چکیده بیوشیمی بالینی دولین

درسنامه تشریحی

گردآورندگان

فرشاد میرزاوی
دانشجوی دکتری تخصصی بیوشیمی

حدیث السادات موسوی
دانشجوی دکتری تخصصی بیوشیمی

هیرش مریدی
دانشجوی دکتری تخصصی بیوشیمی

هیمن مرادی
دانشجوی دکتری تخصصی بیوشیمی

موسسه علمی انتشاراتی سنا (سامانه نوین‌آموز)

نام کتاب چکیده بیوشیمی بالینی دولین

گردآورندگان فرشاد میرزادی، حدیث السادات موسوی، هیرش مریدی و هیمن مرادی

نوبت چاپ ۱۳۹۷

صفحه‌آرایی سحر زعفرانی عیلام

طراح جلد علیرضا زمانی

پست الکترونیک elmisana@gmail.com

فروش اینترنتی sanabook.com

تیراژ ۱۰۰۰ نسخه

قیمت ۱۰۰۰۰۰ تومان

«شما می‌توانید کتاب‌های مؤسسه انتشاراتی علمی سنا را علاوه بر کتابفروشی‌های سراسر کشور، از نمایندگی‌های اختصاصی مؤسسه واقع در کلیه استان‌ها تهیه نمایید.»
آدرس نمایندگی‌ها در سایت sanapezeshki.com و یا انتهای کتاب درج شده است.
تلفن دفتر پخش: ۶۶۵۷۴۳۴۵ ـ ۰۲۱ ؛ داخلی ۳

فهرست مطالب

بخش اول ..... ساختار و مولکول ۱
فصل اول: ساختمان سلول ۱
فصل دوم: آب و الکترولیت ۵
فصل سوم: ساختمان اسیدنوکلئیک ۹
فصل چهارم: آمینواسیدها و ساختمان پروتئین‌ها ۲۳
فصل پنجم: آنزیم‌شناسی ۴۱
فصل ششم: سیتوکروم‌های P450 و نیتریک اکسیدسنتازها ۵۹
فصل هفتم: غشاهای زیستی و انتقال مواد ۶۵
فصل هشتم: انتقال پیام (سیگنالینگ) ۸۱
فصل نهم: همانندسازی، نوترکیبی و ترمیم DNA ۹۵
فصل دهم: رونویسی، ترجمه و تنظیم بیان ژن ۱۰۹

بخش دوم ..... بیوشیمی و متابولیسم ۱۲۹
فصل اول: سیستم‌های تولید کننده و مصرف کننده انرژی ۱۲۹
فصل دوم: متابولیسم و کربوهیدرات‌ها ۱۵۱
فصل سوم: متابولیسم لیپیدها ۱۹۹
فصل چهارم: متابولیسم اسیدهای آمینه ۲۴۷
فصل پنجم: متابولیسم هم ۲۸۳
فصل ششم: هضم و جذب مواد غذایی ۲۹۱
فصل هفتم: ارتباط متابولیکی ۳۰۵
فصل هشتم: متابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی و پیریمیدینی ۳۲۷
فصل نهم: ویتامین‌ها و مواد معدنی ۳۴۹
فصل دهم: بیوشیمی هورمون‌ها ۳۶۹
فصل یازدهم: بیوشیمی بافت ۴۰۳
فصل دوازدهم: مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده در سرطان ۴۲۳

پیشگفتار

کتاب خلاصه بیوشیمی دولینی که در دست دارید جهت آزمون دکترای تخصصی و به عنوان مکمل کتاب بیوشیمی صفر تاصد تهیه و اماده شده است. در این کتاب سعی شده است مواردپایه ای که در کتاب صفر تاصد وجود دارد در حد امکان حذف شود تا دانشجو نیاز به دوباره خوانی نداشته باشد. بهترین روش برای مطالعه این کتاب خلاصه این است که فرد ابتدا هر فصل را توسط کتاب صفر تا صد بیوشیمی مطالعه نماید سپس همان فصل را در کتاب چکیده دولین خوانده و نکات بالینی که در این کتاب آورده شده است را در کنار آن حفظ و به حافظه بسپارد. در این روش دیگر خلای از جهت حذف نکات پایه ای کتاب حس نخواهد شد. با امید آنکه توانسته باشیم اندکی از مسیر قبولی در دوره دکترای تخصصی را برای شما عزیزان کوتاه تر کرده باشیم.

بخش اول: ساختار و مولکولی

فصل اول: ساختمان سلول

سلول‌ها اساس موجودات زنده هستند

اساس تمام موجودات زنده، را فضایی تشکیل می‌دهد که توسط غشاء احاطه شده است. این فضا را سلول می‌گویند. تمام موجودات زنده در یکی از سه دومن اصلی آرکی‌ها، یوباکتری‌ها و یوکاریوت‌ها گروه بندی می‌شوند. آرکی‌ها که ممکن است ابتدایی‌ترین دومن باشند، و باکتری‌ها که شامل باکتری‌های معمول می‌باشند، تحت عنوان **پروکاریوت‌ها** طبقه بندی می‌شوند. DNA پروکاریوت‌ها بصورت رشته حلقوی است و اغلب بصورت توده مجزایی، بنام **ناحیه نوکلوئید**، در داخل سلول جدا می‌شود.

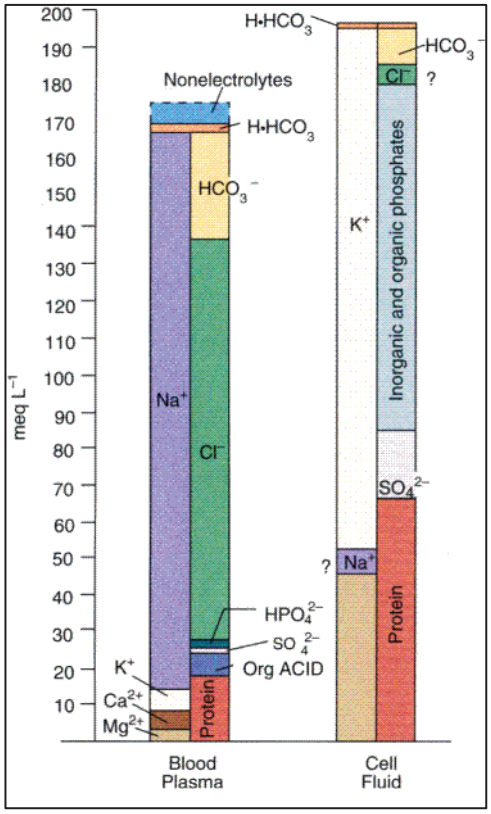
یوکاریوت‌ها شامل موجودات تک سلولی نظیر مخمرها، قارچ‌ها، گیاهان و حیوانات چند سلولی هستند. حجم سلولی آنها ۱۰۰۰ تا ۱۰,۰۰۰ برابر بزرگتر از اکثر سلول‌های پروکاریوتی است. یوکاریوت‌ها یک هسته مشخص با یک غشاء کاملاً مشخص دارند که DNA سلولی را در برمی‌گیرد. این سلول‌ها همچنین سیستم‌های غشایی و اندامک‌های داخل سلولی وسیعی دارند که توسط غشاء احاطه شده‌اند. پروکاریوت‌ها فاقد هیستون‌ها هستند که یک کلاس شدیداً حفظ شده پروتئین‌ها در تمامی یوکاریوت‌ها می‌باشند. پستانداران یکی از پیچیده‌ترین موجودات پرسلولی هستند؛ در این کلاس مهره‌داران، بیش از ۵۴۰۰ گونه وجود دارند. بیش از ۲۰۰ نوع سلول مختلف در انسان وجود دارند که خصوصیات فیزیکی و شیمیایی متفاوتی دارند.

ترکیب شیمیایی سلول‌های پستانداران

در شکل ۱-۱ برآوردی از ترکیب یونی مایع داخل سلولی که اساساً مربوط به سیتوزول می‌باشد، با پلاسمای خون مقایسه شده است.

Na^+ کاتیون اصلی خارج سلولی با غلظت حدود ۱۴۰ meq/L(mM) است؛ Na^+ کمی در مایع داخل سلولی وجود دارد. K^+ کاتیون اصلی داخل سلولی است. Mg^{2+} در هر دو بخش خارج و داخل سلولی با غلظت‌های بسیار کمتر از Na^+ و K^+ وجود دارد. آنیون‌های خارج سلولی اصلی شامل Cl^- و HCO_3^- و با مقادیر کمتری فسفات و سولفات هستند. اکثر

پروتئین‌ها در PH خنثی بار منفی دارند. آنیون‌های داخل سلولی اصلی شامل فسفات معدنی، فسفات‌های آلی و پروتئین‌ها هستند.



شکل ۱-۱. اجزاء شیمیایی اصلی پلاسمای خون و مایع سلولی.

اندامک‌های سلول‌های یوکاریوتی

غشای پلاسمایی

غشای پلاسمایی مرز محدود کننده یک سلول است. ترکیب پروتئینی آن در انواع مختلف سلول‌ها با هم متفاوت است اما محتوای لیپیدی آن معمولاً مشابه می‌باشد.پروتئین‌های غشا گذر (اینتگرین‌ها) با اتصال به اسکلت داخل سلولی باعث انتقال دو طرفه پیام از طریق ایجاد برهمکنش چسبندگی بین سطح خارجی غشا ماتریکس خارج سلولی می‌شود. غشای پلاسمایی از طریق عناصر اسکلت سلولی در تعیین شکل و حرکت سلول‌ها دخالت دارد و به دلیل ماهیت لیپیدی غشا بسیاری از مواد اجازه عبور و مرور را ندارند اما با وجود مکانیسم‌های انتقالی امکان حرکت انتخابی مولکول‌های آلی و آب امکان پذیر شده است. غشاء پلاسمایی با مواد سیتوپلاسمی مختلفی تعامل می‌کنند تا آندوسیتوز و اگزوسیتوز را انجام دهند. غیر از نقش در برداشت مایع خارج سلولی، **آندوسیتوز** نقش مهمی در مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده، تحت عنوان آپوپتوز دارد.

هسته

هسته توسط دو غشاء احاطه شده که پوشش هسته‌ای نام دارند. پوشش هسته کمپلکس‌های چند پروتئینی متعددی، تحت عنوان کمپلکس‌های منفذ هسته، دارد که اتصال عرضی در پوشش ایجاد می‌کند. این کمپلکس امکان کنترل حرکت ذرات بین ماتریکس هسته و سیتوپلاسم را فراهم می‌سازد. محققان معتقدند که پوشش هسته غیر از عمل به عنوان یک سد بین ماتریکس هسته و سیتوپلاسم، نقش‌های مهم دیگری را نیز بر عهده دارد. **سندروم پیری زودرس هاچینگسون-گیلفورد (HGPS)** یک حالت بسیار نادر است که در آن، سرعت افزایش سن از بدو تولد، ۶ تا ۸ برابر سریعتر از حالت طبیعی است. به نظر می‌رسد در این بیماران پوشش هسته شکل طبیعی ندارد. **لامینای A** که یک پروتئین ساختمانی در هسته است، در سنتز هسته‌ای DNA و RNA نقش دارد. مبتلایان به HGPS دچار کمبود سنتز این پروتئین هستند که نتیجه آن تجمع یک لامینای A غیرطبیعی در سلول‌های طبیعی با افزایش سن می‌باشد. وجود این پروتئین غیر طبیعی منجر به ایجاد حباب در هسته، تغییر بیان ژن و تداخل با میتوز می‌شود.

شبکه آندوپلاسمی (ER)

شبکه آندوپلاسمی در تا خوردن پروتئین‌ها مشارکت می‌کند. این شبکه از پوشش هسته تا غشای پلاسمایی امتداد یافته که در برخی قسمت‌ها از غشاهایی با ظاهر صاف (SER) و در برخی محل‌ها، از غشاهایی با ظاهر خشن (RER)

تشکیل شده است. **شبکه آندوپلاسمی صاف** دارای آنزیم‌هایی به نام سیتوکروم P450 است که در بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی، برداشت مواد سمی و متابولیسم داروها اهمیت دارند. SER در سنتز انواع فسفولیپیدها (به جز پلاسمالوژن) شرکت می‌کند و محل انجام اُمگااکسیداسیون اسیدهای چرب است. **شبکه آندوپلاسمی خشن،** بدلیل وجود ذرات ریبونوکلئوپروتئینی به نام ریبوزوم‌ها، ظاهری خشن دارد. ریبوزوم‌ها یا به غشای ER متصل هستند که باعث تولید پروتئین‌های ترشحی، پروتئین‌های غشایی و آنزیم لیزوزومی می‌شوند، و یا در سیتوزول بصورت آزاد وجود دارند که در سنتز پروتئین‌های میتوکندریایی، پراکسی‌زومی، هسته‌ای و سیتوزولی نقش دارند.

دستگاه گلژی

دستگاه گلژی که به آن کمپلکس گلژی نیز گفته می‌شود، شبکه‌ای از کیسه‌های غشایی صاف پهن به نام **سیسترنا** و وزیکول‌ها است. آنزیم‌های موجود در گلژی انتقال زیرواحدهای قندی به پروتئین‌ها را کاتالیز می‌کنند (گلیکوزیلاسیون) تا گلیکوپروتئین‌ها سنتز شوند؛ این فرایند در تعیین مقصد نهایی پروتئین بسیار مهم است. گلژی محل اصلی سنتز غشای جدید است، و همراه با شبکه آندوپلاسمی در تولید لیزوزوم‌ها و پراکسی‌زوم‌ها و پیام رسانی Ca^{2+} نقش ایفا می‌کند. علاوه بر اینها، گلژی در حرکت لیپیدها در سلول نیز نقش دارد. وزیکول‌هایی که از گلژی منشأ می‌گیرند، پروتئین‌هایی نظیر هورمون‌ها، پروتئین‌های پلاسمای خون و آنزیم‌های گوارشی را به غشاء پلاسمایی انتقال می‌دهند.

میتوکندری

میتوکندری‌ها که به عنوان نیروگاه سلولی مسئول سنتز بیش از ۹۰٪ ATP مورد نیاز سلول‌هاست. میتوکندری‌ها همچنین نقش‌های مهمی در فعالیت‌های سلولی متنوع، نظیر آپوپتوز، تولید کونه‌های اکسیژن واکنشگر (ROS)، پیام رسانی سلولی، و فعالیت‌های متابولیکی مختلف دارند. ماتریکس داخلی این اندامک **(میتوزول)** توسط دو غشاء احاطه شده است که از نظر ظاهر، ترکیب و عملکرد بیوشیمیایی با یکدیگر اختلاف دارند. غشای خارجی آن نسبت به مواد نفوذپذیر است زیرا در آن کانال‌های پروتئینی بنام **پورین** وجود دارد که در این انتقال، مشارکت می‌کنند، ولی غشای داخلی آن دارای نفوذپذیری انتخابی است. میتوکندری‌ها یک نقش کلیدی در افزایش سن دارند؛ **سیتوکروم c** به عنوان یکی از اجزای سیستم انتقال الکترون میتوکندریایی، شروع کننده آپوپتوز است. میتوکندری‌ها در همانندسازی خود نقش دارند. DNA حلقوی میتوکندری (mtDNA)، **۲ مولکول rRNA (۱۲ S و ۱۶ S)، ۲۲ مولکول tRNA** و **۱۳ مولکول mRNA** اختصاصی خود را سنتز می‌کند. از بیماری‌های ژنتیکی که مربوط به میتوکندریایی است می‌توان به **نوروپاتی بینایی ارثی لِبِر** اشاره کرد، که منجر به کوری ناگهانی در ابتدای بزرگسالی می‌شود. بسیاری از بیماری‌های میتوکندریایی سبب اختلال در عضلات اسکلتی و سیستم عصبی مرکزی می‌شوند.

لیزوزوم

لیزوزوم‌ها مسئول هضم داخل سلولی هر دو مواد خارج سلولی و داخل سلولی هستند. این اندامک‌ها دارای یک PH اسیدی (PH=۵) و کلاسی از آنزیم‌های گلیکوپروتئینی بنام **هیدرولازها** هستند که می‌توانند طیف وسیعی از ماکرومولکول‌ها را تجزیه و تخریب کند. تخریب غشای لیزوزومی در داخل سلول‌ها، منجر به هضم سلولی می‌شود. سلول‌ها، ذرات خارجی نظیر میکروارگانیسم‌ها و ویروس‌ها را به طریق **فاگوسیتوز**، مایعات را به طریق **پینوسیتوز** و پروتئین‌های اختصاصی را به طریق **آندوسیتوز (یک فرایند وابسته به گیرنده)** برداشت می‌کنند. ترکیبات و مولکول‌هایی که بایستی تجزیه و تخریب شوند، توسط لیزوزوم‌ها شناسایی و طی یک فرایند کاملاً تنظیم شده بنام **اتوفاژی** هیدرولیز می‌شوند. اتوفاژی نه تنها در سلول‌های پستانداران تحت استرس، بلکه در سلول‌های طبیعی نیز مهم است؛ گرسنگی و هورمون‌های اختصاصی، اتوفاژی را القاء می‌کنند. شرایط پاتولوژیکی مختلفی، نظیر آرتریت،

پاسخ‌های آلرژیک، چندین بیماری عضلانی و تخریب بافتی ناشی از دارو، با آزادسازی آنزیم‌های لیزوزومی ارتباط دارند. اسید اوریک که حاصل کاتابولیسم پورین‌هاست، نسبتاً نامحلول بوده و منجر به نقرس می‌شود. کریستال‌های اورات که توسط سلول‌ها فاگوسیت شده‌اند در داخل واکوئل‌های گوارشی تجمع یافته و سبب آسیب به آنها و آزاد شدن آنزیم‌های لیزوزومی به داخل سیتوزول می‌شوند. این آنزیم‌ها با فعالیت هیدرولیتیک خود منجر به تخریب اجزاء سلولی می‌گردند. بیماری‌های ذخیره‌ای لیزوزومی نیز در نتیجه نقص آنزیم‌های لیزوزومی می‌باشد که در فصل‌های بعدی به آنها اشاره خواهد شد.

پراکسی‌زوم

اکثر سلول‌های پستانداران، تک‌یاخته‌ها و گیاهان، اندامک‌هایی بنام پراکسی‌زوم یا **میکروبادی** دارند که نام اخیر آنها بدلیل توانایی آنها در تولید یا مصرف پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌باشد. وجود پراکسی‌زوم‌ها برای اکسیداسیون اسیدهای چرب بلند زنجیر و سنتز گلیسرولیپیدها، پلاسمالوژن‌ها و ایزوپرونوئیدها ضروری است. این اندامک‌ها همچنین حاوی آنزیم‌هایی برای اکسیداسیون D–آمینو اسیدها و اسیداوریک می‌باشند. انواع مختلفی از زنوبیوتیک‌ها (مواد خارجی) نظیر آسپرین سبب تکثیر پراکسی‌زوم‌ها در کبد می‌شوند، داروهای کاهنده چربی خون مانند کلوفیبرات‌ها نیز سبب القای آنزیم‌های پراکسی‌زومی می‌شوند. بیش از ۲۵ بیماری ژنتیکی مرتبط با پراکسی‌زوم‌ها وجود دارد. **سندروم Zellweger** شدیدترین حالت است که بدلیل فقدان پراکسی‌زوم‌های وظیفه دار مشخص می‌شود؛ بیمار معمولاً تا ۶ ماهگی می‌میرد.

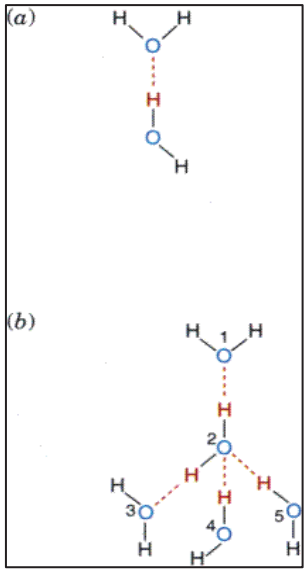
جدول ۱–۱. خلاصه‌ای از بخش‌های مختلف سلول‌های یوکاریوتی و نقش‌های اصلی آن

بخش	فعالیت اصلی
غشای پلاسمایی	حمل و نقل یون ها و مولکول ها با شیوه های اگزوسیتوز، آندوسیتوز و پینوسیتوز، عمل در شناسایی سلول های دیگر، دارای گیرنده های سطح سلولی،
سیتوزول	متابولیسم کربوهیدرات، اسیدهای آمینه، نوکلئوتیدها
هسته	همانندسازی، رونویسی
هستک	رونویسی و پردازش rRNA
شبکه آندوپلاسمی	غشاسازی، سنتز لیپیدها، استروئیدها، و پروتئین، سم زدایی،
دستگاه گلژی	گروه بندی پروتئین‌ها برای انتقال به اندامک‌های مختلف و ترشح
میتوکندری	زنجیره انتقال الکترون و تولید ATP، اکسیداسیون مولکول ها (پیروات، اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب)، سیکل اوره، سنتز هم
لیزوزوم	مرگ سلولی، هضم اجزای سلول
پراکسی زوم	اکسیداسیون لیپید، واکنشهای اکسیداتیو توسط CO2، تجزیه H2O2
اجزای اسکلت سلولی (میکروتوبول، فیلامان حدواسط، میکروفیلامان)	شکل دادن به سلول، حرکت سلولی

فصل دوم:

آب و الکترولیت

حدود ۶۰٪ وزن بدن را آب تشکیل می‌دهد. پنج مولکول آب با ایجاد پیوندهای هیدورژنی، تولید یک **ساختمان چهار وجهی** می‌کنند (شکل ۱-۲) که در آن هر اتم اکسیژن الکترون‌های خود را با چهار اتم هیدروژن، و هر اتم هیدروژن با اکسیژن دیگر به اشتراک می‌گذارد. زاویه‌ی پیوند بین اتم‌های هیدروژن و اکسیژن $۱۰۴/۵^{\circ}$ است، و نیمه عمر پیوندهای هیدروژنی در آب کمتر از ۱×۱۰^{-۱۱} s می‌باشد، لذا ساختمان آب دائماً در حال تغییر است.



شکل۱-۲. ایجاد پیوند هیدروژنی در آب

الکترولیت‌ها: تفکیک مولکول‌ها در آب

الکترولیت‌ها، مولکول‌هایی هستند که در آب تفکیک می‌شوند و تولید کاتیون و آنیون می‌کنند. قندها و الکل‌ها **غیرالکترولیت** هستند، زیرا به راحتی در آب حل می‌شوند و به گونه‌های باردار تفکیک نمی‌شوند. املاح فلزات قلیایی (مانند Li، Na، Mg و K)، اسیدهای قوی (نظیر HCL، H_2SO_4 و HNO_3) و بازهای قوی (مانند KOH، NaOH و $Ca(OH)_2$) در غلظت‌های پائین، و نه لزوماً در غلظت‌های بالا، بطور کامل در آب تفکیک می شوند. اینها را **الکترولیت قوی** می‌نامند. برخلاف املاح، بسیاری از اسیدها وقتی در آب حل می‌شوند، کاملاً تفکیک نمی‌گردند

مانند اسید لاکتیک. این ترکیبات را **الکترولیت‌های ضعیف** می‌نامند. در تفکیک نسبی یک الکترولیت ضعیف که با HA نشان داده می‌شود، می‌توان غلظت گونه‌های مختلف را با معادله زیر تعیین نمود:

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

$$K'_{eq} = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

که در آن K'_{eq} یک ثابت فیزیکی است، و A^- اشاره به آنیون تفکیک شده دارد.

از آنجایی که آب یک الکترولیت ضعیف است بنابراین معادله تفکیک آن بصورت زیر خواهد بود:

$$HOH \rightleftharpoons H^+ + OH^-$$

$$K_w = [H^+][OH^-] = 10^{-14}\ M$$

در آب خالص $[H^+]$ و $[OH^-]$ هر دو ۱×۱۰^{-۷} M و PH برابر ۷ است. $[OH^-]$ را نیز می‌توان بصورت POH بیان کرد که میزان آن ۷ می‌باشد.

معمولاً $[H^+]$ بر حسب PH بیان می‌شود که تعریف آن بصورت زیر است؛

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

❖ معادله‌های کاربردی برای محاسبه PH اسید و بازهای قوی:

$$PH = -\log\ [H^+] \rightarrow [H^+] = 10^{-PH}$$
$$POH = -\log\ [H^-] \rightarrow [OH^-] = 10^{-POH}$$
$$PH + POH = 14$$

مثال کاربردی: غلظت H^+ در محلول ۰/۲ M از NaOH چقدر است؟

$$[H^+][OH^-] = 10^{-14}\ M$$
$$[H^+] = \frac{10^{-14}}{./2} = 5 \times 10^{-14}$$

✓ اگر غلظت اسید ۱۰^n برابر شود، PH آن n واحد کمتر می‌شود و اگر غلظت نمک آن ۱۰^nبرابر شود، PH آن n واحد بیشتر می‌شود.

معادله هندرسون- هاسلباخ

تغییر در هر جزء یک واکنش تعادلی، باعث تغییر همزمان در هر کدام از اجزاء دیگر واکنش می‌شود. برای مثال، افزایش $[H^+]$ سبب کاهش باز مزدوج و افزایش اسید مزدوج می‌شود:

$$Conjugated\ Acid \rightleftharpoons Conjugated\ Base + H^+$$

معادله نهایی هندرسون- هاسلباخ بصورت زیر است:

$$PH = pKa + \log\frac{[Conjugated\ Base]}{[Conjugated\ Acid]}$$

مثال کاربردی: اگر PH خون بیمار ۷/۱ و غلظت HCO_3^- برابر با ۸ میلی مولار باشد، غلظت اسید کربونیک (CO_2 محلول) چقدر است؟ ($pKa = ۶/۱$)

$$PH = pKa + \log\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3^-]} \rightarrow 7/1 = 6/1 + \log\frac{8}{[H_2CO_3^-]} \Rightarrow [H_2CO_3^-] = 0/8mM$$

بافری شدن برای کنترل pH مهم است

بافر مخلوطی از یک اسید ضعیف و باز مزدوج آن است که در برابر تغییرات PH تا حدودی مقاومت می‌کند (دامنه بافری). بهترین **دامنه بافری** برای یک جفت مزدوج در PH نزدیک به pKa اسید ضعیف است ($pK \pm 1$).

ظرفیت بافری نیز وابسته به غلظت اسید و باز مزدوج است. اسید کربنیک ($H_2CO_3^-$) به عنوان یک اسید ضعیف، در کنترل PH در پستانداران بسیار مهم است. بافر کربنات - بی‌کربنات مهمترین بافر خون و مایعات خارج سلولی است، و بافر فسفات قوی‌ترین بافر داخل سلولی محسوب می‌شود. CO_2 که دائماً طی واکنش‌های کاتابولیکی در بافت‌ها تولید می‌شود، به سرعت توسط آنزیم کربنیک انیدراز به $H_2CO_3^-$ تبدیل می‌شود.

$$CO_2 + H_2O \xrightleftharpoons{\text{کربنیک انیدراز}} H_2CO_3^- \xrightleftharpoons{\text{خود به خودی}} HCO_3^- + H^+$$

$$[H_2CO_3^-] = pCO_2 \times 0.03 \qquad [HCO_3^-] = 24\ mmol/Lit \qquad pCO_2 = 40\ mmHg$$

در حالت سلامت، $\frac{[HCO_3^-]}{[H_2CO_3^-]}$=۲۰ است، اگر این نسبت بیشتر از ۲۰ باشد، آلکالوز و اگر کمتر از ۲۰ باشد فرد دچار اسیدوز می‌شود. PH خون در محدوده ۷/۳۵ تا ۷/۴۵ است و PH داخل سلول به دلیل متابولیسم داخل سلولی اسیدی تر از خارج آن است. اگر PH خون کمتر از ۷/۳۵ شود اسیدوز و اگر بیشتر از ۷/۴۵ شود آلکالوز ایجاد می‌شود. اگر تغییرات PH به علت تغییرات pCO_2 باشد، اسیدوز یا آلکالوز تنفسی است و اگر تغییرات PH به علت تغییر در غلظت یون بی‌کربنات باشد، اسیدوز یا آلکالوز متابولیکی است.

جدول ۱-۲. برخی از عوامل ایجاد کننده اختلالات اسید- باز

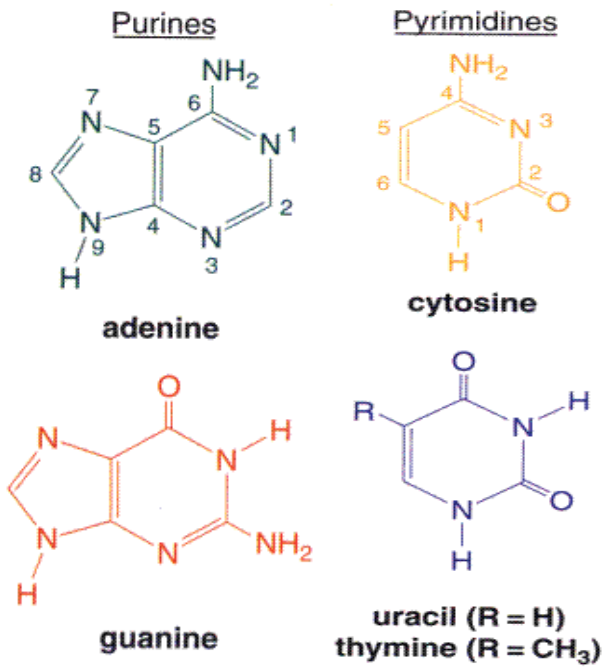
نوع اختلال	عوامل ایجاد کننده
اسیدوز تنفسی (افزایش pCO_2)	آسم، آمفیزم، انسداد مزمن ریوی، نارسایی احتقانی قلب، هایپو ونتیلاسیون ناشی از مصرف برخی از داروها نظیر باربیتوارت‌ها، الکل و مورفین، کم کاری تیروئید
اسیدوز متابولیک (کاهش $H_2CO_3^-$)	افزایش تولید اجسام کتونی، افزایش اسید لاکتیک، مسمویت با CO، افزایش دفع بی کربنات در اسهال شدید، مصرف داروهای تولیدکننده اسید نظیر کلرید کلسیم و کلرید آمونیوم
آلکالوز تنفسی (کاهش pCO_2)	افزایش دمای بدن، آمبولی ریوی، سکته مغزی و مننژیت، هیستری، استرس و اضطراب، مصرف داروهایی نظیر سالیسیلات‌ها و کافئین، هورمون پروژسترون(مسئول ایجاد آلکالوز تنفسی در بارداری)
آلکالوز متابولیک (افزایش $H_2CO_3^-$)	هایپوکالمی، مصرف بی‌کربنات سدیم، دفع اسید معده در اثر استفراغ، مصرف طولانی مدت داروهای دیورتیک، افزایش آلدسترون

فصل سوم:

ساختمان اسیدنوکلئیک

اسیدهای نوکلئیک پلیمرهای خطی از واحدهای از نوکلئوتیدی هستند. هر مولکول متشکل از یک استر فسفات، یک قند پنتوز و یک نوکلئوباز هتروسیکلیک است. قند در RNA، **D–ریبوز** و در DNA، **۲–دئوکسی D–ریبوز** است. دو کلاس نوکلئوبازهای اصلی در اسید نوکلئیک‌ها وجود دارند؛ **پورین‌ها** و **پیریمیدین‌ها** (شکل ۱–۳). پورین‌های اصلی شامل آدنین و گوانین هستند. پیریمیدین‌های اصلی شامل سیتوزین، تیمین و یوراسیل می‌باشند. سیتوزین هم در DNA و هم در RNA یافت می‌شود، ولی یوراسیل عموماً تنها در RNA و تیمین عموماً تنها در DNA وجود دارند. پورین‌ها از طریق موقعیت N9 (نیتروژن شماره ۹) و پیریمیدین‌ها از طریق موقعیت N1 به کربن شماره ۱ قند (C1) متصل می‌شوند، که این اتصال از نوع پیوند β–N–نوکلئوزیدی است. از اتصال یک نوکلئوباز و یکی از قندهای ریبوز یا دئوکسی ریبوز، نوکلئوزید ساخته می‌شود. **آدنوزین(A)**، **گوانوزین(G)**، **سیتیدین(C)** و **یوریدین(U)**، چهار نوکلئوزیدی هستند که قند موجود در آنها ریبوز بوده و معمولاً در RNA یافت می‌شوند. به همین ترتیب چهار نوکلئوزید موجود در DNA، دارای قند دئوکسی ریبوز بوده و شامل **دئوکسی آدنوزین(dA)**، **دئوکسی گوانوزین(dG)**، **دئوکسی سیتیدین(dC)** و **دئوکسی تیمیدین(dT)** هستند.

نوکلئوتیدها، استرهای فسفات نوکلئوزیدها هستند. هر کدام از گروه‌های هیدروکسیل موجود در قندهای این ترکیبات می‌توانند فسفریله شوند، ولی بازها فسفریله نمی‌شوند. گروه فسفات از طریق کربن ′۵ قند پنتوز به نوکلئوزید متصل می‌شود که این پیوند از نوع فسفودی استر کم انرژی است. اتصال فسفات به نوکلئوزید از طریق کربن‌های ′۲ و ′۳ قند هم امکان پذیر است، ولی در این حالت فقط شکل نوکلئوزید مونو فسفات تشکیل می‌شود، نظیر cAMP و cGMP که دو پیامبر ثانویه مهم هستند. وقتی بیش از یک فسفات وجود دارد، اینها می‌توانند از طریق یک **اتصال انیدریدی** به یکدیگر اتصال یابند، که نتیجه آن استرهای دی–، تری– و تترا فسفات می‌باشد.



شکل ۱-۳. بازهای پورینی و پیریمیدینی اصلی موجود در DNA و RNA

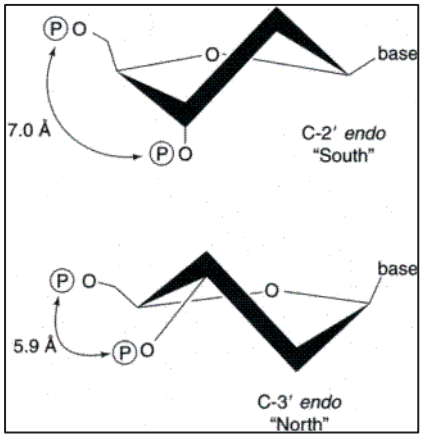
خصوصیات فیزیکی نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها

حلالیت نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها در آب و در دامنه متفاوتی از PH متفاوت است. در PH بیولوژیک (۶ تا ۸ =PH)، نوکلئوبازها و نوکلئویدها **خنثی** هستند. نوکلئوتیدها به دلیل داشتن گروه‌های فسفات، در مقادیر PH فیزیولوژیک دارای **بار منفی** هستند. در شرایط شدیداً بازی، استرهای فسفات به آرامی هیدرولیز می‌شوند. پیوندهای N-گلیکوزیدی نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها در این شرایط پایدارند، ولی تحت شرایط اسیدی بسیار ناپایدار می‌شوند. در درجه حرارت‌های بالا، پروتوناسیون بازهای پورینی منجر به شکستن سریع پیوند بین قند و باز می‌شود. **نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدهای پیریمیدینی** مقاومت بیشتری نسبت به محیط اسیدی دارند. نوکلئوتیدهای پورینی و پیریمیدینی قابلیت جذب نور UV را دارند. پورین‌ها ضرایب خاموشی مولی بیشتری نسبت به پیریمیدین‌ها دارند (نور را قوی‌تر جذب می‌کنند). برای تعیین مقدار اسیدهای نوکلئیک (RNA یا DNA) موجود در یک نمونه می‌توان از خاصیت جذب آنها در **طول موج ۲۶۰ nm** (طول موجی که حداکثر جذب UV در آن رخ می‌دهد)، استفاده کرد. به منظور آنالیز و جداسازی اسیدهای نوکلئیک، می‌توان انواع تکنیک‌ها شامل کروماتوگرافی مایع با قدرت بالا (HPLC)، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)، کروماتوگرافی کاغذی و الکتروفورز را بکار برد.

خصوصیات ساختمانی نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها

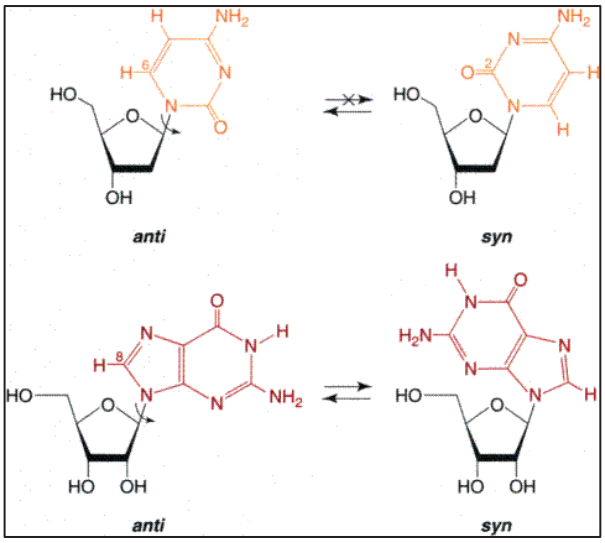
یکی از خصوصیات برجسته نوکلئوزیدها و نوکلئوتیدها، تعداد کنفورماسیون‌های احتمالی است که می‌توانند ایجاد کنند. برخلاف حلقه‌های شش اتمی، حلقه‌های پنج اتمی شدیداً انعطاف پذیر هستند. پنج اتم حلقه موجود در یک قند پنتوز، در یک صفحه قرار ندارند؛ بطور معمول یک یا دو اتم حلقه، خارج این صفحه قرار دارند. در حلقه‌های سیکلوپنتان، چندین کونفورماسیون پاکتی و نیمه صندلی وجود دارد که سریعاً به یکدیگر تبدیل می‌شوند. بطور قراردادی، بالای صفحه جهتی است که در آن باز و کربن ′۵ به خارج حلقه امتداد می‌یابند و **سمت آندو (Endo)** پنتوز نامیده

می‌شود. در صورتی که کربن ′۲ در بالای حلقه پنتوز قرار گیرد، این کنفورماسیون ′C2–آندو می‌باشد، و اگر کربن ′۳ در بالا قرار گیرد ′C3–آندو نام می‌گیرد. مولکول‌های RNA کنفورماسیون ′C2–آندو را ترجیح می‌دهند، در حالی که مولکول‌های DNA شکل ′C3–آندو را ترجیح می‌دهند.



شکل ۲–۳. کنفورماسیون ترجیحی قندهای پنتوز.

بازهای مربوط به نوکلئوزیدها مسطح هستند. با وجود این چرخش آزاد ممکن است، ولی دو موقعیت باز نسبت به قند غالب می‌باشد. در پورین‌ها، هر دو کنفورماسیون آنتی و سین به راحتی به یکدیگر تبدیل می‌شوند و در اکثر موارد آنتی پایدارتر است، هر چند، ′۵–نوکلئوزیدهای گوانینی استثناء هستند. برای مثال، دئوکسی گوانوزین ′۵–مونو فسفات (dGMP)، کنفورماسیون سین را ترجیح می‌دهد. پیریمیدین‌ها بیشتر کنفورماسیون آنتی را ترجیح می‌دهند که ممانعت فضایی کمتری دارد.



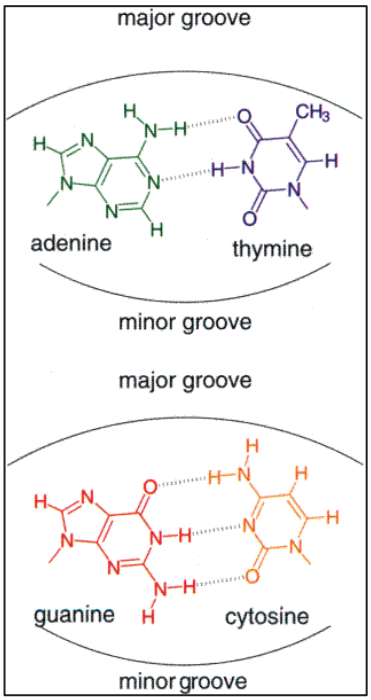
شکل ۳–۳. کنفورماسیون‌های گلیکوزیدی پورین‌ها و پیریمیدین‌ها.

ساختمان DNA

DNA دارای ساختمان اول و دوم است. در ساختمان اول، دئوکسی ریبونوکلئوتیدها بصورت متوالی و توسط پیوند فسفودی استر، پشت سر هم به هم متصل شده‌اند. طویل شدن مولکول DNA همیشه از انتهای ′۳ زنجیره صورت می‌گیرد. ساختمان دوم همان مدل مارپیچ دوتایی است که توسط واتوسن و کریک ارائه شد. غلظت‌های بالای کاتیون‌ها، بخصوص یون‌های Mg^{2+} از طریق محافظت بارهای مربوط به گروه‌های فسفودی استر، کنفورماسیون مارپیچی را تثبیت می‌کنند. وجود گروه **′۲–هیدروکسیل** در RNA می‌تواند به عنوان یک گروه نوکلئوفیل داخلی عمل کرده و سبب هیدرولیز آن شود، به همین دلیل RNA پایداری کمتری نسبت به مولکول DNA دارد و برای ذخیره اطلاعات ژنتیکی مناسب نیست. **اگزونوکلئازها** آنزیم‌هایی هستند که آخرین ریشه نوکلئوتیدی را در انتهای ′۳ یا ′۵ یک پلی‌نوکلئوتید می‌شکنند، این در حالی است که **اندونوکلئازها** پیوندهای فسفودی استر مود در داخل پلی‌نوکلئوتیدها را می‌شکنند؛ لذا نیازی به انتهای آزاد ندارند، پس قادر به شکستن پلی‌نوکلئوتیدهای حلقوی نیز هستند.

خصوصیات مهم DNA

ترکیب بازی DNA عموماً از یک گونه به گونه دیگر متفاوت بوده ولی در یک گونه مشابه است. این ترکیب تحت تأثیر سن، وضعیت غذایی و شرایط محیطی قرار نمی‌گیرد. داده‌های انکسار اشعه X نشان داد که دو رشته DNA نسبت به یکدیگر **موازی ناهمسو** (یکی ′۳→′۵ و دیگری ′۵→′۳) هستند. یافته دیگر این بود که نوکلئوبازها در اشکال **توتومری** کتو و آمینو و نه اشکال انول و ایمینو قرار دارند. پیچیدن دو رشته به دور یکدیگر سبب ایجاد ساختمانی می‌شود که دو شیار مارپیچی متفاوت بین اسکلت‌های قندی-فسفاتی دارد. **شیار اصلی (بزرگ)**[1] بسیار پهن‌تر از **شیار فرعی (کوچک)**[2] است. نکته قابل توجه این است که بدون جداسازی مارپیچ دو رشته، با نگاه به داخل این شیارها، امکان تشخیص توالی نوکلئوتیدی DNA وجود دارد. برای مثال، N7 پورین‌ها همیشه در شیار بزرگ به نمایش گذاشته می‌شود و می‌تواند به عنوان یک گیرنده پیوند هیدروژنی در تعاملات بین گروه‌های دهنده موجود در پروتئین‌ها عمل کند (شکل ۴-۳). بطور مشابه، گروه $2\text{-}NH_2$ خارج حلقه‌ای گوانین همیشه به داخل شیار کوچک امتداد می‌یابد و می‌تواند یک مانع فضایی در برابر اتصال مولکول‌های کوچک به وجود آورد.



شکل ۴-۳. جفت بازهای واتسون-کریک.

همانطور که مشاهده می‌شود بین جفت بازهای A و T دو پیوند هیدروژنی و بین جفت بازهای C و G سه پیوند هیدروژنی تشکیل می‌شود.

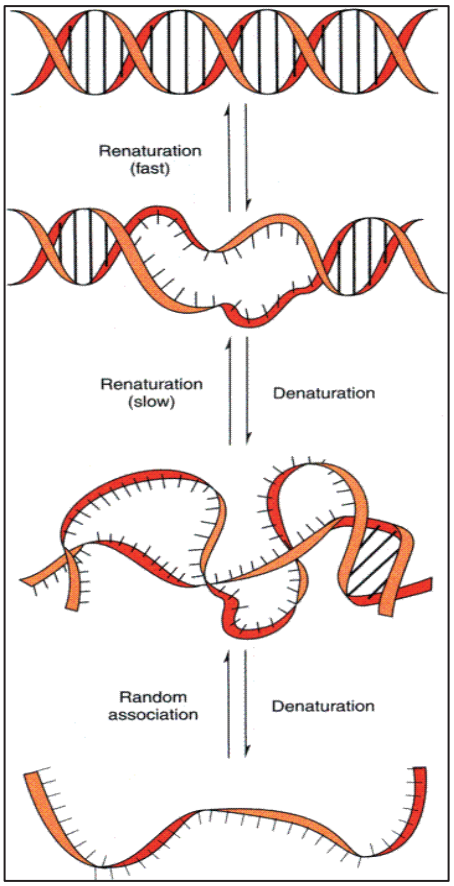
دناتوراسیون و رناتوراسیون

مارپیچ دو رشته DNA تقریباً طی هر فرایند بیولوژیکی مهمی نظیر همانند سازی، رونویسی، ترمیم و نوترکیبی، از بین می‌رود. مارپیچ دو رشته نسبت به تک رشته‌ها، حدود ۴ kj/mol (۱ kcal/mol) به ازاء هر جفت باز، **پایدارتر** است. در درجه حرارت‌های بالا، رشته‌ها جدا شده و یک **کنفورماسیون تصادفی- فنری**[3] را به وجود می‌آورند. به این فرایند **دناتوراسیون**[4] یا ذوب شدن می‌گویند. دناتوراسیون همراه با چندین تغییر فیزیکی در محلول حاوی DNA، شامل افزایش چگالی شناوری، کاهش چسبندگی، تغییر توانایی چرخش نور پلاریزه و تغییراتی در جذب نور UV می‌باشد. میزان جذب نور UV با حرارت دادن DNA دو رشته‌ای، زیاد می‌شود که به آن **هایپرکرومیک** می‌گویند. دمایی که در آن نیمی از پیوندهای هیدروژنی باز شده‌اند را دمای ذوب یا T_m (Melting Temperature) می‌گویند. T_m به ترکیب بازهای DNA، غلظت نمک محلول، PH، و طول زنجیر بستگی دارد. در ساختمان DNA، هر چه مقدار بازهای C و G و غلظت کاتیون‌های محلول بیشتر باشد، T_m افزایش می‌یابد (چون انرژی بیشتری صرف شکستن ۳

---

[1] Major groove
[2] Minor groove
[3] Random coil
[4] Denaturation

پیوند هیدورژنی بین جفت بازهای C و G می‌شود). از آن طرف هرچه میزان بازهای A و T بیشتر باشند، T_m کاهش می‌یابد. **فرمامید** نیز با ناپایدار کردن پیوندهای هیدروژنی، سبب کاهش T_m می شود. DNA در PH بیش از ۱۱/۳ دناتوره می‌شود، زیرا گروه‌های N-H موجود در بازها، دپروتونه شده و مانع از شکرت آنها در ایجاد پیوند هیدروژنی می‌شود. رشته‌های DNA مکمل که با دناتوراسیون جدا شده‌اند، در شرایط مناسب می‌توانند یک مارپیچ دو رشته را دوباره به وجود آورند. این تغییر را **رناتوراسیون**[1] یا سرد شدن می گویند. در صورتی مه دوناتوراسیون کامل نباشد و هنوز چند پیوند هیدروژنی بین جفت بازها برقرار باشد، رناتوراسیون سریعاً قابل برگشت است.



شکل ۵-۳. دناتوراسیون و رناتوراسیون مارپیچ DNA.

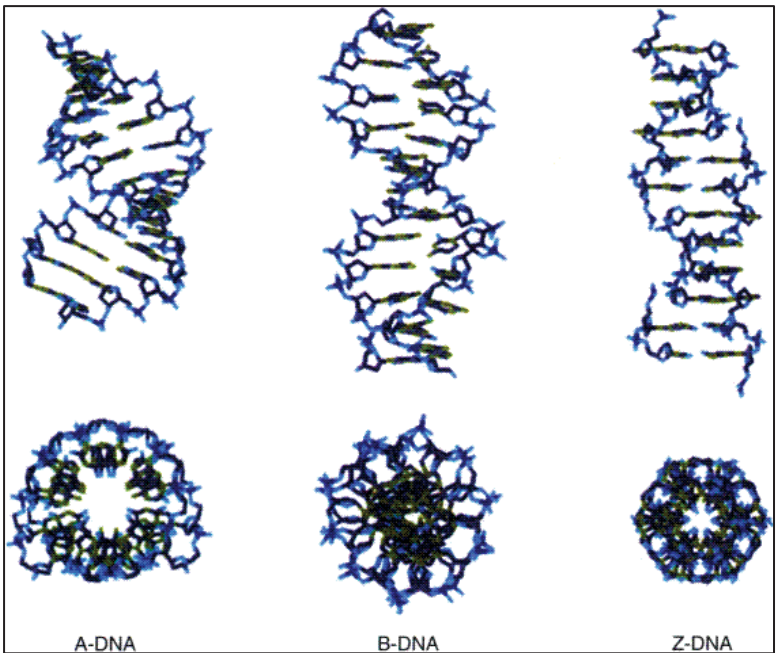
هیبریدیزاسیون

تکنیکی است که برای جستجو و تعیین مقدار توالی‌های اختصاصی اسید نوکلئیک هدف به کار می‌رود، و اساس آن، پیوستن رشته‌های پلی نوکلئوتیدی مکمل به یکدیگر می‌باشد. این تکنیک‌ها برای تعیین ۱) وجود یک توالی خاص در DNA یک ارگانیسم خاص، ۲) یک ارتباط ژنتیکی یا تکاملی بین موجودات مختلف، ۳) تعداد ژن‌های رونویسی شده در mRNA خاص، و ۴) موقعیت هر توالی DNA خاص، مورد استفاده قرار می‌گیرد. هیبریدیزاسیون وابسته به سرد شدن یک پلی نوکلئوتید مکمل، تحت عنوان **پروب**، می‌باشد. پروب‌ها الیگو نوکلئوتیدهای تک رشته کوتاهِ RNA یا DNA هستند که مکمل توالی‌های اختصاصی مورد نظر می‌باشند. مولکول‌های پروب معمولاً بیش از ۲۰ نوکلئوتید طول دارند. نشانگرهای مناسب شامل عناصر رادیو اکتیو، کروموفورهای فلورسنت و بیوتین هستند. مطالعات هیبریدیزاسیون، اطلاعات بسیار مفیدی را در زمینه تشخیص قطعی و سریع ناهنجاری‌های ژنتیکی، بیماری‌های عفونی و سرطان فراهم کرده‌اند.

کنفورماسیون‌های DNA دو رشته- مارپیچی

کنفورماسیون‌های مختلف DNA دو رشته بستگی به ترکیب بازی و شرایط فیزیکی دارد. تاکنون ۱۱ کنفورماسیون متفاوت DNA دو رشته مورد شناسایی قرار گرفته‌اند. کنفورماسیون‌های مختلف DNA را می‌توان در سه خانواده گروه بندی کرد: **A-DNA**، **B-DNA** و **Z-DNA**.

[1] Renaturation



شکل ۶-۳. هندسه‌های مختلف DNA دو رشته- مارپیچی.

۱- A-DNA: ساختمان آن کوتاه‌تر و پهن‌تر از B-DNA است، فرم غیرعادی DNA محسوب می‌شود و معمولاً در محیط‌های تهی از آب (رطوبت پائین و غلظت بالای نمک) تشکیل می‌شود که سطح آبگریز بیشتری را نسبت به ساختمان B-DNA در معرض حلال قرار می‌دهد. A-DNA دارای یک مارپیچ راست‌گرد بوده و در هر دور از مارپیچ‌اش ۱۱ جفت باز وجود دارد. در این فرم دو شیار مشابه وجود دارد، و می‌توان آن را در هنگام تشکیل RNA ای دو رشته‌ای و تشکیل هیبرید RNA-DNA مشاهده کرد. گوانین‌های پشت سرهم موجود در یک رشته، تشکیل فرم A-DNA را مساعد می‌کنند.

۲- B-DNA: پایدارترین شکل DNA بوده که به DNA واتسون- کریک معروف است و شکل معمول DNA موجود در بدن می‌باشد (یک شیار بزرگ و یک شیار کوچک). B-DNA تحت شرایط رطوبت بالا و غلظت پائین نمک تشکیل می‌شود و شدیداً انعطاف‌پذیر است. این فرم دارای یک مارپیچ راست‌گرد بوده و در هر دور از مارپیچ‌اش ۱۰/۵ جفت باز وجود دارد. گروه‌های فسفات در B-DNA بیشتر از انواع موجود در A-DNA، در دسترس مولکول‌های آب قرار دارند. همچنین گروه‌های قطبی موجود در بازها، در کنفورماسیون B-DNA به شکل بهتری هیدراته می‌شوند.

۳- Z-DNA: شکل نادری از DNA است که بلندتر و باریک‌تر از B-DNA می‌باشد. دارای یک مارپیچ چپ‌گرد بوده و در هر دور از مارپیچ‌اش ۱۲ جفت باز وجود دارد. اسکلت‌اش دارای ظاهری زیگزاگی بوده و تنها در نواحی مشاهده می‌شود که بازهای پورینی و پیریمیدینی (بخصوص گوانین و ۵ متیل سیتوزین) بصورت یک درمیان قرار گرفته باشند. این نواحی نقش تنظیمی دارند. متیلاسیون ریشه‌های گوانین در موقعیت‌های C8 و N7 یا ریشه‌های سیتوزین در موقعیت C5 سبب تثبیت شکل Z-DNA می‌شود. هنوز Z-DNA در DNA داخل بدن یافت نشده است.

پارامترهای مربوط به این کنفورماسیون‌ها در جدول ۱-۳ خلاصه شده‌اند.

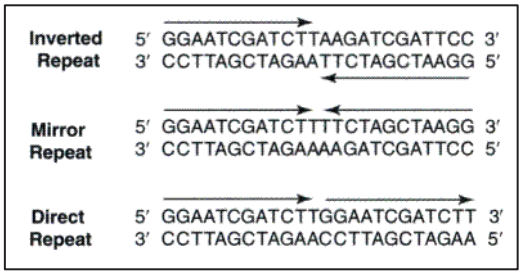
خصوصیات	A-DNA	B-DNA	Z-DNA
چرخش مارپیچ	راست‌گرد	راست‌گرد	چپ‌گرد
جفت باز موجود در هر دور مارپیچ	۱۱	۱۰/۵	۱۲
شیار بزرگ (اصلی)	کوتاه و پهن	بلندتر و باریک‌تر	نامحسوس
شیار کوچک (فرعی)	نامحسوس	باریک و عمیق	عمیق
کنفورماسیون پیوند گلیکوزیدی	anti	anti	anti برای پیریمیدین‌ها syn برای پورین‌ها
شکل فضایی قند	3′-endo (C3′–آندو)	2′-endo (C2′–آندو)	2′-endo برای پیریمیدین‌ها 3′-endo برای پورین‌ها

کنفورماسیون‌های نامعمول DNA

هم اکنون مشخص شده است که حتی B-DNA یک ساختمان یکنواخت و یک شکل نیست. در عوض، بدلیل تعامل با پروتئین‌های مختلف، DNA تا شده و تولید ساختمان‌های غیرمعمولی نظیر صلیب‌ها یا آرایش‌های ۳ رشته می‌کند. توالی‌های غنی از AT که سبب جداسازی راحت رشته‌ها می‌شوند، در نزدیکی مبدأهای همانندسازی قرار دارند.

۱- DNA خمیده: توالی‌های DNA که ۴ تا ۶ آدنین به فواصل ۱۰ جفت باز دارند، تولید کنفورماسیون‌های خمیده (Bent) می‌کنند. خمیدگی DNA عنصر پایه در تعامل بین توالی‌های DNA و پروتئین‌هایی است که فرایندهای اصلی، نظیر همانندسازی، رونویسی و نوترکیبی را کاتالیز می‌کنند. خمیدگی توسط تعاملات DNA با آنزیم‌ها و پروتئین‌های دیگری نظیر **هیستون‌ها** القاء می‌شود. خمیدگی همچنین در اثر آسیب فتوشیمیایی یا بدجفت شدگی بازها به وجود می‌آید و به عنوان پیام شناسایی برای شروع ترمیم DNA عمل می‌کند.

۲- DNA صلیبی: از بین رفتن پیوندهای هیدروژنی بین رشته‌های مکمل و تولید پیوندهای درون زنجیری در ناحیه‌ای از یک تکرار معکوس، منجر به تولید یک ساختمان صلیبی شکل (Cruciform) می‌شود. تصور می‌رود که تکرارهای معکوس ممکن است به عنوان سوییچ‌های مولکولی برای همانندسازی و رونویسی عمل کنند. تکرارهای معکوس اغلب در نزدیکی نواحی کنترلی فرضی ژن‌ها و یا در مبدأ همانندسازی DNA قرار دارند. در نواحی که حاوی دو قسمت تکراری معکوس (Inverted repeat) هستند، تولید ساختار صلیبی مساعد می شود. این درحالی است که نواحی حاوی تکرارهای آینه‌ای (Mirror repeats) باری تشکیل ساختار صلیبی مساعد نیست.

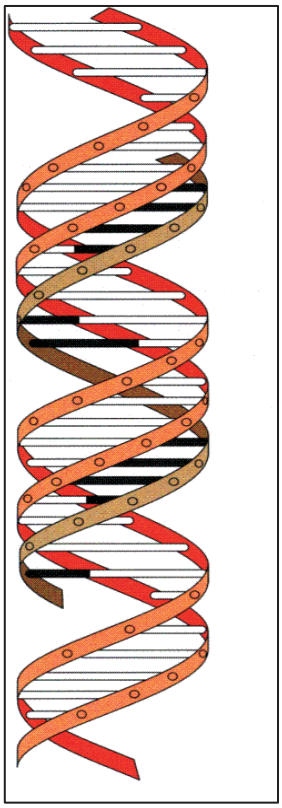


شکل ۷-۳. عناصر تقارن در توالی‌های DNA.

سه نوع تقارن برای توالی‌های DNA دو رشته‌ای نشان داده شده است. در تکرارهای معکوس (پالیندروم‌ها)، تصویر آینه‌ای در رشته مقابل و توالی مکمل در همان رشته وجود دارد. محل اثر برخی از آنزیم‌های محدودالاثر و جایگاه شناسایی برخی از پروتئین‌ها، این توالی‌ها هستند. یک تکرار آینه‌ای با وجود جفت بازهای یکسان با فاصله برابر از یک مرکز تقارن در داخل قطعه DNA مشخص می‌شود. تکرارهای آینه‌ای مستقیم، نواحی هستند که درآنها یک توالی خاص تکرار می‌شود.

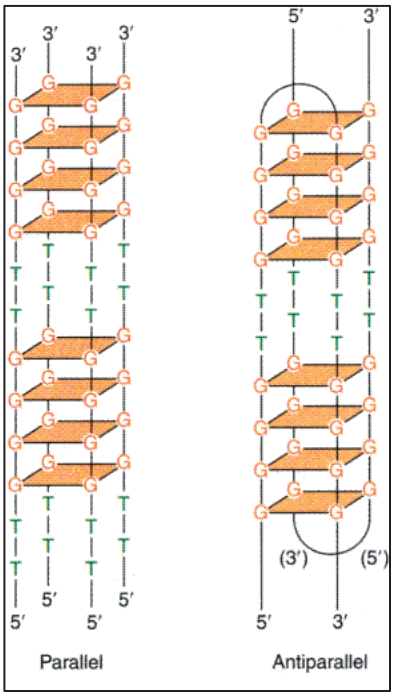
۳- DNA سه رشته‌ای (H-DNA): برخی پلی نوکلئوتیدها نظیر پلی (dA) و پلی (dT) ترکیب شده و تولید کمپلکس‌های سه رشته‌ای می‌کنند. برای تشکیل این فرم از DNA نیاز به یک رشته با توالی هموپورینی و دو رشته با توالی‌های هموپیریمیدینی دارد. H-DNA ممکن است در کنترل سنتز RNA، شروع و خاتمه همانندسازی و نوترکیبی نقش داشته باشد. DNA سه رشته‌ای حاصل ایجاد پیوند هیدروژنی بین سیتوزین پروتونه (در PH پائین) با جفت GC

($GC.C^+$) و تیمین با جفت AT (AT.T) می‌باشد که این جفت‌های غیر واتسون–کریک را **جفت هوگستین** می‌نامند. کمپلکس‌های مارپیچی–سه‌تایی پایداری کمتری نسبت به مارپیچ دو رشته‌ای واتسون–کریک دارد. وجود Mg^{2+} یا کاتیون‌های چند ظرفیتی دیگر، به واسطه پوشاندن بارهای فسفات، سبب افزایش پایداری مارپیچ سه‌تایی می‌شوند.



شکل ۸–۳. مارپیچ سه تایی.

۴– DNA چهار رشته‌ای: نوکلئوتیدهای گوانینی و پلی‌نوکلئوتیدهای غنی از G، تولید ساختمان‌های تترامری خاصی تحت عنوان **چهارتایی–G** (G-quartet) می‌کنند. ساختمان‌های چهار رشته‌ای ممکن است موازی همسو یا ناهمسو باشند. ساختمان‌های ناهمسو ممکن است توسط توالی‌های غنی از G موجود در انتهای کروموزوم‌های یوکاریوتی (DNA تلومری) تولید شود. به علاوه چهار رشته‌های G، در نوترکیبی ژن‌های ایمونوگلوبینی و در دیمریزاسیون RNA دو رشته‌ای ویروس HIV همکاری دارند. مولکول‌های آروماتیک بزرگی نظیر **پورفیرین‌ها** و **آنتراکینون‌ها** به طور انتخابی به ساختمان‌های DNA چهار رشته‌ای–G اتصال یافته و آنها را پایدار می‌کنند. از این داروها برای مهار آنزیم تلومراز در رده سلول‌های توموری و درمان سرطان استفاده می‌شود.

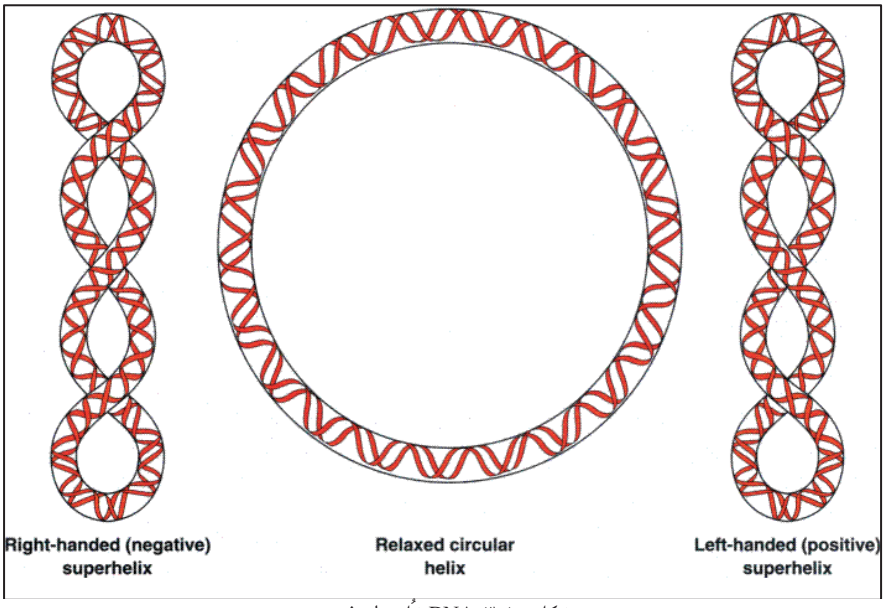


شکل ۹–۳. DNA چهار رشته‌ای–G.

۵- i-DNA : نوعی ساختمان ۴ رشته‌ای است که **غنی از سیتوزین** هستند و در نواحی تلومری دیده می‌شوند و در PH فیزیولوژیک پایداری کمی دارند، یعنی instable هستند.
توالی‌های سه جفت بازی تکراری DNA در تعدادی از بیماری‌های ژنتیکی انسان وجود دارند. در بیماری کِندی یک تکرار CAG، در آتاکسی فردریچ یک تکرار GAA، در دیستروفی میوتونیک یک تکرار CTG، و در سندروم X شکننده یک تکرار GCC وجود دارد.

DNA ابر مارپیچ است

DNA عدم وجود انتهاهای ′۳ و ′۵ سبب می‌شود تا DNA حلقوی نسبت به اگزونوکلئازها کاملاً مقاوم شده و طول عمر DNA آن افزایش می‌یابد. دو رشته‌ای حلقوی که با اتصال دو انتهای آزاد یک DNA خطی به وجود می‌آید، شُل (Relaxed) است. این DNA شُل در همانندسازی، ترجمه و نوترکیبی، فعالیت کمی دارد. شکل دارای فعالیت بیولوژیکی، **DNA ابرمارپیچی**[1] است که ایزومر تحت فشار است.



شکل ۱۰-۳. DNA شُل و ابر فنری.

توپوایزومرازها در تبدیل توپوایزومرهای DNA، شامل DNA ریلکس، سوپر هلیکس مثبت و سوپر هلیکس منفی به یکدیگر نقش دارند. این آنزیم‌ها توانایی تشکیل پیوند فسفودی استر (فعالیت لیگازی) و شکستن پیوند فسفودی استر (فعالیت اندونوکلئازی) را دارند، از این رو آنها را آنزیم‌های شکست و بست (Nicking and closing enzymes) نیز می‌نامند. توپوایزومرازها یک فرایند ۳ مرحله‌ای را کاتالیز می‌کنند: ۱) شکستن یک یا هر دو رشته DNA با تجزیه پیوند فسفودی استر، ۲) عبور یک قطعه DNA از لابه لای بریدگی حاصل و ۳) دوختن مجدد دو رشته با ایجاد پیوند فسفودی استر. بطور کلی آنزیم‌های توپوایزومراز به دو تیپ I و II تقسیم می‌شوند. تیپ I تنها یکی از رشته‌های DNA را برش داده و از Mg^{2+} به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند ولی به ATP نیازی ندارند. توپوایزومرازهای تیپ II هر دو رشته DNA را برش داده و برای فعالیت به Mg^{2+} و ATP نیاز دارند.

[1] Superhelical

توپو ایزومرازهای باکتریایی:

– **تیپ I:** شامل توپوایزومرازهای I و III است که در تبدیل سوپرهلیکس منفی به DNA ریلکس نقش دارند.

– **تیپ II:** توپوایزومراز II که آنزیم ژیراز (DNA gyrase) نیز نامیده می‌شود، به همراه توپوایزومراز IV از این خانواده هستند. DNA ژیراز تترامری با زیرواحدهای A_2B_2 است که زیرواحد A آن در اتصال به DNA و زیرواحد B در هیدرولیز ATP (ATPase) نقش دارد. این آنزیم در ایجاد سوپرهلیکس منفی، و تبدیل سوپرهلیکس منفی و مثبت به DNA ریلکس نقش دارد. توپوایزومراز IV باکتریایی در تبدیل سوپرهلیکس منفی به DNA ریلکس نقش دارد، همچنین دارای فعالیت دکاتناسیون (Decatenation) و کاتناسیون (Catenation) می‌باشد. در فرایند دکاتناسیون دو مولکول DNA دو رشته‌ای حلقوی که به تازگی همانندسازی کرده‌اند، از هم عبور داده و جدا می‌شوند.

آنتی‌بیوتیک‌های مهار کننده آنزیم ژیراز:

–خانواده کوئینولون‌ها: شامل نالیدیکسیک اسید و سیپروفلوکساسین هستند که زیر واحد A ا مهار می‌کنند و مانع از فعالیت لیگازی توپوایزومراز می‌شوند.

–خانواده کومارین‌ها: شامل نووبیوسین و کومرمایسین A هستند که با مهار زیرواحد B مانع از فعالیت ATPase آنزیم ژیراز می‌شوند.

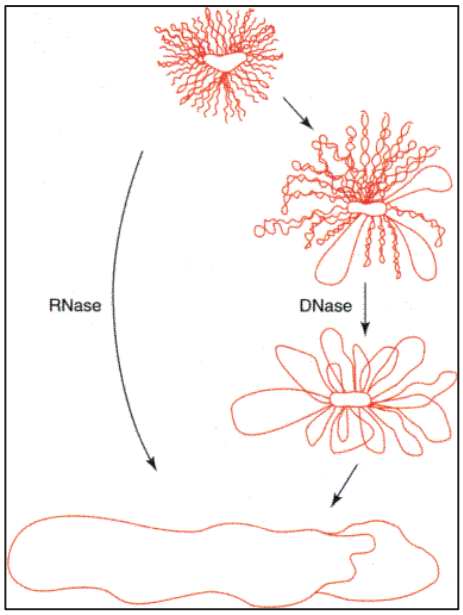
توپوایزومرازهای یوکاریوتی:

–**تیپ I:** شامل توپوایزومرازهای I و III هستند و در تبدیل سوپرهلکیس منفی و مثبت به DNA ریلکس نقش دارند. کامپتوتسین و مشتقات آن (یک داروی ضد تومور) سبب مهار توپوایزومراز I یوکاریوتی می‌شوند.

–**تیپ II:** توپوایزومراز II_α و II_β از این خانواده هستند که در تبدیل سوپرهلیکس منفی و مثبت به DNA ریلکس نقش دارند. داروهایی نظیر آمساکرین، اتوپوزید، الیپتیسین و دوکسوروبیسین سبب مهار توپوایزومرازهای II یوکاریوتی می‌شوند.

بسته بندی DNA

در پروکاریوت‌ها، نظیر E.coli طول DNA حدود ۷۵۰ برابر بزرگتر از طول سلول است. لذا می‌بایست DNA به یک شکل کاملاً متراکم بسته‌بندی شود تا در داخل سلول جای گیرد. کروموزوم‌های باکتریایی از طریق تعامل با پروتئین‌های **HU** و **H-NS** و همکاری کاتیون‌ها، پلی‌آمین‌ها (نظیر اسپرمین، اسپرمیدین، پوترسین و کاداورین)، RNA و پروتئین‌های غیرهیستونی مختلف، بصورت ساختمان‌های متراکمی بنام **نوکلوئید** سازماندهی می‌شوند (شکل ۱۱–۳). HU هترودیمری از دو زیرواحد تقریباً یکسان (HU-1 و HU-2) است که مسئول تولید یک ساختمان نوکلوئیدی مهره‌دار (Beaded nucleoid structure) می‌باشد. **RNA** نیز نقش مهمی در بسته بندی کروموزوم پروکاریوتی ایفا می‌کند.



شکل ۱۱–۳. کروموزوم‌های باکتریایی در نوکلوئیدها بسته‌بندی می‌شوند. DNase بصورت پیشرونده با باز نمودن قوس‌های مجزا، یکی در هر زمان، این ساختمان را شُل می‌کند. RNase با از بین بردن هسته نوکلوئید، کروموزوم را در یک مرحله باز می‌کند.

در یوکاریوت‌ها نیز برای اینکه DNA در داخل هسته سلولی به قطر حدود μm ۲۰-۱۰ جای گیرد، نیاز است تا این DNA به میزان بسیار زیادی متراکم شود. DNA موجود در یوکاریوت‌ها همراه با پروتئین‌های مختلفی است که مجموعاً **کروماتین** را به وجود می‌آورند. **هیستون‌ها** فراوان‌ترین پروتئین‌های موجود در کروماتین هستند. پنج کلاس از این پروتئین‌ها وجود دارند: **هیستون‌های H1، H2A، H2B، H3 و H4**. بدلیل محتوای بالای اسیدآمینه‌های بازی لیزین و آرژنین، هیستون‌ها شدیداً کاتیونی هستند و با اسکلت فسفات پلی‌آنیونی DNA تعامل نموده و نوکلئوپروتئین‌های بدون بار را تولید می‌کنند. در بین هیستون‌ها، H1 بزرگتر و بازی‌تر از بقیه است و بیشترین ویژگی بافتی و ویژگی گونه را دارد (شدیداً حفظ شده است). در برخی انواع سلول‌های مهره‌داران، هیستون H5 وجود دارد که به عنوان جایگزین H1 عمل می‌کند. هیستون‌ها در تعامل با شیار کوچک DNA هستند و شیار بزرگ را برای با پروتئین‌های تنظیم‌کننده بیان ژن و سایر فعالیت‌های DNA باقی می‌گذارند.

به نظر می‌رسد تغییرات بسته‌بندی در مراحل مختلف چرخه سلولی، تا حدودی توسط تغییرات کووالان هیستون‌های مرکزی **(بازسازی هیستونی)**[1] کنترل می‌شوند. استیلاسیون برگشت‌پذیر بر روی گروه‌های ε-آمینوی لیزین و فسفریلاسیون ریشه‌های سرین و ترئونین، در تنظیم فعالیت DNA نوکلئوزومی نقش دارند. این تغییرات با کاهش بارهای مثبت بر روی هیستون‌ها، سبب سُست شدن اتصال هیستون‌ها با DNA شده و فشردگی کروموزوم کاهش می‌یابد. با کاهش تراکم کروماتین (یوکروماتین)، رونویسی DNA و در نتیجه بیان ژن افزایش می‌یابد. متیلاسیون آمینواسیدهای لیزین و آرژنین، اثر عکس دارد و وقتی با کاهش استیلاسیون همراه شود، شکل شدیداً متراکم کروماتین (هتروکروماتین) تشکیل می‌شود، و بیان ژن کاهش می‌یابد. در تعدادی از سرطان‌ها، **هیستون دِاستیلازها** که مسئول برداشت گروه‌های استیل از لیزین و آرژنین هستند، به میزان بیشتری بیان می‌شوند که با کاهش ترمیم آسیب سلولی و آپوپتوز، به پیشرفت سرطان کمک می‌کنند. برخی از داروها نظیر تریکوستاتینA، و اسیدهای چرب کوتاه زنجیر نظیر بوتیرات (که توسط فلور باکتریایی روده بزرگ تولید می‌شوند)، از طریق مهار هیستون داستیلازها، می‌توانند مانع از رشد سلول توموری شوند.

آندونوکلئازهای محدودکننده

آنزیم‌های محدودکننده (Restriction enzymes) عمدتاً توسط باکتری‌ها تولید می شوند و با برش دادن هر دو رشته DNA در عوامل مهاجم نظیر فاژها و پلاسمیدها، آن را می‌شکنند. DNA باکتریایی می‌تواند از طریق متیلاسیون توالی اختصاصی، در برابر این شکست محافظت شود. معمول‌ترین جایگاه‌ها برای متیلاسیون، موقعیت **۵ سیتوزین** و **گروه $6-NH_2$ آدنین** هستند. توالی‌های شناسایی شده اغلب تکرارهای پالیندروم هستند. آندونوکلئازهای محدودکننده نوع I و نوع III اطراف جایگاه شناسایی را می‌شکنند، در حالی که نوع II بطور اختصاصی، DNA را در داخل توالی شناسایی می‌کنند.

ساختمان RNA

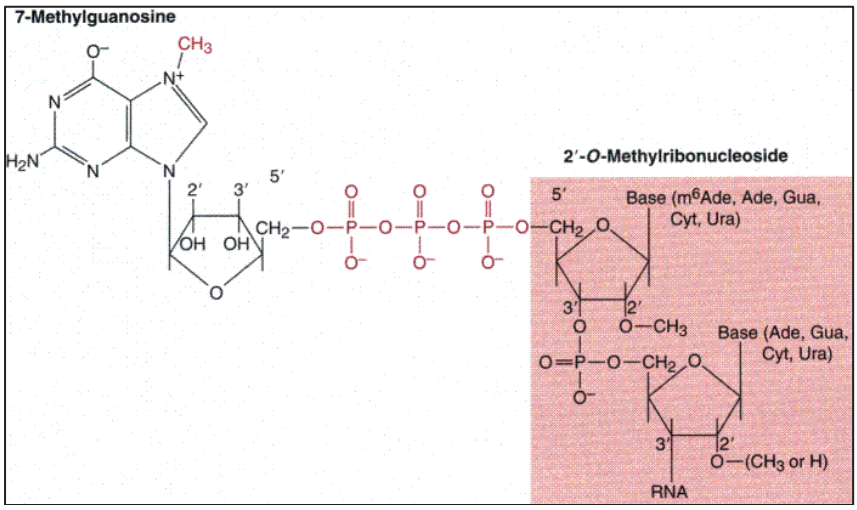
RNA پلیمر خطی از ریبونوکلئوزید مونوفسفات‌هاست. هر مولکول RNA مکمل توالی‌های بازی قسمت‌های اختصاصی از تنها یک رشته DNA می‌باشند. لذا برخلاف ترکیب بازی DNA، نسبت‌های مولی (A+U) و (G+C) در RNA برابر نیستند. RNA سلولی از نوع خطی و تک‌رشته است. از اینرو، معمولاً مارپیچ‌های دوتایی وسیعی را به وجود نمی‌آورد. مارپیچ‌های موجود در RNA معمولاً از نوع A بوده و ۱۱ نوکلئوتید در هر دور دارند. ساختمان سوم مولکول‌های RNA حاصل ایجاد تراکم بازی و پیوندهای هیدروژنی است.

---

[1] Histone remodeling

انواع RNA

۱- mRNA : به آن RNA پیک هم می‌گویند. mRNA مسئول انتقال اطلاعات ژنتیکی از ژنوم به ریبوزوم‌هاست و حدود ۵٪ از RNA کل سلول را شامل می‌شود. هر mRNA یوکاریوتی **منوسیسترونی** است، یعنی حاوی اطلاعات مربوط به تنها یک زنجیر پلی‌پپتیدی می‌باشد. در پروکاریوت‌ها، گونه‌های mRNA اغلب **پلی‌سیسترونی** هستند که بیش از یک پروتئین را کد می‌کنند. فنوتیپ و وضعیت عملکردی سلول مستقیماً با محتوای mRNA آن ارتباط دارد. در یوکاریوت‌ها، سنتز mRNA در هسته و از طریق رونویسی یک رشته DNA صورت می‌گیرد، ولی ترجمه mRNA در سیتوپلاسم و شبکه آندوپلاسمی انجام می‌شود. به mRNA نابالغ، **hnRNA** (RNA ناهمگون هسته‌ای) هم می‌گویند که بعد از پردازش به mRNA بالغ تبدیل می‌شود. در انتهای ′۵ یک mRNA، یک کلاهک (Cap) بنام **۷- متیل گوانوزین تری فسفات** وجود دارد، که به وسیله آن توسط ریبوزوم شناسایی شده (نقش در تعیین محل شروع ترجمه) و از تخریب توسط ′۵ - اگزونوکلئازها در امان می‌ماند. کلاهک‌های موجود در mRNA یوکاریوتی حاوی یک پیوند فسفودی‌استر معکوس و یک باز متیله متصل به mRNA می‌باشند، که معمولاً یک پورین ′۲-O- متیله است. انتهای ′۳ mRNA، به یک رشته ۲۰ تا ۲۰۰ نوکلئوتید آدنینی، بنام **دُم پلی A** ختم می‌شود. توالی پلی A بر روی پایداری mRNA تأثیر دارد؛ تخریب یک mRNA عموماً با کوتاه شدن دم پلی A آغاز می‌شود. mRNA برخی از پروتئین‌ها نظیر هیستون‌ها و موتیف پروتئینی zinc finger فاقد دم پلی A هستند.



شکل ۱۲-۳. ساختمان کلاهک در mRNA.

۲- rRNA : حدود ۸۰٪ از RNA سلول را تشکیل می‌دهد و از نظر متابولیکی پایدار است. سنتز پروتئین در یوکاریوت‌ها نیاز به همایش پیچیده‌ای از چهار مولکول RNA (۱۸S، ۲۸S، ۵/۸S و ۵S) و ۸۲ پروتئین (زیرواحد کوچک ۳۳ پروتئین و زیرواحد بزرگ ۴۹ پروتئین) دارد. مولکول‌های ۲۸S rRNA، ۱۸S rRNA و ۵/۸S rRNA در هستک سنتز می‌شوند، درحالی که ۵S rRNA در هستک رونویسی نمی‌شود، بلکه در داخل نوکلئوپلاسم رونویسی می‌شود. متیلاسیون rRNA ارتباط مستقیمی با مقاومت باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک در یک گونه بیماری‌زا دارد. استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند به واسطه آنزیم RNA متیلاز، که یک آدنوزین را به دی متیل آدنوزین تبدیل می‌کند، نسبت به اریترومایسین و آنتی‌بیوتیک‌های مشابه مقاوم گردد. ۲۸S rRNA حدود ۴۵ گروه متیل دارد و ۱۸S rRNA دارای ۳۰ گروه متیل است.

۳– tRNA : به آن RNA ناقل یا حامل هم می‌گویند. tRNA مسئول انتقال آمینواسیدها از سیتوپلاسم به ریبوزوم است و حدود ۱۵٪ از کل RNA سلولی را شامل می‌شود. tRNA سبب فعال‌سازی آمینواسیدها برای سنتز پروتئین می‌شود سبب فعال‌سازی آمینواسیدها برای سنتز پروتئین می‌شود؛ فعال‌سازی اسیدآمینه در انتهای ۳′–OH توالی CCA صورت می‌گیرد. ایجاد جفت باز بین کدون و آنتی‌کدون، مکانیسم اصلی در تضمین تولید پیوند پپتیدی صحیح است. tRNA دارای باز تیمین است و نسبت به سایر RNA های دیگر بازهای فرعی (مشتق نوکلئوتیدی) بیشتری دارد، مانند: سودویوریدین (Ψ) و دی‌هیدرویوریدین (DHu).

✓ **tRNA دارای ۴ بازوی اصلی و یک بازوی اضافی است:**

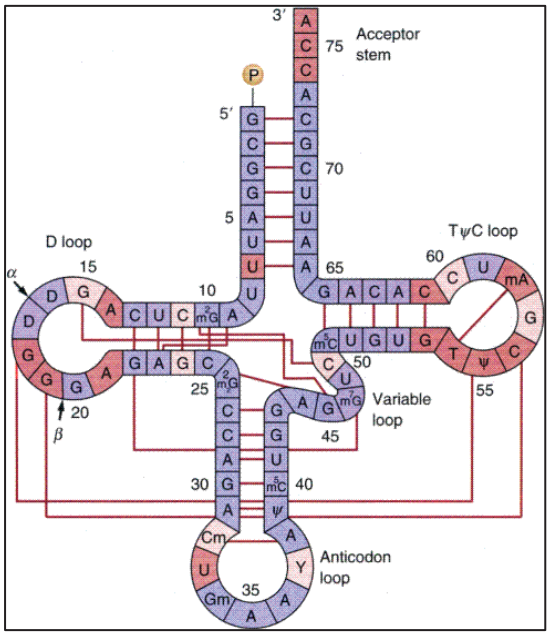
– **بازوی پذیرنده:** انتهای ۳′ که به توالی CCA منتهی می‌شود و محل اتصال آمینواسیدهاست. گروه کربوکسیل آمینواسیدها از طریق پیوند استری به ۳′ گروه هیدروکسیل آدنوزین متصل می‌شود.

– **بازوی آنتی‌کدون:** توالی نوکلئوتیدی این بازو مکمل mRNA بوده و اختصاصی بودن tRNA را مشخص می‌کند.

– **بازوی D:** در آن باز دی‌هیدرویوریدین وجود دارد، این بازو در شناسایی صحیح tRNA توسط آنزیم آمینوآسیل–tRNA سنتتاز اختصاصی شرکت می‌کند.

– **بازوی TΨC :** در آن توالی تیمیدین (T)، سودویوریدین (Ψ) و سیتیدین (C) وجود دارد. این بازو در اتصال آمینوآسیل–tRNA به ریبوزوم در فرایند ترجمه نقش دارد.

– **بازوی اضافی:** در tRNA ها متغیر است و tRNA ها را بر اساس آن طبقه‌بندی می‌کنند.



شکل ۱۳–۳. ساختمان برگ شبدری tRNA.

میتوکندری‌ها RNA مخصوص خود را دارند

میتوکندری‌ها دستگاه سنتز پروتئین خود را دارند. مولکول‌های rRNA میتوکندریایی، شامل ۱۲S و ۱۶S، و همچنین ۲۲ مولکول اختصاصی tRNA و ۱۳ مولکول اختصاصی mRNA از DNA میتوکندریایی (mtDNA) رونویسی

می‌شوند؛ برخی از این mRNA ها، **پروتئین‌های زنجیره انتقال الکترون** و **ATP سنتاز** را کد می‌کنند. mtRNA ها حدود ۴٪ RNA های کل سلول را تشکیل می‌دهند، و توسط RNA پلی‌مرازهای اختصاصی میتوکندری رونویسی می‌شوند.

RNA می‌تواند یک آنزیم باشد. آنزیم‌هایی که زیرواحدهای RNA ای آنها واکنش‌های کاتالیتیک انجام می‌دهند را **ریبوزیم** گویند. **پپتیدیل ترنسفرازها** (۲۳S rRNA در پروکاریوت‌ها و ۲۸S rRNA در یوکاریوت‌ها) نوعی ریبوزیم هستند. گروه دوم ریبوزیم‌ها، اینترون‌های خود اسپلاسینگ هستند که برش خود را از بین دو اگزون mRNA کاتالیز می‌کنند. نوع سوم ریبوزیم، ریبونوکلئاز P (RNase P) است. این ریبوزیم با شکستن پیش‌سازهای tRNA، انتهای ′۵ بالغ مولکول‌های tRNA را تولید می‌کند. نوع چهارم ریبوزیم، RNA ژنومی ویروس‌هاست که دارای ساختمان سه بعدی سرچکشی بوده، و نوعی RNA خود شکننده (Self-Cleaving) محسوب می‌شوند.

- ✓ RNA هایی که بتوانند با اتصال محکم و اختصاصی به لیگاندها بچسبند را **آپتامر (Aptamer)** می‌گویند، مانند اینترون‌های نوع I که بطور اختصاصی به نوکلئوتیدهای گوانینی اتصال می‌یابند.

فصل چهارم:

آمینواسیدها و ساختمان پروتئین‌ها

تمامی پروتئین‌ها، پلیمرهایی از تنها ۲۱ اسیدآمینه هستند. **آمینواسیدهای معمول**[1] شامل حداقل یک کدون ژنتیکی دارند و دارای ساختار مشترکی هستند. بسیاری از پروتئین‌ها همچنین حاوی **آمینواسیدهای مشتق شده**[2] هستند که معمولاً در اثر تغییر آنزیمی یکی از آمینواسیدهای معمول بعد از قرارگیری آنها در داخل یک پروتئین، تولید می‌شوند. سیستین، دسموزین و ایزودسموزین موجود در الاستین، هیدروکسی پرولین و هیدروکسی لیزین موجود در کلاژن، γ-کربوکسی گلوتامات موجود در پروترومبین، نمونه‌هایی از اسیدآمینه‌های مشتق شده هستند.

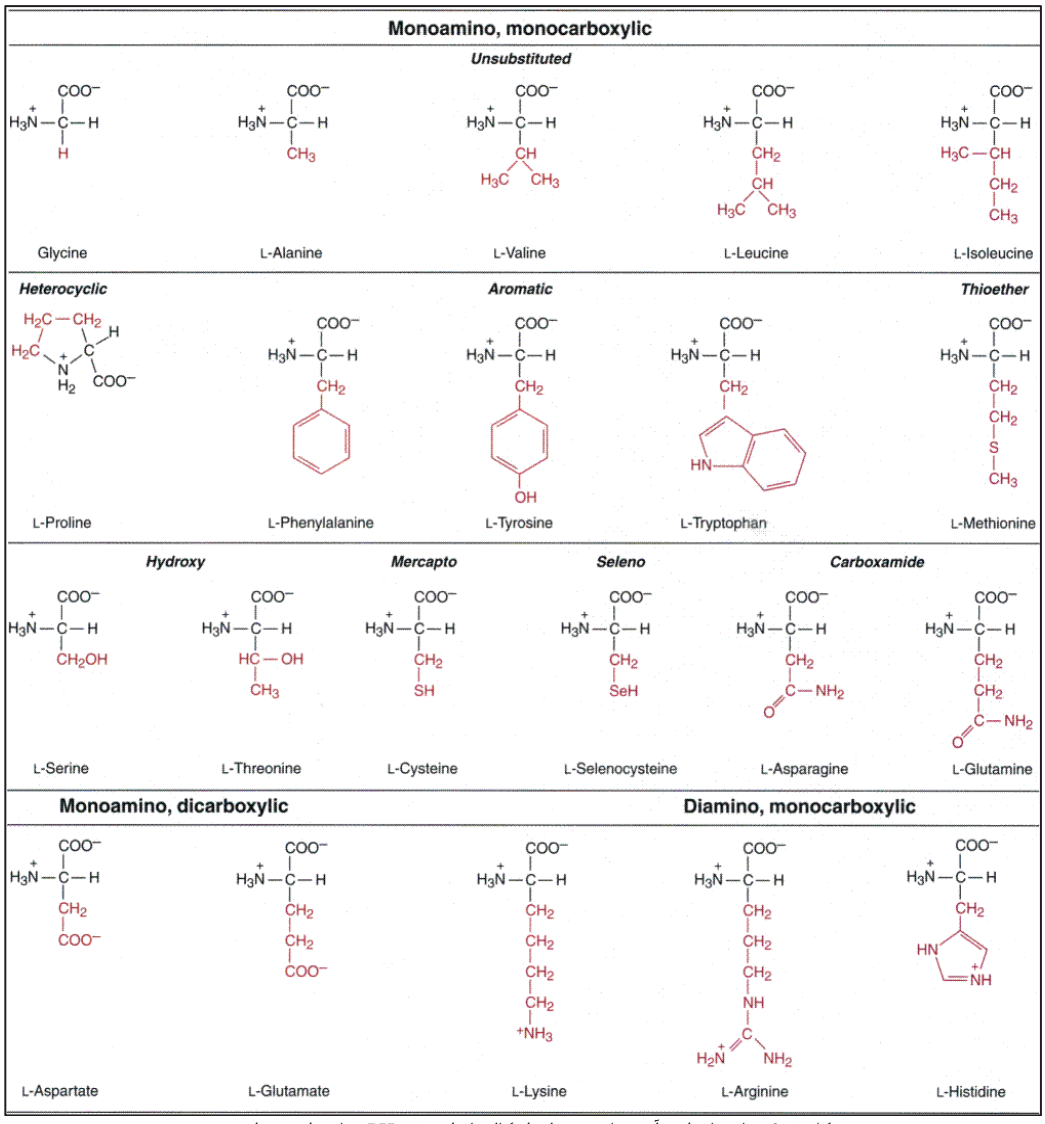
آمینواسیدهای معمول

این آمینواسیدها دارای یک اتم کربن آلفای مرکزی دارند که به آن یک گروه کربوکسیل، یک گروه آمین و یک اتم هیدروژن اتصال دارند. علاوه بر اینها، به ظرفیت چهارم Cα، یک گروه شیمیایی اتصال دارد که به آن زنجیر جانبی (R) می‌گویند.

والین یک گروه R ایزوپروپیل دارد. گروه‌های R مربوط به لوسین و ایزولوسین شامل گروه‌های ایزوبوتیل هستند که ایزومرهای ساختمانی یکدیگر می باشند. شاخه زنجیر جانبی ایزوبوتیل در **لوسین** بر روی کربن گاما (γ) و در **ایزولوسین** بر روی کربن بتا (β) قرار دارد (شکل ۲-۴).

---

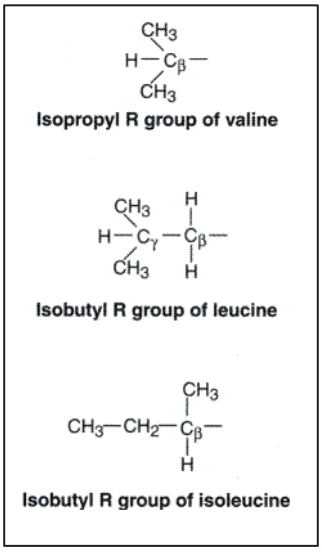
[1] Common amino acids
[2] Derived amino acids



شکل ۱-۴. ساختمان اسیدآمینه‌های معمول. اشکال باردار در PH=۷ نشان داده شده‌اند.

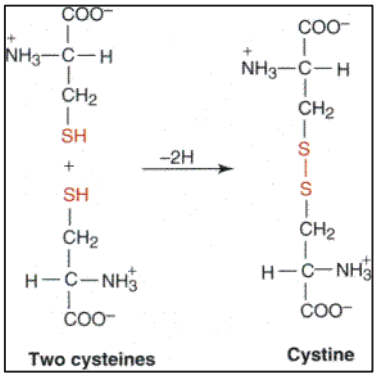
فنیل‌آلانین یک حلقه بنزن، **تیروزین** گروه فنلی و **تریپتوفان** یک ساختمان هتروسیکلیک اندولی دارد. در هر صورت بخش آروماتیک از طریق یک کربن متیلن ($-CH_2-$) به کربن α متصل است. **آسپارتات** و **گلوتامات**، جزء اسیدهای دی‌کربوکسیلیک-منوآمین هستند که در زنجیر جانبی خود یک گروه کربوکسیل دارند و در PH فیزیولوژیک فاقد پروتون بوده و بار منفی دارند. اسیدهای دی‌بازی-منوکربوکسیلیک شامل **لیزین**، **آرژنین** و **هیستیدین** می‌باشند. در لیزین زنجیرجانبی یک N-بوتیل آمین است. در آرژنین این زنجیرجانبی حاوی یک گروه گوانیدین است. این دو آمینواسید در PH فیزیولوژیک پروتونه بوده و بار مثبت دارند. زنجیرهای جانبی گلوتامین و آسپارژین نمی‌توانند پروتونه شوند و در PH فیزیولوژیک بدون بار می‌باشند. **سلنوسیستئین** از نظر ساختمانی مشابه سیستئین است، ولی به جای اتم سولفور، یک اتم سلنیوم دارد. UGA کدون مربوط به سلنوسیستئین است که کدون خاتمه هم است. **سیستین** یکی از مشتقات

آمینواسیدی است که از اکسیداسیون دو زنجیر جانبی تیـولی سیسـتئین و ایجـاد یک پیوند دی‌سولفیدی کووالان تولید می‌شود.



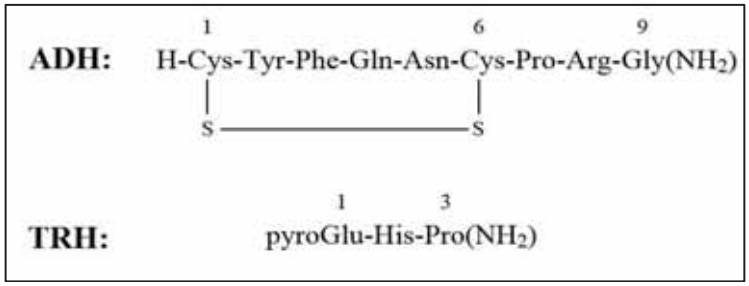
شکل ۲-۴. زنجیرهای جانبی آلکیلی والین، لوسین و ایزولوسین.

کربن متصل به گروه کروبوکسیل، کربن α نام دارد که در تمام آمینواسیدها نامتقارن (کایرال) است بجز گلایسـین کـه در آن گروه R یک هیدروژن است، بنابراین گلایسـین فاقـد فعالیـت نـوری اسـت. پیونـدهای پپتیـدی در پـروتئین‌هـا کنفیگوراسیون ترنس هستند، و فقط زنجیرهای پلی‌پپتیدی که دارای پرولین هستند کنفیگوراسـیون سـیس نیـز دارنـد.



ساختمان‌های اول پروتئین‌ها بطور متوالی از انتهای آمینو (سمت چـپ) به انتهای کربوکسیل (سمت راست) شماره‌گذاری مـی‌شـوند. هورمـون آزادکننده تیروتروپین (TRH) یک تری‌پپتید بوده که در سمت انتهـای آمینـی‌اش دارای یـک **پیروگلوتامـات** و در انتهـای کربوکسـیل‌اش دارای یـک **پـرولین‌آمیـد** مـی‌باشـد (شـکل ۴-۴). ADH، CRH، GRH، GnRH، مـاده P، گاسـترین و اکسـی‌توسـین نیـز در انتهـای کربوکسیل‌شان دارای یک آمید (NH_2) هستند.

شکل ۳-۴. تولید پیوند سیستینی.



شکل ۴-۴. ساختار هورمون‌های ADH و TRH. در ساختمان ADH سیستئین ۱ با سیستئین ۶ از طریق یک پیوند دی سولفیدی به یکدیگر متصل شده‌اند.

بار و خصوصیات شیمیایی آمینواسیدها و پروتئین‌ها

گروه‌های قابل یونیزاسیون اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها برای فعالیت بیولوژیکی مهم هستند. تفکیک یک اسید توسط یک ثابت تفکیک اسیدی (K'_a) و میزان pK'_a آن مشخص می‌شود. به عبارت دیگر pK'_a مقیاسی از تمایل یک گروه به از دست دادن پروتون است. حلالیت آمینواسیدها و پروتئین‌ها در PH خاصی کاهش یافته و رسوب می‌کنند. در این PH بار خالص آمینواسید صفر می‌باشد که به آن PH ایزوالکتریک (PI) گفته می‌شود. میزان PI برای ترکیبی با یک قدرت یونی و درجه حرارت خالص، ثابت است و هر آمینواسید یا پروتئین فقط یک PI دارند. برای آمینواسیدهای خنثی مثل لوسین، PI حاصل میانگین دو میزان pK'_a است:

$$\mathrm{PI} = \frac{pK1 + pK2}{2} = \frac{2/4 + 9/6}{2} = 6$$

$pK1 = pK'_a\mathrm{COOH}$

$pK2 = pK'_a\mathrm{NH}_3^+$

$pKR = pK'_a$ زنجیر جانبی

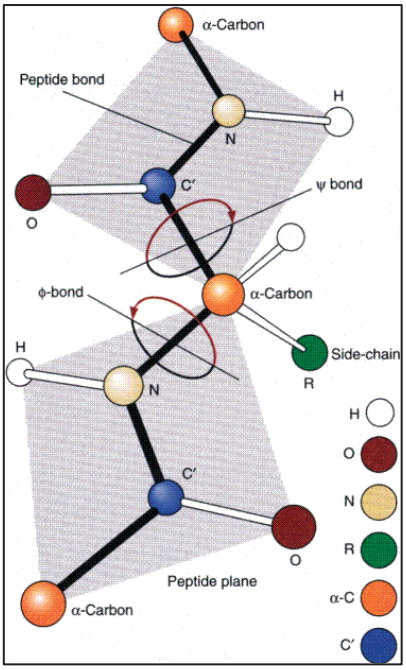
در مورد آمینواسیدهای اسیدی، PI برابر است با: $\mathrm{PI} = \frac{pK1 + pK\mathrm{R}}{2}$

در مورد آمینواسیدهای بازی، PI برابر است با: $\mathrm{PI} = \frac{pK1 + pK\mathrm{R}}{2}$

✓ **سیستئین** یک استثناست که PI ایزوالکتریک آن مشابه آمینواسیدهای اسیدی محاسبه می‌شود.

ساختمان پروتئین‌ها

ساختمان اول یک پروتئین اشاره به ساختمان کووالان آن دارد که شامل توالی آمینواسیدی و موقعیت پیوند دی‌سولفیدی (سیستینی) می‌باشد. در تشکیل ساختمان اول، پیوندهای پپتیدی شرکت می‌کنند. در اثر دناتوره شدن پروتئین، پیوند پپتیدی و ساختمان اول حفظ می‌شود. ساختمان‌های دوم، سوم و چهارم پروتئین‌ها به طریق غیرکووالان تولید می‌شوند. **ساختمان دوم**، در اثر پیوند هیدروژنی آمینواسیدهای مجاور در یک زنجیره پلی‌پپتیدی ایجاد شده و اشاره به تاشدن موضعی اسکلت پلی‌پپتیدی به کنفورماسیون‌های مارپیچی یا صفحه‌ای دارد. کنفورماسیون یک پلی‌پپتید بر اساس زوایای چرخشی پیوندهای کووالان مربوط به زنجیر توصیف می‌شود. پیوند بین نیتروژن و کربن آلفا را **پیوند فی (ϕ)**، و پیوند بین کربن آلفا و کربن کربونیل را **پیوند سای (ψ)** می‌گویند (شکل ۵-۴).



شکل ۵-۴. زنجیر پلی‌پپتیدی و پیوندهای مربوطه.

ساختمان مارپیچ α (α-helix)

ساده‌ترین نحوه آرایش زنجیره پلی‌پپتیدی بوده که تعداد زیادی پیوند هیدروژنی درون زنجیره‌ای (Intrachain) دارد. ارتفاع هر پیچ ۵/۴Å بوده و در هر دور آن ۳/۶ اسید آمینه وجود دارد. عمدتاً جهت چرخش مارپیچ بصورت راست‌گرد است. در α–helix، پیوندهای هیدروژنی بین اکسیژن کربونیل ریشه n و هیدروژن آمین ریشه n+4 در همان زنجیره پلی‌پپتیدی تشکیل می‌شود. عواملی نظیر وجود گلایسین و پرولین در زنجیره، وجود آمینواسیدهای شاخه دار مثل والین

و ایزولوسین، و یا آمینواسیدهای دارای زنجیر جانبی بزرگ مثل سرین، ترئونین، سیستئین و آسپارژین سبب ناپایداری مارپیچ آلفا می‌شوند. در عوض حضور آمینواسیدهایی نظیر متیونین، آلانین، گلوتامات و لوسین سبب پایداری مارپیچ آلفا می‌شوند. α–helix در میوگلوبین، هموگلوبین، فریتین، سیتوکروم C و آلفاکراتین به میزان زیادی یافت می‌شود.

ساختمان صفحات β (β-sheets)

در β–sheet زنجیره‌های پلی‌پپتیدی بصورت زیگزاگ پهلو به پهلو قرار گرفته‌اند و ساختاری شبیه به یک چین‌خوردگی را بوجود می‌آورند. این صفحات بصورت دو ساختار موازی همسو (Parallel) و موازی ناهمسو (Anti parallel) است. برای هر دو شکل همسو و ناهمسو ψ مثبت و ϕ منفی می‌باشد. پیوندهای موجود در ساختار همسو، ناپایدار است ولی در ساختار ناهمسو پایدار می‌باشد. وجود آمینواسیدهایی نظیر آلانین و گلایسین سبب افزایش پایداری صفحات β می شوند.

ساختارهای فوق ثانویه (Motifs)

چندین ساختمان دوم، **موتیف‌ها** را می‌سازند. برخی از موتیف‌های مهم عبارتند از:

- موتیف helix-loop-helix یا EF-hand: در ساختار پروتئین‌های اتصالی به یون Ca^{2+} مانند پاروآلبومین، ترومبینC، کالمادولین وجود دارد.
- موتیف helix-turn-helix (HTH): در ساختار پروتئین‌های اتصالی به DNA نظیر پروتئین‌های سرکوبگر یافت می‌شود.
- موتیف zinc finger: در ساختار برخی پروتئین‌های متصل به DNA مانند گیرنده هورمون‌های استروئیدی، تیروئیدی و ویتامین‌های A و D وجود دارد. در ساختمان این موتیف، اتم روی با ۴ سیستئین و یا ۲ سیستئین و ۲ هیستیدین اتصال دارد.
- موتیف zipper Leucine: در ساختار پروتئین‌های اتصالی به DNA مانند فاکتورهای رونویسی وجود دارد. در این موتیف، بین هر لوسین با لوسین بعدی، ۶ اسیدآمینه فاصله وجود دارد.
- موتیف Rossman: حاوی چهار α–helix و یک β–sheet ۶ رشته‌ای است که در ساختمان آنزیم‌های دهیدروژناز وابسته به NAD^+ یافت می‌شود.
- موتیف β–barrel (بشکه بتا): ساختار استوانه‌ای است که بدنه آن از β–sheet تشکیل شده است. در ساختمان پورین‌ها مثل آکواپورین‌ها یافت می‌شود.

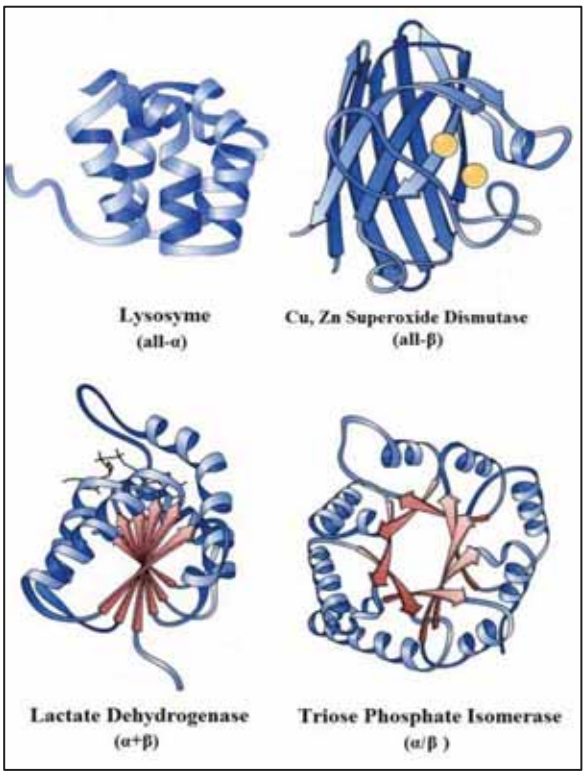
ترکیبی از موتیف‌ها، یک **فولد (Fold)** را به وجود می‌آورند. فولد آرایشی از عناصر ساختمانی دوم یک **دومن (Domain)** می‌باشد. دومن یک واحد ساختمانی کروی متراکم است که در داخل یک پلی‌پپتیدی با یک هسته آبگریز و سطح آبدوست به وجود می‌آید و معمولاً مستقل از واحدهای ساختمانی دیگر موجود در داخل زنجیر پلی‌پپتیدی تا می‌خورد. **خانواده** توسط شباهت توالی بین پروتئین‌ها تعیین می‌شود. پروتئین‌هایی که اعضای یک خانواده هستند، یک ارتباط تکاملی مشترک دارند و از یک ژن ابتدایی مشتق شده‌اند.

ساختمان سوم یک پلی‌پپتید اشاره به موقعیت هر کدام از اتم‌ها در فضا دارد. ساختمان سوم در اثر ارتباط فضایی آمینواسیدهایی که در ساختمان اول و دوم در فاصله دورتری از یکدیگر قرار دارند ایجاد می‌شود و مهمترین پیوند در تشکیل این ساختار، **پیوندهای هیدروفوب یا آبگریز** هستند. **ساختمان چهارم** پروتئین اشاره به آرایش زنجیرهای پلی‌پپتیدی در یک پروتئین چند زنجیری دارد. زیرواحدهای موجود در یک ساختمان چهارم، بطور غیرکووالان به هم می‌پیوندند. آلفا–کیموتریپسین ۳ زنجیر پلی‌پپتیدی دارد که توسط پیوندهای دی‌سولفیدی بطور کووالان به هم متصل شده‌اند، به همین دلیل آلفا–کیموتریپسین فاقد ساختمان چهارم است. میوگلوبین نیز بدلیل از یک زنجیر پلی‌پپتیدی تشکیل شده، فاقد ساختمان چهارم است، در حالی که هموگلوبین ساختمان چهارم دارد.

پروتئین‌هایی وجود دارند که فاقد یک ساختمان تاشده پایدار هستند. پروتئین‌هایی که فاقد کنفورماسیون تاشده هستند را **پروتئین‌های ذاتاً بی‌ساختمان (IUPs)**[1] می‌گویند. سایر پروتئین‌ها ممکن است نواحی بی‌ساختمان یا دومن‌های حاوی **کنفورماسیون‌های نسبتاً تانشده (PUFs)**[2] داشته باشند. IUPs و پروتئین‌های دارای PFUs شامل پروتئین‌های داربستی، هورمون‌ها، دومن‌های فعال‌سازی فاکتور رونویسی، کینازهای وابسته به سیکلین و مهارکننده‌های آنها، پروتئین‌های موجود در تبدیل پیام سلولی، و قطعات انتهای آمینوی پروتئین‌های هیستونی می‌باشند. پروتئین P21 (یک مهارکننده کیناز وابسته به سیکلین) نمونه‌ای از این پروتئین‌هاست. این پروتئین‌ها اغلب از طریق اتصال به سایر پروتئین‌ها یا DNA و RNA عمل می‌کنند.

دومن‌های پروتئینی بر اساس کلاس، فولد و خانواده طبقه بندی می‌شوند. کلاس توسط نوع غالب ساختمان دوم پروتئین تعیین می‌شود. پروتئینی که فقط α–helix داشته باشد را **همه آلفا (all-α)** می‌نامند. پروتئین‌هایی نظیر لیزوزیم، میوگلوبین و هموگلوبین دارای فولد all-α هستند. پروتئینی که فقط β–strand داشته باشد را **همه بتا (all-β)** می‌گویند. سوپراکسید دیس‌موتاز حاوی Cu ، Zn و کانکاناوالین A (نوعی ایمنوگلوبین) دارای فولد all-β هستند.

پروتئین‌هایی که مقادیر تقریباً برابر α–helix و β–strand را دارند، **α/β** و **α+β** نامیده می‌شوند. در **α/β-پروتئین‌ها**، قطعات – αhelix و β–strand بطور متناوب تکرار شده‌اند و رشته‌های بتا اغلب بصورت همسو (Parallel) هستند. تریوزفسفات ایزومراز و پیروات کیناز از این نوع هستند. اما در **پروتئین‌های α+β**، قطعات بطور غیر متناوب و جدا از هم تکرار شده‌اند و رشته‌های بتا اغلب بصورت ناهمسو (Antiparallel) هستند. لاکتات دهیدروژناز و ۲–فسفوگلیسرات کیناز از نوع پروتئین‌های α+β هستند.



شکل ۶–۴. مثال‌هایی از فولدهای مختلف.

تقسیم‌بندی پروتئین‌ها بر اساس شکل

پروتئین‌های رشته‌ای (فیبری)، دارای مقادیر زیادی از یک ساختمان دوم منظم (نظیر مارپیچ α) هستند، و یک شکل استوانه‌ای بلند (میله‌ای شکل)، حلالیت پائین در آب، و نقش ساختمانی (بجای نقش پویا) دارند. کلاژن، کراتین و تروپومیوزین از پروتئین‌های فیبری مهم هستند.

[1] Intrinsically Unstructured Proteins
[2] Partially Unfolded Conformations

۱) کلاژن

کلاژن خانواده‌ای از پروتئین‌های خارج سلولی در تمام بافت‌ها است که به بافت‌ها شکل می‌دهد و در قدرت و استحکام آنها نقش دارد. پوست بیشترین میزان کلاژن (۷۴٪) و کبد کمترین میزان از کلاژن (۴٪) را دارا هستند. کلاژن پوست غنی از گلایسین (۳۳٪)، پرولین (۱۳٪)، آلانین (۱۱٪) و آمینواسیدهای مشتق شده ۴-هیدورکسی‌پرولین (۹٪) و ۵-هیدروکسی‌لیزین (۰/۶٪) است. هیدروکسی پرولین (HydPro) تنها در کلاژن وجود دارد که به طریق آنزیمی از پرولین تولید می‌شود. بیشتر هیدروکسی‌پرولین‌ها در موقعیت ۴ (کربن γ)، گروه هیدروکسیل دارند، هر چند میزان کمی ۳-هیدروکسی‌پرولین نیز تولید می‌شود. کلاژن‌ها ساختمان گلیکوپروتئینی دارند که در آنها کربوهیدرات از طریق پیوند O-گلیکوزیدی به گروه هیدروکسی کربن δ و ۵-هیدروکسی‌لیزین متصل می‌شود.

کلاژن‌ها از ۳ زنجیره پلی‌پپتیدی تشکیل شده‌اند که مارپیچ موجود در آنها چپ‌گرد است، و در هر دور آن ۳ اسیدآمینه وجود دارد. ۳ زنجیره یک مولکول کلاژن حول یکدیگر تاب خورده و یک **ابرمارپیچ راست‌گرد** را به وجود می‌آورند. به این ساختارهای سه مارپیچی، کلاژن بالغ یا **تروپوکلاژن** می‌گویند. این ابرمارپیچ توسط پیوندهای هیدروژنی بین‌زنجیره‌ای (Interchain) درمیان سه زنجیر پایدار می‌شود. در تمامی انواع کلاژن‌ها، نواحی منحصر به فردی از تری‌پپتیدهای Gly-X-HydPro و Gly-Pro-Y وجود دارند که بصورت پشت‌سرهم، صدها بار تکرار شده‌اند. کلاژن‌ها از نظر جزء کربوهیدراتی با هم اختلاف دارند.

برخی از ریشه‌های پرولین و لیزین در کلاژن، توسط آنزیم‌های پرولیل‌هیدروکسیلاز و لیزیل‌هیدروکسیلاز، هیدروکسیله شده و به هیدروکسی‌پرولین و هیدروکسی‌لیزین تبدیل می‌شوند. آنزیم‌های هیدروکسیلاز، برای فعالیت به Fe^{2+} و اسید آسکوربیک (ویتامین C) نیاز دارند. هیدروکسیلاسیون پرولین با ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین زنجیره‌ای، سبب تثبیت و استحکام کلاژن می‌شود، در حالی که هیدروکسیلاسیون لیزین، محل‌هایی را برای ایجاد اتصالات عرضی و اتصال ریشه‌های قند به کلاژن فراهم می‌کند.

جدول ۱-۴. توزیع بافتی انواع کلاژن

انواع کلاژن	توزیع بافتی
I	استخوان، پوست، تاندون، دریچه قلب، دیواره روده و رحم
II	غضروف، زجاجیه
III	عروق خونی، دیواره روده و رحم
IV	غشای پایه
V	سطوح سلولی یا ماتریکس خارج سلولی
VI	جفت، کلیه

سنتز و بلوغ کلاژن

بخشی از سنتز کلاژن در داخل سلول و بخش دیگر در خارج سلول صورت می‌گیرد.

✓ مرحله داخل سلولی:

۱) هیدروکسیله شدن ریشه‌های پرولین و لیزین همزمان با ترجمه

۲) گلیکوزیلاسیون (اتصال قند) ریشه‌های هیدروکسی‌لیزین

۳) ایجاد اتصالات دی‌سولفیدی

۴) ایجاد مارپیچ سه‌تایی راست‌گرد پروکلاژن

✓ مرحله خارج سلولی:

۱) حذف زوائد موجود در انتهای آمینو و کربوکسیل پروکلاژن توسط آنزیم‌های پروکلاژن آمینوپپتیداز و کربوکسی پپتیداز

۲) تشکیل تروپوکلاژن

۳) ایجاد اتصالات عرضی میان تروپوکلاژن‌ها توسط آنزیم **لیزیل آمینو اکسیداز** و تشکیل فیبرهای درشت کلاژن در کلاژن‌های فیبریلی (نظیر کلاژن نوع I)، پروپپتیدهای انتهای آمینو و کربوکسیل (تحت عنوان **تلوپپتید**) توسط آنزیم‌های پروتئاز شکسته می‌شوند، در حالی که پروپپتیدهای انتهای کربوکسیل در کلاژن‌های نوع IV باقی می‌مانند، پس در بین انواع کلاژن‌ها، کلاژن نوع I فاقد تلوپپتید است. نقص های شناخته شده‌ای در بسیاری از این مراحل وجود دارند که برخی از آنها در جدول ۲-۴ فهرست شده‌اند.

جدول ۲-۴. ناهنجاری‌های کلاژنی

ناهنجاری	نقص
استئوژنز ایمپرفکتا	جهش‌های نقطه‌ای در نواحی مارپیچ سه‌تایی
سندروم آلپورت	نقص در کلاژن نوع IV
اهلرز–دانلس IV	نقص در کلاژن نوع III
اهلرز–دانلس VI	کمبود لیزیل هیدروکسیلاز (کاهش هیدروکسی لیزین در کلاژن I و III)
اهلرز–دانلس VII	کمبود آنزیم پروکلاژن N–پروتئاز
سندروم شاخ پس‌سری (اهلرز–دانلس IX)	نقص در ژن کدکننده ATPase انتقال دهنده مس و کمبود آنزیم لیزیل اکسیداز
آسکوربوت	کاهش هیدروکسی‌پرولین بدلیل کمبود آسکوربیک اسید

۲) الاستین

یک پرتئین بافت همبند است که مسئول قابلیت اتساع و ارتجاع در بافت‌هایی نظیر ریه، عروق خونی و شریان‌های بزرگ است. همانند کلاژن دارای هیدروکسی‌پرولین است ولی فاقد هیدروکسی‌لیزین گلیکوزیله است. برخی از ریشه‌های لیزین توسط آنزیم **لیزیل آمینو اکسیداز** وابسته به Cu، دآمینه شده و به آلدئید تبدیل می‌شوند که به آنها **آلیزین** می‌گویند. اتصالات متقاطع بین ۳ آلیزین با یک لیزین تغییر نیافته ایجاد می‌شود و تشکیل دسموزین را می‌دهد. **دسموزین** که حاوی ۴ ریشه لیزین است توسط آنزیم لیزیل اکسیداز ایجاد می‌شود. سندروم ویلیامز نتیجه جهش در الاستین است.

الاستین به بافت‌ها ظرفیت ارتجاعی بدون پاره‌گی را می‌دهد. الاستین در رباط‌ها، ریه‌ها، دیواره شریان و پوست فراوان است. الاستین فاقد یک ساختمان دوم منظم است.

۳) کراتین و تروپومیوزین

کراتین و تروپومیوزین پروتئین‌های فیبری هستند که در آنها هر زنجیر پلی‌پپتیدی یک مارپیچ α است. کراتین در لایه اپیدرمی پوست، ناخن‌ها و مو یافت می‌شود. توالی‌های موجود در هر دو پروتئین، دارای تکرارهای پشت سرهمی از قطعات هفت ریشه‌ای (هپتاد) هستند، بصورتی که اولین و چهارمین اسیدآمینه، زنجیرجانبی آبگریز و پنجمین و هفتمین اسیدآمینه، زنجیرجانبی قطبی دارند. تکرار زنجیرهای جانبی آبگریز و قطبی در قطعات هپتاد با نماد $(a\text{-}b\text{-}c\text{-}d\text{-}e\text{-}f\text{-}g)_i$ نشان داده می‌شود، که در آن a و d آمینواسیدهای آبگریز، و e و g آمینواسیدهای قطبی یا یونیزه هستند.

لیپوپروتئین‌ها

لیپوپروتئین‌های پلاسمایی، کمپلکسی از پروتئین و لیپید هستند که از طریق تعاملات غیرکووالان با هم ارتباط برقرار کرده‌اند. چهار کلاس اصلی از لیپوپروتئین‌ها شامل شیلومیکرون، VLDL، LDL و HDL در پلاسمای انسان یافت می‌شوند. اجزای پروتئینی این ذرات را **آپولیپوپروتئین** می‌نامند، که هرکدام از آنها حاوی ترکیب آپولیپوپروتئینی

مشخصی است. آپولیپوپروتئین‌ها وقتی به لیپیدها می‌پیوندند، میزان زیادی مارپیچ α دارند. آپو B حاوی قطعات مارپیچ α و رشته β است.

گلیکوپروتئین‌ها

گلیکوپروتئین‌ها دارای یک یا چند اسیدآمینه هستند که با پیوندهای کووالان به کربوهیدارت‌ها اتصال یافته‌اند. شناخته‌شده‌ترین گلیکوپروتئین‌ها، آنهایی هستند که در سطح خارجی غشاهای پلاسمایی، ماتریکس خارج سلولی و پلاسمای خون وجود دارند. در ماتریکس خارج سلولی، بسیاری از پروتئین‌ها نظیر کلاژن و لامینین حاوی کربوهیدارت هستند. پروتئین‌های پلاسمایی اصلی شامل پروتئین‌های انعقادی، ایمونوگلوبین‌ها، پروتئین‌های کمپلمان، و هورمون‌های LH، FSH و TSH ساختمان گلیکوپروتئینی دارند. میزان کربوهیدارت وجود در گلیکوپروتئین‌ها متغیر است؛ IgG از نظر وزنی ۴٪، گلیکوفورین موجود در غشای RBC ۶۰٪، و گلیکوپروتئین‌های معده‌ای انسان ۸۲٪ کربوهیدارت دارند.

دو اتصال کربوهیدراتی معمول شامل **اتصال N-گلیکوزیدی** بین گروه آمیدی آسپارژین و یک قند، و **اتصال O-گلیکوزیدی** بین یک گروه هیدروکسیل سرین یا ترئونین و یک قند هستند. بدلیل غلظت بالای گلوکز در خونِ افراد دیابتی، انتهای آمینوی زنجیر β هموگلوبین، توسط یک واکنش غیرآنزیمی و خودبخودی به گلوکز متصل شده و هموگلوبین گلیکوزیله (تحت عنوان HbA_{1C}) تولید می‌شود. در هایپرگلایسمی طولانی مدت، غلظت ممکن است تا ۱۲٪ هموگلوبین کل یا بیشتر افزایش یابد، بنابراین می‌توان از HbA_{1C} برای پیگیری تأثیر درمان افراد دیابتی استفاده نمود.

تاشدن پروتئین‌ها

پروتئین‌ها می‌توانند با تاشدن خودبخودی به کنفورماسیون‌های دوم و سوم بومی خود تبدیل شوند. ساختمان‌های چهارم نیز بعد از تشکیل ساختمان سوم زیرواحدها، بطور خودبخودی همایش می‌یابند. پروتئین‌های چاپرونی ممکن است تاشدن پروتئین‌ها را تسهیل کنند. کنفورماسیون یک پروتئین، شکلی است که توالی آن کمترین انرژی آزاد گیبس را داشته باشد. لذا تا شدن تحت هر دو نوع کنترل ترمودینامیکی و کینتیکی قرار دارد.

در بیماری پریونی، پروتئین PrP^c (کنفورماسیون سلولی و محلول) به پروتئین PrP^{sc} (کنفورماسیون نامحلول و سمی) تبدیل می‌شود. پروتئین PrP^c حاوی ۳ قطعه مارپیچ α و ۲ قطعه رشته β است که با تبدیل یک قطعه مارپیچ α به یک رشته β، به PrP^{sc} تبدیل می‌شود.

پروتئین‌های چاپرونی، پرولیل سیس-ترنس ایزومراز (PI) و پروتئین دی‌سولفید ایزومراز (PDI)، پروتئین‌هایی هستند که به تاشدن پروتئین‌ها کمک می‌کنند. **پرولیل سیس-ترنس ایزومرازها** پیوندهای پپتیدی سیس و ترنس مربوط به ریشه‌های پرولین را به یکدیگر تبدیل می‌کنند. **پروتئین دی‌سولفید ایزومرازها** با تشکیل پیوندهای دی‌سولفیدی صحیح، تاشدن صحیح پروتئین‌ها را تسهیل می‌کنند. **پروتئین‌های چاپرون**، خانواده‌ای از پروتئین‌ها هستند که سنتزشان با افزایش درجه حرارت بیشتر می‌شود به همین دلیل با عنوان پروتئین‌های شوک حرارتی (Hsp) شناخته می‌شوند. چاپرون‌ها با اتصال به نواحی هیدروفوب مانع ایجاد تجمعات پروتئینی شده و از فولدینگ اشتباه پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند. چاپرون‌ها همچنین برای تاشدن مجدد پروتئین‌ها و انتقال آنها به داخل میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی مورد نیاز هستند. Hsp ها بر اساس وزن مولکولی تقسیم بندی می‌شوند. به خانواده Hsp60، **چاپرونین** می‌گویند که اینها فعالیت ATPase دارند و با هیدرولیز ATP فرایند تاشدن را تسهیل می‌کنند (به Hsp60 در E.coli، GroEL می‌گویند).

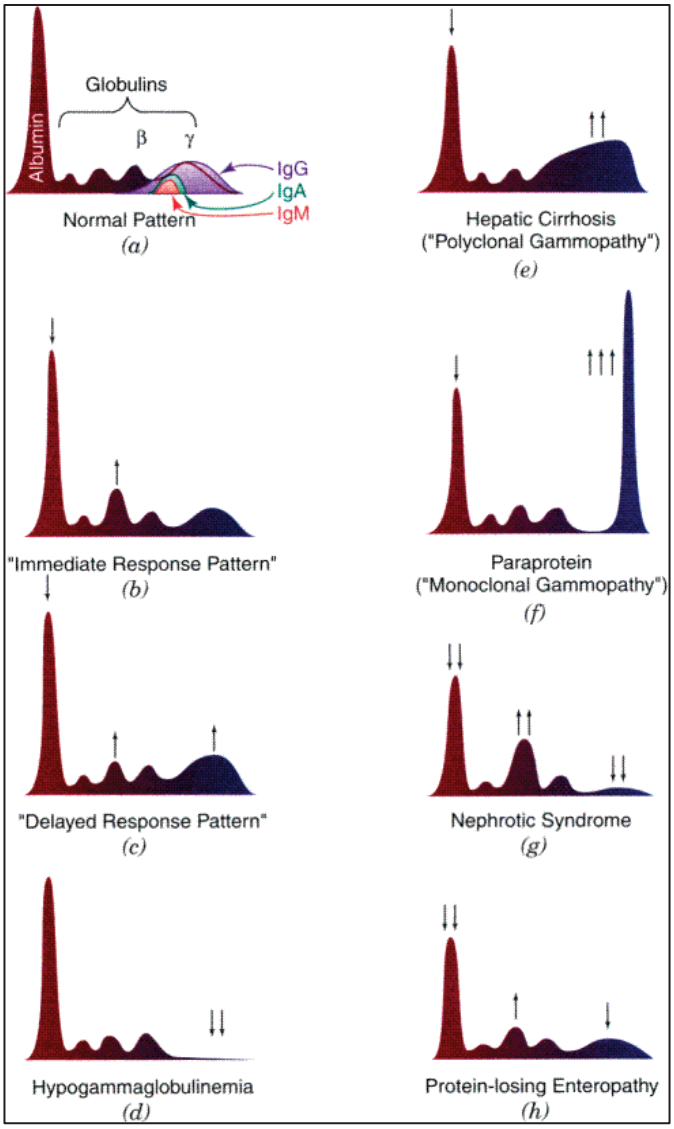
دناتوراسیون

به دنبال دناتوراسیون کنفورماسیونی، پیوندهای پپتیدی شکسته نمی‌شوند. غلظت سلولی یک پروتئین تحت کنترل سرعت سنتز و تجزیه آن قرار دارد. تحت بسیاری از حالات، دناتوراسیون یک پروتئین مرحله کنترل‌کننده سرعت در تجزیه آن است.

شناسایی، تخلیص و تعیین ساختمان پروتئین‌ها

الف) جداسازی پروتئین‌ها بر اساس بار

در الکتروفورز، پروتئین حل شده در یک محلول بافری در یک PH خاص در یک میدان الکتریکی قرار داده می‌شود. برحسب ارتباط PH بافر با PI پروتئین، پروتئین به سمت کاتد (−) یا آند (+) حرکت کرده و یا ساکن (PH=PI) باقی می‌ماند. در PH بزرگتر از PI، یک آمینواسید یا پروتئین، بار منفی به خود می‌گیرد و در محیط الکتروفورز به سمت آند حرکت می‌کند، و برعکس اگر PH کمتر از PI باشد، بار خالص پروتئین یا آمینواسید مثبت شده و به سمت کاتد حرکت می‌کند. در PI=PH (زوئیتریون)، بار خالص آمینواسیدها و پرتئین‌ها صفر است و در میدان الکتریکی بدون حرکت هستند. جداسازی پروتئین‌های پلاسمایی معمولاً در PH=۸/۶ انجام می‌شود که بیش از PI پروتئین‌های اصلی است. در اینصورت، پروتئین‌ها بار منفی دارند و به سمت آند می‌روند. با الکتروفورز پروتئین‌های پلاسمایی بر روی ژل آگارز در PH=۸/۶ ، ۵ باندِ آلبومین، α_1، α_2، β و γ-گلوبولین‌ها آشکار می‌شود. می‌توان از آنالیز الکتروفورتیک پروتئین‌های پلاسمایی، جهت تشخیص بیماری‌ها استفاده کرد. به عنوان مثال، در سیروز کبدی (گاماپاتی پلی‌کلونال)، افزایش وسیع γ-گلوبولین‌ها همراه با کاهش آلبومین وجود دارد، در سندورم نفروتیک نیز، کاهش آلبومین و γ-گلوبولین‌ها همراه با افزایش α_2 ماکروگلوبولین دیده می‌شود. در شکل ۷-۴ مثال‌هایی از الگوهای غیرطبیعی الکتروفورز نشان داده شده است.



شکل ۷-۴. الگوهای حرکت الکتروفورتیک بر روی ژل آگارز.

از **کروماتوگرافی ستونی تعویض یونی** برای جداسازی preparative پروتئین‌ها بر اساس بار استفاده می‌شود. رزین‌های **تعویض کاتیونی** [نظیر متیل کربوکسیلات (CM)]، دارای بار منفی هستند که به مولکول‌های دارای بار مثبت متصل می‌شوند. برعکس، رزین‌های **تعویض آنیونی** [نظیر دی‌اتیل آمینو اتیل (DEAE)] دارای بار مثبت بوده و به مولکول‌های دارای بار منفی اتصال می‌یابند.

ب) جداسازی پروتئین‌ها بر اساس جرم و اندازه مولکولی

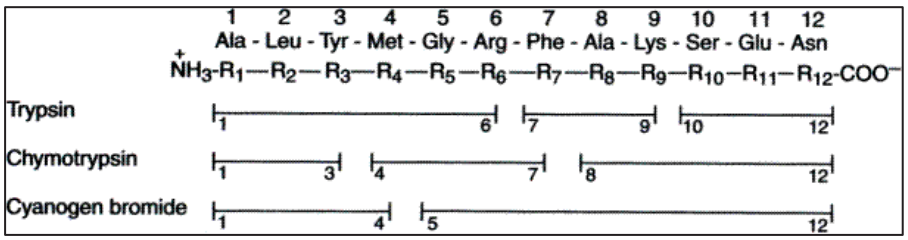
اولتراسانتریفیوژ روشی است که پروتئین‌ها را بر اساس جرم مولکولی‌شان جداسازی می‌کند. در **کروماتوگرافی رد مولکولی (ژل فیلتراسیون)**، معمولاً از یک ژل متخلخل در کروماتوگرافی ستونی استفاده می‌شود. در این روش پروتئین‌های بزرگ وارد منافذ نشده و زودتر از ستون خارج می‌شوند، در حالی که پروتئین‌های کوچک وارد منافذ ژل شده، و دیرتر از ستون خارج می‌شوند. در **الکتروفورز بر روی ژل پلی‌اکریلامید**، از یک دترژنت نظیر سدیم دو دسیل سولفات (SDS) استفاده می‌شود. دترژنت پروتئین را دناتوره کرده و به آنها بار منفی می‌دهد. ذرات دارای بار منفی از میان ژل پلی‌اکریلامید به سمت آند حرکت کرده و بر اساس اندازه جدا می‌شوند.

تعیین توالی آمینواسیدها

پلی‌پپتیدها بیشتر توسط **واکنش ادمن** یا به طریق **اسپکترومتری جرمی** تعیین توالی می‌شوند. در واکنش ادمن، زنجیر پلی‌پپتیدی با فنیل ایزوتیوسیانات مجاور می‌شود که با گروه انتهای آمینو واکنش می‌دهد، بنابراین این روش آمینواسیدهای انتهای آمینو را شناسایی می‌کند. از نظر تئوری، با این روش می‌توان کل پلی‌پپتید را تعیین توالی کرد، ولی تحت شرایط مناسب تنها می‌توان این عمل را برای ۳۰ یا ۴۰ اسیدآمینه موجود در زنجیر پلی‌پپتیدی انجام داد. پلی‌پپتیدهایی که بیش از ۳۰ تا ۴۰ آمینواسید دارند، به قطعت کوچکتر هیدرولیز شده و در چند بخش تعیین توالی می‌شوند. برای تجزیه زنجیره‌های پلی‌پپتیدی به قطعات کوچکتر، از روش‌های آنزیمی و شیمیایی استفاده می‌شود:

- **تریپسین** ترجیحاً پیوند پپتیدی موجود در انتهای کربوکسیل لیزین و آرژنین را می‌شکند.
- **کیموتریپسین** پیوند پپتید موجود در سمت کربوکسیل آمینواسیدهای آروماتیک (Phe، Trp و Tyr) را می‌شکند.
- **پپسین** همانند کیموتریپسین است ولی پیوند پپتیدی را از انتهای آمین می‌شکند.
- **پروتئاز V8 استاف اورئوس**، پیوند پپتیدی را در انتهای کربوکسیل گلوتامات و آسپارتات می‌شکند.
- **سیانوژن بروماید** پیوندهای پپتیدی موجود در انتهای کربوکسیل متیونین را می‌شکند.

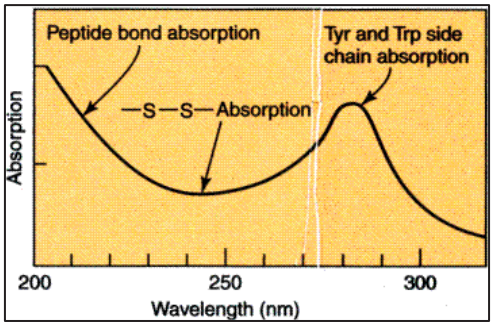
بعد از هیدرولیز نسبی، این قطعات جدا شده و هر توالی با واکنش ادمن یا اسپکترومتری جرمی تعیین می‌گردد.



شکل ۸-۴. پروتئولیز نسبی قطعات پلی‌پپتیدی توسط آنزیم‌ها.

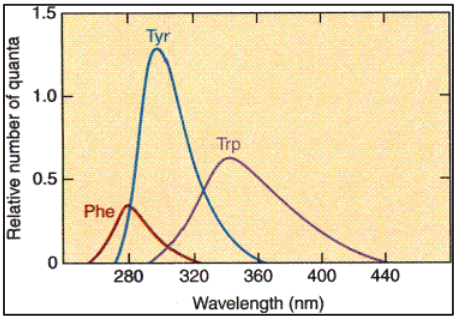
از تکنیک‌های **انکسار اشعه X** برای تعیین ساختمان سه بعدی پروتئین‌ها استفاده می‌شود. این روش نیاز به تولید یک کریستال پروتئینی دارد که حاوی حلال است. **اسپکتروسکوپی ماوراءبنفش** برای ارزیابی ساختمان و فعالیت پروتئین بکار می‌رود. به دلیل اینکه زنجیره‌جانبی آمینواسیدهای تیروزین، فنیل‌آلانین، تریپتوفان و پیوندهای پپتیدی

قادر به جذب نور ماوراءبنفش هستند. جذب بین ۲۶۰ تا ۲۸۰ نانومتر، اساساً مربوط به آمینواسیدهای آروماتیک است. طیف جذبی پیوندهای پپتیدی بین ۱۸۰ تا ۲۳۰ نانومتر می‌باشد. اسپکتروسکوپی ماوراءبنفش می‌تواند اطلاعاتی را در خصوص ساختمان دوم و سوم پروتئین فراهم کند.



شکل ۹-۴. طیف جذب ماوراءبنفش یک پروتئین.

اسپکتروسکوپی فلورسانس، روش دیگری است که امکان جستجوی تغییرات کنفورماسیونی و تعاملات اتصالی را فراهم می‌آورد. با دناتوراسیون یک پروتئین، فلورسانس تیروزین و فنیل آلانین افزایش می‌یابد، درحالی که فلورسانس تریپتوفان کاهش می‌یابد. طیف نشری فلورسانس مربوط به این آمینواسیدها در شکل ۱۰-۴ نشان داده شده است.

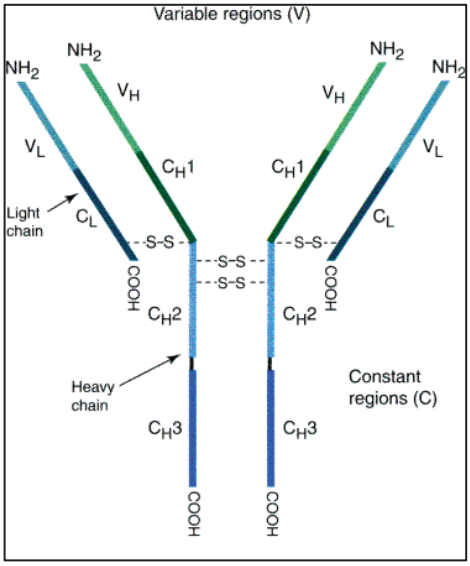


شکل ۱۰-۴. فلورسانس زنجیرهای جانبی اسیدآمینه‌های آروماتیک در پروتئین‌ها.

اسپکتروسکوپی دی کرومیسم حلقوی (CD)[1] نیز یک آزمون نسبتاً حساس برای تعیین میزان و نوع ساختمان دوم پروتئین است و معمولاً برای پیگیری تاشدن و دناتوراسیون پروتئین‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. اساس این روش وجود تفاوت بین طیف‌های ساختمان مارپیچ آلفا و صفحه بتا است.

آنتی‌بادی‌ها: فوق خانواده پروتئین‌ها

آنتی‌بادی‌ها بطور غیرکووالان به ترکیبات خارجی موجود در پوشش پروتئینی ویروس‌ها و سلول‌های باکتریایی مهاجم اتصال یافته و فرایندی را آغاز می‌کنند که از طریق آن، موجود مهاجم حذف می‌شوند. مولکول‌هایی که سبب القاء تولید آنتی‌بادی می‌شوند را **آنتی‌ژن** گویند. **هاپتن** مولکول کوچکی است که به تنهایی نمی‌تواند تولید آنتی‌بادی را آغاز کند، ولی وقتی بطور کووالان به یک مولکول بزرگتر متصل شود، به عنوان یک شاخص آنتی‌ژنیک عمل نموده و سنتز آنتی‌بادی را القاء می‌کند. آنتی‌بادی‌ها گلیکوپروتئین‌هایی متشکل از دو زنجیر سبک (L) با توالی یکسان، و دو زنجیر سنگین (H) یکسان هستند که ساختمان $(LH)_2$ را به وجود می‌آورند. این چهار زنجیر به طریق کووالان توسط پیوندهای دی‌سولفیدی به یکدیگر اتصال دارند (شکل ۱۱-۴).



شکل ۱۱-۴. نمایش خطی مولکول آنتی‌بادی IgG.

[1] Circular Dichromism