افراد با چاقی متوسط، می‌تواند نیاز انرژی آنها را برای ماه‌ها بر طرف نماید. برعکس، بدن انسان می‌تواند مقداری کمتر از میزان انرژی مورد نیاز یک روز را به شکل گلیکوژن ذخیره نماید. کربوهیدرات‌هایی نظیر گلوکز و گلیکوژن، دارای مزایایی نظیر حلالیت ساده در آب و بنابراین تبدیل‌شدن به یک منبع سریع انرژی متابولیک می‌باشند.

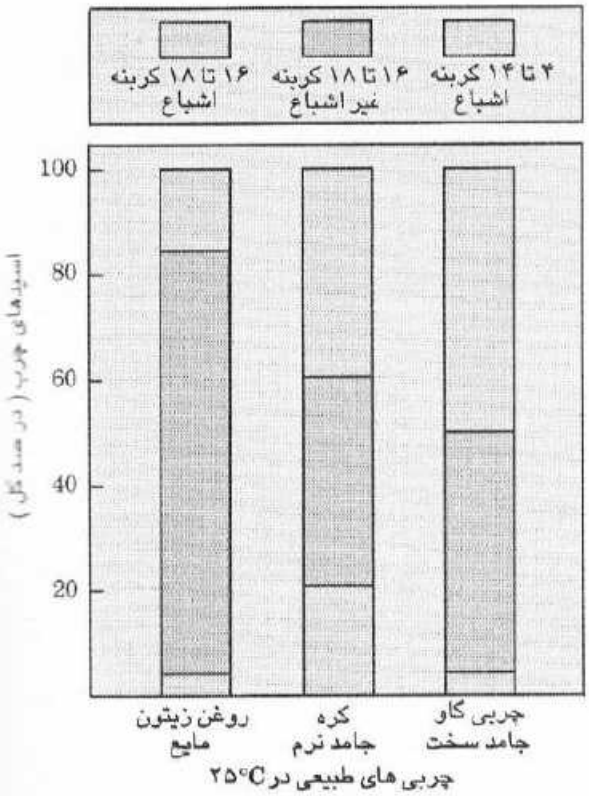
در بعضی از حیوانات، تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ذخیره‌شده در زیر پوست، نه تنها به‌عنوان ذخایر انرژی، بلکه همچنین به‌عنون عایق در برابر درجه حرارت‌های پایین عمل می‌نمایند. خوک‌های آبی، شیرماهی‌ها، پنگوئن‌ها و سایر حیوانات خون‌گرم قطبی، دارای لایه‌های متعددی از تری‌آسیل گلیسرول‌ها می‌باشند. در حیوانات دارای خواب

زمستانی (مثلاً خرس)، توده وسیع چربی که قبل از خواب زمستانی تجمع می‌یابد، دو نقش متفاوت در ایجاد عایق حرارتی و تولید انرژی دارد (کادر ۱-۱۷ را ببینید). چگالی پایین تری‌آسیل گلیسرول‌ها، اساس عمل قابل توجه دیگر این ترکیبات می‌باشد. در نهنگ دریایی، مخزنی از تری‌آسیل گلیسرول‌ها و موم‌ها به این حیوان اجازه می‌دهد تا در هنگام فرورفتن به اعماق آب سرد، چگالی شناور بودن بدن خود را با محیط اطراف منطبق نماید.

مواد غذایی متعددی حاوی تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها می‌باشند

بسیاری از چربی‌های طبیعی، نظیر انواع موجود در روغن سبزیجات، فرآورده‌های لبنی و چربی حیوانی، مخلوط‌های پیچیده‌ای از تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ساده و مرکب می‌باشند. این چربی‌ها حاوی انواع مختلفی از اسیدهای چرب می‌باشند که از نظر طول زنجیر و تعداد پیوند دوگانه با یکدیگر متفاوت هستند (شکل ۴-۱۱). روغن سبزیجاتی نظیر ذرت و روغن زیتون، بیشتر از تری‌آسیل‌گلیسرول‌های دارای اسیدهای چرب غیراشباع تشکیل شده‌اند و بنابراین در دمای اتاق مایع می‌باشند. در صنعت، این روغن‌ها با هیدروژناسیون کاتالیتیک که سبب احیاء تعدادی از پیوندهای دوگانه موجود در آنها به پیوندهای یگانه می‌گردد، به چربی‌های جامد تبدیل می‌شوند. تری‌آسیل‌گلیسرول‌های حاوی تنها اسیدهای چرب اشباع، نظیر تری‌استئارین (جزء اصلی چربی گوشت گاو)، در دمای اتاق به صورت ترکیبات جامد گریسی سفید می‌باشند.

وقتی غذاهای غنی از لیپید بمدت طولانی در معرض اکسیژن هوا قرار می‌گیرند، ممکن است فاسد شوند. طعم و بوی نامطلوب فاسدشدن از تجزیه اکسیداتیو پیوندهای دوگانه در اسیدهای چرب غیراشباع حاصل می‌گردد که ایجاد آلدیدها و اسیدهای کربوکسیلیک با طول زنجیر کوتاهتر و بنابراین فرارتر می‌نمایند.



شکل ۴-۱۱ [شکل ۳۱ ضمیمه رنگی]. ترکیب اسید چرب سه چربی غذایی. روغن زیتون، کره و چربی گوشت گاو، متشکل از مخلوط‌های تری‌آسیل‌گلیسرولی می‌باشند که از نظر ترکیب اسید چرب خود متفاوتند. نقاط ذوب این چربی‌ها، و بنابراین حالت فیزیکی آنها در دمای اتاق (۲۵°C)، تابع مستقیمی از ترکیب اسید چرب موجود در آنها می‌باشد. روغن زیتون نسبت بالائی از اسیدهای چرب غیراشباع با زنجیر بلند (۱۶ و ۱۸ کربنه) داشته که علت مایع‌بودن آن در دمای ۲۵°C می‌باشد. نسبت بالاتر اسیدهای چرب اشباع با زنجیر بلند (۱۶ و ۱۸ کربنه) در کره، نقطه ذوب آن را افزایش داده، بطوریکه کره در حرارت اتاق به صورت جامد نرم می‌باشد. چربی گوشت گاو که نسبت حتی بالاتری از اسیدهای چرب اشباع با زنجیر بلند را دارد، یک جامد سفت می‌باشد.

موم‌ها به‌عنوان ذخیره انرژی و دافع آب عمل می‌نمایند

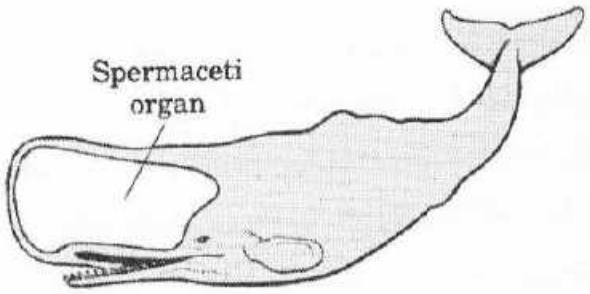
موم‌های بیولوژیک، استرهای اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع زنجیر بلند (۱۴ تا ۳۶ کربن‌ها) با الکل‌های زنجیر بلند (۱۶ تا ۳۰ کربن‌ها) می‌باشند (شکل ۵-۱۱). نقاط ذوب این ترکیبات (۶۰ تا ۱۰۰°C) عموماً بیش از تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها می‌باشد. در پلانکتون، موجودات ریز دریایی موجود در انتهای زنجیر غذایی، موم‌ها ذخیره

Book Anfarsi.ir

کادر ۱-۱۱. نهنگ‌های دریایی: چربی‌های سر برای ماندن در اعماق

با مطالعه بر روی نهنگ‌های دریایی، استفاده بیولوژیک دیگر تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها نمایان شده است. سر نهنگ دریایی بسیار بزرگ بوده و بیش از یک سوم کل وزن بدن آن را تشکیل می‌دهد. حدود ۹۰٪ وزن این سر از عضو اسپرماستی تشکیل شده است که خود یک توده چربی حاوی حدود ۱۸,۰۰۰ kg روغن اسپرماستی، مخلوطی از تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و موم‌های دارای مقادیر زیاد چربی غیراشباع، می‌باشد. در دمای بدن نهنگ در حال استراحت، یعنی حدود ۳۷°C، این مخلوط مایع بوده ولی در حدود ۳۱°C شروع به کریستالی‌شدن نموده و وقتی درجه حرارت چند درجه بیشتر کاهش می‌یابد، جامد می‌گردد.

عملکرد بیولوژیکی احتمالی روغن اسپرماستی از تحقیقات انجام‌شده بر روی آناتومی و رفتار تغذیه‌ای نهنگ دریایی، استنتاج شده است. این پستاندار تقریباً بطورمنحصر از اسکوید (squid، نوعی ماهی مرکب) در عمق بسیار زیاد آب تغذیه می‌نماید. برای تغذیه، نهنگ دریایی ۱,۰۰۰ m متر یا بیشتر در عمق آب شیرجه می‌رود؛ عمیق‌ترین شیرجه ثبت‌شده برابر ۳,۰۰۰ m (حدود ۲ مایل) می‌باشد. در این اعماق، هیچ رقابت‌کننده‌ای برای اسکوید بسیار فراوان وجود ندارد؛ در آنجا، نهنگ دریایی کاملاً منتظر مانده تا دسته‌ای از اسکویدها عبور نماید.



برای ماندن یک حیوان آبزی در یک عمق خاص بدون شناکردن، لازم است چگالی آن برابر با آب اطراف آن باشد. نهنگ دریایی برای انطباق با چگالی اطراف خود، متحمل تغییراتی از نظر شناوربودن می‌گردد (از سطح استوایی اقیانوس تا اعماق زیاد که آب آن سردتر و بنابراین سنگین‌تر است). کلید حل این مشکل در نقطه ذوب روغن اسپرماستی می‌باشد. وقتی درجه حرارت این روغن، در طی یک شیرجه عمیق، چندین درجه کاهش می‌یابد، سفت یا کریستالیزه و سنگین‌تر می‌گردد. بنابراین وضعیت شناوری نهنگ تغییر یافته تا با چگالی آب دریا سازگار گردد. در هنگام شیرجه، مکانیسم‌های فیزیولوژیک مختلفی سبب تسریع در سردشدن سریع این روغن می‌شود. در هنگام برگشت به سطح، این روغن جامد اسپرماستی، گرم و ذوب شده تا چگالی آن با چگالی آب سطحی سازگار گردد. بنابراین در نهنگ دریایی یک تطابق آناتومیکی و بیوشیمیایی قابل‌توجه وجود دارد. تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها و موم‌هایی که توسط نهنگ دریایی سنتز می‌شوند، حاوی اسیدهای چرب با طول زنجیر و شدت غیراشباع مورد نیاز برای ایجاد نقطه ذوب خاص در روغن اسپرماستی برای این رفتارهای شیرجه‌ای حیوان می‌باشند.

متأسفانه برای جمعیت نهنگ دریایی، روغن اسپرماستی در یک زمان به‌عنوان بهترین روغن چراغ مطرح بوده و هم‌اکنون به‌عنوان یک نرم‌کننده دارای ارزش تجارتی است. قرن‌ها شکار این پستانداران سبب شده تا نسل آنها رو به انقراض بگذارد، بطوریکه جمعیت کلی آنها در جهان حدود ۵۰۰,۰۰۰ می‌باشد.

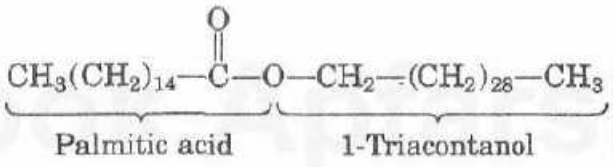
اصلی سوخت متابولیک را تشکیل می‌دهند.

موم‌ها همچنین دارای اعمال متنوع دیگری در طبیعت هستند که با ویژگی‌های دفع آب و قوام محکم آنها ارتباط دارد. بعضی از غدد پوستی مهره‌داران، موم‌ها را ترشح می‌نمایند تا در محافظت از مو و پوست شرکت نموده و آنها را قابل‌انعطاف، نرم و ضد آب نگه دارند. پرندگان، بخصوص انواع آبزی، از غدد منقاری خود موم‌هایی را ترشح می‌نمایند تا پرهای خود را به صورت ضد آب حفظ نمایند. برگ‌های درخشنده درخت راج[1]، گل صد تومانی[2]، پیچک سمی[3] و بسیاری از گیاهان استوایی با لایه ضخیمی از موم‌ها مفروش شده‌اند که مانع از تبخیر زیاد آب شده و سبب حفاظت در برابر انگل‌ها می‌گردد.

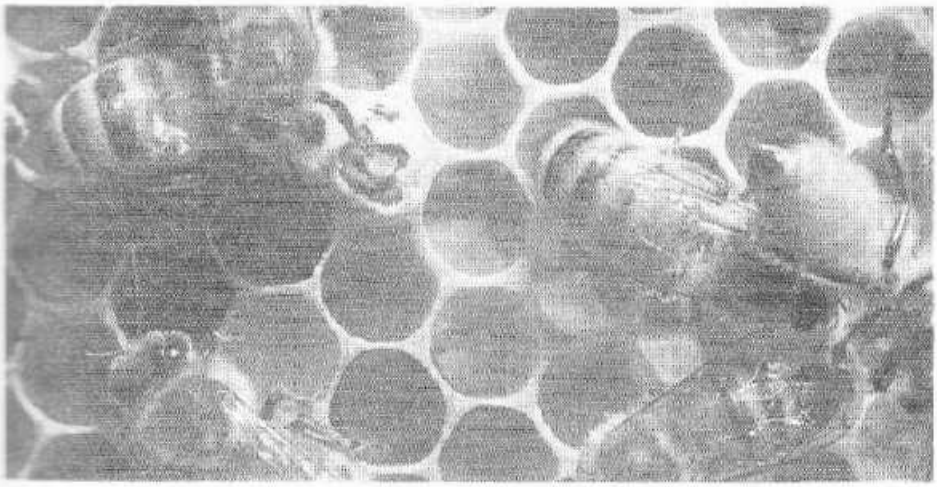
در صنایع دارویی، آرایشی و سایر صنایع، موم‌های بیولوژیک کاربردهای متنوعی را پیدا کرده‌اند. لانولین[4] (از پشم گوسفند)، موم زنبور عسل (شکل ۵-۱۱)، موم carnauba (از یک درخت برزیلی) و موم استخراج‌شده از روغن اسپرماستی (از نهنگ‌ها؛ کادر ۱-۱۱ را ببینید) در کارخانه‌های تولیدکننده لوسیون، پماد و پولیش بطوروسیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند.

1- Holly 2- Rhododendrons 3- Poison ivy 4- Lanolin

Book Anfarsi.ir



(a)



(b)

شکل ۵-۱۱. موم بیولوژیک. (a) تری‌آکونتانویل‌پالمیتات، جزء اصلی موم زنبور، استری از اسید پالمیتیک و الکل تری‌آکونتانول می‌باشد. **(b)** یک شانه عسل، ساخته‌شده از موم زنبور، در ۲۵°C سفت بوده و کاملاً نسبت به آب نفوذناپذیر است. اصطلاح «موم» از کلمه قدیمی انگلیسی *weax* به معنی «ماده شانه‌عسل» منشاء می‌گیرد.

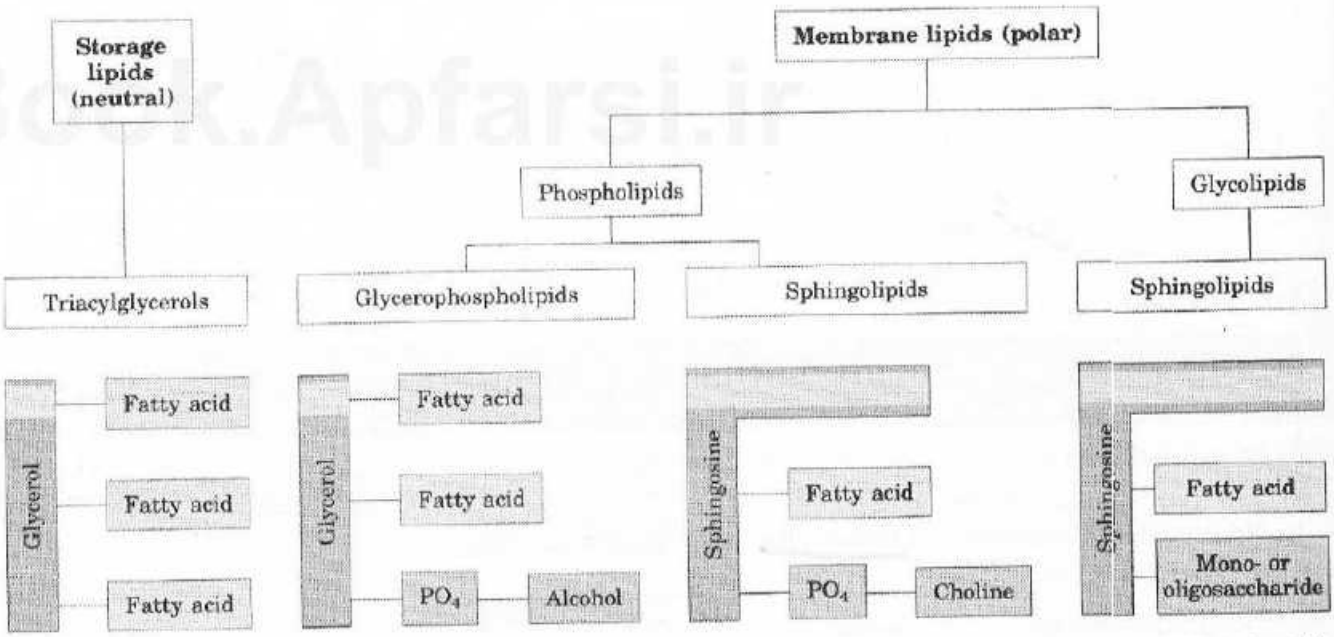
لیپیدهای ساختمانی موجود در غشاءها

اساس غشاءهای بیولوژیک را یک دولایه لیپیدی تشکیل می‌دهد که همانند یک سدی در برابر عبور ملکول‌های قطبی و یون‌ها عمل می‌نماید. لیپیدهای غشایی آمفی‌پاتیک یا دوگانه‌دوست می‌باشند؛ به‌طوری که یک انتهای آنها آبگریز و انتهای دیگر آبدوست است. واکنش‌های متقابل آبگریز این ملکول‌ها با یکدیگر و واکنش‌های متقابل آبدوست آنها با آب سبب قرارگیری آنها به شکل صفحاتی بنام دولایه لیپیدی غشاء می‌گردد. در قسمت‌های بعدی سه نوع عمومی لیپیدهای غشایی شرح داده می‌شود: گلیسروفسفولیپیدها که نواحی آبگریز آنها از دو اسید چرب متصل به گلیسرول تشکیل یافته است؛ اسفنگولیپیدها که در آنها یک اسید چرب به یک آمین چرب بنام اسفنگوزین اتصال دارد؛ و استرول‌ها که از یک سیستم سخت متشکل از چهار حلقه هیدروکربنی اتصال‌یافته به یکدیگر تشکیل شده‌اند. بخش‌های آبدوست این ترکیبات آمفی‌پاتیک ممکن است به صورت یک گروه OH- آزاد در یک انتهای سیستم حلقوی استرولی مشاهده شوند و یا ممکن است پیچیده‌تر از این باشند. در گلیسروفسفولیپیدها و بعضی از اسفنگولیپیدها، یک سر قطبی توسط یک پیوند فسفودی‌استری به بخش آبگریز اتصال دارد؛ اینها شامل **فسفولیپیدها** می‌باشند. سایر اسفنگولیپیدها فاقد فسفات بوده ولی یک قند ساده یا اولیگوساکارید مرکب را در انتهای قطبی خود دارند؛ اینها شامل **گلیکولیپیدها** هستند (شکل ۶-۱۱). وجود «دم‌های» اسید چرب و «سرهای» قطبی متفاوت منجر به تنوع زیادی در ترکیبات لیپیدی موجود در این لیپیدهای غشایی، می‌گردد. آرایش این لیپیدها در غشاءها و نقش ساختمانی و عملکردی آنها در این محل، در فصل بعدی مورد بحث قرار می‌گیرد.

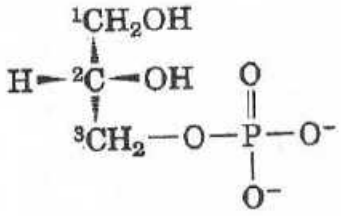
گلیسروفسفولیپیدها مشتقات اسید فسفاتیدیک هستند

گلیسروفسفولیپیدها که به آنها فسفوگلیسریدها نیز اتلاق می‌گردد، لیپیدهای غشایی هستند که در آنها دو اسید چرب با اتصال استری به کربن‌های اول و دوم گلیسرول متصل شده و یک گروه شدیداً قطبی یا باردار توسط یک

Book.Apfarsi.ir



شکل ۶-۱۱. کلاس‌های اصلی لیپیدهای ذخیره‌ای و غشایی. تمامی لیپیدی‌های نشان‌داده‌شده، دارای گلیسرول یا اسفنگوزین به‌عنوان اسکلت ساختمانی هستند. کلاس سوم لیپیدها، یعنی استرول‌ها بعداً شرح داده خواهند شد (شکل ۱۴-۱۱ را ببینید).

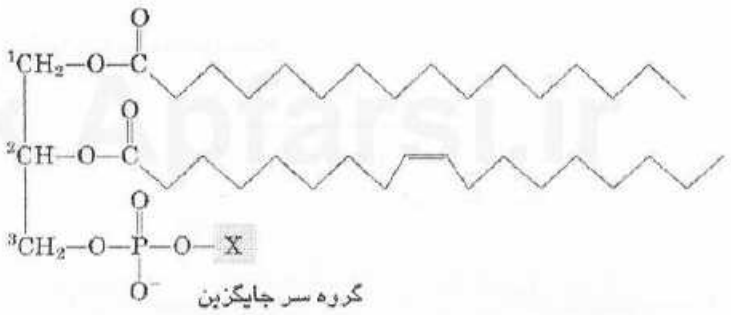


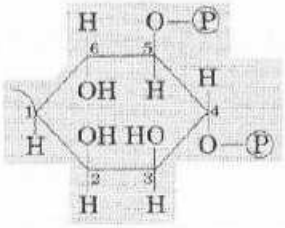
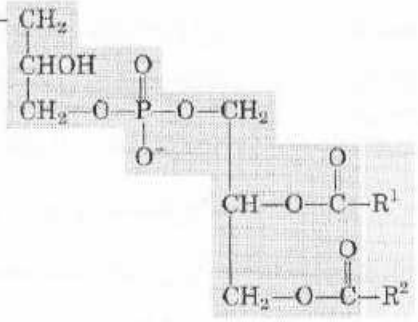
شکل ۷-۱۱. L-گلیسرول-۳-فسفات، اسکلت ساختمانی فسفولیپیدها. توجه کنید به این ترکیب، D-گلیسرول ۱- فسفات نیز اتلاق می‌گردد. (به‌نظر می‌رسد این شکل مربوط به «D-گلیسرول ۳-فسفات» است. مترجم)

پیوند فسفودی‌استری به کربن سوم آنها اتصال دارد. گلیسرول یک ترکیب پروکایرال (قبل از حالت نامتقارن) می‌باشد؛ این ملکول فاقد کربن نامتقارن بوده ولی با اتصال فسفات به یکی از دو انتها، به یک ترکیب کایرال تبدیل می‌گردد که می‌تواند L-گلیسرول ۳-فسفات یا D-گلیسرول ۱-فسفات نامگذاری گردد (شکل ۷-۱۱). گلیسروفسفولیپیدها بعنوان مشتقاتی از ترکیب مادر اسید فسفاتیدیک (شکل ۸-۱۱) و بر حسب الکل قطبی موجود در سر قطبی نامگذاری می‌گردند. برای مثال، فسفاتیدیل‌کولین و فسفاتیدیل‌اتانل‌آمین دارای کولین و اتانل‌آمین در سرهای قطبی خود هستند. در تمامی این ترکیبات، گروه سر قطبی توسط یک پیوند فسفودی‌استری به گلیسرول اتصال یافته است؛ در pH خنثی، این گروه فسفات دارای بار منفی است. الکل قطبی ممکن است دارای بار منفی (همانند فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۴،۵-بیس‌فسفات)، خنثی (فسفاتیدیل‌سرین) و یا دارای بار مثبت (فسفاتیدیل‌کولین، فسفاتیدیل‌اتانل‌آمین) باشد. همانطور که در فصل ۱۲ خواهیم دید، این بارها اهمیت زیادی در خصوصیات سطحی غشاءها دارند.

اسیدهای چرب موجود در گلیسروفسفولیپیدها می‌توانند بسیار متنوع باشند، بطوریکه یک فسفولیپید خاص (برای مثال، فسفاتیدیل‌کولین) ممکن است به اشکال متفاوتی دیده شود که هر کدام دارای اسیدهای چرب بی‌همتا خود هستند. توزیع اشکال ملکولی مختلف در موجودات مختلف، بافت‌های مختلف یک موجود و گلیسروفسفولیپیدهای مختلف موجود در یک سلول یا بافت، اختصاصی است. به‌طور کلی، گلیسروفسفولیپیدها در کربن ۱ دارای یک اسید چرب اشباع ۱۶ یا ۱۸ کربنه بوده و در کربن ۲، یک اسید چرب غیراشباع ۱۸ تا ۲۰ کربنه دارند. به استثناء چند مورد، اهمیت بیولوژیک تنوع در اسیدهای چرب و گروه‌های سر هنوز نامشخص می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir



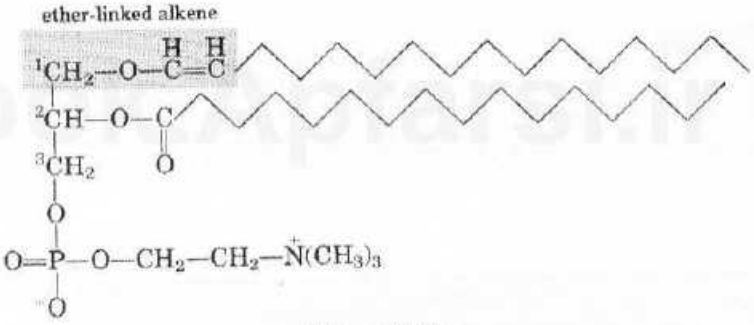
نام گلیسروفسفولیپید	نام X	فرمول X	بار خالص (در pH 7)
Phosphatidic acid	—	$-H$	−1
Phosphatidylethanolamine	Ethanolamine	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}H_3$	0
Phosphatidylcholine	Choline	$-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(CH_3)_3$	0
Phosphatidylserine	Serine	$-CH_2-\underset{COO^-}{CH}-\overset{+}{N}H_3$	−1
Phosphatidylglycerol	Glycerol	$-CH_2-\underset{OH}{CH}-CH_2-OH$	−1
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	*myo*-Inositol 4,5-bisphosphate		−4
Cardiolipin	Phosphatidyl-glycerol		−2

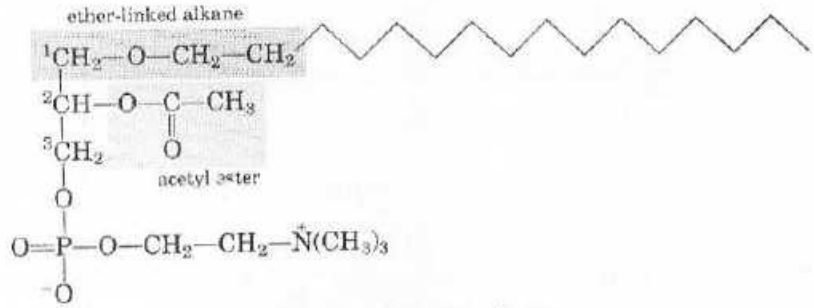
شکل ۸-۱۱. گلیسروفسفولیپیدها. گلیسروفسفولیپیدهای معمول، دی‌آسیل‌گلیسرول‌هایی هستند که توسط یک پیوند فسفودی‌استری به الکل‌های گروه سر متصل می‌گردند. اسید فسفاتیدیک، یک فسفومنواستر، ترکیب مادر می‌باشد. هر مشتقی براساس الکل گروه سر (X)، همراه با پیشوند «فسفاتیدیل-»، نامگذاری می‌گردد. در کاردیولیپین، دو اسید فسفاتیدیک توسط یک گلیسرول به یکدیگر متصل می‌گردند.

بعضی از فسفولیپیدها دارای اسیدهای چرب با اتصالات اتری می‌باشند

بعضی از بافت‌های حیوانی و بعضی از موجودات تک سلولی، غنی از لیپیدهای اتری هستند که در آنها یکی از دو زنجیر آسیلی، بجای اتصال استری، با پیوند اتری به گلیسرول اتصال می‌یابد. زنجیر اتصال‌یافته با پیوند اتری ممکن است همانند انواع موجود در لیپیدهای آلکیلی اتری، اشباع باشند و یا ممکن است همانند **پلاسمالوژن‌ها**، یک

Book Apfarsi.ir





شکل ۹-۱۱. لیپیدهای اتری. پلاسمالوژن‌ها، به‌جای اسید چرب با اتصال استری موجود در گلیسروفسفولیپیدها، دارای یک زنجیر آلکنیل (alkenyl) با اتصال اتری هستند (با شکل ۸-۱۱ مقایسه نمایید). فاکتور فعال‌کننده پلاکتی دارای یک زنجیر آلکیل (alkyl) بلند با اتصال اتری در کربن ۱ گلیسرول بوده، ولی کربن ۲ آن با یک اتصال استری به اسید استیک، اتصال داشته که سبب می‌گردد تا این ترکیب بسیار بیشتر از گلیسروفسفولیپیدها و پلاسمالوژن‌ها، در آب محلول گردد. الکل گروه سر در پلاسمالوژن‌ها و فاکتور فعال‌کننده پلاکتی، کولین می‌باشد.

پیوند دوگانه بین کربن‌های ۱ و ۲ داشته باشند (شکل ۹-۱۱). بافت قلب مهره‌داران غنی از لیپیدهای اتری است؛ حدود نیمی از فسفولیپیدهای موجود در قلب از نوع پلاسمالوژن‌ها می‌باشند. اعضاء باکتری‌های هالوفیلیک، آغازیان مژکدار و بعضی از بی‌مهره‌گان نیز دارای نسبت‌های بالای لیپیدهای اتری هستند. اهمیت عملکردی این لیپیدهای اتری در داخل این غشاءها نامشخص می‌باشد؛ شاید مقاومت آنها به فسفولیپازها در بعضی اعمال آنها مهم می‌باشد که اسیدهای چرب دارای اتصال استری را از لیپیدهای غشایی جدا می‌نمایند. حداقل یکی از لیپیدهای اتری، بنام **فاکتور فعال‌کننده پلاکتی**، به‌عنوان یک پیام ملکولی قوی عمل می‌نماید. این فاکتور از گلبول‌های سفیدی بنام بازوفیل‌ها آزاد شده و سبب تحریک تجمع پلاکتی همراه با رهاسازی سروتونین (یک محرک انقباض عروقی) از پلاکت‌ها می‌گردد. بعلاوه این فاکتور اثرات متنوعی را بر روی بافت‌های کبد، عضله صاف، قلب، رحم و ریه داشته و نقش مهمی را در پاسخ التهابی و آلرژیک ایفاء می‌نماید.

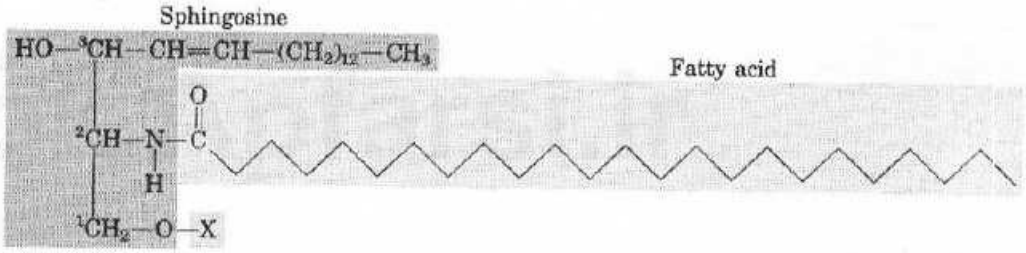
اسفنگولیپیدها مشتقاتی از اسفنگوزین می‌باشند

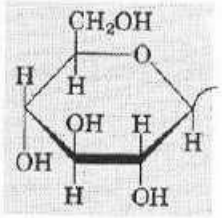
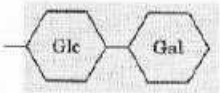
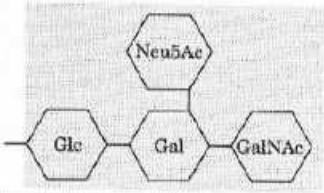
اسفنگولیپیدها، دومین کلاس بزرگ لیپیدهای غشایی، نیز دارای یک گروه سر قطبی و دو دم غیر قطبی هستند، ولی برخلاف گلیسروفسفولیپیدها فاقد گلیسرول می‌باشند. اسفنگولیپیدها از یک ملکول الکل آمینو زنجیر بلند اسفنگوزین (۴-اسفنگنین[1]) یا یکی از مشتقات آن، یک ملکول اسید چرب زنجیر بلند و یک گروه سر قطبی با اتصال گلیکوزیدی در بعضی انواع و اتصال فسفودی‌استری در بقیه موارد، تشکیل شده‌اند (شکل ۱۰-۱۱).

کربن‌های ۱، ۲ و ۳ ملکول اسفنگوزین از نظر ساختمانی مشابه سه کربن گلیسرول موجود در گلیسروفسفولیپیدها است. وقتی اسید چرب با اتصال آمیدی به NH_2- موجود بر روی کربن ۲ اتصال می‌یابد، ترکیب حاصل را **سرامید** گویند که از نظر ساختمانی مشابه دی‌آسیل‌گلیسرول می‌باشد. سرامید ساختمان مادر تمامی

1- 4-Sphingenine

Book.Apfarsi.ir



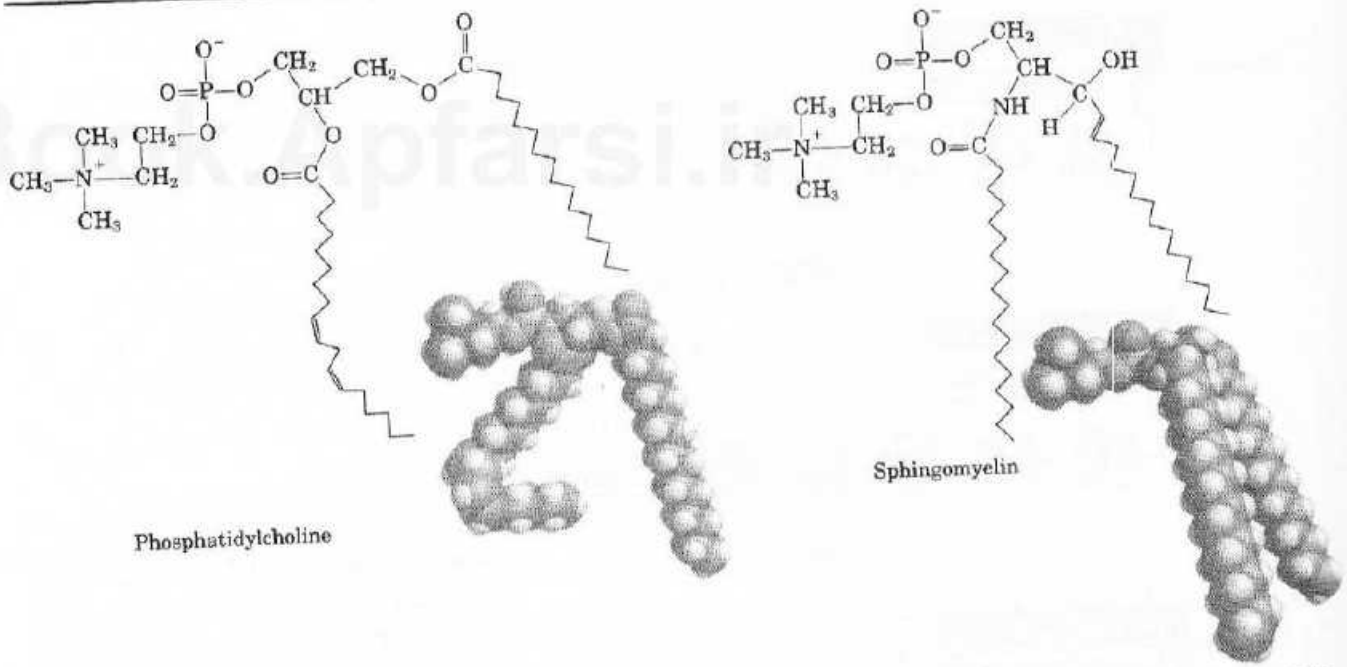
نام اسفنگولیپید	نام X	فرمول X
Ceramide	—	—H
Sphingomyelin	Phosphocholine	$-P(=O)(O^-)-O-CH_2-CH_2-\overset{+}{N}(CH_3)_3$
Neutral glycolipids Glucosylcerebroside	Glucose	
Lactosylceramide (a globoside)	Di-, tri-, or tetrasaccharide	
Ganglioside GM2	Complex oligosaccharide	

شکل ۱۰-۱۱. اسفنگولیپیدها. سه کربن ابتدایی موجود در انتهای قطبی اسفنگوزین مشابه سه کربن گلیسرول موجود در گلیسروفسفولیپیدها می‌باشد. گروه آمینو کربن ۲ دارای یک اسید چرب با اتصال آمیدی است. این اسید چرب معمولاً اشباع یا حاوی یک پیوند دوگانه و به طول ۱۶، ۱۸، ۲۲ یا ۲۴ اتم کربن است. ترکیب مادر این گروه، سرامید می‌باشد. سایر اسفنگولیپیدها از نظر سر قطبی (X) متصل به کربن ۱ با یکدیگر تفاوت دارند. گانگلیوزیدها دارای گروه‌های سر اولیگوساکاریدی بسیار پیچیده می‌باشند. مخفف‌های استاندارد قندهای مورد استفاده در این شکل عبارتند از: Glc برای D-گلوکز، Gal برای D-گالاکتوز، GalNAc برای *N*-استیل-D-گالاکتوزآمین، Neu5Ac برای *N*-استیل‌نورامینیک اسید (اسید سیالیک).

اسفنگولیپیدها است.

سه زیرکلاس اسفنگولیپیدها، شامل اسفنگومیلین‌ها، گلیکولیپیدهای خنثی (بدون بار) و گانگلیوزیدها، وجود دارد که تمامی آنها مشتقات سرامیدی هستند که از نظر گروه‌های سر با یکدیگر متفاوت می‌باشند. سر قطبی موجود در **اسفنگومیلین‌ها** ممکن است فسفوکولین یا فسفواتانل‌آمین باشد، از این‌رو این ترکیبات همراه با گلیسروفسفولیپیدها، تحت عنوان فسفولیپیدها طبقه‌بندی می‌شوند (شکل ۶-۱۱). در حقیقت، اسفنگومیلین‌ها از نظر خصوصیات و ساختمان سه‌بعدی کلی و همچنین از نظر نداشتن بار خالص در گروه‌های سر خود، مشابه فسفاتیدیل‌کولین‌ها می‌باشند (شکل ۱۱-۱۱). اسفنگومیلین‌ها در غشاء پلاسمایی سلول‌های حیوانی وجود داشته و

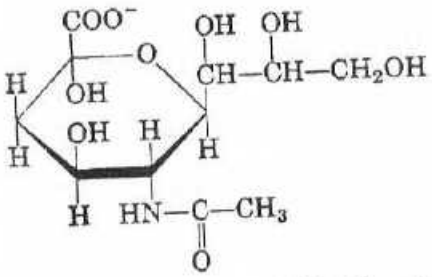
Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۱-۱۱. شباهت‌های موجود در شکل و ساختمان ملکولی فسفاتیدیل‌کولین (یک گلیسروفسفولیپید) و اسفنگومیلین (یک اسفنگولیپید) زمانی آشکار می‌گردد که، همانند این شکل، فرمولهای ساختمانی و فضاپرکن آنها کشیده شود.

بخصوص در میلین (یک غلاف غشایی که آکسون بعضی از نرون‌ها را احاطه و عایق‌بندی می‌کند) فراوان می‌باشد و به همین دلیل به آنها «اسفنگومیلین» گفته می‌شود.

گلیکواسفنگولیپیدها که بیشتر در سمت خارجی غشاءهای پلاسمایی یافت می‌شوند، دارای گروه‌های سری یا یک یا چند قند هستند که مستقیماً به OH- کربن ۱ بخش سرامیدی اتصال دارند؛ این ترکیبات فاقد فسفات هستند. **سربروزیدها** دارای یک واحد قندی متصل به سرامید می‌باشند؛ انواع دارای گالاکتوز بطورمشخص در غشاءهای پلاسمایی سلول‌های موجود در بافت عصبی و انواع حاوی گلوکز در غشاء پلاسمایی سلول‌های موجود در بافت‌غیرعصبی وجود دارند. **گلوبوزیدها**، گلیکواسفنگولیپیدهای خنثی (بدون بار) دارای دو یا چند واحد قندی، معمولاً D-گلوکز، D-گالاکتوز یا *N*-استیل-D-گالاکتوزآمین، هستند. گاهی به سربروزیدها و گلوبوزیدها، **گلیکولیپیدهای خنثی** گفته می‌شود، زیرا در pH ۷ فاقد بار می‌باشند.



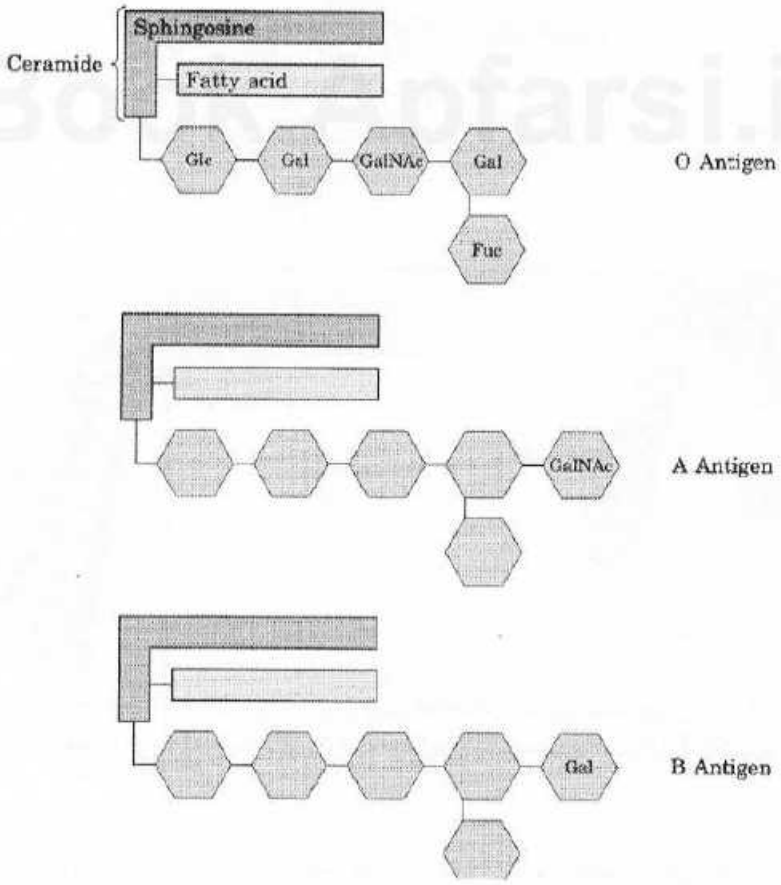
N-Acetylneuraminic acid (sialic acid) (Neu5Ac)

گانگلیوزیدها که پیچیده‌ترین اسفنگولیپیدها می‌باشند، دارای زنجیرهای اولیگوساکاریدی به‌عنوان گروه‌های قطبی، به همراه یک یا چند ریشه *N*-استیل‌نورامینیک اسید (Neu5Ac)، یا اسید سیالیک، در انتها هستند. اسید سیالیک به گانگلیوزیدها در pH ۷ بار منفی داده که سبب تشخیص آنها از گلوبوزیدها می‌گردد. گانگلیوزیدهای دارای یک ریشه اسید سیالیک در سری GM (M برای منو)، انواع دارای دو ریشه اسید سیالیک در سری GD (D برای دی) و غیره، قرار می‌گیرند.

اسفنگولیپیدهای موجود در سطوح سلولی، جایگاه‌هایی برای شناسایی بیولوژیک هستند

وقتی اسفنگولیپیدها یک قرن قبل توسط فیزیکوشیمیدان جان تادیکوم کشف شدند، نقش بیولوژیک آنها،

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۱۱. گلیکواسفنگولیپیدها به‌عنوان شاخص‌های گروه‌های خونی. گروه‌های خونی انسان (O، A و B) تا حدودی توسط گروه‌های سر اولیگوساکاریدی این گلیکواسفنگولیپیدها تعیین می‌گردند. همین سه اولیگوساکارید به شکل متصل به بعضی پروتئین‌های خونی افراد دارای انواع خونی به ترتیب، O، A و B، نیز مشاهده می‌شوند. (Fuc مخفف قند فوکوز می‌باشد.)



Johann Thudichum
1829-1901

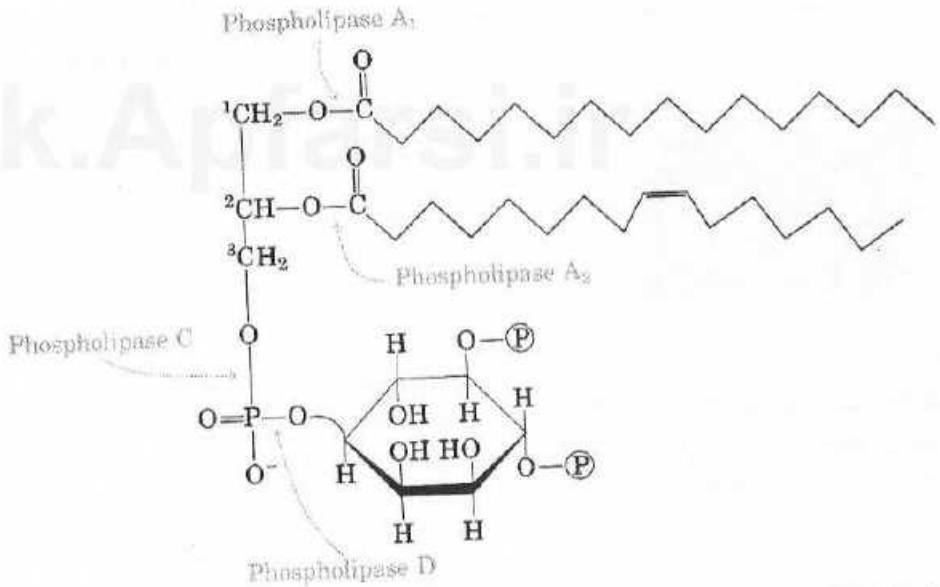
همانند ابولهول[1]، مبهم بود و به همین دلیل به این نام خوانده شدند. در انسان، حداقل ۶۰ اسفنگولیپید مختلف در داخل غشاءهای سلولی شناسایی شده است. بسیاری از این اسفنگولیپیدها بخصوص در غشاءهای پلاسمایی نورون‌ها برجسته بوده و بعضی از آنها به‌عنوان جایگاه‌های شناسایی در سطح سلول عمل می‌نمایند، ولی تنها برای تعداد کمی از اسفنگولیپیدها یک نقش اختصاصی شناسایی شده است. بخشهای کربوهیدراتی بعضی اسفنگولیپیدها، گروه‌های خونی را مشخص نموده و بنابراین تعیین می‌نماید که افراد چه نوع خون مطمئنی را می‌توانند در انتقال خون دریافت نمایند (شکل ۱۲-۱۱). نوع و میزان گانگلیوزیدهای موجود در غشاء پلاسمایی با تکامل جنینی دستخوش تغییرات عمده شده و ایجاد تومور همراه با القاء سنتز گانگلیوزیدهای جدید می‌باشد. غلظت‌های بسیار پایین یک گانگلیوزید اختصاصی، تمایز سلول‌های توموری عصبی کشت داده‌شده را القاء می‌نمایند. بررسی اعمال بیولوژیک گانگلیوزیدهای مختلف، زمینه مساعدی برای تحقیقات آینده می‌باشد.

فسفولیپیدها و اسفنگولیپیدها توسط لیزوزومها تخریب می‌گردند

اکثر سلول‌ها بطورمداوم لیپیدهای غشایی خود را تخریب و جایگزین می‌نمایند. برای هر پیوند قابل‌هیدرولیز موجود در یک گلیسروفسفولیپید، یک آنزیم هیدرولیتیک اختصاصی در داخل لیزوزوم وجود دارد (شکل ۱۳-۱۱).

1- Sphinx

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۱۱. ویژگی فسفولیپازها. فسفولیپازهای A_1 و A_2 پیوندهای استری گلیسروفسفولیپیدهای دست‌نخورده را به ترتیب در محل کربن‌های ۱ و ۲ گلیسرول هیدرولیز می‌نمایند. فسفولیپازهای C و D هر کدام یکی از پیوندهای فسفودی‌استری موجود در گروه سر را هیدرولیز می‌کنند. بعضی از فسفولیپازها تنها بر روی یک نوع گلیسروفسفولیپید، نظیر فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۴،۵-بیس‌فسفات (در اینجا نشان داده شده است) یا فسفاتیدیل‌کولین اثر نموده و بقیه ویژگی کمتری دارند. وقتی یکی از اسیدهای چرب توسط یک نوع فسفولیپاز A برداشت می‌شود، اسید چرب دوم توسط یک لیزوفسفولیپاز برداشت می‌گردد (در اینجا نشان داده نشده است).

فسفولیپازهای نوع A یکی از دو اسید چرب موجود را برداشت نموده و تولید یک لیزوفسفولیپید می‌نماید. (این استرازها بر روی اتصال اتری پلاسمالوژنها اثر ندارند.) سپس لیزوفسفولیپازها اسید چرب باقیمانده را برداشت می‌نمایند.

گانگلیوزیدها توسط یک سری از آنزیم‌های لیزوزومی تخریب می‌گردند که برداشت مرحله به مرحله واحدهای قندی را کاتالیز نموده و نهایتاً تولید سرامید می‌کنند. نقص ژنتیکی در هر کدام از این آنزیم‌های هیدرولیتیک منجر به تجمع گانگلیوزیدها در سلول شده که همراه با عوارض بالینی وخیمی خواهد بود (کادر ۲-۱۱).

استرول‌ها دارای حلقه‌های کربنی اتصال‌یافته به یکدیگر می‌باشند

استرول‌ها لیپیدهای ساختمانی هستند که در غشاءهای موجود در اکثر سلول‌های اوکاریوتی یافت می‌شوند. ساختمان مشخص استرول‌ها از یک هسته استروئیدی حاوی چهار حلقه متصل به یکدیگر تشکیل می‌شود که سه حلقه آن شش کربنه و یک حلقه پنج کربنه است (شکل ۱۴-۱۱). این هسته استروئیدی تقریباً مسطح بوده و تقریباً سخت می‌باشد؛ حلقه‌های اتصال‌یافته به یکدیگر نمی‌توانند حول پیوندهای C-C چرخش نمایند. **کلسترول**، به‌عنوان استرول اصلی موجود در بافت‌های حیوانی، دوگانه‌دوست بوده و ساختمان آن از یک گروه سر قطبی (گروه هیدروکسیل موجود در کربن ۳) و یک جسم هیدروکربنی غیرقطبی (هسته استروئیدی و زنجیر جانبی متصل به کربن ۱۷) با طول حدوداً برابر طول یک اسید چرب امتدادیافته ۱۶ کربنه، تشکیل شده است. در سایر اوکاریوتها استرول‌های مشابهی، مثل استیگماسترول[1] در گیاهان و ارگوسترول[2] در قارچ‌ها، وجود دارد. باکتریها قادر به سنتز استرول‌ها نمی‌باشند؛ هرچند، تعدادی از گونه‌های باکتریایی می‌توانند استرول‌های خارجی را در غشاءهای

1- Stigmasterol 2- Ergosterol

Book.Apfarsi.ir

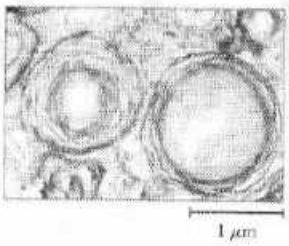
کادر ۲-۱۱. بیماریهای ارثی انسان در اثر تجمع غیرطبیعی لیپیدهای غشایی.

لیپیدهای قطبی غشاءها، دائماً در حال نوسازی متابولیکی هستند و سرعت طبیعی سنتز آنها با سرعت تجزیه آنها متعادل می‌باشد. تجزیه لیپیدها توسط آنزیم‌های هیدرولیتیک لیزوزومی تسریع می‌گردد که هر کدام قادر به هیدرولیز یک پیوند اختصاصی می‌باشند. وقتی در اثر کمبود یکی از این آنزیم‌ها (شکل ۱)، اختلال تخریب اسفنگولیپیدی ایجاد می‌شود، محصولات حاصل از تجزیه نسبی این ترکیبات در بافت‌ها تجمع یافته و سبب بیماریهای جدی می‌گردند.

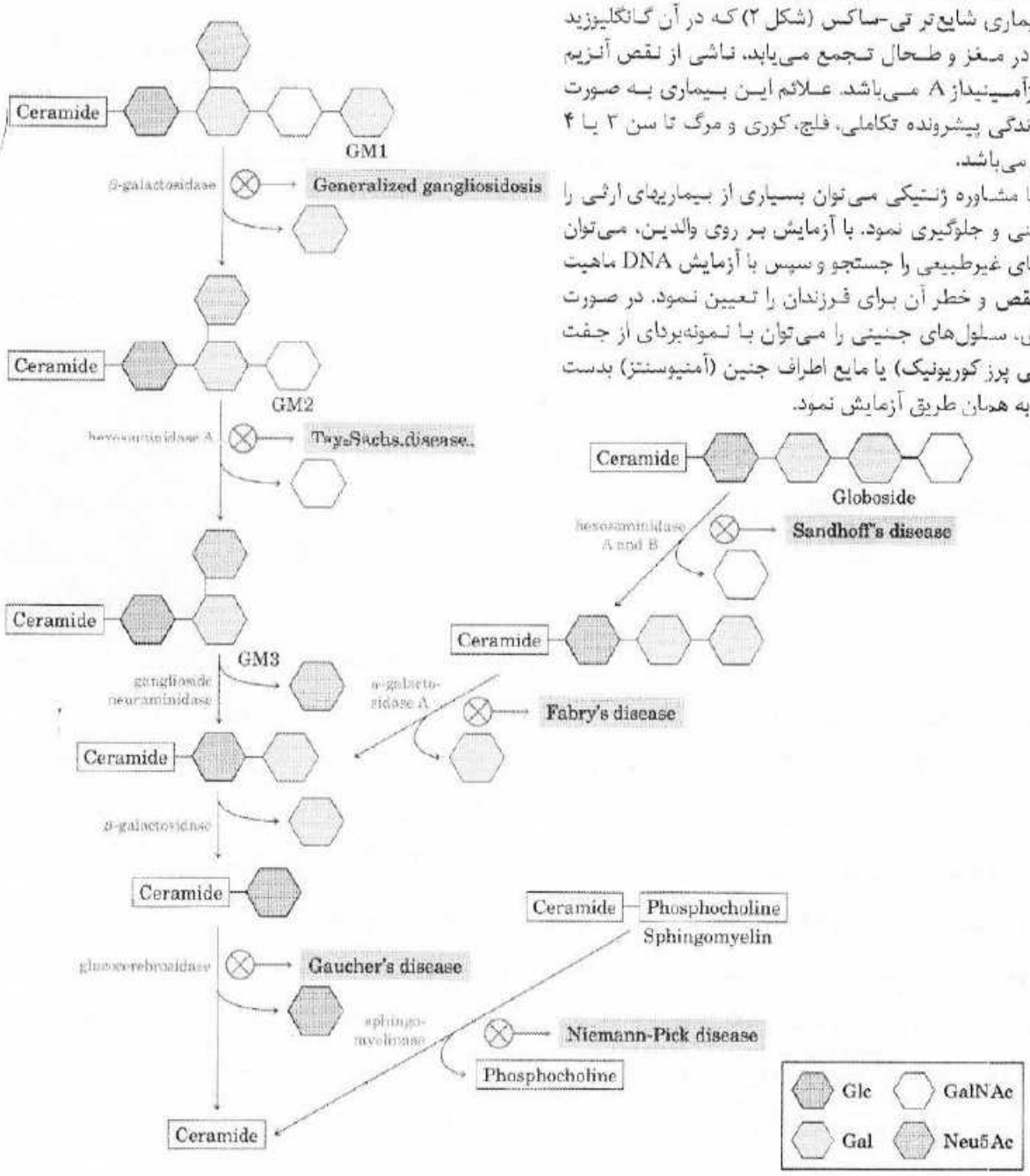
برای مثال بیماری نیمن-پیک حاصل از نقص نادر آنزیم اسفنگومیلیناز بوده که فسفوکولین را از اسفنگومیلین جدا می‌نماید. در نتیجه این نقص، اسفنگومیلین در مغز، کبد و طحال تجمع می‌یابد. این بیماری در دوران طفولیت آشکار شده و منجر به عقب‌ماندگی ذهنی و مرگ زودرس می‌گردد.

بیماری شایع تر تی-ساکس (شکل ۲) که در آن گانگلیوزید GM2 در مغز و طحال تجمع می‌یابد، ناشی از نقص آنزیم هگزوزآمینیداز A می‌باشد. علائم این بیماری به صورت عقب‌ماندگی پیشرونده تکاملی، فلج، کوری و مرگ تا سن ۳ یا ۴ سالگی می‌باشد.

با مشاوره ژنتیکی می‌توان بسیاری از بیماریهای ارثی را پیش‌بینی و جلوگیری نمود. با آزمایش بر روی والدین، می‌توان آنزیم‌های غیرطبیعی را جستجو و سپس با آزمایش DNA ماهیت دقیق نقص و خطر آن برای فرزندان را تعیین نمود. در صورت بارداری، سلول‌های جنینی را می‌توان با نمونه‌برداری از جفت (بیوپسی پرز کوریونیک) یا مایع اطراف جنین (آمنیوسنتز) بدست آورد و به همان طریق آزمایش نمود.

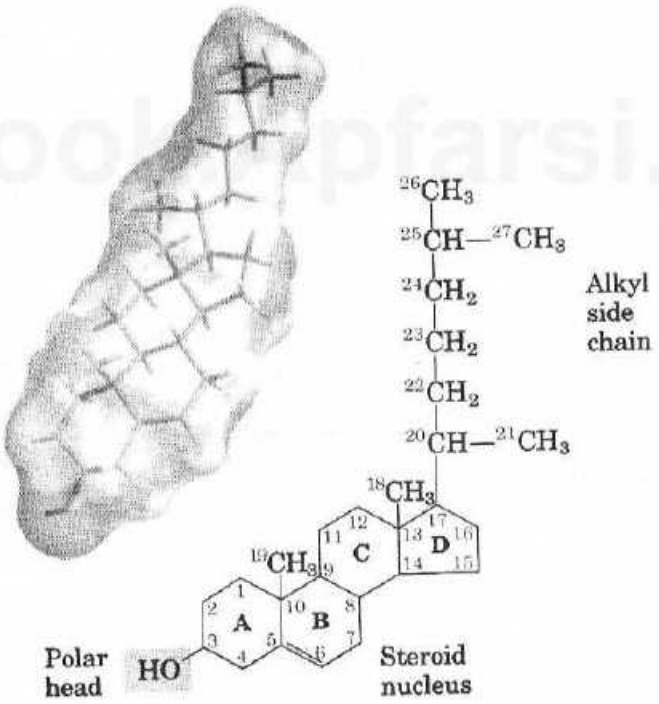


شکل ۲. میکروگراف الکترونی قسمتی از یک سلول مغزی نوزاد مبتلا به بیماری تی-ساکس که تجمع غیرطبیعی گانگلیوزید را در لیزوزومها نشان می‌دهد.

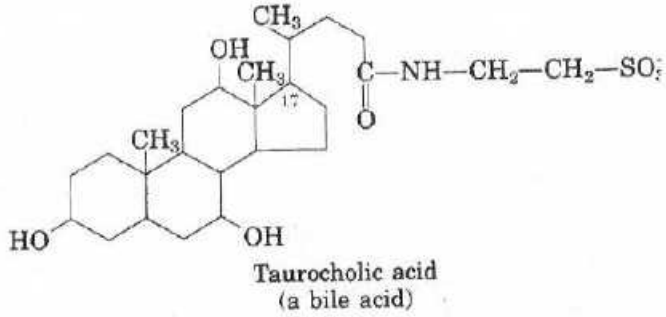


شکل ۱. مسیرهای تجزیه GM1، گانگلیوزید و اسفنگومیلین به سرامید. نقص در آنزیم هیدرولیزکننده یک مرحله خاص، با علامت ⊗ نشان داده شده است و نام بیماری که در اثر تجمع این لیپیدها ایجاد می‌گردند، آورده شده‌اند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۴-۱۱. کلسترول. ساختمان میله‌ای کلسترول از طریق یک مدل سطحی شفاف این ملکول مشخص می‌باشد. در ساختمان شیمیایی، اتم‌های کربن شماره‌گذاری و حلقه‌ها از A تا D نامگذاری شده تا اشاره به مشتقات هسته استروئیدی راحت‌تر گردد. گروه هیدروکسیل کربن ۳ (با سایه)، گروه سر قطبی را نشان می‌دهد. برای ذخیره و انتقال این استرول، گروه هیدوکسیل با یک اسید چرب کندانسه شده تا ایجاد یک استر استرولی نماید.



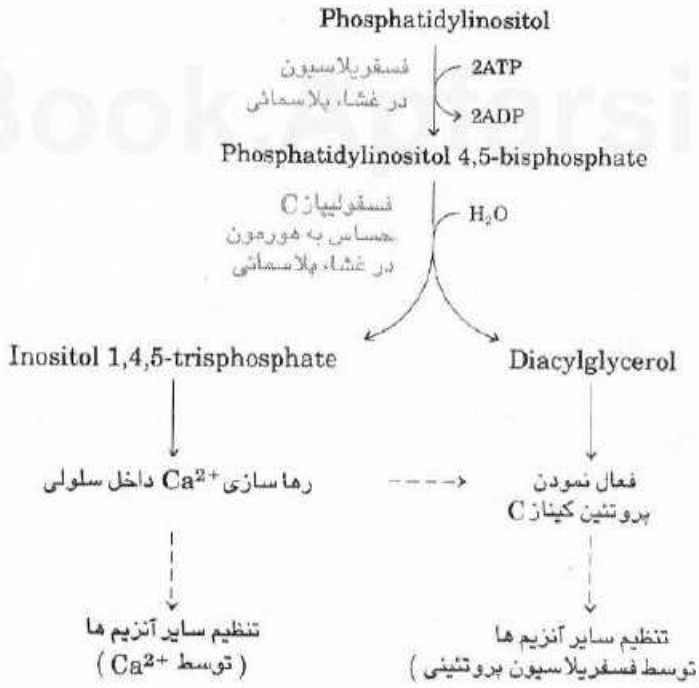
خود قرار دهند. استرول‌های موجود در تمامی اوکاریوتها، و همانطور که در قسمت پایین شرح داده خواهد شد، ویتامین‌های محلول در چربی، کینونها و دولیکول، از زیرواحدهای پنج کربنه ساده ایزوپرن ساخته می‌شوند.

علاوه بر عمل به‌عنوان اجزاء سازنده غشاءها، استرول‌ها به‌عنوان پیش‌سازهایی برای تولید انواع مختلفی از محصولات دارای فعالیت‌های بیولوژیک اختصاصی ایفاء نقش می‌کنند. برای مثال، هورمون‌های استروئیدی پیامهای بیولوژیک قوی هستند که بیان ژن را تنظیم می‌نمایند. اسیدهای صفراوی مشتقات قطبی کلسترول می‌باشند که به‌عنوان دترژان در روده عمل نموده و سبب امولسیفیه‌شدن چربی‌های غذایی برای تسریع اثر لیپازهای گوارشی بر آنها می‌گردند. در فصول بعدی، مجدداً به بحث پیرامون کلسترول و سایر استرول‌ها برمی‌گردیم تا نقش ساختمانی کلسترول را در غشاءهای بیولوژیک (فصل ۱۲)، پیام‌رسانی هورمون‌های استروئیدی (فصل ۱۳)، مسیر بیوسنتز کلسترول و انتقال کلسترول توسط حاملین لیپوپروتئینی (فصل ۲۱)، مورد توجه قرار دهیم.

لیپیدها به‌عنوان پیام، کوفکتور و رنگدانه

تاکنون دو کلاس از لیپیدها را مورد بررسی قرار دادیم که اعمال متفاوتی (لیپیدهای ذخیره‌ای و لیپیدهای ساختمانی) را در داخل سلول انجام می‌دهند؛ این لیپیدها اجزاء اصلی سلول‌ها را تشکیل می‌دهند، بطوریکه لیپیدهای غشایی، ۵ تا ۱۰٪ وزن خشک اکثر سلول‌ها را شامل شده و لیپیدهای ذخیره‌ای بیش از ۸۰٪ وزن سلول‌های چربی را تشکیل می‌دهند. به استثناء چند مورد مهم، این لیپیدها دارای یک نقش غیرفعال در سلول می‌باشند؛ سوخت‌های لیپیدی تا زمان اکسیداسیون توسط آنزیم‌ها، ذخیره می‌شوند و لیپیدهای غشایی سدهای غیرقابل‌نفوذی را ایجاد می‌نمایند که سلول‌ها و قسمتهای داخل‌سلولی را احاطه می‌نمایند. گروه دیگر لیپیدها که به

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۵-۱۱. فسفاتیدیل‌اینوزیتولها در تنظیم سلولی. فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۵،۴-بیس‌فسفات موجود در غشاء پلاسمایی، در پاسخ به پیامهای هورمونی، توسط یک فسفولیپاز C اختصاصی هیدرولیز می‌شود. هر دو محصول هیدرولیز، به‌عنوان پیامبرهای داخل‌سلولی عمل می‌نمایند.

مقادیر بسیار کمتری وجود دارند، دارای نقشهای فعالی به‌عنوان متابولیتها و پیامبرها در مسیرهای متابولیکی می‌باشند. تعدادی از اینها، نظیر هورمون‌ها که در گردش خون از یک بافت به بافت دیگر منتقل می‌شوند و یا پیامبرهای داخل‌سلولی حاصل از پاسخ به یک پیام خارج‌سلولی (هورمون یا فاکتور رشد)، به‌عنوان پیام‌های ملکولی قوی عمل می‌نمایند. تعداد دیگری از ترکیبات لیپیدی به‌عنوان کوفکتور در واکنش‌های انتقال الکترون در کلروپلاست‌ها و یا میتوکندری‌ها، و یا در انتقال بخش‌های کربوهیدراتی در طی انواع مختلفی از واکنش‌های گلیکوزیلاسیون (افزودن قند) شرکت می‌کنند. گروه سوم شامل لیپیدهایی، نظیر ملکول‌های رنگدانه جذب‌کننده نور مرئی، می‌باشند که سیستم پیوندهای دوگانه کونژوگه دارند. بعضی از این ترکیبات به‌عنوان رنگدانه‌های دریافت‌کننده نور، در بینایی و فتوسنتز شرکت می‌کنند؛ و تعدادی نیز در ایجاد رنگ‌های طبیعی، نظیر رنگ نارنجی کدو تنبل و هویج و رنگ زرد پرهای قناری، ایفاء نقش می‌نمایند. این لیپیدهای اختصاصی از لیپیدهای موجود در غشاء پلاسمایی و یا از ویتامین‌های محلول در چربی A، D، E و K مشتق می‌گردند. در اینجا به‌طور خلاصه تعدای از این لیپیدهای دارای فعالیت بیولوژیک را مورد مطالعه قرار می‌دهیم. در فصول بعدی، جزئیات سنتز و اعمال بیولوژیک آنها بیان می‌گردد.

فسفاتیدیل‌اینوزیتول به‌عنوان پیام داخل‌سلولی عمل می‌نماید

فسفاتیدیل‌اینوزیتول و مشتقات فسفریله آن در سطوح مختلف عمل نموده تا ساختمان و متابولیسم سلول را تنظیم نمایند (شکل ۱۵-۱۱). فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۵،۴-بیس‌فسفات (شکل ۸-۱۱) در سمت سیتوزولی (داخلی) غشاءهای پلاسمایی به‌عنوان یک جایگاه اتصالی اختصاصی برای بعضی از پروتئین‌های اسکلت سلولی و همچنین برای چندین پروتئین محلول شرکت‌کننده در ادغام غشایی در هنگام اگزوسیتوز، عمل می‌نماید. این ملکول همچنین به‌عنوان مخزنی برای ملکولهای پیامبر عمل می‌کند که در پاسخ به پیامهای خارج‌سلولی واکنش‌کننده با گیرنده‌های اختصاصی در سطح خارجی غشاء پلاسمایی، آزاد می‌گردند. این پیامها طی یک سری مراحل (شکل ۱۵-۱۱) مختلف عمل می‌نمایند که با برداشت آنزیمی یک گروه سر فسفولیپیدی آغاز شده و با فعال‌سازی

Book.Apfarsi.ir

یک آنزیم (پروتئین کیناز C) خاتمه می‌یابد. برای مثال، وقتی هورمون وازوپرسین به گیرنده‌های غشاء پلاسمایی موجود در سطح سلول‌های اپی‌تلیال لوله‌های جمع‌کننده کلیه اتصال می‌یابد، یک فسفولیپاز C فعال می‌گردد. فسفولیپاز C با هیدرولیز پیوند بین گلیسرول و فسفات در فسفاتیدیل اینوزیتول ۴، ۵ - بیس‌فسفات، سبب رهاسازی اینوزیتول ۱، ۴، ۵ - تری‌فسفات (IP_3) محلول در آب و دی‌آسیل‌گلیسرول می‌گردد که ترکیب اخیر متصل به غشاء پلاسمایی باقی می‌ماند. IP_3 محرک رهاسازی Ca^{2+} از شبکه آندوپلاسمی بوده و دی‌آسیل‌گلیسرول به همراه غلظت افزایش‌یافته Ca^{2+} سیتوزولی، آنزیم پروتئین کیناز C را فعال می‌نماید. این آنزیم نیز به نوبه خود انتقال یک گروه فسفریل از ATP را به یک ریشه اختصاصی موجود در یک یا چند پروتئین را کاتالیز نموده و به موجب آن سبب تغییر فعالیت این پروتئین‌ها و بنابراین متابولیسم سلولی می‌گردد. اسفنگولیپیدهای غشایی نیز می‌توانند به‌عنوان منابع پیامبرهای داخل‌سلولی عمل نمایند؛ هم سرامید و هم اسفنگومیلین (شکل ۱۰-۱۱) تنظیم‌کننده‌های قوی پروتئین کینازها می‌باشند.

ایکوزانوئیدها حامل پیامهایی برای سلول‌های مجاور می‌باشند

ایکوزانوئیدها هورمون‌های پاراکرینی هستند که تنها بر روی سلول‌های موجود در نزدیکی محل سنتز خود اثر نموده و وارد گردش خون نمی‌شوند تا بر روی سلول‌های موجود در بافت‌ها یا اعضاء دیگر اثر نمایند. این مشتقات اسید چرب دارای اثرات برجسته و متنوعی بر روی بافت‌های مهره‌داران می‌باشند. این عوامل در تولیدمثل، التهاب، تب و درد همراه با آسیب یا بیماری، تشکیل لخته خون و تنظیم فشار خون، ترشح اسید معده و بسیاری از فرایندهای مختلف دیگر شرکت دارند که در حالات سلامتی و بیماری انسان مهم هستند.

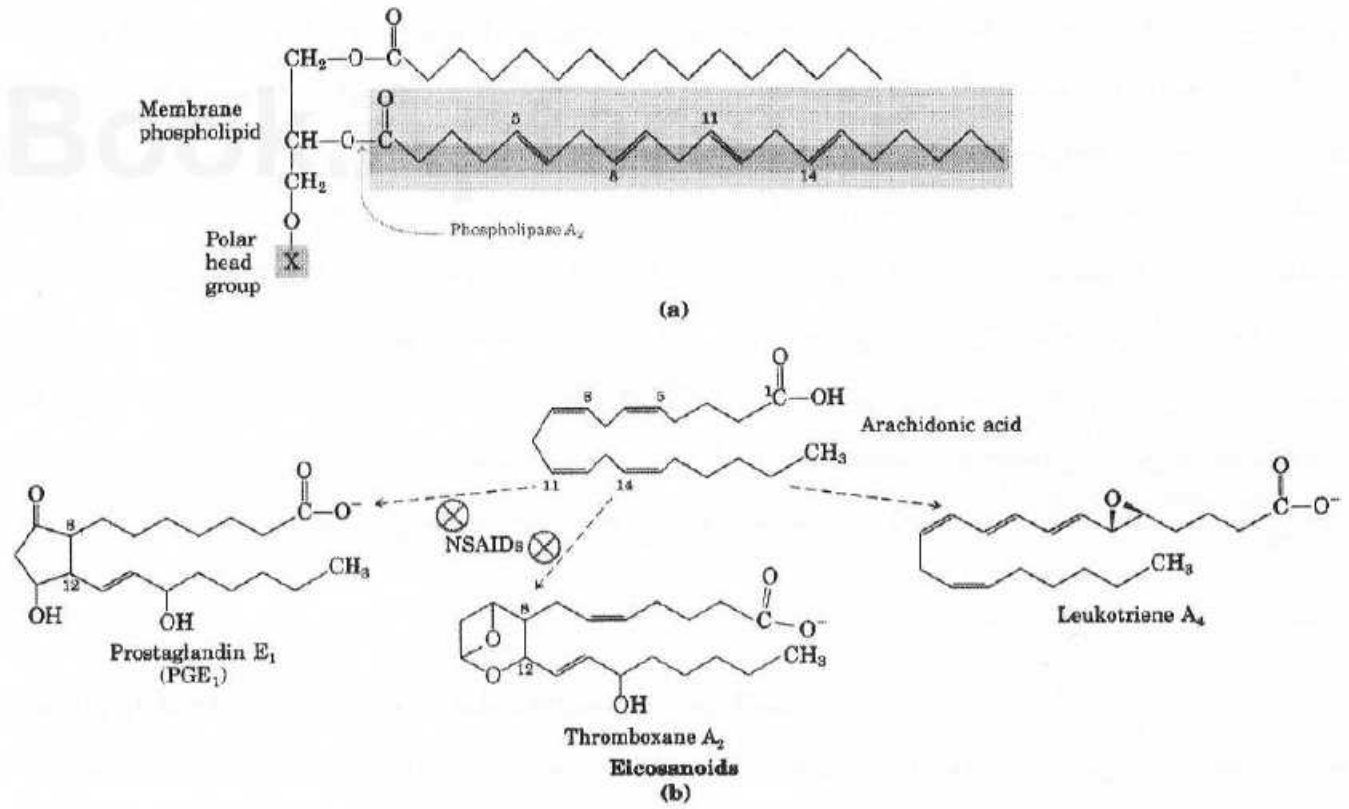
تمامی ایکوزانوئیدها مشتقاتی از یک اسید چرب ۲۰ کربنه با چند پیوند دوگانه، بنام اسید آراشیدونیک ($\Delta^{5,8,11,14}$:۲۰) (شکل ۱۶-۱۱)، می‌باشند که نام عمومی خود را از آن (کلمه یونانی *eikosi* به معنی «بیست») گرفته‌اند. سه کلاس ایکوزانوئیدها، شامل پروستاگلاندین‌ها، ترومبوکسان‌ها و لکوترین‌ها، وجود دارد.

پروستاگلاندین‌ها (PG) حاوی یک حلقه پنج کربنه در زنجیر اسید آراشیدونیک می‌باشند. نام این ترکیبات از غده پروستات گرفته شده است که اولین بار بنجت ساموئلسون و سون برگ‌استروم از این بافت جدا نمودند. در ابتدا دو گروه از پروستاگلاندین‌ها، شامل PGE (محلول در اتر) و PGF (محلول در بافر فسفات؛ *fosfat* سوئدی)، شناسایی شدند. هر کدام از این ترکیبات دارای زیرنوع‌هایی، با نمهای PGE_1، PGE_2 و غیره، هستند.

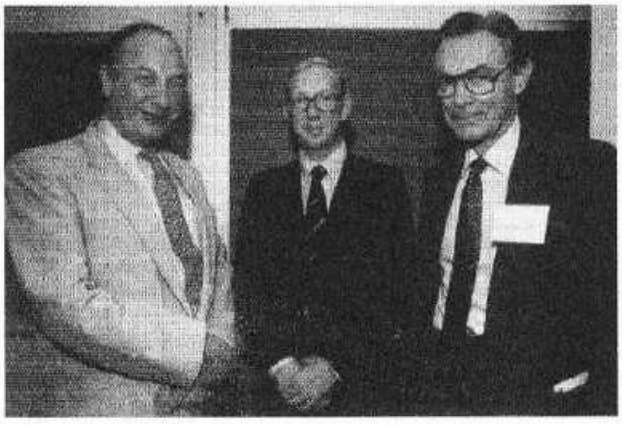
پروستاگلاندین‌ها در بافت‌های متعددی با تنظیم سنتز پیامبر داخل‌سلولی ملکول AMP ۳′،۵′-حلقوی (cAMP)، عمل می‌نمایند. ازآنجایی‌که cAMP عمل بسیاری از هورمون‌ها را وساطت می‌نماید، پروستاگلاندین‌ها بر روی دامنه وسیعی از فعالیت‌های سلولی و بافتی تأثیر دارند. بعضی از پروستاگلاندین‌ها انقباض عضله صاف رحم را در هنگام قاعدگی و زایمان تحریک می‌نمایند. سایر پروستاگلاندین‌ها بر روی جریان خون بعضی اعضاء اختصاصی، چرخه خواب - بیداری و پاسخ‌دهی بعضی از بافت‌ها به هورمون‌هایی نظیر اپی‌نفرین و گلوکاگون، اثر دارند. پروستاگلاندین‌های موجود در گروه سوم، دمای بدن را افزایش داده (ایجاد تب نموده) و در تولید التهاب و درد نقش دارند.

ترومبوکسان‌ها دارای یک حلقه شش اتمی با یک اتر می‌باشند. این ترکیبات توسط پلاکت‌ها (ترومبوسیت‌ها) تولید شده و در تشکیل لخته خون و کاهش جریان خون در محل لخته نقش دارند. جان وین نشان داد که داروهای

Book Anfarsi.ir



شکل ۱۶-۱۱. اسید آراشیدونیک و بعضی از مشتقات ایکوزانوئیدی. (a) در پاسخ به پیامهای هورمونی، فسفولیپاز A_2 اتصال اسید آراشیدونیک به فسفولیپیدهای غشایی را هیدرولیز نموده و اسید آراشیدونیک (به شکل آراشیدونات در pH 7) را به‌عنوان پیش‌ساز ایکوزانوئیدهای مختلف آزاد می‌نماید. **(b)** اینها شامل پروستاگلاندین‌هایی نظیر PGE_1 می‌باشند که در آنها کربن‌های ۸ و ۱۲ آراشیدونات به یکدیگر متصل شده و یک حلقه مشخص پنج اتمی را ایجاد می‌نمایند. در ترومبوکسان A_2، علاوه بر اتصال کربن‌های ۸ و ۱۲ به یکدیگر، یک اتم اکسیژن به حلقه اضافه شده و ایجاد یک حلقه شش اتمی می‌گردد. لکوترین A_4 دارای یک سری از سه پیوند دوگانه کونژوگه می‌باشد. داروهای غیراستروئیدی ضدالتهابی (NSAIDs)، نظیر آسپیرین، استامینوفن و ایبوبروفن، از طریق مهار آنزیم سیکلواکسیژناز (پروستاگلاندین H_2 سنتاز)، مانع تولید پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها می‌گردند.

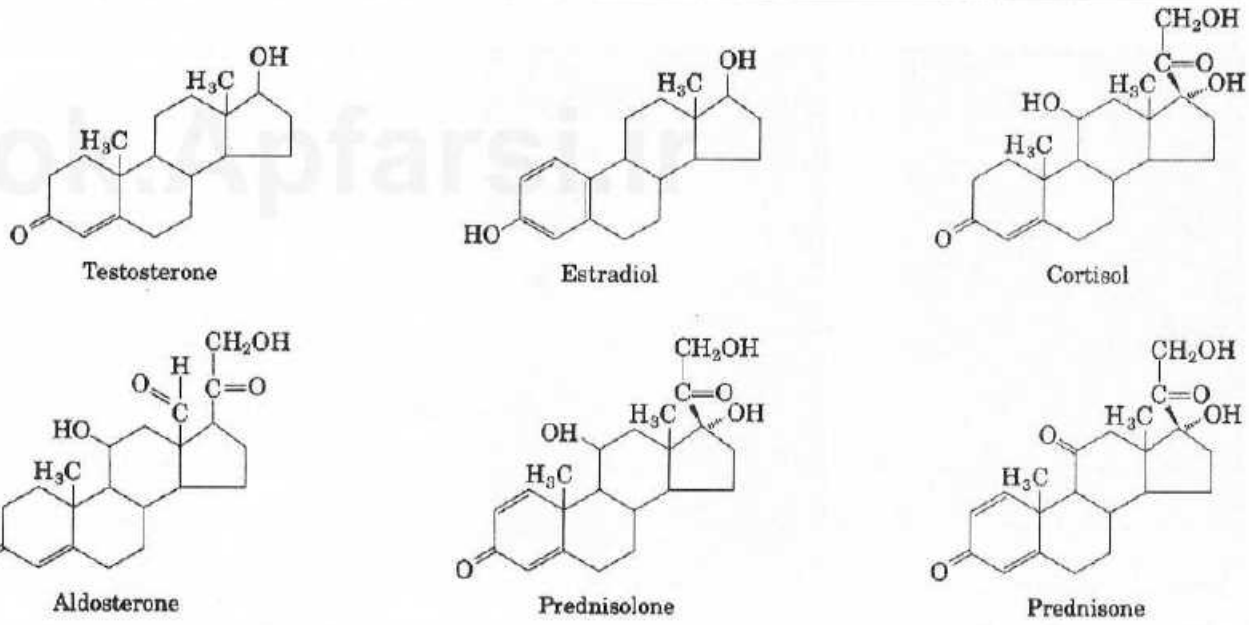


ضدالتهابی غیراستروئیدی (NSAIDs[1])، نظیر آسپیرین، ایبوبرروفن، استامینوفن و مکلوفنامات، آنزیم پروستاگلاندین H_2 سنتاز (سیکلواکسیژناز یا COX[2]) را مهار می‌نمایند که کاتالیزکننده اولین مرحله در مسیر تبدیل آراشیدونات به پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها است (شکل ۱۶-۱۱؛ کادر ۲-۲۱ را نیز ببینید).

لکوترین‌ها که ابتدا در لکوسیت‌ها یافت شدند، حاوی سه پیوند دوگانه کونژوگه می‌باشند. این ترکیبات، پیامهای بیولوژیکی قوی هستند. برای مثال، لکوترین D_4، مشتق لکوترین A_4، انقباض عضلات موجود در دیواره مسیرهای هوایی منتهی به ریه‌ها را القاء می‌نماید. تولید بیش از حد لکوترین‌ها منجر به حملات آسمی شده و مهار سنتز لکوترین‌ها یکی از اهداف داروهای ضد آسم، نظیر پردنیزون، می‌باشد. انقباض قوی عضلات صاف ریه که در طی شوک آنافیلاکتیک رخ می‌دهد، قسمتی از

1- Nonsteroidal antiinflammatory drugs
2- Cyclooxygenase

Book Anfarci.ir



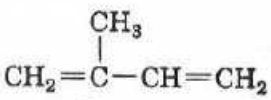
شکل ۱۷-۱۱. استروئیدهای مشتق از کلسترول. تستوسترون، هورمون جنسی مردانه، در بیضه‌ها تولید می‌گردد. استرادیول، یکی از هورمون‌های جنسی زنانه، در تخمدانها و جفت تولید می‌شود. کورتیزول و آلدوسترون هورمون‌هایی هستند که در قسمت قشری غده فوق‌کلیوی سنتز شده و به ترتیب متابولیسم گلوکز و دفع املاح را تنظیم می‌نمایند. پردنیزولون و پردنیزون، داروهای استروئیدی هستند که به‌عنوان عوامل ضدالتهابی بکار می‌روند.

واکنش آلرژیک در افراد دارای حساسیت بیش از حد به نیش زنبور، پنی‌سیلین و عوامل مختلف دیگر است که در مواردی منجر به مرگ می‌گردد.

هورمون‌های استروئیدی حامل پیام بین بافت‌ها می‌باشند

استروئیدها مشتقات اکسیده استرول‌ها می‌باشند؛ این ترکیبات دارای هسته استروئیدی می‌باشند، ولی فاقد زنجیر آلکیل متصل به حلقه D کلسترول بوده و قطبی‌تر از کلسترول هستند. هورمون‌های استروئیدی از طریق گردش خون و با اتصال به حاملین پروتئینی، از محل تولید خود به بافت‌های هدف منتقل شده و در آنجا بعد از ورود به سلول‌ها، با اتصال به پروتئین‌های گیرنده شدیداً اختصاصی موجود در هسته، سبب تغییراتی در بیان ژن و متابولیسم می‌گردند. از آنجایی که هورمون‌ها دارای تمایلات بسیار بالائی برای گیرنده‌های خود هستند، غلظت‌های بسیار پایین هورمون‌ها (نانومولار یا کمتر) برای ایجاد پاسخ در بافت‌های هدف کافی است. گروه‌های اصلی هورمون‌های استروئیدی شامل هورمون‌های جنسی مذکر و مؤنث و هورمون‌های تولیدی توسط قسمت قشری غده فوق‌کلیوی، یعنی کورتیزول و آلدوسترون، می‌باشند (شکل ۱۷-۱۱). پردنیزون و پردنیزولون داروهای استروئیدی با فعالیت‌های ضدالتهابی قوی هستند که تا حدودی اثر آنها ناشی از مهار رهاسازی آراشیدونات توسط فسفولیپاز A_2 (شکل ۱۶-۱۱) و در نتیجه مهار سنتز لکوترین‌ها، پروستاگلاندین‌ها و ترومبوکسان‌ها می‌باشد. این داروها کاربردهای بالینی مهمی، مثلاً در درمان آسم و آرتریت روماتوئید، دارند.

ویتامین‌های A و D، پیش‌سازهای هورمونی هستند



در طی سه دهه اول قرن بیستم، تمرکز اصلی تحقیقات بر روی شیمی فیزیولوژیک شناسایی **ویتامین‌ها** بوده است؛ ویتامین‌ها ترکیباتی هستند که برای

Book.Apfarsi.ir

سلامت انسان و سایر مهره‌داران ضروری بوده ولی توسط این حیوانات سنتز نشده و بنابراین لازم است توسط مواد غذایی تأمین گردند. مطالعات اولیه انجام شده بر روی تغذیه، دو کلاس اصلی ویتامین‌ها را معرفی نمود؛ یکی ویتامین‌هایی که در حلال‌های آلی غیرقطبی محلول بودند (ویتامین‌های محلول در چربی) و دیگری انواعی که توسط حلال‌های آبی قابل‌استخراج از مواد غذایی هستند (ویتامین‌های محلول در آب). بعدها ویتامین‌های محلول در چربی به صورت چهار گروه ویتامینی A، D، E و K تفکیک شدند؛ تمامی این ویتامین‌ها، ترکیبات ایزوپرنوئیدی هستند که با کندانساسیون واحدهای متعدد ایزوپرن ساخته می‌شوند. دو ویتامین محلول در چربی (A و D) به صورت پیش‌سازهای هورمونی عمل می‌نمایند.

ویتامین D_3 که کله کلسیفرول نیز نامیده می‌شود، بطورطبیعی در طی یک واکنش فتوشیمیایی در حضور اشعه UV موجود در نور خورشید، در پوست از ۷-دهیدروکلسترول ساخته می‌شود (شکل ۱۸-۱۱). خود ویتامین D_3 فاقد فعالیت بیولوژیک بوده ولی توسط آنزیم‌های موجود در کبد و کلیه به ۲۵،۱-دی‌هیدروکسی‌کله‌کلسیفرول تبدیل می‌گردد که به‌عنوان یک هورمون برداشت کلسیم را در روده و همچنین میزان کلسیم را در کلیه و استخوان، تنظیم می‌نماید. کمبود ویتامین D منجر به نقص در تشکیل استخوان و ایجاد بیماری راشیتیسم می‌گردد که تجویز ویتامین D برای آن همراه با بهبودی قابل‌توجه می‌باشد. ویتامین D_2 (ارگوکلسیفرول) یک محصول تجارتی می‌باشد که با اثر اشعه UV بر روی ارگوسترول مخمر تولید می‌شود. ویتامین D_2 از نظر ساختمانی مشابه ویتامین D_3 بوده و تنها تغییر جزئی در زنجیر جانبی متصل به حلقه D دارد. هر دو این ویتامین‌ها دارای اثرات بیولوژیک یکسانی هستند و معمولاً ویتامین D_2 به‌عنوان یک مکمل غذایی به شیر و کره افزوده می‌شود. همانند هورمون‌های استروئیدی، محصول متابولیسم ویتامین D، یعنی ۲۵،۱-دی‌هیدروکسی‌کله‌کلسیفرول، بیان ژن را، مثلاً با تنظیم سنتز پروتئین اتصالی Ca^{2+} در روده، تنظیم می‌نماید.

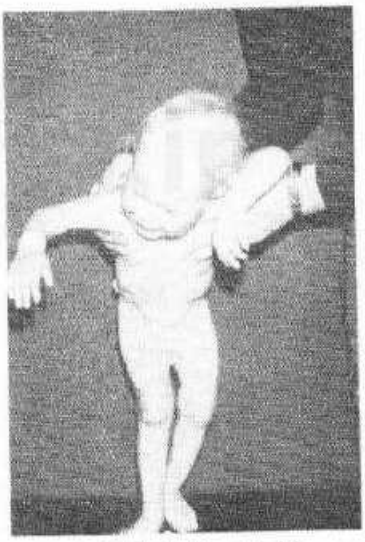
ویتامین A (رتینول) با اشکال مختلف به‌عنوان یک هورمون و یک رنگدانه بینایی در چشم مهره‌داران عمل می‌نماید (شکل ۱۹-۱۱). با عمل از طریق پروتئین‌های گیرنده موجود در هسته سلول، اسید رتینوئیک، مشتق ویتامین A، بیان ژن را برای تکامل سلول‌های اپی‌تلیال، مثلاً در پوست، تنظیم می‌نماید. اسید رتینوئیک جزء فعال موجود در داروی ترتینوئین (رتین-A) می‌باشد که در درمان آکنه شدید و پوست چروکیده بکار می‌رود. رتینال، مشتق دیگر ویتامین A، رنگدانه‌ای است که پاسخ سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی شبکیه را به نور را آغاز نموده و سبب تولید یک پیام عصبی برای مغز می‌گردد. جزئیات این نقش رتینال در فصل ۱۳ مورد بررسی قرار می‌گیرد.

ویتامین A در ابتدا از روغن کبد ماهی جدا گردید؛ کبد، تخم‌مرغ، شیر کامل و کره منابع غذایی خوبی برای این ویتامین هستند. در مهره‌داران، β-کاروتن، رنگدانه‌ای که رنگ مشخص موجود در هویج، سیب‌زمینی شیرین و سایر سبزیجات سبز را ایجاد می‌نماید، می‌تواند بطریق آنزیمی به ویتامین A تبدیل گردد. کمبود ویتامین A منجر به بروز علائم مختلفی می‌گردد که مهمترین آنها عبارتند از خشکی پوست، چشمها، و غشاءهای مخاطی؛ اختلال در رشد؛ و کوری شبانه، علامتی که معمولاً در تشخیص کمبود ویتامین A مورد استفاده قرار می‌گیرد.

ویتامین‌های E و K و کینونهای لیپیدی به‌عنوان کوفکتورهای اکسیداسیون-احیاء عمل می‌نمایند

ویتامین E نام عمومی است که به گروهی از لیپیدهای با وابستگی نزدیک بنام **توکوفرولها**، اتلاق می‌گردد که در

Book Anfarsi.ir



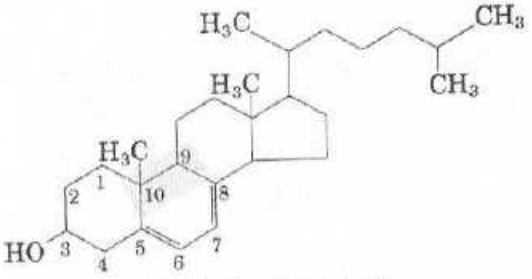
قبل از درمان با ویتامین D



۱۴ ماه بعد از درمان با ویتامین D

(b)

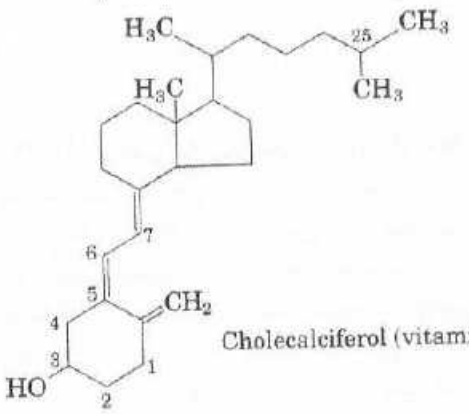
شکل ۱۸-۱۱. تولید و متابولیسم ویتامین D_3. (a) کله‌کلسیفرول (ویتامین D_3) در پوست با اثر اشعه UV بر روی ۷-دهیدروکلسترول تولید می‌گردد. در کبد، یک گروه هیدروکسیل به کربن ۲۵ افزوده شده و در کلیه، با دومین هیدروکسیلاسیون در کربن ۱، تولید هورمون فعال ۱،۲۵-دی‌هیدروکسی‌کله‌کلسیفرول می‌گردد. این هورمون متابولیسم Ca^{2+} را در کلیه، روده و استخوان، تنظیم می‌نماید. **(b)** ویتامین D غذایی مانع از راشیتیسم می‌گردد؛ این بیماری در آب و هوای سرد شایع می‌باشد، زیرا پوشش زیاد مانع از رسیدن اشعه UV نور خورشید به پوست برای سنتز ویتامین D_3 می‌گردد. در سمت چپ، یک پسر دو ونیم ساله مبتلا به راشیتیسم شدید ملاحظه می‌گردد؛ عکس سمت راست همان پسر بچه را در سن پنج سالگی و بعد از ۱۴ ماه درمان با ویتامین D نشان می‌دهد.



7-Dehydrocholesterol

UV light

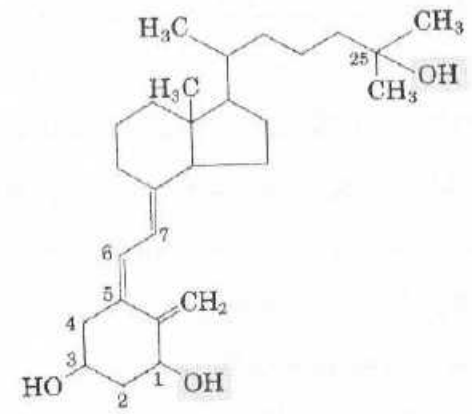
دو مرحله (در پوست)



Cholecalciferol (vitamin D_3)

یک مرحله در کبد

یک مرحله در کلیه

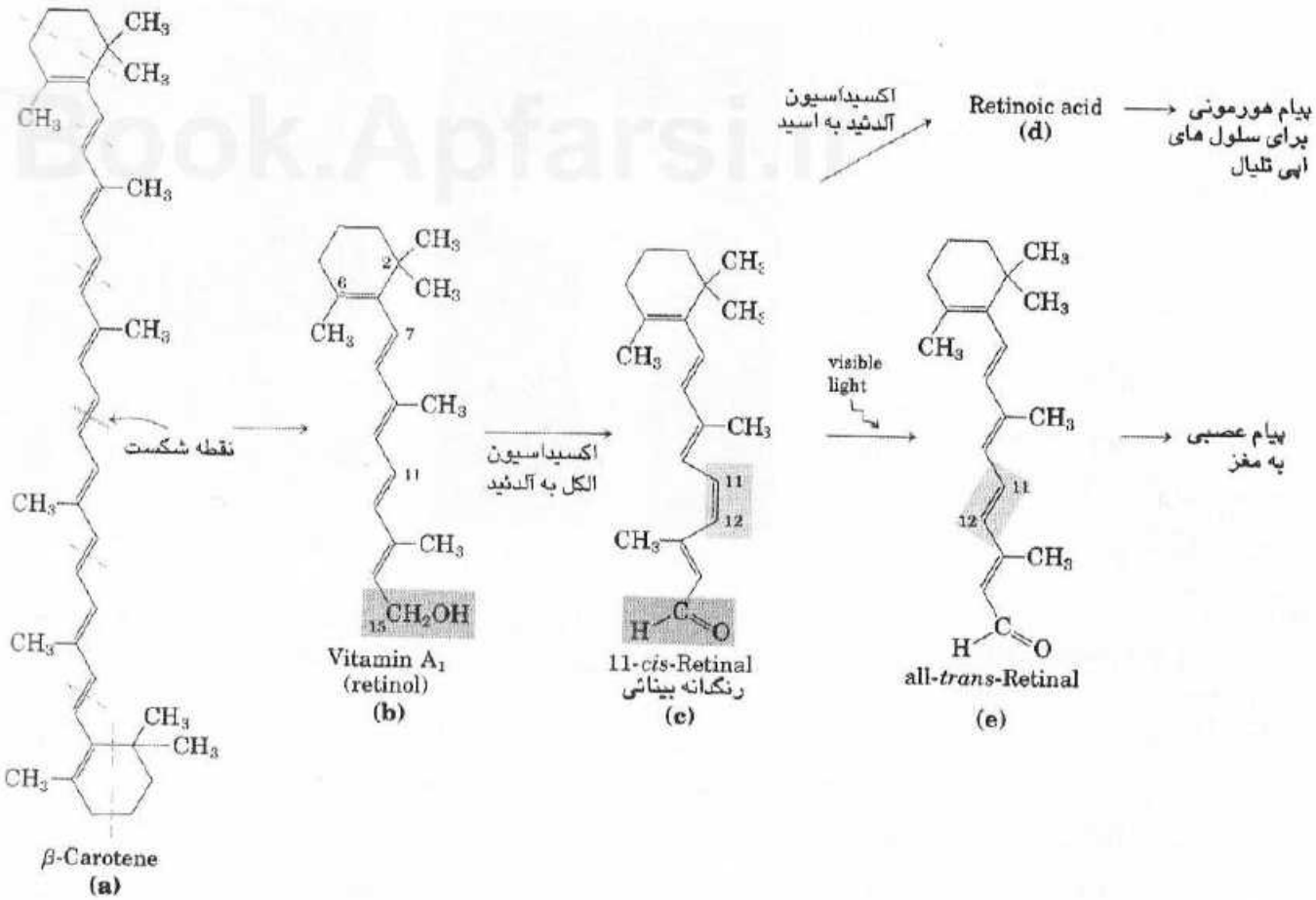


1,25-Dihydroxycholecalciferol
(1,25-dihydroxyvitamin D_3)

(a)

تمامی آنها یک حلقه آروماتیک استخلاف‌شده و یک زنجیر جانبی ایزوپرنوئید وجود دارد (شکل ۲۰a-۱۱). بعلت آبگریزبودن، توکوفرولها همراه با غشاءهای سلولی، ذخایر لیپیدی و لیپوپروتئین‌های موجود در خون می‌باشند. توکوفرول‌ها آنتی‌اکسیدانهای بیولوژیک هستند. حلقه آروماتیک موجود در این ترکیبات با اکثر اشکال واکنشگر رادیکال‌های اکسیژن و سایر رادیکال‌های آزاد واکنش نموده و با تخریب آنها، سبب حفاظت اسیدهای چرب غیراشباع در برابر اکسیداسیون و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو لیپیدهای غشایی می‌گردد؛ آسیب اکسیداتیو غشاء می‌تواند منجر به شکنندگی سلول شود. توکوفرول‌ها در تخم‌مرغ و روغن سبزیجات یافت شده و بخصوص در جوانه گندم فراوان است. حیوانات آزمایشگاهی که تحت رژیم غذایی فاقد ویتامین E بودند، مبتلا به پوست فلسی، ضعف و تحلیل عضلانی و

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۹-۱۱. ویتامین A_1، پیش‌ساز و مشتقات آن. **(a)** β-کاروتن پیش‌ساز ویتامین A_1 می‌باشد. واحدهای ایزوپرنوئیدی توسط خطوط منقطع قرمز جدا شده‌اند. در اثر تجزیه β-کاروتن، دو ملکول ویتامین A_1 حاصل می‌گردد. **(b)** اکسیداسیون کربن ۱۵، رتینول را به مشتق آلدئیدی، یعنی رتینال **(c)**، تبدیل نموده و اکسیداسیون بیشتر همراه با تولید اسید رتینوئیک **(d)** می‌باشد که یک هورمون تنظیم‌کننده بیان ژن در پوست است. رتینال با پروتئین اپسین ترکیب و ایجاد رودوپسین (نشان داده نشده) می‌نماید که یک رنگدانه بینایی است و در طبیعت به میزان زیادی مورد استفاده قرار می‌گیرد. در تاریکی، رتینال موجود در رودوپسین به شکل ۱۱-سیس رتینال **(c)** می‌باشد. وقتی ملکول رودوپسین در معرض نور مرئی قرار می‌گیرد، ۱۱-سیس رتینال متحمل یک سری واکنش‌های فتوشیمیایی شده که آن را به همه-ترانس رتینال **(e)** تبدیل می‌کند که همراه با تغییر شکل کل ملکول رودوپسین می‌باشد. این تغییر در سلول‌های استوانه‌ای شبکیه مهره‌داران، یک پیام الکتریکی را به مغز می‌فرستد که اساس انتقال پیام بینایی است. جزئیات این موضوع در فصل ۱۳ مورد بررسی قرار خواهد گرفت.



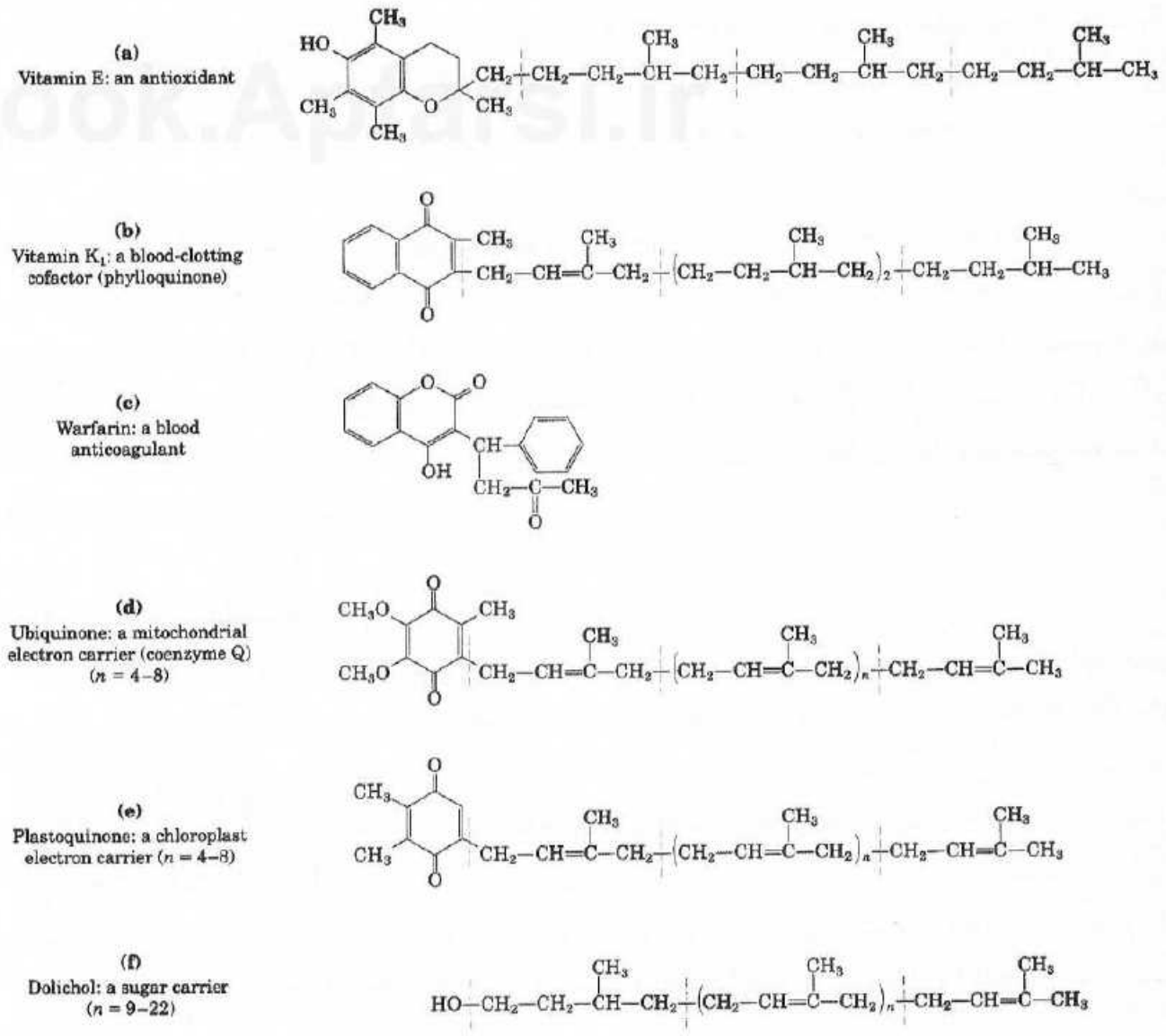
Edward A. Doisy
1893–1986



Henrik Dam
1895–1976

ناباروری شدند. کمبود ویتامین E در انسان بسیار نادر بوده و علامت اصلی آن شکنندگی گلبولهای قرمز خون می‌باشد.

حلقه آروماتیک **ویتامین K** (شکل ۲۰b-۱۱)، در هنگام تولید پروترومبین فعال (یک پروتئین پلاسمای خون که برای ایجاد لخته ضروری است)، متحمل یک چرخه اکسیداسیون و احیاء می‌گردد. پروترومبین یک آنزیم پروتئولیتیک می‌باشد که پیوندهای پپتیدی موجود در پروتئین فیبرینوژن را شکسته و آن را به فیبرین تبدیل می‌نماید؛ فیبرین یک پروتئین فیبری نامحلول می‌باشد که لخته‌های خون را در کنار یکدیگر نگه می‌دارد. هرنیک دام و ادوارد دویسی بطورمستقل کشف نمودند که کمبود ویتامین K سبب آهسته‌شدن ایجاد لخته خون شده که



شکل ۲۰-۱۱. بعضی دیگر از ترکیبات ایزوپرنوئیدی دارای فعالیت بیولوژیک. واحدهای ساختمانی ایزوپرن توسط خطوط منقطع از یکدیگر جدا شده‌اند. در بیشتر بافت‌های پستانداران، اوبی‌کینون (کوآنزیم Q نیز نامیده می‌شود) دارای ۱۰ واحد ایزوپرن می‌باشد. دولیکول‌های موجود در حیوانات، دارای ۱۷ تا ۲۱ واحد ایزوپرن (۸۵ تا ۱۰۵ اتم کربن) بوده و انواع مربوط به باکتریها دارای ۱۱ و گیاهان و قارچها دارای ۱۴ تا ۲۴ واحد می‌باشند.

می‌تواند کشنده باشد. کمبود ویتامین K، به غیر از درصد کمی از نوزدان مبتلا به بیماری هموراژیک نوزادان (یک ناهنجاری کشنده)، در انسان بسیار غیرمعمول است. در ایالات متحده، نوزادان بطورمعمول ۱ mg ویتامین K تزریقی دریافت می‌نمایند. ویتامین K_1 (فیلوکینون) در برگهای گیاهان سبز وجود داشته و شکل وابسته آن، یعنی ویتامین K_2 (مناکینون) توسط باکتریهای موجود در روده مهره‌داران تولید می‌گردد.

وارفارین (شکل ۲۰c-۱۱) یک ترکیب سنتتیک می‌باشد که مانع تشکیل ترومبین فعال می‌گردد. این ترکیب بخصوص برای موشهای صحرایی سمی بوده و بواسطه ایجاد خونریزی داخلی سبب مرگ می‌گردد. با این وجود، این عامل جونده‌کش قوی، داروی ضدانعقادی گرانبهایی برای درمان افراد مبتلا به خطر بالای افزایش قدرت انعقادی خون، نظیر بیماران تحت جراحی و افراد دارای خطر بالای ترومبوز عروق قلبی، می‌باشد.

اوبی‌کینون (کوآنزیم Q نیز نامیده می‌شود) و پلاستوکینون (شکل ۲۰d,e-۱۱) ایزوپرنوئیدهایی هستند که

Book.Apfarsi.ir

به‌عنوان حاملین الکترونی لیپوفیلیک در واکنش‌های اکسیداسیون-احیایی عمل می‌نمایند که به ترتیب در میتوکندری و کلروپلاست منجر به سنتز ATP می‌شوند. همانطور که در شکل ۲-۱۹ نشان داده شده است، هم اوبی‌کینون و هم پلاستوکینون می‌توانند یک یا دو الکترون و یک یا دو پروتون دریافت نمایند.

دولیکول پیش‌سازهای قندی را برای بیوسنتز فعال می‌نماید

در هنگام همایش کربوهیدراتهای مرکب دیواره‌های سلول باکتری و در هنگام افزودن واحدهای پلی‌ساکاریدی به بعضی از پروتئین‌ها (گلیکوپروتئین‌ها) و لیپیدها (گلیکولیپیدها) در اوکاریوتها، این واحدهای قندی باید بطریق شیمیایی با اتصال به الکلهای ایزوپرنوئیدی بنام **دولیکول‌ها** (شکل ۲۰-۱۱) فعال گردند. این ترکیبات، واکنش‌های متقابل قوی با لیپیدهای غشایی داشته و سبب می‌گردند قندهای اتصال‌یافته به آنها در غشاء لنگر انداخته تا در واکنش‌های انتقال قند شرکت نمایند.

جداسازی و تجزیه لیپیدها

در بررسی نقش بیولوژیک لیپیدها در داخل سلول‌ها و بافت‌ها، دانستن نوع لیپید موجود و نسبت آنها، مفید می‌باشد. ازآنجایی‌که لیپیدها در آب نامحلول هستند، استخراج و جداسازی بعدی آنها نیاز به استفاده از حلال‌های آلی و همچین فن‌آوریهایی دارد که معمولاً در تخلیص ملکولهای محلول در آب، نظیر پروتئین‌ها و کربوهیدراتها، کاربردی ندارند. بطورکلی، مخلوط‌های مرکب لیپیدها براساس اختلاف آنها از نظر قطبیت یا حلالیت اجزاء آنها در حلال‌های غیرقطبی، جدا می‌گردند. لیپیدهایی که دارای اسیدهای چرب با اتصال استری یا آمیدی هستند را می‌توان در مجاورت اسید یا قلیا و یا بوسیله آنزیم‌های هیدرولیتیک اختصاصی (فسفولیپازها، گلیکوزیدازها) هیدرولیز نمود تا اجزاء آنها بری تجزیه بدست آیند. تعدادی از روش‌های معمول در تجزیه لیپیدی در شکل ۲۱-۱۱ نشان داده شده است.

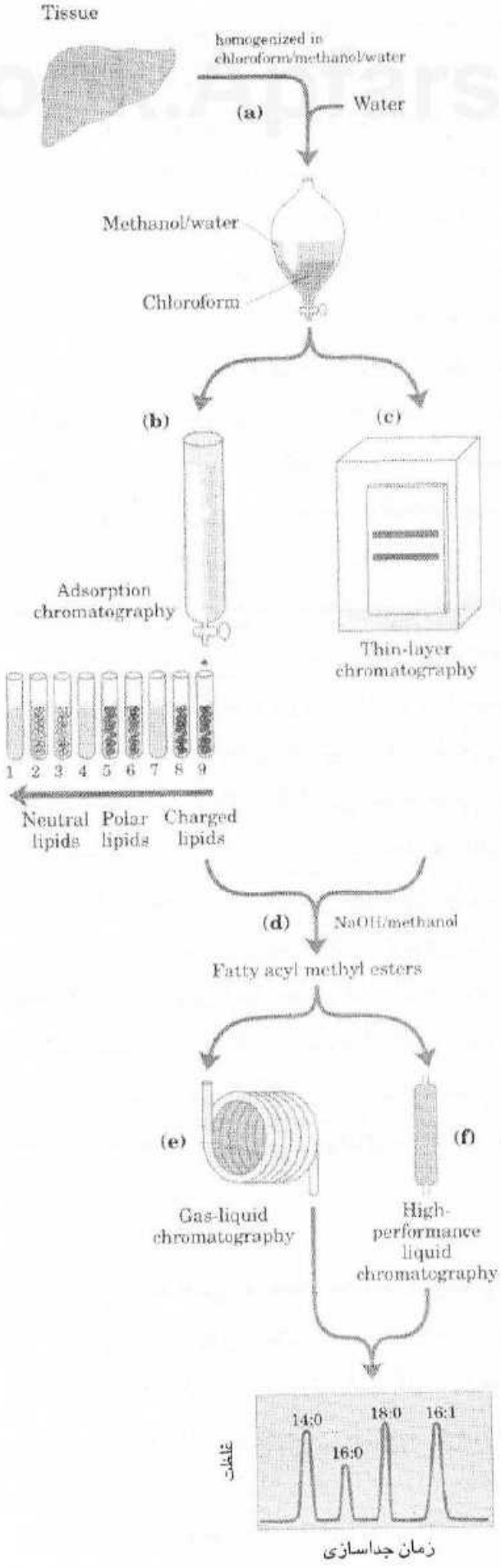
استخراج لیپیدی نیاز به حلال‌های آلی دارد

لیپیدهای خنثی (تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، مومها، رنگدانه‌ها و غیره) بسادگی توسط اتیل‌اتر، کلروفرم یا بنزن، استخراج می‌گردند؛ در این حلال‌ها تجمعات لیپیدی بواسطه واکنش‌های متقابل آبگریز، ایجاد نمی‌گردند. لیپیدهای غشایی توسط حلال‌های آلی قطبی‌تر، نظیر اتانل و متانل، بهتر جدا می‌شوند؛ این حلال‌ها سبب کاهش واکنش‌های متقابل آبگریز بین ملکولهای لیپید و همچنین تضعیف پیوندهای هیدروژنی و واکنش‌های متقابل الکترواستاتیکی می‌گردند که لیپیدهای غشایی را به پروتئین‌های غشایی متصل می‌نمایند. یکی از حلال‌های استخراجی که بطورمعمول مورد استفاده قرار می‌گیرد، مخلوط کلروفرم، متانل و آب، با نسبتهای حجمی قابل‌امتزاج (۸/۰:۲:۱) می‌باشد که یک فاز ایجاد می‌نماید. بعد از هموژنیزه‌نمودن بافت در این حلال برای استخراج تمامی لیپیدها، آب بیشتری به مخلوط حاصل اضافه تا مخلوط در دو فاز مجزا، شامل متانل/آب (فاز بالائی) و کلروفرم (فاز پایینی)، جدا گردد. لیپیدها در لایه کلروفرمی باقیمانده و ملکولهای قطبی‌تر، نظیر پروتئین‌ها و قندها وارد فاز متانل/آب می‌گردند.

کروماتوگرافی جذبی سبب جداسازی لیپیدهای دارای قطبیت متفاوت می‌گردد

مخلوط مرکب لیپیدهای بافتی را می‌توان با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی، براساس قطبیت متفاوت هر

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۱-۱۱. روش‌های معمول در استخراج، جداسازی و تعیین‌هویت لیپیدهای سلول. **(a)** بافت در مخلوطی از کلروفرم/متانل/آب هموژنیزه شده که با افزودن آب و برداشت رسوب غیرقابل‌استخراج توسط سانتریفوژ، دو فاز ایجاد می‌نماید. انواع مختلف لیپیدهای استخراج‌شده در فاز کلروفرمی را می‌توان با **(b)** کروماتوگرافی جذبی بر روی یک سیلیکا ژل ، که مواد حل‌شده براساس افزایش میزان قطبیت از آن عبور می‌نمایند، یا **(c)** کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، که در آن لیپیدها توسط جبهه حلال بالارونده بر روی یک سیلیکا ژل پوشیده بر روی صفحه حمل می‌گردند، جدا نمود؛ در TLC لیپیدهای کمتر قطبی بیشتر از لیپیدهای قطبی‌تر یا باردار حرکت می‌کنند. TLC با استفاده از حلال‌های مناسب را همچنین می‌توان برای جداسازی انواع ترکیبات لیپیدی با ساختمان نزدیک به هم بکار برد؛ برای مثال، لیپیدهای قطبی فسفاتیدیل‌سرین، فسفاتیدیل‌گلیسرول و فسفاتیدیل‌اینوزیتول، بسادگی توسط TLC جدا می‌گردند. برای تعیین ترکیب اسید چرب، یک جزء لیپیدی حاوی اسیدهای چرب با اتصال استری در یک محلول آبی گرم NaOH و متانل **(d)** ترانس‌استریفیه شده و تولید مخلوطی از استرهای متیل آسیل چرب می‌نماید. سپس این استرهای متیل براساس طول زنجیر و شدت اشباع، توسط **(e)** کروماتوگرافی گاز-مایع (GLC) یا **(f)** کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، جدا می‌شوند. تعیین دقیق جرم مولکولی توسط اسپکترومتری جرمی (کادر ۳-۵ را ببینید)، تعیین‌هویت غیرمبهم هر لیپیدی را ممکن می‌سازد.

کلاس لیپیدی، بیشتر جدا نمود. در کروماتوگرافی جذبی، یک ماده قطبی نامحلول، نظیر سیلیکا ژل (شکلی از اسید سیلیسیک، $Si(OH)_4$) در داخل یک ستون شیشه‌ای متراکم شده و مخلوط لیپیدی (موجود در محلول کلروفرمی) در بالای این ستون قرار داده می‌شود. (در کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا یا HPLC، این ستون قطر کمتری داشته و مواد حل‌شده تحت فشار بالا و با استفاده از نیرو از میان ستون عبور داده می‌شود.) لیپیدهای قطبی بطورمحکم به اسید سیلیسیک قطبی متصل شده ولی لیپیدهای خنثی مستقیماً از میان ستون عبور نموده و در اولین مرحله شستشو با کلروفرم خارج می‌گردند (شکل ۲۱b-۱۱). سپس با شستشو ستون با حلال‌هایی که بتدریج قطبیت آنها افزایش می‌یابد، لیپیدهای قطبی به ترتیب افزایش میزان قطبیت، خارج می‌گردند. لیپیدهای بدون‌بار ولی قطبی (برای مثال، سربروزیدها) توسط استن و لیپیدهای بسیار قطبی و باردار (نظیر گلیسروفسفولیپید) توسط متانل از ستون خارج می‌گردند.

Book.Apfarsi.ir

کروماتوگرافی لایه نازک بر روی اسید سیلیسیک نیز با استفاده از همین اصول عمل می‌نماید. یک لایه نازک از سیلیکا ژل بر روی یک صفحه شیشه‌ای پخش شده و به آن می‌چسبد. نمونه کوچکی از لیپیدهای حل‌شده در کلروفرم، در نزدیکی یک لبه صفحه قرار داده و صفحه در داخل یک محفظه دارای عمق کمی از یک حلال آلی یا یک حلال مخلوط قرو برده شده و فضای داخل حجره توسط بخار حلال اشباع می‌گردد. وقتی حلال با استفاده از خاصیت موئینه‌ای در صفحه بالا می‌رود، لیپیدها را با خود حمل می‌نماید (شکل ۲۱c-۱۱). هر چه لیپیدها کمتر قطبی باشند، تمایل کمتری برای اتصال به اسید سیلیسیک داشته و فاصله بیشتری را طی می‌نماید. بعد از جداسازی می‌توان با اسپری یک رنگ (رودامین[1]) که در اثر اتصال به لیپیدها خاصیت فلورسانس پیدا می‌نماید، و یا با تماس پلیت با بخارات ید، لیپیدها را آشکار نمود. ید بطوربرگشت‌پذیر با پیوندهای دوگانه موجود در اسیدهای چرب واکنش نموده و سبب می‌گردد لیپیدهای حاوی اسیدهای چرب غیراشباع به رنگ زرد یا قهوه‌ای مشاهده گردند. برای آشکارنمودن لیپیدها، استفاده از اسپری معرفهای دیگر نیز مفید می‌باشد. برای تجزیه بیشتر، می‌توان نواحی حاوی لیپیدهای جداشده را از صفحه تراشیده و بوسیله استخراج توسط یک حلال آلی، لیپیدها را بدست آورد.

گروماتوگرافی گاز-مایع سبب تفکیک مخلوط‌های حاوی مشتقات لیپیدی فرار می‌گردد

کروماتوگرافی گاز-مایع سبب جداسازی اجزاء فرار یک مخلوط براساس تمایلات نسبی آنها به انحلال در ماده خنثی متراکم‌شده در ستون کروماتوگرافی و یا به تبخیرشدن و عبور از میان ستون با استفاده از جریان یک گاز خنثی نظیر هلیوم، می‌گردد. بعضی از لیپیدها بطورطبیعی فرار بوده، ولی بیشتر آنها لازم است ابتدا مشتق‌سازی شده تا قابلیت تبخیر آنها افزایش یابد (یعنی، نقطه جوش آنها کاهش یابد). برای تجزیه اسیدهای چرب در یک نمونه از فسفولیپیدها، ابتدا این لیپیدها در یک مخلوط متانل/HCl یا متانل/NaOH حرارت داده شده که اسیدهای چرب استری‌شده با گلیسرول را به استرهای متیل آنها (ترانس‌استریفیکاسیون) تبدیل می‌نمایند. سپس این استرهای متیل آسیل چرب در داخل ستون کروماتوگرافی گاز-مایع قرار داه شده و ستون حرارت داده می‌شود تا این ترکیبات بخار گردند. استرهای آسیل چربی که در داخل ماده ستون حل می‌شوند، در آن ماده باقی می‌مانند؛ لیپیدهایی که حلالیت کمتری دارند، توسط جریان گاز خنثی حمل شده و اول از ستون خارج می‌شوند. ترتیب خروج بستگی به ماهیت جذب‌کننده جامد موجود در ستون و نقطه ذوب اجزاء مخلوط لیپیدی دارد. با استفاده از این فن‌آوریها، مخلوط اسیدهای چرب دارای طولهای مختلف و میزان متفاوت پیوند دوگانه را می‌توان بطورکامل تفکیک نمود (شکل ۲۱e-۱۱).

هیدرولیز اختصاصی به تعیین ساختمان لیپیدی کمک می‌نماید

بعضی از کلاسهای لیپیدی به تخریب تحت شرایط اختصاصی حساس هستند. برای مثال، تمامی اسیدهای چرب دارای اتصال استری در تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها، فسفولیپیدها و استرهای استرولی، در شرایط ملایم اسیدی یا قلیایی آزاد شده و در شرایط هیدرولیز قدری شدیدتر، اسیدهای چرب با اتصال آمیدی موجود در اسفنگولیپیدها نیز آزاد می‌گردند. آنزیم‌هایی که به‌طور اختصاصی بعضی از لیپیدها را هیدرولیز می‌نمایند، نیز در تعیین ساختمان لیپید مفید هستند. فسفولیپاز A، C و D (شکل ۱۳-۱۱)، هر کدام پیوندهای خاصی را در فسفولیپیدها هیدرولیز نموده و

1- Rhodamine

Book.Apfarsi.ir

تولید محصولاتی با حلالیت و رفتارهای کروماتوگرافیک متفاوت می‌نمایند. برای مثال، فسفولیپاز C یک الکل فسفریل محلول در آب (نظیر فسفوکولین از فسفاتیدیل‌کولین) و یک دی‌آسیل‌گلیسرول محلول در کلروفرم ایجاد می‌نماید که هر کدام را می‌توان بطورمجزا شناسایی نمود تا ساختمان فسفولیپید ابتدایی تعیین گردد. ترکیبی از هیدرولیز اختصاصی و شناسایی محصولات توسط کروماتوگرافی لایه نازک، گاز-مایع، یا HPLC، اغلب تعیین هویت ساختمان یک لیپید را ممکن می‌سازد.

اسپکترومتری جرمی ساختمان لیپیدی را آشکار می‌سازد

برای تعیین غیرمبهم طول یک زنجیر هیدروکربنی یا موقعیت پیوندهای دوگانه، تجزیه طیف جرمی لیپیدها و سایر مشتقات فرار آنها باارزش می‌باشد. خصوصیات شیمیایی لیپیدهای یکسان (برای مثال، دو اسید چرب که در موقعیت‌های متفاوتی پیوند دوگانه دارند و یا دو ایزوپرنوئید دارای تعداد متفاوت واحدهای ایزوپرن)، بسیار مشابه بوده و اغلب نمی‌توان با روش‌های کروماتوگرافی مختلف آنها را از یکدیگر تمایز داد. هرچند، وقتی خروجی یک ستون کروماتوگرافی بطورثابت توسط اسپکترومتری جرمی تجزیه گردد، اجزاء یک مخلوط لیپیدی را می‌توان بطورهمزمان جدا و تعیین هویت نمود.

خلاصه

لیپیدها اجزاء سلولی نامحلول در آب می‌باشند که می‌توان آنها را با استفاده از حلال‌های غیرقطبی استخراج نمود. بعضی از لیپیدها به‌عنوان اجزاء ساختمانی غشاءها و بعضی دیگر به‌عنوان اشکال ذخیره‌ای انرژی عمل می‌کنند. اسیدهای چرب که قسمتهای هیدروکربنی بسیاری از لیپیدها را تشکیل می‌دهند، معمولاً دارای تعداد اتم کربن زوج (معمولاً ۱۲ تا ۲۴) بوده و ممکن است اشباع و یا غیراشباع باشند؛ اسیدهای چرب غیراشباع دارای پیوند دوگانه باکونفیگوراسیون سیس هستند. در اکثر اسیدهای چرب غیراشباع، یک پیوند دوگانه در موقعیت Δ^9 (بین کربن‌های ۹ و ۱۰) وجود دارد.

تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها دارای سه ملکول اسید چرب هستند که به گروه‌های هیدروکسیل گلیسرول استری شده‌اند. تری‌آسیل‌گلیسرول‌های ساده دارای تنها یک نوع اسید چرب بوده و تری‌آسیل‌گلیسرول‌های مرکب از دو یا سه نوع اسید چرب تشکیل شده‌اند. تری‌آسیل‌گلیسرول‌ها چربی‌های ذخیره‌ای بوده و در انواع مختلفی از غذاها وجود دارند.

لیپیدهای قطبی، با سرهای قطبی و دم‌های غیرقطبی، اجزاء اصلی غشاءها می‌باشند. فراوانترین این لیپیدها، گلیسروفسفولیپیدها می‌باشند که دارای دو ملکول اسید چرب به شکل استری با دوگروه هیدروکسیل گلیسرول و یک الکل دیگر، گروه سر، به شکل استری باگروه هیدروکسیل سوم گلیسرول از طریق یک پیوند فسفودی‌استری، می‌باشند. گلیسروفسفولیپیدها از نظر ساختمان گروه سر با یکدیگر اختلاف دارند؛ معمول‌ترین گلیسروفسفولیپیدها شامل فسفاتیدیل‌اتانل‌آمین و فسفاتیدیل‌کولین هستند. سرهای قطبی گلیسروفسفولیپیدها در pH 7، بار الکتریکی دارند. اسفنگولیپیدها، اجزاء دیگر غشایی، دارای آمینوالکل زنجیر بلند اسفنگوزین بوده و گلیسرول ندارند. در ساختمان اسفنگومیلین علاوه بر اسید فسفریک و کولین، دو زنجیر بلند هیدروکربنی وجود دارد که یکی مربوط به یک اسید چرب و دیگری مربوط به اسفنگوزین است. سه کلاس دیگر اسفنگولیپیدها، شامل سربروزیدها، گلوبوزیدها و گانگلیوزیدها هستند که دارای اجزاء قندی می‌باشند. کلسترول، یک استرول، پیش‌ساز استروئیدها و یک جزء مهم غشاءهای پلاسمایی سلول‌های حیوانی است.

بعضی از انواع لیپیدها، هرچند به مقادیر کم وجود دارند، دارای نقش‌های حیاتی به‌عنوان کوفکتور یا پیام می‌باشند. فسفاتیدیل‌اینوزیتول به دو پیام داخل‌سلولی، شامل اینوزیتول ۵،۴،۱-تری‌فسفات و دی‌آسیل‌گلیسرول، هیدرولیز می‌گردد. پروستاگلاندین‌ها، ترومبوکسان‌ها و لکوترین‌ها، هورمون‌های فوق‌العاده قوی هستند که از آراشیدونات مشتق می‌شوند. هورمون‌های استروئیدی از استرول‌ها مشتق می‌گردند. ویتامین‌های A، D، E و K، ترکیبات محلول در چربی هستند که از واحدهای ایزوپرن تشکیل شده‌اند. تمامی این ترکیبات در متابولیسم یا فیزیولوژی حیوانات نقش ضروری دارند. ویتامین D

Book.Aparsi.ir

پیش‌ساز هورمونی است که متابولیسم کلسیم را تنظیم می‌کند. ویتامین A به‌عنوان رنگدانه بینایی چشم مهره‌داران و همچنین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده بیان ژن در طی رشد سلول اپی‌تلیال عمل می‌نماید. ویتامین E در حفاظت لیپیدهای غشایی در برابر صدمات اکسیداتیو عمل نموده و ویتامین K برای فرایند انعقاد خون ضروری است. اوبی‌کینونها و پلاستوکینونها که اینها نیز مشتقات ایزوپرنوئیدی هستند، به‌عنوان حاملین الکترون، به ترتیب در میتوکندری و کلروپلاست عمل می‌نمایند. دولیکول‌ها قندها را برای استفاده در سنتز بعضی کربوهیدراتهای مرکب، گلیکولیپیدها و گلیکوپروتئین‌ها، فعال نموده و آنها را به صورت متصل به غشاء نگه می‌دارند.

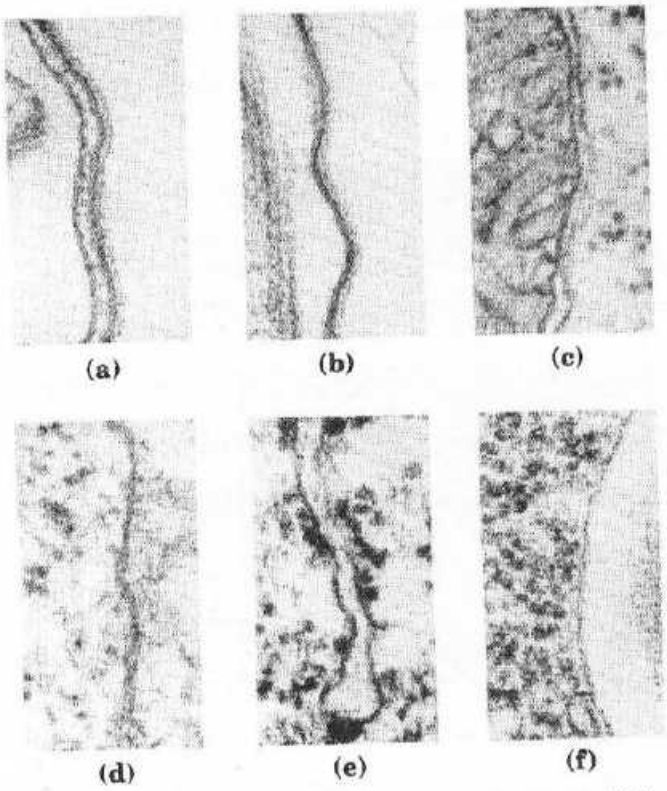
در تعیین ترکیب لیپیدی، لیپیدها توسط حلال‌های آلی از بافت‌ها استخراج شده و توسط کروماتوگرافی لایه نازک، گاز-مایع و با کارایی بالا، جدا می‌گردند. هر ترکیب لیپیدی بر اساس رفتار کروماتوگرافیک، حساسیت به هیدرولیز توسط آنزیم‌های اختصاصی و یا توسط اسپکترومتری جرمی، تعیین هویت می‌شود.

Book.Apfarsi.ir

۱۲ غشاءهای بیولوژیک و انتقال مواد

احتمالاً اولین سلول در زمان تشکیل یک غشاء، ایجاد گردید؛ غشاء حجم کوچکی از محلول آبی را در برگرفته و آن را از بقیه جهان جدا می‌نماید. غشاءها به صورت مرزهای خارجی سلول‌ها تعریف شده و عبور و مرور ملکولی در عرض آن مرز را کنترل می‌نمایند؛ در سلول‌های اوکاریوتی، فضای داخل سلولی نیز توسط غشاءها به بخش‌های مجزا تقسیم شده تا فرایندها و اجزاء مختلف را از یکدیگر جدا نمایند (شکل ۱-۱۲). غشاءها، توالی‌های واکنشی پیچیده‌ای را سازماندهی نموده و برای حفظ انرژی بیولوژیک و برقراری ارتباط سلول-به-سلول مهم می‌باشند. فعالیت‌های بیولوژیک غشاءها حاصل ویژگی‌های فیزیکی برجسته آنها می‌باشد. غشاءها دارای قابلیت انعطاف، خود-جوشی[1] و نفوذپذیری انتخابی نسبت به مواد قطبی هستند. انعطاف‌پذیری غشاءها، تغییرات شکلی را سبب می‌گردد که در هنگام رشد و حرکت سلولی (مثلاً حرکت آمیبی) دیده می‌شود. بواسطه توانایی غشاء در شکسته‌شدن و اتصال مجدد، دو غشاء می‌توانند در هم ادغام شده (مثلاً در اگزوسیتوز) یا یک غشاء بسته می‌تواند شکافته شده و بدون ایجاد نشت قابل‌توجه از طریق سطوح سلولی، دو بخش بسته مجزا (مثلاً در آندوسیتوز یا تقسیم سلولی) ایجاد نماید. از آنجایی که غشاءها دارای نفوذپذیری انتخابی هستند، می‌توانند بعضی ترکیبات و یون‌ها را در داخل سلول‌ها و همچنین در داخل بخش‌های اختصاصی داخل‌سلولی حفظ نموده، در حالی که بقیه را به داخل راه ندهند.

غشاءها تنها به‌عنوان سدهای غیرفعال عمل نمی‌کنند. آنها دارای صفی از پروتئین‌های اختصاصی هستند که



شکل ۱-۱۲. غشاءهای بیولوژیک. از نگاه برش عرضی، تمامی غشاءهای سلولی دارای یک ظاهر سه‌لایه‌ای مشترک می‌باشند. تک‌سلولی *Paramecium* دارای انواع مختلفی از انیدامک‌های غشاءدار اختصاصی است. وقتی یک برش نازک *Paramecium* با اسمیوم تتروکسید (osmium tetroxide) رنگ می‌شود، هر کدام از این غشاءها به صورت یک ساختمان سه‌لایه با ضخامت ۵ تا ۸ nm دیده می‌شوند. این تصاویر سه‌لایه از دو لایه با تراکم الکترونی در سطوح داخلی و خارجی تشکیل شده‌اند که توسط یک ناحیه مرکزی با تراکم کمتر از یکدیگر جدا می‌شوند. در بالا تصاویر بزرگ‌شده غشاءهای **(a)** یک جسم سلولی، **(b)** یک مژک، **(c)** یک میتوکندری، **(d)** یک واکوئل گوارشی، **(e)** شبکه آندوپلاسمی، و **(f)** یک وزیکول ترشحی، مشاهده می‌گردد.

1- Self-sealing

Book.Apfarsi.ir

فرایندهای مختلف سلولی را تسریع یا کاتالیز می‌نمایند. در سطح سلولی، انتقال‌دهنده‌ها سبب انتقال مواد آلی اختصاصی و یون‌های معدنی در عرض غشاء می‌گردند؛ گیرنده‌ها پیام‌های خارج‌سلولی را دریافت نموده و تغییرات ملکولی را در داخل سلول سبب می‌گردند؛ ملکول‌های چسبندگی، سلول‌های مجاور را در کنار یکدیگر نگه می‌دارند. در داخل سلول، غشاءها فرایندهای سلولی، نظیر سنتز لیپیدها و بعضی پروتئین‌ها و تبدیلات انرژی در میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها، را سازماندهی می‌نمایند. غشاءها از دو لایه ملکولی تشکیل شده‌اند و بنابراین بسیار نازک می‌باشند؛ غشاءها اساساً دوبعدی هستند. از آنجایی که تصادم‌های بین‌ملکولی در این فضای دوبعدی محتمل‌تر از فضای سه‌بعدی می‌باشد، کارائی فرایندهای آنزیمی که در داخل غشاءها به انجام می‌رسند، به میزان زیادی افزایش نشان می‌دهند.

در این فصل ابتدا ترکیب غشاءهای سلولی و معماری شیمیایی (ساختمان‌های ملکولی پویایی که زمینه انجام اعمال بیولوژیک آنها می‌باشند) شرح داده خواهد شد. کلاسهای متعدد پروتئین‌های غشایی مورد بررسی قرار خواهند گرفت که براساس نحوه اتصال به دولایه لیپیدی تعریف می‌شوند. چسبندگی سلولی، آندوسیتوز و ادغام سلولی که در هنگام ایجاد عفونت ویروسی مشاهده می‌گردد، نقش پویای پروتئین‌های غشایی را بیان خواهند نمود. سپس به عبور مواد از عرض غشاء و به واسطه پروتئین از طریق انتقال‌دهنده‌ها و کانال‌های یونی برمی‌گردیم. در فصول بعدی، نقش غشاء در انتقال پیام (فصول ۱۳ و ۲۳)، انتقال انرژی (فصل ۱۹)، سنتز لیپید (فصل ۲۱) و سنتز پروتئین (فصل ۲۷) شرح داده خواهد شد.

اجزاء ملکولی غشاءها

یکی از روشهای درک عمل غشاء، مطالعه ترکیب غشاء می‌باشد که برای مثال مشخص گردد، کدام اجزاء در تمامی غشاءها وجود داشته و کدام اجزاء تنها متصل به غشاءهای دارای فعالیت اختصاصی می‌باشند. بنابراین لازم است قبل از شرح ساختمان و عملکرد غشاء، اجزاء ملکولی غشاء را بشناسیم: پروتئین‌ها، لیپیدهای قطبی که تقریباً تمامی جرم غشاءهای بیولوژیک را شامل شده و کربوهیدرات‌هایی که قسمتی از گلیکوپروتئین‌ها و گلیکولیپیدها را تشکیل می‌دهند.

هر غشایی دارای لیپیدها و پروتئین‌های مشخصی می‌باشد

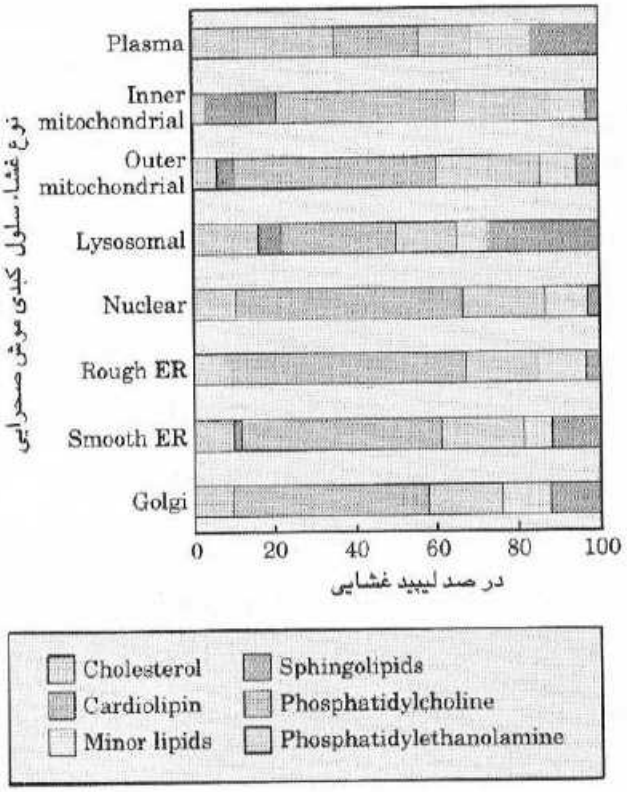
نسبت‌های نسبی پروتئین و لیپید موجود در غشاءها برحسب نوع غشاء متفاوت است (جدول ۱-۱۲)؛ این نسبت انعکاسی از تنوع اعمال بیولوژیک آنها می‌باشد. برای مثال، بعضی از نرون‌ها دارای یک غلاف میلینی هستند؛ این غلاف غشاء پلاسمایی امتدادیافته‌ای است که دفعات زیادی در اطراف سلول پیچیده و به‌عنوان یک عایق الکتریکی غیرفعال عمل می‌نماید. غلاف‌های میلینی اساساً از لیپیدها تشکیل شده‌اند، در حالی که غشاءهای پلاسمایی باکتری‌ها و غشاءهای میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها که در آنها فرایندهای آنزیمی متعددی انجام می‌پذیرد، پروتئین بیشتری در مقایسه با لیپیدها دارند.

برای مطالعه ترکیب غشاء، اولین عمل، جداسازی یک غشاء انتخابی می‌باشد. وقتی سلول‌های اوکاریوتی در معرض برش‌های مکانیکی قرار می‌گیرند، غشاءهای پلاسمایی آنها پاره و قطعه‌قطعه شده و در نتیجه اجزاء سیتوزولی و اندامک‌های دارای غشاء، نظیر میتوکندری‌ها، کلروپلاست‌ها، لیزوزوم‌ها و هسته‌ها، رها می‌گردند.

Book.Apfarsi.ir

جدول ۱-۱۲. اجزاء اصلی غشاءهای پلاسمائی در موجودات مختلف

	اجزاء (٪ وزن)				
	پروتئین	فسفولیپیدها	استرول	نوع استرول	سایر لیپیدها
غلاف میلین انسان	۳۰	۳۰	۱۹	کلسترول	گالاکتولیپیدها، پلاسمالوژن‌ها
کبد موش	۴۵	۲۷	۲۵	کلسترول	-
برگ ذرت	۴۷	۲۶	۷	سیتوسترول	گالاکتولیپیدها
مخمر	۵۲	۷	۴	ارگوسترول	تری‌آسیل‌گلیسرولها، استرهای استریل
Paramecium (تک‌یاخته مژک‌دار)	۵۶	۴۰	۴	استیگماسترول	-
E. coli	۷۵	۲۵	۰	-	-



شکل ۲-۱۲ [شکل ۲۲ ضمیمه رنگی]. ترکیب لیپیدی غشاء پلاسمایی و غشاءهای اندامکی یک سلول کبدی موش صحرایی. ویژگی عملکردی هر نوع غشاء انعکاسی از ترکیب لیپیدی بی‌همتای آن می‌باشد. کلسترول در غشاءهای پلاسمایی غالب بوده ولی بندرت در غشاءهای میتوکندری وجود دارد. کاردیولیپین یک جزء اصلی در غشاء داخلی میتوکندری بوده ولی در غشاء پلاسمایی وجود ندارد. فسفاتیدیل‌سرین، فسفاتیدیل‌اینوزیتول و فسفاتیدیل‌گلیسرول، اجزاء جزئی بیشتر غشاءها بوده ولی ممکن است اعمال مهمی را انجام دهند. برای مثال، فسفاتیدیل‌اینوزیتول و مشتقات آنها در انتقال پیام هورمون‌ها شرکت می‌کنند. اسفنگولیپیدها، فسفاتیدیل‌کولین و فسفاتیدیل‌اتانل‌آمین در اکثر غشاءها، ولی با نسبت‌های مختلف، وجود دارند.

قطعات غشاء پلاسمایی و اندامک‌های سالم را می‌توان با فن‌آوری‌های سانتریفوژ جدا نمود که در فصل ۲ شرح داده شدند (شکل ۲۰-۲).

آنالیز شیمیایی غشاءهای جداشده از منابع مختلف، بعضی از ویژگی‌های مشترک را نشان می‌دهد. هر سلسله، هر گونه، هر نوع بافت یا سلول، و اندامک‌های هر نوع سلول، دارای یک سری مشخص از لیپیدهای غشایی می‌باشند. برای مثال، غشاء پلاسمایی سلول‌های کبدی، غنی از کلسترول بوده و فاقد کاردیولیپین قابل‌جداسازی است (شکل ۲-۱۲). در غشاء داخلی میتوکندری سلول‌های کبدی، این توزیع عکس می‌باشد. واضح است که سلول‌ها برای کنترل نوع و میزان لیپیدهای غشایی که سنتز و برای اندامک‌های خاصی هدفدار می‌نمایند، دارای مکانیسم‌های کنترلی خاصی می‌باشند. در بسیاری از موارد می‌توان مزایای تطبیقی ترکیبات مختلف لیپیدهای غشایی را حدس زد؛ در موارد دیگر، هنوز اهمیت عملکردی این ترکیبات ناشناخته باقی مانده است.

ترکیب پروتئینی غشاءهای مختلف، حتی متنوع‌تر از ترکیب لیپیدی آنها می‌باشد که تخصص کاری آنها را نشان می‌دهد. در سلول استوانه‌ای شبکیه مهره‌داران، قسمتی از سلول برای دریافت نور شدیداً اختصاصی است؛ بیش از ۹۰٪ پروتئین غشایی موجود در این ناحیه از گلیکوپروتئین رودوپسین تشکیل شده است که جذب‌کننده نور می‌باشد. غشاء پلاسمایی گلبول‌های قرمز که ویژگی کمتری دارد از حدود ۲۰ نوع پروتئین برجسته و چندین دوجین

Book.Apfarsi.ir

پروتئین جزئی تشکیل شده است. غشاء پلاسمایی *Escherichia coli* حاوی بیش از یکصد پروتئین مختلف، از جمله انتقال‌دهنده‌ها و بسیاری از آنزیم‌های شرکت‌کننده در متابولیسم حفظ انرژی، سنتز لیپید، انتقال پروتئین و تقسیم سلولی، می‌باشد. غشاء خارجی *E. coli* عملکرد متفاوت (حفاظت) داشته و یک سری مختلف از پروتئین‌ها را دارد.

بعضی از پروتئین‌های غشایی به‌طور کووالان به صفوف پیچیده‌ای از کربوهیدرات‌ها متصل می‌باشند. برای مثال، ۶۰٪ جرم گلیکوفورین، یک گلیکوپروتئین غشاء پلاسمایی گلبول قرمز، از واحدهای اولیگوساکاریدی مرکب تشکیل یافته است که به‌طور کووالان به ریشه‌های اختصاصی اسید آمینه اتصال یافته‌اند. ریشه‌های Ser، Thr و Asn معمول‌ترین نقاط اتصال می‌باشند (شکل ۲۵-۹ را ببینید). در انتهای دیگر این مقیاس، پروتئین رودوپسین غشاء پلاسمایی سلول‌های استوانه‌ای با یک هگزاساکارید قرار دارد. قسمت‌های قندی گلیکوپروتئین‌های سطحی بر روی تاشدن پروتئین و همچنین پایداری و تعیین مقصد داخل‌سلولی اثر داشته و نقش مهمی را در اتصال اختصاصی لیگاندها به گیرنده‌های سطحی گلیکوپروتئینی ایفاء می‌نمایند (شکل ۲۹-۹ را ببینید). برخلاف غشاءهای پلاسمایی، غشاءهای داخل‌سلولی، نظیر غشاءهای میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها، بندرت حاوی کربوهیدرات‌هایی با اتصال کووالان می‌باشند.

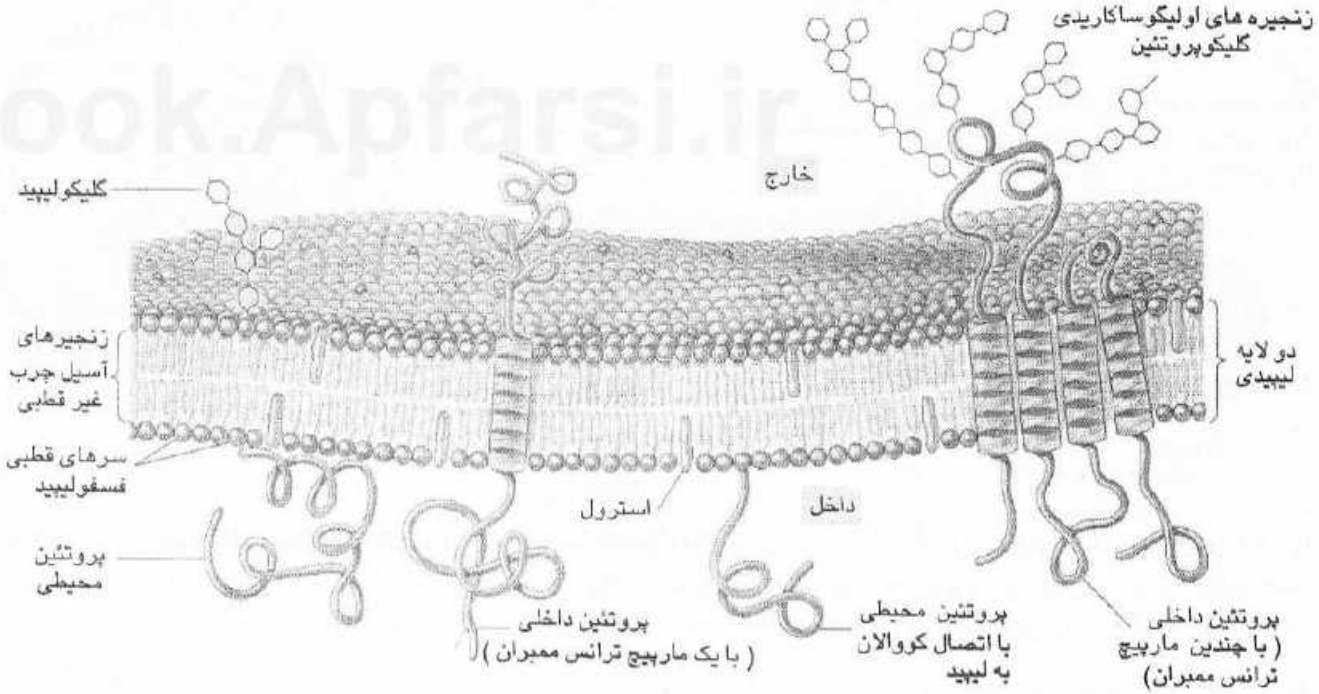
بعضی از پروتئین‌های غشایی به‌طور کووالان به یک یا چند لیپید اتصال دارند، که بعداً خواهیم دید خود این لیپیدها به‌عنوان لنگرهای آبگریز، پروتئین‌ها را در غشاء نگه می‌دارند.

معماری سوپراملکولی غشاءها

تمامی غشاءهای بیولوژیک دارای خصوصیات پایه مشترکی هستند. این غشاءها در برابر اکثر مواد قطبی یا باردار نفوذناپذیر بوده ولی نسبت به ترکیبات غیرقطبی نفوذپذیر می‌باشند. ضخامت آنها ۵ تا ۸ nm (۵۰ تا ۸۰ Å) بوده و برش عرضی آنها در زیر میکروسکوپ الکترونی به شکل سه‌لایه دیده می‌شود (شکل ۱-۱۲). مدارک حاصل از بررسی با میکروسکوپ الکترونی و مطالعات انجام‌شده بر روی اجزاء شیمیایی و همچنین مطالعات فیزیکی نفوذپذیری و حرکت ملکول‌های پروتئینی و لیپیدی در داخل غشاءها، منجر به مطرح‌شدن **مدل موزائیکی مایع** برای ساختمان غشاءهای بیولوژیک گردید (شکل ۳-۱۲). فسفولیپیدها و استرول‌ها ایجاد یک دولایه لیپیدی می‌کنند که در آن قسمت‌های غیرقطبی ملکول‌های لیپیدی در مرکز دولایه به سمت یکدیگر بوده و گروه‌های سر قطبی آنها به سمت خارج می‌باشند. در صفحه دولایه، پروتئین‌ها در فواصل نامنظمی در داخل غشاء فرو رفته و توسط واکنش‌های آبگریز موجود در بین لیپیدهای غشایی و دومن‌های آبگریز موجود در پروتئین‌ها، نگه داشته شده‌اند. بعضی از پروتئین‌ها تنها از یک سمت غشاء و تعدادی نیز از هر دو سمت بیرون زده‌اند. جهت‌گیری پروتئین‌ها در دولایه غیرقرینه بوده که به غشاء «سمتیت[1]» می‌دهد؛ دومن‌های پروتئینی که از یک سمت دولایه در معرض می‌باشند، از انواعی که از سمت دیگر در معرض قرار دارند، متفاوت بوده که عدم‌تقارن در فعالیت آنها را نشان می‌دهد. واحدهای لیپیدی و پروتئینی موجود در غشاء ایجاد یک موزائیک مایع می‌کنند که الگوی آن، برخلاف سرامیک و ملاط، دائماً درحال تغییر می‌باشد. به علت غیرکووالان بودن واکنش‌های متقابل بین اجزاء، موزائیک غشایی مایع بوده و به ملکول‌های لیپیدی و پروتئینی این اجازه را می‌دهد که در صفحه غشاء به‌طور جانبی حرکت نمایند.

1- Sidedness

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳-۱۲. مدل موزائیک مایع ساختمان غشاء. زنجیرهای آسیل چرب موجود در داخل غشاء یک ناحیه آبگریز مایع ایجاد می‌نمایند. پروتئین‌های داخلی در این دریای لیپیدی شناور بوده و توسط واکنش‌های متقابل آبگریز با زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه غیرقطبی خود نگه داشته می‌شوند. هم پروتئین‌ها و هم لیپیدها می‌توانند آزادانه در صفحه دولایه بطور جانبی حرکت نمایند. ولی محدودیت حرکت از یک سمت دولایه به سمت دیگر وجود دارد. بخش‌های کربوهیدراتی متصل به بعضی از پروتئین‌ها و لیپیدهای غشاء پلاسمایی در سمت خارج‌سلولی غشاء عرضه شده‌اند.

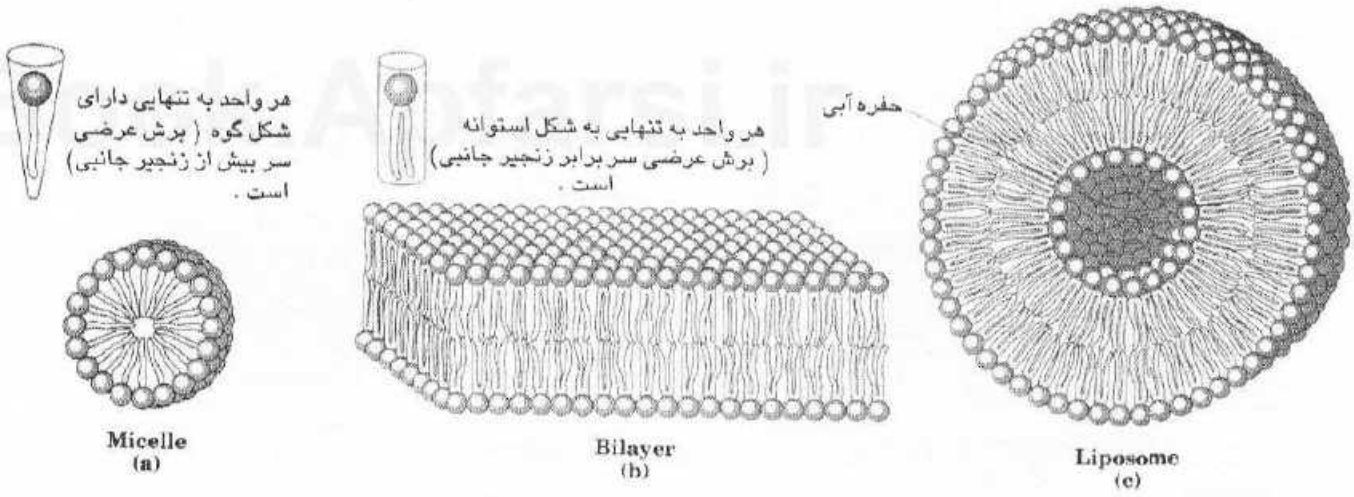
تجمعات لیپیدهای دوگانه‌دوست در آب

گلیسروفسفولیپیدها، اسفنگولیپیدها و استرولها در آب نامحلول می‌باشند. وقتی این ترکیبات با آب مخلوط می‌گردند، به‌طورخودبخودی ایجاد تجمعات لیپیدی میکروسکوپی در یک فاز مجزا از محیط اطراف آبی می‌نمایند: این دسته‌های لیپیدی به شکلی قرار می‌گیرند که بخش‌های آبگریز آنها در تماس با یکدیگر بوده و گروه‌های آبدوست آنها با محیط آبی اطراف واکنش می‌کنند. با دسته‌شدن لیپیدها، میزان سطح آبگریز در معرض آب کاهش یافته و بنابراین تعداد ملکول‌های موجود در قشری از ملکول‌های منظم آب در سطح حدفاصل لیپید-آب به حداقل رسیده (شکل ۷-۴) که حاصل آن افزایش آنتروپی می‌باشد. واکنش‌های متقابل آبگریز در میان ملکول‌های لیپید، نیروی ترمودینامیکی لازم برای تشکیل و حفظ این دسته‌ها را فراهم می‌سازد.

وقتی لیپیدهای آبگریز با آب مخلوط می‌گردند، برحسب شرایط دقیق و ماهیت لیپیدها، سه نوع تجمع لیپیدی می‌تواند ایجاد گردد (شکل ۴-۱۲). **میسل‌ها** ساختمان‌های کروی حاوی چند دوجین تا چندین هزار ملکول می‌باشند که نواحی آبگریز آنها به سمت داخل و دور از آب بوده و گروه‌های سرقطبی آنها در سطح و در تماس با آب هستند. تشکیل میسل زمانی مساعد می‌باشد که ناحیه مقطع عرضی گروه سر از زنجیر(های) آسیل جانبی بیشتر باشد؛ این حالت در اسیدهای چرب آزاد، لیزوفسفولیپیدها (فسفولیپیدهای فاقد یک اسید چرب) و دترژنت‌هایی نظیر سدیم دودسیل سولفات (SDS؛ ص. ۱۵۵) دیده می‌شود.

نوع دوم تجمع لیپیدی، **دولایه** می‌باشد که در آن دو تک‌لایه لیپیدی یک صفحه دوبعدی ایجاد می‌نمایند. تشکیل دولایه زمانی براحتی رخ می‌دهد که همانند گلیسروفسفولیپیدها و اسفنگولیپیدها، نواحی مقطع عرضی گروه سر و زنجیر(های) آسیل جانبی مشابه باشند. قسمت‌های آبگریز هر تک‌لایه از آب دور شده و با یکدیگر واکنش

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۱۲. تجمعات لیپیدی آمفی‌پاتیک که در آب ایجاد می‌شوند. (a) در میسلها، زنجیرهای آبگریز اسیدهای چرب در مرکز این کره پنهان می‌گردند. در واقع آبی در این ناحیه داخلی آبگریز وجود ندارد. (b) در یک دولایه باز، تمامی زنجیرهای آسیل جانبی به غیر از انواع موجود در لبه‌های صفحه، در برابر واکنش متقابل با آب حفاظت می‌شوند. (c) وقتی یک دولایه دوبعدی بر روی خودش تا می‌گردد، ایجاد یک دولایه بسته، یا یک وزیکول میان خالی سه‌بعدی (لیپوزوم) می‌نماید که یک حفره آبی را در بر می‌گیرد.

می‌نمایند. گروه‌های سر آبدوست نیز در سطح هر لایه با آب واکنش می‌نمایند. از آنجایی‌که نواحی آبگریز موجود در لبه‌های این دولایه‌ها (شکل ۴b-۱۲) به‌طور موقتی در تماس با آب می‌باشند، صفحه دولایه نسبتاً ناپایدار بوده و به‌طور خودبخود نوع سومی از تجمع لیپیدی را ایجاد می‌نماید که حاصل برگشت به عقب دولایه لیپیدی بر روی خود و ایجاد یک کره توخالی بنام وزیکول یا لیپوزوم، می‌باشد. با ایجاد وزیکول، دولایه‌ها با ازدست‌دادن نواحی لبه آبگریز خود، حداکثر پایداری را در محیط آبی بدست می‌آورند. این وزیکول‌های دولایه، آب را دربرگرفته و ایجاد یک بخش آبی مجزا می‌نمایند. احتمالاً سلول‌های زنده اولیه مشابه لیپوزوم‌ها بوده‌اند که محتویات آبی آنها توسط یک غلاف آبگریز از بقیه دنیا جدا می‌گردید.

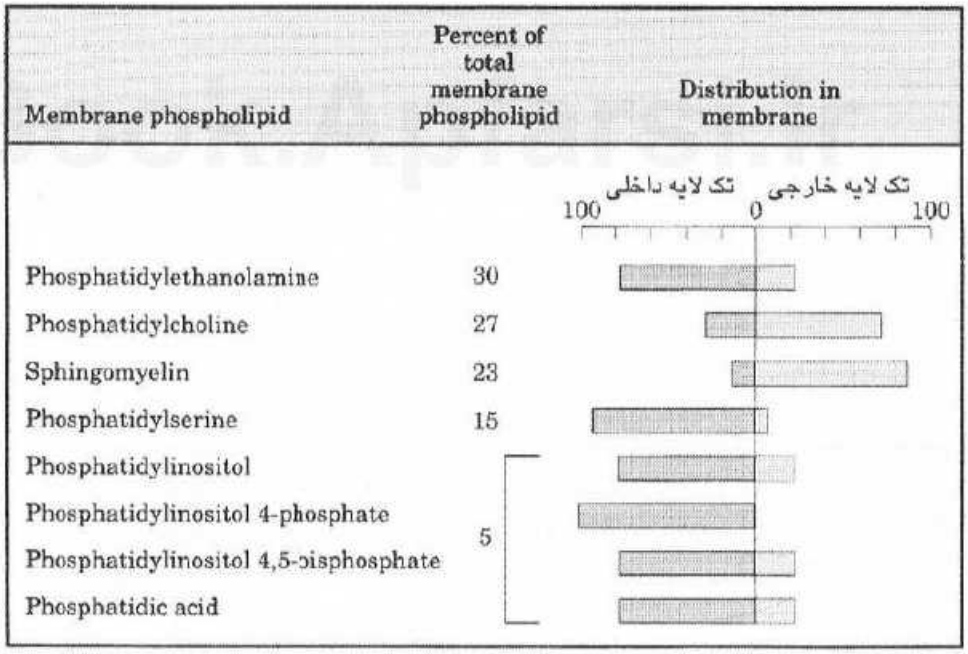
تمامی شواهد نشان می‌دهند که غشاءهای بیولوژیک از دولایه‌های لیپیدی تشکیل شده‌اند. ضخامت غشاءها که بوسیله میکروسکوپ الکترونی اندازه‌گیری شده است، در حدود مورد انتظار برای ضخامت (۳۰ Å) ۳ nm یک دولایه لیپیدی دارای پروتئین‌های بیرون‌زده از هر دو طرف می‌باشد. مطالعات انجام شده بر روی غشاءها با انکسار اشعه-x انتشار چگالی الکترونی مورد انتظار برای یک ساختمان دولایه را مشخص می‌نماید. و لیپوزوم‌های ایجادشده در آزمایشگاه همان نفوذناپذیری نسبی غشاءهای بیولوژیک به مواد حل‌شده را نشان می‌دهند (هرچند همانطور که بعداً خواهیم دید، لیپوزوم‌ها نسبت به موادی که برای آنها انتقال‌دهنده‌های اختصاصی دارند، نفوذپذیر می‌باشند).

لیپیدهای غشایی به‌طور نامتقارن بین دو تک‌لایه موجود در دولایه پخش شده‌اند، هرچند برخلاف پروتئین‌های غشایی، عدم‌تقارن آنها مطلق نمی‌باشد. برای مثال، بعضی لیپیدها به‌طور شاخص اساساً در تک‌لایه خارجی وجود داشته و تعدادی دیگر تنها در تک‌لایه داخلی (سیتوزولی) یافت می‌شوند، ولی بندرت یک لیپید تنها در یک سمت موجود بوده و در سمت دیگر دیده نمی‌شود (شکل ۵-۱۲).

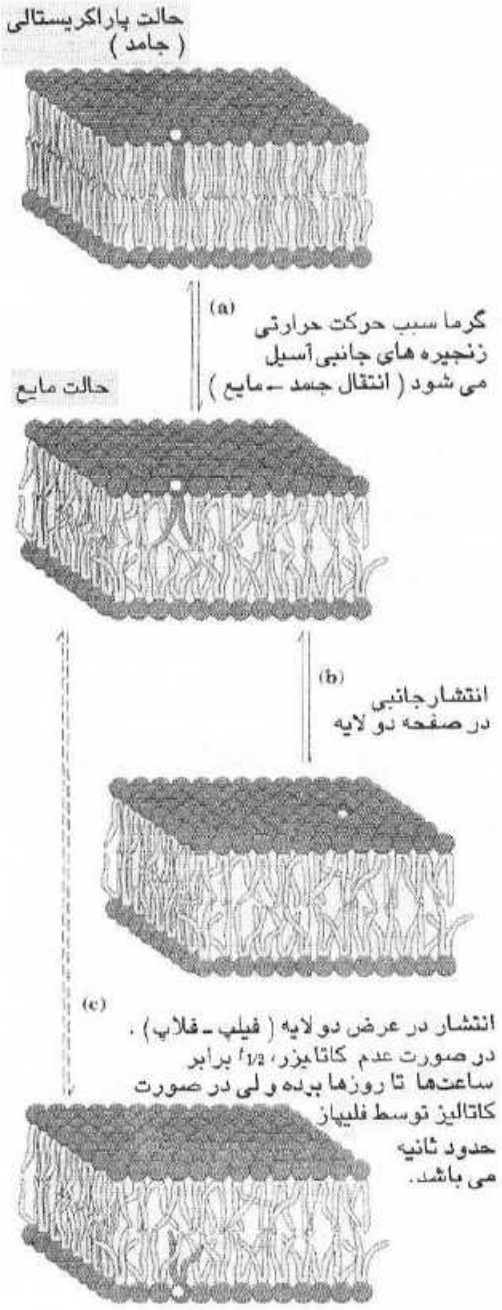
لیپیدهای غشایی در حرکت مداوم هستند

هرچند ساختمان دولایه خودش پایدار می‌باشد، ملکول‌های منفرد فسفولیپید و استرول، آزادی زیادی برای حرکت در داخل صفحه غشاء دارند (شکل ۶-۱۲). قسمت داخلی دولایه مایع می‌باشد؛ زنجیرهای هیدروکربنی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۵-۱۲. انتشار نامتقارن فسفولیپیدها بین تک‌لایه‌های داخلی و خارجی غشاء پلاسمایی گلبول قرمز. انتشار یک فسفولیپید اختصاصی را می‌توان با مجاورت سلول سالم با فسفولیپاز C تعیین نمود که نمی‌تواند به لیپیدهای موجود در تک‌لایه داخلی دسترسی پیدا نماید، ولی گروه‌های سر لیپیدهای موجود در تک‌لایه خارجی را جدا می‌کند. (از معرفهای غیرقابل‌نفوذ در غشاء نیز می‌توان استفاده نمود؛ شکل ۹-۱۲ را ببینید.) نسبت هر گروه سر آزادشده، برآوردی از کسر هر لیپید را در تک‌لایه خارجی فراهم می‌سازد.



شکل ۶-۱۲. حرکت لیپیدهای غشایی. حرکت لیپیدی در داخل یک دولایه شامل **(a)** حرکت حرارتی گروه‌های آسیل چرب در داخل دولایه و **(b)** انتشار جانبی ملکول‌های مجزا در یک سمت دولایه می‌باشد. یک ملکول ساده لیپیدی می‌تواند ظرف یک ثانیه در ۳۷°C از یک انتهای یک سلول *E. coli* به انتهای دیگر انتشار یابد. به علت وجود حرکت حرارتی، این دولایه در بالای یک درجه حرارت مشخص به صورت مایع بوده و وقتی درجه حرارت کاهش می‌یابد، دولایه پاراکریستالی می‌گردد. **(c)** حرکت ملکول‌های مجزا لیپیدی بین دو سمت دولایه (انتشار فلیپ-فلاپ) بسیار آهسته بوده، مگراینکه توسط یک ناقل اختصاصی لیپید، یا فلیپاز، کاتالیز گردد. در صورت عدم کاتالیز، انتشار تصادفی لیپیدهای موجود در یک تک‌لایه بین دولایه، ساعتها طول می‌کشد، ولی در حضور یک فلیپاز تنها نیاز به چند ثانیه زمان دارد.

درحرکت دائمی هستند که بواسطه چرخش حول پیوندهای کربن-کربن زنجیرهای جانبی آسیل بلند ایجاد می‌گردد. شدت سیالیت بستگی به ترکیب لیپیدی و درجه حرارت دارد. در دمای پایین، حرکت لیپیدی نسبتاً کمی وجود داشته و دولایه تقریباً به صورت صفوف کریستالی (پاراکریستالی) دیده می‌شوند. در بالای یک درجه حرارت خاص، لیپیدها می‌توانند حرکت سریعی داشته باشند. این **درجه حرارت انتقالی**[1]، درجه حرارتی که بالاتر از آن، جامد پاراکریستالی به مایع تبدیل می‌شود، برای هر غشاء میزان مشخصی بوده و بستگی به ترکیب لیپیدی آن دارد. اسیدهای چرب اشباع‌شده بخوبی در یک صف پاراکریستالی متراکم شده ولی خمیدگی‌های موجود در اسیدهای چرب غیراشباع (شکل ۱-۱۱ را ببینید) با متراکم‌شدن آن تداخل نموده و مانع تشکیل حالت پاراکریستالی می‌گردد. هرچه نسبت اسیدهای چرب اشباع بیشتر باشد، درجه

1- Transition Temperature

جدول ۲-۱۲. ترکیب اسید چرب سلولهای *E. coli* کشت‌شده در درجه حرارت‌های مختلف

	درصد کل اسیدهای چرب*			
	۱۰°C	۲۰°C	۳۰°C	۴۰°C
اسید میریستیک (۱۴:۰)	۴	۴	۴	۸
اسید پالمیتیک (۱۶:۰)	۱۸	۲۵	۲۹	۴۸
اسید پالمیتواولئیک (۱۶:۱)	۲۶	۲۴	۲۳	۹
اسید اولئیک (۱۸:۱)	۳۸	۳۴	۳۰	۱۲
اسید هیدروکسی‌میریستیک	۱۳	۱۰	۱۰	۸
نسبت اشباع‌نشده به اشباع†	۲/۹	۲/۰	۱/۶	۰/۳۸

* ترکیب دقیق اسید چرب علاوه بر درجه حرارت رشد، به مرحله رشد و ترکیب محیط رشد نیز بستگی دارد.
† بصورت نسبت درصد کل مجموع ۱۶:۱ و ۱۸:۱ به درصد کل مجموع ۱۴:۰ و ۱۶:۰ محاسبه شده است. اسید هیدروکسی‌میریستیک در این محاسبه در نظر گرفته نشده است.

حرارت انتقالی آن بیشتر خواهد بود.

محتوی استرولی یک غشاء، شاخص مهم دیگری در تعیین درجه حرارت انتقالی است. ساختمان صفحه‌ای سخت هسته استروئیدی که در بین زنجیرهای جانبی آسیل چرب قرار می‌گیرند، دو اثر بر روی سیالیت دارند. در پایین درجه حرارت انتقالی، استرول مانع از متراکم‌شدن شدید منظم زنجیرهای آسیل چرب شده و بنابراین سیالیت غشاء را افزایش می‌دهد. در بالای نقطه انتقال حرارتی، این سیستم حلقوی سخت استرولی سبب کاهش آزادی چرخش زنجیرهای آسیل چرب مجاور در اثر چرخش حول پیوندهای کربن-کربن آنها شده و بنابراین سیالیت موجود در مرکز دولایه را کاهش می‌دهد. بنابراین، استرول‌ها تمایل دارند که میزان جامدبودن و مایع‌بودن را تعدیل نمایند.

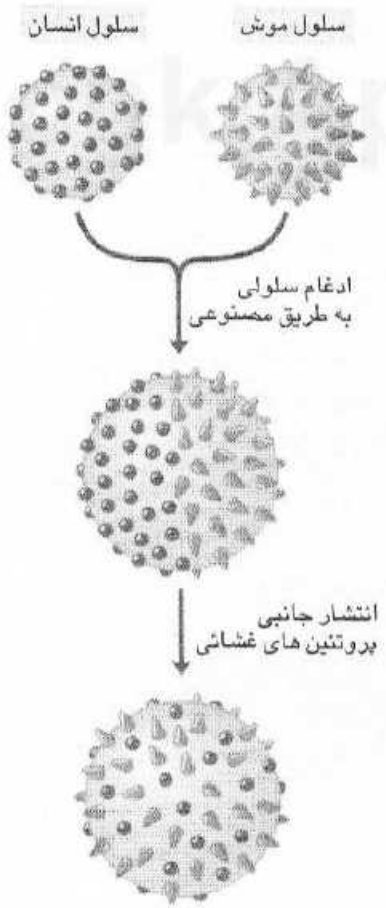
سلول‌ها ترکیب لیپیدی خود را تنظیم می‌کنند تا در شرایط مختلف رشد به سیالیت غشایی ثابتی برسند. برای مثال، وقتی باکتری‌ها در درجه حرارت پایین کشت می‌شوند، در مقایسه با کشت در درجه حرارت بالا، اسیدهای چرب غیراشباع بیشتری و انواع اشباع کمتری سنتز می‌نمایند (جدول ۲-۱۲). در نتیجه این تنظیم در ترکیب لیپیدی، باکتری‌هایی که در درجه حرارتهای بالا یا پایین کشت می‌شوند، دارای سیالیت یکسانی می‌باشند.

نوع دوم حرکت لیپیدی تنها مستلزم تاشدن زنجیرهای آسیل چرب نبوده، بلکه همراه با حرکت کل ملکول لیپیدی در مقایسه با ملکول‌های مجاور خود می‌باشد (شکل ۶b-۱۲). یک ملکول در یک تک‌لایه با یک سمت دولایه لیپیدی (برای مثال، در سمت خارجی غشاء پلاسمایی گلبول قرمز) می‌تواند آنقدر سریع حرکت نماید که ظرف چند ثانیه یکبار دور گلبول نرمز بزند. این انتشار جانبی سریع در داخل صفحه دولایه، سبب می‌گردد که ملکول‌ها طی چند ثانیه موقعیت‌های تصادفی را بدست آورند. مجموع تاشدن زنجیر و انتشار جانبی، ایجاد دولایه غشایی با خصوصیات یک کریستال مایع می‌نماید: شدت بالای نظم در یک بعد (عمود بر دولایه) و حرکت زیاد در بعد دیگر (صفحه دولایه).

نوع سوم حرکت لیپیدی که بسیار کمتر از حرکت کونفورماسیونی و انتشار جانبی ممکن می‌باشد، انتشار درعرض دولایه[1] یا «فلیپ-فلاپ[2]» (تلنگری-سنگین) یک ملکول از یک سمت دولایه به سمت دیگر می‌باشد (شکل ۶c-۱۲). این حرکت نیاز به یک گروه سر قطبی (و احتمالاً باردار) دارد تا محیط آبی خود را ترک نموده و طی یک فرایند همراه با تغییر انرژی آزاد مثبت بزرگ، به داخل قسمت آبگریز دولایه، وارد شود. گاهی این اتفاق شدیداً

1- Transbilayer 2- flip-flop

Book.Apfarsi.ir



شکل ۷-۱۲. نمایش انتشار جانبی پروتئین‌های غشاء. ادغام یک سلول موش با یک سلول انسانی منجر به انتشار تصادفی پروتئین‌های غشایی هر دو سلول می‌گردد. بعد از ادغام، موقعیت هر نوع پروتئین غشایی توسط رنگ‌آمیزی سلول‌ها با آنتی‌بادی‌های اختصاصی گونه، تعیین می‌گردد. آنتی‌بادی‌های ضد موش و ضد انسان با ملکول‌هایی به‌طور اختصاصی نشادار شده‌اند که رنگ‌های فلورسانس متفاوتی را دارند. ظرف چند دقیقه از ادغام سلول‌ها، فلورسانسی که با میکروسکوپ فلورسانس ملاحظه می‌گردد، مخلوط‌شدن این آنتی‌بادی‌های رنگی را در سطح سلول هیبرید نشان می‌دهد که خود مطرح‌کننده انتشار جانبی پروتئین‌های غشایی در سرسر دولایه لیپیدی است.

انرژی‌گیر، لازم می‌باشد؛ برای مثال. در هنگام سنتز غشاء پلاسمایی باکتری می‌بایست فسفولیپیدهای تولیدی در سطح داخلی غشاء پلاسمایی با فرایند انتشار در عرض غشاء، به سمت خارجی دولایه منتقل گردد. انتشار مشابهی نیز می‌بایست در سلول‌های اوکاریوتی در هنگام حرکت لیپیدهای غشایی سنتزشده در یک قسمت به اندامک‌های دیگر، رخ دهد. خانواده‌ای از پروتئین‌ها (فلیپازها[1]) انتشار فلیپ-فلاپ را تسهیل نموده و مسیری را در عرض غشاء ایجاد می‌نمایند که از نظر انرژتیک بسیار مساعدتر از انتشار کاتالیزنشده می‌باشد.

پروتئین‌های غشایی به‌طور جانبی در دولایه انتشار می‌یابند

پروتئین‌های زیادی در غشاء وجود دارند که طوری عمل می‌نمایند که گوئی در دریایی لیپیدی شناور می‌باشند. همانند لیپیدهای غشایی، این پروتئین‌ها برای انتشار جانبی در صفحه دولایه آزاد بوده و حرکت ثابتی دارند؛ این موضوع در آزمایش شکل ۷-۱۲ نشان داده شده است. بعضی از پروتئین‌ها به یکدیگر متصل‌شده و ایجاد تجمعات («تیکه‌های[2]») بزرگی در سطح یک سلول یا اندامک می‌نمایند که در آن ملکول‌های پروتئین نسبت به ملکول دیگری حرکت نمی‌نمایند؛ برای مثال، گیرنده‌های استیل‌کولین (شکل ۳۹-۱۲ را ببینید) ایجاد تیکه‌های متراکمی بر روی غشاءهای پلاسمایی سلول عصبی در سیناپس‌ها می‌نمایند. سایر پروتئین‌های غشایی به ساختمان‌های داخلی لنگر انداخته تا مانع انتشار آزاد آنها گردند. در غشاء گلبول قرمز، هم گلیکوفورین و هم تعویض‌کننده کلراید-بیکربنات (ص. ۴۶۹) به یک پروتئین فیلمانی اسکلت سلولی، بنام اسپکترین، متصل هستند (شکل ۸-۱۲).

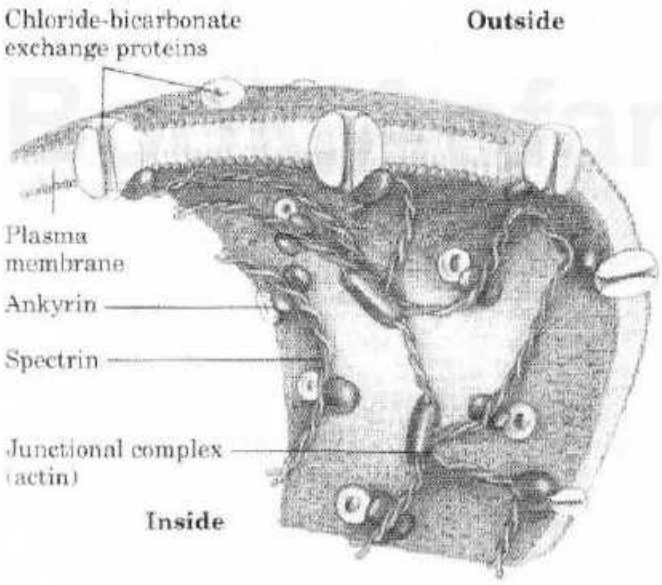
بعضی پروتئین‌های غشایی بر روی دولایه لیپیدی پل می‌زنند

ملکول‌های پروتئینی مجزا و کمپلکس‌های چندپروتئینی غشاءهای بیولوژیک را می‌توان با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و غشاءهای منجمدشده-برش‌داده مشاهده نمود (کادر ۱-۱۲). بعضی از پروتئین‌ها تنها در یک سمت غشاء وجود داشته و اما بقیه پروتئین‌ها بر روی تمامی عرض دولایه پل زده و از هر دو سمت داخلی و خارجی غشاء بیرون می‌زنند. از میان پروتئین‌های اخیر می‌توان به پروتئین‌هایی اشاره نمود که انتقال مواد و پیام‌ها را در عرض غشاء انجام می‌دهند.

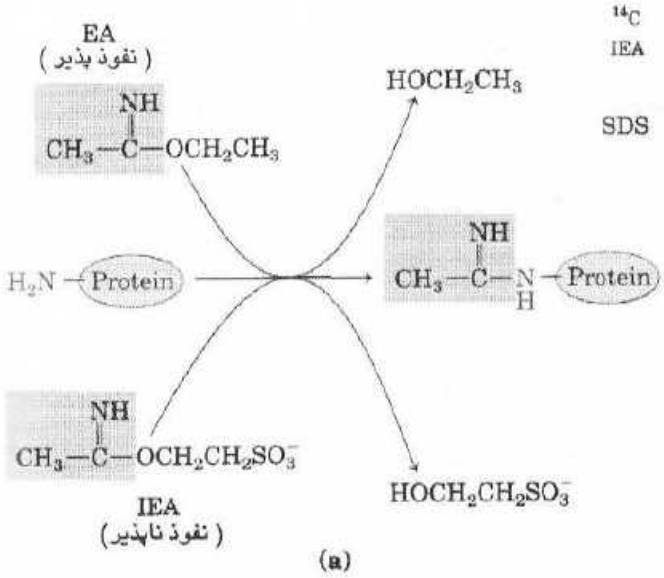
روش دیگر تحقیق پیرامون پروتئین‌ها، استفاده از معرف‌هایی است که با زنجیرهای جانبی پروتئین‌ها واکنش نموده ولی نمی‌توانند از عرض غشاءها عبور نمایند (شکل ۹-۱۲). گلبول قرمز انسان برای چنین مطالعاتی مناسب

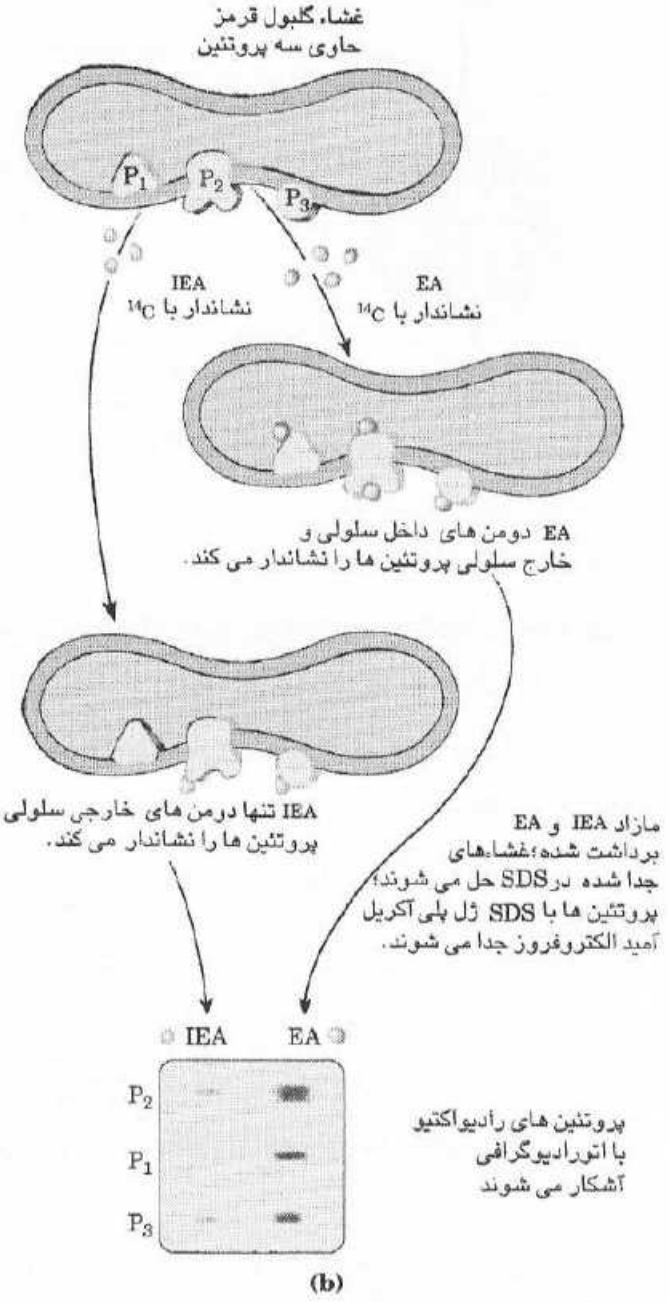
1- Flipases 2- Patches

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۱۲. محدودیت حرکت تعویض‌کننده کلراید-بیکربنات گلبول قرمز. این پروتئین بر روی غشاء پل زده و توسط پروتئین دیگری، یعنی آنکرین، به پروتئین اسپکترین اسکلت‌سلولی متصل بوده که حرکت جانبی این تعویض‌کننده را محدود می‌نماید. آنکرین با ایجاد یک اتصال کووالان به زنجیر جانبی پالمیتیل، در داخل غشاء لنگر می‌اندازد (شکل ۱۳-۱۲). اسپکترین که یک پروتئین طویل فیلمانی می‌باشد، در کمپلکس‌های اتصالی حاوی اکتین، ایجاد اتصال عرضی می‌نماید. شبکه‌ای از ملکول‌های اسپکترین دارای اتصالات عرضی که به سمت سیتوپلاسمی غشاء پلاسمایی متصل است، این غشاء را در برابر تغییر شکل پایدار می‌نماید.



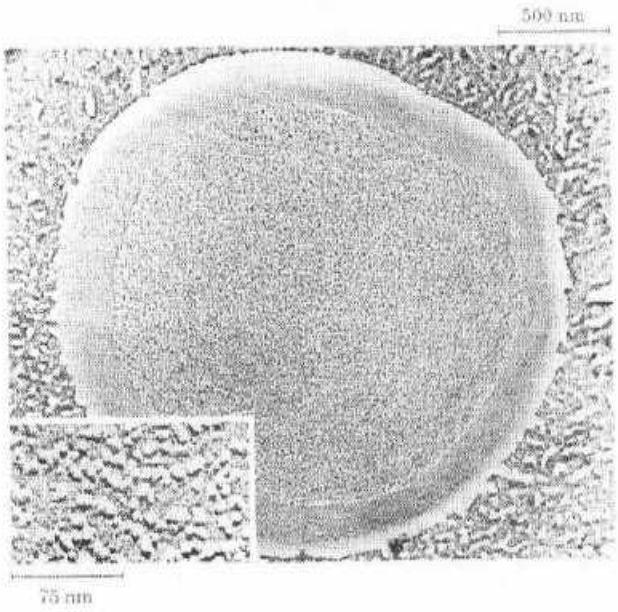


شکل ۹-۱۲. آزمایشاتی برای تعیین آرایش ترانس‌ممبران پروتئین‌های غشایی. (a) هم اتیل‌استیمیدات (EA؛ ethylacetimidate) و هم ایزواتیونیل‌استیمیدات (IEA؛ isoethionylacetimidate) با گروه‌های آمینو آزاد موجود در پروتئین‌ها واکنش می‌نمایند، ولی تنها مشتق اتیلی (EA) آزادانه در میان غشاء انتشار می‌یابد. **(b)** مقایسه الگوهای نشاندارشده بعد از مجاورت گلبول‌های قرمز با این دو معرف، نشان خواهد داد که آیا یک پروتئین تنها از سطح خارجی و یا تنها از سطح داخلی در معرض می‌باشد. پروتئینی (P2) که با هر دو معرف، ولی بیشتر با معرف نفوذکننده (EA)، نشاندار می‌گردد، در هر دو سمت در معرض بوده و بنابراین در عرض غشاء پل می‌زند. پروتئین‌هایی (P1) که توسط معرف غیرنافذ (IEA) نشاندار نمی‌گردد، تنها در سطح داخلی در معرض می‌باشند.

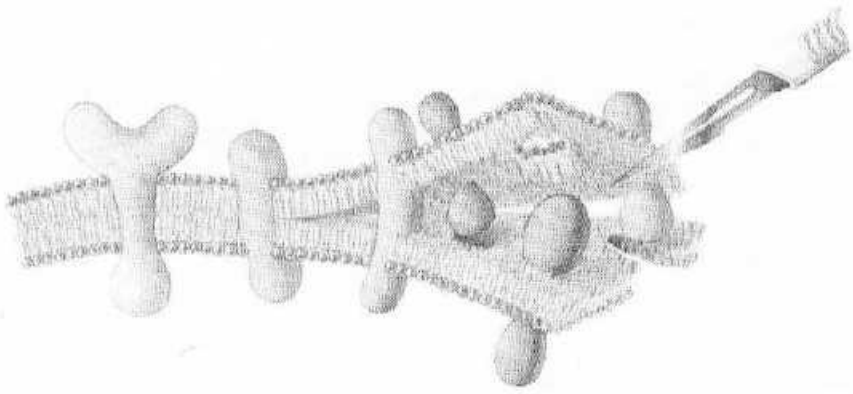
Book.Apfarsi.ir

کادر ۱-۱۲. نگاهی به غشاءها

میکروسکوپ الکترونی همراه با فن‌آوری‌های تهیه و رنگ‌آمیزی بافت‌ها، برای انجام مطالعات بر روی ساختمان غشاءها ضروری بوده‌اند. وقتی برش‌های نازک بافت با تتروکسید اسمیوم (osmium tetroxide) که تفاوت‌های موجود در چگالی الکترونی را نمایان‌تر می‌سازد، رنگ شوند، تصویر **میکروسکوپ الکترونی گذاره** (transmission electron microscopy) یک ساختمان سه‌لایه را نشان می‌دهد (شکل ۱-۱۲ را ببینید). هرچند با این قدرت تفکیک، پروتئین‌های مجزای غشایی آشکار نمی‌گردند. وقتی یک نمونه بافت سریعاً منجمد می‌گردد (برای جلوگیری از تغییرات ناشی از ایجاد کریستال‌های یخ در داخل سلول‌ها) و سپس با یک چاقوی ظریف بریده می‌شود، خطوط برش اغلب در طول سطح یک غشاء یا از مرکز آن عبور نموده و دولایه را به دو تک‌لایه تقسیم می‌نماید (شکل ۱). سطوحی که با این فن‌آوری **انجماد-برش** (freeze - fracture) در معرض قرار می‌گیرند را می‌توان با لایه نازکی از کربن (تبخیرشده از یک الکترود کربنی در خلاء) پوشاند. **میکروسکوپی الکترونی نگاره** (Scanning electron microscopy) این «نسخه» کربنی حاصل، جزئیات سمت داخلی یک تک‌لایه حاصل از تقسیم دولایه را نشان می‌دهد (شکل ۲). انواع مختلفی از ذرات، به ابعاد ملکول‌های پروتئینی واحد یا کمپلکس‌های پروتئینی، از یک زمینه نامشخص (دولایه لیپیدی) بیرون زده‌اند. در بسیاری از غشاءها، این ذرات دارای موقعیت‌های تصادفی هستند، ولی در نواحی خاصی، نظیر غشاء پس‌سیناپسی، این ذرات مجتمع و منظم می‌باشند. در غلاف میلین، ذرات متفرق می‌باشند. در غشاءهای غنی از کمپلکس‌های آنزیمی، برای مثال غشاءهای تیلاکوئید کلروپلاست‌ها، تمام سطح توسط این ذرات پوشیده شده است.



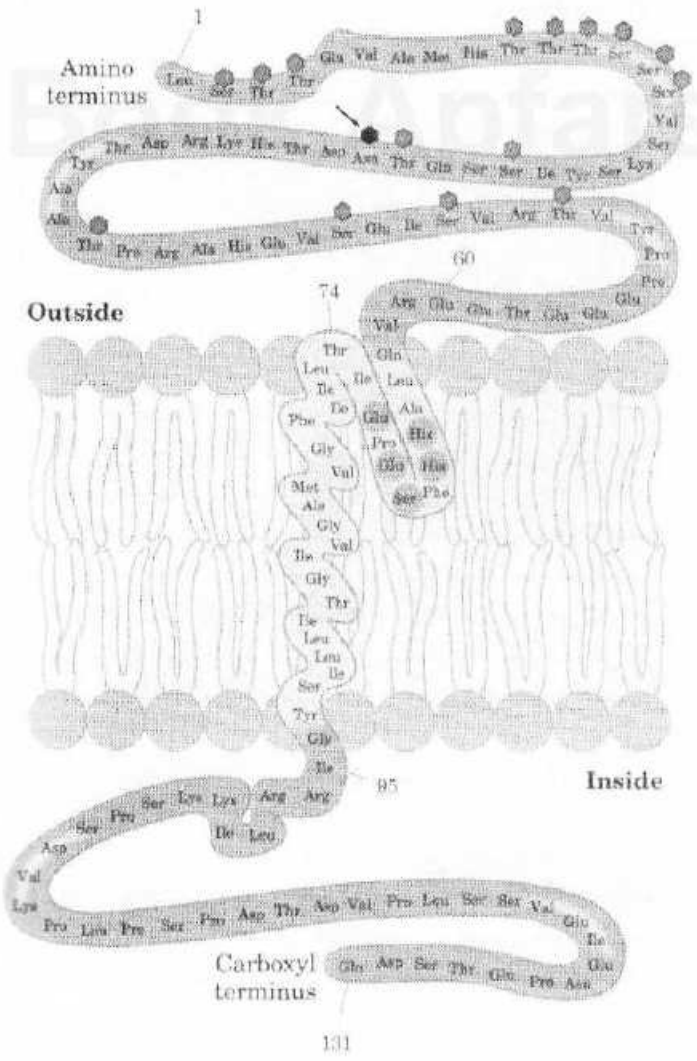
شکل ۲. یک غشاء گلبول قرمز که در آب منجمد شده و یک نسخه کربنی در میکروسکوپ الکترونی. این نسخه پروتئین‌های غشایی داخلی را نشان می‌دهد که دارای اندازه و اشکال مختلفی هستند که با بزرگنمایی بیشتر راحت‌تر دیده می‌شوند (تصویر داخلی).



شکل ۱. تقسیم یک غشاء دولایه توسط فن‌آوری انجماد-برش.

می‌باشد، زیرا فاقد اندامک‌های احاطه‌شده توسط غشاء بوده و غشاء پلاسمایی تنها غشاء موجود در آن می‌باشد؛ در صورتی که یک پروتئین غشایی موجود در یک گلبول قرمز سالم با یک معرف غیرنافذ در غشاء (IEA در شکل ۹-۱۲) واکنش نماید، لازم است دارای حداقل یک دومن در سمت خارجی (خارج‌سلولی) غشاء باشد. پروتئازهایی نظیر تریپسین نمی‌توانند از عرض غشاءها عبور نمایند و معمولاً برای بررسی توپولوژی پروتئین غشایی، یا وضعیت دومن‌های پروتئینی نسبت به دولایه لیپیدی، بکار می‌روند. تریپسین دومن‌های خارج سلولی را

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۰-۱۲. موقعیت گلیکوفورین در عرض دولایه گلبول قرمز. یک دومن آبدوست، حاوی تمامی ریشه‌های قندی، در سطح خارجی و دومن آبدوست دیگر در سمت داخلی غشاء وجود دارد. شش ضلعی‌ها یک تتراساکارید (حاوی دو Neu5Ac (اسید سیالیک)، Gal و GalNAc) را نشان می‌دهند که با پیوند *O*-گلیکوزیدی به ریشه‌های Ser یا Thr متصل می‌باشند؛ یک شش ضلعی (با پیکان مشخص شده)، یک زنجیر اولیگوساکاریدی با پیوند *N*-گلیکوزیدی متصل به یک ریشه Asn را نشان می‌دهد. اندازه نسبی واحدهای اولیگوساکاریدی بزرگتر از اندازه نشان داده شده در اینجا می‌باشد. یک قطعه با ۱۹ ریشه آبگریز (ریشه‌های ۷۵ تا ۹۳) ایجاد یک مارپیچ α نموده که عرض دولایه غشایی را طی می‌نماید (شکل ۱۲-۱۷a را ببینید). قطعه متشکل از ریشه‌های ۶۴ تا ۷۴، دارای چندین ریشه آبگریز بوده و احتمالاً به داخل سطح خارجی دولایه لیپیدی خود می‌نماید.

شکسته ولی بر روی دومن‌های موجود در داخل دولایه و یا موجود در سطح داخلی، اثر نمی‌نماید.

تجاربی نظیر انواع شرح‌داده‌شده در شکل ۹-۱۲، نشان می‌دهند که گلیکوپروتئین گلیکوفورین بار دی غشاء پلاسمایی پل می‌زند. دومن انتهای آمینو این گلیکوپروتئین (حاوی کربوهیدرات) در سطح خارجی بوده، و می‌تواند توسط تریپسین شکسته شود. انتهای کربوکسیل به سمت داخل سلول برآمدگی دارد. هر دو دومن انتهای آمینو و انتهای کربوکسیل حاوی ریشه‌های متعدد قطبی یا باردار بوده و بنابراین کاملاً آبدوست هستند. هرچند، قطعه طویلی در مرکز این پروتئین اساساً از ریشه‌های اسید آمینه آبگریز تشکیل شده است. این یافته‌ها مطرح می‌نمایند که گلیکوفورین دارای یک قطعه ترانس‌ممبران می‌باشد که به‌صورت نشان داده شده در شکل ۱۰-۱۲، آرایش یافته است.

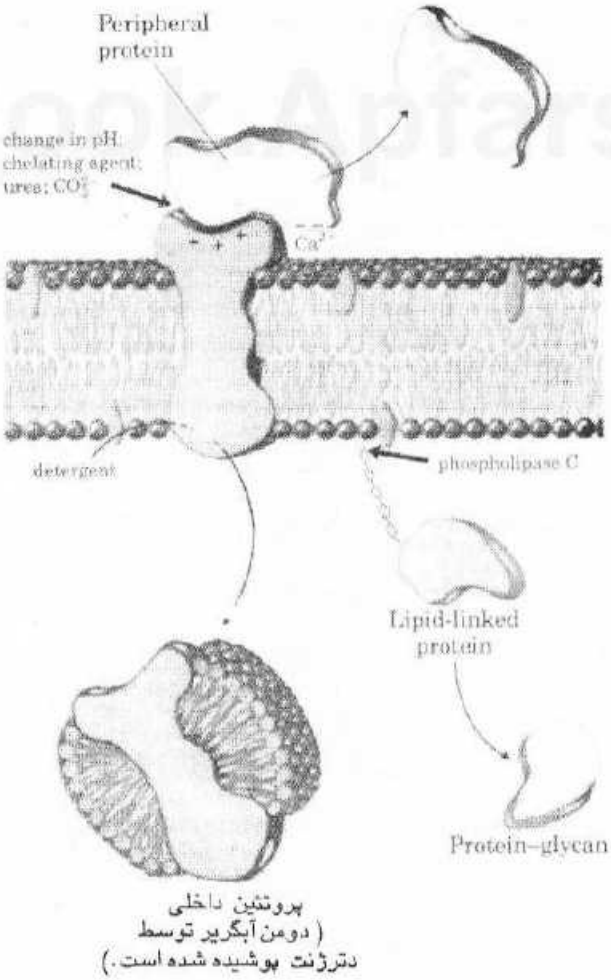
واقعیت دیگری را می‌توان از نتایج حاصل از آزمایشات انجام‌شده بر روی گلیکوفورین دریافت: موقعیت این پروتئین در داخل غشاء به صورت نامتقارن می‌باشد. مطالعات مشابه انجام‌شده بر روی پروتئین‌های غشایی دیگر، نشان می‌دهد که هر کدام از پروتئین‌ها دارای یک جهت‌گیری مشخص در دولایه بوده و جهت پروتئین‌ها بوسیله انتشار فلیپ-فلاپ بسیار آهسته تغییر نموده و یا اصلاً تغییر نمی‌نماید. به علاوه، گلیکوپروتئین‌های غشاء پلاسمایی همیشه طوری قرار می‌گیرند که ریشه‌های قندی آنها در سطح خارجی سلول باشد. همانطور که خواهیم دید، آرایش نامتقارن پروتئین‌های غشایی منجر به عدم تقارن عملکردی می‌گردد. برای مثال، تمامی ملکول‌های یک پمپ یونی خاص، دارای جهت یکسان در غشاء بوده و بنابراین در یک جهت پمپ می‌نمایند.

پروتئین‌های محیطی غشاء براحتی محلول می‌شوند

پروتئین‌های غشایی را می‌توان به دو گروه کاری تقسیم نمود (شکل ۱۱-۱۲). پروتئین‌های **اینتگرال یا داخلی**[1]

1- Integral (Intrinsic)

Book.Apfarsi.ir



پروتئین داخلی (دومن آبگریز توسط دترژنت پوشیده شده است.)

شکل ۱۱-۱۲. پروتئین‌های محیطی و داخلی. پروتئین‌های غشایی را می‌توان از نظر عملکرد، یا استفاده از شرایط مورد نیاز برای رهاسازی آنها از غشاء، تمایز داد. بیشتر پروتئین‌های محیطی را می‌توان با ایجاد تغییر در pH یا قدرت یونی، برداشت Ca^{2+} توسط یک عامل شلاته‌کننده، یا با افزودن اوره یا کربنات، آزاد نمود. پروتئین‌های غشایی که توسط پیوندهای کووالان به یک لیپید غشایی اتصال دارند، نظیر گلیکوزیل فسفاتیدیل‌اینوزیتول (شکل ۱۳-۱۲ را ببینید)، را می‌توان با استفاده از فسفولیپاز C آزاد نمود. پروتئین‌های داخلی را با دترژنت‌هایی می‌توان استخراج کرد که واکنش‌های متقابل با دولایه لیپیدی را از بین برده و در اطراف هر پروتئین ایجاد دسته‌های میسل-مانند می‌نمایند

ارتباط بسیار محکمی با غشاء داشته و تنها توسط عواملی، نظیر دترژنت‌ها، حلال‌های آلی و یا عوامل دناتوره‌کننده‌ای جدا می‌گردند که در واکنش‌های متقابل آبگریز ایجاد اختلال می‌نمایند. پروتئین‌های **محیطی**[1] یا **خارجی** از طریق واکنش‌های متقابل الکترواستاتیک و پیوندهای هیدروژنی به دومن‌های آبدوست پروتئین‌های داخلی و گروه‌های سر قطبی لیپیدهای غشایی، به غشاء متصل می‌باشند. این پروتئین‌ها در اثر تماس نسبتاً ملایم با عوامل مداخله‌کننده با واکنش‌های الکترواستاتیک و یا عوامل از بین‌برنده پیوندهای هیدروژنی، آزاد می‌گردند. پروتئین‌های محیطی ممکن است به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های آنزیم‌های متصل به غشاء عمل نموده و یا ممکن است حرکت پروتئین‌های داخلی را با اتصال آنها به ساختمان‌های داخل‌سلولی، محدود نمایند.

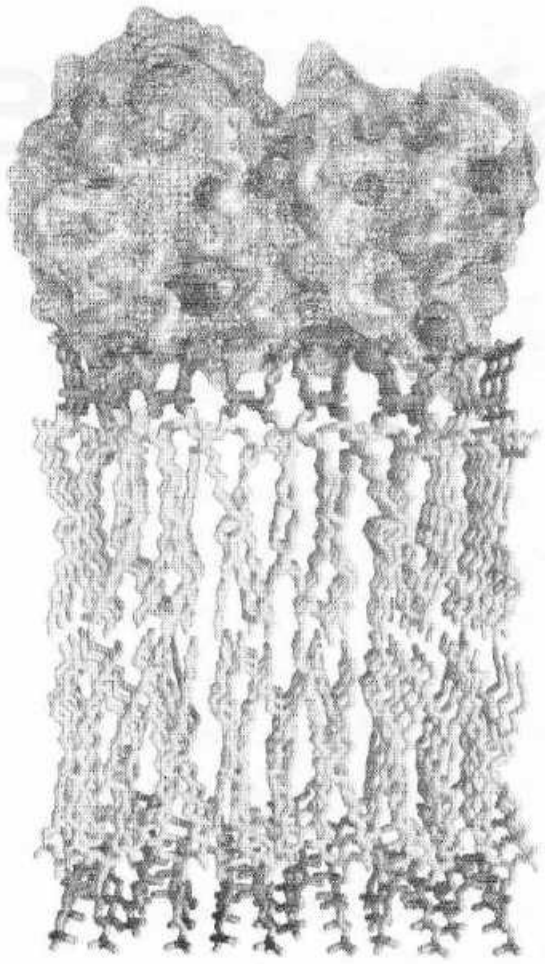
برای مثال، آنکسین‌ها[2]، خانواده‌ای از پروتئین‌های محیطی هستند که به‌طور برگشت‌پذیر به فسفولیپیدهای اسیدی غشاء، نظیر انواعی که در سطح سیتوزولی (داخلی) غشاءهای پلاسمایی و سمت سیتوزولی (خارجی) اندامک‌ها فراوان هستند، اتصال می‌یابند. یون‌های Ca^{2+} که به‌طور همزمان با گروه‌های با بار منفی موجود در آنکسین و گروه سر با بار منفی یک فسفولیپید واکنش می‌نمایند، برای واکنش متقابل آنکسین-غشاء ضروری هستند (شکل ۱۲-۱۲). نقش‌های متعددی برای آنکسین‌ها در تجمع وزیکولی، ادغام غشایی و واکنش‌های متقابل بین غشاءها و عناصر اسکلت‌سلولی، مطرح شده است. تعدادی از پروتئین‌های دیگر که در حد فاصل محلول آبی و غشاء عمل می‌نمایند (برای مثال، پروتئین‌های انعقاد خون) نیز احتمالاً با استفاده از یک مکانیسم مشابه، به‌طور برگشت‌پذیر و وابسته به Ca^{2+}، به غشاء اتصال می‌یابند.

بعضی از پروتئین‌های محیطی به لیپیدهای دارای اتصال کووالان، متصل می‌باشند

بعضی از پروتئین‌های غشایی از طریق یک یا چند پیوند کووالان به انوع مختلفی از لیپیدهای غشایی، نظیر

1- Periferal (Extrinsic) 2- Annexins

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۱۲ [شکل ۳۳ ضمیمه رنگی]. ساختمان فرضی آنکسین V همراه با گروه‌های سر لیپیدی یک غشاء. در این شکل، اسکلت پروتئینی آنکسین V (بدست‌آمده از مطالعات کریستالوگرافیک)، به شکل یک تصویر سطحی شفاف ملاحظه می‌گردد. غشایی که در اینجا به‌عنوان مدل مورد استفاده قرار گرفته است، تماماً از فسفوکولین تشکیل شده و قسمت فسفوکولینی آن با رنگ آبی، گروه‌های فسفات برنگ قرمز و دم‌های اسید چرب‌برنگ زرد، نمایش داده شده‌اند. پل‌های حاصل از یون‌های Ca^{2+} ارغوانی می‌باشند. واکنش‌های متقابل الکترواستاتیک، آنکسین را در غشاء نگه می‌دارد.

اسیدهای چرب زنجیر بلند، ایزوپرنوئیدها، یا مشتقات گلیکوزیله فسفاتیدیل‌اینوزیتول[1] یا GPI، اتصال می‌یابند (شکل ۱۳-۱۲). لیپید اتصال‌یافته یک لنگر آبگریز ایجاد نموده که به داخل دولایه لیپیدی رفته و پروتئین را در سطح غشاء نگه می‌دارد. قدرت واکنش متقابل آبگریز بین یک دولایه و یک زنجیر هیدروکربنی متصل به یک پروتئین، بزحمت برای لنگراندازی محکم پروتئین کافی است. احتمالاً سایر واکنش‌های متقابل، نظیر واکنش‌های متقابل بین ریشه‌های Lys با بار مثبت در پروتئین و گروه‌های سر لیپیدی با بار منفی، این اتصال را پایدار می‌نمایند. اتصال این پروتئین‌های غشایی متصل به لیپید مطمئناً از اتصالات مربوط به پروتئین‌های داخلی غشاء ضعیف‌تر بوده و حداقل در بعضی موارد، برگشت‌پذیر می‌باشد.

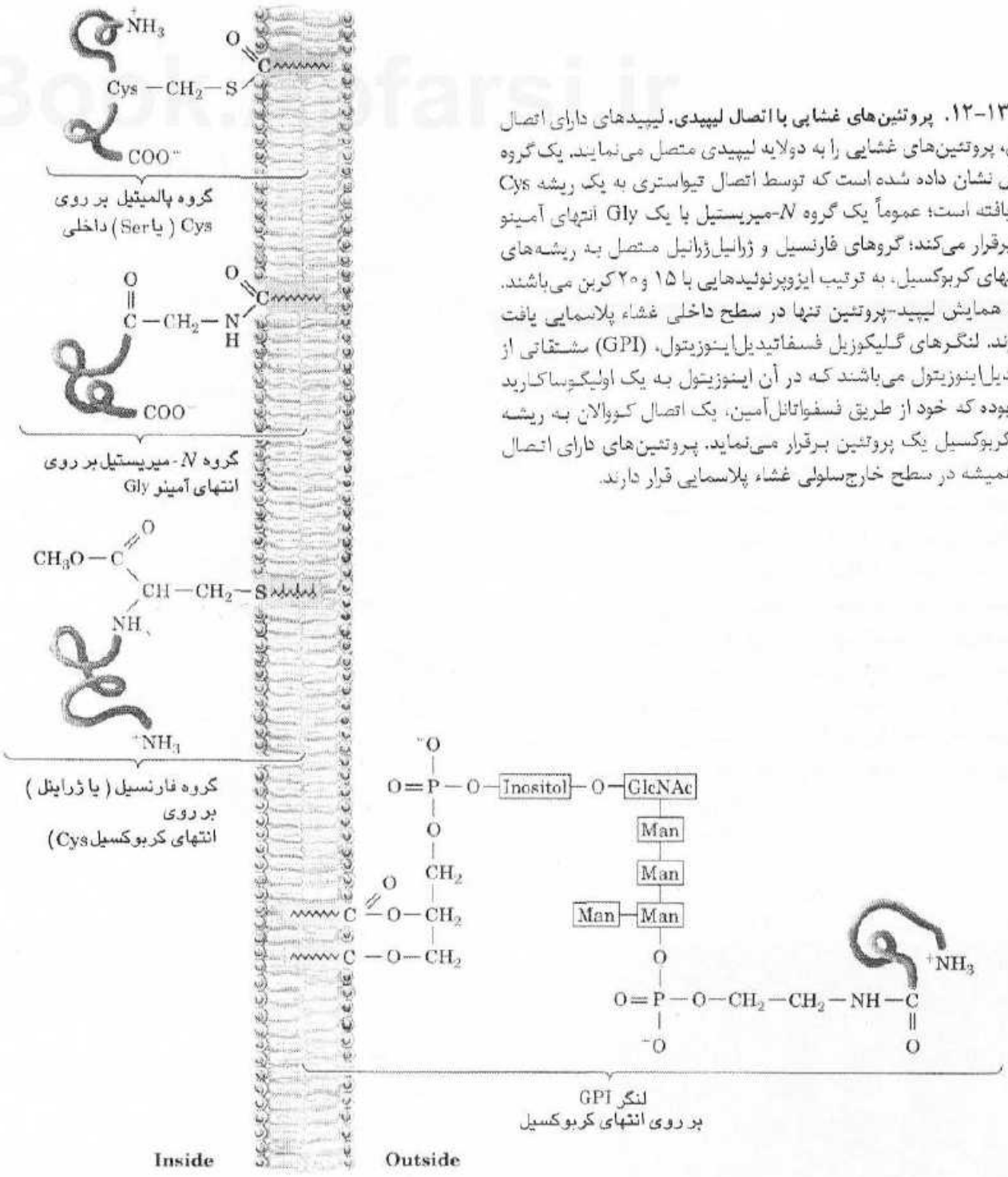
جدا از اتصال یک پروتئین به غشاء، لیپیدهای اتصال‌یافته ممکن است یک نقش اختصاصی‌تری داشته باشند. در غشاء پلاسمایی، پروتئین‌های دارای لنگر GPI، منحصراً در سمت خارجی (خارج‌سلولی) بوده، در حالی که سایر انواع پروتئین‌های متصل به لیپید (شکل ۱۳-۱۲) منحصراً در سمت داخلی (سیتوزولی) یافت می‌شوند. در سلول‌های اپی‌تلیال، پروتئین‌های غشایی دارای اتصال GPI، در سطح رأسی (سطحی که به طرف محیط خارجی یا حفره داخلی است)، در مقایسه با سطح قاعده‌ای، بسیار بیشتر می‌باشند. ازاینرو ممکن است اتصال یک لیپید اختصاصی به یک پروتئین غشایی، در هدفدارنمودن آن پروتئین نقش داشته و پروتئین تازه سنتزشده را به موقعیت غشایی صحیح هدایت نماید. همبستگی پروتئین‌های دارای اتصال لیپیدی با غشاء، ممکن است بواسطه گیرنده‌های غشایی اختصاصی به انجام برسد.

پروتئین‌های داخلی با ایجاد واکنش‌های متقابل آبگریز با لیپیدها، در داخل غشاء نگه داشته می‌شوند

اتصال محکم پروتئین‌های داخلی به غشاءها، نتیجه واکنش‌های متقابل آبگریز بین لیپیدهای غشایی و دومن‌های آبگریز پروتئین می‌باشد. بعضی از پروتئین‌ها دارای یک توالی آبگریز در قسمت میانی (برای مثال،

1- Glycated derivatives of *ph*osphatidyl*i*nositol

Book.Apfarsi.ir



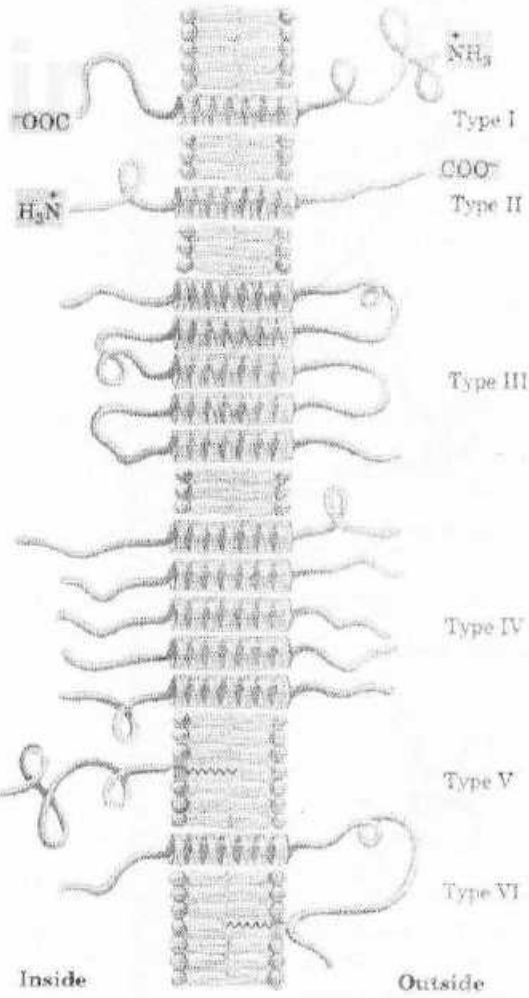
شکل ۱۳-۱۲. پروتئین‌های غشایی با اتصال لیپیدی. لیپیدهای دارای اتصال کووالان، پروتئین‌های غشایی را به دولایه لیپیدی متصل می‌نمایند. یک گروه پالمیتیل نشان داده شده است که توسط اتصال تیواستری به یک ریشه Cys اتصال یافته است؛ عموماً یک گروه *N*-میریستیل با یک Gly انتهای آمینو اتصال برقرار می‌کند؛ گروه‌های فارنسیل و ژرانیل‌ژرانیل متصل به ریشه‌های Cys انتهای کربوکسیل، به ترتیب ایزوپرنوئیدهایی با ۱۵ و ۲۰ کربن می‌باشند. این سه همایش لیپید-پروتئین تنها در سطح داخلی غشاء پلاسمایی یافت می‌شوند. لنگرهای گلیکوزیل فسفاتیدیل‌اینوزیتول (GPI) مشتقاتی از فسفاتیدیل‌اینوزیتول می‌باشند که در آن اینوزیتول به یک اولیگوساکارید متصل بوده که خود از طریق فسفواتانل‌آمین، یک اتصال کووالان به ریشه انتهای کربوکسیل یک پروتئین برقرار می‌نماید. پروتئین‌های دارای اتصال GPI، همیشه در سطح خارج‌سلولی غشاء پلاسمایی قرار دارند.

گلیکوفورین) یا در انتهای آمینو یا کربوکسیل می‌باشند. سایر پروتئین‌ها دارای توالی‌های آبگریز متعددی هستند که هر کدام از آنها در حالت مارپیچ α به اندازه کافی بلند می‌باشند که بر روی دولایه لیپیدی پل بزنند (شکل ۱۴-۱۲). از همان فن‌آوری‌های مورد استفاده برای تعیین ساختمان‌های سه‌بعدی بسیاری از پروتئین‌های محلول، اساساً می‌توان برای پروتئین‌های غشایی استفاده نمود. هرچند، فن‌آوری‌های مفید برای کریستالی‌نمودن پروتئین‌های غشایی اخیراً ابداع شده‌اند و تاکنون تعداد نسبتاً کمی از ساختمان‌های پروتئین غشایی، کریستالوگرافی شده‌اند.

یکی از پروتئین‌های پل‌زننده در عرض غشاء که بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته است، باکتریورودوپسین می‌باشد که دارای هفت توالی بسیار آبگریز داخلی بوده و اتصالات عرضی متعددی را با دولایه لیپیدی برقرار می‌نماید. باکتریورودوپسین یک پمپ پروتونی وابسته به نور می‌باشد که به صورت صفوف منظمی در غشاء

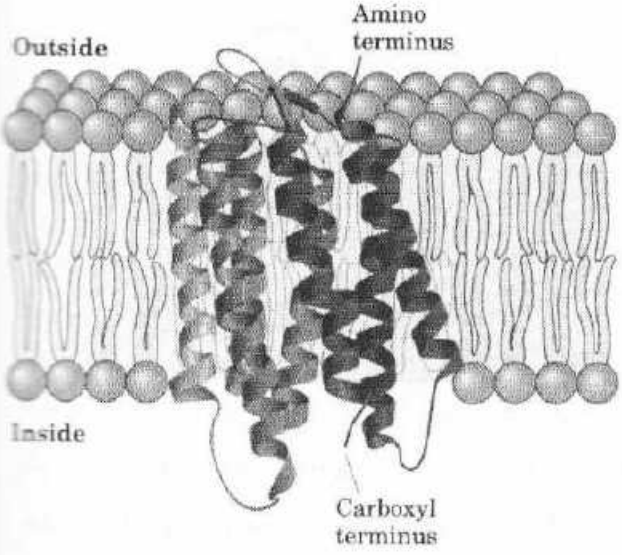
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۴-۱۲. پروتئین‌های داخل غشایی. در مورد پروتئین‌های شناخته‌شده غشاء پلاسمایی، ارتباطات فضایی دومن‌های پروتئینی با دولایه لیپیدی در شش دسته قرار می‌گیرد. انواع I و II تنها دارای یک مارپیچ ترانس‌ممبران می‌باشند؛ دومن انتهای آمینو در نوع I در خارج و در نوع II در داخل قرار می‌گیرد. پروتئین‌های نوع III دارای مارپیچ‌های ترانس‌ممبران متعدد در یک پلی‌پپتید می‌باشند. در نوع IV دومن‌های ترانس‌ممبران متعددی وجود داشته که حاصل همایش پلی‌پپتیدهای مختلف هستند و در میان غشاء ایجاد یک کانال می‌نمایند. پروتئین‌های نوع V، اساساً با ایجاد پیوندهای کووالان با لیپیدها، به دولایه متصل می‌شوند (شکل ۱۳-۱۲) و پروتئین‌های VI دارای هم مارپیچ‌های ترانس‌ممبران و هم لنگرهای (GPI) غشایی هستند.

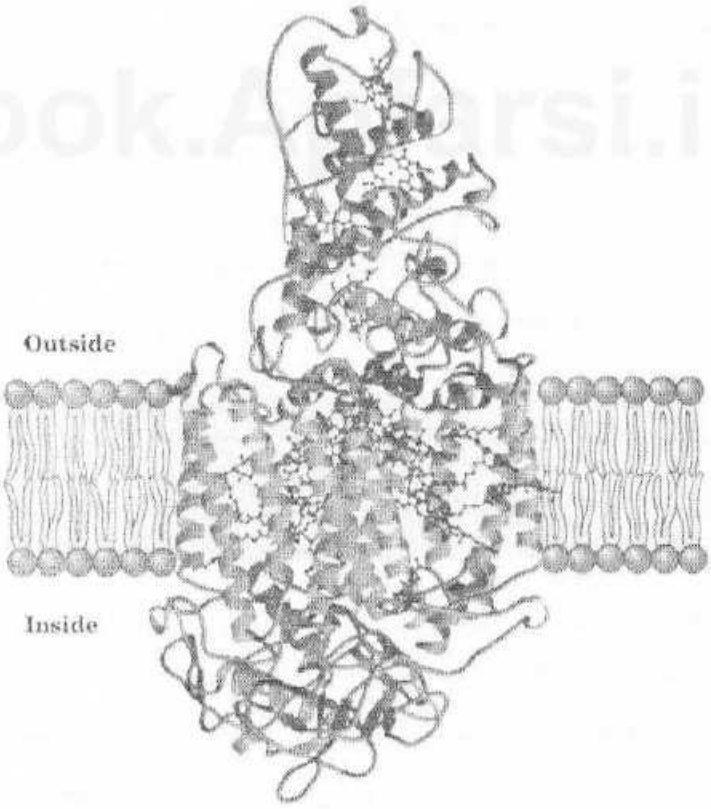
در این شکل، و در سایر شکلهای موجود در سراسر این کتاب، قطعات پروتئینی ترانس‌ممبران به شکل محتمل‌ترین کونفورماسیون‌ها نمایش داده می‌شوند: به‌صورت مارپیچ‌های α دارای شش تا هفت پیچ. گاهی این مارپیچ‌ها به‌طور ساده به شکل استوانه نشان داده می‌شوند. از آنجایی که تعداد کمی از ساختمان‌های پروتئین غشایی با کریستالوگرافی اشعه-x مشخص شده است، اشکال حاضر دومن‌های خارج غشایی فرضی بوده و لزوماً مطابق با مقیاس نبوده، مگر اینکه طور دیگر ذکر شود.



شکل ۱۵-۱۲. باکتریورودوپسین، یک پروتئین پل‌زننده بر روی غشاء. این تک زنجیر پلی‌پپتیدی به هفت مارپیچ α آبگریز تا می‌گردد که هر کدام از آنها تقریباً به شکل عمود بر غشاء، عرض دولایه لیپیدی را طی می‌کنند. این هفت مارپیچ ترانس‌ممبران مجتمع بوده و فضای موجود در اطراف و بین آنها توسط زنجیرهای آسیل لیپیدهای غشایی پر می‌گردد. این رنگدانه جذب‌کننده نور (شکل ۱۹-۱۱ را ببینید) در عمق غشاء مدفون بوده و در تماس با چندین قطعه مارپیچی (نشان داده نشده است) است.

ارغوانی باکتری *Halobacterium halobium* متراکم شده است. وقتی این صفوف با استفاده از میکروسکوپ الکترونی در زوایای مختلف مشاهده می‌گردند، تصاویر حاصل، بازسازی ساختمان سه‌بعدی ملکول باکترورودوپسین را ممکن می‌سازد. بکارگیری کریستالوگرافی اشعه-x ساختمانی را نشان می‌دهد که از نظر تمامی خصوصیات اصلی مشابه می‌باشد (شکل ۱۵-۱۲). هفت قطعه مارپیچ α که هر کدام عرض غشاء را طی می‌نمایند،

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۱۲. ساختمان سه‌بعدی مرکز واکنش فتوسنتتیک *Rhodopseudomonas viridis* یک باکتری ارغوانی. این اولین پروتئین داخل غشایی است که ساختمان اتمی آن با روشهای انکسار اشعه-x مشخص شده است. یازده قطعه مارپیچ α از سه مورد از چهار زیرواحد آن، بر روی دولایه لیپیدی پل زده و استوانه‌ای به طول (۴/۵ nm) ۴۵ Å ایجاد می‌نماید؛ ریشه‌های آبگریز موجود در قسمت خارجی این استوانه با لیپیدهای دولایه ایجاد واکنش متقابل می‌کنند.

توسط قوس‌های غیرمارپیچی در سمت داخلی و خارجی غشاء به یکدیگر متصل شده‌اند. در توالی اسید آمینه‌ای باکتریورودوپسین، هفت قطعه متشکل از ۲۰ ریشه آبگریز را می‌توان شناسایی نمود که هر قطعه به اندازه کافی بزرگ است که ایجاد یک مارپیچ α طی‌کننده عرض غشاء می‌نماید. واکنش‌های متقابل آبگریز بین اسیدهای آمینه غیرقطبی و گروه‌های آسیل چرب لیپیدهای غشایی، پروتئین را به‌طور محکم به غشاء متصل می‌نماید. این هفت مارپیچ به صورت مجتمع و تقریباً به صورت عمود بر صفحه دولایه بوده و مسیری را در عرض غشاء برای عبور پروتون فراهم می‌آورد. همانطور که در فصل ۱۳ خواهیم دید، این الگوی متشکل از هفت مارپیچ آبگریز طی‌کننده عرض غشاء، یک موتیف[1] مشترک در پروتئین‌های غشایی است که در دریافت پیام شرکت دارند.

مرکز واکنش فتوسنتیتک از یک باکتری ارغوانی، اولین ساختمان پروتئینی غشاء است که توسط کریستالوگرافی مشخص شده است. هرچند این پروتئین یک پروتئین غشایی پیچیده‌تر از باکتریورودوپسین می‌باشد، بر اساس همان اصول ساختمانی ساخته شده است. این مرکز واکنش، دارای چهار زیرواحد پروتئینی است که سه زیرواحد آن دارای قطعات مارپیچی α می‌باشند و بر روی غشاء پل می‌زنند (شکل ۱۶-۱۲). این قطعات، غنی از اسیدهای آمینه غیرقطبی بوده و زنجیرهای جانبی آبگریز آنها به سمت خارج ملکول قرار داشته و در آنجا با لیپیدهای غشایی واکنش متقابل می‌نمایند. بنابراین، معماری این پروتئین مرکز واکنش، عکس معماری اکثر پروتئین‌های محلول در آب می‌باشد که در آنها ریشه‌های آبگریز در داخل پروتئین مدفون بوده و ریشه‌های آبدوست در سطح قرار دارند (برای مثال ساختمان میوگلوبین و هموگلوبین را در نظر بگیرید). در فصل ۱۹ با پروتئین‌های پیچیده غشایی متعددی برخورد خواهیم نمود که قطعات مارپیچی ترانس‌مبران متعددی دارند و زنجیرهای آبگریز موجود در این قطعات طوری قرار گرفته‌اند که با دولایه لیپیدی واکنش می‌نمایند.

1- Motif

Book.Apfarsi.ir

توپولوژی یک غشاء داخلی را گاهی می‌توان از توالی آن پیش‌بینی نمود

تعیین ساختمان سه‌بعدی یک پروتئین غشایی یا توپولوژی آن، عموماً بسیار سخت‌تر از تعیین توالی اسید آمینه‌ای آن می‌باشد که می‌توان آن را از تعیین توالی پروتئین یا ژن آن بدست آورد. برای پروتئین‌های غشایی، بیش از یک هزار توالی، ولی تعداد نسبتاً کمی ساختمان سه‌بعدی، شناخته شده است. وجود توالی‌های آبگریز در پروتئین غشایی معمولاً به‌عنوان نشانه‌ای از وجود این توالی‌ها در عرض دولایه در نظر گرفته شده که به‌عنوان لنگرهای آبگریز عمل نموده و یا ایجاد کانال‌های ترانس‌ممبران می‌کنند.

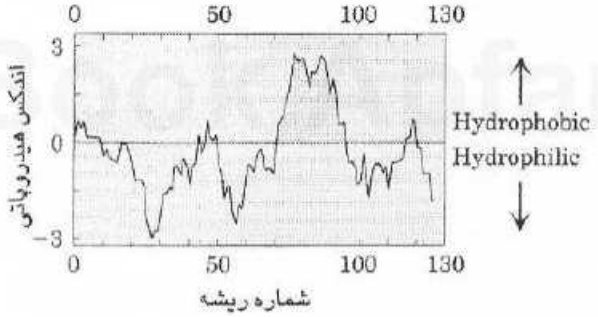
چه چیزی را می‌توان در مورد ساختمان دوم قسمت‌های پل‌زننده بر روی غشاء پروتئین‌های داخلی پیش‌بینی کنیم؟ یک توالی مارپیچی α با ۲۰ تا ۲۵ ریشه به اندازه کافی بلند می‌باشد که بتواند ضخامت (۳۰ Å) دولایه لیپیدی را طی نماید (همانطور که قبلاً اشاره گردید، طول یک ریشه اسید آمینه در یک مارپیچ α برابر ۱/۵ Å یا ۰/۱۵ nm می‌باشد.) زنجیر پلی‌پپتیدی که توسط لیپیدها احاطه شده است، فاقد ملکول‌های آب برای ایجاد پیوندهای هیدروژنی بوده و بنابراین تمایل به ایجاد مارپیچ‌های α یا صفحات β دارد که در آنها پیوندهای هیدروژنی داخل زنجیری به حداکثر می‌رسد. درصورتیکه زنجیرهای جانبی تمامی اسیدهای آمینه موجود در یک مارپیچ غیرقطبی باشند، واکنش‌های متقابل آبگریز آنها با لیپیدهای اطراف، سبب پایداری بیشتر مارپیچ می‌گردد.

روشهای ساده متعدد تجزیه توالی‌های اسید آمینه‌ای پروتئین‌ها، پیش‌بینی‌های منطقی صحیحی را از ساختمان دوم پروتئین‌های ترانس‌ممبران بدست می‌دهد. قطبیت نسبی هر اسید آمینه به‌طور تجربی با اندازه‌گیری تغییر انرژی آزاد ناشی از حرکت زنجیر جانبی آن اسید آمینه از یک حلال آبگریز به داخل آب، تعیین شده است. این تغییر انرژی انتقال، از مقادیر بسیار انرژی‌زا در مورد ریشه‌های باردار یا قطبی تا بسیار انرژی‌خواه برای اسیدهای آمینه دارای زنجیرهای جانبی هیدروکربنی آلیفاتیک یا آروماتیک، متفاوت می‌باشد. میزان آبگریزی کلی یک توالی اسید آمینه، براساس جمع انرژی‌های آزاد انتقال برای ریشه‌های موجود در آن توالی برآورد شده که یک **اندکس هیدروپاتی**[1] برای آن ناحیه بدست می‌دهد (جدول ۱-۵ را ببینید). برای جستجوی قطعات دارای پتانسیل پل‌زدن بر روی غشاء در یک توالی پپتیدی، اندکس هیدروپاتی قطعات متوالی (بنام پنجره‌ها[2]) با یک اندازه خاص محاسبه می‌گردد که ممکن است از ۷ تا ۲۰ ریشه باشد. برای مثال، در مورد یک پنجره با ۷ ریشه، اندکس‌های مربوط به ریشه‌های ۱ تا ۷، ۲ تا ۸، ۳ تا ۹ و غیره، همانند شکل ۱۷-۱۲ به صورت نمودار تهیه می‌گردد (تهیه نمودار برای ریشه میانی در هر پنجره، برای مثال، ریشه ۴ برای پنجره ۱ تا ۷). ناحیه‌ای با بیش از ۲۰ ریشه با اندکس هیدروپاتی بالا، به‌عنوان یک قطعه ترانس‌ممبران در نظر گرفته می‌شود. وقتی توالی‌های پروتئین‌های غشایی دارای ساختمان سه‌بعدی شناخته‌شده به این طریق بررسی می‌گردد، یک ارتباط منطقی مناسب بین قطعات پل‌زننده بر غشاء پیش‌بینی‌شده و شناخته‌شده بدست می‌آید. بررسی هیدروپاتی گلیکوفورین، یک مارپیچ آبگریز را برای آن پیش‌بینی می‌نماید (شکل ۱۷a-۱۲) و این میزان برای باکتریورودوپسین هفت قطعه ترانس‌ممبران می‌باشد (شکل ۷b-۱۲)؛ این پیش‌بینی‌ها موافق با مطالعات تجربی هستند.

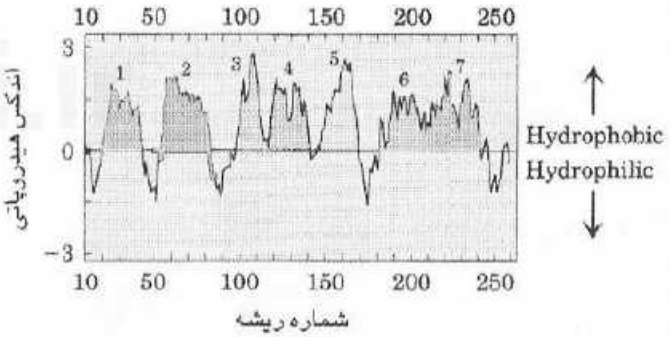
براساس توالی‌های اسید آمینه‌ای و نمودارهای هیدروپاتی، معتقدند که بسیاری از پروتئین‌های انتقالی که در این فصل شرح داده می‌شوند، دارای نواحی‌های متعدد مارپیچی پل‌زننده بر روی غشاء هستند؛ بعبارتی دیگر، این پروتئین‌ها از انواع III و IV پروتئین‌های داخلی می‌باشند (شکل ۱۴-۱۲). وقتی پیش‌بینی‌ها موافق با مطالعات

1- Hydropathy index 2- Windows

Book.Apfarsi.ir

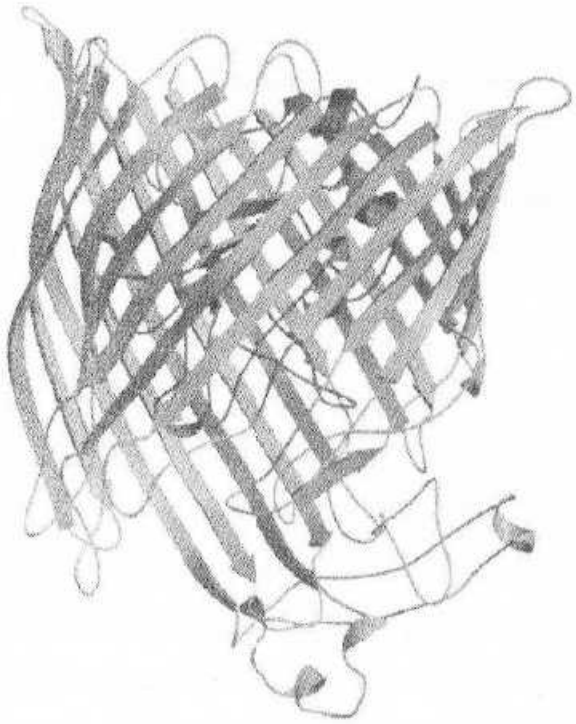


Glycophcrin
(a)



Bacteriorhodopsin
(b)

شکل ۱۷-۱۲. نمودارهای هیدروپاتی. نمودار اندکس هیدروپاتی (جدول ۱-۵ را ببینید) در برابر شماره ریشه دو پروتئین داخل غشایی رسم شده است. اندکس هیدروپاتی هر ریشه اسید آمینه در یک توالی با طول مشخص (پنجره) برای محاسبه میانگین هیدروپاتی ریشه‌های موجود در آن پنجره مورد استفاده قرار می‌گیرند. محور افقی، شماره ریشه میانی پنجره را نشان می‌دهد. **(a)** گلیکوفورین گلبول‌های قرمز انسان دارای یک توالی آبگریز بین ریشه‌های ۷۵ و ۹۳ می‌باشد؛ با شکل ۱۲-۱۰ مقایسه نمایید. **(b)** باکتریوردوپسین که در مطالعات مستقل فیزیکی، هفت مارپیچ ترانس‌ممبران برای آن نشان داده شده است (شکل ۱۵-۱۲ را ببینید)، هفت ناحیه آبگریز دارد. هرچند، توجه داشته باشید که نمودار هیدروپاتی در ناحیه قطعات ۶ و ۷ مبهم می‌باشد. مطالعات فیزیکی تائید نموده است که **این ناحیه دارای دو قطعه ترانس‌ممبران** می‌باشد.



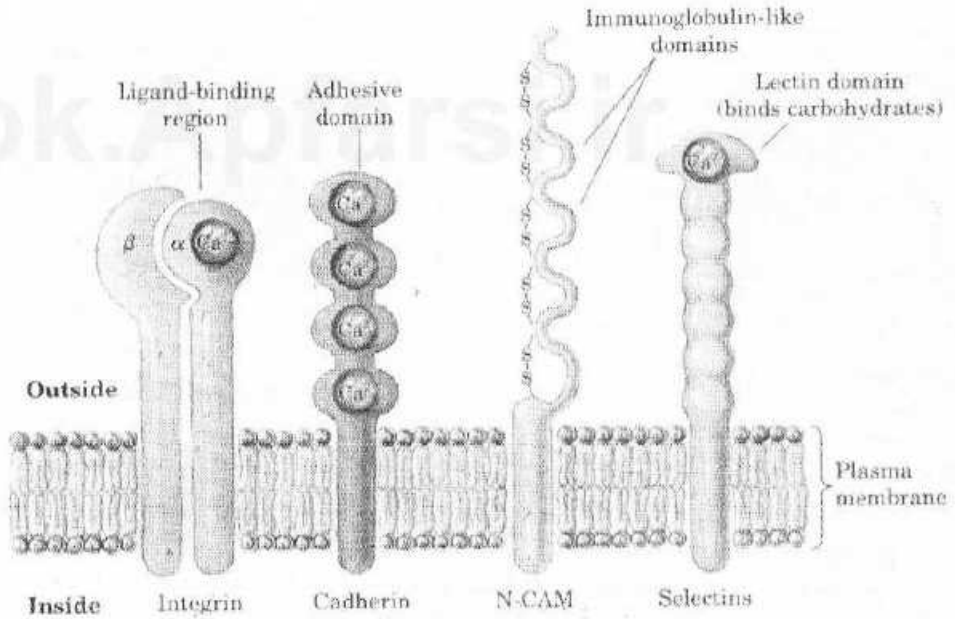
شکل ۱۸-۱۲. پورین FhuA، یک پروتئین داخل غشایی با ساختمان لوله β. این پروتئین از غشاء خارجی *E. coli*، شامل یک لوله β متشکل از ۲۲ رشته β ناهمسو می‌باشد که ایجاد کانالی در عرض غشاء می‌نماید که از طریق آن یون آهن متصل به حامل فری‌کروم - ferrichrome از محیط اطراف وارد سلول می‌گردد. ریشه‌های موجود در سطح خارجی این لوله، آبگریز بوده و با لیپیدها و لیپوپلی‌ساکاریدهای موجود در غشاء خارجی واکنش می‌نمایند.

شیمیایی بررسی موقعیت پروتئین (همانند انواعی که در بالا در مورد گلیکوفورین و باکتریورودوپسین شرح داده شدند) می‌باشد، فرض اینکه نواحی آبگریز مربوط به دومن‌های پل‌زننده بر روی غشاء هستند، بهتر تصدیق می‌گردد.

تمامی پروتئین‌های غشایی داخلی از مارپیچ‌های α ترانس‌ممبران تشکیل نشده‌اند. موتیف ساختمانی دیگری که در پروتئین‌های غشایی معمول می‌باشد، لوله β (شکل ۲۰d-۶ را ببینید) است که در آن ۲۰ یا تعداد بیشتری از قطعات ترانس‌ممبران، ایجاد صفحات β را نموده و یک استوانه را می‌پوشانند (شکل ۱۸-۱۲). همان عواملی که تشکیل مارپیچ α در قسمت داخلی آبگریز یک دولایه لیپیدی را تثبیت می‌نمایند، سبب پایداری لوله‌های β نیز می‌شوند. وقتی هیچ ملکول آبی برای ایجاد پیوند هیدروژنی بین اکسیژن کربونیل و نیتروژن پیوند پپتیدی دردسترس نمی‌باشد، حداکثر پیوند هیدروژنی بین‌زنجیری سبب بیشترین پایداری می‌شود. پورین‌ها[1]. پروتئین‌هایی که امکان عبور بعضی مواد قطبی را از عرض غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی نظیر *E. coli* فراهم می‌سازند، دارای لوله‌های β متشکل از رشته‌های متعدد می‌باشند که گذرگاه داخل غشایی قطبی را مفروش می‌نمایند.

1- Porins

Book Anfarsi.ir



شکل ۱۹-۱۲. چهار مثال انواع پروتئین‌های داخلی که در واکنش‌های متقابل سلول-سلول ایفاء نقش می‌نمایند. اینتگرین‌ها از پلی‌پپتیدهی ترانس‌ممبران α و β تشکیل شده‌اند؛ دومن‌های خارج‌سلولی آنها با یکدیگر ایجاد جایگاههای اتصالی برای یون‌های فلزی دوظرفیتی و پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی (نظیر کلاژن و فیبرونکتین) یا پروتئین‌های سطحی اختصاصی سلول‌های دیگر می‌کنند. کادهرین دارای چهار دومن اتصالی کلسیم در خارج‌سلول می‌باشد و دورترین آنها دارای جایگاهی برای اتصال به کادهرین موجود در سطح سلول دیگر می‌باشد. N-CAM (ملکول چسبندگی سلول نرونی) یکی از اعضاء خانواده پروتئین‌های ایمونوگلوبین-مانند می‌باشد که واکنش‌های متقابل غیروابسته به Ca^{2+} را با پروتئین‌های سطحی سلول‌های مجاور وساطت می‌نماید. سلکتین‌ها به‌طور محکم به بخش‌های کربوهیدراتی سلول‌های مجاور اتصال می‌یابند؛ این اتصال وابسته به Ca^{2+} می‌باشد.

زنجیر پلی‌پپتیدی با کونفورماسیون β در مقایسه با مارپیچ α امتدادیافته‌تر می‌باشد؛ به‌طور یکه برای طی‌نمودن عرض یک غشاء، نیاز به ۷ تا ۹ ریشه با کونفورماسیون β است. همانطور که اشاره گردید، در کونفورماسیون β زنجیرهای جانبی یک در میان در بالا و پایین صفحه قرار می‌گیرند (شکل ۷-۶ را ببینید). در رشته‌های β پروتئین‌های غشایی، هر ریشه دوم موجود در قطعه پل‌زننده بر روی غشاء آبگریز بوده و با دولایه لیپیدی واکنش می‌نماید؛ زنجیرهای جانبی آروماتیک معمولاً در حدفاصل لیپید-پروتئین یافت می‌شوند. سایر ریشه‌ها ممکن است آبگریز باشند و یا نباشند. نمودار هیدروپاتی برای پیش‌بینی قطعات ترانس‌ممبران پروتئین‌های دارای موتیف‌های β مفید نمی‌باشد، ولی با افزایش اطلاعات در مورد موتیف‌های لوله β شناخته‌شده، پیش‌بینی صفحات β ترانس‌ممبران براساس توالی، عملی‌تر می‌گردد.

پروتئین‌های داخلی، چسبندگی و واکنش‌های سلول-سلول را وساطت می‌نمایند

خانواده‌های متعددی از پروتئین‌های داخلی موجود در غشاء پلاسمایی، نقاط اختصاصی را برای اتصال بین سلول‌ها یا بین سلول و پروتئین‌های ماتریکس خارج‌سلولی فراهم می‌آورند. **اینتگرین‌ها**، پروتئین‌های هترودیمر (متشکل از دو زیرواحد غیریکسان α و β) می‌باشند که بوسیله یک مارپیچ ترانس‌ممبران آبگریز در هر زیرواحد، در داخل غشاء پلاسمایی لنگر می‌اندازند (شکل ۱۹-۱۲). دومن‌های بزرگ خارج‌سلولی زیرواحدهای α و β، با یکدیگر یک جایگاه اتصالی اختصاصی برای پروتئین‌های خارج‌سلولی نظیر کلاژن و فیبرونکتین فراهم می‌آورند. از آنجایی که حداقل ۱۴ زیرواحد مختلف α و حداقل ۸ زیرواحد مختلف β وجود دارد، با ایجاد ترکیبات مختلفی از

Book.Apfarsi.ir

زیرواحدهای α و β، انواع وسیعی از ویژگی‌ها ممکن است حاصل گردد. یک شاخص مشترک اتصالی اینتگرین که در جفت‌های خارج‌سلولی متعدد اینتگرین‌ها وجود دارد، توالی Arg – Gly – Asp (RGD) می‌باشد.

اینتگرین‌ها نه تنها ملکول‌هایی برای چسبندگی می‌باشند؛ بلکه به‌عنوان گیرنده‌ها و انتقال‌دهنده‌های پیام نیز عمل نموده و منجر به حمل اطلاعات در عرض غشاء پلاسمایی، در هر دو جهت، می‌شوند. اینتگرین‌ها بسیاری از واکنش‌ها، از جمله تجمع پلاکتی در محل یک زخم، ترمیم بافتی، فعالیت سلول‌های ایمنی و تهاجم تومور به بافت (شکل ۲۷-۹ را ببینید)، را تنظیم می‌نمایند. جهش در ژن اینتگرین کدکننده زیرواحد β با نام CD18، عامل نقص در چسبندگی گلبول سفید انسان می‌باشد؛ این نقص یک بیماری ژنتیک نادر است که در آن گلبول سفید نمی‌تواند از عروق خونی خرج و به محلهای عفونت برسد. اطفال مبتلا به نقص شدید CD18، معمولاً به علت عفونت، قبل از ۲ سالگی فوت می‌نمایند.

حداقل سه خانواده دیگر پروتئین‌های غشاء پلاسمایی در چسبندگی سطحی نقش دارند (شکل ۱۹-۱۲). **کادهرین‌ها** واکنش‌های متقابل هموفیلیک («با همان نوع») باکادهرین‌های مشابه موجود در روی سلول مجاور انجام می‌دهند. **پروتئین‌های ایمونوگلبولین-مانند** می‌توانند واکنش‌های متقابل هموفیلیک با المثنی‌های مشابه خود بر روی سلول دیگر یا واکنش‌های متقابل هتروفیلیک با یک اینتگرین موجود بر روی سلول مجاور را انجام دهند. **سلکتین‌ها** دارای دومن‌های خارج‌سلولی هستند که در حضور Ca^{2+}، به پلی‌ساکاریدهای اختصاصی موجود در سطح سلول مجاور متصل می‌گردند. سلکتین‌ها اساساً در انواع مختلف سلول‌های خونی و در سلول‌های آندوتلیال مفروش‌کننده عروق خونی وجود دارند. این پروتئین‌ها، اجزاء ضروری فرایند انعقاد خون می‌باشند.

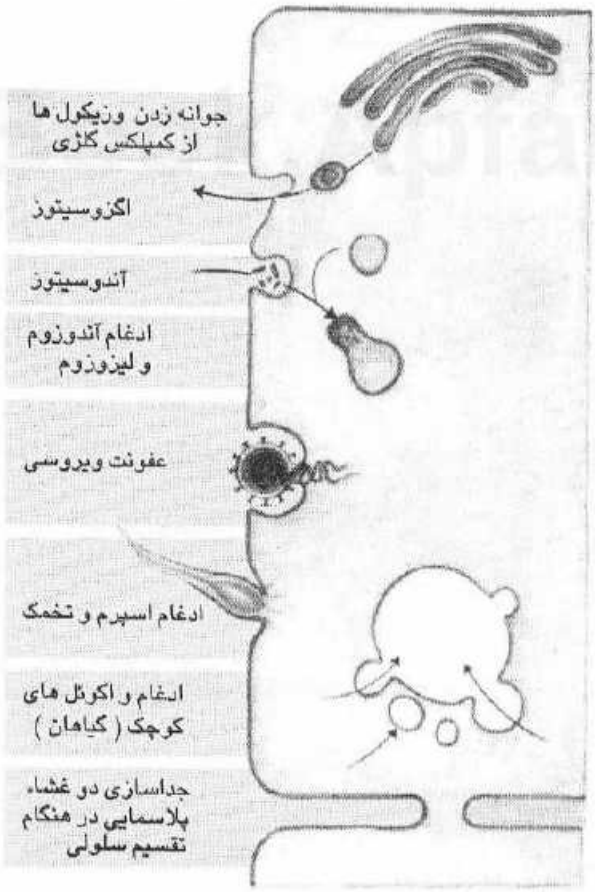
پروتئین‌های داخلی نقشی را در بسیاری از فرایندهای دیگر ایفاء می‌نمایند. این پروتئین‌ها به‌عنوان انتقال‌دهنده و کانال‌های یونی (بعداً در این فصل مورد بحث قرار می‌گیرند) و به‌عنوان گیرنده برای هورمونها، نوروترانسمیترها و فاکتورهای رشد (فصل ۱۳)، عمل می‌کنند. پروتئین‌های داخلی نقش مرکزی را در فسفریلاسیون اکسیداتیو و فتوسنتز (فصل ۱۹) و شناسایی سلول-سلول و آنتی‌ژن-سلول در سیستم ایمنی (فصل ۷) دارند. این پروتئین‌ها همچنین در ادغام غشایی در هنگام اگزوسیتوز، آندوسیتوز و ورود انواع زیادی از ویروس‌ها به داخل سلول، نقش اساسی دارند.

ادغام غشایی برای بسیاری از فرایندهای بیولوژیک مهم می‌باشد

یکی از خصوصیات برجسته غشاء بیولوژیک، توانایی آن در ادغام با غشاء دیگر، بدون ازدست‌دادن یکپارچگی آن می‌باشد. هرچند غشاءها پایدار هستند، ولی این به آن معنی نیست که ساکن می‌باشند. در داخل سیستم درون‌غشایی (شکل ۹-۲ را ببینید)، بخش‌های غشایی به‌طور پیوسته به صورت وزیکول‌های کوچک بازسازی می‌شوند؛ این وزیکول‌ها از کمپلکس گلژی جوانه زده تا لیپیدها و پروتئین‌های تازه سنتزشده را به سایر اندامک‌ها و به غشاء پلاسمایی حمل نمایند. اگزوسیتوز، آندوسیتوز، تقسیم سلولی، ادغام سلول‌های تخمک و اسپرم و ورود یک ویروس دارای پوشش غشایی بدرون سلول میزبان خود، همگی مستلزم سازماندهی مجدد غشایی هستند که در آن عمل اصلی، ادغام در قطعه غشایی بدون ازدست‌رفتن پیوستگی آنها می‌باشد (شکل ۲۰-۱۲).

ادغام اختصاصی دو غشاء نیاز دارد که (۱) دو غشاء یکدیگر را شناسایی کنند؛ (۲) سطوح غشاءها دقیقاً روبروی یکدیگر قرار گیرند که خود مستلزم برداشت ملکول‌های آبی دارد که به‌طور طبیعی همراه با گروه‌های سر

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۱۲. ادغام غشایی. ادغام دو غشاء اهمیت اساسی در انواع مختلفی از فرایندهای سلولی دارد که هم اندامک‌ها و هم غشاء پلاسمایی در آنها شرکت می‌نمایند.

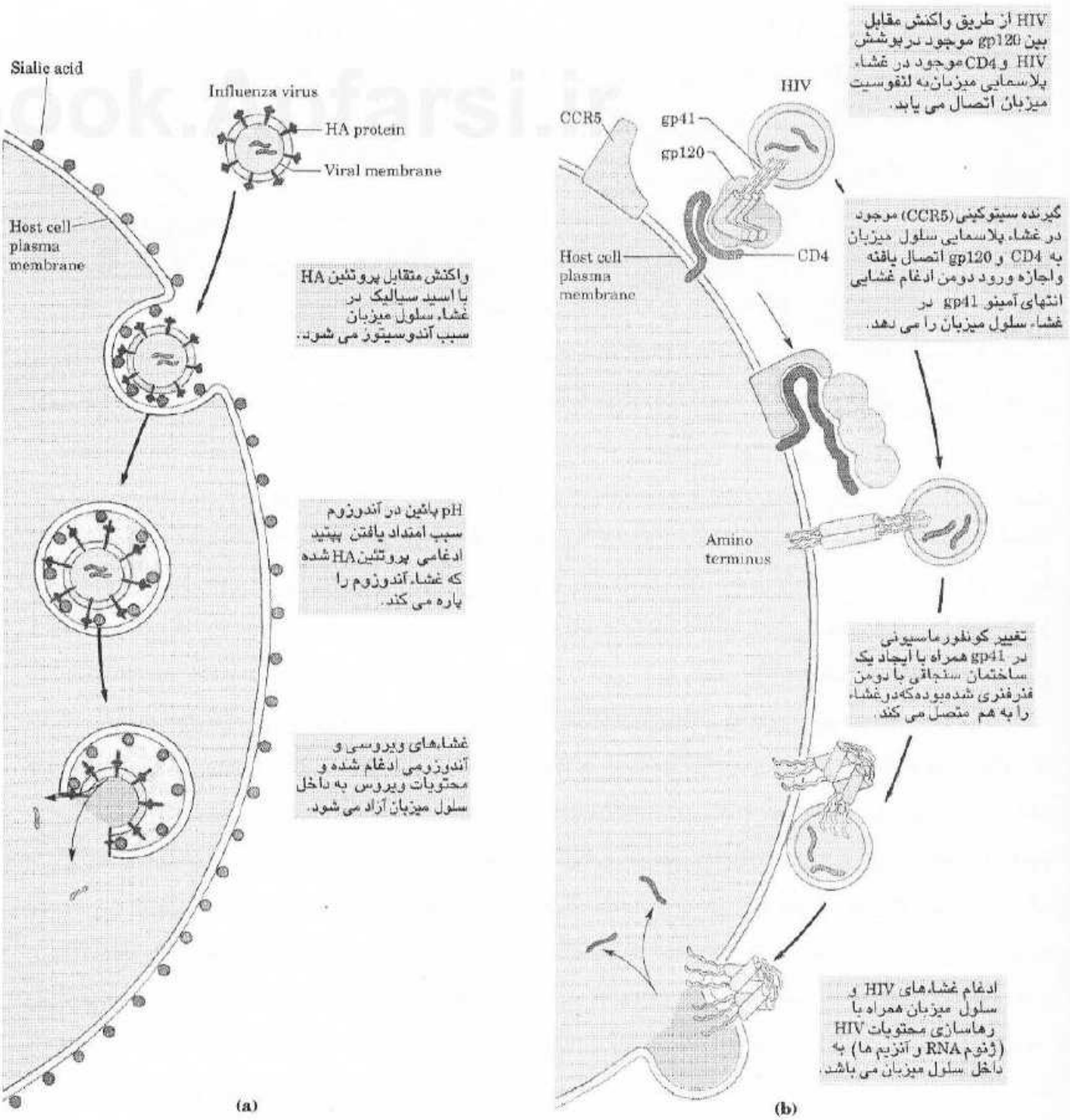
قطبی لیپیدها می‌باشند؛ (۳) ساختمان دولایه غشاءها به‌طور موضعی مختل گردد؛ و (۴) دو دولایه با یکدیگر ادغام شده تا یک دولایه پیوسته حاصل گردد. آندوسیتوز بواسطه گیرنده یا ترشح تنظیم‌شده همچنین نیاز دارد که (۵) فرایند ادغام در زمان مناسب و یا در پاسخ به یک پیام اختصاصی به انجام برسد. پروتئین‌های داخلی بنام **پروتئین‌های ادغامی**[1] این حوادث را وساطت نموده، به‌طور یکه با شناسایی اختصاصی و ایجاد یک اختلال زودگذر و موضعی در ساختمان دولایه، ادغام غشایی را مساعدت می‌نمایند. (توجه داشته باشید که این پروتئین‌های ادغامی ارتباطی با محصولات دو ژن ادغام‌شده که آنها نیز پروتئین‌های ادغامی نامیده می‌شوند، ندارد؛ پروتئین‌های اخیر در فصل ۲۹ مورد بحث قرار می‌گیرند.)

یکی از حالات بخوبی مطالعه‌شده ادغام غشایی، در طی ایجاد عفونت در یک سلول توسط یک ویروس دارای پوشش غشایی، نظیر ویروس آنفلوانزا و یا HIV می‌باشد. عفونت توسط ویروس آنفلوانزا زمانی آغاز می‌گردد که یک پروتئین داخلی پوشش ویروس، یعنی پروتئین هماگلوتینین، به ریشه‌های اسید سیالیک (Neu5Ac) گلیکوپروتئین‌ها و یا گلیکولیپیدهای موجود در غشاء پلاسمایی سلول میزبان اتصال می‌یابد (شکل ۲۱a-۱۲). سپس ویروس با فرایند آندوسیتوز و در داخل یک آندوزوم وارد سلول می‌گردد. pH پایین موجود در آندوزوم منجر به یک تغییر اساسی در کونفورماسیون پروتئین هماگلوتینین شده که همراه با در معرض قرارگرفتن یک پپتید آبگریز کوتاه، بنام پپتید ادغامی می‌باشد. با قرارگیری این پپتید ادغامی در داخل دولایه لیپیدی غشاء آندوزومی، پلی بین غشاءهای ویروسی و آندوزومی ایجاد می‌گردد. این رخداد احتمالاً منجر به تغییر شکل هر دولایه شده که همراه با ادغام غشایی و رهاسازی محتویات ویروسی به داخل سلول میزبان می‌باشد.

در عفونت HIV، یک جفت گلیکوپروتئین موجود در پوشش HIV (gp41 و gp120) به دو «گیرنده» (CD4 و یک پروتئین کورسپتور) موجود در سطح سلول میزبان اتصال می‌یابد (شکل ۲۱b-۱۲). برای اتصال HIV به سلول، تنها وجود CD4 کافی است، ولی برای ادغام (و بنابراین عفونت) لازم است سلول میزبان دارای کورسپتوری نظیر CCR5 باشد. (CCR5 به‌طور طبیعی به‌عنوان یک گیرنده برای فاکتورهای رشدی بنام کموکین‌ها[2] عمل می‌نماید که لکوسیتها را به محلهای التهاب هدایت می‌نمایند.) نیاز به CD4 و یک کورسپتور در ایجاد عفونت با HIV، ویژگی HIV را برای لنفوسیت‌های T سیستم ایمنی، توجیه می‌نماید؛ اینها تنها سلول‌هایی می‌باشند که هر دو پروتئین را در

1- Fusion proteins 2- chemokines

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۱-۱۲. ادغام غشایی در طی ورود ویروس به داخل یک سلول میزبان. (a) ویروس آنفلوانزا به بخش‌های کربوهیدراتی موجود در سطح سلول میزبان اتصال یافته (شکل ۲۹b-۹) و با فرایند آندوسیتوز، به صورت یک آندوزوم، وارد سلول می‌گردد. پمپ‌های پروتونی (ص. ۴۷۳) محتویات آندوزوم را اسیدی نموده و منجر به یک تغییر وابسته به pH در ساختمان پروتئین هماگلوتینین (HA) و بنابراین در معرض قرارگرفتن یک پپتید ادغامی می‌شود. این پپتید ادغامی، در داخل غشاء آندوزومی نفوذ نموده و در نتیجه سبب ادغام غشاءهای ویروسی و آندوزومی و آزادسازی ژنوم ویروس به داخل سلول میزبان می‌شود. **(b)** وقتی HIV به یک لنفوسیت T دارای CD4 و یک پروتئین کورسپتور (گیرنده سیتوکین) در غشاء پلاسمایی آن برخورد می‌نماید، ویروس از طریق دوگلیکوپروتئین (gp41 و gp120) موجود در غشاءهای خود به این سلول متصل شده ومحتویات ویروسی به داخل سلول میزبان آزاد می‌گردد. HIV تنها در سلول‌هایی (لنفوسیت‌ها) ایجاد عفونت می‌نماید که CD4 را در غشاء پلاسمایی خود دارند.

سطح غشاءهای پلاسمایی خود دارند. احتمالاً این «گیرنده‌ها» برای انجام اعمال مفید سلول ایجاد شده‌اند، ولی این ویروس از آنها بهره‌برداری می‌کند. عواملی که با واکنش متقابل HIV با CD4 یا کورسپتور تداخل ایجاد می‌نمایند،

Book.Apfarsi.ir

ممکن است در درمان عفونت HIV و یا در جلوگیری از پیشرفت عفونت HIV به AIDS مفید باشند.

براساس مدل رایج ورود HIV از طریق ادغام با غشاء پلاسمایی، همانطور که در شکل ۲۱b-۱۲ نشان داده شده است، کمپلکس gp120 - gp41 به‌طور طبیعی بوسیله یک توالی آبگریز موجود در انتهای کربوکسیل gp41 در غشاء ویروسی لنگر می‌اندازد. تماس با CD4 و کورسپتور موجود در سطح سلول میزبان، تغییر وسیع کونفورماسیونی را در gp41 آغاز می‌نماید که آن را به یک ساختمان امتدادیافته تبدیل نموده و پپتید ادغامی را در نزدیکی انتهای آمینو آن در معرض قرار می‌دهد. این پپتید ادغامی در داخل غشاء پلاسمایی سلول میزبان قرر داده می‌شود؛ بنابراین gp41 ایجاد یک پل بین ویروس و سلول می‌کند. حال دومین تغییر ساختمانی برجسته رخ می‌دهد؛ gp41 از ناحیه لولا موجود در نزدیکی مرکز آن، تا شده و یک ساختمان سنجاق-مانندی را ایجاد می‌نماید که انتهای آمینو (در غشاء پلاسمایی) را به نزدیکی انتهای کربوکسیل (در غشاء ویروسی) می‌آورد. براساس این مدل، قرارگیری پپتید ادغامی در داخل غشاء پلاسمایی به طریقی سازمان دولایه لیپیدی را به‌طور موضعی برهم می‌زند. صف‌آرایی مجدد ملکول‌های لیپیدی موجود در این ناحیه، منجر به ائتلاف دو غشاء شده و ادغام رخ می‌دهد.

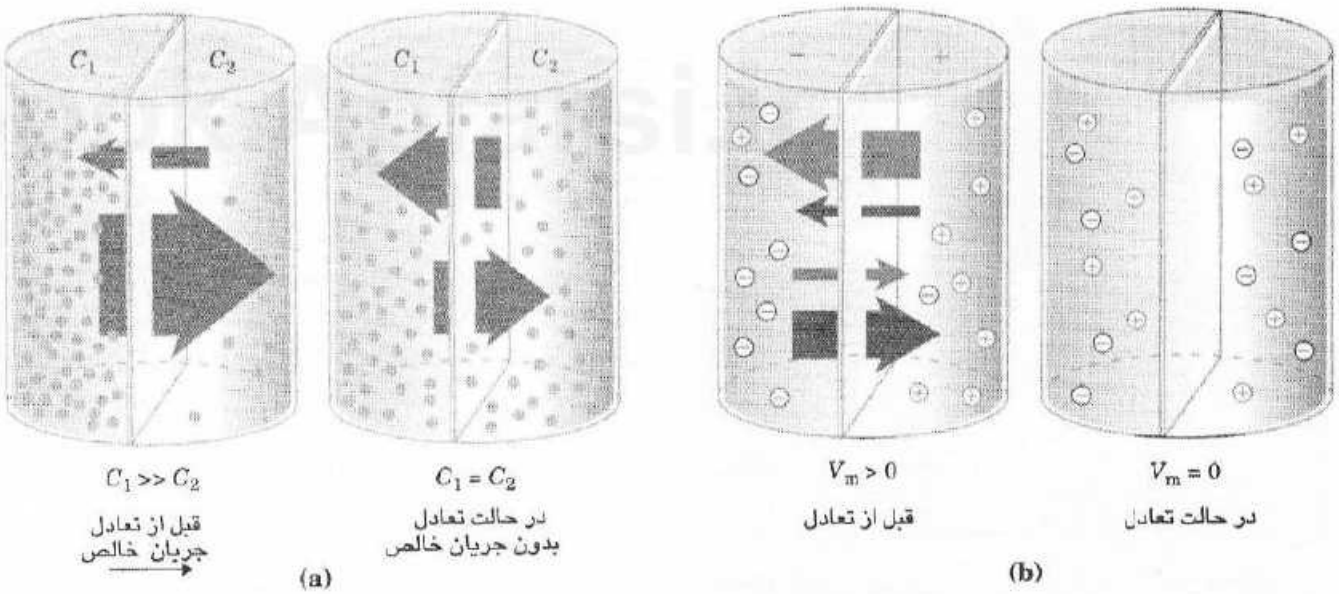
ادغام غشایی در سایر فرایندها، نظیر حرکت اجزاء غشایی تازه سنتزشده از طریق سیستم درون‌غشایی، از شبکه آندوپلاسمی به کمپلکس گلژی تا غشاء پلاسمایی از طریق وزیکول‌های غشایی، و آزادسازی پروتئین‌ها، هورمونها یا نوروترانسمیترها توسط اگزوسیتوز، نیز مهم می‌باشد. پروتئین‌های مورد نیاز برای این ادغامهای غشایی، بنام SNAREs، از نظر خصوصیات متعددی، مشابه پروتئین‌های ادغامی می‌باشند. پروتئین‌های SNAREs (نام این خانواده از گیرنده‌های پروتئینی همراه سیناپتوزوم[1] مشتق شده است) ایجاد میله‌های سنجاقی شکلی را می‌کنند که دومن‌های پروتئینی متصل به غشاء پلاسمایی و غشاء وزیکولی را به کنار یکدیگر می‌آورند. ملکول‌های SNARE موجود در سمت سیتوزولی وزیکول‌های داخل‌سلولی را v-SNAREs نامند و انواع موجود در غشاءهای هدف را که وزیکول‌ها با آنها ادغام می‌شوند را t-SNAREs گویند. اشکال امتدادیافته SNAREs، همانند پروتئین‌های ادغامی ویروسی، دارای نواحی‌های بلندی به شکل فنرهای فنری شده هستند که در آنها مارپیچ‌های α حول یکدیگر می‌پیچند. این شباهتهای ساختمانی به احتمال خیلی زیاد، یک تشابه پایه‌ای را بین مکانیسم‌های ادغامی موجود در ویروسها و وزیکول‌های داخل‌سلولی نشان می‌دهد.

انتقال مواد از عرض غشاءها

لازم است هر موجود زنده مواد خام را برای بیوسنتز و تولید انرژی، از محیط خود بدست آورد و محصولات فرعی متابولیسم خود را به داخل محیط آزاد سازد. غشاء پلاسمایی حاوی پروتئین‌هایی می‌باشد که به‌طور اختصاصی مواد مورد نیاز سلول، نظیر قندها، اسیدهای آمینه و یون‌های معدنی، را شناسایی و به داخل منتقل می‌نمایند. در بعضی موارد، این مواد در خلاف شیب غلظتی، بار الکتریکی یا هر دو انتقال داده شده و به داخل «پمپ» می‌شوند. بعضی مواد دیگر برای حفظ غلظت‌های پایین‌تر سیتوزولی نسبت به محیط اطراف، به خارج پمپ می‌گردند. به استثناء چند مورد، رفت و آمد ملکول‌های کوچک از عرض غشاء بواسطه پروتئین‌هایی نظیر کانال‌های ترانس‌ممبران، ناقلین و پمپ‌ها به انجام می‌رسد. در داخل سلول اوکاریوتی، بخش‌های مختلف دارای غلظت‌های متفاوتی از ترکیبات واسط و محصولات بوده و لازم است طی فرایندهای شدیداً تنظیم‌شده بواسطه پروتئین‌ها از عرض غشاءهای داخل‌سلولی عبور نمایند.

1- *syn*aptosome-*a*ssociated protein *r*eceptores

Book Anfarsi.ir



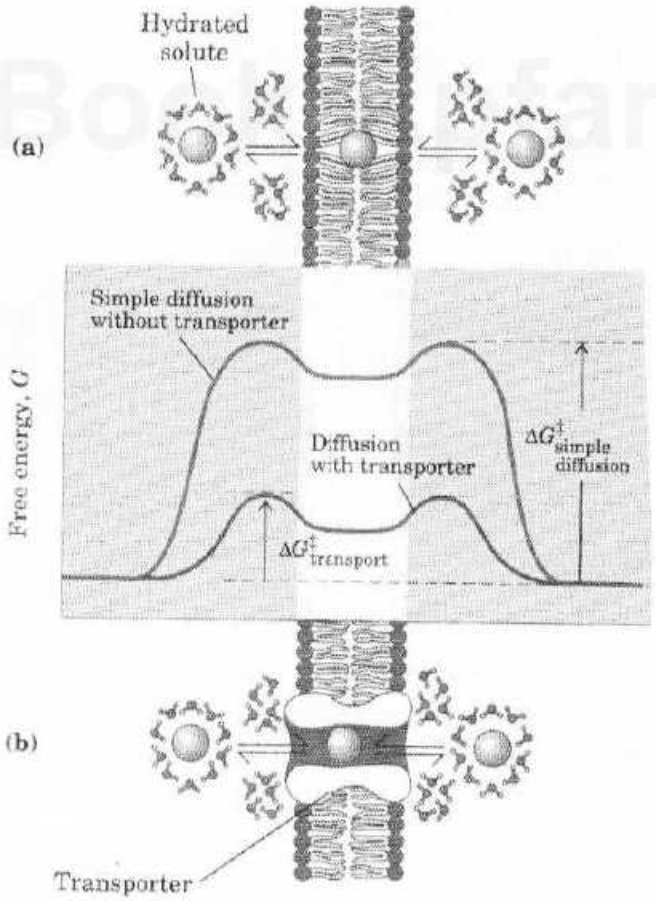
شکل ۲۲-۱۲. حرکت مواد از عرض یک غشاء نفوذپذیر. (a) حرکت خالص مواد فاقد بار الکتریکی، به سمت ناحیه با غلظت کمتر بوده تا زمانی که تعادل حاصل گردد. غلظت ماده در سمت چپ و راست غشاء با C_1 و C_2 نشان داده می‌شود. همانطور که با پیکانهای بزرگ نمایش داده شده است، سرعت حرکت از عرض غشاء متناسب با شیب غلظتی، یا C_1/C_2، می‌باشد. **(b)** حرکت خالص مواد دارای بار الکتریکی توسط ترکیبی از پتانسیل الکتریکی (V_m) و تفاوت غلظت شیمیایی در عرض غشاء تعیین می‌گردد؛ حرکت خالص یون تا زمانی ادامه می‌یابد که این پتانسیل الکتروشیمیایی به صفر برسد.

انتقال غیرفعال توسط پروتئین‌های غشایی وساطت می‌گردد

وقتی دو بخش آبی حاوی غلظت‌های نابرابر یک ترکیب محلول یا یون توسط یک تقسیم‌کننده نفوذپذیر (غشاء) جدا می‌گردند، ماده حل‌شده توسط **انتشار ساده** از ناحیه‌ای با غلظت بالا به ناحیه‌ای با غلظت کمتر حرکت نموده تا غلظت ماده مورد نظر در هر دو بخش برابر گردد (شکل ۲۲a-۱۲). وقتی یون‌های دارای بار مخالف توسط یک غشاء نفوذپذیر جدا می‌گردند، یک شیب الکتریکی در عرض غشاء، بنام **پتانسیل غشایی**، V_m (برحسب ولت یا میلی‌ولت)، بوجود می‌آید. این پتانسیل غشاء، نیروئی را در برابر حرکت یون‌هایی ایجاد می‌نماید که V_m را افزایش داده و سبب تسریع در حرکت یون‌هایی می‌گردد که V_m را کاهش می‌دهند (شکل ۲۲b-۱۲). بنابراین، جهت حرکت خودبخودی یک ماده باردار از عرض یک غشاء، هم به شیب شیمیایی (تفاوت در غلظت ماده حل‌شده) و هم به شیب الکتریکی (V_m) موجود در عرض غشاء بستگی دارد. این دو عامل مجموعاً **شیب الکتروشیمیایی** یا **پتانسیل الکتروشیمیایی** را تشکیل می‌دهند. این رفتار مواد حل‌شده براساس قانون دوم ترمودینامیک می‌باشد: ملکول‌ها تمایل دارند به طور خودبخودی انتشار یافته تا به بیشترین بی‌نظمی برسند؛ یعنی، آنتروپی افزایش یافته و انرژی سیستم به حداقل برسد.

در موجودات زنده، سدهای دارای نفوذپذیری انتخابی مانع انتشار ساده بیشتر مواد می‌شوند؛ این سدها غشاءهایی هستند که بخش‌های داخل‌سلولی را جدا نموده و سلول‌ها را احاطه می‌کنند. برای عبور از میان یک دولایه لیپیدی، ابتدا لازم است یک ماده قطبی یا باردار، واکنش‌های متقابل خود با ملکول‌های آب در قشر هیدراتاسیون خود را از دست داده و سپس حدود (۳۰ Å) ۳ nm در حلالی (لیپیدی) انتشار یابد که در آن حلالیت ضعیفی دارد (شکل ۲۳-۱۲). انرژی مورد استفاده برای برداشت قشر هیدراتاسیون و حرکت ترکیب قطبی از محیط آبی و عبور از میان محیط لیپیدی، با خروج این ماده از غشاء در سمت دیگر و هیدراتاسیون مجدد آن، کسب می‌گردد. هرچند، در مقایسه با حالت انتقالی در یک واکنش آنزیمی شیمیایی مرحله حدواسط عبور از غشاء یک

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۱۲. تغییرات انرژی آزاد همراه با عبور یک ماده آبدوست از میان دولایه لیپیدی یک غشاء بیولوژیک. (a) در انتشار ساده، برداشت قشر هیدراتاسیون شدیداً انرژی‌گیر بوده و انرژی فعال‌شدن ($\Delta G^{\ddagger}$) برای انتشار در عرض غشاء دولایه بسیار بالا می‌باشد. **(b)** یک پروتئین انتقال‌دهنده سبب کاهش $\Delta G^{\ddagger}$ انتشار ماده از عرض غشاء می‌گردد. این عمل با ایجاد واکنش‌های متقابل غیرکووالان بین پروتئین و ماده دهیدراته جهت جایگزینی پیوندهای هیدروژنی با آب و با فراهم‌آوردن یک راه عبوری آبدوست در عرض غشاء، به انجام می‌رسد.

حالت پرانرژی می‌باشد. در هر دو حالت، برای رسیدن به حالت حدواسطه، می‌بایست بر یک سد فعال‌سازی غلبه شود (شکل ۲۳-۱۲؛ با شکل ۳-۸ مقایسه کنید). انرژی فعال‌سازی ($\Delta G^{\ddagger}$) برای جابجایی یک ماده قطبی از عرض دولایه آنقدر بزرگ می‌باشد که دولایه‌های خالص لیپیدی طی دوره‌های زمانی مربوط به سلول‌ها، نسبت به مواد قطبی و باردار نفوذناپذیر هستند.

چند گاز مهم بیولوژیک، شامل اکسیژن ملکولی، نیتروژن و متان که همگی نسبتاً غیرقطبی هستند، با انتشار ساده از عرض غشاءها عبور می‌کنند. آب علی‌رغم قطبی‌بودن، و احتمالاً به علت غلظت بسیار بالای آن (۵۵M)، می‌تواند از طریق انتشار ساده به آهستگی از بعضی غشاءهای بیولوژیک عبور نماید. هرچند، برای بافتهایی که در آنها حرکت ترانس‌ممبران آب ضروری است (برای مثال در کلیه)، آب از میان کانال‌های ایجادشده توسط پروتئین‌های داخلی اختصاصی، اکواپورین‌ها، انتشار می‌یابد که در قسمت پایین شرح داده می‌شوند.

عبور ترانس‌ممبران ترکیبات قطبی و یون‌ها توسط پروتئین‌های غشایی ممکن می‌گردد که از طریق ایجاد مسیر دیگری برای عبور مواد اختصاصی از دولایه لیپیدی، انرژی فعال‌سازی لازم برای انتقال را کاهش می‌دهند. پروتئین‌هایی که این **انتشار تسهیل‌شده** یا **انتقال غیرفعال** را به انجام می‌رسانند، به معنی معمول آنزیم نمی‌باشند؛ «سوبستراهای» این پروتئین‌ها از یک بخش به بخش دیگر منتقل شده ولی از نظر شیمیایی تغییر نمی‌کنند. پروتئین‌های غشایی که سرعت عبور یک ماده را از عرض یک غشاء با انتشار تسهیل‌شده افزایش می‌دهند، **انتقال‌دهنده**[1] یا **پرمئاز**[2] نامیده می‌شوند.

اطلاعات مربوط به جزئیات ساختمانی پروتئین‌های متعدد محلول که توسط کریستالوگرافی اشعه-x بدست آمده است، هنوز برای بیشتر انتقال‌دهنده‌های غشایی دردسترس نمی‌باشد؛ به‌عنوان یک گروه، تخلیص و کریستالیزه‌نمودن این پروتئین‌های داخلی غشاء مشکل می‌باشد. هرچند، با انجام مطالعاتی بر روی ویژگی و کینتیک انتقال‌دهنده‌ها، مشخص شده است که عمل آنها شباهت زیادی با آنزیم‌ها دارد. همانند آنزیم‌ها، اتصال انتقال‌دهنده‌ها به سوبستراهای خود از طریق واکنش‌های متقابل ضعیف غیرکووالان و با ویژگی فضایی-شیمیایی به انجام می‌رسد. تغییر انرژی آزاد منفی حاصل از این واکنش‌های ضعیف، $\Delta G_{\text{binding}}$، با تغییر انرژی آزاد مثبت حاصل از جداشدن

1- Transporter 2- Permease

Book.Apfarsi.ir

جدول ۳-۱۲. اکواپورین‌ها

اکواپورین	نقش و موقعیت
AQP-1	بازجذب آب در توبول پروگزیمال؛ ترشح مایع زلالیه در چشم و مایع مغزی‌نخاعی در سیستم عصبی مرکزی؛ هومئوستاز آب در ریه
AQP-2	نفوذپذیری آب در مجرای جمع‌کننده کلیه (جهش آن سبب دیابت بی‌مزه کلیوی می‌شود)
AQP-3	احتباس آب در مجرای جمع‌کننده کلیه
AQP-4	بازجذب آب مایع مغزی‌نخاعی در سیستم عصبی مرکزی؛ تنظیم ادم مغزی
AQP-5	ترشح مایع در غدد بزاقی، غدد اشکی و اپی‌تلیوم حبابچه ریوی
γ-TIP	برداشت آب توسط واکوئل گیاهی، تنظیم فشار تورگور

آب هیدراتاسیون از سوبسترا، $\Delta G_{dehydratation}$، متعادل شده و به موجب آن میزان $\Delta G^{\ddagger}$ عبور از عرض غشاء کاهش می‌یابد (شکل ۲۲-۱۲). انتقال‌دهنده‌ها حداقل یکبار در عرض دولایه لیپیدی پل زده و معمولاً کانالی در عرض غشاء ایجاد می‌نمایند که توسط زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه آبدوست مفروش شده است. این کانال مسیر دیگری را برای عبور یک سوبسترا اختصاصی از دولایه لیپیدی، بدون انحلال در دولایه، ایجاد نموده که $\Delta G^{\ddagger}$ را برای انتشار از عرض غشاء بیشتر کاهش می‌دهد. حاصل افزایش قابل‌توجه در بزرگی سرعت عبور سوبسترا از عرض غشاء می‌باشد.

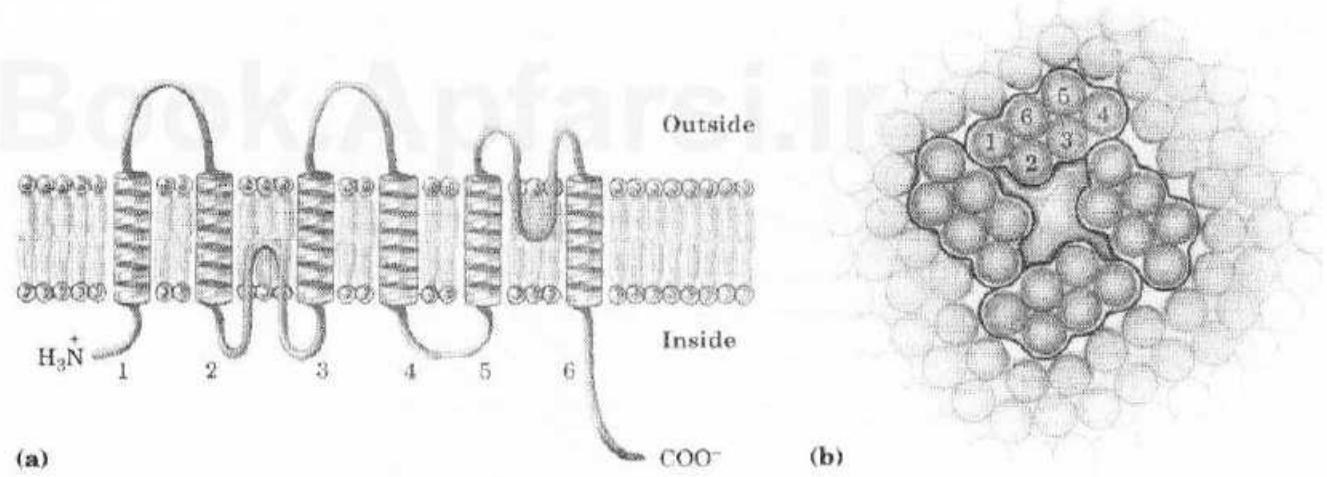
اکواپورین‌ها کانال‌های آبدوستی در عرض غشاء برای عبور آب ایجاد می‌کنند

خانواده‌ای از پروتئین‌های داخلی، **اکواپورین‌ها**[1] (AQPs)، کانال‌هایی را برای عبور سریع ملکول‌های آب از عرض غشاءها در انواعی از بافتهای اختصاصی ایجاد می‌نمایند. گلبول‌های قرمز خون که سریعاً در پاسخ به تغییرات ناگهانی اسمولاریتی خارج‌سلولی در هنگام عبور از قسمت مرکزی کلیه، متورم یا چروکیده می‌شوند، دارای تراکم بالائی از اکواپورین‌ها در غشاءهای پلاسمایی (۲×۱۰^{۵} نسخه از AQP-1 در هر سلول) خود هستند. سلول‌های توبول پروگزیمال کلیه نیز که در هنگام تشکیل ادرار آب را بازجذب می‌کنند و غشاء واکوئلی سلول‌های گیاهی که برای حفظ فشار تورگور نیاز به حرکت اسموتیک آب به داخل واکوئل دارند، نیز غنی از اکواپورین‌ها می‌باشند (شکل ۱۰-۲). جدول ۳-۱۲ بعضی از انواع اکواپورین‌ها را نشان می‌دهد.

تمامی اکواپورین‌ها از انواع پروتئین‌های داخلی نوع III (شکل ۱۴-۱۲) و با شش قطعه مارپیچی ترانس‌ممبران هستند (شکل ۲۴a-۱۲). در AQP-1، چهار منومر با وزن ملکولی ۲۸،۰۰۰ ایجاد یک کانال ترانس‌ممبران تترامری می‌نمایند که توسط زنجیرهای جانبی آبدوست مفروش شده و دارای قطر مناسب (حدود ۳Å) برای عبور ملکول‌های آب در یک ردیف می‌باشد (شکل ۲۴b-۱۲). آب از میان AQP-1 با سرعتی در حدود ۵×۱۰^{۸} ملکول در هر ثانیه، جریان می‌یابد. برای مقایسه، بزرگترین عدد نوسازی شناخته‌شده برای یک آنزیم $۴ \times ۱۰^{۷}\ s^{-1}$ بوده و بسیاری از آنزیم‌ها دارای اعداد نوسازی بین $۱\ s^{-1}$ و $۱۰^{۴}\ s^{-1}$ می‌باشند (جدول ۷-۸ را ببینید). انرژی فعال‌سازی پایین عبور آب از میان کانال‌های اکواپورین ($\Delta G^{\ddagger} < ۱۵\ kJ/mol$) مطرح می‌نماید که آب به صورت یک جریان پیوسته از میان این کانال‌ها عبور نموده و جهت حرکت آن توسط شیب اسموتیک تعیین می‌گردد. (برای بحث پیرامون اسمز به ص. ۱۰۷ مراجعه نمایید.) همانند سایر اکواپورین‌ها، AQP-1 مانع عبور یون‌ها و یا سایر مواد کوچک می‌گردد.

1- Aquaporins

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۴-۱۲. توپولوژی ترانس‌ممبران احتمالی یک اکواپورین، AQP-1. این پروتئین CHIP-28 نیز نامیده می‌شود. (a) هر منومر از شش مارپیچ ترانس‌ممبران تشکیل شده است. (b) در یک ساختمان فرضی برای کانال اکواپورین (با نمای عمود بر، یا در میان، صفحه غشاء)، چهار منومر AQP-1، با ۲۴ مارپیچ ترانس‌ممبران خود، پهلو به پهلو یکدیگر قرار گرفته و یک کانال مرکزی را احاطه می‌نمایند. این کانال که از میان آن ملکول‌های آب یکی یکی انتشار می‌یابند، با زنجیرهای آبدوست مفروش شده است.

انتقال‌دهنده گلوکز موجود در گلبول‌های قرمز، انتقال غیرفعال را وساطت می‌نمایند

متابولیسم تولید انرژی در داخل گلبول‌های قرمز خون بستگی به تأمین ثابت گلوکز توسط پلاسمای خون دارد؛ غلظت گلوکز خون در حدود ۵ mM حفظ می‌گردد. گلوکز با انتشار تسهیل‌شده از طریق یک انتقال‌دهنده اختصاصی گلوکز و با سرعتی در حدود ۵۰,۰۰۰ برابر بیشتر از سرعت انتشار بدون کاتالیز، وارد گلبول قرمز می‌شود. این انتقال‌دهنده که بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته است، مثال فوق‌العاده‌ای است که نحوه انتقال غیرفعال را در سلول‌ها نشان می‌دهد.

انتقال‌دهنده گلوکز در گلبول‌های قرمز (با نام GluT1 برای تمایز آن از سایر انتقال‌دهنده‌های مرتبط گلوکز موجود در سایر بافت‌ها)، یک پروتئین داخلی نوع III (وزن ملکولی ۴۵,۰۰۰) با ۱۲ قطعه آبگریز می‌باشد که معتقدند هر کدام از این قطعات یک مارپیچ پل‌زننده بر روی غشاء ایجاد می‌کنند. جزئیات ساختمان GluT1 هنوز ناشناخته می‌باشد، ولی طبق یک مدل خوش‌ظاهر، همایش پهلو به پهلو مارپیچ‌های متعدد، منجر به تولید یک کانال ترانس‌ممبران می‌گردد که توسط ریشه‌های آبدوست مفروش شده و این ریشه‌ها در هنگام عبور گلوکز از کانال، با آن ایجاد پیوند هیدروژنی می‌نمایند (شکل ۲۵-۱۲).

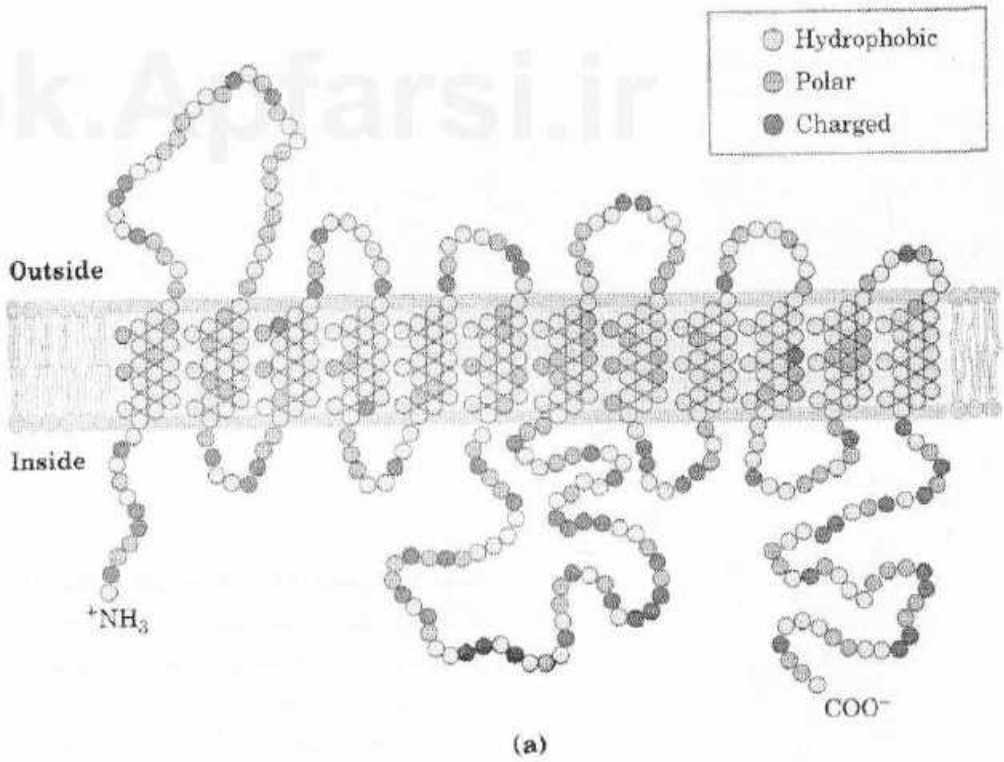
فرایند انتقال گلوکز را می‌توان همانند یک واکنش آنزیمی شرح داد که در آن «سوبسترا» گلوکز موجود در خارج سلول (S_{out})، «محصول» گلوکز موجود در داخل سلول (S_{in}) و «آنزیم» انتقال‌دهنده (T) می‌باشد. وقتی سرعت برداشت گلوکز به صورت تابعی از غلظت گلوکز خارج‌سلولی اندازه‌گیری شود (شکل ۲۶-۱۲)، نمودار حاصل هیپربولیک خواهد بود؛ در غلظت‌های بالای گلوکز خارجی، سرعت برداشت به V_{max} می‌رسد. این فرایند انتقالی را می‌توان به صورت معادلات زیر بیان نمود:

$$S_{out} + T \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} S_{out} \cdot T \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} S_{in} \cdot T \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftharpoons}} S_{in} + T$$

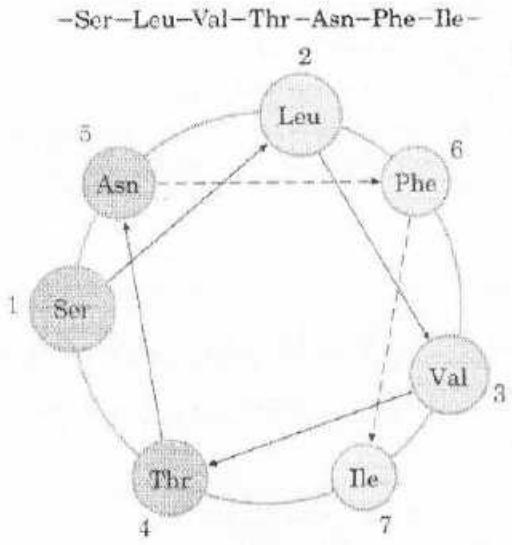
که در آن k_1، k_{-1} و غیره، ثابتهای سرعت رفت و برگشت هر مرحله می‌باشند. این مراحل در شکل ۲۷-۱۲ خلاصه شده‌اند.

Book.Apfarsi.ir

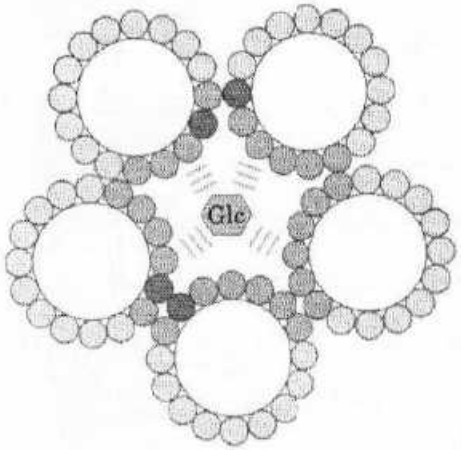
Book.Apfarsi.ir



(a)



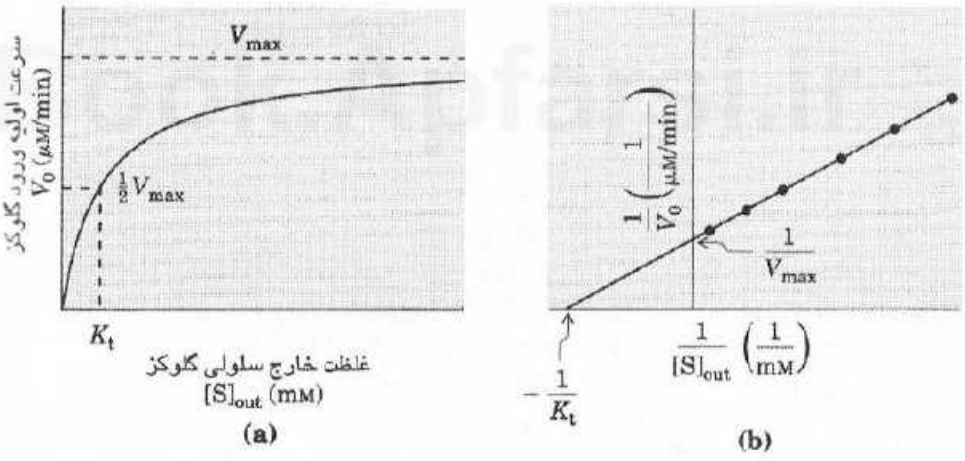
(b)



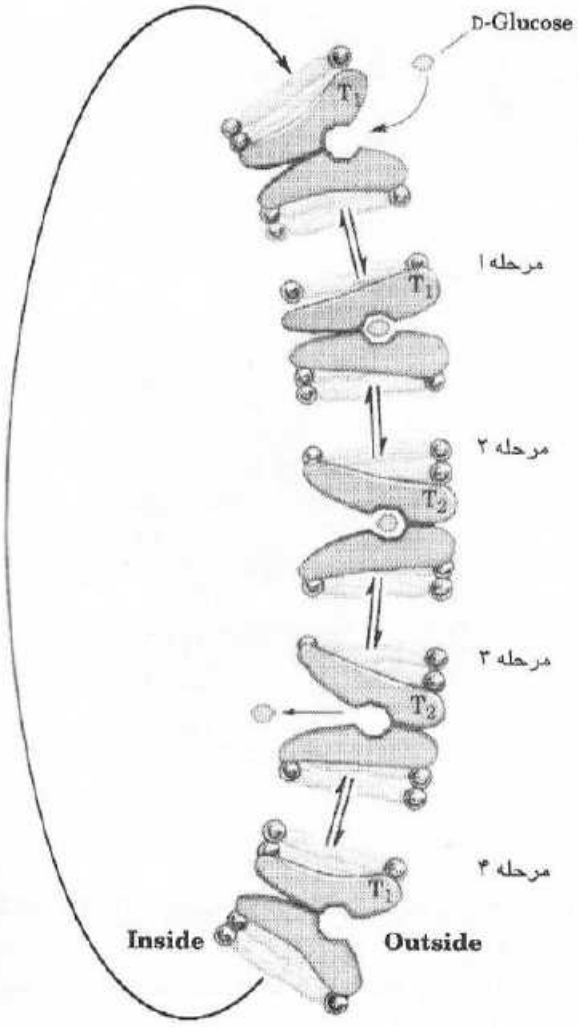
(c)

شکل ۲۵-۱۲. ساختمان فرضی GluT1. (a) مارپیچ‌های ترانس‌ممبران به صورت ردیفهای موربی از سه یا چهار ریشه اسید آمینه نشان داده شده‌اند و هر ردیف یک چرخش مارپیچ α را نشان می‌دهند. ۹ مورد از ۱۲ مارپیچ دارای سه یا تعداد بیشتری ریشه اسید آمینه قطبی‌تر یا باردار بوده که اغلب توسط چندین ریشه آبگریز جدا می‌شوند. **(b)** یک شکل چرخ مارپیچی که انتشار ریشه‌های قطبی و غیرقطبی را در سطح یک قطعه مارپیچی نشان می‌دهد این مارپیچ با نگاه از طول محور آن و انتهای آمینو ترسیم شده است. ریشه‌های مجاور موجود در توالی خطی، توسط پیکانها به یکدیگر متصل شده‌اند و هر ریشه در محیط چرخ در محلی قرار دارد که در مارپیچ اشغال می‌کند؛ بخاطر دارید که برای ایجاد یک چرخش کامل مارپیچ α نیاز به ۳/۶ ریشه می‌باشد. در این مثال، ریشه‌های قطبی در یک سمت مارپیچ بوده و ریشه‌های آبگریز در سمت دیگر قرار دارند. طبق تعریف به این یک مارپیچ دوگانه‌دوست (آمفی‌پاتیک) گفته می‌شود. **(c)** همایش پهلو به پهلو پنج یا شش مارپیچ دوگانه‌دوست به شکلی که سمت قطبی هر کدام به سوی حفره مرکزی باشد، می‌تواند ایجاد یک کانال ترانس‌ممبران نماید که با ریشه‌های قطبی و باردار مفروش شده است. این کانال فرصت‌های متعددی را برای ایجاد پیوند هیدروژنی با گلوکز عبوری از این انتقال‌دهنده فراهم می‌آورد. ساختمان سه‌بعدی GluT1 هنوز با استفاده از کریستالوگرافی اشعه-x تعیین نشده است، ولی محققین انتظار دارند که کانال‌های ترانس‌ممبران این و بسیاری دیگر از انتقال‌دهنده‌ها و کانال‌های یونی، براساس این مدل همایش یابند.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۶-۱۲. کینتیک انتقال گلوکز بداخل گلبول‌های قرمز. **(a)** سرعت ورود گلوکز به داخل گلبول قرمز، V_0، بستگی به غلظت اولیه گلوکز در خارج، $[S]_{out}$، دارد. **(b)** نمودار معکوس اطلاعات **(a)**. کینتیک انتشار تسهیل‌شده مشابه کینتیک واکنش آنزیمی است. این نمودارها را با شکل ۱۱-۸ و شکل ۱ در کادر ۱-۸ مقایسه نمایید. توجه کنید که K_t مشابه K_m ثابت میکائیلیس می‌باشد.



شکل ۲۷-۱۲. مدل انتقال گلوکز به داخل گلبول‌های قرمز توسط GluT1. این انتقال‌دهنده به شکل دو کونفورماسیون وجود دارد: T_1 که در آن جایگاه اتصال گلوکز در معرض سطح خارجی غشاء پلاسمایی بوده و T_2 که در آن جایگاه اتصالی در سطح داخلی است. انتقال گلوکز در چهار مرحله رخ می‌دهد. در مرحله ۱ گلوکز موجود در پلاسما به یک جایگاه دارای ویژگی فضایی بر روی T_1 اتصال می‌یابد، بنابراین انرژی فعال‌سازی را برای یک مرحله تغییر کونفورماسیونی (مرحله ۲) از S_{out} به S_{in} کاهش می‌دهد. در مرحله ۳، گلوکز از T_2 به داخل سیتوزول رها شده و در مرحله ۴، این انتقال‌دهنده به کونفورماسیون T_1 برگشت نموده و آماده انتقال ملکول بعدی گلوکز می‌گردد.

معادلات سرعت این فرایند را می‌توان دقیقاً همانند واکنش‌های آنزیمی (فصل ۸) بیان نمود و معادله‌ای مشابه معادله میکائیلیس-منتن (ص. ۲۹۴) بدست آورد:

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]_{out}}{K_t + [S]_{out}}$$

که در آن V_0 سرعت اولیه تجمع گلوکز در داخل سلول می‌باشد، در حالی که غلظت آن در محیط اطراف برابر با $[S]_{out}$ بوده و K_t ($K_{transport}$) ثابتی مشابه ثابت میکائیلیس، ترکیبی از ثابتهای سرعت هر سیستم انتقال، است. این سیستم سرعت *اولیه*، سرعتی که در آن $[S]_{in}$ برابر صفر است، را نشان می‌دهد. همانند واکنش‌های آنزیمی، معکوس‌نمودن این معادله، نمودار خطی $1/V_0$ در برابر $1/[S]_{out}$ را نشان می‌دهد که از آن می‌توان مقادیر V_{max} و K_t را بدست آورد (شکل ۲۶b-۱۲). K_t همانند K_m معیاری از تمایل انتقال‌دهنده به سوبسترا می‌باشد؛ هر چه K_t کمتر باشد، این تمایل بیشتر خواهد بود.

از آنجایی که در هنگام تبدیل S_{out} به S_{in}، هیچ پیوند شیمیایی شکسته و یا ایجاد نمی‌گردد، نه «سوبسترا» و نه «محصول» پایدارتر نبوده و بنابراین فرایند ورود کاملاً برگشت‌پذیر می‌باشد. وقتی $[S]_{in}$ به $[S]_{out}$ می‌رسد، سرعت ورود و خروج برابر می‌شوند. بنابراین چنین سیستمی نمی‌تواند سوبسترا (گلوکز) را به مقادیر بیش از میزان موجود

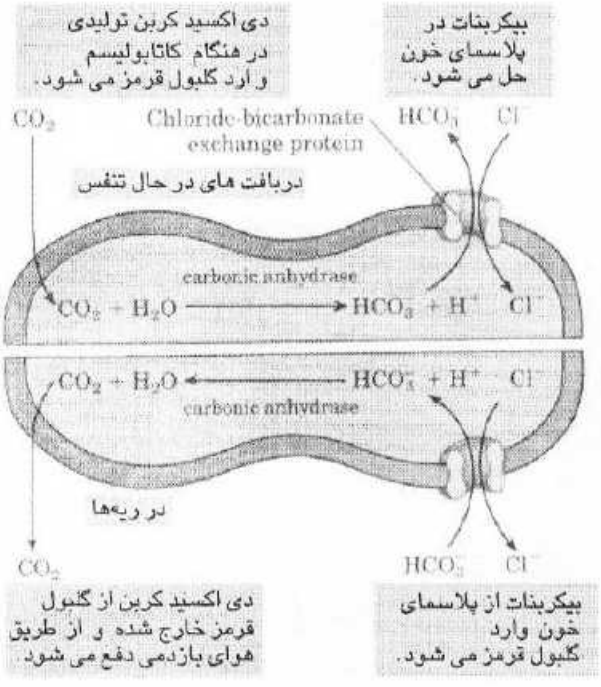
Book.Apfarsi.ir

در محیط اطراف، در داخل سلول‌ها جمع نماید؛ این سیستم تنها سبب می‌گردد که به تعادل رسیدن گلوکز موجود در دو سمت غشاء، با سرعت بسیاری سریعتری از حالت عدم وجود یک انتقال‌دهنده اختصاصی، صورت پذیرد. GluT1 برای D-گلوکز اختصاصی بوده و دارای K_t اندازه‌گیری‌شده ۱/۵ mM می‌باشد. برای ترکیبات بسیار مشابه D-مانوز و D-گالاکتوز، که تنها از نظر موقعیت یک گروه هیدروکسیل با گلوکز اختلاف دارند، مقادیر K_t به ترتیب برابر ۲۰ و ۳۰ mM می‌باشد؛ این میزان برای L-گلوکز از ۳،۰۰۰ mM تجاوز می‌نماید! بنابراین، GluT1 سه خصوصیت انتقال غیرفعال، شامل سرعت بالای انتشار در جهت شیب غلظت، قابلیت اشباع و ویژگی، را نشان می‌دهد. از آنجایی که غلظت گلوکز خون (۴/۵ تا ۵ mM) در مقادیر حدود سه برابر K_t حفظ می‌گردد، GluT1 تقریباً اشباع بوده و با سرعت نزدیک به V_{max} عمل می‌نماید.

در کبد، یک انتقال‌دهنده متفاوت گلوکز، GluT2، وجود دارد که وقتی گلیکوژن کبدی به گلوکز تجزیه می‌شود تا گلوکز خون را تأمین نماید، گلوکز را به خارج سلول‌های کبدی منتقل می‌کند. GluT2 دارای K_t در حدود ۶۶ mM می‌باشد و بنابراین می‌تواند به مقادیر افزایش‌یافته گلوکز داخل‌سلولی با افزایش انتقال به خارج، پاسخ دهد. بافت عضلانی و چربی، دارای انتقال‌دهنده دیگری، GluT4، می‌باشند که بوسیله تحریک آن توسط انسولین، تمایز داده می‌شود (کادر ۲-۱۲).

بیکربنات و کلراید در غشاء گلبول قرمز در یک زمان منتقل می‌گردند

گلبول قرمز دارای سیستم انتشار تسهیل‌شده دیگری، یک تعویض‌کننده آنیونی، است که برای انتقال CO_2 به ریه‌ها از بافت‌هایی نظیر عضله و کبد لازم می‌باشد. CO_2 دفعی در طی تنفس بافتی به داخل پلاسما خون رها شده و در آنجا بعد از ورود به داخل گلبول‌های قرمز، توسط آنزیم کربونیک انیدراز به بیکربنات (HCO_3^-) تبدیل می‌گردد. HCO_3^- مجدداً وارد پلاسما شده و به ریه‌ها منتقل می‌شود (شکل ۲۸-۱۲). از آنجایی که HCO_3^- در پلاسمای خون بسیار محلولتر از CO_2 می‌باشد، این واکنش‌ها منجر به افزایش ظرفیت خون در حمل دی‌اکسید کربن از بافتها به ریه‌ها می‌گردد. در ریه‌ها، HCO_3^- مجدداً وارد گلبول قرمز شده و بعد از تبدیل به CO_2، نهایتاً به داخل فضای ریه آزاد شده و دفع می‌گردد. برای اینکه این مسیر مؤثر باشد، نیاز به حرکت بسیار سریع HCO_3^- از عرض غشاء گلبول قرمز می‌باشد.



شکل ۲۸-۱۲. تعویض‌کننده کلراید-بیکربنات غشاء گلبول قرمز. این سیستم هم‌انتقالی، امکان ورود و خروج HCO_3^- را بدون تغییر در پتانسیل الکتریکی در عرض غشاء فراهم می‌سازد. نقش این سیستم در افزایش ظرفیت انتقال CO_2 توسط خون می‌باشد.

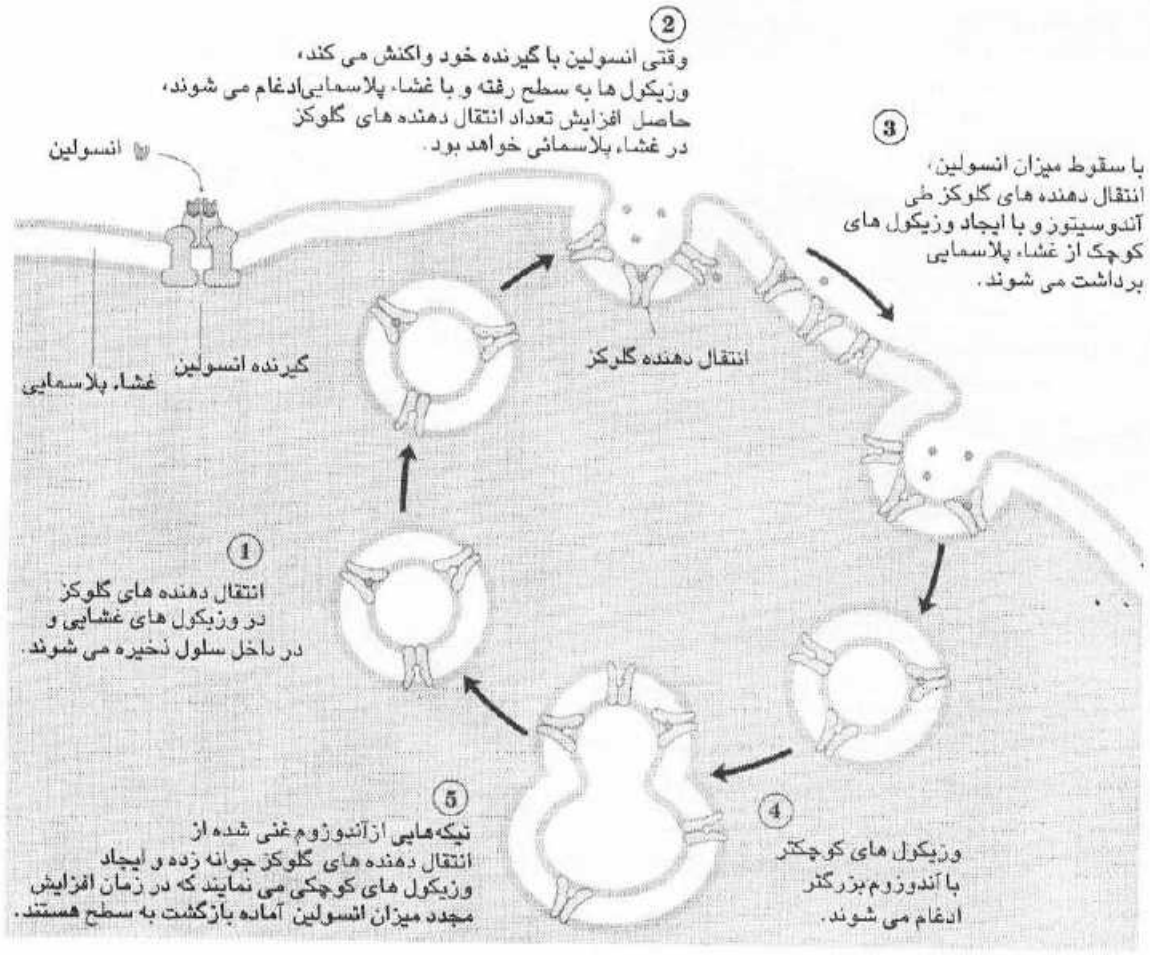
Book.Apfarsi.ir

کادر ۲-۱۲. نقص در انتقال گلوکز و آب در دو شکل دیابت.

وقتی با مصرف غذای غنی از کربوهیدرات، میزان گلوکز خون افزایش یافته و از غلظت معمول بین غذا (۵ mM) تجاوز می‌نماید، گلوکز اضافی توسط عضله قلب و عضله اسکلتی (که آن را به صورت گلیکوژن ذخیره می‌کنند) و سلول‌های چربی (که آن را به تری‌آسیل‌گلیسرول تبدیل می‌نمایند) برداشت می‌گردد. برداشت گلوکز به داخل سلول‌های عضلانی و چربی بواسطه انتقال‌دهنده GluT4 گلوکز به انجام می‌رسد. در بین غذا، غشاء پلاسمایی این سلول‌ها دارای مقداری GluT4 می‌باشد که در بیشتر موارد در داخل غشاءهایی از وزیکول‌های کوچک داخل‌سلولی مخفی می‌باشند (شکل ۱). آزادسازی انسولین‌از پانکراس در پاسخ به مقادیر بالای گلوکز خون، سبب تحریک حرکت این وزیکول‌های داخل‌سلولی به سمت غشاء پلاسمایی شده که در آنجا بعد از ادغام با غشاء پلاسمایی، ملکول‌های GluT4 را در سطح خارجی سلول به معرض می‌گذارند. با عمل تعداد بیشتری از ملکول‌های GluT4، سرعت برداشت گلوکز تا ۱۵ برابر افزایش می‌یابد. وقتی میزان گلوکز خون به حد طبیعی برگشت می‌نماید، آزادسازی انسولین کاهش یافته و بیشتر ملکول‌های GluT4 از غشاءهای پلاسمایی برداشت شده و در داخل وزیکول‌ها ذخیره می‌شوند.

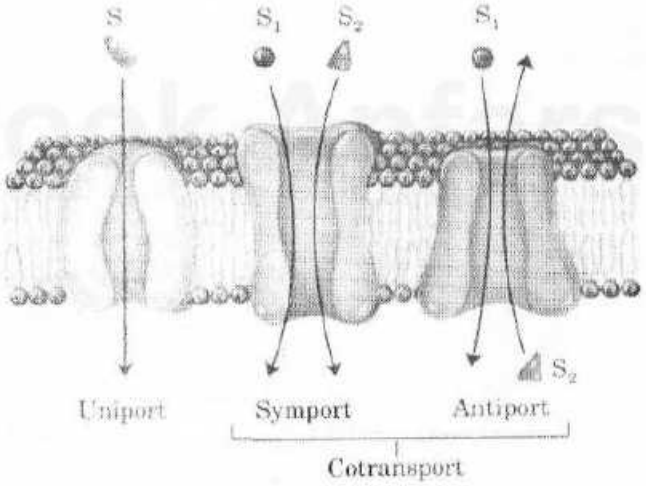
در دیابت نوع I (شروع در مرحله جوانی)، ناتوانی در رهاسازی انسولین (و بنابراین بحرکت درآمدن انتقال‌دهنده‌های گلوکز) منجر به کاهش سرعت برداشت گلوکز توسط بافت عضلانی و چربی می‌گردد. یکی از عوارض این کمبود آن است که بعد از صرف غذای غنی از کربوهیدرات، گلوکز خون زمان طولانی‌تری بالا باقی می‌ماند. این حالت اساس آزمایش تحمل گلوکز در تشخیص دیابت می‌باشد (فصل ۲۳).

نفوذپذیری سلول‌های اپی‌تلیال مفروش‌کننده مجرای جمع‌کننده کلیه، بخاطر وجود یک اکواپورین (AQP-2) در غشاءهای پلاسمایی رأسی (سمت مجرایی) آنها می‌باشد. هورمون ضد ادراری (ADH)، با بحرکت درآوردن ملکول‌های AQP-2 ذخیره‌شده در غشاءهای وزیکولی موجود در داخل این سلول‌های اپی‌تلیال، همانند بحرکت درآمدن GluT4 در بافت عضلانی و چربی توسط انسولین، سبب احتباس آب می‌گردد. وقتی این وزیکول‌ها با غشاء پلاسمایی سلول اپی‌تلیال ادغام می‌شوند، نفوذپذیری آب به میزان قابل‌توجهی افزایش یافته و آب بیشتری از مجرای جمع‌کننده بازجذب شده و به گردش خون برمی‌گردد. با سقوط میزان ADH، AQP-2 مجدداً در داخل وزیکول‌ها مخفی شده و احتباس آب کاهش می‌یابد. در بیماری انسانی نادر دیابت بیمزه، نقص ژنتیکی AQP-2 منجر به اختلال در بازجذب آب توسط کلیه می‌گردد. حاصل تولید حجم بالائی از ادرار بسیار رقیق می‌باشد.



شکل ۱. تنظیم انتقال گلوکز در یک سلول عضلانی توسط انسولین.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۹-۱۲. سه‌کلاس عمومی سیستم‌های انتقال. انتقال‌دهنده‌ها از نظر تعداد ماده (سوبسترا) انتقالی و جهت انتقال هر کدام از مواد با یکدیگر متفاوت هستند. مثالهای مربوط به هر کدام از این انتقال‌دهنده‌ها در داخل متن مورد بحث قرار گرفته‌اند. توجه داشته باشید که این طبقه‌بندی، چیزی در مورد فرایندهای نیازمند به مصرف انرژی (انتقال فعال) یا مستقل از انرژی (انتقال غیرفعال) به ما نمی‌گوید.

تعویض‌کننده کلراید-بیکربنات[1]، یا **پروتئین تعویض آنیونی**[2]، نفوذپذیری غشاء گلبول قرمز را به HCO_3^- بیش از یک میلیون برابر افزایش می‌دهد. همانند انتقال‌دهنده گلوکز، این تعویض‌کننده یک پروتئین داخلی است که احتمالاً ۱۲ بار بر روی غشاء پل می‌زند. این پروتئین انتقال همزمان دو آنیون را وساطت می‌نماید: برای هر HCO_3^- انتقالی در یک جهت، یک Cl^- در جهت مخالف انتقال داده می‌شود (شکل ۲۸-۱۲). جفت‌شدن انتقال HCO_3^- و Cl^- اجباری است؛ در غیاب کلراید، انتقال بیکربنات متوقف می‌گردد. از این نظر، این تعویض‌کننده آنیونی نوع شاخص تمامی سیستم‌هایی، با نام **سیستم‌های هم‌انتقالی**[3]، می‌باشد که به‌طور همزمان دو ماده را در عرض غشاء منتقل می‌نمایند. وقتی همانند این حالت، دو سوبسترا در جهت‌های مخالف انتقال داده می‌شوند، فرایند را **هم‌انتقالی ناهمسو**[4] گویند. در **هم‌انتقالی همسو**[5]، دو سوبسترا به‌طور همزمان در یک جهت جابجا می‌شوند. انتقال‌دهنده‌هایی که تنها یک سوبسترا را انتقال می‌دهند، نظیر انتقال‌دهنده گلوکز، سیستم‌های **تک‌انتقالی**[6] هستند (شکل ۲۹-۱۲).

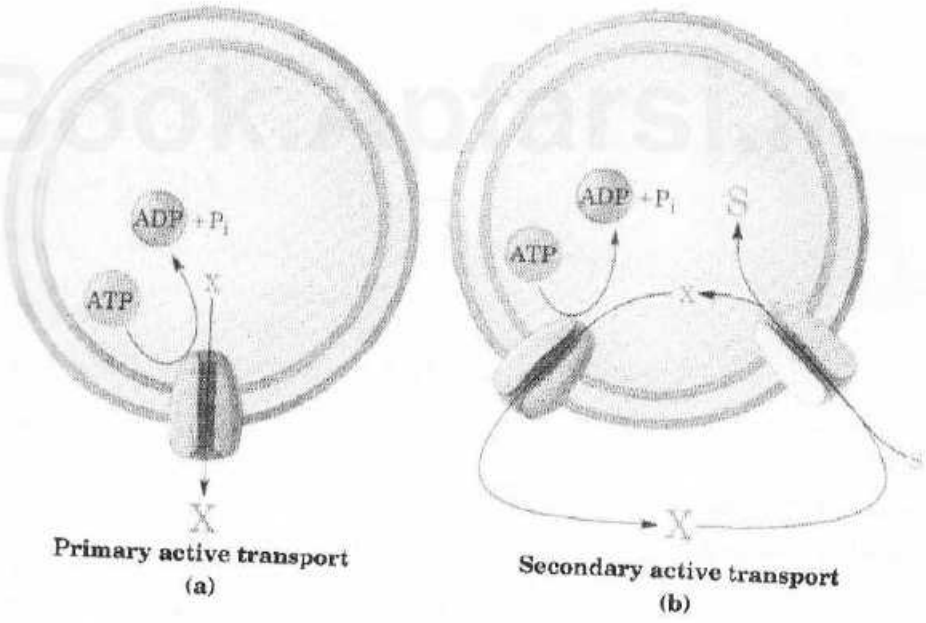
انتقال فعال منجر به حرکت یک ماده در برابر یک شیب غلظتی یا الکتروشیمیایی می‌گردد

در انتقال غیرفعال، انتقال ماده همواره در جهت شیب الکتروشیمیایی بوده و در بالای نقطه تعادل تجمع نمی‌یابد. برعکس، انتقال فعال منجر به تجمع ماده در بالای نقطه تعادلی آن می‌گردد. انتقال فعال از نظر ترمودینامیک غیرمساعد بوده و تنها زمانی به انجام می‌رسد که (به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم) با یک فرایند انرژی‌زا، نظیر جذب نور خورشید، یک واکنش اکسیداسیون، هیدرولیز ATP یا جریان همزمان ماده شیمیایی دیگر در جهت شیب الکتروشیمیایی خود، جفت گردد. در **انتقال فعال اولیه**، تجمع ماده مستقیماً همراه با یک واکنش شیمیایی انرژی‌زا، نظیر تبدیل ATP به ADP و Pi، می‌باشد (شکل ۳۰-۱۲). **انتقال فعال ثانویه** زمانی به انجام می‌رسد که انتقال انرژی‌خواه (در خلاف جهت شیب) یک ماده با جریان انرژی‌زای (در جهت شیب) یک ماده متفاوت دیگری جفت می‌گردد که خود قبلاً توسط انتقال فعال اولیه در جهت شیب پمپ شده است.

میزان انرژی مورد نیاز برای انتقال یک ماده در برابر یک شیب را می‌توان از شیب غلظتی ابتدایی محاسبه نمود. معادله عمومی تغییر انرژی آزاد در فرایند شیمیایی که S را به P تبدیل می‌نماید، عبارتست از:

1- Chloride-bicarbonate exchanger
2- Anion exhange protein
3- Cotransport
4- Antiport
5- Symport
6- Uniport

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۲-۳۰. دو نوع انتقال فعال. **(a)** در انتقال فعال اولیه، انرژی حاصل از هیدرولیز ATP، سبب حرکت ماده در خلاف جهت شیب الکتروشیمیائی آن می‌گردد. **(b)** در انتقال فعال ثانویه، ابتدا شیب یک یون X (اغلب Na^+) بر مکانیسم انتقال فعال اولیه ایجاد می‌شود. سپس حرکت X در جهت شیب الکتروشیمیائی خود، انرژی مورد نیاز برای هم‌انتقالی ماده دوم (S) را در خلاف شیب الکتروشیمیائی آن فراهم می‌سازد.

$$\Delta G = \Delta G'^{\circ} + RT \ln [P]/[S] \qquad (۱۲-۱)$$

که در آن R ثابت گازها (۸/۳۱۵ J/mol.K) و T دمای مطلق می‌باشد. وقتی «واکنش» تنها شامل انتقال یک ماده از یک ناحیه با غلظت C_1 به ناحیه دیگری با غلظت C_2 می‌باشد، هیچ پیوندی شکسته یا ساخته نشده و تغییر انرژی آزاد استاندارد، $\Delta G'^{\circ}$، برابر صفر می‌باشد. آنگاه تغییر انرژی آزاد برای انتقال، ΔG_t، برابر است با:

$$\Delta G_t = RT \ln (C_2/C_1) \qquad (۱۲-۲)$$

در صورتی که اختلاف ده برابری در غلظت بین دو بخش وجود داشته باشد، بنابراین، بهای حرکت ۱ mol ماده بدون بار در ۲۵°C در عرض غشاء جداکننده این بخش‌ها برابر خواهد بود با:

$$\Delta G_t = (8.315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(298 \text{ K})(\ln 10/1) = 5{,}705 \text{ J/mol} = 5.7 \text{ kJ/mol}$$

معادله ۲-۱۲ برای تمامی مواد بدون بار صادق می‌باشد.

وقتی این ماده یک آنیون باشد، حرکت آن بدون همراهی با یک یون مخالف، منجر به جداسازی انرژی‌گیر بارهای مثبت و منفی شده و ایجاد یک پتانسیل الکتریکی می‌نماید؛ چنین فرایند انتقالی را **الکتروژنیک** گویند. بهای انرژتیک حرکت یک یون بستگی به پتانسیل الکتروشیمیایی دارد، مجموع شیب‌های شیمیایی و الکتریکی برابر است با:

$$\Delta G_t = RT \ln (C_2/C_1) + Z\mathcal{F}\Delta\psi \qquad (۱۲-۳)$$

که در آن Z بار موجود بر روی یون، $\mathcal{F}$ ثابت فارادی (۹۶,۴۸۰ J/V.mol)، و $\Delta\psi$ پتانسیل الکتریکی موجود در عرض غشاء (برحسب ولت) می‌باشد. پتانسیل الکتریکی موجود در عرض غشاءهای پلاسمایی سلول‌های اوکاریوتی در حدود ۰٫۰۵ تا ۰/۲V می‌باشد (داخل سلول نسبت به خارج آن منفی است)، بنابراین قسمت دوم معادله ۳-۱۲ می‌تواند همکاری قابل‌توجهی در تغییر انرژی آزاد تام انتقال یک یون داشته باشد. بیشتر سلول‌ها، اختلافی بیش از

Book.Apfarsi.ir

جدول ۴-۱۲. چهار کلاس ATPaseهای انتقالی

	موجود زنده یا بافت	نوع غشاء	نقش ATPase
ATPaseهای نوع P			
Na^+K^+	بافت‌های حیوانی	پلاسمائی	حفظ $[Na^+]$ پائین و $[K^+]$ بالا در داخل سلول؛ ایجاد پتانسیل الکتریکی در عرض غشاء
H^+K^+	سلول‌های ترشح‌کننده اسید (پاریتال) در پستانداران	پلاسمائی	اسیدی‌نمودن محتویات معده
H^+	قارچ‌ها (*Neurospora*)	پلاسمائی	ایجاد شیب H^+ برای انجام انتقال ثانویه
H^+	گیاهان عالی	پلاسمائی	مواد خارج‌سلولی به داخل سلول
Ca^{2+}	بافت‌های حیوانی	پلاسمائی	حفظ $[Ca^{2+}]$ پائین در سیتوزول
Ca^{2+}	سلول‌های عضلانی حیوانات	شبکه سارکوپلاسمی (شبکه آندوپلاسمی)	مخفی‌نمودن Ca^{2+} داخل‌سلولی برای پائین نگه‌داشتن $[Ca^{2+}]$ سیتوزولی
Cd^{2+}, Hg^{2+}, Cu^{2+}	باکتریها	پلاسمائی	پمپ یونهای فلزی سنگین به خارج سلول
ATPaseهای نوع V			
H^+	حیوانات	وزیکولهای لیزوزومی آندوزومی، ترشحی	ایجاد pH پائین در قسمت مربوطه، فعال‌نمودن پروتئازها و سایر آنزیمهای هیدرولیتیک
H^+	گیاهان عالی	واکوئلی	
H^+	قارچ‌ها	واکوئلی	
ATPaseهای نوع F			
H^+	اوکاریوت‌ها	میتوکندریائی داخلی	کاتالیز تولید ATP از ADP + Pi
H^+	گیاهان عالی	تیلاکوئیدی	
H^+	پروکاریوت‌ها	پلاسمائی	
انتقال‌دهنده چنددارویی			
	سلول‌های توموری حیوانی	پلاسمائی	برداشت انواع مختلفی از داروهای سنتتیک و محصولات خنثی آبگریز، نظیر وین‌بلاستین، دوکسوروبیسین، اکتینومایسین D، میتومایسین، تاکسول، کلشی‌سین و پوروماپسین، از سیتوزول

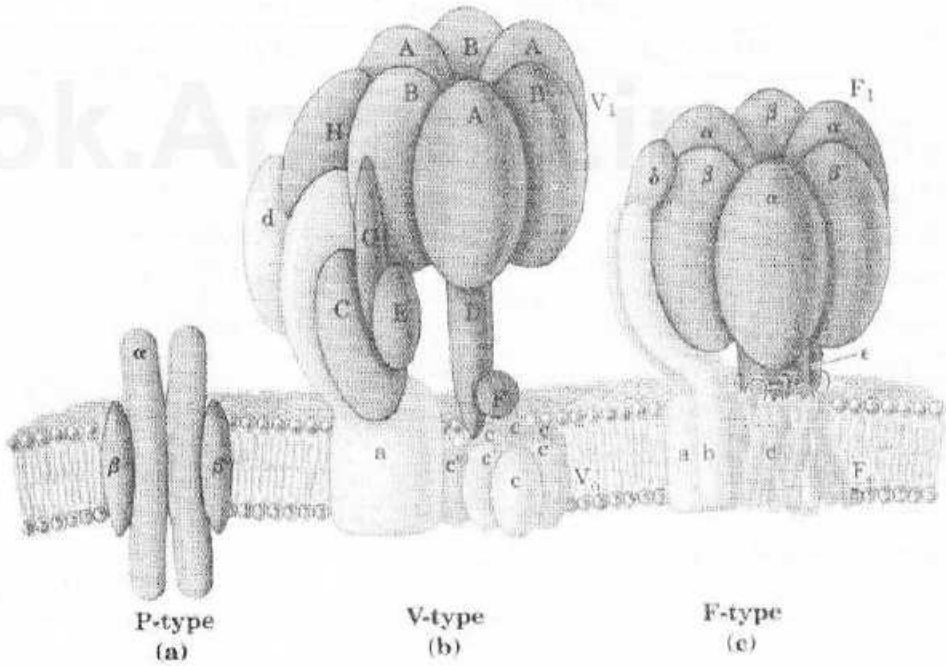
ده برابر را در غلظت‌های یونی موجود در دو طرف غشاءهای پلاسمایی یا داخل‌سلولی خود حفظ می‌نمایند، و بنابراین برای بسیاری از سلول‌ها و بافت‌ها، انتقال فعال یک فرایند مهم مصرف‌کننده انرژی می‌باشد.

مکانیسم انتقال فعال، اهمیت اساسی در بیولوژی دارد. همانطور که در فصل ۱۹ خواهیم دید، تولید ATP در میتوکندری و کلروپلاست، با استفاده از مکانیسمی به انجام می‌رسد که لزوماً عکس انتقال یونی وابسته به ATP می‌باشد. انرژی حاصل از جریان خودبخودی پروتون‌ها در عرض یک غشاء از معادله ۳-۱۲ قابل محاسبه می‌باشد؛ به‌خاطر داشته باشید که برای جریان در جهت شیب الکتروشیمیایی، علامت ΔG مخالف میزان مربوط به انتقال در خلاف این شیب می‌باشد.

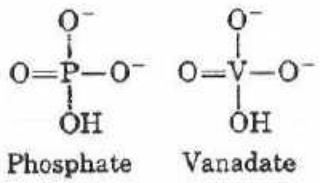
حداقل چهار نوع عمومی ATPase انتقالی وجود دارد

در طی دوره تکامل، انواع مختلف انتقال دهنده‌های وابسته به ATP ایجاد شده است که از نظر ساختمان، مکانیسم و موقعیت آنها در بافتهای اختصاصی و قسمت‌های داخل سلولی با یکدیگر متفاوت می‌باشند (جدول ۴-۱۲).

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۱-۱۲. زیرواحد ساختمانی سه نوع ATPase انتقال‌دهنده یون. (a) ATPaseهای نوع P دارای دو نوع زیرواحد پروتئینی داخلی هستند. زیرواحد α که ضروری است، دارای ریشه Asn می‌باشد که در هنگام انتقال فسفریله می‌گردد. **(b)** ATPaseهای نوع V دارای یک دومن محیطی، V_1، متشکل از هفت نوع مختلف زیرواحد، شامل سه زیرواحد A و سه‌زیرواحد B، و یک دومن داخلی، V_o، متشکل از سه نوع زیرواحد شامل نسخ متعددی از c، می‌باشند. **(c)** ATPaseهای نوع F دارای یک دومن محیطی، F_1، مشابه V_1 موجود در ATPaseهای نوع V، هستند. قسمت داخلی ATPaseهای نوع F، F_o، نیز دارای سه نوع زیرواحد همراه با نسخ متعدد c می‌باشد. پمپهای نوع P، همانند Na^+K^+ATPase، دو یون را در دو جهت مخالف منتقل می‌نمایند. پمپهای پروتونی نوع V و نوع F، پروتونها را در یک جهت (در این شکل از بالا به پائین) انتقال می‌دهند که در مورد نوع V بداخل پاکوئلها و در مورد نوع F بخارج میتوکندری می‌باشد.



ATPase های نوع P انتقال‌دهنده‌های کاتیونی وابسته به ATP می‌باشند که در طی چرخه انتقالی به‌طور برگشت‌پذیر توسط ATP فسفریله می‌گردند. تمامی ATPase های انتقالی نوع P دارای شباهت‌هایی در توالی اسید آمینه‌ای خود، بخصوص در نزدیکی ریشه Asp که متحمل فسفریلاسیون می‌شوند، بوده و همگی به مهار توسط ترکیب **وانادات** مشابه فسفات حساس هستند. هر کدام از این انتقال‌دهنده‌ها یک پروتئین داخلی با نواحی متعدد پل‌زننده بر روی غشاء، به صورت یک پلی‌پپتید واحد می‌باشند؛ تعدادی نیز دارای زیرواحد دوم هستند (شکل ۳۱a-۱۲). انتقال‌دهنده‌های نوع P انتشار وسیعی دارند. در بافت‌های حیوانی، Na^+K^+ATPase، یک هم‌انتقال‌دهنده ناهمسو[1] یون‌های Na^+ و K^+، و Ca^{2+} ATPase، یک تک‌انتقال‌دهنده[2] Ca^{2+}، انتقال‌دهنده‌های نوع P شناخته‌شده و موجود در همه جا می‌باشند که عدم‌تعادلی را در ترکیب یونی بین سیتوزول و محیط خارج‌سلولی حفظ می‌نمایند. سلول‌های پاریتال مفروش‌کننده معده پستانداران دارای یک ATPase نوع P می‌باشد که که با پمپاژ H^+ و K^+ در عرض غشاء، محتویات معده را اسیدی می‌نماید. در گیاهان آلی، پمپ‌های ATPase نوع P، پروتون‌ها را به خارج سلول منتقل نموده و ایجاد pH در حدود ۲ و پتانسیل ۲۵۰ mV در عرض غشاء پلاسمایی می‌نمایند. یک ATPase نوع P مشابه در کپک نان *Neurospora*، پروتون‌ها را به خارج سلول پمپ نموده و ایجاد یک پتانسیل منفی در داخل می‌کند که صرف برداشت سوبسترا و

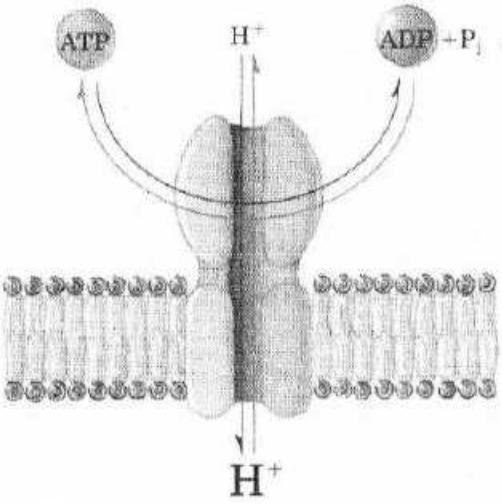
1- Antiporter 2- Uniporter

Book.Apfarsi.ir

یون‌ها توسط انتقال فعال ثانویه از محیط اطراف می‌گردد. باکتری‌ها از ATPaseهای نوع P برای پمپ‌نمودن یون‌های فلزی سنگین سمی، نظیر Cd^{2+} و Cu^{2+} استفاده می‌کنند.

کلاس متفاوت دیگری از ATPaseهای انتقال‌دهنده پروتون، مسئول اسیدی‌نمودن قسمت‌های داخل‌سلولی در بسیاری از موجودات زنده می‌باشد. واکوئل‌های موجود در قارچ‌ها و گیاهان آلی دارای pH بین ۳ تا ۶ بوده که بخوبی کمتر از pH سیتوزولی اطراف (pH برابر ۷/۵) است؛ این اختلاف حاصل عمل **APTaseهای نوع V** (پمپ‌های پروتونی) می‌باشد. ATPaseهای نوع V (V برای واکوئلی) همچنین مسئول اسیدی‌نمودن لیزوزوم‌ها، آندوزوم‌ها، کمپلکس گلژی و وزیکول‌های ترشحی سلول‌های حیوانی هستند. از نظر ساختمانی، ATPaseهای نوع V ارتباطی با انواع P نداشته و همچنین توسط وانادات مهار نشده و دچار فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون چرخه‌ای نمی‌گردند. تمامی ATPaseهای نوع V دارای ساختمان پیچیده مشابه بوده و از یک دومن داخلی (ترانس‌ممبران؛ V_O) به‌عنوان یک کانال پروتونی و یک دومن محیطی (V_1) حاوی جایگاه اتصال ATP و فعالیت ATPase، تشکیل شده‌اند (شکل ۳۱b-۱۲). جزئیات مکانیسم جفت‌شدن ATPaseهای نوع V با هیدرولیز ATP برای انتقال پروتون‌ها برخلاف شیب آنها، نامشخص می‌باشد. از نظر ساختمانی، و احتمالاً مکانیسم، پمپ‌های پروتونی نوع V با خانواده سوم پمپ‌های پروتونی، یعنی ATPaseهای نوع F، ارتباط دارند.

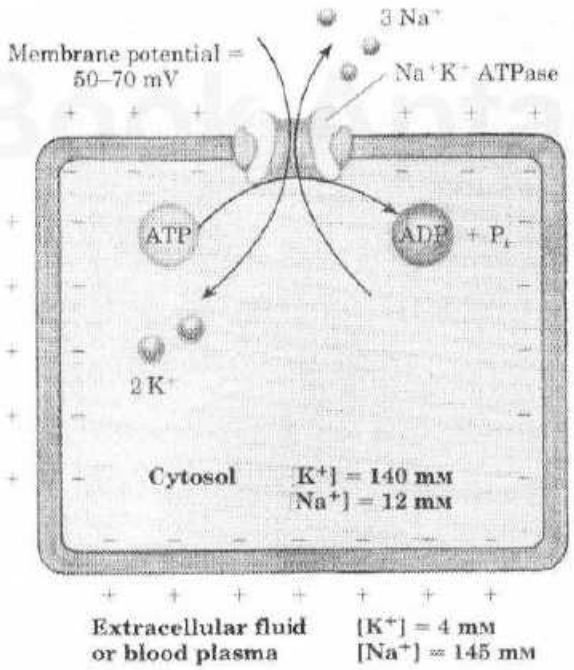
ATPaseهای نوع F نقش مهمی را در واکنش‌های حفظ‌کننده انرژی در باکتری‌ها، میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها دارند؛ این نقش در هنگام بحث پیرامون فسفریلاسیون اکسیداتیو و فتوفسفریلاسیون در فصل ۱۹، مورد بررسی قرار خواهد گرفت. (*F* موجود در نام این ATPaseها از شناسایی آنها به‌عنوان «فاکتورهای جفت‌کننده انرژی» گرفته شده است.) این ATPaseها، با هیدرولیز ATP، انتقال سربالای پروتون‌ها را از عرض غشاء، و همچنین واکنش عکس را کاتالیز می‌نمایند که در آن جریان سرپایین پروتون‌ها منجر به سنتز ATP می‌گردد، (شکل ۳۲-۱۲). در حالت دوم، نام مناسب‌تر ATPase نوع F، **ATP سنتاز** می‌باشد. شیب پروتونی در فسفریلاسیون اکسیداتیو و فتوفسفریلاسیون حاصل انواع دیگری از پمپ‌های پروتونی است که انرژی خود را از اکسیداسیون سوبسترا و یا نور خورشید دریافت می‌کنند. ATPaseهای نوع F / ATP سنتازها، کمپلکس‌های چند زیرواحدی هستند که ایجاد یک منفذ در عرض غشاء (پروتئین داخلی F_O) برای پروتون‌ها و یک ماشین ملکولی (پروتئین محیطی F_1) می‌نمایند که در آن قسمت اخیر از انرژی رهاشده در هنگام جریان سرپایین از میان F_O، برای ایجاد پیوندهای فسفوانیدریدی ATP استفاده می‌کند. فعالیت‌های سنتز ATP و ATPase در پروتئین F_1 وجود دارد (شکل ۳۱c-۱۲).



شکل ۳۲-۱۲. برگشت‌پذیری ATPaseهای نوع F. یک ترانسپورتر هیدرولیزکننده ATP، در صورت جریان پروتونها در جهت شیب الکتروشیمیائی آنها، سنتز ATP را نیز کاتالیز می‌نماید.

در اواسط دهه ۱۹۸۰، مشخص گردید که بعضی از تومورها به تعدادی از ترکیبات ضدتومور مؤثر، مقاوم می‌باشند. تحقیقات نشان داد که غشاءهای پلاسمایی این تومورها دارای یک انتقال‌دهنده وابسته به ATP می‌باشند

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۳-۱۲. $Na^+K^+ATPase$ در سلولهای حیوانی. این سیستم انتقال اساساً مسئول ایجاد و حفظ غلظتهای داخل‌سلولی Na^+ و K^+، و همچنین ایجاد یک پتانسیل الکتریکی در عرض غشاء می‌باشد. این پمپ با انتقال سه یون Na^+ بخارج سلول به ازاء انتقال دو یون K^+ بداخل سلول این اعمال را به انجام می‌رساند. پتانسیل الکتریکی نقش اصلی را در پیام‌رسانی الکتریکی در نرونها داشته و شیب Na^+ برای هم‌انتقالی سریالا مواد در انواع مختلف سلولها مورد استفاده قرار می‌گیرد.

که قادر به حمل تعداد زیادی از داروها بوده و مانع از تجمع داروهها در داخل سلول‌ها و اثرات ضد رشد آنها می‌گردد. داروهای انتقال داده‌شده از نظر شیمیایی مشابه نبوده، ولی عموماً آبگریز هستند. این **انتقال‌دهنده چنددارویی**[1] مسئول برداشت این داروها از سیتوزول سلول توموری، یک پروتئین داخلی (وزن‌ملکولی ۱۷۰،۰۰۰) با ۱۲ قطعه ترانس‌ممبران و دو جایگاه اتصالی ATP می‌باشد. انتقال دارو با استفاده از نیروی هیدرولیز ATP تأمین می‌گردد. همچنین این انتقال‌دهنده چنددارویی یک کانال یونی است که به‌طور اختصاصی امکان انتشار Cl^- را در جهت شیب غلظتی آن فراهم می‌سازد؛ این فعالیت مستقل از ATP می‌باشد. در بیماری ژنتیک فیبروز کیستیک، نقص زمینه‌ای در ژن کدکننده یک پروتئین ناقل Cl^-، بنام «تنظیم‌کننده هدایت ترانس‌ممبران فیبروز کیستیک»[2] (CFTR)، می‌باشد که ممکن است با انتقال‌دهنده چنددارویی سلول‌های توموری ارتباط داشته باشد (کادر ۳-۱۲).



Jens Skou

یک ATPase نوع P، انتقال همزمان Na^+ و K^+ را کاتالیز می‌نماید

در تمامی سلول‌های حیوانی، غلظت داخل سلولی Na^+ کمتر و غلظت K^+ بیشتر از محیط اطراف می‌باشد (شکل ۳۳-۱۲). این عدم تعادل توسط یک سیستم انتقال فعال اولیه در غشاء پلاسمایی ایجاد و حفظ می‌گردد. آنزیم $Na^+K^+ATPase$ که در سال ۱۹۵۷ توسط جنز اسکو کشف گردید، هیدرولیز ATP را با حرکت همزمان Na^+ و K^+ در خلاف جهت شیب الکتروشیمیایی آنها، جفت می‌نماید. به‌ازاء تبدیل هر ملکول ATP به ADP و Pi، این انتقال‌دهنده دو یون K^+ را به داخل و سه یون Na^+ را به خارج سلول انتقال می‌دهد. $Na^+K^+ATPase$ یک پروتئین داخلی متشکل از دو زیرواحد (با وزنهای ملکولی حدود ۵۰،۰۰۰ و ۱۱۰،۰۰۰) می‌باشد که هر دو بر روی غشاء پل می‌زنند.

جزئیات مکانیسم جفت‌شدن هیدرولیز ATP با انتقال یون‌ها، منتظر تعیین ساختمان سه‌بعدی این پروتئین می‌باشد، ولی طبق یک مدل رایج (شکل ۳۴-۱۲)، این ATPase بین دو شکل، شامل شکل فسفریله ($P\text{-}Enz_{II}$) با تمایل بالا برای K^+ و تمایل پایین برای Na^+، و یک شکل دفسفریله (Enz_I) با تمایل بالا برای Na^+

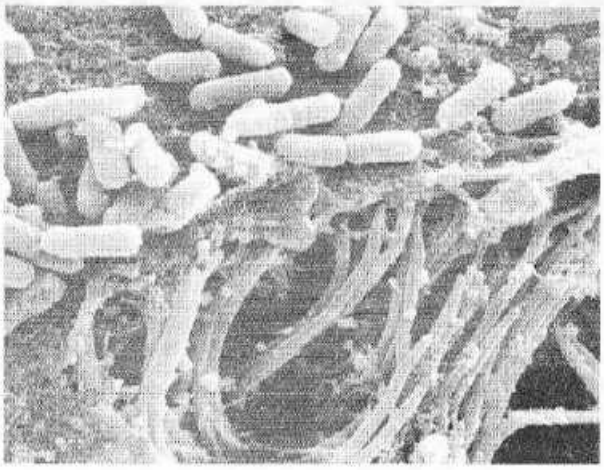
1- Multidrug transporter 2- Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

Book.Apfarsi.ir

کادر ۳-۱۲. نقص یک کانال یونی سبب فیبروز کیستیک می‌گردد

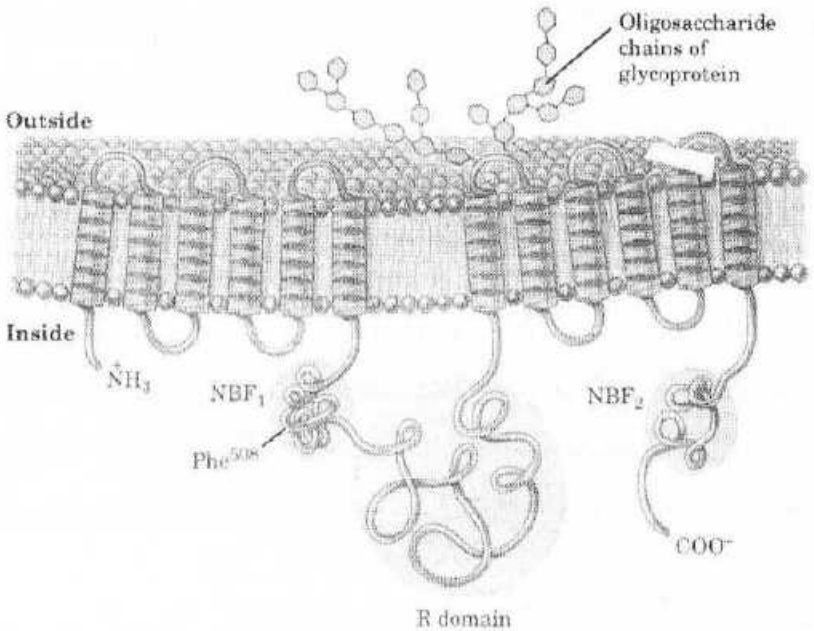
فیبروز کیستیک (CF) یک بیماری جدی نسبتاً شایع انسان می‌باشد. حدود ۵٪ سفیدپوستان آمریکا حاملین این بیماری هستند که یک نسخه معیوب و یک نسخه طبیعی ژن آن را دارند. تنها افرادی علائم شدید بیماری را نشان می‌دهند که هر دو نسخه معیوب را داشته باشند: انسداد مجاری گوارشی و تنفسی اغلب همراه با عفونت باکتریایی مجاری هوایی بوده که قبل از ۳۰ سالگی، به دلیل عدم‌کفایت تنفسی منجر به مرگ می‌گردد. در CF، لایه مخاطی نازکی که به‌طور طبیعی سطوح داخلی ریه‌ها را می‌پوشاند، به‌طور غیرطبیعی ضخیم بوده و با انسداد جریان هوا، محیط مناسبی را برای رشد باکتری‌های بیماریزا، بخصوص *Staphylococcus aureus* و *Pseudomonas aeroginosa* فراهم می‌آورد.

ژن معیوب موجود در بیماران مبتلا به CF در سال ۱۹۸۹ کشف گردید. این ژن پروتئین غشایی را بنام «تنظیم‌کننده هدایت ترانس‌ممبران فیبروز کیستیک» یا CFTR رامکد می‌نماید که دارای ۱۲ مارپیچ ترانس‌ممبران بوده و از نظر ساختمانی با انتقال‌دهنده‌های چنددارویی تومورهای مقاوم به دارو ارتباط دارد (شکل ۱). پروتئین CFTR طبیعی یک کانال یونی اختصاصی برای Cl^- می‌باشد. وقتی گروه‌های فسفریل توسط پروتئین کیناز وابسته به cAMP (فصل ۱۳)، از ATP به زنجیرهای جانبی متعدد CFTR انتقال می‌یابد، فعالیت این پروتئین به میزان زیادی افزایش می‌یابد. جهش مسئول CF در ۷۰٪ موارد به حذف یک ریشه Phe در موقعیت ۵۰۸ منجر شده و اثر آن به صورتی است که دیگر این پروتئین جهش‌یافته نمی‌تواند به‌طور صحیح تاشده و در داخل غشاء پلاسمایی قرار داده شود. سایر جهش‌ها منجر به تولید پروتئینی می‌شوند که به‌طور صحیح در داخل غشاء قرار گرفته، ولی نمی‌تواند توسط فسفریلاسیون فعال گردد. در هر حالت، مشکل اساسی، ایجاد یک کانال Cl^- معیوب در سلول‌های اپی‌تلیال مفروش‌کننده مجاری هوایی (شکل ۲)، مجرای گوارش و غدد برون‌ریز (پانکراس، غدد عرق، مجاری صفراوی و عروق واپران) می‌باشد.



شکل ۲. مخاط مفروش‌کننده سطح ریه‌ها، باکتری‌ها را بدام می‌اندازد. در ریه‌های سالم، این باکتری‌ها کشته شده و توسط مژک‌ها به بیرون رانده می‌شوند. در CF، این فعالیت باکتری‌کشی مختل شده که حاصل آن عفونت‌های مکرر و آسیب پیشرونده به ریه‌ها می‌باشد.

به‌طور طبیعی، سلول‌های اپی‌تلیال مفروش‌کننده سطح داخلی ریه‌ها ماده‌ای را ترشح می‌نمایند که باکتری‌ها را بدام انداخته و می‌کشد، و مژکهای موجود در سطح سلول‌های اپی‌تلیال به‌طور دائمی نخاله‌های حاصل را به بیرون هدایت می‌نمایند. براساس یک فرضیه، این فعالیت باکتری‌کشی نیاز به غلظت نسبتاً پایین NaCl دارد. در مبتلایان به CF، نقص در CFTR کانال Cl^- منجر به افزایش غلظت NaCl در مایع سطحی شده و این مایع اثر بسیار کمتری در کشتن باکتری‌ها دارد. عفونت‌های مکرر با عواملی نظیر *S. aureus* و *P. aeroginosa* منجر به آسیب پیشرونده ریه‌ها و کاهش کفایت تنفسی می‌گردد.



شکل ۱. توپولوژی «تنظیم‌کننده هدایت ترانس‌ممبران فیبروز کیستیک» یا CFTR. ۱۲ مارپیچ ترانس‌ممبران، به همراه سه دومن وظیفه‌دار مهم برآمده از سمت سیتوزولی وجود دارد: NBF_1 و NBF_2 خم‌های اتصالی نوکلئوتید می‌باشند که ATP به آنها اتصال می‌یابد و دومن تنظیمی (دومن R). جایگاه فسفریلاسیون توسط پروتئین کیناز وابسته به cAMP است. زنجیرهای اولیگوساکاریدی به ریشه‌های متعدد موجود در سطح خارجی قطعه موجود در بین مارپیچ‌های ۷ و ۸، متصل می‌گردند. معمول‌ترین جهشی که منجر به ایجاد CF می‌گردد، حذف Phe^{508} در دومن NBF_1 می‌باشد. ساختمان CFTR بسیار شبیه به انتقال‌دهنده چنددارویی تومورها بوده که در داخل متن توضیح داده شده است.

Book.Apfarsi.ir

و تمایل پایین برای K^+، چرخش می‌نماید. تبدیل ATP به ADP و Pi در دو مرحله توسط این آنزیم کاتالیز می‌گردد.

(۱) تشکیل فسفوآنزیم:

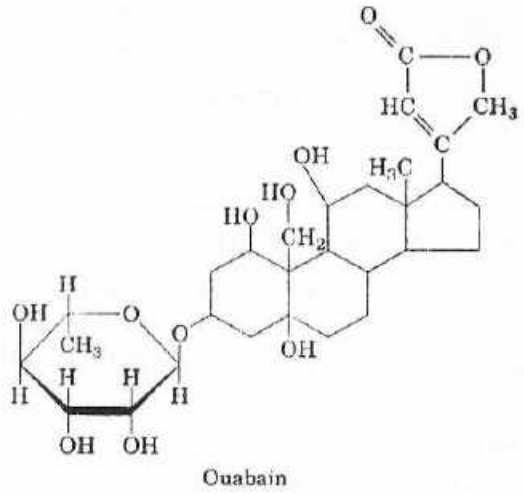
$$ATP + Enz_I \longrightarrow ADP + P\text{–}Enz_{II}$$

(۲) هیدرولیز فسفوآنزیم:

$$P\text{–}Enz_{II} + H_2O \longrightarrow Enz_I + P_i$$

واکنش خالص برای این دو مرحله عبارتست از:

$$ATP + H_2O \longrightarrow ADP + P_i$$


Ouabain

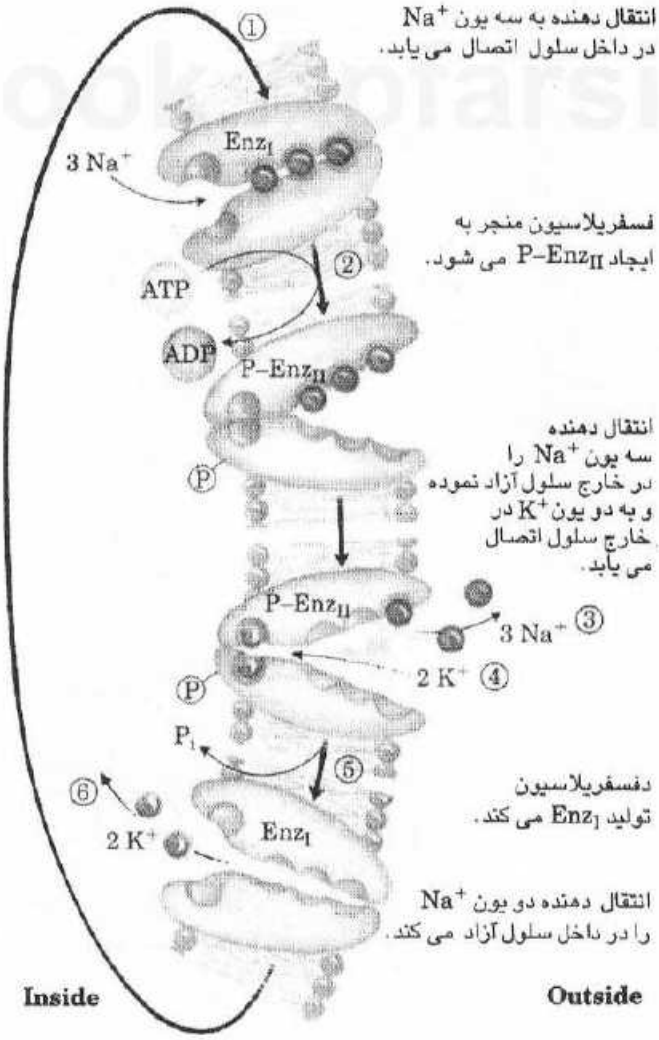
از آنجایی‌که به ازاء هر دو یون K^+ انتقالی به داخل، سه یون Na^+ به خارج منتقل می‌گردد، این فرایند الکتروژنیک بوده و سبب بوجودآمدن اختلاف خالص بار در عرض غشاء می‌گردد. حاصل ایجاد پتانسیل ترانس‌ممبران ۵۰- تا ۷۰- mV (داخل منفی نسبت به خارج) می‌باشد که مشخصه اکثر سلول‌های حیوانی بوده و برای هدایت پتانسیل عمل در نرون‌ها ضروری است. نقش مرکزی Na^+K^+ATPase با انرژی مصرفی در طی این واکنش مشخص می‌گردد: حدود ۲۵٪ کل مصرف انرژی یک انسان در حال استراحت مربوط به این واکنش می‌باشد! مشتق استروئیدی وابین[1] (با تلفظ wah´-bane؛ مشتق از کلمه سومالیایی *waa bayyo* به معنی «سم تیر») یک مهارکننده قوی و اختصاصی Na^+K^+ATPase می‌باشد. وابان و مشتق استروئیدی دیگری بنام دی‌ژیتوکسیژنین[2]، اجزاء فعال دیژیتالیس، عصاره‌برگ‌های گیاه foxglove، می‌باشند. دیژیتالیس برای درمان مبتلایان به نارسایی احتقانی قلب مورد استفاده قرار گرفته است. مهار جریان Na^+ به خارج سلول توسط دیژیتالیس منجر به غلظت بالاتر Na^+ در داخل سلول‌ها و در نتیجه فعال‌شدن انتقال‌دهنده مخالف $Na^+ - Ca^{2+}$ در عضله قلب می‌گردد. افزایش ورود Ca^{2+} از طریق این انتقال‌دهنده منجر به افزایش سیتوزولی Ca^{2+} و بنابراین تقویت انقباضات عضله قلب می‌شود.

پمپ‌های کلسیمی وابسته به ATP، غلظت پایین کلسیم را در داخل سیتوزول حفظ می‌نمایند

غلظت سیتوزولی Ca^{2+} عموماً در حدود ۱۰۰ nM می‌باشد که به مراتب کمتر از محیط اطراف، آب استخر و یا پلاسمای خون، می‌باشد. وجود غلظت‌های میلی‌مولار فسفات‌های معدنی (Pi و PPi) در سیتوزول، سبب می‌گردد تا غلظت سیتوزولی Ca^{2+} لزوماً در حد پایین نگه داشته شود، زیرا فسفات معدنی می‌تواند با کلسیم ترکیب شده و تولید فسفات‌های کلسیم تقریباً نامحلول نماید. یون‌های کلسیم توسط یک ATPase نوع P، بنام **پمپ کلسیم غشاء**

1- Ouabain 2- Digitoxigenin

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۴-۱۲. مکانیسم فرضی انتقال Na^+ و K^+ توسط Na^+K^+ATPase. (۱) این فرایند با اتصال سه یون Na^+ به جایگاههای با تمایل بالا موجود بر روی زیرواحد بزرگ این پروتئین انتقالی در سمت داخلی (سیتوزولی) غشاء آغاز می‌گردد. همین قسمت این زیرواحد بزرگ دارای جایگاه اتصالی ATP نیز می‌باشد. با فسفریلاسیون انتقال‌دهنده، کونفورماسیون آن تغییر یافته (۲) و با کاهش تمایل آن برای Na^+، سبب می‌گردد تا (۳) Na^+ را در سمت خارجی (خارج‌سلولی) آزاد نماید. (۴) حال K^+ موجود در سمت خارجی به جایگاههای با تمایل بالا موجود در قسمت خارج‌سلولی زیرواحد بزرگ اتصال می‌یابد؛ (۵) آنزیم دفسفریله شده و تمایل آن برای K^+ کاهش می‌یابد؛ و (۶) K^+ در سمت داخل سلولی رها می‌شود. حال این پروتئین انتقالی برای چرخه دیگری از انتقال Na^+ و K^+ آماده می‌باشد.

سلولی، به خارج سیتوزول پمپ می‌گردد. پمپ دیگر کلسیمی نوع P در شبکه آندوپلاسمی سبب می‌گردد تا Ca^{2+} به داخل مجرای ER فرستاده شود که قسمتی مجزا از سیتوزول است. در سلول‌های عضلانی، Ca^{2+} به‌طور طبیعی در داخل شکل اختصاصی از شبکه آندوپلاسمی، بنام شبکه سارکوپلاسمی مخفی می‌گردد. پمپ‌های کلسیمی شبکه سارکوپلاسمی و آندوپلاسمی (SERCA)[1] از نظر ساختمانی و مکانیسم، شباهت زیادی با یکدیگر دارند و هر دو توسط تاپسی‌گارگین[2] مهار می‌گردند؛ این عامل تسریع‌کننده-تومور اثری بر روی پمپ کلسیمی غشاء پلاسمایی ندارد.

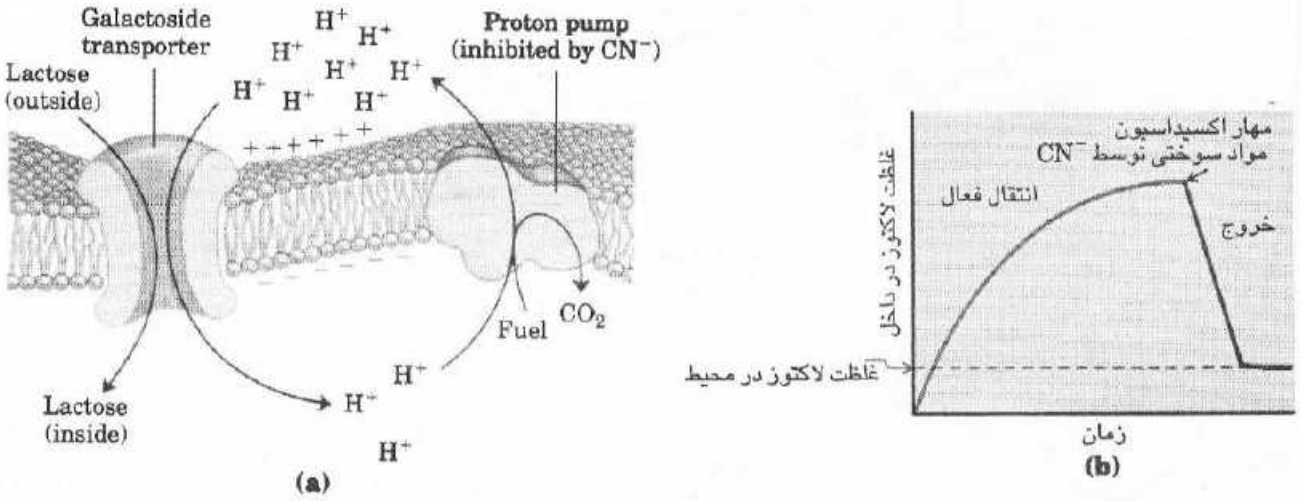
پمپ کلسیمی غشاء پلاسمایی و پمپ‌های SERCA، پروتئین‌های داخلی هستند که در مکانیسمی مشابه مکانیسم Na^+K^+ATPase، بین دو کونفورماسیون در حال چرخش می‌باشند (شکل ۳۴-۱۲). پمپ کلسیمی شبکه سارکوپلاسمی که ۸۰٪ پروتئین موجود در آن غشاء را تشکیل می‌دهد، کاملاً شناخته شده بوده و پروتوتیپ پمپ‌های کلسیمی نوع P است. این پمپ از یک پلی‌پپتید واحد (وزن‌ملکولی حدود ۱۰۰,۰۰۰) تشکیل شده است که ۱۰ بار بر روی غشاء پل می‌زند. در یک دومن سیتوزولی بزرگ یک جایگاه اتصالی برای ATP و یک ریشه Asp برای فسفریلاسیون قابل‌برگشت توسط ATP وجود دارد. فسفریلاسیون منجر به ایجاد کونفورماسیونی می‌گردد که تمایل بالائی برای Ca^{2+} داشته و از سمت سیتوزولی دردسترس می‌باشد؛ کونفورماسیون حاصل از دفسفریلاسیون، دارای جایگاه اتصالی با تمایل پایین برای Ca^{2+} در سمت مجرایی می‌باشد. در نتیجه تغییرات چرخه‌ای در کونفورماسیون، این انتقال‌دهنده در سمت غشایی که در آن غلظت Ca^{2+} کمتر می‌باشد، به این یون اتصال یافته و آن را در سمتی که غلظت بالا Ca^{2+} می‌باشد، رها می‌سازد. به این طریق، انرژی حاصل از هیدرولیز ATP به ADP و Pi در هنگام یک چرخه فسفریلاسیون - دفسفریلاسیون، سبب می‌گردد که Ca^{2+} از عرض غشاء و در برابر یک شیب الکتروشیمیایی بزرگ، منتقل شود.

1- Sarcoplasmic endoplasmic reticulum calcium
2- Thapsigargin

Book.Apfarsi.ir

جدول ۵-۱۲. سیستم‌های هم‌انتقالی که با کمک شیب‌های Na^+ و H^+ کار می‌کنند

موجود زنده یا بافت	ماده انتقالی (حرکت در برابر شیب خود)	ماده همراه انتقالی (حرکت در جهت شیب خود)	نوع انتقال
E. coli	لاکتوز	H^+	هم‌انتقالی همسو
	پرولین	H^+	هم‌انتقالی همسو
	اسیدهای دی‌کربوکسیلیک	H^+	هم‌انتقالی همسو
روده، کلیه مهره‌داران	گلوکز	Na^+	هم‌انتقالی همسو
	اسیدهای آمینه	Na^+	هم‌انتقالی همسو
سلولهای مهره‌داران (بسیاری از انواع)	Ca^{2+}	Na^+	هم‌انتقالی ناهمسو
گیاهان عالی	K^+	H^+	هم‌انتقالی ناهمسو
قارچ‌ها (*Neurospora*)	K^+	H^+	هم‌انتقالی ناهمسو

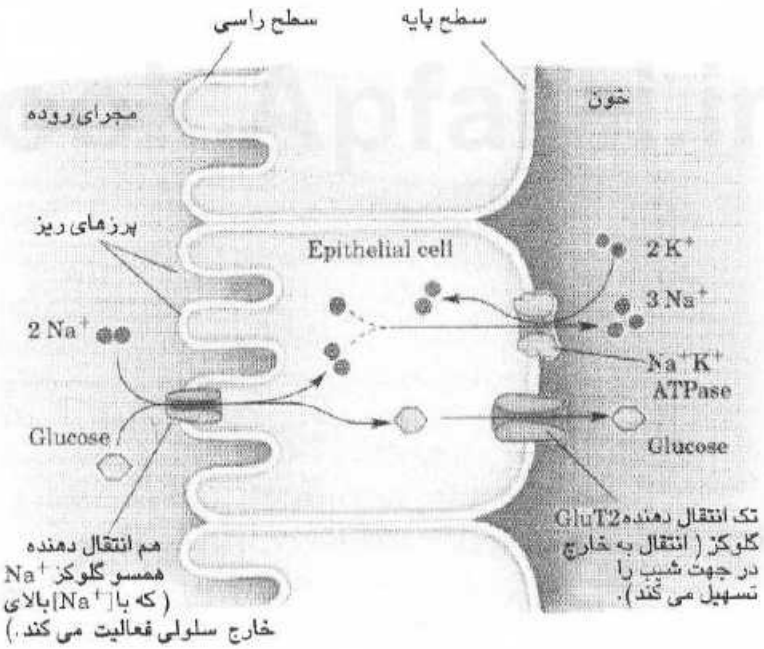


شکل ۳۵-۱۲. برداشت لاکتوز در *E.coli* **(a)** انتقال اولیه H^+ بخارج سلول که توسط اکسیداسیون انواع مختلفی از مواد سوختی مساعدت می‌گردد، سبب ایجاد یک شیب پروتونی و یک پتانسیل الکتریکی (داخل منفی) در عرض غشاء می‌گردد. انتقال ثانویه لاکتوز بداخل سلول، نیازمند انتقال موافق H^+ و لاکتوز توسط ترانسپورتر لاکتوز می‌باشد. برداشت لاکتوز در خلاف شیب غلظتی آن، کاملاً وابستگی به این جریان H^+ دارد که توسط شیب الکتروشیمیائی مساعدت می‌گردد. **(b)** وقتی واکنشهای اکسیداسیون تولیدکننده انرژی توسط سیانید (CN^-) متوقف می‌شوند. ترانسپورتر لاکتوز سبب می‌گردد تا تعادلی بین لاکتوز موجود در داخل سلول با خارج سلول، از طریق انتقال غیرفعال، برقرار گردد. خط منقطع، غلظت لاکتوز را در محیط اطراف نشان می‌دهد.

شیب‌های یونی انرژی مورد نیاز برای انتقال فعال ثانویه را فراهم می‌آورند

شیب‌های یونی حاصل از انتقال اولیه Na^+ یا H^+ می‌توانند خودشان نیروی مورد نیاز برای هم‌انتقالی مواد دیگر را فراهم نمایند. بسیاری از سلول‌ها دارای سیستم‌های انتقالی هستند که جریان سرپایین خودبخودی این یون‌ها را با پمپ‌نمودن سربالای همزمان یون دیگر، قند یا اسید آمینه، جفت می‌نمایند (جدول ۵-۱۲). برای مثال، انتقال‌دهنده گالاکتوزید موجود در *E. coli* امکان تجمع لاکتوز به مقادیر بیش از ۱۰۰ برابر غلظت آن در محیط اطراف را فراهم می‌سازد (شکل ۳۵-۱۲). *E. coli* به‌طور طبیعی دارای شیبی از پروتون‌ها و بار در عرض غشاء پلاسمایی خود می‌باشد که حاصل متابولیسم تولیدکننده انرژی است؛ پروتون‌ها تمایل دارند که به‌طور خودبخودی در جهت این شیب الکتروشیمیایی به داخل سلول برگردند. دولایه لیپیدی نسبت به پروتون‌ها نفوذناپذیر می‌باشند، ولی انتقال‌دهنده گالاکتوزید راهی را برای ورود مجدد پروتون به داخل سلول فراهم می‌سازد که طی یک هم‌انتقالی همسو، سبب انتقال همزمان لاکتوز به داخل سلول نیز می‌گردد. بنابراین، تجمع انرژی‌گیر لاکتوز در داخل سلول با

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۶-۱۲. انتقال گلوکز در سلول‌های اپی‌تلیال روده. گلوکز طی مکانیسم هم‌انتقالی ناهمسو با Na^+ از عرض غشاء پلاسمائی رأسی وارد سلول اپی‌تلیال می‌گردد. سپس گلوکز به سمت سطح پایه سلول حرکت نموده و در آنجا توسط GluT2، یک انتقال‌دهنده غیرفعال گلوکز، وارد گردش خون می‌گردد. $Na^+K^+ATPase$ به پمپ‌نمودن Na^+ بخارج سلول ادامه داده تا شیب Na^+ مورد نیاز برای برداشت گلوکز تأمین گردد.

جریان انرژی‌زای پروتون‌ها جفت می‌گردد؛ تغییر انرژی آزاد کل برای این فرایند جفت‌شده منفی است.

در سلول‌های اپی‌تلیال روده، گلوکز و بعضی از اسیدهای آمینه، با استفاده از شیب Na^+ حاصل از پمپ $Na^+K^+ATPase$ موجود در غشاء پلاسمایی، طی یک هم‌انتقالی همسو با Na^+، در داخل سلول تجمع می‌یابند (شکل ۳۶-۱۲). سطح رأسی سلول اپی‌تلیال روده توسط زوائد نازک طویل پرزهای ریز غشاء پلاسمایی پوشیده شده است که به میزان زیادی سطح ناحیه در تماس با محتویات روده را افزایش می‌دهند. انتقال‌دهنده‌های همسو Na^+-گلوکز در غشاء پلاسمایی رأسی، گلوکز را طی فرایندی با استفاده از انرژی جریان سرپایین Na^+، از روده برداشت می‌نماید:

$$2Na^+_{out} + glucose_{out} \longrightarrow 2Na^+_{in} + glucose_{in}$$

انرژی مورد نیاز برای این فرایند از دو منبع، شامل غلظت بالاتر Na^+ در خارج سلول نسبت به داخل (پتانسیل شیمیایی) و پتانسیل ترانس‌ممبران (پتانسیل الکتریکی) حاصل از منفی‌بودن داخل سلول و بنابراین کشاننده Na^+ به داخل، تأمین می‌گردد. این پتانسیل الکتروشیمیایی Na^+ برابر است با:

$$\Delta G = RT \ln \frac{[Na^+]_{in}}{[Na^+]_{out}} + n\mathcal{F}\Delta E$$

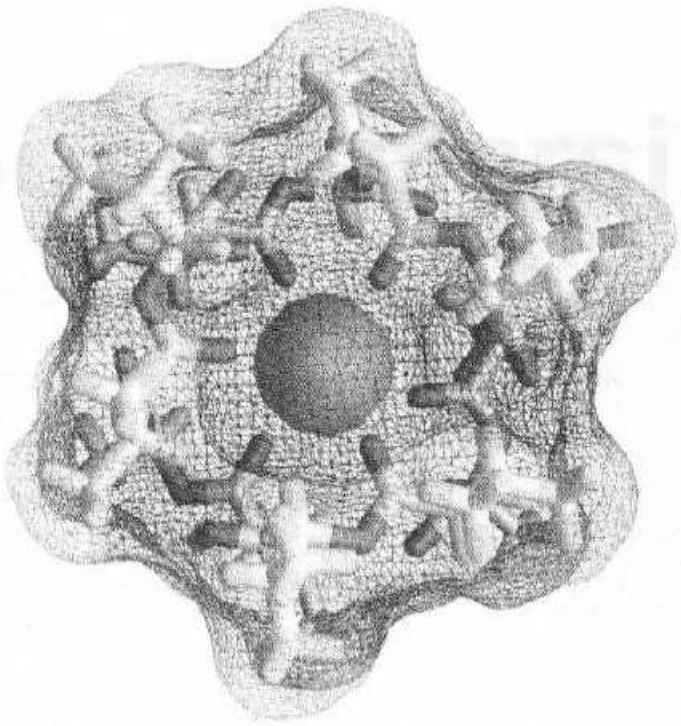
که در آن n، تعداد یون‌های Na^+ که به‌طور همزمان با هر ملکول گلوکز انتقال داده می‌شود، برابر ۲ می‌باشد. با توجه به پتانسیل غشایی شاخص $-50\ mV$، $[Na^+]$ داخل‌سلولی برابر $12\ mM$ و $[Na^+]$ خارج‌سلولی برابر $145\ mM$، انرژی یا ΔG حاصل از ورود دو یون Na^+ به داخل سلول، برابر $-25\ kJ$ می‌باشد که برای پمپ‌نمودن گلوکز در برابر یک شیب غلظتی بزرگ کافی است.

$$\Delta G = -25\ kJ = RT \ln \frac{[glucose]_{in}}{[glucose]_{out}}$$

$$\frac{[glucose]_{in}}{[glucose]_{out}} = 30{,}000$$

به عبارتی دیگر، این هم انتقال‌دهنده می‌تواند انتقال گلوکز را تا زمانی ادامه دهد که غلظت آن در سلول اپی‌تلیال به

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۷-۱۲. والینومایسین، یک یونوفور پپتیدی که به K^+ متصل می‌گردد. در این تصویر، حدود سطحی بصورت یک تصویر درهم شفاف نشان داده شده است که در داخل آن یک ساختمان مبله‌ای از پپتید و اتم K^+ قابل مشاهده می‌باشد. اتمهای اکسیژن متصل به K^+، قسمتی از حفره آبدوست مرکزی را تشکیل می‌دهند. زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه آبگریز قسمت خارجی ملکول را می‌پوشانند. از آنجایی که قسمت خارجی کمپلکس والینومایسین - K^+ آبگریز می‌باشد، این کمپلکس به راحتی از میان غشاءها انتشار یافته و K^+ را در جهت شیب غلظتی آن منتقل می‌نماید. اتلاف حاصل در شیب یونی موجود در عرض غشاء، منجر به مرگ سلولهای باکتری شده و به همین دلیل والینومایسین یک آنتی‌بیوتیک قوی می‌باشد.

حدود ۳۰،۰۰۰ برابر غلظت موجود در روده برسد. وقتی گلوکز در سطح رأسی از داخل روده به داخل سلول اپی‌تلیال پمپ می‌گردد، بوسیله انتقال غیرفعال از طریق یک انتقال‌دهنده گلوکز (GluT2) موجود در سطح پایه سلول، به‌طور همزمان از سلول به داخل خون حرکت می‌نماید (شکل ۳۶-۱۲). ادامه همکاری Na^+ در سیستم‌های هم‌انتقالی همسو و هم‌انتقالی ناهمسو، نظیر مواد اشاره شده، نیاز به تداوم پمپ‌نمودن Na^+ به خارج سلول برای حفظ شیب Na^+ در عرض غشاء دارد.

بخاطر نقش ضروری شیب‌های یونی در انتقال فعال و حفظ انرژی، ترکیباتی که شیب‌های یونی را در عرض غشاءهای سلولی از بین می‌برند، سم بوده و از انواعی که برای میکروارگانیسمهای بیماریزا اختصاصی هستند، می‌توان به‌عنوان آنتی‌بیوتیک استفاده نمود. والینومایسین[1] یک پپتید حلقوی است که K^+ را احاطه نموده و بار مثبت آن را خنثی می‌نماید (شکل ۳۷-۱۲). این پپتید سپس به‌عنوان یک شاتل عمل نموده و با حمل K^+ در عرض غشاءها در جهت شیب غلظتی آن، این شیب را از بین می‌برد. ترکیباتی که یون‌ها را به این طریق از عرض غشاءها عبور می‌دهند، **یونوفور**[2] گویند که به معنی «حامل یون» می‌باشد. والینومایسین و مونتزین[3] (یک یونوفور حامل Na^+)، آنتی‌بیوتیک می‌باشند؛ این ترکیبات با مختل‌نمودن فرایندهای انتقالی ثانویه و واکنش‌های حفظ‌کننده انرژی، سلول‌های میکروبی را می‌کشند.

کانال‌های یونی انتخابی امکان عبور سریع یون‌ها را در عرض غشاء فراهم می‌آورند

مکانیسم دیگر حرکت یون‌های معدنی از عرض غشاءها، استفاده از **کانال یونی انتخابی** می‌باشد که ابتدا در نرون‌ها شناسایی شدند ولی هم‌اکنون می‌دانیم که در غشاء پلاسمایی تمامی سلول‌ها وجود دارند. کانال‌های یونی، نفوذپذیری غشاءهای پلاسمایی را به یون‌های اختصاصی تعیین نموده و همراه با پمپ‌های یونی نظیر Na^+K^+ATPase، غلظت سیتوزولی یون‌ها و پتانسیل غشایی را تنظیم می‌نمایند. در نرون‌ها، تغییرات بسیار

1- Valinomycin 2- Ionophore 3- Monensin

Book Anfarsi.ir

سریع در فعالیت کانال‌های یونی منجر به تغییراتی در پتانسیل غشاء (پتانسیل عمل) شده که پیامها را از یک انتهای نرون به انتهای دیگر منتقل می‌نمایند. در سلول‌های عضلانی، بازشدن سریع کانال‌های پیام در شبکه سارکوپلاسمی منجر به رهاسازی Ca^{2+} و شروع انقباض عضلانی می‌گردد. اعمال پیام‌رسانی کانال‌های یونی را در فصل ۱۳ مورد بررسی قرار خواهیم داد. در اینجا اساس ساختمانی عملکرد کانال یونی، با استفاده از یک کانال K^+ باکتریایی ، کانال یونی گیرنده استیل‌کولین و کانال سدیمی وابسته به ولتاژ نرون‌ها به‌عنوان مثال، مورد بحث قرار می‌گیرد.

کانال‌های یونی حداقل به سه طریق از انتقال‌دهنده‌های یونی قابل تمایز هستند. اول، سرعت جریان از طریق کانال‌ها دارای بزرگی چندین برابر عدد نوسازی یک انتقال‌دهنده می‌باشد؛ این سرعت 10^7 تا 10^8 یون به ازاء هر کانال در هر ثانیه بوده که نزدیک به حداکثر سرعت تئوری در حالت انتشار محدودنشده می‌باشد. دوم، کانال‌های یونی اشباع نمی‌شوند؛ سرعت آنها در غلظت بالای سوبسترا به حداکثر نمی‌رسد. سوم، کانال‌ها دریچه‌دار هستند؛ در پاسخ به بعضی حوادث سلولی، باز و بسته می‌شوند. در **کانال‌های دریچه‌دار وابسته به لیگاند** (که عموماً اولیگومریک هستند)، اتصال ملکول کوچک داخل یا خارج‌سلولی سبب یک تغییر آلوستریک در پروتئین شده که کانال را باز و یا بسته می‌نماید. در **کانال‌های یونی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ**، یک دومن پروتئینی باردار در پاسخ به تغییر پتانسیل الکتریکی ترانس‌ممبران، نسبت به غشاء حرکت نموده و سبب باز یا بسته‌شدن کانال می‌گردد. باز و بسته‌شدن توسط لیگاندها یا پتانسیل غشایی، می‌تواند بسیار سریع رخ دهد. به‌طور شاخص، یک کانال در کسری از یک میلی‌ثانیه باز شده و ممکن است تنها چند میلی‌ثانیه باز باقی بماند؛ این امر سبب شده تا این وسایل ملکولی در انتقال بسیار سریع پیام در سیستم عصبی، مؤثر باشند.

ساختمان یک کانال K^+، اساس ویژگی یونی آن را نشان می‌دهد

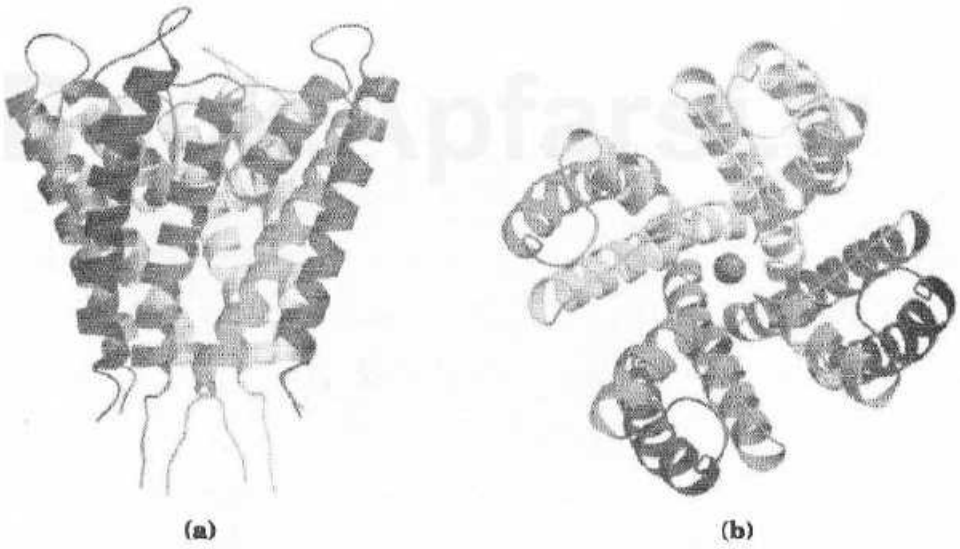
ساختمان یک کانال پتاسیمی از باکتری *Streptomyces lividans* که در سال ۱۹۹۸ به طریق کریستالوگرافی اشعه-x تعیین گردید، دیدگاههای زیادی را در مورد نحوه عمل کانال‌های یونی فراهم می‌آورد. این کانال یونی باکتریایی، از نظر توالی با تمامی کانال‌های پتاسیمی شناخته‌شده دیگر مرتبط بوده و به‌عنوان پروتوتیپ چنین کانال‌هایی، نظیر کانال پتاسیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ نرون‌ها مورد بحث قرارگرفته در فصل بعد، می‌باشد. از میان اعضاء این خانواده پروتئینی، بیشترین میزان تشابهات توالی در «ناحیه منفذ» دیده می‌شود که حاوی فیلتر انتخابی یونی بری عبور ۱۰،۰۰۰ برابر سریعتر K^+ (شعاع ۱/۳۳ Å) از Na^+ (شعاع ۰/۹۵ Å). در سرعت (حدود 10^8 یون در هر ثانیه) نزدیک به حد تئوری انتشار محدودنشده، می‌باشد.

این کانال پتاسیمی از چهار زیرواحد مشابه تشکیل شده است که بر روی غشاء پل زده و ایجاد مخروطی در داخل مخروط احاطه‌کننده کانال یونی می‌نماید که انتهای پهن مخروط به سمت فضای خارج‌سلولی می‌باشد (شکل ۳۸-۱۲). هر زیرواحد از دو مارپیچ α ترانس‌ممبران، به علاوه یک مارپیچ سوم کوتاهتر که در ایجاد یک ناحیه منفذ[1] نقش دارد، تشکیل شده است. مخروط خارجی توسط یکی از مارپیچ‌های ترانس‌ممبران هر کدام از زیرواحدها بوجود آمده است. مخروط داخلی، حاصل از چهار مارپیچ ترانس‌ممبران دیگر، کانال یونی را احاطه نموده و چهارچوب فیلتر یونی انتخابی را ایجاد می‌نماید.

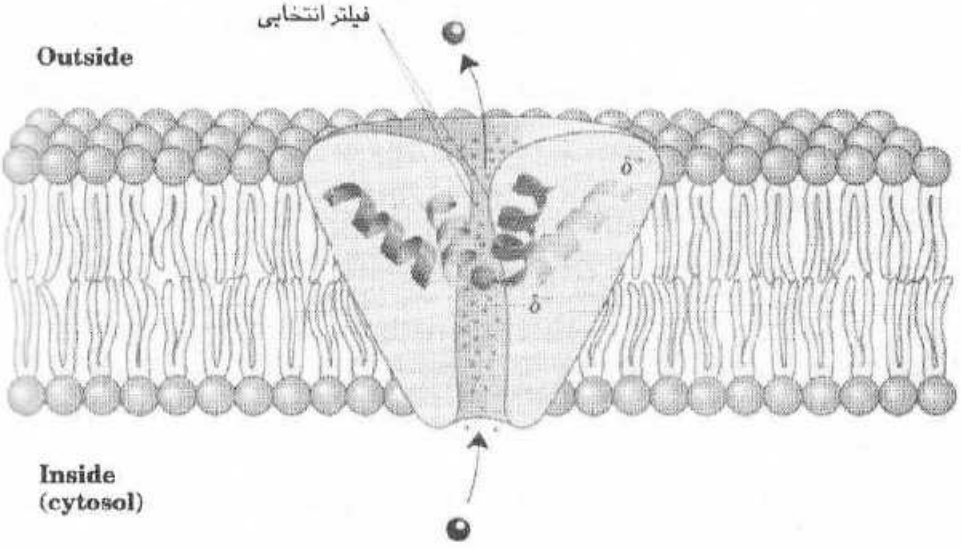
با در نظر گرفتن ساختمان کانال، ویژگی و جریان بالای یون‌ها از میان کانال را می‌توان درک نمود. در سطوح

1- Pore region

Book.Apfarsi.ir



(a) (b)



(c)

شکل ۳۸-۱۳. ساختمان کانال K^+ در *Streptomyces lividans* (a) با مشاهده در صفحه غشاء. این کانال از هشت مارپیچ ترانس‌ممبران (دو مارپیچ از هر چهار زیرواحد مشابه) به شکل یک مخروط تشکیل شده است که انتهای پهن آن به سمت نضای خارج‌سلولی است. مارپیچ‌های داخلی این مخروط (کم‌رنگ‌تر) این کانال ترانس‌ممبران را مفروش نموده و مارپیچ‌های خارجی با دولایه لیپیدی واکنش می‌نمایند. قطعات کوتاه هر زیرواحد در انتهای باز مخروط به یکدیگر رسیده و یک فیلتر انتخابی ایجاد می‌نمایند. (b) در نمای عمود بر صفحه غشاء، این چهار زیرواحد حول یک کانال مرکزی آرایش یافته‌اند که اندازه آن برای عبور تنها یک یون K^+ کافی است. اکسیژنهای کربونیل این اسکلت پلی‌پپتیدی به داخل کانال برآمدگی پیدا نموده و طی واکنش با یون K^+، سبب پایداری آن در هنگام عبور از کانال می‌گردند. این لیگاندها طوری قرار گرفته‌اند که تنها قادر به واکنش با K^+ بوده و با یون کوچکتر Na^+، واکنش نمی‌نمایند. این واکنش متقابل ترجیحی با K^+، اساس انتخابی‌بودن کانال یونی است. (c) برش عرضی که کانال پر از آب و نسبتاً پهن در سمت سیتوزولی را نشان می‌دهد. در این ناحیه، یک یون K^+ به‌وسیله هیدراتاسیون و بوسیله بار منفی نسبی در انتهای کربوکسیل مارپیچ‌های کوتاه بیرون‌زده از هر چهار زیرواحد، تثبیت می‌گردد. در فیلتر انتخابی کانال باریک شده و در این محل آب هیدراتاسیون از K^+ جدا و توسط اکسیژنهای کربونیل فیلتر انتخابی جایگزین می‌شود.

داخلی و خارجی غشاء پلاسمایی، مسیرهای ورودی کانال دارای ریشه‌های اسید آمینه با بار منفی متعددی است که احتمالاً غلظت موضعی کاتیون‌هایی نظیر K^+ و Na^+ را افزایش می‌دهند. ابتدای این مسیر یونی (در سمت خارجی) به صورت یک کانال پهن و پر از آب می‌باشد که در آن یون‌ها می‌توانند کره هیدراتاسیون خود را حفظ نمایند. تثبیت بیشتر این کانال توسط مارپیچ‌های α کوتاه موجود در ناحیه منفذی هر زیرواحد حاصل می‌گردد که انتهای کربوکسیل

Book.Apfarsi.ir

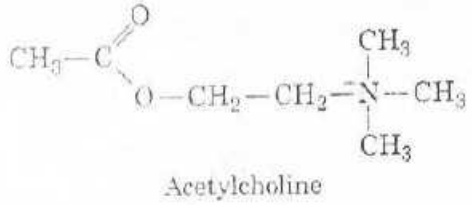
آنها همراه با بارهای نسبی منفی خود به سمت K^+ در کانال می‌باشند. بعد از حدود دو سوم مسیر در میان غشاء، کانال در ناحیه فیلتر انتخابی باریک شده و یون را مجبور می‌سازد تا ملکول‌های آب هیدراتاسیون خود را از دست بدهد. اتمهای اکسیژن کربونیل موجود در اسکلت فیلتر انتخابی جایگزین ملکول‌های آب موجود در کره هیدراتاسیون K^+ شده و ایجاد پوشش‌های کاملی را می‌نمایند که از میان آنها K^+ عبور می‌کند. این واکنش متقابل مساعد همراه با فیلتر، برای Na^+ ممکن نمی‌باشد، زیرا بسیار کوچکتر از آن است که بتواند با تمامی لیگاندهای اکسیژنی تماس برقرار نماید. تثبیت ترجیحی K^+، اساس انتخابی‌بودن این فیلتر بوده و جهش‌های تغییردهنده ریشه‌های موجود در این قسمت، انتخابی‌بودن کانال را از بین می‌برد.

یون‌های K^+ در یک ردیف از میان این فیلتر عبور می‌نمایند. در ساختمان کریستالوگرافیک، دو یون K^+ قابل مشاهده می‌باشد، که هر کدام از آنها در یک انتهای فیلتر انتخابی قرار داشته و ۷/۵ Å از یکدیگر دور هستند. دفع الکترواستاتیک دوطرفه این یون‌ها به احتمال زیاد واکنش متقابل هر کدام را با فیلتر انتخابی متعادل نموده و سبب می‌گردد که سریعاً از میان کانال عبور نمایند.

سایر کانال‌های K^+ دارای توالی، و احتمالاً از نظر ساختمان و مکانیسم، مشابه کانال پتاسیمی *S.lividans* می‌باشند. برای مثال، محصول ژن Shaker که یک کانال پتاسیمی در *Drosophila* می‌باشد و کانال‌های پتاسیمی نماتود *Caenorhabditis elegans*، تک‌سلولی مژک‌دار *Paramecium* و گیاه *Arabodopsis thaliana* همگی دارای توالی‌هایی بسیار شبیه به انواع موجود در ناحیه منفذی کانال پتاسیمی *S. lividans* می‌باشند. به علاوه، توالی‌های اسیدآمینه‌ای کانال‌های سدیمی و کلسیمی نشان می‌دهد که آنها نیز از نظر ساختمانی و عملکرد دارای تشابهاتی با کانال پتاسیمی باکتریایی می‌باشند. ازاینرو، تعیین ساختمان این کانال، یک واقعه برجسته در بیوشیمی کانال‌ها می‌باشد.

گیرنده استیل‌کولین یک کانال یونی دریچه‌دار وابسته به لیگاند می‌باشد

کانال یونی دیگری که بخوبی مورد مطالعه قرار گرفته است، **گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین** می‌باشد که برای عبور یک پیام الکتریکی از نرون حرکتی به یک فیبر عضلانی در محل اتصال عصب به عضله (انتقال پیام به عضله برای انقباض) ضروری است. (گیرنده‌های نیکوتینی براساس حساسیت به نیکوتین از گیرنده‌های موسکارینی تمایز داده می‌شوند که خود به آلکالوئید موسکارین حساس هستند.) استیل‌کولین رهاشده توسط نرون حرکتی چند میکرومتر انتشار یافته تا به غشاء پلاسمایی یک سلول عضلانی رسیده و در آنجا به گیرنده استیل‌کولین اتصال یابد. این اتصال سبب یک تغییر کونفورماسیونی در این گیرنده شده که کانال یونی موجود در داخل این گیرنده را باز می‌نماید. درنتیجه حرکت رو به داخل بارهای مثبت، غشاء پلاسمایی سلول عضلانی دپلاریزه شده و انقباض را آغاز می‌نماید. این گیرنده استیل‌کولین امکان عبور Na^+، Ca^{2+} و K^+ را با سهولت یکسان فراهم نموده ولی سایر کاتیون‌ها و تمامی آنیون‌ها قادر به عبور نمی‌باشند.



Acetylcholine

حرکت Na^+ از میان یک کانال یونی گیرنده استیل‌کولین، غیرقابل اشباع (سرعت آن در برابر غلظت خارج‌سلولی Na^+، خطی است) و بسیار سریع (حدود ۲×۱۰^۷ یون Na^+ در هر ثانیه تحت شرایط فیزیولوژیک) می‌باشد.

Book.Apfarsi.ir

این کانال گیرنده، مورد شاخص بسیاری از کانال‌های یونی دیگری است که تولید پیام‌های الکتریکی نموده و یا به آنها پاسخ می‌دهند: این کانال دارای «دریچه‌ای» است که در پاسخ به تحریک توسط استیل‌کولین باز شده و یک مکانیسم تعیین زمان داخلی، سبب بسته‌شدن آن بعد از کسری از ثانیه می‌گردد. بنابراین پیام استیل‌کولین زودگذر، یک خصوصیت مهم هدایت پیام الکتریکی، می‌باشد. تغییرات ساختمانی زمینه‌ای در باز و بسته‌شدن گیرنده استیل‌کولین شناخته‌شده بوده ولی مکانیسم «غیرحساس‌شدن» (بسته‌شدن دریچه حتی در حضور مداوم استیل‌کولین) نامشخص می‌باشد.

گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین (که از نظر ساختمانی و عملکرد متفاوت از گیرنده‌های موسیکارینی استیل‌کولین می‌باشد) از پنج زیرواحد، شامل یک نسخه از زیرواحدهای β، γ و δ، و دو زیرواحد مشابه α هر کدام با یک جایگاه اتصالی برای استیل‌کولین، ساخته شده است. تمامی این پنج زیرواحد مختلف از نظر توالی و ساختمان سوم با یکدیگر ارتباط دارند و هر کدام دارای چهار قطعه مارپیچی ترانس‌ممبران (M1 تا M4) هستند (شکل ۳۹a-۱۲). این پنج زیرواحد یک منفذ مرکزی را احاطه کرده‌اند که با مارپیچ‌های M2 مفروش شده است. پهنای این منفذ در قسمت‌هایی از کانال که به سمت سطوح سینوزولی و خارج‌سلولی است، حدود ۲۰ Å می‌باشد، ولی در هنگام عبور از دولایه لیپیدی باریک می‌گردد. نزدیک به مرکز دولایه یک حلقه از زنجیرهای جانبی حجیم آبگریز Leu از مارپیچ‌های M2 وجود دارد: این حلقه به شکلی قرار گرفته است که مانع از عبور یون‌ها از میان کانال می‌گردد. تغییرات کونفورماسیونی آلوستریک حاصل از اتصال استیل‌کولین به دو زیرواحد α به صورت چرخش مختصر مارپیچ‌های M2 می‌باشد (شکل ۳۹b-۱۲) که این زنجیرهای جانبی آبگریز را از مرکز کانال دور نموده و آنرا برای عبور یون‌ها باز می‌نماید.

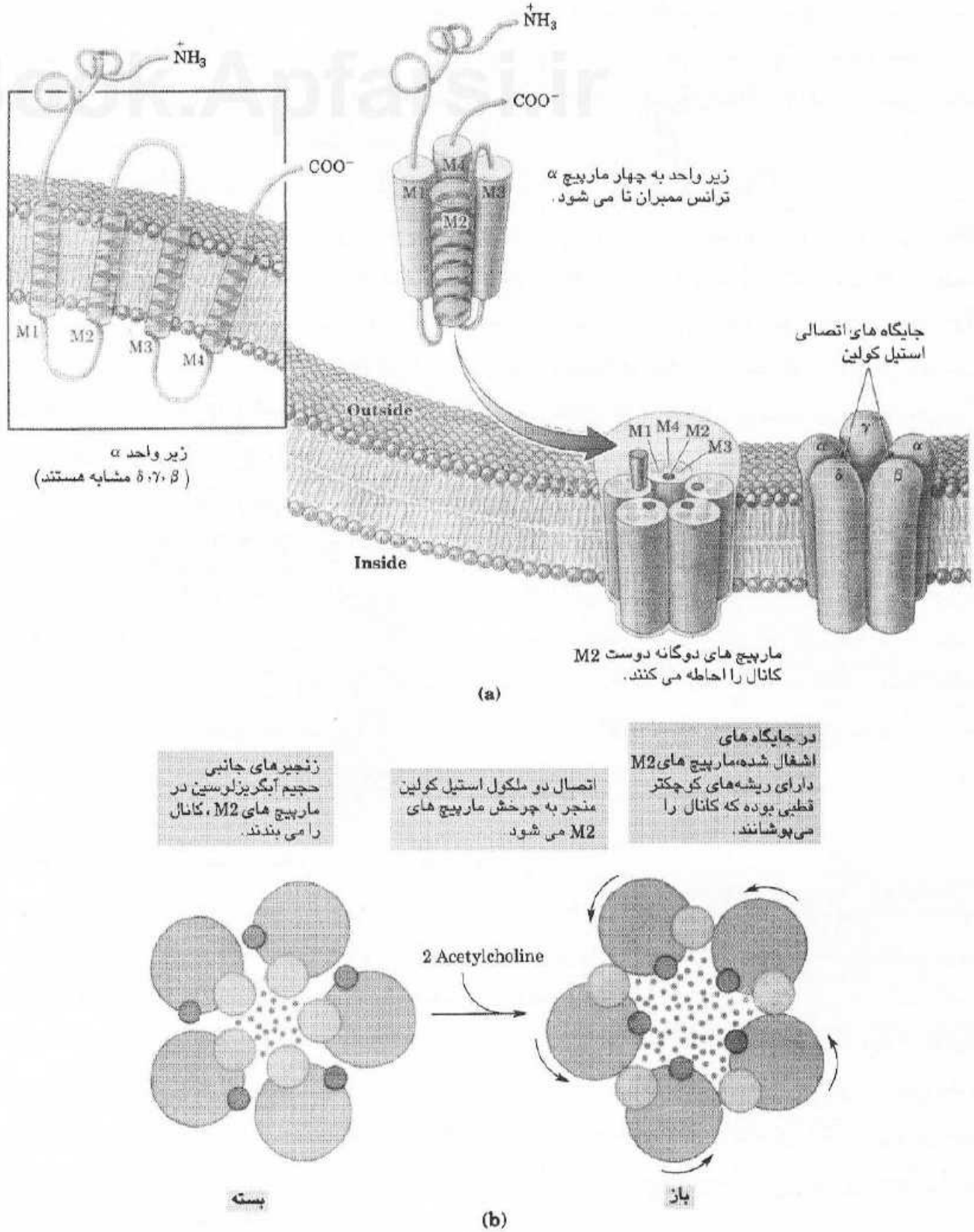
براساس شباهتهای موجود بین توالی‌های اسید آمینه‌ای سایر کانال‌های یونی دریچه‌دار لیگاندی و این گیرنده استیل‌کولین، کانال‌های گیرنده‌ای که به پیام‌های خارج‌سلولی γ-آمینو بوتیریک اسید (گابا)، گلیسین و سروتونین پاسخ می‌دهند، در فوق‌خانواده گیرنده استیل‌کولینی طبقه‌بندی شده و احتمالاً دارای ساختمان سه‌بعدی و مکانیسم دریچه‌ای مشابهی هستند. گیرنده‌های $GABA_A$ و گلیسین، کانال‌های آنیونی اختصاصی برای Cl^- یا HCO_3^- می‌باشند، در حالی که گیرنده سروتونینی، همانند گیرنده استیل‌کولین، یک کانال اختصاصی کاتیونی است. زیرواحدهای هر کدام از این کانال‌ها، همانند گیرنده استیل‌کولین، دارای چهار قطعه مارپیچی ترانس‌ممبران بوده و کانال‌های اولیگومریک ایجاد می‌کنند.

کلاس دوم کانال‌های یونی دریچه‌دار لیگاندی به لیگاندهای *داخل‌سلولی*، شامل cGMP در چشم مهره‌داران، cGMP و cAMP در نرون‌های بویایی و ATP و اینوزیتول ۱،۴،۵ - تری‌فسفات (IP_3) در بسیاری از انواع دیگر سلول‌ها، پاسخ می‌دهند. این کانال‌ها از زیرواحدهای متعدد تشکیل شده‌اند که هر کدام دارای شش دومن مارپیچی ترانس‌ممبران هستند. این کانال‌ها در ارتباط با اعمال پیام‌رسانی خود در فصل ۱۳ مورد بحث قرار می‌گیرند.

کانال سدیمی نرون‌ها، یک کانال یونی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ می‌باشد

کانال‌های سدیمی موجود در غشاءهای پلاسمایی نرون‌ها و سلول‌های عضلانی قلب و عضله اسکلتی، شیب‌های الکتریکی موجود در عرض غشاء را احساس نموده و با باز یا بسته‌شدن به آنها پاسخ می‌دهند. این **کانال‌های یونی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ** برای Na^+، در برابر سایر کاتیون‌های تک‌ظرفیتی و یا دوظرفیتی، بسیار انتخابی (با فاکتور ۱۰۰ یا بیشتر) بوده و دارای جریان بسیار بالائی (بیش از 10^7 یون در هر ثانیه) می‌باشند. به‌طور طبیعی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۹-۱۲. ساختمان کانال یونی استیل‌کولین. (a) هر کدام از پنج زیرواحد ($\alpha\beta\gamma\delta$) دارای چهار مارپیچ ترانس‌ممبران، M1 تا M4، هستند. مارپیچ‌های M2 دوگنه‌دوست می‌باشند؛ بقیه اساساً از ریشه‌های آبگریز تشکیل شده‌اند. پنج زیرواحد حول یک کانال ترانس‌ممبران آرایش یافته‌اند که داخل آن توسط قسمتهای قطبی مارپیچ‌های M2 مفروش شده است. در بالا و پائین کانال، حلقه‌هائی متشکل از ریشه‌های اسید آمینه با بار منفی وجود دارد. در میان دولایه، پنج زنجیر جانبی Leu (یکی از هر مارپیچ M2) بداخل کانال بیرون زده و قطر آن را به اندازه‌ای باریک می‌نماید که تنها یونهائی نظیر Ca^{2+}، Na^+ و K^+ بتوانند از آن عبور نمایند. **(b)** نمای بالائی یک برش عرضی از مرکز مارپیچ‌های M2، انسداد کانال توسط زنجیرهای جانبی حجیم Leu را نشان می‌دهد. وقتی هر دو جایگاه گیرنده استیل‌کولین (یکی بر روی هر زیرواحد α) اشغال می‌گردد، یک تغییر کونفورماسیونی رخ می‌دهد. با قدری چرخش مارپیچ‌های M2، این پنج ریشه Leu از کانال دور شده و توسط ریشه‌های کوچکتر قطبی جایگزین می‌گردند. این مکانیسم سبب باز شدن کانال شده و بدنبال آن Ca^{2+}، Na^+ و K^+ عبور می‌نمایند.

کانال‌های سدیمی در کونفورماسیون بسته قرار داشته و با کاهش پتانسیل الکتریکی ترانس‌ممبران، فعال (باز) می‌شوند. آنگاه این کانال‌ها بسیار سریع غیرفعال می‌گردند. ظرف چند میلی‌ثانیه که کانال باز می‌ماند، بسته شده و برای میلی‌ثانیه‌های زیادی غیرفعال باقی می‌ماند. فعال‌شدن و به دنبال آن غیرفعال‌شدن کانال‌های سدیمی، اساس انتقال پیام توسط نرون‌ها می‌باشد (شکل ۵-۱۳).

جزء ضروری کانال‌های سدیمی، یک پلی‌پپتید بزرگ (با ۱،۸۴۰ ریشه اسید آمینه) می‌باشد که در چهار دومن سازماندهی می‌شود (شکل ۴۰-۱۲)؛ این دومن‌ها اطراف یک کانال مرکزی جمع شده و مسیری برای عبور Na^+ از میان غشاء فراهم می‌آورند. این مسیر توسط «ناحیه منفذ» برای Na^+ ویژگی پیدا می‌نماید که خود متشکل از قطعات بین مارپیچ‌های ترانس‌ممبران ۵ و ۶ هر دومن تاشده به داخل کانال می‌باشد. مارپیچ ۴ هر دومن، دارای تراکم بالائی از ریشه‌های با بار مثبت می‌باشد. معتقدند این قطعه در پاسخ به تغییرات ولتاژ ترانس‌ممبران از پتانسیل «در حال استراحت» حدود ۶۰ mV- (داخل منفی) به حدود ۳۰ mV+، در داخل غشاء حرکت می‌نماید. این حرکت مارپیچ ۴، کانال را باز نموده و این اساس باز و بسته‌شدن به واسطه ولتاژ می‌باشد.

معتقدند که غیرفعال‌شدن کانال توسط یک مکانیسم گوی-و-زنجیر[1] صورت می‌پذیرد. یک دومن پروتئینی بر روی سطح سیتوزولی کانال Na^+، بنام دریچه غیرفعال‌سازی (گوی)، توسط یک قطعه کوتاه پلی‌پپتیدی (زنجیر) به صورت افسار به این کانال متصل شده است (شکل ۴۰b-۱۲). وقتی کانال بسته می‌باشد، این دومن برای حرکت آزاد بوده، ولی وقتی کانال باز می‌گردد، یک جایگاه موجود در سمت داخلی کانال دردسترس گوی قرار گرفته شده تا اتصال یافته و کانال را ببندد. به نظر می‌رسد طول این افسار تعیین می‌نماید که کانال باز شده چه مدت باز باقی بماند؛ هر چه این افسار بلندتر باشد، دوره زمانی بازبودن، طولانی‌تر خواهد بود. غیرفعال‌شدن سایر کانال‌های یونی نیز ممکن است با یک مکانیسم مشابه صورت پذیرد.

عملکرد کانال یونی به طریق الکتریکی اندازه‌گیری می‌شود

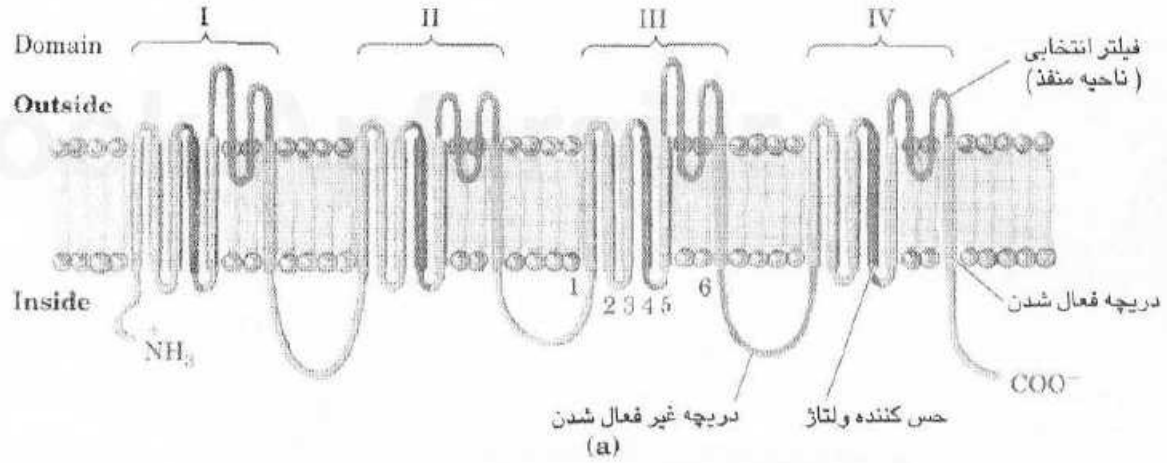
یک کانال یونی واحد، به‌طور شاخص تنها برای چند میلی‌ثانیه باز باقی می‌ماند که در ماورای محدوده بیشتر اندازه‌گیریهای بیوشیمیایی است. بنابراین، می‌بایست جریانهای یونی را به طریق الکتریکی، یا به صورت تغییر در V_m (در دامنه میلی‌ولت) یا به صورت جریانهای الکتریکی I (در دامنه میکروآمپر یا پیکوآمپر)، با استفاده از میکروالکترودها و تقویت‌کننده‌های مناسب، اندازه‌گیری نمود (شکل ۴۱-۱۲). فن‌آوری تکه-نگهداری[2] مشخص نموده است که ظرف یک میلی‌ثانیه تا 10^4 یون می‌تواند از میان یک کانال عبور نماید؛ در این فن‌آوری، جریان‌های بسیار کوچک از میان ناحیه‌ای کوچک سطح غشاء، حاوی تنها یک یا چند ملکول کانال یونی، اندازه‌گیری می‌شود. این موضوع، تقویت بزرگ پیام ابتدایی را نشان می‌دهد؛ برای مثال در مورد گیرنده استیل‌کولین، این پیام ممکن است تنها چند ملکول استیل‌کولین باشد.

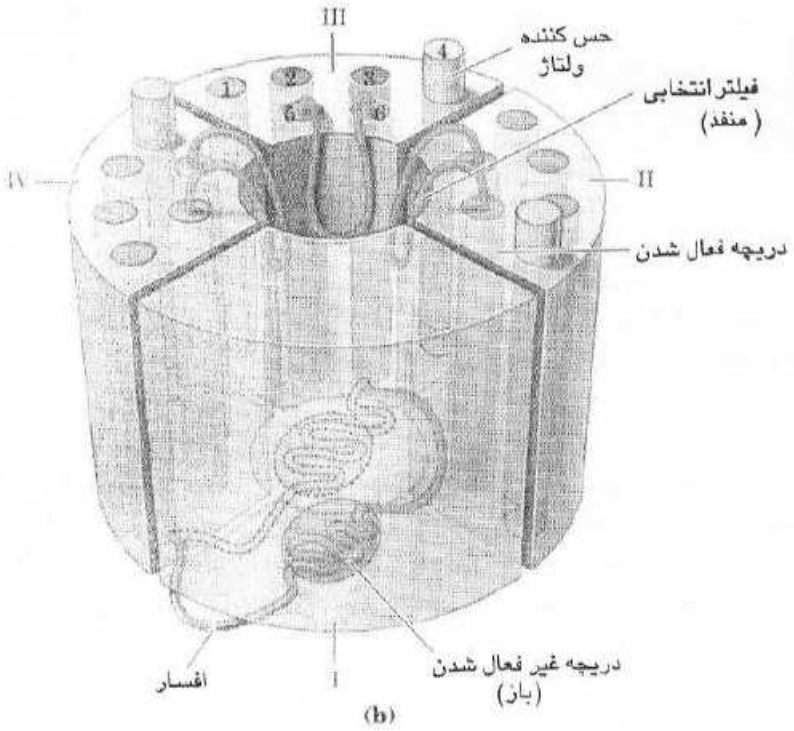
کانال‌های یونی ناقص می‌توانند عوارض فیزیولوژیک مهمی را داشته باشند

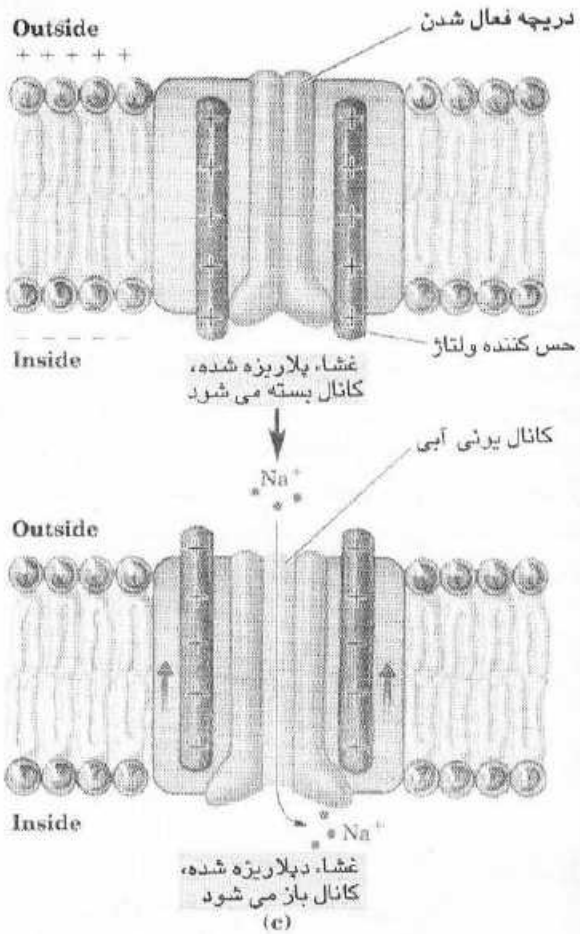
با بررسی اثرات جهش‌ها بر روی پروتئین‌های موجود در ساختمان کانال‌های یونی اختصاصی، اهمیت کانال‌های یونی در فرایندهای فیزیولوژیک آشکار می‌گردد. نقص‌های ژنتیک در کانال سدیمی دریچه‌دار

1- Ball-and-chain 2- Patch-clamping

Book.Apfarsi.ir

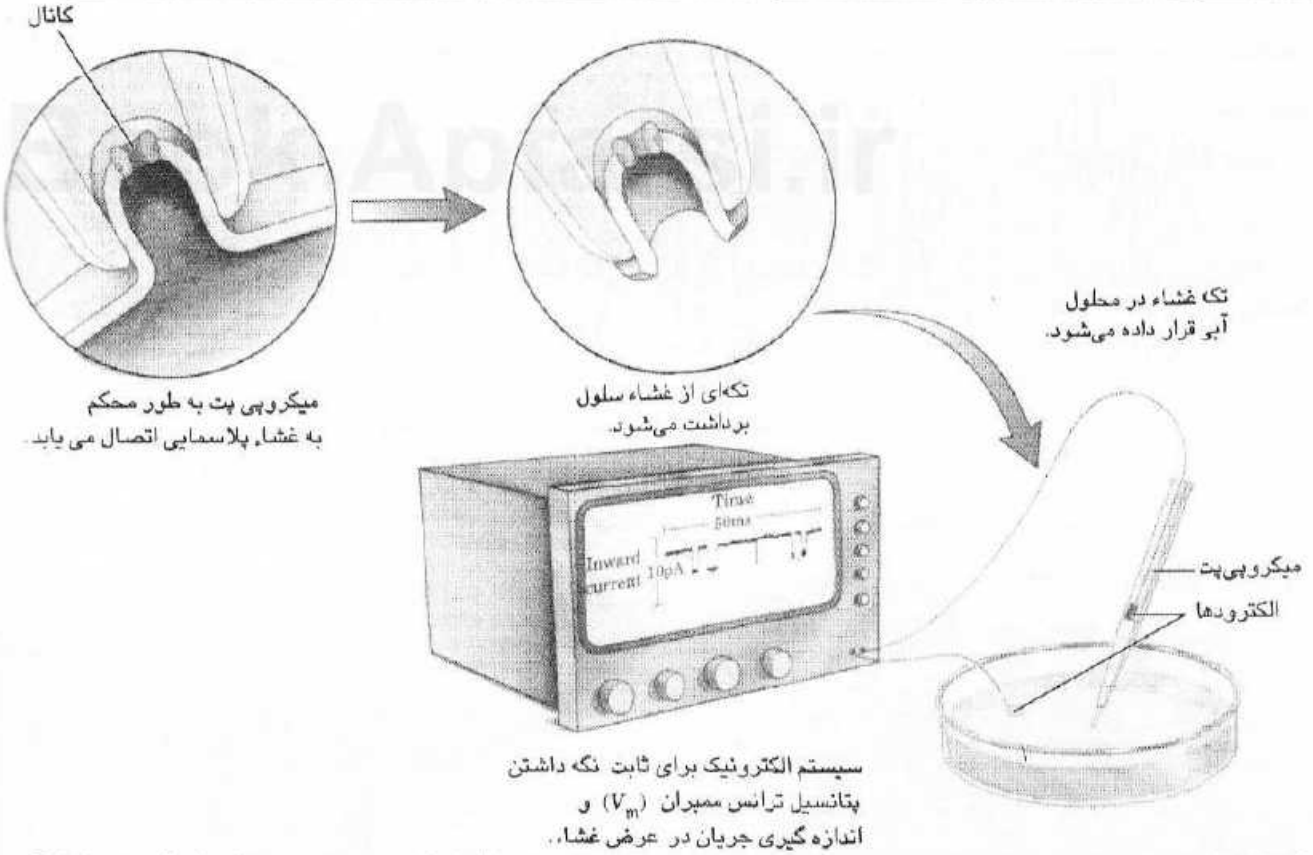




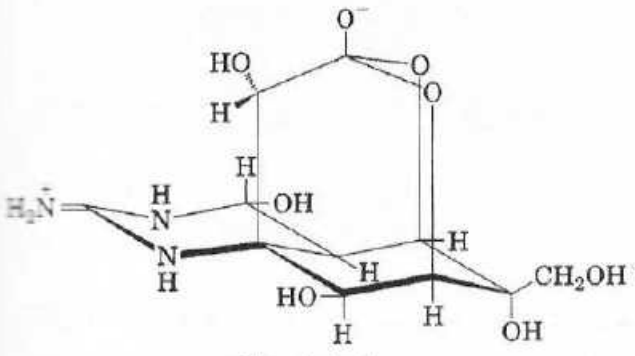


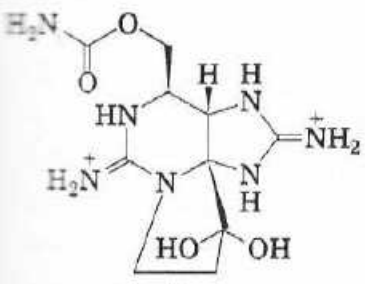
شکل ۴۰-۱۲. کانال‌های سدیمی دریچه‌دار وابسته به لیگاند موجود در نرون‌ها. کانال‌های یونی بافتها و موجودات مختلف دارای زیرواحدهای مختلفی هستند، ولی تنها زیرواحد اصلی (α) ضروری است. **(a)** زیرواحد α پروتئین بزرگی با چهار دومن (I تا IV) می‌باشد که هرکدام دارای شش مارپیچ ترانس‌ممبران هستند. مارپیچ ۴ موجود در هر دومن حس‌کننده ولتاژ می‌باشد؛ معتقدند مارپیچ ۶ دریچه فعال‌شده می‌باشد. قطعات بین مارپیچ‌های ۵ و ۶، یعنی ناحیه منفذ. فیلتر انتخابی را ساخته و قطعه متصل‌کننده دومن‌های III و IV دریچه غیرفعال می‌باشد. **(b)** چهار دومن حول یک کانال ترانس‌ممبران مرکزی پیچیده که خود توسط ریشه‌های اسید آمینه قطبی مفروش شده است. قطعات متصل‌کننده مارپیچ‌های ۵ و ۶ در هر دومن در نزدیکی سطح خارج‌سلولی در کنار یکدیگر قرار گرفته تا فیلتر انتخابی را بسازند که در تمامی کانالهای سدیمی حفظ شده است. این فیلتر به کانال این امکان را می‌دهد تا بتواند بین Na^+ و یونهای دیگر با اندازه مشابه تمایز قائل شود. دریچه غیرفعال‌شدن، بلافاصله بعد از بازشدن دریچه فعال‌شدن، بسته می‌شود (خطوط نقطه‌ای). **(c)** مکانیسم حس ولتاژ مستلزم حرکت مارپیچ ۴ عمود بر صفحه غشاء در پاسخ به تغییری در پتانسیل ترانس‌ممبران می‌باشد. بار مثبت قوی موجود بر روی مارپیچ ۴ به آن این امکان را می‌دهد که در پاسخ به پتانسیل غشائی (V_m) درون-منفی، بداخل کشیده شود. در اثر دپلاریزاسیون این کشش کم شده و با حرکت به سمت خارج، مارپیچ ۴ رها می‌شود. این حرکت به دریچه فعال‌شدن منتقل شده و با القاء تغییرات کونفورماسیونی، کانال را در پاسخ به دپلاریزاسیون باز می‌نماید.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴۱-۱۲. اندازه‌گیری‌های الکتریکی عملکرد کانال یونی. «فعالیت» یک کانال یونی با اندازه‌گیری جریان یون‌ها از میان آن، توسط فن‌آوری تکه-نگه‌داری اندازه‌گیری می‌شود. یک میکروپی‌پت بر روی یک سطح سلولی فشرده شده و از فشار منفی ایجادشده در پی‌پت برای چسباندن پی‌پت به غشاء استفاده می‌گردد. وقتی پی‌پت از سلول دور می‌گردد، یک تکه کوچک از غشاء را جدا می‌نماید (که ممکن است دارای یک یا چند کانال باشد). وقتی این پی‌پت به همراه تکه چسبیده به آن، بر روی یک محلول آبی قرار داده می‌شود، فعالیت کانال را می‌توان به‌صورت جریان الکتریکی بین محتویات پی‌پت و محلول آبی، اندازه‌گیری نمود. در عمل، یک مدار ساخته می‌شود که پتانسیل ترانس‌ممبران را در یک میزان خاص «نگه‌داشته» و جریانی را اندازه‌گیری می‌نماید که برای حفظ این ولتاژ می‌بایست جریان یابد. با استفاده از آشکارسازهای شدیداً حساس رایج، محققین می‌توانند جریان را در میان یک کانال یونی واحد، بطورشاخص چند پیکوآمپر، اندازه‌گیری نمایند. نموداری که جریان را بصورت تابعی از زمان (برحسب میلی‌ثانیه) نشان می‌دهد، مشخص خواهد نمود که با چه سرعتی کانال باز و بسته شده، تکرار بازشدن آن چطور می‌باشد و چه مدت باز باقی می‌ماند. با نگهداری V_m در مقادیر مختلف، امکان تعیین اثر پتانسیل غشائی بر روی این پارامترهای عملکرد کانال ممکن می‌شود.

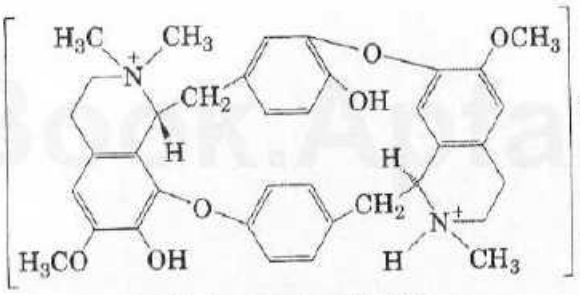

Tetrodotoxin


Saxitoxin

وابسته به ولتاژ غشاء پلاسمایی سلول عضلانی منجر به بیماری در عضلات می‌گردد که به صورت دوره‌ای ممکن است همراه با فلج (همانند hyperkalemic periodic paralysis) یا سفتی (همانند paramyotonia congenita) باشد. همانطور که قبلاً اشاره گردید، فیبروز کیستیک حاصل جهشی است که یک اسید آمینه را در CFTR، یک کانال یونی کلر، تغییر می‌دهد. نرایند مختل‌شده در اینجا انتقال عصبی نبوده، بلکه اختلال در ترشح سلول‌های غدد برون‌ریز مختلفی دیده می‌شود که فعالیت آنها با جریانات یون Cl^- ارتباط دارد.

سموم موجود در طبیعت اغلب بر روی کانال‌های یونی عمل می‌نمایند و قدرت این سموم، اهمیت فعالیت طبیعی کانال‌های یونی را بیشتر نشان

Book.Apfarsi.ir



p-Tubocurarine chloride

مـــی‌دهد. **تـترودوتوکسین** (تـولیدی تـوسط مـاهی *Spheroides rubripes*) و **ســاکسـی‌توکسین** (تـولیدی توسط آبزی *Gonyaular*)، سمومی هستند که با اتصال بـه کـانال‌های سـدیمی دریـچه‌دار وابسـته بـه ولتـاژ نرون‌ها، مانع پتانسیل عمل طبیعی می‌گردند. مـاهی تولیدکننده تترودوتوکسین جزئی از غذای لذیذ ژاپنی است که ممکن است تنها توسط سرآشپزهایی تهیه گردد که به‌طور اختصاصی برای جداسازی تیکه گـوشت‌دار از سم‌کشنده آن، آموزش دیده‌اند. خوردن ماهی صدفی که از *Gonyaular* تغذیه نموده است، نیز می‌تواند کشنده باشد؛ ماهی صدف نسبت به ساکسی‌توکسین حساس نبوده، ولی آن را در عضلات خود تغلیظ نموده و بـنابرایـن بـرای موجودی که از آن تغذیه‌می‌نماید، بسیار سمی خواهد بود. زهر مار mamba سیاه حاوی **دندروتوکسین**[1] می‌باشد که با کانال‌های پتاسیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ تداخل می‌نماید. **توبوکورارین**، جـزء فـعال curare (مـورد اسـتفاده به‌عنوان سم نیزه در آمازون) و دو سم دیگر زهر مار، یعنی **کوبروتوکسین**[2] و **بونگاروتوکسین**[3]، گیرنده استیل‌کولین را مهار نموده و بازنمودن کانال یونی آن را مسدود می‌نمایند. با مسدودنمودن انتقال پیام‌ها از اعصاب بـه عـضلات، تمامی این سموم منجر به فلج و احتمالاً مرگ می‌گردند. از جنبه مثبت، به علت تمایل بسیار بالای بونگاروتوکسین برای گیرنده استیل‌کولین ($K_d = ۱۰^{-۱۵}$ M)، استفاده از سم نشاندار با رادیواکتیو بـرای تـعیین‌مقدار گـیرنده در طـی خالص‌سازی آن، مفید می‌باشد.

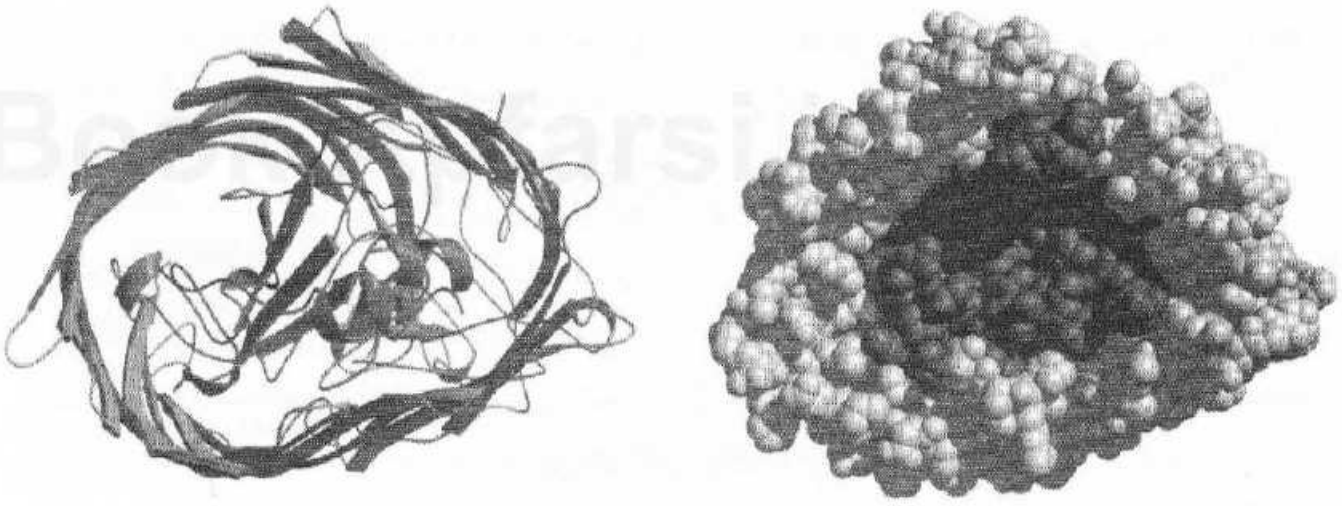
پورین‌ها کانال‌هایی در عرض غشاء برای عبور ملکول‌های کوچک می‌باشند

در غشاء خارجی باکتری‌های گرم منفی، نظیر *E. coli*، کانال‌های پروتئینی بنام **پورین‌ها** وجود دارند که عـبور ملکول‌های بسیار بزرگتر از یون‌ها را ممکن ساخته ولی مکانیسم عمل آنها بیشتر شبیه یک کانال دریچه‌دار می‌باشد و شباهت کمتری به یک انتقال‌دهنده دارد. پورین FhuA (شکل ۱۸-۱۲) موجود در *E. coli* در عبور آهن (به شکل یک شلات فری‌کروم) از محیط خارج‌سلولی، از عرض غشاء خارجی و به داخل فضای پری‌پلاسمی ایـفاء نـقش می‌نماید. (در باکتری‌های گرم منفی، پری‌پلاسم ماده موجود در بین غشاءهای داخـلی یـا پـلاسمایی و خـارجـی می‌باشـد.) FhuA از یک دومن لوله β ۲۲ رشته‌ای بزرگی با حدود ۵۶۰ ریشه و یک دومن «درپیچ[4]» ۱۶۰ ریشه‌ای که به‌طور طبیعی لوله را مسدود نموده و کانال را بسته نگه می‌دارد، تشکیل شده است (شکل ۴۲-۱۲). با اتصال کمپلکس فری‌کروم به یک جایگاه اختصاصی در سطح خارجی سلول، تغییرات آلوسـتریکی ایـجاد مـی‌گردد کـه فری‌کروم را به داخل لوله حرکت داده و امکان واکـنش مـتقابل پـروتئین FhuA و پـروتئین‌های غشـاء داخـلی و پری‌پلاسم را فراهم می‌سازد. این واکنش متقابل، درپیچ را از لوله برداشت نموده و اجازه عبور فری‌کروم را از میان کانال می‌دهد. با تخلیه جایگاه اتصالی فری‌کروم، این تغییرات معکوس شده و کانال بسته می‌شود.

در شکل ۴۳-۱۲، خلاصه‌ای از سیستم‌های انتقالی مورد بحث در این فصل نشان داده شده است.

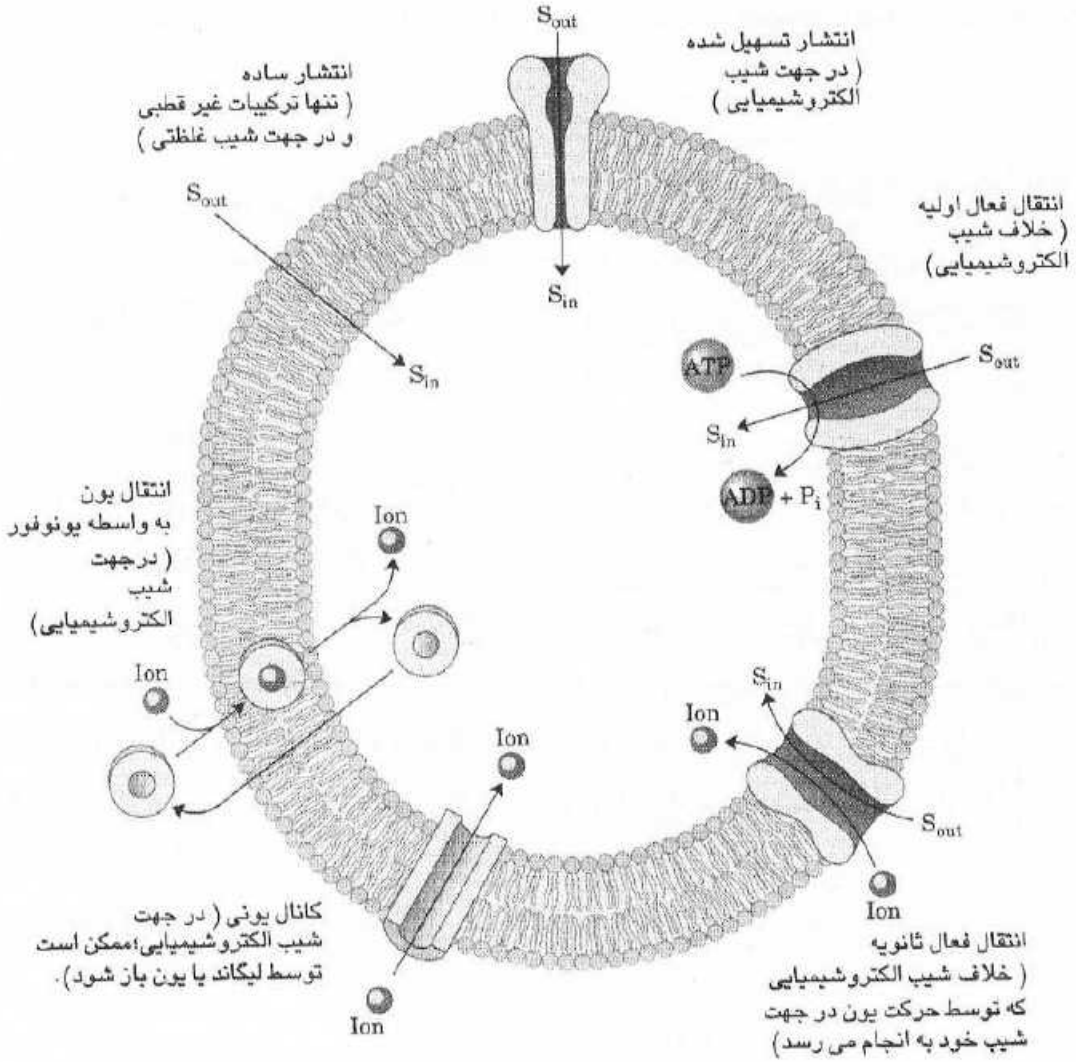
1- Dendrotoxin 2- Cobrotoxin 3- Bungarotoxin 4- Cork

Book.Apfarsi.ir



(a) (b)

شکل ۴۲-۱۲ [شکل ۳۴ ضمیمه رنگی]. ساختمان FhuA، یک انتقال‌دهنده آهن از *E.coli*. این پروتئین غشاء خارجی *E.coli*، یون آهن را به شکل شلات فری‌کروم-آهن بداخل سلول منتقل می‌نماید. شکل ۱۸-۱۲، نمایش روبانی این پروتئین را در تمای موازی با غشاء نشان می‌دهد. در اینجا مدلهای (a) ریبونی و (b) فضاپرکن عمود بر غشاء مشاهده می‌گردد. لوله β ۲۲ رشته‌ای (خاکستری) بصورت یک لوله توخالی دیده می‌شود که از یک انتها توسط دومن درپیچ (قرمز) مسدود می‌گردند. اتصال یک ملکول فری‌کروم-آهن به یک جایگاه اختصاصی بر روی سطح FhuA، تغییر کونفورماسیونی را سبب می‌گردد که به جابجائی درپیچ از مقابل لوله کمک می‌نماید؛ سپس فری‌کروم-آهن از میان کانال عبور نموده و این انتقال‌دهنده کونفورماسیون بسته خود را بدست می‌آورد.



شکل ۴۳-۱۲. خلاصه‌ای از انواع انتقالات.

Book.Apfarsi.ir

خلاصه

غشاءهای بیولوژیک نقش اساسی در زندگی دارند. غشاءها مرزهای سلولی را تعیین نموده، سلول‌ها را به بخش‌های مجزا تقسیم کرده، توالی‌های پیچیده واکنش‌ها را سازماندهی می‌کنند و در دریافت پیام و تغییر شکل انرژی شرکت می‌نمایند. غشاءها از لیپیدها و پروتئین‌ها با ترکیبات مختلف ساخته شده‌اند که بر حسب گونه، نوع سلول و اندامک، متفاوت می‌باشند. مدل موزاییکی مایع، خصوصیات مشترک تمامی غشاءهای بیولوژیک را بیان می‌نماید. دولایه لیپیدی، واحد ساختمانی پایه می‌باشد. زنجیرهای آسیل چرب فسفولیپیدها و هسته استروئیدی استرولها به سمت قسمت داخلی دولایه می‌باشند؛ واکنش‌های متقابل آبگریز این اجزاء، غشاء را پایدار نموده، ولی سبب انعطاف‌پذیری غشاء نیز می‌شوند. لیپیدها و بسیاری از پروتئین‌ها برای انتشار جانبی در داخل غشاء آزاد هستند و بخش‌های آبگریز لیپیدها دچار حرکت حرارتی سریع شده که داخل دولایه را مایع می‌نماید. سیال‌بودن غشاء تحت اثر درجه حرارت، ترکیب اسید چرب و محتوی استرولی قرار دارد. با تغییر شرایط خارجی، سلول‌ها ترکیبات لیپیدی خود را تنظیم نموده تا یک سیالیت ثابت را حفظ نمایند.

پروتئین‌های محیطی به‌طور سست از طریق واکنش‌های متقابل الکترواستاتیک و پیوندهای هیدروژنی به غشاء اتصال داشته و یا توسط پیوندهای کووالان به لنگرهای لیپیدی متصل می‌باشند. پروتئین‌های داخلی توسط واکنش‌های متقابل آبگریز بین دولایه لیپیدی و زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه غیرقطبی خود که در سمت خارج ملکول پروتئین قرار دارند، به‌طور محکم به غشاء متصل می‌باشند. بعضی از پروتئین‌های غشایی بر روی دولایه لیپیدی چندین بار پل می‌زنند، در این حالت یک توالی متشکل از حدود ۲۰ اسید آمینه آبگریز، ایجاد مارپیچ α ترانس‌ممبران می‌نماید. با یافتن چنین توالی‌های آبگریزی در ساختمان‌های اولیه می‌توان ساختمان دوم و موقعیت ترانس‌ممبران این ملکول‌ها را پیش‌بینی نمود. لوله‌های β چندرشته‌ای نیز در پروتئین‌های غشایی داخلی معمول هستند.

لیپیدها و پروتئین‌های غشاءها با سمتیت اختصاصی در داخل دولایه قرار داده می‌شوند؛ بنابراین، غشاءها از نظر ساختمانی و عمل غیرقرینه می‌باشند. بسیاری از پروتئین‌های غشایی دارای اولیگوساکاریدهایی با درجات متفاوت پیچیدگی هستند که با پیوند کووالان به آنها اتصال یافته‌اند. همواره دومن کربوهیدراتی گلیکوپروتئین‌های غشاء پلاسمایی در سمت خارج‌سلولی قراردارد. انواعی از پروتئین‌ها، ادغام دو غشاء را وساطت می‌نمایند که ممکن است همراه با فرایندهایی نظیر آندوسیتوز و اگزوسیتوز مشاهده گردند. برای ادغام لازم است دو غشاء به‌طور نزدیکی در مقابل یکدیگر قرار گرفته و دولایه لیپیدی به‌طور موضعی مختل گردد؛ پروتئین‌های ادغامی SNARE در هر دو این فرایندها همکاری دارند.

دولایه لیپیدی نسبت به مواد قطبی نفوذناپذیر می‌باشد. از این نظر، آب یک استثناء مهم است، زیرا می‌تواند به‌طور غیرفعال از عرض غشاء عبور نماید. سلول‌هایی که نیازمند جریانات بزرگ آب هستند، در غشاءهای پلاسمایی خود دارای کانال‌های اختصاصی برای آب، بنام اکواپورین‌ها، می‌باشند. سایر مواد قطبی تنها از طریق پروتئین‌های اختصاصی موجود در غشاءها، شامل انتقال‌دهنده‌ها یا کانال‌های یونی، می‌توانند از عرض غشاءها عبور نمایند.

انتقال‌دهنده‌ها (پروتئین‌های انتقالی)، همانند آنزیم‌ها، قابل‌اشباع بوده و دارای ویژگی هستند. انتقال از طریق این سیستم‌ها ممکن است به‌طور غیرفعال (در جهت شیب الکتروشیمیایی و بنابراین مستقل از انرژی متابولیک) یا فعال (در خلاف شیب الکتروشیمیایی و بنابراین وابسته به انرژی متابولیک) صورت پذیرد. انتقال گلوکز به داخل گلبول‌های قرمز خون و انتقال آب از طریق اکواپورین‌ها غیرفعال می‌باشد. انرژی مورد نیاز برای انتقال فعال ممکن است از نور، واکنش‌های اکسیداسیون، هیدرولیز ATP و یا هم‌انتقالی با ماده دیگر، تأمین گردد. بعضی از انتقال‌دهنده‌ها هم‌انتقالی همسو، یا انتقال همزمان دو ماده در یک جهت، را انجام می‌دهند، در حالی که ممکن است این انتقال به صورت هم‌انتقالی ناهمسو، یا انتقال همزمان مواد در جهتهای مخالف، صورت پذیرد. انتقال‌دهنده لاکتوز موجود در *E. coli* و انتقال‌دهنده گلوکز موجود در سلول‌های اپی‌تلیال روده، هم‌انتقال‌دهنده‌های همسو می‌باشند و هر دو Na^+ را همراه با قند در یک جهت انتقال می‌دهند. تعویض‌کننده کلراید–بیکربنات موجود در گلبول‌های قرمز و $Na^+K^+ATPase$ موجود در سطح تمامی سلول‌ها، هم‌انتقال‌دهنده‌های ناهمسو می‌باشند. در سلول‌های حیوانی، تفاوت غلظت‌های سیتوزولی و خارج‌سلولی Na^+ و K^+، بوسیله انتقال فعال توسط $Na^+K^+ATPase$ ایجاد و حفظ می‌گردد. شیب Na^+ حاصل در عرض غشاء پلاسمایی، به‌عنوان یک منبع انرژی برای انواع مختلفی از فرایندهای انتقالی

Book.Apfarsi.ir

فعال ثانویه، به صورت هم‌انتقالی همسو و یا ناهمسو، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

در انتقال فعال اولیه، ATP مستقیماً به‌عنوان منبع انرژی مورد استفاده قرار می‌گیرد. چهار نوع عمومی انتقال‌دهنده فعال وجود دارد که با نیروی ATP کار می‌کنند. ATPase نوع P، در هنگام انجام چرخه کاتالیتیک خود متحمل فسفریلاسیون قابل‌برگشت شده و توسط واناداتها، ترکیب مشابه فسفات، مهار می‌گردد؛ از جمله این انتقال‌دهنده‌ها می‌توان به Na^+K^+ATPase موجود در غشاءهای پلاسمایی و انتقال‌دهنده Ca^{2+} موجود در شبکه سارکوپلاسمیک و آندوپلاسمیک (پمپ‌های SERCA) اشاره نمود. ATPase نوع V در غشاءهای داخل‌سلولی، از جمله غشاءهای واکوئلی گیاهان، تولید شیب‌های پروتونی می‌نماید. پمپ‌های پروتونی نوع F (ATP سنتازها) نقش مرکزی را در مکانیسم‌های حفظ انرژی در داخل میتوکندری‌ها و کلروپلاست‌ها ایفاء می‌نمایند. یک انتقال‌دهنده چند دارویی در سلول‌های توموری از ATP برای حمل انواع مختلفی از داروها استفاده می‌نماید. یونوفورها، ملکول‌های محلول در چربی هستند که به یون‌های اختصاصی اتصال یافته و آنها را به‌طور غیرفعال از عرض غشاءها عبور داده و بدین‌ترتیب انرژی شیب‌های یونی الکتروشیمیایی را تلف می‌کنند.

کانال‌های یونی، منافذ آبدوستی را ایجاد می‌نمایند که یون‌های انتخابی می‌توانند از میان آنها و در جهت شیب‌های غلظت شیمیایی یا الکتریکی حرکت نمایند. کانال‌ها به‌طور مشخص غیرقابل‌اشباع بوده و دارای سرعت‌های بسیار بالای جریان می‌باشند. بسیاری از این کانال‌ها برای یک یون شدیداً اختصاصی بوده و دریچه اکثر آنها توسط لیگاند یا ولتاژ باز و بسته می‌شود. ساختمان کانال‌های K^+ شناخته شده بوده و به‌عنوان پروتوتیپ سایر کانال‌ها، نظیر گیرنده استیل‌کولین و کانال سدیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ، می‌باشد. دومن‌های متعدد ترانس‌ممبران مارپیچ β حول یک کانال آبی مرکزی جمع می‌شوند. عبور یون توسط یک فیلتر انتخابی و همچنین دریچه‌ای محدود می‌گردد که در زمانی که توسط ولتاژ یا لیگاند فعال نشده است، کانال یونی را مسدود نگه می‌دارد.

پورین‌ها، پروتئین‌های غشایی داخلی هستند که از یک لوله β با یک منفذ ترانس‌ممبران مرکزی تشکیل شده است. یک دومن پروتئین کروی مانع عبور یون شده ولی با اتصال یک سوبسترا اختصاصی، منفذ مرکزی به‌طور گذرا باز شده و امکان برداشت آن سوبسترا را فراهم می‌نماید.

Book.Apfarsi.ir

۱۳ پیام‌رسانی بیولوژیک

توانایی سلول‌ها در دریافت و عمل بر روی پیام‌هایی که از آن طرف غشاء پلاسمایی می‌گیرند، برای زندگی ضروری است. سلول‌های باکتری دائماً اطلاعاتی در مورد pH؛ قدرت اسموتیک؛ دسترسی به مواد غذایی، اکسیژن و نور؛ و وجود مواد شیمیایی زیان‌آور، شکارچی‌ها و رقابت‌کننده‌های غذایی، موجود در محیط اطرف خود را از طریق گیرنده‌های غشایی دریافت می‌نمایند. این پیام‌ها سبب پاسخ‌های مناسبی، نظیر حرکت به سمت مواد غذایی، یا دوری از مواد سمی و یا تولید اسپور خفته در محیط فاقد مواد غذایی، می‌گردند. در موجودات پرسلولی، سلول‌های دارای اعمال مختلف، پیام‌های متعددی را با یکدیگر تبادل می‌نمایند. سلول‌های گیاهی به هورمون‌های رشد و تغییرات نور خورشید پاسخ می‌دهند. سلول‌های حیوانی اطلاعاتی در مورد موقعیت صحیح خود در یک جنین در حال رشد، غلظت یون‌ها و گلوکز در مایعات خارج‌سلولی و فعالیت‌های متابولیکی غیروابسته در حال انجام در بافت‌های مختلف، را تبادل می‌نمایند. پیام‌های موجود در حیوانات ممکن است اتوکرین (با اثر بر روی همان سلول تولیدکننده پیام)، پاراکرین (با اثر بر روی سلول مجاور) و یا آندوکرین (انتقال در گردش خون از سلول تولیدکننده تا سلول هدف موجود در دوردست) باشند. در تمامی این سه حالت، پیام توسط یک گیرنده اختصاصی شناسایی شده و به یک پاسخ سلولی تبدیل می‌گردد.

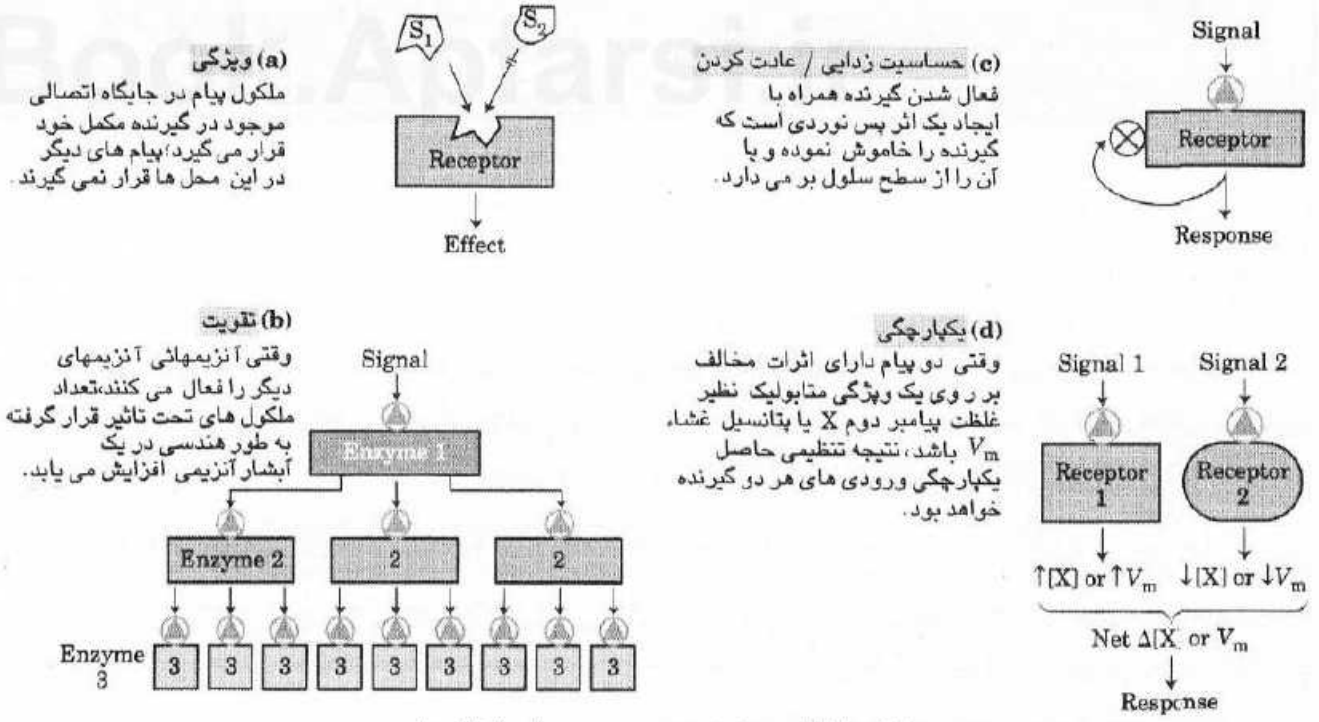
هرچند تعداد پیام‌های بیولوژیک، همانند انواع پاسخ‌های بیولوژیک به این پیام‌ها، زیاد می‌باشد (جدول ۱-۱۳)، موجودات از مکانیسم‌هایی برای شناسایی پیام‌های خارج‌سلولی و تبدیل آنها به تغییرات داخل‌سلولی استفاده می‌نمایند که در طی تکامل حفظ شده‌اند. در این فصل مثال‌هایی از کلاسهای اصلی مکانیسم‌های پیام‌رسانی را مورد بررسی قرار می‌دهیم و ملاحظه خواهیم نمود که چطور این مکانیسم‌ها در جهت اعمال بیولوژیک اختصاصی، نظیر انتقال پیام‌های عصبی، پاسخ به هورمون‌ها و فاکتورهای رشد، احساس نور، بو و مزه، و همچنین کنترل چرخه سلولی، به‌طور یکپارچه عمل می‌نمایند. اغلب، نتیجه نهایی یک مسیر پیام‌رسانی، فسفریلاسیون پروتئین‌های اختصاصی سلول هدف بوده که منجر به تغییراتی در فعالیت آنها و بنابراین فعالیت سلول می‌گردد. در سراسر این بحث تأکیدی بر روی حفظ مکانیسم‌های پایه‌ای انتقال

جدول ۱-۱۳. بعضی از پیام‌هائی که سلولها به آنها پاسخ می‌دهند

آنتی‌ژن‌ها
گلیکوپروتئین‌ها /اولیگوساکاریدهای سطح سلول
پیام‌های تکاملی
اجزاء تشکیل‌دهنده ماتریکس خارج‌سلولی
فاکتورهای رشد
هورمون‌ها
نور
تماس مکانیکی
نوروترانسمیترها
مواد بودار
فرومون‌ها * (pheromones)
مواد مزه‌دار

* نوعی هورمون خارجی (اکتوهورمون) که توسط یک فرد ترشح و توسط فرد دیگری از همان گونه دریافت شده و به موجب آن تغییراتی در رفتار جنسی و اجتماعی گیرنده ایجاد می‌گردد مترجم.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱-۱۳. چهار خصوصیت سیستم‌های انتقال پیام.

پیام‌های بیولوژیک و انطباق این فرایندهای پایه متصل به غشاء با انواع وسیعی از مسیرهای پیام‌رسانی، می‌شود.

مکانیسم‌های ملکولی انتقال پیام

انتقال پیام به‌طورقابل‌توجهی اختصاصی و شدیداً حساس می‌باشد. **ویژگی** این فرایندها حاصل این واقعیت است که ملکول‌های پیام و گیرنده دقیقاً مکمل ملکولی یکدیگر هستند (شکل ۱a-۱۳) و توسط همان نیروهای ضعیف (غیرکووالان) موجود در واکنش‌های متقابل بین آنزیم و سوبسترا و یا آنتی‌ژن و آنتی‌بادی، وساطت می‌گردند. در موجودات پرسلولی ویژگی بیشتر است، زیرا گیرنده‌های یک پیام خاص یا پروتئین‌های یک مسیر پیام‌رسان تنها در نوع خاصی از سلول‌ها وجود دارند. برای مثال، هورمون آزادکننده تیروتروپین سبب پاسخی در سلول‌های هیپوفیز قدامی می‌گردد ولی بر روی سلول‌های کبدی که فاقد گیرنده برای این هورمون می‌باشند، اثری ندارد. علی‌رغم وجود گیرنده اپی‌نفرین در سطح هر دو سلول کبدی و گلبول‌های قرمز، این هورمون سبب تغییر متابولیسم گلیکوژن در سلول‌های کبدی شده ولی اثری بر روی گلبول‌های قرمز ندارد، زیرا سلول‌های کبدی آنزیم‌های لازم برای متابولیسم گلیکوژن را دارند که توسط اپی‌نفرین تحریک می‌گردند، ولی گلبول‌های قرمز فاقد این آنزیم‌ها هستند.

سه عامل، شامل تمایل بالای گیرنده‌ها به ملکول‌های پیام، اثر تعاونی در واکنش‌های متقابل لیگاند-هورمون و تقویت پیام توسط آبشارهای آنزیمی، در حساسیت فوق‌العاده انتقال‌دهنده‌های پیام نقش دارند. تمایل بین پیام (لیگاند) و گیرنده را می‌توان براساس ثابت تفکیک K_d بیان نمود که اغلب 10^{-10} M یا کمتر می‌باشد که به معنی آن است که گیرنده می‌تواند غلظت‌های پیکومولار یک ملکول پیام را شناسایی نماید. واکنش‌های متقابل گیرنده-لیگاند را می‌توان با آنالیز اسکچارد[1] تعیین‌مقدار نمود که در بهترین حالت، میزان کمی تمایل (K_d) و تعداد جایگاه‌های اتصال به لیگاند موجود در یک نمونه گیرنده را مشخص می‌نماید (کادر ۱-۱۳). اثر تعاونی در واکنش‌های متقابل

1- Scatchard analysis

Book.Apfarsi.ir

کادر ۱-۱۳. آنالیز اسکچارد، میزان واکنش متقابل بین گیرنده و لیگاند را تعیین می‌نماید.

اعمال سلولی یک هورمون زمانی آغاز می‌گردد که هورمون (لیگاند، L) به‌طور اختصاصی و محکم با گیرنده پروتئینی (R) خود در سطح یا داخل سلول هدف، واکنش نماید. این اتصال بواسطه واکنش‌های متقابل غیرکووالان (پیوندهای هیدروژنی، واکنش‌های متقابل آبگریز و الکترواستاتیک) بین سطوح مکمل لیگاند و گیرنده، صورت می‌پذیرد. واکنش متقابل گیرنده-لیگاند سبب تغییر کونفورماسیونی می‌گردد که فعالیت بیولوژیک گیرنده را تغییر می‌دهد؛ این گیرنده ممکن است یک آنزیم، یک تنظیم‌کننده آنزیم، یک کانال یونی و یا یک تنظیم‌کننده بیان ژن ، باشد.

اتصال گیرنده-لیگاند با معادله زیر تعریف می‌گردد:

$$\underset{\text{Receptor}}{R} + \underset{\text{Ligand}}{L} \rightleftharpoons \underset{\text{Receptor-ligand complex}}{RL}$$

این اتصال، همانند اتصال آنزیم به سوبسترا خود، وابسته به غلظت اجزاء واکنش‌کننده بوده و می‌تواند با یک ثابت تعادل تعیین گردد:

$$R + L \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} RL$$

$$K_a = \frac{[RL]}{[R][L]} = \frac{k_{+1}}{k_{-1}} = 1/K_d$$

که در آن K_a ثابت همبستگی و K_d ثابت تفکیک هستند.

همانند حالت اتصال آنزیم-سوبسترا، اتصال گیرنده-لیگاند قابل‌اشباع می‌باشد. هرچه لیگاند بیشتری به میزان مشخصی گیرنده اضافه گردد، کسر بیشتری از ملکول‌های گیرنده توسط لیگاند اشغال می‌گردد (شکل 1a). اندازه‌گیری تقریبی تمایل گیرنده-لیگاند، با استفاده از غلظت لیگاند مورد نیاز برای نیمه‌اشباع‌شدن گیرنده، ممکن می‌باشد. **آنالیز اسکچارد** اتصال گیرنده-لیگاند، امکان برآورد ثابت تفکیک K_d و تعداد جایگاه‌های اتصالی گیرنده در یک فراورده را ممکن می‌سازد. وقتی اتصال به حالت تعادل می‌رسد، تعداد کلی جایگاه‌های اتصالی ممکن، B_{max}، برابر با تعداد جایگاه‌های اشغال‌شده، یعنی [R]، به علاوه تعداد جایگاه‌های اتصالی متصل به لیگاند یا اشغال‌شده، یعنی [RL]، می‌باشد؛ بعبارتی دیگر، $B_{max} = [R] + [RL]$ تعداد جایگاه‌های اشغال‌نشده را می‌توان به‌صورت اختلاف کل جایگاه‌ها با جایگاه‌های اشغال‌شده بیان نمود: $[R] = B_{max} - [RL]$. حال می‌توان تعادل را بصورت زیر نوشت:

$$K_a = \frac{[RL]}{[L](B_{max} - [RL])}$$

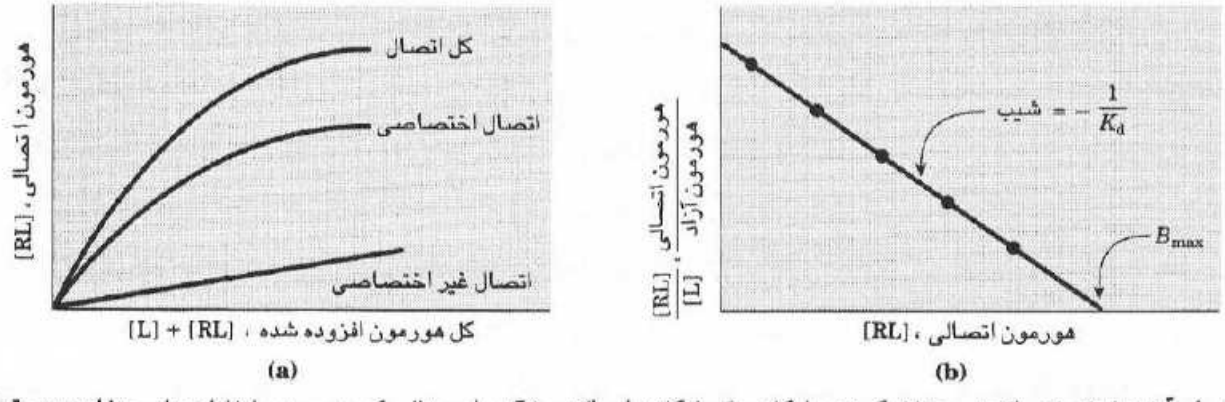
با تغییر آرایش این معادله، می‌توان نسبت لیگاند اتصال‌یافته به گیرنده به لیگاند آزاد (اتصال‌نیافته) را به‌صورت زیر بدست آورد:

$$\frac{[\text{Bound}]}{[\text{Free}]} = \frac{[RL]}{[L]} = K_a(B_{max} - [RL])$$

$$= \frac{1}{K_d}(B_{max} - [RL])$$

(این شکل معادله نشان می‌دهد که نمودار [لیگاند آزاد]/[لیگاند اتصال‌یافته] در مقابل [لیگاند اتصال‌یافته]، خط مستقیمی با شیب $-K_a$ (یا $-1/K_d$) بوده و یک محل تقاطع بر روی B_{max} را بدست می‌دهد (شکل 1b)). آنالیز اسکچارد تعدادی از واکنش‌های متقابل مختلف هورمون-لیگاند، نشاندهنده مقادیر K_d در حدود 10^{-9} تا 10^{-10} M بوده که اتصال بسیار محکم لیگاند به گیرنده را منعکس می‌نماید.

آنالیز اسکچارد برای ساده‌ترین موارد قابل‌اعتماد بوده ولی همانند نمودار لینویور-برک برای آنزیم‌ها، وقتی گیرنده یک پروتئین آلوستریک می‌باشد، نمودارها از حالت خطی خارج می‌گردند.



شکل ۱. آنالیز اسکچارد واکنش متقابل گیرنده-لیگاند. یک لیگاند رادیواکتیو (L)، برای مثال یک هورمون، با غلظت‌های متفاوت به مقدار ثابتی گیرنده (R) اضافه شده و با جداسازی کمپلکس گیرنده-هورمون (RL) از هورمون آزاد، کسر هورمون اتصالی به گیرنده تعیین می‌گردد. **(a)** نمودار [RL] در برابر کل هورمون افزوده‌شده ([RL] + [L])، یک منحنی هیپربولیک می‌باشد که هر چه جایگاه‌های گیرنده اشباع می‌گردند، به سمت میزان حداکثر [RL] افزایش می‌یابد. برای کنترل جایگاه‌های اتصالی غیراختصاصی غیرقابل‌اشباع (برای مثال، هورمون‌های ایکوزانوئیدی به‌طورغیراختصاصی به دولایه لیپیدی اتصال می‌یابند)، در یک سری مجزا آزمایشات اتصالی، میزان زیادی هورمون غیرنشاندار همراه با محلول رقیق هورمون نشاندار، افزوده می‌شود. ملکول‌های غیرنشاندار با ملکول‌های نشاندار برای اتصال اختصاصی به جایگاه قابل‌اشباع موجود در گیرنده رقابت نموده ولی برای اتصال غیراختصاصی رقابتی نمی‌نمایند. مقدار واقعی اتصال اختصاصی با کسر اتصال غیراختصاصی از کل اتصال، بدست می‌آید. **(b)** یک نمودار خطی [L]/[RL] در مقابل [RL]، میزان K_d و B_{max} برای کمپلکس گیرنده-هورمون را مشخص می‌کند. این نمودارها را با نمودارهای V_o در مقابل [S] (شکل ۱۲-۸ را ببینید) و $1/V_o$ در مقابل $1/[S]$ برای یک کمپلکس آنزیم-سوبسترا (کادر ۱-۸ را ببینید)، مقایسه نمایید.

Book.Apfarsi.ir

لیگاند-گیرنده، سبب می‌گردد تا تغییرات کوچک در غلظت لیگاند، اثرات زیادی را بر روی فعال‌شدن گیرنده اعمال نماید (اثر تعاونی را در مورد اتصال هموگلوبین به اکسیژن در نظر بگیرید؛ شکل ۱۲-۷ را ببینید). **تقویت** توسط **آبشارهای آنزیمی** زمانی مشاهده می‌گردد که آنزیم مرتبط به یک گیرنده پیام، بعد از فعال شدن، به نوبه خود فعال‌شدن ملکول‌های متعدد آنزیم دوم را کاتالیز نماید که هرکدام از آنها نیز سبب فعال‌شدن ملکول‌های زیادی از آنزیم سوم شوند و تا به آخر (شکل ۱۳-۱b). با این آبشارهای آنزیمی، تقویت‌هایی با چندین بزرگی ظرف چند میلی‌ثانیه قابل حصول است.

حساسیت سیستم‌های گیرنده در معرض تغییر می‌باشد. وقتی یک پیام به‌طوردائمی وجود دارد، حساسیت‌زدایی سیستم گیرنده مشاهده می‌گردد (شکل ۱۳-۱c)؛ وقتی محرک به میزان کمتر از آستانه مشخصی کاهش می‌یابد، سیستم مجدداً حساس می‌شود. تصور کنید که وقتی از فضایی با نور درخشان خورشید به محیط تاریکی می‌روید و یا برعکس، چه اتفاقی در سیستم انتقال بینایی رخ می‌دهد.

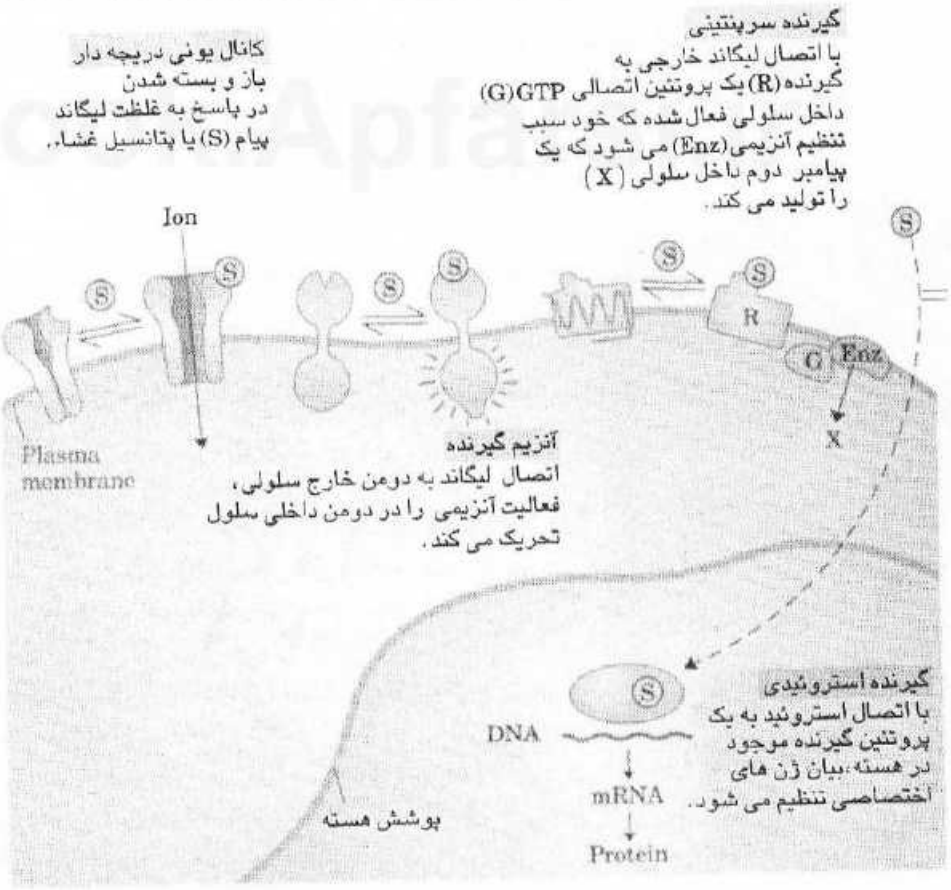
یک خصوصیت دیگر سیستم‌های انتقال پیام که ذکر آن با ارزش می‌باشد، **یکپارچگی** (شکل ۱۳-۱d)، یا توانایی سیستم در دریافت پیام‌های متعدد و تولید یک پاسخ مناسب بر حسب نیازهای سلول یا موجود، می‌باشد. مسیرهای پیام‌رسانی مختلف، در سطوح متعددی یکی شده و ایجاد واکنش‌های متقابل مناسبی می‌نمایند که هومئوستاز را در سلول و موجود زنده حفظ می‌کنند.

در این فصل، جزئیات ملکولی چندین سیستم نمونه انتقال پیام را مورد بررسی قرار خواهیم داد. شروع فرایند انتقال در هر سیستم متفاوت بوده ولی خصوصیات کلی انتقال پیام در مورد تمامی آنها یکسان می‌باشد: یک پیام با گیرنده خود واکنش نموده؛ گیرنده فعال‌شده با ماشین سلولی تولیدکننده پیام دوم یا ایجادکننده تغییری در فعالیت یک پروتئین سلولی، واکنش می‌نماید؛ فعالیت متابولیکی سلول هدف دستخوش تغییر شده؛ و بالاخره، انتقال خاتمه یافته و سلول به حالت قبل از تحریک برمی‌گردد. برای شرح این ویژگی‌های کلی سیستم‌های انتقال پیام، مثال‌هایی در مورد هر کدام از چهار مکانیسم پایه پیام‌رسانی زده خواهد شد (شکل ۲-۱۳).

ساده‌ترین سیستم انتقال پیام، کانال‌های یونی موجود در غشاء پلاسمایی می‌باشند که در پاسخ به اتصال یک لیگاند شیمیایی یا تغییر در پتانسیل ترانس‌ممبران، باز یا بسته می‌شوند (ازاینرو به آنها «دریچه‌دار» گفته می‌شود). کانال یونی گیرنده استیل‌کولین، مثالی از این مکانیسم می‌باشد. دومین مکانیسم پایه پیام‌رسانی مستلزم گیرنده‌های غشاء پلاسمایی است که فعالیت آنزیمی نیز دارند (آنزیم‌های گیرنده). با فعال‌شدن این گیرنده‌ها توسط لیگاند خارج‌سلولی خود، تولید یک پیامبر ثانویه داخل‌سلولی کاتالیز می‌گردد. مثال این نوع مکانیسم، گیرنده انسولین می‌باشد. مکانیسم سوم انتقال پیام، توسط سیستم β-آدرنرژیک شرح داده شده که اپی‌نفرین (آدرنالین) را شناسایی نموده و بواسطه پروتئین‌های گیرنده غشاء پلاسمایی، به‌طورغیرمستقیم (از طریق پروتئین‌های اتصالی GTP) آنزیم‌هایی را فعال می‌نمایند که پیامبرهای دوم داخل‌سلولی را تولید می‌کنند. بالاخره، هسته دارای کلاس بزرگی از گیرنده‌ها می‌باشد که با اتصال لیگاندهای اختصاصی (نظیر هورمون استروئیدی استروژن) به آنها، سرعت رونویسی و ترجمه ژن‌ها به پروتئین‌های سلولی دستخوش تغییر می‌گردد. از آنجایی که هورمون‌های استروئیدی از طریق مکانیسم‌هایی عمل می‌نمایند که نهایتاً با تنظیم بیان ژن ارتباط دارد، در اینجا تنها به‌طورخلاصه به آنها اشاره شده و بحث پیرامون جزئیات عمل آنها را برای فصل ۲۸ می‌گذاریم.

قبل از شروع بحث کانال‌های یونی دریچه‌دار، نیاز به فراگیری بعضی اطلاعات پایه در مورد کانال‌های یونی و پتانسیل‌های غشایی داریم.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲-۱۳. چهار نوع کلی انتقال‌دهنده‌های پیام.

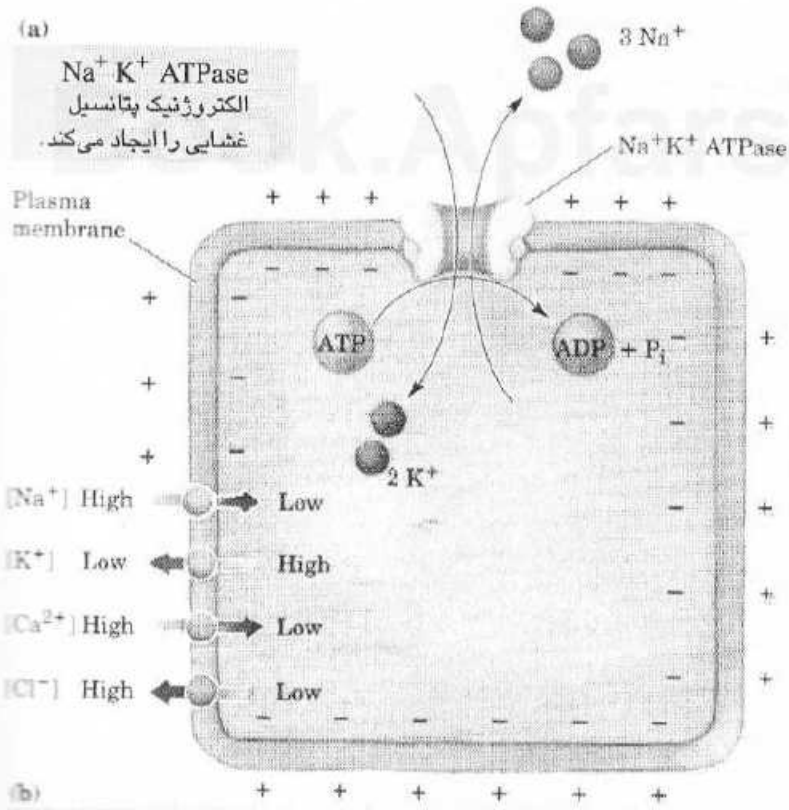
کانال‌های یونی زمینه‌ساز پیام‌رسانی الکتریکی در سلول‌های قابل‌تحریک هستند

قابلیت تحریک سلول‌های حسی، نرون‌ها و سلول‌های عضلانی بستگی به کانال‌های یونی دارد: این کانال‌ها به‌عنوان انتقال دهنده‌های پیام، مسیر تنظیم‌شده‌ای برای حرکت یون‌های معدنی، نظیر Na^+، K^+، Ca^{2+} و Cl^-، از عرض غشاء پلاسمایی در پاسخ به محرک‌های مختلف فراهم می‌آورند. از فصل ۱۲ بیاد دارید که این کانال‌ها «دریچه‌دار» هستند؛ به‌طوریکه با اتصال لیگاند اختصاصی (برای مثال، یک نوروترانسمیتر) به گیرنده این کانال‌ها یا در اثر تغییری در پتانسیل الکتریکی در عرض غشاء (V_m)، کانال‌ها فعال شده و ممکن است باز یا بسته شوند. Na^+K^+ ATPase با انتقال سه یون Na^+ بخارج سلول، به ازاء ورود دو یون K^+ به داخل سلول، سبب عدم‌تعادل در بارهای موجود در دو طرف غشاء پلاسمایی می‌گردد (شکل ۳a-۱۳)، به طوری که داخل سلول نسبت به خارج آن منفی است. در این حالت گفته می‌شود که غشاء پلاریزه می‌باشد. به‌طور قراردادی، وقتی داخل سلول نسبت به خارج آن منفی است، V_m منفی خواهد بود. برای یک سلول شاخص حیوانی، V_m برابر ۶۰- تا ۷۰ mV- است.

از آنجایی که کانال‌های یونی عموماً اجازه عبور تنها آنیون‌ها یا کاتیون‌ها، و نه هر دو، را می‌دهند، جریان یونی از طریق کانال سبب تغییر مجدد بار در دو سمت غشاء شده و در نتیجه V_m را تغییر می‌دهد. ورود یون با بار مثبت نظیر Na^+، و یا خروج یون دارای بار منفی نظیر Cl^-، غشاء را دپلاریزه نموده و V_m را به نزدیک صفر می‌رساند. برعکس، خروج K^+ از سلول، غشاء را هیپرپلاریزه نموده و V_m منفی‌تر می‌گردد. جریان‌های یونی که از طریق کانال‌ها انجام می‌شوند، برخلاف انتقال فعال توسط Na^+K^+ ATPase، از نوع غیرفعال می‌باشد.

جهت جریان خودبخودی یون‌ها در عرض یک غشاء پلاریزه به وسیله پتانسیل الکتروشیمیایی یونی موجود در عرض غشاء تعیین می‌گردد. نیروی (ΔG) که سبب می‌شود یک یون از طریق یک کانال یونی به‌طور خودبخودی عبور نماید، تابعی از نسبت غلظت‌های آن در دو سمت غشاء (C_2/C_1) و تفاوت در پتانسیل الکتریکی (V_m یا $\Delta\psi$) می‌باشد:

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳-۱۳. پتانسیل الکتریکی ترانس‌ممبران. (a) پمپ Na^+K^+ ATPase الکتروژنیک یک پتانسیل الکتریکی ۶۰- mV را در عرض غشاء ایجاد می‌نماید (داخل منفی است). **(b)** پیکان‌های ضخیم جهت تمایل به حرکت خودبخودی یون‌ها از عرض غشاء پلاسمایی را در یک سلول حیوانی نشان می‌دهند که حاصل ترکیبی از شیب‌های شیمیایی و الکتریکی است. شیب غلظتی، Na^+ و Ca^{2+} را به داخل (ایجاد دپلاریزاسیون) و K^+ را به‌خارج (ایجاد هیپرپلاریزاسیون) می‌کشاند. شیب الکتریکی Cl^- را بخارج رانده که برخلاف شیب غلظتی آن می‌باشد (سبب دپلاریزاسیون می‌گردد).

جدول ۲-۱۳. غلظت‌های یونی موجود در سلولها و مایعات خارج‌سلولی (mM)

	K^+		Na^+		Ca^{2+}		Cl^-	
نوع سلول	داخل	خارج	داخل	خارج	داخل	خارج	داخل	خارج
آکسون لوبی ماهی	۴۰۰	۲۰	۵۰	۴۴۰	≤ ۰/۴	۱۰	۴۰ - ۱۵۰	۵۶۰
عضله قورباغه	۱۲۴	۲/۳	۱۰/۴	۱۰۹	<< ۰/۱	۲/۱	۱/۵	۷۸

$$\Delta G = RT \ln (C_{out}/C_{in}) + Z\mathcal{F}V_m \qquad (۱۳-۱)$$

که در آن R ثابت گازی، T دمای مطلق، Z بار موجود در یون و $\mathcal{F}$ ثابت فارادی است. در یک نرون یا سلول عضلانی شاخص، غلظت‌های Na^+، K^+، Ca^{2+} و Cl^- موجود در سیتوزول بسیار متفاوت از مایع خارج‌سلولی است (جدول ۲-۱۳). با توجه به این تفاوت‌های غلظت، V_m برابر ۶۰ mV- و ارتباط نشان داده شده در معادله ۱-۱۳، بازشدن کانال Na^+ یا Ca^{2+} منجر به جریان خودبخودی به داخل یون‌های Na^+ و Ca^{2+} (و دپلاریزاسیون) شده، درحالیکه بازشدن کانال K^+ همراه با خروج خودبخودی K^+ از سلول (و هیپرپلاریزاسیون) می‌باشد (شکل ۳b-۱۳).

براساس معادله ۱-۱۳، عبور یک یون خص از یک کانال تا زمانی ادامه می‌یابد که نیروی مورد نیاز برای این حرکت توسط ترکیبی از شیب غلظتی و پتانسیل الکتریکی تأمین گردد. برای مثال، وقتی Na^+ در جهت شیب غلظتی جریان می‌یابد، غشاء را دپلاریزه می‌نماید. وقتی پتانسیل غشاء به ۷۰ mV+ می‌رسد، اثر این پتانسیل غشایی (در مقاومت در برابر ورود مقادیر بیشتر Na^+) دقیقاً برابر اثر شیب غلظتی Na^+ (در جهت حرکت مقادیر بیشتر Na^+ به

Book Anfarsi.ir

داخل) خواهد بود. در این پتانسیل تعادلی (E)، نیروی پیشبرنده برای حرکت یک یون (ΔG) برابر صفر بوده و معادله ۱-۱۳ را می‌توان بصورت زیر نوشت تا معادله نرنست[1] بدست آید:

$$E = -(RT/Z\mathcal{F}) \ln (C_{out}/C_{in})$$

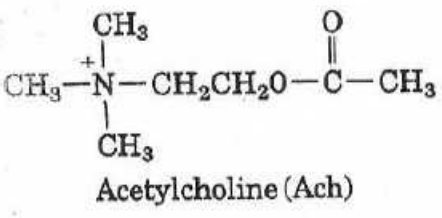
این پتانسیل تعادلی برای هر یون متفاوت است، زیرا شیبهای غلظتی برای هر یون مختلف می‌باشد.

تعداد یون‌های عبوری مورد نیاز برای ایجاد تغییر پتانسیل غشاء، در مقایسه با غلظت‌های بالای Na^+، K^+ و Cl^- موجود در سلول‌ها و مایع خارج‌سلولی، به‌طورقابل‌توجهی کمتر و ناچیز می‌باشد، به‌صوری که جریانهای یونی که در طی پیام‌رسانی در سلول‌های تحریک‌شده صورت می‌پذیرد، اساساً تأثیری بر غلظت این یون‌ها ندارد. هرچند، به علت اینکه غلظت داخل‌سلولی Ca^{2+} عموماً بسیار پایین می‌باشد (حدود 10^{-7} M)، ورود Ca^{2+} به داخل سلول می‌تواند $[Ca^{2+}]$ سیتوزولی را به‌طورمشخصی تغییر دهد.

پتانسیل غشایی یک سلول در یک زمان خاص نتیجه انواع و تعداد کانال‌های یونی است که در آن زمان باز می‌باشند. در اکثر سلول‌های در حالت استراحت، کانال‌های K^+ بیشتری نسبت به کانال‌های Na^+، Cl^- یا Ca^{2+}، باز بوده و بنابراین پتانسیل در حالت استراحت به E مربوط به یون K^+ (۹۰ mV-)، در مقایسه با هر یون دیگر، نزدیکتر می‌باشد. وقتی کانال‌های Na^+، Ca^{2+} یا Cl^- باز می‌گردد، پتانسیل غشاء به سمت E آن یون می‌رود. زمان دقیق بازشدن و بسته‌شدن کانال‌های یونی و تغییرات زودگذر حاصل در پتانسیل غشاء، اساس پیام‌رسانی الکتریکی است که توسط آن سیستم عصبی به عضلات اسکلتی پیام انقباض، به قلب پیام ضربان یا به سلول‌های ترشحی پیام تخلیه محتویات خود را می‌دهد. به علاوه، بسیاری از هورمون‌ها اثرات خود را با تغییر در پتانسیل غشاء سلول‌های هدف اعمال می‌نمایند. این مکانیسم‌ها محدود به موجودات پیچیده نمی‌باشد؛ کانال‌های یونی نقش مهمی را در پاسخ باکتریها و سایر موجودات تک سلولی به پیام‌های محیطی ایفاء می‌نمایند.

برای شرح عمل کانال‌های یونی در پیام‌رسانی سلول-به-سلول، حال به شرح مکانیسم‌هایی می‌پردازیم که توسط آنها یک نرون پیامی را در طول خود و در عرض سیناپس به نرون بعدی (یا به یک سلول عضلانی) در یک مدار سلولی با استفاده از نروترانسمیتر استیل‌کولین، انتقال می‌دهد.

گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین یک کانال بازشونده توسط لیگاند می‌باشد



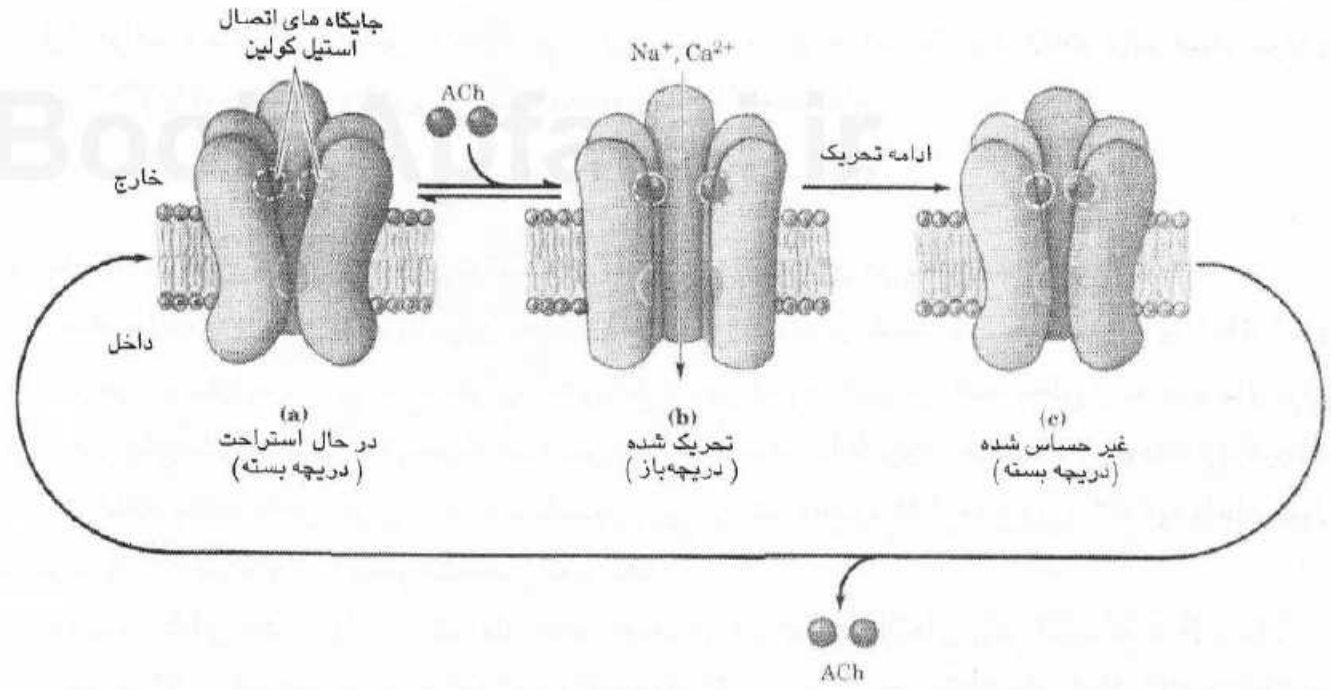
Acetylcholine (Ach)

یکی از مثال‌های شناخته‌شده کانال گیرنده‌ای دریچه‌دار وابسته به لیگاند، **گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین** می‌باشد (شکل ۳۹-۱۲ را ببینید). این کانال گیرنده در پاسخ به نوروترانسمیتر استیل‌کولین (ر نیکوتین که نام گیرنده از آن گرفته شده است) باز می‌گردد. این گیرنده در غشاء پس‌سیناپسی نرون‌های موجود در بعضی از سیناپسها و در فیبرهای عضلانی (سلول‌های عضلانی) موجود در محل اتصال عصب به عضله، یافت می‌شود.

استیل‌کولین رهاشده از نرون تحریک‌شده، حدود چند میکرومتر در عرض شکاف سیناپسی یا محل اتصال عصب به عضله، انتشار یافته و با انجام واکنش با گیرنده استیل‌کولین، سبب تحریک الکتریکی (دپلاریزاسیون)

1- Nernst equation

Book.Apfarsi.ir



شکل ۴-۱۳. سه حالت گیرنده استیل‌کولین. تماس کوتاه کانال یونی درحال استراحت (بسته) **(a)** با استیل‌کولین، **حالت تحریک‌شده (باز) (b)** را ایجاد می‌نماید. **تماس طولانی‌تر منجر به غیرحساس‌شدن** و بسته‌شدن کانال (c) می‌گردد.

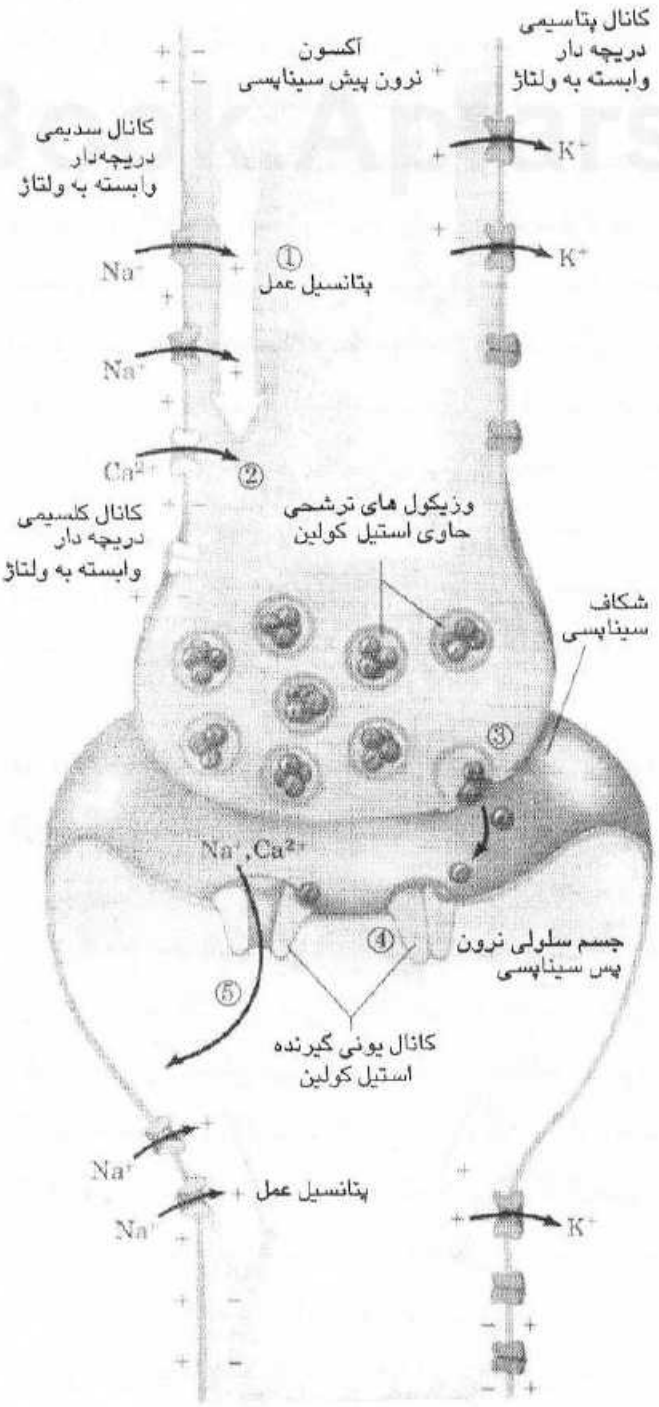
سلول گیرنده می‌گردد. گیرنده استیل‌کولین یک پروتئین آلوستریک با دو جایگاه اتصالی با تمایل بالا برای استیل‌کولین، به فاصله حدود ۳/۰ nm از دریچه یونی و بر روی دو زیرواحد α، می‌باشد. با اتصال استیل‌کولین، کونفورماسیون از حالت بسته به باز تغییر می‌نماید. این فرایند دارای اثر تعاونی مثبت می‌باشد: اتصال استیل‌کولین به اولین جایگاه، تمایل جایگاه دوم را برای اتصال به استیل‌کولین افزایش می‌دهد. وقتی سلول پیش‌سیناپسی میزان مختصری از استیل‌کولین را رها می‌سازد، هر دو جایگاه موجود در گیرنده سلول پس‌سیناپسی به مدت کوتاه اشغال شده و کانال یونی باز می‌گردد (شکل ۴-۱۳). حال هر کدام از یون‌های Na^+ یا Ca^{2+} می‌توانند وارد سلول شده و جریان رو به داخل این یون‌ها، غشاء پلاسمایی را دپلاریزه نموده و بر حسب نوع بافت، حوادث بعدی را آغاز می‌نماید. در نرون پس‌سیناپسی، دپلاریزاسیون سبب پتانسیل عمل شده (پایین را ببینید) و در محل اتصال عصب به عضله، دپلاریزاسیون فیبر عضلانی همراه با انقباض عضلانی خواهد بود.

به‌طورطبیعی، غلظت استیل‌کولین در شکاف سیناپسی سریعاً توسط آنزیم استیل‌کولین‌استراز موجود در شکاف کاهش داده می‌شود. وقتی میزان استیل‌کولین برای مدتی بیش از چند میلی‌ثانیه بالا باقی بماند، غیرحساس‌شدن گیرنده رخ می‌دهد (شکل ۱c-۱۳). کانال گیرنده به کونفورماسیون سومی تبدیل می‌گردد (شکل ۴c-۱۳) که در آن کانال مسدود بوده و استیل‌کولین به‌طورمحکم اتصال یافته است. با آزادسازی آهسته (در چند میلی‌ثانیه) استیل‌کولین از این جایگاه‌های اتصالی، نهایتاً گیرنده به وضعیت حالت استراحت برگشت نموده که در آن کانال بسته بوده و به مقادیر استیل‌کولین حساس می‌باشد.

کانال‌های یونی بازشونده توسط ولتاژ، سبب تولید پتانسیل عمل عصبی می‌گردند

پیام‌رسانی در سیستم عصبی بواسطه شبکه‌هایی از نرون‌ها یا سلول‌های اختصاصی به انجام می‌رسد که ضربان الکتریکی (پتانسیل عمل) را از یک انتهای سلول (جسم سلول) و در طول امتداد سیتوپلاسمی (آکسون) حمل می‌نمایند. این پیام الکتریکی سبب رهاسازی ملکول‌های نورترانسمیتر در سیناپس شده که این پیام را به سلول

Book.Apfarsi.ir



شکل ۵-۱۳. نقش کانال‌های دریچه‌دار وابسته به ولتاژ و وابسته به لیگاند در انتقال عصبی. در ابتدا، غشاء پلاسمایی نرون پیش‌سیناپسی بواسطه عمل Na^+K^+ATPase الکتروژنیک پلاریزه (داخل منفی) می‌گردد؛ این پمپ به ازاء هر سه یون Na^+ که بخارج پمپ می‌نماید، دو یون K^+ را به داخل پمپ می‌کند (شکل ۳-۱۳ را ببینید). (۱) در حضور یک محرک، در این نرون پتانسیل عمل ایجاد شده که در طول آکسون حرکت نموده، (پیکانهای سفید) و از جسم سلول دور می‌گردد. بازشدن یک کانال سدیمی وابسته به ولتاژ، امکان ورود Na^+ را فراهم نموده و دپلاریزاسیون موضعی حاصل منجر به بازشدن کانال سدیمی مجاور می‌گردد و تا به آخر. وجود یک دوره سرکش کوتاه بعد از بازشدن هر کانال سدیمی وابسته به ولتاژ، جهت حرکت یکطرفه این پتانسیل عمل را تضمین می‌نماید. (۲) وقتی موج دپلاریزاسیون به انتهای آکسون می‌رسد، کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ باز شده و یون‌های Ca^{2+} وارد نرون پیش‌سیناپسی می‌گردند. (۳) افزایش $[Ca^{2+}]$ داخل‌سلولی حاصل، آزادسازی اگزوسیتیک نوروترانسمیتر استیل‌کولین را به داخل شکاف سیناپسی تحریک می‌نماید. (۴) استیل‌کولین به گیرنده موجود بر روی نرون پس‌سیناپسی متصل شده و سبب بازشدن کانال یونی وابسته به لیگاند آن می‌گردد. (۵) Na^+ و Ca^{2+} خارج‌سلولی از طریق این کانال وارد سلول پس‌سیناپسی شده و آن را دپلاریزه می‌نمایند. بدین‌ترتیب پیام الکتریکی به جسم سلولی نرون پس‌سیناپسی منتقل شده و با همین توالی‌های اتفاقات، در طول آکسون آن حرکت نموده و به نرون سوم می‌رسد.

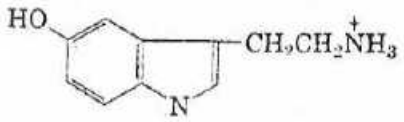
بعدی موجود در مسیر انتقال می‌دهد. این مکانیسم پیام‌رسانی به سه نوع کانال یونی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ نیاز دارد. در تمامی طول آکسون **کانال‌های سدیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ** وجود دارد (شکل ۵-۱۳؛ شکل ۴۰-۱۲ را نیز ببینید)، که در زمان استراحت غشاء ($V_m = -۶۰$ mV) بسته بوده ولی وقتی غشاء سلول در پاسخ به استیل‌کولین (یا نوروترانسمیتر دیگری) به‌طورموضعی دپلاریزه می‌گردد، مدت زمان کوتاهی باز می‌شود. این دپلاریزاسیون حاصل از بازشدن کانال‌های Na^+، منجر به بازشدن **کانال‌های پتاسیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ** شده و با خروج K^+، غشاء به‌طورموضعی رپلاریزه می‌شود. با بازشدن کوتاه‌مدت کانال‌های Na^+ مجاور و متعاقباً کانال‌های K^+، ضربان کوتاهی از دپلاریزاسیون در طول آکسون انتقال می‌یابد. بعد از بازشدن یک کانال Na^+، دوره زمانی کوتاهی وجود دارد که طی آن کانال نمی‌تواند مجدداً باز گردد و بنابراین یک موج یک جهتی از دپلاریزاسیون از جسم سلول به سمت انتهای آکسون حرکت می‌نماید. حساسیت ولتاژی کانال‌های یونی بخاطر وجود زنجیرهای جانبی اسیدهای

Book Anfarsi.ir

آمینه باردار در موقعیتهای حساس می‌باشد که با میدان الکتریکی موجود در عرض غشاء واکنش متقابل دارند. تغییرات پتانسیل ترانس‌ممبران سبب تغییرات ظریفی در پروتئین کانال می‌گردد (شکل ۴۰-۱۲ را ببینید).

در انتهای آکسون **کانال‌های کلسیمی دریچه‌دار وابسته به ولتاژ** وجود دارد. بارسیدن موج دپلاریزاسیون، این کانال‌ها باز شده و Ca^{2+} از فضای خارج سلول وارد سلول می‌گردد. با عمل به‌عنوان یک پیامبر دوم داخل‌سلولی، Ca^{2+} سبب رهاسازی استیل‌کولین با فرایند اگزوسیتوز به داخل شکاف سیناپسی می‌شود (مرحله ۳ در شکل ۵-۱۳). استیل‌کولین به سمت سلول پس‌سیناپسی (نرون دیگر یا سلول عضلانی) انتشار یافته و با اتصال به گیرنده موجود در سطح این سلول سبب دپلاریزاسیون آن می‌گردد. بدین‌ترتیب پیام به سلول بعدی موجود در مسیر انتقال داده می‌شود.

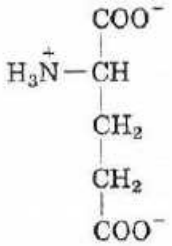
بعداً خواهیم دید که کانال‌های یونی دریچه‌دار، پیام‌ها را به یکی از دو طریق زیر انتقال می‌دهند: با تغییر غلظت داخل‌سلولی یک یون (مثل Ca^{2+}) که بعداً به‌عنوان یک پیامبر دوم عمل می‌کند، یا با تغییر V_m و اثر بر روی پروتئین‌های غشایی دیگر که به V_m حساس هستند. عبور یک پیام الکتریکی در طول یک نرون و به نرون بعدی، با استفاده از هر دو این مکانیسم‌ها به انجام می‌رسد.



Serotonin
(5-Hydroxytryptamine)

در نرون‌ها کانال‌های گیرنده‌ای وجود دارد که به انواعی از نروترانسمیترها پاسخ می‌دهند

سلول‌های حیوانی، بخصوص انواع موجود در سیستم عصبی، دارای انواع مختلفی از کانال‌های یونی دریچه‌دار وابسته به لیگاندها، ولتاژ، و یا هر دو، می‌باشند. نوروترانسمیترهای ۵-هیدروکسی‌تریپتامین (سروتونین)، گلوتامات و گلیسین می‌توانند از طریق کانال‌های گیرنده‌ای عمل نمایند که از نظر ساختمانی با گیرنده استیل‌کولین ارتباط دارند. سروتونین و گلوتامات بازشدن کانال‌های کاتیونی (K^+، Na^+، Ca^{2+}) را سبب می‌شوند، درحالیکه گلیسین کانال‌های اختصاصی Cl^- را باز می‌کند. کانال‌های کاتیونی و آنیونی براساس تفاوتهای ظریف خود در ریشه‌های اسید آمینه مفروش‌کننده کانال آبدوست، از یکدیگر تمایز داده می‌شوند. کانال‌های کاتیونی در موقعیت‌های حساس دارای زنجیرهای جانبی با بار منفی Glu و Asp می‌باشند. وقتی به‌طورآزمایشی تعدادی از این ریشه‌های اسیدی با ریشه‌های بازی جایگزین گردند، کانال کاتیونی به کانال آنیونی تبدیل می‌شود.


Glutamate

برحسب نوع یونی که از کانال عبور می‌نماید، لیگاند (نوروترانسمیتر) آن کانال ممکن است سلول هدف را دپلاریزه و یا هیپرپلاریزه نماید. هر نرون به‌طورطبیعی از چندین نرون دیگر ورودی دریافت می‌نماید که هر کدام نوروترانسمیتر اختصاصی خود را رها ساخته و هرکدام از آنها دارای اثر دپلاریزه‌کنندگی یا هیپرپلاریزه‌کنندگی خاص خود می‌باشد. بنابراین V_m سلول هدف، انعکاسی از برآیند ورودی (شکل ۱-۱۳) از نرون‌های مختلف می‌باشد. در حالتی که برآیند این ورودیها منجر به دپلاریزاسیون گردد، سلول هدف تنها با یک پتانسیل عمل پاسخ می‌دهد.

کانال‌های گیرنده‌ای استیل‌کولین، گلیسین، گلوتامات و γ-آمینو بوتیریک اسید (گابا) توسط لیگاندهای خارج‌سلولی باز می‌شوند. پیامبرهای دوم داخل‌سلولی، نظیر cAMP، cGMP (GMP ۳´،۵´-حلقوی، ترکیب مشابه cAMP)، IP_3 (اینوزیتول ۱،۴،۵-تری‌فسفات)، Ca^{2+} و ATP، کانال‌های یونی کلاس دیگری را تنظیم می‌نمایند که همانطور که بعداً خواهیم دید، در انتقال پیام‌های حس بینایی، بویایی و چشایی نقش دارند.

Book.Apfarsi.ir

آنزیم‌های گیرنده

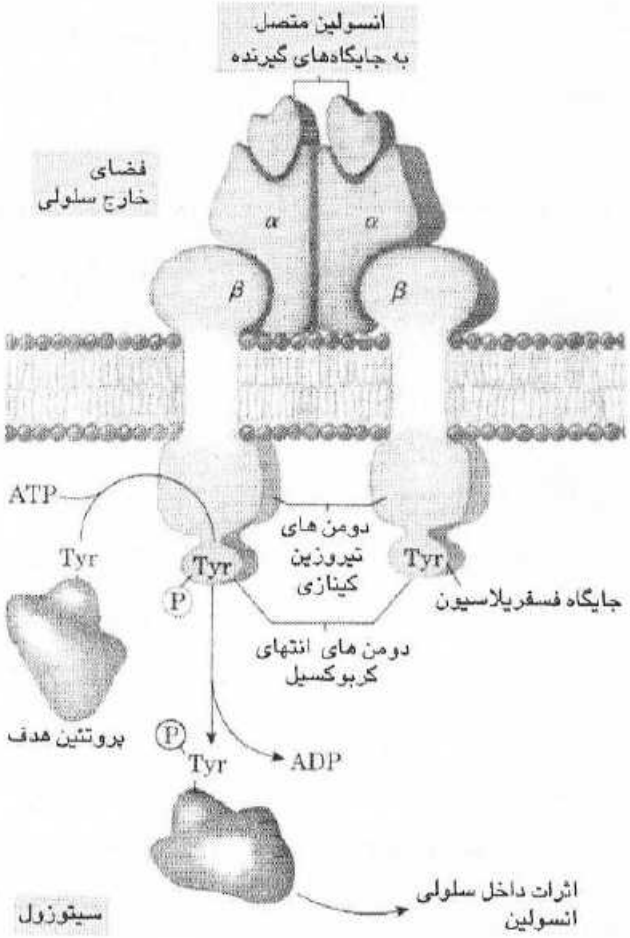
مکانیسم دیگر انتقال پیام که دارای پایه و اساس متفاوتی است، توسط آنزیم‌های گیرنده به انجام می‌رسد. این پروتئین‌ها از یک دومن اتصالی لیگاند در سطح خارج‌سلولی غشاء سلول و یک جایگاه فعال آنزیمی در سمت سیتوزولی تشکیل شده‌اند که توسط یک قطعه ترانس‌ممبران به یکدیگر متصل می‌باشند. معمولاً این گیرنده آنزیمی یک پروتئین کیناز است که ریشه‌های Tyr موجود بر روی پروتئین‌های هدف اختصاصی را فسفریله می‌نماید؛ گیرنده انسولین، پروتوتیپ این گیرنده‌ها می‌باشد. سایر آنزیم‌های گیرنده، در پاسخ به پیام‌های خارج‌سلولی، پیامبر دوم داخل‌سلولی cGMP را سنتز می‌کنند. گیرنده فاکتور دهلیزی دفع‌کننده سدیم از این نوع می‌باشد.

ANP

گیرنده انسولین یک پروتئین کیناز با ویژگی برای تیروزین می‌باشد

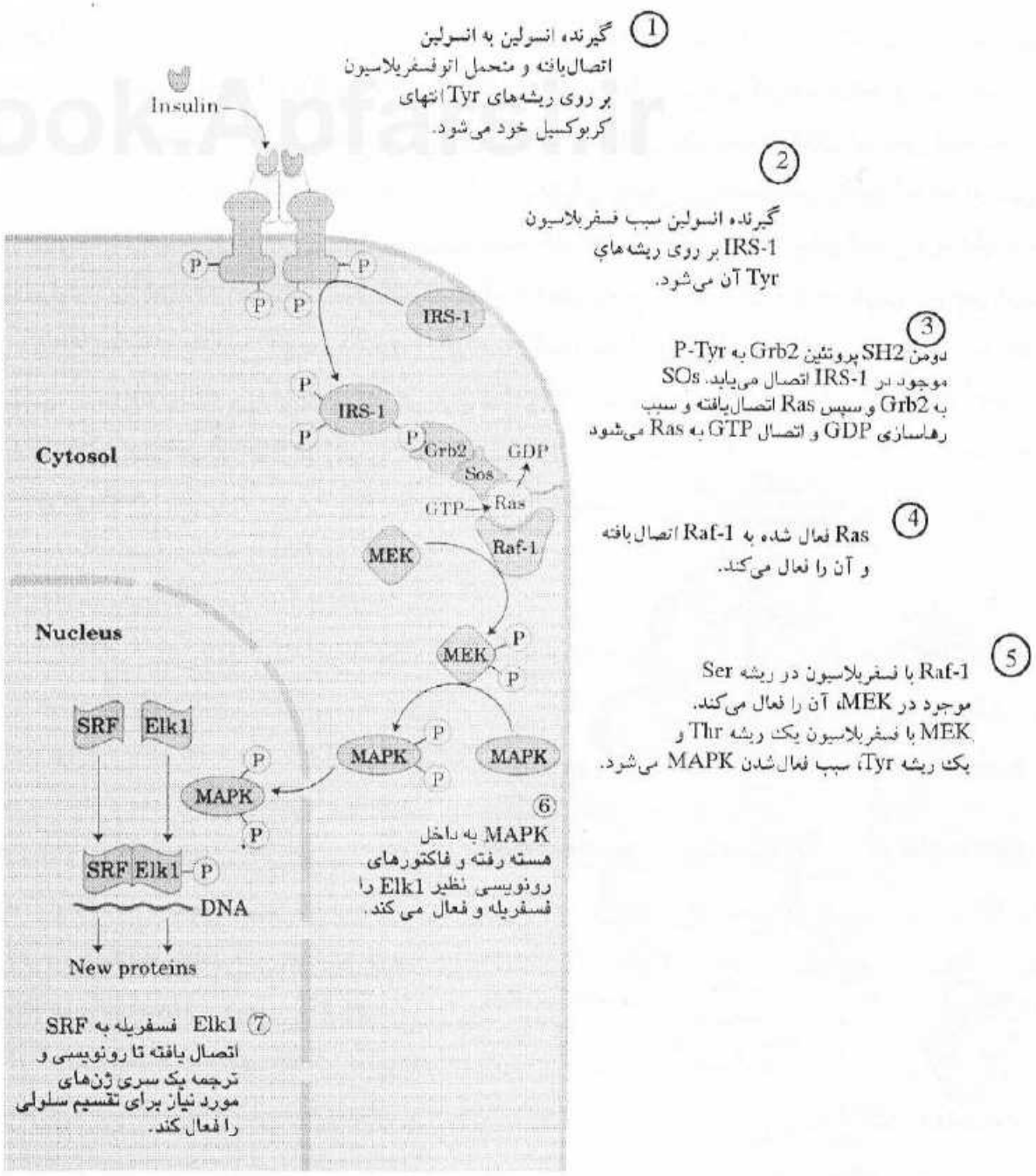
انسولین هم متابولیسم و هم بیان ژن را تنظیم می‌کند: پیام انسولین با عبور از گیرنده غشاء پلاسمایی، به آنزیم‌های متابولیکی حساس به انسولین و همچنین به هسته رسیده و سبب تحریک رونویسی بعضی از ژن‌ها می‌گردد. گیرنده فعال انسولین از دو زنجیر مشابه α که از سمت خارجی غشاء پلاسمایی بیرون‌زده است، و دو زیرواحد ترانس‌ممبران β که انتهای کربوکسیل آنها وارد سیتوزول می‌گردد، تشکیل شده است (شکل ۶-۱۳). زنجیرهای α دارای دومن اتصالی به انسولین بوده و دومن داخل‌سلولی زنجیرهای β حاوی فعالیت پروتئین کینازی است که گروه فسفریل را از ATP به گروه هیدروکسیل ریشه‌های Tyr در پروتئین‌های اختصاصی منتقل می‌نماید. شکل ۷-۱۳ پیام‌رسانی از طریق گیرنده انسولین را نشان می‌دهد. این پیام‌رسانی با (مرحله ۱) فعال‌شدن خاصیت پروتئین کینازی زنجیرهای β در اثر اتصال انسولین به زنجیرهای α آغاز شده و هر منومر $\alpha\beta$، ریشه‌های مشخصی از Tyr موجود در نزدیکی انتهای کربوکسیل زنجیر β جفت خود را در این دیمر فسفریله می‌کند. با این اتوفسفریلاسیون، جایگاه فعال آنزیم باز شده و امکان فسفریلاسیون ریشه‌های Tyr سایر پروتئین‌های هدف فراهم می‌گردد.

یکی از این پروتئین‌ها (مرحله ۲) سوبسترا-۱



شکل ۶-۱۳. گیرنده انسولین. گیرنده انسولین از دو زنجیر α و دو زنجیر β تشکیل یافته است؛ زنجیرهای α در سمت خارجی غشاء پلاسمایی قرار داشته و زنجیرهای β با عبور از عرض غشاء، در سمت سیتوزولی بیرون می‌زنند. اتصال انسولین به زنجیرهای α منجر به آغاز تغییر کونفورماسیونی شده که اجازه اتوفسفریلاسیون ریشه‌های Tyr موجود در دومن انتهای کربوکسیل زیرواحدها β را می‌دهد. اتوفسفریلاسیون سبب فعالیت بیشتر دومن تیروزین کینازی شده که بعداً فسفریلاسیون سایر پروتئین‌های هدف را کاتالیز می‌نماید.

Book.Apfarsi.ir



① گیرنده انسولین به انسولین اتصال‌یافته و متحمل اتوفسفریلاسیون بر روی ریشه‌های Tyr انتهای کربوکسیل خود می‌شود.

② گیرنده انسولین سبب فسفریلاسیون IRS-1 بر روی ریشه‌های Tyr آن می‌شود.

③ دومن SH2 پروتئین Grb2 به P-Tyr موجود در IRS-1 اتصال می‌یابد. SOs به Grb2 و سپس Ras اتصال‌یافته و سبب رهاسازی GDP و اتصال GTP به Ras می‌شود

④ Ras فعال شده به Raf-1 اتصال‌یافته و آن را فعال می‌کند.

⑤ Raf-1 با فسفریلاسیون در ریشه Ser موجود در MEK، آن را فعال می‌کند. MEK با فسفریلاسیون یک ریشه Thr و یک ریشه Tyr، سبب فعال‌شدن MAPK می‌شود.

⑥ MAPK به داخل هسته رفته و فاکتورهای رونویسی نظیر Elk1 را فسفریله و فعال می‌کند.

⑦ Elk1 فسفریله به SRF اتصال یافته تا رونویسی و ترجمه یک سری ژن‌های مورد نیاز برای تقسیم سلولی را فعال کند.

شکل ۷-۱۳. تنظیم بیان ژن توسط انسولین. مسیر پیام‌رسانی که توسط آن انسولین بیان ژن‌های اختصاصی را تنظیم می‌نماید، مستلزم آبشاری از پروتئین کینازها می‌باشد که هر کدام دیگری را فعال می‌نمایند. گیرنده انسولین یک تیروزین کیناز اختصاصی است؛ سایر کینازها ریشه‌های Ser و Thr را فسفریله می‌نمایند. MEK یک کیناز دارای ویژگی دوگانه می‌باشد که یک ریشه Thr و یک ریشه Tyr را در MAPK فسفریله می‌نماید. MAPK گاهی ERK (کیناز تنظیم‌شده خارج‌سلولی exracellular regulated kinase) نامیده می‌شود؛ MEK عبارتست از mitogen-activated, ERK-activating kinase و SFR عبارتست از فاکتور پاسخ سرمی serum response factor.

گیرنده انسولین[1] (IRS-1) می‌باشد. با فسفریلاسیون این ریشه‌ها، IRS-1 تبدیل به نقطه‌ای برای جمع‌شدن یک کمپلکس پروتئینی (مرحله ۳) می‌گردد که از طریق یک سری طولانی از ترکیبات واسط پروتئینی، پیام را از گیرنده انسولین به اهداف انتهایی در سیتوزول و هسته هدایت می‌نماید. ابتدا، یک ریشه P-Tyr موجود در IRS-1 به **دومن**

1- Insuline receptor substrate-1

Book.Apfarsi.ir

SH2 پروتئین Grb2 اتصال می‌یابد. (SH2 مخفف Src homology 2 می‌باشد؛ توالی دومنهای SH2 شبیه به دومنی در تیروزین پروتئین کیناز دیگری بنام Src است. تعدادی از پروتئین‌های پیام‌رسان حاوی دومنهای SH2 می‌باشند که تمامی آنها به ریشه‌های P-Tyr در یک پارتنر پروتئینی اتصال می‌یابند.) Grb2 به نوبه خود پروتئین دیگری، بنام Sos، را به خدمت گرفته تا کمپلکس رشد نماید. بعد از اتصال به Grb2، پروتئین Sos جایگزینی GDP با GTP را در Ras کاتالیز می‌نماید؛ Ras یکی از اعضاء خانواده پروتئین‌های اتصالی نوکلئوتید گوانوزینی **(پروتئین‌های G)** می‌باشد که انواع وسیعی ز انتقالات پیام را وساطت می‌نماید. با اتصال GTP، پروتئین Ras می‌تواند پروتین کیناز Raf-1 را فعال نماید (مرحله ۴) که خود اولین مورد از سه پروتئین کینازی (Raf-1، MEK و MAPK) است که ایجاد آبشاری را می‌نمایند و در این آبشار هر کیناز با فسفریلاسیون، دیگری را فعال می‌کند (مرحله ۵). آخرین پروتئین کیناز، یعنی پروتئین کیناز فعال‌شونده توسط میتوژن[1] (MAPK)، با فسفریلاسیون یک ریشه Thr و یک ریشه Tyr فعال می‌گردد. وقتی این پروتئین کیناز فعال گردید، با ورود به داخل هسته و فسفریلاسیون پروتئین‌هایی نظیر Elk1 به‌عنوان تعدیل‌کننده رونویسی بعضی از ژن‌های تحت‌تنظیم انسولین (مرحله ۶)، بعضی از اثرات بیولوژیک انسولین را وساطت می‌کند.

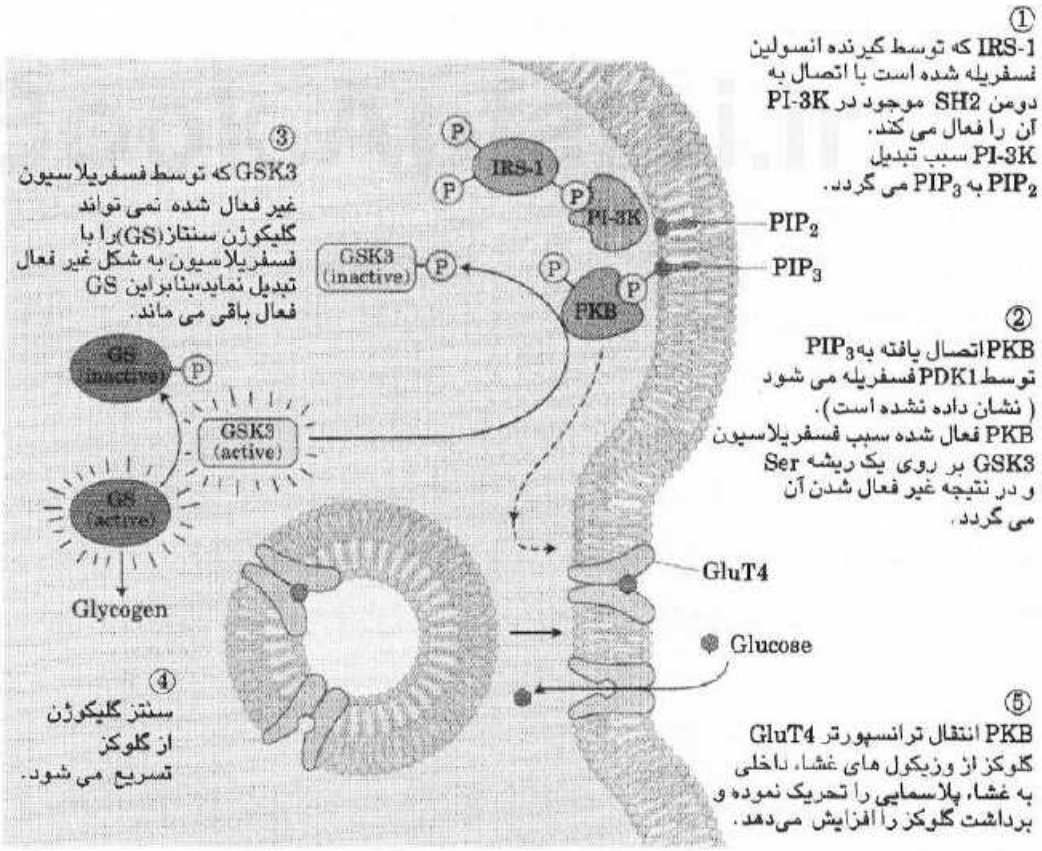
هم‌اکنون بیوشیمیدان‌ها مسیر انسولین را به‌عنوان یک مورد از طرح کلی‌تری می‌دانند که در آنها پیام‌های هورمونی، از طریق مسیرهای مشابه آن چیزی که در شکل ۷-۱۳ نشان داده شده است، سبب فسفریلاسیون آنزیم‌های هدف توسط پروتئین کینازها می‌گردند. هدف فسفریلاسیون اغلب پروتئین کیناز دیگری است که بعداً پروتئین کیناز سوم را فسفریله نموده و غیره. نتیجه فعال‌شدن یک کاتالیست توسط کاتالیست دیگر که خود کاتالیست دیگری را در آبشار واکنش‌ها فعال می‌کند، تقویت بسیار زیاد پیام ابتدایی خواهد بود (شکل ۱۳-۱b را ببینید).

Grb2 تنها پروتئینی نیست که با اتصال به IRS-1 فسفریله فعال می‌گردد. PI-3 کیناز (PI-3K) از طریق دومن SH2 به IRS-1 اتصال می‌یابد (شکل ۸-۱۳). ازاینرو، PI-3K فعال‌شده، لیپید غشایی فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۵،۴-بیس‌فسفات که PIP_2 نیز نامیده می‌شود، را به فسفاتیدیل‌اینوزیتول ۵،۴،۳-تری‌فسفات (PIP_3) فسفریله می‌کند که به‌طورغیرمستقیم پروتئین کیناز دیگری بنام پروتئین کیناز B (PKB) را فعال می‌سازد. با اتصال به PIP_3، PKB توسط پروتئین کیناز دیگری بنام PDK1، فسفریله و فعال می‌گردد. سپس PKB ریشه‌های Ser و The موجود بر روی اهداف پروتئینی خود را فعال می‌نماید که یکی از آنها گلیکوژن سنتاز کیناز ۳ (GSK3) می‌باشد. GSK3 در حالت غیرفسفریله و فعال خود، گلیکوژن سنتاز را فسفریله نموده و با غیرفعال‌نمودن آن، سرعت سنتز گلیکوژن را کاهش می‌دهد. با فسفریلاسیون GSK3 توسط PKB، فعالیت آن تنزل می‌یابد. بدین‌ترتیب، آبشار فسفریلاسیون‌های پروتئینی که توسط انسولین آغاز می‌گردد، از طریق مهار غیرفعال‌شدن گلیکوژن سنتاز، سنتز گلیکوژن را تحریک می‌نماید (شکل ۸-۱۳). همچنین معتقدند که PKB حرکت انتقال‌دهنده‌های گلوکز (GluT4) از وزیکول‌های داخلی به غشاء پلاسمایی را سبب شده و بدین‌ترتیب برداشت گلوکز از گردش خون را تحریک می‌نماید (کادر ۲-۱۲ را ببینید).

علت ایجاد چنین سیستم تنظیمی پیچیده‌ای چیست؟ این سیستم سبب فعال‌شدن چندین ملکول IRS-1 توسط گیرنده فعال‌شده انسولین و در نتیجه تقویت پیام شده و همچنین منجر به یکپارچگی پیام گیرنده‌های مختلف می‌گردد که هر کدام می‌توانند IRS-1 را فسفریله نمایند. به علاوه، از آنجایی که IRS-1 می‌تواند هر کدام از چندین پروتئین حاوی دومنهای SH2 را فعال نماید، یک گیرنده واحد که از طریق IRS-1 عمل می‌کند، می‌تواند دو یا چند

1- Mitogen-activated protein kinase

Book.Apfarsi.ir



شکل ۸-۱۳. فعال‌شدن گلیکوژن سنتاز توسط انسولین. انتقال پیام توسط PI-3 kinase (PI-3K) و پروتئین کیناز B (PKB) وساطت می‌گردد.

مسیر پیام‌رسان را فعال نماید؛ انسولین از طریق مسیر Grb2-Sos-Ras-MAPK بر روی بیان ژن و از طریق مسیر PI-3K-PKB بر روی متابولیسم گلیکوژن تأثیر می‌گذارد.

گیرنده انسولین پروتوتیپ تعدادی از آنزیم‌های گیرنده می‌باشد که دارای ساختمان مشابه بوده و فعالیت پروتئین کینازی دارند. برای مثال، گیرنده‌های فاکتور رشد اپیدرم و فاکتور رشد مشتق از پلاکت، دارای ساختمان و توالی مشابه با گیرنده انسولین بوده و هر دو دارای یک فعالیت پروتئین تیروزین کینازی هستند که IRS-1 را فسفریله می‌نماید. بسیاری از این گیرنده‌ها، با اتصال به لیگاند دیمریزه می‌شوند؛ گیرنده انسولین قبل از اتصال انسولین، به شکل دیمر می‌باشد.

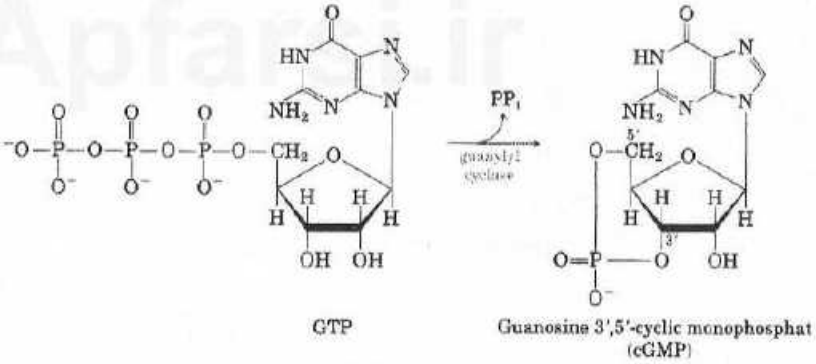
علاوه بر بسیاری از گیرنده‌هایی که به‌عنوان پروتئین تیروزین کیناز عمل می‌کنند، تعدادی از پروتئین‌های غشایی گیرنده-مانند نیز دارای فعالیت پروتئین تیروزین فسفاتازی می‌باشند. براساس ساختمان این پروتئین‌ها، گمان می‌رود که لیگاندهای آنها، جزئی از ماتریکس خارج‌سلولی و یا سطوح سلول‌های دیگر باشند. هر چند نقش پیام‌رسانی این پروتئین‌ها هنوز بخوبی تیروزین کینازهای گیرنده‌ای مشخص نمی‌باشد، ولی دارای پتانسیل معکوس‌نمودن اعمال پیام‌هایی هستند که این کینازها را فعال می‌کنند.

گوانیلیل سیکلاز آنزیم گیرنده‌ای است که پیامبر دوم cGMP را تولید می‌نماید

گوانیلیل سیکلاز (شکل ۹-۱۳) نوع دیگر آنزیم گیرنده می‌باشد. با فعال‌شدن این آنزیم گیرنده، **گوانوزین ۳´،۵´-منوفسفات حلقوی (GMP حلقوی یا cGMP)** از GTP تولید می‌گردد:

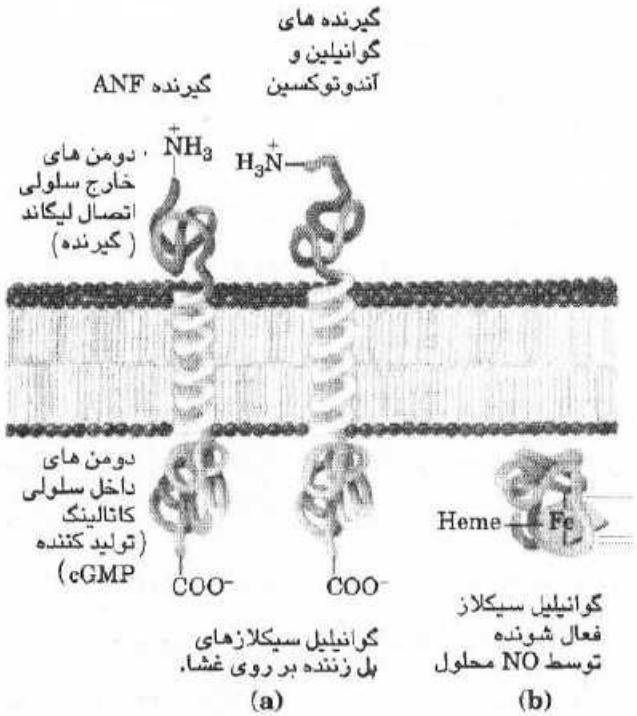
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir



GMP حلقوی، پیامبر دومی است که حامل پیام‌های مختلفی در بافت‌های مختلف می‌باشد. در کلیه و روده، این پیامبر سبب تغییراتی در انتقال یون و احتباس آب می‌گردد؛ در عضله قلب (صاف) سبب شلی عضلات می‌شود؛ در مغز ممکن است در تکامل و همچنین عمل مغز بالغین نقش داشته باشد.

در کلیه، گوانیلیل سیکلاز توسط **فاکتور دهلیزی دفع‌کننده سدیم**[1] **(ANF)** فعال می‌گردد که توسط سلول‌های دهلیز قلب، در زمان درکشش‌بودن این سلول‌ها بخاطر افزایش حجم خون، رها می‌گردد. هورمون ANF بعد از انتقال به کلیه‌ها از طریق گردش خون، گوانیلیل سیکلاز را در مجاری جمع‌کننده ادرار فعال می‌نماید (شکل ۹a-۱۳). افزایش غلظت cGMP حاصل، سبب افزایش دفع ادراری Na^+ و به همراه آن آب، می‌گردد. با ازدست‌رفتن آب، حجم خون کاهش یافته و محرک ابتدایی ترشح ANF را حذف می‌نماید. عضله صاف عروقی نیز دارای یک گوانیلیل سیکلاز-گیرنده ANF می‌باشد که با اتصال ANF به این گیرنده، از طریق شل‌نمودن دیواره عروق (اتساع عروق)، فشار خون را کاهش می‌دهد.

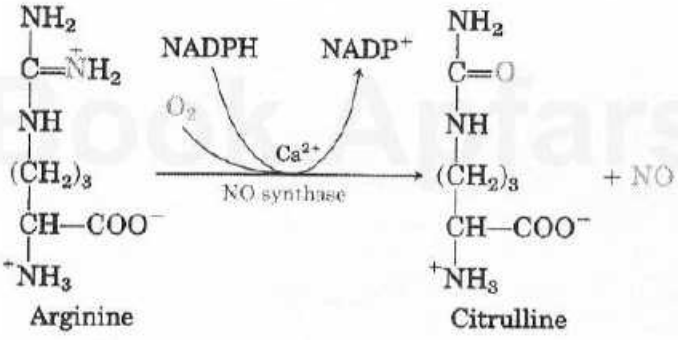


شکل ۹-۱۳. دو نوع (ایزوزیم) گوانیلیل سیکلاز که در انتقال پیام نقش دارند. (a) نوع اول به دو شکل مشابه در عرض غشاء وجود دارد که توسط لیگاندهای خارج‌سلولی خود، یعنی فاکتور دهلیزی دفع‌کننده سدیم یا ANF (گیرنده‌های موجود در سلول‌های مجاری جمع‌کننده کلیه و عضله صاف عروق خونی) و گوانیلین (گیرنده‌های موجود در سلول‌های اپی‌تلیال روده)، فعال می‌گردند. گیرنده گوانیلین، هدف یک آندوتوکسین باکتریایی نیز می‌باشد که منجر به اسهال شدید می‌شود. **(b)** نوع دوم یک آنزیم محلول می‌باشد که توسط اکسید نیتریک (NO) داخل‌سلولی فعال می‌گردد؛ این شکل در بسیاری از بافت‌ها، از جمله عضله صاف قلب و عروق خونی، یافت می‌شود.

یک گوانیلیل سیکلاز-گیرنده مشابه در سلول‌های اپی‌تلیال روده وجود دارد که توسط پپتید روده‌ای، بنام **گوانیلین**[2]، فعال شده و ترشح Cl^- در روده را تنظیم می‌کند. همچنین این گیرنده هدف یک آندوتوکسین پپتیدی مقاوم به حرارت می‌باشد که توسط *E. coli* و سایر باکتریهای گرم

1- Atrial natriuretic factor
2- Guanylin

Book.Apfarsi.ir



منفی تولید می‌گردد. افزایش غلظت cGMP حاصل از این آندوتروکسین، سبب افزایش ترشح Cl^- و در نتیجه کاهش جذب آب توسط اپی‌تلیوم روده و ایجاد اسهال می‌گردد.

نوع متفاوت گوانیلیل سیکلاز، پروتئین سیتوزولی دارای یک گروه هم با اتصال محکم می‌باشد (شکل ۹b-۱۳). این آنزیم توسط اکسید نیتریک (NO) فعال می‌گردد. اکسید نیتریک توسط **NO سنتاز** وابسته به Ca^{2+} موجود در بسیاری از بافت‌های پستانداران، از آرژینین سنتز و از سلول تولیدکننده آن به سلول‌های مجاور انتشار می‌یابد. NO به اندازه کافی غیرقطبی است که می‌تواند بدون اتصال به حامل، از غشاءهای پلاسمایی عبور کند. در سلول هدف، NO به گروه هم گوانیلیل سیکلاز اتصال یافته و تولید cGMP را فعال می‌نماید. در قلب، cGMP با تحریک پمپ(های) یونی خارج‌کننده Ca^{2+} از سیتوزول، سبب کاهش قدرت انقباضات می‌گردد.

این اثر شل‌کنندگی NO در عضله قلب، همان پاسخی است که در هنگام مصرف قرصهای نیتروگلیسرین و سایر متسع‌کننده‌های عروقی نیتروژنی[1] برای رهایی از درد قفسه صدری ایجاد می‌گردد؛ این درد ناشی از انقباض عضله قلبی است که به علت انسداد شریانهای قلبی، دچار کمبود اکسیژن شده است. اکسید نیتریک ناپایدار بوده و فعالیت کوتاهی دارد و چند ثانیه بعد از زمان تولید، به نیتریت یا نیترات اکسیده می‌گردد. طول زمان اثر متسع‌کننده‌های عروقی نیتروژنی بیشتر می‌باشد، زیرا تجزیه آنها طی چند ساعت رخ داده و میزان پیوسته‌ای از NO را تولید می‌نمایند.

معتقدند بیشتر اعمال cGMP بواسطه **پروتئین کیناز وابسته به cGMP**، یا **پروتئین کیناز G** یا **PKG**، وساطت می‌گردد که در هنگام فعال‌شدن توسط cGMP، ریشه‌های Ser و Thr را در پروتئین‌های هدف فسفریله می‌نماید. دومن‌های کاتالیتیک و تنظیمی این آنزیم در یک پلی‌پپتید واحد (وزن‌ملکولی حدود ۸۰،۰۰۰) قرار دارد. با اتصال cGMP، یک قسمت سوبسترا-مانند دومن تنظیمی از جایگاه اتصالی سوبسترا خارج شده و دومن کاتالیتیک فعال می‌گردد.

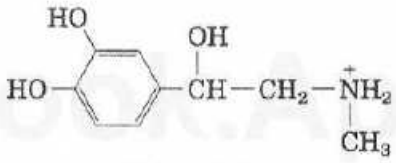
طریقه دوم فعالیت GMP حلقوی در چشم مهره‌داران مشاهده می‌گردد: این ترکیب سبب بازشدن کانال‌های اختصاصی یونی در سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی شبکیه می‌شود. بعداً در بحث بینایی، به این نقش cGMP برمی‌گردیم.

گیرنده‌های جفت‌شونده با پروتئین G و پیامبرهای دوم

مکانیسم سوم انتقال پیام، متفاوت از کانال‌های یونی بازشونده و آنزیم‌های گیرنده، دارای سه جزء اساسی است: یک گیرنده غشاء پلاسمایی با هفت قطعه ترانس‌ممبران، یک آنزیم در غشاء پلاسمایی که یک پیامبر دوم داخل‌سلولی را تولید می‌کند و یک پروتئین اتصالی به GTP که از گیرنده اشغال‌شده توسط لیگاند، جدا و با اتصال به آنزیم، آن را فعال می‌سازد. گیرنده β-آدرنرژیک که بسیاری از اثرات اپی‌نفرین (شکل ۱۰-۱۳) را بر روی بافت‌های مختلف وساطت می‌کند، پروتوتیپ این نوع سوم سیستم انتقالی می‌باشد.

1- Nitrovasodilators

Book.Apfarsi.ir



Epinephrine

شکل ۱۰-۱۳. اپی‌نفرین. این ترکیب که آدرنالین نیز نامیده می‌شود، از غده آدرنال رها شده و متابولیسم انرژی، را در عضله، کبد و بافت چربی تنظیم می‌نماید. این هورمون همچنین به‌عنوان یک نوروترانسمیتر در نرون‌های آدرنرژیک عمل می‌کند.

سیستم گیرنده β- آدرنرژیک از طریق پیامبر دوم cAMP عمل می‌کند

فعالیت انسولین زمانی آغاز می‌گردد که این هورمون به یک گیرنده پروتئینی در غشاء پلاسمایی یک سلول حساس به هورمون متصل می‌شود. **گیرنده‌های آدرنرژیک** («آدرنرژیک» از نام دیگر اپی‌نفرین، یعنی آدرنالین، گرفته شده است) به چهار شکل کلی دیده می‌شوند که تفاوتهای ظریفی با یکدیگر از نظر تمایل و پاسخ‌دهی آنها به گروهی از آگونیستها و آنتاگونیستها دارند. آگونیستها ترکیباتی با ساختمان مشابه می‌باشند که با اتصال به گیرنده، اثرات لیگاند طبیعی آن را وساطت نموده و آنتاگونیستها ترکیبات مشابهی هستند که اتصال آنها سبب ایجاد این اثرات طبیعی نشده و بدین‌ترتیب اثرات آگونیستها را مسدود می‌نمایند. این چهار نوع گیرنده آدرنرژیک (α_1، α_2، β_1 و β_2) در بافت‌های هدف مختلف یافت شده و پاسخهای مختلفی به اپی‌نفرین را وساطت می‌نمایند. در اینجا بر روی **گیرنده‌های β-آدرنرژیک** عضله، کبد و بافت چربی متمرکز می‌شویم. همانطور که در فصل ۲۳ شرح داده خواهد شد، این گیرنده‌ها سبب تغییراتی در متابولیسم مواد سوختی، نظیر افزایش تجزیه گلیکوژن و چربی، می‌گردند.

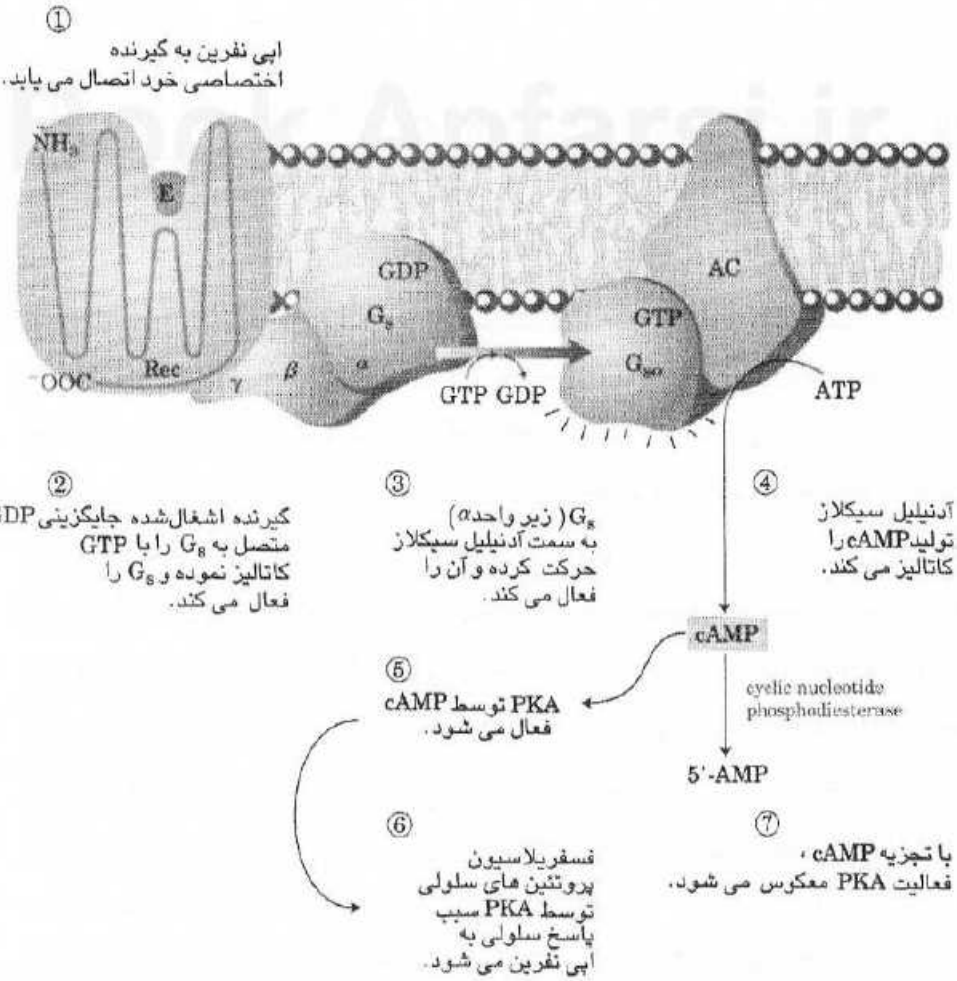

Alfred G. Gilman


Martin Rodbell
1925–1998

گیرنده β-آدرنرژیک یک پروتئین داخلی با هفت ناحیه آبگریز ۲۰ تا ۲۸ اسید آمینه‌ای می‌باشد که هفت بار عرض غشاء پلاسمایی را طی می‌کند. این پروتئین عضوی از یک خانواده بسیار بزرگ می‌باشد که همگی دارای هفت مارپیچ ترانس‌ممبران بوده و معمولاً **گیرنده‌های سرپنتین**[1] نامیده می‌شوند. اتصال اپی‌نفرین به جایگاه موجود در عمق غشاء (شکل ۱۱-۱۳، مرحله ۱)، سبب تغییر در کونفورماسیون دومن داخل‌سلولی این گیرنده شده که بر روی واکنش متقابل آن با پروتئین دوم موجود در این سیستم انتقال پیام، یعنی یک **پروتئین G محرک** هتروديمری اتصالی GTP، یا G_s، در سمت سیتوزولی غشاء پلاسمایی، اثر می‌گذارد. آلفرد گیلمن و مارتین رادبل مشخص نمودند که با اتصال GTP به G_s، این پروتئین تولید cAMP توسط آدنیلیل سیکلاز (ص.۵۱۲ را ببینید) را در غشاء پلاسمایی تحریک می‌نماید. عملکرد G_s به‌عنوان یک سوئیچ ملکولی مشابه عملکرد کلاس دیگری از پروتئین‌های G نظیر Ras می‌باشد که در قسمت بالا و در بخش گیرنده انسولین مورد بحث قرار گرفت. از نظر ساختمانی، G_s و Ras کاملاً از یکدیگر متفاوت هستند؛ پروتئین‌های G نوع Ras منومرهایی با وزن‌ملکولی حدود ۲۰،۰۰۰ بوده، درحالیکه پروتئین‌های G که با گیرنده‌های سرپنتین واکنش می‌نمایند، تریمرهایی متشکل از سه زیرواحد مختلف، شامل α (۴۳،۰۰۰)، β (۳۷،۰۰۰) و γ (۷،۵۰۰-۱۰،۰۰۰) می‌باشند. هرچند، Ras و زیرواحدهای α پروتئین‌های G دارای

1- Serpentin receptors

Book.Apfarsi.ir

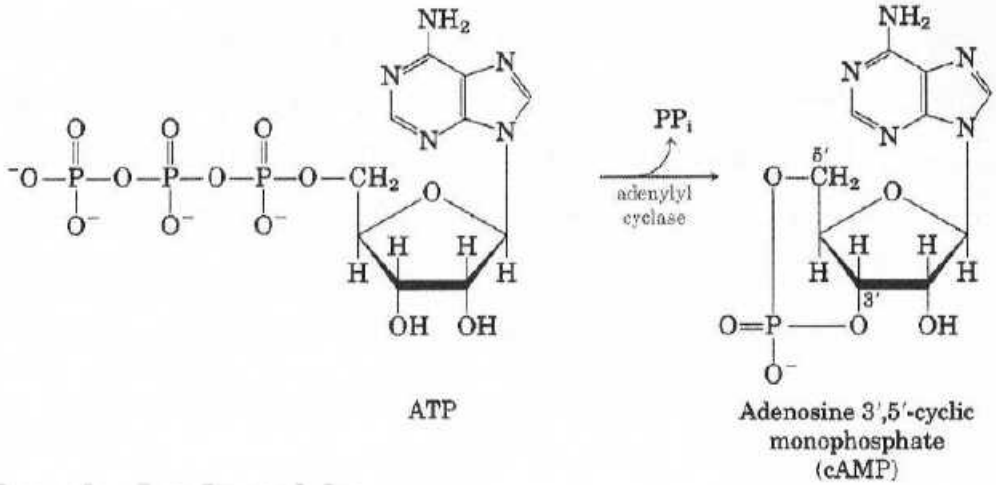


شکل ۱۱-۱۳. انتقال پیام اپی‌نفرین: مسیر β-آدرنرژیک. مکانیسم هفت مرحله‌ای که اتصال اپی‌نفرین (E) به گیرنده آن (Rec) را با فعال‌شدن آدنیلیل سیکلاز جفت می‌نماید. با جزئیات بیشتر در متن توضیح داده شده است. همین ملکول آدنیلیل سیکلاز موجود در غشاء پلاسمایی ممکن است توسط یک پروتئین تحریکی G (G_s)، نشان داده شده، یا یک پروتئین مهاری G (G_i)، نشان داده نشده، تنظیم گردد. G_s و G_i تحت اثر هورمون‌های مختلف هورمون‌هاهورمون‌هایی که اتصال GTP به G_i را تحریک می‌نمایند. منجر به مهار آدنیلیل سیکلاز شده و در نتیجه [cAMP] سلولی کاهش می‌یابد.

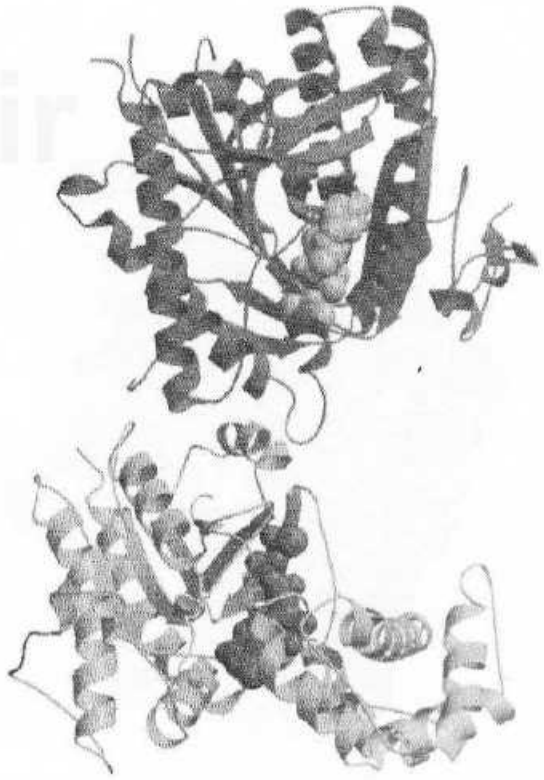
ویژگی‌های ساختمانی مشترک متعددی هستند.

وقتی جایگاه اتصال به نوکلئوتید در G_s توسط GTP اشغال می‌گردد، G_s فعال بوده و می‌تواند آدنیلات سیکلاز را فعال نماید؛ ولی با اتصال GDP به این جایگاه،G_s غیرفعال می‌گردد. با اتصال اپی‌نفرین، گیرنده جابجایی GDP اتصال‌یافته را با GTP کاتالیز نموده و G_s را به شکل فعال آن تبدیل می‌نماید (شکل ۱۱-۱۳، مرحله ۲). با این جابجایی، زیرواحدهای β و γ در G_s از زیرواحد α جدا شده و $G_{s\alpha}$ متصل به GTP در صفحه غشاء از این گیرنده به سمت ملکول آدنیلیل سیکلاز مجاور حرکت می‌نماید (مرحله ۳). $G_{s\alpha}$ توسط یک پیوند کووالان به لیپید غشایی متصل می‌باشد.

آدنیلیل سیکلاز (شکل ۱۲-۱۳) یک پروتئین داخلی غشاء پلاسمایی است که جایگاه فعال آن در سمت سیتوزولی قرار دارد. این آنزیم تولید cAMP را از ATP کاتالیز می‌نماید:



Book.Apfarsi.ir

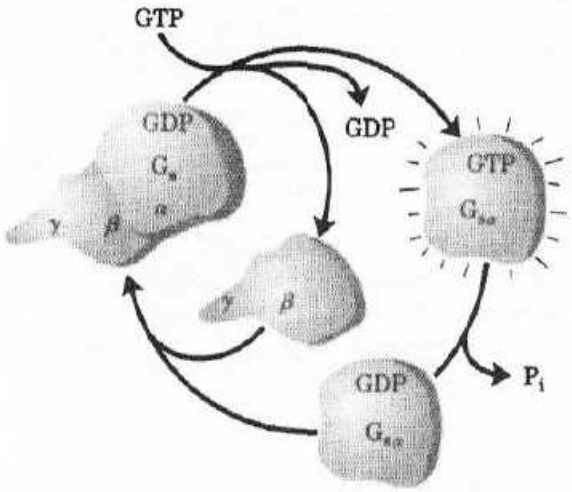


شکل ۱۲-۱۳ [شکل ۳۵ ضمیمه رنگی]. واکنش متقابل $G_{s\alpha}$ با آدنیلات سیکلاز. هسته کاتالیتیک محلول آدنیلیل سیکلاز (آبی) همراه با $G_{s\alpha}$ (سبز) کریستالیزه شده است. ترپن گیاهی forskolin (زرد)، داروئی است که شدیداً این آنزیم و GTP (قرمز) متصل به $G_{s\alpha}$ را تحریک نموده و واکنش متقابل بین $G_{s\alpha}$ و آدنیلیل سیکلاز را سبب می‌شود.

۱- G_s با اتصال به GDP، خاموش شده و نمی‌تواند آدنیلیل سیکلاز را فعال سازد.

۲- تماس G_s با کمپلکس گیرنده - هورمون، منجربه جایگزینی GDP با GTP می‌گردد.

۳- G_s متصل به GTP به زیر واحدهای α و $\beta\gamma$ تفکیک می‌شود. $G_{s\alpha}$-GTP روشن شده و می‌تواند آدنیلیل سیکلاز را فعال کند.



۴- GTP متصل به $G_{s\alpha}$ توسط فعالیت GTPase این پروتئین هیدرولیز می‌شود؛ بدین ترتیب $G_{s\alpha}$ خود را خاموش می‌کند. زیرواحد α غیرفعال به زیر واحدهای βو γ می‌پیوندد.

شکل ۱۳-۱۳. خود-غیرفعال‌سازی G_s. مراحل در متن بیشتر شرح داده شده‌اند. فعالیت درون پروتئینی GTPase که در بسیاری از موارد توسط پروتئین‌های RGS یا تنظیم‌کننده‌های پیام‌رسانی پروتئین G(regulators of G protein signaling)تحریک می‌گردد، سرعت هیدرولیز GTP به GDP و بنابراین میزان فعال‌باقی‌ماندن پروتئین G را تعیین می‌نماید.

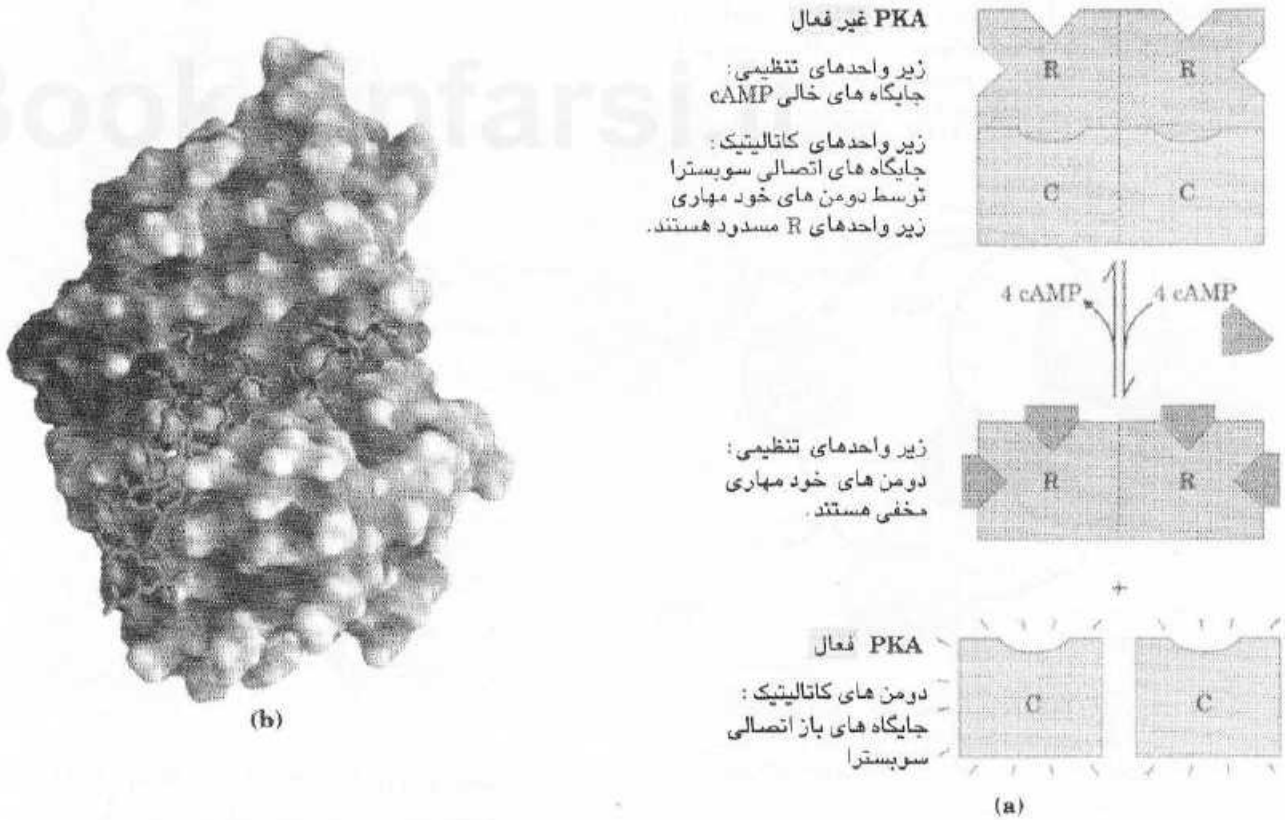
با اتصال $G_{s\alpha}$ به آدنیلات سیکلاز، سنتز cAMP توسط این آنزیم فعال شده (شکل ۱۱-۱۳، مرحله ۴) و غلظت [cAMP] سیتوزولی افزایش می‌یابد. این تحریک توسط $G_{s\alpha}$ به‌طورخودبخودی محدود می‌گردد؛ $G_{s\alpha}$ یک GTPase می‌باشد که با تبدیل GTP به GDP، خود را خاموش می‌نماید (شکل ۱۳-۱۳). حال $G_{s\alpha}$ غیرفعال از آدنیلیل سیکلاز جدا شده و آنرا غیرفعال می‌سازد. بعد از ترکیب مجدد $G_{s\alpha}$ با زیرواحدهای βو γ ($G_{s\beta\gamma}$)، G_s برای واکنش با یک گیرنده متصل به هورمون دردسترس قرار می‌گیرد.

یکی از اثرات اپی‌نفرین، در فعال‌نمودن گلیکوژن فسفریلاز b می‌باشد. این تبدیل توسط آنزیم فسفریلاز bکیناز تسریع می‌گردد که خود با فسفریلاسیون دو ریشه Ser اختصاصی در فسفریلاز b آنرا به فسفریلاز a تبدیل می‌نماید (شکل ۲۸-۸ را ببینید). AMP حلقوی مستقیماً بر روی فسفریلاز b کیناز اثر نمی‌کند. بلکه، **پروتئین کیناز وابسته به cAMP**، با نام دیگر **پروتئین کیناز A** یا **PKA** که به طریق آلوستریک توسط cAMP فعال می‌شود، فسفریلاسیون فسفریلاز b کیناز غیرفعال را کاتالیز نموده و شکل فعال آن را تولید می‌نماید (مراحل ۵ و ۶ در شکل ۱۱-۱۳).

شکل غیرفعال **PKA** دارای دو زیرواحد کاتالیتیک (C) و دو زیرواحد تنظیمی (R) می‌باشد (شکل ۱۴a-۱۳) که مشابه توالی کاتالیتیک و تنظیمی PKG (پروتئین کیناز وابسته به cGMP) است. کمپلکس تترامری R_2C_2 از نظر کاتالیتیکی غیرفعال می‌باشد، زیرا یک دومن خودمهاری[1] هر زیرواحد R، جایگاه اتصال به سوبسترا را در هر

1- Autoinhibitory

Book Anfarsi.ir



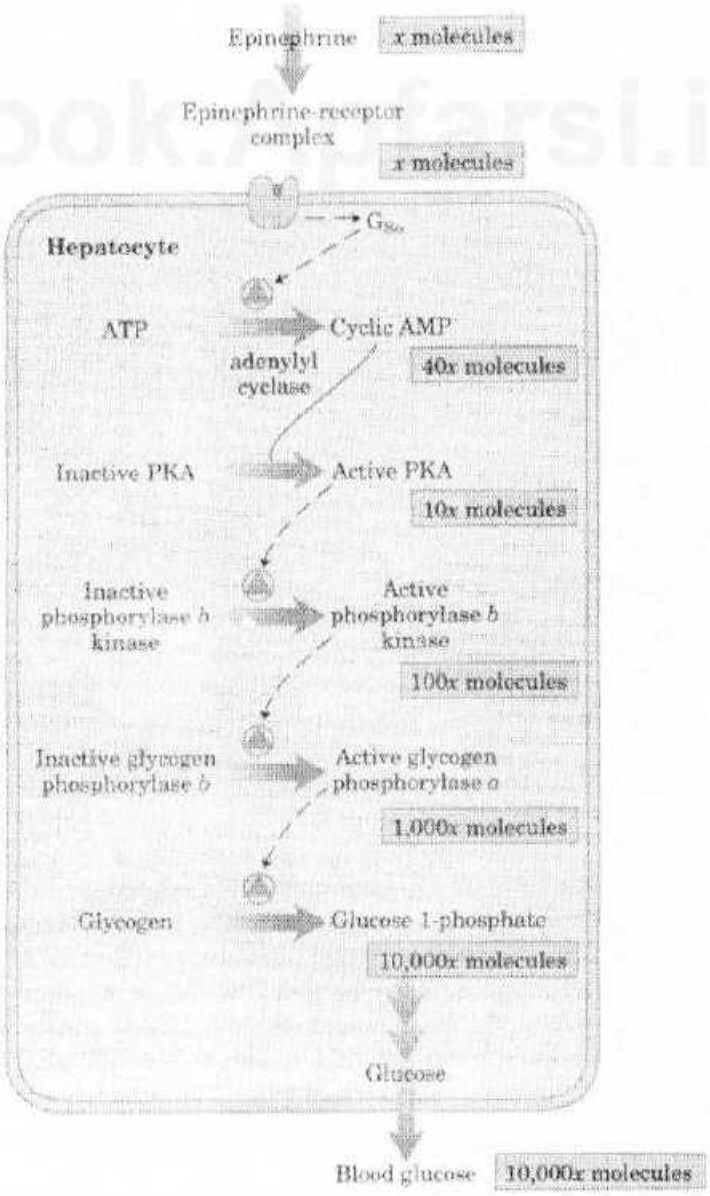
شکل ۱۴-۱۳ [شکل ۳۶ ضمیمه رنگی]. فعال‌شدن پروتئین کیناز وابسته به cAMP (PKA). (a) در تترامر غیرفعال R_2C_2، دومن خودمهاری یک زیرواحد تنظیمی (R)، با مسدودنمودن جایگاه اتصالی سوبسترا، فعالیت زیرواحد کاتالیتیک (C) را مهار می‌نماید. AMP حلقوی با جدانمودن زیرواحدهای C از زیرواحدهای R، PKA را فعال می‌سازد. این امر سبب می‌شود تا PKA انواع مختلفی از سوبستراهایی (جدول ۳-۱۳) نظیر فسفریلاز *b* کیناز را فسفریله نماید که توالی مشترک PKA را دارند (جدول ۹-۸ را ببینید). (b) یک زیرواحد C ملکول PKA. یک پپتید مهارکننده قوی (PKI) مشابه سوبستراهای طبیعی برای فسفریلاسیون، در اینجا نشان داده شده که جایگاه اتصالی سوبسترا را اشغال نموده است. PKI قرمز بوده و ATP موجود در جایگاه فعال با رنگ آبی نشان داده شده است. این مهارکننده دارای توالی Arg-Arg-Gln-Ala-Ile می‌باشد که مشابه توالی است که توسط PKA شناسایی شده، به استثناء اینکه بجای ریشه Ser که در سوبسترا فسفریله می‌گردد، یک ریشه Ala در مهارکننده قرار گرفته است.

زیرواحد C اشغال می‌نماید. با اتصال cAMP به دو جایگاه موجود در هر زیرواحد R، زیرواحدهای R دچار تغییر کونفورماسیونی می‌گردند که کمپلکس R_2C_2 را به دو زیرواحد C دارای فعالیت کاتالیتیک تجزیه می‌نماید. همین مکانیسم پایه (جایگزینی یک دومن خودمهاری)، سبب فعال‌شدن آلوستریک انواع زیادی از پروتئین کینازها توسط پیامبرهای دوم می‌گردد.

انتقال پیام توسط آدنیلیل سیکلاز نیاز به مراحل متعددی دارد که پیام هورمونی ابتدایی را تقویت می‌نماید (شکل ۱۵-۱۳). ابتدا، اتصال یک ملکول هورمون به یک گیرنده، بطریق کاتالیتیک، ملکول‌های G_s را فعال می‌نماید. سپس، با فعال‌شدن یک ملکول آدنیلیل سیکلاز، هر ملکول فعال‌شده $G_{s\alpha}$، سنتز کاتالیتیک ملکول‌های متعدد cAMP را کاتالیز می‌کند. حال پیامبر دوم cAMP سبب فعال‌شدن PKA شده که هر ملکول آن، فسفریلاسیون تعداد زیادی ملکول پروتئین هدف (فسفریلاز *b* کیناز) را کاتالیز می‌کند. این کیناز، گلیکوژن فسفریلاز *b* را فعال نموده که خود سبب تجزیه گلیکوژن به گلوکز می‌گردد. اثر خالص این آبشار، تقویت بسیار زیاد پیام هورمونی می‌باشد که علت نیاز به غلظت بسیار پایین اپی‌نفرین (یا هر هورمون دیگر) در گردش خون برای رفع نیاز فعالیت هورمونی است.

علاوه بر فسفریلاز *b* کیناز، PKA تعدادی از آنزیم‌های دیگر (جدول ۳-۱۳) را نیز فعال می‌نماید. هرچند پروتئین‌هایی که توسط فسفریلاسیون وابسته به cAMP فعال می‌گردند، اعمال متعددی دارند، این پروتئین‌ها دارای

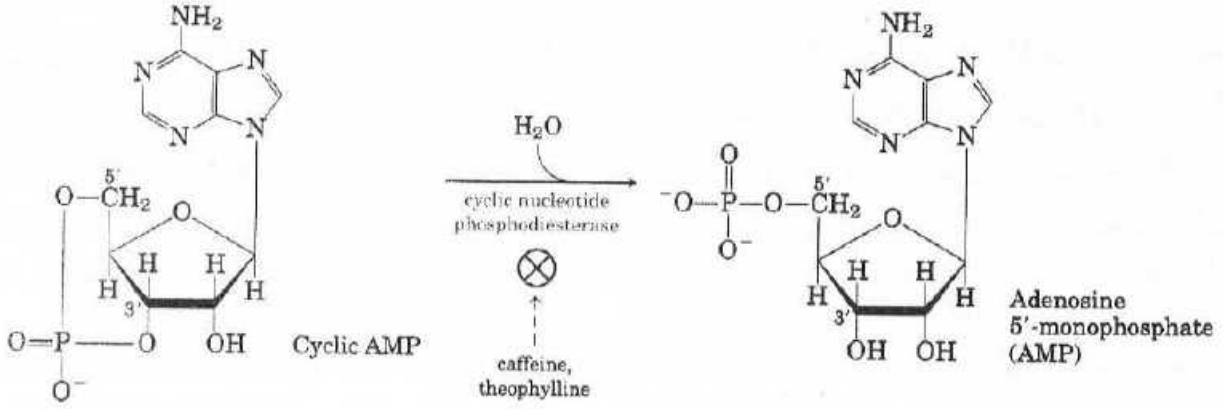
Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۵-۱۳. آبشار اپی‌نفرین. اپی‌نفرین یک سری واکنش‌ها را در کبد آغاز می‌نماید که در آنها یک کاتالیست، کاتالیست دیگر را فعال نموده و منجر به تقویت شدید پیام می‌گردد. اتصال تعداد کمی ملکول اپی‌نفرین به گیرنده‌های اختصاصی β-آدرنرژیک بر روی سطح سلول، آدنیلیل سیکلاز را فعال می‌نماید. برای بیان اثر تقویتی، همانطور که مشاهده می‌گردد، ۴۰ ملکول cAMP از هر ملکول آدنیلیل سیکلاز تولید شده که هر کدام آنها ۱۰ ملکول PKA را فعال نموده که به‌نوبه خود هر ملکول PKA، ۱۰ ملکول آنزیم بعدی را فعال کرده و تا به آخر. این مقادیر افزایش احتمالاً به میزان زیادی کمتراز حد واقعی برآورد شده‌اند.

یک ناحیه توالی مشابه در اطراف ریشه Ser یا Thr فسفریله‌شونده می‌باشند که آنها را برای تنظیم توسط PKA مشخص می‌نماید. مقایسه این توالی در تعدادی از سوبستراهای پروتئینی PKA، توالی مشترکی، یا حداقل ریشه‌های اختصاصی مجاور مورد نیاز برای نشاندارنمودن Ser یا Thr برای فسفریلاسیون، (جدول ۹-۸ را ببینید) را نشان می‌دهد.

AMP حلقوی، به‌عنوان پیامبر دوم، دارای عمر کوتاهی است. این ملکول سریعاً توسط **فسفودی‌استراز نوکلئوتید حلقوی** به 5′-AMP تخریب می‌گردد (شکل ۱۱-۱۳، مرحله ۷) که فاقد فعالیت پیامبر دوم می‌باشد.



Book.Apfarsi.ir

جدول ۳-۱۳. بعضی از آنزیمهائی که توسط فسفریلاسیون وابسته به cAMP (توسط PKA) تنظیم می‌شوند

آنزیم	توالی فسفریله‌شونده*	مسیر
گلیکوژن سنتاز	RASCTSSS	سنتز گلیکوژن
فسفریلاز $_b$ کیناز	زنجیر α : VEFRRLSI	تجزیه گلیکوژن
	زنجیر β : RTKRSGSV	
پیروات کیناز (کبد موش صحرائی)	GVLRRASVAZL	گلیکولیز
کمپلکس پیروات دهیدروژناز (نوع L)	GYLRRASV	پیروات به استیل‌کوآ
لیپاز حساس به هورمون	PMRRSV	به حرکت‌درآمدن تری‌آسیل‌گلیسرولها و اکسیداسیون اسیدهای چرب
فسفوفروکتوکیناز-۲ /فروکتوز ۶،۲-بیس‌فسفاتاز	LQRRRGSSIPQ	گلیکولیز / گلوکونئوژنز
تیروزین هیدروکسیلاز	FIGRRQSL	سنتز L-دوپا، دوپامین، نوراپی‌نفرین و اپی‌نفرین
هیستون H1	AKRKASGPPVS	کندانساسیون DNA
هیستون H2B	KKAKASRKESYSVYVYK	کندانساسیون DNA
فسفولامبان قلبی (یک تنظیم‌کننده پمپ قلبی)	AIRRAST	تنظیم $[Ca^{2+}]$ داخل‌سلولی
مهارکننده-۱ پروتئین فسفاتاز-۱	IRRRRPTP	تنظیم دفسفریلاسیون پروتئین
CREB	ILSRRPSY	تنظیم cAMP بیان ژن
توالی مشترک PKA†	XR(R/K)X(S/T)B	

* ریشه T یا S فسفریله با قلم ایتالیک نشان داده شده است. تمامی ریشه‌ها با مخفف‌های تک حرفی مشخص شده‌اند (جدول ۱-۵ را ببینید).
† X می‌تواند هر اسید آمینه‌ای باشد؛ B می‌تواند هر اسید آمینه آبگریزی باشد.

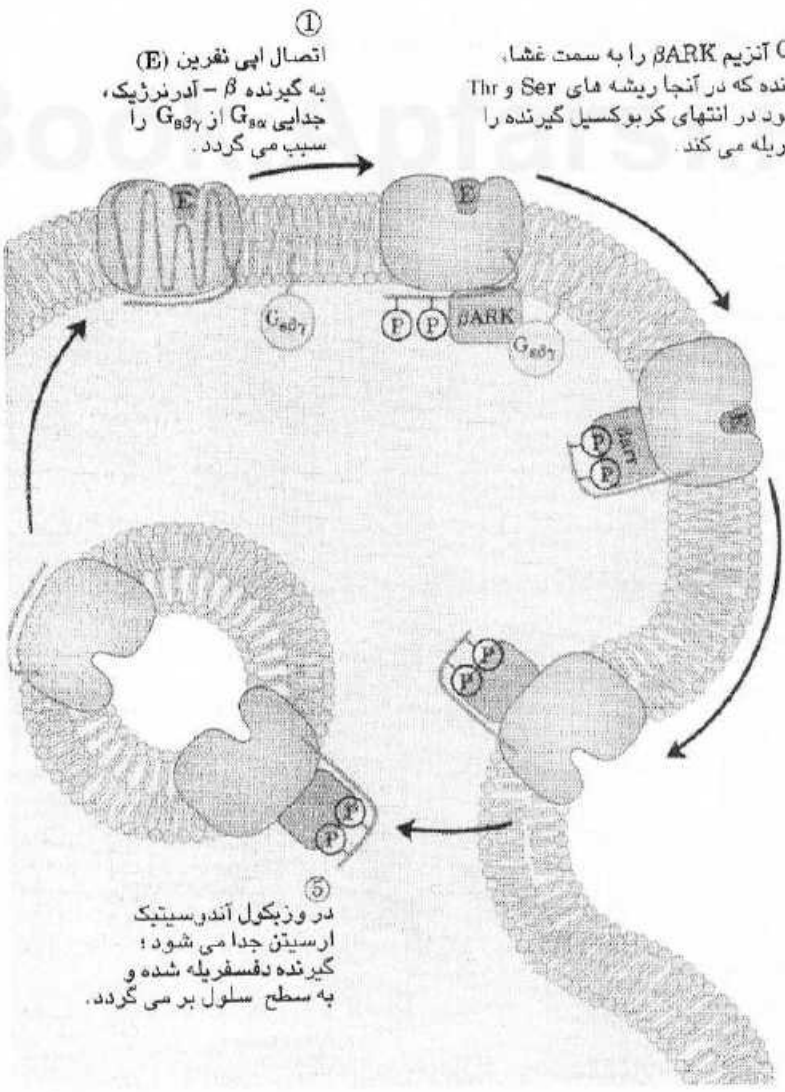
از اینرو، این پیام داخل‌سلولی تنها تا زمانی باقی می‌ماند که گیرنده هورمون توسط اپی‌نفرین اشغال شده است. متیل‌گزانتین‌ها، نظیر کافئین و تئوفیلین (جزئی از چای)، با مهار فعالیت این فسفودی‌استراز، نیمه‌عمر cAMP را افزایش داده و به موجب آن اثر عوامل عمل‌کننده از طریق تحریک آدنیلیل سیکلاز را تقویت می‌نمایند.

گیرنده β-آدرنرژیک توسط فسفریلاسیون غیرحساس می‌گردد

همان‌طور که قبلاً اشاره گردید، در زمان پایداری پیام، سیستم‌های انتقال پیام غیرحساس می‌شوند. غیرحساس‌شدن گیرنده β-آدرنرژیک بواسطه پروتئین کینازی انجام می‌شود که دومن (داخل‌سلولی) واکنش‌کننده با G_s گیرنده را فسفریله می‌نماید (شکل ۱۶-۱۳). وقتی این گیرنده توسط اپی‌نفرین اشغال می‌گردد، **کیناز گیرنده β-آدرنرژیک (βARK)**[1]، ریشه‌های سرین را در نزدیکی انتهای کربوکسیل این گیرنده، فسفریله می‌نماید. به‌طور طبیعی βARK در داخل سیتوزول قرار داشته و با اتصال به زیرواحدهای $G_{s\beta\gamma}$ به سمت غشاء پلاسمایی کشیده شده و بنابراین در موقعیت فسفریلاسیون گیرنده قرار می‌گیرد. با این فسفریلاسیون، یک جایگاه فعال برای پروتئین **β-ارستین** فراهم شده و اتصال ارستین سبب مهار مؤثر واکنش متقابل بین گیرنده و پروتئین G می‌گردد. همچنین اتصال ارستین سبب تسهیل در مخفی‌سازی گیرنده یا برداشت گیرنده‌ها از غشاء پلاسمایی طی آندوسیتوز آنها به درون وزیکول‌های کوچک، می‌گردد. با دفسفریلاسیون گیرنده‌های موجود در وزیکول‌های آندوسیتیک، این گیرنده‌ها بعداً به غشاء پلاسمایی برگشت نموده و با تکمیل چرخه، حساسیت سیستم به اپی‌نفرین مجدداً برگشت

1- β adrenergic receptor kinase

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۶-۱۳. غیرحساس شدن گیرنده β-آدرنرژیک در حضور مداوم اپی‌نفرین. این فرایند توسط دو پروتئین وساطت می‌گردد: پروتئین کیناز β-آدرنرژیک (βARK) و β-ارستین (βarr).

می‌نماید. کیناز گیرنده β-آدرنرژیک عضوی از خانواده **کینازهای گیرنده جفت‌شونده با پروتئین G**[1] **(GRKs)** می‌باشد که همگی آنها، گیرنده‌های سرپنتینی را در دومنهای سیتوزولی انتهای کربوکسیل فسفریله نموده و نقشی مشابه βARK در غیرحساس‌نمردن و حساسیت مجدد این گیرنده‌ها ایفاء می‌نمایند.

AMP حلقوی به‌عنوان یک پیامبر دوم برای تعدادی از ملکول‌های تنظیمی عمل می‌کند

اپی‌نفرین تنها یکی از هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و سایر ملکول‌های تنظیمی دیگر می‌باشد که با تغییر در [cAMP] و بنابراین فعالیت PKA عمل می‌نمایند (جدول ۴-۱۳). برای مثال، گلوکاگون با اتصال به گیرنده‌های خود در غشاء پلاسمایی سلول‌های چربی، آدنیلیل سیکلاز را (از طریق یک پروتئین G_s) فعال می‌نماید. PKA تحریک‌شده در اثر این [cAMP] حاصل، با فسفریلاسیون و فعال‌نمودن تری‌آسیل‌گلیسرول لیپاز، بحرکت‌درآمدن اسیدهای چرب را آغاز می‌نماید. به‌طورمشابه، هورمون پپتیدی ACTH (هورمون آدرنوکورتیکوتروپیک، با نام دیگرکورتیکوتروپین)، تولیدی توسط هیپوفیز قدامی، به گیرنده‌های اختصاصی خود در قسمت قشری غده فوق‌کلیوی اتصال یافته و منجر به فعال‌شدن آدنیلیل سیکلاز و افزایش [cAMP] داخل‌سلولی می‌گردد. سپس PKA چندین آنزیم مورد نیاز برای سنتز کورتیزول و سایر هورمون‌های استروئیدی را فسفریله و فعال می‌سازد.

1- G protein - coupled receptor kinases

Book.Apfarsi.ir

بعضی از هورمون‌ها از طریق مهار آدنیلیل سیکلاز، مقادیر cAMP را کاهش داده و بدین‌ترتیب فسفریلاسیون پروتئین را سرکوب می‌کند. برای مثال، اتصال سوماتواستاتین به گیرنده خود منجر به فعال‌شدن یک **پروتئین مهاری G**، یا G_i، شده که از نظر ساختمانی مشابه G_s بوده و با مهار آدنیلیل سیکلاز، [cAMP] را کاهش می‌دهد. ازاینرو، سوماتواستاتین دارای اثرات مخالف گلوکاگون می‌باشد. در بافت چربی، پروستاگلاندین E_1 (PGE_1؛ شکل ۱۶b-۱۱ را ببینید)، آدنیلیل سیکلاز را مهار نموده و با کاهش [cAMP]، سبب می‌گردد تا اثرات اپی‌نفرین و گلوکاگون در به حرکت درآمدن اسیدهای چرب کاهش یابد. در بعضی بافت‌های دیگر، PGE_1 سنتز cAMP را تحریک می‌نماید، زیرا گیرنده آن توسط یک پروتئین G تحریکی، G_s، با آدنیلیل سیکلاز جفت می‌گردد. در بافت‌های دارای گیرنده‌های α_2-آدرنرژیک، به‌علت جفت‌شدن گیرنده‌های α_2 با آدنیلیل سیکلاز از طریق یک پروتئین G مهاری، G_i، اپی‌نفرین سبب کاهش [cAMP] می‌شود. به‌طورخلاصه، یک پیام خارج‌سلولی، نظیر اپی‌نفرین یا PGE_1، می‌تواند برحسب (۱) نوع گیرنده، (۲) نوع پروتئین G (G_s یا G_i) که گیرنده با آن جفت می‌گردد، و (۳) سری آنزیم‌های هدف PKA در داخل سلول، دارای اثرات مختلفی بر روی بافت‌ها و انواع سلول‌های متفاوت باشد.

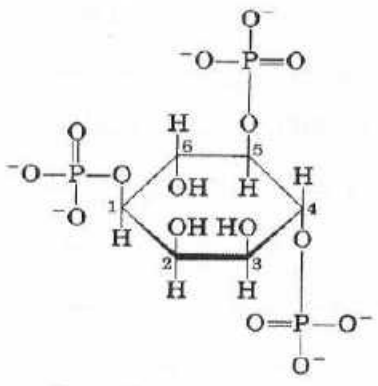
جدول ۴-۱۳. بعضی از پیام‌هائی که از **cAMP** بعنوان پیامبر دوم استفاده می‌کنند

کورتیکوتروپین (ACTH)
هورمون آزادکننده کورتیکوتروپین (CRH)
دوپامین [D-1، D-2]*
اپی‌نفرین (β-آدرنرژیک)
هورمون محرک فولیکولی (FSH)
گلوکاگون
هیستامین [H-2]*
هورمون تولیدکننده جسم زرد (LH)
هورمون محرک ملانوسیتی (MSH)
مواد بودار (بسیاری از انواع)
هورمون پاراتیروئید
پروستاگلاندین‌های E_1، E_2 (PGE_1، PGE_2)
سروتونین [5-HT-1α، 5-HT-2]*
سوماتواستاتین
مواد مزه‌دار (شیرینی، تلخی)
هورمون محرک تیروئیدی (TSH)

* بعضی از پیام‌ها دارای دو یا چند زیرنوع گیرنده (نمایش در داخل کروشه) هستند که ممکن است دارای مکانیسم‌های متفاوت انتقال پیام باشند. برای مثال، سروتونین در بعضی از بافت‌ها توسط گیرنده زیرنوع‌های 5-HT-1_a و 5-HT-1_b شناسائی شده که از طریق آدنیلیل سیکلاز و cAMP عمل می‌کنند، در حالی که در سایر بافت‌ها، گیرنده زیرنوع 5-HT-1_c وجود دارد که با مکانیسم فسفولیپاز C - IP_3 عمل می‌کند (جدول ۵-۱۳ را ببینید).

دو پیامبر دوم از فسفاتیدیل‌اینوزیتولها تولید می‌گردد

کلاس دوم گیرنده‌های سرپنتینی، از طریق یک پروتئین G با **فسفولیپاز C** غشاء پلاسمایی جفت می‌گردند که برای فسفاتیدیل ۴، ۵-بیس‌فسفات موجود در لیپید غشاء سلولی اختصاصی است (شکل ۱۳-۱۱ را ببینید). این آنزیم حساس به هورمون، تولید دو پیامبر دوم قوی، شامل **دی‌اُسیل‌گلیسرول** و **اینوزیتول ۱،۴،۵-تری‌فسفات** یا **IP_3** (یا PIP_3 (ص. ۵۰۷) اشتباه نگردد) را کاتالیز می‌کند. با اتصال یک هورمون از این کلاس (جدول ۵-۱۳) به گیرنده اختصاصی خود در غشاء پلاسمایی (شکل ۱۷-۱۳، مرحله ۱)، کمپلکس هورمون-گیرنده، تعویض GTP-GDP



Inositol 1,4,5-trisphosphate

Book.Apfarsi.ir

را بـر روی پـروتئین G هـمراه، G_q، را کـاتالیز نـموده (مرحله ۲) و دقیقاً مشـابه گـیرنده β-آدرنـرژیک، G_s را فعال می‌نماید (شکل ۱۱-۱۳). G_q فـعال‌شده بـه نـوبه خود یک فسفولیپاز C متصل بـه غشـاء اخـتصاصی را فعال نموده (مرحله ۳) و آن نیز با هیدرولیز فسـفاتیدیل ۴،۵-بیس‌فسفات در غشاء پلاسمایی (مرحله ۴)، تولید دو پیامبر دوم را کاتالیز می‌نماید.

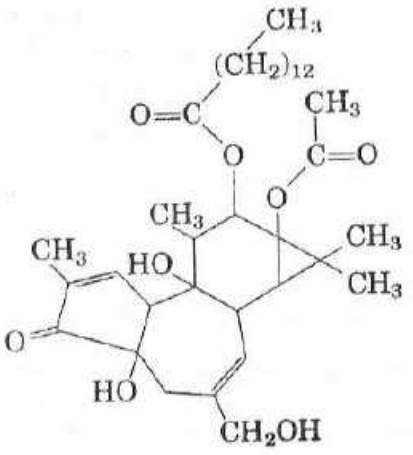
اینوزیتول تری‌فسفات (IP_3)، محصول مـحلول در آب فسـفولیپاز C، از غشـاء پـلاسمایی بـه شـبکه آنـدوپلاسمی انـتشار یـافته و در آنـجا بـا اتـصال بـه گیرنده‌های اختصاصی IP_3، منجر به بازشدن کانال‌های Ca^{2+} در ER می‌گردد. بدین‌ترتیب Ca^{2+} پـنهان‌شده در ER به داخل سیتوزول رها شده (مـرحـله ۵) و $[Ca^{2+}]$ سیتوزولی به‌طورناگهانی به 10^{-6} M افـزایش مـی‌یابد. یکی از اثرات افزایش $[Ca^{2+}]$، فعال‌شدن **پروتئین کیناز C (PKC)** مـی‌باشد. دی‌آسیل‌گلیسرول نـیز بـا Ca^{2+} در فعال‌نمودن PKC همکاری نموده و بنابراین آن هم یک **پیامبر دوم** است (مرحله ۶). PKC سبب فسفریلاسیون ریشه‌های Ser و Thr پروتئین‌های هدف اختصاصی شده و بدین‌ترتیب فعالیت کاتالیتیک آنها را تغییر می‌دهد (مرحله ۷). ایزوآنزیم‌های متعدد PKC وجود دارد که هر کدام دارای انتشار بافتی مشخصی بوده، بر روی پروتئین(های) هدف خاصی اثر نموده و نقش اختصاصی در هر بافت دارند.

جدول ۵-۱۳. بعضی از پیام‌هائی که از طریق فسفولیپاز C و IP_3 عمل می‌کنند

استیل‌کولین [موسکارینی M_1]
آگونیست‌های α_1-آدرنرژیک
آنژیوژنین
آنژیوتانسین II
ATP [P_{2Y} و P_{2x}]*
اوکسین
پپتید آزادکننده گاسترین
گلوتامات
هورمون آزادکننده گنادوتروپین (GRH)
هیستامین (H_1)*
نور (*Drosophila*)
اکسی‌توسین
فاکتور رشد مشتق از پلاکت (PDGF)
سروتونین [5-HT-1_c]*
هورمون آزادکننده تیروتروپین (TRH)
وازوپرسین

* زیرنوع‌های گیرنده در داخل کروشه آورده شده‌اند؛ به توضیحات زیر جدول ۴-۱۳ مراجعه نمائید.

عمل گروهی از ترکیبات بنام **پروموترهای توموری** بواسطه اثرات آنها بر روی PKC می‌باشد. بهترین نمونه شناخته شده اینها، استرهای فوربول[1] می‌باشند که فعال‌کننده‌های قوی PKC هستند. این ترکیبات سنتتیک، نقش دی‌آسیل‌گلیسرول را به‌عنوان پیامبر دوم تقلید نموده ولی برخلاف دی‌آسیل‌گلیسرولهای طبیعی، سریعاً متابولیزه نمی‌گردند. با تحریک مداوم PKC، این پروموترهای توموری سنتتیک با تنظیم طبیعی رشد و تقسیم سلولی تداخل می‌نمایند (بعداً در این فصل بحث خواهد گردید).



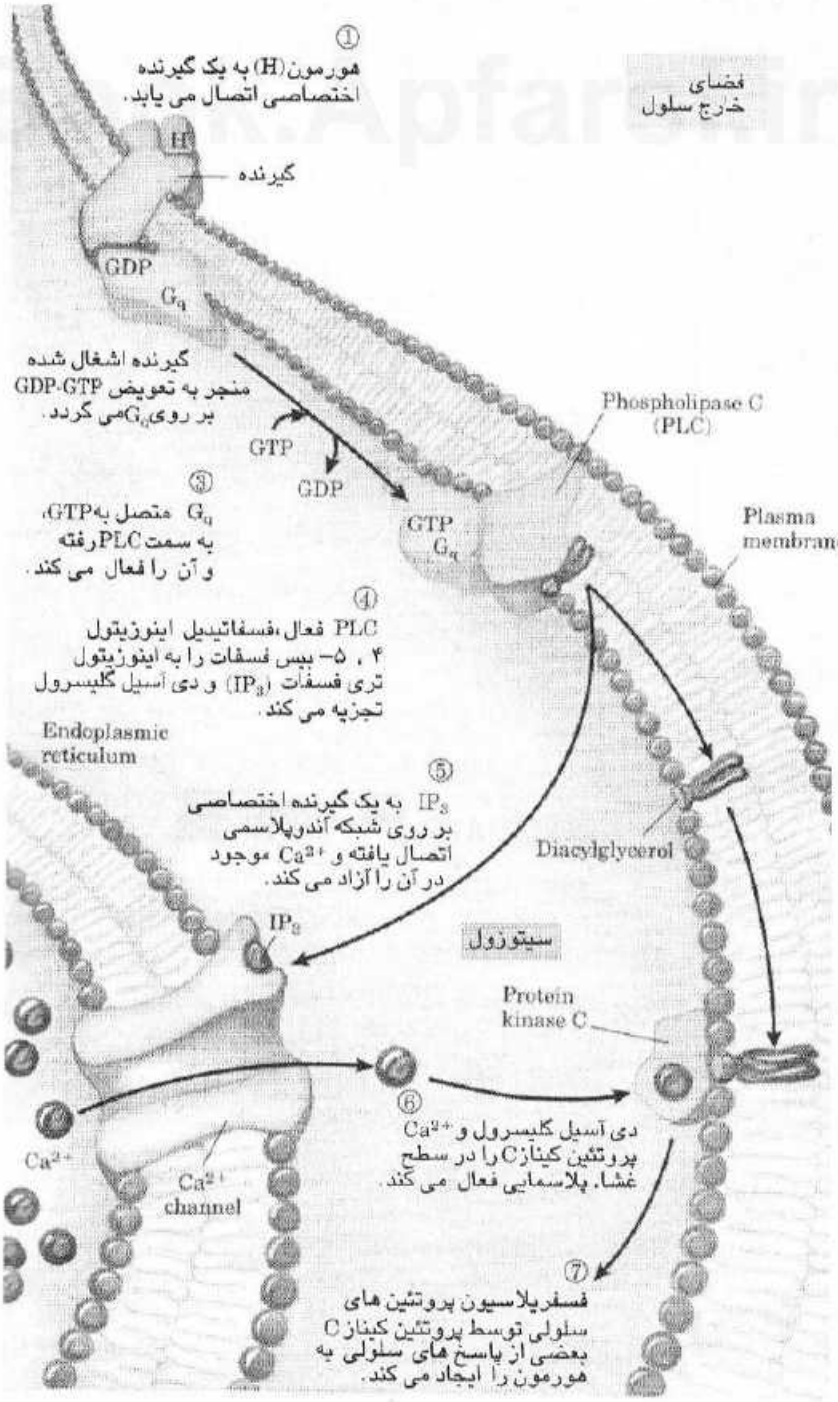
Myristoylphorbol acetate
(a phorbol ester)

کلسیم یک پیامبر دوم در بسیاری از مسیرهای انتقال پیام می‌باشد

در بسیاری از سلول‌هایی که به پیام‌های خارج‌سلولی پاسخ می‌دهند، Ca^{2+} به‌عنوان یک پیامبر دوم سبب آغاز

1- Phorbol

Book.Apfarsi.ir

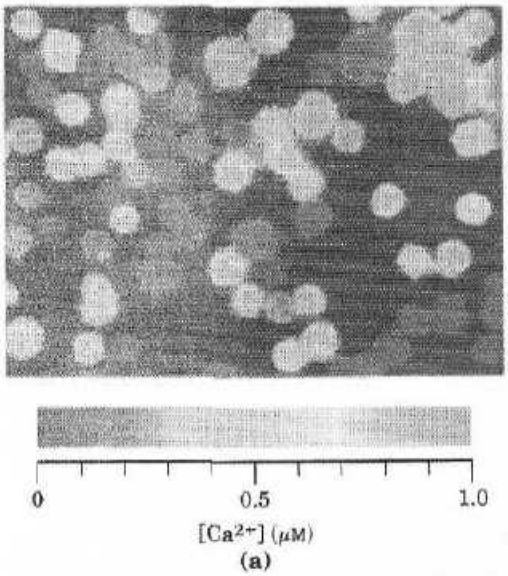


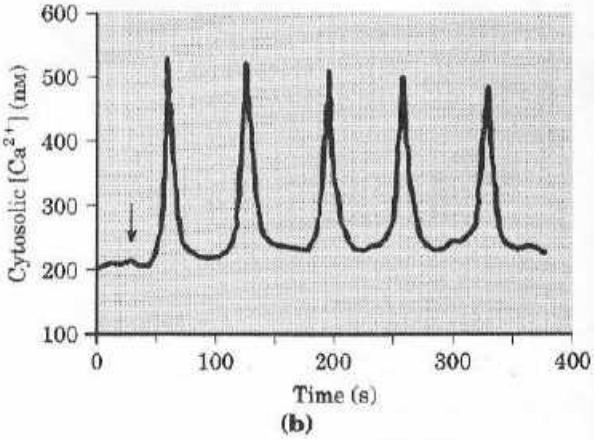
شکل ۱۷-۱۳. فسفولیپاز C و IP_3 فعال‌شده توسط هورمون. در سیستم فسفاتیدیل‌اینوزیتول فسفات حساس به هورمون، دو پیامبر دوم، شامل اینوزیتول ۱، ۴، ۵- تری‌فسفات (IP_3) و دی‌آسیل‌گلیسرول تولید می‌گردد. هر دو این ترکیبات در فعال‌سازی پروتئین کیناز C شرکت می‌نمایند. با افزایش $[Ca^{2+}]$ سیتوزولی، IP_3 آنزیم‌های وابسته به Ca^{2+} دیگر را نیز فعال می‌نماید؛ بنابراین، Ca^{2+} نیز به‌عنوان یک پیامبر دوم عمل می‌کند.

پاسخهای سلولی، نظیر اگزوسیتوز در نرون‌ها و سلول‌های آندوکرین، انقباض عضلانی یا تغییر آرایش اسکلت سلولی در هنگام حرکت آمیبی، می‌گردد. به‌طورطبیعی، $[Ca^{2+}]$ توسط پمپهای Ca^{2+} موجود در شبکه آندوپلاسمی، میتوکندری و غشاء پلاسمایی، در میزان بسیار پایین ($M < 10^{-7}$) حفظ می‌گردد. محرک‌های هورمونی، عصبی و غیره، منجر به افزایش ورود Ca^{2+} به داخل سلول از طریق کانال‌های اختصاصی Ca^{2+} موجود در غشاء پلاسمایی و یا رهاسازی Ca^{2+} پنهان‌شده در شبکه آندوپلاسمی یا میتوکندری شده و در هر حالت سبب افزایش $[Ca^{2+}]$ سیتوزولی و آغاز یک پاسخ سلولی می‌گردند.

معمولاً $[Ca^{2+}]$ به‌طور ساده افزایش و کاهش نمی‌یابد، بلکه طی یک دوره چند ثانیه‌ای، حتی زمانیکه غلظت خارج‌سلولی هورمون ثابت باقی بماند، دچار نوسان می‌گردد (شکل ۱۸-۱۳). مکانیسم پس‌نوردی زمینه‌ای

Book.Apfarsi.ir





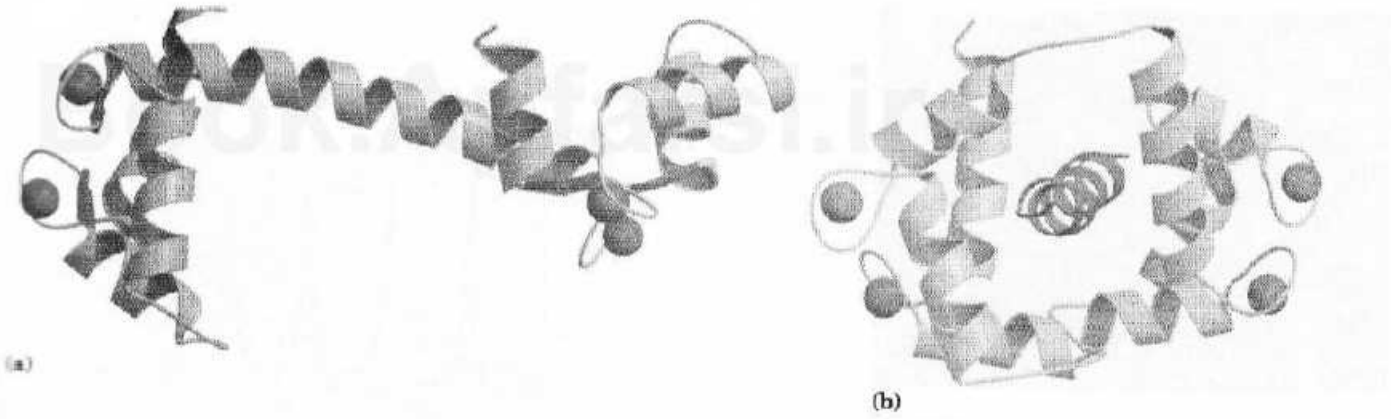
شکل ۱۸-۱۳ [شکل ۳۷ ضمیمه رنگی] ضمیم رنگی قسمت a. آغاز نوسانات $[Ca^{2+}]$ داخل‌سلولی توسط پیام‌های خارج‌سلولی. (a) یک رنگ (fura) که فلورسانس آن با اتصال به Ca^{2+} تغییر می‌یابد، به داخل سلول‌ها انتشار یافته و برون‌ده لحظه‌ای نور با استفاده از میکروسوپ فلورسانس اندازه‌گیری می‌شود. شدت فلورسانس توسط رنگ نشان داده می‌شود؛ این مقیاس رنگی. شدت رنگ را با $[Ca^{2+}]$ مرتبط نموده و امکان تعیین‌مقدار $[Ca^{2+}]$ مطلق را فراهم می‌سازد. در این حالت، تیموسیتها توسط ATP خارج‌سلولی تحریک شده‌اند که $[Ca^{2+}]$ داخلی موجود در آنها را افزایش می‌دهد. سلول‌ها از نظر جوابدهی غیریکنواخت هستند؛ تعدادی دارای مقادیر بالا (قرمز) و تعدادی دارای مقادیر پایین (آبی) $[Ca^{2+}]$ هستند. **(b)** وقتی از چنین روشی برای اندازه‌گیری $[Ca^{2+}]$ در یک سلول کبدی استفاده می‌گردد. آنتاگونیست نوراپی‌نفرین (در محل پیکان اضافه‌شده) منجر به نوسانات $[Ca^{2+}]$ از ۲۰۰ تا ۵۰۰ nM می‌گردد. نوسانات مشابهی توسط پیام‌های خارج‌سلولی در سایر انواع سلول‌ها ملاحظه می‌گردد.

نوسانات $[Ca^{2+}]$، احتمالاً مستلزم تنظیم منفی فسفولیپاز تولیدکننده IP_3 یا کانال یونی آزادکننده Ca^{2+} از شبکه آندوپلاسمی و یا هر دو، توسط Ca^{2+} می‌باشد. مکانیسم هر چه باشد، اثر آن این است که یک پیام (برای مثال، غلظت هورمون) به پیام دیگر (فراوانی و بزرگی تغییرات داخل‌سلولی $[Ca^{2+}]$) تبدیل می‌گردد.

تغییرات $[Ca^{2+}]$ داخل‌سلولی توسط پروتئین‌های اتصالی کلسیم احساس می‌گردد که آنزیم‌های متعدد وابسته به Ca^{2+} را تنظیم می‌نمایند. **کالمودولین (CaM)**؛ وزن‌ملکولی ۱۷،۰۰۰) یک پروتئین اسیدی با چهار جایگاه اتصالی Ca^{2+} با تمایل بالا می‌باشد. وقتی $[Ca^{2+}]$ داخل‌سلولی به حدود 10^{-6} M (۱ μM) افزایش می‌یابد، اتصال Ca^{2+} به کالمودولین سبب یک تغییر کونفورماسیونی می‌گردد (شکل ۱۹-۱۳). کالمودولین به انواع مختلفی از پروتئین‌ها اتصال یافته و Ca^{2+} همراه آن، فعالیت این پروتئین‌ها را تعدیل می‌نماید. کالمودولین عضوی از خانواده پروتئین‌های اتصالی به Ca^{2+}، نظیر تروپونین (ص. ۲۷۰) بوده که انقباض عضلات اسکلتی را در پاسخ به افزایش $[Ca^{2+}]$ آغاز می‌نماید.

کالمودولین یک زیرواحد داخلی **پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین/Ca^{2+} (CaM کیناز)** می‌باشد. وقتی $[Ca^{2+}]$ در پاسخ به بعضی از محرک‌ها افزایش می‌یابد، کالمودولین با اتصال به Ca^{2+}، تغییر کونفورماسیونی را ایجاد نموده و CaM کیناز را فعال می‌کند. سپس این کیناز با فسفریلاسیون تعدادی از آنزیم‌های هدف، فعالیت آنها را تنظیم می‌کند. کالمودولین همچنین زیرواحدی از فسفریلاز کیناز *b* عضلانی است که توسط Ca^{2+} فعال می‌گردد. بنابراین Ca^{2+} علاوه بر آغاز انقباضات عضلانی نیازمند ATP، تجزیه گلیکوژن را نیز تحریک نموده و سوخت مورد نیاز برای سنتز ATP را فراهم می‌آورد. بسیاری از آنزیم‌های دیگر وجود دارند (جدول ۶-۱۳) که فعالیت آنها توسط Ca^{2+} و از طریق کالمودولین، تعدیل می‌گردد.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۹-۱۲. کالمودولین. کالمودولین که مدیاتور بسیاری از واکنش‌های آنزیمی وابسته به Ca^{2+} است، دارای چهار جایگاه اتصالی کلسیم با تمایل بالا (K_d حدود ۰/۱ تا ۱ μM) می‌باشد. **(a)** مدل روبانی ساختمان کریستالی کالمودولین. چهار جایگاه اتصالی Ca^{2+} توسط Ca^{2+} اشغال شده‌اند. دومین انتهای آمینو در سمت چپ و دومین انتهای کربوکسیل در سمت راست قرار دارند. **(b)** کالمودولین متصل به یک دومین مارپیچی یکی از آنزیم‌های متعددی که توسط آن تنظیم می‌گردند، یعنی پروتئین کیناز II وابسته به کالمودولین. توجه نمائید که مارپیچ α مرکزی طویل موجود در **(a)**، برای اتصال به دومین مارپیچی سوبسترا، بر روی خود خم شده است.

انتقال حس‌های بینایی، بویایی و چشایی

احساس نور، بو و مزه (به‌ترتیب بینایی، بویایی و چشایی) در حیوانات با استفاده از نرون‌های حسی اختصاصی به انجام می‌رسد؛ این نرون‌ها از مکانیسم‌های انتقال پیامی استفاده می‌نمایند که اساساً مشابه آنهایی هستند که در جستجوی هورمون‌ها، نوروترانسمیترها و فاکتورهای رشد بکار می‌روند. پیام حسی ابتدایی توسط مکانیسم‌هایی وابسته به کانال‌های یونی دریچه‌دار و پیامبرهای دوم داخل‌سلولی قویاً تقویت می‌گردند؛ این سیستم از طریق تغییر حساسیت خود به محرک (حساسیت‌زدایی)، به تحریک پیوسته عادت می‌نماید؛ و قبل از انتقال پیام به مغز، ورودی حسی گیرنده‌های متعدد، یکپارچه می‌شوند.

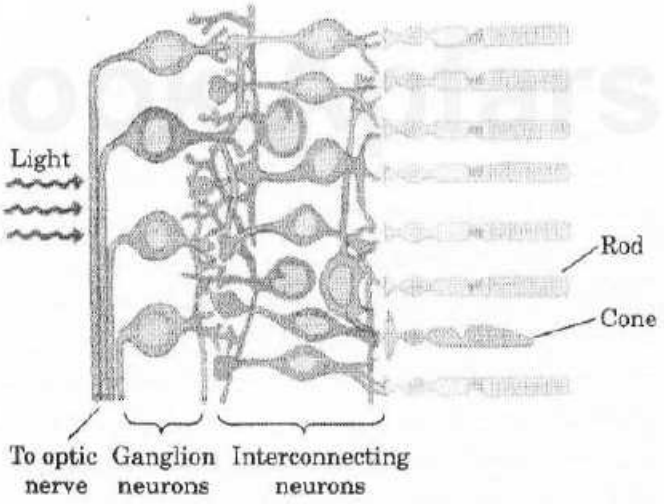
جدول ۶-۱۳. پروتئین‌هائی که توسط Ca^{2+} و کالمودولین تنظیم می‌شوند

آدنیلیل سیکلاز (مغز)
پروتئین کینازهای وابسته به Ca^{2+} /کالمودولین
کانال سدیمی وابسته به Ca^{2+} (*Paramecium*)
کانال آزادسازی Ca^{2+} در شبکه سارکوپلاسمی
کلسی‌نورین (فسفوپروتئین فسفاتاز 2B)
cAMP فسفودی‌استراز
کانال دریچه‌دار وابسته به cAMP بویائی
کانال‌های سدیمی و کلسیمی دریچه‌دار وابسته به cGMP (سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی)
کینازهای زنجیر سبک میوزین
NADH کیناز
نیتریک اکسید سنتاز
PI-3 کیناز
Ca^{2+} ATPase (پمپ Ca^{2+}) غشاء پلاسمائی
RNA هلیکاز

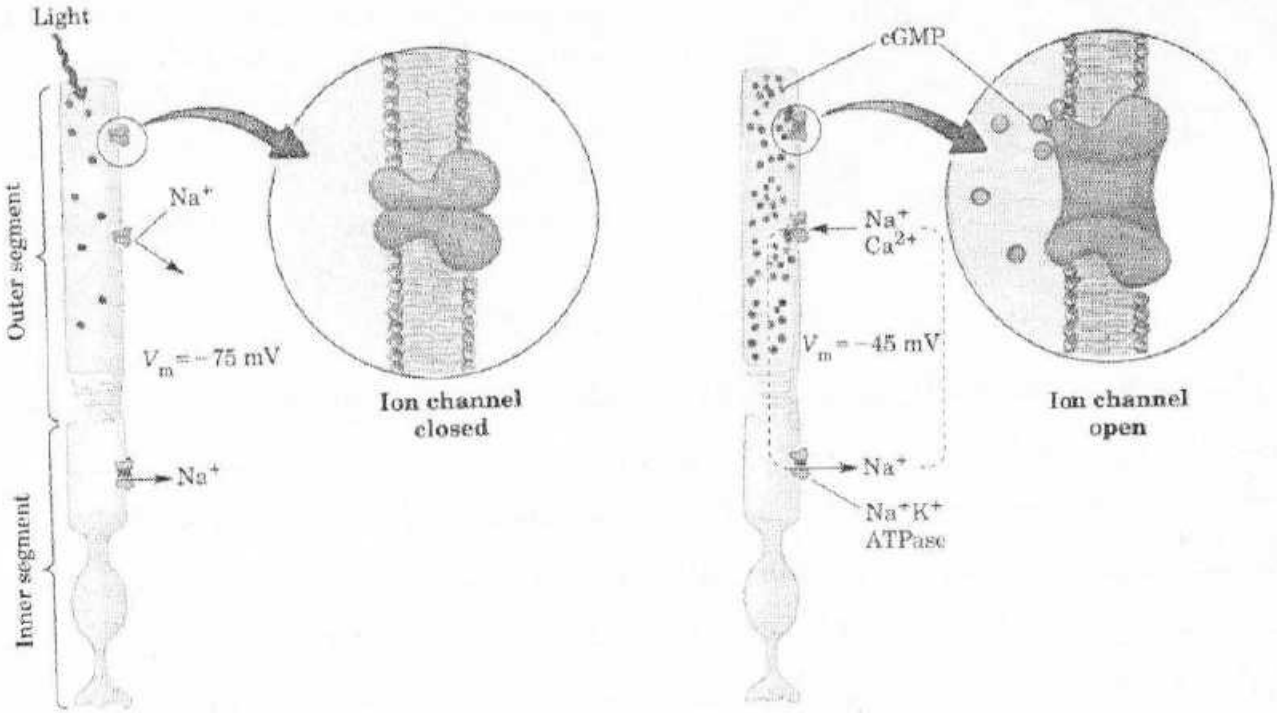
نور سبب هیپرپلاریزاسیون سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی در چشم مهره‌داران می‌گردد

پرتو نوری که از طریق مردمک وارد چشم مهره‌داران می‌شود، بر روی یک سری نرون‌های حساس به نور شدیداً سازمان‌یافته متمرکز می‌گردد (شکل ۲۰-۱۳). این سلول‌های حساس به نور شامل دو نوع می‌باشند: **سلول‌های استوانه‌ای** (حدود 10^9 در هر شبکیه) نورهای ضعیف را احساس نموده ولی نمی‌توانند رنگها را تشخیص دهند و **سلول‌های مخروطی** (حدود 3×10^6 در هر شبکیه) که حساسیت کمتری داشته ولی می‌توانند رنگها را تمیز دهند. هر دو نوع این سلول‌ها، نرون‌های حسی ویژه طویل و باریکی هستند که دارای دو بخش سلولی مجزا می‌باشند: یکی

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۰-۱۳. دریافت نور در چشم مهره‌داران. عدسی‌های چشم، نور را بر روی شبکیه متمرکز می‌نمایند که خود از لایه‌های نرونی تشکیل شده است. نرون‌های اولیه بینایی شامل سلول‌های استوانه‌ای، مسئول قدرت بالای تفکیک و دید در شب، و سلول‌های مخروطی متشکل از سه زیرنوع، مسئول بینایی رنگی، هستند. این سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی با صفوف متعددی از نرون‌های به‌هم‌متصل‌کننده سیناپس برقرار می‌نمایند که خود سبب همگرایی و یکپارچگی پیام‌های الکتریکی می‌گردد. این پیام نهایتاً از نرون‌های گانگلیونی عبور نموده و توسط عصب بینایی به مغز می‌رسد.

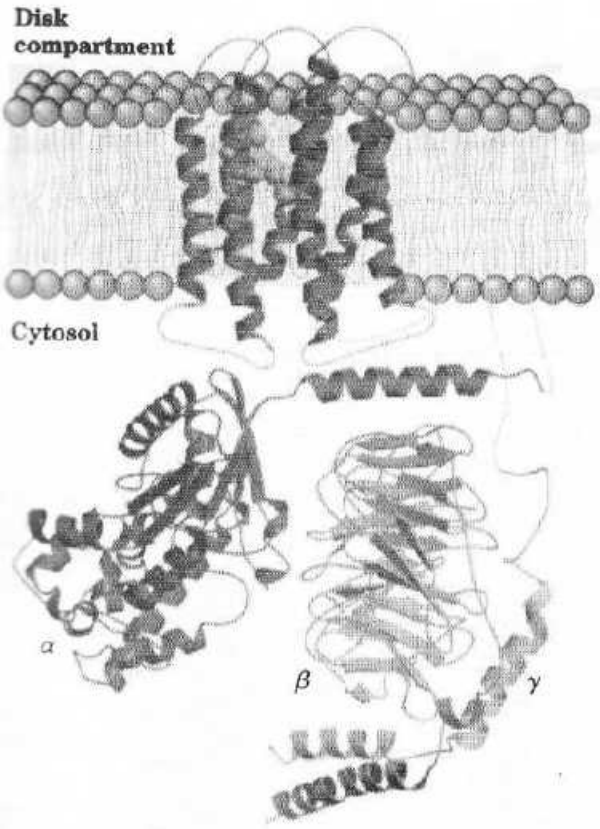


شکل ۲۱-۱۳. هیپرپلاریزاسیون سلول‌های استوانه‌ای توسط نور. سلول استوانه‌ای دارای یک قطعه خارجی متشکل از دیسکهای غشایی (نشان داده نشده است) حاوی گیرنده نوری رودوپسین و یک قطعه داخلی حاوی هسته و سایر اندامکها می‌باشد. سلول‌های مخروطی نیز دارای ساختمان مشابهی هستند. ATP موجود در قطعه داخلی انرژی مورد نیاز برای $Na^+K^+ATPase$ را تأمین نموده که با خارج‌نمودن سه یون Na^+ به ازاء ورود دو یون K^+ سبب ایجاد پتانسیل الکتریکی در عرض غشاء می‌گردد. این پتانسیل غشایی توسط جریان Na^+ و Ca^{2+} به داخل سلول از طریق کانال‌های کاتیونی دریچه‌دار وابسته به $cGMP$ در غشاء پلاسمایی قطعه خارجی، کاهش می‌یابد. وقتی رودوپسین نور را جذب می‌نماید، تجزیه $cGMP$ را در قطعه خارجی آغاز نموده و سبب بسته‌شدن این کانال کاتیونی می‌گردد. بدون جریان رو به داخل کاتیونی از طریق این کانال، سلول هیپرپلاریزه می‌شود. این پیام الکتریکی از طریق نرون‌های نشان‌داده‌شده در شکل ۲۰-۱۳ به مغز هدایت می‌گردد.

قطعه خارجی که چندین دوجین از دیسکهای غشایی مملو از پرتئین غشایی رودوپسین، و یک **قطعه داخلی** حاوی هسته و تعداد زیادی میتوکندری که برای تولید ATP جهت انتقال پیام نوری لازم می‌باشد.

همانند سایر نرون‌ها، سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی دارای پتانسیل الکتریکی ترانس‌ممبران (V_m) می‌باشند که توسط پمپ الکتروژنیک Na^+K^+ ATpase موجود در غشاء پلاسمایی قطعه داخلی ایجاد می‌گردد (شکل ۲۱-۱۳). علاوبر این پمپ، یک کانال یونی موجود در قطعه خارجی نیز در ایجاد این پتانسیل غشایی ایفاء نقش می‌نماید؛ این کانال اجازه عبور Na^+ یا Ca^{2+} را داده و توسط cGMP باز می‌گردد. در تاریکی، سلول‌های

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۲-۱۳ [شکل ۳۸ ضمیمه رنگی]. ساختمان احتمالی رودوپسین به‌صورت کمپلکس با ترانس‌دوسین G پروتئینی. رودوپسین (قرمز) دارای هفت مارپیچ ترانس‌ممبران در داخل غشاءهای دیسکی قطعات خارجی سلول استوانه‌ای بوده و انتهای کربوکسیل آن در سمت سیتوزولی و انتهای آمینو آن در داخل دیسک قرار دارد. کروموفور ۱۱-سیس رتینال (آبی) که از طریق یک باز شیف به Lys^{256} موجود در هفتمین مارپیچ متصل است، در نزدیکی مرکز دولایه قرار می‌گیرد. (این موقعیت مشابه موقعیت جایگاه اتصالی اپی‌نفرین در گیرنده β-آدرنرژیک می‌باشد.) تعدادی از ریشه‌های Ser و Thr موجود در نزدیکی انتهای کربوکسیل، سوستراهایی برای فسفریلاسیون می‌باشند که قسمتی از مکانیسم غیرحساس‌شدن برای رودوپسین می‌باشد. قوس‌های سیتوزولی که با ترانس‌دوسین G پروتئین واکنش متقابل دارند، با رنگ نارنجی نشان داده شده‌اند؛ موقعیت دقیق اینها هنوز نامشخص می‌باشد. سه زیرواحد ترانس‌دوسین (سبز) با آرایش احتمالی خود نشان داده شده‌اند. رودوپسین در انتهای کربوکسیل خود پالمیتوئیله شده و هر دو زیرواحد α و γ ترانس‌دوسین به لیپیدها اتصال دارند که به لنگراندازی آنها در غشاء کمک می‌نماید؛ این دم‌های آبگریز با رنگ زرد نشان داده شده‌اند.

استوانه‌ای به اندازه کافی cGMP دارند تا این کانال باز نگه داشته شود. ازاینرو، این پتانسیل غشاء توسط تفاوت بین Na^+ و K^+ پمپ‌شده توسط قطعه داخلی (که غشاء را پلاریزه می‌نماید) و جریان به داخل Na^+ از طریق کانال‌های قطعه خارجی (که تمایل به دپلاریزه نمودن غشاء دارد)، تعیین می‌گردد.

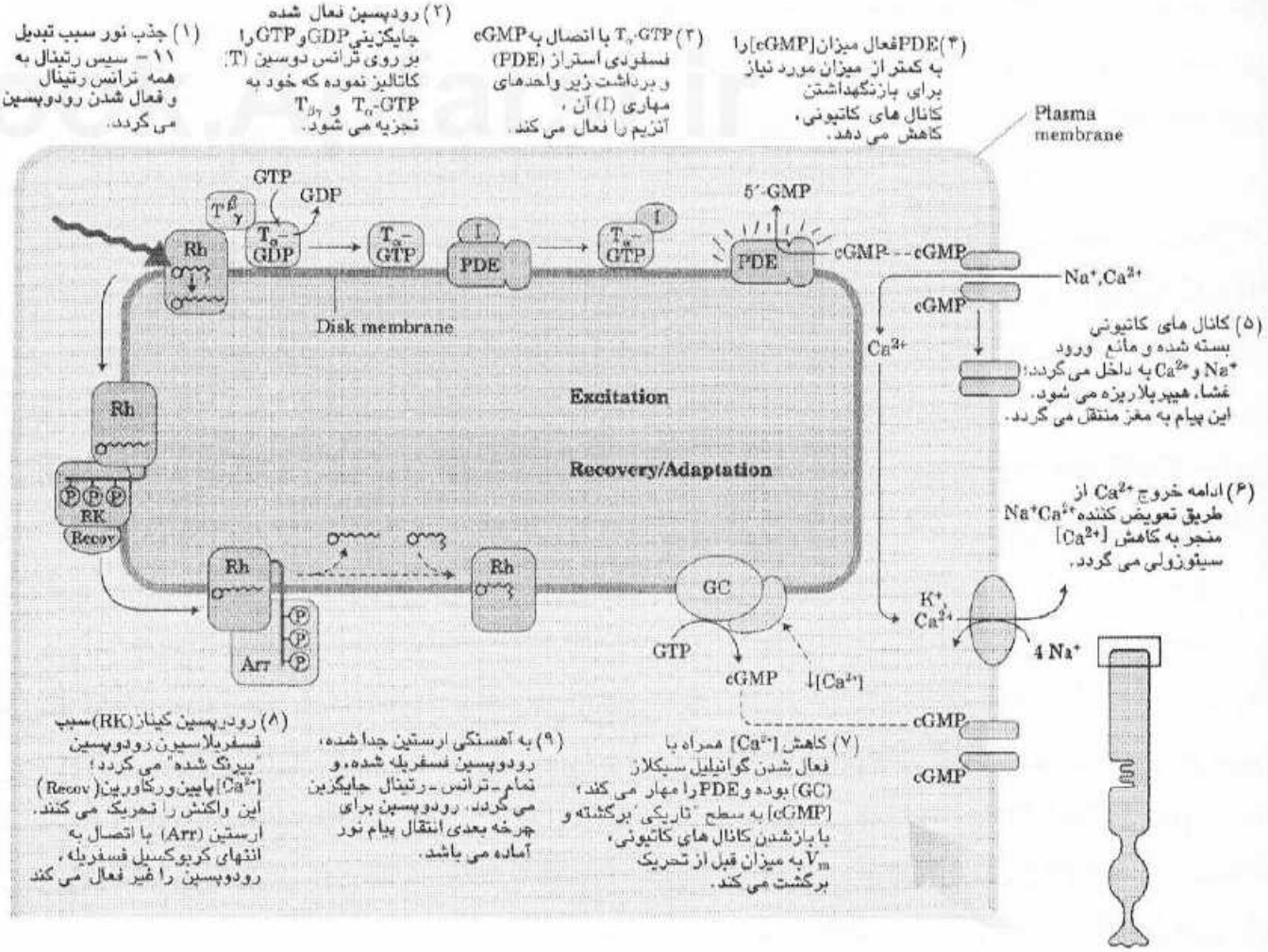
نتیجه پیام‌رسانی در سلول استوانه‌ای یا مخروطی، کاهش غلظت cGMP در اثر نور می‌باشد که سبب بسته‌شدن دریچه کانال یونی وابسته به cGMP می‌گردد. آنگاه با فعالیت Na^+K^+ ATPase، غشاء پلاسمایی هیپرپلاریزه می‌شود. سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی با نرون‌های به‌هم‌متصل‌کننده[1] ایجاد سیناپس نمود (شکل ۲۰-۱۳) و این نرون‌ها اطلاعات را بصورت فعالیت الکتریکی به نرون‌های گانگلیونی در نزدیکی سطح خارجی شبکیه منتقل می‌کنند. نرون‌های گانگلیونی خروجی‌های تعداد بسیار زیادی از سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی را یکپارچه نموده و پیام حاصل را از طریق عصب بینایی به قشر بینایی مغز ارسال می‌نماید.

نور تغییرات کونفورماسیونی را در گیرنده رودوپسین آغاز می‌نماید

انتقال پیام بینایی زمانی آغاز می‌گردد که نور به رودوپسین برسد که هزاران ملکول آن بر روی هر کدام از دیسکهای قطعه خارجی وجود دارد. **رودوپسین** (وزن‌ملکولی ۴۰,۰۰۰) یک پروتئین داخلی می‌باشد که هفت مارپیچ α عبورکننده از عرض غشاء دارد و این مشخصه گیرنده‌های سرپنتینی است (شکل ۲۲-۱۳). دومن انتهای آمینو این پروتئین وارد دیسک شده و دومن انتهای کربوکسیل آن به سمت سیتوزولی قطعه خارجی است. رنگدانه (کروموفور) جذب‌کننده نور **۱۱-سیس-رتینال** به‌طورکووالان و از طریق ایجاد یک باز شیف با ریشه Lys، به اوپسین جزء پروتئینی رودوپسین، اتصال دارد. این رتینال در نزدیکی قسمت میانی دولایه قرار داشته (شکل ۲۲-۱۳) و

1- Interconnecting

Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۳-۱۳. نتایج ملکولی جذب فوتون توسط رودوپسین در قطعه خارجی سلول استوانه‌ای. نیمه بالای شکل (مراحل ۱ تا ۵)، تحریک و نیمه پایین (مراحل ۶ تا ۹)، برگشت و تطبیق بعد از روشنایی، را نشان می‌دهند.

محور طولی خود را تقریباً در صفحه غشاء قرار می‌دهد. وقتی یک فوتون جذب جزء رتینال رودوپسین می‌گردد، این انرژی منجر به یک تغییر فتوشیمیایی، بصور تبدیل ۱۱-سیس-رتینال به **همه-ترانس-رتینال**، می‌گردد (اشکال ۸b-۳ و ۱۹-۱۱ را ببینید). این تغییر ساختمانی در کروموفور منجر به تغییرات کونفورماسیونی در ملکول رودوپسین، در اولین مرحله انتقال پیام بینایی، می‌شود.

رودوپسین تحریک‌شده از طریق ترانس‌دوسین G پروتئینی، در جهت کاهش غلظت cGMP عمل می‌کند

رودوپسین در حالت تحریک‌شده می‌تواند با پروتئین دیگری بنام **ترانس‌دوسین** واکنش نماید که در نزدیکی سمت سیتوزولی غشاء دیسکی قرار دارد (شکل ۲۲-۱۳). ترانس‌دوسین (T)، همانند G_s و G_i، متعلق به همان خانواده پروتئین‌های تریمری اتصالی به GTP می‌باشد. هرچند ترانس‌دوسین برای انتقال پیام بینایی اختصاصی‌است، ویژگی‌های عملکردی مشابه زیادی با G_s و G_i دارد. این پروتئین می‌تواند به GDP یا GTP متصل گردد. در تاریکی، GDP اتصال داشته، تمامی سه زیرواحد (T_α، T_β و T_γ) به یکدیگر متصل بوده و هیچ پیامی ارسال نمی‌گردد. با تحریک رودوپسین توسط نور، رودوپسین با ترانس‌دوسین واکنش نموده و جابجایی GDP با GTP سیتوزولی کاتالیز می‌شود (شکل ۲۳-۱۳، مراحل ۱ و ۲). سپس ترانس‌دوسین به T_α و $T_{\beta\gamma}$ تجزیه شده و T_α متصل

به GTP، پیام را از گیرنده تحریک‌شده به عنصر بعدی موجود در این مسیر انتقالی، یعنی cGMP فسفودی‌استراز (PDE)، منتقل می‌نماید و این آنزیم cGMP را به 5′-GMP تبدیل می‌کند (مراحل ۳ و ۴). توجه داشته باشد که این آنزیم متفاوت از فسفودی‌استراز نوکلئوتید حلقوی است که برای پایان‌دادن به پاسخ β-آدرنرژیک، cAMP را هیدرولیز می‌نماید. PDE اختصاصی cGMP، مختص سلول‌های بینایی شبکیه می‌باشد.

PDE یک پروتئین داخلی می‌باشد که جایگاه فعال آن در سمت سیتوزولی غشاء دیسکی است. در تاریکی، با اتصال محکم یک زیرواحد مهاری، فعالیت PDE به‌طور بسیار مؤثری مسدود می‌گردد. وقتی T_α-GTP با PDE مواجه می‌شود، زیرواحد مهاری رها شده و فوراً فعالیت آنزیمی به میزان زیادی افزایش می‌یابد. هر ملکول PDE، با تخریب ملکول‌های متعدد cGMP به 5′-GMP، سبب کاهش [cGMP] در قطعه خارجی در کسری از ثانیه می‌شود. در [cGMP] جدید پایین، کانال‌های یونی دریچه‌دار وابسته به cGMP بسته شده و با مهار ورود Na^+ و Ca^{2+} به داخل قطعه خارجی، غشاء سلول استوانه‌ای و مخروطی را هیپرپلاریزه می‌نماید (مرحله ۵). با این فرایند، محرک اولیه (یک فوتون) سبب تغییر V_m سلول می‌گردد.

تقویت پیام در سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی رخ می‌دهد

مراحل متعددی در فرایند انتقال پیام بینایی، منجر به تقویت قابل‌توجه پیام می‌گردند. هر ملکول رودوپسین تحریک‌شده حداقل ۵۰۰ ملکول ترانس‌دوسین را فعال نموده که هرکدام آنها نیز یک ملکول PDE را فعال می‌نمایند. عدد نوسازی PDE به‌طور قابل توجهی بالا می‌باشد، به‌طوری که هر ملکول فعال‌شده آن ۴,۲۰۰ ملکول cGMP را در هر ثانیه هیدرولیز می‌نماید. اتصال cGMP به کانال‌های یونی دریچه‌دار وابسته به cGMP، تعاونی می‌باشد (برای بازشدن یک کانال لازم است حداقل سه ملکول cGMP اتصال یابد) و بنابراین تغییر نسبتاً کوچک در [cGMP] منجر به تغییر بزرگی در هدایت یونی می‌گردد. نتیجه این تقویت‌ها، حساسیت عالی به نور می‌باشد. جذب یک فوتون واحد همراه با بسته‌شدن هزار یا بیش از آن کانال یونی و تغییراتی در پتانسیل غشاء سلولی در حدود ۱ mV می‌باشد.

پیام بینایی سریعاً خاتمه می‌یابد

مدت کوتاهی بعد از توقف تحریک نوری سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی، سیستم حس نور خاموش می‌گردد. زیرواحد α ترانس‌دوسین (به شکل متصل به GTP) دارای فعالیت GTPase داخلی می‌باشد. ظرف چندمیلی‌ثانیه از کاهش شدت نور، GTP هیدرولیز شده و T_α به $T_{\beta\gamma}$ اتصال می‌یابد. زیرواحد مهاری PDE که به T_α-GTP اتصال یافته است، رهاشده و با اتصال مجدد به PDE، شدیداً این آنزیم را مهار می‌نماید. تا رسیدن [cGMP] به مقدار «تاریکی»، آنزیم گوانیلیل سیکلاز، GTP را طی واکنشی به cGMP تبدیل می‌نماید (مرحله ۷ شکل ۲۳-۱۳ را ببینید) که توسط $[Ca^{2+}]$ بالا (بیش از ۱۰۰ nM) مهار می‌گردد. در هنگام وجود نور، مقادیر Ca^{2+} کاهش می‌یابد. زیرا $[Ca^{2+}]$ حالت پایدار قطعه خارجی حاصل پمپ به خارج Ca^{2+} از طریق تعویض‌کننده Na^+Ca^{2+} موجود در غشاء پلاسمایی و حرکت رو به داخل Ca^{2+} از طریق کانال‌های دریچه‌دار وابسته به cGMP می‌باشد. در تاریکی، $[Ca^{2+}]$ به حدود ۵۰۰ nM می‌رسد که برای مهار سنتز cGMP کافی است. بعد از روشنایی کوتاه، ورود Ca^{2+} کاهش یافته و $[Ca^{2+}]$ سقوط می‌نماید (مرحله ۶). مهار گوانیلیل سیکلاز توسط Ca^{2+} برداشت شده و این آنزیم GTP را به cGMP تبدیل نموده تا سیستم به حالت قبل از تحریک برگردد (مرحله ۷).

Book.Apfarsi.ir

رودوپسین با فسفریلاسیون غیرحساس می‌گردد

خود رودوپسین در پاسخ به روشنایی طولانی، دچار تغییراتی می‌گردد. این تغییر کونفورماسیونی ناشی از جذب نور، ریشه‌های متعدد Thr و Ser موجود در دومین انتهای کربوکسیل را در معرض قرار می‌دهد. این ریشه‌ها سریعاً توسط **رودوپسین کیناز** فسفریله شده (مرحله ۸ در شکل ۲۳-۱۳) که خود از نظر ساختمانی و عملکرد مشابه β-آدرنرژیک کینازی (βARK) است که گیرنده β-آدرنرژیک را غیرحساس می‌نماید (شکل ۱۶-۱۳). در غلظت‌های بالای Ca^{2+}، پروتئین اتصالی به Ca^{2+}، بنام **رکاورین** سبب مهار رودوپسین کیناز می‌گردد، اما همانطور که در بالا شرح داده شده، در حضور نور، $[Ca^{2+}]$ کاهش یافته و در نتیجه این اثر مهاری برداشت می‌گردد. درمن انتهای کربوکسیل فسفریله رودوپسین به پروتئین **ارستین** اتصال یافته و واکنش بیشتر بین رودوپسین فعال‌شده و ترانس‌دوسین متوقف می‌شود. ارستین نسباهت زیادی به β-ارستین دارد (شکل ۱۶-۱۳). در مقیاس زمانی نسبتاً طولانی (چند ثانیه تا چند دقیقه)، همه-*ترانس*-رتینال ملکول تحریک‌شده رودوپسین برداشت و با ۱۱-سیس-رتینال جایگزین شده تا رودوپسین آماده برای دور بعدی تحریک ایجاد گردد (مرحله ۹ در شکل ۲۳-۱۳).

انسان نمی‌تواند رتینال را از پیش‌سازهای ساده‌تر آن بسازد و لازم است آن را به شکل ویتامین A از طریق مواد غذایی بدست آورد (ص.۴۳۰). با توجه به نقش رتینال در فرایند بینایی، تعجب‌آور نیست که کمبود ویتامین A در مواد غذایی منجر به شب کوری (بینایی ضعیف در شب یا در نور تاریک) می‌گردد.

سلول‌های مخروطی دارای ویژگی برای بینایی رنگی هستند

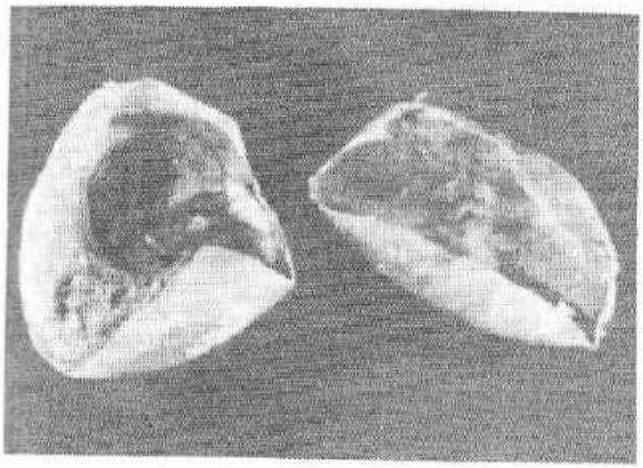
بینایی رنگی در سلول‌های مخروطی از مسیر مشابه انتقال پیام نوری پیروی می‌نماید که توسط گیرنده‌های نوری قدری متفاوت آغاز می‌گردد. سه نوع سلول مخروطی برای شناسایی سه ناحیه مختلف از طیف نوری وجود دارد که از سه پروتئین گیرنده نوری (اپسین) مرتبط استفاده می‌نمایند. هر سلول مخروطی تنها یک نوع اپسین را بیان می‌کند، ولی هر نوع آنها از نظر اندازه، توالی اسید آمینه و احتمالاً ساختمان سه‌بعدی، ارتباط نزدیکی را با رودوپسین دارند. هرچند، تفاوت در این اپسین‌ها به اندازه کافی زیاد می‌باشد که کروموفور، ۱۱-سیس-رتینال، را در سه محیط تا حدودی متفاوت قرار دهد تا هر کدام از این گیرنده‌های نوری دارای طیف جذبی متفاوتی باشند (شکل ۲۴-۱۳). ما با یکپارچه‌نمودن خروجی‌های این سه نوع سلول مخروطی که هر کدام حاوی یکی از سه گیرنده‌های نوری هستند، رنگ‌ها را تمایز می‌دهیم.

کوررنگی، نظیر ناتوانی در تشخیص رنگ قرمز از سبز، یک صفت نسبتاً شایع می‌باشد که به طریق ژنتیکی در انسان انتقال می‌یابد. انواع مختلف کور رنگی‌ها از جهش‌های مختلف در اپسین حاصل می‌گردند. یکی از این اشکال به خاطر از دست‌رفتن گیرنده نوری قرمز می‌باشد؛ این مبتلایان را **دی‌کروماتهای قرمز**$^-$ می‌نامند (که تنها دو رنگ‌اصلی را می‌بینند). عده‌ای دیگر فاقد رنگدانه سبز بوده و **دی‌کروماتهای سبز**$^-$ نامیده می‌شوند. در بعضی موارد، گیرنده‌های نوری قرمز و سبز وجود داشته ولی به علت تغییر توالی اسید آمینه‌ای، دارای طیف جذبی تغییریافته بوده و سبب ایجاد اختلال در دید رنگی می‌شوند. برحسب نوع رنگدانه‌ای که تغییر یافته است، این افراد را **تری‌کروماتهای ناهنجار قرمز** یا **تری‌کرومات‌های ناهنجار سبز** می‌نامند. اخیراً بررسی ژن‌های مربوط به گیرنده‌های بینایی، امکان تشخیص کوررنگی را در یک «بیمار» مشهور، بیش از یک قرن بعد از مرگ وی، ممکن ساخته است (کادر ۲-۱۳)!

Book.Apfarsi.ir

کادر ۲-۱۳. کور رنگی: آزمایش جان دالتون از زمان فوت

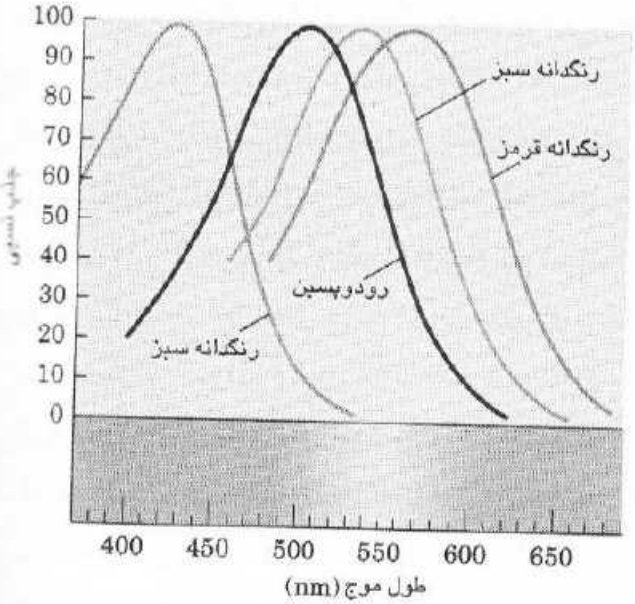
جان دالتون Jhon Dalton شیمیدان (که بخاطر تئوری اتمی شهرت دارد)، مبتلا به کور رنگی بود. وی معتقد بود که مایع زجاجیه چشمانش (مایعی که کره چشم را در پشت عدسی‌ها پر می‌نماید)، برخلاف مایع بیرنگ موجود در چشمهای طبیعی، آبی کمرنگ می‌باشد. وی پیشنهاد نمود که بعد از مرگش، چشمانش را درآورند و رنگ مایع زجاجیه را تعیین نمایند. به آرزوی وی احترام گذاشته شد؛ روز بعد از مرگ دالتون در ماه جولای ۱۸۴۴، ژوزف رانسوم Joseph Ransome چشمان او را درآورد و دریافت که مایع زجاجیه آن کاملاً بیرنگ می‌باشد. رانسوم، همانند بسیاری از دانشمندان دیگر، مایل به دور انداختن این نمونه‌ها نبود. وی چشمهای دالتون را در یک جار محافظ (شکل ۱) قرار داد و تا اواسط دهه ۱۹۹۰، نمونه‌ها در آن محل باقی ماند، تا در این زمان بیولوژیستهای ملکولی انگلستان، نمونه کوچکی از این شبکیه ۱۵۰ ساله را برداشته و DNA آن را استخراج نمودند. با استفاده از اطلاعات موجود در مورد توالی‌های ژنی اپسین رنگدانه‌های نوری قرمز و سبز، (با استفاده از فن‌آوری‌هایی که در فصل ۲۹ شرح داده می‌شوند)، این محققین توالی‌های مربوطه را تکثیر داده و مشخص نمودند که دالتون ژن اپسین رنگدانه نوری قرمز را داشته، ولی فاقد ژن اپسین رنگدانه نوری سبز بوده است. دالتون دی‌کروماتِ سبز بود. یکصد و پنجاه سال بعد از مرگش، آزمایشی که دالتون (با فرض علت کور رنگی خودش) آغاز نموده بود، بالاخره به پایان رسید.



شکل ۱. چشمان دالتون.

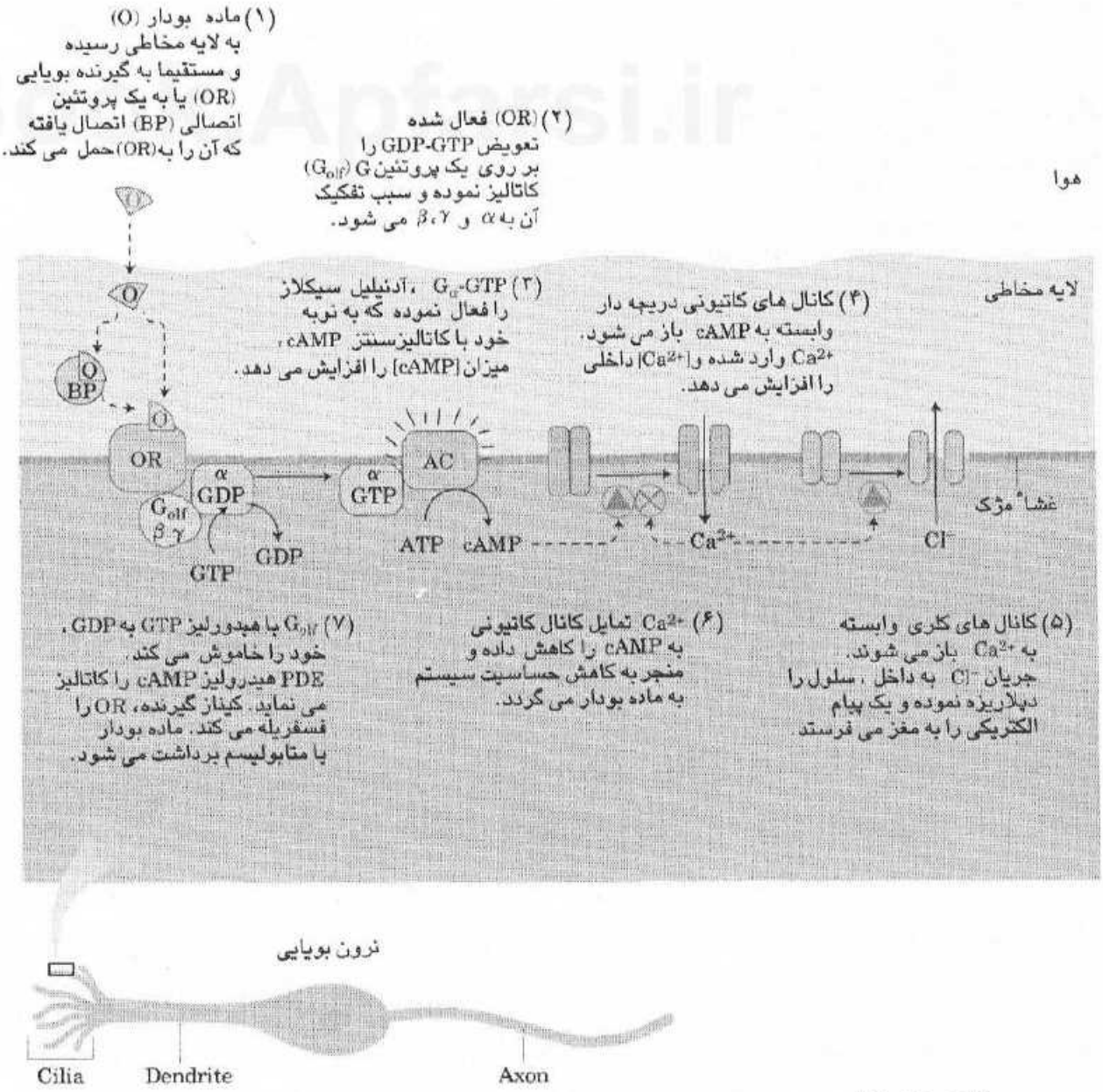
بویایی و چشایی مهره‌داران از مکانیسم‌های مشابه سیستم بینایی استفاده می‌کنند

سلول‌های حسی مورد استفاده در تشخیص بوها و مزه‌های متفاوت دارای مشترکات زیادی با سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی در تشخیص نور هستند. نرون‌های بویایی دارای تعدادی مژک بلند باریک می‌باشند که از یک انتهای سلول به داخل لایه مخاطی مفروش‌کننده آنها امتداد یافته‌اند. این مژکها ناحیه سطحی وسیعی را برای انجام واکنش‌متقابل با پیام‌های بویایی فراهم می‌سازند. گیرنده‌های محرک‌های بویایی پروتئین‌های غشایی موجود در مژک‌های سلول‌های گیرنده بویایی هستند که در ساختمان آنها هفت مارپیچ α ترانس‌ممبران خانواده سرپنتین دیده می‌شود. هر کدام از ترکیبات فرار که برای آنها پروتئین‌های گیرنده‌اختصاصی وجود دارد، می‌توانند به‌عنوان پیام بویایی عمل نمایند. توانایی ما در تمایز بوهای مختلف بخاطر وجود صدها گیرنده بویایی مختلف در زبان و مجرای بینی و همچنین توانایی مغز در یکپارچه‌نمودن خروجی‌های متعدد انواع مختلف‌گیرنده‌های بویایی در جهت



شکل ۲۴-۱۳ [شکل ۳۹ ضمیمه رنگی]. طیف جذبی رودوپسین خالص‌شده و گیرنده‌های قرمز، سبز و آبی سلول‌های مخروطی. این طیف که از سلول‌های مخروطی مجزای جداشده از اجساد بدست آمده‌اند در حدود ۴۲۰، ۵۳۰ و ۵۶۰ nm دارای قله بوده و حداکثر جذب رودوپسین در حدود ۵۰۰ nm می‌باشد. به‌عنوان مرجع، طیف مرئی انسان در حدود ۳۸۰ تا ۷۵۰ nm می‌باشد.

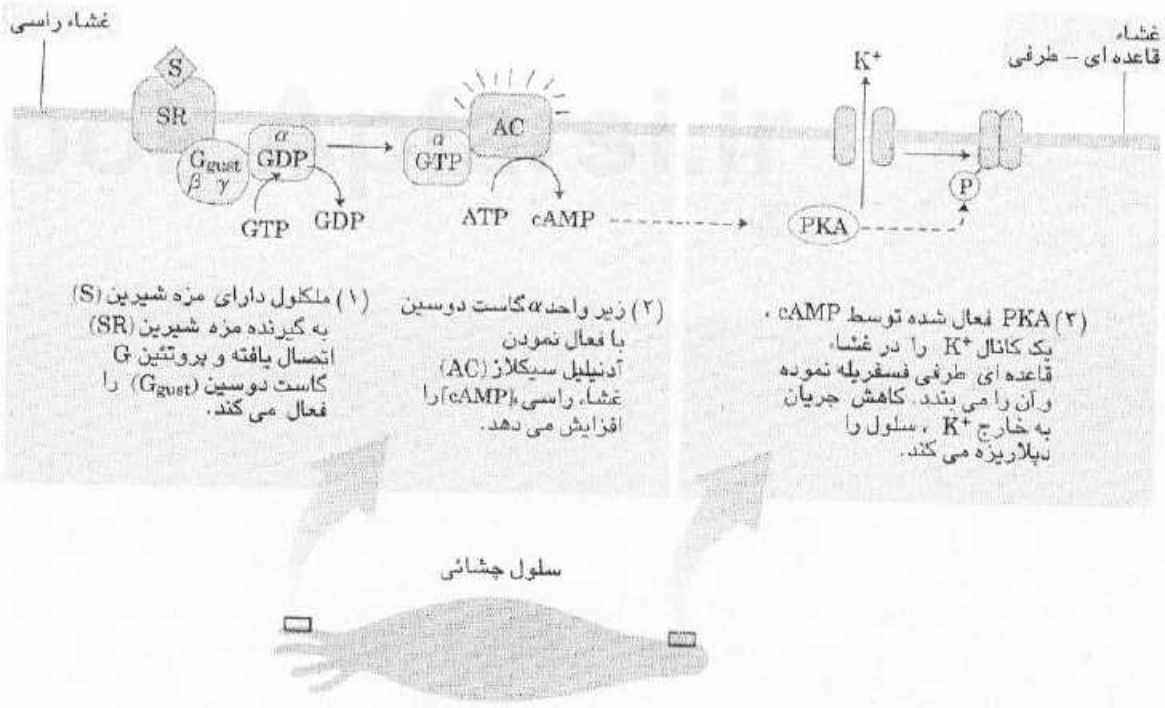
Book.Apfarsi.ir



شکل ۲۵-۱۳. حوادث ملکولی بویایی. ین حوادث در مژک‌های سلول‌های گیرنده بویایی رخ می‌دهند.

شناسایی الگوی «مخلوطی» از بوها می‌باشد؛ این موضوع سبب می‌گردد تا دامنه تمایز ما از تعداد گیرنده‌ها بیشتر شود.

محرک بویایی با انتشار در هوا به سلول‌های حسی می‌رسند. در لایه مخاطی که نرون‌های بویایی را مفروش نموده‌اند، ملکول بودار مستقیماً به گیرنده بویایی یا به یک پروتئین اتصالی اختصاصی، اتصال‌یافته تا ماده بودار را به یک گیرنده هدایت نماید (شکل ۲۵-۱۳). واکنش متقابل بین ماده بودار و گیرنده سبب تغییری در گیرنده می‌شود که همراه با جایگزینی GDP اتصال‌یافته به یک پروتئین G، G_{olf}، با GTP، مشابه انتقال پیام به G_s در سیستم β-آدرنرژیک، می‌باشد. سپس G_{olf} فعال‌شده سبب فعال‌سازی آدنیلات سیکلاز موجود در غشاء مژک می‌گردد که با سنتز cAMP از ATP، غلظت موضعی cAMP را افزایش می‌دهد. در نتیجه، کانال‌های Na^+ و Ca^{2+} دریچه‌دار وابسته به cAMP در غشاء مژک باز شده و با جریان رو به داخل Na^+ و Ca^{2+}، دپلاریزاسیون کوچکی بنام **پتانسیل گیرنده** ایجاد می‌گردد. درصورتیکه ملکول‌های کافی از ماده بودار به گیرنده‌ها برسد، این پتانسیل گیرنده به اندازه کافی بزرگ خواهد بود که سبب یک پتانسیل عمل گردد. این پیام به روش‌های مختلف به مغز انتقال داده شده و به‌عنوان یک بوی اختصاصی ثبت می‌گردد. تمامی این حوادث ظرف ۱۰۰ تا ۲۰۰ ms رخ می‌دهند.



شکل ۲۶-۱۳. مکانیسم انتقال حس شیرینی مواد.

بعضی از نرون‌های بویایی ممکن است از مکانیسم انتقال متفاوتی استفاده نمایند. این نرون‌ها دارای گیرنده‌هایی هستند که از طریق پروتئین‌های G، بجای آدنیلات سیکلاز، با فسفولیپاز C جفت می‌گردند. دریافت پیام در این سلول‌ها همراه با تولید IP_3 (شکل ۱۷-۱۳) می‌باشد که کانال‌های Ca^{2+} دریچه‌دار وابسته به IP_3 را در غشاء مژک باز می‌نمایند. سپس با ورود Ca^{2+}، غشاء مژک دپلاریزه و سبب ایجاد یک پتانسیل گیرنده شده و یا آنزیم‌های وابسته به Ca^{2+} را در مسیر بویایی تنظیم می‌نماید.

در هر نوع از نرون‌های بویایی، درحالتی که دیگر محرک وجود ندارد، ماشین انتقال‌دهنده به روش‌های مختلف خود را خاموش می‌نماید. یک cAMP فسفودی‌استراز، [cAMP] را به میزان قبل از تحریک پایین می‌آورد. G_{olf} سبب هیدرولیز GTP متصل به خود، به GDP شده و بدین‌ترتیب غیرفعال می‌گردد. فسفریلاسیون گیرنده توسط یک کیناز اختصاصی، طی مکانیسمی مشابه با مکانیسم غیرحساس‌شدن گیرنده β-آدرنرژیک و رودوپسین، مانع از واکنش متقابل با G_{olf} می‌گردد. و بالاخره، تعدادی از مواد بودار توسط اکسیدازها تخریب می‌شوند.

حس چشایی در مهره‌داران، انعکاسی از فعالیت نرون‌های چشایی[1] می‌باشد که در جوانه‌های چشایی موجود در سطح زبان دیده می‌شوند. در این نرون‌های حسی، گیرنده‌های سرپنتینی با پروتئین تریمری G بنام **گاست‌دوسین** (بسیار شبیه به ترانس‌دوسین سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی) جفت می‌گردند. ملکول‌های دارای مزه شیرین، آنهایی هستند که به گیرنده‌های موجود در جوانه‌های مزه «شیرین» متصل می‌شوند. با اتصال ملکول مزه‌دار، گاست‌دوسین با جایگزینی GTP بجای GDP، فعال شده و سپس تولید cAMP را توسط آدنیلات سیکلاز تحریک می‌نماید. افزایش حاصل در [cAMP] سبب تحریک PKA شده که با فسفریلاسیون کانال‌های K^+ در غشاء پلاسمایی، آنها را می‌بندد. با کاهش خروج K^+، سلول دپلاریزه می‌گردد (شکل ۲۶-۱۳). سایر جوانه‌های چشایی، با استفاده از ترکیبات مختلفی از پیامبرهای دوم و کانال‌های یونی در مکانیسم‌های انتقالی، سبب شناسایی مواد تلخ،

1- Gustatory

Book.Apfarsi.ir

ترش و شور می‌شوند.

سیستم‌های گیرنده سرپنتین جفت‌شونده با پروتئین G، دارای خصوصیات مشترک متعددی هستند

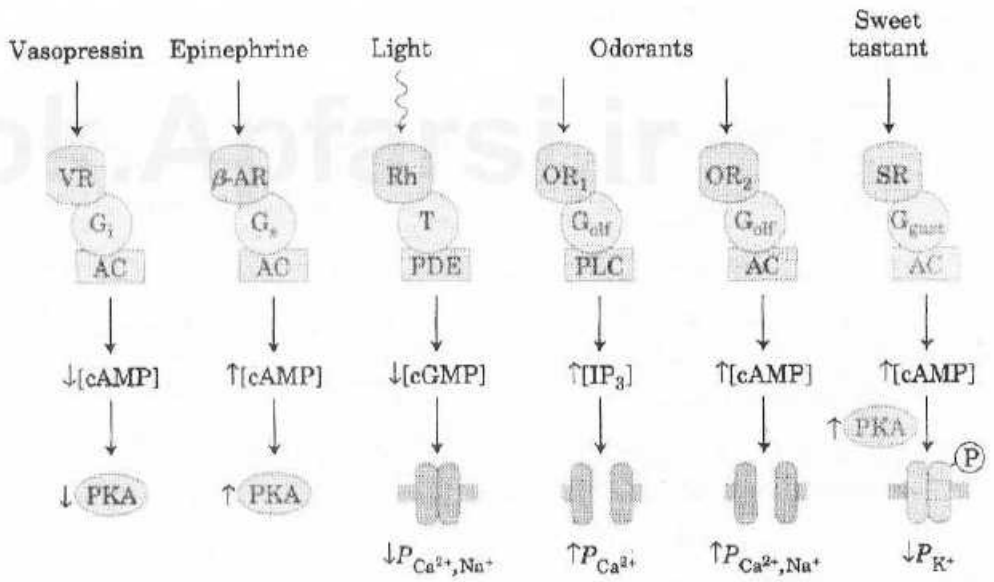
حال به چهار سیستمی (پیام‌رسانی هورمونی، بینایی، بویایی و چشایی) نگاه می‌کنیم که در آنها گیرنده‌های غشایی از طریق پروتئین‌های G با آنزیم‌های تولیدکننده پیامبر دوم جفت می‌گردند. واضح است که مکانیسم‌های پیام‌رسانی در ابتدای تکامل ایجاد شده‌اند؛ گیرنده‌های سرپنتینی، پروتئین‌های هتروتریمری G و آدنیلیل سیکلاز، همگی در مخمر آبجو وجود دارند. الگوهای کلی حفظ شده‌اند، درحالیکه ایجاد تنوع سبب شده تا موجودات جدیدتر بتوانند به دامنه وسیعی از محرک‌ها پاسخ دهند (جدول ۷-۱۳). از حدود 10^5 ژن موجود در ژنوم انسان، بالغ بر 10^3 ژن آن گیرنده‌های سرپنتینی را کد می‌نمایند که از میان آنها می‌توان به صدها گیرنده مربوط به محرک‌های بویایی و تعدادی از «گیرنده‌های یتیم[1]» که لیگاند طبیعی آنها نامشخص می‌باشند، اشاره نمود.

تمامی سیستم‌های انتقالی مورد مطالعه قرارگرفته که از طریق پروتئین‌های هترودیمری G عمل می‌نمایند، دارای چند خصوصیت مشترک می‌باشند (شکل ۲۷-۱۳). این گیرنده‌ها دارای یک قطعه ترانس‌ممبران متشکل از هفت مارپیچ α یک دومن (عموماً قوس بین مارپیچ‌های ترانس‌ممبران ۶ و ۷) که با یک پروتئین G واکنش می‌نماید و یک دومن سیتوپلاسمی انتهای کربوکسیل هستند که بر روی ریشه‌های متعدد Ser و Thr دچار فسفریلاسیون قابل‌برگشت می‌شوند. جایگاه اتصال به لیگاند (یا در مورد دریافت نور، گیرنده نوری) در عمق غشاء مدفون بوده، و اتصال لیگاند (یا نور) سبب تغییر کونفورماسیونی در گیرنده شده و این تغییر همراه با در معرض قرارگرفتن دومنی است که با یک پروتئین G واکنش متقابل می‌نماید. پروتئین‌های هتروتریمری G، آنزیم‌های افکتور (آدنیلیل سیکلاز، PDE یا فسفولیپاز C) را فعال یا مهار نموده که خود غلظت یک پیامبر

جدول ۷-۱۳. بعضی از پیام‌هائی که توسط گیرنده‌های سرپنتینی جفت‌شده با پروتئین G انتقال می‌یابند

استیل‌کولین (موسکارینی)
آدنوزین
آنژیوتانسین
ATP (خارج‌سلولی)
برادی‌کینین
کلسی‌تونین
کانابینوئیدها (Cannabinoids)
کاتکول‌آمین‌ها
کله‌سیستوکینین (Cholecystokinin)
فاکتور آزادکننده کورتیکوتروپین (CRF)
AMP حلقوی (*Dictyostelium discoideum*)
دوپامین
آندوتلین (Endothelin)
هورمون محرک فولیکولی (FSH)
γ-آمینوبوتیریک اسید (GABA)
گلوکاگون
گلوتامات (metabotropic)
هورمون آزادکننده هورمون رشد (GHRH)
هیستامین
لکوترین‌ها
نور
هورمون تولیدکننده جسم زرد (LH)
ملاتونین
مواد بودار
اوپیوئیدها
اکسی‌توسین
فاکتور فعال‌کننده پلاکتی
پروستاگلاندین‌ها
سکرتین
سروتونین
سوماتواستاتین
مواد مزه‌دار
تیروتروپین
هورمون آزادکننده تیروتروپین (TRH)
پپتید روده‌ای مؤثر بر عروق
واژوپرسین
فاکتورهای جفت‌کننده مخمر

1- Orphan



شکل ۲۷-۱۳. ویژگی‌های عمومی سیستم‌های پیام‌رسانی که توسط آنها هورمون‌ها، نور، بو و مزه را جستجو می‌نمایند. گیرنده‌های سرپنتینی، ویژگی پیام را فراهم نموده و واکنش متقابل آنها با پروتئین‌های G سبب تقویت پیام می‌گردد. پروتئین‌های G هترودیمر، آنزیم‌های افکتور آدنیلیل سیکلاز (AC)، فسفولیپاز C (PLC) و فسفودی‌استرازها (PDE) را فعال می‌نمایند؛ PDE سبب تجزیه cAMP و cGMP می‌شود. تغییر غلظت پیامبرهای دوم (cAMP، cGMP و IP_3) منجربه تغییراتی در فعالیت آنزیم‌ها از طریق فسفریلاسیون یا تغییراتی در نفوذپذیری (*P*) غشاءهای سطحی به Ca^{2+}، Na^+ و K^+ می‌گردند. دپلاریزاسیون یا هیپرپلاریزاسیون حاصل در سلول حسی (پیام)، از طریق یک سری نرون به مراکز حسی در مغز انتقال داده می‌شود. در بهترین موارد مطالعه‌شده، غیرحساس‌شدن شامل فسفریلاسیون گیرنده و اتصال یک پروتئین (ارستین) می‌باشد که واکنش‌های متقابل گیرنده-پروتئین G را مختل می‌نماید. (VR معرف گیرنده وازوپرسین بوده و مخفف‌های دیگر گیرنده و پروتئین G در شکلهای قبلی مورد استفاده قرار گرفته‌اند.)

دوم (cAMP، cGMP، IP_3 و Ca^{2+}) را تغییر می‌دهند. در سیستم‌های شناسایی هورمون، نتیجه نهایی یک پروتئین کیناز فعال‌شده می‌باشد که بعضی از فرایندهای سلولی را با فسفریلاسیون یک پروتئین حیاتی آن فرایند، تنظیم می‌کند. در نرون‌های حسی، نتیجه تغییری در پتانسیل غشاء بوده و پیام الکتریکی حاصل از طریق نرون دیگری در مسیر انتقالی، سلول حسی را به مغز مرتبط می‌سازد.

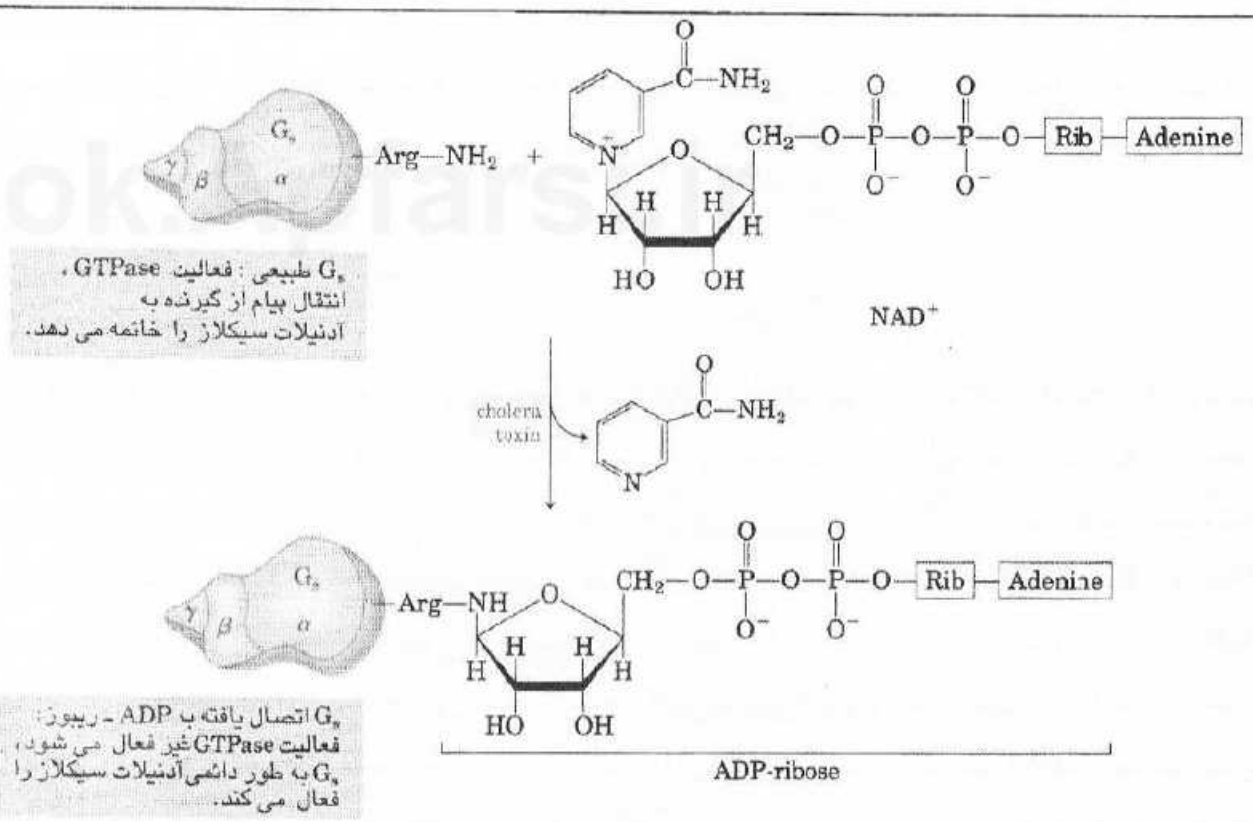
تمامی این سیستم‌ها خود را غیرفعال می‌سازند. GTP اتصال‌یافته توسط فعالیت GTPase ذاتی پروتئین‌های G به GDP تبدیل شده که حتی گاهی توسط پروتئین‌های فعال‌کننده GTPase (GAPs) یا پروتئین‌های[1] RGS تشدید می‌گردد. در بعضی موارد، آنزیم‌های افکتور که هدف تعدیل توسط پروتئین G می‌باشند، خود به‌عنوان GAPs عمل می‌نمایند.

قطع پیام‌رسانی پروتئین G سبب بیماری می‌گردد

مطالعات بیوشیمیایی انتقال پیام منجر به افزایش درک اثرات پاتولوژیک سموم باکتریهایی شده است که منجر به بیماریهای وبا و سیاه سرفه می‌گردند. هر دو این سموم آنزیم‌هایی هستند که با انتقالات طبیعی پیام در حیوان میزبان تداخل می‌نمایند. سم وبا که توسط *Vbrio cholerae* موجود در آب آشامیدنی آلوده ترشح می‌گردد، انتقال ADP-ریبوز از NAD^+ به زیرواحد α در G_s را کاتالیز نموده (شکل ۲۸-۱۳) و از طریق مهار فعالیت GTPase، سبب فعالیت دائمی G_s می‌گردد. در نتیجه، آدنیلیل سیکلاز موجود در سلول‌های اپی‌تلیال روده فعالیت دائمی پیدا نموده و

1- *R*rgulators of *G*-protein *s*ignaling

Book.Apfarsi.ir



شکل ۱۳-۲۸. سموم تولیدی توسط باکتریهاکه سبب وبا و سیاه سرفه می‌شوند. این سموم آنزیم‌هایی هستند که انتقال ADP-ریبوز از NAD^+ به یک ریشه Arg پروتئین‌های G، شامل G_s در حالت وبا (در اینجا نشان داده شده) و G_i در مورد سیاه سرفه، را کاتالیز می‌نمایند. بدین ترتیب، این پروتئین‌های G تغییر یافته و نمی‌توانند به محرک‌های هورمونی طبیعی پاسخ دهند. بیماریزایی هر دو این اختلالات حاصل نقص در تنظیم آدنیلیل‌سیکلاز و تولید بیش از حد cAMP می‌باشد.

به‌طور مزمن [cAMP] را بالا نگه داشته که خود سبب ترشح پیوسته Cl^- و HCO_3^- به داخل مجرای روده می‌گردد. دهیدراتاسیون و ازدست‌رفتن الکترولیتها مشکلات پاتولوژیک اصلی در وبا می‌باشند. **سم سیاه سرفه** که توسط *Bordetella pertussis* تولید می‌گردد، ADP-ریبوزیلاسیون G_i را کاتالیز نموده و با جلوگیری از جایگزینی GDP با GTP، مانع از غیرفعال‌شدن آدنیلیل سیکلاز توسط G_i می‌گردد. این نقص سبب ایجاد دو علامت در سیاه سرفه، شامل ازدیاد حساسیت به هیستامین و کاهش گلوکز خون، می‌شود.

فسفریلاسیون به‌عنوان یک مکانیسم تنظیمی


Edmond H. Fischer


Edwin G. Krebs

یک خصوصیت مشترک پیام‌رسانی‌ها، تنظیم نهایی فعالیت پروتئین کینازی است که یک پروتئین را فسفریله می‌نماید. مثال‌هایی از کینازهایی را دیدیم که توسط cGMP، cAMP، انسولین، Ca^{2+}/کالمودولین، Ca^{2+}/دی‌آسیل‌گلیسرول و Ras فعال‌شده، و همچنین به وسیله فسفریلاسیون توسط پروتئین کیناز دیگر، فعال می‌شوند. از زمان کشف توسط ادوین کربس و ادموند فیشر در سال ۱۹۵۹، تعداد پروتئین کینازهای شناخته‌شده افزایش قابل‌توجهی داشته‌اند. ژنوم مخمر حدود ۱۲۰ پروتئین کیناز مختلف را کد می‌نماید که حدود ۲٪ کل ژن‌های موجود در آن موجود زنده را شامل

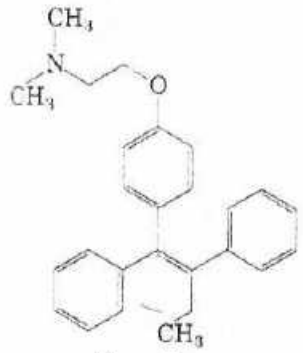
می‌گردد. سایر اوکاریوتها احتمالاً دارای حداقل این تعداد ژن مربوط به پروتئین کیناز، به همراه فعال‌کننده‌ها و پروتئین(های) هدف اختصاصی می‌باشند.

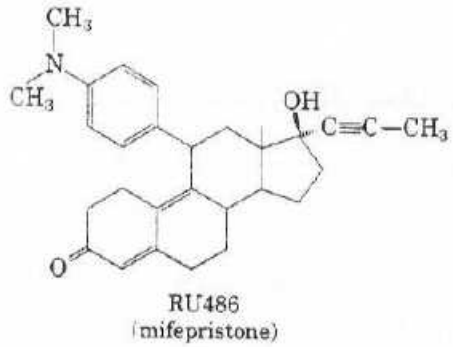
Book.Apfarsi.ir

موقعیت پروتئین کینازها و فسفاتازها بر روی ویژگی پروتئین‌های هدف اثر دارد

انواع متعدد پروتئین کینازها و فسفاتازها در نواحی تحت سلولی اختصاصی قرار داشته و توسط یک پروتئین هدفدار، در مجاورت سوبستراهای پروتئینی خود نگه داشته می‌شوند. برای مثال، آنزیم‌های کاتالیزکننده و تنظیم‌کننده سنتز و تجزیه گلیکوژن در عضله اسکلتی به‌طورمحکمی به گرانولهای گلیکوژن متصل می‌باشند. پروتئین فسفاتاز ۱ (PP-1) قسمتی از آن ماشین تنظیمی است؛ این آنزیم فسفاتها را از ریشه‌های P-Ser و P-Thr گلیکوژن سنتاز و فسفریلاز کیناز برداشت نموده و سبب معکوس‌شدن اثرات تنظیمی پروتئین کیناز وابسته به cAMP یا PKA، می‌گردند. PP-1 دارای دو زیرواحد می‌باشد: زیرواحد کاتالیتیک (C) و زیرواحد تنظیمی R_G که زیرواحد C را به گرانول گلیکوژن متصل نموده تا دسترسی ساده به سوبستراهای دفسفریله‌شونده توسط PP-1، را تضمین نماید.

همچنین زیرواحدهای هدفدارکننده، بعضی از پروتئین‌ها را در نزدیکی سوبستراهای آنها نگه می‌دارند. زیرواحد R در PKA (شکل ۱۴-۱۳)، به‌طور محکم به خانواده‌ای از پروتئین‌ها، بنام[1] AKAPs، اتصال می‌یابد که معتقدند، PKA را به یک ناحیه اختصاصی (میتوکندری، دستگاه گلژی، شبکه آندوپلاسمی، ماتریکس هسته یا گرانولهای ترشحی)، احتمالاً در نزدیکی سوبستراهای پروتئینی مهم PKA، متصل می‌نماید. این قرارگیری PKA در محل، همراه با تولید شیب‌های فضایی در [cAMP] به وسیله فعالیت‌های آدنیلات سیکلاز و فسفودی‌استراز موضعی، ممکن است مکانیسمی برای تنظیم مجزا سوبستراهای متعدد PKA در یک سلول فراهم آورد. ایزوزیمهای مختلف پروتئین کیناز C نیز با اتصال به پروتئین‌های لنگرانداز، بنام[2] RACKs یا PICKs[3]، موضعی می‌شوند.


Tamoxifen


RU486
(mifepristone)

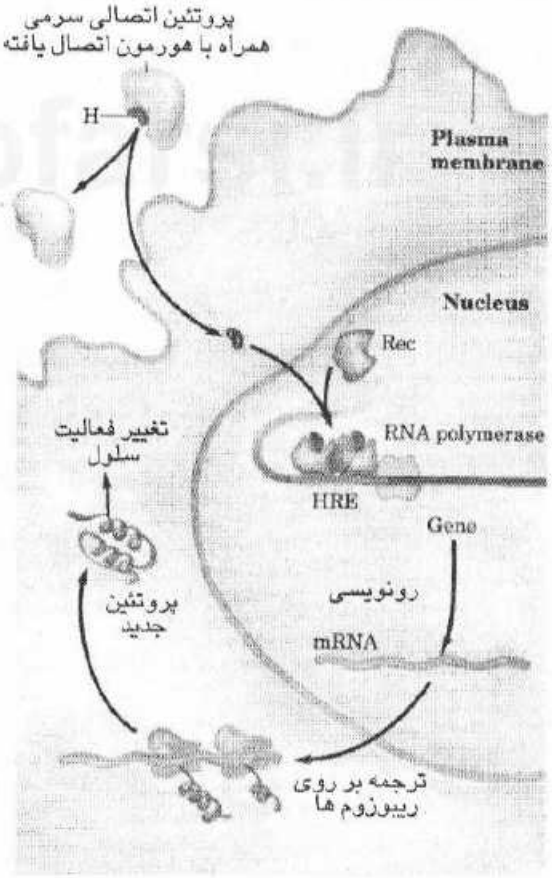
تنظیم رونویسی توسط هورمون‌های استروئیدی

گروه بزرگ هورمون‌های استروئیدی، اسید رتینوئیک (رتینوئیدی) و تیروئیدی، اعمال خود را با مکانیسمی اعمال می‌نمایند که اساساً متفاوت از هورمون‌های دیگر می‌باشد: این هورمون‌ها در هسته نقش خود را ایفاء نموده و سبب تغییر بیان ژن می‌گردند. بنابراین جزئیات عمل آنها را همراه با سایر مکانیسم‌های تنظیم بیان ژن در فصل ۲۸ مورد بررسی قرار می‌دهیم. در اینجا تنها یک مرور کلی می‌کنیم.

هورمون‌های استروئیدی (برای مثال، استروژن، پروژسترون و کورتیزول) بسیار آبگریز هستند؛ از این‌رو، بسادگی

1- *A kinase anchoring proteins*
2- *Receptors for activated C kinase*
3- *Proteins that interact with C kinase*

Book.Apfarsi.ir



۱- هورمونی (H) که با اتصال به پروتئین‌های اتصالی سرم به بافت هدف حمل می‌شود، از عرض غشاء پلاسمایی عبور نموده و به پروتئین گیرنده اختصاصی (Rec) خود در هسته اتصال می‌یابد.

۲- اتصال هورمون، کونفورماسیون Rec را تغییر می‌دهد؛ Rec با سایر کمپلکس‌های گیرنده - هورمون، ایجاد هم یا هترودیمر نموده و به نواحی تنظیمی اختصاصی بنام عناصر پاسخ هورمونی (HREs)در DNA مجاور ژن‌های اختصاصی، اتصال می‌یابد.

۳- اتصال منجربه تنظیم بیان ژن (ها) بصورت افزایش یا کاهش تشکیل mRNA می‌گردد.

۴- مقادیر تغییریافته محصول ژن تنظیم شده توسط هورمون، پاسخ سلولی به هورمون را سبب می‌شود.

شکل ۲۹-۱۳. مکانیسم عمومی تنظیم بیان ژن توسط هورمون‌های استروئیدی و تیروئیدی، رتینوئیدها و ویتامین D. جزئیات رونویسی و سنتز پروتئین در فصول ۲۶ و ۲۷ مورد بحث قرار می‌گیرند.

در خون حل نشده و با اتصال به پروتئین‌های حامل اختصاصی از نقطه رهاسازی تا بافت‌های هدف انتقال می‌یابند. در سلول‌های هدف، این هورمون‌ها به طریق انتشار ساده از غشاءهای پلاسمایی عبور نموده و به پروتئین‌های گیرنده اختصاصی در هسته اتصال می‌یابند (شکل ۲۹-۱۳). با اتصال هورمون به گیرنده، تغییرات کونفورماسیونی در پروتئین‌های گیرنده آغاز می‌گردد که آنها را قادر می‌سازد تا با توالی‌های تنظیمی اختصاصی در DNA، بنام **عناصر پاسخ هورمونی**[1] **(HREs)** واکنش نموده و بدین ترتیب سبب تغییر بیان ژن گردند (شکل ۳۳-۲۸ را ببینید). کمپلکس گیرنده-هورمون می‌تواند سبب تسریع یا ساپرس بیان ژن‌های اختصاصی مجاور HREs گردد. برای ایجاد اثر کامل این تنظیم‌کننده‌ها، نیاز به ساعت‌ها یا روزها زمان می‌باشد که زمان لازم برای آشکارشدن تغییرات سنتز RNA و سنتز پروتئین در متابولیسم است.

ویژگی واکنش متقابل استروئید-گیرنده را می‌توان در استفاده از **تاموکسیفن** در درمان سرطان پستان مشاهده نمود. در بعضی از انواع سرطان‌های پستان، تقسیم سلول‌های سرطانی بستگی به وجود مداوم هورمون استروژن دارد. تاموکسیفن با استروژن جهت اتصال به گیرنده استروژن رقابت نموده ولی کمپلکس تاموکسیفن-گیرنده اثری بر روی بیان ژن ندارد؛ تاموکسیفن آنتاگونیست استروژن می‌باشد. در نتیجه، تاموکسیفنی که بعد از جراحی و یا در هنگام شیمی‌درمانی سرطان پستان وابسته به هورمون، تجویز می‌گردد، رشد سلول‌های سرطانی باقیمانده را آهسته یا متوقف نموده و طول عمر بیمار را افزایش می‌دهد. آنالوگ استروئیدی دیگر، داروی **RU486** می‌باشد که برای خاتمه حاملگی‌ها در مراحل ابتدایی بکار می‌رود. RU486 به‌عنوان آنتاگونیست هورمون پروسترون، به گیرنده

1- Hormone response elements

Book Anfarsi.ir

پروژسترون اتصال یافته و اعمال هورمونی مورد نیاز برای لانه‌گزینی تخمک بارورشده در رحم را مهار می‌نماید.

Book.Apfarsi.ir

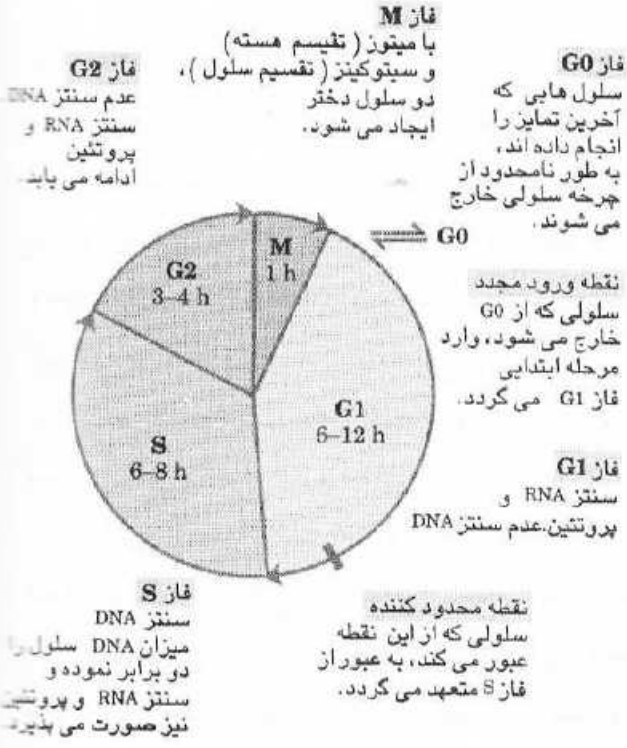
تنظیم چرخه سلولی توسط پروتئین کینازها

یکی از برجسته‌ترین اثرات فسفریلاسیون پروتئین‌ها، در تنظیم چرخه سلولی اوکاریوتها است. طی رشد جنینی و تکامل در مراحل بعدی، تقسیم سلولی در هر بافتی مشاهده می‌گردد. در موجودات بالغ، اکثر بافت‌ها ثابت می‌باشند. وقتی که مکانیسم‌های تنظیمی محدودکننده تقسیم سلولی دچار نقص می‌شوند، سلول‌ها وارد تقسیم تنظیم‌نشده می‌گردند که نتیجه آن مصیبت‌وار (همراه با ایجاد سرطان) خواهد بود. تقسیم سلولی مناسب نیاز به توالی دقیقاً منظمی از حوادث بیوشیمیایی دارد که وجود تمامی ملکول‌های مورد نیاز برای ادامه حیات هر سلول دختر را تضمین می‌نماید. بررسی‌های انجام‌شده بر روی کنترل تقسیم سلولی در سلول‌های مختلف اوکاریوتی، مکانیسم‌های تنظیمی همگانی را آشکار نموده‌اند. پروتئین کیناز و فسفریلاسیون پروتئینی نقش مرکزی را در مکانیسم تعیین زمان ورود سلول‌ها به مرحله تقسیم سلولی داشته و عبور منظم از این حوادث را تضمین می‌نماید.

چرخه سلولی دارای چهار مرحله می‌باشد

تقسیم سلولی در اوکاریوت‌ها در چهار مرحله رخ می‌دهد (شکل ۳۰-۱۳). در فاز سنتز (S)، DNA همانندسازی می‌شود تا نسخه‌های مورد نیاز هر دو سلول دختر را فراهم آورد. در فاز G2 (G فاصله بین تقسیمها را نشان می‌دهد)، پروتئین‌های جدید ساخته شده و سلول از نظر اندازه تقریباً دو برابر می‌گردد. در فاز M (میتوز)، غشاء هسته سلول مادر از بین رفته و کروموزومهای مشابه به دو قطب مخالف سلول کشیده شده و هر سری از کروموزومهای دختر توسط یک پوشش هسته‌ای تازه تشکیل‌شده احاطه گردیده و طی سیتوکینز، با نصف‌شدن سلول، دو سلول دختر ایجاد می‌گردد. در بافت جنینی یا دارای تکثیر سریع، هر سلول دختر تنها بعد از یک دوره انتظار (G1)، مجدداً تقسیم می‌شود. در سلول‌های حیوانی کشت‌شده، کل این فرایند در حدود ۲۴ ساعت رخ می‌دهد.

بعد از عبور از میتوز و ورود به G1، سلول ممکن است وارد تقسیم بعدی شده و یا وارد یک فاز ساکن (G0) گردد که ممکن است ساعتها، روزها یا تمام عمر سلول بطول بیانجامد. سلول‌های کاملاً تمایزیافته در فاز G0 قرار می‌گیرند. وقتی یک سلول در فاز G0 مجدداً شروع به تقسیم می‌کند، دوباره از طریق فاز G1 وارد چرخه تقسیم می‌گردد.

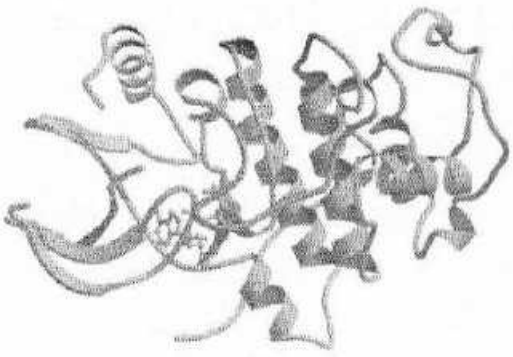


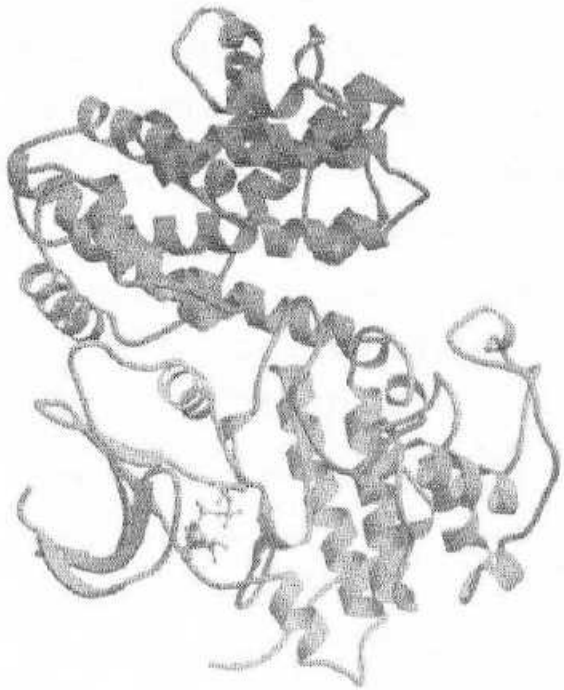
شکل ۳۰-۱۳. چرخه سلولی اوکاریوتی. زمان چهار مرحله متفاوت بوده و زمانهای نشان‌داده‌شده شاخص می‌باشند.

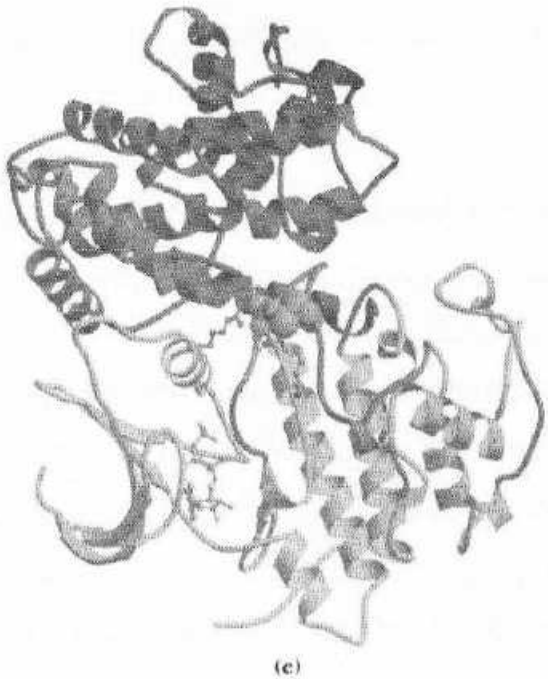
Book.Apfarsi.ir

مقادیر پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین در نوسان است

زمان چرخه سلولی تحت کنترل خانواده‌ای از پروتئین کینازهایی است که فعالیت آنها در پاسخ به پیام‌های سلولی تغییر می‌یابد با فسفریلاسیون پروتئین‌های اختصاصی در فواصل زمانی دقیقاً مشخص، این پروتئین کینازها سبب هماهنگی فعالیت‌های متابولیکی سلول در انجام تقسیم سلولی منظم می‌گردند. این کینازها هترودیمرهایی با یک زیرواحد تنظیمی، بنام **سیکلین**، و یک زیر واحد کاتالیتیک، بنام **پروتئین کیناز وابسته به سیکلین (CDK)**، می‌باشند. در غیاب سیکلین، زیرواحد کاتالیتیک غیرفعال است. با اتصال سیکلین، جایگاه کاتالیتیک باز شده و با دردسترس قرارگرفتن یک ریشه ضروری برای کاتالیز، فعالیت کاتالیتیک ۱۰،۰۰۰ برابرافزایش می‌یابد (شکل ۳۱-۱۳). سلول‌های حیوانی دارای حداقل ده سیکلین مختلف (با علائم A، B و غیره) و حداقل هشت کیناز وابسته به سیکلین (CDK1 تا CDK8) می‌باشند که با ترکیبات مختلف در نقاط اختصاصی چرخه سلولی عمل می‌نمایند.

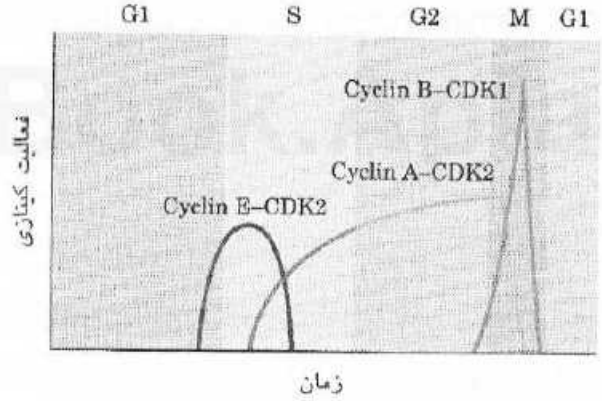






شکل ۳۱-۱۳ [شکل ۴۰ ضمیمه رنگی]. فعال شدن پروتئین‌کینازهای وابسته به سیکلین (CDKs) توسط سیکلین و فسفریلاسیون. CDKها، اعضاء خانواده‌ای از آنزیم‌های مرتبط به هم می‌باشند که تنها در هنگام اتصال به سیکلین‌ها (خانواده دیگری از پروتئین‌ها)، فعل می‌گردند. با استفاده از ساختمان کریستالی CDK2 در حالات همراه و بدون سیکلین، اساس این فعال‌سازی آشکار می‌شود. بدون سیکلین **(a)**، CDK2 طوری خم می‌شود که یک قطعه آن، یعنی قوس T (قرمز)، جایگاه اتصال سوبستراهای پروتئینی را مسدود نموده و بنابراین مانع فعالیت پروتئین کینازی می‌گردد. جایگاه اتصالی ATP (آبی) نیز در نزدیکی قوس T قرار دارد. اتصال سیکلین (b) سبب تغییرات کونفورماسیونی می‌گردد که قوس T را از جایگاه فعال دور نموده و موقعیت یک مارپیچ موجود در انتهای آمینو (سبز) را تغییر داده که همراه با انتقال یکی از ریشه‌های مهم (Glu^{51}) به داخل جایگاه فعال، جهت کاتالیز می‌باشد. **(c)** فسفریلاسیون یک ریشه Thr (ساختمان فضاپرکن قهوه‌ای) در قوس T، ایجاد یک ریشه با بار منفی می‌نماید که بواسطه واکنش متقابل با سه ریشه Arg (ساختمانهای گوی و میله قرمز) تثبیت شده و بدین‌ترتیب CDK را بحالت کونفورماسیون فعال حفظ می‌نماید.

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۲-۱۲. تغییر فعالیت ملکول‌های CDK اختصاصی در طی چرخه سلولی در حیوانات. فعالیت سیکلین E-CDK2 در نزدیکی مرز فاز G1-فاز S به حداکثر می‌رسد، در این زمان آنزیم‌های فعال، سنتز آنزیم‌های مورد نیاز برای سنتز DNA را آغاز می‌نمایند (شکل ۳۵-۱۳ را ببینید). سیکلین A-CDK2 در طی فاز S و فاز G2 افزایش یافته و سپس در فاز M که سیکلین B-CDK1 افزایش می‌یابد، سریعاً کاهش نشان می‌دهد.

گیاهان نیز دارای خانواده‌ای از CDK می‌باشند که تقسیم سلولی آنها را تنظیم می‌نمایند.

در جمعیتی از سلول‌های حیوانی که متحمل تقسیم همزمان می‌شوند، فعالیت تعدادی از CDKها نوسانات مشخصی را نشان می‌دهد (شکل ۳۲-۱۳). این نوسان ناشی از چهار مکانیسم تنظیم فعالیت CDK می‌باشد: فسفریلاسیون یا دفسفریلاسیون CDK، تخریب کنترل‌شده زیرواحد سیکلین، سنتز دوره‌ای CDKها و سیکلین‌ها، و عمل پروتئین‌های مهاری اختصاصی CDK.

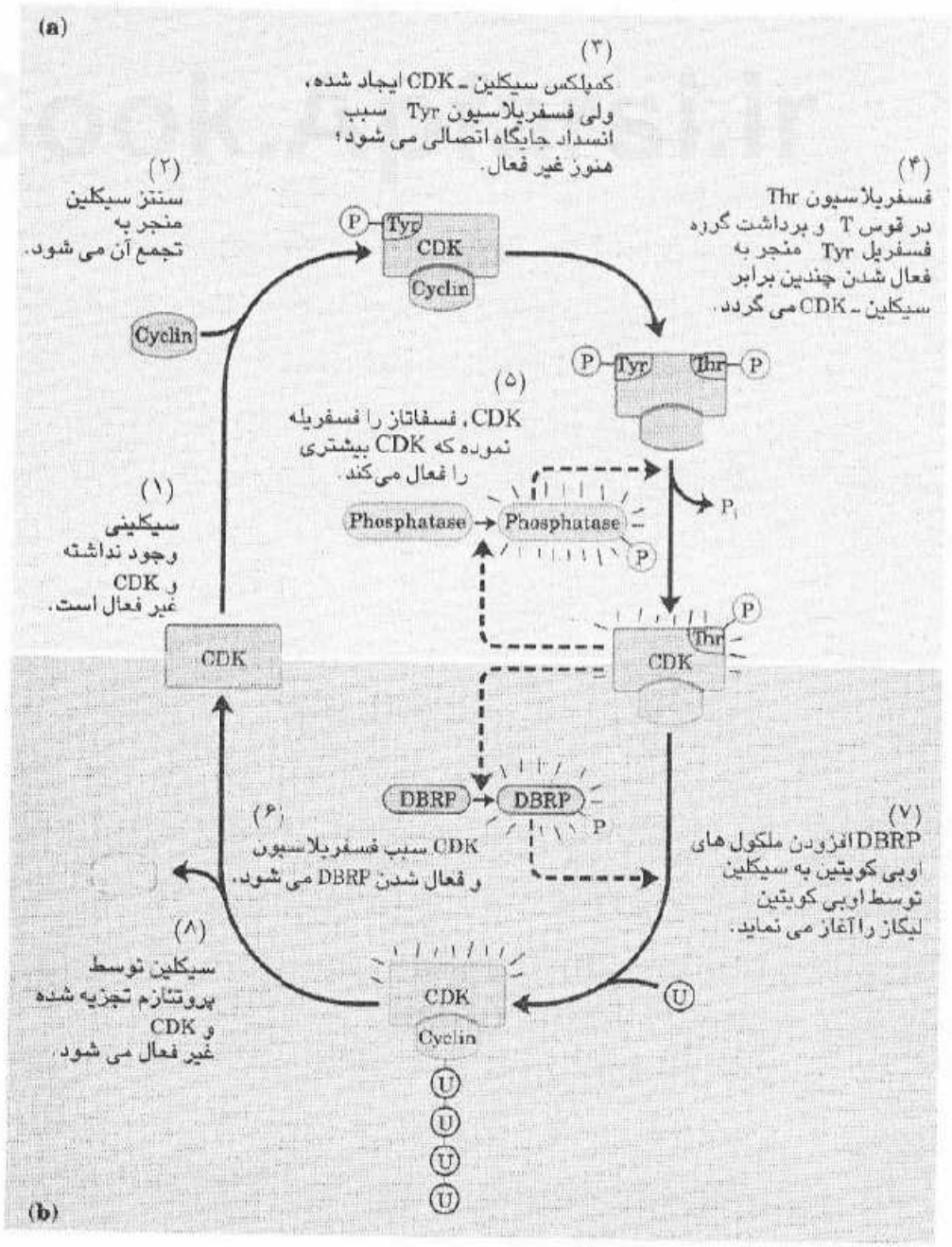
تنظیم ملکول‌های CDK توسط فسفریلاسیون: فعالیت یک CDK به میزان زیادی تحت تأثیر فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون دو ریشه مهم در ساختمان این پروتئین می‌باشد (شکل ۳۳a-۱۳). فسفریلاسیون Tyr^{15} در نزدیکی انتهای آمینو، CDK2 را غیرفعال می‌نماید؛ این ریشه P-Tyr در جایگاه اتصالی ATP این کیناز قرار داشته و بار منفی گروه فسفات آن مانع از ورود ATP می‌گردد. یک فسفاتاز اختصاصی این ریشه P-Tyr را دفسفریله نموده و امکان ورود ATP را فراهم می‌سازد. فسفریلاسیون Thr^{160} در «قوس T» آنزیم CDK، توسط کیناز فعال‌کننده CDK، قوس T را از شکاف اتصال سوبسترا خارج نموده و اتصال سوبسترا و انجام فعالیت کاتالیتیک را ممکن می‌سازد.

یکی از مواردی که این مکانیسم کنترلی را فعال می‌کند، وجود یک شکست تک رشته‌ای در DNA می‌باشد که چرخه سلولی را در فاز G2 متوقف می‌نماید. یک پروتئین کیناز اختصاصی (که در مخمر Rad3 نامیده می‌شود)، توسط شکستهای تک رشته‌ای فعال‌شده و آبشاری را آغاز می‌نماید که منجر به فعال‌شدن فسفاتاز دفسفریله‌کننده Tyr^{15} در CDK می‌گردد. CDK غیرفعال باقی‌مانده و سلول در G2 متوقف می‌شود. تا زمانیکه DNA ترمیم و اثرات آبشار معکوس نشده است، سلول تقسیم نخواهد شد.

تخریب کنترل‌شده سیکلین: در سراسر دوره چرخه سلولی، فعالیت CDK توسط تجزیه پروتئولیتیک شدیداً اختصاصی و دقیقاً زمان‌بندی‌شده سیکلین‌های میتوتیک، تنظیم می‌گردد. عبور از میتوز نیاز به ابتدا فعال‌شدن و سپس تخریب سیکلین‌های A و B دارد که زیرواحد کاتالیتیک CDK فاز M را فعال می‌نمایند. در توالی نزدیک به انتهای آمینو این سیکلین‌ها، «جعبه تخریب[1]» با توالی Arg-Thr-Ala-Leu-Gly-Asp-Ile-Gly-Asn قرار دارد که آنها را جهت تخریب مشخص می‌نمایند. (استفاده از اصطلاح «جعبه» از کاربرد معمول آن در نمایش توالی کوتاهی از نوکلئوتیدها در یک اسید نوکلئیک یا اسیدهای آمینه در یک پروتئین منشاء می‌گیرد که فعالیت خاصی داشته و در داخل یک جعبه قرار می‌گیرد. ولی این اصطلاح هیچ ساختمان سومی را نشان نمی‌دهد.) پروتئینی که این توالی‌ها را شناسایی می‌نمایند، با نام DBRP (پروتئین شناسایی‌کننده جعبه تخریب[2])، با در کنار یکدیگر قراردادن سیکلین و پروتئین دیگری بنام **اوبی‌کویتین**، فرایند تخریب سیکلین را آغاز می‌نماید. سیکلین و اوبی‌کویتین

1- Destruction box 2- *Destruction box recognizng protein*

Book.Apfarsi.ir

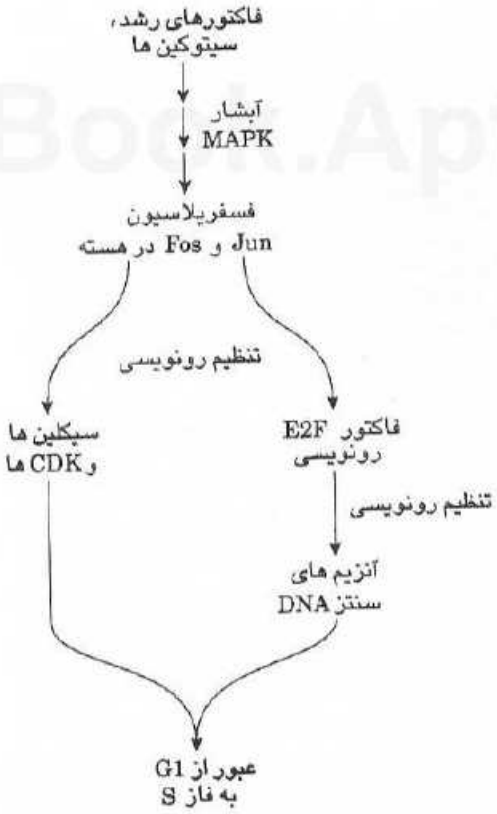


شکل ۱۳-۳۳. تنظیم فسفریلاسیون CDK توسط فسفریلاسیون و پروتئولیز. (a) پروتئین کیناز وابسته به سیکلینی که در زمان میتوز فعال می‌گردد (CDK فاز M)، دارای یک «قوس T» می‌باشد که در داخل جایگاه اتصالی سوبسترا خم می‌گردد. وقتی یک ریشه Thr در قوس T فسفریله می‌گردد، این قوس از جایگاه اتصالی سوبسترا خارج شده و چندین برابر CDK را فعال می‌نماید. **(b)** کمپلکس فعال سیکلین و CDK، با فسفریلاسیون DBRP (پروتئین شناسایی‌کننده جعبه تخریب)، غیرفعال‌شدن خود را آغاز می‌کند. سپس DBRP و اوبی‌کویتین لیگاز ملکول‌های متعدد اوبی‌کویتین (U) را به سیکلین متصل نموده و آن را برای تخریب توسط پروتئازوم‌ها، کمپلکسهای آنزیمی پروتئولیتیک، نشاندار می‌نماید.

فعال‌شده توسط آنزیم اوبی‌کویتین لیگاز به‌طورکووالان به یکدیگر اتصال می‌یابند (شکل ۱۳-۳۳b). سپس ملکول‌های متعدد بیشتری اضافه شده و پیامی برای یک کمپلکس آنزیمی پروتئولیتیک، یا **پروتئازوم**، فراهم می‌آورد که سیکلین را تخریب می‌نماید.

زمان تخریب سیکلین به چه طریقی تنظیم می‌گردد؟ یک قوس پس‌نوردی وجود دارد که در آن افزایش فعالیت CDK سبب فعال‌شدن پروتئولیز سیکلین می‌شود. همانطور که در شکل ۱۳-۳۳ نشان داده شده است، سیکلین تازه سنتزشده با اتصال به CDK، آن را فعال نموده که خود DBRP را فسفریله و فعال می‌نماید. سپس DBRP فعال سبب پروتئولیز سیکلین می‌گردد. کاهش غلظت سیکلین منجر به سقوط فعالیت سیکلین شده و فعالیت DBRP نیز با دفسفریلاسیون و غیرفعال‌شدن آهسته و ثابت توسط یک DBRP فسفاتاز، کاهش می‌یابد. میزان سیکلین نهایتاً با سنتز ملکول‌های جدید سیکلین حفظ می‌گردد.

نقش اوبی‌کویتین و پروتئازوم‌ها محدود به تنظیم سیکلین نمی‌باشد؛ همانطور که بعداً در فصل ۲۷ مشاهده خواهد شد، هر دو آنها در نوسازی پروتئین‌های سلولی نیز نقش دارند که خود برای خانه‌داری سلولی اساسی است.



شکل ۳۴-۱۳. تنظیم تقسیم سلولی توسط فاکتورهای رشد. اجزاء مسیر بین فاکتورهای رشد و تقسیم سلولی عبارتند از آبشار آنزیمی فعال‌کننده MAPK (پروتئین کیناز فعال‌شونده توسط میتوژن شکل ۷-۱۳ را ببینید)؛ فسفریلاسیون فاکتورهای رونویسی Jun و Fos موجود در هسته؛ و فعالیت رونویسی فاکتور رونویسی E2F که سنتز آنزیم‌های متعدد مورد نیاز برای سنتز DNA را تسریع می‌نماید.

سنتز تنظیم‌شده ملکول‌های CDK و سیکلین‌ها: مکانیسم سوم تغییر فعالیت CDK، تنظیم سرعت سنتز سیکلین یا CDK، و یا هر دو می‌باشد. برای مثال سیکلین D، سیکلین E، CDK2 و CDK4 تنها زمانی سنتز می‌گردند که یک فاکتور رونویسی اختصاصی، بنام E2F، در هسته وجود داشته باشد تا رونویسی از ژن‌های آنها را فعال نماید. سنتز E2F به نوبه خود تحت تنظیم پیام‌های خارج‌سلولی، نظیر **فاکتورهای رشد** و **سیتوکینها** (القاءکننده‌های تقسیم سلولی)، است که ترکیبات مورد نیاز برای تقسیم سلول‌های پستانداران در کشت سلولی می‌باشند. این فاکتورهای رشد، سنتز فاکتورهای رونویسی هسته‌ای اختصاصی لازم برای تولید آنزیم‌های سنتز DNA را القاء می‌نمایند. فاکتورهای رشد سبب آغاز فسفریلاسیون پروتئین‌های هسته‌ای Jun و Fos می‌گردند که فاکتورهای رونویسی تسریع‌کننده سنتز تعدادی از محصولات ژنی، شامل سیکلین‌ها، CDKها و E2F هستند. E2F به نوبه خود تولید چندین آنزیم ضروری برای سنتز داکسی‌نوکلئوتیدها و DNA را کنترل نموده و امکان ورود سلول‌ها به فاز S را فراهم می‌سازند (شکل ۳۴-۱۳).

مهار ملکول‌های CDK: بالاخره، مهارکننده‌های پروتئینی اختصاصی به CDKهای مختلف اتصال یافته و آنها را غیرفعال می‌نمایند. یکی از این پروتئین‌ها، p21 می‌باشد که در قسمت پایین مورد بحث قرار خواهد گرفت.

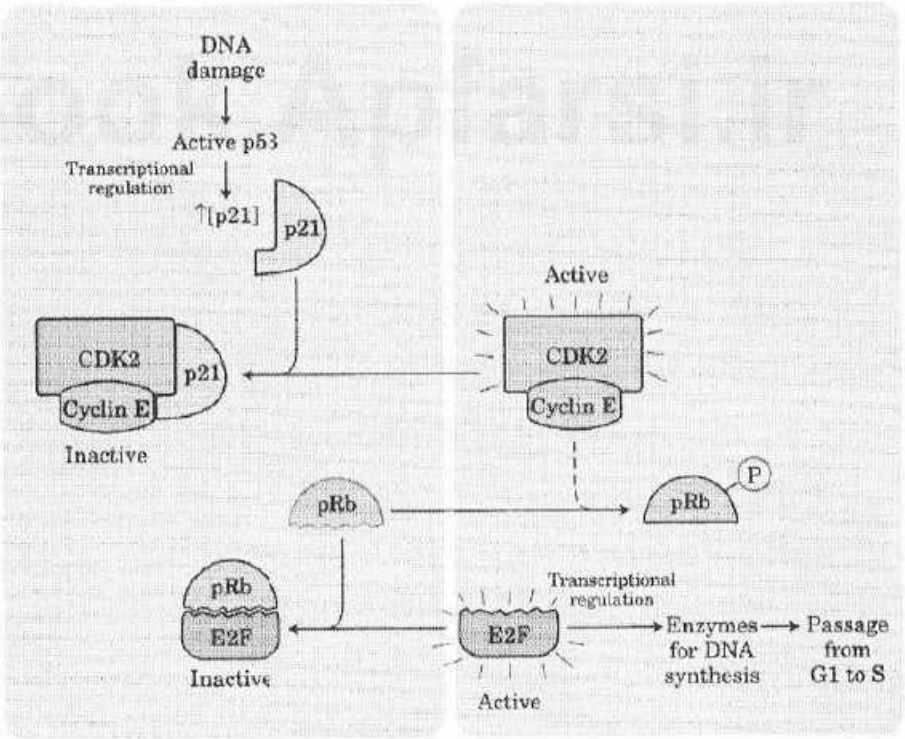
این چهار مکانیسم کنترلی سبب تعدیل فعالیت CDKهای مختلف شده و به‌نوبه خود مشخص می‌نمایند که آیا سلول تقسیم شده، تمایز یابد، برای همیشه ساکن باقی بماند و یا بعد از یک دوره سکون چرخه جدیدی از تقسیم سلولی را آغاز نماید. جزئیات تنظیم چرخه سلولی، نظیر تعداد سیکلین‌ها و کیناز‌های مختلف و ترکیباتی از آنها که با هم عمل می‌نمایند، از یک موجود به موجود دیگر متفاوت بوده ولی مکانیسم پایه آن در طی تکامل تدریجی سلول‌های اوکاریوتی حفظ شده است.

ملکول‌های CDK تقسیم سلولی را با فسفریلاسیون پروتئین‌های مهم تنظیم می‌کنند

نحوه کنترل فعالیت CDK را دیدیم، اما فعالیت CDK به چه طریقی چرخه سلولی را کنترل می‌نماید؟ فهرست پروتئین‌های هدف شناخته‌شده‌ای که CDKها بر روی آنها عمل می‌نماید، رو به افزایش بوده و موارد زیادی از آنها هنوز ناشناخته می‌باشند. ولی با بررسی اثرات آنزیم‌های CDK بر روی ساختمان لامینین و میوزین و همچنین فعالیت پروتئین رتینوبلاستوما، الگوی کلی موجود در پشت تنظیم CDK را می‌توان مشاهده نمود.

قسمتی از ساختمان پوشش هسته توسط شبکه‌های شدیداً سازماندهی‌شده فیلمان‌های حدواسط، مرکب از

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۵-۱۳. تنظیم عبور از G1 به S توسط فسفریلاسیون pRb. وقتی پروتئین رتینوبلاستوما، pRb، فسفریله می‌گردد، نمی‌تواند به E2F (یک فاکتور رونویسی تسریع‌کننده سنتز آنزیم‌های مورد نیاز برای سنتز DNA) متصل شده و آن را فعال نماید. در صورتی که پروتئین تنظیمی p53 توسط ATM و ATR (پروتئین کینازهایی که DNA آسیب‌دیده را جستجو می‌نمایند) فعال گردد، سنتز p21 را تحریک می‌نماید. p21 می‌تواند با اتصال به سیکلین E-CDK2 و مهار آن، مانع فسفریلاسیون pRb گردد. pRb غیرفسفریله به E2F اتصال یافته و با غیرفعال نمودن آن، مانع عبور از G1 به S، تا زمان ترمیم DNA، می‌گردد.

تقسیم سلولی به طور طبیعی انجام می شود

مسدود شدن تقسیم سلولی توسط p53

پروتئین لامینین، حفظ می‌گردد. شکسته‌شدن غشاء هسته قبل از جداشدن کروماتیدهای خواهر در میتوز، تا حدودی به علت فسفریلاسیون لامینین توسط یک CDK می‌باشد که فیلمان‌های لامینین را دپلیمریزه می‌کند.

هدف دوم کیناز، ماشین انقباضی اکتینومیوزین وابسته به ATP می‌باشد که طی سیتوکینز، سلول در حال تقسیم را به دو قسمت برابر جدا می‌نماید. بعد از تقسیم سلولی، CDK یک زیرواحد تنظیمی کوچک میوزین را فسفریله نموده و سبب جدایی میوزین از فیلمان‌های اکتین و بنابراین غیرفعال‌شدن این ماشین انقباضی می‌گردد. در اثر دفسفریلاسیون بعدی، این دستگاه انقباضی برای دور بعدی سیتوکینز مجدداً همایش می‌یابد.

سوبسترای سوم و بسیار مهم CDK، **پروتئین رتینوبلاستوما** یا **pRb** می‌باشد. در صورت وجود آسیب DNA، این پروتئین طی مکانیسمی سبب توقف تقسیم سلولی در فاز G1 می‌گردد (شکل ۳۵-۱۳). pRb که براساس یافت‌شدن آن برای اولین بار در سلول توموری شبکیه نامگذاری شده است، در تمامی انواع سلول‌ها فعالیت داشته و تقسیم سلولی را در پاسخ به محرک‌های مختلف تنظیم می‌نماید. pRb فسفریله‌نشده به فاکتور رونویسی E2F اتصال یافته و با این اتصال، دیگر E2F نمی‌تواند رونویسی گروهی از ژن‌های مورد نیاز برای سنتز DNA (ژن‌های مربوط به DNA پلیمراز α، ریبونوکلئوتید ردوکتاز و سایر پروتئین‌ها) را تسریع نماید. در این حالت، چرخه سلولی نمی‌تواند از فاز G1 وارد فاز S گردد که سلول را متعهد به میتوز و تقسیم سلولی می‌کند. در اثر فسفریلاسیون pRb توسط E-CDK2 و در پاسخ به پیامی مبنی بر انجام تقسیم سلولی، مکانیسم مهاری E2F برداشت می‌گردد.

وقتی آسیب DNA، مثل شکست یک زنجیر، توسط پروتئین کینازهای ATM و ATR کشف می‌گردد، این آنزیم‌ها p53 را فعال نموده تا به‌عنوان یک فاکتور رونویسی، سنتز پروتئین p21 را تحریک نماید. این پروتئین نیز به نوبه خود فعالیت پروتئین کینازی E-CDK2 را مهار می‌کند. در حضور p21، pRb غیرفسفریله و متصل به E2F باقی مانده و با مهار فعالیت این فاکتور رونویسی، چرخه سلولی را در G1 متوقف می‌نماید. این امر زمان مورد نیاز برای ترمیم DNA، قبل از ورود به فاز S، را فراهم نموده و به موجب آن مانع از انتقال مصیبت‌وار یک ژنوم ناقص به یکی

Book Anfarsi.ir

یا هر دو سلول دختر می‌گردد.

اونکوژن‌ها، ژن‌های ساپرس‌کننده تومور و مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده

تومورها و سرطان‌ها نتیجه تقسیم سلولی کنترل‌نشده می‌باشند. به‌طورطبیعی، تقسیم سلولی تحت تنظیم خانواده‌ای از **فاکتورهای رشد** خارج‌سلولی است؛ این عوامل پروتئین‌هایی هستند که منجر به تقسیم و در بعضی موارد تمایز سلول در حال استراحت می‌گردند. بعضی از فاکتورهای رشد تنها سبب تحریک تقسیم سلولی در سلول‌هایی می‌گردند که گیرنده‌های مورد نیاز را داشته باشند ولی بقیه دارای اثر عمومی‌تری هستند. نقص در سنتز، تنظیم یا شناسایی فاکتورهای رشد می‌تواند منجر به سرطان گردد.

اونکوژن‌ها اشکال جهش‌یافته ژن‌های مربوط به پروتئین‌هایی هستند که چرخه سلولی را تنظیم می‌کنند

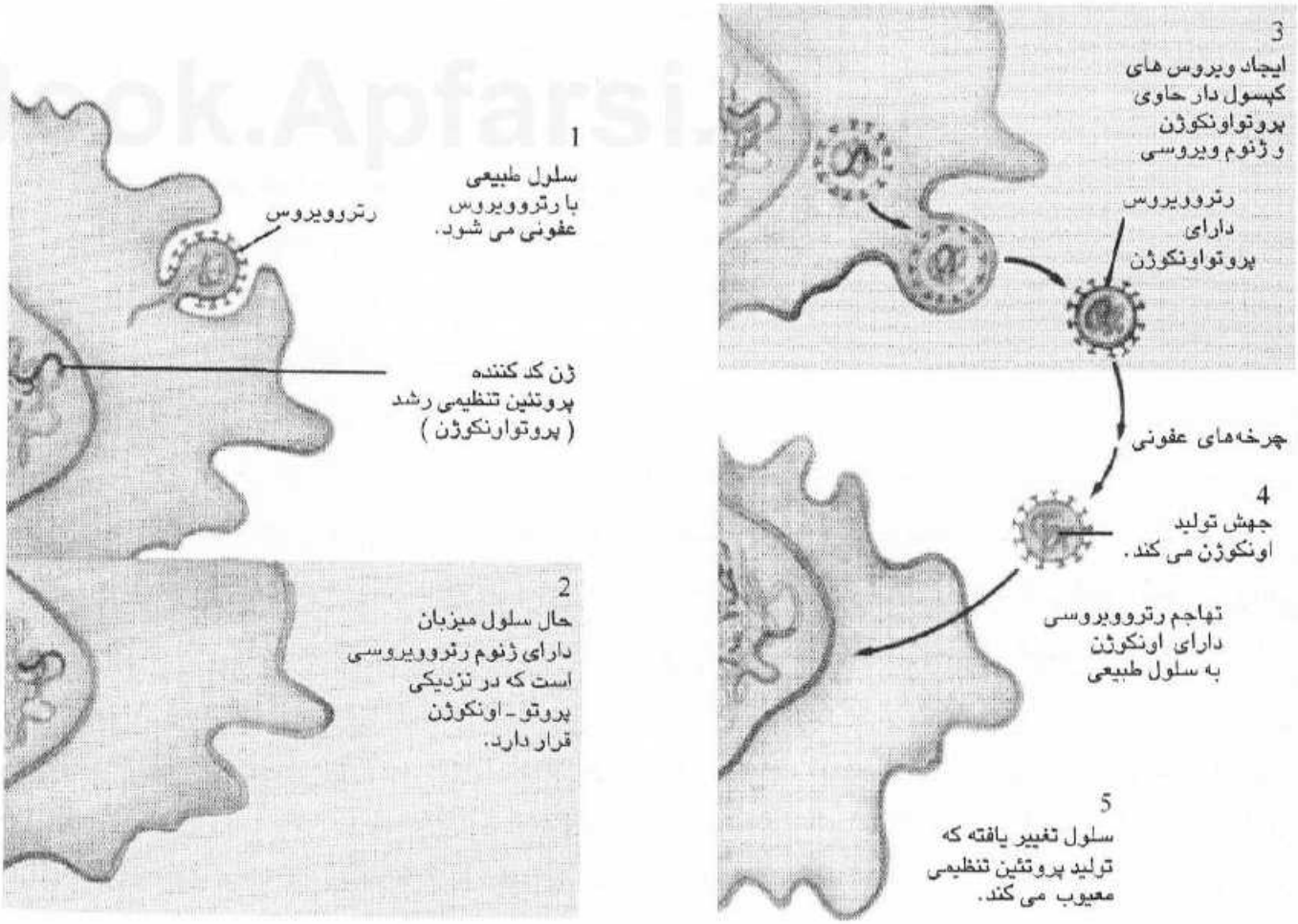
در ابتدا **اونکوژن‌ها** در ویروسهای ایجادکننده تومور کشف شدند ولی بعداً مشخص گردید که اونکوژن‌ها بسیار شبیه یا مشتقاتی از ژن‌هایی، بنام پروتو-انکوژن‌ها، در سلول‌های میزبان حیوانی هستند که پروتئین‌های تنظیم‌کننده رشد را کد می‌نمایند. طی عفونت‌های ویروسی، گاهی ویروس توالی DNA یک پروتو-اونکوژن را نسخه‌برداری نموده و در داخل ژنوم خود قرار می‌دهد (شکل ۳۶-۱۳). آنگاه این ژن می‌تواند در هنگام چرخه عفونت ویروسی، با از دست‌رفتن قسمتی از توالی یا جهش، به شکل ناقص تبدیل گردد. وقتی این اونکوژن ویروسی در طی عفونت بعدی در سلول میزبان خود بیان می‌گردد، این پروتئین غیرطبیعی با تنظیم طبیعی رشد سلول تداخل نموده و گاهی منجر به سرطان می‌شود.

پروتو-اونکوژن‌ها می‌توانند بدون داشتن یک ویروس واسط به اونکوژن‌ها تبدیل گردند. نوآرایی‌های کروموزومی، عوامل شیمیایی و اشعه از جمله عواملی هستند که سبب جهش‌های اونکوژنیک می‌گردند. این جهش‌ها که اونکوژن‌ها را تولید می‌نمایند، از نظر ژنتیکی غالب هستند؛ درصورتیکه یکی از اعضاء یک جفت کروموزومی حاوی ژن معیوب باشد، محصول آن ژن پیام تقسیم را ارسال نموده و تومور ایجاد می‌گردد. نقص اونکوژنیک می‌تواند در هر کدام از پروتئین‌های درگیر در انتقال پیام «تقسیم» مشاهده شود. اونکوژن‌هایی را می‌شناسیم که پروتئینهای ترشحی، فاکتورهای رشد، پروتئین‌های ترانس‌ممبران (گیرنده‌ها)، فاکتورهای سیتوپلاسمی (پروتئین‌های G و پروتئین کینازها) و فاکتورهای رونویسی هسته‌ای کنترل‌کننده بیان ژن‌های ضروری برای تقسیم سلولی (Jun و Fos) را کد می‌نمایند.

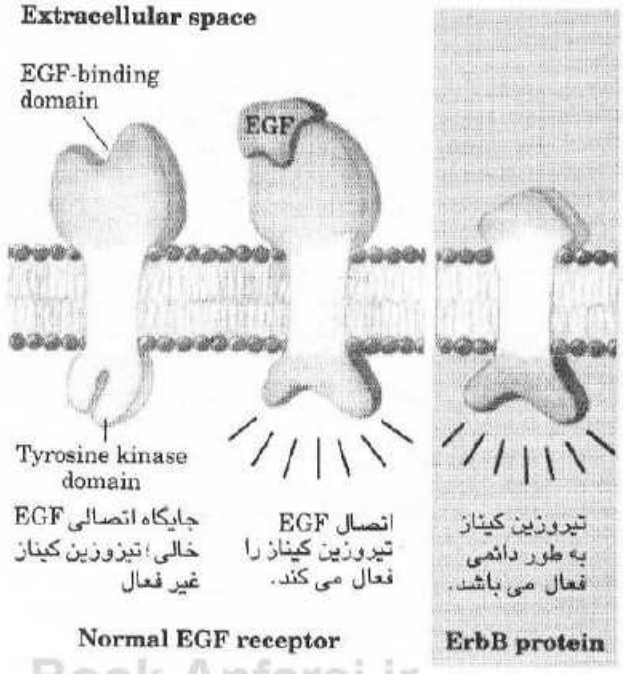
بعضی از اونکوژن‌ها گیرنده‌های سطح سلولی را کد می‌نمایند که در جایگاه‌های اتصال پیام دچار نقص بوده، به‌طوریکه فعالیت تیروزین کینازی بدون تنظیم می‌ماند. برای مثال، پروتئین ErbB مشابه گیرنده طبیعی فاکتور رشد اپیدرم (EGF) بوده و تنها ErbB فاقد دومین انتهای آمینوئی است که به‌طورطبیعی به EGF اتصال می‌یابد (شکل ۳۷-۱۳)، ازاینرو در حضور یا عدم حضور EGF، پیام تقسیم را ارسال می‌نماید. یک نوع ErbB، محصول اونکوژن *erb*B2 (برای توضیح نحوه استفاده از مخفف‌ها در نامگذاری ژن‌ها و محصولات آنها به فصل ۲۵ مراجعه نمایید) معمولاً همراه با سرطان‌های اپی‌تلیوم غده‌ای در پستان، معده و تخمدان می‌باشد.

اشکال جهش‌یافته G پروتئین Ras در سلول‌های توموری شایع می‌باشد. اونکوژن *ras* پروتئینی را کد می‌کند که به‌طور طبیعی به GTP اتصال یافته ولی فاقد فعالیت GTPase می‌باشد. بنابراین پروتئین جهش‌یافته Ras، بدون

Book.Anfarsi.ir



شکل ۳۶-۱۳. تبدیل یک ژن تنظیمی به یک اونکوژن ویروسی (۱) یک سلول طبیعی مبتلا به یک عفونت رتروویروسی (فصل ۲۶) می‌گردد و (۲) ویروس ژنوم خود را در داخل سلول کروموزوم میزبان، در نزدیکی ژن یک پروتئین تنظیمی (پروتو-اونکوژن)، قرار می‌دهد. (۳) ذرات ویروسی رهاشده از سلول عفونت‌یافته گاهی یک ژن میزبان، در این حالت پروتو-اونکوژن، را «تسخیر» می‌نمایند. (۴) در طی چرخه‌های متعدد عفونت، جهشی در پروتو-اونکوژن رخ داده که آن را به یک اونکوژن تبدیل می‌نماید. (۵) در مرحله بعدی با ایجاد عفونت توسط این ویروس در یک سلول، ویروس این اونکوژن را در داخل DNA میزبان قرار می‌دهد. رونویسی این اونکوژن منجر به تولید یک پروتئین تنظیمی می‌شود که به‌طور دائمی پیامی را برای تقسیم سلولی صادر نموده و بر مکانیسم‌های تنظیمی طبیعی برتری پیدا می‌کند. ازاینرو، سلول‌های میزبان عفونی‌شده توسط ویروس‌های حامل اونکوژن، متحمل تقسیم سلولی غیرتنظیمی شده و به تومور تبدیل می‌شوند. همانطور که در متن اشاره شده است، پروتو-اونکوژن‌ها همچنین می‌توانند بدون مداخله یک رتروویروس، دچار جهش به اونکوژن شوند.



شکل ۳۷-۱۳. گیرنده ناقص EGF کدشده توسط اونکوژن. محصول اونکوژن *erbB* (پروتئین ErbB) شکل ناقصی از گیرنده طبیعی فاکتور رشد اپیدرم (EGF) می‌باشد. دومن داخل‌سلولی این گیرنده به‌طورطبیعی با اتصال EGF القاء شده، ولی این پروتئین فاقد جایگاه خارج‌سلولی برای EGF می‌باشد. به دلیل عدم تنظیم توسط EGF، پروتئین ErbB به‌طوردائمی پیام تقسیم سلولی را می‌فرستد.

Book.Apfarsi.ir

توجه به پیام‌هایی که از طریق گیرنده طبیعی دریافت می‌گردد، همواره در حالت فعال (متصل به GTP) خواهد بود. جهش‌های *ras* همراه با ۳۰ تا ۵۰٪ کارسینوماهای ریه و کولون و بیش از ۹۰٪ کارسینوما پانکراس می‌باشند.

Book.Apfarsi.ir

نقص ژن‌های ساپرس‌کننده تومور سبب برداشت موانع طبیعی تقسیم سلولی می‌گردد

ژن‌های ساپرس‌کننده تومور پروتئین‌هایی را کد می‌نمایند که به‌طورطبیعی مانع از تقسیم سلولی می‌گردند. جهش در یکی یا چند مورد از این ژن‌ها می‌تواند منجر به ایجاد تومور گردد. رشد تنظیم‌نشده ناشی از ژن‌های معیوب ساپرس‌کننده تومور، بر خلاف انواع ناشی از اونکوژن‌ها، از نظر ژنتیکی مغلوب هستند؛ تومور تنها زمانی ایجاد می‌گردد که هر دو کروموزومهای یک جفت دارای ژن معیوب باشند. فردی که یک نسخه سالم و یک نسخه معیوب را به ارث می‌برد، بیمار نخواهد بود، ولی هر سلول موجود در بدن آن فرد دارای یک نسخه معیوب از آن ژن خواهد بود. درصورتیکه هر کدام از 10^{12} سلول پیکری بعداً دچار جهشی در آن نسخه سالم گردد، از آن سلول دارای دو جهش ممکن است یک تومور رشد نماید. جهش در هر دو نسخه ژن‌های مربوط به pRb، p53 و p21، منجر به تولید سلول‌هایی می‌گردد که در آن مهار طبیعی تقسیم سلولی صورت نپذیرفته و تومور حاصل خواهد شد.

رتینوبلاستوما سرطان شبکیه می‌باشد که در کودکان دارای دو آلل معیوب *Rb* ایجاد می‌گردد. کودکان خردسالی که مبتلا به رتینوبلاستوما می‌شوند، معمولاً دارای تومورهای متعددی در هر دو چشم می‌باشند. هر کدام از این تومورها از یک سلول شبکیه ایجاد می‌گردند که دچار جهش در نسخه سالم ژن *Rb* شده‌اند. (جنینی که در هر سلول دارای دو آلل جهش‌یافته می‌باشد، قادر به ادامه حیات نیست.) مبتلایان به رتینوبلاستوما میزان بالای ابتلاء به سرطان‌های ریه، پروستات و پستان را نیز نشان می‌دهند.

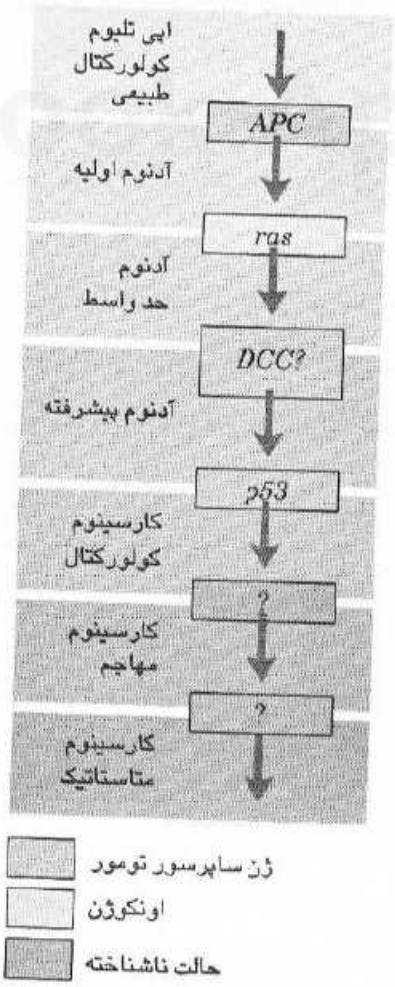
یک احتمال بسیار ضعیف آن است که در فرد دارای دو نسخه سالم از یک ژن، دو جهش مستقل در همان ژن و در یک سلول رخ دهد، ولی این موضوع اتفاق می‌افتد. بعضی از افراد در اواخر دوران کودکی دچار رتینوبلاستوما می‌گردند و معمولاً تنها یک تومور در تنها یک چشم دارند. این افراد احتمالاً با دو نسخه سالم *Rb* در هر سلول متولد می‌شوند، ولی به علت ایجاد جهش در هر دو ژن *Rb* موجود در یک سلول شبکیه، مبتلا به تومور می‌گردند.

جهش‌های ژن مربوط به p53 نیز منجر به تومور می‌گردد؛ در بیش از ۹۰٪ کارسینوماهای سلول سنگفرشی پوست انسان (سرطان‌های پوست) و حدود ۵۰٪ سایر سرطان‌های انسانی، *p53* دچار نقص می‌باشد. افراد بسیار نادری که یک نسخه معیوب *p53* را دارند، معمولاً مبتلا به سندروم لی-فرامنی[1] می‌شوند که طی آن در سنین پایین، سرطان‌های متعددی (پستان، مغز، استخوان، خون، ریه و پوست) با فراوانی بالا ایجاد می‌گردد. توجیه وجود تومورهای متعدد در این حالت مشابه جهش‌های *Rb* می‌باشد: فردی که دارای یک نسخه معیوب *p53* در تمامی سلول‌های خود می‌باشد، در طول عمر خود، احتمال بیشتری برای ابتلاء به جهش دوم *p53* در بیش از یک سلول را دارد.

اثر جهش‌ها در اونکوژن‌ها و ژن‌های ساپرس‌کننده تومور، همه یا هیچ نمی‌باشد. در بعضی از سرطان‌ها، احتمالاً در تمامی موارد، پیشرفت از حالت طبیعی سلول به حالت تومور بدخیم، مستلزم تجمع جهش‌ها (گاهی طی چندین دهه) بوده و هیچکدام به تنهایی دارای اثر نهایی نمی‌باشند. برای مثال، پیدایش سرطان کولورکتال دارای مراحل قابل‌تشخیص متعددی است که هر کدام همراه با یک جهش هستند (شکل ۳۸-۱۳). درصورتیکه یک سلول طبیعی

1- Li-Fraumeni syndrome

Book.Apfarsi.ir



شکل ۳۸-۱۳. از سلول اپی‌تلیال طبیعی تا سرطان کولورکتال. در کولون، جهش هر دو نسخه ژن تومور ساپرس‌کننده *APC* منجر به ایجاد تجمعات خوش‌خیم سلول‌های اپی‌تلیال شده که بسیار سریع تکثیر می‌یابند (آدنوم اولیه). درصورتیکه سلول مبتلا به نقص در *APC*، دچار جهش دومی در پروتواونکوژن *ras* گردد، سلول دارای این دو جهش تولید آدنوم حدواسط می‌نماید که همراه با ایجاد یک پولیپ خوش‌خیم در کولون خواهد بود. وقتی در یکی از این سلول‌ها، جهش سوم در ژن‌های تومور ساپرس‌کننده *DCC* (احتمالاً) و *p53* ایجاد گردد، تومور متاستاتیک بوجود خواهد آمد. بالاخره، جهش در ژن‌هایی که تاکنون مشخص نشده‌اند، منجر به تومور بدخیم و نهایتاً یک تومور متاستاتیک شده که می‌تواند به سایر بافته انتشار یابد. ایجاد اکثر تومورهای بدخیم، احتمالاً ناشی از سری جهش‌هایی از این نوع می‌باشند.

اپی‌تلیال در کولون متحمل جهشی در هر دو نسخه ژن ساپرس‌کننده تومور *APC*[1] گردد، شروع به تقسیم سریعتر از حالت طبیعی نموده و کلونی از خود، به‌صورت یک پولیپ خوش‌خیم (آدنوم اولیه)، ایجاد می‌نماید. به علل ناشناخته، جهش *APC* منجر به ناپایداری کروموزومی شده و تمامی نواحی یک کروموزوم در هنگام تقسیم سلولی از دست رفته و یا نوآرایی می‌گردد. این ناپایداری می‌تواند منجربه جهش دیگری، معمولاً در *ras*، شود که این کلون را به یک آدنوم حدواسط تبدیل می‌نماید. جهش سوم (احتمالاً در ژن ساپرس‌کننده تومور *DCC*) منجربه یک آدنوم نهایی می‌شود. تنها زمانی این توده سلولی به سرطان بدخیم تهدیدکننده زندگی تبدیل می‌گردد که هر دو نسخه *p53* دچار نقص شود. ازاینرو، این توالی کامل نیاز به حداقل هفت «حادثه» ژنتیکی دارد: دو حادثه بر روی هر کدام از سه ژن ساپرس‌کننده تومور (*APC*، *DCC* و *p53*) و یک حادثه بر روی پروتو-اونکوژن *ras*. احتمالاً راههای متعدد دیگری برای ایجاد سرطان کولورکتال وجود دارد، ولی ایجاد بدخیمی کامل تنها بعد از جهش‌های متعدد، محتمل می‌باشد. در صورت یافتن یک پولیپ در مرحله آدنوم اولیه و برداشت این سلول‌های دارای جهش‌های اول به طریق جراحی، آدنوم نهایی و کارسینوما ایجاد نخواهد شد که این مطلب اهمیت تشخیص زودرس را نشان می‌دهد.

آپوپتوزیس مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده می‌باشد

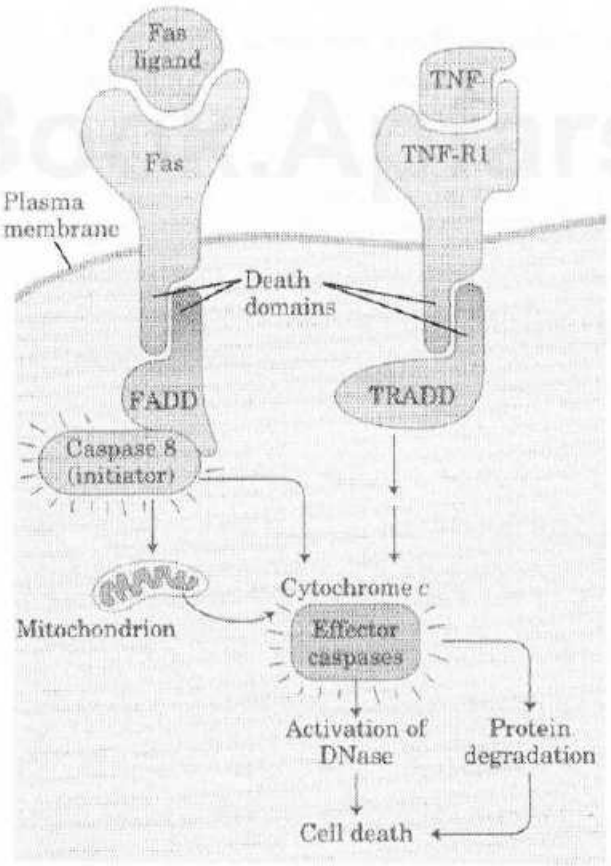
بسیاری از سلول‌ها می‌توانند زمان مرگ خود را دقیقاً طی فرایند **مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده** یا **آپوپتوزیس** (مشتق از کلمه یونانی به معنی «افتادن»، همانند افتادن برگ درختان در پاییز، با تلفظ app´-a-toe´-sis) کنترل نمایند. برای مثال، در زمان رشد و تکامل جنینی لازم است تعدادی از سلول‌ها بمیرند. ایجاد انگشتان از جوانه‌های کوتاه و کلفت اندام‌ها، نیاز به مرگ دقیقاً زمان‌بندی‌شده سلول‌های موجود در بین استخوانهای انگشتان دارد. درهنگام رشد و تکامل نماتود *Caenorhabditis elegans* از تخم بارور، لازم است دقیقاً ۱۳۱ سلول (از کل ۱،۰۹۰ سلول پیکری موجود در جنین) برای ایجاد بدن بالغ، دچار مرگ برنامه‌ریزی‌شده شوند.

آپوپتوزیس در فرایندهایی غیر از رشد و تکامل نیز شرکت دارد. وقتی یک سلول تولیدکننده آنتی‌بادی در داخل بدن وجود دارد که برعلیه آنتی‌ژن‌های طبیعی خود بدن آنتی‌بادی تولید می‌کند، آن سلول در غده تیموس متحمل

1- Adenomatous polyposis coli

Book.Apfarsi.ir

مرگ برنامه‌ریزی‌شده می‌گردد که مکانیسم ضروری برای حذف آنتی‌بادیهای ضد خود می‌باشد. سلول‌های دیواره رحم که ماهیانه عوض می‌شوند (قاعدگی). مثال دیگری از مرگ طبیعی سلول بواسطه آپوپتوزیس می‌باشد. گاهی مرگ سلولی برنامه‌ریزی نشده ولی در پاسخ به شرایط بیولوژیکی رخ می‌دهد که موجود زنده را تهدید می‌نماید. برای مثال، یک سلول مبتلا به عفونت ویروسی که قبل از تکمیل چرخه عفونت می‌میرد، مانع از انتشار ویروس به سلول مجاور می‌گردد. استرس‌های شدید، نظیر گرما، افزایش اسمولاریته، نور UV و تشعشع گاما نیز مرگ سلولی را آغاز می‌نمایند؛ احتمالاً با مرگ این سلول‌ها، نسبت به باقی‌ماندن و انحراف آنها، موجود زنده وضعیت بهتری خواهد داشت.



شکل ۳۹-۱۳. حوادث اولیه در آپوپتوزیس. گیرنده‌های موجود در غشاء پلاسمایی (Fas، TNF-R1)، پیام‌هایی (به‌ترتیب، لیگاند Fas و فاکتور نکروزکننده تومور یا TNF) را از خارج سلول دریافت می‌نمایند. فعال‌شدن گیرنده منجر به واکنش متقابل بین «دومن مرگ» (یک توالی ۸۰ ریشه‌ای) در Fas یا TNF-R1 و یک دومن مرگ مشابه در پروتئین‌های سیتوزولی FADD یا TRADD می‌گردد. FADD یک پروتئاز سیتوزولی بنام کاسپاز ۸ را فعال نموده که بطریق پروتئولیتیک سایر پروتئازهای سلولی را فعال می‌نماید. TRADD نیز پروتئازها را فعال می‌نماید. پروتئولیز حاصل یک عامل اصلی در مرگ سلولی است.

مکانیسم‌های تنظیمی شروع‌کننده آپوپتوزیس نیاز به همکاری تعدادی از همان پروتئین‌هایی دارد که چرخه سلولی را تنظیم می‌نمایند. پیام مرگ اغلب از خارج و از طریق یک گیرنده سطحی می‌آید. فاکتور نکروزکننده تومور (TNF) که توسط سلول‌های سیستم ایمنی تولید می‌گردد، از طریق گیرنده‌های اختصاصی TNF با سلول‌ها واکنش متقابل می‌نماید. این گیرنده‌ها دارای جایگاه‌های اتصالی TNF در سطح خارجی غشاء پلاسمایی و یک «دومن مرگ» با حدود ۸۰ ریشه اسید آمینه می‌باشد که پیام تخریب-خود را از میان غشاء به پروتئین‌های سیتوزولی نظیر TRADD[1] انتقال می‌دهد (شکل ۳۹-۱۳). گیرنده دیگری، بنام Fas، دارای دومن مرگ مشابهی است که امکان واکنش متقابل آن با پروتئین سیتوزولی[2] FADD را فراهم می‌سازد که به نوبه خود پروتئاز سیتوزولی را به نام کاسپاز ۸ فعال می‌نماید. این آنزیم متعلق به خانواده‌ای از پروتئازها است که در آپوپتوزیس شرکت دارند و همگی به شکل پروآنزیم‌های غیرفعال ساخته شده، همگی دارای یک ریشه Cys مهم در جایگاه فعال بوده و همگی پروتئین‌های هدف خود را در سمت انتهای کربوکسیل ریشه‌های اختصاصی Asp هیدرولیز می‌نمایند.

وقتی کاسپار ۸، یک «شروع‌کننده» کاسپاز، توسط یک پیام آپوپتوتیک انتقال یافته از طریق FADD، فعال گردید، با تجزیه شکل پروآنزیمی خود بیشتر خود را فعال می‌نماید. میتوکندریها یکی از اهداف کاسپاز ۸ هستند. این پروتئاز

1- *T*NF *r*receptor-*a*ssociated *d*eath *d*omain
2- *F*as *a*ssociated *d*eath *d*omain

Book.Apfarsi.ir

سبب رهایی بعضی از پروتئین‌های موجود در بین غشاءهای داخلی و خارجی میتوکندری، شامل سیتوکروم c (فصل ۱۹) و کاسپازهای «افکتور» متعدد، می‌گردد. سیتوکروم c به اشکال پروآنزیمی کاسپازهای افکتور متصل شده و فعال‌شدن پروتئولیتیک آنها را توسط کاسپاز ۸ تحریک می‌نماید. کاسپازهای افکتور فعال‌شده به نوبه خود تجزیه گسترده پروتئین‌های سلولی را کاتالیز نموده که از دلایل اصلی مرگ سلولی ناشی از آپوپتوزیس می‌باشد. یکی از اهداف اختصاصی عمل کاسپاز، یک DNase فعال‌شونده توسط کاسپاز می‌باشد.

محصولات منومری تخریب پروتئین و DNA (اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها) طی یک فرایند کنترل‌شده آزاد شده که امکان برداشت و استفاده مجدد آنها توسط سلول‌های مجاور را فراهم می‌سازد. بنابراین آپوپتوزیس به موجود این اجازه را می‌دهد تا یک سلول را بدون از دست‌رفتن اجزاء آن، از بین ببرد.

خلاصه

تمامی سلول‌ها دارای سیستم‌های اختصاصی و شدیداً حساس انتقال پیام هستند که در طی دوران تکاملی حفظ شده‌اند. انواع وسیعی از محرک‌ها، شامل هورمون‌ها، نوروترانسمیترها و فاکتورهای رشد، از طریق گیرنده‌های پروتئینی اختصاصی موجود در غشاء عمل می‌نمایند. این گیرنده‌ها به ملکول پیام متصل شده، پیام را تقویت نموده، آن را با پیام‌های حاصل از گیرنده‌های دیگر یکپارچه کرده و بالاخره، آن را به داخل سلول انتقال می‌دهد. درصورت باقی‌ماندن پیام، غیرحساس‌شدن گیرنده‌ها سبب کاهش یا خاتمه پاسخ می‌گردد. سلول‌های اوکاریوتی دارای چهار مکانیسم کلی پیام‌رسانی هستند: (۱) کانال‌های یونی دریچه‌دار موجود در غشاء پلاسمایی؛ (۲) آنزیم‌هایی با یک دومن کاتالیتیک در داخل سلول و یک گیرنده خارج‌سلولی برای پیام؛ (۳) پروتئین‌های غشایی که پروتئین‌های هدف (آنزیم‌ها یا کانال‌های یونی) را توسط پروتئین‌های G، تحریک می‌نمایند؛ و (۴) پروتئین‌های هسته‌ای که به هورمون‌های استروئیدی اتصال‌یافته و به‌عنوان عوامل رونویسی عمل می‌نمایند.

کانال‌های یونی دریچه‌دار لیگاندی یا وابسته به پتانسیل غشاء، نقش اساسی را در انتقال پیام در نرون‌ها و سایر سلول‌ها دارند. کانال‌های یونی وابسته به ولتاژ سدیم و پتاسیم موجود در غشاءهای نرونی، پتانسیل عمل را بصورت موجی از دپلاریزاسیون (جریان رو به داخل Na^+) و بدنبال آن رپلاریزاسیون (جریان رو به خارج K^+) در طول آکسون، حمل می‌نمایند. با رسیدن یک پتانسیل عمل، نوروترانسمیتر از سلول پیش‌سیناپسی رها می‌گردد. آنگاه نوروترانسمیتر (برای مثال، استیل‌کولین) به سمت سلول پس‌سیناپسی انتشار یافته و با اتصال به‌گیرنده‌های اختصاصی موجود بر روی غشاء پلاسمایی، تغییری را در V_m سبب می‌گردد.

گیرنده انسولین پروتوتیپ آنزیم‌های گیرنده با فعالیت تیروزین کینازی می‌باشد. با اتصال انسولین به این گیرنده، دومن آنزیمی آن ابتدا خود و سپس سایر پروتئین‌ها را بر روی ریشه‌های Tyr فسفریله نموده و ایجاد یک جایگاه اتصالی برای دومن‌های SH2 می‌کند. واکنش‌های متقابل متوالی پروتئین-پروتئین نهایتاً منجر به اتصال GTP به پروتئین Ras شده که با جایگزینی GDP، سبب فعال‌سازی Ras می‌گردد. Ras به نوبه خود، آبشار پروتئین کینازی را فعال می‌سازد که با فسفریلاسیون پروتئین‌های هدف در سیتوزول و هسته خاتمه می‌یابد. نتیجه این واکنش‌ها، تغییرات متابولیسمی اختصاصی و تغییر بیان ژن می‌باشد.

فاکتور دهلیزی دفع‌کننده سدیم به‌گیرنده آنزیمی با فعالیت گوانیلیل سیکلاز اتصال می‌یابد. cGMP تولیدی به‌عنوان یک پیامبر دوم، سبب فعال‌سازی پروتئین کیناز وابسته به cGMP (PKG) می‌گردد. این آنزیم، متابولیسم را با فسفریلاسیون اهداف آنزیمی اختصاصی، تغییر می‌دهد.

گیرنده β-آدرنرژیک، نمونه شاخص خانواده بزرگی از گیرنده‌ها می‌باشد که دارای هفت قطعه ترانس‌ممبران بوده و از طریق پروتئین‌های G تریمری عمل می‌نمایند. با اتصال لیگاند، این گیرنده‌های سرپنتینی جابجایی GTP با GDP متصل به G_s را کاتالیز نموده و این زیرواحد آدنیلیل سیکلاز را در غشاء پلاسمایی فعال می‌نماید. cAMP تولیدی، یک پیامبر داخل‌سلولی است

که پروتئین کیناز وابسته به cAMP (PKA) را تحریک می‌نماید. PKA اثرات اپی‌نفرین را با فسفریلاسیون پروتئین‌های کلیدی در مسیرهای متابولیسم کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها، وساطت می‌نماید. این آبشار حوادث، که در آن یک ملکول هورمون سبب فعال‌شدن کاتالیستی می‌شود که به نوبه خود کاتالیست دیگر را فعال نموده و تا به آخر، منجر به تقویت پیام می‌گردد. این ویژگی در تمامی سیستم‌های فعال‌شونده توسط هورمون ملاحظه می‌شود. این پیامبر دوم نهایتاً توسط cAMP فسفودی‌استراز تجزیه شده و G_s خود را با هیدرولیز GTP متصل به خود به GDP، خاموش نموده و پاسخ را خاتمه می‌دهد. وقتی پیام اپی‌نفرین تداوم دارد، عمل یک پروتئین کیناز اختصاصی گیرنده β-آدرنرژیک (βARK) و ارستین، به‌طورموقتی سلول را نسبت به اپی‌نفرین غیرحساس می‌نماید. بعضی از گیرنده‌ها، آدنیلیل سیکلاز را از طریق G_s تحریک می‌نمایند؛ بقیه گیرنده‌ها آن را از طریق G_i مهار می‌کنند. بنابراین، [cAMP] برایند دو (یا چند) پیام را منعکس می‌نماید.

بعضی از گیرنده‌های سرپنتینی با یک فسفولیپاز C (PLC) غشایی جفت می‌گردند که PIP_2 را به دی‌آسیل‌گلیسرول و IP_3 می‌شکنند. با بازشدن کانال‌های Ca^{2+} در شبکه آندوپلاسمی، IP_3 سبب افزایش $[Ca^{2+}]$ سیتوزولی شده و Ca^{2+} با دی‌آسیل‌گلیسرول ترکیب شده تا پروتئین کیناز C (PKC) را فعال نماید. این آنزیم، از طریق فسفریلاسیون پروتئین‌های سلولی اختصاصی، پاسخ سلولی به پیام خارج‌سلولی را تولید می‌کند. $[Ca^{2+}]$ سلولی تعدادی از آنزیم‌ها را، اغلب از طریق پروتئین کالمودولین اتصالی Ca^{2+}، تنظیم می‌نماید.

حس‌های بینایی، بویایی و چشایی در مهره‌داران با استفاده از گیرنده‌های سرپنتینی به انجام می‌رسند که از طریق پروتئین‌های G تریمری، سبب تغییر V_m نرون حسی می‌گردند. در سلول‌های استوانه‌ای و مخروطی شبکیه، نور رودوپسین را فعال نموده که خود منجر به جابجایی GDP با GTP بر روی پروتئین G ترانس‌دوسین می‌گردد. زیرواحد آزادشده α ترانس‌دوسین، cGMP فسفودی‌استراز را فعال نموده که خود بعداً با کاهش [cGMP]، منجر به بسته‌شدن کانال‌های یونی وابسته به cGMP در قطعات خارجی می‌گردد. هیپرپلاریزاسیون حاصل در سلول استوانه‌ای و یا مخروطی، پیام را به نرون بعدی مسیر و نهایتاً به مغز منتقل می‌نماید. در نرون‌های بویایی، محرک‌های بویایی، با عمل از طریق گیرنده‌های سرپنتینی و پروتئین‌های G، منجربه افزایش [cAMP] (از طریق فعال‌نمودن آدنیلیل سیکلاز) یا $[Ca^{2+}]$ (با عمل PLC) می‌گردند. این پیامبرهای دوم بر روی کانال‌های یونی و بنابراین V_m اثر می‌نمایند. نرون‌های چشایی دارای گیرنده‌های سرپنتینی هستند که به وسیله افزایش (شیرینی) یا کاهش (تلخی) [cAMP] به مزه‌ها پاسخ می‌دهند که به نوبه خود منجر به تغییراتی در V_m توسط کانال‌های یونی دریچه‌دار می‌شوند.

هورمون‌های استروئیدی وارد سلول‌ها شده و به پروتئین‌های گیرنده اختصاصی اتصال می‌یابند. این کمپلکس هورمون-گیرنده به نواحی اختصاصی در DNA، بناء عناصر پاسخ به هورمون، اتصال یافته و بیان ژن‌های مجاور را تنظیم می‌نمایند.

بسیاری از مسیرهای پیام‌رسان نهایتاً منجر به فعال‌شدن یک پروتئین کیناز می‌شوند که فعالیت پروتئین‌های هدف خود را با افزودن یک گروه فسفریل به یک ریشه Ser، The یا Tyr، تغییر می‌دهند. پیشرفت چرخه سلولی توسط خانواده‌ای از پروتئین کینازها تنظیم می‌شود که با عمل در دوره‌های اختصاصی چرخه، پروتئین‌های کلیدی را فسفریله و فعالیت آنها را تعدیل می‌نمایند. زیرواحد کاتالیتیک این پروتئین کینازهای وابسته به سیکلین (CDKs)، غیرفعال بوده و در صورت اتصال به زیرواحد تنظیمی سیکلین، فعال می‌گردند. فعالیت یک کمپلکس CDK-سیکلین در طی چرخه سلولی، از طریق سنتز تمایزی ملکول‌های CDK، تخریب اختصاصی سیکلین، فسفریلاسیون و دفسفریلاسیون ریشه‌های مهم در ملکول‌های CDK و با اتصال پروتئین‌های مهاری به ملکول‌های اختصالی CDK-سیکلین، دستخوش تغییر می‌گردد.

اونکوژن‌ها، پروتئین‌های پیام‌رسان ناقص را کد می‌نمایند. این پروتئین‌ها با ارسال مداوم پیام تقسیم سلولی، منجر به تشکیل تومور می‌شوند. اونکوژن‌ها از نظر ژنتیکی غالب بوده و ممکن است اشکال ناقص فاکتورهای رشد، گیرنده‌ها، پروتئین‌های G، پروتئین کینازها یا تنظیم‌کننده‌های هسته‌ای رونویسی، را کد نمایند. ژن‌های ساپرس‌کننده تومور، پروتئین‌های تنظیمی را کد می‌کنند که به‌طور طبیعی مانع تقسیم سلولی می‌شوند؛ جهش این ژن‌ها می‌تواند منجر به ایجاد تومور گردد، ولی از نظر ژنتیکی مغلوب می‌باشند. سرطان عموماً حاصل تجمع جهش‌ها در اونکوژن‌ها و ژن‌های ساپرس‌کننده تومور است.

Book.Apfarsi.ir

آپوپتوزیس (مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده) با همکاری چندین پروتئین به انجام می‌رسد که تعدادی از آنها چرخه سلولی را تنظیم نموده و تعدادی نیز مختص این مسیر مرگ سلولی هستند. آپوپتوزیس که با پیام‌های خارج‌سلولی نظیر فاکتور نکروزکننده تومور یا مکانیسم‌های داخلی آغاز می‌گردد، منجر به فعال‌سازی پروتئازهایی می‌شود که پروتئین‌های سلولی را تخریب می‌نمایند.

Book Apfarsi.ir

مخفف های متداول در کتاب های بیوشیمی

Å	angstrom
A	adenine, adenosine, or adenylate
A	absorbance
Ab	antibody
ACh	acetylcholine
ACP	acyl carrier protein
ACTH	adrenocorticotropic hormone
Acyl-CoA	acyl derivatives of coenzyme A (also, acyl-S-CoA)
ADH	alcohol dehydrogenase
adoHcy	*S*-adenosylhomocysteine
adoMet	*S*-adenosylmethionine
Ag	antigen
AIDS	aquired immunodeficiency syndrome
AKAP	PKA-anchoring protein
Ala	alanine
$[\alpha]_D^{25°C}$	specific rotation
AMP, ADP, ATP	adenosine 5′-mono-, di-, triphosphate
AQP	aquaporin
Arg	arginine
ARS	autonomously replicating sequence
Asn	asparagine
Asp	aspartate
ACTase	aspartate transcarbamoylase
atm	atmosphere
ATPase	adenosine triphosphatase
B_{12}	coenzyme B_{12}, cobalamin
BAC	bacterial artificial chromosome
BMR	basal metabolic rate
bp	base pair
1,3-BPG	1,3-bisphosphoglycerate
C	cytosine, cytidine, or cytidylate
CaM	calmodulin
cAMP, cGMP	3′,5′-cyclic AMP, 3′,5′-cyclic GMP
CDK	cyclin-dependent protein kinase
cDNA	complementary DNA
CFTR	cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
Chl	chlorophyll
CL	cardiolipin
CMP, CDP, CTP	cytidine 5′-mono-, di-, triphosphate
CoA	coenzyme A (also, CoASH)
CoQ	coenzyme Q (ubiquinone; also, UQ)
CRP	cAMP receptor protein
Cys	cysteine
D	dihydrouridine
D	diffusion coefficient
d	density
dADP, dGDP, etc	deoxyadenosine 5′-diphosphate, deoxyguanosine 5′-diphosphate, etc
dAMP, dGMP, etc	deoxyadenosine 5′-monophosphate, deoxyguanosine 5′-monophosphate, etc
dATP, dGTP, etc	deoxyadenosine 5′-triphosphate deoxyguanosine 5′-triphosphate, etc
DEAE	diethylaminoethyl
DEP(DIFP)	diisopropylfluorophosphate
DHAP	dihydroxyacetone phosphate
DHF	dihydrofolate (also, H_2 folate)
DMS	dimethyl sulfate
DNA	deoxyribonucleic acid
DNase	deoxyribonuclease
DNP	2,4-dinitrophenol
Dol	dolichol
DOPA	dihydroxyphenylalnine
E	electerical potential
E.C.	Enzyme Commission
EDTA	ethylenediaminetetraacetate
EF	elongation factor
EGF	epidermal growth factor
ELISA	enzyme-linked immonosorbent assay
EM	electron microscopy

ε	molar absorption coefficient
ER	Endoplasmic Reticulum
η	viscosity
$\mathcal{F}$	faraday
f	frictional coefficient
FA	fatty acid
FAD, $FADH_2$	flavin adenine dinucleotide, and its reduced form
FBPase-1	fructose-1,6-bisphosphatase
FBPase-2	fructose-2,6-bisphosphatase
Fd	ferredoxin
FDNB(DNFB)	1-fluoro-2,4-dinitrobenzene
FFA	free fatty acid
FH	familial hypercholesterolemia
fMet	*N*-formylmethionine
FMN, $FMNH_2$	flavin mononucleotide, and its reduced form
F_OF_1	mitochondrial ATP synthase
FP	flavoprotein
F1P	fructose 1-phosphate
F6P	fructose 6-phosphate
Fru	D-fructose
ΔG	free-energy change
$\Delta G'^\circ$	standard free-energy change
$\Delta G^\ddagger$	activation energy
ΔG_B	binding energy
ΔG_p	free energy change of ATP hydrolysis under cellular conditions
G	guanine
g	acceleration due to gravity
GABA	δ-aminobutyric acid
Gal	D-galactose
GalN	D-galactosamine
GalNAc	*N*-acetyl-D-galactosamine
GAP	glyceraldehyde-3-phosphate; G protein-activating factor
GDH	glutamate dehydrogenase
GH	growth hormone
GLC	gas-liquid chromatography
Glc	D-glucose
GlcA	D-gluconic acid
GlcN	D-glucosamine
GlcNAc	*N*-acetyl-D-glucosamine (also, NAG)
GlcUA	D-glucoronic acid
Gln	glutamine
Glu	glutamate
Gly	glycine
GMP, GDP GTP	guanosine 5′-mono-, di-, triphosphate
G1P	glucose 1-phosphate
GPCR	G protein-coupled receptor
GPI	glycosylated derivatives of phosphatidylinositol
GRK	G protein-coupled receptor kinase
G6P	glucose 6-phosphate
GSH, GSSG	glutathione, and its oxidized form
ΔH	enthalpy
Hb, HbO_2, HbCO	hemoglobin, oxyhemoglobin, carbon monoxide hemoglobin
HDL	high-density lipoprotein
H_2 folate	dihydrofolate (also, DHF)
H_4 folate	tetrahydrofolate (also, THF)
His	histidine
HIV	human immunodeficiency virus
HMG-CoA	β-hydroxy-β-methylglutaryl-CoA
hnRNA	heterogenous nuclear RNA
HPLC	high-performance liqid chromatography
HRE	hormone response element
HTH	helix-turn-helix
Hyp	hydroxyproline
I	inosine
IF	initiation factor
Ig	immunoglobulin
IgG	immunoglobulin G
Ile	isoleucine
IMP, IDP, ITP	inosine 5′-mono-, di-, triphosphate
IP_3	inositol 1,4,5-triphosphate
IR	infrared
IS	insertion sequence
j	joule
JAK	Janus kinase
K	dissociation constant
K_a	acid dissociation constant
K_{eq}	equilibrium constant
K'_{eq}	equilibrium constant under standard

Book.Apfarsi.ir

	condition
K_I	inhibition constant
K_m	Michaelis constant
K_s	dissociation constant
k	rate constant
k_{cat}	turnover number
kb	kilobase
kbp	kilobase pair
α-KG	α-ketoglutarate
lac	lactose
λ	wavelength
LDH	lactate dehydrogenase
LDL	low-density lipoprotein
Leu	leucine
LH	luteinizing hormone
Lk	linking number
ln	logarithm to the base *e*
log	logarithm to the base 10
LT	leukotriene
LTR	long terminal repeat
Lys	lysine
M_r	relative molecular mass
Man	D-mannose
MAPK	mitosis-associated protein kinase
Mb, MbO_2	myoglobin, oxymyoglobin
Met	methionine
mRNA	messenger RNA
MSH	melanocyte-stimulating hormone
mDNA	mitochondrial DNA
μ	electrophoretic mobility
Mur	muraminic acid
Mur2Ac	*N*-acetylmuraminic acid (also, NAM)
NAD^+, NADH	nicotinamide adenine dinucleotide, and its reduced form
$NADP^+$, NADPH	nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, and its reduced form
NAG	*N*-acetylglucosamine (also, GlcNAc)
NAM	*N*-acetylmuraminic acid (also, MurNAc)
Neu5Ac	*N*-acetylneuraminic acid (also, sialic acid)
NMN^+, NMNH	nicotinamide mononucleotide, and its reduced form
NMP, NDP,	nucleoside mono-, di-,
NTP	and triphosphate
NMR	nuclear magnetic resonance
NO	nitric oxide
OAA	oxaloacetate
P	pressure
Pi	inorganic orthophosphate
pO_2	partial pressure of oxygen
PAB or PABA	*p*-aminobenzoate
PAGE	polyacrylamide gel electrophoresis
PC	plastocyanin; phosphatidylcholine
PCR	polymerase chain reaction
PDE	cyclic nucleotide phosphodiesterase
PE	phosphatidylethanolamine
PEP	phosphoenolpyruvate
PEK	phosphofructokinase
PG	prostaglandin
2PGA	2-phosphoglycerate
3PGA	3-phosphoglycerate
pH	$\log 1/[H^+]$
Phe	phenyalanine
pI	isoelectric point
PI	phosphatidylinositol
PIP_2	phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate
PK	protein kinase; pyruvate kinase
p*K*	$\log 1/K$
PKA	cAMP-dependent protein kinase
PKC	calcium/calmodulin-dependent protein kinase
PKG	cGMP-dependent protein kinase
PLC	phospholipase C
PLP	pyridoxal-5-phosphate
Pol	polymerase (DNA or RNA)
PPi	inorganic pyrophosphate
PQ	plastiquinone
pRb	retinoblastoma protein
Pro	proline
PRPP	5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate
PS	phosphatidylserine
$\Delta\psi$	transmembrane electrical potential
PUFA	polyunsaturated fatty acid
Rb	retinoblastoma gene, a tumor supressor gene
RC	photoreaction center

Book Anfarsi.ir

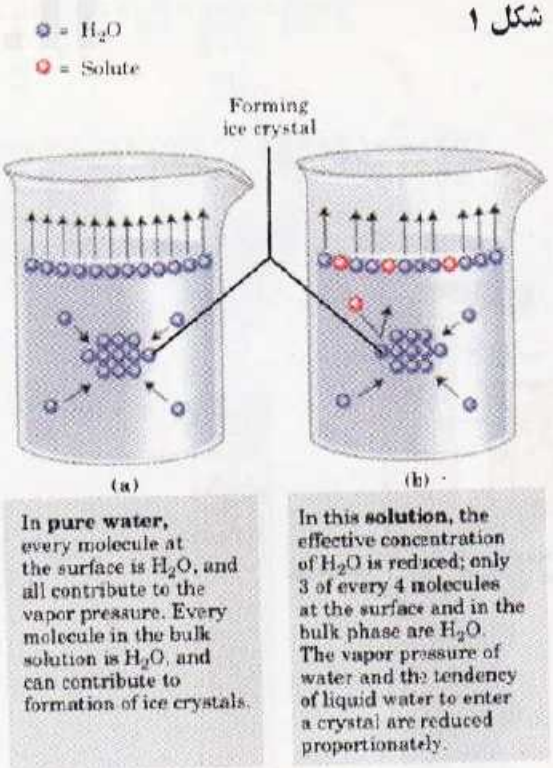
RER	rough endoplasmic reticulum
RF	release factor; replicative form
RFLP	restriction-fragment length polymorphism
RGS	regulator of G protein signaling
RIA	radioimmunoassay
Rib	D-ribose
RNA	ribonucleic acid
RNase	ribonuclease
rRNA	ribosomal RNA
RSV	Rous sarcoma virus
RTK	receptor tyrosine kinase
ΔS	entropy change
SAM	*S*-adenosylmethionine
SDS	sodium dodecyl sulfate
SER	smooth endoplasmic reticulum
Ser	serine
SNARE	synaptosome-associated protein receptor
snRNA	small nuclear RNA
SRP	signal recognition particle
STAT	signal transducer and activator of transcription
STP	standard temperature and pressure
T	thymine, thymidine, or thymidylate
T	absolute temprature
THF	tetrahydrofolate (also, H_4 folate)
Thr	threonine
TLC	thin layer chromatography
TMP, TDP, TTP	thymidine 5′-mon-, di-, triphosphate
TMV	tobaco mosaic virus
TPI	triose phosphate isomerase
TPP	thiamine pyrophosphate
tRNA	transfer RNA
Trp	tryptophan
TX	thromoboxane
Tyr	tyrosine
U	uracil, uridine, or uridylate
UCP	uncoupling protein of the mitochondrial inner membrane
UDP-Gal	uridine diphosphate galactose (also, UDP-galactose)
UDP-Glc	uridine diphosphate glucose (also, UDP-glucose)
UMP, UDP, UTP	uridine 5′-mono-, di-, triphosphate
UQ	coenzyme Q (ubiquinone; also, CoQ)
UV	ultraviolet
V_m	transmembrane electerical potential
V_{max}	maximum velocity
V_0	initial velocity
Val	valine
VLDL	very low-density lipoprotein
YAC	yeast artificial chromosome
Z	net charge

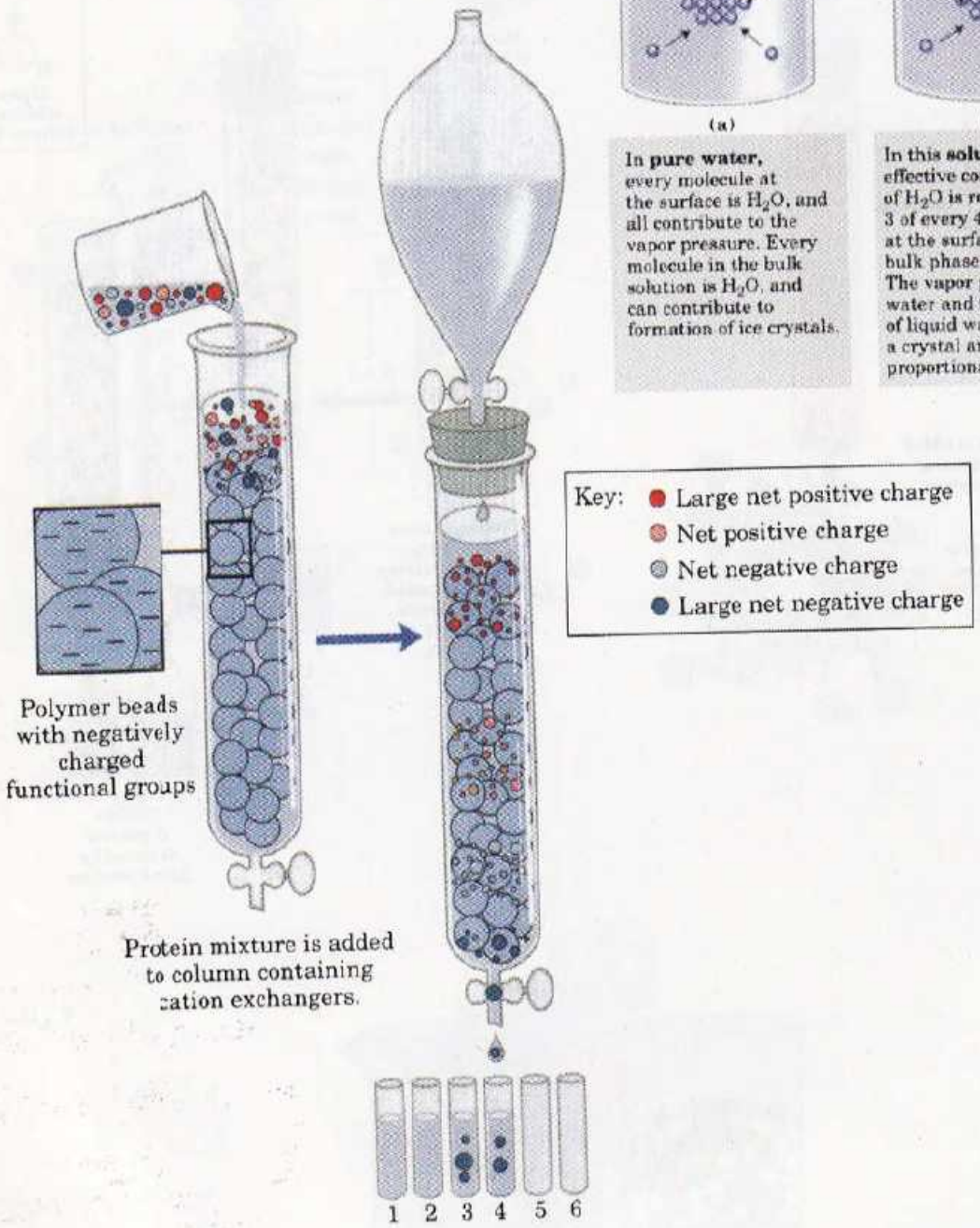


Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

شکل ۱





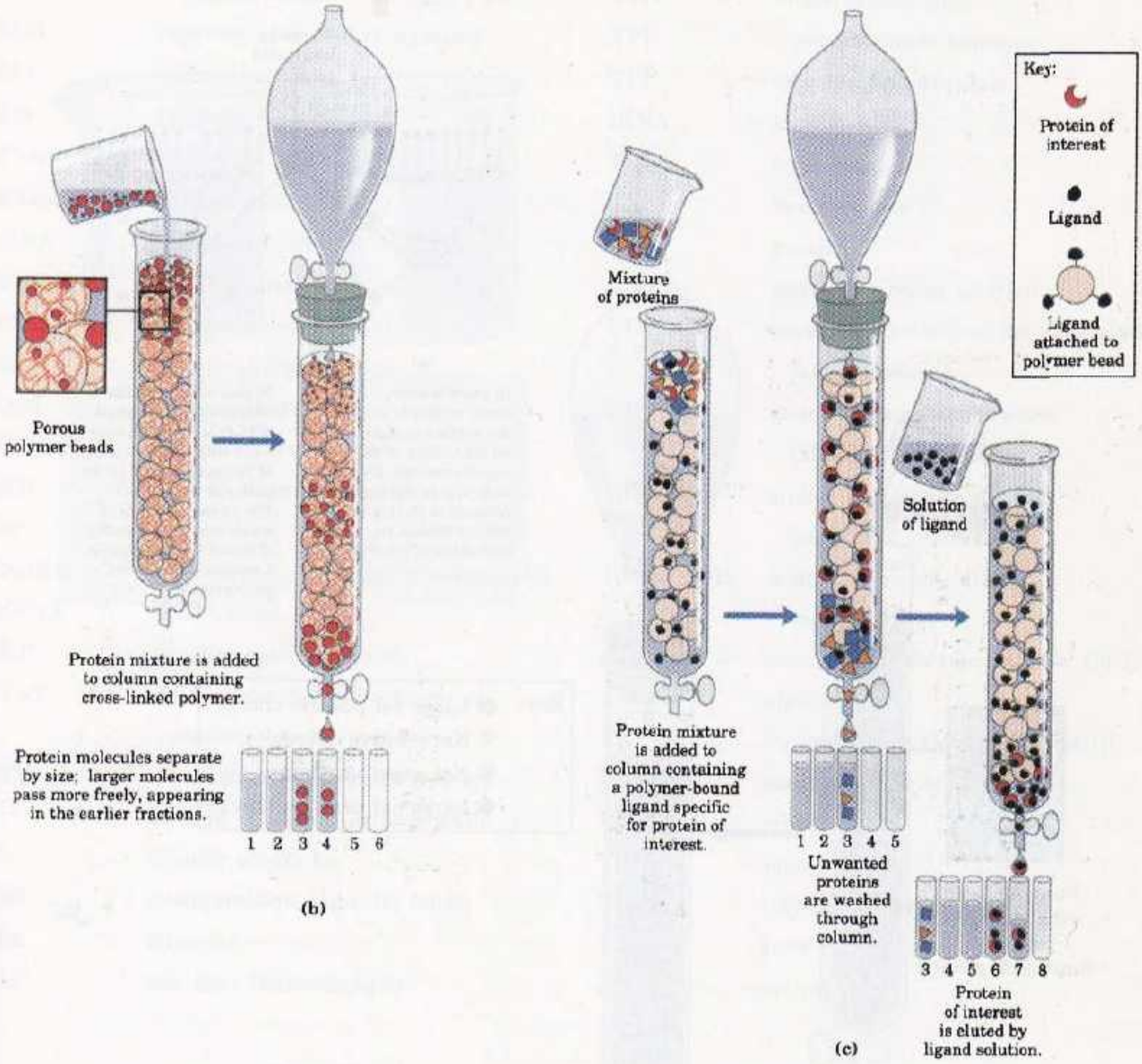
شکل ۲

(a)

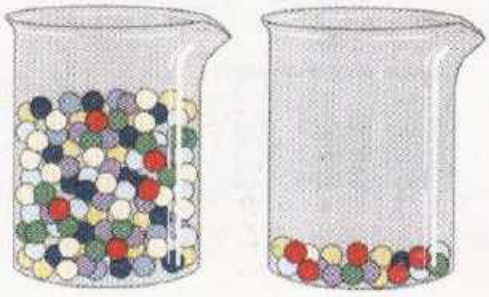
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

شکل ۳

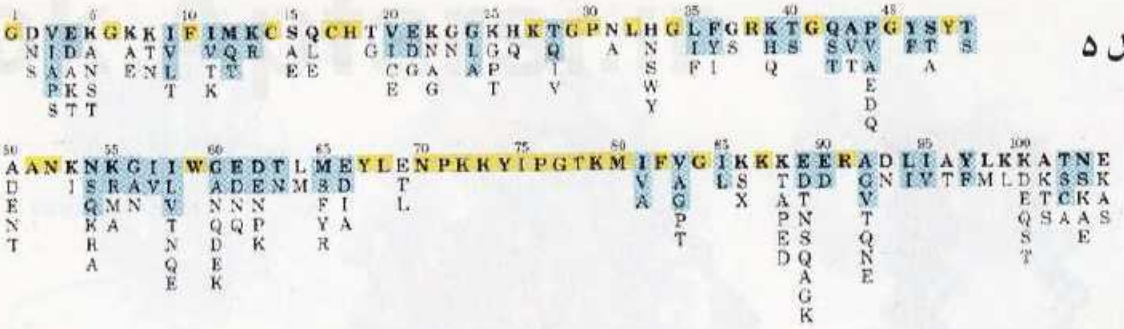


شکل ۴

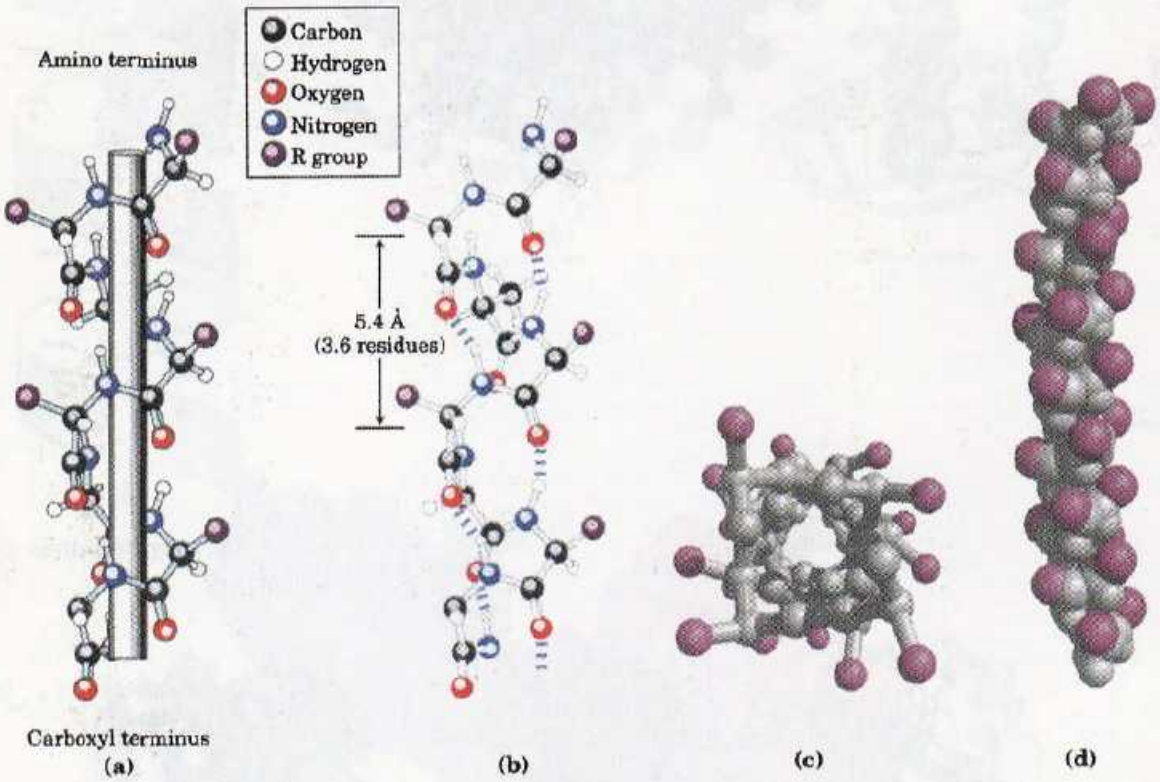


Book.Apfarsi.ir

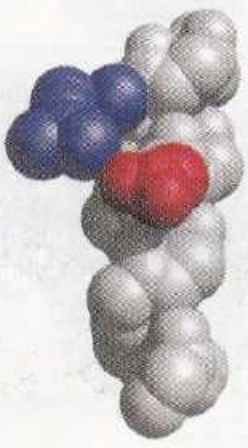
شکل ۵



شکل ۶



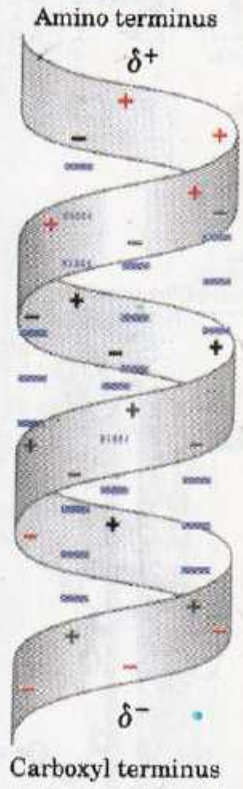
شکل ۷



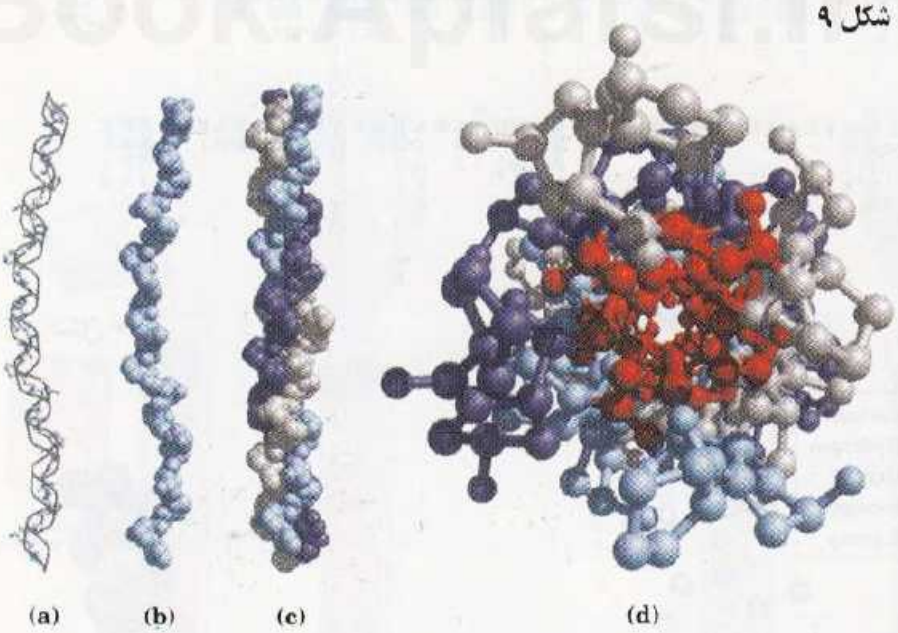
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

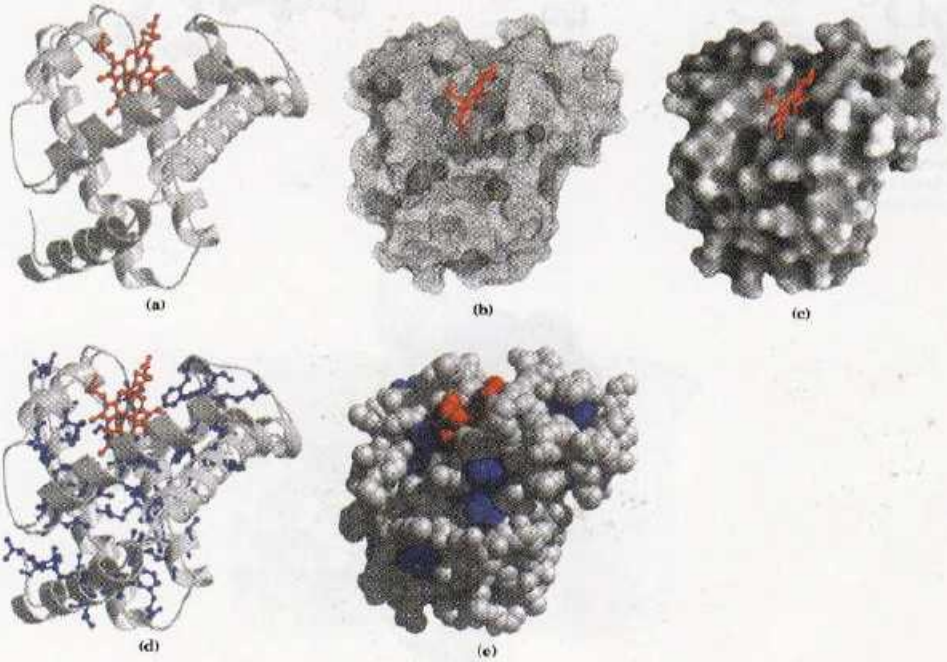
شکل ۸



شکل ۹



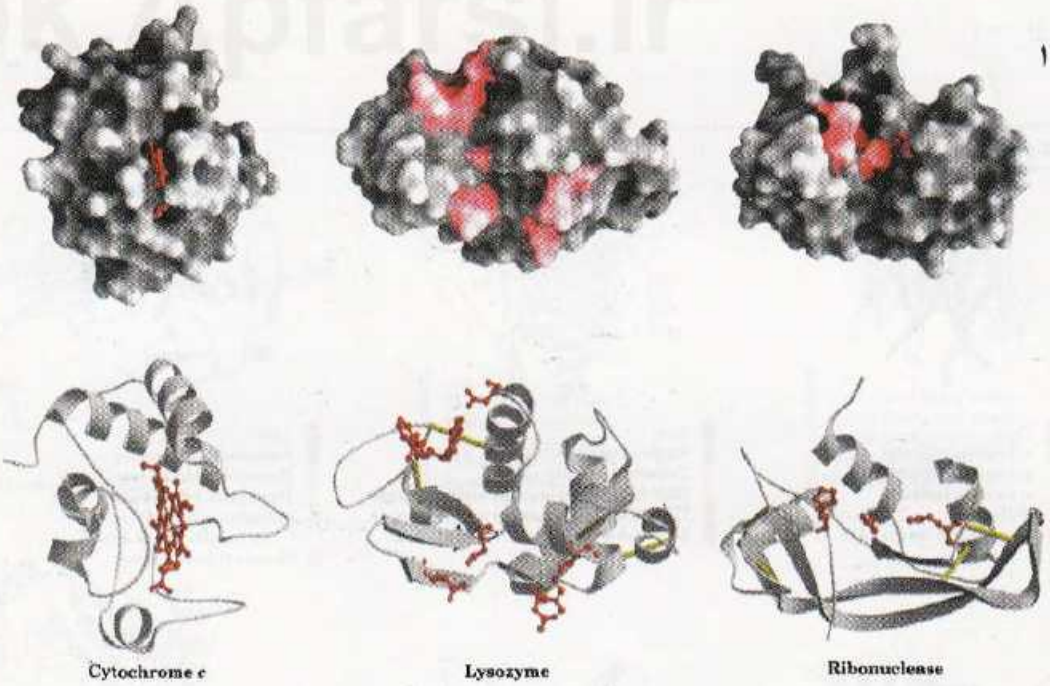
شکل ۱۰



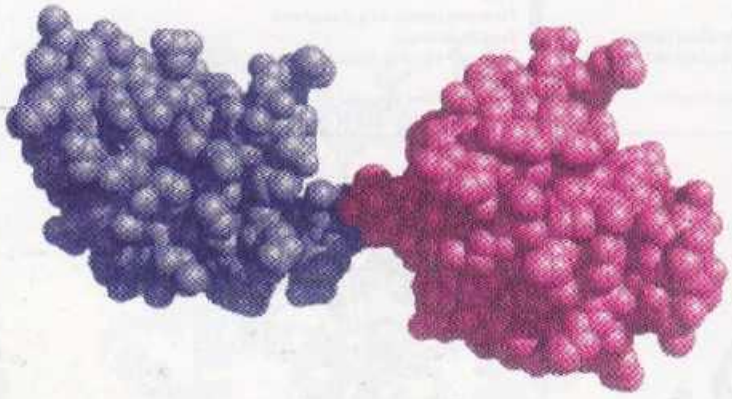
Book.Apfarsi.ir

Book Apfarsi.ir

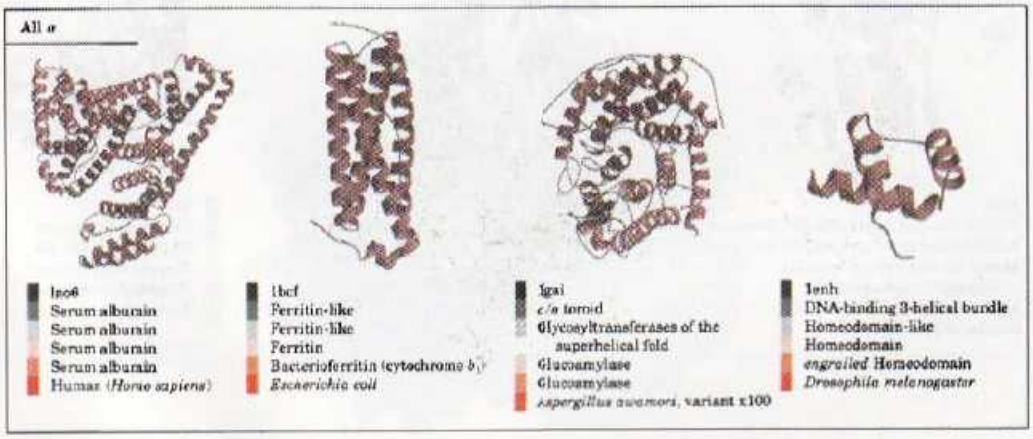
شکل ۱۱



شکل ۱۲



شکل ۱۳



Book Apfarsi.ir

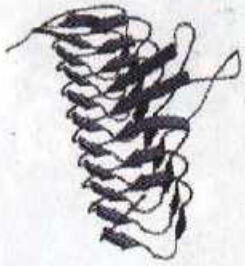
Book.Apfarsi.ir

ادامهٔ شکل ۱۳

All β



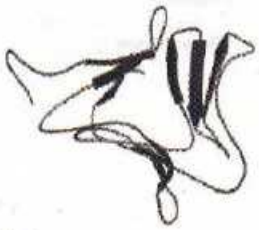
1hoe
α-Amylase inhibitor
α-Amylase inhibitor
α-Amylase inhibitor
HOE-467A
Streptomyces tendae 4158



1lxa
Single-stranded left-handed β helix
Trimeric LpxA-like enzymes
UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
UDP *N*-acetylglucosamine acyltransferase
Escherichia coli



1pex
Four-bladed β propeller
Hemopexin-like domain
Hemopexin-like domain
Collagenase-3 (MMP-13), carboxyl-terminal domain
Human (*Homo sapiens*)



1jpc
β-Prism II
α-D-Mannose-specific plant lectins
α-D-Mannose-specific plant lectins
Lectin (agglutinin)
Snowdrop (*Galanthus nivalis*)

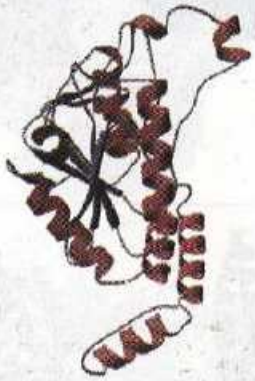


1cd8
Immunoglobulin-like β sandwich
Immunoglobulin
Antibody variable domain-like
CD8
Human (*Homo sapiens*)

α/β



1deh
NAD(P)-binding Rossmann-fold domains
NAD(P)-binding Rossmann-fold domains
Alcohol/glucose dehydrogenases, carboxyl-terminal domain
Alcohol dehydrogenase
Human (*Homo sapiens*)



1dub
Crotonase-like
Crotonase-like
Crotonase-like
Enoyl-CoA hydratase
Rat (*Rattus norvegicus*)

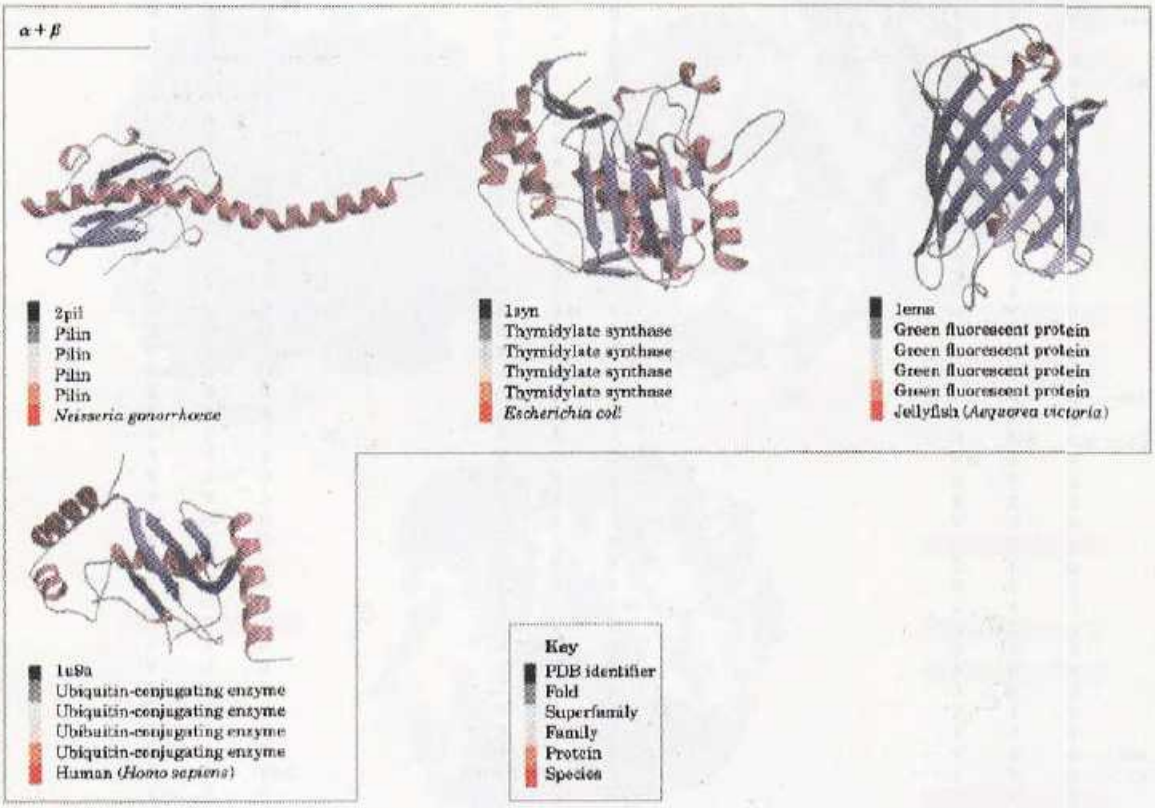


1pfk
Phosphofructokinase
Phosphofructokinase
Phosphofructokinase
Phosphofructokinase
Escherichia coli

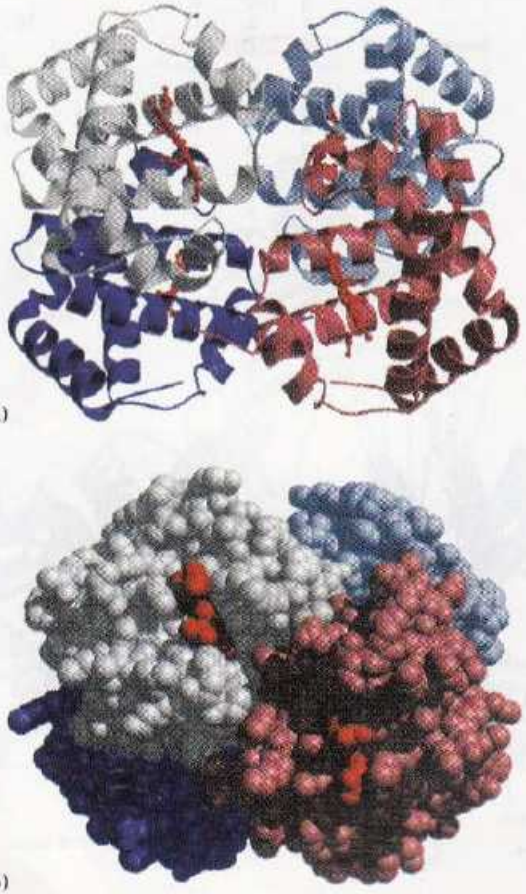
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

ادامهٔ شکل ۱۳

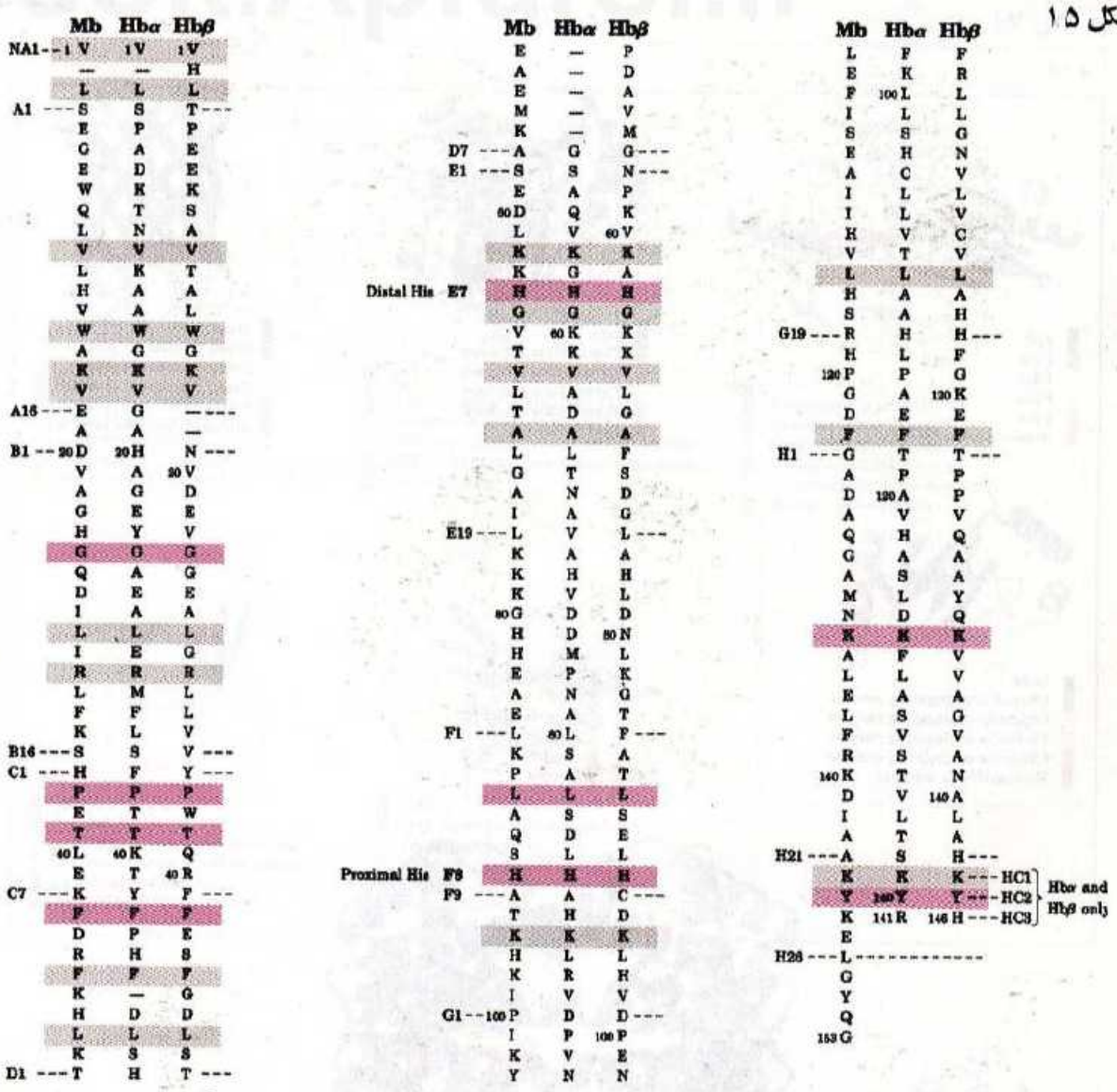


شکل ۱۴

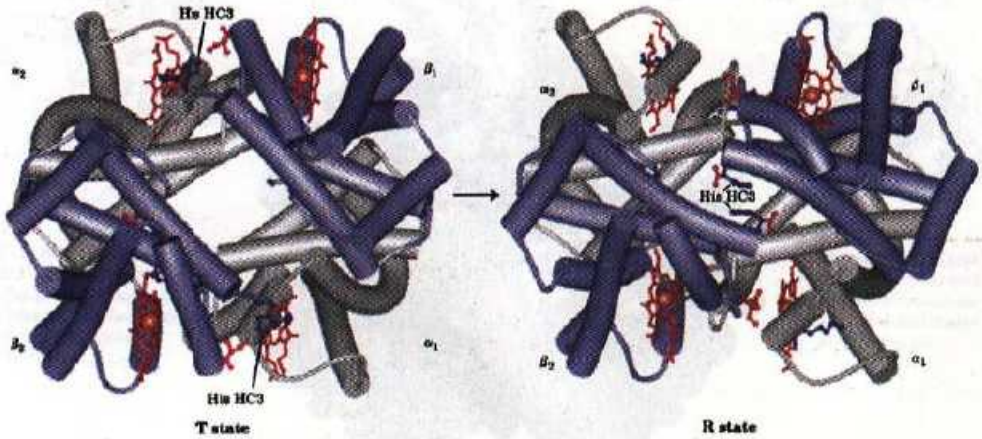


Book.Apfarsi.ir

شکل ۱۵

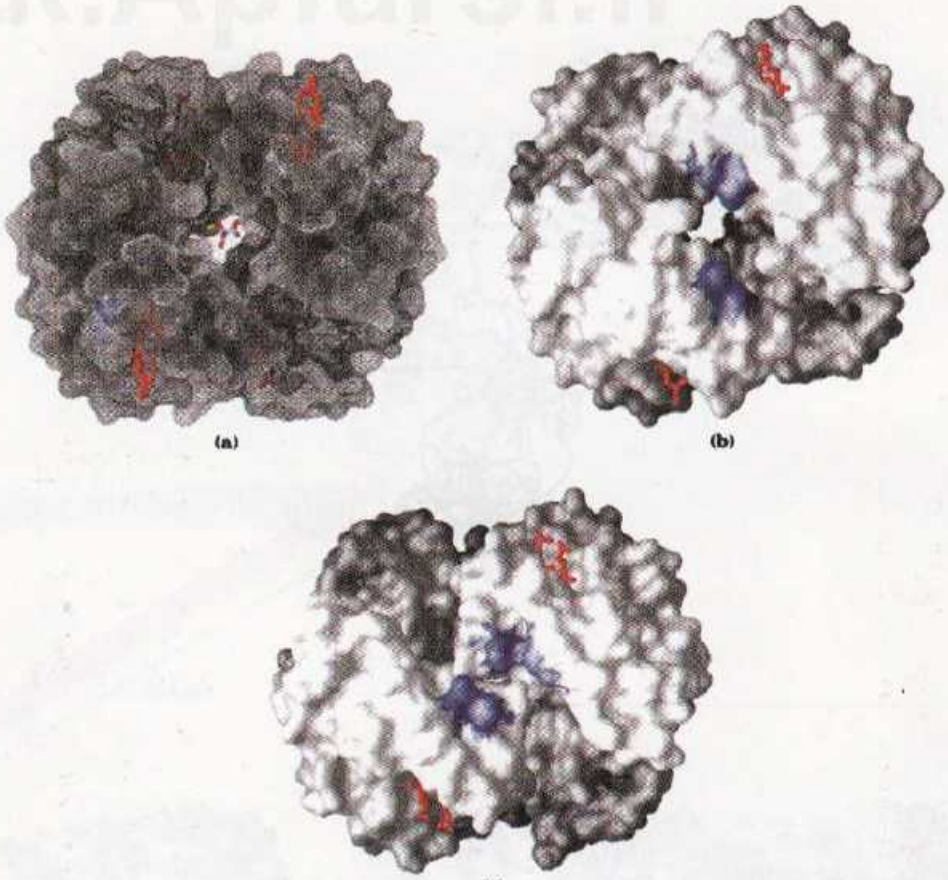

Mb Hbα Hbβ
Distal His E7
Proximal His F8
HC1
HC2
HC3
Hbα and Hbβ only

شکل ۱۶

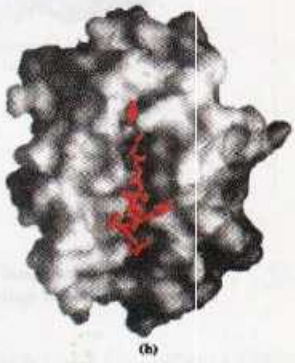

His HC3
His HC3
His HC3
T state
R state

Book.Apfarsi.ir

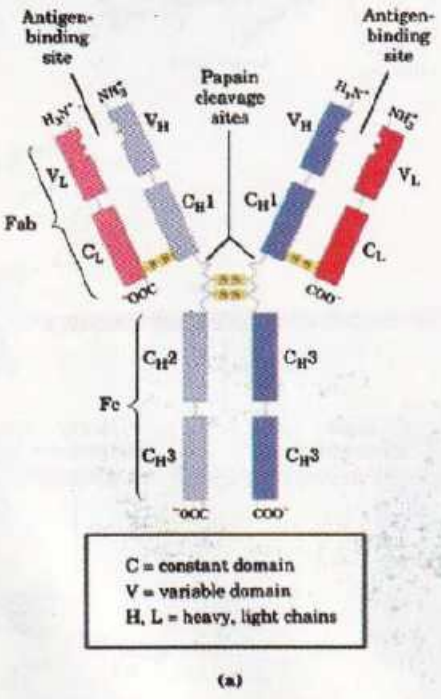
شکل ۱۷

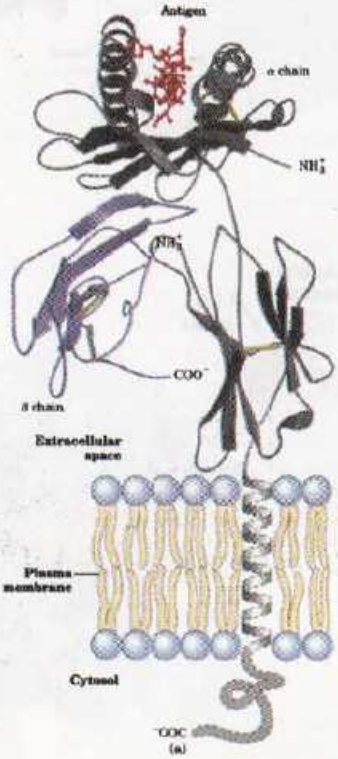


شکل ۱۸



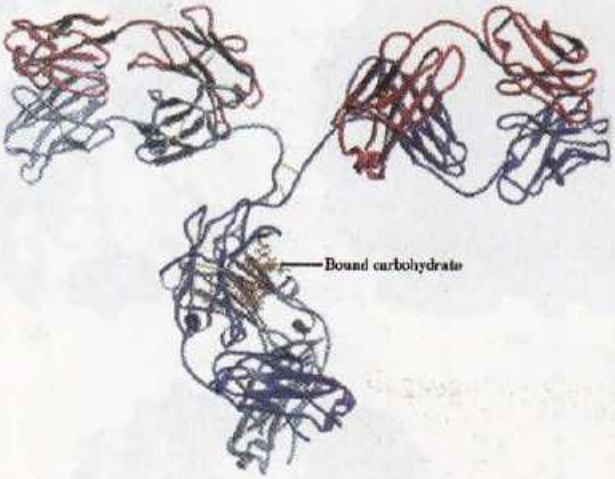
شکل ۱۹





Book.Apfarsi.ir

ادامهٔ شکل ۱۹

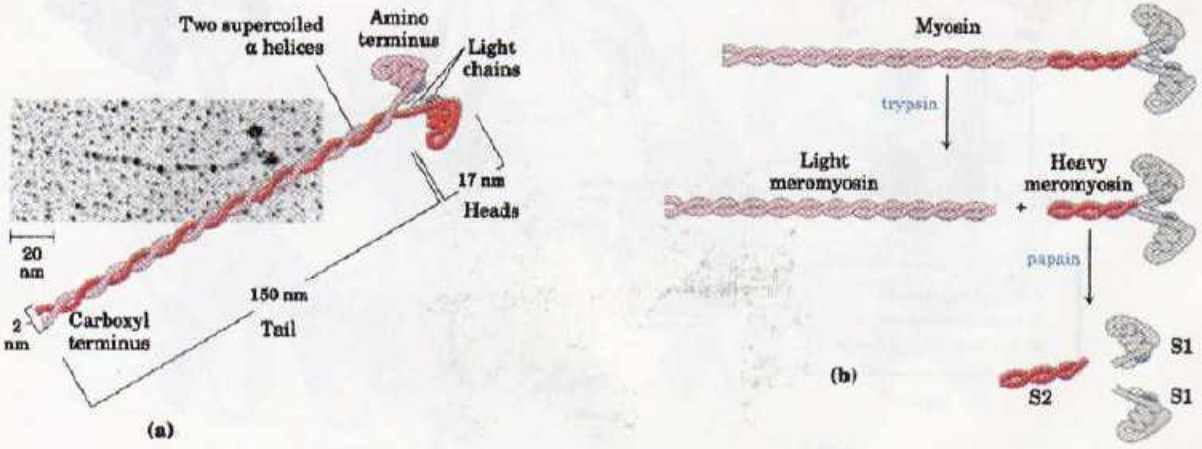


(b)

شکل ۲۰



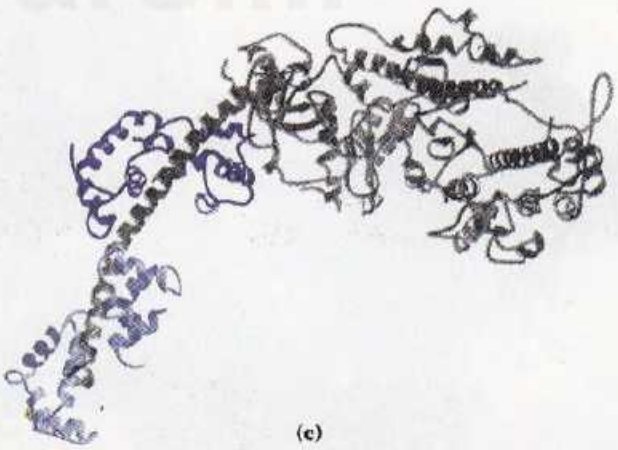
شکل ۲۱



Book.Apfarsi.ir

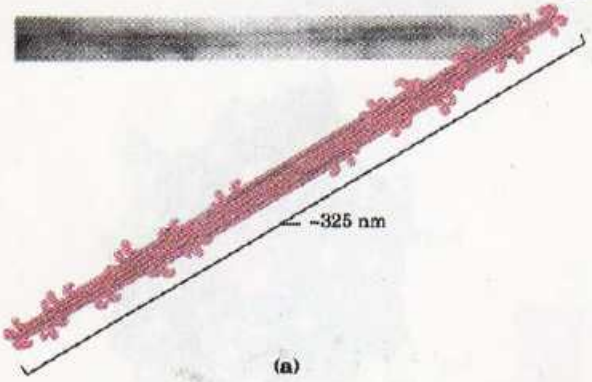
Book.Apfarsi.ir

ادامهٔ شکل ۲۱

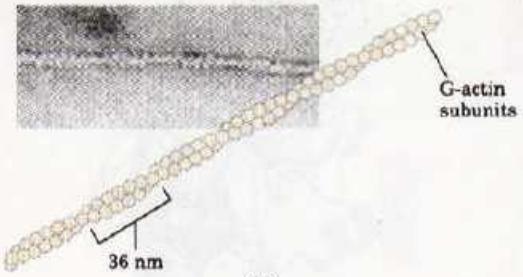


(c)

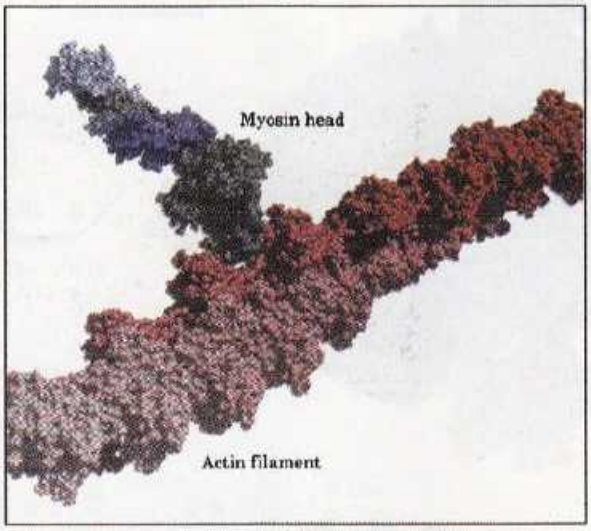
شکل ۲۲



(a)

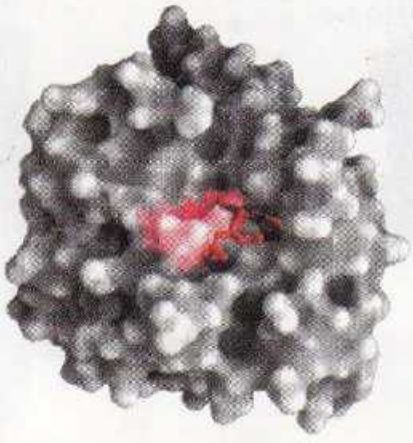


(b)



(c)

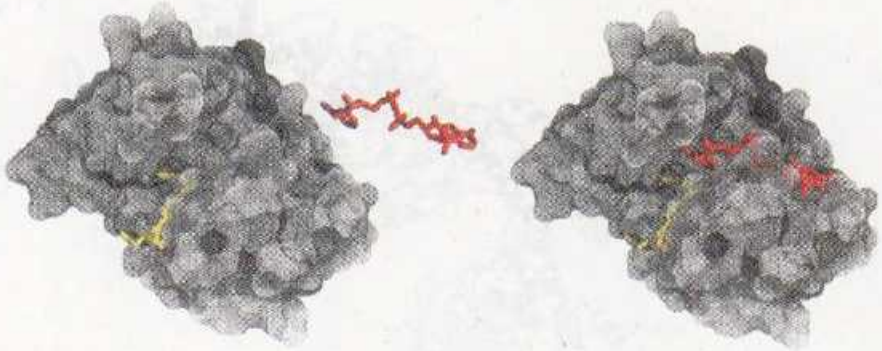
شکل ۲۳



Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

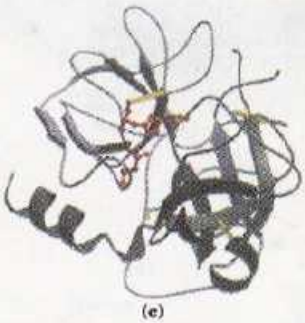
شکل ۲۴



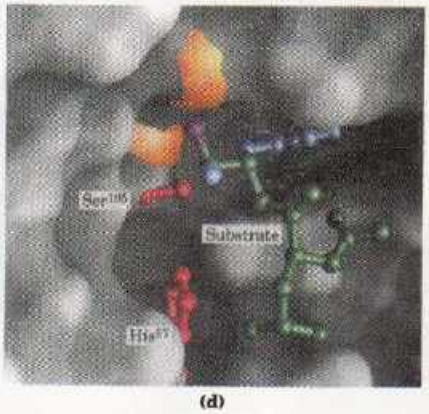
شکل ۲۵



(b)

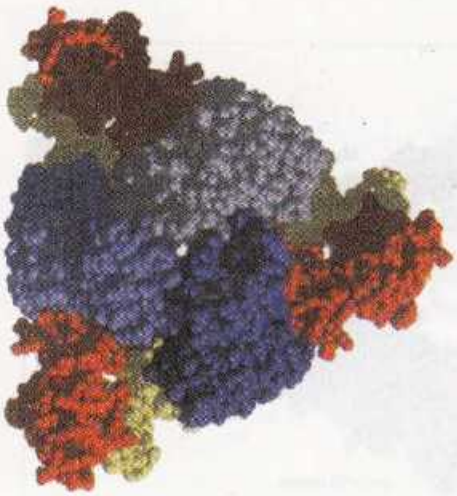


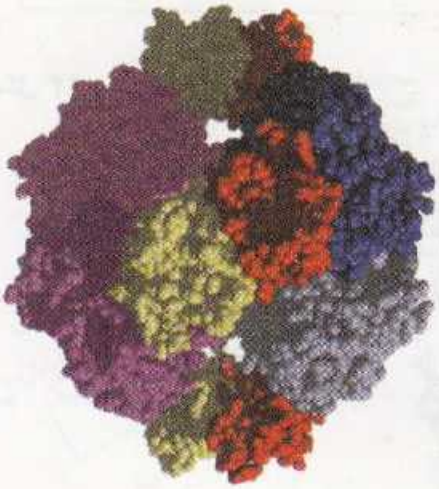
(c)



(d)

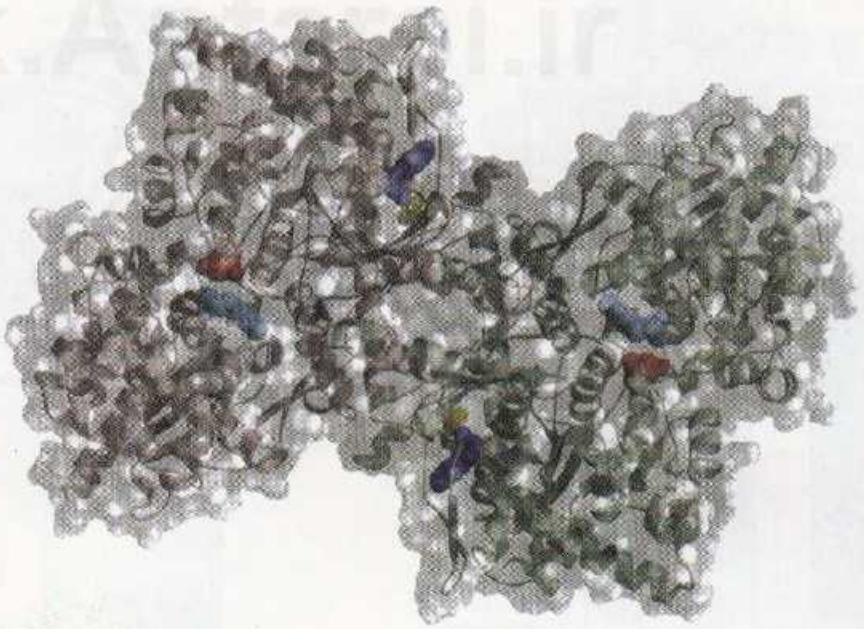
شکل ۲۶



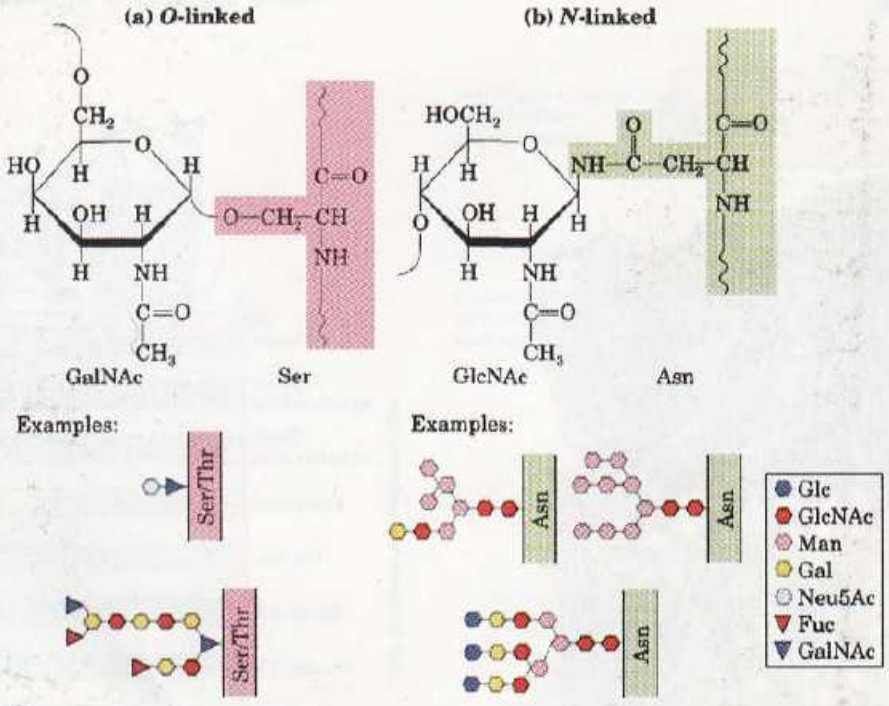


Book.Apfarsi.ir

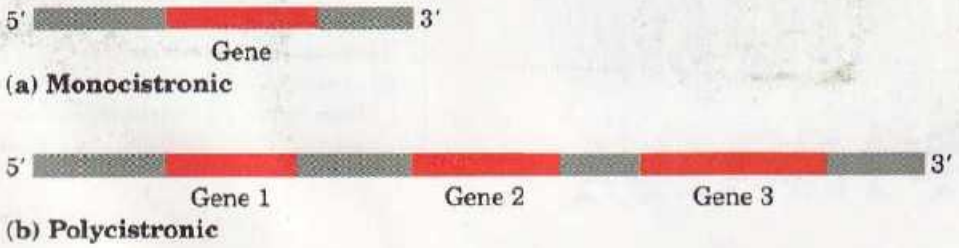
شکل ۲۷



شکل ۲۸



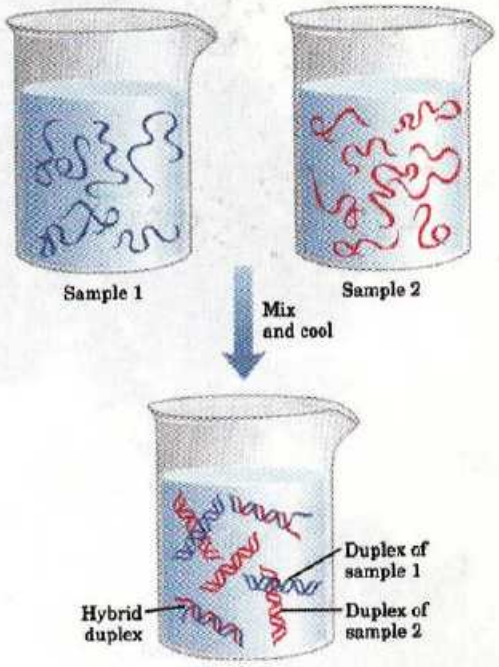
شکل ۲۹



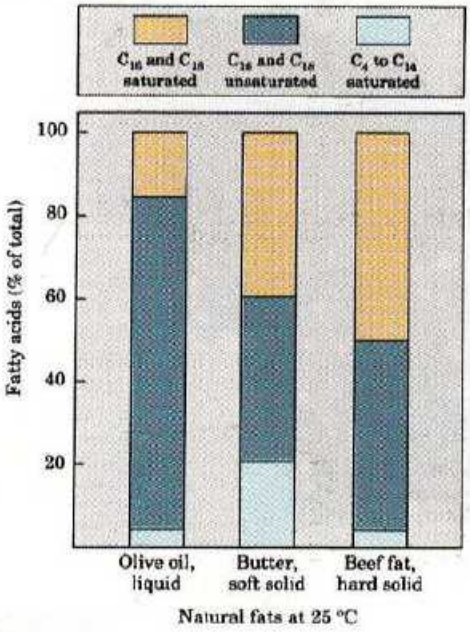
Book.Apfarsi.ir

Book.Apfarsi.ir

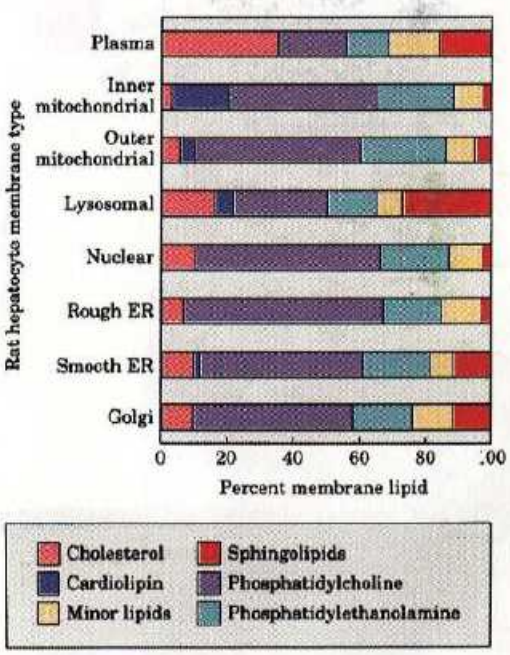
شکل ۳۰



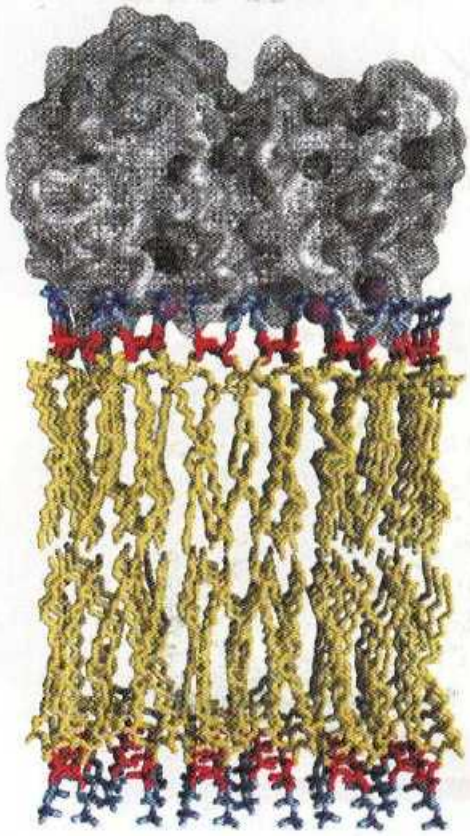
شکل ۳۱



شکل ۳۲

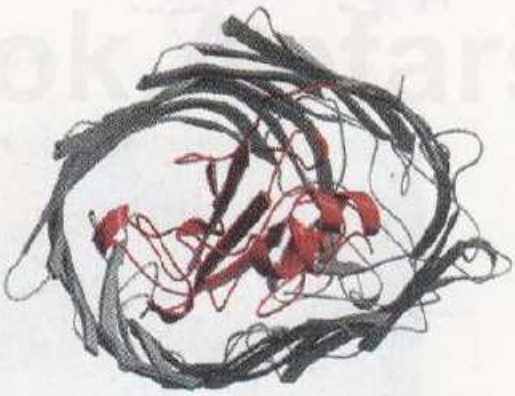


شکل ۳۳

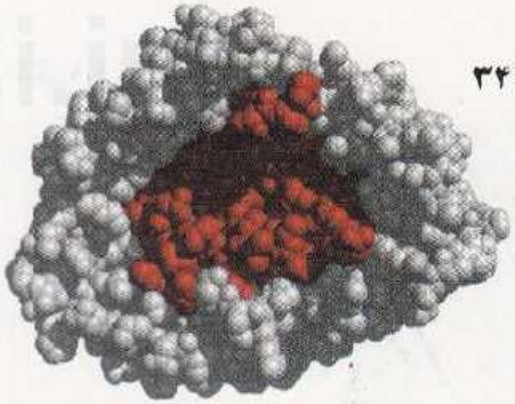


Book.Apfarsi.ir

شکل ۳۴

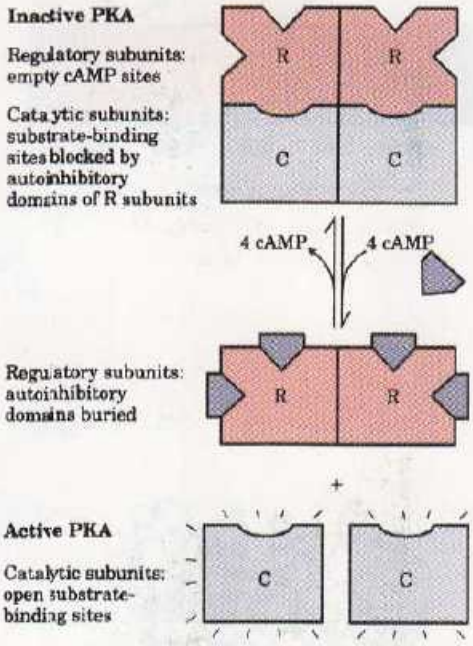


(a)

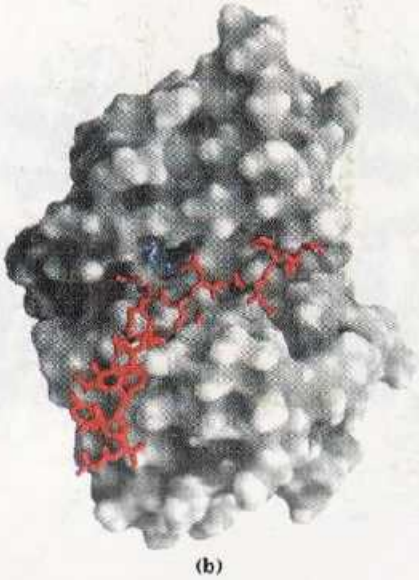


(b)

شکل ۳۶



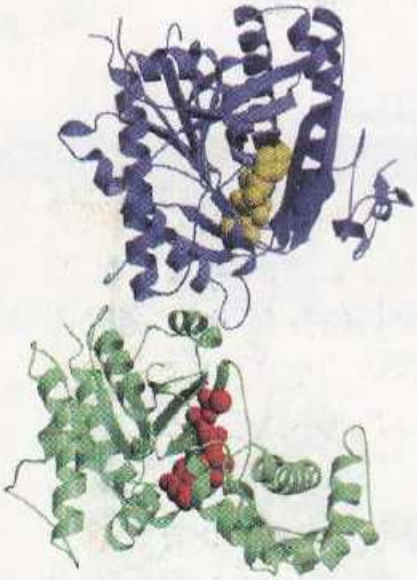
(a)



(b)

۱

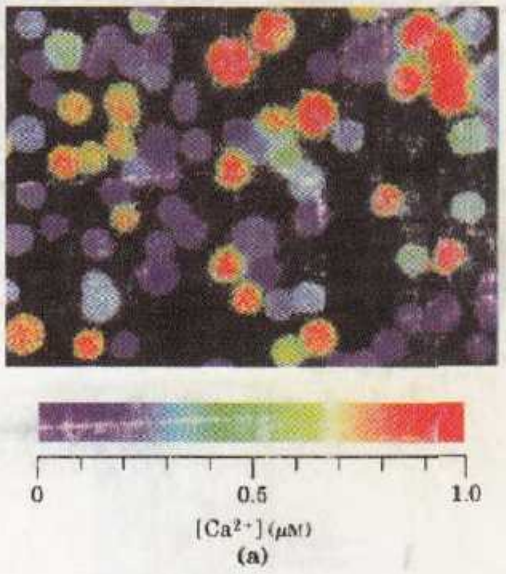
شکل ۳۵



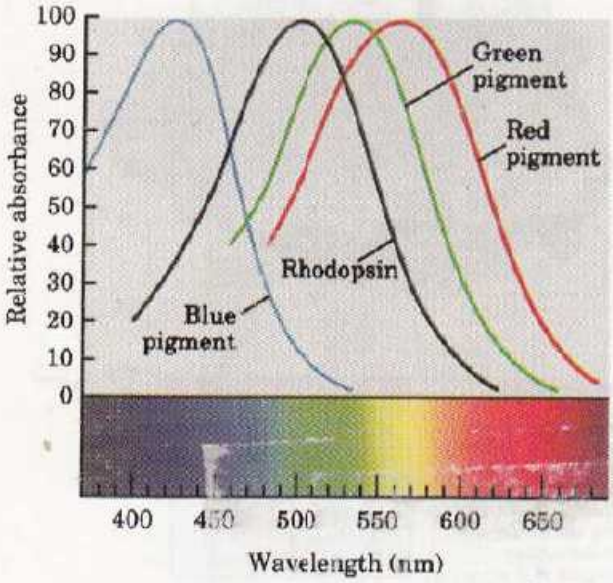
Book.Apfarsi.ir

دانشگاه
کتابخانه
دانشکده
علوم

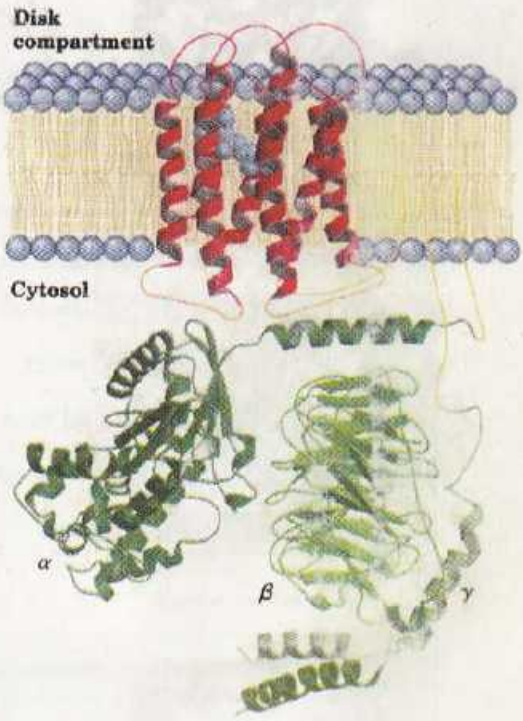
شکل ۳۷



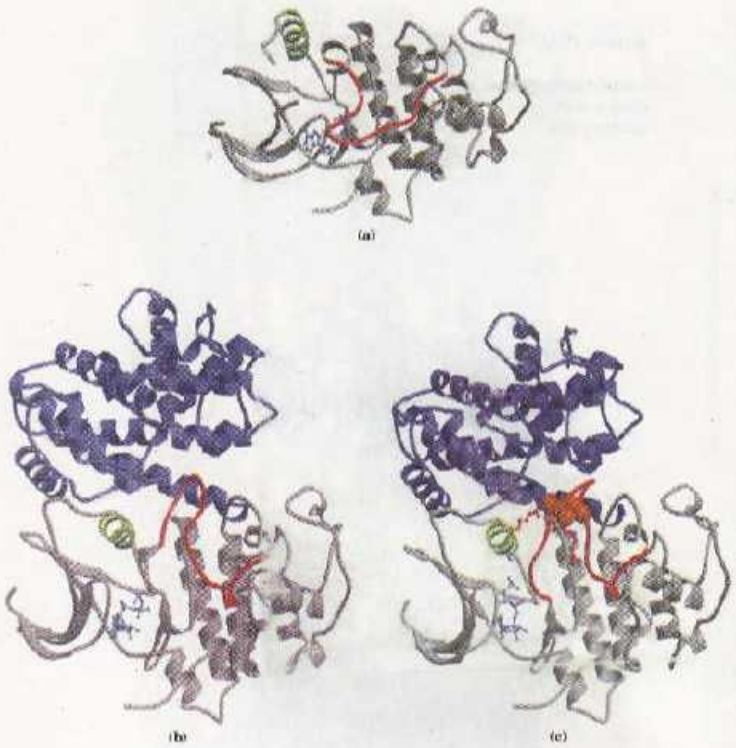
شکل ۳۹



شکل ۳۸



شکل ۴۰



Book Anfarsi.ir

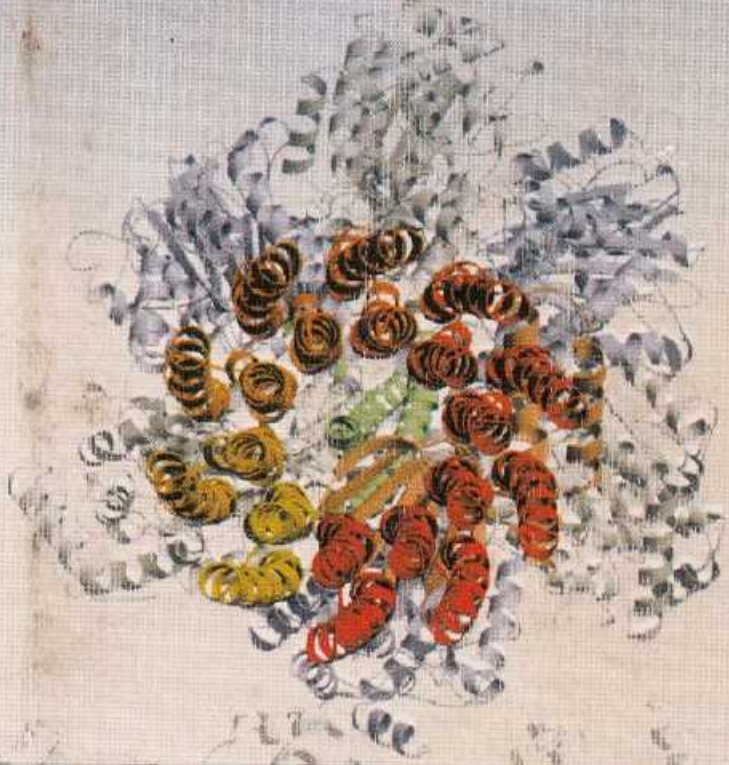
● DAVID L. NELSON ● MICHAEL M. COX

LEHNINGER PRINCIPLES OF BIOCHEMISTRY

THIRD EDITION

6th REPRINT REVISED

volume 1



R. MOHAMMADI Ph.D

hemist

er of medical faculty

اصول بیوشیمی لنینجر

01BF0000000004463

کتابخانه دانشکده علوم

9 799647 006605

ISBN 964-7006-58-6

آییژ