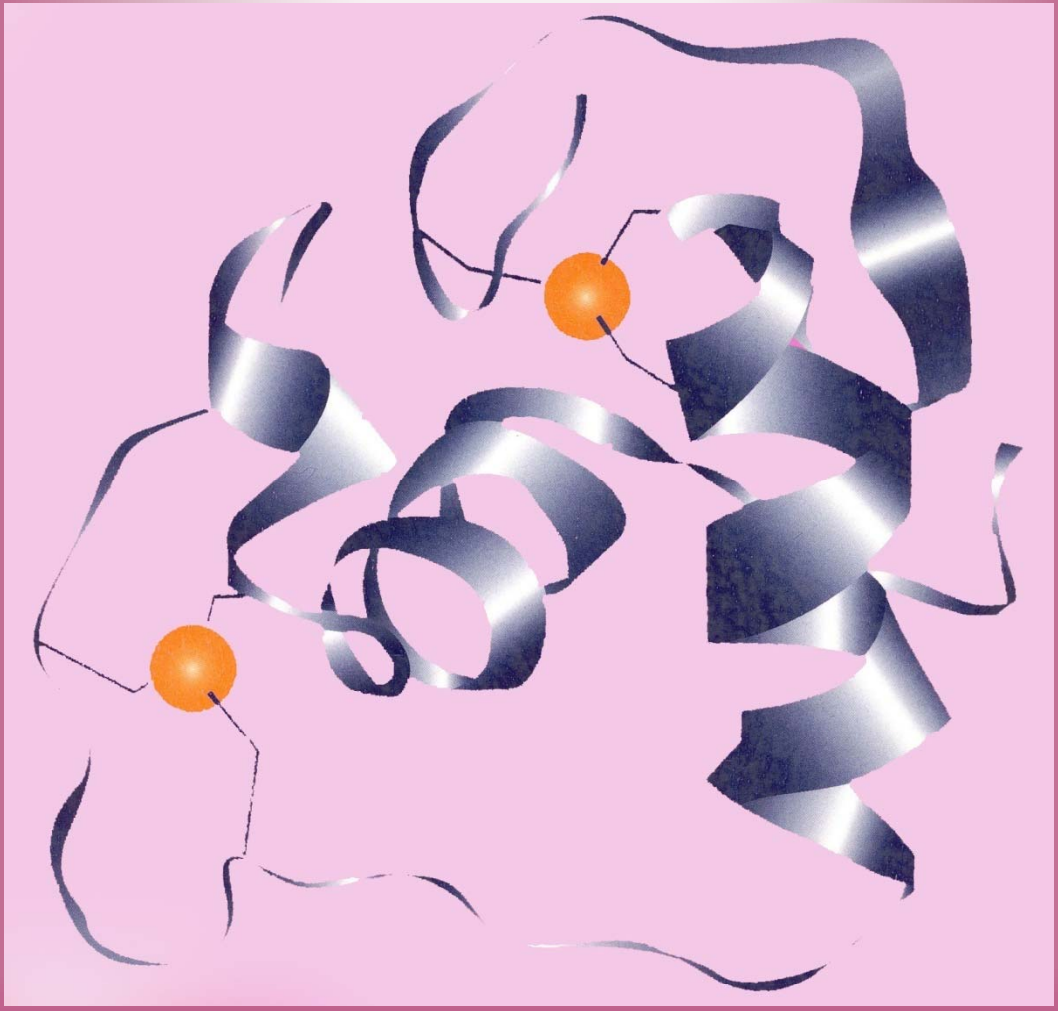
SHAHEED BEHESHTI
UNIVERSITY OF MEDICAL SCIENCES&
HEALTH SERVICES

Reform

مقدمات علوم پایه ۱

بیوشیمی



مهر ۱۳۸۹

بسم الله الرحمن الرحيم

پیشگفتار:

حمد وسپاس معبود بنده نواز را که این توانائی به ما عطا فرمود تا بتوانیم کار قسمتی از درسنامه مقدمات علوم پایه ۱ را که مربوط به علم بیوشیمی است به پایان برسانیم.

تهیه چاپ جدیدی از یک عنوان نو با مطالب محدود که مفاهیم اصولی بیوشیمی را در برگیرد تلاشی مهیج است. اهمیت علم بیوشیمی یا شیمی موجودات زنده برای درک واژه پزشکی و بیان سلامتی بر دانش پژوهان و دانشمندان واضح است. علم بیوشیمی پایه علوم دیگر منجمله باکتری شناسی، فیزیولوژی، آسیب شناسی، و حتی جراحی می باشد. بنابراین شناخت کافی این دانش الزامی است.

رضایت بخش بودن چاپ یک عنوان جدید درسی به افراد مختلف بستگی دارد. از آن جمله دانشجویانی را می توان نام برد که جزوات اولیه و مطالب آموزنده آن را مورد استفاده قرار داده اند و نویسندگان از این گروه به خاطر نظرات ارزشمند، داوری و پیشنهاداتشان که به تغییرات اساسی در این درسنامه منجر شد کمال تشکر را دارند.

در پایان از کلیه همکاران و دانشجویان عزیز تقاضامندیم که هرگونه نظرات اصلاحی در مورد مطالب مذکور دارند. مراتب را به اطلاع گروه برساند. باشد که به یاری خداوند در چاپ های بعدی مدنظر قرار گیرد.

گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول

بیوشیمی و پزشکی ۲

فصل دوم

آب و پتانسیل هیدروژن ۵

فصل سوم

اسیدهای آمینه ۱۰

فصل چهارم

ساختمان پروتئین ها و عملکرد آنها ۱۸

فصل پنجم

کربوئیدراتها ۳۳

فصل ششم

لیپیدها ۴۳

فصل هفتم

ساختمان اسیدهای نوکلئیک ۵۴

فصل هشتم

آنزیم ۷۷

فصل نهم

کوانزیم و ویتامین ها ۱۰۲

فصل دهم

انرژی و زیست ۱۱۳

فصل یازدهم

متابولیسم کربوئیدرات ها ۱۲۴

فصل دوازدهم

متابولیسم اسیدهای چرب ۱۴۷

فصل سیزدهم

متابولیسم اسیدهای آمینه ۱۶۵

فصل چهاردهم

متابولیسم نوکلئوتیدها ۱۸۴

فصل پانزدهم

بیوسنتز RNA و پیرایش آن ۱۹۹

فصل شانزدهم

بیوسنتز پروتئین ها ۲۰۰

اسامی مولفین به ترتیب حروف الفبا

سر کار خانم دکتر فریده اسفندی

جناب آقای دکتر عبد الحسین باستانی

سر کار خانم دکتر نوشابه پژهان

جناب آقای دکتر بهرام یغمائی

فصل اول

بیوشیمی و پزشکی

بیوشیمی و پزشکی

تعریف : بیوشیمی (شیمی حیاتی – زیست شیمی) دانشی است که در مورد مولکول های مختلف موجود در سلول ها و اندامک های زنده و واکنش های شیمیایی که در آنها صورت می گیرد بحث می کند. به عبارت ساده تر بیوشیمی یعنی درک و شناخت سلول در سطح مولکولی

طبق تعاریف بیوشیمی محدوده ی گسترده ای از بیولوژی سلولی، سیتولوژی مولکولی و ژنتیک مولکولی را در بر می گیرد هدف بیوشیمی شرح و توصیف جزئیات مولکولی تمام فرآیندهای شیمیایی در سلولهای زنده می باشد.

اهمیت بیوشمی در پزشکی

دانشجویان پزشکی اگر اطلاعات جامع و کاملی در مورد بیوشیمی داشته باشند می توانند در روند کارهای آموزشی و تحقیقاتی خود به ۲ مسأله اصلی و مهّم در زمینه بهداشت برسند.

۱) شناخت و نحوه حفظ سلامت فرد

۲) درک شیوه های موثر در درمان بیماریها

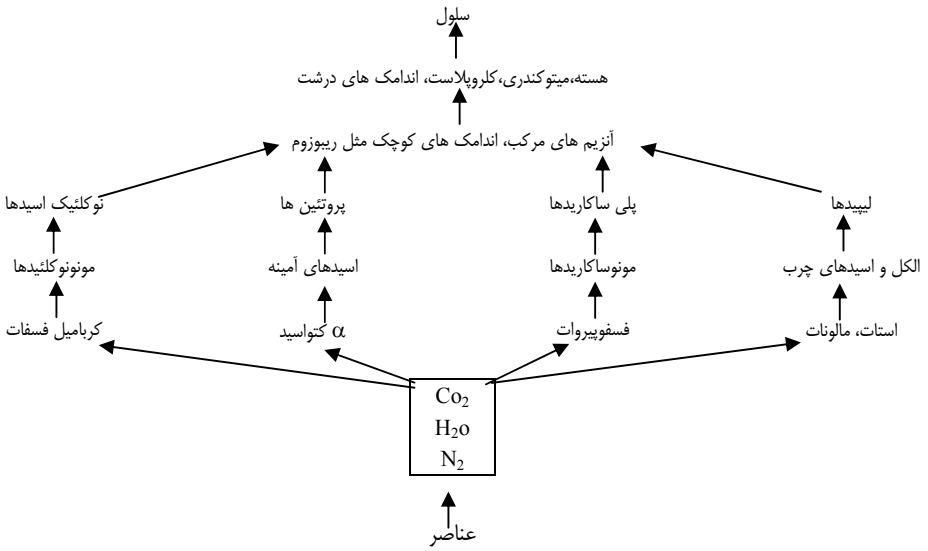
اساس سلامتی فرآیندهای طبیعی بیوشیمیایی است

– سازمان بهداشت جهانی (WHO) در تعریف سلامتی می گوید: احساس راحتی کامل بدنی روحی، اجتماعی نه صرفاً نبود نقص و یا بیماری. ولی تعریف سلامتی فقط از جنبه بیوشیمیایی: وضعیتی که در آن تمام هزاران واکنش درون و برون سلول با سرعتی متناسب در حال انجام باشند بطوری که بهترین شرایط حیات را در وضعیت فیزیولوژیک برای جاندار فراهم کنند. باید در نظر داشت که حفظ سلامتی انسانها امری ساده نیست و نیازمند آگاهی کافی از اصول بیولوژیکی و حتی اصول روانشناختی و جامعه شناسی می باشد.بیشتر بیماری ها و به عبارتی تمام بیماری ها منشأ بیوشیمیایی دارند: اعتقاد بر این است که بسیاری از بیماری ها به دنبال اختلال در کار مولکول های زیستی به وجود می آیند و تظاهری از اختلالات مولکول ها، واکنش ها و فرآیندهای شیمیایی هستند

تمام عوامل زیر با تأثیر بر مکانیسمهای گوناگون بیوشیمیایی در سلول یا بدن می توانند تولید بیماری نمایند:

۱. عوامل فیزیکی: تروما (ضربات مکانیکی) ، دمای بالا یا پایین ، پرتوها، تغییرات ناگهانی فشار جو، شوک الکتریکی و .....
۲. عوامل شیمیایی: ترکیبات خاص سمی، داروها، آلاینده های محیطی و .....
۳. عوامل بیولوژیک : ویروس ها، باکتری ها، قارچ ها، اشکال عالی تر انگل ها
۴. کمبود اکسیژن: افت خونرسانی، افت ظرفیت اکسیژن رسانی خون، مسموم شدن آنزیم های اکسیداتیو .....
۵. اختلالات ژنتیکی : مادرزادی ، مولکولی
۶. اختلالات تغذیه ای : کمبود ها و مازادها
۷. اختلالات غدد درون ریز: کمبود ها و اضافات هورمونی
۸. واکنش های ایمنی : بیماری های خود ایمنی، آنافیلاکسی .....

سلول: واحد ساختمانی سیستم های حیاتی را تشکیل می دهد بنابراین شناخت سلول و سلسله مراتب تکامل مولکولی در ساختمان سلول از موضوعات اصلی می باشند.



همه انواع درشت مولکول اصلی در تمام سلول ها تقریباً به یک نسبت وجود دارند و هریک وظیفه‌ی مشخصی را در سلول برعهده دارند.

- اسیدهای نوکلئیک حامل اطلاعات توارثی در سلول ها بوده و نقش مهمی در حمل این اطلاعات دارا می باشد. محصول بیان اطلاعات توارثی پروتئین ها می باشند.

پروتئین ها مولکول هایی هستند که بیشتر نقش آنزیمی و هم چنین نقش ساختمانی در سلول دارند.

- پلی ساکاریدها: می توانند در سلول نقش ذخیره ای (گلیکوژن – نشاسته) و یا نقش ساختمانی (سلولز) را داشته باشند.
- لیپیدها : در ذخیره ی انرژی و در ساختار غشا کاربرد دارند.

اختلاف عمده بین اسیدهای نوکلئیک و پروتئین ها از یک طرف و پلی ساکاریدها و لیپیدها این است که اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها درشت مولکولهای آگاه کننده می باشند. زیرا از نظر ساختمانی حامل اطلاعات می باشند. هر مولکول اسید نوکلئیک دارای ۴ نوع مونونوکلئوتید است که ترتیب قرار گرفتن آنها اطلاعات توارثی را بیان می نماید.

- مولکولهای پروتئینی دارای ۲۰ نوع اسید آمینه می باشند که ترتیب قرار گرفتن آنها خود بیان اطلاعات توارثی است.
- پلی ساکاریدهاولیپیدها از درشت مولکولهای آگاه کننده نمی باشند زیرا ساختمان آنها درجانداران مختلف یکسان است.

عناصر سازنده بدن موجودات زنده از نظر تعداد به ۲ دسته

۱- micro element

۲- macro element تقسیم می شوند.

- از طرف دیگری عناصر در یکی از ۳ گروه زیر قرار دارند:
  ۱) عناصر ساختمانی (سازنده)
  ۲) یونها
  ۳) عناصر نادر و کمیاب

۱) عناصر ساختمانی: شامل ۴ عنصر اصلی ، (N-C-O-H) می باشد که تقریباً ۹۹٪ وزن بیشتر سلول‌ها را تشکیل می‌دهد در صورتیکه فراوانترین عناصر در روی کره زمین : (Na-A1-Si-O) می‌باشد. انتخاب این عناصر به عنوان عناصر سازنده احتمالاً به این دلیل است که این عناصر قادر می باشند به بهترین وجه با یکدیگر ترکیب شده و ترکیبات پایداری را برای به وجود آوردن پدیده ی حیات، فراهم سازند.

۲) یونها: شامل کاتیونها و آنیونها مثل: سدیم ، کلر، پتاسیم و .....

۳) عناصر کمیاب : شامل آهن، مس، کبالت، روی، کرم، مولیبدن، منگنز و .....

فصل دوم

آب و پتانسیل هیدروژن

آب و پتانسیل هیدروژن

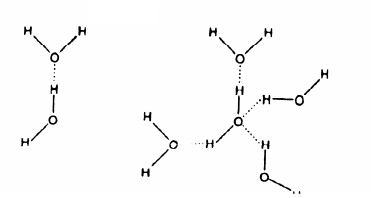
آب جزء شیمیایی اصلی موجودات زنده است. خواص فیزیکی منحصر به فرد آن از جمله قابلیت حل کردن گستره ی وسیعی از مولکول های آلی و معدنی ، ناشی از ساختار دوقطبی و ظرفیت استثنایی آن در ایجاد پیوندهای هیدروژنی و همین طور ثابت دی الکتریک بالای آن است. نحوه ی تعامل آب با هر بیومولکول بر ساختار هرکدام از آنها تاثیر می گذارد آب یک نوکلئوفیل بسیار عالی است که در بسیاری از واکنش های متابولیک نقش واکنشگر یا محصول را دارد. آب تمایل مختصری دارد که به یونهای هیدروکسید پروتون تفکیک شود.

اسید تیه ی محلول های آلی را عموماً با مقیاس لگاریتمی PH بیان می کنند در حالت طبیعی بیکربنات ها و سایر بافرها PH مایع خارج سلولی را در محدوده ی ۷/۳۵ تا ۷/۴۵ نگه می دارند. برای تایید اختلالات تعادل اسید و باز از سنجش PH خون شریانی و CO_2 خون وریدی استفاده می کنند.

آب بدن در سه محیط متمایز فضای درون سلولی (حدود ۴۰٪ وزن بدن) و فضای بین سلولی (حدود ۱۵٪ وزن بدن) و درون رگ ها و آب پلاسمایی (حدود ۵٪ وزن بدن) وجود دارد.

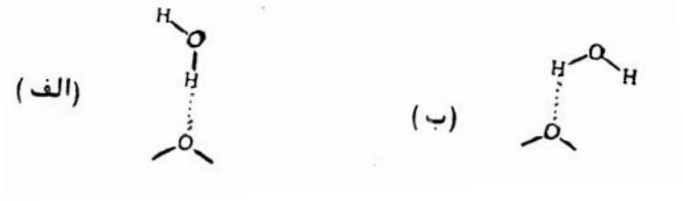
مولکولهای آب ، پیوند هیدروژنی می سازند

هرمولکول آب تمایل به تشکیل ۴ پیوند هیدروژنی با ۴ مولکول مجاور دارد (شکل ۱)



شکل ۱: چپ: به هم پیوستن دو ملکولهای دوقطبی آب با پیوند هیدروژنی (خط چینها). راست : اتصال ٤ مولکول آب به یک مولکول مرکز ی آب با پیوند هیدروژنی . این همان ساختمان معمول یخ، و به درجات کمتر ، حالت مایع اب است.

وقتی که پیوند (-O-H) در روی یک امتداد با اتم اکسیژن پذیرنده باشد قدرت پیوند هیدروژنی ماکزیمم است . (شکل۲-الف) و در صورتیکه در یک امتداد نباشند پیوند هیدروژنی ضعیف است (شکل ۲- ب) و البته پیوند هیدروژنی بسیار ضعیف تر از پیوند کووالانسی می باشد.

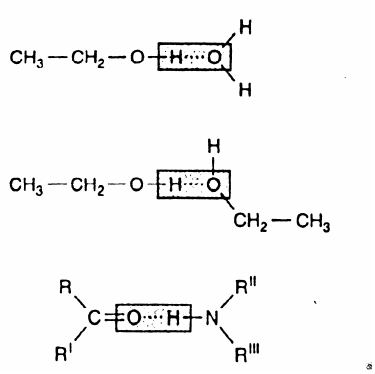


شکل ۲- پیوندهای هیدروژنی ضعیف و قوی

اما هنگامیکه تعداد نسبتاً زیادی پیوند هیدروژنی بین دو مولکول ایجاد شود انرژی لازم برای جدا ساختن مولکولها از هم بسیار زیاد است.

پیوندهای هیدروژنی به مولکول های آب اجازه می دهد تا بسیاری از بیومولکول ها را در خود حل کنند که دارای گروه های فعال شده کیت کننده در پیوندهیدروژنی هستند.

اتم های اکسیژن آلدئیدها ، کتونها و آمیدها، جفت الکترونهایی دارند که می توانند نقش پذیرنده ی هیـدروژن را ایفـا کننـد. الکل ها و آمین ها ، هم می توانند نقش پذیرنده و هم نقش دهنده ی اتم هیدروژن بی حفاظ را برای ایجاد پیوند هیدروژنی ایفـا کنند (شکل ۳)



شکل ۳: سایر گروههای قطبی هم در پیوندهای هیدروژنی شرکت می کنند. در اینجا پیوندهای هیدروژنی ایجاد شده بین الکـل و آب، بـین دو ملکول اتانول، و بین اکسیژن کربنیل پپتید و هیدروژن واقع بر نیتروژن پپتید مجاور دیده می شود.

اجسامی که تواماً دارای عوامل قطبی و هیدروفوب قوی هستند، آمفی پاتیک نام دارد و اغلب این اجسام مانند اسیدهای چرب و لیپیدهای قطبی نیل به تشکیل مسیل دارند.

PH لگاریتم منفی غلظت یون هیدروژن است

نخستین بار سورننس اصطلاح PH را در سال ۱۹۰۹ به کاربرد و به صورت لگاریتم منفی یون هیدروژن تعریف کرد.

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

این تعریف اگر چه کاملاً دقیق نیست ولی برای اکثر مقاصد بیوشیمیایی کافی است.

مقادیر کم PH نمایانگر غلظت زیاد H^+ و مقادیر زیاد PH نمایانگر غلظت کم H^+ است.

(طبق نظریه برونستد– لوری) اسیدها دهنده ی پروتن و بازها گیرنده پروتن هستند

$POH = -\log [OH\}$

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

$PH+POH=14$

شکل پروتن دار هر اسید (مثل HA یا RNH_3^+) را اسید می نامیم و شکل بی پـروتن آن مثـل (A^- یـا RNH_2) را بـاز مزدوج، همچنین می توان ، باز یا اسید مزدوج آنرا نیز تعریف کرد.

معادله هندرسن – هسلباخ رفتار اسیدهای ضعیف و بافرها را مشخص می کند

معادله هندرسون – هاسلباخ چنین به دست می آید

اسید ضعیف HA به ترتیب زیر یونیزه می شود:

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

ثابت تعادل این تفکیک را این گونه می نویسند.

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

و داریم :

$$[A^-][H^+]=ka[HA]$$

با تقسیم دو طرف ، بر $[A^-]$ داریم :

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

در طرفین لگاریتم می گیریم:

$$\log[H^+] = \log(Ka\frac{[HA]}{[A^-]}) = \log Ka + \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

طرفین را در(۱-) ضرب می کنیم:

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

$$PH = PKa - \log\frac{[HA]}{[A^-]}$$

با معکوس کردن عبارت آخر، علامت منفی هم مثبت می شود.

$$PH = PKa + \log\frac{[A^-]}{[HA]}$$

معادله هندرسون هسلباخ قدرت زیادی در پیشگویی تعادل های پروتونی دارد سه حالت زیر را در نظر می گیریم.

۱) در صورتکیه نیمی از اسید خنثی شود داریم $[A^-]=[HA]$ در این شرایط با توجه به معادله ی بالا داریم:

PH=PKa

۲) در صورتیکه غلظت اسید بیش از باز کونژوگه باشد.

$[HA]>[A^-] \Rightarrow$ PH=PK-عدد

۳) اگر غلظت اسید کمتر از باز کونژوگه باشد.

$[HA]<[A^-] \Rightarrow$ PH=PK+عدد

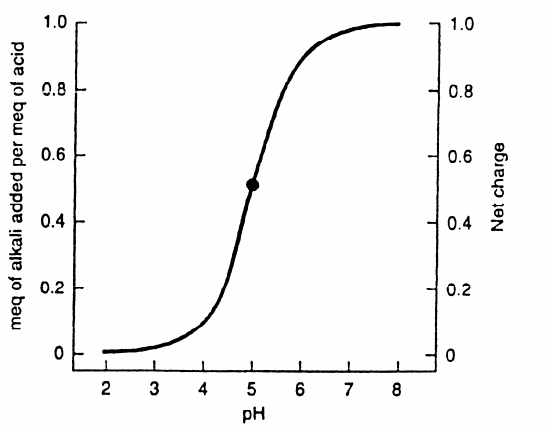
مثلاً اگر $\frac{[A^-]}{[HA]}$ =۱۰۰ باشد داریم

PH=PKa+2

ودرصورتیکه $\frac{[A^-]}{[HA]}$ = ۰/۱ داریم

$$PKa + \log ۰/۱ = PKa - 1$$

اگر معادله را در چند نسبت $\frac{[A^-]}{[HA]}$ در حد فاصل $۱۰^{۳}$ تا $۱۰^{-۳}$ بررسی کنیم و مقادیر محاسبه شده ی PH را روی منحنی مشخص نماییم ، منحنی تیتراسیون یک اسید ضعیف را به دست خواهیم آورد (شکل ۴)



شکل ٤: منحنی تیتراسیون اسیدی از نوع HA . نقطه وسط منحنی نمایانگر ۵/۰ = PK است.

محلول اسیدهای ضعیف و نمک آن تغییرات PH را بافر می کند

محلول بازها یا اسیدهای ضعیف و مزدوج آنها خاصیت بافری دارد یعنی پس از افزودن اسید یا باز قوی به محلول، توان بیشتری در مقابله با تغییرPH دارد، از آنجا که بسیاری از واکنش های متابولیک با آزاد سازی یا برداشت پروتون همراهند اکثر واکنش های داخل سلولی بافر می شوند.

متابولیسم اکسیداتیو، CO_2 تولید می کند که ایندرید اسید کربنیک است و در صورت بافر نشدن باعث اسیدوز شدید خواهد شد. حفظ ثبات PH مستلزم به کارگیری بافرهای فسفات، بیکربنات و پروتئین هاست که پروتن ها را می پذیرند یا آزاد می کنند تا با تغییر PH مقابله کنند.

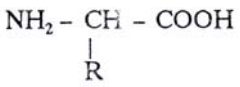
نکته ی آخر اینکه بافر شدن را زمانی با PH سنج می توان دید که یک اسید یا باز ضعیف در حال تیتراسیون باشد.

فصل سوم

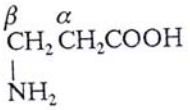
اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه به دو دسته آلفا آمینو اسیدها و غیر آلفا آمینواسیدها طبقه بندی مـی شـوند. در آلفـا آمینـو اسـیدها روی کـربن آلفـا (دومین کربن از قسمت کربوکسیل) یک عامل کربوکسیل و یک عامل آمینی، یک اتم هیدروژن و یک ریشه جانبی (R) وجود دارد و ساختمان آن بصورت زیر نوشته می شود.



در صورتیکه در اسیدهای آمینه غیر آلفا، عامل آمین روی کربن آلفا وجود ندارد و روی کربنهای دیگر قرار دارد به عنـوان مثـال بتـا آمینو اسید بصورت زیر می باشد.



بتا - آلانین

آلفا آمینو اسیدها واحد ساختاری پروتئین ها می باشند.

طبقه بندی اسیدهای آمینه

طبقه بندی اسیدهای آمینه آلفا که در سنتز پروتئین ها دخالت دارند به طرق مختلف انجام گرفته است:

۱- بر مبنای تغذیه: اسیدهای آمینه از نظر غذائی به سه دسته ضروری، نیمه ضروری و غیر ضروری طبقه بنـدی شـده انـد کـه در مباحث بعدی بیان خواهند شد.

۲- بر مبنای حلالیت : از نظر حلالیت اسیدهای آمینه به دو دسته قطبی و غیر قطبی طبقه بندی می شوند(جدول زیر).

طبقه‌بندی L-α اسیدهای آمینه پروتئین‌ها بر اساس هیدروفیلی (تمایل به چسبیدن به آب) و هیدروفوبی (تمایل به گریز از آب و نزدیکی به محیطهای غیرقطبی‌تر) نسبی.

هیدروفوب (آبگریز)	هیدروفیل (آبدوست)
آلانین	آرژینین
ایزولوسین	آسپاراژین
لوسین	اسید آسپارتیک
متیونین	سیستئین
فنیل آلانین	اسید گلوتامیک
پرولین	گلوتامین
تریپتوفان	گلیسین
تیروزین	هیستیدین
والین	لیزین
سرین	ترئونین

۳- بر مبنای گروه جانبی (R) : اسیدهای آمینه را از نظر گروههای جانبی به ۸ دسته تقسیم بندی می شوند.

الف – اسیدهای آمینه آلیفاتیک: گلایسین- آلانین – لوسین- ایزولوسین- والین به سه اسیدهای آمینه لوسین – ایزولوسین و والین اسیدهای آمینه شاخه دار نیز می گویند.

ب – اسیدهای آمینه الکل دار: این اسیدهای آمینه در گروه R خود دارای عامل هیدروکسیل می باشند. مانند سرین و تره اونین

ج – اسیدهای آمینه گوگرد دار: متیونین – سیستئین و سیستین

د – اسیدهای آمینه اسیدی: اسید گلوتامیک و اسید آسپارتیک

هـ – اسیدهای آمینه بازی : هستیدین – لیزین – آرژنین

و- اسیدهای آمینه آمیدی : گلوتامین و آسپارژین

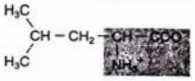
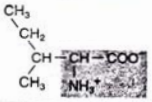
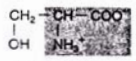
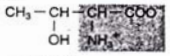
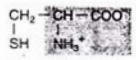
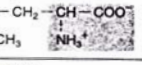
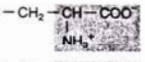
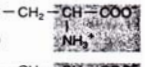
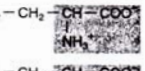
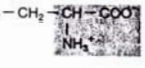
ز – اسیدهای آمینه حلقوی : فنیل آلانین – تیروزین

ح – اسیدهای آمینه ناجور حلقه : تریپتوفان

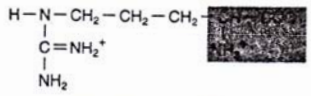
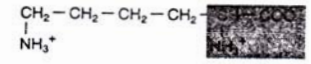
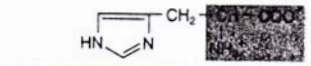
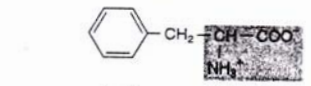
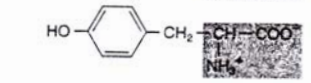
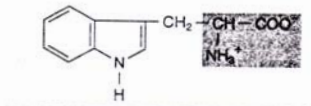
ط – ایمینو اسیدها : پرولین و هیدروکسی پرولین

جدول زیر ساختمان اسیدهای آمینه را بهمراه مخفف های سه حرفی و یک حرفی نشان می دهد.

جدول ۱ ـ L-α اسیدهای آمینه موجود در پروتئینها.

Name	Symbol	Structural Formula	pK_1 α-COOH	pK_2 α-NH_3^+	pK_3 R Group
With Aliphatic Side Chains					
Glycine	Gly [G]		2.4	9.8	
Alanine	Ala [A]		2.4	9.9	
Valine	Val [V]		2.2	9.7	
Leucine	Leu [L]		2.3	9.7	
Isoleucine	Ile [I]		2.3	9.8	
With Side Chains Containing Hydroxylic (OH) Groups					
Serine	Ser [S]		2.2	9.2	about 13
Threonine	Thr [T]		2.1	9.1	about 13
Tyrosine	Tyr [Y]	See below.			
With Side Chains Containing Sulfur Atoms					
Cysteine	Cys [C]		1.9	10.8	8.3
Methionine	Met [M]		2.1	9.3	
With Side Chains Containing Acidic Groups or Their Amides					
Aspartic acid	Asp [D]		2.0	9.9	3.9
Asparagine	Asn [N]		2.1	8.8	
Glutamic acid	Glu [E]		2.1	9.5	4.1
Glutamine	Gln [Q]		2.2	9.1	

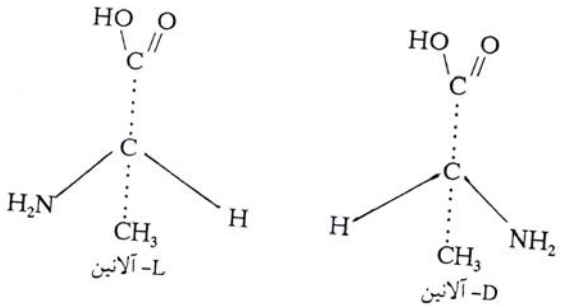
دنبال جدول ۱. ۲. L-α-اسیدهای آمینه موجود در پروتئینها.

Name	Symbol	Structural Formula	pK_1 α-COOH	pK_2 α-NH_3^+	pK_3 R Group
With Side Chains Containing Basic Groups					
Arginine	Arg [R]		1.8	9.0	12.5
Lysine	Lys [K]		2.2	9.2	10.8
Histidine	His [H]		1.8	9.3	6.0
Containing Aromatic Rings					
Histidine	His [H]	See above.			
Phenylalanine	Phe [F]		2.2	9.2	
Tyrosine	Tyr [Y]		2.2	9.1	10.1
Tryptophan	Trp [W]		2.4	9.4	
Imino Acids					
Proline	Pro [P]		2.0	10.6	

پ

خاصیت نوری اسیدهای آمینه

تمامی اسیدهای آمینه بجز گلایسین که کربن نامتقارن ندارد. بر مسیر نور پلاریزه موثرند. در مقایسه با ملکول گلسیرآلدئید در صورتیکه عامل NH2 روی کربن نامتقارن در طرف راست ملکول باشد، آنرا نوع D(Dextrogree) و اگر در طرف چپ باشد، آنرا L(Levogyre) می نامند. در زیر ساختمان D و L آلانین نشان داده شده است.



محلول اسیدهای آمینه به همین علت باعث انحراف نورپلاریزه می شوند. اگر نورپلاریزه را به سمت راست منحرف نماید راست گردان و اگر آنرا به سمت چپ متمایل کند چپ گردان نامیده می شوند که بترتیب با علامت (+) و (-) نشان داده می شوند.

پروتئین ها از L- آلفا آمینو اسیدها ساخته می شوند در صورتیکه قندها ی طبیعی از سری D هستند. حیوانات عالی و انسان قادر به سنتز تمامی ۲۰ نوع L- آلفا آمینو اسید نمی باشند. این ۲۰ اسید آمینه استاندارد کد ژنتیکی دارند. علاوه بر این آلفا آمینو اسیدها ،

اسیدهای آمینه آلفا دیگری هستند که در سنتز پروتئین شرکت نمی کنند ولی اعمال دیگری را انجام می دهند مانند اورنی تین، سیترولین و اسید آرژینوسوکسینات که در سنتز اوره دخالت دارند. هیدروکسی لیزین و هیدروکسی پرولین در ساختمان کلاژن، تیروزین در ساخت هورمونهای تیروئیدی و گلوتامات در ساخت میانجی عصبی شرکت دارند.

برخی از D – آمینو اسیدها که در طبیعت یافت می شوند عبارتند از:

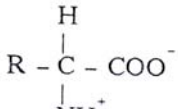
D- سرین و D آسپارتات در بافت مغز

D آلائین و D گلوتامات در دیواره باکتری های گرم مثبت

خاصیت آمفوتری اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه دارای دو عامل قابل یونیزه شدن می باشند عامل کربوکسیل که به اسید آمینه خاصیت اسیدی و عامل آمینی که به آن خاصیت قلیائی می دهد. بدلیل وجود این دو عامل اسیدی و آمینی اسید آمینه خاصیت آمفوتری دارد. بار الکتریکی اسید آمینه در محیط های مختلف متفاوت است.

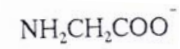
در محیط خنثی بصورت دوقطبی



شکل خنثی
با دوقطبی

در محیط اسیدی PH<3 بصورت مثبت

و نهایتاً در محیط بازی PH>9 بصورت منفی وجود دارند.

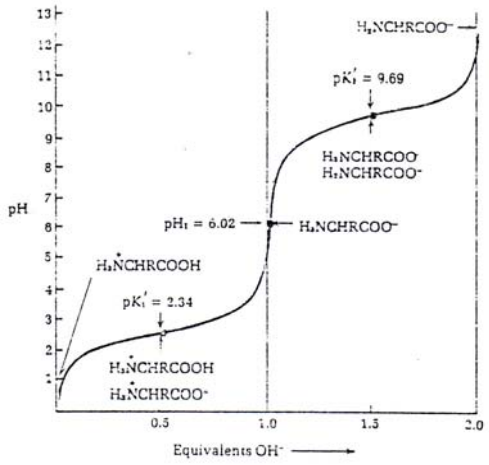


PH ایزوالکتریک

PH ایی است که در آن مجموع بارهای الکتریکی اسید آمینه صفر است یعنی اینکه عوامل اسیدی و بازی کاملاً تجزیه شده اند و هیچگونه باری وجود ندارد یعنی ملکول در میدان منحرف نمی شود.

اندازه گیری PH منطقه ایزوالکتریک بوسیله منحنی تیتراسیون

اگر به محلول اسید آمینه قطره قطره از محلول سود ۰/۱ نرمال اضافه نمائیم و در زمانهای معین PH محلول را اندازه گرفته و منحنی تغییرات PH را بر حسب مقدار سود مصرفی رسم نمائیم آزمایش را تکرار نموده و این بار بجای افزودن سود به محلول اسید آمینه ، اسید کلرنیدریک ۰/۱ نرمال می افزائیم منحنی بصورت زیر خواهد شد.



منحنی تیتراسیون اسیدهای آمینه

هر قسمت از منحنی فق شامل دو انحناء یکی بطرف پائین و دیگری بطرف بالا می باشد. نقطه تغییر جهت در هر منحنی را نقطه عطف می نامند که در این نقطه مطابق فرمول، پنحاه درصد اسید یا باز ضعیف یونیزه شده اند بنابراین در مورد اسیدضعیف خواهیم داشت:

$$K_{COOH} = \frac{[RCO\bar{O}][H^+]}{[RCOOH]}$$

و از آنجا: $PK_{COOH}=PH$ و یا $K_{COOH}=[H^+]$ بهمین صورت در مورد باز ضعیف خواهیم داشت

$$K_{NH2} = \frac{[RNH2][H^+]}{[RNH_3^+]}$$

و از آنجا $PK_{NH2}=PH$ و یا $K_{NH2}=[H^+]$

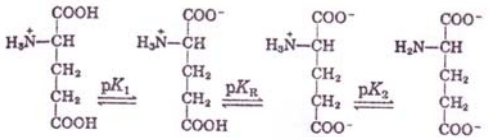
بنابراین PH نقطه ایزوالکتریک (PH_I) برابر است با

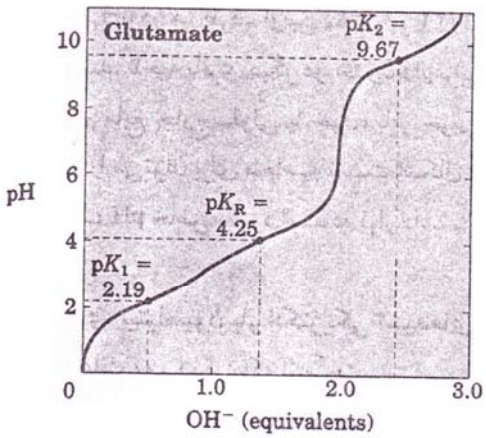
$$P_I = \frac{PK_1 + PK_2}{2}$$

شایان ذکر است درخصوص اسیدهای آمینه که گروه R آنها قابلیت یونیزه شدن را دارند محاسبه PH نقطه ایزوالکتریک متفاوت است . در زیر تعادلات و منحنی تیتراسیون یک اسید آمینه دی اسید و یک اسید آمینه دی آمین بیان شده است.

تیتراسیون اسید آمینه اسیدی

به عنوان مثال اسید سیتومالیک دارای دو عامل اسیدی و یک عامل آمینی است اگر اسید سیتومالیک رادر محیط کاملاً اسیدی یا باز تیتر نمائیم ابتدا عامل آلفا کربوکسیل و سپس عامل کربوکسیلی گروه R و نهایتاً عامل آمینی پروتون خودرا از دست می دهد و بترتیب از حالت کاتیونی به حالت خنثی و سپس بصورت اسید آمینه با یک بار منفی ونهایتاً بصورت دوبار منفی در آورده می شود. تعادلات زیر نمایانگر این موضوع است.





برای محاسبه نقطه ایزوالکتریک (Pi) چون این مکان بین دو PK1 و PK می باشد در نتیجه داریم :

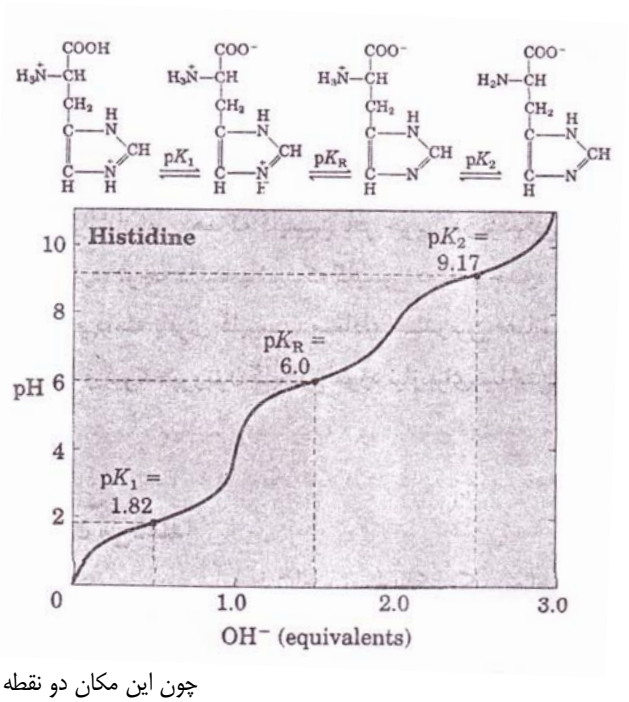
$$P_I = \frac{PK_1 + PK_2}{2}$$

$$= \frac{2.19 + 4.25}{2}$$

$$= 3.22$$

تیتراسیون اسید آمنیه قلیائی

هیستیدین یک اسید آمینه قلیائی است یعنی دارای دو بازی آمینی ویک گروه کربوکسیل است . اگر ایـن اسـید آمینـه را در محـیط اسیدی با باز تیتر نمائیم ابتدا اسید آمینه دارای دو بار مثبت سپس دارای یک بار مثبت و در مرحله بعدی دارای بار خنثی و نهایتاً بصورت یک بار منفی در می آید.



برای محاسبه نقطه ایزوالکتریک چون این مکان دو نقطه بین PK و PK2 می باشد در نتیجه داریم

$$P_I = \frac{PK_R + PK_3}{2}$$

$$= \frac{6.6 + 9.17}{2}$$

$$= 7.58$$

فصل چهارم

ساختمان پروتئینها و عملکرد آنها

ساختار پروتئینها

اهداف

هدف اصلی از بررسی شیمی پروتئینها تطبیق اعمال فیزیولوژیکی آنها باساختار شیمیایی آنها می باشد.

۱- تقسیم بندی انواع پروتئینها
۲- شناخت ساختمان پروتئینها و اهمیت آن در نوع کار پروتئینها
۳- شناخت ساختمان طبیعی میوگلوبین و هموگلوبین و اتصال برگشت پذیر آنها با اکسیژن

تعریف پروتئین

ملکولهای بزرگ با وزن ۵۰۰۰ الی چند میلیون دالتون می باشند. از تکرار واحدهای اسیدهای آمینه تشکیل شده اند. بیش از ٪۵۰ وزن خشک سلولها را تشکیل می دهند و در کلیه سلولها یافت می شوند و نقش اساسی در ساختمان و کارکرد سلولی دارند. برای شناخت بهتر پروتئینها آنها را به روشهای متفاوتی تقسیم بندی کرده اند:

۱- پروتئین ساده و پروتئین مرکب

الف – پروتئینهای ساده: فقط از ترکیب اسیدهای آمینه حاصل شده اند و عمل فیزیولوژیکی آنها وابسته به ساختمان پروتئین آنها است مانند آلبومین .

ب – پروتئینهای مرکب : علاوه بر قسمت پروتئینی دارای یک قسمت غیر پروتئینی هم هستند مانند کربو هیدرات، لیپید و ..

برای انجام اعمال فیزیولوژی هر دو قسمت پروتئینی و غیر پروتئینی لازم هستند. پروتئینهای مرکب را می شود برحسب قسمت غیر پروتئینی آنها به چند گروه تقسیم کرد:

- **گلیکوپروتئینها:** از اتصال کووالانسی کربوهیدرات با زنجیره پلی پپتیدی بدست می آیند مانند
  هورمون TSH(Thyroid-Stimulating hormone)
- **لیپوپروتئینها** : دسته وسیعی از پروتئینها هستند که با لیپیدها کمپلکس تشکیل می دهند مانند :
  Low density lipoprotein
- **کروموپروتئینها** : پروتئینهائی هستند که دارای یک نوع رنگدانه می باشند مانند هموگلوبین، سیتوکرومها
- **متالوپروتئینها** : علاوه بر قسمت پروتئینی دارای یک یا چند فلز هستند مانند:
  فریتین (محتوی آهن) سیتوکرم اکسیداز (محتوی مس و آهن) کربوکسی پپتیداز (محتوی روی)
- **فسفو پروتئینها :** دارای اسید فسفوریک و پروتئین هستند مانند:
  کازئین شیر
- **نوکلئو پروتئینها :** دارای دو قسمت پروتئینی و نوکلئیک اسید هستند مانند:
  نوکلئو پروتئینهای موجود درکروماتین هسته سلول که از اسید نوکلئیک و پروتئینهای قلیائی (هیستونها) تشکیل شده اند.

۲- تقسیم بندی پروتئینها براساس نقش فیزیولوژیکی

– **آنزیمها :** گروهی از پروتئینها هستند که واکنشهای بیولوژیکی را انجام می دهند و بعلت ویژگی فوق العاده و قدرت کاتالیزری که دارند جزء مهمترین ملکولهای حیاتی شناخته شده اند. مانند : کاتالاز، دهیدروژناز ، .....

– **پروتئینهای ناقل:** پروتئینهائی هستند که در نقل و انتقال مواد در خون نقش اساسی دارند. مانند : هموگلوبین (نقل و انتقال اکسیژن ، ترانسفرین (نقل و انتقال آهن)

– **هورمونها:** مواد شیمیایی هستند که اطلاعات را بین سلولها حمل می کنند. بسیاری از هورمونها دارای ساختار پپتیدی و پروتئین هستند مانند: انسولین ، گلوکاگون

– **پروتئینهای ساختاری:** این پروتئینها ساختار سلول را بوجود می آورند و شبیه مصالح ساختمانی عمل می کنند مانند: α–کراتین – کلاژن– السیتن

- **پروتئینهای دفاعی :** دفاع در برابر پروتئینهای خارجی و غیرفعال کردن آنها مانند: ایمینوگلوبولینها، فاکتورهای انعقادی (جلوگیری از خونریزی از عروق صدمه دیده)

-**پروتئینهای انقباضی :** در سیستمهای قابل انقباض و متحرک بکار برده می شوند مانند: میوزین و اکتین که در سیستم انقباض ماهیچه های مخطط کاربرد دارند.

- **پروتئینهای ذخیره ای :** مانند فریتین ذخیره آهن

۳- تقسیم بندی پروتئینها بر حسب ساختار آنها

مهمترین راه تقسیم بندی پروتئینها برحسب ساختمان آنها می باشد. واقعاً شگفت انگیز است که تمام پروتئینها با طیف وسیع فعالیت بیولوژیکی فقط از بیست نوع اسید آمینه ساخته شده اند. اگر پروتئینی رابصورت یک زنجیره پلی پپتیدی که دارای نظم و ترتیب بخصوصی نیست در نظر بگیریم فاقد هر گونه فعالیت بیولوژیکی است. در حقیقت فعالیت حیاتی یک پروتئین وابسته به ساختمان فضائی آن است، و این شکل فضائی به نوبه خود بوسیله توالی خاص اسیدهای آمینه در زنجیره پلی پپتیدی دیکته می گردد.

تقسیم بندی پروتئینها برحسب ساختار

الف – ساختمان اول ب – ساختمان دوم ج – ساختمان سوم د- ساختمان چهارم

ساختمان اول

ساختمان اول، نوع اسید آمینه و ترتیب قرار گرفتن آنها را در یک رشته پلی پپتید نشان می دهد.(شکل ۱) :

ساختمان دوم

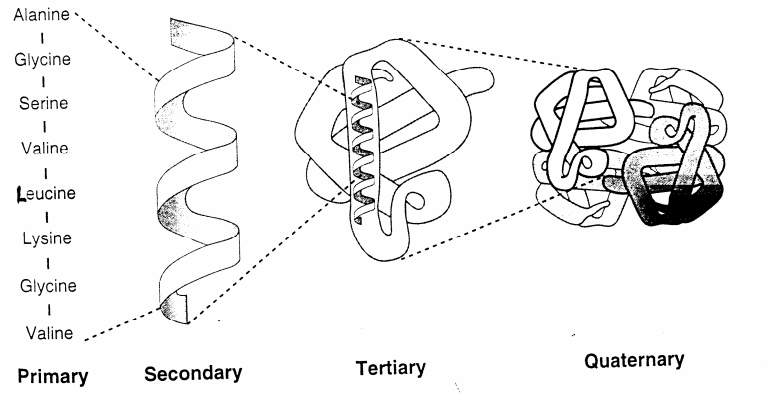
ساختمان دوم مربوط می شود به ساختمان سه بعدی منظم یک قطعه پلی پپتید مانند آلفاهیلیکس (α-helics) = مارپیچ α آلفا و صفحات بتا (β-sheets) که دارای ساختمان منظم بوده و توسط باندهای هیدروژنی استحکام پیدا میکنند. شکل ۱.

ساختمان سوم

کل ساختمان سه بعدی یک پروتئین را که شامل α-هیلیکس، صفحات بتا (یک یا هر دو) و قسمتهای نامنظم بوده و کروی می باشد را ساختمان سوم گویند. شکل ۱ .

ساختمان چهارم

مربوط می شود به پروتئینهائی که بیش از یک زنجیره پلی پپتید دارند. ارتباط این زنجیره ها بصورت باندهای غیر کووالان می باشد شکل ۱.

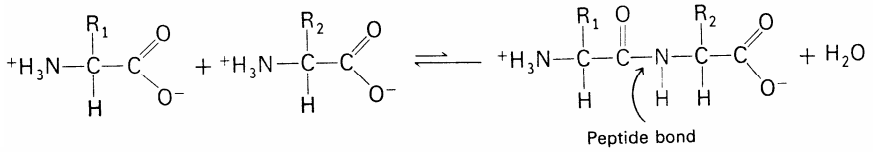


شکل۱: ساختمان چهارم ساختمان سوم ساختمان دوم ساختمان اول

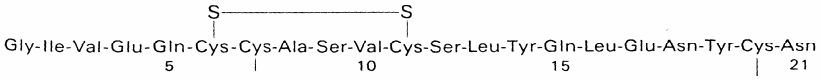
ساختمان اول پروتئینها

در ساختمان اول پروتئینها علاوه بر باند پپتیدی بین دو اسید آمینه ، می تواند دارای باند دی سولفیدی هم باشد کـه بـین دو اسـید آمینه سیستئین تشکیل می گردد. در واقع ساختار اول پروتئین دارای باندهای کووالانسی است . (شکل ۲)

A: باند پپتیدی



B= باندی دی سولفیدی

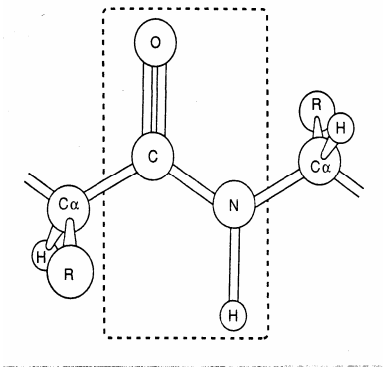


همانطور که قبلاً اشاره شد ، پروتئینها دارای ساختار سه بعدی مشخص و منظم هستند و اگر این ساختمان بهم بخورد و بـصورت یـک پروتئین بدون نظم و ترتیب درآید فاقد فعالیت زیستی خواهد بود.

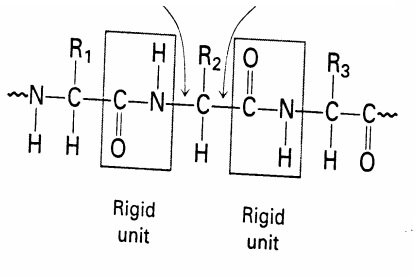
عواملی که باعث این نظم و ترتیب شده و اجازه نمی دهند که پروتئین هر شکلی را که می خواهد در فضا داشته باشد عبارتند از:

۱. باند پپتیدی یک گروه مسطح و محکم است و همیشه -N-H– نسبت به اکسیژن گروه کربونیـل بـه شـکل تـرانس اسـت (شکلA ۲):

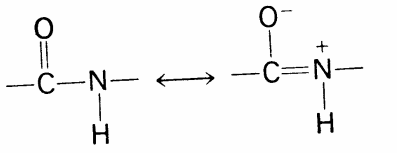
۲. باند پپتیدی دارای خاصیت باند دو گانه بوده و حول محور این پیوند چرخش آزاد وجود ندارد. (شکل C ۲) و (شکل B ۲)



A



C



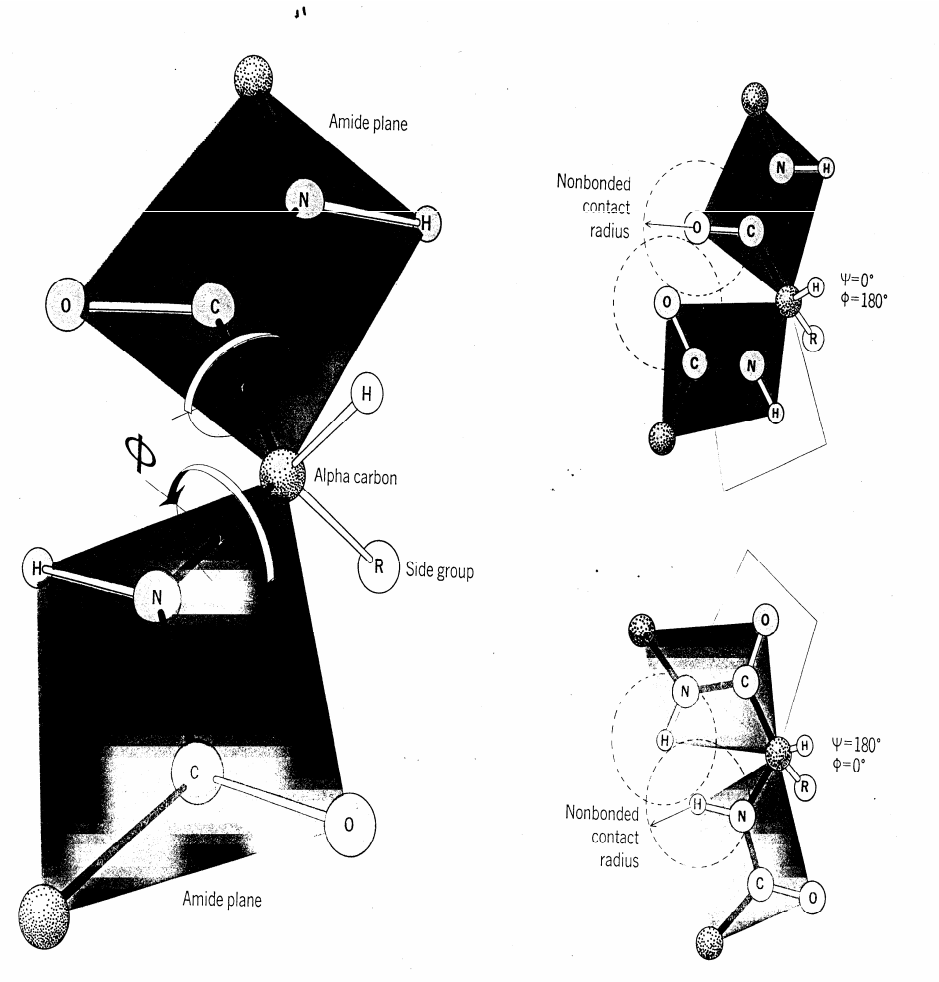
B

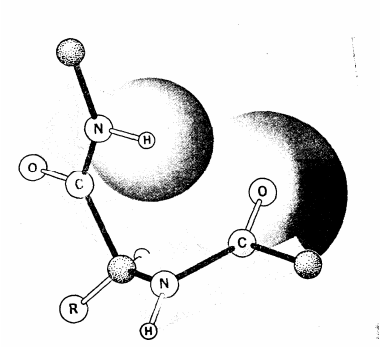
شکل ۲: A

A= اکسیژن گروه کربنیل نسبت به H گروه N-H بحالت ترانس است .

B= حول باند دوگانه چرخش وجود ندارد .

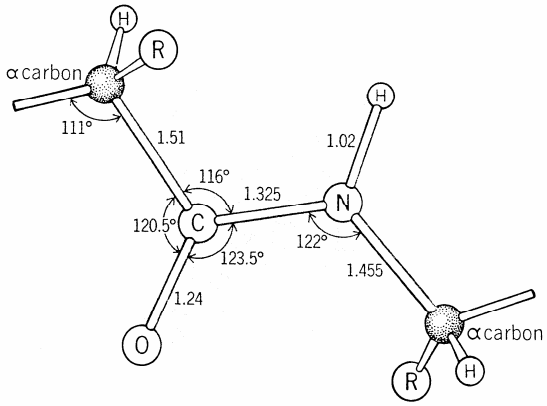
C= باند پپتیدی تا حدودی خاصیت باند دوگانه را دارد .





شکل B ۲ : چرخش طول محور (C-C) و (C-N) و محدودیت زوایای چرخش بعلت تصادم فضائی بنابراین هر ساختاری امکان پذیر نخواهد بود

۳- اتمهای باند پپتیدی - C – N – و دو کربن آلفا در دو طرف باند پپتیدی همگی در یک صفحه قرار دارند (شکل ۳) :



(شکل ۳)

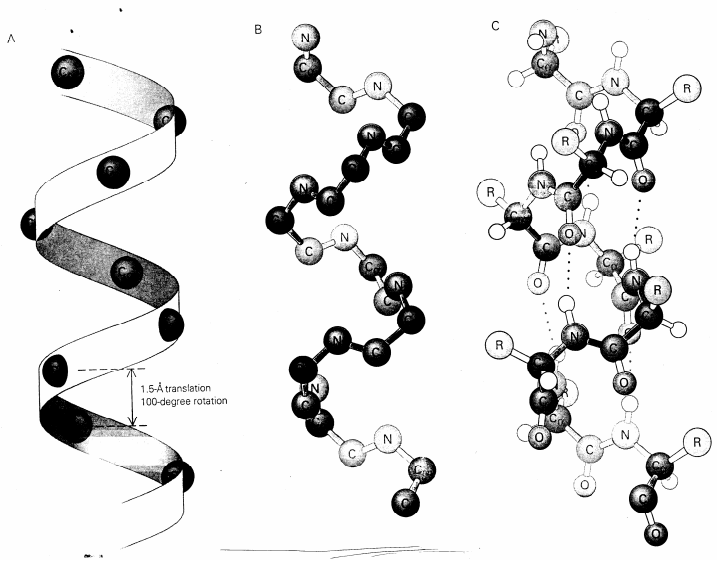
۴- دو اتم کربن آلفا (α) در طرفین گروه پپتیدی دارای پیوند یگانه هستند و می توانند چرخش داشته باشند. زاویه (C-C) را ψ و زاویه C-N را با Φ نشان می دهند. اگر چه حول این دو محور چرخش وجود دارد ، ولی بخاطر ساختار زنجیره پلی پپتیدی و امکان برخورد فضائی اتمهای تشکیل دهنده ستون فقرات یک پلی پپتید اجازه هر شکل یا ساختاری را نخواهد داشت. (شکل B ۲)

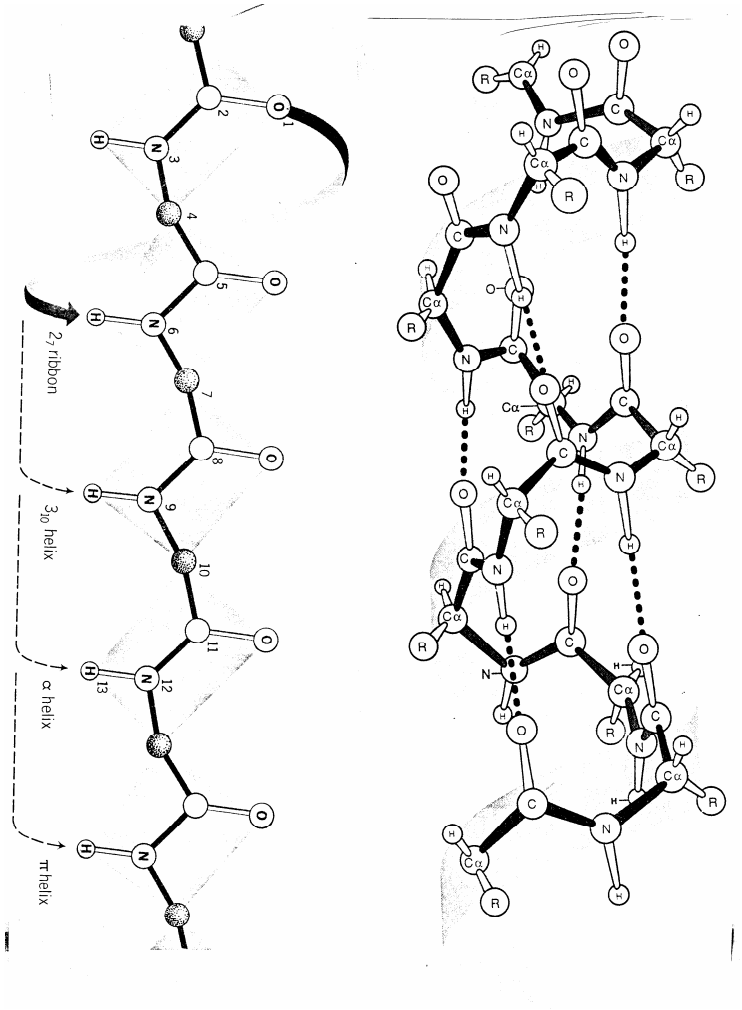
ساختمان دوم

همانطور که اشاره شد، ساختمان دوم مربوط به یک قطعه منظم و مشخص پلی پپتیدی در فضا می شود و این اشکال می توانندبصورت α – هیلیکس (مارپیچ آلفا) یا صفحات بتا β باشند.

ساختمان مارپیچ آلفا (α- هیلیکس)

چنانچه که یک زنجیره پلی پپتیدی حول یک محور فرضی چرخش نماید ساختمان مارپیچ آلفا را بوجود می آورد. در ساختمان α هیلیکس بین گروه C- O- از یک اسید آمینه با N-H چهارمین اسید آمینه پیوند هیدروژنی برقرار میگردد و سبب ایجاد استحکام آن می شود. گروههای R اسیدهای آمینه به طرف خارج و حول محور قرار می گیرند. در این شکل مرتب و منظم . تمام زوایا و فواصل بین اسیدهای آمینه ، ارتفاع هر دور مارپیچ و غیره کاملاً مشخص و معین هستند. (شکل ۴).

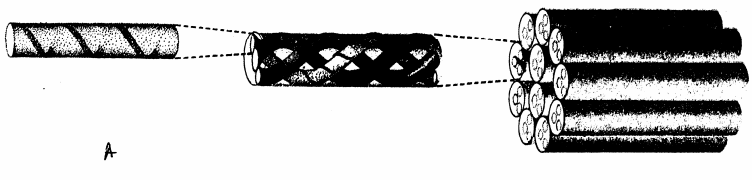




شکل ٤ : ساختار آلفار هیلیکس (مارپیچ آلفا)

مارپیچ آلفا می تواند یک قسمت از یک پروتئین کروی باشد. اما بمقدار فراوان در پروتئینهای رشته ای یافت می شوند مانند مو- پشم – ناخن شاخ و سم حیوانات، لاک لاک پشت.

مثال: ساختمان مو و پشم از کلافهای میکروفیبریل بوجود آمده اند و هر میکروفیبریل از مجموعه باریکتر بنام پروتوفیبریل تشکیل شده است و بالاخره هر پروتو فیبریل از تعدادی رشته های مار پیچ آلفای α- هیلیکس) ساخته شده است. (شکل ۵)

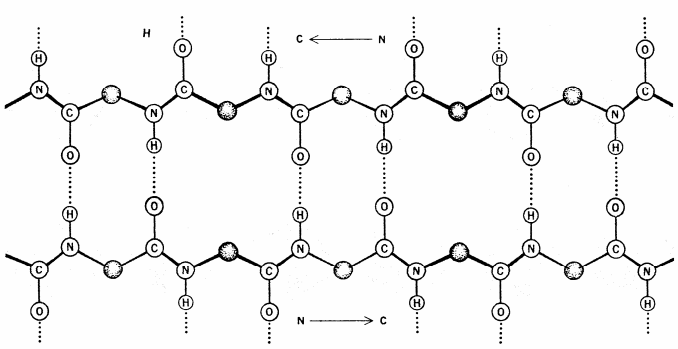


مارپیچ α **پروتوفیبریل** **میکروفیبریل**

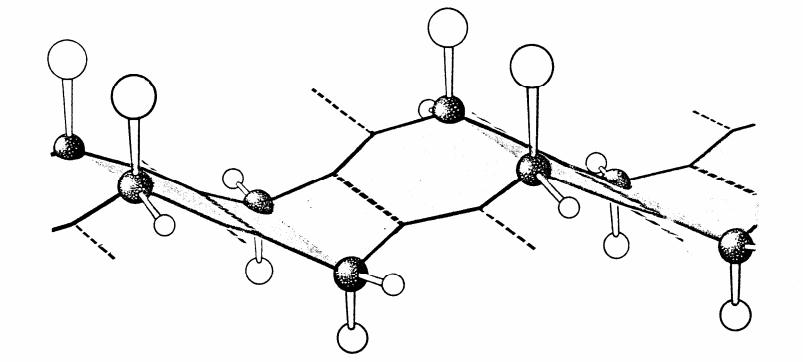
شکل ۵ : **ساختمان مو**

صفحات بتا (β-sheets)

اگر مارپیچ α- را حرارت دهیم و یا بطور فیزیکی کشیده شود . طول آن حدود دو برابر طول اولیه اش می شود که تقریباً ما را بـه ساختار β می رساند. (مانند آنستکه فنری را تا آنجا که امکان دارد کش می آوریم). رشته های β بیشتر در ساختمان پروتئینهای رشـته ای مانند ابریشم، تارعنکبوت وجود دارند. البته در ساختمان پروتئینهای کروی هم یافت می شوند. در صفحات چین دار بتـا رشـته هـای پلی پپتیدی بموازی یکدیگر و هم جهت یا غیر هم جهت قرار دارند. بین اکسیژن C = O – با هیدروژن N-H- از پلی پپتید موازی آن باند هیدروژنی ایجاد می شود. بنابراین برعکس α هیلیکس که باندهای هیدروژنی درون یک زنجیره هستند در صفحات چین دار بتا باند هیدروژنی بین دو رشته پلی پپتیدی است. گروههای R اسیدهای آمینه هم در بالا و پـائین سـطح صـفحات چـین دار قـرار دارنـد. (شکل A – B ۶):



شکل ٦ : A باند هیدروژنی بین دو رشـته پلـی پپتید



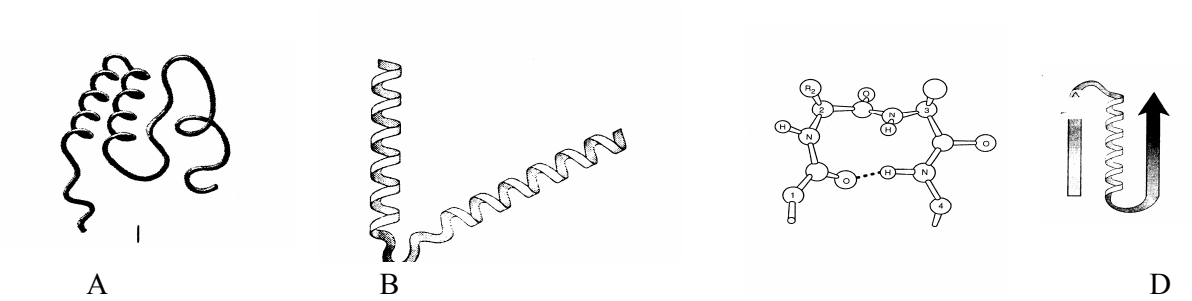
شکل ٦ B: گروههای R اسیدهای آمینه در بالا و پایین سطح صفحات چین دار قرار دارند.

ساختمان سوم

همانطور که قبلاً اشاره شد، ساختمان سوم، شکل فضائی کامل یک زنجیـره پلـی پپتیـدی اسـت کـه مـی توانـد شـامل سـاختمان منظم α ، β (یا هر دو) و یا قسمتهای نامنظم باشد. ساختمان سوم بیشتر مربوط به پروتئینهای کروی می شود.

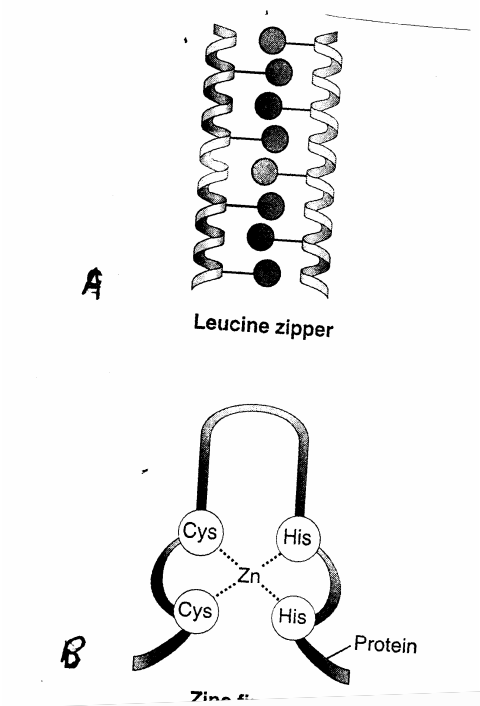
دریک رشته پلی پپتیدی ردیف اسیدهای آمینه می توانند بترتیبی قرار گرفته باشند که شکل منظم α را بخود بگیرند. ممکن اسـت در ادامه زنجیره اسیدهای آمینه ای مانند پرولین یاگلیسن که با شکل منظمα هماهنگی ندارند وجـود داشـه باشـد کـه باعـث خمـش پلی پپتید می شوند. دوباره ممکن است چند اسید آمینه طوری پشت هم قرار بگیرند که یک قطعه مـنظم دیگـر α را بوجـود آورنـد. در خمش بتا زنجیره پلی پپتیدی جهت خود را تغییر می دهد و باعث تشکیل صفحات بتا را در درون یک زنجیره پلـی پپتیـدی میـسر مـی سازد شکل ۷.

این خمیدگی ها در قسمت های مختلف زنجیره پلی پپتیدی باعث نزدیک شدن گروههای R اسیدهای آمینه موجود در زنجیره شده و تشکیل انواع باندها (هیدروژنی – یونی –هیدروفوبیک- کووالانس) را ممکن می سازند.بدین ترتیب پایداری بیـشتری بـه سـاختمان سوم پروتئین ها می دهند.(شکل ۷ و ۸) :



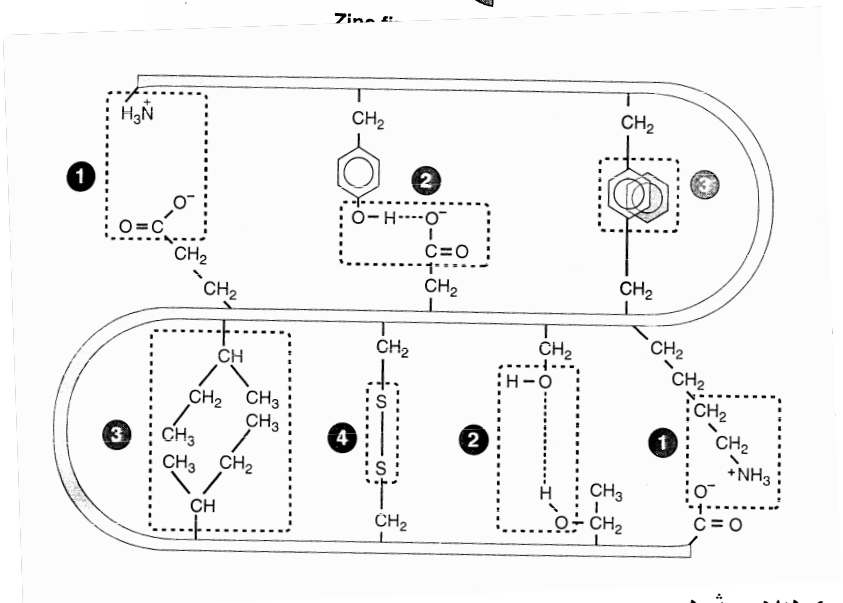
A B D

شکل ۷ A : قطعات منظم و نامنظم و خمش
B: قطعات α - نامنظم - α
C: صفحات β
D: قطعه β- α- β توسط یک حلقه زدن یا خمش



(شکل ۷ A) =leucine zipper:
دو زنجیره منظم α هیلیکس با یک خمش، که در قطعه منظم α تعداد زیادی اسید آمینه لوسین بطور متناوب قرار دارد و شکل یک زیپ را بخود گرفته است.

(شکل ۷ B) =Zinc Fingers در یک زنجیره پلی پپتیدی اتم Zn^{2+} متصل به دو سیستئین و دو هیستیدین شده و بشکل یک انگشت نمایان می شود. شکل ساختار Leucine zipper و Zinc fingers در ساختمان پروتئینهائی که به DNA متصل می شوند دیده شده است.



شکل ۸ : انواع باندهائی که در یک پروتئین کروی دیده می شود.
۱- پیوند الکترواستتیک ۲- پیوندهای هیدروژنی ۳- پیوند هیدروفوبیک ٤- باند دی سولفیدی

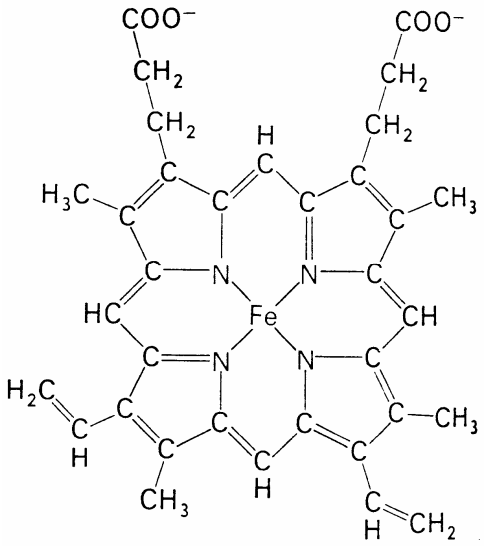
میوگلوبین Mb(Myoglobin)

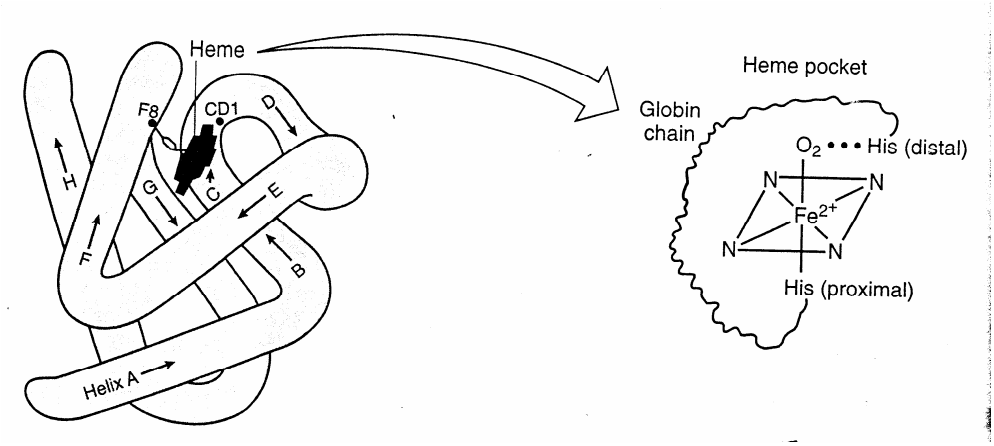
میوگلوبین یک پروتئین تک رشته کروی است که دارای یک گروه «هِم» (heme) می باشد.(«هم» از یک حلقه پروتوپورفیرین و آهن تشکیل شده است). (شکل : ۹)میوگلوبین بعنوان منبع ذخیره اکسیژن و تسهیل در امر نقل و انتقال اکسیژن در بافت ماهیچه های مخطط عمل می کند. قسمت گلوبین آن از ۸ قطعه منظم مارپیچ α و قسمتهای نامنظم تشکیل شده است. قطعات منظم α را از حرف A ← H نامگذاری کرده اند.

ملکول آهن (Fe^{2+}) در حلقه پروتوپورفیرین به چهار ازت پیرول متصل است و یک کواوردینانس آن با هیستیدین F8 زنجیره گلوبین متصل می شود (اسید آمینه شماره ۸ در زنجیره منظم F، هیستیدین است). یک کواوردینانس دیگر آن آزاد است برای اتصال به اکسیژن (O_2) شکل :

$$Mb + O2 \rightleftharpoons MbO2$$

A





شکل ۹ :

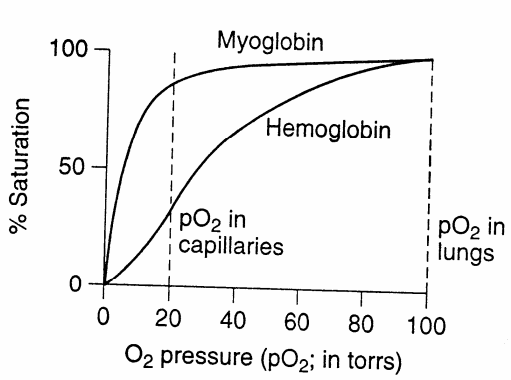
A: ساختمان «هِم» (پروتوپورفیرین + آهن)

B: قطعات منظم α هیلیکس در قسمت گلوبین و محل قرار گرفتن حلقه «هِم» در گلوبین

C: اتصال Fe^{2+} به پیرولها و هیستیدین F8 و اکسیژن

اگر منحنی درصد اشباع میوگلوبین با اکسیژن را برحسب فشار نسبی اکسیژن رسم کنیم. بصورت شکل هذلولی در می آید. که این نشان دهنده آن است که در فشارهای نسبی کم اکسیژن صددرصد اشباع می شود. شکل : ۱۰

فشار نسبی اکسیژن در ماهیچه حدود $20mmHg$ است و میوگلوبین میلی به آزاد کردن اکسیژن خود ندارد ولی اگر در اثر فعالیت شدید عضلانی ، زمانیکه فشار نسبی اکسیژن به $5mmHg$ برسد خیلی سریع اکسیژن خود را ازاد می کند. بنابراین نتیجه می گیریم که میوگلوبین میل شدید برای ترکیب شدن با اکسیژن داشته و بیشتر بعنوان ذخیره اکسیژن عمل می کند.



شکل ۱۰ : منحنی درصد اشباء میوگلوبین و هموگلوبین با اکسیژن برحسب فشار نسبی اکسیژن

با توجه باینکه «هم» قادر است به تنهائی با اکسیژن ترکیب شود، دلیل وجود بخش گلوبین ، میوگلوبین برای چیست؟

در محیط آبی آهن «هم»(hem) می تواند با اکسیژن ترکیب شود، ولی برای زمان بسیار کوتاه چون Fe^{2+} به Fe^{3+} تبدیل می گردد، که قادر به حمل اکسیژن نیست. در ضمن در این واکنش جسم واسطی بوجود می آید که در آن اکسیژن بین دو ملکول «هم» محاصره می شود .

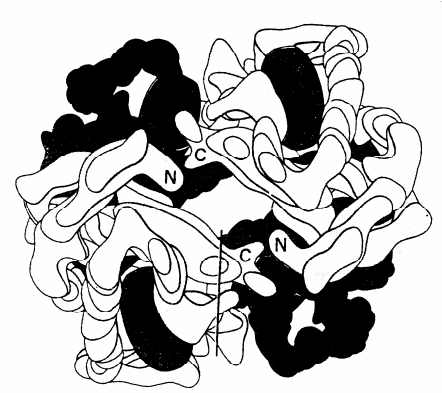
هم – O_2 –هم

از طرف دیگر هیستیدین $E7$، در ساختمان گلوبین ممانعت فضائی جهت ترکیب مونواکسید کربن به آهن را بصورت مستقیم بوجود می آورد و میل ترکیبی میوگلوبین بامونواکسید کربن که گاز سمی است را کم می کند (اطلاعات بیشتر در باره مونواکسید کربن به درسنامه ریه مراجعه شود)

هموگلوبین (Hemoglobin) =Hb

هموگلوبین یک پروتئین تترامر است و از چهار رشته پلی پپتید به نام گلوبین که دو به دو مشابه هستند ($\alpha_2\beta_2$) تـشکیل شـده اسـت. چهار پلی پپتید توسط باندهای غیرکووالان بهمدیگر متصل هستند.

هر تک رشته هموگلوبین دارای ساختار شبیه یک میو گلوبین، دارد، بنابراین هریک از رشته ها دارای یک گروه هِم بـوده و گلـوبین آن دارای قطعات منظم α و قطعات نامنظم می باشد . شکل۱۱ :



شکل ۱۱ : ساختار هموگلوبین دارای چهار رشته پلی پپتید است

هر ملکول هموگلوبین می تواند با چهار ملکول اکسیژن (O2) ترکیب شود.

$$Hb+4O_2 \rightleftharpoons Hb(O_2)4$$

هموگلوبین ناقل اصلی اکسیژن در گردش خون است و اکسیژن را در ریه که فشار نسبی اکسیژن بالاست دریافـت و در بافتهـا کـه فشار نسبی اکسیژن پائین است آزاد میکند.

آزاد سازی اکسیژن (O_2) در بافتها تنها به تغییرات فشار نسبی اکسیژن بستگی ندارد بلکه عوامل دیگری مانند CO_2 (دی اکسید کربن)، پروتون (H^+)، 2,3 BPG (۳/۲ بیس فسفو گلیسرات) هم در آزاد سازی اکسیژن دخالت دارند .(اطلاعات بیشتر درسنامه ریه)

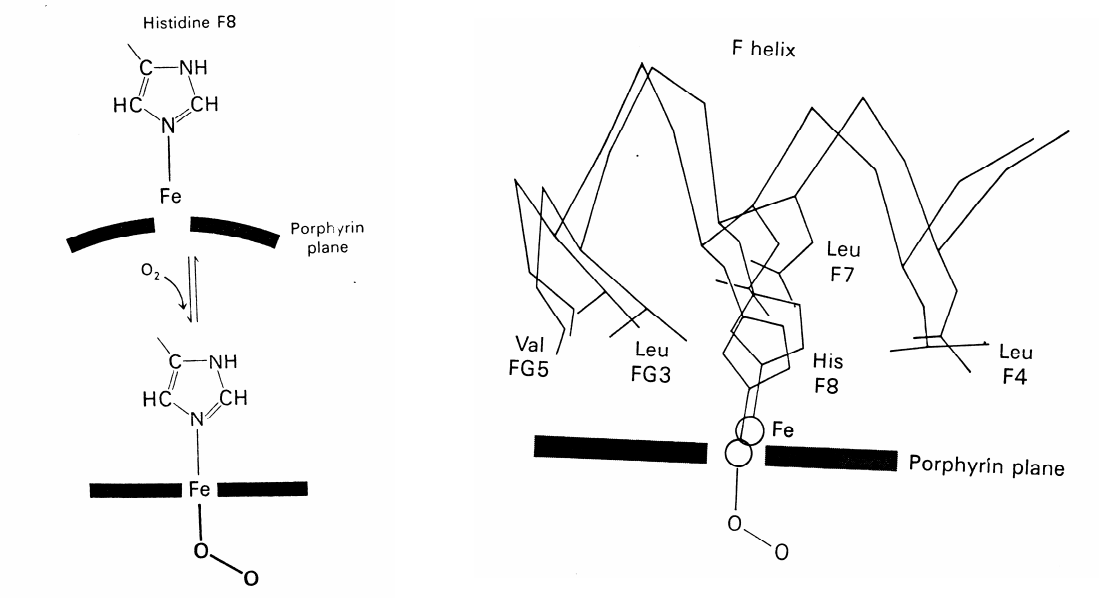
نحوه اتصال اکسیژن (O_2) به هموگلوبین

اتصال چهار مولکول اکسیژن به هموگلوبین یک عمل تعاونی می باشد بدین ترتیب که اگر اولین ملکول اکـسیژن بـه آهـن اولـین رشته پلی پپتیدی متصل شود، باعث تغیر شکل ساختمانی آن رشته می شود که این تغییرات به رشته های دیگر هـم القـاء مـی شـود و باعث تسهیل برداشت اکسیژن توسط زنجیره بعدی می گردد.

عکس این عمل هم صدق می کند بدین معنی که آزاد کردن یک ملکول اکسیژن از یک زنجیره پپتیـدی باعـث تـسهیل در آزادی بقیه ملکولهای اکسیژن از هموگلوبین می شود. دلیل این حالت تعادلی که باعث برداشت سـریع اکـسیژن و همچنـین آزادسـازی سـریع اکسیژن می شود به علت ساختمان چهارم هموگلوبین است.

درمرکز «هِم» (حلقه پروتوپورفرین) اتم آهن (Fe^{2+}) حدود 0.4 آنگستروم (A°) بالاتر از سطح حلقـه پروتوپـورفیرین قـرار دارد، زمانیکه با اکسیژن ترکیب می شود ملکول اکسیژن اتم Fe^{+2} را بطرف سطح حلقه پروتوپورفیرین می کشد و بالطبع چون Fe^{+2} با یک باند کواوردینانس به هیستیدین F8 متصل است آن قسمت از زنجیره را بطرف پائین می کشد. در نتیجه باعث تغییر شکل زنجیره پلـی پپتیدی بعدی می شود . چون این زنجیره با زنجیره بعدی دارای اتصالات غیرکووالانی و ضعیف است، این تغییرات به زنجیره بعدی هم بطوری انتقال می یابد که باعث می شود دومین زنجیره سریعتر و آسانتر اکسیژن (O_2) را دریافت کند (شکل ۱۲) :

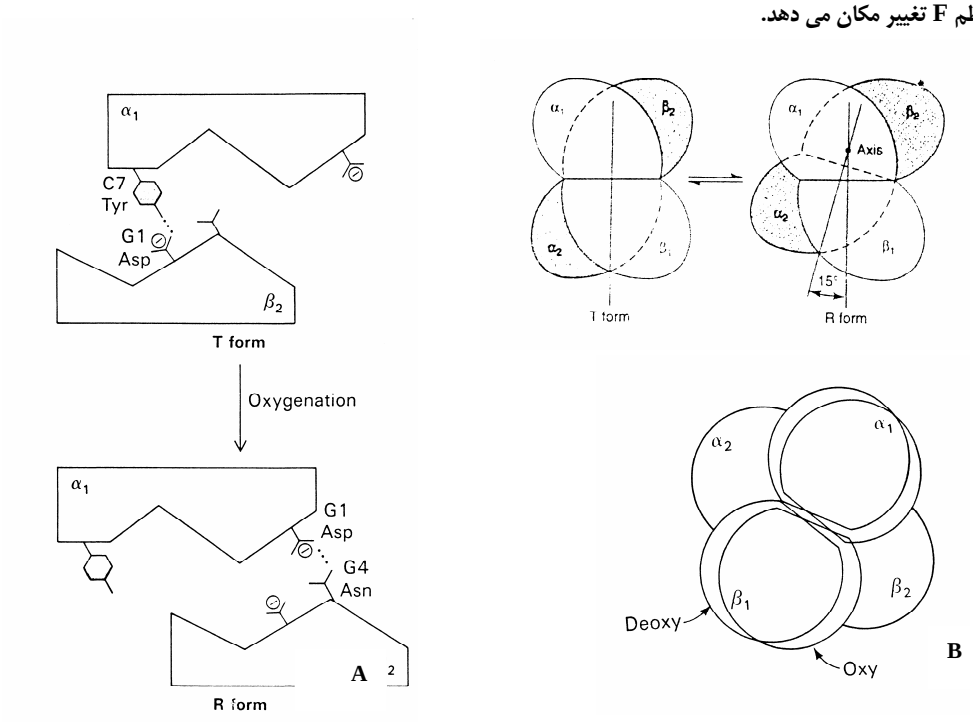
بنابراین شکل ساختاری هموگلوبین بدون اکسیژن (دزاکسی هموگلوبین، با شکل ساختاری هموگلوبین اکسیژن دار (اکسی هموگلوبین) متفاوت است. ساختار دزکسی هموگلوبین را با حروف T(Taut) و فرم اکسی هموگلوبین را با R(Relax) نشان می دهند. (شکل A B ۱۲) :



شکل ۱۲:

A: اتصال O_2 به Fe^{+2} باعث کشیده شدن هیستیدین F8 به طرف حلقه «هم» می شود.

B: کل قطعه منظم F تغییر مکان می دهد.

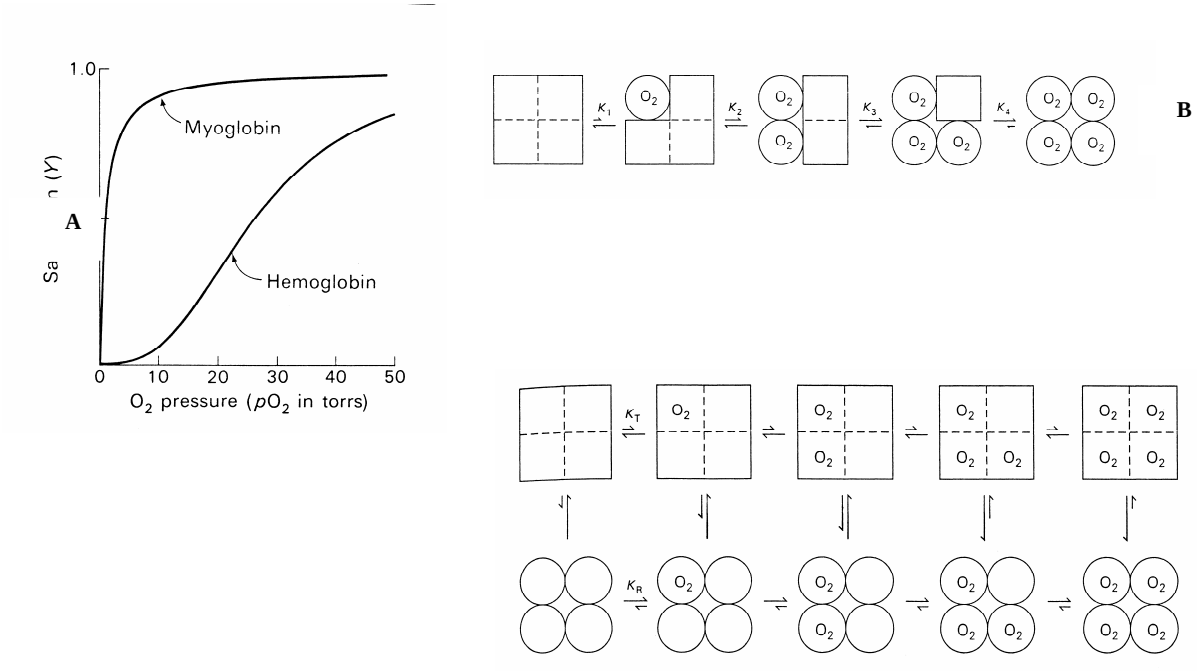


(شکل A B ۱۲) :

A: القاء تغییرات یک زنجیره به زنجیره های دیگر T= فرم دزاکسی هموگلوبین و R= فرم اکسی هموگلوبین

B: تغییرات کلی در هر چهار زنجیره پلی پپتیدی بین اکسی هموگلوبین و دزاکسی هموگلوبین

منحنی درصد اشباع هموگلوبین با اکسیژن برحسب فشار نسبی اکسیژن بصورت سیگموئیدی (Sigmoidal) یا S کشیده می باشد(شکل ۱۳)، که خود دلیل بر تعاونی بودن عمل اکسیژن دار شدن هموگلوبین می باشد. اگر هر کدام از زنجیره های تترامر هموگلوبین جداگانه و مانند میوگلوبین عمل می کردند، نقل و انتقال کمتری از اکسیژن انجام می گرفت و میل ترکیبی هموگلوبین با اکسیژن بیشتر می شد و براحتی دربافتها ملکولهای اکسیژن را آزاد نمی کرد.



شکل ۱۳ :

A : منحنی درصد اشباع هموگلوبین و میوگلوبین برحسب فشار نسبی اکسیژن

C و B : عمل تعاونی برداشت اکسیژن توسط هموگلوبین به دو مدل B و C

فصل پنجم

کربوئیدراتها

کربوهیدراتها

کربوهیدراتها یا گلوسیدها به گروهی از مواد آلی اطلاق می شوند که در طبیعت به حد وفور یافت مـی شـوند. شـامل انـواع قنـدها، نشاسته سلولز و صمغ ها می باشند. غالب این مواد در گیاهان وجود دارند کربوهیدراتها قسمت عمدهٔ غذای انسان را تشکیل می دهند و بیشتر حالت انرژی زائی دارند در ضمن باید یادآور شد که قند جزء ساختاری برای گلی کولیید و گلی کوپروتئین ها نیز می باشند که هـر دو اینها حالت ساختمانی هم دارند

فرمول کلی کربوهیدراتها C_n (H2O)n می باشند که نسبت به هیدروژن به اکسیژن آن مثل نـسبت آن در مولکـول آب اسـت . شاید ابتدائی ترین نام از این نسبت مشتق شده .

طبقه بندی کربوهیدراتها

گروه اول : منوساکارید، یا قندهای ساده که فقط دارای یک مولکول قند هستند و در اثر هیدرولیز نمی توان آنها را به قنـدهای سـاده تر تبدیل نمود. مانند گلوکز ، گالاکتوز ، فروکتوز

گروه دوم : اولیگوساکاریدها که پس از هیدرولیز ۲ الی ۱۰ مولکول (منوسـاکارید) تولیـد مـی کننـد. مهمتـرین اولیگوسـاکاریدها دی ساکاریدها می باشند.

دی ساکارید به دو گروه: A احیاء کننده مانند مالتوز و لاکتوز

B غیر احیاء کنند مانند ساکارز

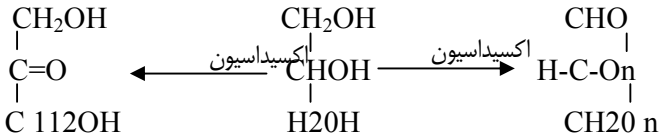
گروه سوم پلی ساکاریدها

A هموپلی ساکاریدها مانند نشاسته ، گلی کوژن ، سلولز

B هتروپلی ساکاریدها مانند اسید هیالورانیک، کندراتپن سولفات، کراتین سولفات و هپارین

تعریف کربوهیدراتها

کربوهیـدراتها، پلـی الکلـی هـائی هـستند کـه در اثـر اکـسیداسیون یکـی ازعوامـل الکلـی تبـدیل بـه عامـل الدئیـد باسـتنی شده اند. مانند گلیسرول



باتوجه به فرمول گلیسروآلدئید متوجه می شویم که گلیسروآلدئید که کوچکترین قند آلدئیدی در طبیعت است دارای کربن نامتقـارن می باشد. با مطرح بودن کربن نامتقارن در اینجا نظری کوتاه به مبحث ایزومری لازم می باشد.

ایزومری : تعداد زیادی از مواد آلی وجود دارند که فرمول بسته یکسان و شکل مولکولی متفاوت دارنـد. ایـن پدیـده ایزومـری نامیـده می شود. در شیمی الی دو نوع ایزومری وجوددارد.

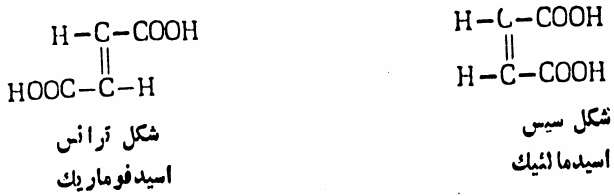
۱- ایزومر ساختمانی : عناصر تشکیل دهنده این مواد یکسان ولی ترتیب قرار گرفتن آنها در مولکول کاملاً با یکدیگر متفاوت است مانند ایزومر زنجیری، ایزومر موضعی ، ایزومر عاملی

۲- ایزومر فضائی: در این نوع ایزومری وضع قرار گرفتن گروهها در فضا متفاوت است آنها به دو دسته تقسیم میشوند.

A : ایزومر هندسی – در این نوع ایزومری وضع قرار گرفتن گروههای مختلف در فضا در اطراف یک پیوند ثابت متفاوت است از ایزومر هندسی ۲ فرم وجود دارد.

cis-a در حالت سیس عوامل مشترک در یک طرف پیوند دوگانه قرار گرفته اند.

b- ترانس در حالت ترانس عوامل مشترک در طرفین پیوند دو گانه قرار گرفته اند.



ب : ایزومر نوری – ایزومرهایی هستند که مولکول آنها دارای یک کربن غیرمتقارن است و محلول آن میتواند نور پلاریزه را در جهات مختلف به چرخاند (کربن نامتقارن کربنی است که ۴ ظرفیت آن به ۴ بنیان مختلف متصل باشد)

چنانچه مشاهده می شود گلیسروآلدئید دارای کربن نامتقارن می باشد به دو فرم D و L در طبیعت موجود می باشند.

طبق پیشنهاد رزانوف قندهائیکه از D گلیسروآلدئید مشتق شده باشند به قند سرمی D و آنهائی که از L گلیسروآلدئید مشتق شده باشند سری (L) نامیده می شوند. در این صورت تمام قندهائیکه شکل فضائی آخرین کربن نامتقارن (کربن ماقبل آخر) نسبت به گروه کربوبیل به شکل D گلیسروآلدئید باشد متعلق به سری D و تمام قندهائیکه شکل فضائی آخرین کربن نامتقارن آنها نسبت به گروه کربونیل به شکل L گلیسروآلدئید باشد متعلق به سری L خواهند بود.

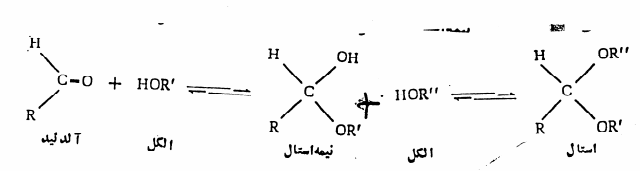
وجود اتم کربن های نامتقارن موجب فعالیت نوری ترکیب نیز می شود. زمانی که یک دسته پرتو نوزپلاریزه در صفحه از محلول یک ایزومر نوری می گذرد یا به راست می چرخاند که راست گردان نامیده می شود با علامت (+) نمایش داده می شوند. یا به چپ چرخانده می شود که چپ گردان نامیده می شود با علامت (–) نمایش داده می شود. جهت گردش نورپلاریزه ربطی به فرم D و L یا شکل فضائی مولکول ندارد یعنی می تواند (–) D یا (+)D باشد یا (+)L یا (-) L باشد. بهمین جهت مقدار مساوی از D و L یک ماده را مخلوط راسمیک می نامند که میزان انحراف نورپلاریز، در آنها برابر صفر است.

D گلیسروآلدئید و L گلیسروآلدئید تصویر آئینه ائی یا (Enantiomorph) یک دیگرند.

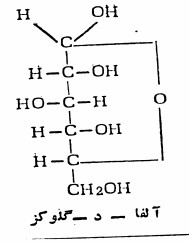
ساختمان حلقه های پیرانو و فورافوز

ساختمان حلقوی پایدار منوساکاریدها شبیه ساختمان حلقه های پیران (حلقه ۶ ضلعی) یا فوران حلقه (۵ ضلعی) است برای مثال بیش از ۹۹٪ گلوکز در محلول به شکل پیرانور است.

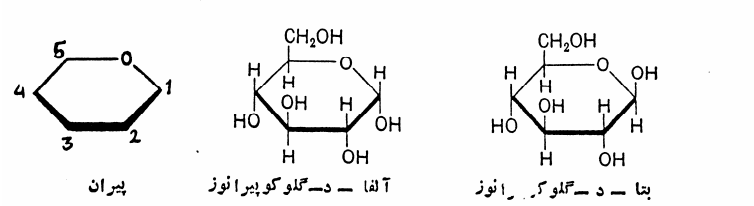
ساختمان حلقوی هرالدوز در واقع نوعی همی استال است زیرا حاصل ترکیب یک گروه آلدئید و یک گروه الکلی است به همین ترتیب ساختمان حلقوی کتوز در واقع یک نوع همی کتال است.



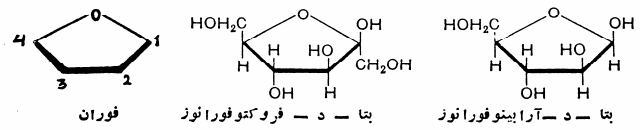
در قندها گروههای آلدئید و ستونی می توانند با گروه الکلی درون مولکول قند ترکیب شده و یک نیمه استال درونی تشکیل دهند در تشکیل نیمه استال درونی گروههای کربونیل در الدوزها (کربن شماره یک) و درکتوزها (کربن شماره ۲) بصورت نامتقارن در آمده به نام کربن انومر شناخته می شوند و تولید دو نوع ایزومری جدید بنام α و β می کنند.



بنا به پیشنهاد هاورت اگر تشکیل نیمه استال پلی کربن انومریک وکربن شماره ۵ صورت گیرد یک حلقه شش ضلعی شبیه پیران بوجود می آید در این صورت این قندها به پیرانوزها موسومند.



و اگر تشکیل نیمه استال بین کربن ۱ آنومر در الدوز ها (کربن شماره ۲) در کتوژها کربن شماره ۴ صورت گیرد. (در الدوزها و کربن شماره ۵) در کتوژها یک حلقه پنج ضلعی شبیه فوران بوجود می آید که این قندها به فورانوزها موسومند.

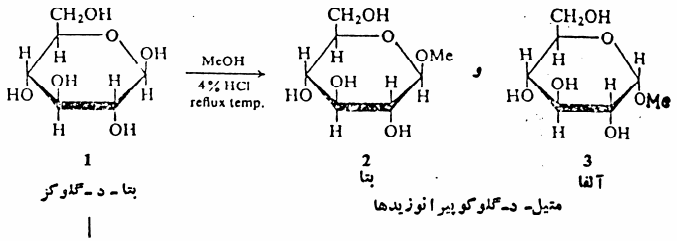


واکنش های مربوط به گروه هیدروکسل قندها

الف – تشکیل گلی کوزید

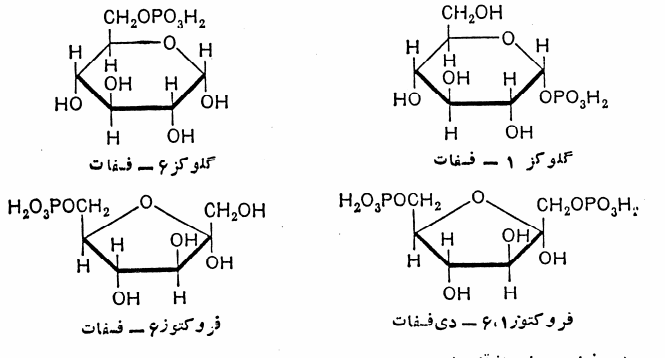
ب – تشکیل استر

الف : تشکیل گلی کوزید : می دانیم الدوزها و ستوز یک نیم استال درونی می باشند لذا در مجاورت اسید کلرنیدریک خشک با الکل ترکیب شده تولید استال یا ستال می کند نام عمومی این پیوندها پیوند گلی کوزیدی می باشد.



D- متیل گلوکوپیرانوزید

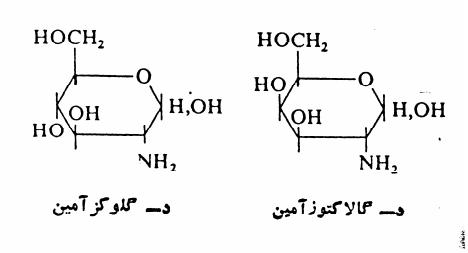
پیوند گلیکوزید زمانی تشکیل می شود که گروه هیدروکسیل یک قند با کربن انومر قند دیگر واکنش پیوند ایجاد می کند. اگر جزء دوم غیر قندی باشد اگلیکون نامیده می شود تمام گلی کوزیدهائی که به علت اثرشان برقلب مهم اند حاوی آگلیکون استروئیدی هستند.
ب : تشکیل استر – گروه هیدروکسیل قندها به آسانی قابل استری شدن می باشند گلوکز می دانیم که قندها در فرآیندهای متابولیسمی به شکل استری شده بااسید فسفریک وجود دارند مانند گلوکز – فسفات .
استرهای مهم در فرآیندهای متابولیسمی در شکل زیر نشاده داده شده .



شکل ۲-۱۲: استرهای فسفره بعضی از قندها

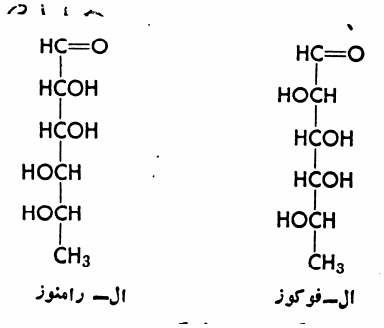
قندهای آمینه

قندهای آمینه به قندهائی گفته می شود که یک OH کربن شماره با گروه NH2 جایگزین شده باشد (که در قندهای آمینه طبیعی معمولاً OH کربن شماره ۲ گلوکز یاگالاکتوز با یک گروه NH2) جایگزین شده فراوانترین قند آمینه در طبیعت گلوکزامین و گالاکتوز آمین می باشد که به شکل N استیله در ساختان بافت پیوند غضروفی و کتیین حشرات موجود می باشند قندهای آمینه طبیعی بصورت D به هر دو فرم α و β در طبیعت موجود می باشند.



قندهای دزوکسی

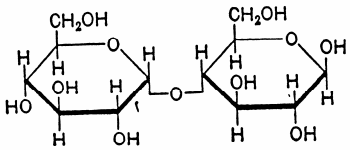
قندهای دزوکسی قندهائی هستند که در آنها یک اتم هیدروژن جای یکی از گوههای هیدروکسی را گرفته باشند (یکی از کربن ol قند اکسیژن خود را از دست داده شد مانند (۲ دزوکسی D ریبوز)



شکل ۲-۱۵: بعضی از قندهای مهم دزوکسی

دی ساکاریدها

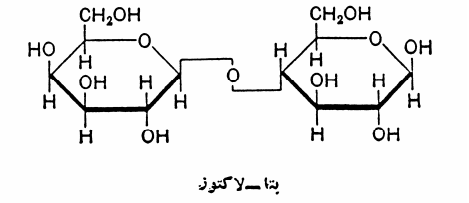
A – دی ساکاریدهای احیاء کننده مانند مالتوز و لاکتوز .
ماکتوز از دو ملکول گلوکز با یک اتصال تشکیل شده $1\alpha \rightarrow 4$ گلوکوزیدی



بتا ـ مالتوز

مالتوز احیاء کننده می باشد بعلت داشتن گروه همی استال آزاد که با ستاره مشخص شده و آلفا و بتا بودن دی ساکاریدها را نسبت به وضعیت گروه همی استال آزاد مشخص می کنند . آنزیم هیدرولیز کننده مالتوز مالتاز می باشد.

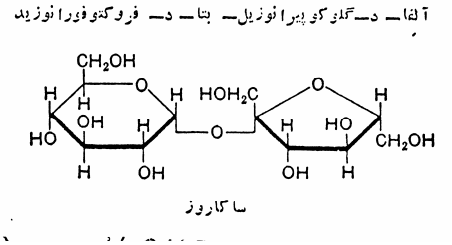
لاکتوز یا قند شیر از دو مولکول گالاکتوز و گلوکز با بنوند $1\beta \rightarrow 4$ گلوکوزیدی تشکیل شده دارای گروه نیم استال آزاد می باشد و در دمای بدن بشکل آلفا و بتا به نسبت ۲ به ۳ در حالت تعادل وجود دارد.



بتا ـ لاکتوز

آنزیم هیدرولیز کننده لاکتوز لاکتاز می باشد

B- دی ساکاریدهای غیراحیاء کننده مانند ساکارز از $D\alpha$ و گلوکز+ DB فروکتوز تشکیل شده چون دارای گروه همی استال آزاد نمی باشد غیر احیاء کننده می باشد در میوه ها و نباتات مانند چغندر قند ، نیشکر ، به مقدار فراوان وجود دارد. آنزیم هیدرولیز کننده ساکارز ساکاراز می باشد.



ساکاروز

پلی ساکاریدها

به دو گروه A هموپلی ساکاریدها – B هترو پلی ساکاریدها تقسیم می شوند.

A هموپلی ساکاریدها از تکرار واحدهای مشابهی از یک نوع منوساکارید تشکیل شده که معمولاً گلوکز می باشد بجزء انیولین که واحدهای سازنده آن فروکتوز است. مهم ترین هموپلی ساکاریدها عبارتند از:

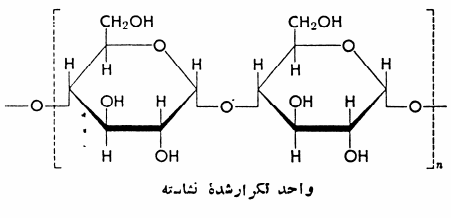
a نشاسته از ۲۰ درصد از آمیلوز و ۸۰٪ از آمیلوپکتین تشکیل شده .

آمیلوز از n مولکول گلوکز ساخته شده با پیوندهای $1\alpha \rightarrow 4$ گلو کوزیدی

آمیلوپکتین از n مولکول گلوکز ساخته شده که علاو بر پیوندهای $1\alpha \rightarrow 4$گلوکوزیدی

دارای پیوندهای انشعابی $D1\alpha \rightarrow 6$ گلوکوزیدی نیز می باشد.

در آمیلوپکتین بین 24-20 واحد گلوکزیک انشعاب $1\alpha \rightarrow 6$ گلوکوزیدی به وجود می آید طول انشعاب بین ۳۰-۲۴ واحدگلوکز می باشد.

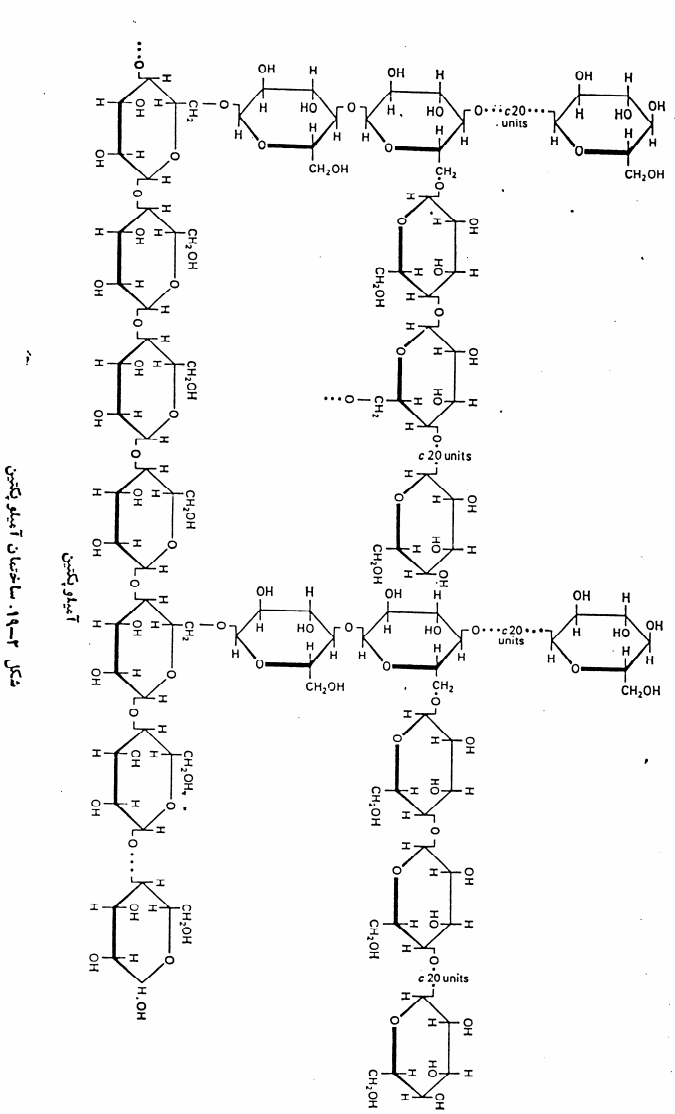


واحد تکرارشدهٔ نشاسته

شکل ۲-۱۷ : آمیلوز

هیدرولیز ناقص نشاسته ماده ای بنام دکسترین بدست می آید.

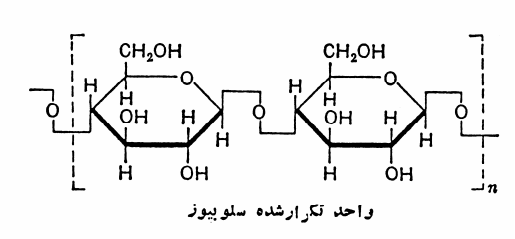
b= گلی کوژن : شبیه آمیلوپکتین نشاسته است ولی منشعب تر یعنی بین هر ۱۰-۸ واحد گلوکز یک انشعاب $1\alpha \rightarrow 6$ گلوکوزیدی به وجود می آید. طول انشعاب بین 12-10 واحدی گلوکز است . گلی کوژن در عضلات و کبد حیوانات ذخیره می شود. آنزیم های هیدرولیز کننده آن فسفوزیلاز و گلوکوزیداز می باشد.



شکل ۲-۱۹- ساختمان آمیلوپکتین

آمیلوپکتین

e= سلولز: از n مولکول گلوکز ساخته شده که با پیوند $1\beta \rightarrow 4$ گلوکوزیدی مهم متصل شده اند . فراوانترین پلی ساکاریدی است که در گیاهان دیده می شود. در دستگاه گوارشی پستانداران آنزیمی برای هیدرولیز پیوند $1\beta \rightarrow 4$ گلی کوزیدی وجود ندارد ولی در نشخوار کنندگان بعلت وجود باکتریها می توانند تولید سلولاز نمایند. کاربرد سلولز در انسان حجیم شدن محتویات روده و تسهیل عمل دفع می باشد. اگر سلولز با آنزیم یا اسید طوری هیدرولیز شود که آخرین باقیمانده ۲ واحد گلوکز با پیوند $1\beta \rightarrow 4$ گلی کوزید باشد این ماده سلوبیوز نامیده می شود.



شکل ۲-۲۱: ساختمان سلولز

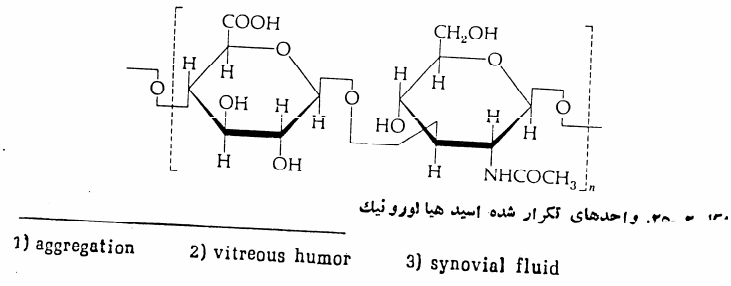
B- هتروپلی ساکاریدها برخلاف هموپلی ساکاریدها در ساختمان آنها علاوه بر منوساکاریدها ترکیبات غیر قندی مثل سولفاتها و استاتها بکار رفته.

مهمترین هتروپلی ساکاریدها عبارتند پروتئوگلایکن ها و گلی کوپروتئین ها می باشند.

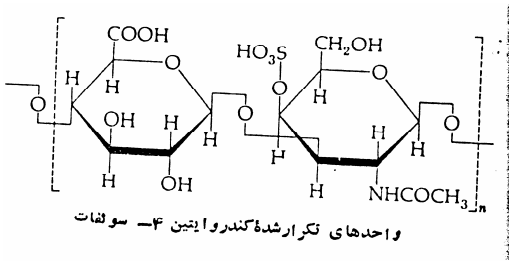
پروتئوگلایکن ها (گلیکوز آمینوگلایکن ها)

مواد بنیادین بافت هم بندند هم چنین در ساختمان بافت غضروفی وجود دارد برعکس گلی کوپروتئین ها پروتئوگلایکن ممکن است تا ۹۵ درصد از کربوهیدراتها تشکیل شده باشند. پروتئوگلایکن معمولاً از واحدهای تکراری یک قند Nاستیله + اسید گلوکورونیک یا ایدیورونیک تشکیل شده اند . مهم ترین پروتئوگلدیکن ها عبارتند از :

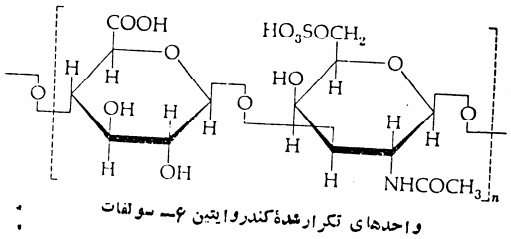
a- اسید هیالورانیک b-کندرانتن سولفات c-کراتین سولفات d هپارین



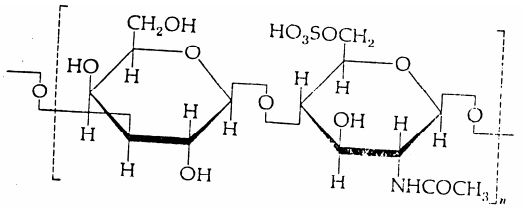
واحدهای تکرار شده اسید هیالورونیک



واحدهای تکرار شدهٔ کندروایتین ٤- سولفات

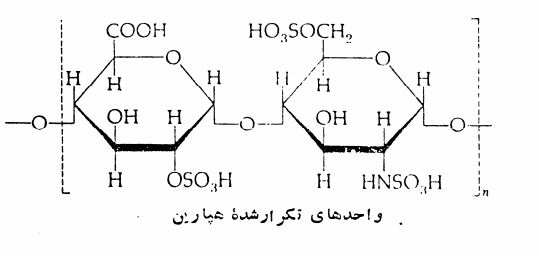


واحدهای تکرار شدهٔ سولفاتهای کندروایتین



واحدهای تکرارشدهٔ کراتن سولفات I و II

واحدهای تکرار شدهٔ کراتن سولفات I و II



واحدهای تکرارشدهٔ هپارین

واحدهای تکرار شدهٔ هپارین

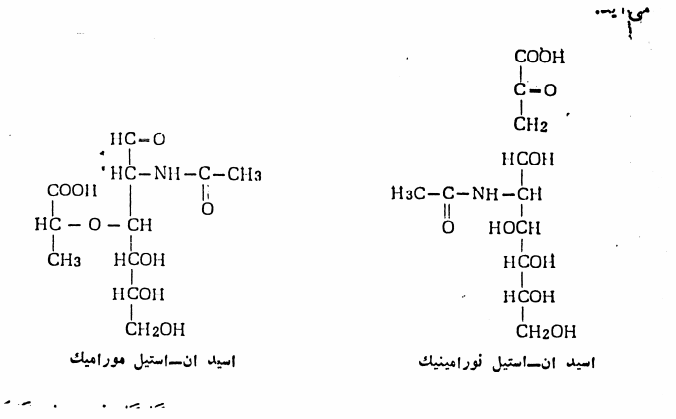
ساختمان هپارین و سولفات هپارین

کربوهیدراتهای گوناگون

طبق تعریف کربوهیدراتها این نوع مواد جزء کربوهیدراتها محسوب می شوند ولی نمی توان آنها را در هیچیک از سه سه دسته کربوهیدراتها تقسیم بندی کرد. مهم ترین این کربوهیدراتها عبارتند از:

A اسید مورامیک و اسید نورامنیک

این قندهای مشتق شده اساس اولیه پلی ساکاریدهای ساختمانی دیواره سلولی باکتریها و پوشش خارجی سلولهای حیوانی را تشکیل می دهند اسید نورامنیک یا اسید سیالیک از تراکم اسید پیرویک با N استیل مانوزامین بدست می آید و اسیدمورامیک از تراکم N استیل گلوکزامین با اسید لایتیک درست شده اند. یکی از موارد اولیه سازنده هر دیوارهٔ سلولی باکتریهاست اسید سیالیک در ترکیب ساختمانی بافت ها گروههای خونی گانگلیوزید و گلی کوپروتئین ها وجود دار. گروه کربوکسیل آن سبب بوجود آمدن بار منفی بر روی سطح گلبولهای قرمزو سلولهای سرطانی می شود. ویروس آنفلوانزا دارای آنزیمی بنام نورآمینیداز هستند که می توانند در هنگام عفونت اسید سیالیک را از محل پذیرنده آن جدا کنند.



اسید ان-استیل مورامیک

اسید ان-استیل نورامینیک

فصل ششم

لیپیدها

لیپیدها

لیپیدها شامل چربی ها و استروئیدها و مومها هستند. این گروه از ترکیبات در آب نامحلول و در حلالهای آبی مثل اتر بنزن کلرفرم تتراکلرکربن محلولند.

لیپیدها علاوه بر انرژی زائی به علت ویتامین های محلول در چربی و هم چنین اسیدهای چرب ضروری که برای بیوسنتز موادی مانند پروستاگلاندین ها لازم می باشد از اجزای مهم غذایی هستند.

چربی در بافت چربی ذخیره می شود که در بافت های زیر پوستی و اطراف اعضای خاص نقش عایق حرارتی را دارد و لیپیدهای غیرقطبی در اعصاب میلین دار حکم عایق الکتریکی را دارند امکان گسترش سریع امواج دپلاریزاسیون را فراهم می سازد.

لیپوپروتئین ها از اجزای مهّم سلولی هستند که در غشاء سلول وجود دارد و هم به عنوان وسیله دائمی برای انتقال لیپیدها در خون میباشد.

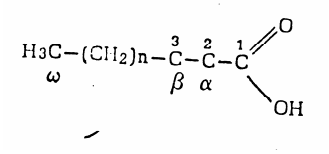
تقسیم بندی لیپیدها

۱. اسیدهای چرب
۲. تری گلیسریدها
۳. مومها
۴. فسفولیپیدها
   - A فسفاتیدیل کولینی
   - B فسفاتیدیل اتانل امین
   - C فسفاتیدیل سرمی
   - D فسفاتیدیل اینوزیتول
   - E دی فسفاتیدیل گلیسرول (کاردیولیپین)
   - F پلاسمولوژنها
۵. اسفنگولیپیدها
   - A اسفنگومیلینی
   - B گلی کولیپیدهای خنثی(سر بروزیدها)
   - C گلیکولیپیدها اسیدی (گانگلیوزیدها
۶. ترپن ها
۷. استروئیدها
   - A کلسترول و مشتقات آن
   - B اسیدهای صفراوی
   - C هورمونهای استروئیدی
۸. پروستاگلاندین ها
۹. سیستم های لیپوپروتئینی
   - A ناقل شامل لیپوپروتئین ها
   - B ساختمانی شامل غشاء

۱. اسیدهای چرب

اسیدهای چرب به ندرت بصورت آزاد در طبیعت یافت می شوند. بیشتر از هیدرولیز چربی های دیگر به دست می آیند. این اسیدها دارای یک زنجیر کربنی با یک گروه کربوکسیل در انتها هستند . اسیدهای چرب به دو فرم در طبیعت موجود می باشند که در جدول ۱ و ۲ نمایش داده شده است.

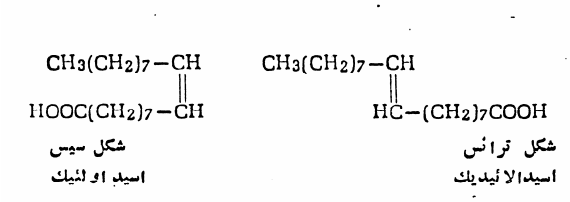
اسیدهای چرب
- A اشباع شده enH_2no_2
- B اشباع نشده



شماره گذاری اسیدهای چرب از عامل کربوکسیل و نامگذاری آنها از کربن مجاور به عامل کربوکسیل شروع می گردد. به منظور اجتناب از رسم فرمول کامل یک اسید چرب می توان از علائم اختصاری استفاده نمود و برای مثال برای اسیدهای چرب اشباع نشده تعداد کربن تعداد پیوند دو گانه محل پیوند دو گانه می تواند در علائم اختصاری گنجانده شود . برای مثال برای اسید اولئیک wg که این اسید چرب را اسید چرب ωg نیز می نامند زیرا فاصله پیوند دو گانه تا کربن ω (CH_3) ۹ کربن می باشد.

اسیدهای چرب اشباع نشده ای که بیش از یک پیوند دوگانه باشند به اسیدهای چرب لازم موسومند زیرا انسان و حیوانات قادر به تهیه آنها در بدن نیستند و باید همراه مواد غذایی وارد بدن شوند. این گروه از اسیدهای چرب برای بیوسنتز مشتقات اسیدهای چرب اشباع نشده مانند پروستاگلاندین ها در بدن لازم اند. که پروستاگلاندین امروزه بنام هورمونهای موضعی شناخته شده اند.

ساختمان فضائی یابه عبارت دیگر شکل هندسی اسیدهای چرب اشباع شده و اسیدهای چرب اشباع نشده بکلی با یکدیگر متفاوت هستند، زیرا در اسیدهای چرب اشباع شده اتم های کربن به وسیله پیوند کووالان یا مشترک به یکدیگر متصل و چرخش آنها به دور محور خود کاملاً آزاد و بلامانع می باشد در حالی که در اسیدهای چرب اشباع نشده پیوند مضاعف مانع این چرخش می شود در نیمه شکل های فضائی Cis و TronS به وجود می آید.



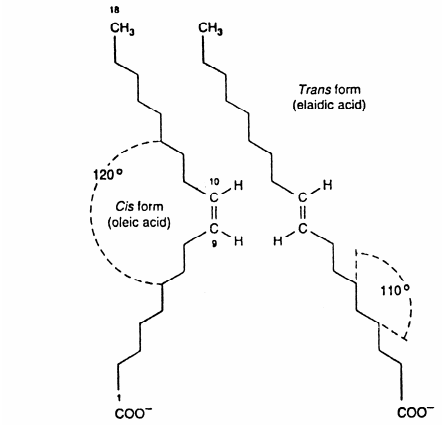
در اسیدهای چربی که دارای یک پیوند دوگانه هستند در محل پیوند دوگانه در زنجیر کربنی یک زوایه ۳۰° وجود دارد در حالی که در اسیدهای چرب اشباع نشده که دارای چندین پیوند مضاعف هستند مانند اسید آراشیدونیک زنجیر کربنی کاملاً در هم پیچیده است. نقطه ذوب در اسیدهای چرب اشباع شده نسبت مستقیم با طول زنجیر کربنی دارد. یعنی هر قدر تعداد کربن های در زنجیر خطی اسیدهای چرب اشباع شده زیادتر باشد . نقطه ذوب آن افزایش می یابد.

نقطه ذوب در اسیدهای چرب اشباع نشده با افزایش تعداد پیوندهای مضاعف در زنجیر کربنی نسبت معکوس دارد

باید به خاطر داشت که بیشتر اسیدهای چرب اشباع نشده در طبیعت به شکل فضائی سیس وجود دارند که یک نکته مهم دیگر پیوندهای مضاعف در زنجیر کربنی اسیدهای چرب اشباع نشده هیچگاه مجاور یک دیگر قرار نمی گیرند بلکه همیشه یک گروه متیلن (eH_2) بین دو پیوند مضاعف قرار می گیرند.

(-CH=CH-CH=CH-) سیستم مرکب یا کنژوگه

(-CH=CH-CH_2-CII=CH-) سیستم غیر مرکب یا غیر کنژوگه



شکل ۵- : ایزومری هندسی اسیدهای چرب ۱: ۱۸، Δ^9 (اسیدهای اولئیک والاییدیک)

جدول۳ـ۱. نام‌شیمیایی وفرمول بعضی ازاسیدهای چرب‌اشباع شده

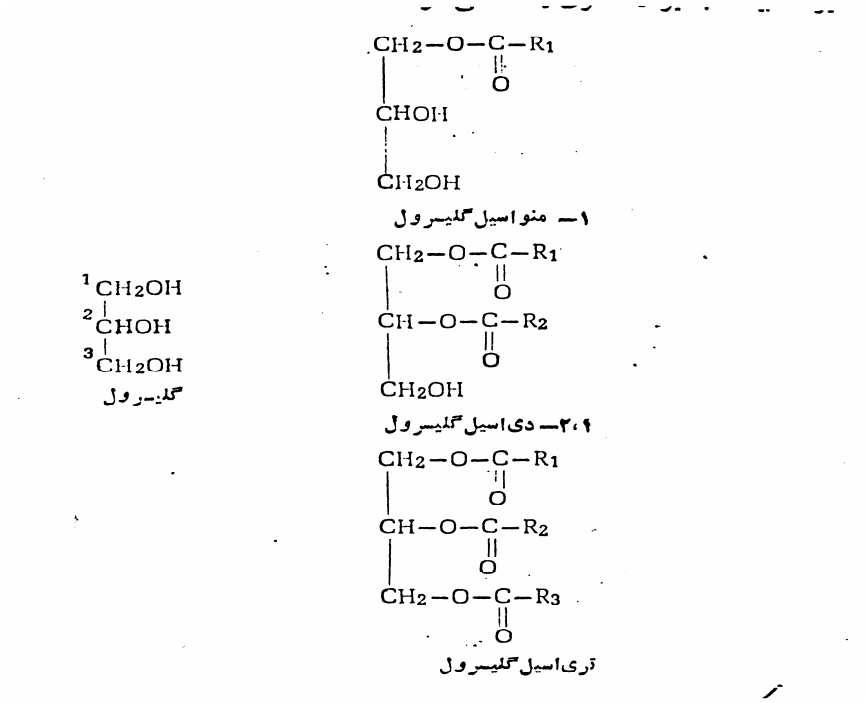
نام رایج		نام سیستماتیک		فرمول مولکولی	فرمول سا
استیک	(Acetic)	.....		$C_2H_4O_2$	OOH
پروپیونیک	(Propionic)	.....		$C_3H_6O_2$	H_2–COOH
ان‌ـبوتیریک	(n–Butyric)	.....		$C_4H_8O_2$	$(CH_2)_2$–COOH
کاپروئیک	(Caproic)	ان ـ هگزانوئیک	(n – Hexanoic)	$C_6H_{12}O_2$	$(CH_2)_4$–COOH
کاپریلیک	(Caprylic)	ان ـ اکتانوئیک	(n – Octanoic)	$C_8H_{16}O_2$	$(CH_2)_6$–COOH
پلارگونیک	(Pelargonic)	ان ـ نونانوئیک	(n – Nonanoic)	$C_9H_{18}O_2$	$(CH_2)_7$–COOH
کاپریک	(Capric)	ان ـ دکانوئیک	(n – Decanoic)	$C_{10}H_{20}O_2$	$(CH_2)_8$–COOH
لاوریک	(Lauric)	ان ـ دودکانوئیک	(n – Dodecanoic)	$C_{12}H_{24}O_2$	$(CH_2)_{10}$–COOH
میریستیک	(Myristic)	ان ـ تترادکانوئیک	(n – tetradecanoic)	$C_{14}H_{28}O_2$	$(CH_2)_{12}$–COOH
پالمیتیک	(Palmitic)	ان ـ هگزادکانوئیک	(n – Hexadecanoic)	$C_{16}H_{32}O_2$	$(CH_2)_{14}$–COOH
استئاریک	(Stearic)	ان ـ اکتادکانوئیک	(n – Octadecanoic)	$C_{18}H_{36}O_2$	$(CH_2)_{16}$–COOH
آراشیدیک	(Arachidic)	ان ـ ایکوسانوئیک	(n – Eicosanoic)	$C_{20}H_{40}O_2$	$(CH_2)_{18}$–COOH
بهنیک	(Behenic)	ان ـ دوکوسانوئیک	(n – Docosanoic)	$C_{22}H_{44}O_2$	$(CH_2)_{20}$–COOH
لینوسریک	(Lignoceric)	ان ـ تتراکوسانوئیک	(n – Tetracosanoic)	$C_{24}H_{48}O_2$	$(CH_2)_{22}$–COOH
سروتیک	(Cerotic)	ان ـ هگزاکوسانوئیک	(n – Hexacosanoic)	$C_{26}H_{52}O_2$	$(CH_2)_{24}$–COOH
مانتانیک	(Montanic)	ان ـ اکتاکوسانوئیک	(n – Octacosanoic)	$C_{28}H_{56}O_2$	$(CH_2)_{26}$–COOH

جدول ۳ـ۲. نام‌شیمیایی و فرمول بعضی‌از اسیدهای چرب اشباع نشده

نام رایج		نام سیستماتیک		فرمول مولکولی	فرمول ساختمانی
پالمیتولیک	(Palmitoleic)	۹ـ هگزادکنوئیک	(9–Hexadecenoic)	$C_{16}H_{30}O_2$	$H_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7COOH$
اولئیک	(Oleic)	سیس‌ـ۹ـاکتادکنوئیک	(*cis*–9–Octadecenoic)	$C_{18}H_{34}O_2$	$H_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$
الائیدیک	(Elaidic)	ترانس‌ـ۹ـاکتادکنوئیک	(*trans*–9–Octadecenoic)	$C_{18}H_{34}O_2$	$H_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$
واکسنیک	(Vaccenic)	۱۱ـ اکتادکنوئیک	(11–Octadecenoic)	$C_{18}H_{34}O_2$	$H_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_9COOH$
لینولئیک	(Linoleic)	سیس، سیس‌ـ۱۲،۹اکتادکادی‌انوئیک *cis,cis*–9,12 Octadecadienoic		$C_{18}H_{32}O_2$	$H_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$
آلفا-لینولئیک	(α-Linolenic)	۱۵،۱۲،۹ اکتادکاتری‌انوئیک	(9,12,15 Octadecatrienoic)	$C_{18}H_{30}O_2$	$CH_3CH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_7COOH$
گاما-لینولئیک	(γ-Linolenic)	۱۲،۹،۶ اکتادکاتری‌انوئیک	(6,9,12 Octadecatrienoic)	$C_{18}H_{30}O_2$	$H_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_4COOH$
الئوستئاریک	(Eleostearic)	۱۳،۱۱،۹ اکتادکاتری‌انوئیک	(9,11,13 Octadecatrienoic)	$C_{18}H_{30}O_2$	$H_3(CH_2)_3CH=CH-CH=CH-CH=CH(CH_2)_7COOH$
آراشیدونیک	(Arachidonic)	۱۴،۱۱،۸،۵ ائی کوساترانوئیک (5,8,11,14 Eicosatetraenoic)		$C_{20}H_{32}O_2$	$H_3(CH_2)_4CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CHCH_2CH=CH(CH_2)_3COOH$
نرونیک	(Nervonic)	سیس‌ـ۱۵ـ تتراکوسنوئیک	(*cis*–15–Tetracosenoic)	$C_{24}H_{46}O_2$	$H_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_{13}COOH$

۲. تری اسید گلیسرولها (تری گلیسیرید) یا چربی های خنثی

این گروه از چربی ها از استری شدن گلیسرول با اسیدهای چرب به دست می آیند سابقاً به نام تری گلیسرید نامیده می شدند. تری اسیل گلیسرولها فراوانترین چربی هائی هستندکه در طبیعت یافت می شوند بخش عمده چربی ذخیره بافتهای حیوانی و نباتی را تشکیل می دهند. دی اسل گلیسرولها و منو اسیل گلیسرول در طبیعت به میزان کمتری یافت می شوند معمولاً از هیدرولیز تری گلیسریدها حاصل می شوند.



اگر R_1 و R_2 و R_3 از یک نوع اسید چرب باشد ساده و در غیر اینصورت مختلط یا مرکب نامیده می شوند در تری اسیل گلیسرولها نقطه ذوب آنها بستگی به نوع اسیدهای چربی دارد که در ساختمان آنها بکار رفته .

۳. مومها

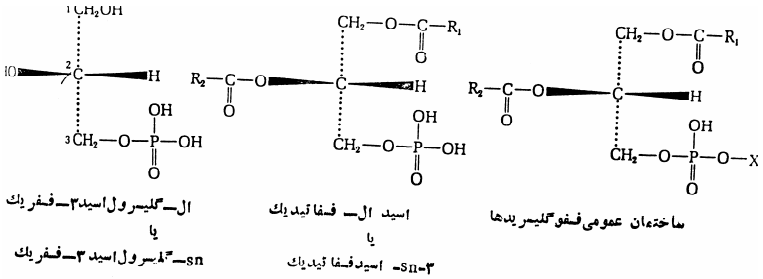
از استری شدن اسیدهای چرب با تعداد ۱۰ اتم کربن به بالا با الکل های منوهیدریک که تعداد کربن های آن نیز در ۱۰ اتم بیشتر است حاصل می شود.

٤. فسفو گلیسیریدها

فسفوگلیسریدها یا گلیسرول فسفاتید که فسفولیپید نیز خوانده می شود از نظر وفور بعد از تری اسیل گلیسرول قرار دارند . این مواد قسمت قابل توجهی از غشاء سلول را تشکیل می دهند و در قسمت های دیگر سلول نیز یافت می شود و در واقع از گروه چربی های ساختمانی سلول بشمار می آیند.

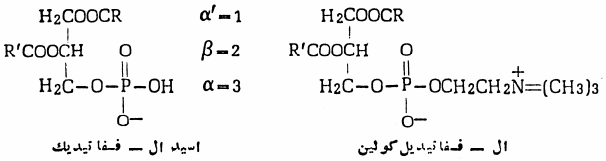
در فسفولیپیدها از استری شدن یکی از عوامل الکلی نوع اوّل گلیسرول با یک مولکول اسید فسفریک گلیسرول ۳ فسفات حاصل می گردد. این جسم با دو مولکول اسید چرب ترکیب شده و تولید اسید فسفاتیدیک را می نماید که به عنوان هسته اصلی در ساختمان تمامی فسفوگلیسیریدها وجود دارد به علت وجود یک کربن غیر متقارن در گلیسرول ۳ فسفات می توان آنها را به ۲ دسته D و L گلیسروفسفات تقسیم نمود. این دو گروه را برحسب عدد ویژه فضائی که به اختصار به حروف Sn نشان داده می شود نامگذاری

می کنند در این نوع نامگذاری Sn بدان معنی است که عامل الکلی OH عامل الکلی نوع دوم در سمت چپ قرار گرفته باید دانست گلیسروفسفاتهای که در طبیعت موجود می باشند از نوع Sn می باشند.



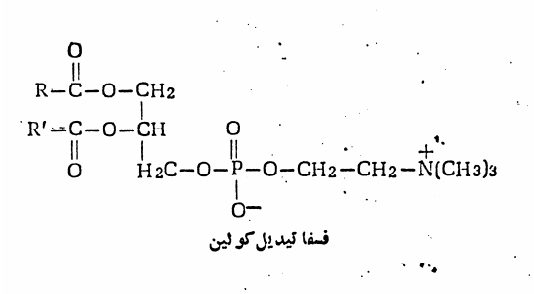
α عامل الکلی نوع اول
β عامل الکلی نوع دوم
α/ عامل الکلی نوع اول می باشد.

شکل ۳-۲: ساختمان فضایی فسفوگلیسریدها شده است.

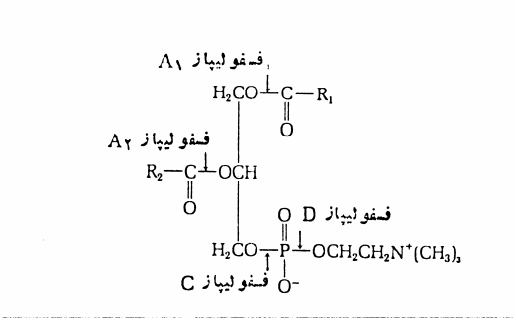


A فسفاتیدیل کولین

فسفاتیدیل کولین و فسفاتیدیل اتانل امین فراوانترین فسفوگلیسریدهائی هستند که در نباتات و حیوانات عالی یافت می شوند این فسفوگلیسریدها از ترکیبات عمده جدار سلولی محسوب می شوند نام تجاری فسفاتیدیل کولین لستین می باشد. لستین به صورت دو خصلتی یا آمفوتریک (Amphotetic) وجود دارد.



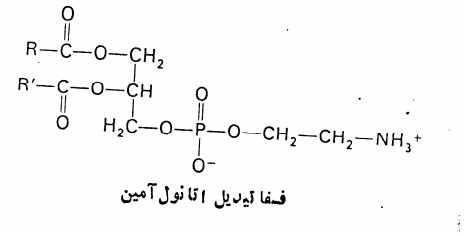
در بدن انسان آنزیم هائی بنام فسفولیپاز یافت می شود که در شرائط مناسب می توانند فسفوگلیسریدها را هیدرولیز کرده به اجزای تشکیل دهنده تجزیه کند عمل این فسفولیپازها اختصاصی است بدین گونه که فسفولیپاز A_1 اسید چرب کربنی شماره ۱ گلیسرول جدا می کند فسفولیپاز A_2 اسید چرب را از کربن شماره ۲ گلیسرول را بعهده دارد باید یادآور شد برداشت یک مولکول اسید چرب از فسفوگلیسریدها تولید مادهٔ بنام لیزوفسفوگلیسرید را می کند که از مواد واسطه ای متابولیسم فسفوگلیسیریدها محسوب می شود در بافت ها به مقدار ناچیز یافت می شود لیزوفسفوگلیسرید در غلظت های بالا سمی هستند به دیواره سلولی آسیب وارد می سازند فسفولیپاز C پیوند استری بین کربن شماره ۳ گلیسرول و اسید فسفریک را می شکند فسفولیپاز D هیدرولیز بین باز ازت دار و اسید فسفریک را به عهده دارد.



شکل ۳-٤: محل اثر فسفولیپازها بر روی فسفاتیدیل کولین

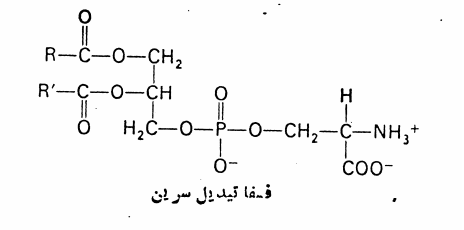
B فسفاتیدیل اتانل امین

یکی از فراوانترین فسفوگلیسیریدها است به ویژه در مغز و سلولهای عصبی بیش از سایر بافت ها یافت می شود.



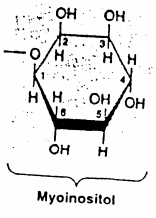
C فسفاتیدیل سرین

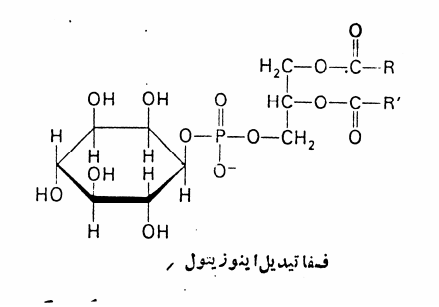
این جسم نیز در بافت های عصبی وجود دارد.



D فسفاتیدیل اینوزیتول

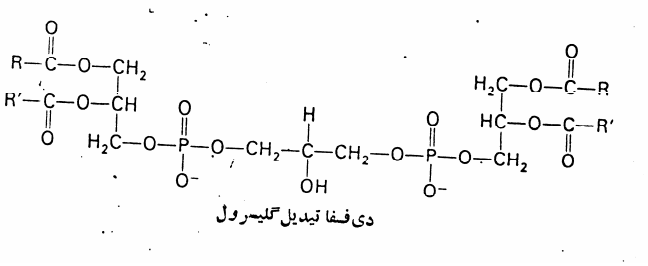
فسفاتیدیل اینوزیتول در تمام بافت ها پیدا می شود. اینوزیتول موجود در فسفاتیدیل اینوزیتول به صورت ایزومر فضائی آن یعنی میواینوزیتول است . فسفاتیدیل اینوزیتول از فسفولیپیدهای مهم غشاء سلول است تا پس از تحریک با یک اگونیست مناسب هورمونی به دی اسیل گلیسرول و اینوزیتول تری فسفات می شکند هر دو ترکیب مزبور نقش یک پیام داخلی یا پیک ثانویه را دارند.




فسفاتیدیل اینوزیتول

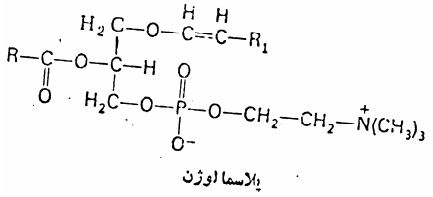
E دی فسفاتیدیل گلیسرول

از یک مولکول گلیسرول از دو مولکول اسید فسفاتیدیک تشکیل شده اند. این گروه از فسفولیپیدها را می توان در غشاء درونی میتوکندری به میزان قابل توجهی مشاهده نمود چون اولین بار از سلولهای عضله قلب که حاوی تعداد زیادی میتوکندری است استخراج شده اند آنها را کاردیولیپین نامگذاری کرده اند.


دی فسفاتیدیل گلیسرول

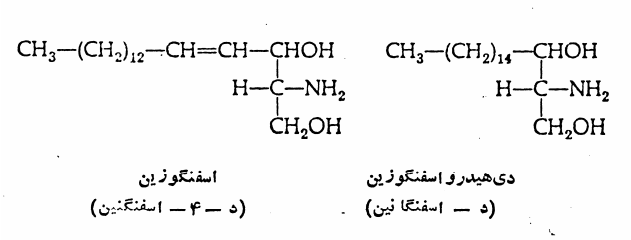
F پلاسمولوژنها

ساختمان پلاسمولوژنها از فسفوگلیسیریدهای دیگر متفاوت است بدین ترتیب که در آنها یک الکل اشباع نشده به وسیله یک پیوند اتری به کربن شماره یک گلیسرول متصل شده اند باز ازت داری که در ساختمان پلاسموژنها بکار رفته در بیشتر موارد اتانل امینی ولی گاهگاهی کولین یا سرین نیز در آنها به کار رفته است.


پلاسمالوژن

۵ اسفنگولیپیدها

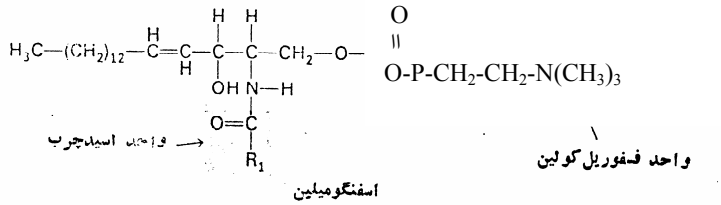
تعداد زیادی از لیپیدها را برحسب وجود یک امین الکل اشباع نشده به نام اسفنگوزین یا دهیدرواسفنگوزین می توان در یک گروه مشخصی بنام اسفنگلولیپیدها تقسیم بندی نمود. اسفنگولیپیدها از مواد تشکیل دهنده غشاء سلولهای گیاهی و حیوانی هستند که در مغز و بافت های عصبی به مقدار فراوان وجود دارد ولی در سلولهای چربی به ندرت دیده می شوند و تمام اسفنگولیپیدها از یک مولکول اسید چرب و یک مولکول اسفنگوزین می باشند که سرامید نامیده می شود.



زیر مجموعه اسفنگولیپیدها عبارتند از :

A اسفنگومیلین

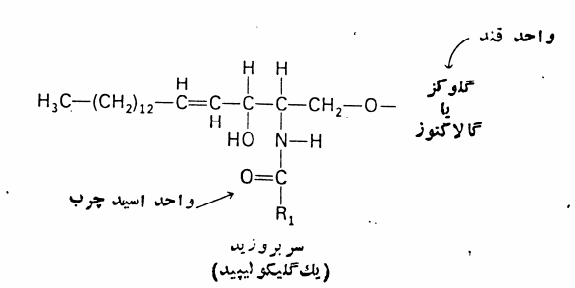
اسفنگومیلینی حاصل ترکیب یک مولکول سرامید با گروه قطبی فسفوزیل کولینی است اسفنگومیلینی ها از فراوانترین لیپیدهای موجود در سلولهای حیوانی و گیاهی است که در بافت عصبی و چربی های خون نیز یافت می شود.



گلی کولیپیدهای خنثی یا سربروزیدها:

B در این دسه از اسفنگولیپیدها به جای گروه قطبی یک مولکول قند که فاقد بار الکتریکی است قرار گرفته که فاقد بار الکتریکی است ساده ترین آنها سربروزیدها است که در آنها یک واحد منوساکارید به وسیله یک پیوند β بتا گلی کوزیدی به گروه هیدروکسیل یک سرامید متصل است. سربروزیدهایی که در بافت مغزی و سلسله اعصاب یافت می شوند محتوی گالاکتوز سربروزید نامیده می شود.

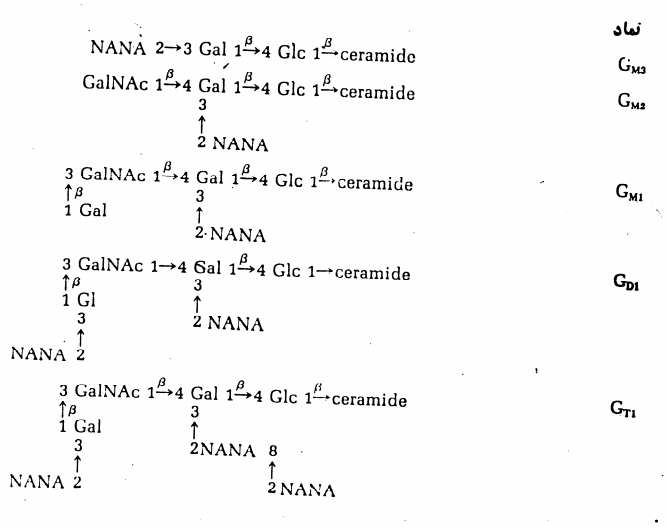
گلوکوسربروزیدها به جای گالاکتوز دارای گلوکز هستند به مقدار ناچیزی در بافت های دیگر یافت می شوند.



C گلیکولیپیدهای اسیدی یا گانگلیوزیدها

سومین و پیچیده ترین گروه گلی کولیپیدها را گانگلیوزیدها تشکیل می دهند این دسته از اسفنگولیپیدها از گروه محتوری سرامید یک دی ساکارید که (معمولاً ترکیبی از گلوکز و گالاکتوز می باشند) و یک یا چند واحد اسید سیالیک.

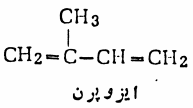
گانگلیوزیدها به مقدار قابل توجهی در مادهٔ خاکستری مغز وجود دارند و تقریباً ۶ درصد کل چربی های این قسمت ها را تشکیل می‌دهند تاکنون بیش از ۲۱ نوع گانگلیوزید یافت شده که اختلافشان در تعداد و موقعیت نسبی مولکولهای قند هگزوز و اسید سیالیک است. نظر به اینکه گانگلیوزید به ویژه در انتهای رشئه های عصبی به میزان قابل توجهی یافت می شوند به نظر می رسد این گروه از چربی ها در انتقال امواج عصبی نقش ویژه ای را به عهده دارند.



٦. ترپن ها

ترپن ها از مجموعه ای از واحدهای ۵ کربنی به نام ایزوپرن (Isoprene) خوانده می شود به وجود آمده انـد . ایـن واحـدهای ۵ کربنه از مشتقات بوتان محسوب می شوند.

خوانده می‌شود.

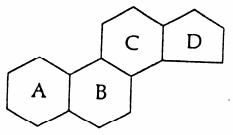


ایزوپرن

منوترپن ها از دو واحد ایزوپرن تشکیل شده از مانند رژانیول کامفر لیمونن
دی ترپن ها از ۴ واحد ایزوپرن تشکیل شده از مانند فیتول که جزء رنگدانه های کلروفیلی است
تری ترپن ها ا ۶ واحد ایزوپرن تشکیل شده از مانند اسکوالن که مواد مهم در بیوسنتز کلسترول
تتراترپن ها از ۸ واحد ایزوپرن تشکیل شده از مانند کارتیوئیدها می باشند یکی از مهم ترین کارتنوئیدها محسوب می شود
بتا کاروتن است که مادهٔ پیش ساز برای ویتامین A محسوب می شود
ای کینون یاکوانزیمQ به صورت یک عامیل انتقال دهنده هیدروژن در زنجیر انتقال الکترون است می توان از خانواده ترپن ها محسوب گردد.

۷. استروئیدها

استروئیدها گروه بزرگی از چربی ها را تشکیل می دهند اعضای این گروه مشتقاتی از پرهیدرو سیکلوپنتانوفنانترن دانست.



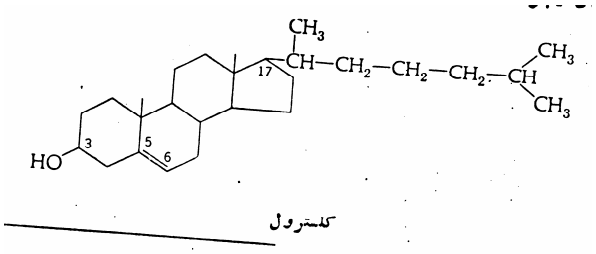
پرهیدروسیکلوپنتا نوفنا نترن

مهم ترین استروئیدها گروه کلسترولها می باشد که شامل کلسترول کوپروسترول و ارگوسترول می باشند.

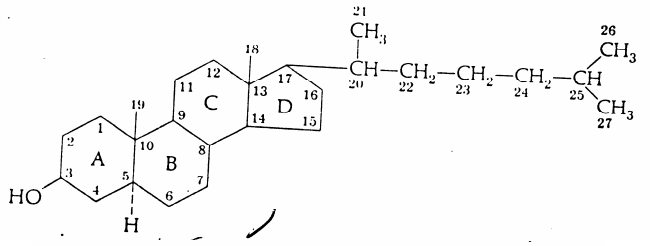
۱- کلسترول

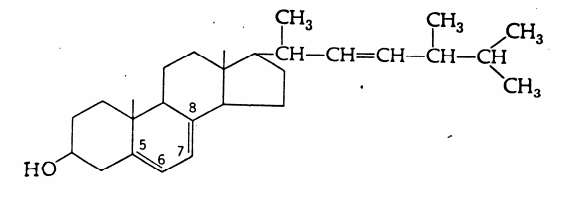
استروئیدی است که شاخه جانبی آن از ۸ کربن تشکیل دهنده هم چنین یک گروه هیدروکسیل روی کربن شماره ۳ قرار دارد. هم علاوه بر این خصوصیات یک پیوند مضاعف بین کربن ۵ و ۶ آن وجود دارد.

کلسترول در تمام انواع چربی های حیوانی خون و صفرا وجود داد حدود $\frac{۲}{۳}$ کلسترولی که در خون وجود دارد به صورت استریفیه یا یک اسید چرب اشباع نشده و بقیه آن به صورت آزاد وجود دارد. فرم احیاء شده کلسترول در روده کوپروسترول نامیده می شود. ارگوسترول نوع دیگر از استرولها می باشد. دارای ۲۸ کربن می باشد در مقایسه با کلسترول یک شاخه متیل اضافی روی کربن ۲۴ و یک پیوند دو گانه بین کربن ۲۲ و ۲۳ و علاوه بر همه اینها دارای یک پیوند دوگانه بین کربن ۸ و ۷ نیز دارا می باشد. ارگوسترول را پروتیامین D نیز می نامند.



کلسترول





فصل هفتم

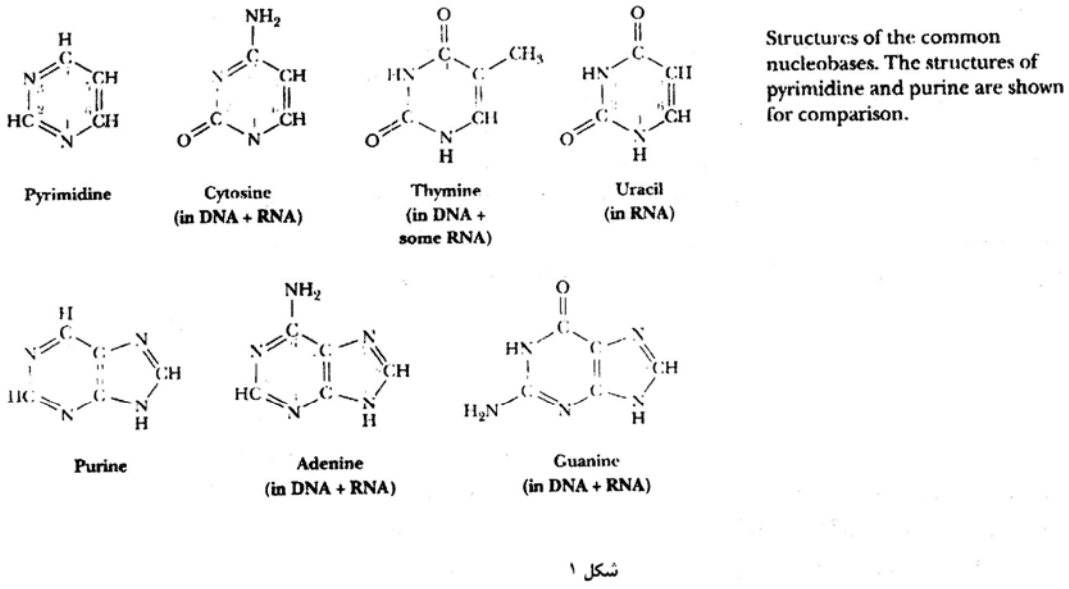
ساختمان اسیدهای نوکلئیک

اسیدهای نوکلئیک

همانند پروتئین ها که آمینو اسیدها بنا یا واحد تشکیل دهنده آنها محسوب می شوند نوکلئیک اسیدها نیز از تکرار واحدهایی بنام نوکلئوتید بوجود می آیند. بدون آنها (ریونوکلئوزید فسفات و دزاکسی ریبونوکلئوزیدفسفات) RNA و DNA تشکیل نشده و بنابراین پروتئینها نمی توانند سنتز شوند و یا سلول تکثیر شود. اعمال حیاتی عمده نوکلئوتیدهای پورین و پیریمیدین شامل واکنش های متعدد انتقال فسفات و سایر نوکلئوزید فسفات های دیگر می باشد که منجر به رانده شدن و اکنش های انرژی خواه می شوند.
UDP -گلوکز و UDP گالاکتوز در بیوسنتز کربوهیدارت عمل می نماید و CDP- اسیل گلیسرول در بیوسنتز لیپید شرکت می نماید. نوکلئوتیدها تشکیل بخشی از کوآنزیم ها را مانند FAD، NAD^+، $NADP^+$ ، کوآنزیم A وS-آدنوزیل متیونین را می دهند. میزان ADP سرعت فسفوریلاسیون اکسیداتیو را در میتوکندری تنظیم می کند. نوکلئوتیدهای ویژه بعنوان تنظیم کننده های آلوستریک فعالیت آنزیم ها عمل می نمایند، cAMP و cGMP نقش پیک ثانویه را دارند و بالاخره نوکلئوزید سه فسفات ها نقش واحدهای منومر پیش ساز اسیدهای نوکلئیک RNA وDNA را دارند. هر واحد نوکلئوتید از یک باز نیتروژن دار، یک قند پنج کربنه و یک یا چند مولکول فسفات تشکیل شده است. لذا به منظور درک ساختار اسید نوکلئیک ابتدا هر یک از اجزای متشکله یک واحد نوکلئوتید را مورد بررسی قرار می دهیم.

بازهای نیتروژن دار:

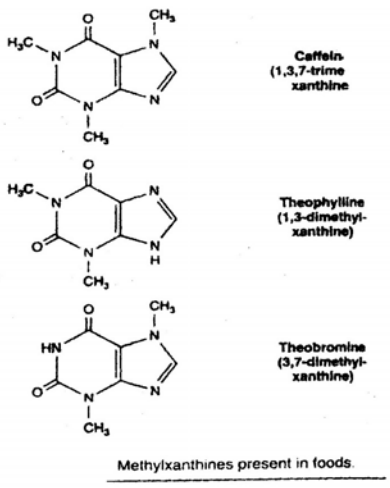
بازهای نیتروژن دار که در ساختار نوکئوتیدها به کار می روند به دو نوع اند:
گروه اول بازهایی هستند که از مشتقات یک ماده ناجور حلقه ای به نام پیریمیدین محسوب شده و به نام بازهای پیریمیدین شناخته می شوند.اوراسیل، سیتوزین و تیمین از بازهای اصلی این گروه هستند. سیتوزین در DNA و RNA یافت می شود. اوراسیل فقط در RNA یافت می شود. در DNA تیمین جانشین اوراسیل می شود، تیمین بمقدار کم همچنین در بعضی از اشکال RNA یافت می شود(شکل ۱). برخی از بازهای نیتروژن دار متیل دار شده مانند ۵-متیل سیتوزین و سایر مشتقات پیریمیدین نیز گاه به گاه در ساختار نوکلئیک اسیدها مشاهده می شوند. متیله شدن باقی مانده سیتوزین در تنظیم ژن موجودات عالی تر مؤثر است.



شکل ۱

گروه دوم بازهایی هستند که از مشتقات باز ناجور حلقه ای پورین به شمار رفته و به نام بازهای پورین شناخته می شوند.آدنین و گوانین از بازهای اصلی این گروه هستند که در ساختار RNA وDNA هر دو بکار می روند (شکل ۱)

اسید اوریک، گزانتین، هیپوگزانتین و دیگر مشتقات متیل دار پورین به مقدار ناچیز در طبیعت یافت می شوند. از جمله ترکیبات پورین دار گیاهی می توان کافئین یا ۷،۳،۱ تری متیل گزانتین و تئوبرومین یا ۷،۳ دی متیل گزانتین را نام برد که به مقدار کم بترتیب در قهوه و کاکائو وجود دارند. تئوفلین یا ۳،۱ دی متیل گزانتین در چای وجود دارد و با منع فعالیت آنزیم فسفو دی استراز می تواند سبب تشدید و یا طولانی شدن اثر اپی نفرین شود.(شکل ۲)



شکل ۲

برخی از ویژگی های عمومی بازهای پورین و پیریمیدین:

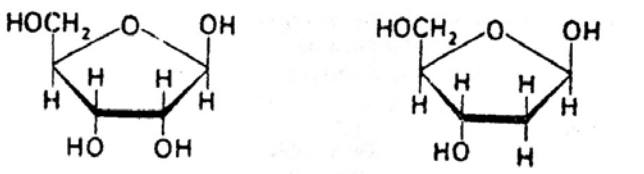
بازهای پورین و پیریمیدین بازهای نسبتاً مسطح و غیرمحلول در آب هستند. آنها نور فرا بنفش را در طول موج ۲۶۰ نانومتر جذب می نمایند که این خاصیت در تعیین مقدار آنها اهمیت فراوانی دارد. این بازها را می توان بسادگی توسط کروماتوگرافی از یکدیگر جدا نمود. ماهیت مسطح پورین و پیریمیدین باعث تسهیل به هم پیوستن نزدیک یا انباشته شدن (stacking) آنها می گردد که DNA دو رشته ای را پایدار می سازد. گروههای اکسو و آمینوی پورین و پیریمیدین ها دارای تاتومری کتو – انول و آمین – ایمین هستند (شکل ۳) ولی شرایط فیزیولوژیک قویاً به نفع اشکال آمینو و اکسو است. اشکال تاتوری متناوب بازها ایجاد پیوند هیدورژنی را می نماید و اغلب منبع موتاسیون ها هستند.

Tautomerism of the oxo and amino functional groups of purines and pyrimidines.

شکل ۳

قندهای پنج کربنی:

قند پنج کربنی موجود در ساختار RNA ، D- ریبوز و قند پنج کربنی موجود در ساختارD،DNA -۲- دزوکسی ریبوز است. این دو قند به شکل فورانوز و از نوع بتا می باشند(شکل ۴).



β – D – ریبوز　　β – D – ۲ – دزوکسی‌ریبوز

شکل ٤

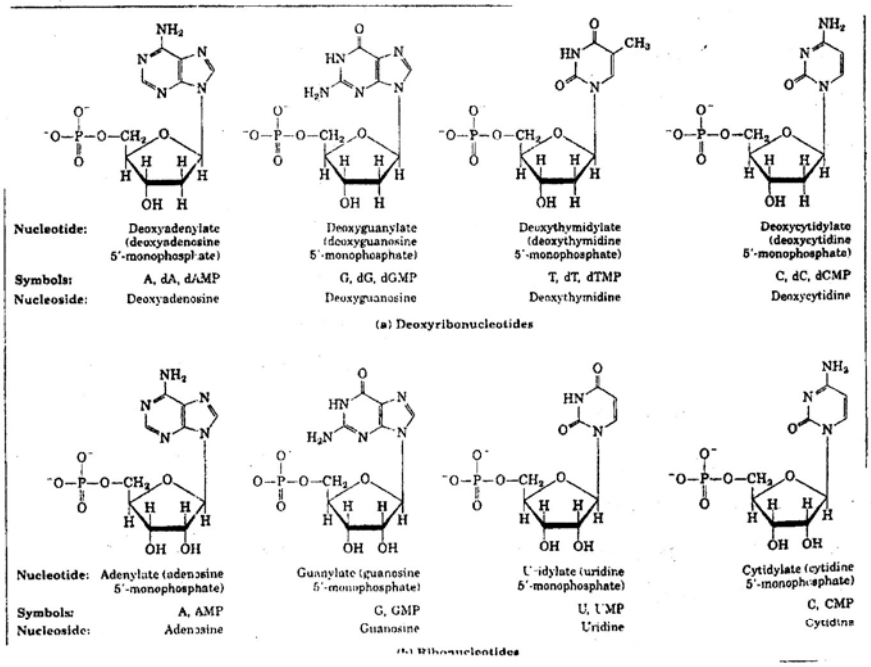
نوکلئوزیدها:

نوکلئوزیدها حاصل ترکیب یک باز نیتروژن دار با یک قند پنج کربنی هستند و نوع پیوند در این ترکیب از نوع β –گلیکوزیدی است. نوکلئوزید را دزوکسی ریبونوکلئوزید می نامند هنگامیکه حاوی دزوکسی ریبوز است و ریبونوکلئوزید خوانده می شود هنگامیکه حاوی ریبوز است. پیوند β –گلیکوزیدی در نوکلئوزیدهای پورین دار بین ازت شماره ۹ (N-9) باز و C-1 قند تشکیل می شود، در حالیکه در نوکلئوزیدهای پیریمیدین دار بین ازت شماره ۱ (N-1) باز و C-1 قند تشکیل می گردد. اگر باز نیتروژن دار از پورین و قند ریبوز باشد نوکلئوزیدهای حاصل را آدنوزین و گوانوزین می نامند ، در حالیکه ترکیب بازهای پورین با قند دزوکسی ریبوز منجر به تشکیل نوکلئوزیدهای دزوکسی آدنوزین و دزوکسی گوانوزین می شود. اگر باز نیتروژندار از پیریمیدینها و قند ریبوز باشد نوکلئوزیدهای حاصل را اوریدین و سیتدین می نامند، در حالیکه ترکیب بازهای پیریمیدین با قند دزوکسی ریبوز منجر به تشکیل نوکلئوزیدهای دزوکسی سیتدین و دزوکسی تیمیدین می شود. اگر باز تیمین متصل به قند دزوکسی ریبوز شود نوکلئوزید حاصل را تیمیدین و یا دزوکسی تیمیدین گویند. نوکلئوزیدها به مقدار بسیار جزئی در سلول ها به صورت آزاد یافت می شوند و از بازهای مربوطه در آب محلول تر می باشند(جدول ۱ وشکل ۵)، نوکلئوزید تشکیل شده توسط باز هیپوگزانتین و ریبوز بنام اینوزین خوانده می شود.

Nucleotide and Nucleic Acid Nomenclature

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

**Nucleoside* and *nucleotide* are generic terms that include both ribo- and deoxyribo- forms. Note that here ribonucleosides and ribonucleotides are designated simply as nucleosides and nucleotides (e.g., riboadenosine as adenosine), and deoxyribonucleosides and deoxyribonucleotides as deoxynucleosides and deoxynucleotides (e.g., deoxyriboadenosine as deoxyadenosine). Both forms of naming are acceptable, but the shortened names are more commonly used. Thymine is an exception; the name ribothymidine is used to describe its unusual occurrence in RNA.



Deoxyribonucleotides and ribonucleotides of nucleic acids. All nucleotides are shown in their free form at pH 7.0. The nucleotide units of DNA **(a)** are usually symbolized as A, G, T, and C, sometimes as dA, dG, dT, and dC; those of RNA **(b)** as A, G, U, and C. In their free form the deoxyribonucleotides are commonly abbreviated dAMP, dGMP, dTMP, and dCMP; the ribonucleotides, AMP, GMP, UMP, and CMP. For each nucleotide, the more common name is followed by the complete name in parentheses. All abbreviations assume that the phosphate group is at the 5′ position. The nucleoside portion of each molecule is shaded in red. In this and the following illustrations, the ring carbons are not shown.

شکل ۵

بجز آدنوزین، نوکلئوزیدهای دیگر غیر از اینکه قسمتی از عناصر نوکلئوتید ها هستند نقش فیزیولوژیک دیگری ندارند. در پستانداران آدنوزین بصورت هورمون محلی عمل می نماید.این نوکلئوزید در جریان خون گردش نموده و بطور محلی بر روی سلول های معینی عمل می نماید و دارای اثرات فیزیولوژیک متنوع است، منجمله باز نمودن عروق خونی، انقباض عضلات صاف، آزاد شدن ناقل عصبی و متابولیسم چربیها. آدنوزین در تنظیم ضربان قلب و نیز تنظیم خواب نقش دارد. در طی بیدار بودن طولانی سطح آدنوزین خارج سلولی در

نتیجه فعالیت متابولیک مغز افزایش می یابد و این افزایش موجب خواب آلودگی می شود. در طی خواب سطح آدنوزین کاهش می یابد. کافئین توسط مسدود نمودن واکنش آدنوزین خارج سلولی با گیرنده اش موجب توسعه بیداری می شود.

نوکلئوتید ها:

نوکلئوتیدها از استری شدن نوکلئوزیدها با اسید فسفریک به دست می آیند. در این ترکیبات حداقل یکی از گروههای هیدروکسیل متعلق به پنتوز موجود در نوکلئوزید با فسفریک اسید استری می شود. در غالب موارد کربن شماره ۵ پنتوز است که در این پیوند استری شرکت کرده و در حقیقت نوکئوزید-´۵ فسفات و یا به طور کلی ´۵ – نوکلئوتید را تولید می کند. نوکلئوتیدهای حاوی ریبوز را ریبونوکلئوتید و نوکلئوتیدهای حاوی دزوکسی ریبوز را دزوکسی ریبونوکلئوتید می نامند.

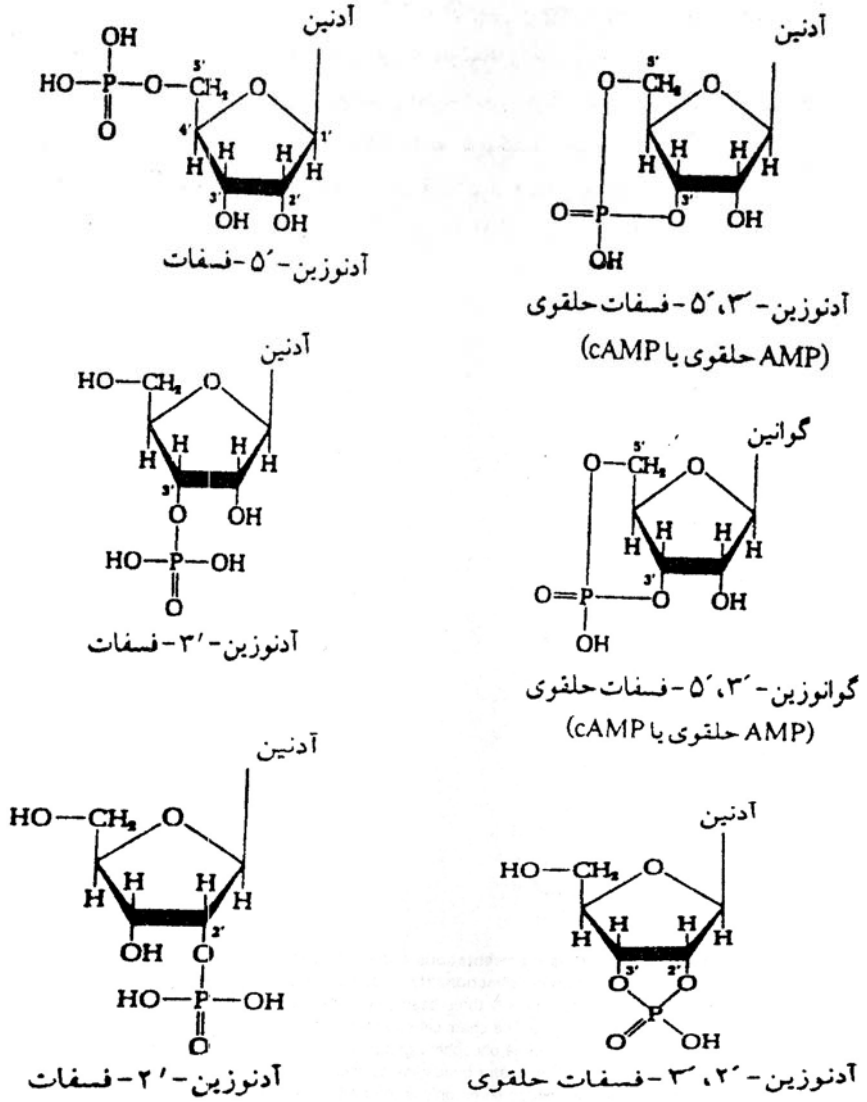
اگر گروه هیدروکسیل شماره ۵ آدنوزین با فسفریک اسید استری شود ریبونوکئوتیدی بنام آدنوزین -´۵ فسفات (AMP) یا آدنیلیک اسید بدست می آید که در PH طبیعی بدن (حدود ۷/۴) گروه فسفات آن غالباً بصورت یونیزه است. از ´۵- ریبونوکلئوتیدهای دیگر می توان گوانیلات (GMP) ، اوریدیلات (UMP) و سیتدیلات (CMP) را نام برد و از گروه دزوکسی ریبونوکئوتیدها نیز می توان دزوکسی آدنیلات (dAMP) ، دزوکسی گوانیلات (dGMP) و دزوکسی تیمیدیلات (dTMP) را ذکر کرد (جدول ۱ وشکل ۵).

نوکلئوتیدهای موجود در سلول نه تنها بصورت ´۵ مونوفسفات بلکه به شکلهای ´۵- دی و تری فسفات نیز یافت می شوند که در این صورت برای هر دو نوع نوکلئوتید سه شکل مختلف ´۵-مونوفسفات (NMP) ، ´۵-دی فسفات (NDP) و ´۵- تری فسیفات (NTP) خواهیم داشت. به همین ترتیب نوکلئوتید های دزوکسی را با علائم اختصاری dNMP و dNDP و dNTP نشان می دهند.

انواع دیگر نوکلئوتیدها:

علاوه بر نوکلئوزیدهای ´۵- فسفات، نوکلئوتیدهای دیگری هم یافت می شوند که گروه فسفات آنها به نقطه دیگری بجز کربن ´۵-قند پنج کربنی متصل است و در سلول نیز وظایف مهمی را به عهده دارند. از آن جمله می توان نوکلئوزیدهای ´۲،´۳-فسفات حلقوی و نوکلئوزیدهای ´۳-فسفات را که از مواد واسطه ای هیدرولیز انواع RNA می باشند نام برد. آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP) و گوانوزین مونوفسفات حلقوی نیز از نوکلئوتیدهایی هستند که در مکانیسم اثر هورمون نقشهای حساسی را به عهده دارند. این نوکلئوتیدهای حلقوی از نوکلئوتیدهای تری فسفات توسط آنزیم های سیکلاز مربوطه بدست می آیند(شکل ۶).

پلـــــــی



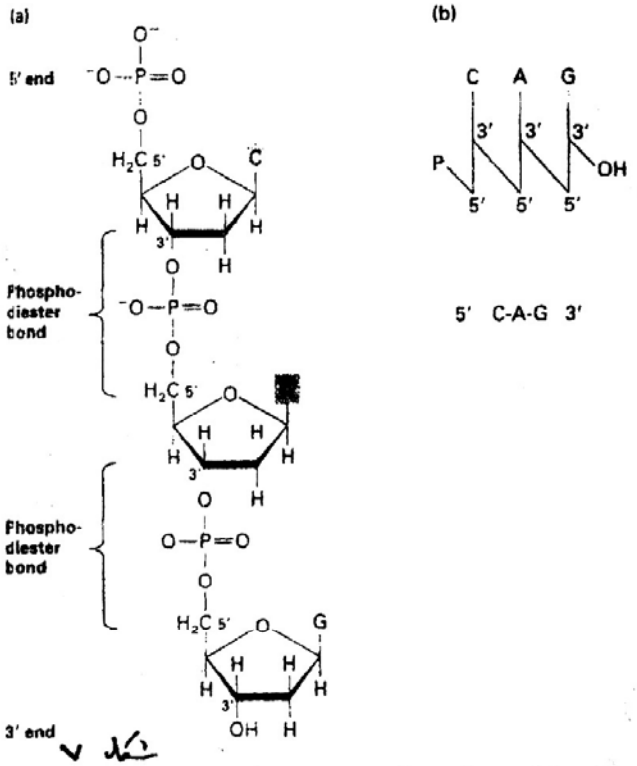
شکل ٦ : تعدادی از نوکلئوتیدهای حلقوی و غیرحلقوی مهم

نوکلئوتیدها:

اسیدهای نوکلئیک ، هم DNA وهم RNA، پلی نوکلئوتید می باشند، یعنی پلی مرهایی هستند که نوکلئوتیدها را به عنوان پلـی مـر تکرار شونده خود دارند. نوکلئوتیدهای متوالی هم در DNA و هم در RNA توسط گروه فسفات بطور کووالانتی بـه یکـدیگر اتـصال دارند بطوریکه گروه هیدروکسیل ۵′ یک واحد نوکلئوتید توسط پیوند فسفو دی استر متصل است به گروه هیدروکسیل نوکلئوتید بعـدی. بنابراین اسکلت کووالانتی اسیدهای نوکلئیک از باقی مانده های پنتوز و فسفات متناوب تشکیل شده است، و بازهای نیتروژن دار ممکن است بعنوان گروههای جانبی مورد توجه قرار گیرند که در فواصل منظم به اسکلت ساختمانی متصل شده اند.

اسکلت ساختمانی هر دو DNA و RNA آب دوست (Hydrophilic) هستند. گروههای هیدروکسیل قنـد بـا آب تـشکیل پیونـد هیدروژنی را می دهند. گروههای فسفات، با PKa نزدیک صفر در PH=7 کـاملاً یـونیزه شـده هـستند و دارای بـار منفـی هـستند ، وبارهای منفی عموماً توسط واکنش های یونی آنها با بارهای مثبت پروتئین ها ، فلزات یونی و پلی آمین ها خنثی شده اند.

تمام پیوندهای فسفو دی استر در طول زنجیر دارای جهت یکسان هستند، و به هر رشته خطی اسید نوکلئیک یک قطبیت ویژه داده می شود با انتهای ´۵و´۳ مشخص ، توسط تعریف انتهای ´۵ فاقد نوکلئوتید در وضعیت ´۵ است و انتهای ´۳ فاقد نوکلئوتید در وضعیت ´۳ است (شکل ۷).



Alternative representations of a nucleic acid strand illustrating its chemical directionality. Shown here is a single strand of DNA containing only three bases: cytosine (C), adenine (A), and guanine (G). (a) The chemical structure shows a hydroxyl group at the 3′ end and a phosphate group at the 5′ end. Note also that two phosphoester bonds link adjacent nucleotides; this two-bond linkage commonly is referred to as a *phosphodiester bond*. (b) In the "stick" diagram (*top*), the sugars are indicated as vertical lines and the phosphodiester bonds as slanting lines; the bases are denoted by their single-letter abbreviations. In the simplest representation (*bottom*), only the bases are indicated. By convention, a polynucleotide sequence is always written in the 5′→3′ direction (left to right) unless otherwise indicated.

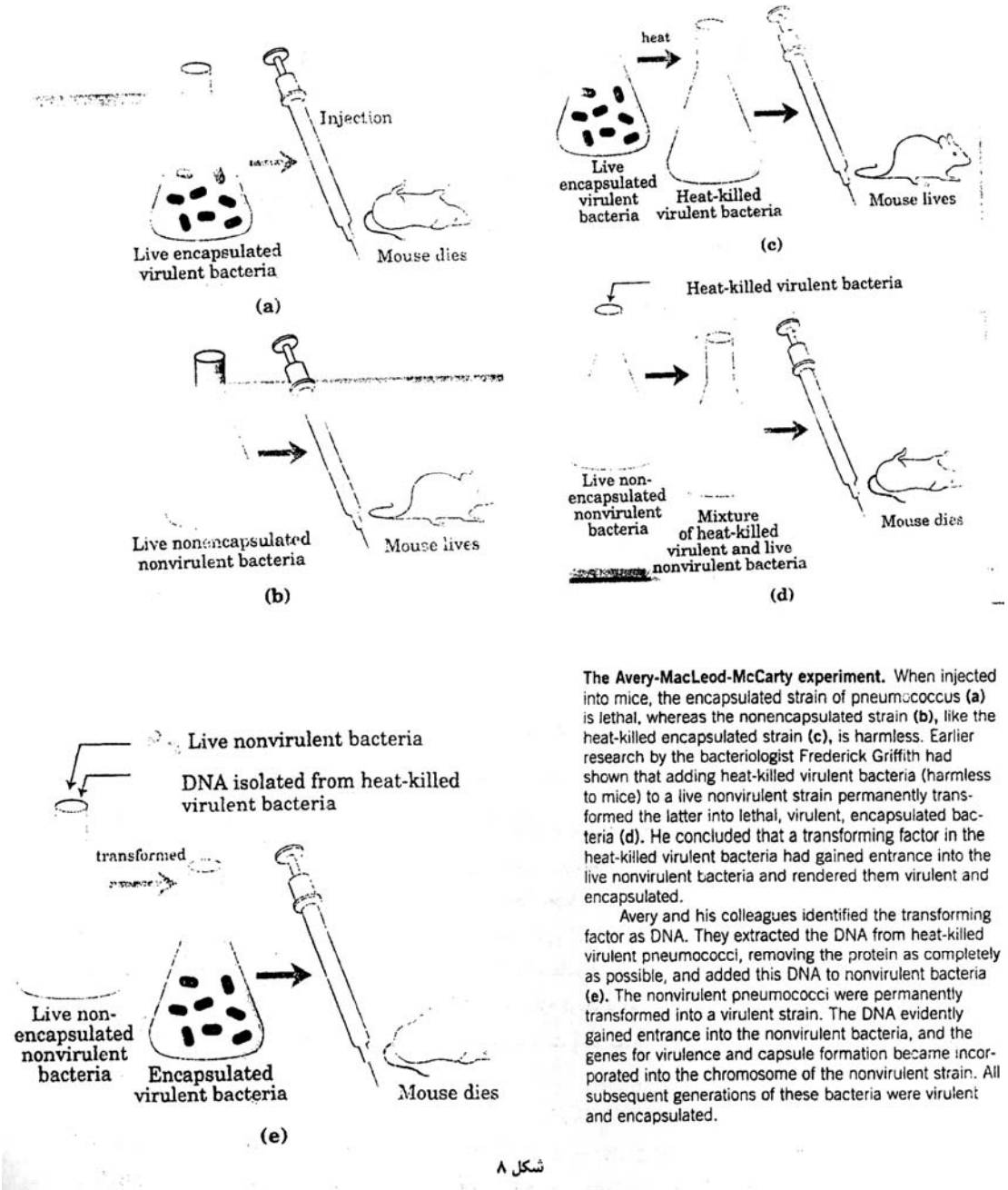
شکل ۷

انتهای ´۵ دارای گروه هیدروکسیل و یا فسفات است بر روی کربن ´۵ قند انتهائی و انتهای ´۳ معمولاً دارای گروه هیدروکسیل است بر روی کربن ´۳ قند انتهائی اش. این جهت دار بودن، بعلاوه این واقعیت که روند سنتز از جهت ´۵ به ´۳ است منجر به این قرار داد شد که ردیف نوکلئوتید ها از جهت ´۵ به ´۳ (´۵←´۳) یعنی از چپ به راست نوشته وخوانده شوند. برای مثال ردیف AUG فرض می شود که بصورت (5′)AUG(3′) است. اشکال اختصاری ساختمان پلی نوکلئوتیدها را می توان مانند شکل ۷ نشان داد. در این شکل حروف منفرد A،C و G نماینده بازهای منفرد است، خط های عمودی نشان دهنده زنجیر کربنی قند است، از ´۱-C در قسمت بالا و ´5-C در قسمت پائین. خطهای مایل معرف پیوند فسفو دی استر، از یک نوکلئوتید به ´۵ نوکلئوتید بعدی است. در مواردی که لازم است وضعیت اتصالی گروه فسفات به قند دانسته است. هنگامیکه P در طرف چپ نوکلئوزید قرار گیرد، فسفات به

وضعیت ´۵ استریفیه شده است و اگر در طرف راست نوکلئوزید قرار گیرد، فسفات بـه وضـعیت ´۳ اسـتریفیه شـده اسـت. بنـابراین PA آدنوزین ´۵–فسفات است و AP آدنوزین ´۳ فسفات می باشد.

ساختمان DNA:

تحقیقات DNA توسط میشر (Friedrich Miescher) در سال ۱۸۶۸ آغاز شد، او ماده ای فسفردار را از هسته سلول های چرک (لوکوسیت ها) و نیز اسپرم ماهی غزل آلا جدا نمود و آن را نوکلئین (Nuclein) نامید. او دریافت که نـوکلئین تـشکیل شـده اسـت از قسمت اسیدی که ما امروزه آن را بنام DNA می شناسیم وقسمت بازی که پروتئین است. میشر و دیگران گمـان بردنـد کـه نـوکلئین (اسید نوکلئیک) بطریقی در ارتباط است با توارث سلول. اما اولین دلیل مستقیم که DNA حامل اطلاعات ارثـی اسـت در سـال ۱۹۴۴ توسط اِوری و مک کارتی (O.T-Avery,M.McCarty) فراهم شد. آنها دریافتند که DNA استخراج شـده از گونـه پنوموکـک بیماری زا بطور ژنتیکی گونه غیر بیماری زا را تغییر شکل می دهد (شکل۸).



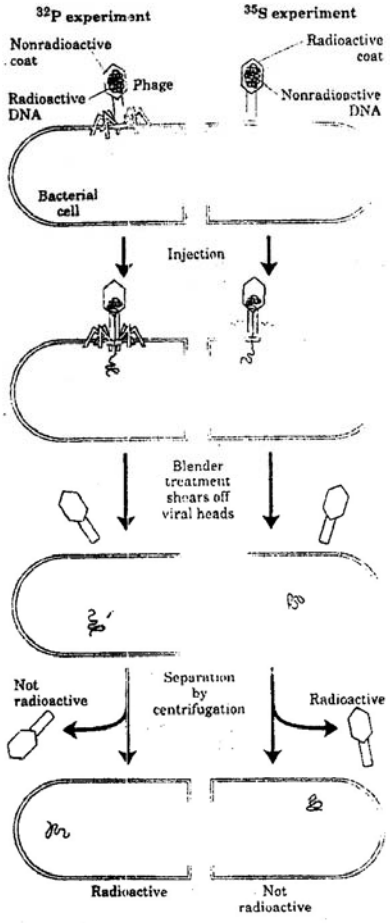
The Avery-MacLeod-McCarty experiment. When injected into mice, the encapsulated strain of pneumococcus **(a)** is lethal, whereas the nonencapsulated strain **(b)**, like the heat-killed encapsulated strain **(c)**, is harmless. Earlier research by the bacteriologist Frederick Griffith had shown that adding heat-killed virulent bacteria (harmless to mice) to a live nonvirulent strain permanently transformed the latter into lethal, virulent, encapsulated bacteria **(d)**. He concluded that a transforming factor in the heat-killed virulent bacteria had gained entrance into the live nonvirulent bacteria and rendered them virulent and encapsulated.

Avery and his colleagues identified the transforming factor as DNA. They extracted the DNA from heat-killed virulent pneumococci, removing the protein as completely as possible, and added this DNA to nonvirulent bacteria **(e)**. The nonvirulent pneumococci were permanently transformed into a virulent strain. The DNA evidently gained entrance into the nonvirulent bacteria, and the genes for virulence and capsule formation became incorporated into the chromosome of the nonvirulent strain. All subsequent generations of these bacteria were virulent and encapsulated.

شکل ۸

اِوری و همکارانش نتیجه گرفتندکه DNA استخراج شده از گونه بیماری زا حاوی پیام ژنتیکی قابل توارث است برای بیماری (شکل ۸) دلیل مستقل دیگری نیز در سال ۱۹۵۲ توسط هرشی (A-D.Hersky) و همکارانش فراهم شد. آنها مواد نشاندار رادیواکتیو فسفر (^{32}P) و گوگرد (^{35}S) را بکار بردند و نشان دادن که هنگامیکه ویروس های باکتری (باکتریوفاز) T_4 میزبان خود E.Coli را آلوده می نماید، DNA حاوی فسفر ویروس است که وارد سلول میزبان می شود و اطلاعات ارثی را جهت همانند سازی ویروس فراهم می نماید و نه پروتئین حاوی گوگرد پوشش ویروس (شکل ۹).

چارگاف (Erwin Chargaff) نیز در سال ۱۹۵۰ با مطالعه بر روی گونه های مختلف و تعیین ترکیب بازی موجود در DNA آنها دریافت که ترکیب بازی DNA از یک گونه به گونه دیگر تغییر نمی نماید، ترکیب بازی در یک گونه معین با سن، تغذیه و تغییر محیط تغییر نمی نماید، و نیز نمونه های DNA استخراج شده از بافت های مختلف یک گونه دارای ترکیب بازی یکسان هستند و بالاخره در DNA تمام گونه ها نسبت آدنین به تیمین و نیز نسبت گوانین به سیتوزین برابر با یک است.



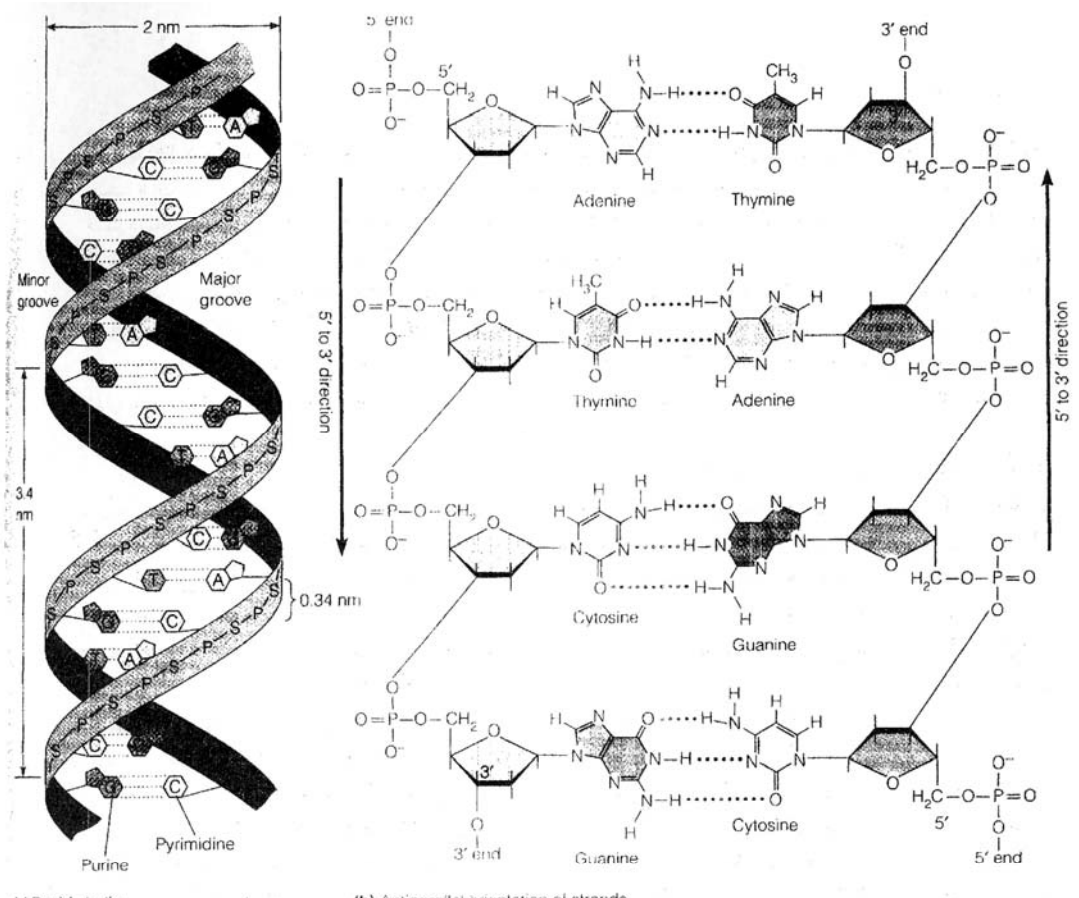
The Hershey-Chase experiment. Two batches of isotopically labeled bacteriophage T2 particles were prepared. One was labeled with ^{32}P in the phosphate groups of the DNA, the other with ^{35}S in the sulfur-containing amino acids of the protein coats (capsids). (Note that DNA contains no sulfur and viral protein contains no phosphorus.) The two batches of labeled phage were then allowed to infect separate suspensions of unlabeled bacteria. Each suspension of phage-infected cells was agitated in a blender to shear the viral capsids from the bacteria. The bacteria and empty viral coats (called ghosts) were then separated by centrifugation. The cells infected with the ^{32}P-labeled phage were found to contain ^{32}P, indicating that the labeled viral DNA had entered the cells; the viral ghosts contained no radioactivity. The cells infected with ^{35}S-labeled phage were found to have no radioactivity after blender treatment, but the viral ghosts contained ^{35}S. Progeny virus particles (not shown) were produced in both batches of bacteria some time after the viral coats were removed, indicating that the genetic message for their replication had been introduced by viral DNA, not by viral protein.

شکل ۹

فرانکلین و ویلکینس (R.Frankin,M.Wilkins) با استفاده از روش پراش پرتوایکس اطلاعات بیشتری را در مورد ساختمان DNA بدست آورند. این دانشمندان بر اساس تجربیات انجام یافته دریافتند که مولکول DNA بصورت مارپیچ است و قطر این مارپیچ ۲ نانومتر می باشد. فاصله هر باز از باز مجاور برابر با ۰/۳۴ نانومتر است و هر دور مارپیچ در مولکول DNA برابر ۳/۴ نانومتر است که خود موید وجود ۱۰ نوکلئوتید در هر دور می باشد.

در سال ۱۹۵۳ واتسن (Watson) و کریک (Crick) مدلی برای ساختمان سه بعدی DNA طرح ریزی نمودند. مبتنی بر این مدل مارپیچ DNA از دو رشته پلی نوکلئوتید تشکیل شده است. دو رشته مارپیچ دوتائی حول یک محور پیچ خورده و تشکیل مارپیچ دوتائی راست گردان را می دهند. آرایش دو زنجیری خلاف جهت یکدیگر یعنی جهت یکی از زنجیرها از ´۵ به ´۳ (´۳→´۵) و جهت

زنجیر دوم از ´۳ به ´۵ (´۵→´۳)است. اسکلت آب دوست گروههای متناوب دزوکسی ریبوز و فسفات در خارج مارپیچ دوتائی قرار داشته و مواجه هستند با آب محیط. بازهای پورین و پیریمیدین هر دو رشته در داخل مارپیچ دوتائی بر روی هم انباشته شده اند، با ساختمان هیدروفوبیکی و نسبتاً مسطح که خیلی نزدیک بهم بوده و عمود بر محور طولی هستند. بازهای دو زنجیر متفاوت DNA به نحوی نسبت به یکدیگر قرار دارند که A توسط دو پیوند هیدروژنی به T و G با سه پیوند هیدروژنی به C اتصال دارند. در هر یک از دو زنجیر DNA فاصله هر باز با باز دیگر ۰/۳۴ نانومتر است و مارپیچ به فاصله هر ۳/۴ نانومتر یک دور کامل را طی می نماید. به عبارت دیگر در هر دور مارپیچ تعداد ۱۰ عدد بازیافت می شود. در واقع ساختار DNA را می توان به نردبانی تشبیه کرد که حول یک محور فرضی در گردش می باشد (شکل ۱۰). پله های این نردبان را بازهای مکمل پورین و پیریمیدین تشکیل می دهند. گردش زنجیر دوگانه در حول محور فرضی موجب پیدایش دو شیار با اندازه های متفاوت در قسمت خارجی مارپیچ می شود. شیار بزرگ را اصطلاحاً شیار اصلی و شیار کوچک را به نام شیار فرعی نامگذاری می کنند.



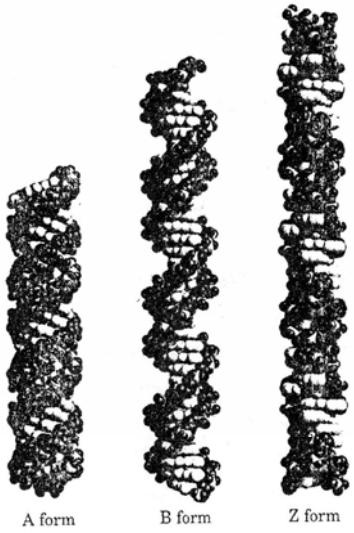
The DNA Double Helix. **(a)** This schematic illustration shows the sugar-phosphate chains of the DNA backbone, the complementary base pairs, the major and minor grooves, and several important dimensions. A = adenine, G = guanine, C = cytosine, T = thymine, P = phosphate, and S = sugar (deoxyribose).

(b) One of the strands of a DNA duplex (untwisted helix) is oriented 5′ → 3′ in one direction, whereas its complement has a 5′ → 3′ orientation in the opposite direction. This diagram also shows the hydrogen bonds that connect the bases in AT and GC pairs.

پروتئین های متصل شونده به DNA می توانند ردیف های بازی موجود در DNA دوتائی را خوانده و به هر یک از شیارهای اصلی یا فرعی متصل شوند ، امروزه این نوع DNA به B-DNA معروف است. در محلول آبی ساختمان آن کمی متفاوت است از فیبر، و دارای 10.5 جفت باز است در هر مارپیچ ، عواملی که موجب پایداری ساختمان DNA می شود عبارتند از پیوندهای هیدروژنی بین بازهای مکمل AوT و نیز بین GوC و نیز واکنش بین بازهای انباشته شده (base- stacking) که واکنش با توجه به ماهیت بازها غیراختصاصی است اما مشارکت عمده ای در پایداری مارپیچ دوتائی دارد. انترکنش بین بازهای انباشته شده از نوع وندرل والس و

هیدروفوبیکی می باشد. مطالعات انجام شده به روش پراش پرتو ایکس نشان داده شده است که آب زدائی B-DNA سبب پیدایش فرم جدیدی از DNA می شود که آنرا A-DNA می نامند. مولکول A-DNA همانند B-DNA یک مارپیچ راست گرد است و دو رشته آن نسبت به یکدیگر نا همسو بوده و بوسیله بازهای مکمل به یکدیگر متصل هستند. مولکول A-DNA در مقایسه با B-DNA پهنتر و کوتاهتر است و به علاوه موقعیت بازهای مکمل در آن با فرم طبیعی متفاوت بوده و نسبت به محور اصلی به صورت متمایل قرار دارند.

الکساندریچ و همکاران او به هنگام مطالعه توالی CGCGCG به نوع دیگری از DNA برخورد کردند که از لحاظ ساختاری با دو شکل یاد شده A وB کاملاً متفاوت بود. این دانشمندان مشاهده کردند که دو رشته هگزانوکلئوتید فوق تشکیل مارپیچ دو گانه ای را می دهند. که اولاً چپگرد بوده و ثانیاً گروههای فسفات که ستون فقرات مولکول دو رشته ای DNA را تشکیل می دهند به صورت خطوط شکسته و یا زیگزاگ در می آیند. به همین دلیل این نوع DNA را اصطلاحاً Z-DNA نامگذاری کرده اند. Z-DNA باریکتر و بلندتر از B-DNA می باشد. وقوع A-DNA در سلول نامعلوم است، اما دلایلی برای امتداد کوتاعی از Z-DNA هم در پروکاریوتها هم در اوکاریوتها وجود دارد. Z-DNA ممکن است نقشی تنظیمی در بیان بعضی از ژنها داشته باشد. بعضی از ویژگیهای ساختمانی A-DNA، B-DNA و Z-DNA در شکل (۱۱) آمده است.



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

۱۱

Comparison of A, B, and Z forms of DNA. Each structure shown here has 36 base pairs.The bases are shown in white, the phosphate atoms in yellow, and the riboses and phosphate oxygens in blue. Blue is the standard color used to represent DNA strands in later chapters. The table summarizes some properties of the three forms of DNA.

هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک به وسیله اسیدها و بازها:

هیدرولیز ملایم DNA در PH=3 سبب آزاد شدن تمام بازهای پورین می شود بدون اینکه روی بازهای پیریمیدین یا پیوندهای فسفو دی استر اثری داشته باشد. DNA حاصل از این هیدرولیز که فاقد بازهای پورین است آپوریینیک اسید (Apurinic acid) نامیده می شود. مولکول DNA توسط بازهای رقیق هیدرولیز نمی شود ولی RNA به علت داشتن گروه ´۲–هیدروکسیل، در محلول سود رقیق هیدرولیز می شود و در نتیجه این عمل مخلوطی از نوکلئوزیدهای ´۲و´۳ فسفات بوجود می آید. نوکلئوزید حلقوی ´۲و´۳ مونوفسفات اولین محصول هیدرولیز RNA با سود رقیق است که در نتیجه هیدرولیز مجدد این جسم، مخلوطی از نوکلئوزیدهای ´۲–فسفات و´۳– فسفات تولید می شود.

هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک توسط آنزیم ها (نوکلئازها):

در روده حیوانات نوکلئیک اسیدها تحت تأثیر گروهی از آنزیم ها که نوکلئازها نامیده می شوند بطور کامل هیدرولیز می شوند. در حقیقت این آنزیم ها، پیوندهای فسفو دی استر را در مولکولهای DNA (دزوکسی ریبونوکلئازها) و RNA (ریبوکلئازها) مورد حمله قرار می

دهند. آنزیمی را که سبب هیدرولیز اولین یا آخرین نوکلئوتید موجود در یک رشته پلی نوکلئوتیدی می شود اگزونوکلئاز مـی نامنـد. ایـن گروه از آنزیم ها قادرند که واحدهای نوکلئوتیدی را از جهت ´۵→´۳ یا برعکس ´۳→´۵ بطور تک تک از رشته اصلی جداکنند. گـروه دیگری از آنزیم ها اصطلاحاً اندونوکلئاز نامیده می شوند قادرند که پیوندهای موجود بین دو نوکلئوتید میـانی رشـته پلـی نوکلئوتیـدی را هیدرولیز کنند. این آنزیم ها می توانند پیوند بین P و کربن ´۳(نوع a گفته می شود) و یا پیوند P و کربن ´۵ (نوع b گفته می شود) را هیدرولیز کنند.

طی سـالهای اخیـر انـواعی از انـدونوکلئازها را از باکتریهـا جـدا و شناسـائی کـرده انـد کـه اصـطلاحاً انـدونوکلئازهای محـدود کننـده (Restriction endonucleases) نامیده می شوند. این گروه از آنزیم ها قادرند کـه اتـصال فـسفو دی اسـتر موجـود در زنجیـر مولکول DNA را که دارای توالی ویژه ای می باشد در محل خاصی هیدرولیز کنند. نام این آنزیم هـا از آنجـا مـشتق شـده اسـت کـه تعدادی از باکتریها قادرند از رشد و تکثیر ویروسهای خاص در پیکر خود با از بین بردن ژنوم ویروس ممانعت به عمل آورنـد. بـر همـین اساس این گونه باکتریها را میزبان محدود کننده می نامند. توالی ویژه تعدادی از آندونوکلئازهای محدود کننـده در جـدول ۲ نـشان داده شده است. به طوری که ملاحظه می شود در تمامی این توالیهای ویژه یک حالت تقارن دو جانبه وجود دارد.. تقـارن خـاص بـه نحـوی است که ردیف نوکلئوتیدها از هر سمتی در رشته مکمل قرائت گردد یکسان می باشد. در زبان انگلیسی برای این گونه تقـارن اصـطلاح پالیندروم (Palindrome) را به کار می برند و بدان معنی است که هر طرف که قرائت شود تفاوتی ندارد. از انـدونوکلئازهای محـدود کننده امروزه در زمینه تحقیقات علوم پزشکی و ژنتیک مولکولی استفاده می کنند.

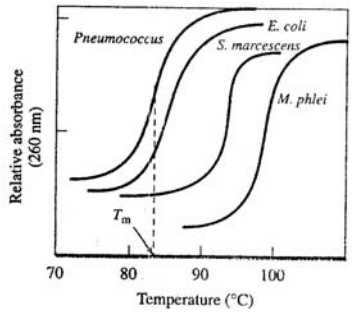
تقلیب DNA:

براساس تعریف، شکستن پیوندهای هیدروژنی بین بازهای مکمل و در نتیجه جدا شدن دو رشـته DNA از یکـدیگر را تقلیـب DNA می نامند. در شرایط فیزیولوژیک ، رشته های مارپیچ DNA تا حدودی مقاوم اند لکن عواملی مانند دماهای بالا و تغییرات شـدید PH محیط (۱۰>PH>۳) می توانند سبب تقلیب مولکول DNA شوند. نظر به اینکـه جـدا شـدن دو رشـته DNA از یکـدیگر در دمـای خاصی صورت می پذیرد این عمل را ذوب شدن DNA نیز می نامند. براسـاس تعریـف درجـه ذوب DNA(t_m) بـه دمـایی اطـلاق می شود که در آن دما نصف مارپیچ دوگانه از بین برود. هر نمونه از DNA دارای نقطه ذوب tm معینی است هر چـه مقـدار G ≡ C بیشتر باشد، نقطه ذوب DNA بالاتر است. چون جفت باز G ≡ C با سه پیوند هیدروژنی نیاز بیشتری به حرارت دارد جهت جدا شـدن زنجیرها از یکدیگر تا جفت باز A ≡ T .تعیین دقیق نقطه ذوب یـک نمونـه DNA، تحـت شـرایط PH و قـدرت یـونی مـی توانـد تخمینی از ترکیب بازی موجود در DNA بدست دهد. تک رشته های DNA حاصل از عمل تقلیب شدیداً پایدار بوده و کاهش دمـای محیط قادر به اتصال مجدد دو رشته به یکدیگر نیست. لازم به تذکر است که در شرایط خاصی دو رشته مکمـل مـی تواننـد مجـدداً بـه یکدیگر جفت شده و به صورت اولیه درآیند. امروزه با استفاده از میزان جذب نور فرابنفش (طول موج ۲۶۰ نانومتر) نقطـه ذوب DNA را اندازه گیری می کنند. تک رشته های DNA در مقایسه با DNA دو رشته ای دارای قدرت جذب بیشتری هـستند. ایـن افـزایش جذب نور فرابنفش را اثر هیپرکرومیک می نامند. در صورتی که به طور همزمان با افزایش دما، میزان جذب نور فـرابنفش انـدازه گیـری شود می توان منحنی ای را رسم کرد که با استفاده از آن مقدار t_m محاسبه می شود (اشکال ۱۲و ۱۳).

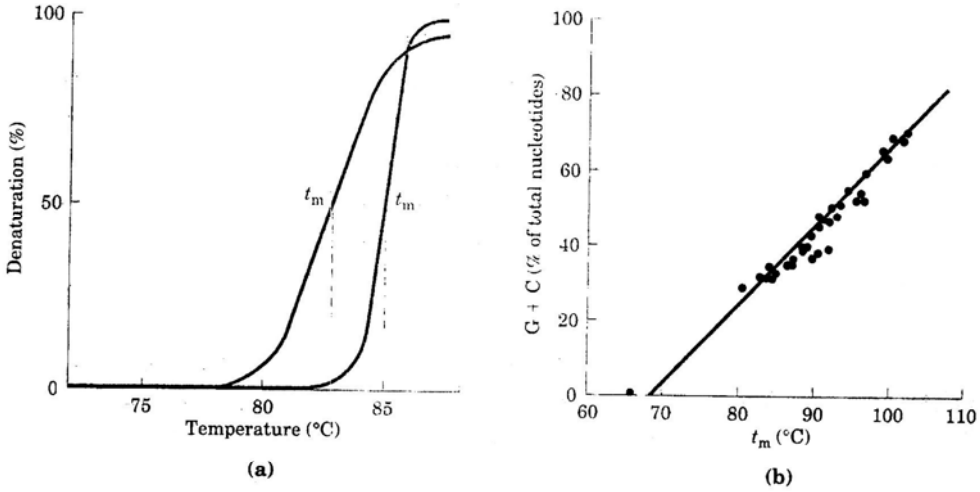
Properties of nucleases

Enzyme	Substrate	Type	Specificity
Standard Nucleases			
Rattlesnake venom phosphodiesterase	DNA, RNA	exo (a)	Begins at 3′ end; no base specificity
Spleen phosphodiesterase	DNA, RNA	exo (b)	Begins at 5′ end; no base specificity
Pancreatic ribonuclease A	RNA	endo (b)	Preference of pyrimidine on 3′ side
Spleen deoxyribonuclease II	DNA	endo (b)	Internal ester bonds; no base specificity
Restriction Endonucleases			
*Eco*RI	DNA	endo (a)	5′ GAATTC[a]
*Bal*I	DNA	endo (a)	5′ TGGCCA
*Taq*I	DNA	endo (a)	5′ TCGA
*Hinf*I	DNA	endo (a)	5′ GANTC

[a]The recognition sequence for each restriction endonuclease is shown with a red arrow denoting the actual site of cleavage.



Melting curves for DNA molecules from four microorganisms. These are obtained by heating DNA solutions and measuring the absorbance changes at 260 nm. When DNA is denatured, more light is absorbed. The actual melting temperature (T_m) is measured at the midpoint for each curve. T_m for *Pneumococcus* is about 83°C.

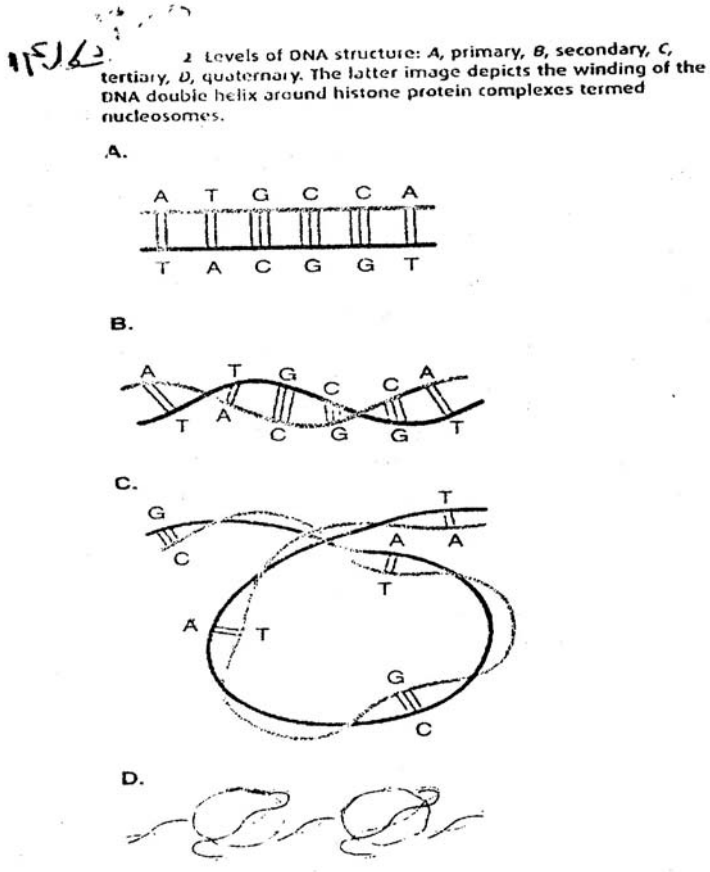


Heat denaturation of DNA. (a) The denaturation or melting curves of two DNA specimens. The temperature at the midpoint of the transition (t_m) is the melting point; it depends on pH and ionic strength and on the size and base composition of the DNA. **(b)** Relationship between t_m and the G≡C content of a DNA.

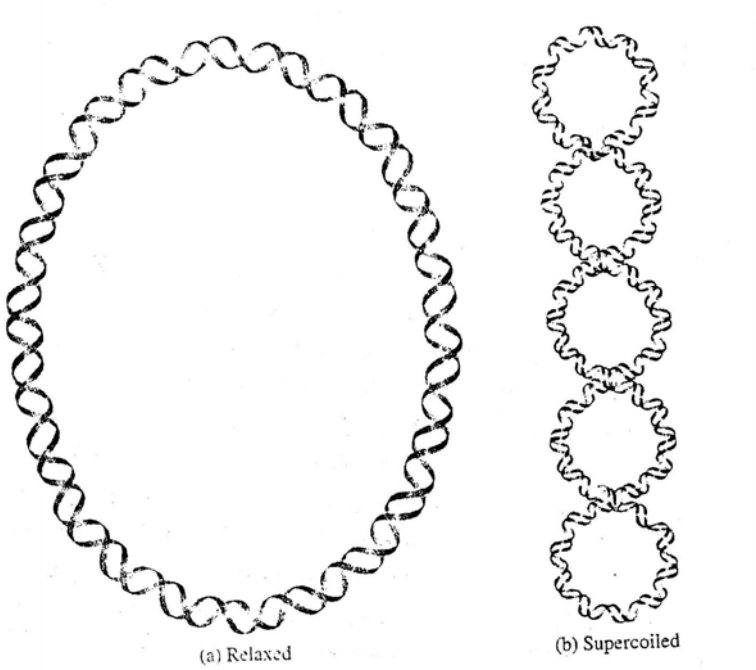
ساختمان های اول، دوم،سوم و چهارم DNA و ابر پیچ ها:

ساختمان اول DNA مربوط است به ردیف خطی نوکلئوتیدها، ساختمان دوم در ارتباط است با شکل ساختمان بهم تاب خورده شده مارپیچ دو تائی ، ساختمان سوم مربوط است به ترتیب سه بعدی مارپیچ دوتائی در عدم حضور پروتئین های متصل شونده (شکل ۱۴) و چگونگی ایجاد تاب ها ومارپیچ هائی است که در مارپیچ دو رشته ای ایجاد می شود و ساختمان ابرپیچ (Supercoil) را ایجاد می نماید و بالاخره ساختمان چهارم مربوط است به شکل تاخورده کمپلکس DNA– پروتئین است.

هنگامیکه DNA حول محور عمودی خود بر روی خودش پیچ و تاب بخورد ابرپیچ (Superhelix) و یا ابرفنر (Supercoils) ایجاد می شود (شکل ۱۵) ابرپیچ اولین بار در DNA ویروس های حاوی ملکول DNA حلقوی و نیز در باکتریها، میتوکندری و کلروپلاست تعیین هویت شد. جهت فهمیدن پایه این نظر می توان تمرین زیر را انجام داد.اگر با یک طناب بلند شروع نمود که از دو رشته بهم تاب خورده شده در جهت راست گرد تشکیل شده باشد، معادل حالت آرمیده یا راحت (Relaxed) ملکول خطی DNA است. اگر دو انتهای طناب بهم متصل شود چیزی تغییر نمی نماید و طناب اکنون حالت حلقوی دارد و هنوز در حالت آرمیده است. اما اگر قبل از اتصال دو انتها بیکدیگر یک پیچ راست گردان اضافی به طناب وارد شود (پیچ دیگر در همان جهت که قبلاً زنجیرها بهم تاب خورده اند)، طناب پرپیچ خواهد شد و شکل ابر پیچ مثبت (Positive supercoil) بخود خواهد گرفت. برعکس اگر قبل از اتصال دو انتها پیچ DNA باز شود و یک پیچ چپ گرد بآن وارد شود(پیچ داده شود در جهت مخالفی که تاب خورده است) کم پیچ خواهد شد و ایجاد ابر پیچ منفی (Negative Supercoil) خواهد نمود.



2 Levels of DNA structure: A, primary, B, secondary, C, tertiary, D, quaternary. The latter image depicts the winding of the DNA double helix around histone protein complexes termed nucleosomes.



شکل ۱۵

Tertiary forms of DNA: (a) relaxed and (b) supercoiled. The supercoiled form is less stable than the relaxed form. Enzymes, called topoisomerases, which catalyze interconversion of relaxed and supercoiled DNA, are present in the cell.

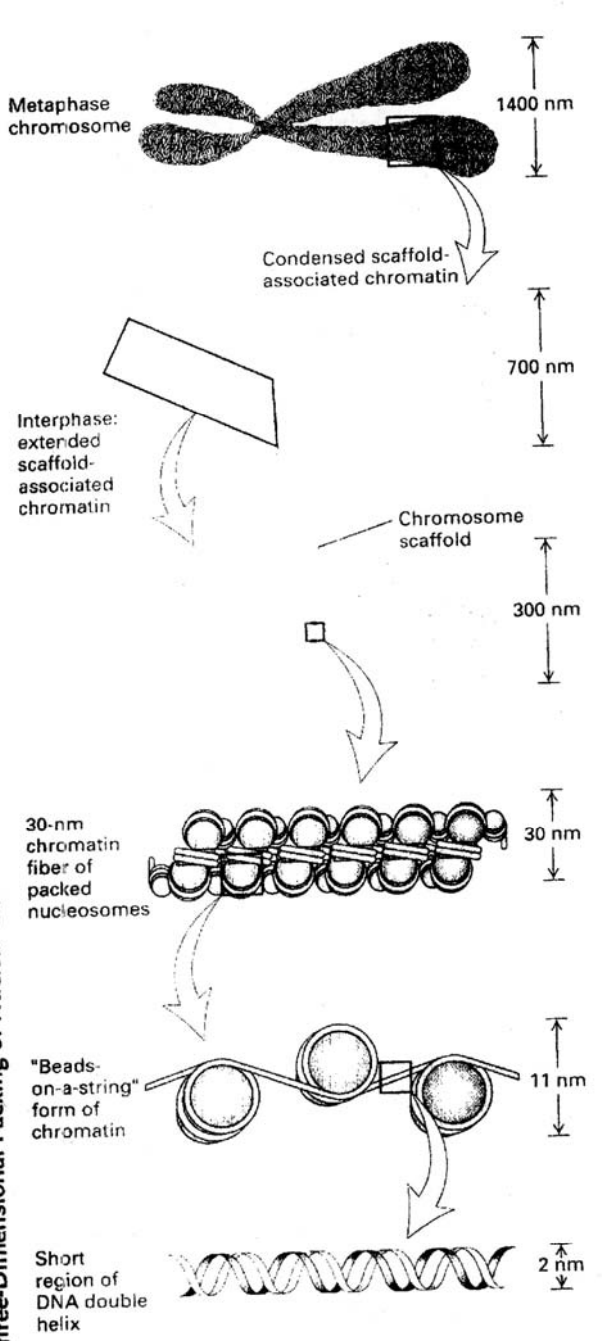
ملکول های حلقوی DNA که در طبیعت یافت می شوند، منجمله باکتریها، ویروس ها و DNA اندامک های اوکاریوتها بحالت ابرپیچ منفی هستند. ابرپیچ همچنین روی می دهد در ملکول DNA خطی که بطور آزادی نمی تواند چرخش نماید و در اتصال است با بعضی از عناصر ساختمانی سلول، ابرپیچ ها اثر دارند بر روی استعداد ملکول DNA که واکنش می نماید با ملکول های دیگر. ابرپیچ مثبت مطلوب است جهت تاب خوردن محکم مارپیچ دوتائی و بنابراین فرصت انترکنش را کاهش می دهد ، در مقابل ابرپیچ منفی تمایل دارد که مارپیچ دوتائی را باز نماید و بدینوسیله افزایش می دهد دست یابی رشته ها را به پروتئین هائی که در روندهای همانند سازی و رونویسی دخیل هستند. تبدیل حالت های ابرپیچ و آرمیده بیکدیگر توسط آنزیم هائی کاتالیز می شود که توپوایزومرازها نامیده می شوند. بیشتر توپوایزومرازها را بدو گروه IوII تقسیم بندی نموده اند. توپوایزومراز I موجب آرمیده شدن یک پیچ در هر زمان می شود و توپوایزومراز II موجب آرمیده شدن دو پیچ در هر زمان میشود. توپوایزومراز I در E.Coil موجب آرمیده شدن و برداشت ابرپیچ منفی می شد و واکنش نیاز به انرژی ندارد. اما توپوایزومراز II د رE.coil(DNA gyrase) می تواند موجب آرمیده شدن و برداشت ابرپیچ مثبتی شود که در نتیجه باز شدن دو رشته از هم ایجاد شده است و یا می تواند بطور فعالی ابرپیچ منفی را ایجاد نماید که جدا شدن زنجیرها را تسهیل می نماید. این آنزیم جهت ایجاد ابرپیچ نیاز به ATP دارد. آنزیم توپوایزومراز II هدف داروها قرار می گیرد و Nalidixic acid میتواند فعالیت آنزیم را منع نماید.

بسته بندی شدن ملکول DNA بداخل کروموزوم:

انسان دارای ۴۶ کروموزم است (۲۳ جفت)، بطور متوسط هر کروموزوم انسانی حاوی 1.3×10^8 جفت باز (bp) از DNA است.اگر DNA در کروموزوم انسان کشیده شود بحد کافی بدون شکسته شدن دارای طولی حدود ۵ سانتیمتر خواهد داشت و بنابراین ۴۶ کروموزوم نماینده حدود ۲متر از DNA است.هسته که باید حاوی این DNA باشد فقط دارای حدود 10μmقطر دارد، بنابراین مقدار زیادی از DNA بداخل فضای کوچکی بسته بندی شود. مارپیچ دوتائی DNA با طول ۲m ابتدا متصل به پروتئین هائی می شود به

نام هیستون . هیستونها دارای باری مثبت بوده و دارای اسیدهای آمینه لیزین و ارژی نین فراوان هستند و بطور محکمی متصل به بارهای منفی فسفات DNA می شوند. ۱۴۶ جفت باز از DNA اطراف کمپلکس پروتئینهای هیستونی را می گیرد، کمپلکس پروتئینی تشکیل شده است از ۲ مولکول از هر چهار نوع هیستون متفاوت H2A،H2B،H3 و H4 برای تشکیل نوکلئوزوم (nucleosome) . چون هر نوکلئوزوم توسط ۵۰ جفت باز DNA رابط از همسایه خود جداشده است کروماتین باز شده هنگامیکه توسط میکروسکوپ الکترونی مشاهده می شود شبیه دانه هائی است که بر روی نخ قرار دارند. نوکلئوزوم ها تحت بسته بندی بیشتر قرار می گیرند. نوع پنجم هیستونی یعنی H1 متصل به DNA رابط می شود و نوکلئوزومها را بطرف هم می کشد و کمک می نماید به بیشتر پیچ خوردن DNA بداخل رشته کروماتین با ۳۰ نانومتر قطر. رشته ها سپس سازماندهی می شوند بداخل حلقه های اتصال یافته به مصالح هسته ای که حاوی چندین پروتئین هستند و در نتیجه ساختمان ۳۰۰ نانومتری بدست می آید. دلایل اضافی جهت سازماندهی بیشترکه منجر به تشکیل ساختمان کروموزم می شود وجود دارد(شکل ۱۶).

Focus Animation: Three-Dimensional Packing of Nuclear Chromosomes



Model for the packing of chromatin and the chromosome scaffold in metaphase chromosomes. In interphase chromosomes, long stretches of 30-nm chromatin loop out from extended scaffolds. In metaphase chromosomes, the scaffold is folded further into a highly compacted structure, whose precise geometry has not been determined.

ساختار RNA:

ریبونوکلئیک اسید (RNA) از نقطه نظر رشد و اعمال سلولی به اندازه DNA حائز اهمیت است. برای مثال، RNA مسئول دریافت و انتقال اطلاعات ذخیره شده در DNA جهت عمل پروتئین سازی است. همچنین در مواردی مولکول RNA می تواند خود حاوی اطلاعات ژنتیکی نیز باشد (ویروس موزائیک تنباکو). از نقطه نظر شیمیائی RNA بسیار شبیه به DNA است با این تفاوت که به جای قند دزوکسی ریبوز حاوی قند ریبوز و به جای باز تیمین دارای باز اوراسیل است. از جمله تفاوتهای عمده DNA و RNA توپولوژی مولکولی آنها است بدین معنی که RNA غالب بصورت تک رشته ای است در حالی که DNA اکثراً به شکل دو رشته ای یافت می شود. لازم به یاد آوری است که در بعضی از موارد، تک رشته RNA با تا خوردگی روی خود ایجاد RNA دو رشته ای را می کند بی شباهت به DNA دو رشته ای نیست. هر چند که زنجیر دو رشته ای RNA تشکیل یک مارپیچ راستگرد را می دهد ولی جزئیات ساختار مولکولی آن از B-DNA متفاوت است. جائیکه ردیف های مکمل وجود دارند ساختمان رشته ای دوتائی بطور غالب شکل A از مارپیچ دوتائی راستگرد است. شکل B برای RNA مشاهده نشده است. RNA می تواند ایجاد جفت باز نماید با نواحی مکمل یا RNA و یا DNA . طرح جفت باز مانند DNA است. C با C جفت می شود و A با U (و یا گاهی T در بعضی از RNA ها).

در باکتریها بیشترین مقدار RNA در سیتوپلاسم سلول یافت می شود. در سلول های هسته دار یا اوکاریوت، RNA به اشکال مختلف و به طور منتشر در محیط داخلی سلول وجود دارد. مثلاً در سلول های کبدی تقریباً ۱۱٪ RNA در هسته، ۵٪ در میتوکندری، بیش از ۵۰٪ در ریبوزومها و بالاخره ۲۴٪ باقیمانده را در سیتوزول یا بخش محلول سیتوپلاسم می توان یافت. در تمام پروکاریوتها و اوکاریوتها سه نوع متفاوت RNA یافت می شود.RNA پیک (mRNA)، RNA ناقل (tRNA) و RNA ریبوزومی (rRNA).

RNA پیک یا mRNA:

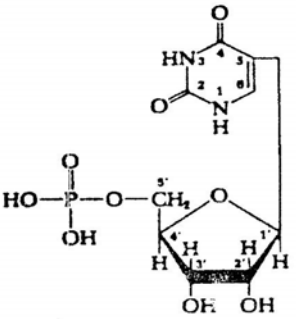
این نوع RNA محتوی چهار باز اصلی آدنین، گوانین، سیتوزین و اوراسیل است و در هسته سلول توسط یک سری واکنش های آنزیمی که اصطلاحاً رونویسی نامیده می شود با استفاده از DNA کروموزومی به عنوان الگو ساخته می شود. این نوع RNA به نام mRNA شناخته شده که بازهای موجود در آن مکمل بازهای قسمتی از یک رشته مارپیچ دوگانه DNA یا DNA الگو هستند. پس از ساخته شدن از هسته خارج و وارد سیتوپلاسم می شود و سپس به منظور زیست سنتز پروتئین ها به ریبوزومها منتقل می گردد. در سلول های اوکایوت هر mRNA ، ناقل اطلاعات لازم برای زیست سنتز یک زنجیر پلی پپتیدی است و لذا این mRNA را مونوسیترونیک می نامند. در سلولهای پروکاریوت هر mRNA قادر به انتقال اطلاعات لازم برای زیست سنتز بیش از یک نوع پلی پپتید بوده و لذا به نام پلی سیترونیک نامیده می شوند.

اطلاعاتی ارثی یا رمزهای ژنتیکی در پیکره mRNA از ردیف بازهای DNA الگو برداری شده و هر سه باز مجاور در مولکول mRNA را که نشانه و یا معرف یک آمینواسید خاص می باشد اصطلاحاً کدون می نامند.

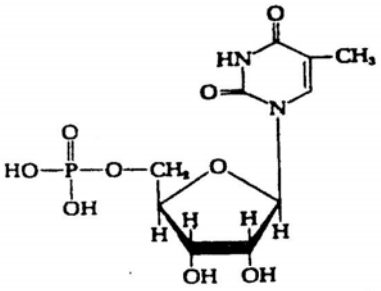
انتهای ´۵ ملکول mRNA در اوکاریوتها توسط 7–متیل گوانوزین تری فسفات پوشانده می شود. پوشش مزبور در شناسائی mRNA توسط ماشین ترجمه سلول نقش دارد و با ممانعت از حمله ´۵ اگزونوکلئازها، احتمالاً به پایداری mRNA کمک می کنند. سر دیگر اکثر ملکولها یعنی سر ´۳–هیدروکسی به پلیمری از اجزای آدنیلات به طول ۳۰–۲۵ نوکلئوتید متصل است. وظیفه اختصاصی دم پلی سر A در سر ´۳–هیدروکسی mRNA کاملاً معلوم نیست. ولی احتمالاً با جلوگیری از حمله ´۳–اگزونوکلئازها،پایداری mRNA های خاصی را درسلول افزایش می دهد. ملکولهای mRNA موجود در سیتوپلاسم سلولهای پستانداران از جمله سلولهای انسانی همان محصولات مستقیم RNA نیستند که از روی DNA الگو ساخته می شوند. بلکه حاصل پردازش ملکولهائی پیش سازند که پیش از ورود به سیتوپلاسم ساخته می شود. اندازه این ملکولهای هسته ای بسیار ناهمگون ولی به هر حال بزرگ است. این ملکول ها را RNA هتروژن هسته ای (hnRNA) می نامند. میزان mRNA در پروکاریوتها ۵٪ RNA تام سلول است و میزان mRNA در اوکاریوتها ۳٪ RNA تام سلول می باشد، اما میزان hnRNA بمقدار ۷٪ RNA تام سلول است.

RNA ناقل tRNA:

ریبونوکلئیک اسید ناقل، ملکولهای کوچکی هستند که بعنوان ناقل اسید آمینه در سیتوپلاسم سلول عمل می کنند. هر آمینو اسید حداقل دارای یک tRNA ویژه خود است، ولی برخی از این آمینو اسیدهای لوسین و سرین تعداد پنج و برای گلیسین و لیزین تعداد چهار نـوع tRNA وجود دارد. علاوه بر چهار باز A،G،C،Uمولکول tRNA محتوری بازهای دیگر (بازهای تغییـر یافتـه) از قبیـل دی هیـدرو اوراسیل (D) ریبوتیمیدین (T) ، پسودواورایدن (ψ) و متیل آدنین می باشد(شکل ۱۷). به طور کلی جایگزینی بازهای تغییر یافتـه در مواضع خاصی در مولکول tRNA از اهمیت ویژه ای برخوردار است و در ساختار و اعمال زیست شناختی آنها دخالت می کنـد. تـاکنون بیش از ۵۰ نوع tRNA مورد مطالعه قرار گرفته و توالی کامل بازهای آنها بطور دقیق مشخص شده است. برابر شواهد موجود، مولکول tRNA از ۷۳ الی ۹۳ واحد نوکلئوتید تشکیل می شود و متوسط وزن مولکـولی آن در حـدود ۲۵۰۰۰ اسـت. ملکـول بـر روی خـودش تاخورده و ساختمان برگ شبدر را ایجاد می نماید که بعنوان ساختمان دوم مورد توجه قرار می گیرد(شـکل ۱۸). قـسمتی از ملکـول کـه پیوند های هیدروژنی وجود دارد ساقه نامیده می شود و قسمتی که فاقد پیوند هیدروژنی است حلقه گفته می شود. هر مولکـول tRNA معمولاً دارای ۴ بازو است که سه تای آنها در انتها حالتی حبابی یا حلقوی دارند. تمام ملکولهای tRNA دارای ردیـف بازهـای A-C-C در انتهای ´۳ یا انتهای قبول کننده آمینو اسید خود هستند. آخرین نوکلئوتید (A) یا به عبـارت دیگـر آدنیلیـک اسـید،محل اسـتری شدن آمینو اسید مربوطه توسط آنزیم آمینو آسیل سنتتاز است. این بازو را بازوی اسـید آمینـه گوینـد. در بـازوی $T\psi C$ یـک مولکـول پسودواوریدین و در بازوی D دی هیدرواوریدین(DHU) وجود دارد. بازوی ضد کدون دارای سه نوکلئوتید متـوالی یاسـه گانـه مـی باشد که برای هر یک از آمینو اسیدها، متفاوت و مخصوص همان آمینو اسید است. این سه نوکلئوتید متوالی یا سه گانـه را ضـد کـدون می نامند که مکمل سه نوکلئوتید متوالی کدون یا رمز سه گانه موجود در mRNA است. در طی بیوسـنتز پـروتئین هـر دو tRNA و mRNA در ترتیب فضائی منظم به ریبوزوم متصل می شوند. ساختمان سوم ویژه برای tRNA لازم است تا با آنزیمـی وارد واکـنش شود که بطور کووالانتی اسید آمینه را به انتهای ´۳ آن متصل می نماید. برای ایجاد این ساختمان سوم، شکل تاخورده شبدر تبدیل مـی شود به شکل L که توسط پراش اشعه $X-$ تعیین شده است (شکل ۱۹).



پسودواوریدیلیک اسید

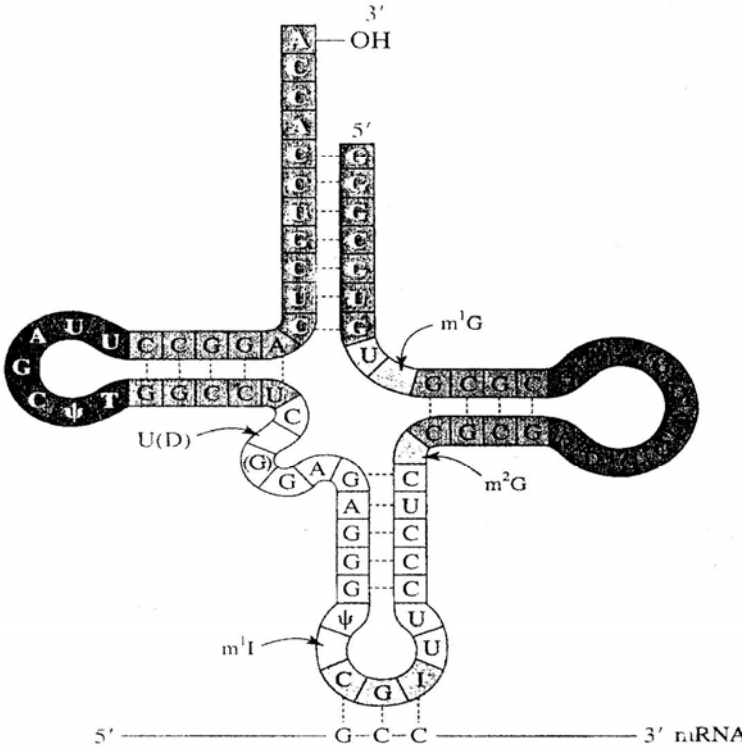


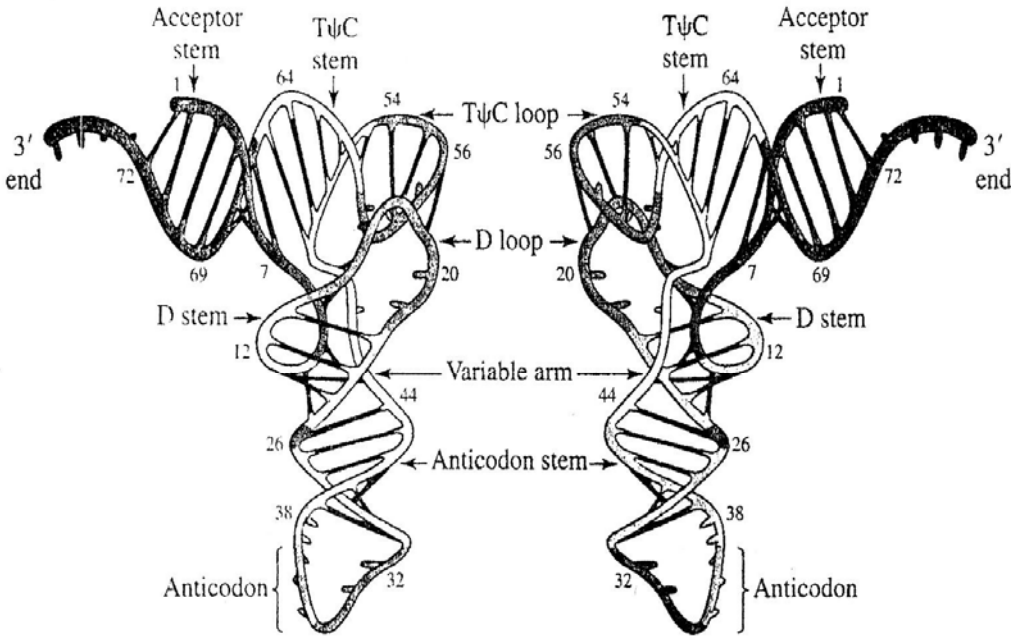
ریبوتیمیدیلیک اسید

شکل ۱۷

شکل ۱۸

The cloverleaf structure for tRNA molecules. Structural elements include three loops formed by hairpin turns and double-helix regions stabilized by hydrogen bonding between complementary bases. Modified nucleotides are abbreviated: methylguanosine (m^1G); dimethylguanosine (m^2G); inosine (I); methylinosine (m^1I); dihydrouridine (D); and pseudouridine (ψ).



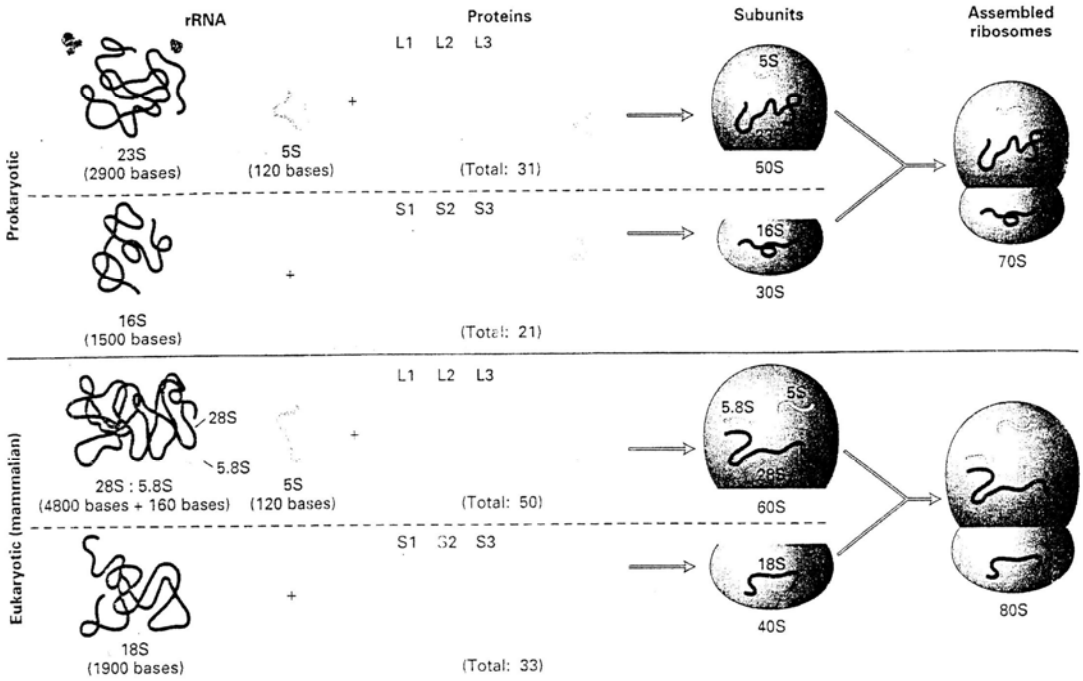


شکل ۱۹

The three-dimensional structure of yeast tRNA for phenylalanine. Views from two angles

RNA ریبوزومی (rRNA):

ریبوزوم یک ساختمان نوکلئوپروتئین سیتوپلاسمی است که در تمامی سلولهای یافت می شوند. شصت و پنج درصد وزن ریبوزومی را RNA ریبوزومی (rRNA) تشکیل می دهد و ۳۵ درصد باقی مانده پروتئین هستند. ریبوزوم پستانداران دارای وزن ملکولی $10^6\times$ 4.2 است و سرعت رسوب ۸۰ S (واحد سودبرگ) را نشان می دهند، دارای دو زیر واحد ریبونوکلئو پروتئین است که وزن ملکولی زیر واحد کوچک (۴۰S) برابر 2.8×10^6 می باشد. زیر واحد ۶۰S حاوی RNA های ریبوزومی 5S،5.8S و 28S می باشد همراه با بیش از ۵۰ پلی پپتید ویژه. زیر واحد 40S حاوی RNA ریبوزومی 18S است همراه با ۳۰ زنجیره پلی پپتیدی مشخص. ریبوزوم پروکاریوتها دارای وزن ملکولی 2.7×10^6 و سرعت رسوب 70S را نشان می دهد. دارای دو زیر واحد ریبونوکلئو پروتئینی است که وزن موکلولی زیر واحد کوچک (30S) برابر 0.9×10^6 است و وزن ملکولی زیر واحد بزرگ 50S برابر 1.8×10^6 می باشد. زیر واحد 30S دارای RNA ریبوزومی 16S است همراه با 21 پروتئین و زیر واحد 50S دارای RNA های ریبوزومی 5S و 23S می باشد همراه با ۳۱ پروتئین (شکل ۲۰). اعمال ملکولهای RNA در ذره ریبوزومی کاملاً معلوم نیست، اما برای تجمع ریبوزومها ضروری هستند و بنظر می رسد که نقش کلیدی در اتصال mRNA بر ریبوزوم و ترجمه آن داشته باشند. مطالعات اخیر نشان داده است که عناصر rRNA فعالیت پپتیدیل ترانسفری را انجام داده و بنابراین آنزیم است (ریبوزویم) .



شکل ۲۰ **The general structure of ribosomes in prokaryotes and eukaryotes.** In all cells, each ribosome consists of a large and a small subunit. The two subunits contain rRNAs of different lengths, as well as a different set of proteins. All ribosomes contain two major rRNA molecules (dark red)—23S and 16S rRNA in bacteria, 28S and 18S rRNA in eukaryotes—and one or two small RNAs (light red). The proteins are named L1, L2, etc., and S1, S2, etc., depending on whether they are found in the large or the small subunit.

RNA های کوچک (sRNA):

در سلولهای اوکاریوت تعداد زیادی از RNA های کوچک پایدار و حفظ شده وجود دارند. اکثر این مولکولها با پروتئین ها ترکیب شده و ایجاد ریبونوکلئوپروتیئن ها را می نمایند. در سیتوپلاسم، هسته و هر دو توزیع شده اند. RNA کوچک سیتوپلاسمی را بصورت scRNA نشان داده و RNA کوچک هسته ای را بصورت snRNA نشان می دهند. RNA کوچک هسته ای با پروتئین ها ترکیب و ایجاد ریبونوکلئوپروتئین کوچک هسته ای را می نمایند که بصورت (snRNPs) نشان داده می شوند. پنج نوع از RNA های کوچک هسته ای (U1,U2,U4,U5,U6) در روند پیوند (splicing) شرکت می نمایند و به وفور در هسته سلول های اوکاریوتها یافت می شوند.

فصل هشتم

آنزیم

آنزیم (Enzyme)

اهداف:

۱- شناخت عمل کاتالیزوری آنزیمها و تفاوت آن با کاتالیزور شیمیایی
۲- اندازه گیری آنزیمها و عواملیکه در اندازه گیری آن دخالت دارند.
۳- نقش کوفاکتورها و کوآنزیم در واکنشهای آنزیمی
۴- سینتیک آنزیمها : شناخت معادله میکائلیس و منتون و معادله لاینویور-برک و کاربرد آنها.
۵- تقسیم بندی و اهمیت مهار کننده ها
۶- شناخت و اهمیت کنترل و تنظیم آنزیم ها (با شرکت پیوند کووالان- آنزیمهای ناظم (آلواستریک) و ایزوآنزیمها)
۷- نام گذاری آنزیمها

تعریف آنزیم:

آنزیمها ساختار پروتئینی دارند، بجز تعداد بسیار کمی مانند ریبوزیمها که ساختار ریبونوکلئیک اسید دارند. آنزیمها بعنوان کاتالزر عمل می کنند و در زمره مهمترین ملکولهای حیاتی محسوب می شوند. فعالیت برخی از آنزیمها فقط وابسته به ساختار پروتئینی آنها می باشد و (شکل ۱) تعداد زیادی از آنزیمها برای فعالیتشان ، علاوه بر قسمت پروتئینی یک یا چند قسمت غیرپروتئینی هم لازم دارند که به آن کوفاکتور یا کوآنزیم می گویند. کوفاکتورها می توانند فلز یا یک ماده آلی باشند: (شکل ۴)

فلزات : مانند Zn^{2+} (در ساختمان آنزیم کربوکسی پپتیداز، Mg^{2+} درساختمان آنزیم فسفوترانسفرازها، Fe^{2+} در ساختمان آنزیم پراکسیداز) Cu^{2+} (در ساختمان آنزیم سیتوکرم اکسیداز، تیروزیناز و ....
ماده آلی : به ماده آلی کوآنزیم هم می گویند. تمام ویتامینهای محلول در آب نقش کوآنزیمی دارند.

قسمت غیرپروتئینی + قسمت پروتئینی = آنزیم مرکب
کوفاکتور یا کوآنزیم یا هر دو+ آپوآنزیم = هالوآنزیم

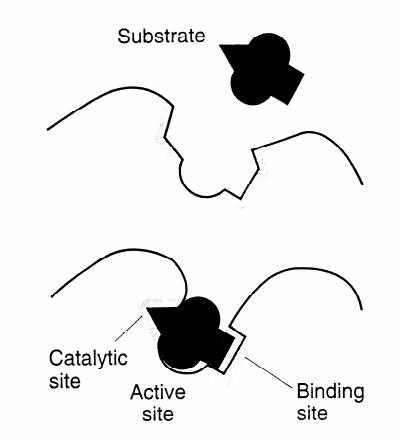
کوفاکتورهای فلزی می توانند بعنوان پلی بین آنزیم و سوبسترا باشند و یا عامل ثابت نگه داشتن شکل فعال ساختمان فضائی آنزیم.

مواد آلی (کوآنزیمها می توانند بعنوان حامل موقت در واکنشهای شیمیایی عمل کنند مانند: کوآنزیم NAD^+ (نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید) که فرم فعال و کوآنزیمی نیکوتنیک اسید است، بعنوان حامل موقت هیدروژن و الکترون دربرخی از واکنشهای اکسیداسیون و احیاء شرکت می کند.(اطلاعات بیشتر در ارتباط با کوآنزیمها در فصل کوآنزیم و و یتامینها .

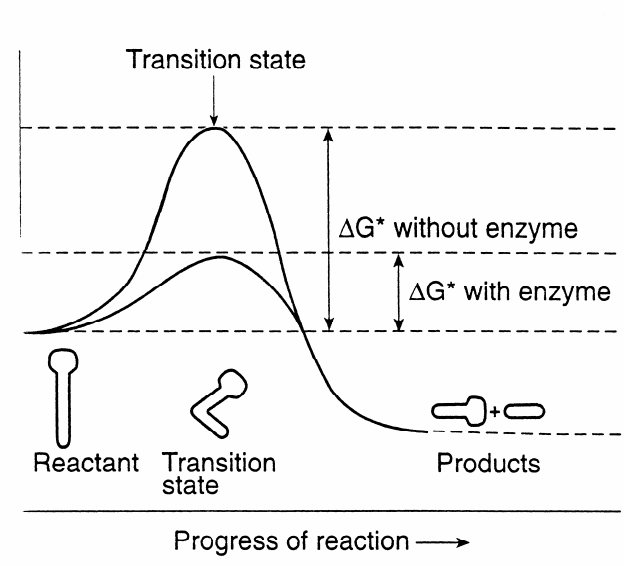
مثال دیگر کوآنزیم PLP (پیرو دوکسال فسفات)، فرم فعال ویتامین پیرودوکسین (ویتامین B_6) بعنوان حامل موقت آمین در واکنشهای ترانس آمیناسیون شرکت می کند.اگر کوآنزیم بطور محکم و کووالان به آنزیم وصل باشد و جزئی از ساختمان آنزیم باشد به آن گروه پروستتیک می گویندمانند FMN (فلاوین مونوکلوتید) در ساختمان آمینواکسیداز شکل ۴.

عمل کاتالیزوری آنزیم

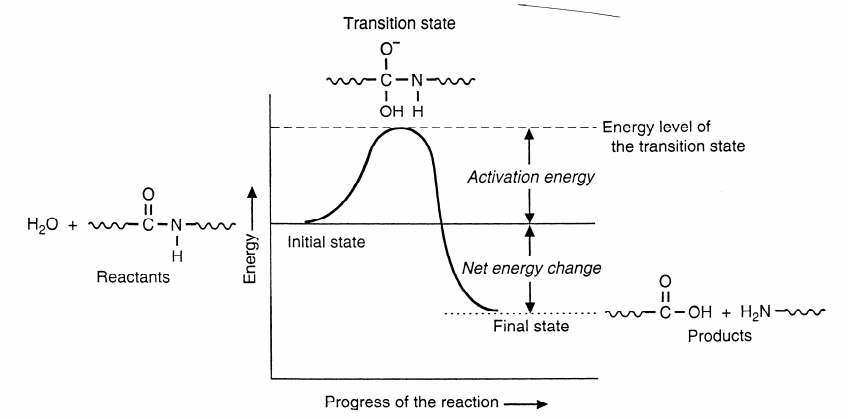
در یک واکنش شیمیائی $A \rightarrow B$ ، اگر A بخواهد به B تبدیل شود باید باندازه کافی انرژی دریافت کند و به یک حالت گذاری دربیایید. در این حالت پرانرژی است که می تواند یک باند شیمیایی را شکسته و یا تولید کند، و بعد به B تبدیل شود. انرژی دریافتی را انرژی آزاد فعال کنندگی یا انرژی اکتیواسیون می نامند آنزیمها با مواد شیمیایی ترکیب و حالت گذاری را بوجود می آورند و باعث پائین آمدن انرژی آزاد فعال کنندگی می شوند . بدین ترتیب به واکنش سرعت می بخشند. (شکل ۲ و ۳)



شکل ۱ : محل اتصال سوبسترا با آنزیم

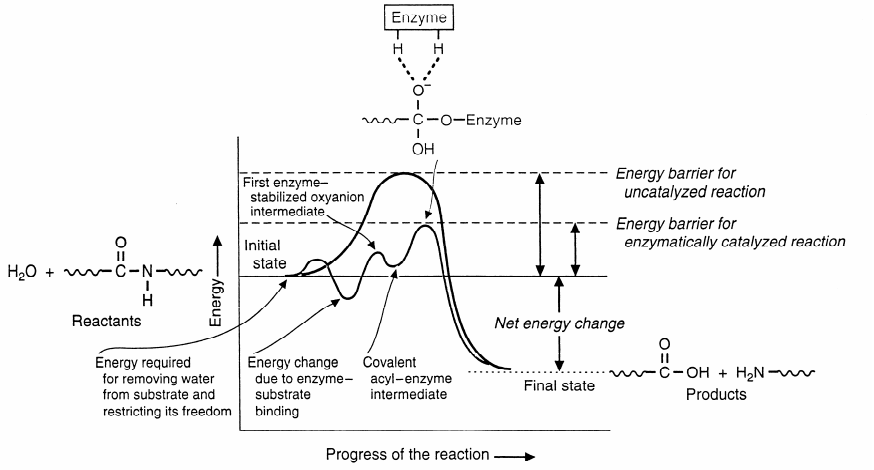


شکل ۲: منحنی تغییرات انرژی برای یک واکنش با آنزیم و بدون آنزیم

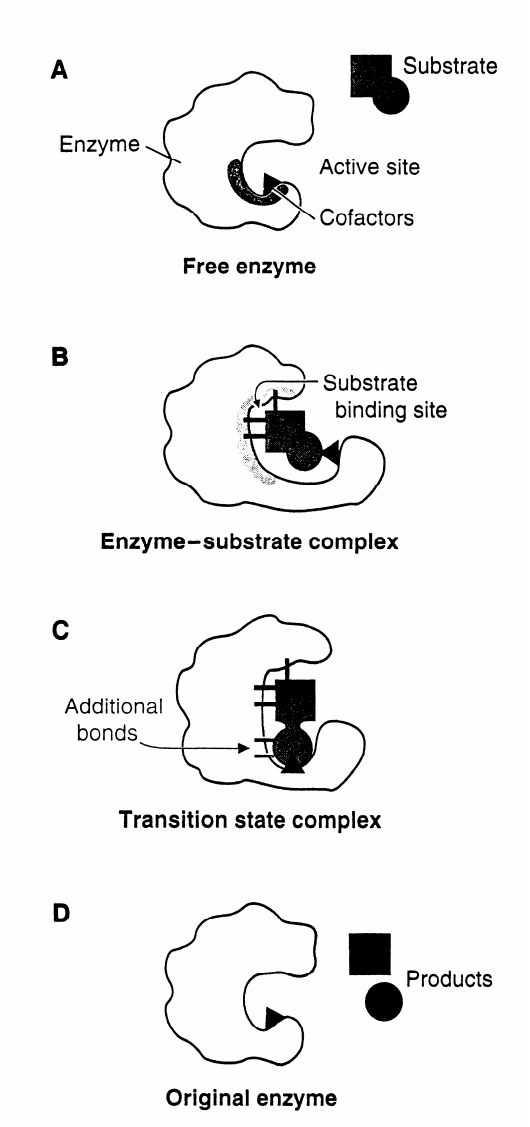


شکل ۳ :

شکل A : هیدرولیز دی پپتید در غیاب آنزیم



شکل B: هیدرولیز دی پپتید با حضور آنزیم



شکل٤ : عمل کاتالیزری یک آنزیم مرکب = آنزیم + کوآنزیم (کوفاکتور)

اندازه گیری فعالیت آنزیم

برای اندازه گیری فعالیت آنزیم دو راه موجود است :

۱- اندازه گیری مقدار محصول تولید شده پس از یک زمان مشخص

۲- اندازه گیری مقدار سوبسترا باقیمانده پس از یک زمان مشخص

۱- ابتدا آنزیم را با سوبسترا مخلوط کرده و در یک شرایط مشخص و معین آزمایشگاهی از لحاظ PH و دما و غیره ..... برای مدت کوتاهی قرار می دهند. سپس واکنش را قطع کرده و محصول را اندازه گیری می کنند. ۲- پس از قطع واکنش باقیمانده سوبسترا اندازه گیری می شود . (اندازه گیری محصول بسیار دقیق تر است). فعالیت آنزیم مساوی است با تبدیل مقدار معینی از سوبسترا به محصول در یک زمان مشخص.

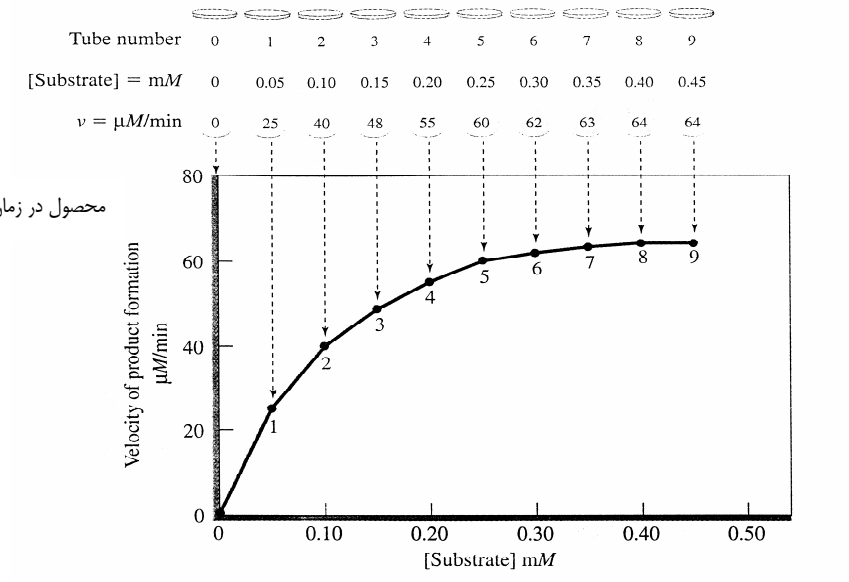
متداولترین تعریف برای اندازه گیری فعالیت آنزیم، واحد بین المللی (International Unit) است که عبارت است از فعالیت مقدار آنزیمی است که بتواند یک میکرومول سوبسترا را در ۲۵ درجه سانتی گراد در یک دقیقه و در شرایط مطلوب به محصول تبدیل کند. واحد دیگری که برای اندازه گیری فعالیت آنزیم بکار می رود واحد بین المللی Katal (کاتال) یا بطور خلاصه Kat (کت) می باشد و عبارتست از فعالیت مقدار آنزیمی است که بتواند یک مول سوبسترا را در یک ثانیه به محصول تبدیل کند.

عواملی که در اندازه گیری فعالیت آنزیم دخالت دارند:

۱. غلظت [S] غلظت ماده اولیه (substrate) که آنرا با حرف [S] نشان می دهند
۲. غلظت [E] غلظت آنزیم (Enzyme) که آنرا با حرف [E] نشان می دهند
۳. دما
۴. PH

۱- غلظت سوبسترا =S=(Substrate)

در شرایط مناسب (دما و PH و آنزیم و ....) سرعت واکنش آنزیمی به غلظت سوبسترا بستگی دارد. هر چه سوبسترا بیشتر باشد محصول هم بیشتر است ولی این روند تا حد معینی ادامه دارد. و پس از آن با افزودن سوبسترا تغییری در سرعت واکنش حاصل نخواهد شد. به این سرعت، سرعت ماکزیمم (Vmax) می گویند. بنابراین زمانیکه تمام آنزیمهای موجود در واکنش وارد عمل شوند بالاترین مقدار محصول بدست می آید که به آن سرعت ماکزیمم گویند. (شکل ۵)

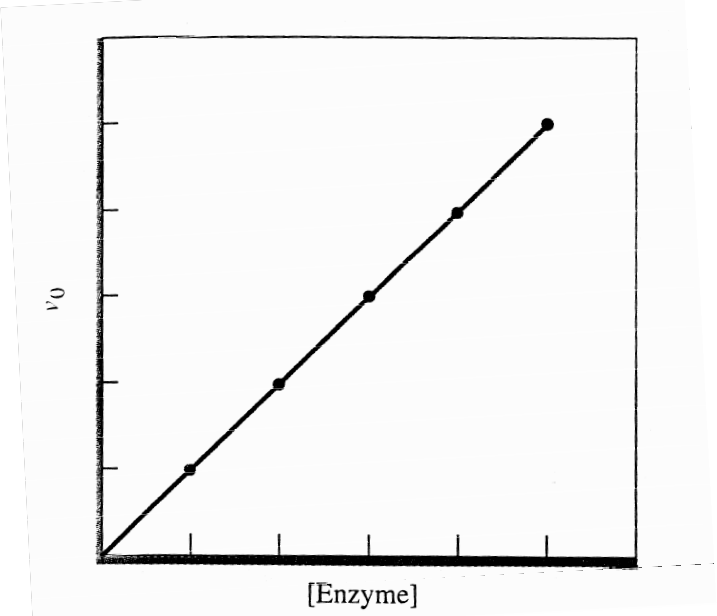


محصول در زمان مشخص

شکل ۵ : منحنی سرعت واکنش آنزیمی برحسب غلظت های متفاوت سوبسترا

۲- غلظت آنزیم = E=(Enzyme) :

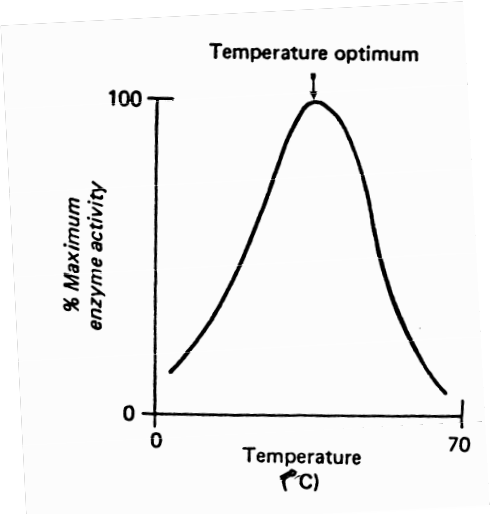
در شرایط مناسب (دما و PH و غلظت S و ....) سرعت واکنش آنزیم با غلظت آنزیم رابطه مستقیم دارد و هرچه آنـزیم بیـشتر بـه محصول هم بیشتر است . تا زمانیکه سوبسترا وجود داشته باشد سرعت واکنش ادامه دارد ولی اگر سوبسترا تمام شود و یا محصول تولید شده باعث مهار آنزیم یا بهم زدن شرایط مطلوب مانند تغییر PH محیط شود، آنوقت سرعت واکنش آنزیمی کم می شود. شکل ۶



شکل٦ : منحنی سرعت واکنش آنزیم برحسب غلظت های متفاوت آنزیم

۳- اثر دما:

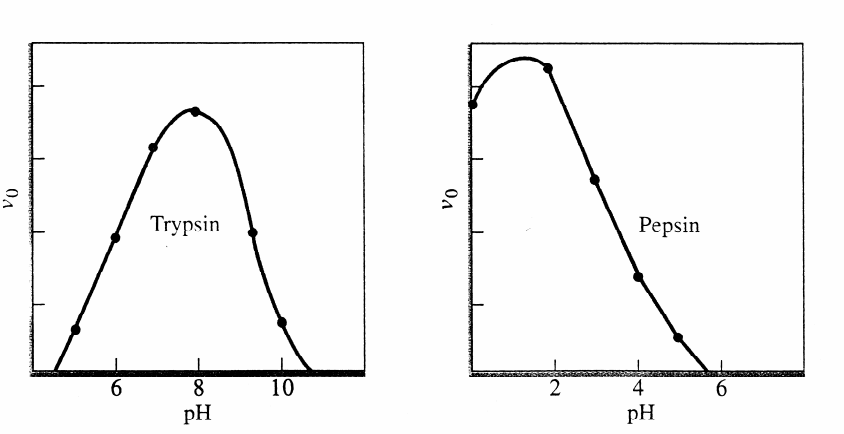
در واکنشهای شیمیایی به ازای هر ۱۰ درجه حرارت که بالا می رود. محصول دو برابر مـی شـود. بنـابراین حـرارت باعـث سـرعت واکنش شیمیایی می شود. در مورد واکنشهای آنزیم نیز این موضوع صدق می کند. منتها در اینجا کاتالیزر پروتئین است و ممکن اسـت در درجه خیلی بالا دناتوره شده و ساختمان خود را از دست داده و باعث کم شدن فعالیت آنزیم شود. پس برای هر آنزیم در جه حرارتـی وجود دارد که در آن دما، بیشترین محصول حاصل می شود. در واقع آنزیم حداکثر فعالیت خود را نشان می دهد. به این درجـه حـرارت، دمای مطلوب یا دمای آپتیموم گفته می شود شکل ۷ .



شکل ۷ : منحنی سرعت واکنش آنزیم برحسب دماهای متفاوت

٤- اثر PH :

آنزیمها پروتئین هستند و تغییرات PH می تواند شکل ساختاری آنها را بنحوی تغیر دهد که باعث بیشتر فعال شدن و یـا از دسـت دادن فعالیت آنها گردد. برای هر آنزیم یک PH مطلوب وجود دارد که به آن PH آپتیموم هم می گویند و در آن PH آنزیم بـالاترین فعالیت خود را داشته و بیشترین محصول را تولید می کند شکل ۸.



شکل ۸ : منحنی سرعت واکنش آنزیم برحسب PH های متفاوت

سینتتیک آنزیمی Enzymes Kinetics

یک واکنش آنزیمی را با رابطه زیر نشان می دهند

$$E+S \underset{K2}{\overset{K1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{K4}{\overset{K3}{\rightleftharpoons}} EP \underset{K6}{\overset{K5}{\rightleftharpoons}} E+P$$

[S] = Substrate=سوبسترا

[E]= Enzyme = آنزیم

[ES] = کمپلکس آنزیم و سوبسترا

[EP]= کمپلکس آنزیم + محصول

K1,K2,…= ثابت سرعت واکنش

معادله میکائلیس و منتون (Michaelis & Menten)

برای تعیین مقدار کمی فعالیت آنزیم می شود از معادله میکائلیس و منتون استفاده کرد. این معادله رابطه بین سرعت واکنش و غلظت سوبسترا را بیان می کند و دو پارامتر سینتیکی آنزیم (Km و Vmax) را نشان می دهد. (شکل ۹)

آقای میکائلیس و منتون (Michaelis & Menten) جهت سهولت کار واکنش بالا را بصورت ساده تری فرض کردند.

$$E+S \underset{K2}{\overset{K1}{\rightleftharpoons}} ES \overset{K3}{\rightarrow} E+P$$

و پس از مشتق کردن این رابطه به معادله میکائلیس و منتون دست یافتند.

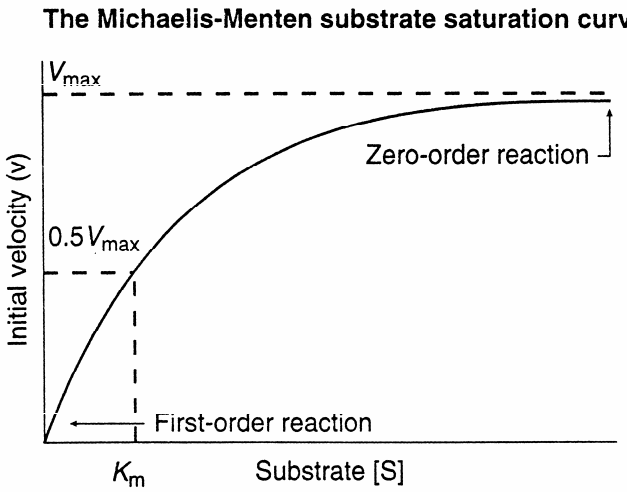
$$\mathbf{V= \frac{Vmax \times [S]}{Kmx + [S]}}$$

V= سرعت واکنش = مقدار × زمان ۱-

Vmax = سرعت ماکزیمم = مقدار × زمان ۱-

[S] = غلظت سوبسترا = مقدار

(در شکل ۹ ، Km غلظتی از سوبستراست که در آن غلظت سرعت واکنش نصف سرعت ماکزیمم باشد پس [S]=Km زمانیکه $V = \frac{1}{2} V \max$ باشد.



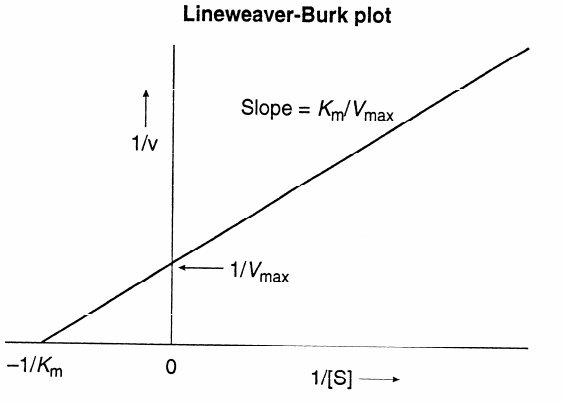
شکل ۹ : منحنی میکائلیس و منتون سرعت واکنش برحسب غلظتهای متفاوت [S] = سوبسترا

معادله لینویور و برک Line Weaver & Burk

برای تعیین مقدار کمی Km و Vmax از معادله لینویور و برک می شود استفاده کرد لینو یور و برک برای تعیین صحیح تر مقدار Km و Vmax معادله میکائلیس و منتون را معکوس و آنرا به یک معادله خطی تبدیل کردند. (شکل ۱۰)
معادله خطی y=ax+b

$$\frac{۱}{۷} = \frac{Km}{V \max} \times \frac{۱}{[S]} + \frac{۱}{V \max}$$ معادله لینویور و برک

(y = a x + b)



شکل ۱۰ :

مفهوم Km :

۱) مقدار Km برای هر آنزیمی در شرایط خاص ثابت است.
۲) غلظت تقریبی سوبسترا داخل سلول حدود Km است.
۳) در صورتیکه یک آنزیم دارای چند سوبسترا باشد، هر کدام Km مخصوص خود را دارد و آنکه Km کوچکتری دارد نشان دهنده میل ترکیبی بیشتر S با E می باشد.
۴) میزان Km برای هر آنزیم وابسته به نوع سوبسترا، دما و PH می باشد.

عوامل مهار کننده آنزیمها (Enzymes Inhibitors)

سرعت واکنش آنزیمها را می توان توسط مهار کننده های ویژه ای کم کرد. بدین ترتیب که آنزیم با مهار کننده ترکیب می شود و مانع ترکیب سوبسترا با آنزیم شده و سرعت واکنش کم می شود. هر چه مقدار مهار کننده بیشتر باشد، سرعت واکنش کمتر می شود و در واقع مقدار کمتری محصول تولید می شود.

تعدادی از داروها مانند آنتی بیوتیکها و یا داروهای شیمی درمانی در سرطانها بعنوان مهار کننده واکنشهای متابولیکی عمل می کنند. حتی خیلی از سموم مانند سیانور و مواد دفع آفات و حشره کشها هم مهار کننده هستند. علاوه بر اعمال داروئی، مهار کننده ها برای شناسائی ساختار آنزیم، سطح فعال آنزیم و چگونگی عمل آنزیمها مورد استفاده قرار می گیرند.

مهار کننده ها به دو دسته تقسیم می شوند.

۱. مهار کننده های غیر قابل برگشت
۲. مهار کننده های قابل برگشت

مهار کننده های قابل برگشت به دو دسته تقسیم می شوند:

الف – مهار کننده های رقابتی (Competitive inhibitor)
ب – مهار کننده های غیررقابتی (non competitive inhibitor)

مهار کننده های غیر قابل برگشت

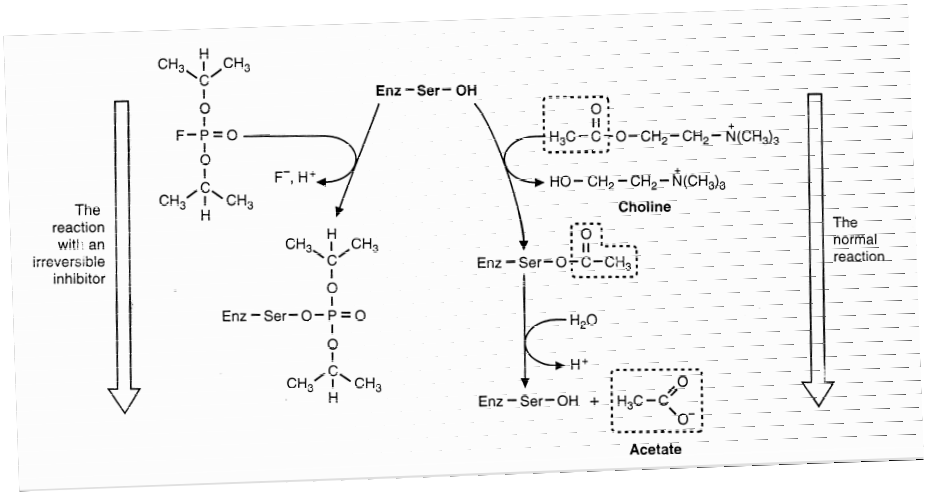
مهار کننده بطور یکطرفه و غیرقابل برگشت با آنزیم ترکیب می شود و اگر مهار کننده به اندازه کافی در محیط باشد آنزیم بکلی از فعالیت باز می ایستد. مهار کننده های غیرقابل برگشت از معادلات میکائلیس و منتون مطابقت نمی کنند.

$$\begin{array}{l} E+S \\ + \\ I \\ \downarrow \\ EI \end{array} \underset{K2}{\overset{K1}{\rightleftharpoons}} ES \overset{K3}{\rightleftharpoons} E+P$$

مثال : اثر دی ایزو پروپیل فسفو فلوئوریدات Diispropylphosph fluoridate (DIPF) بر روی آنزیم استیل کولین استراز است.

آنزیم استیل کولین استراز قادر به هیدرولیز استیل کولین به استات و کولین است آنزیم استیل کولین در سطح فعال خود یک اسید آمینه سرین دارد و زمانیکه استیل کولین در جایگاه فعال قرار می گیرد کولین خارج شده و استات با گروه OH اسید آمینه سرین باند استری تولید می کند و سپس آب وارد شده و استات خارج می شود.

یک ملکول دی ایزوپروپیل فسفوفلوئوریدات در جایگاه فعال آنزیم با سرین پیوند کووالان تشکیل می دهد و آنزیم را بطور غیر قابل برگشت مهار می کند. بدین ترتیب اختلال در عملکرد نوروترانسیمتر استیل کولین شده و تداخل در اعمال اعصاب می کند . پایه و اساس خیلی از حشره کشها در واقع همین اثر مهار کنندگی دی ایزوپروپیل فسفوفلوئوریدات بر روی آنزیم استیل کولین استراز است شکل ۱۱.



شکل ۱۱ : اثر مهار آنزیم استیل کولین استراز توسط دی ایزوپروپیل فسفوفلوئوریدات

مهارکننده های قابل برگشت

۱- مهار کننده رقابتی Competitive Inhibitor

مهار کننده رقابتی شباهت ساختمانی با سوبسترا دارد و برای اشغال سطح فعال آنزیم با سوبسترا رقابت می کند.

$$E + S + I \underset{K2}{\overset{K1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{}{\overset{K3}{\rightleftharpoons}} E + P$$

$$I \downarrow\uparrow EI$$

مجموعه EI برعکس مجموعه ES قابل تجزیه به محصول و آنزیم نیست

در هر لحظه از واکنش، کل آنزیم متصل به سوبسترا نمی شود. بلکه مقداری از آن تشکیل کمپلکس EI را داده و مثل آنستکه مقدار کمتری آنزیم در محیط است بنابراین سرعت واکنش کم می شود . در هر لحظه از واکنش کل آنزیم (آنزیم تام= E_T) در یک واکنش بدون مهار کننده شامل مجموعه زیر است :

$E_T = [ES] + [E]\ f$ واکنش آنزیمی بدون مهار کننده

E_T = کل آنزیم

[ES] کمپلکس آنزیم و سوبسترا

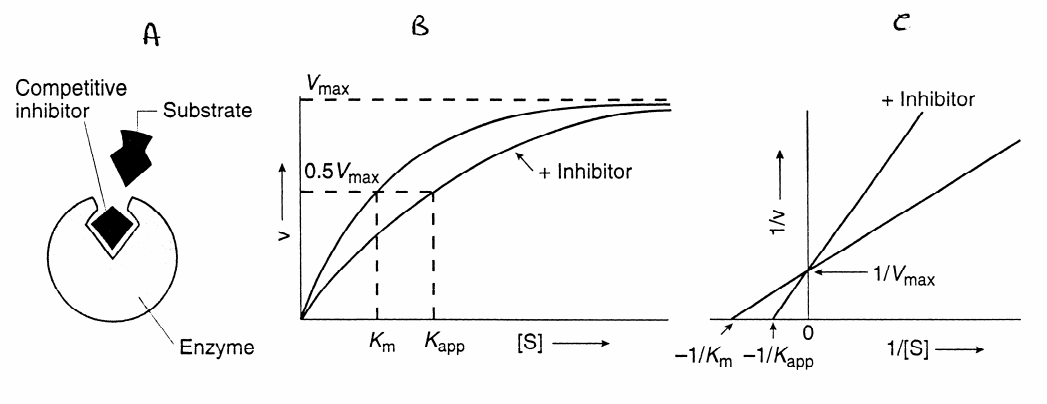
[E] = آنزیم آزاد

و در هرلحظه از یک واکنش آنزیمی در حضور مهار کننده کل آنزیم شامل مجموعه زیر می باشد:

$E_T = [ES] + [EI] + [E]f$ کل آنزیم (آنزیم تام) در حضور مهار کننده رقابتی

[EI] کمپلکس آنزیم و مهار کننده

در حضور مهار کننده رقابتی می شود به سرعت ماکزیمم حقیقی رسید در صورتیکه غلظت [S] آنقدر زیاد شود که احتمال برخورد I با E را کم کند. ولی Km ظاهری (Km_{app}) مهار کننده بیشتر از Km حقیقی است . شکل ۱۲ :

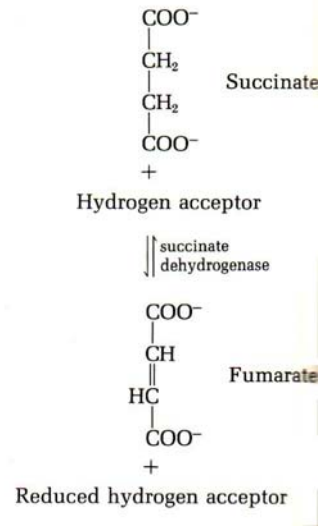


شکل ۱۲ : واکنش آنزیمی در حضور و غیاب مهار کننده رقابتی
A : رقابت بین [I] و [S] برای اشغال جایگاه فعال
B: منحنی میکائلیس و منتون (در حضور مهار کننده رقابتی و بدون مهار کنندگی)
C: منحنی لینویور و برک (در حضور مهار کننده رقابتی و بدون مهار کنندگی)
ظاهری =app= apparent

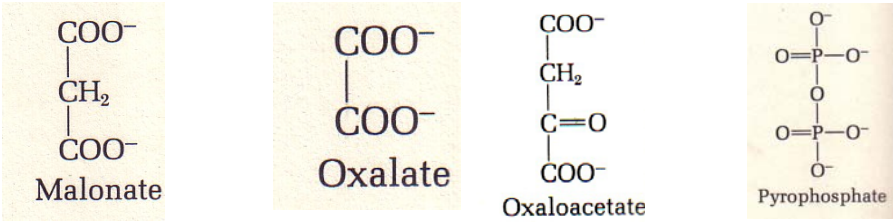
بنابراین در حضور مهار کننده رقابتی تغییرات Km و Vmax چنین می باشد

$Vmax = Vmax_{app}$
$K_m < K_{mapp}$
App=apparent= ظاهری

مثال برای مهار کنندگی رقابتی



مهار کننده های رقابتی که شباهت ساختمانی با سوکسینات داشته و باعث مهار آنزیم سوکسینات دهیدروژناز می شوند عبارتند از:



مهار کننده غیر رقابتی noncompetitive inhibitor

مهار کننده غیررقابتی برعکس رقابتی شباهتی با سوبسترا ندارد و در محل دیگری غیر از سطح فعال آنزیم با آنزیم ترکیب می شود و باعث تغییر شکل آنزیم شده و میل ترکیبی [S] با [E] را کم می کند البته [S] و [I] چون رقابتی با یکدیگر ندارند می توانند هر دو در آن واحد با آنزیم ترکیب شده و کمپلکس ESI را بدهند که آنهم محصولی نخواهد بود

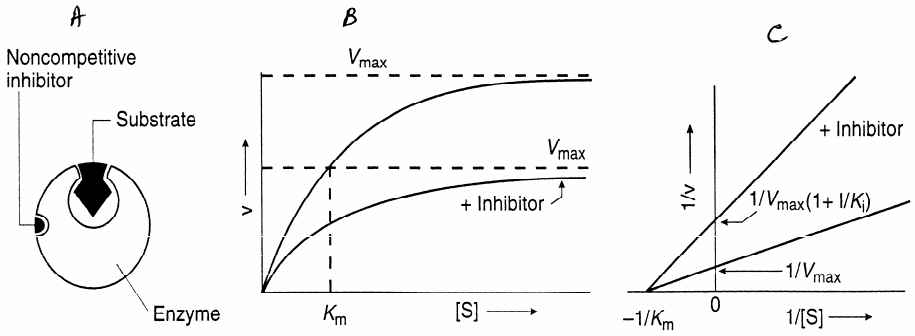
$$\begin{array}{ccc} E+S & \rightleftharpoons & ES \longrightarrow E+P \\ + & & + \\ I & & I \\ \uparrow\downarrow & & \uparrow\downarrow \\ EI+S & \rightleftharpoons & ESI \end{array}$$

$V_{max} > V_{max}$

در مهار کننده غیر رقابتی با اضافه کردن سوبسترا باز هم به V_{max} حقیقی نخواهد رسید. بنابراین V_{max} ظاهری کم می شود($V_{amx} > V_{ams_{app}}$) ولی Km تغییری نمی کند بنابراین Km حقیقی مساوی با $K_{m_{app}}$ ($K_m = K_{m_{app}}$) (شکل ۱۳).

کل آنزیم (آنزیم تام) در هر لحظه از واکنش مساوی است با :

$E_T = [ES], [EI], [ESI], [E]_f$



شکل ۱۳ : (واکنش آنزیمی در حضور و غیاب مهار کننده غیر رقابتی)
A: سوبسترا و مهار کننده دو جایگاه متفاوت بر روی آنزیم دارند.
B: منحنی میکائلیس و منتون – در حضور مهار کننده غیررقابتی و بدون مهار کننده
C: منحنی لینویور و برک در حضور مهار کننده غیر رقابتی و بدون مهار کننده

مثال:

$$\text{D- فروکتوز -۶- فسفات} + \text{Pi} \xrightarrow{\text{فروکتوز بیس فسفاتاز}} \text{D- فروکتوز ۱، ۶- بیس فسفات} + \text{H2O}$$

AMP بعنوان مهار کننده غیر رقابتی عمل می کند . چون شباهت ساختمانی با فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات نداشته و در جایگاه دیگری بجز جایگاه فعال بر روی آنزیم فروکتوز بیس فسفاتاز قرار می گیرد. (شکل ۱۳)

کنترل و تنظیم فعالیت آنزیمها (Regulation of Enzymes Activity)

واکنشهای داخل سلولی همیشه با یک سرعت ثابت عمل نمی کنند و برحسب نیاز فعالیت آنزیم کم یا زیاد می شود. مثال: آنزیمهای مورد نیاز تکثیر سلولی، زمان تقسیم سلول فعال و در زمان استراحت فعالیت آنها کم می شود. یا زمانیکه گلوکز خون پائین است برای تولید انرژی، آنزیمهائی که گلیکوژن را می شکنند فعال می شوند و زمان سیری و بالا بودن کربوهیدرات آنزیمهای سنتز گلیکوژن فعال می شوند.

روشهای مختلفی جهت کنترل و تنظیم آنزیم ها وجود دارد که عبارتند از:

۱. تنظیم و کنترل در سطح بیان ژن
۲. تنظیم و کنترل با شرکت پیوند کووالان
۳. آنزیمهای آلوستریک
٤. مهارکننده های پس نورد
۵. ایزوآنزیمها

۱. تنظیم و کنترل در سطح بیان ژن

محیطی که موجودات زنده در آن زندگی می کنند یکنواخت و پایدار نیست و همیشه در حال تحول و تغییرات است. طبیعتاً موجودات باید خود را با محیط هماهنگ کنند تا بتوانند ادامه حیات دهند حتی اگر شرایط نامناسب باشد.

یکی از راههای هماهنگ شدن با محیط تغییر بیان ژن است که خود باعث تغییرات در مقدار زیادی از پروتئینهای سلولی می شود. (شرح کامل در درسنامه ژنتیک) مثال: زمانیکه مقدار «هم» (heme) در بدن کم می شود ، سنتز آنزیم δ - آمینولوولینیک اسید سنتاز (δ-Ala سنتاز) فعال می شود. این آنزیم کاتالیزر اولین واکنش در بیوسنتز «هم» بوده و مهمترین آنزیم از لحاظ کنترل و تنظیم چه در سطح بیان ژن و چه زمانیکه سنتز شده است می باشد. سرعت فعالیت آن توسط محصولات نهائی کنترل می شود.

۲. کنترل و تنظیم آنزیمها با شرکت پیوند کووالان

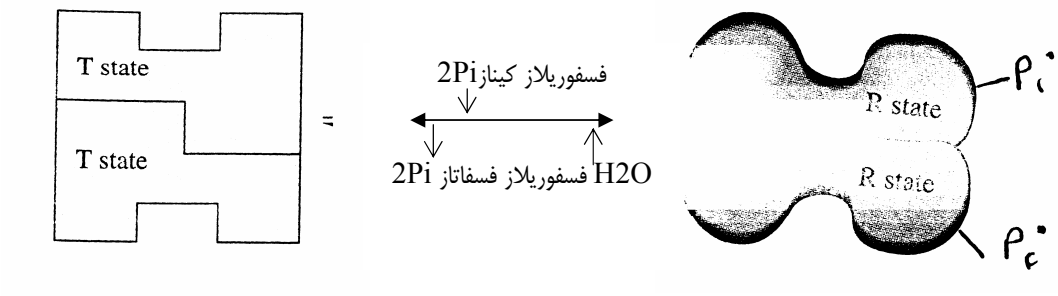
بعضی از آنزیمها می توانند به دو فرم فعال و یا غیرفعال وجود داشته باشند. فعال و غیرفعال شدنشان بااتصال یک گروه کوچک مانند (فسفات) و تغییر شکل ساختمان آنزیم انجام می گیرد. فعال و غیرفعال شدن این آنزیمها زیر کنترل دو آنزیم دیگر هستند.

مثال: آنزیم تنظیم کننده گلیکوژن فسفوریلاز که در بافت عضله یافت می شود و کاتالیزر واکنش زیر است.

$$\text{گلوکز-۱-فسفات} + \text{n} - ۱ \text{ (گلوکز)} \xrightarrow{\text{گلیکوژن فسفوریلاز}} \text{Pi} + \text{n (گلیکوژن)}$$

$$\text{n (گلوکز)} = \text{گلیکوژن}$$

آنزیم گلیکوژن فسفوریلاز به دو فرم فعال و غیرفعال وجود دارد. گلیکوژن فسفوریلاز عضله دارای دو زیر واحد است. توسط آنزیم فسفوریلاز کیناز با گرفتن دو گروه فسفات فعال می شود و توسط آنزیم فسفوریلاز فسفاتاز با از دست دادن دو گروه فسفات غیرفعال می‌شود.



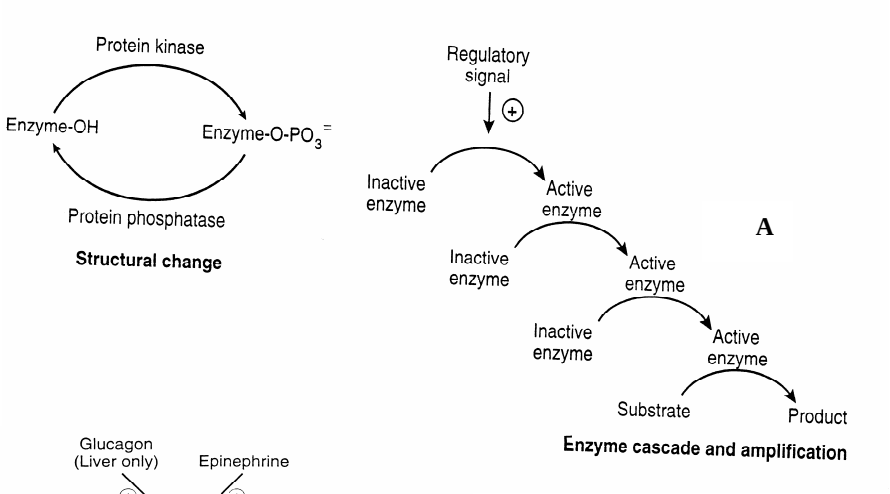
گلیکوژن فسفوریلاز غیر فعال

گلیکوژن فسفوریلاز فعال

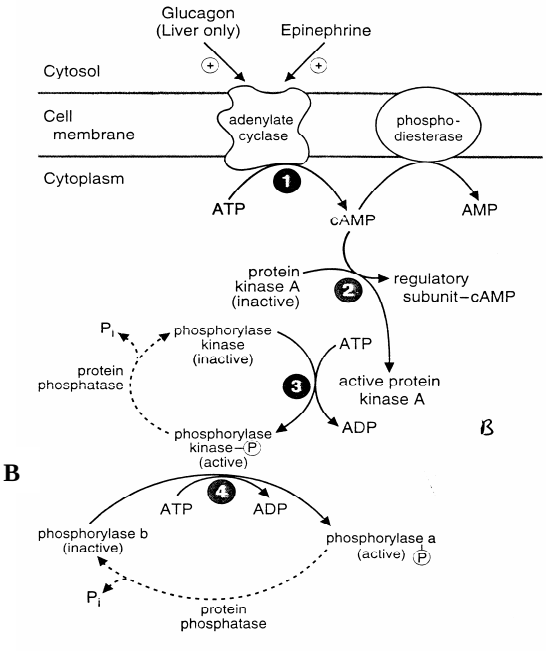
خاصیت این نوع آنزیم در این است که هر ملکول فسفوریلاز کیناز می تواند در زمان کوتاهی هزارها گلیکوژن فسسفوریلاز غیرفعال را فعال کند و هر ملکول گلیکوژن فسفوریلاز فعال می تواند هزارها گلیکوژن را به گلوکز -۱- فسفات تبدیل کند. پس در هـر واکـنش اثرات تحریکی چندین برابر تقویت می شود و در زمان کوتاهی مقدار زیادی محصول تولید می شود.

معمولاً فعال شدن این گونه آنزیمها با ترشح هورمون شروع می شود و در هر مرحله هر آنزیم فعال هزارها آنزیم دیگر را که در واقع سوبسترای آن آنزیم می شود را به محصول که همان آنزیم فعال بعدی است تبدیل می کند در واقع یک سیستم آبشاری بوجود می آید.

شکل۱۵: ترشح مقدار بسیار کم اپی نفرین یا گلوکاگون می تواند یک سیستم آبشاری را تحریـک و در زمـان کوتـاه مقـدار بـسیار زیـاد محصول را تولید کند.



شکل ۱۵:
A: یک سیستم آبـشاری فعالیت آنـزیم بـا شـرکت پیوند کووالان



B: فعال شدن آنزیمها با شرکت کووالان با ترشح هورمون اپی نفرین یا گلوکاگون

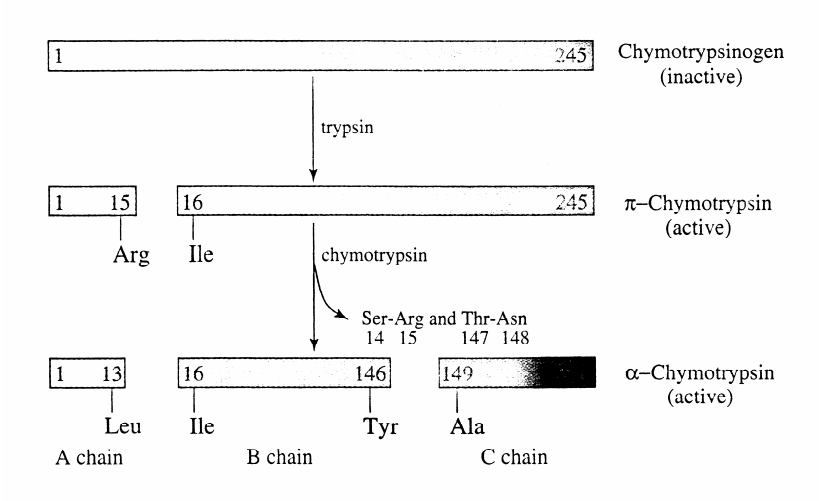
آنزیمهای تنظیم کننده ای که با عمل پروتئولیتیک فعال می شوند (زیموژنها = پرو آنزیمها)

گروهی از آنزیمها غیرفعال سنتز می شوند و موقع انجام کار فعال می شوند و پس از اتمام کار شکسته می شوند و قابل برگشت به فرم غیرفعال خود نیستند مانند آنزیم ترومبین که فرم غیرفعال آن پروترومبین است.

ترومبین باعث تبدیل فیبرینوژن به فیبرین می شود. اگر بصورت غیرفعال در خون نبود باعث لخته شدن کل سیستم جریان خون می شد و این با زندگی مقایرت داشت کلاً تمام آنزیمهای پروتتولیتک بصورت پروآنزیم سنتز می شوند و برای فعال شدن تعدادی از اسید آمینه ا پروآنزیم جدا شده و باعث تغییر شکل آنزیم می شود و تبدیل به آنزیم فعال می شود.

پپسینوژن در معده تحت اثر Hcl حدود 42-44 اسید آمینه از سمت N- ترمینال از دست می دهد و تبدیل به آنزیم فعال پپسین می شود. یا آنزیم کیموتریسین از پروآنزیم کیموتریپسینوژن که ۴ عدد (۲+۲) اسید آمنیه آن جدا می شود بوجود می آید شکل۱۶ .

البته چه زمانی این پرو آنزیمها باید ترشح شوند. تبدیل به آنزیم فعال شوند زیر کنترل هورمونها می باشند (به درس نامه گوارش بخش هضم و جذب در قسمت بیوشیمی مراجعه شود)



شکل ۱۶ : تبدیل پروآنزیم غیرفعال کیموتریپسینوژن به آنزیم فعال کیموتریپسین

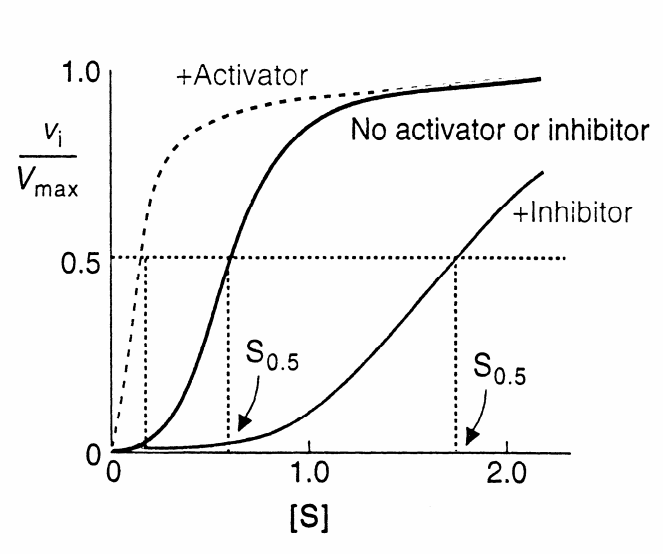
آنزیمهای آلوستریک (Allosteric Enzymes)

آنزیمهای آلوستریک یک دسته از آنزیمهائی هستند که علاوه بر جایگاه فعال برای اتصال با سوبسترا، دارای حداقل یک جایگاه دیگر جهت اتصال مولکولهای تنظیم کننده دیگر را دارد. این مولکولها با ترکیب با آنزیم می توانند باعث تغییر شکل ساختمان آنزیم شده و آنرا فعال یا غیر فعال کنند. این دسته آنزیمها بنام آنزیمهای آلوستریک خوانده می شوند لغت آلو (Allo) بمعنای دیگر – مکان دیگر و استریو بمعنای شکل – و در واقع به معنای فرم یا شکل دیگر است. به ملکولهای کوچکی که باعث تغییر شکل آنزیم از یک فرم به فرم دیگر می شوند تنظیم کننده (Effector) می گویند و محل اتصال آنها را با آنزیم محل آلوستریک یا محل تنظیم کننده (allosteric site) می گویند. تنظیم کننده می تواند مثبت یا منفی باشد. شکل ۱۷

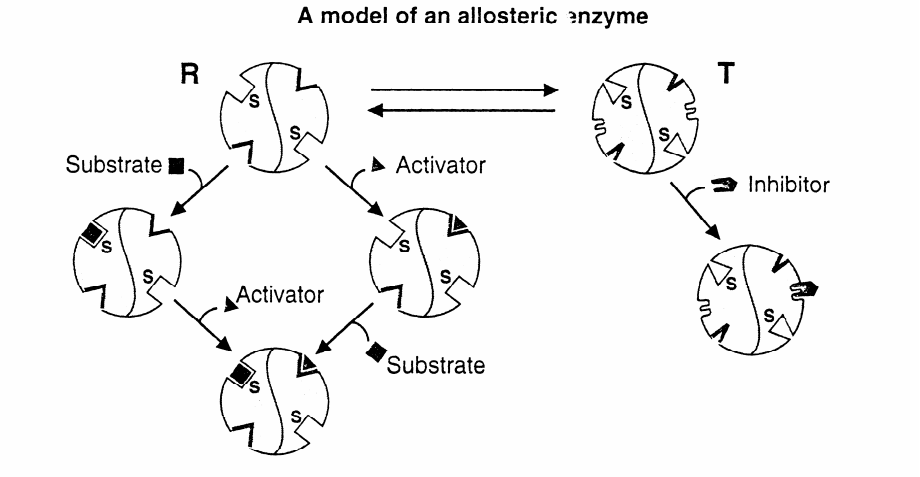
آنزیمهای آلوستریک در فضا به دو شکل فعال (Relax = R) و غیر فعال (Taut=T) وجود دارند و با نزدیک شدن سوبسترا به آنزیم باعث تغییر شکل در آنزیم شده و فرم T بطرف فرم R می رود. $T \overset{S}{\leftrightarrow} R$ شکل ۱۸ و ۱۹: پس خود سوبسترا در فعال کردن آنزیم آلوستریک نقش دارد.

از طرف دیگر اگر مهار کننده با آنزیم ترکیب شود سعی در نگهداری شکل آنزیم بفرم غیر فعال T خواهد بود و اگر فعال کننده با آنزیم ترکیب شود سبب ثابت نگه داشتن شکل آنزیم بفرم R کرده و میل ترکیبی آنرا با سوبسترا [S] بیشتر می کند (شکل ۱۸) :

آنزیمهای آلوستریک دارای چند زنجیره پروتئینی هستند، معمولاً تعداد زنجیره ها زوج است، وزن مولکولی بالائی دارند و از معادلات میکائلیس و منتون مطابعت نمی کنند. منحنی فعالیت آنزیم برحسب غلظت هـای مختلـف سوبـسترا بـشکل سـیگموئیدی (S کـشیده) می باشد.



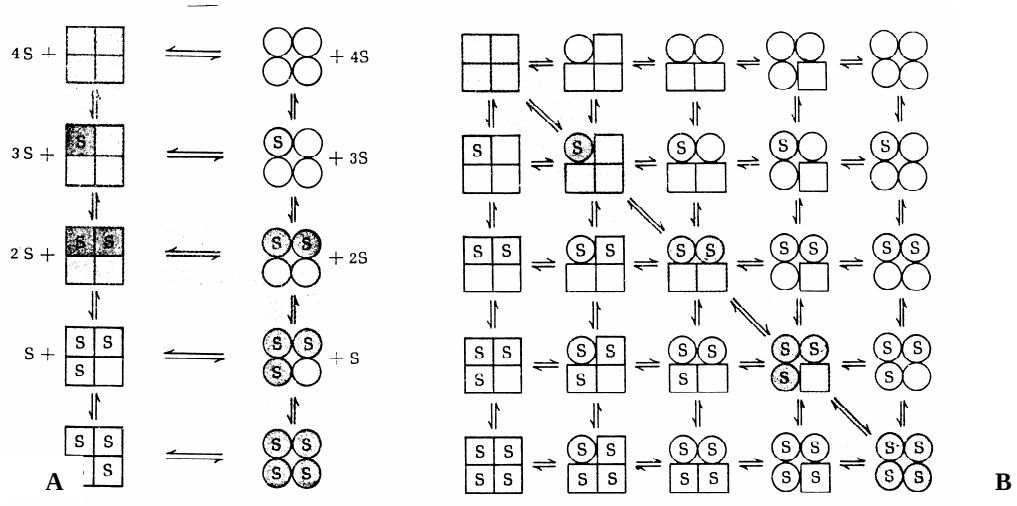
شکل ۱۷ : منحنی سرعت واکنش یک آنزیم آلو ستریک برحسب غلظت های مختلف سوبسترا. منحنی بشکل سیگموئیدی است. مهار کننده باعث کم شدن سرعت واکنش و آنزیمی فعال کننده باعث بیشتـر شدن فعالیت واکنش آنزیمی می شود



شکل ۱۸ : آنزیمهای آلوستریک در فضا به دو شکل R وT وجود دارند. S و فعال کننده آنزیم را بشکلR و مهار کننده آنزیم را بشکل T نگه میدارند

علت شکل سیگموئیدی بودن منحنی فعالیت آنزیم آلوستریک آنستکه زیرواحدهای این آنزیمها بطور غیرکووالان با یکدیگر ارتبـاط دارند و تغییر شکل در ساختمان یک زیرواحد باعث تغییر شکل در زیرواحدهای دیگر می شود و آنها آسانتر با سوبسترا ترکیب می شوند. شکل ۱۹ : این نوع حالت تعاونی و ارتباط بین زیرواحدها باعث می شود کـه در یـک غلظـت مخـصوص و محـدود از سوبـسترا تمـام زیرواحدهای آنزیم با سوبسترا ترکیب و بسرعت و در زمان بسیار کوتاهی تبدیل به محصول شوند. و بـرعکس بـا تغییـر جزئـی در ایـن

غلظت سوبسترا آنزیم می تواند غیرفعال شده و سرعت واکنش کم شود اصلاحاً مـی گوینـد (Switch on, Switch off) در یـک غلظت بسیار محدود آنزیم فعال یا غیرفعال می شود. در غلظت های پائین سوبسترا چون تمام زیرواحدهای آنزیمها با سوبـسترا ترکیـب نشده اند محصول بسیار ناچیز است . آنزیمهای معمولی اگر چند واحدی باشند، هرکدام از زیرواحدها مستقل عمـل کـرده و ارتبـاطی بـا زیرواحدهای دیگر ندارد.



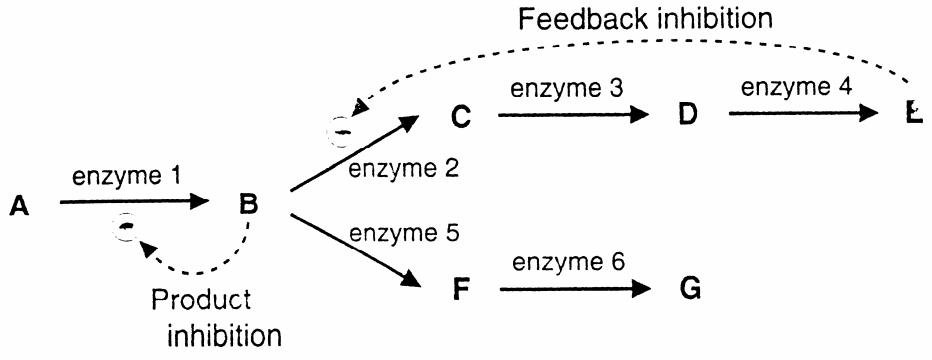
شکل ۱۹ : دونمونه برای تبدیل اشکال فعال و غیرفعال آنزیمهای آلوستریک. A: متقارن B : متوالی

مهار کننده پس نورد (Feed Back Inhibitor)

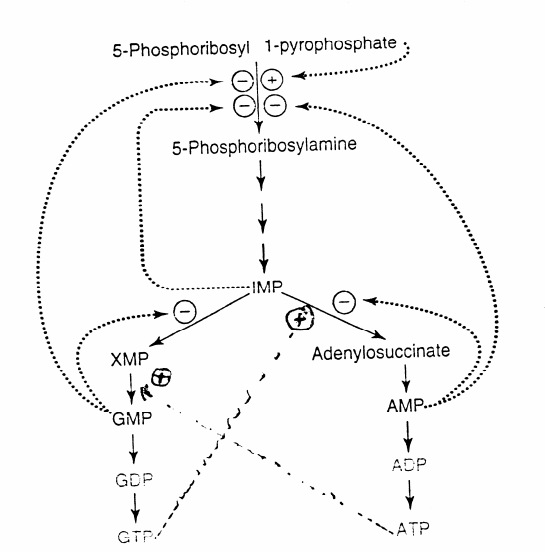
کنترل خیلی از واکنشهای متابولیکی توسط مهار کننده های پس نورد انجام می گیرد. بدین معنی که در سیستمهای چند آنزیمی غلظت بالای محصول نهائی می تواند آنزیم اولیه و یا نزدیک به آنزیم اولیه را مهارکند. شکل ۲۰ :

مهار کننده های پس نورد سرشاخه شدن واکنشها هم می توانند عمل کنند. شکل ۲۰ :

معمولاً آنزیمهائی که توسط محصول نهائی مهار می شوند. آنزیم های آلوستریک هستند.

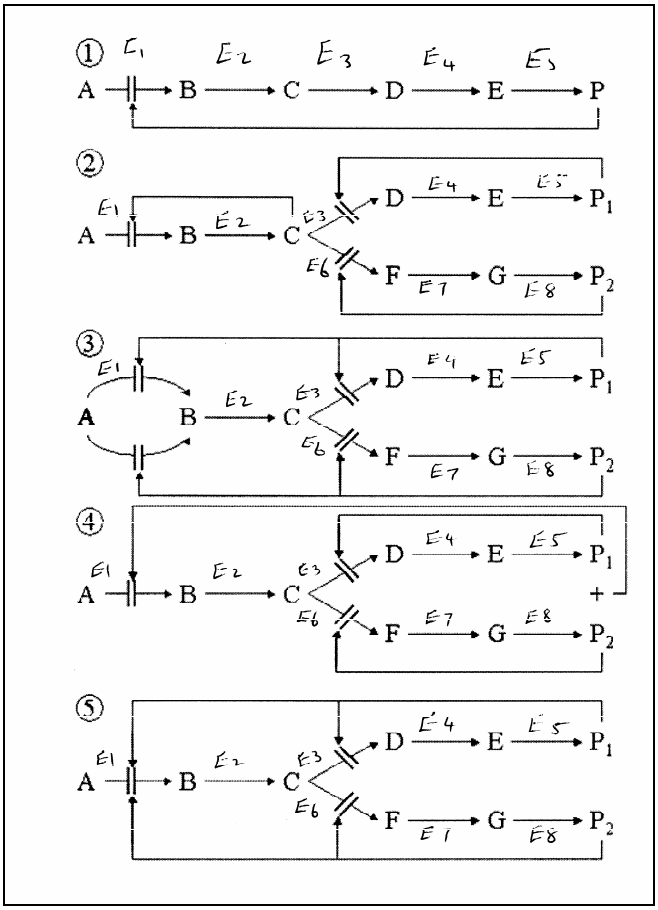


شکل ۲۰ : مهار آنزیم اولیه و سرشاخه توسط غلظت بالای محصول



شکل ۲۰ : مثال کنترل و تنظیم سنتز GMP و AMP بروش مهار کننده پس نورد

بیشتر بدانیم

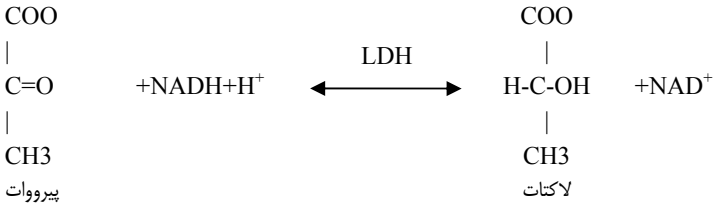


شکل ۲۰ : انواع راههای کنترل و تنظیم به روش مهار کننده پس نورد

۵- ایزو آنزیمها (ایزوزیمها) (Isozymes=Isoenzymes)

ایزوآنزیمها اشکال متفاوت یک آنزیم هستند که کاتالیزر یک نوع واکنش هستند. همگی روی یک نوع سوبسترا عمل کرده و آنرا به محصول تبدیل می کنند. دارای کد ژنتیکی متفاوت (یا نزدیک بهم) هستند و از لحاظ ساختمانی باندازه کافی با همدیگر متفاوت هستند که می شود با روشهای آزمایشگاهی (مثلاً الکتروفورز) آنها را از یکدیگر جدا کرد. پس دلیل مشابه بودن عمل کاتالیزری آنها بعلت شباهت در جایگاه فعال آنزیم می باشد.

مثال : آنزیم لاکتات دهیدروژناز (LDH(Lactate Dehydrogenase) کاتالیزر واکنش تبدیل لاکتات به پیرووات و برعکس است.



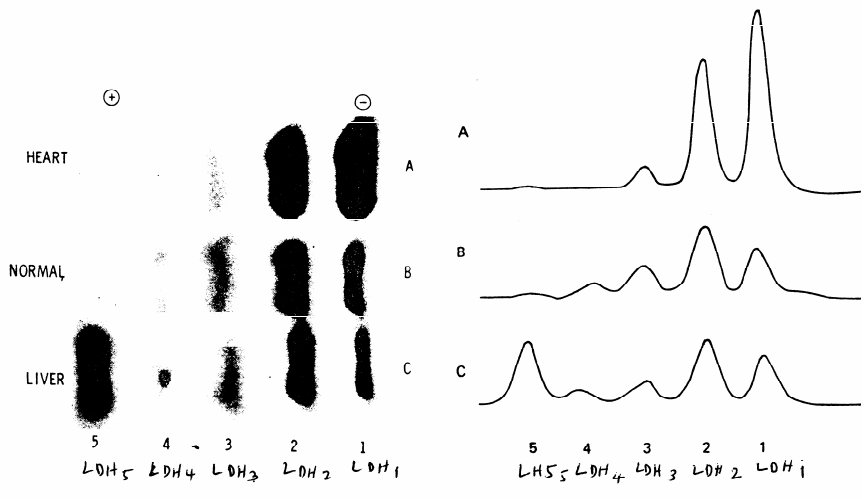
آنزیم لاکتات دهیدروژناز دارای چهار زیرواحد است و دو نوع زنجیره دارد بنامهای M(از ماهیچه Muscle) H (از Heart =قلب) است.

لاکتات دهیدروژناز دارای ۵ ایزوآنزیم است که همگی کاتالیزر واکنش بالا هستند.

ایزوآنزیم LDH5 (M4) بیشتر در عضله یافت می شودو میل ترکیبی	LDH1 HHHH
آن با پیرووات بیشتر است ، بنابراین واکنش بیشتر	LDH2 HHHM
از پیرووات به طرف لاکتات است	LDH3 HHMM
در قلب که محیط هوازی است پیش رفت واکنش	LDH4 HMMM
بیشتر از طرف لاکتات به پیرووات است	LDH5 MMMM

بنابراین ایزوآنزیمها از لحاظ Km و Vmax با یکدیگر متفاوت هستند گرچه همگی روی یکنوع سوبسترا اثر دارند.

بررسی تغییرات ایزوآنزیمها از نظر بالینی مهم هستند و برای تشخیص محل آسیب دیده بسیار مهم هستند چنانچه کل آنزیم در خون بالا رود پس از الکتروفورز و مشخص کردن آنکه کد ام نوع بالاترین مقدار را نشان می دهد محل بافت آسیب دیده را آسانتر مشخص می کند مثلاً LDH1 و LDH2 در سکته قلبی بالا میروند LDH3 در عوارض کبدی و ماهیچه ای بالا میرود. شکل۲ :



شکل ۲۱ : پراکندگی ایزوآنزیمهای LDH در بافت قلب، سرم طبیعی و بافت کبد

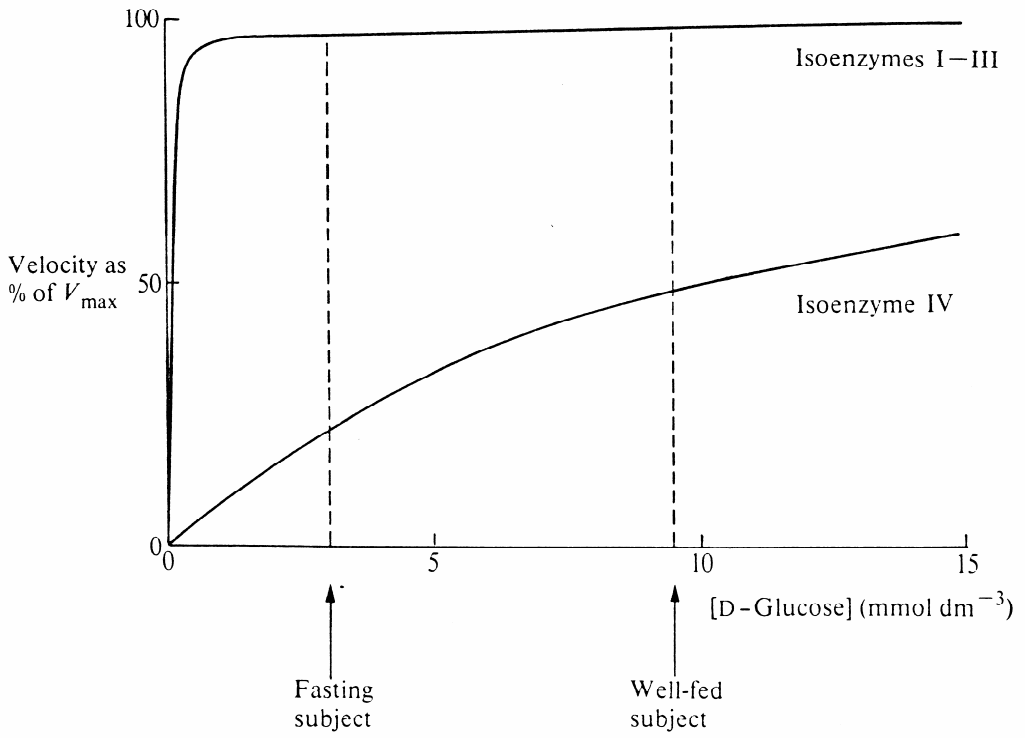
یک مثال بسیار گویا جهت کنترل و تنظیم توسط ایزوآنزیمها، آنزیم هگزوکیناز است که کاتالیزر واکنش زیرمی باشد.

$$\text{ADP} + \text{گلوکز-۶-فسفات} \xrightarrow{\text{هگزوکیناز}} \text{ATP} + \text{گلوکز}$$

آنزیم هگزوکیناز دارای چهار ایزوآنزیم است که بنامهای هگزوکیناز I، II ، III و IV مـی باشـند. سـه ایزوآنـزیم I و II و III در بیشتر بافتها یافت می شوند. هگزوکیناز نوع IV که به آن گلوکزکیناز هم می گویند فقط در کبد موجود است. هگزوکینـاز I و II و III میل ترکیبی بیشتری با گلوکز دارند تا هگزوکیناز IV و دارای Km بسیار کوچکتری از نوع IV هگزوکیناز I هستند(km هگزوکینـاز I مساوی است با $40\mu mol/dm^{-3}$.) حتی در زمان گرسنگی($3.5\ mmol/dm^{-3}$)که گلوکز خون پـائین اسـت مـی تواننـد فعـال باشند و گلوکز را به گلوکز-۶-فسفات تبدیل و در نهایت باعث تولید انرژی شوند. شکل ۲۱ . غلظت بالای گلوکز-۶-فسفات (G-6-P) می تواند این سه آنزیم را مهار می کند.

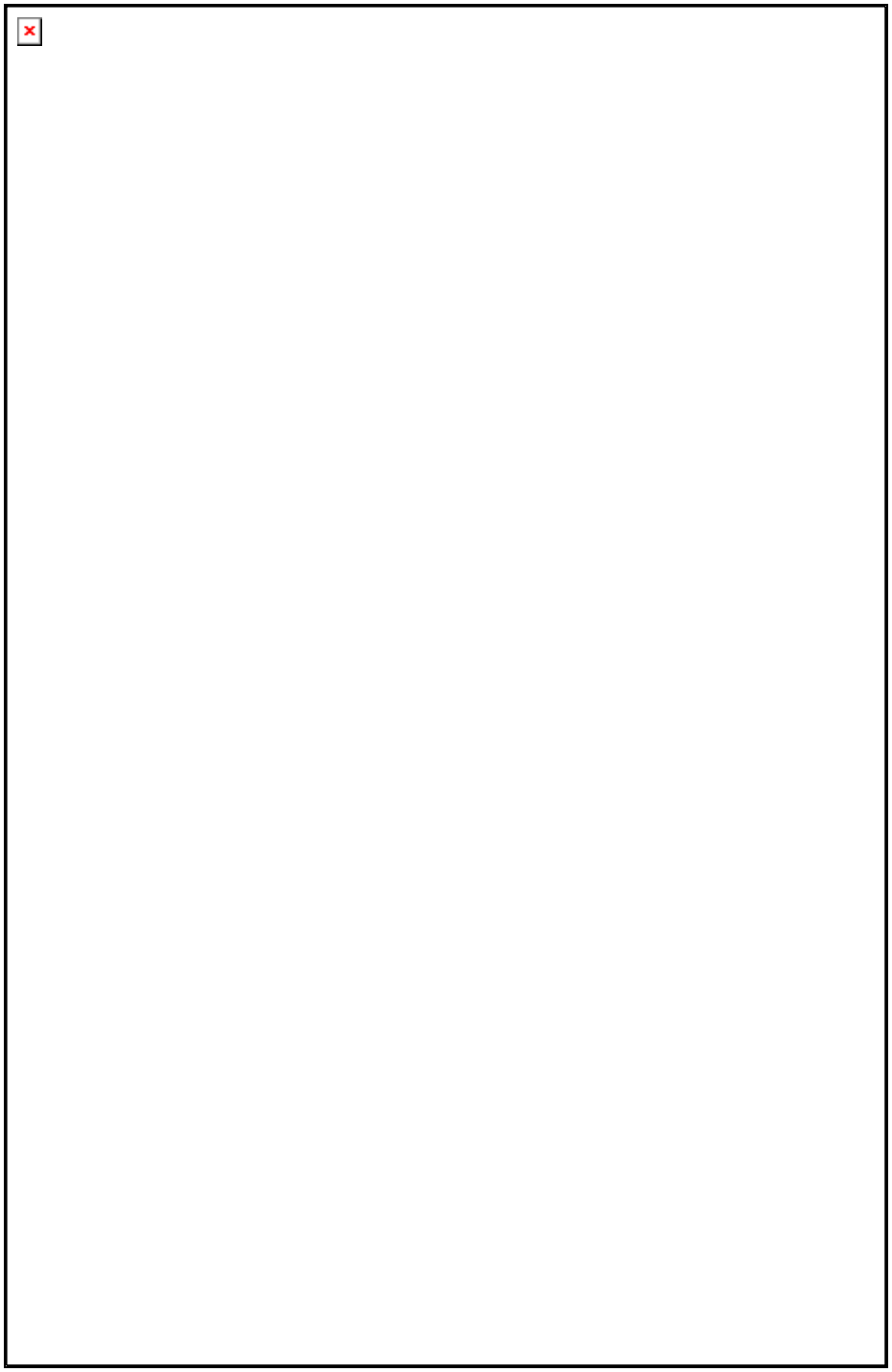
در صورتیکه هگزوکیناز IV که میل ترکیبی کمتری با گلوکز دارد ($Km=10mmol/dm^{-3}$) است و زمانیکه گلوکز خون پـائین است فعالیتش بسیار کم است و زمانی فعال می شود که گلوکز خون بالا باشد. (پس از مصرف یک غذای پر کربوهیدرات) زمانیکه فعال شود گلوکز را به گلوکز-۶-فسفات تبدیل و در نهایت آنرا به گلیکوژن تبدیل کرده و گلیکوژن هم ذخیره می شود. در ضمن G-6-P در غلظت بالا باعث مهار هگزوکیناز IV نمی شود.

پس کنترل هگزوکیناز I و II و III توسط محصول و کنترل هگزوکیناز IV وابسته به غلظت سوبسترا می باشد. نکته دیگر اینکـه گلوکز-۶-فسفات (G-6-P) بر سر دوراهی تولید انرژی از گلوکز و از طرف دیگر تبدیل آن بـه گلیکـوژن و ذخیـره گلیکـوژن اسـت . بنابراین یک ایزوآنزیم G-6-P را بسوی تولید انرژی و ایزوآنزیم دیگر بسوی ذخیره انرژی هدایت می کند.(شکل ۲۱ و ۲۲)



شکل ۲۱ : تفاوت سرعت واکنش ایزوآنزیمهای هگزوکیناز I و II و III با ایزوآنزیم هگزوکیناز IV برحسب غلظت های متفاوت گلوکز

بیشتر بدانیم



شکل ۲۲ : تبدیل گلوکز-٦- فسفات به گلیکوژن و پیرووات که پیرووات برای تولید انرژی به سیکل کربس می رود

یک مثال دیگر: از ایزوآنزیم ها، آنزیم کره آتین کیناز Creatine keinase (CK) است که کاتالیزر واکنش زیر می باشد:

$$\text{ADP} + \text{کره آتین فسفات} \xrightarrow[\text{کره آتین کیناز}]{} \text{ATP} + \text{کره آتین}$$

ایزوآنزیمهای کره آتین کیناز

این آنزیم دارای دو زیر واحد است به نامهای M (از لغت Muscle) و B (از لغت Brain) . دارای سه نوع ایزوآنزیم است که عبارتند از : CK_2=MB, CK1 =BB و CK3 = MM که CKBB در مغز وجود دارد و CKMM در بافتهای ماهیچه ای و MB بیشتر در ماهیچه قلب.

اندازه گیری بعضی از آنزیمها ارزش کلینیکی دارند و بخصوص اندازه گیری ایزوآنزیمها کمک شایانی در تشخیص بافت آسیب دیده دارد. (ارزش کلینیکی آنزیمها در درسنامه های ارگان سیستم مربوط به هر ارگانی مفصل شرح داده خواهند شد)

نام گذاری و طبقه بندی آنزیمها

آنزیمها را برحسب واکنشی که انجام می دهند نامگذاری می کنند . قبلاً برای نامگذاری آنزیم کلمه آز (ase) را به آخر سوبسترا اضافه کردند. مانند: اوره آز (urease) روی اوره اثر دارد و فسفاتاز (phosphatase) برای برداشت فسفات از یک ملکول دهنده فسفات . برخی از آنزیمها مطابق این قانون نامگذاری نشده اند. مانند تریپسین- کیموتریپسین و .... یک کمیته بین المللی تشکیل گردید و آنزیمها را به ۶ دسته اصلی برحسب واکنشی که انجام می دهند تقسیم کردند و هر دسته دارای زیر دسته های مربوط به خود می باشد. مانند: انزیم کره آتین کیناز (CK) کاتالیزر واکنش زیر می باشد،

$$\text{ATP} + \text{کره آتین} \xrightleftharpoons{\text{کره آتین کیناز}} \text{P} + \text{کره آتین فسفات}$$

به روش جدید، نام کره آتین کیناز عبارت است از ، ATP ، کره آتین ، فسفوترانسفراز خوانده می شود و دارای شماره EC.2.7.3.2 می باشد.

EC = Enzyme Commission
2 = جزء آنزیمهای ترانسفراز است
7= گروه فسفات را ترانسفر می کند
3= پذیرنده گروه فسفات یک گروه آمین است
2= نام کره آتین کیناز (CK) نام قدیم

دسته بندی آنزیمها عبارتند از:

۱- اکسید و ردوکتازها (Oxido reductases) :

تمام آنزیمهائی که کاتالیزر واکنشهای اکسیداسیون و احیاء هستند جزء این گروه می باشند مانند: دهیدروژنازها و اکسیدازها- پراکسیداز و غیره مثال: دهیدروژناز

$$\text{لاکتات} + NAD^+ \xrightleftharpoons{\text{لاکتات دهیدروژناز}} \text{پیرووات} + NADH+H^+$$

لاکتات	پیرووات
COO	COO
|	|
H – C – OH	C-O
|	|
CH3	CH3

۲- ترانسفرازها (Transferases)

انتقال یک گروه از یک ملکول به ملکول دیگر $X-Y+Z \longrightarrow X-Z+Y$

برای مثال انتقال گروه فسفات از ATP به کره آتین توسط آنزیم کره آتین کیناز

مانند: کینازها که گروه فسفات را انتقال می دهند،

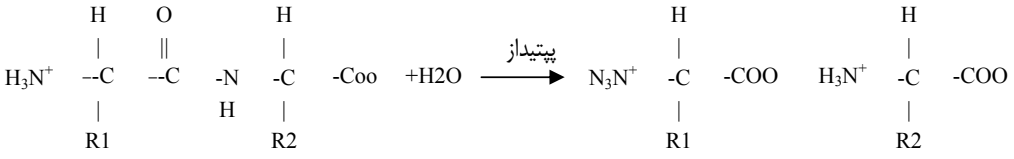
$$\text{ATP} + \text{کره آتین} \xrightarrow[(CK)]{\text{کره آتین کیناز}} \text{ADP} + \text{کره آتین فسفات}$$

و مثال دیگر آنزیم های آمینو ترانسفراز که گروه آمین را انتقال می دهند.

۳- هیدرولازها (Hydrolazes)

هیدرولیز (شکستن) باندها با مشارکت یک ملکول آب (H2O)

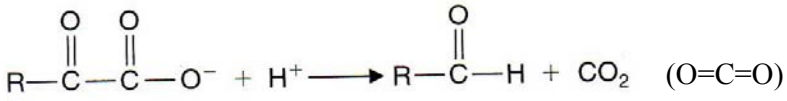
مانند: پپتیدازها، لیپازها، استرازها و غیره .....



٤- لیازها (Lyases)

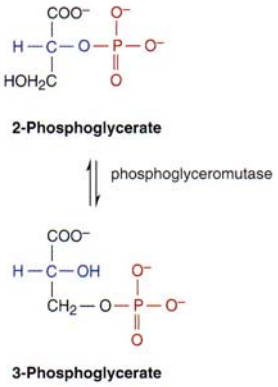
تبدیل پیوند یگانه به دو گانه یا اضافه کردن گروه های دیگر به پیوند دو گانه مانند: دکربوکسیلازها

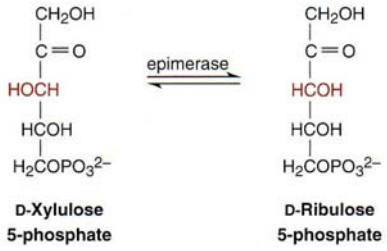
مثال: دکربوکسیلاز



۵- ایزومرازها (Isomerases)

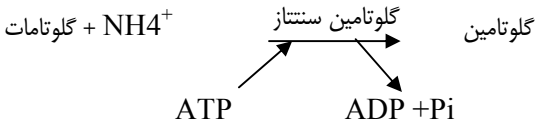
تبدیل انواع ایزومری به یکدیگر ، مانند D و L یا سیس و ترانس آنزیمهای جزء این دسته مانند ایزومرازها- اپیمرازها- موتاز





٦- لیگازها (Ligases)

برای اتصال دو ملکول توسط این آنزیمها احتیاج به انرژی می باشد مانند: آنزیمهای سنتتازها :



فصل نهم

کوانزیم و ویتامین ها

ویتامین ها

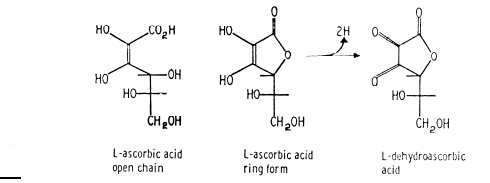
ویتامین ها ترکیباتی ضروری هستند، زیرا سنتز نمی شوند، ولی در مقایسه با اسیدهای آمینهٔ ضروری ، فقط در مقادیر اندک مورد نیازند، بنابراین به آنها « مواد غذای ریز، ضروری» می گویند. نام ویتامین از کلمهٔ ویتال آمینز[1] گرفته شده است، اما در واقع کمتر آمینه هستند و بیشتر گروهی از ترکیبات ناهمگن دارند. در بسیاری موارد گروهی از ترکیبات مشابه (ایزوویتامین ها[2]) با ویتامین دارای فعالیت یکسان هستند. پیش سازهای ویتامین ممکن است در بدن فعال شوند. در آغاز ویتامین ها با حرف اولشان معرفی می شدند که در بیشتر موارد هنوز رعایت می‌شود، اما بهتر است که از نام شیمیایی آنها استفاده شود. مخصوصاً در مورد ویتامین B کمپلکس که ممکن است حرف داده شده و کد آن برای ترکیبات مختلف استفاده شود. ویتامین ها به گروه های محلول در آب و محلول در چربی تقسیم می‌شوند (جدول ۱)

جدول ۱: اسامی و خصوصیات ویتامین ها

Vitamin	Synonyms	Deficiency disease	Function
Water soluble			
C	Ascorbic acid	Scurvy	Oxidation-reduction
Thiamine	Aneurine(e).B_1	Beriberi	Oxidative decarboxylation
Riboflavine	B_2, G	Aribоflavinosis	Oxidation-reduction (FAD and FMN)
Nicotinic acid and nicotinamide	Niacin and niacinamide	Pellagra	Oxidation-reduction (NAD and NADP)
Pyridoxaine Pyridoxal and Pyridoxamine	B_6	Various in experimental animals. Man probably never dificient	Amino acid reactions e.g. involving transfer of amino group
Pantothenic acid	B_3	None known in man	Part of coenzyme A
Folic acid	Pteroyl glutamic acid	Megaloblastic anaemia	Transfer of one-carbon units except CO_2
Biotin	H	Only one case reported	Carboxylation by CO_2
Cyanocobalamine	B_{12}	Pernicious anaemia	Concerned with methyl transfer
Fat soluble			
A_1	Retinol	Night-blindness and Keratomalacea	Rhodopsin (visual purple) component
A_2	Dehydroretinol		
D_2	Ergocalciferol or calciferol	Rickets and osteomalacea	Calcium absorption and bone formation
D_3	Cholecalciferol		
K	Menaphtone menadione	Prolongedblood clotting time	Prothrombin formation
E	Tocopherols, anti sterilty factor	None found in man	None proved in man

ویتامین C (اسید آسکوربیک)

پستانداران، انسان و خوکچهٔ هندی قادر به سنتز میزان کافی اسید آسکوربیک نیستند.

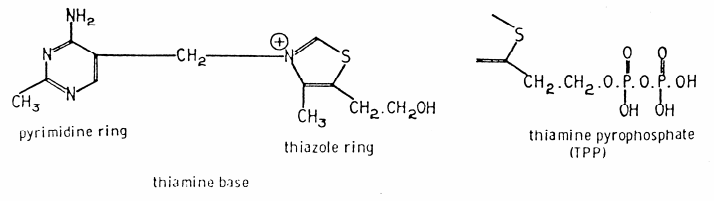


1. Vital amines
2. Isovitamines

ویتامین C یک ترکیب کربوهیدرات است که به سهولت و به طور برگشت پذیر به دهیدروآسکوربیک اسید، اکسید می شود. در محلول سرد اسیدی، پایدار است، اما در اثر حرارت یا قلیا بویژه در حضور مقادیر اندکی از نمک های فلزی از بین می رود.

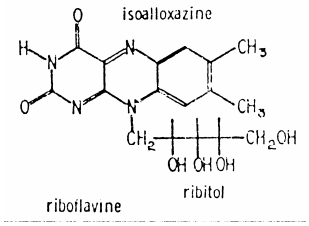
تیامین

در سال ۱۸۹۷، ایجک من کشف کرد که بیماری بری بری در پرسنل نظامی و در جوجه هایی که با برنج جلا یافته (برنج از پوستها جدا می شود) تغذیه می شدند، بروز پیدا کرده است. با تغذیه برنج دست نخورده یا تکمیل برنج جلا یافته با عصارهٔ پوست برنج می‌توان به طور موثر بهبودی حاصل کرد. عامل فعال این نمونه عصاره ها در سال ۱۹۲۶، کریستالیزه و در سال ۱۹۳۶ سنتز شد. ملکول تیامین مرکب از دو حلقهٔ هتروسیکل است. حلقه تیازول در دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو پیروات به استیل کوآنزیم A و آلفا اکتیوگلوتارات به سوکسینیل کوآنزیم A مشارکت مستقیم دارد. این دو واکنش در راه های متابولیکی اصلی هستند، اولی ویژهٔ شکستن کربوهیدرات و بعدی در چرخهٔ کربس است. شکل کوآنزیم (کوکربوکسیلاز) تیامین که در این فرآیندهای آنزیمی شرکت می کنند، تیامین پیروفسفات (TPP) است. چون TPP یک کوفاکتور متابولیسمی کربوهیدرات است، مقدار توصیه شده، به کربوهیدرات جذب شده بستگی دارد.

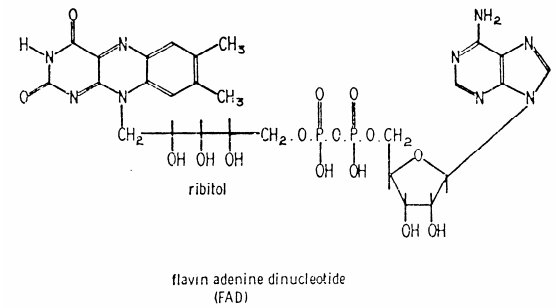


ریبوفلاوین

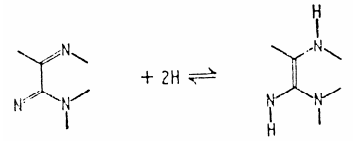
این ترکیب زردرنگ دارای یک ساختمان حلقوی هتروسیکل (ایزوآلوکسازین) است که با یک قند الکلی، ریبیتول ترکیب شده است.



ریبوفلاوین، جزء عمل کنندهٔ کوآنزیم های اکسیداسیون و احیا، فلاوین مونونوکلئوتید (FMN) ، (ریبوفلاوین فسفریله شده در انتهایی ریبیتول) و CH_2OH FAD را تشکیل می دهد.

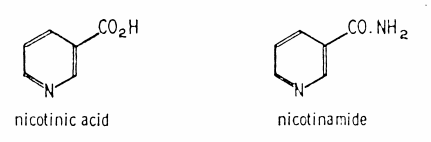


این کوآنزیم ها در دهیدروژناسیون برخی سوبستراها (مثل سوکسینات) و نیز در انتقال نیروی احیا کننده در زنجیرهٔ انتقال الکترون مداخله می کنند. حلقه فلاوین در این فرآیندها به طور برگشت پذیر احیا می شود.

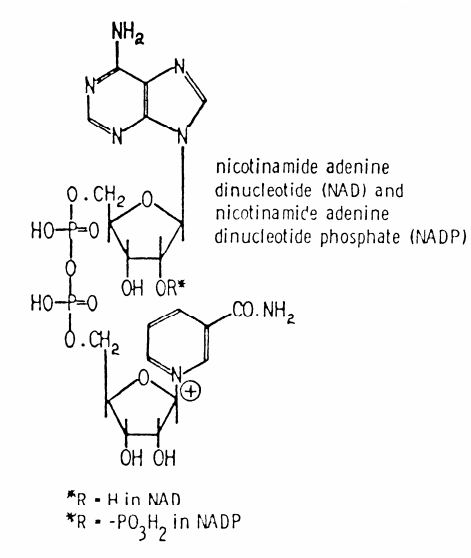


اسیدنیکوتینیک

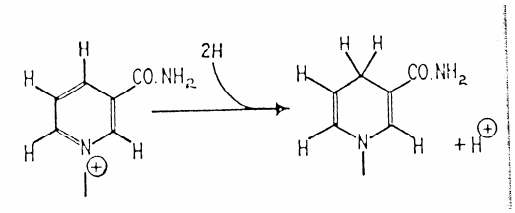
در سال ۱۹۲۸، تاثیرات عصارهٔ مخمر جوشانده شده در معالجهٔ پلاگرا کشف شد و عصاره های دیگر بافت ها، به عنوان عامل علاج بخش مقاوم به حرارت مورد آزمایش قرار گرفتند. در سال ۱۹۳۷، معالجهٔ پلاگرا به وسیلهٔ نیکوتینامید استخراج شده از کبد در حیوانات نشان داده شد. سپس اسیدنیکوتینک سنتزی، به سرعت برای درمان پلاگرای انسان معرفی شد. عمل نیکوتین آمید به عنوان ترکیبی از کوآنزیم های دهیدروژناسیون، پیش از آن در سال ۱۹۳۵، حین مطالعه تخمیر و تنفس بافتی تشریح شده بود.



باقی ماندهٔ نیکوتین آمید، گروه عمل کننده در (NADP) و (NAD) است.



در واکنش های دهیدروژناز این کوآنزیم ها، احیا می شوند.



طبق این شکل ها کوآنزیم ها باید به طریقه زیر نوشته شوند:

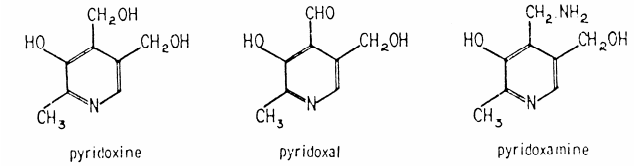
NAD^+, $NADH+H^+$ ، $NADP^+$ و $NADPH+H^+$

اما به طور ساده تر، نمونه هایی با صحت کمتر به شکل های NAD، $NADH_2$، NADP و $NADPH_2$ به کار می روند.

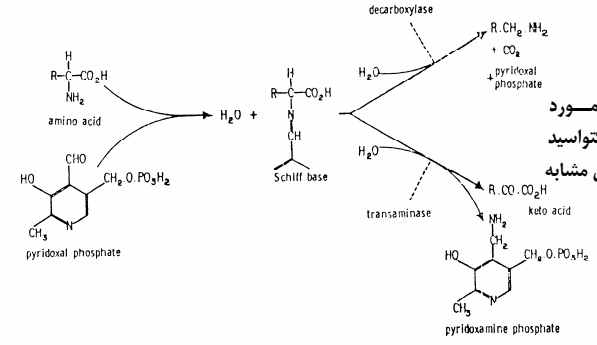
بیان حالت، نیاز مطلق به نیکوتین آمید مشکل است، زیرا مثل دیگر ویتامین های B، قسمتی از نیاز به آن به وسیلهٔ باکتری روده تأمین می شود. همچنین اسید آمینهٔ ضروری تریپتوفان می تواند با راندمان پایین به نیکوتین آمید تبدیل شود. بنابراین ۶۰ میلی گرم از تریپتوفان در رژیم غذایی معادل با ۱ میلی گرم از نیکوتین آمید است. بنابراین رژیم غذایی توصیه شده، تنها یک راهنمای تکمیلی است.

پیرودوکسین ومتعلقات آن

پیرودوکسین، الکل نوع اول؛ در مواد غذایی همراه با آلدئید مربوطه (پیریدوکسال) و آمین آن (پیریدوکسامین) یافت می شود و هر سه فعالیت ویتامینی مشابهی دارند.



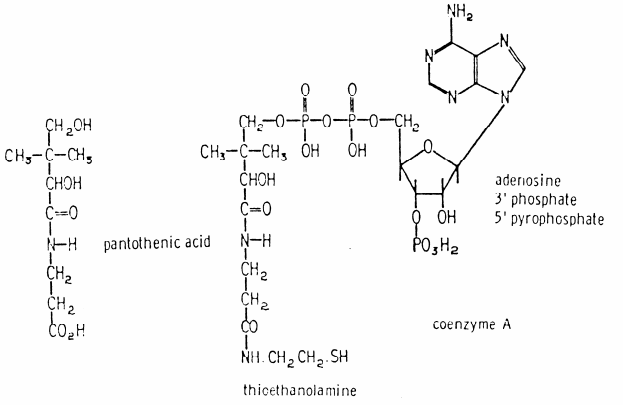
کوآنزیم فعال، به وسیله فسفریلاسیون گروه الکلی از پیریدوکسال مشتق می شود. در تعدادی از واکنش های اسیدهای آمینه که در آنها باقی مانده آلدئید پیریدوکسال با گروه آمین اسیدهای آمینه به شکل یک بازشیف (شکل ۱) شرکت می کند. ماهیت واکنش دوم به خواص آنزیم ویژه موجود بستگی دارد.



شکل ۱: کاتالیز توسط آنزیم های وابسته به پیریدوکسال فسفات، در مورد ترانس آمینازها، واکنش به سمت راست با تشکیل پیریدوکسامین و یک کتواسید به وقوع می پیوندد. سپس کتواسید دوم، به وسیله یک سری واکنش های مشابه گروه آمین را از سمت راست به چپ، دریافت می کند.

اسید پانتوتنیک

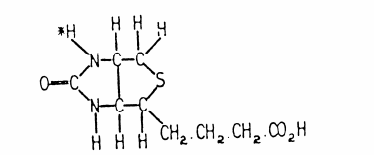
اسیدپانتوتنیک به عنوان عامل رشد برخی مخمرها کشف شد و سبب کمبودهایی شده است. کمبودی از آن در انسان گزارش نشده است. شاید دلیل آن گستردگی حضورش در مواد غذایی باشد. گرچه فقدان چنین بیماری‌هایی دلیل شک و تردید نسبت به اهمیت این ماده در تغذیه انسان نیست. این ملکول قسمتی از ساختمان کوآنزیم A را تشکیل می‌دهد، که در متابولیسم اسیدهای چرب اهمیت دارد.



بیوتین

این ویتامین در مقادیر اندک به طور موثر و گسترده ای یافت می شود. مانند بسیاری از ویتامین های B، بیوتین به وسیله فلور روده سنتز می گردد. به این دلیل، کمبود بیوتین در حیوانات و انسان ها به ندرت دیده می شود. سفیدهٔ تخم مرغ دارای پروتئینی به نام آویدین است که با بیوتین متصل می شود و آن را غیر قابل استفاده می کند. آویدین نسبت به گرما مقاوم نیست بنابراین تخم مرغ پخته، فعالیت ضد بیوتین ندارد.

عمل بیوتین به عنوان یک کوآنزیم در واکنش هایی است که باعث اتصال یک ملکول دی اکسیدکربن می شود. مثلاً در تبدیل استیل کوآنزیم A به مالونیل کوآنزیم A در بیوسنتز اسید چرب.

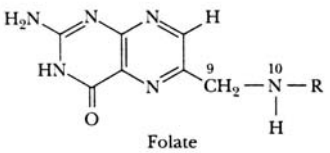


biotin ion carboxylation, *H is replaced by CO_2^{-}

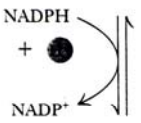
اسید فولیک

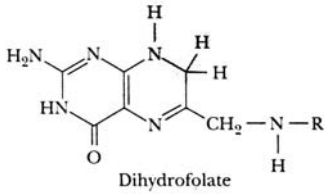
کم خونی مگالوبلاستیک در میمون هایی که از نان سفید و برنج پوست کنده تغذیه می کردند، در سال ۱۹۳۳ مشاهده شد که به وسیله عصارهٔ مخمر معالجه شدند. اسید فولیک که به عنوان فاکتور رشد برای لاکتوباسیلوس کازئی در سال ۱۹۴۵، جدا شده بود. در سال بعد سنتز شد و نام پتروئیل گلوتامیک اسید به آن داده شد.

ساختمان تبدیل $F- FH_2- FH_4$

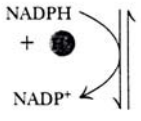


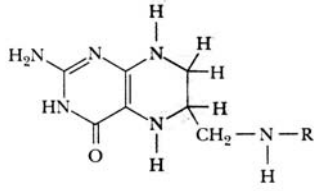
Folate



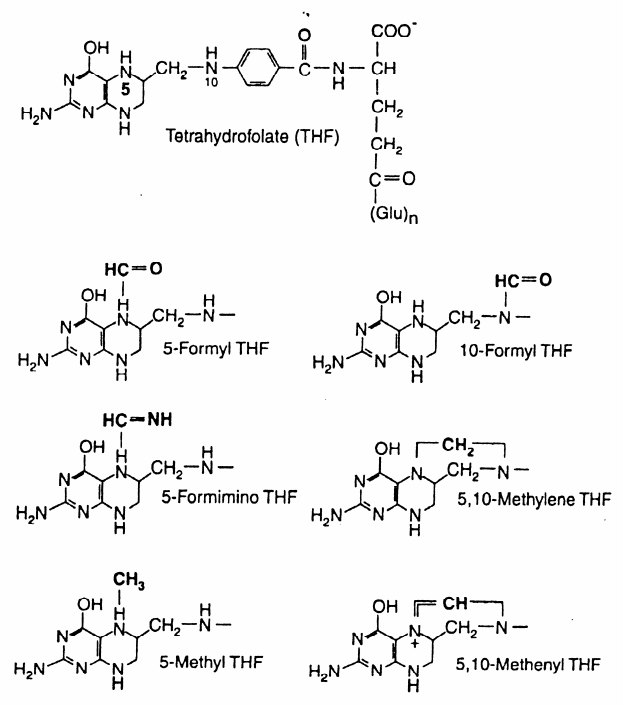


Dihydrofolate



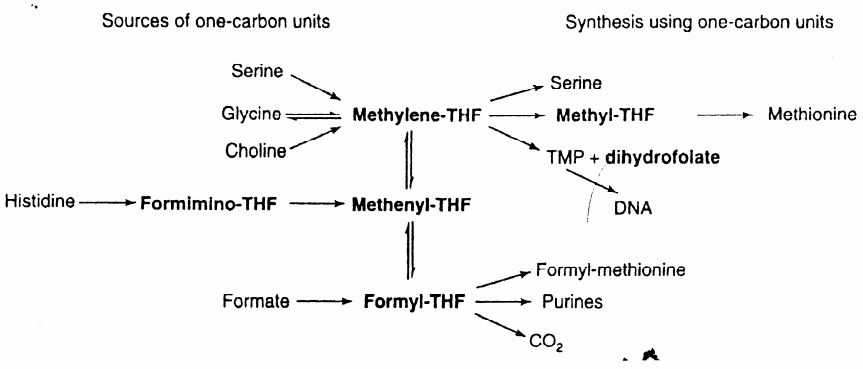


Tetrahydrofolate



واژه اسید فولیک در یک معنی کلی به کار برده می شود که طیف کلیه ترکیبات وابسته را در بر می گیرد.

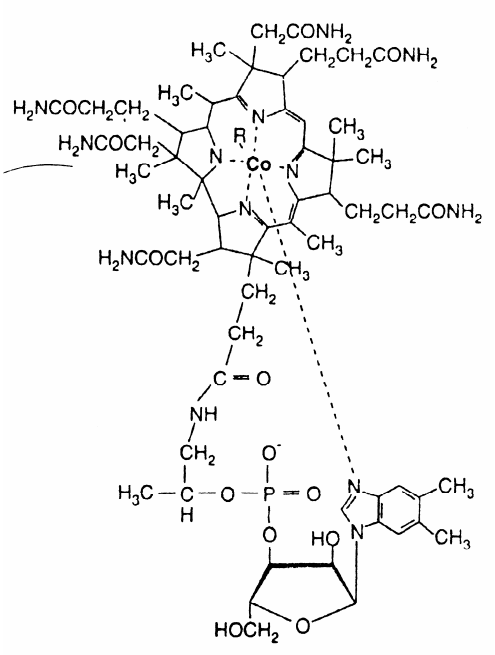
وظیفه ترکیبات اسید فولیک در واکنش های درگیر با رادیکال های تک کربنه مثل باقی مانده هـای متیـل ($-CH_3$) و فرمیـل ($-CHO$) است. جایگاه فعال ملکول، حلقهٔ سمت راست پترین همراه با متیلن و ازتی از باقیمانده P– آمینوبنزوئیک اسید است. واحدهای تک کربنه بر اتم های نیتروژنی پنج یا ده در شکل احیا شده اسید فولیک (تترا هیدروفولات) متصل می شـوند. ایـن ترکیبـات در سـنتز حلقه های پورین و سنتز اسید آمینه سرین به کار برده می شوند، و گروه های متیل، متیونین و تیمین را تهیه می کنند.



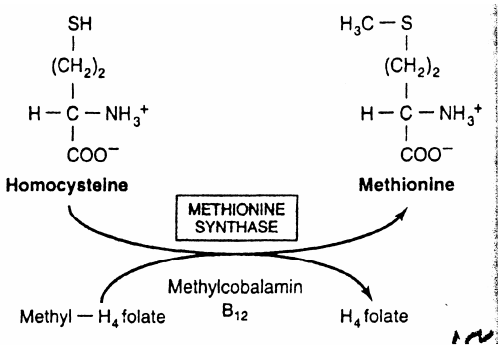
منابع و کاربرد فولاتهای دارای استخلاف تک کربنی

سیانوکوبالامین (ویتامین B_{12})

ویتامین B_{12} شامل یک حلقه پورفیرین مانند باکبالت، به عنوان اتم فلز مرکزی (آهن، فلز هموگلوبین، میوگلوبین و پورفیرین های سیتوکرم، منیزیم در کلروفیل یافت میشود) و یک ساختمان نوکلئوتیدی بین اتم کبالت و یکی از زنجیره های جانبی سیستم حلقوی متصل می شود. همچنین یک یون سیانید با اتم کبالت در سیانوکوبالامین متصل می گردد. از این رو، مشتقات سیانو تبدیل به مشتقات آدنوزین می شود که کوآنزیم حقیقی است. کوآنزیم کوبالامین برای انتقال گروه های متیل از تتراهیدروفولات لازم می شود.



ویتامین B12 (کوبالامین). R می تواند گوناگون باشد و اشکال مختلف ویتامین را بسازد، مانند $R=CN^-$ در سیانوکوبالامین



هموسیستئینوزی و احتباس فولات. کمبود ویتامین B_{12} منجر به مهار متیونین سنتاز می‌شود که نتیجه نهایی آن هموسیتئینوری و احتباس فولات به صورت متیل تتراهیدروفولات است

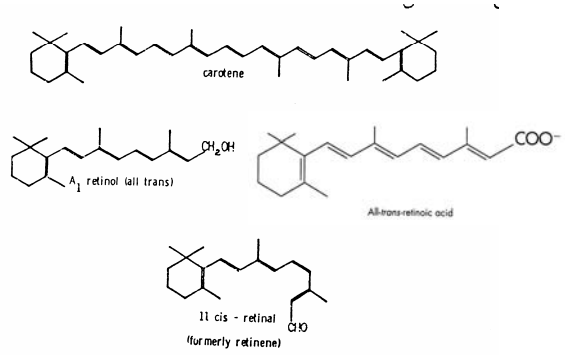
مواد دیگری که اغلب با ویتامین های B طبقه بندی می شوند

غالباً بین فهرست هایی از ویتامین های B،P- آمینوبنزوئیک اسید یافت می شود. این ماده به عنوان عامل رشد برای برخی میکروارگانیسم ها لازم است که با استفاده از آن، اسید فولیک ساخته می شود. چون انسان نمی تواند اسید فولیک بسازد، احتیاجی به P- آمینوبنزوئیک اسید ندارد.

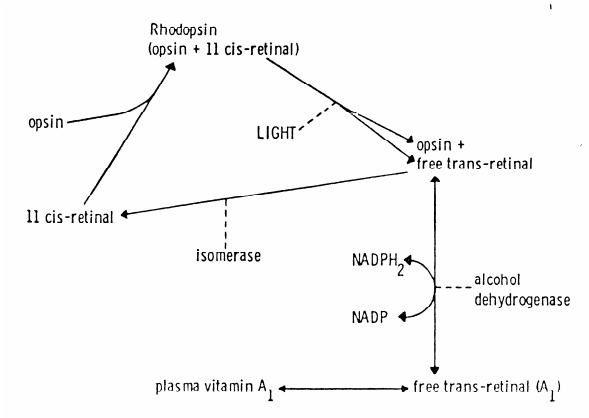
کولین و اینوزیتول ترکیباتی از فسفولیپیدها هستند و در موارد خوراکی کاملاً متداولند. برای این ترکیبات، سندروم های کمبود انسانی بیان نشده است، اما برای حیوانات آزمایشگاهی ضروری تعیین شده اند، زیرا این ترکیبات مانع تراوش چربی کبد در نتیجه یک رژیم غذایی پرچربی یا سموم می شوند و عامل های لیپوتروپیک نامیده می شوند. آنها احتمالاً برداشت چربی از کبد را به وسیله سنتز فسفولیپیدهای مربوط به خود، فسفاتیدیل کولین (لسیتین) و فسفاتیدیل اینوزیتول تسهیل می کنند. کولین ممکن است به عنوان یک دهنده متیل در متابولیسم عمل کند، اما در این نقش به شرط اینکه دهنده متیل دیگری حضور داشته باشند، ضرورت ندارد. اینوزیتول شش فسفاته، اسید فیتیک است که عامل پیوند شدهٔ کلسیم غلات است. مقابله کردن این عامل، سبب کاهش کلسیم قابل استفاده رژیم غذایی می شود. بنابراین در انگلستان به آرد، کربنات کلسیم اضافه می شود.

ویتامین A

بین سال های ۱۹۰۹ و ۱۹۱۷ هاپکینز،یک ترکیب محلول در چربی را از فرآورده های شیر، کبد و محصولات گیاهان مشخصی کشف کرد که بر ضد این حالت های تخریبی موثر است. دو نوع ویتامین در فرآورده های حیوانی یافت شده است. A_1 به طور عمده در حیوانات و ماهی های دریایی به دست می آیند، اما A_1 و A_2 به طور مساوی در ماهی های آب شیرین وجود دارند. فعالیت ویتامین در محصولات گیاهی با مقدار رنگدانه های کارتنوئیدی در آنها مربوط است (مثلاً یک ملکول بتاکاروتن می تواند به دو ملکول از ویتامین A شکسته شود). شکلی از ویتامین که در بینایی دخیل است آلدئیدی از ویتامین A_1 است. رتینال در واحدهای استوانه ای شبکیه، ایزومر ۱۱- سیس رتینال با پروتئین اُپسین ترکیب می شوند، درست است یا ارغوانی مرئی را تولید می کنند.



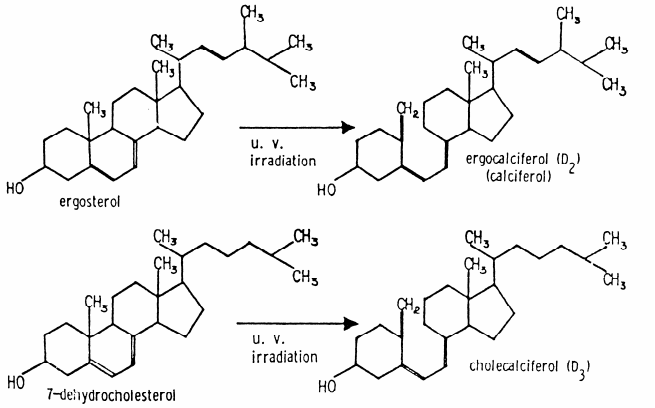
تاثیر نور بر ارغوانی مرئی سبب تجزیه آن شده و ایزومر تمام ترانس بخش رتینال آزاد می‌شود، که به وسیله یک ایزومر در روزنه چشم به شکل ۱۱-سیس تغییر می‌کند، بنابراین دوباره ارغوانی مرئی تشکیل می‌شود. ویتامین A_1 پلاسمایی به وسیله یک الکل دهیدروژناز به رتینال تمام ترانس اکسید می‌شود. بدین ترتیب واحدهای استوانه ای شبکیه برای دیدن در روشنایی کم قابلیت عکس العمل می یابند.



نقش ویتامین A در بینایی

ویتامین D

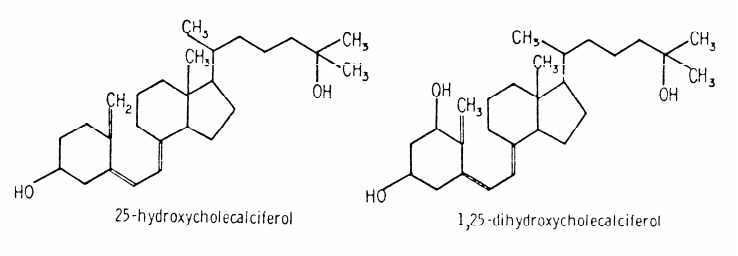
تاثیر نور ماورای بنفش (U-V) به مخلوطی از ترکیبات شامل کلسیفرول (ارگوکلسیفرول، D_2) ، سبب افزایش میزان ارگوسترولی می‌شود که در گیاهان و قارچها وجود دارد این افزایش خواص قابل توجهی دارد و در سطح وسیعی برای درمان استفاده می‌شود. در حیوانات ۷- دهیدروکلسترول در چربی و ترشحات جلدی کاملاً متداول است. این ماده به وسیله اشعه ماورای بنفش نور خورشید به پیش ویتامی D_3 تبدیل می‌شود که به آرامی به وسیله حرارت پوست به ویتامین D_3 مبدل می گردد که ویتامین فعال اصلی روغن های کبد ماهی نیز است.



پیش از این عنوان D_1 برای نشان دادن بخش فعال مخلوطی از ترکیبات به کار برده می شد، اما اکنون استفاده ای از آن نمی شود. اثر اصلی ویتامین D بالا بردن جذب کلسیم و اثر دوم آن ممکن است جلوگیری از نگه داشتن فسفات باشد. تجویز ویتامین D سبب افزایش جذب کلسیم و فسفات می گردد. همچنین باز جذب فسفات در لوله های ادراری تسهیل می شود و برای پیشرفت معدنی شدن استخوان، مقدار کلسیم و فسفات پلاسما را افزایش می دهد.

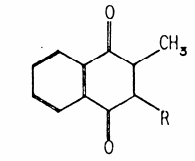
احتمالاً اشخاصی که پوست آنها به اندازه کافی در معرض نور خورشید قرار دارد، جز کودکان، زنان شیرده یا حامله و افراد مسن نیاز به رژیم غذایی ویژه ای ندارند. هیپوپاراتیروئیدیسم منجر به کاهش فعالیت 1-α هیدروکسیلاز می شود ونسبت به ویتامین D عکس العمل نشان نمی دهد. موثرترین مشتق ترکیب ۱، ۲۵–دی هیدروکسی است.

هیدروکسیلاسیون کوله کالسیفرول (از رژیم غذایی یا سنتز آن از کلسترول) در دو مرحله انجام می شود . نخست: هیدروکسیلاسیون کربن ۲۵ در کبد و سپس هیدروکسیلاسیون کربن ۱ در کلیه انجام می شود.۱، ۲۵–دی هیدروکسی کوله کلسیفرول، پروتئین حامل کلسیم را القاء می کند و جذب کلسیم را در موکوس روده و باز جذب آن را در استخوان بالا می برد و در هر دو مورد انتقال ثانویه، فسفات است.



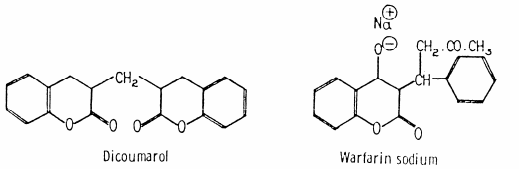
ویتامین K

خونریزی های داخلی خود به خود که در جوجه های جوان اتفاق می افتد و به وسیله یک ترکیب محلـول درچربـی، بـرگ گیاهـان معالجه می شود. همه ملکول ها بافعالیت ویتامینK، هسته های ۱-۴-نفتوکینون دارند که با یک گروه متیل و باقی مانـده R جانـشین شده اند. ساده ترین ملکول فعال که هسته سنتزی دارد (K_3) ، منادیون نامیده می شود که در آن R=H است، اما فعال ترین ملکـول ها، یک مشتق ایزوپرن دارند.



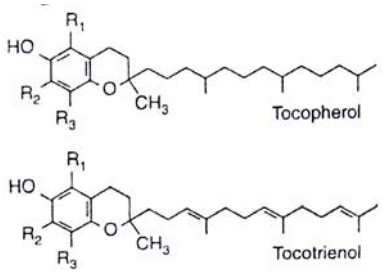
احتمالاً انسان از فلورهای باکتریایی خود ویتامینK کافی به دست می آورد. بنابراین کمبودهای انسانی در درمان دراز مدت با آنتـی بیوتیک یا در سندرم سوء تغذیه مشاهده می شود. گلهٔ گاوی به وسیلهٔ شبدر شیرین فاسد شده، که حاوی آنتاگونیست دیکومارول اسـت، موش های صحرایی به وسیله وارفارین مسموم شدند و جوجه هایی که در جذب ویتامین K ضعیف هستند، همگی دچار خونریزی های داخلی می شوند. زمان لخته شدن خون افزایش می یابد و سطح پروترومبین خون پایین می افتد.

منادیون برای مقابله با سانحهٔ مسمومیت با این مواد و برگشت تاثیرات زیاد ضد انعقادهای کلینیکی و نیز در بیمارانی که از ترومبـوز رنج می برند قابل استفاده است.



ویتامین E

ویتامین E به عنوان یک آنتی اکسیدان محلول در چربی در غشاهای سلولی عمل می کند و بسیاری از اعمالش در آنجا را می توان با آنتی اکسیدانهای صناعی تأمین کرد. ویتامین E نماینده عمومی ۲ خانواده از ترکیبات به نامهای توکوفرولها و توکوترینولها است توان زیستی ویتامینهای مختلف (ترکیباتی که فعالیت ویتامینی مشابه دارند) با هم فرق دارد، فعالترین آنها α-D – توکوفرول است و معمولاً دریافت ویتامین E را برحسب معادل میلی گرم آن بیان می کنند. توان زیستی شـکل صـناعی α-D – توکـوفرول بـه انـدازه ترکیـب طبیعی نیست.



ویتامرهای ویتامین E. R1 ، R2 و R3 در α - توکوفرول و توکوترینول همگی گروههای CH3- هستند.
R2 در ویتامرهای β، H است؛ R1 در ویتامرهای γ ، H است؛ و R1 و R2 در ویتامرهای δ ، H است.

فصل دهم

انرژی و زیست

انرژی و زیست

موجودات زنده از انرژی بمنظور انجام اعمال زیستی استفاده می نمایند. برخی از این اعمال عبارتنداز:

کار مکانیکی (حرکت)
پتانسیلهای الکتریکی (سیستم عصبی)
حرارت (دمای بدن)
سنتز شیمیایی (بیوسنتز ترکیبات)
کاراسمزی (تبادل فعال)

اولین قانون ترمودینامیک در مورد نگهداری انرژی این است که در یک واکنش شیمیایی انرژی بخودی خود تولید نشده و یا از بین نمی رود. اشکال مختلف انرژی بیکدیگر قابل تبدیل بوده ولی مقدار کل آنها همیشه ثابت می باشد.

دومین قانون ترمودینامیک عبارتست از تمایل یک سیستم کاملاً منظم به یک سیستم نامنظم، به عبارت دیگر میزان هـرج و مـرج جهانی می باشد.

اگرقانون اول و دوم ترمودینامیک در هم ادغام شوند داریم.

$$\Delta G=\Delta ll-T\Delta S$$

ΔG تغییر در انرژی آزاد، حداکثر مقدار انرژی است که قادر به انجام کار مفید می باشد.

ΔH انرژی کل و T درجه حرارت مطلق که برابر است با $t+273^{\circ}C$

و ΔS تغییر در آنتروپی سیستم است.

انرژی آزاد و غلظت

در یک واکنش تعادلی $A+B \rightleftharpoons C+D$

انرژی آزاد از رابطه زیر محاسبه می شود:

$$\Delta G = \Delta G^{o'} + RTLn\frac{[C][D]}{[A][B]}$$

واکنش های شیمیایی در موجودات زنده به حالت پایداری انجام شده ولی هیچوقت به حالت تعادل نرسیده و غلظت آنها نیز بمراتب کمتر از مولار می باشد. به عبارت دیگر تغییرات انرژی آزاد در داخل بدن موجود زنده کاملاً با مقادیر $\Delta G^{o'}$ بدست آمـده در خـارج از بدن که بصورت مولار می باشد متفاو ت است و داریم

$$\Delta G^{o'} = -RTLnK$$

یا

$$\Delta G^{o'} = -2.303RT\log K$$

اگر K بیشتر از یک باشد (انرژی زا) $\Delta G^{o'} < 0$

اگر K مساوی با یک باشد (تعادلی) $\Delta G^{o'} = 0$

اگر K کمتر از یک باشد (انرژی خواه) $\Delta G^{o'} > 0$

به عنوان مثال سوختن گلوکز یک واکنش انرژی زا و سنتز گلوکز یک واکنش انرژی خواه می باشد .

تغییرات انرژی آزاد و انرژی پتانسیل

چون غلظت مواد شرکت کننده کمتر از مولار بوده پس انرژی آزاد شده نیز کم می باشد. انرژی پتانسیل نیز در شرایط داخل بدن کاملاً بستگی به غلظت نسبی عوامل اکسید کننده و احیاء کننده دارد.

$$\Delta G^{o'} = -nF\Delta E^{o}$$

در این رابطه

n تعداد الکترون های جابجا شده

F عدد فاراده (عدد آوگادرو ضربدر بار الکترون)

ΔE° اختلاف پتانسیل در شرایط داخل بدن می باشد.

در این صورت نیز سه حالت پیش می آید:

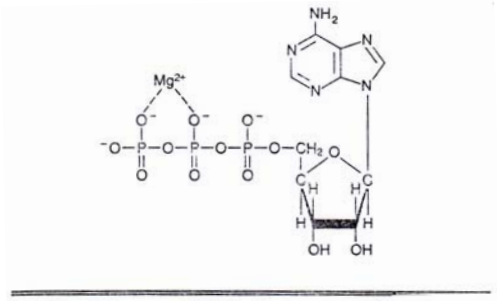
اگر $\Delta E^{\circ}>0$ باشد $\Delta G^{\circ}<0$ واکنش انرژی زا

در صورتیکه $\Delta E^{\circ}=0$ باشد. $\Delta G^{\circ}=0$ واکنش تعادلی

و نهایتاً اگر $\Delta E^{\circ}<0$ باشد $\Delta G^{\circ}>0$ واکنش انرژی خواه خواهد بود.

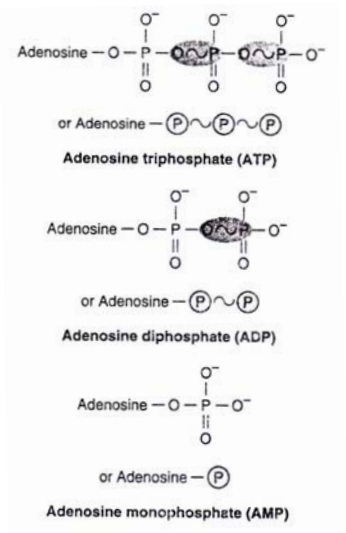
آدنوزین تری فسفات (ATP)

به منظور ادامه حیات، هر فردی با فعالیت متوسط روزانه به بیش از ۸۰۰۰ کیلوژول انرژی نیازمند است. میزان مورد نیاز این انرژی و نوع فعالیت فرد بستگی دارد مثلاً در مورد کسانی که فعالیت سنگین انجام می دهند این مقدار به دو برابر در روز افزایش می یابد. میزان نیاز به انرژی در طول مدت شبانه روز متفاوت است. تمامی این انرژی از اکسیداسیون مولار غذائی ناشی شده ولی در مواقع ضروری نیاز به انرژی از طریق شکستن آدنوزین تری فسفات که انرژی رایج سلولی نیز نامیده می شود تامین مـی گـردد. در زیـر سـاختمان ATP نمایش داده شده است.



آدنوزین تری‌فسفات (ATP) به صورت کمپلکس با منیزیم. ADP نیز کمپلکس مشابهی با Mg^{2+} می‌سازد.

هیدرولیز ریشه های فسفات ATP به آزاد شدن انرژی منجر می گردد. تغییـرات انـرژی اسـتاندارد آزاد بـرای هیـدرولیز دو ریـشه فـسفات اولیـه بـسیار زیـاد بـوده و بهمـین مناسـبت بنـام پیونـدهای فـسفات پرنیـرو از آن یـاد شـده اسـت. در شـکل زیـر ایـن پیوند ها نشان داده شده اند.



ساختمان ATP، ADP و AMP با نمایش موقعیت و تعداد فسفاتهای پرانرژی (~P)

تمایل نسبی هر یک از گروههای فسفات آزاد برای انتقال به یک گیرنده مناسب می توان از روی $\Delta G'^{\circ}$ هیدرولیز آن تخمین زد. در جدول زیر هیدرولیز برخی از ترکیبات فسفات آلی نمایش داده شده است.

ترکیب	$\Delta G'^{\circ}$ KJ/mol	$\Delta G'^{\circ}$ Kcal/mol
فسفوانول‌پیروات	-۶۱/۹	-۱۴/۸
کرباموییل فسفات	-۵۱/۴	-۱۲/۳
۱،۳-بیس‌فسفوگلیسرات (به ۳-فسفوگلیسرات)	-۴۹/۳	-۱۱/۸
کراتین فسفات	-۴۳/۱	-۱۰/۳
P_i + ADP ← ATP	-۳۰/۵	-۷/۳
P_i + AMP ← ADP	-۲۷/۶	-۶/۶
پیروفسفات	-۲۷/۶	-۶/۶
گلوکز ۱-فسفات	-۲۰/۹	-۵/۰
فروکتوز ۶-فسفات	-۱۵/۹	-۳/۸
AMP	-۱۴/۲	-۳/۴
گلیسرول ۳-فسفات	-۹/۲	-۲/۲

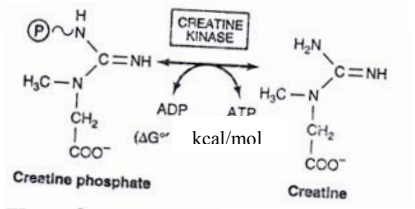
* P_i، ارتوفسفات معدنی.
** ارزش ATP و اکثر ترکیبات دیگر مبتنی بر مطالعه کربس و کرنبرگ (۱۹۵۷) است. این نتایج در تحقیقات مختلف بسته به شرایط انجام اندازه گیری فرق دارد.

انرژی آزاد استاندارد در هیدرولیز برخی از فسفاتهای آلی حائز اهمیت بیوشیمیایی

براساس جدول فوق ترکیباتی که $\Delta G'^{\circ}$ هیدرولیز آنها از هیدرولیز ATP منفی تر است . دارای پیوند فسفات پرنیرو بوده و قادر به سنتز ATP می باشند و ترکیباتی که $\Delta G'^{\circ}$ هیدرولیز آنها از ATP کمتر است از ATP به عنوان منبع انرژی استفاده می نمایند.

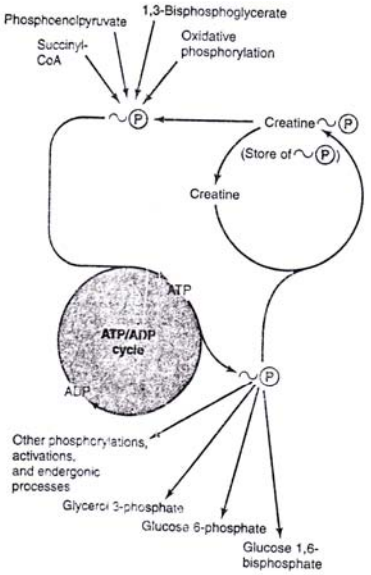
سنتز ATP در بدن از طریق دو مکانیسم می باشد. فسفریلاسیون در سطح سوبسترا و فسفریلاسیون اکسیداتیو. ترکیباتی که دارای پیوند فسفات پرنیرو در ساختمان خود می باشند قادر به سنتز ATP از طریق فسفریلاسیون در سطح سوبسترا هستند به عنوان مثال:

تبدیل فسفواتول پیروات به پیرووات در مسیر گلیکولیز یا واکنش ۱ و ۳ بیس فسفو گلیسرات به ۳ فسفو گلیسرات در راه گلیکولیز و نهایتاً تبدیل کراتین فسفات به کراتین در عضله اسکلتی که در شکل زیر نشان داده شده است.



انتقال فسفات پرانرژی بین ATP و کرآتین

در واقع یک چرخه ATP/ADP فرآیندهای تولید کننده (P)~ را به فرآیندهایی که (P) ~ ا مصرف می کنند متصل می کند. به این ترتیب ATP بطور مداوم مصرف شده و مجدداً تولید می گردد. این روند با سرعت زیادی انجام می گیرد. زیرا کل ذخیره ATP/ADP بسیار کم بوده و یک بافت را تنها به مدت چند ثانیه می تواند فعال نگه دارد.



نقش چرخه ATP/ADP در انتقال فسفات پرانرژی

اکسیداسیون بیولوژیک

از لحاظ شیمیایی تمامی اکسیداسیون ها با از دست دادن الکترون و احیاء با بدست آوردن الکترون همراه بوده و این عمل به چند طریق امکان پذیر می باشد.

گرفتن الکترون : در تعدادی از این انواع اکسیداسیون ها الکترون ها مستقیماً از ملکول به ملکول دیگر منتقل می شوند به عنوان مثال سیتوکرم ها که با از دست دادن الکترن از حالت فرو به فریک تبدیل می شوند.

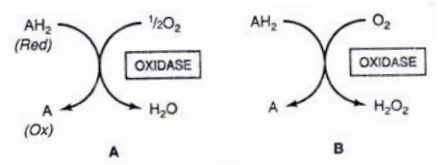
گرفتن هیدروژن : در اکثر موارد از دست دادن الکترون بطور غیرمستقیم و هنگام از دست دادن هیدروژن از یک ملکول صورت می گیرد مثلاً تبدیل اتانول به استالدئید

افزودن اکسیژن: این روش متداول ترین روش اکسیداسیون می باشد . مثلاً تبدیل استالدئید به استات

تمامی انواع اکسیداسیون ها در یکی از سه تقسیم بندی هائی که تاکنون شرح آن داده شد قرار گرفته اند. اما در مورد اکسیداسیونهائی که در داخل سلول انجام می گیرند تقسیم بندی براساس نوع آنزیمی که در مکانیسم آنها شرکت می نماید انجام می شود عبارتند از:

اکسیدازها
دهیدروژنازهای هوازی
دهیدروژنازهای غیر هوازی
اکسیژنازها
هیدروپراکسیدازها

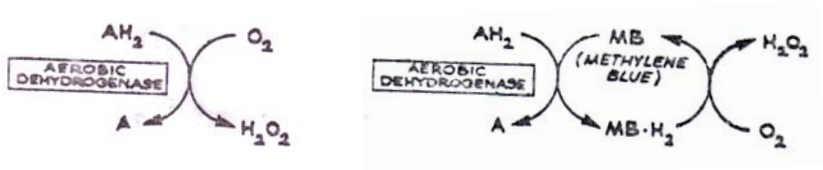
۱- اکسیدازها: این آنزیمها به فرآیند برداشت هیدروژن از یک سوبسترا کمک می کنند و در این فرآیند از اکسیژن به عنوان پذیرنده هیدروژن استفاده می کنند. شکل زیر بیانگر این موضوع است.



اکسیداسیون یک متابولیت با نوعی اکسیداز برای تولید آب (A) یا H_2O_2(B)

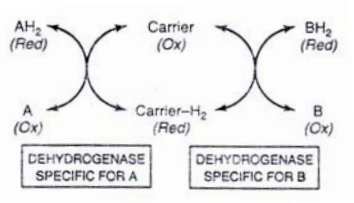
برخی از اکسیدازها مثل سیتوکرم اکسیداز حاوی مس می باشد.

۲- دهیدروژناز های هوازی: عمل جدا کردن هیدروژن از یک سوبسترا را بکمک اکسیژن و یا ترکیبات پذیرنده دیگری مانند متیلن بلو انجام می دهند. این آنزیم ها فلاو پروتئین ها معروف اند. کوآنزیم آنها FMN و FAD می باشد محصول نهائی واکنش آنهـا آب اکسیژنه می باشد.



اکسیداسیون یک متابولیت توسط دهیدروژنازهای هوازی

۳- دهیدروژنازهای غیرهوازی: عمل جدا کردن هیدروژن از یک سوبسترا را بدون دخالت اکسیژن انجام مـی دهنـد بـدین صـورت کـه انتقال هیدروژن از سوبسترای یک واکنش به سوبسترای واکنش بعدی انجام می پذیرد. آنزیم های ایـن گـروه نقـش مهمـی در انتقـال الکترون از سوبسترا به اکسیژن ملکولی در زنجیره تنفسی سلولی دارند.



٤- اکسیژنازها: واکنش انتقال مستقیم اکسیژن را به مولکول سوبسترا کاتالیز می نماید و بدو دسته تقسیم می شوند.
منو اکسیژنازها (هیدروکسیلازها)

$$AH+O2+ZH2 \longrightarrow A\text{-}OH+H2O+Z$$

دی اکسیژنازها (اکسیژنازهای حقیقی یا واقعی)

$$A+O2 \longrightarrow AO2$$

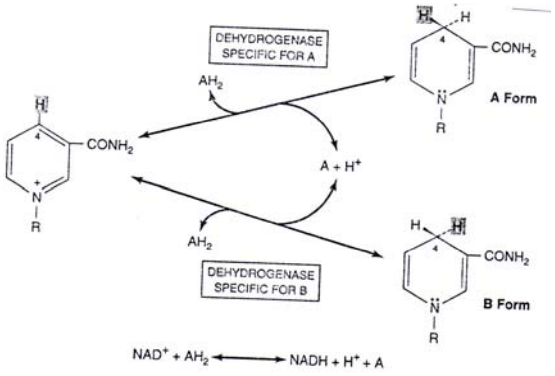
۵- هیدروپراکسیدازها: این آنزیمها آب اکسیژنه را به عنوان یک سوبسترای اکسید کننده بکار می گیرند. مانند پراکـسیدازهائی کـه در گلبول های سفید و قرمز خون وجود دارند.

$$H2O2+AH2 \longrightarrow 2H2O+A$$

کوآنزیم های انتقال دهنده هیدروژن و الکترون

۱- نیکوتین آمیدآدنین دی نوکلئوتید (NAD^+) و نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات ($NADP^+$) :

در ساختمان شیمیایی این دو کوآنزیم فقط هسته نیکوتینامیدی در انتقال هیدروژن شرکت می نماید به عبارت دیگـر قـسمت فعـال این دو کوآنزیم ، کربن شماره ۴ یا کربن پاراحلقه می باشد. شکل زیر مکانیسم اکسیداسیون و احیای آنرا نشان می دهد.

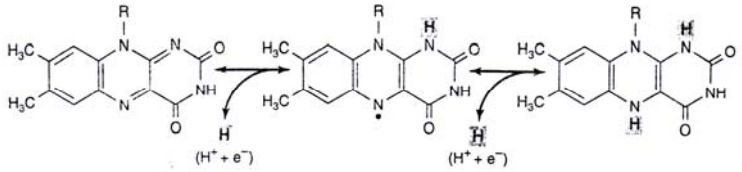


مکانیسم اکسیداسیون و احیای کوآنزیم های نیکوتینامیدی. زمانی که کربن ٤ نیکوتینامید با سوبسترای AH2 احیا می شود، دو وضعیت فضایی متمایز برای گروههای اطراف آن پیش می آید. یکی از اتمهای هیدروژن سوبسترا به صورت هسته هیدروژن به همراه ۲ الکترون (یون هیدرید،H) برداشته می شود و به کربن ٤ منتقل می شود تا بسته به دهیدروژناز خاص این واکنش، به یکی از دو صورت A یا B به آن اتصال یابد. هیدروژن باقیمانده از جفت هیدروژن برداشته شده از سوبسترا به صورت یون آزاد هیدروژن می ماند.

$$NAD + 2H \longrightarrow NADH + H^+$$
$$NADP+2H \longrightarrow NADPH+H^+$$

۲- فلاوین مونوکلئوتید (FMN) و فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD):

در ساختمان این دو کوآنزیم حلقه فلاوین یا حلقه ایزواکسازین وجود دارد و ازت های ۱ و ۱۰ حلقه فوق در واکنش انتقال هیدروژن شرکت می نماید. شکل زیر این موضوع را نمایش می دهد.



اکسید و احیای حلقه ایزوآلوکسازین در نوکلئوتیدهای فلاوینی از طریق یک واسطه (در مرکز) سمی کینون (رادیکال آ)

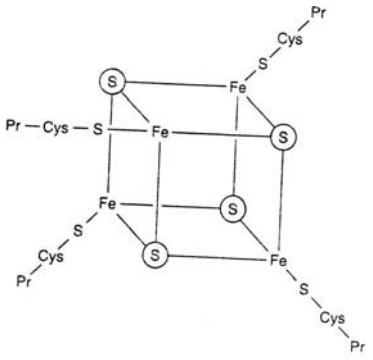
تعداد زیادی از آنزیمهای دهیدروژناز هوازی و نیز برخی از آنزیمهای هیدروژناز غیرهوازی دارای کوآنزیم فلاوینی می باشند مهمترین آنها NADH دهیدروژناز است که در انتقال هیدروژن از NADH به FMN شرکت می نماید.

۳- سیتوکرم ها:

از نظر ساختمانی هترو پروتئین هائی هستند که دارای یک زنجیر پلی پپتیدی و یک هسته تتراپرولی شبیه هموگلوبین می باشند. هسته تتراپرولی دارای یک اتم عنصر آهن است که در انتقال الکترن شرکت می نماید. مهمترین سیتوکروم ها، سیتوکروم a و a3 و C_1 و c و b می باشند. پتانسیل اکسیداسیون و احیاء انواع سیتوکرم ها با هم متفاوت است . بعلاو ه اسپکتر جذبی سیتوکرم با هم متفاوت است یعنی سه جذب α، β و γ متفاوت داشته (soret band) و از این لحاظ قابل تمایز می باشند. سیتوکرم اکسیداز (سیتوکرم aa3) دارای دو اتم آهن و دو اتم عنصر مس می باشد و در آخرین مرحله زنجیر تنفسی عمل کرده و باعث انتقال الکترون ها بر روی اکسیژن ملکولی می گردد.

٤- پروتیئن های آهن- گوگرد دارد(FeS):

یکی دیگر از ترکیبات انتقال دهنده الکترون است که د زنجیره تنفسی شرکت می نماید کمپلکس پروتئینی آهن و گوگرد دار همراه با فلاوپروتئین ها FMN و FAD و نیز همراه با سیتوکرم b و سیتوکرم C_1 در زنجیره تنفسی وجود دارد. اینطور بنظر می رسد که اتم های آهن و گوگرد در واکنش اکسیداسیون و احیائی دخالت می نمایند که در آنها تنها یک الکترن منفرد انتقال می یابد.

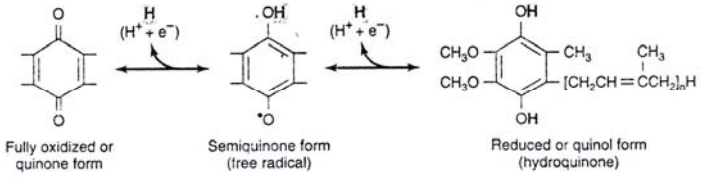


کمپلکس پروتئینی آهن- گوگرد (Fe_4S_4) S گوگرد ناپایدار در برابر اسید؛ آپوپروتئین ؛ Cys جزء سیستئین . برخی از پروتئینهای آهن- گوگرد دارای ۲ اتم آهن و ۲ اتم گوگرد هستند (Fe_2S_2)

۵- کوآنزیم Q یا اپی کینون:

این ترکیب از نظر ساختمانی شباهت به ویتامین K دارد و آنرا میتوان از چربیهای غشاء میتوکندری جدا نمود بر روی حلقه کینونی این کوآنزیم یک زنجیره طویل پلی ایزوپرن وجود دارد که در آن $(-CH_2-CH=\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{C}}-CH_2)_n$ n بر حسب نوع و منشاء ابی کینون از ۶ تا ۱۰ متغیر است.

کوآنزیم Q به سه شکل کینون (Q) سمی کینون (QH°) وهیدروکینون (QH_2) وجود دارد و کار آن انتقال هیدروژن و الکترون در زنجیره تنفسی است، شکل زیر چگونگی این انتقال را نشان می دهد.

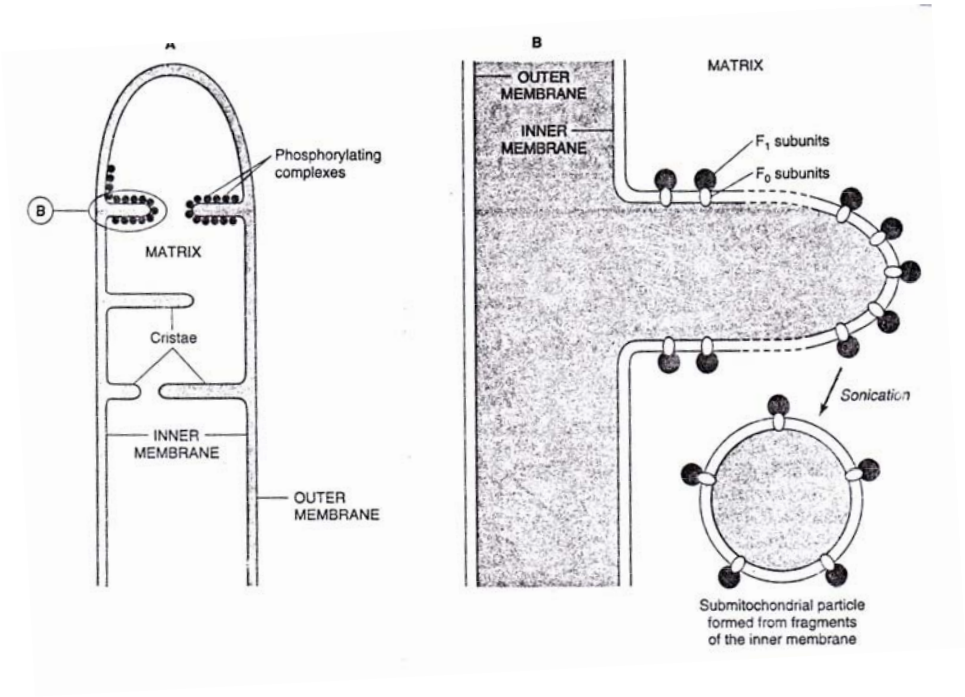


جدول زیر برخی از پتانسیل های اکسیداسیون و احیاء که در سیستم های اکسیداسیون پستانداران اهمیت دارد را نشان می دهد.

سیستم	E_o' (ولت)
H_2/H^+	-۰/۴۲
$NADH/NAD^+$	-۰/۳۲
لیپوات؛ اکسید/احیا	-۰/۲۹
استواستات/ ۳- هیدروکسی بوتیرات	-۰/۲۷
پیروات/ لاکتات	-۰/۱۹
اگزالواستات/ مالات	-۰/۱۷
فومارات/ سوکسینات	+۰/۰۳
سیتوکروم b؛ Fe^{2+}/Fe^{3+}	+۰/۰۸
یوبیکینون؛ اکسید/احیا	+۰/۱۰
سیتوکروم c1؛ Fe^{2+}/Fe^{3+}	+۰/۲۲
سیتوکروم a؛ Fe^{2+}/Fe^{3+}	+۰/۲۹
اکسیژن/آب	+۰/۸۲

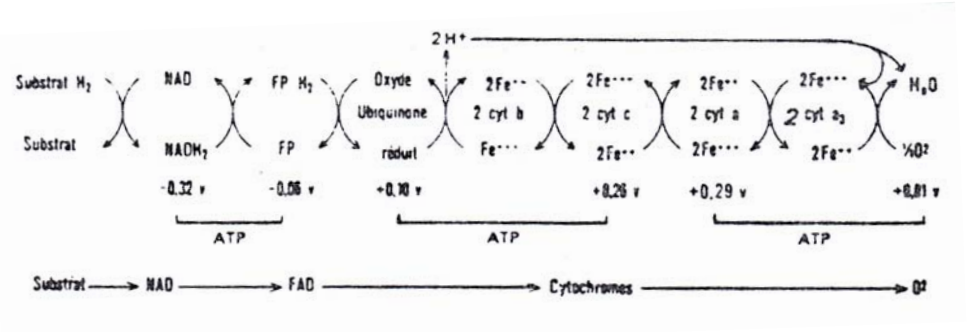
زنجیره تنفسی و فسفریلاسیون اکسیداتیو

بحش اعظم انرژی مفید حاصل از اکسیداسیون تنفسی در میتوکندری است . آزاد شدن ATP در فرآیند تنفسی را فسفریلاسیون اکسیداتیو می نامند. غشاء داخلی میتوکندری نسبت به اکثر متابولیت ها نفوذپذیری زیادی داشته و دارای چین خوردگیهای موسوم به Crista بوده و در قسمت داخلی غشاء درونی ماتریکس وجود دارد.



ساختمان غشاهای میتوکندری. می بینید که غشای داخلی تعداد زیادی چین دارد

زنجیره تنفسی میتوکندریها حاوی تعداد زیادی از ناقلهای اکسیداسیون – احیاء است که با گذر از سیستم های دهیدروژناز مرتبط با NAD و فلاو پروتئین ها و کوآنزیم Q سیتوکرم ها به اکسیژن ملکولی ختم می شود. ترتیب قرار گرفتن این ناقلین براساس پتانسیلهای اکسیداسیون – احیاء آنها از پتانسیل کم به پتانسیل زیاد .



اختلاف پتانسیل دو نقطه شروع و پایان زنجیره تنفسی برابر با ۱/۱۴ ولت می باشد. بنابراین انرژی آزاد استاندارد برابر است با :

$\Delta G = - nF\Delta E°$

$= -2\times23\times1.14$

$= - 52$ K Cal/mol

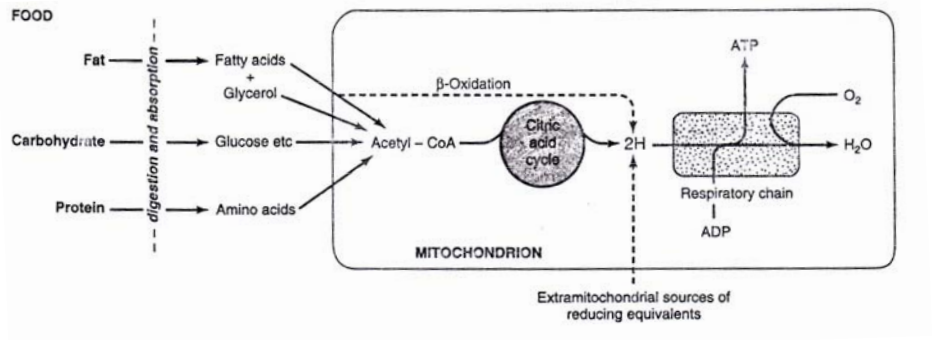
این تعداد انرژی معادل ۷ ملکول ATP است. در صورتیکه خوانده ایم NAD^+ معادل سه ملکول ATP است . چرا؟

$\Delta G° = - nF\Delta E°$

$-7.3 = -2\times23\Delta E°$

$\Delta E° = 0.16$ volt

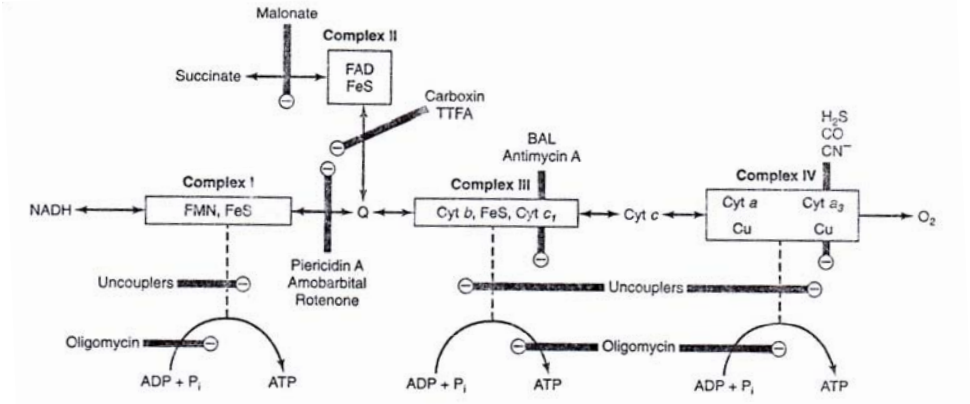
یعنی اینکه برای آزاد شدن ATP حداقل اختلاف پتانسیل مورد نیاز ۰/۱۶ ولت است به عبارت دیگر فقط در مکانهایی از زنجیره تنفسی که این اختلاف پتانسیل را داریم ATP آزاد می شود و آزاد شدن ATP ها را در طول زنجیره تنفسی نمایش می دهد و نقش زنجیره تنفسی میتوکندری ها در تبدیل انرژی غذا به ATP نشان می دهند.



نقش زنجیره تنفسی میتوکندریها در تبدیل انرژی غذا به ATP. اکسیداسیون عناصر غذایی عمده به تولید اکی والانهای احیا کننده (2H) می انجامد. اینها توسط زنجیره تنفسی جمع می شوند تا اکسیده شوند و صرف تولید ATP گردند.

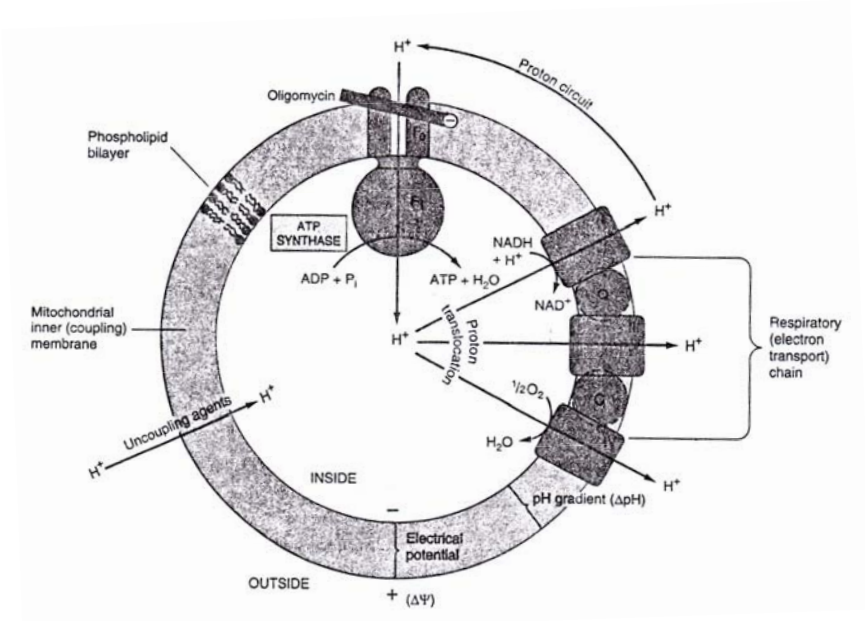
سموم متعددی زنجیره تنفسی را مهار می کنند. جایگاه نخست توسط باربیتوراتها از قبیل آموباربیتال ، آنتی بیوتیک پیریسیدین A و توسط ماده حشره کش و سم ماهی روتنون مهار می شود. دیمرکاپرول و آنتی مایسین A زنجیره تنفسی را در مرحله پین سیتوکرم b و سیتوکرم c مهار می کند و نهایتاً جایگاه آخر روی آنزیم سیتوکروم اکسیداز اثر و آنرا مهار می کند و این عمل توسط SH_2 ، منواکسیدکربن و سیانید انجام می پذیرد.

آنتی بیوتیک الیگومایسین روندهای اکسیداسیون و فسفریلاسیون را در میتوکندری سالم بطور کامل متوقف می کند. اما چنانچه ماده جدا کننده دی نیتروفنل وجود داشته باشد روند اکسیداسیون بدون فسفریلاسیون انجام می پذیرد و این موضوع نشان دهنده آن است که الیگومایسین مستقیماً بر زنجیره تنفسی عمل نمی کند. بلکه متعاقباً در یکی از مراحل فسفریلاسیون دخالت می نماید.



مکانهای فرضی مهار (-) زنجیره تنفسی توسط داروها، مواد شیمیایی و آنتی بیوتیکهای خاص. مکانهایی که ظاهراً نقش حمایتی در فسفریلاسیون دارند مشخص شده اند. (BAL ، دیمرکاپرول، TTFA نوعی کلاتور Fe است. کمپلکس I، NADH: یوبیکینون اکسیدوردوکتاز؛ کمپلکس II، سوکسینات: یوبیکینون اکسیدوردوکتاز؛ کمپلکس III، یوبیکینول: فری سیتوکروم C اکسیدوردوکتاز؛ کمپلکس IV، فروسیتوکروم c: اکسیژن اکسیدوروکتاز.

فرضیه اسمنر شیمیایی مکانیسم فسفریلاسیون اکسیداسیون را توجیه می کند. طبق ایـن فرضـیه در رونـد اکـسیداسیون اجـزاء زنجیـره تنفسی یونهای هیدروژن تولید می شود که به خارج از غشاء جفت کننده میتوکندری یعنی غشاء داخلی پرتاب می شود. اختلاف پتانسیل الکتروشیمیایی حاصل از توزیع نامتقارن یونهای هیدروژن (پروتونها و H^+) در مکانیـسم مـسئول تـشکیل ATP مـورد اسـتفاده قـرار می‌گیرد



اصول نظریه شیمیایی اسمزی فسفریلاسیون اکسیداتیو. مدار اصلی پروتون براثر جفت شدن اکسیداتیو در زنجیره تنفسی با جابجایی پروتون از درون غشا به بیرون آن. ایجاد می گردد. کار جابجایی پروتون را کمپلکسهای I، III و IV زنجیره تنفسی که هرکدام از آنها حکم یک پمپ پروتون را دارد. انجام می دهند. Q، یوبیکینون؛ C، سیتوکروم c؛ F_1، F_0، زیر واحدهای پروتئینی که از انرژی حاصـل از شیب پروتون برای پیشبرد فسفریلاسیون بهره می گیرند. داروهای جدا کننده مانند دی نیتروفنل امکان نـشت H^+ را از غـشا فـراهم می کنند و لذا شیب الکتروشیمیایی پروتون را از بین می برند. الیگومایسین اختصاصاً عبور H^+ از F_0 را متوقف می کند.

فصل یازدهم

متابولیسم کربوئیدراتها

متابولیسم کربوهیدراتها

به طور کلی متابولیسم مواد غذایی شامل تمام تغییرات فیزیکی و شیمیایی است که این مواد از لحظه ورود به دستگاه گوارش تا اکسایس و دفع فضولات آنها به خارج از بدن متحمل می شوند. مواد غذائی هضم شده پس از جذب و عبور از جدار سلولهای مخاطی دستگاه گوارش توسط خون به بافت های بدن منتقل می شود.

مسیرهای متابولیک به سه گروه تقسیم می شوند:

۱. **مسیرهای انابولیک :** تهیه مواد جدید از مواد اوّلیه را مسر انابولیک می نامند.
۲. **مسیرهای کاتابولیک:** شکستن مولکولهای بزرگ به مولکولهای کوچکتر یا به مواد اوّلیه تشکیل دهنده آنها را مسیرهای کاتابولیک می نامند.
۳. **مسیرهای آمفوآمفیولیک:** یا مسیرهای دوجانبه و این مسرها بیش از یک نقش ایفا می کنند بر سر چهارراههای متابولیسمی قرار دارند به عنوان پلی بین مسیرهای انابولیک و کاتابولیک عمل می کنند مانند چرخه اسید سیتریک

هضم و جذب کربوهیدراتها

هضم کربوهیدراتها از دهان با اثر α آمیلاز دهانی یا تپیالین بر روی نشاسته آغاز می گردد از ویژگیهای این آنزیم هیدرولیز پیوندهای $1\alpha\rightarrow4$ گلی کوزید می باشد حاصل اثر α آمیلاز دهانی بر روی نشاسته می تواندکسترین و مالتوز باشد.

$$\text{نشاسته} \xrightarrow{\alpha \text{ آمیلاز بزاق}} \text{دکسترین + مالتوز}$$

در معده تغییرات زیادی روی کربوهیدراتها حاصل نمی شود فقط بعضی از پیوندهای گلی کوزیدی توسط اسید معده شکسته می شود. هضم اصلی کربوهیدراتها در روده تحت آمیلاز پانکراس انجام می گیرد. آمیلاز پانکراس یک – ۱ و ۴ گلوکان ۴- گلوکانوهیدراز است. آلفا آمیلاز بر روی نشاسته اثر می کند باعث تولید مالتوز افریومالتوز و گلوکز می شود . هضم دی ساکاریدهای غذائی و دی ساکاریدهائی که از اثر الفا آمیلاز حاصل شده اند در روده باریک تکمیل می شود عمل هضم در ژژنوم به حداکثر خود می رسد تا ابتدای اپلئوم ادامه پیدا می کند. هضم دی ساکاریدها در سلولهای مخاطی در لایه بیرونی انجام می گیرد مخاط روده محتوی مقادیر قابل توجهی از دی ساکاریدازها مانند مالتاز ایزومالتاز و ساکاراز می باشد. بافت اپتیلیوم روده دارای لاکتاز می باشد فقدان آنزیم لاکتاز در نژاد آفریقایی و آسیایی بیشتر مشاهده میشود این اشخاص به علت کمبود لاکتاز یک عدم تحمل لاکتوز از خود نشان می دهند.

جذب کربوهیدراتها

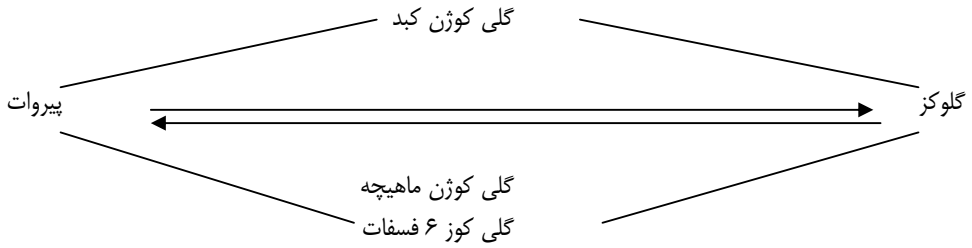
هضم کامل کربوهیدراتها توسط دی ساکاریدازهای موجود درسطح بیرونی سلولهای مخاطی روده تکمیل می شود منوساکاریدها با سعت های متفاوت جذب می شود به این ترتیب گالاکتوز > گلوکز > فروکتوز > مانوز

گلوکز و گالاکتوز در جهت عکس شیب غلظت با یک مکانیسم فعال انتقال می یابدو فروکتوز از طریق انتشار تسهیل شده در جهت شیب غلظت جذب می گردد. انتقال فعال فقط در حضور یون سدیم امکان پذیر است زیرا پائین بودن غلظت یون سدیم در سینوزول موجب می شود که Na^+ به سهولت جذب سلول شود و گلوکز را همراه خود برخلاف یک غلظت بالاتر وارد سلول کند.

مقدار گلوکز خون

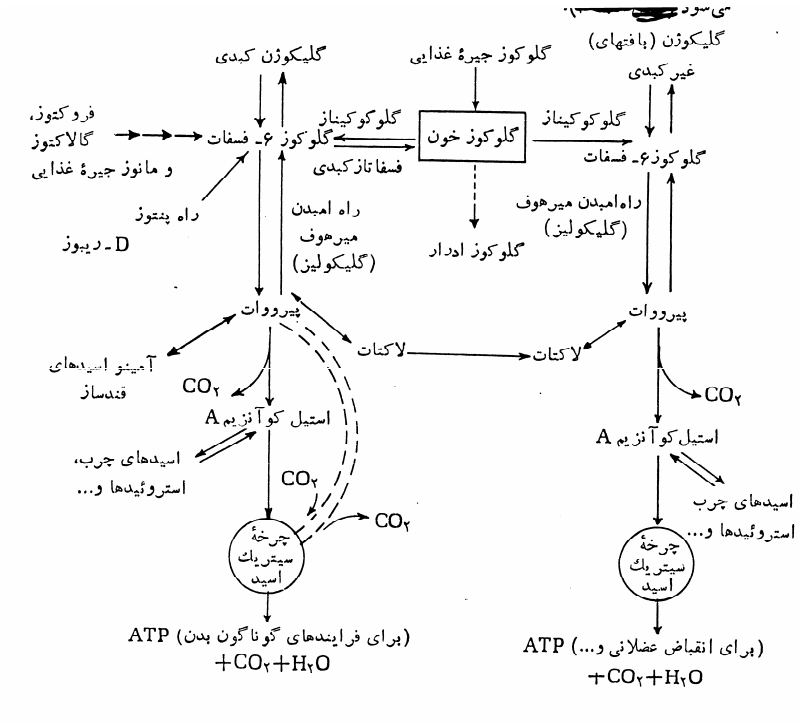
میزان گلوکز خون در اشخاص سالم در حالت ناشتا بین ۱۰S–۷۰ میلی گرم در ۱۰۰ میلی لیتر است. افزایش بیش از حد طبیعی گلوکز در خون را هیپرگلیسمی می گویند. اگر مقدار گلوکز خون از حد معینی تجاوز کند جذب مجدد تمامی گلوکز به داخل توبولهای کلیدی امکان پذیر نیست. گلوکز در ادرار مشاهده می شود که این حالت را گلوکوزومی می نامند. میزان ۱۸۰–۱۶۰ میلی گرم را آستانه کلیوی بر گلوکز می نامند. به طور طبیعی مقدار بسیار ناچیزی گلوکز از راه ادرار دفع می شود. کاهش بیش از حد طبیعی گلوکز در خون را هیپوگلیسمی می نامند.

کربوهیدراتهای غذائی قسمتی از منبع گلوکز خون راتشکیل می دهند و منبع دائمی گلوکز از عمل شکستن گلی کوژن (گلی کوژنولیز) و منابع دیگر حاصل می کند فرآیندهای متابولیسمی گلوکز عبارتند از:



۱-گلی کوژنز ۲- گلی کوژنولیز ۳- گلی کولیز ۴- گلوکونئوژنز

فرآیندهای دیگر متابولیسمی گلوکز عبارتند ۵- چرخه پنتوز فسفات ۶- چرخه اسید اورونیک



گلی کوژنز

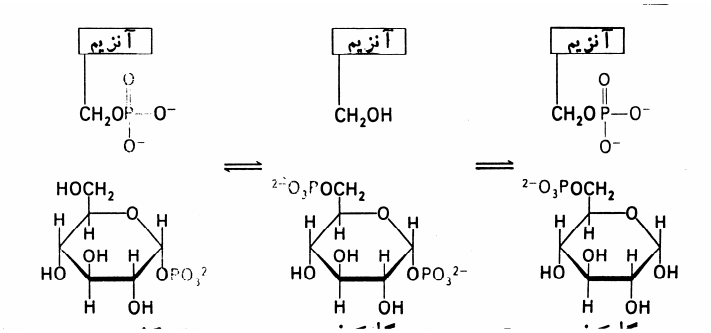
گلی کوژن شکل اصلی اندوخته کربوهیدراتها درحیوانات است و طبقه اصلی گلی کوژن ذخیره و صدور گلوکز برای حفظ گلوکز خون در فواصل غذائی است . گلی کوژن کبد ۱۲ تا ۱۸ ساعت پس از ناشتا تقریباً تمام می شود.

کلی کوژنز در کبد و عضله انجام می شود گلوکز توسط هگزوکیناز عضلانی (این هگزوکیناز اختصاصی نمی باشد دارای km کوچک به mg^{2+} می باشد و قابل مهار شدن با محصول عمل خود گلوکز ۶ فسفات می باشد و برای عمل خود احتیاج و در کبد این

عمل توسط آنزیم گلوکوکیناز صورت می گیرد (که اختصاصی می باشد دارای km بزرگ و قابل مهار شدن با محصول عمل خود یعنی گلوکز ۶ فسفات نمی باشد)

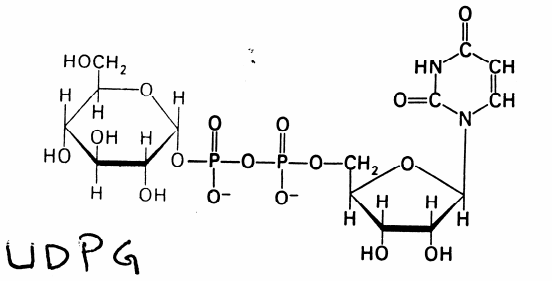
$$\text{ATP} + \text{گلوکز D-}\alpha \xrightarrow{Mg^{2+}} \text{ADP} + \text{گلوکز ۶ فسفات D}\alpha$$

گلوکز ۶ فسفات توسط آنزیم فسفوگلوکوموتاز به گلوکز ۱ فسفات تبدیل می شود.

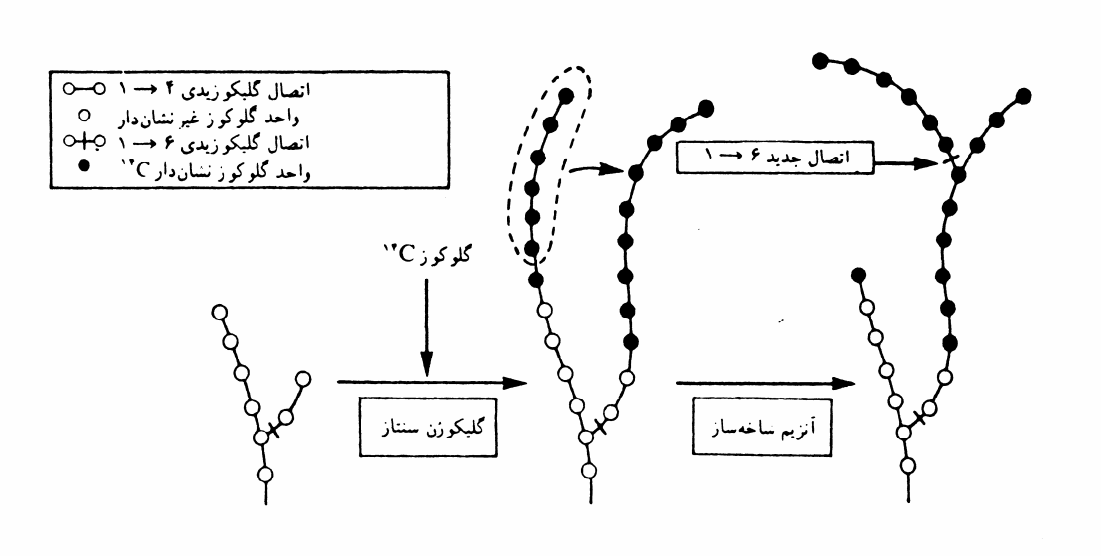


حاصل عمل این موتاز ابتدا گلوکز ۶ و ۱ بیس فسفات سپس گلوکز ۱ فسفات می باشد.

سپس گلوکز ۱- فسفات با یوریدین تری فسفات (UTP) یا توسط آنزیم پیروفسفوریلاز به UDPG یا گلوکز فعال تبدیل می شود (مرحله بعدی انتقال UDPG به یک زنجیر پلی ساکاریدی می باشد که توسط گلی کوژن سنتاز با انتقال یک واحد گلوکز از UDPG به انتهای غیر احیایی یک زنجیر پلی ساکاریدی که حداقل دارای چهار واحد گلوکز (رشته پرایمر) می باشد در عدم حضور این رشته پرایمر آغاز سنتز گلی کوژن بر روی گلی کوژنین که یک آغاز گر پروتئینی در عضلات اسکلتی می باشد ایجاد می شود . کار گلی کوژن سنتاز ساختن پیوندها $4\alpha \rightarrow 1$ گلی لوزید در زنجیره گلی کوژنی می باشد. لذا گلی کوژن ساخته شده بدن انشعاب غیرطبیعی خواهد بود.



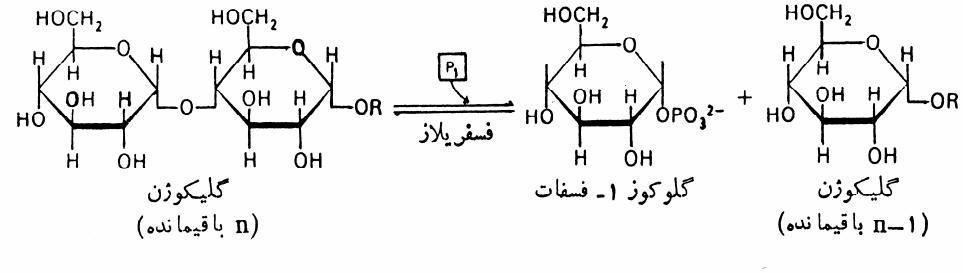
در اینصورت وجود آنزیم دیگری که قادر به تهیه پیوندها $1\alpha \rightarrow 6$ گلی کوزیدی می باشد. لازم می باشد تا بتواند یک گلی کوژن طبیعی بسازد.

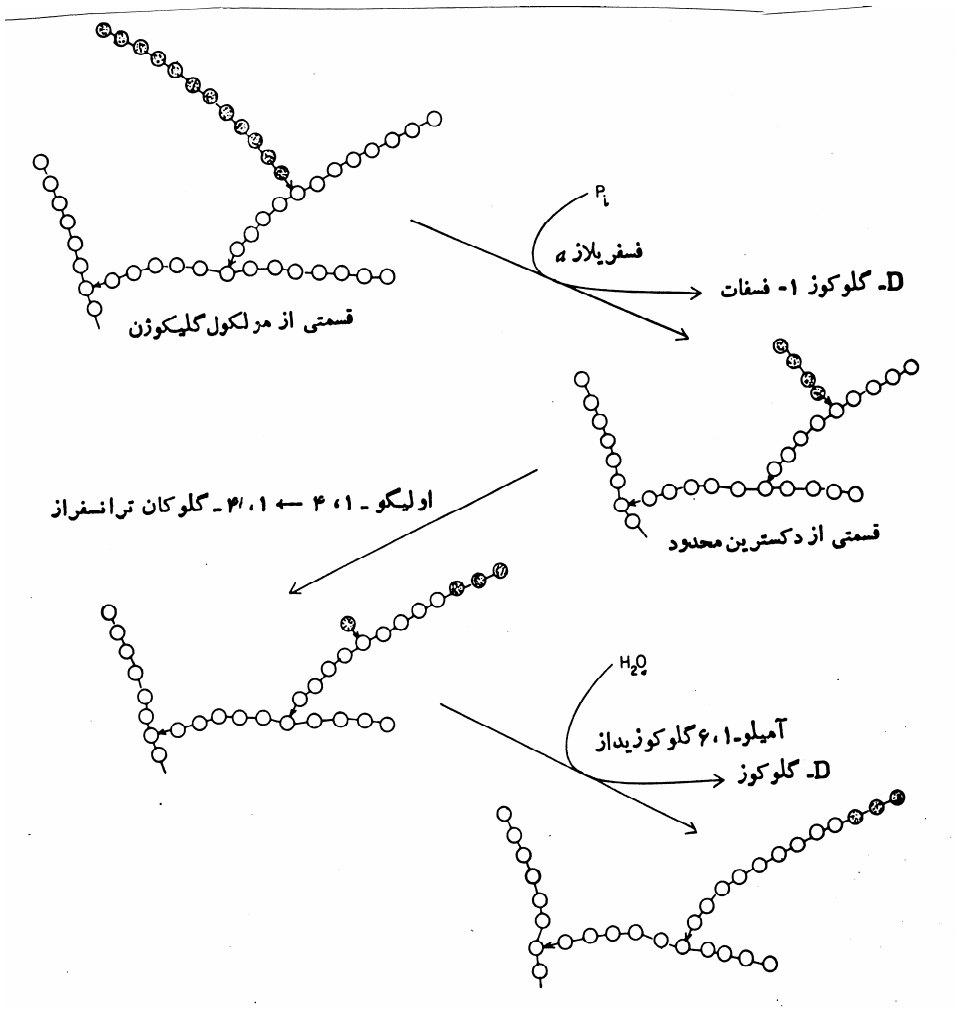


گلی کوژنولیزها

مکانیسم عمل شکستن گلی کوژن توسط آنزیم فسفوریلاز در مجاورت فسفات معدنی برداشت یک گروه گلوکز ۱ فسفات را از گلی کوژن را کاتالیز می کند.

فسفوریلاز بر روی پیوندهای $1\alpha\rightarrow6$ گلی کوزیدی اثری ندارد برای شکستن پیوند $1\alpha\rightarrow6$ گلی کوزیدی آنزیم دیگری بـه نـام آنزیم شاخه شکن یا آمیلو-۱ و ۶ گلوکوزیداز لازم است .آنزیم شاخه شکن یک آنزیم در وظیفه ای که هم دارای جایگـاه ترانـسفرازی و هم دارای جایگاه هیدرولازی می باشد.





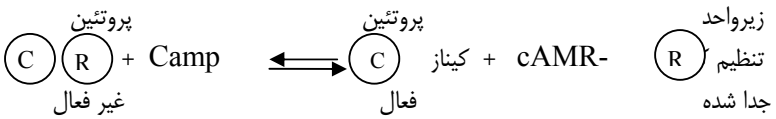
شکل ۱۰-٤: چگونگی عمل آنزیمها در شکستن گلیکوژن

نقش AMP حلقه ها در کنترل فستره شکستن گلیکوژن

متابولیسم گلی گلیکوژن تحت کنترل هورمونهای متفاوت است در ماهیچه در زمان فعالیت هورمونهای اپی نفرین توسط قسمت قشری غدهٔ فوق کلیه آزاد می شود اپی نفرین سبب شکستن گلی کوژن در ماهیچه می شود ولی این عمل در کبد توسط هورمون دیگری بنام گلوکاکن صورت می گیرد که در اثر کاهش غلظت گلوکز توسط سلولهای الفا از پانکراس ترشح می شود این هورمون با افزایش شکستن گلیکوژن سبب افزایش گلوکز خون می شود.

اپی نفرین و گلوکاکن بر روی سطح بیرونی غشاء سلولهای بافت هدف اتصال یافته این عمل باعث تغییر شکل غشاء شده آنزیم ادنیلات سیکلاز به شکل فعال در آمده این عمل باعث تبدیل ATP به AMP حلقوی می گردد.

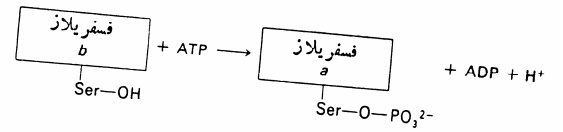
AMP حلقوی سبب فعال شدن آنزیمی بنام پروتئین کیناز می شود نحوه عمل این آنزیم در مجاورت AMP حلقوی به صورت زیر نمایش داده می شود.



پروتئین کیناز در مجاورت ATP می تواند فسفوریلازکیناز غیر فعال را به فسفوریلاز کیناز فعال تبدیل کند

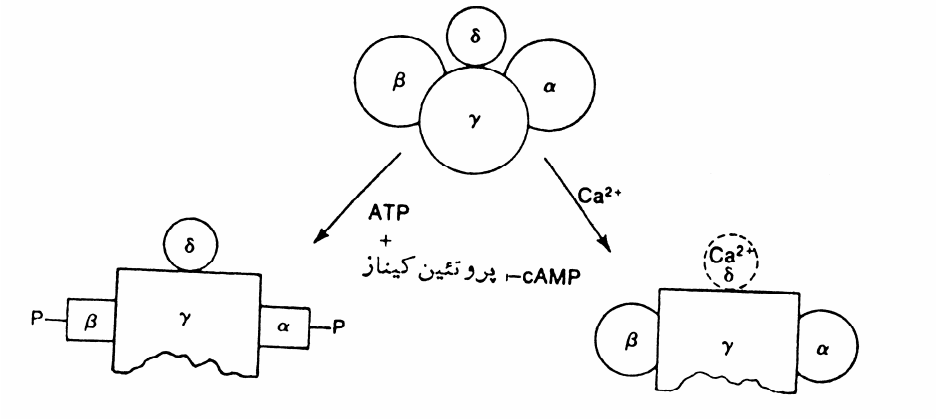
فسفریلاز کیناز فسفریل دار شده (فعال) $\xrightarrow{\text{پروتئین کیناز}}$ ATP + فسفریلاز کیناز (غیرفعال)

فسفوریلاز کیناز فعال در مجاورت ATP فسفوریلاز b غیرفعال به فسفوریلاز α فعال تبدیل می کند.



کالمودولین

آنزیم فسفوریلاز کیناز از چهار واحد پروتئینی بنام آلفا و بتا و گاما و دلتا تشکیل شده (α,β,γ,δ) که واحدهای α و β قابلیت فسفریله شدن توسط پروتئین کیناز فعال را دارند.واحد دلتا پروتئین پروتئینی بنام کالمودولین استکه تحت تاثیر کلسیم تغییر ساختار فضائی می دهد این تغییر ساختار به واحد γ دلتا به واحد کاتالیزری یا (γ) انتقال داده شده باعث فعال شدن این آنزیم مستقل از عمل AMP حلقوی م شود کلسیم در اینجا نقش پیامبر ثانویه را ایفاء می کند.



فعال و غیر فعال شدن گلی کوژن سنتاز

گلی کوژن سنتاز نیز مانند گلی کوژن فسفوریلاز یک آنزیم تنظیم کننده است به دو شکل a یا (I) فعال و b یا (D) غیرفعال وجود دارد. فعال و غیر فعال شدن آن به شکل زیر نمایش داده می شود.

nADP+ گلیکوژن سنت $\xrightarrow[\text{وابسته به cAMP}]{\text{پروتئین کیناز}}$ nATP+ گلیکوژن سنتتاز I

nPi+ گلیکوژن سنتتاز I $\xrightarrow[\text{فسفاتاز}]{\text{فسفو پروتئین}}$ nH2O+ گلیکوژن سنتتاز D

عمل دیگر پروتئین کیناز فعال بر فعالیت آنزیم گلی لموژن سنتاز با فعال کردن مهار کننده فسفوپروتئین فسفاتاز این آنزیم بشکل b یا (D) غیرفعال باقی می ماند با ترشح انسولین (هورمون سیری) باعث فعال شدن آنزیم فسفودی استراز می شود. آنزیم فسفودی استراز باعث تخریب AMP حلقوی در نتیجه مسیر گلی کوژنولیز متوقف و مسیر گلی کوژنز آغاز می شود.

گلی کولیز

گلی کولیز مجموعه ائی از واکنش ها است که طی آن گلوکز به اسید پیرویک تبدیل می شود. گلی کولیز را به افتخار کاشفین آن Embden و Meyerhof راه آمبدن میروهوف نامیده اند.

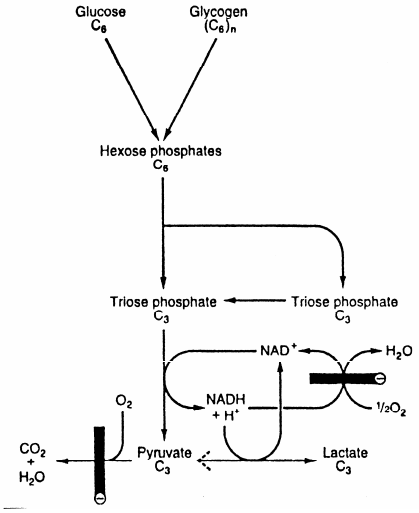
گلی کولیز یک عمل غیرهوازی است و تمام آنزیم های آن در سینوزول وجود دارد سلولهائی که فاقد میتوکندری (مانند گلبولهای قرمز بالغ) یا شبکه خون رسانی ضعیفی مانند قرنیه عدسی چشم و الیاف سفید عضلانی از نظر تولید انرژی کاملاً وابسته به دورهٔ گلی کولیز می باشند

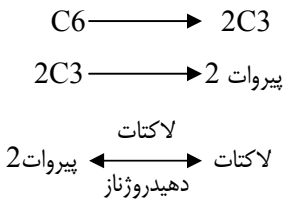
گلی کولز به ۲ مرحله تقسیم می شود

مرحله اول تبدیل قندهای ۶ کربنی به ۲ قند ۳ کربنه

مرحله دوم تبدیل قندهای سه کربنی به مادهٔ غیر قندی سه کربنه مانند پیروات

در صورت ایکه اکسیژن کافی در دسترس نباشد مانند زمانی که ماهیچه در حال انقباض است پیروات توسط آنزیم لاکتات دهیدروژناز به لاکتات تبدیل می شود.

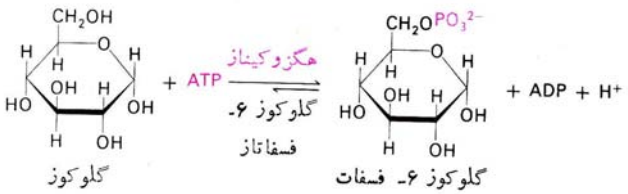




مراحل گلی کولیز تا تشکیل پیروات به شرح زیر می باشد

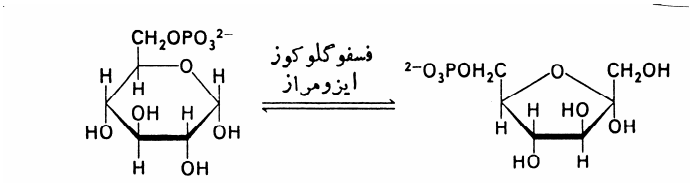
تشکیل گلوکز ٦ فسفات

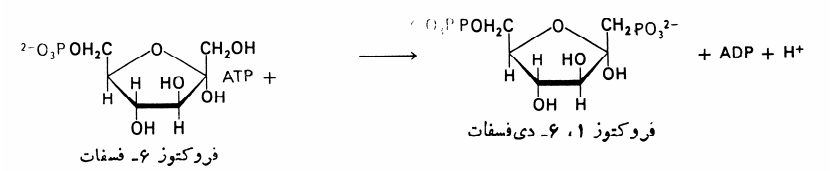
تشکیل گلوکز ۶ فسفات در مجاورت ATP توسط آنزیم هگزوکیناز در کلیه بافت های بدن انجام می پذیرد در کبد علاوه بر هگزوکیناز آنزیم دیگری بنام گلوکوکیناز که ایز آنزیم هگزوکیناز از نوع چهارم می باشد عمل می کند. هگزوکیناز دارای km کوچک و قابل مهارشدن با محصول خود یعنی گلوکز ۶ فسفات می باشد. در صورتیکه گلوکوکیناز دارای km بزرگ در حالتی که قند خون بیش از حد طبیعی افزایش یابد گلوکوکیناز کبدی وارد عمل شده موجب برداشت سریع گلوکز و کاهش آن به حالت طبیعی می شود.



تشکیل فروکتوز ٦ و ١ بیس فسفات

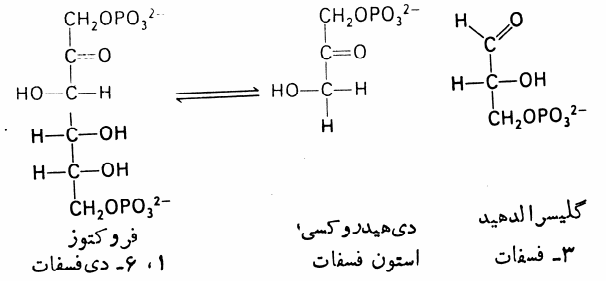
گلوکز ۶ فسفات توسط آنزیم ایزومراز به فروکتوز ۶ فسفات تبدیل می شود این واکنش نمونه ائی از تبدیل الدوز به کتـوز در سـلول زنده محسوب می شود. فروکتوز ۶ فسفات به نوبهٔ خود در مجاورت ATP و آنزیم فسفوفروکتو کیناز به فروکتـوز ۶ و ۱ بـیس فـسفات تبدیل می شود آنزیم فسفوفروکتوکیناز یک آنزیم تنظیم کننده است. فعالیت این آنزیم بستگی به غلظت فروکتـوز ۶ و ۲ بـیس فـسفات دارد که توسط فسفوفروکتوکیناز II تولید می شود. AMP و ADP موجب تحریک و ATP باعث مهار شدن فعالیت این آنزیم مـی شود.



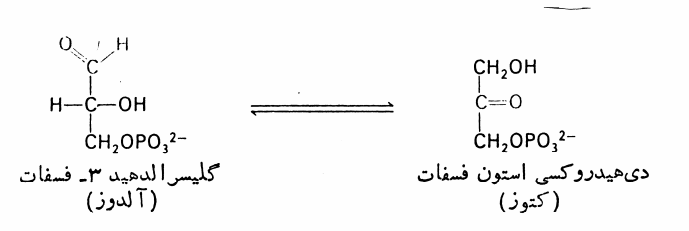


تشکیل گلیسروالدئید ۳ فسفات

فروکتوز ۶ و ۱ بیس فسفات به وسیله آنزیم الدولاز به دو قند ۳ کربنه به نامهای گلیسروالدئید ۳ فسفات و دی هیدروکـسی اسـتون فسفات تبدیل می شود.



گلیسروالدئید ۳ فسفات می تواند به طور مستقیم عمل کلی لمولیز را ادامه دهـد. در صـورتیکه دی هیدروکـسی اسـتن فـسفات بـه تنهائی قادر به ادامه این عمل نیست . باید گلیسروالدئید ۳ فسفات تبدیل شود که این عمل توسط آنزیم تریوز فسفات ایزومـراز صـورت می گیرد. سرعت عمل این آنزیم بسیار سریع و برگشت پذیر است.



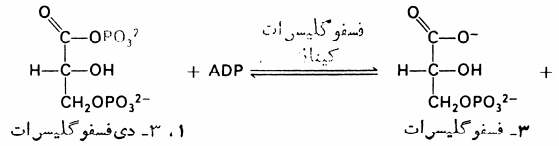
در اینجا مرحله اول گلی کولیز یعنی تبدیل یک قند ۶ کربنه به ۲ قند ۳ کربنه پایان می پذیرد. مرحله اول همراه با مصرف ۲ مولکول ATP می باشد.

تشکیل ۱ و ۳ بیس فسفوگلیسرات

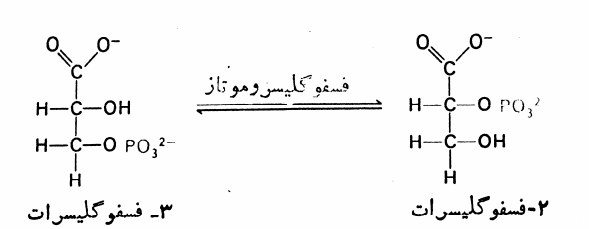
گلیسروالدئید ۳ فسفات در مجاورت NAD^+ و فسفر معدنی (Pi) و آنزیم گلیسروالدئید ۳ فسفات دهیدروژناز به ۱ و ۳ بیس فسفوگلیسرات تبدیل می شود.

تشکیل ۳ فسفو گلیسرات

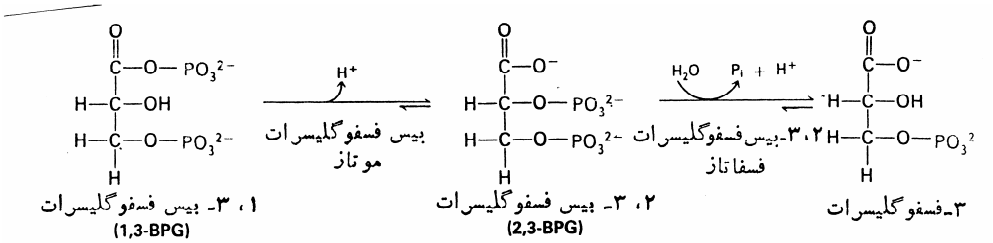
در این مرحله پیوند پرانرژی بیس فسفوگلیسرات به مصرف تولید یک مولکول ATP می شود. این عمل توسط آنزیم فسفوگلیسرات کیناز صورت می گیرد.



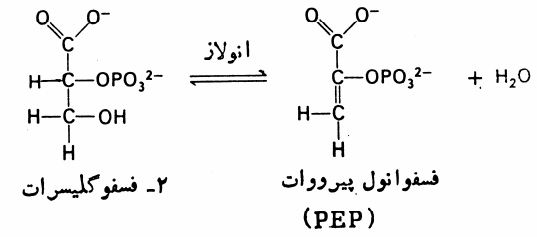
۳ فسفوگلیسرات توسط آنزیم فسفوگلیسرات موتاز به ۲ فسفوگلیسرات تبدیل می شود واسطه این واکنش ۳ و ۲ بیس فسفوگلیسرات است.



۳ و ۲ بیس فسفو گلیسرات یک کنترل کننده در انتقال اکسیژن به وسیله گویچه های سرخ است در گلبولهای قرمز از بیس ۳ و ۱ بیس فسفوگلیسرات در مجاورت آنزیم دی فسفوگلیسرات موتاز ساخته می شود و این آنزیم یک آنزیم دو جایگاهه است که دارای جایگاه موتازی و فسفاتازی می باشد در گلبولهای قرمز عمل گلی کولیز و انتقال اکسیژن به وسیله ۳ و ۲ بیس فسفو گلیسرات به یکدیگر مربوط اند بنابراین هر اختلالی در عمل گلی کولیز می تواند سبب بروز اختلال در انتقال اکسیژن شود.

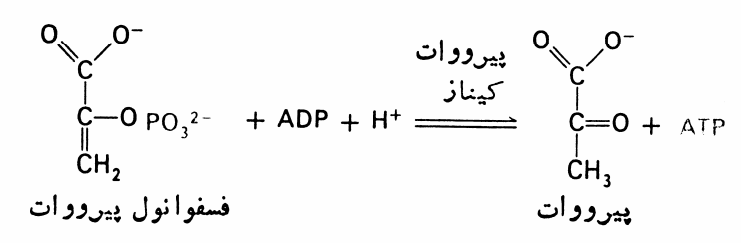


سپس ۲ فسفوگلیسرات در مجاورت آنزیم ائولاز آب از دست می دهد به فسفوانول پیروات یا به اختصار PEP تبدیل می شود.



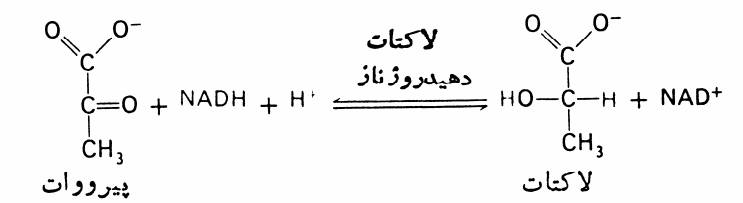
تبدیل PEP به پیروات

فسفوانول پیروات یک جسم پرانرژی است می تواند یک مولکول ADP را به ATP تبدیل کند . آنزیم موثر در این واکنش پیروات کیناز است . برای فعالیت این آنزیم mg^{2+} و K^{+} ضروری است.



تشکیل لاکتات

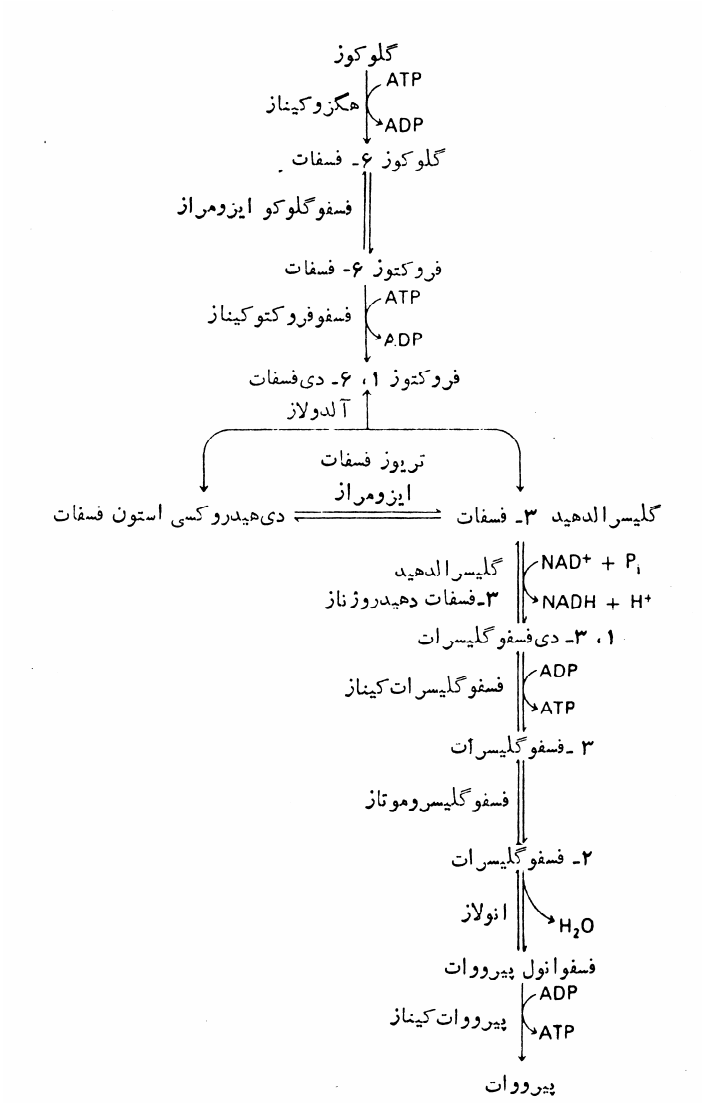
در صورت کمبود اکسیژن مثلاً در هنگام فعالیت شدید ماهیچه ائی متابولیسم پیروات حاصل از واکنش های فوق در مسیر غیرهوازی ادامه پیدا می کند در مجاورت NADH و لاکتات دهیدروژناز به لاکتات تبدیل می شود.



تداوم عمل گلی کولیز ارتباط مستقیم به وجوأ NAD^{+} دارد که طی واکنش فوق هم زمان با تشکیل لاکتات تولید شده در سلولهائی که فاقد میتوکندری هستند NAD^{+} از تبدیل پیروات به لاکتات تأمین می شود. با بالا رفتن غلظت لاکتات برای جلوگیری از لاکتو اسیدوز شدن سلول لکتات تولید شده توسط خون به کبد رفته در کبد به پیروات تبدیل شده از پیروات حاصل از طریق گلوکونئوژنز به

گلوکز تبدیل شده می شود مجدداً به مصرف می رسد . سیکل /۸۷ در شرائط کار عضلانی شدید چون تمامی لاکتات حاصل از عضله تجلیه نمی شود . مقداری از آن در عضله تجمع می یابد خستگی عضله را سبب می شود.

مراحل کلی کولیز در شکل زیر نشان داده می شود.

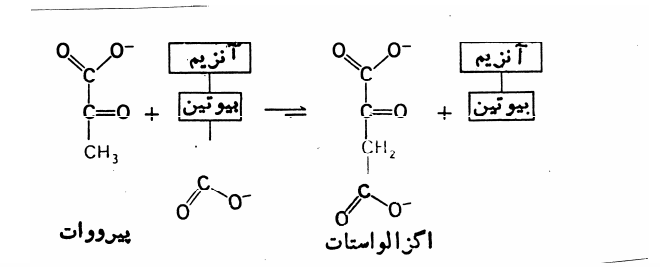


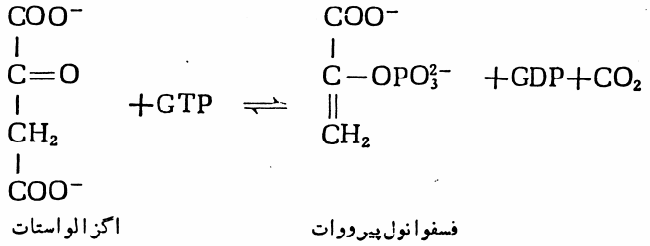
گلوکونئوژنز

تمام مسیرهائی که مسئول تبدیل ترکیبات غیرقندی به گلوکز یا گلیکوژن گلوکونئوژنز نامیده میشود. سوبسترای اصلی برای گلی کونئوژنز عبارتند از : لاکتات بعضی از اسیدهای آمینه مانند آلانین گلیسرول و پروپنونیل eA که حاصل شکستن اسیدهای چرب با کربن فرد و یا اسیدهای چرب شاخه دار است می باشد و عمل گلی کونئوژنز در کبد و کلیه انجام می گیرد. با این عمل در زمان کمبود گلوکز یا گلی کوژن کبد نیاز بدن به گلوکز را تامین می کند. هر نوع اختلال در گلوکونئوژنز همراه با هیپوگلیسمی شدن مشخص می باشد که می تواند باعث اختلال در کار مغز شود.

۳ واکنش یک طرفه در عمل گلی کولیز وجود که با آنزیم های هگزوکیناز فسفوفروکتوکیناز پیروات کیناز کاتالیز می شود کـه پـس در نتیجه عمل گلوکونئوژنز نمی تواند کاملاً عکس گلی کولیز باشد.

مراحل گلوکونئوژنز به ترتیب زیر نشان داده می شود.



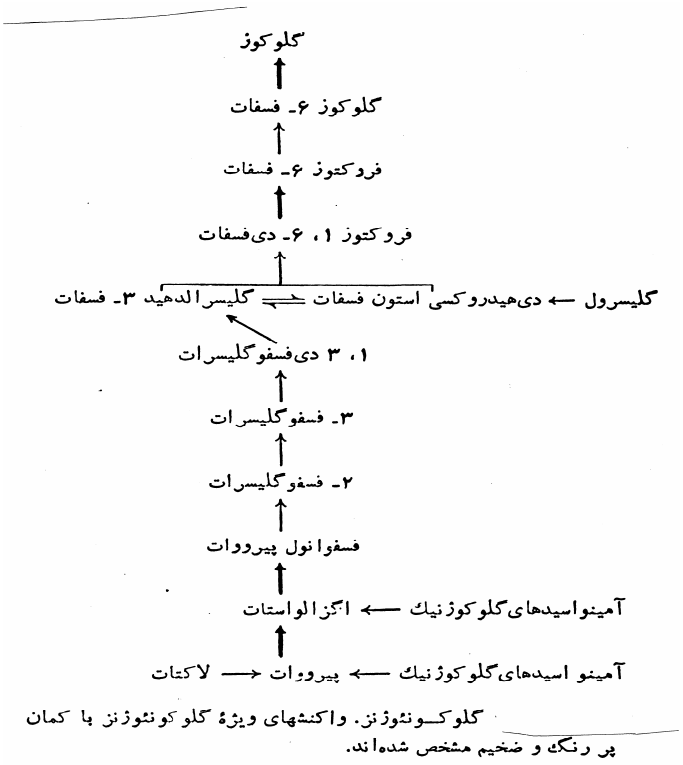


چنانچه مشاهده می شود برگشت واکنشی که با پیروات کیناز کاتالیز می شد شامل ۲ واکنش وجود دو آنـزیم پیـروات کربوکـسیلاز (که فقط در میتوکندری وجود دارد) و فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز که هم در سینوزول و هم در میتوکنـدری وجـود دارد لازم مـی باشد. تمام مراحل بعدی تا رسیدن به فروکتوز ۶ و ۱ بیس فسفات دو طرفه می باشد با فروکتوز ۶ و ۱ بیس فسفات در مجـاورت آنـزیم فروکتوز ۶ و ۱ بیس فسفاتاز به فروکتوز ۶ فسفات تبدیل می شود.

$$\text{فروکتوز ۱، ۶ – دی فسفات} + H_2O \longrightarrow \text{فروکتوز ۶- فسفات} + Pi$$

با تشکیل گلوکز ۶ فسفات آنزیم گلوکز ۶- فسفاتاز می تواند آن را به گلوکز تبدیل نماید

$$\text{گلوکز ۶- فسفات} + H_2O \longrightarrow \text{گلوکز} + Pi$$



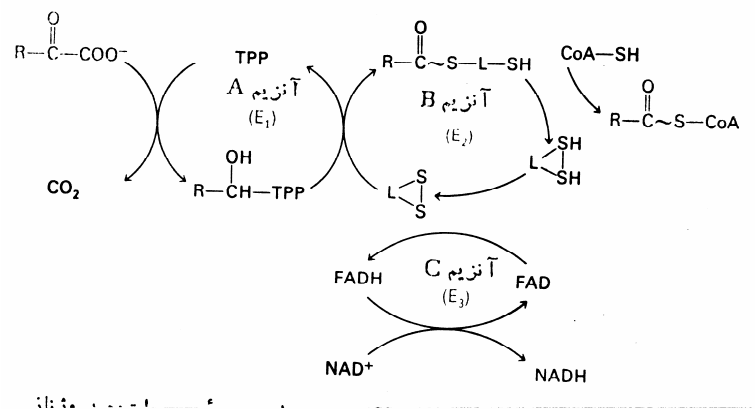
هورمون گلوکاگن سیترات استیل εA2 بالا آلانین اثر فعال کننده بر روی گلوکونئوژنز دارند برعکس انسولین فروکتوز ۶ و ۱ بیس فسفات اثر مهار کننده بر این فرآیند دارند.

چرخه اسید سیتریک سیکل کربس

چرخه اسید سیتریک (که چرخه کربن یا چرخه اسید تری کربوکسیلیک) نیز نامیده می شود یک رشته واکنش هائی میتوکندریایی است که با اکسیده کردن اجزای استیل CoA به Co2 و H2O و انرژی که از احیاء کوانزیم ها بدست می آید انجام می پذیرد. آنزیم هایی لازم برای این چرخه تماماً در میتوکندری وجود دارد. بعضی از آنها در قسمت مایکربس و بقیه متصل به غشاء درونی میتوکندری تمام متابولیک ها به شکل استیل CoA وارد این دوره می شوند برای مثال پیروات حاصل از عمل گلی کولیز در اثر یک دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو که توسط پیروات دهیدروژناز صورت می گیرد به استیل CoA تبدیل می شود. این واکنش رابط بین عمل گلی کولیز و چرخه اسید سیتریک میباشد و در بافت های حیوانی این عمل برگشت ناپذیر است. در ضمن باید یادآور شد که سیکل کربن به یک ماده ۴ کربنه بنام اگزالاستات نیازمند است که معمولاً از کربوکسیله کردن پیروات با آنزیم پیروات کربوکسیلاز بدست می آید

آنزیم پیروات دهیدروژناز

آنزیم پیروات دهیدروژناز یک مجموعه آنزیمی است که ۱۳ آنزیم E1 پیروات دهیدروژناز E2 دی هیدرولیپوئیل ترانس استیلاز و E3 دی هیدرولینوئیل با ۵ کوانزیم بتا که عبارتند از TPP تیامین پیروفسفات LP اسید لیپوئیک CoA-SH و FAD و NAD^+ می باشد نحوه عمل این آنزیم در شکل زیر نمایش داده می شود.



مراحل سیکل اسید سیتریک به ترتیب زیر می باشد.

۱- ترکیب استیل CoA با اگزالواستات برای ساخت سیترات تحت تاثیر آنزیم سیترات سنتاز اکونیاز

۲- آنزیم اکونتیار سیترات به ایزوسیترات ایزومره می کند

۳- ایزوسیترات به کمک آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز به اگزوالوسوکینات تبدیل می شود که یک ترکیب ناپایدار است با عمل دکربوکسیلاسیون یک Co2 از دست داده به α کتوگلوترات تبدیل می شود کوآنزیم این آنزیم NAD^+ می باشد.

۴- α کتوگلوترات توسط یک کمپلکس آنزیمی که کاملاً شبیه پیروات دهیدروژناز می باشد از طریق دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو (در مبحث پیروات دهیدروژناز بحث شده) به سوکسنیل CoA تبدیل می شود. در ..... یک مهار کننده قوی برای آنزیم α کتوگلوترات دهیدروژناز می باشد.

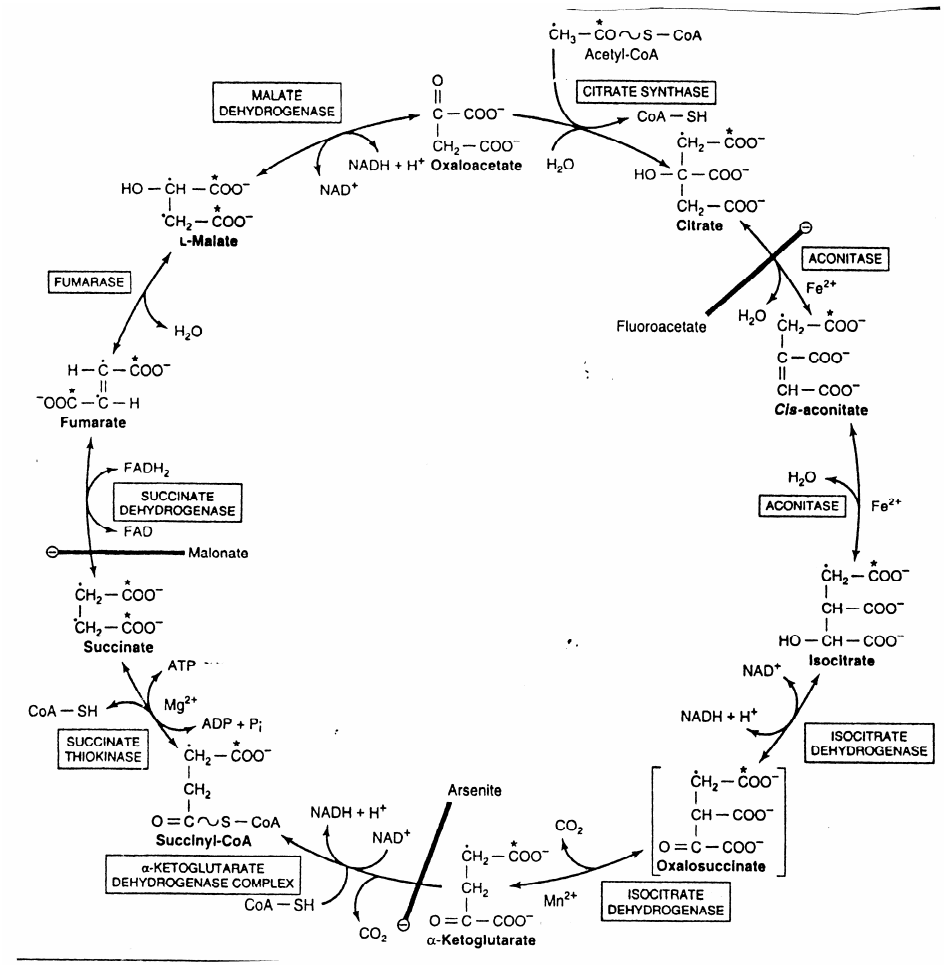
۵- سولکیل CoA توسط آنزیم سوکسینات تیوکیناز به سوکسینات تبدیل می شود. این تنها فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا در چرخه اسیدسیتریک است کوآنزیم این آنزیم GDP (کوانیدین دی فسفات می باشد) به کد GTP تبدیل می شود.

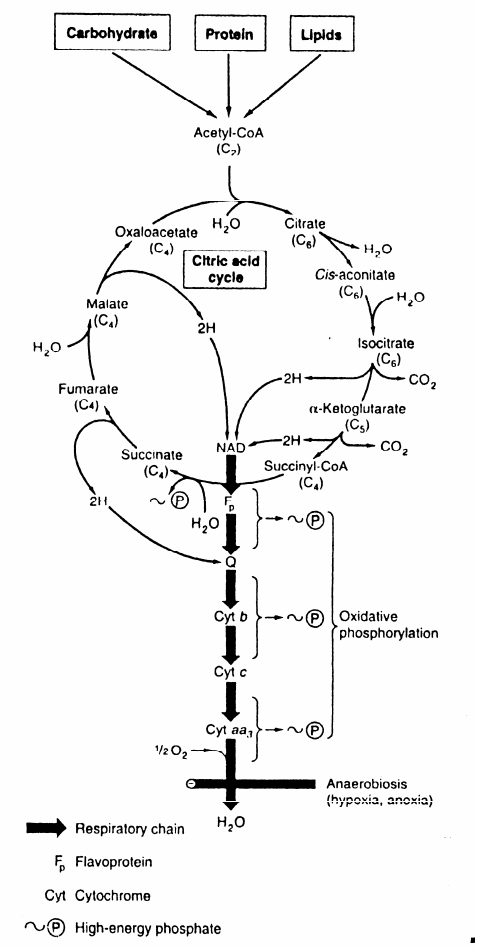
۶- سوکسینات با آنزیم سوکسینات دهیدروژناز تبدیل به فومارات م شود این آنزیم به سطح درونی غشاء میتوکندرا چسبیده است این آنزیم حاوی FAD پرونین آهن – گوگد (Fe-S) است.

۷- آنزیم فوماراز با افزودن آب به پیوند دو گانه فورمارات مالات را می سازد.

۸- مالات دهیدروناز مالات را با کمک NAD^+ به اگزالواستات تبدیل می کند همانطور که مشاهده می شود به ازای هر مولکلو استیل CoA که در یک دوره کاتابولیزه می شود.

۳- مولکول NADH و یک مولکول FADH2 تولید می کند که این اکی والانهای احیاء شده به زنجیره تنفسی منتقل می شوند و از اکسیداسیون مجدداً آنها به ازای هر NADH ۳ مولکول ATP به ازای هر FADH2 دو مولکول ATP تولید می شود. به علاوه یک مولکول ATP از هر GTP تولید می شود پس بنابراین به ازای اکسیداسیون هر مولکول استیل CoA در یک دوره سیکل کربن KATP بدست می آید . مراحل سیکل کربس در ۲ شکل زیر نشان داده می شود.


Acetyl-CoA
CITRATE SYNTHASE
CoA — SH
Citrate
ACONITASE
Fluoroacetate
Cis-aconitate
Isocitrate
ISOCITRATE DEHYDROGENASE
Oxalosuccinate
Arsenite
α-Ketoglutarate
α-KETOGLUTARATE DEHYDROGENASE COMPLEX
Succinyl-CoA
SUCCINATE THIOKINASE
Succinate
SUCCINATE DEHYDROGENASE
Malonate
Fumarate
FUMARASE
L-Malate
MALATE DEHYDROGENASE
Oxaloacetate



مسیر پنتوز فسفات

مسیر پنتوز فسفات راه دیگری برای متابولیسم گلوکز است .مهم ترین محصو این مسیر :

۱) تولید NADPH برای ساخت اسیدهای چرب کلسترول و احیاء گلوتاتیون در گلبولهای قرمز می باشد.

۲) ساخت قند پنج کربنه ریبوز برای بیوسنتز نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک

آنزیم های مسیر پنتوز فسفات مانند گلی کولیز در سینوزول هستند

مسیر پنتوز فسفات را می توان به ۲ مرحله تقسیم کرد

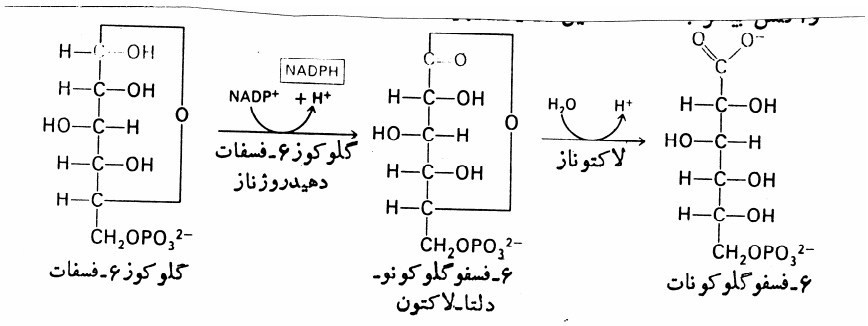
A- مرحله اکسیداتیو که برگشت ناپذیر است.

B- مرحله غیراکسیداتیو که برگشت پذیر می باشد

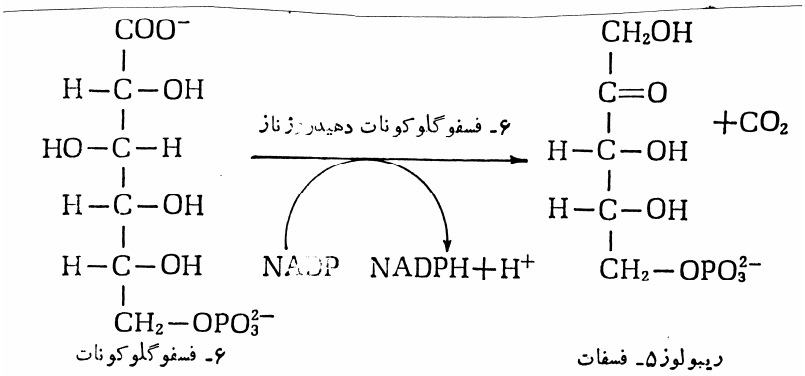
A مرحله اکسیداتیو

۱- تبدیل گلوکز ۶-فسفات به ریبوز ۵ فسفات

مرحله اکسیداتیو با اکسیداسیون گلوکز ۶ فسفات توسط آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز که به اختصار به G6PD شروع می شود حاصل این عمل ۶ فوگلوکونودلتا لاکتون است در مجاورت انزیم لاکتونار به ۶ فسفوگلوکونات تبدیل می شود.



۶ فسفوگلوکونات در مجاورت آنزیم ۶ فسفو گلوکونات دهیدروژناز دکربوکسیله شده به یک قند پنج کربنه کتنی بـه ریبولـوز ۵ فـسفات تبدیل می شود

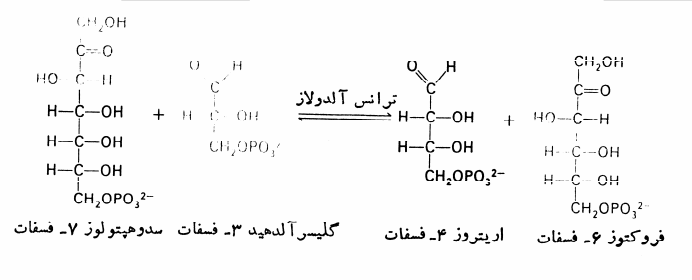


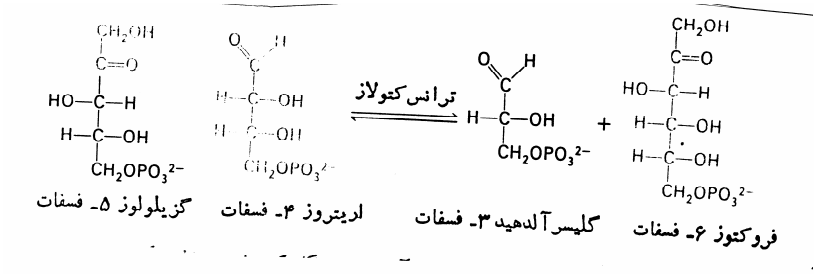
مرحله بعدی در راه پنتوز فسفات ایزومری شدن ریبولوز ۵ فسفات و تبدیل آن به ریبوز ۵ فسفات تحت تاثیر آنزیم فـسفونیوز ایزومـراز . نظر به اینکه ریبوز ۵ فسفات در بسیاری از واکنش ها از جمله سنتز نوکلئوتیدها مورد نیاز است .لذا در اغلب موارد راه پنتـوز فـسفات در این مرحله متوقف می شود . معادله کلی برای این واکنش ها را می توان به صورت زیر خلاصه کر.

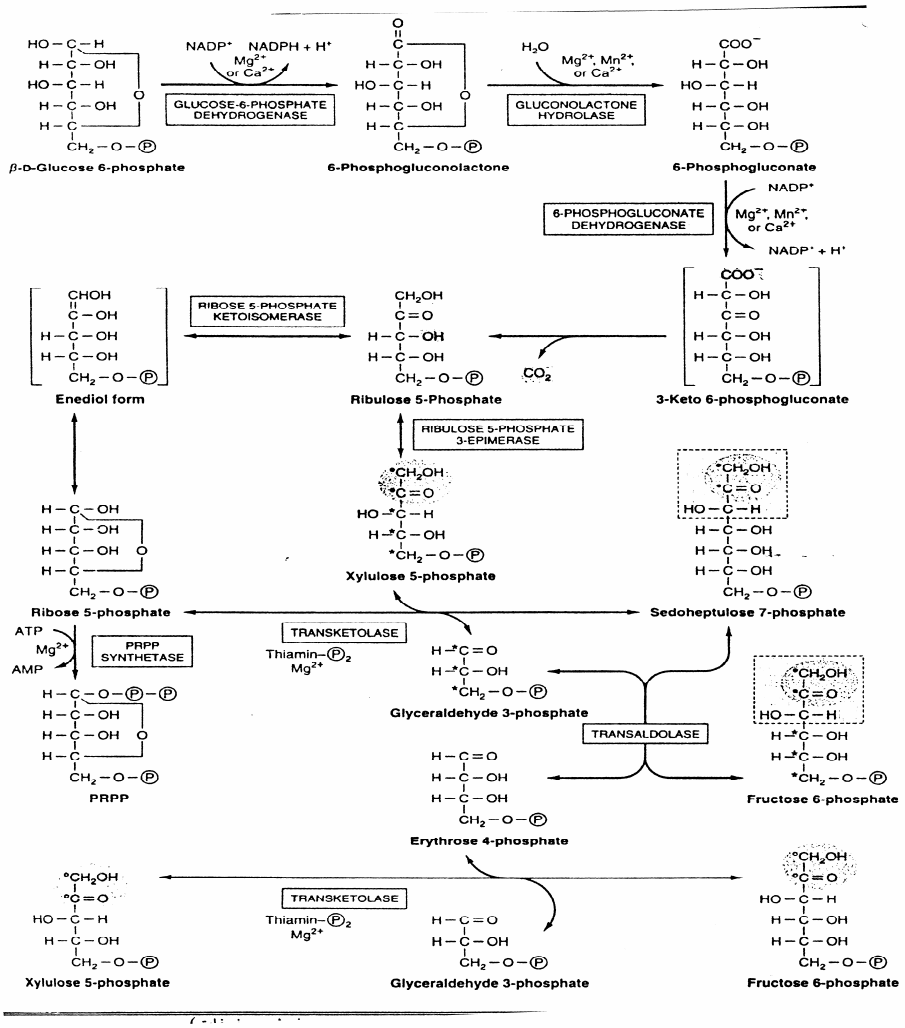
ریبولوز ۵ فسفات می تواند در مجاورت آنزیم ریبولوز فسفات ۳ اپی مراز به گریلولوز ۵ فسفات تبدیل شود.

B مرحله غیر اکسیداتیو

در مرحله غیر اکسیداتیو یک مولکول گریلولوز ۵ فسفات با یک مولکول ریبوز ۵ فسفات ترکیـب شـده آنـزیم ایـن واکـنش تـرانس کتولاز است این آنزیم یک واحد ۲ کربین یک قند کتنی گریلولوز ۵ فسفات به یک الدئید ریبوره فسفات انتقال داده در نتیجه یک قند ۷ کربنه استنی بنام ستوهیتولوز ۷ فسفات و یک قند ۳ کربنه الدئیدی بنام ۳ فسفو گلیسرو الدئید بوجود می آید . این واکنش بـه کـوآنزیم تیامین دی فسفات و mg^{2+} نیاز دارد. در مرحله بعدی ترانس الدولاز امکان انتقال یک جـزء ۳ کربنـی از سـتوهیتولوز ۷ فـسفات بـه ۳ فسفوگلیسروالدئید را فراهم می نماید تا فروکتوز ۶ فسفات و اریتروز ۴ فسفات ایجاد شود در واکنش بعدی که با ترانس لاکتوز انجام می شود گریلولوز ۵ فسفات یک واحد ۲ کربنی به اریتروز ۴ فسفات می دهد تا فروکتوز ۶ فسفات و کلیسروالدئید ۳ فسفات پدید آیـد .تمـام مراحل در شکل های صفحه .... نشان داده شده


ترانس آلدولاز
سدوهپتولوز ۷- فسفات
گلیسرآلدهید ۳- فسفات
اریتروز ۴- فسفات
فروکتوز ۶- فسفات


ترانس کتولاز
گزیلولوز ۵- فسفات
اریتروز ۴- فسفات
گلیسرآلدهید ۳- فسفات
فروکتوز ۶- فسفات


β-D-Glucose 6-phosphate
GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE
NADP+ NADPH + H+
6-Phosphogluconolactone
GLUCONOLACTONE HYDROLASE
6-Phosphogluconate
6-PHOSPHOGLUCONATE DEHYDROGENASE
Enediol form
RIBOSE 5-PHOSPHATE KETOISOMERASE
Ribulose 5-Phosphate
3-Keto 6-phosphogluconate
RIBULOSE 5-PHOSPHATE 3-EPIMERASE
Xylulose 5-phosphate
Ribose 5-phosphate
Sedoheptulose 7-phosphate
PRPP SYNTHETASE
PRPP
TRANSKETOLASE
Glyceraldehyde 3-phosphate
TRANSALDOLASE
Fructose 6-phosphate
Erythrose 4-phosphate
Xylulose 5-phosphate
Glyceraldehyde 3-phosphate
Fructose 6-phosphate

اهمیت راه پنتوز فسفات

گلبولهای قرمز انسان در مقایسه با سایر بافت ها مقدار بیشتری از گلوکز را از طریق پنتوز فسفات اکسید می کنند و NADPH لازم را برای احیاء گلوتاتیون توسط گلوتاتیون ردکتاز فراهم می کنند. به همین دلیل کمبود آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز می تواند سبب اختلال در این راه شود. در نتیجه این امر مقدار NADPH در گلبولهای قرمز افراد مبتلا کاهش پیدا کرده در نتیجه بازیافت گلوتاتیون احیاء شده از گلوتایتون اکسید شده توسط آنزیم گلوتاتیون ردکتاز کوآنزیم این آنزیم NADPH می باشد کاهش پیدا می کند در نتیجه این اختلال غلظت مواد اکسیدان مانند H2O2 افزایش پیدا کرده باعث همولیز گلبولهای قرمز می گردد این حالت را فاویسم می گویند.

راه پنتوز فسفات در بعضی از بافت ها مثل بافت چربی کبد پستان، و غدد فوق کلیه نیز زیاد است نقش اساسی این راه تولید NADPH است که برای سنتز اسیدهای چرب کلسترول هورمونهای استروئیدی نهایت ضرورت را دارد. هم چنین اهمیت این راه تا عین ریبوز مورد احتیاج بن جهت سنتز نوکلئونید قابل ذکر است.

متابولیسم هگزوزهای دیگر

۱- متابولیسم فروکتوز

در بافت چربی فروکتوز در حضور ATP و آنزیم هگزوکیناز به فروکتوز ۶ فسفات تبدیل می شود

ADP + فروکتوز . ۶ فسفات ATP+ فروکتوز

در عضله و کبد فروکتوز توسط آنزیم دیگری بنام فروکتوکیناز به فروکتوز ۱ فسفات تبدیل می شود تاکنون در بدن انسان هیچ آنزیمی که بتواندفروکتوز ۱ فسفات را به فروکتوز ۶- فسفات یا فروکتوز ۶ و ۱ بیس فسفات تبدیل کند وجود ندارد

در نیمه فروکتوز ۱- فسفات توسط آنزیم الدولاز B در کبد وجود دارد به ۲ قند سه کربنه فسفودی هیدروکسی استی گلیسروالدئید تبدیل می شود.

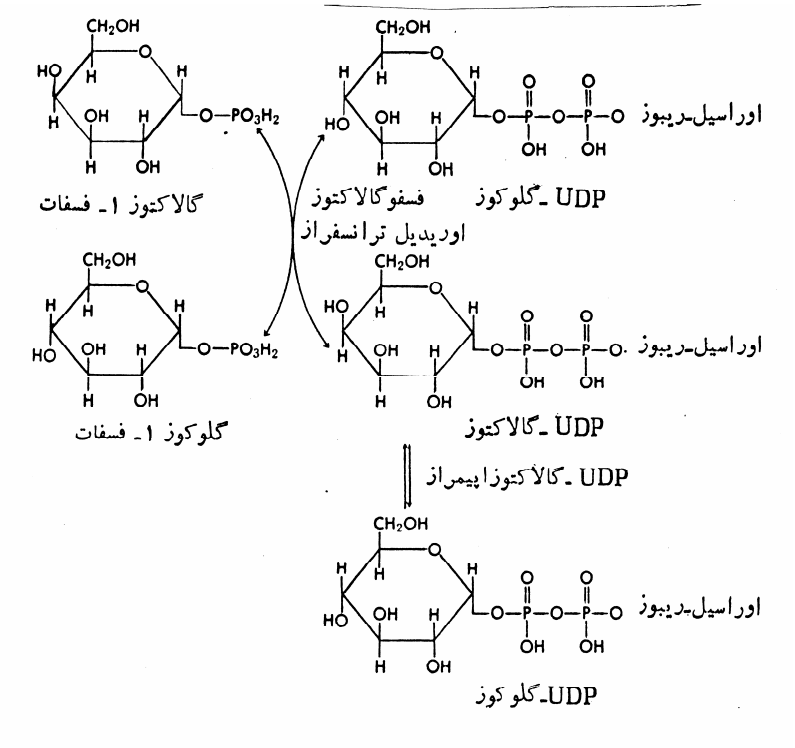
ADP + فروکتوز ۱- فسفات ATP + فروکتوز

گلیسرالدهید + دی هیدروکسی استون فسفات فروکتوز ۱- فسفات

گلیسروالدئید در مجاورت NADH حاصل در مجاورت NADH تبدیل به گلیسرول می شود. گلیسرول در مجاورت گلیسرول کیناز و ATP به گلیسروفسفات تبدیل می شود این جسم با آنزیم گلیسروفسفات دهیدروژناز به دی هیدروکسی استن فسفات تبدیل می شود از راه گلی کولیز متابلیزه می شود.

۲- متابولیسم گالاکتوز

گالاکتوز در کبد در مجاورت آنزیم گالاکتوکیناز به گالاکتوز ۱ فسفات و سپس طی واکنش های به گلوکز ۱-فسفات تبدیل می شود که می تواند وارد دورهٔ گلی کوژنز شود تمام مراحل در شکل زیر نشان داده شده است.



به علت فقدان دو آنزیم گالاکتو-۱- فسفات یوردیل ترانسفراز متابولیسم گالاکتوز مختل شده مقدار آن در خون بالا می رود این اختلال گالاکتوزمی نامیده می شود در نتیجه گالاکتوز از طریق ادرار دفع می شود.

متابولیسم مانوز

مانوز با آنزیم هگزوکیناز در مجاورت ATP به مانوز ۶ فسفات تبدیل می شود (سپس با آنزیم فسفومانوزایزومراز به فروکتوز ۶ فسفات تبدیل می شود می تواند وارد دورهٔ گلی کولیز شود)

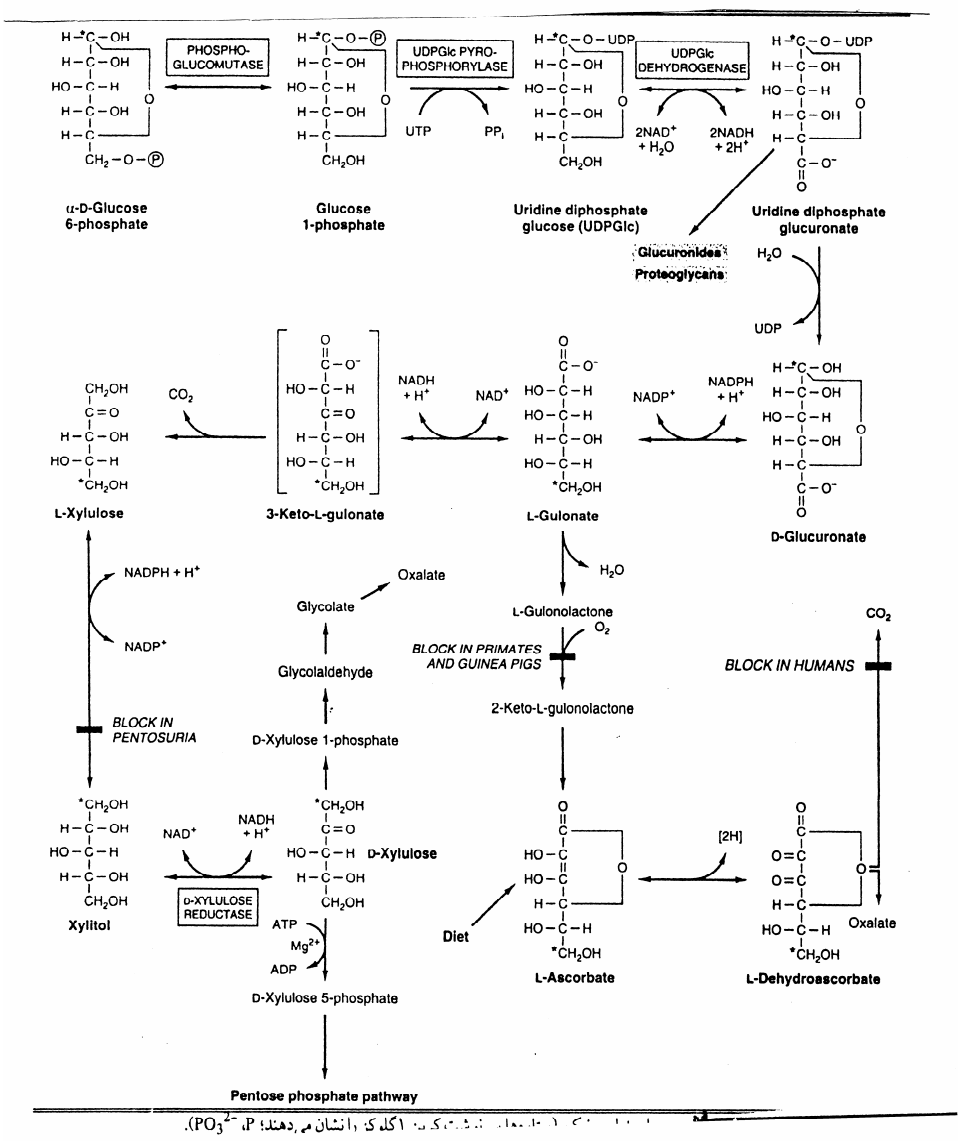
$$\text{مانوز} + ATP \longrightarrow \text{مانوز ۶- فسفات} + ADP$$

$$\text{فروکتوز ۶- فسفات} \rightleftharpoons \text{مانوز ۶- فسفات}$$

چرخه گلوکورونیک اسید

مسیر چرخه گلوکورونیک اسید در کبد انجام می گیرد. گلوکز را به اسید گلوکورونیک و اسید اسکوربیک و پنتوزها تبدیل می کند . در این مسیر گلوکز ۶ فسفات به گلوکز ۱- فسفات تبدیل شد . سپس با ATP تحت اثر آنزیم UDPG10 پیروفسفوریلاز به UDPG با گلوکز فعال تبدیل شده گلوکز فعال UDPG تحت تاثیر آنزیم UDPG1C دهیدروژناز وابسته به NAD^+ به LIDP گلوکورونات که همان فرم فعال گلوکورونات ها می باشد که در تمام واکنش ها مانند ترکیب با پروتئوگلایکن ها با ترکیب با بیلی زوبین به شکل گلوکورونات فعال شرکت می کند.

در بدن انسان به علت فقدان آنزیم L گلولونولاکتون اکسیداز قادر به ساختن و تیامین C از اسید گلوکورونیک نمی باشد.



(PO_3^{2-} ،P ،دهند؛ را نشان می ۱ گله ک ...).

فصل دوازدهم

متابولیسم اسیدهای چرب

متابولیسم لیپیدها

قسمت اعظم لیپیدهای غذایی تری اسیل گلیسرولها می باشد مقداری نیز کلسترول و سایر لیپیدها مانند فسفولیپیدها و ویتامین های محلول در چربی در رژیم غذایی روزانه وجود دارد.

هضم تری اسیل گلیسرولها در معده تحت اثر آنزیم لیپاز معده شروع می شود PH مناسب برای این آنزیم حدود ۷ است از آنجائیکه PH ترشحات معدی در افراد بزرگسال بمراتب پائین تر از این مقدار است و احتمالاً فعالیت این آنزیم در شیرخواران باید بیش از افراد بزرگسال باشد. هضم غده چربی در روده باریک تحت اثر ترشحات صفرا و شیرده پانکراس انجام می گیرد. با ورود کیموس به داخل روده باریک و تحریک مخاط آن هورمونی به نام کولوسیستوکنین ترشح می شود کولوسیستوکین ۲ کار انجام می دهد.

A – باعث تحریک و انقباض کیسه صفرا و ترشح صفرا به داخل روده

B – تحریک پانکراس و خروج ماده لزجی که حاوی مقدار زیادی آنزیم می باشد.

A سنتز اسیدهای صفراوی در کبد انجام می گیرد و منشأ آن از کلسترول می باشد و سرانجام به شکل ترکیب با گلیسین یا تورین املاح صفراوی را می سازند و سرانجام در میکروزومهای سلولهای کبدی با کوآنزیم A ترکیب شده به شکل فعال در می آید.

نقش عمده صفرا را به اختصار میتوان چنین بیان کرد

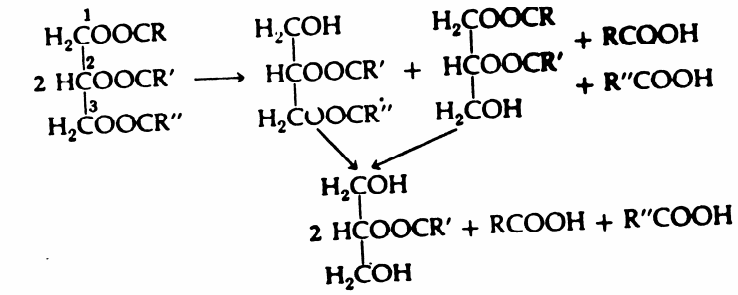
۱) نقش مهمی در تنظیم کلسترول تعلیق چربی ها: اسیدهای صفراوی در تعلیق و بصورت معلق در آوردن لیپیدها موثرند.

۲) خنثی کردن محتویات اسید معده با این عمل بعلت داشتن PH قلیائی قادر است کیموس اسیدی وارد شده از معده را خنثی و محیط روده را برای اعمال آنزیمی مناسب نماید.

۳) دفع مواد زیان آور مانند بعضی از داروها در رنگدانه و سم ها

۴) دفع کلسترول از طریق صفرا به شکل اسیدهای صفراوی که نش مهّمی در تنظیم کلسترول بدن دارد.

B شیرهٔ پانکراس شبیه به بزاق است در آن یونهای متفاوت از قبیل Na^+ و K^+ $HCO3^-$ Cl^- - Ca^{2+} و Zn^{2+} وجود دارد و تعداد زیادی از آنزیم ها نیز در آن وجود دارد. آنزیم مهمی در هضم چربی ها نقش دارد لیپاز می باشد. این آنزیم توسط یک کوفاکتور پروتئینی بنام کولیپاز که در شیره لوزالمعده وجود دارد. یک مجموعه ثابتی را تشکیل می دهد که دیگر قابل مهار شدن به وسیله اسیدهای صفراوی نمی باشد طریقه عمل لیپاز در شکل زیر نمایش داده شده فعالیت آنزیم لیپاز توسط هورمونهای اپی نفرین نوراپی نفرین و گلوکاکن و AcTH فعال و توسط انسولین مهار می شود.



استرازهای دیگری نیز علاوه بر لیپاز در شیره پانکراس وجود دارد که قادر به هیدرولیز کلسترول استریفیه می باشد و آنزیم دیگر هر دو فسفولیپاز A2 می باشد که در ابتدا غیر فعال بوده تحت تاثیر اسید آمینه تریپسین بشکل فعال یعنی فسفولیپازَ A2 می شود این ماده یک دترژانت مناسب برای محیط روده می باشد.

جذب چربی ها در روده باریک

اسیدهای چرب با زنجیر بلند همچنین منو و دی اسیل گلیسرولها پس از جذب در سلولهای مخاطی روده مجدداً تشکیل تری اسیل گلیسرولها را می دهند از طریق سیستم لنفاوی (کانال توراسیک) بصورت کیلومیکرونها وارد گردش خون می شود کیلومیکرونها ذرات کوچکی به قطر یک میکرون هستند که در ساختار آن ها مقدار زیادی لیپید و بمقدار کم پروتئین وجود دارد.

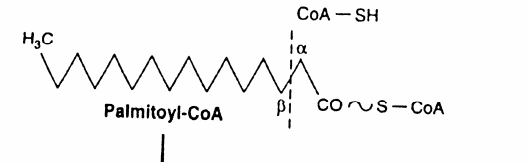
چربی ها موجود در مدفوع

منشاء لیپیدهای موجود در مدفوع متفاوت است قسمتی از آنها شامل چربی های هضم و جذب نشده مواد غذائی هستند و مقدار بسیار کمی نیز توسط باکتریهای روده ساخته می شوند. دفع بیش از اندازه چربی ها را استئاتوره می نامند.

اکسیداسیون اسیدهای چرب (بتا اکسیداسیون)

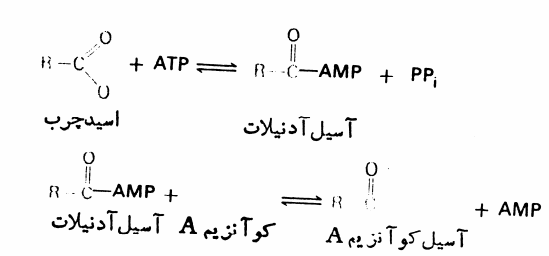
مراحل بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب

بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب در ماتریکس میتوکندری انجام می گیرد ولی ورود اسیدهای چرب به داخل میتوکندری همراه با فعال شدن آن در سیتوزول صورت می گیرد.



مراحل تشکیل اسید چرب فعال

تشکیل این ماده در جدار و میتوکندری در مجاورت آنزیم اسیل کوآنزیم A سنتتاز باتیوکیناز در ۲ مرحله انجام می پذیرد.

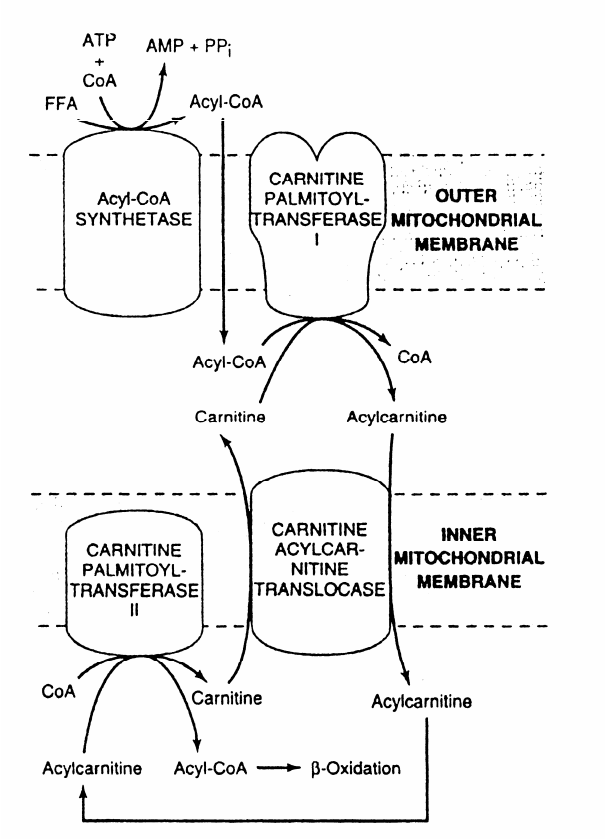


ورود اسیل کوآنزیم A به داخل میتوکندری

اسیدهای چرب با زنجیره متوسط با طولانی نمی توانند به طور آزاد از جدار میتوکندری عبور کنند عبور آنها به صورت یک مکانیسم انتقال فعال به کمک ماده ای بنام کارنی تین انجام می گیرد واکنش فوق توسط آنزیم های زیر انجام می گیرد.

۱. کارنی نین اسیل ترانسفراز I که در سینوزول و هم در غشاء خارجی میتوکندری وجود دارد.
۲. کارنی تین اسیل ترانسفراز II که در غشاء داخلی میتوکندری یافت می شود.
۳. کارنی تین اسیل کارنتین ترانس لوکالاز که در غشاء داخلی میتوکندری وجود دارد.

نحوه انتقال اسید چرب از سینوزول به داخل میتوکندری در شکل زیر نمایش داده شده



مراحل انتقال اسیدچرب از سینوزول به داخل میتوکندری

مراحل بعدی بتا اکسیداسیون در داخل ماتریکس میتوکندری انجام می پذیرد

در مرحله اول: ۲ اتم هیدروژن از اتمهای کربن α و β تحت تاثیر آنزیم اسیل کوA دهیدروژناز برداشته می شود کوآنزیم این آنزیم FAD می باشد با ایجاد یک پیوند دوگانه انوئیل کوآنزیم A تولید می شود.

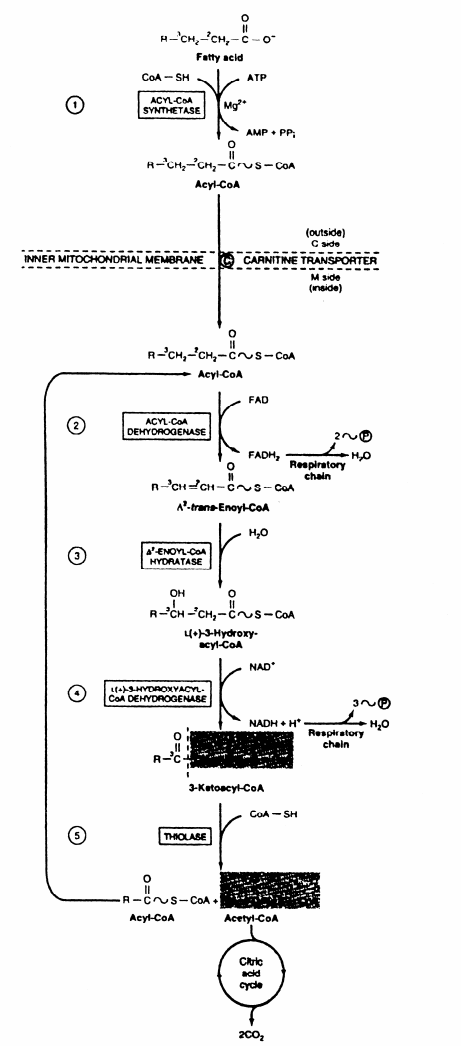
مرحله دوم : تشکیل بتا هیدروکسی اسیل کوآنزیم A

در این مرحله پیوند دوگانه ای که در واکنش قبلی تشکیل شده توسط آب با آنزیم هیدراتاز پوشیده می شود. ۳ هیدروکسی اسیل کوآنزیم A تولید می شود این ماده در محل کربنی β دهیدروژنه شده ۳ کتواسیل کوآنزیم A مربوطه را می سازد آنزیم این واکنش L- ۳ هیدروکسی استیلCoA دهیدروژناز می باشد و NAD^+ کوآنزیم این واکنش است بالاخره ۳ کتواسیل کو A تحت اثر آنزیم تیولاز در فاصله کربن αو β شکسته استیل کو A و اسیل کو A را می سازد که ۲ کربن کمتر از اسیل کوA اولیه دارد. در هر بار عمل اکسیداسیون یک FADH و NADH تولید می شود که در زنجیره تنفسی ۵ مول ATP تولید می کند برای مثال برای شکستن یک اسید چرب ۱۸ کربنه ۹ مولکول استیل CoA تولید می شود ۸ بار عمل اکسیداسیون صورت و چون آخرین باقیمانده استیل CoA است و نیازی به اکسیده شدن ندارد پس بنابراین :

$8\times5=40$ $108+40=148$

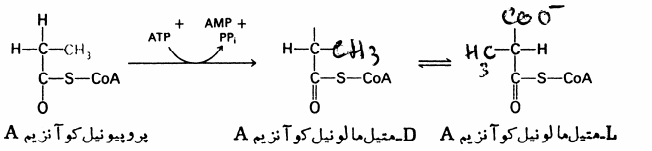
$9\times12=108$ $148-2=146$

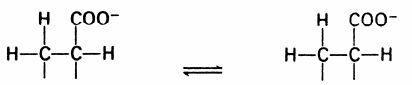
چون در هر بار فعال سازی در سیتوزول ۲ مول ATP مصرف می شود.



اکسیداسیون اسیدهای چرب با تعداد کربن فرد β

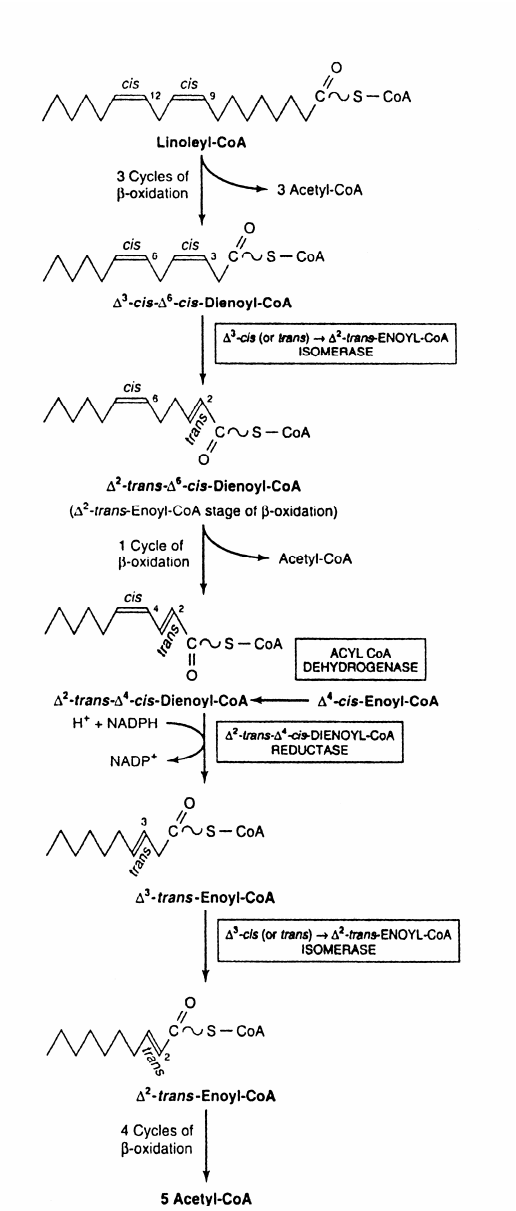
اسیدهای چربی که تعداد کربن آن فرد است در مسیر β اکسیداسیون اکسیده شده و آخرین باقیمانده این اکسیداسیون یک جزء ۳ کربنی بنام پروپیونیل CoA می باشد به سوکسنیل CoA تبدیل می شود. سوکسنیل CoA از اجزاء چرخه اسیدسیتریک می باشد چون به اگزالوستات تبدیل می شود می تواند قند ساز باشد.





اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده

اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده شبیه اسیدهای چرب اشباع شده است فقط برای اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه مانند اسید اولئیک وجود دارد آنزیم ایزومراز و براه اسیدهای چربی بیش از یک پیوند دوگانه مانند اسیدلینولئیک وجود دو آنزیم دیگر بنام دهیدروژناز و ردکتاز ضروری می باشد.



مراحل بتااکسیداسیون اسیدهای چرب با ۲ پیوند دو گانه (اسید لینولئیک)

قابل توجه هرگونه اختلال در اکسیداسیون اسیدهای چرب باعث هیپوگلیسمی شدن فرد می گردد زیرا در اثر اختلال در اکسیداسیون اسیدهای چرب میزان استیل CoA کاهش پیدا می کند در نتیجه پیرووات حاصل از گلی کولیز توسط آنزیم پیرووات دهیدروژناز به استیل CoA تبدیل می شود. با این عمل چون میزان پیرووات که ماده اولیه برای گلی کونئوژنز است کاهش پیدا می کند می تواند عاملی برای هیپوگلیمسی فرد باشد.

بیوسنتز اسیدهای چرب

برخلاف آنچه که قبلاً تصور می شد بیوسنتز اسیدهای چرب از طریق برگشت عمل β اکسیداسیون اسیدهای چرب عملی نیست بلکه مستلزم انجام یک سری واکنش های جدید است این واکنش های جدید توانائی بدن را در کنترل متابولیسم افزایش می دهد. فرق های اکسیداسیون اسیدهای چرب با بیوسنتز اسیدهای چرب را می توان به شرح زیر بیان کرد:

β اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری در صورتی که بیوسنتز اسیدهای چرب در سینوزول صورت می گیرد

۱- در β اکسیداسیون جسم واسطه اسیل کوآزیم A می باشد در حالی در بیوسنتز اسیدهای چرب جسم واسطه مالونیل CoA می‌باشد که به وسیله یک پیوند سولفیدیل به ACP (Acyl carrier protein) متصل است.

۲- آنزیم های موثر در بیوسنتز در ارگانیسم های عالی بصورت یک مجموعه آنزیمی(Faculty Acid Synghase (FAS می باشد در صورتیکه در β اکسیداسیون آنزیم ها بصورت انفرادی عمل می کنند.

۳- شکستن اسیدهای چرب بصورت جسم ۲ کربنه (استیل CoA) از یک زنجیره اسیلی می باشد در صورتیکه در بیوسنتز اسیدهای چرب دو زنجیره اسیل هم زمان تولید می شود.

۴- در بیوسنتز اسیدهای چرب کوآنزیم همیشه NADPH است در حالی که در β اکسیداسیون FAD و NAD^+ این نقش را بعهده دارند

برای ساختن اسیدهای چرب دو راه وجود دارد :

۱-در سیستم FAS که سیستم سازنده اسید پاتمیک نامیده می شود که پاتمیات آزاد محصول نهائی این سیستم است .در تشخیص نهائی پستانداران و پرندگان ..... FAS به شکل کمپلکس چندآنزیمی می‌باشدو ACP جزئی از بین سیستم می‌باشد.

۲-سیستم دیگر برای طویل کردن زنجیره اسیدهای چرب در مسئله اندو پلاسمیک کبد وجود در این سیستم می توان اسیدهای چرب را تا ۲۴ کربن نیز طویل نمود.

کمپلکس FAS دیمراست در پستانداران منومرها یکسان می باشند در صورتیکه مجهز از ۲ واحد غیر یکنواخت ساخته شده FAS حیوانی قادر به تولید اسیدپاتمیک و اسید اشتاریک است در صورتیکه در مخمرها فقط قادر به تولید اسید پاتمیک می باشند

FAS حیوانی در حقیقت یک مجموعه ای می باشند که این مجموعه عبارتند از:

AT استیل ترانس اسیلاز MT (مالونیل ترانس اسیلاز) KR بتا کتواسیل ردکتاز ER (انول ردکتاز) DH (دهیدراتاز)
TE تیواستراز و KS آنزیم متراکم کننده

FAS به دو منطقه ۱ و ۲ تقسیم می شوند.

منطقهI شامل آنزیم KS AT و MT می باشد و اسید آمینه سیستئین آنزیم SH KS متصل می باشد که تیول محیطی یا سطحی نامیده می شود تیول سطحی جایگاه اسید چربی است که می خواهد به طول زنجیره آن اضافه شود

منطقه ۲ شامل آنزیم ER, KR و DH می باشد در این منطقه ACP قرار گرفته که فسفوپانتوئین ACP یک SH متصل است که به تیول مرکزی موسوم می باشد. تیول مرکزی جایگاه مالونیل CoA می باشد که همیشه دهنده کربن به اسید چربی است که می‌خواهد به طول زنجیر کربنی آن اضافه شود.

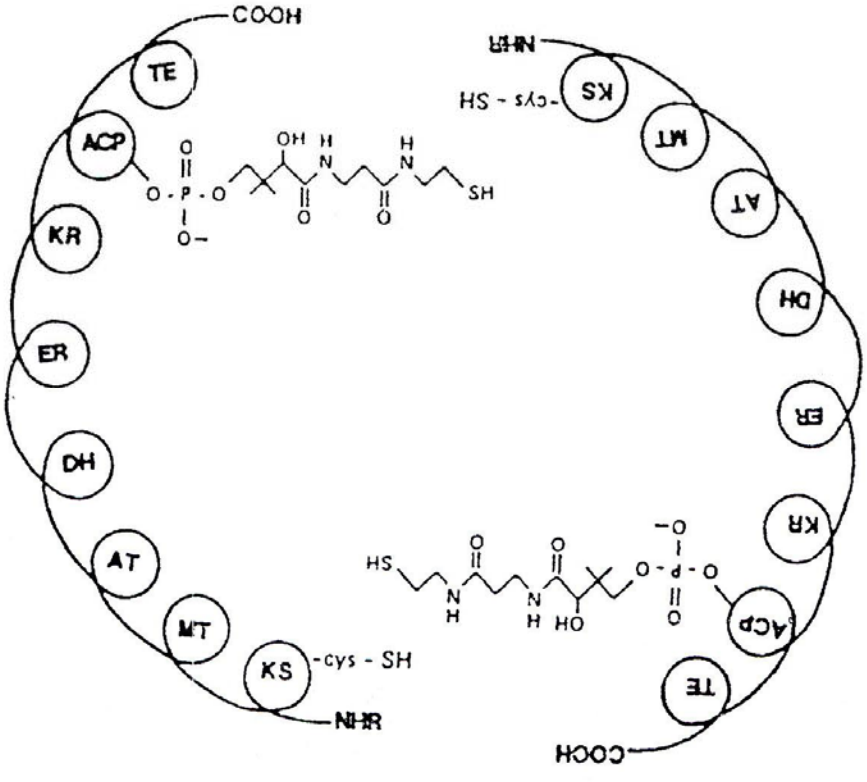
TE تیواتر از نسبت به اسیدپاتمیک و اسید استتاریک دارای فعالیت ویژه بوده به محض تشکیل آنها از مجموعه جدا می سازد.

طرح پیشنهادی FAS حیوانی که از دو رشته پلی پپتیدی یکسان به شکل سر به دم یکدیگر متصل شده

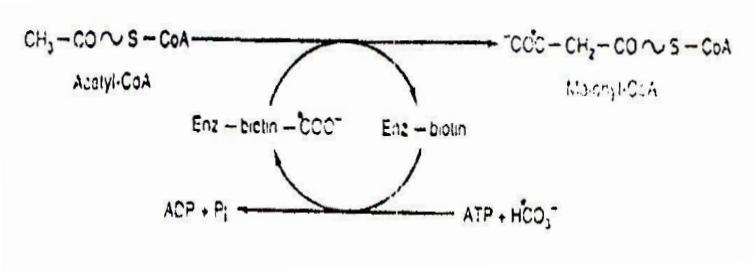
مراحل بیوسنتز اسیدهای چرب

مرحله اول تشکیل مالونیل CoA

بیوسنتز اسیدهای چرب با ترکیب یون بیکربنات با یک مولکول استیل CoA شروع می شود. تبدیل به مالونیل CoA می شود این واکنش در حضور ATP آنزیم استیل CoA کربوکسیلاز صورت می گیرد. به ..... نیاز دارد. استیل CoA کربوکسیلاز مهم ترین آنزیم در کنترل بیوسنتز اسیدهای چرب می باشد. گلوکاکن اپی نفرین اسید پاتمیک $NADH_2$ اثر مهار کننده بر روی این آنزیم داشته

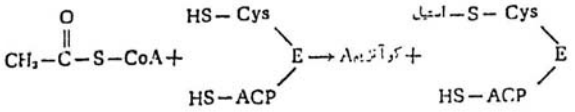


پرونین لیپاز فعال باعث فسفریله شدن و غیرفعال شدن این آنزیم می گردد. سیترات انسولین NAD^+ اثر فعال کننده بر روی این آنزیم دارد. انسولین اثر خود را از طریق دفسفریله کردن این آنزیم اعمال می کند.



مرحله دوم تشکیل مجموعه استیل FAS

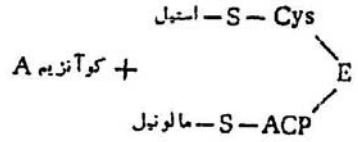
در این واکنش یک مولکول استیل CoA در حضور AT استیل ترانس اسیلاز به عامل SH سسنتین (تیول محیطی) متصل می شود مجموعه استیل FAS را تولید می کند.



عمل استیل ترانس اسیلاز غیراختصاصی است که علاوه بر انتقال استیل می تواند گروههای دیگر اسیل CoA نیز منتقل کند برای مثال در بیوسنتز اسیدهای چرب با کربن فرد می تواند پروپنوفیل را منتقل کند.

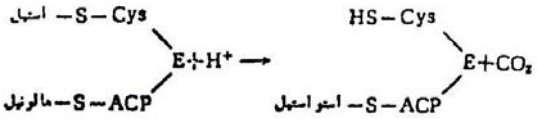
۳- تشکیل مجموعه مالونیل FAS

در این واکنش یک مولکول مالونیل کوآنزیم A به کمک آنزیم مالونیل ترانس اسیلاز به عامل SH مرکز مولکول FAS متصل می شود مالونیل FAS را تولید می کند برعکس AT استیل ترانس اسیلاز عمل NT کاملاً اختصاصی می باشد.



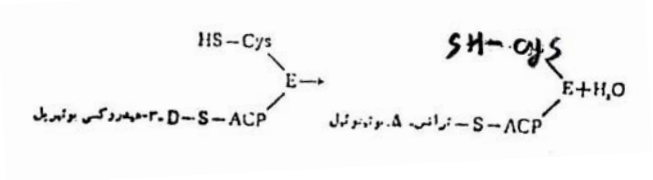
٤- تشکیل مجموعه استواستیل FAS

پس از انتقال استیل به SH سطحی و مالونیل به SH مرکزی ، گروه استیل از گروه SH سطحی مجموعه FAS جدا شده به کربن شماره ۲ مالونیل که بر روی SH مرکزی قرار گرفته منتقل می شود در این نقل و انتقال که توسط آنزیم KS (۳ کیتواسیل سنتتاز)صورت می گیرد یک مولکول Co2 آزاد می شود.



۵- تشکیل مجموعه با هیدروکسی بوتیریل FAS

مجموعه استیل FAS در مجاورت NADPH به کمک آنزیم KR (بتا کتواسیل ردکتاز) به مجموعه هیدروکسی اسیل FAS تبدیل می شود.

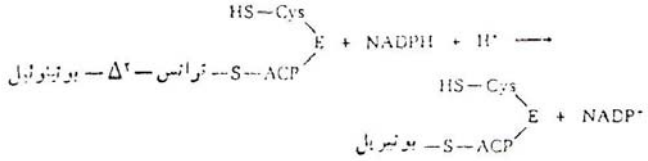


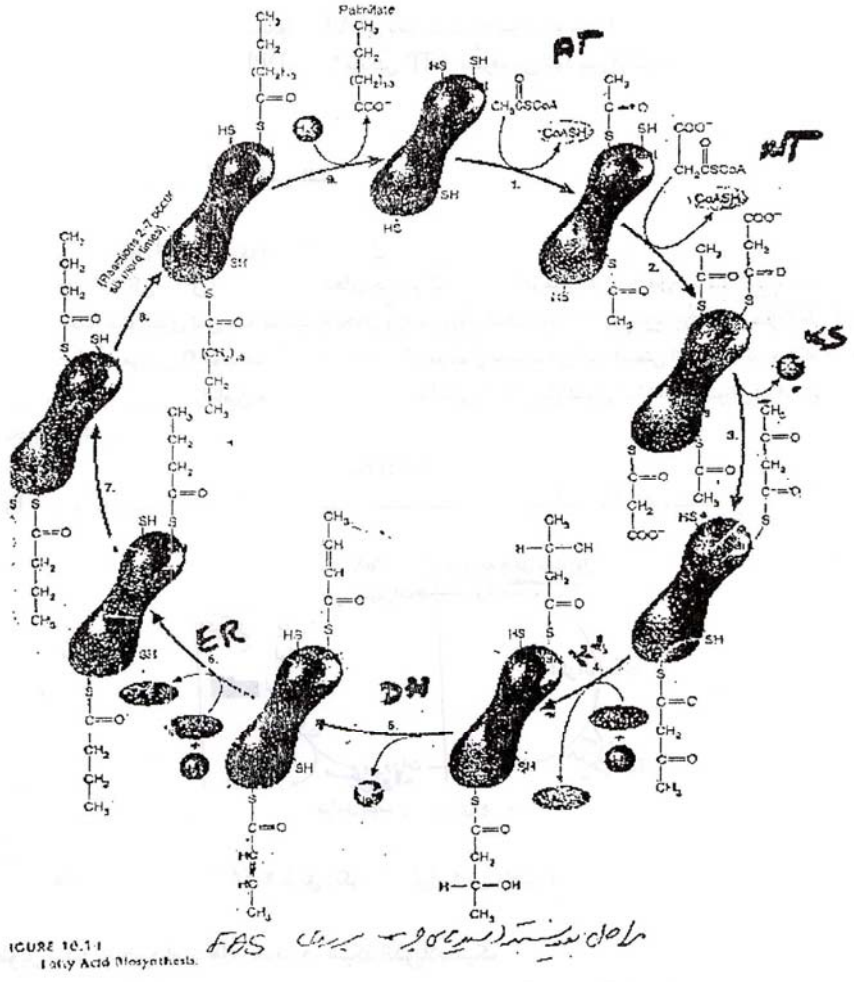
٦- تشکیل مجموعه کروتونیل FAS

مجموعه D ۳ هیدروکسی بوتیریل FAS به کمک آنزیم ۳ هیدروکسی اسیل دهیدراتاز یک مولکول آب از دست می دهد. به مجموعه کروتونیل FAS تبدیل می شود.

۷- تشکیل مجموعه بوتیریل FAS

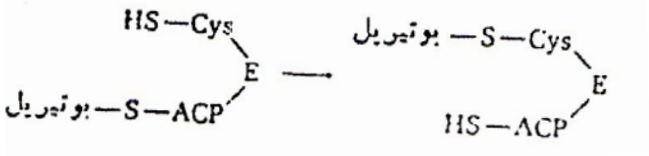
در این مرحله آنزیم ER (انوئیل ردکتاز) به کمک NADPH پیوند دو گانه کروتونیل از بین برده بوتیریل FAS را می سازد.





۸- انتقال گروه بوتیریل به SH سطحی

بعد از اشباع پیوند دو گانه گروه بوتیریل (بطور کلی گروه اسیل) حاصل از SH مرکزی به SH سطحی منتقل می شود و SH مرکزی برای پذیرش مالونیل بعدی آزاد می کند.



چنانچه مشاهده شد برای بیوسنتز اسید پاتمیک به ۷ مولکول مالونیل CoA ، یک مولکول استیل CoA نیاز می باشد که ۷ مولکول مالونیل CoA از کربوکسیله کردن ۷ مولکول استیل CoA توسط آنزیم استیل CoA کربوکسیلاز حاصل می شود که خلاصه رابطه و محاسبه انرژی به صورت زیر نوشته می شود.

استیل CoA +۷ (مالونیل CoA) $14NADPH+14H^+$|

پاتمیات + ۷Co2 + $14NADP^+$ + ۸ A کوآنزیم +6 H2O →

برای تهیه ۷ مولکول مالونیل CoA احتیاج به ۷ مولکول ATP می باشد. در نتیجه برای بیوسنتز اسید پانمیک ۷ مولکول ATP و ۱۴ مولکول NADPH لازم است که به ازای هر NADPH ۳ مولکول ATP مصرف می شود پس در نتیجه

$۱۴ \times ۳ = -۴۲$

$-۴۲ + ۷ = \quad -4gATP$

برای بیوسنتز اسید پانمیک نیاز به وجود ۴۹ ATP می باشد.

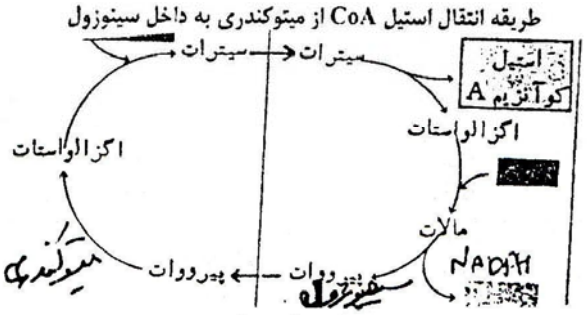
نقش سیترات در انتقال گروه استیل از میتوکند ری به داخل سینوزول

می دانیم استیل CoA در طی مراحل اکسیداسیون اسیدهای چرب و کربوهیدراتها در میتوکندری حاصل می شود نظر به اینکه استیل CoA قادر به عبور از غشاء میتوکندری نمی باشد لذا باید به نحوی وارد سینوزول شود. تا در سینوزول بتواند مراحل بیوسنتز را طی کند. بدین منظور استیل CoA + با یک مولکول اگزالواستات ترکیب شده تولید یک مولکول سیترات می کند. قسمتی از سیترات در چرخه کربس به Co2 و H2O و انرژی لازم برای بدن را تامین می کند مازاد سیترات به آسانی از جدار میتوکندری گذشته در سینوزول به استیل کوآنزیم A و اگزالواستات تجربه می شود.

سیترات لیاز

اگزالواستات + P_i + ADP + استیل کو آنزیم A ⟵ کوآنزیم A + ATP + سیترات

طریقه انتقال استیل CoA از میتوکندری به داخل سینوزول



مراحل بیوسنتز اسیدهای چرب

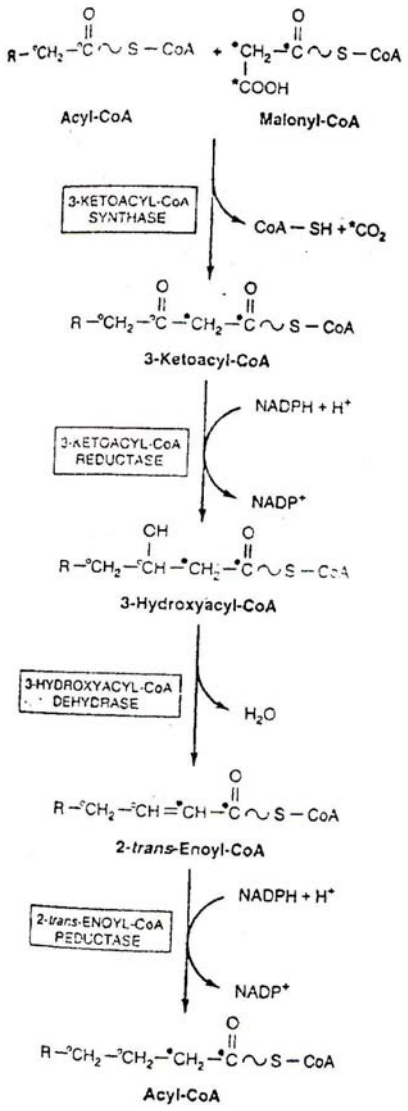
علاوه بر سنتز اسیدهای چرب در سیستم FAS ۲ طریق دیگر برای طویل کردن زنجیره اسیدهای چرب وجوددارد

۱- عمل طویل شدن زنجیره اسیدهای چرب در شبکه اندوپلاسمیک

در این مسیر عمل توسط آنزیم های سیستم میکروزومی طویل کننده اسید چرب (Faty Acid clongase) انجام می شود در این عمل مالونیل CoA به عنوان دهنده کربن و NADPH به عنوان احیاء کننده مورد استفاده قرار می گیرد آنزیم های این واکنشها ردکتازها می باشند.

۲- سیستم میتوکندریال

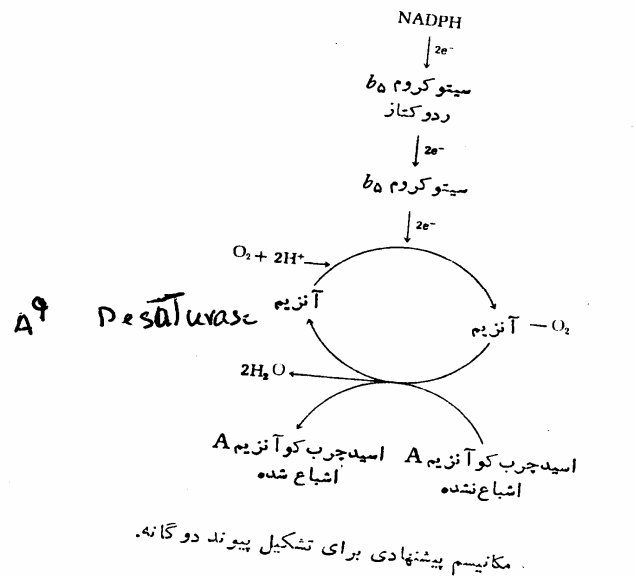
این سیستم فعالیت کمتری دارد از ترکیب استیل CoA به عنوان دهنده کربن برای طویل شدن استفاده می شود این روش عکس β اکسیداسیون نمی باشد. زیرا در این سیستم در آنزیم ها متفاوتی استفاده می شود.



سیستم میکروزومی eglongase برای طویل کردن

بیوسنتز اسیدهای چرب اشباع نشده

وجود اسید پالمینوئیک و اسید اولئیک در رژیم غذایی ضروری نیست چون عمل تشکیل پیوند دوگانه در شبکه اندوپلاسمی به کمک یک مجموعه آنزیمی بنام Δ^9 Pesaturase در حضور NADH یا NADPH صورت می گیرد ولی اسیدهای چرب مانند لینولئیک یا لینولیتیک جزء اسیدهای چرب لازم می باشند باید در رژیم غذائی وجود داشته باشند اسید آراشیدونیک در بیشتر پستانداران از اسید لینولئیک ساخته می شود زیرا اغلب پستانداران در موقعیت Δ^6 ، Δ^5، Δ^8، Δ^9 می توانند پیوند دو گانه ایجاد کنند ولی این حیوانات هیچگاه نمی توانند در موقعیتی فراتر از موقعیت Δ^9 پیوند دوگانه بوجود آورند. برعکس گیاهان در موقعیت Δ^{12} ، Δ^{15} قادر به ساخت پیوند دو گانه می باشند.



مکانیسم پیشنهادی برای تشکیل پیوند دوگانه.

سنتز اولین پیوند دو گانه تقریباً همیشه در موقعیت Δ^9 اسیدهای چرب اشباع شده ایجاد می شود حضور اکسیژن NADPH برای این واکنش ضروری می باشد.

بیوسنتز تری اسیکل کلیسرولها فسفولیپید و اسفنگولیپیدها

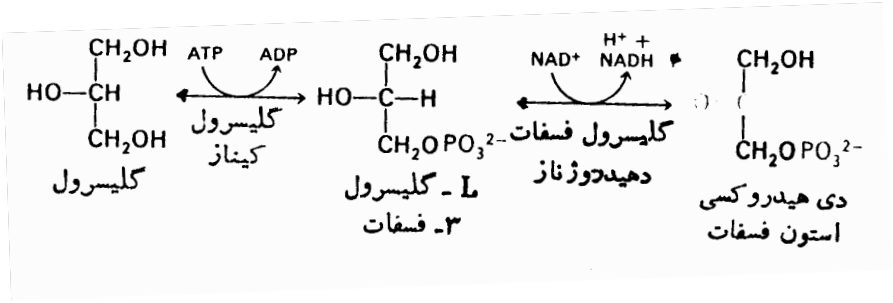
اسیل کلیسرولها قسمت اعظم لیپیدهای بدن را تشکیل می دهند. تری اسیل کلیسرولها مهم ترین لیپیدها در چربی های ذخیره ای و غذائی هستند، فسفولیپیدها جزء اصلی غشاء پلاسمائی و سایر غشاء ها می باشند و فسفولیپیدها علاوه بر این حالت ساختمانی جزء ساختاری ترالبیوپروتئین ها نیز محسوب می شوند گلی کو اسفنگولیپیدها ۱۰٪ لیپیدهای غشاء پلاسمی را تشکیل می دهند.

مراحل بیوسنتز تری اسیل کلسیرید و فسفولیپیدها

بیوسنتز تری اسیل کلیسرولها بیشتر در کبد در بافتهای چربی صورت می گیرد ماده اولیه برای بیوسنتز تری گلیسرید کلیسرول ۳ فسفات می باشد که از دو راه در بدن تولید می شود.

۱- از کلیسرول به کمک آنزیم کلیسرو کیناز در حضور ATP

۲- در بافت های که فاقد آنزیم کلیسروکیناز می باشند (مانند بافت چربی) از دی فسفو هیدروکسی ستی توسط آنـزیم کلیـسرول فسفات دهیدروژناز

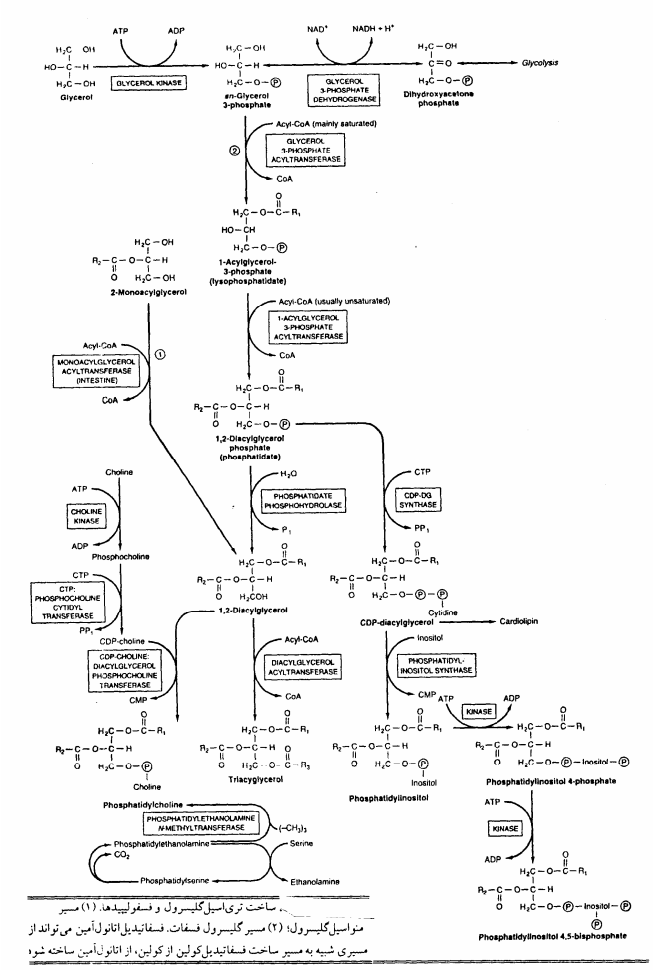


۳ گلیسرول فسفات با تبدیل دو مولکول اسیل 8A توسط آنزیم اسیل CoA ترانسفراز به اسید فسفاتیدیک تبدیل می شود که معمـولاً اسیل متصل به کربن شماره ۱ اشباع شده و اسیل متصل به کربن شماره ۲ یک اسید چرب اشباع نشده می باشد.
اسید فسفاتیدیک توسط آنزیم فسفاتاز فسفرزدایی شده به دی اسیل کلیسرول تبدیل می شود جسم حاصل سـرانجام بـا قبـول سـومین مولکول اسیل 8A به تری اسیل گلیسرول (تری گلیسرید) تبدیل می شود.

بیوسنتز فسفوگلیسریدها راه اصلی (de novo)

مثلاً سنتز فسفو گلیسرید که جزء ساختاری در لیپوپروتئین هـا محـسوب مـی شـود اسـید فـسفاتیدیک مـی باشـد. در بـدن فـسفو گلیسیریدها به روش های متفاوت تولید می شود در بسیاری از این روش ها سیتیدین دی فسفو دی اسیل گلیسرول (CDP دی اسـیل گلیسرول) به عنوان جسم فعال مورد استفاده قرار می گیرد.

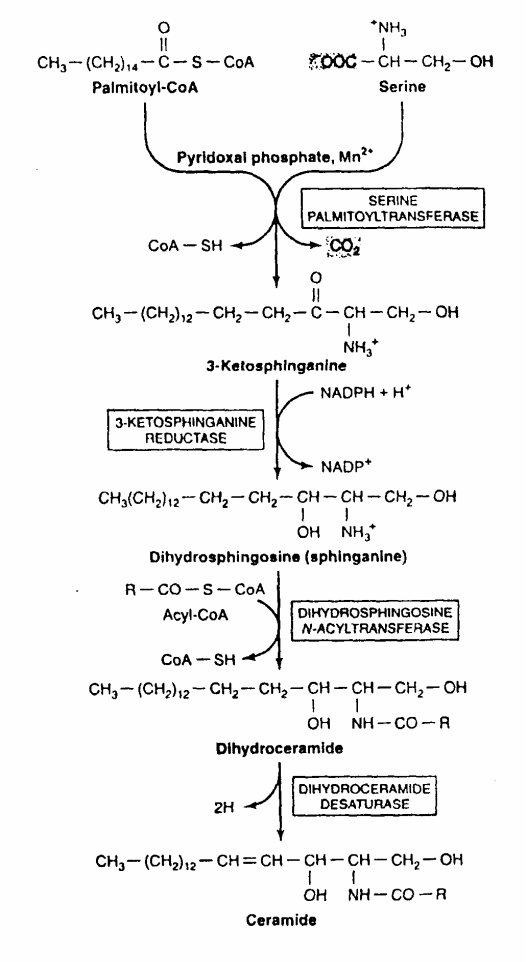
این جسم از ترکیب CTP با اسید فسفاتیدیک حاصل می شـود. از ترکیـب CDP دی اسـیل گلیـسرول بـا اسـید آمینـه سـرین فسفاتیدیل سرین حاصل می شود. فسفاتیدیل سرین در مجاورت آنزیم دکربوکسیلاز یک مولکول CO2 از دسـت داده بـه فـسفاتیدیل اتانل آمین تبدیل می شود. در بافت های حیوانی فسفاتیدیل کولین از متیله شدن فسفاتیدیل اتانل آمین به کمک S–آدنوزیل متیـونین تولید می شود کاردیولینین یکی از فسفولیپیدهای موجود در میتوکندری است کاردیولینین از فسفاتیدیل گلیسرول ساخته مـی شـود کـه حدود آن هم از CDP دی اسیل و کلیسرول ۳ فسفات ساخته می شود کاردیولینین در غشاء داخلی میتوکندری یافت مـی شـود بـرای ناقل فسفات و فعالیت سیتوکروم اکسیداز مورد نیاز است.



ساخت تری‌اسیل‌گلیسرول و فسفولیپیدها. (۱) مسیر منواسیل‌گلیسرول؛ (۲) مسیر گلیسرول فسفات. فسفاتیدیل‌اتانول‌آمین می‌تواند از مسیری شبیه به مسیر ساخت فسفاتیدیل‌کولین از کولین، از اتانول‌آمین ساخته شود

بیوسنتز اسفنگو لیپیدها

ماده اولیه برای سنتز اسفنگوزین پالمتئوتیل CoA است که با اسید آمینه سرین ترکیب شده تولید د هیدرو اسفنگانین می کند این جسم تحت تاثیر آنزیم ردکتاز تبدیل به دی هیدرواسفنگوزین می شود که سرانجام در حضور FAD و آنزیم مربوطه یک پیوند دوگانـه در زنجیر آن تشکیل و اسفنگوزین ایجاد می شود اسفنگوزین حاصل به کمک آنزیم N استیل ترانسفراز با یک مولکول اسـیل کـوآنزیم A ترکیب می شود و سرامید تولید می کند.



بیوسنتز اسفنگومیلین

قسمت اعظم اسفنگومیلینی ها از ترکیب سرامید با CDP کولین در مجاورت آنزیم سرامید کولین فسفوترانسفراز تهیه می شود این آنزیم در میتوکندری سلولهای کبدی و هم چنین در مغز و طحال وجود دارد.

$$\text{CDP-کولین} + \text{سرامید} \xrightarrow{\text{سرامیدکولین فسفوترانسفراز}} \text{اسفنگومیلین} + \text{CMP}$$

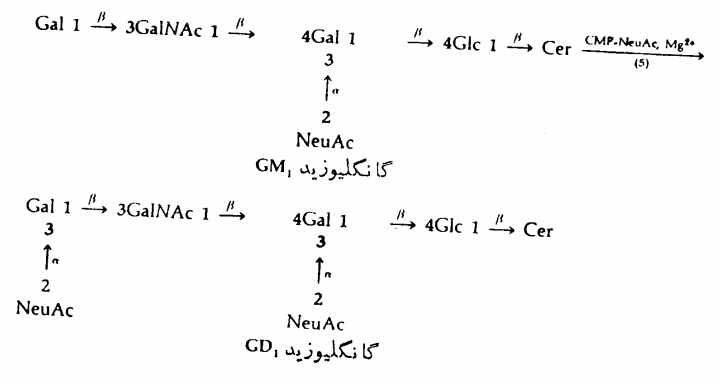
بیوسنتز سربروزیدها

گلوکو و گالاکتوسربروزید از ترکیب مستقیم سرامید با UDP گلوکز و UDP گالاکتوز حاصل می شود.

$$\text{UDP-گلوکوسربروزید} \longrightarrow \text{UDP-گلوکوز} + \text{سرامید}$$
$$\text{UDP-گالاکتوسربروزید} \longrightarrow \text{UDP-گالاکتوز} + \text{سرامید}$$

بیوسنتز گانگلیوزیدها

گانگلیوزیدیا از طریق مکانیسم پیچده ای تشکیل می شود ولی بطور کلی از اضافه شدن مرحله به مرحله قندهای فعال مانند UDP گلوکز و UDP گالاکتوز و نوعی اسید سیالیک (Nana) به سرامید ساخته می شود.



فصل سیزدهم

متابولیسم اسیدهای آمینه

متابولیسم اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه (AA) از نظر تغذیه به ۳ دسته تقسیم می شوند:

۱. ضروری
۲. نیمه ضروری
۳. غیر ضروری

۱. ضروری : اسیدهای آمینه ایی که بدن قادر به سنتز کافی آنها نمی باشد و بایستی از طریق غذا دریافت شود.

۲. نیمه ضروری : اسیدهای آمینه ایی که در مقطعی (به طور مثال کودکی) ضروری بوده و در مقطعی غیر ضروری (بزرگسالی) می‌باشند.

۳. غیر ضروری : اسید آمینه ایی که بدن بمقدار کافی آنها را می سازد و نیاز به دریافت از طریق تغذیه ندارند.

اسید آمینه های ضروری و غیر ضروری غذایی

ضروری غذایی	غیرضروری غذایی
آرژنین ۱	آلانین
هستیدین ۱	آسپارژین
ایزولوسین	آسپارات
لوسین	سیستئین
لیزین	گلوتامات
متیوئین	گلالیسین
فنیل آلانین	هیدروکسی پرولین۲
ترئونین	هیدروکسی لیزین ۲
تریپتوفان	پرولین
والین	سرین
	تیروزین

۱. نیمه ضروری غذایی برای انسان بالغ (ضروری در حیوانات جوان در حال رشد) – آرژنین و هیستیدین در شیرخوارگی ضروری هستند.
۲. برای سنتز پروتئین ضروری نیست ولی در روند پردازش پس از ترجمه در ساختمان کلاژن تشکیل می شود.

نحوه سنتز اسید آمینه غیر ضروری در بدن

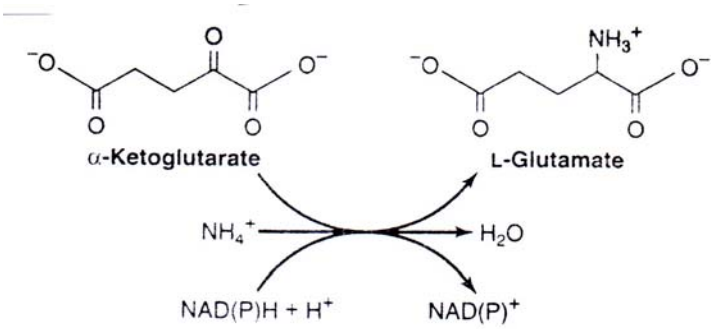
از میان ۱۲ اسید آمینه غیر ضروری غذایی ۹ اسید آمینه از ترکیبات حد واسط آمفی بیولیک ساخته می شوند و ۳ اسید آمینه دیگر (Cys، Tyr، Ho-Lys) از اسیدهای آمینه ضروی غذایی ساخته می شود.

۱) سنتز اسید آمینه های غیر ضروری از حد واسط ها
۲) سنتز اسیدهای آمینه غیر ضروری از غیر ضروری
۳) سنتز اسیدهای آمینه غیر ضروری از ضروری
۴) سنتز اسیدهای آمینه غیر ضروری از ضروری به کمک غیر ضروری

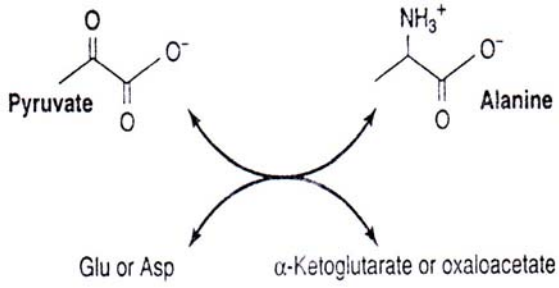
سنتز اسید آمینه های غیرضروری شامل یکی از ۴ مرحله بالا می باشد که در ذیل به تشرح آن می پردازیم:

۱- سنتز اسید آمینه ی غیر ضروری(NEAA) از حد واسط ها:

■ **الف: سنتز اسید گلوتامیک توسط واکنش گلوتامات دهیدروژناز:** گلوتامات دهیدروژناز موجود در کبد پستانداران، دارای ظرفیت غیر معمول در استفاده از NAD^+ یا $NADP^+$ به عنوان کوفاکتوریی باشد. آنزیم موجود در پستانداران، به طریق آلوستریک توسط GTP و ADP تنظیم می گردند.

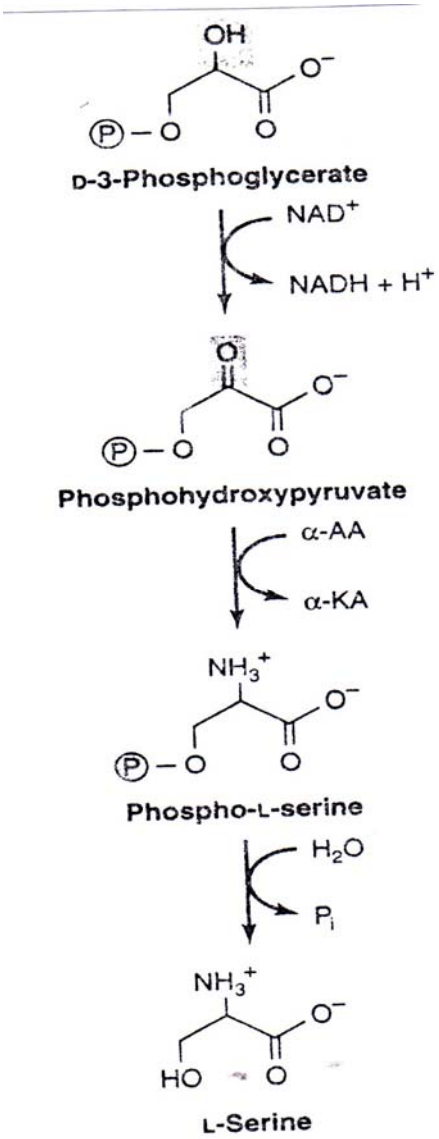


ب : سنتز آلانین از اسید پیرورویک، اسید آسپارتیک از اگزالواستات و اسید گلوتامیک از آلفاکتوکلوتامات

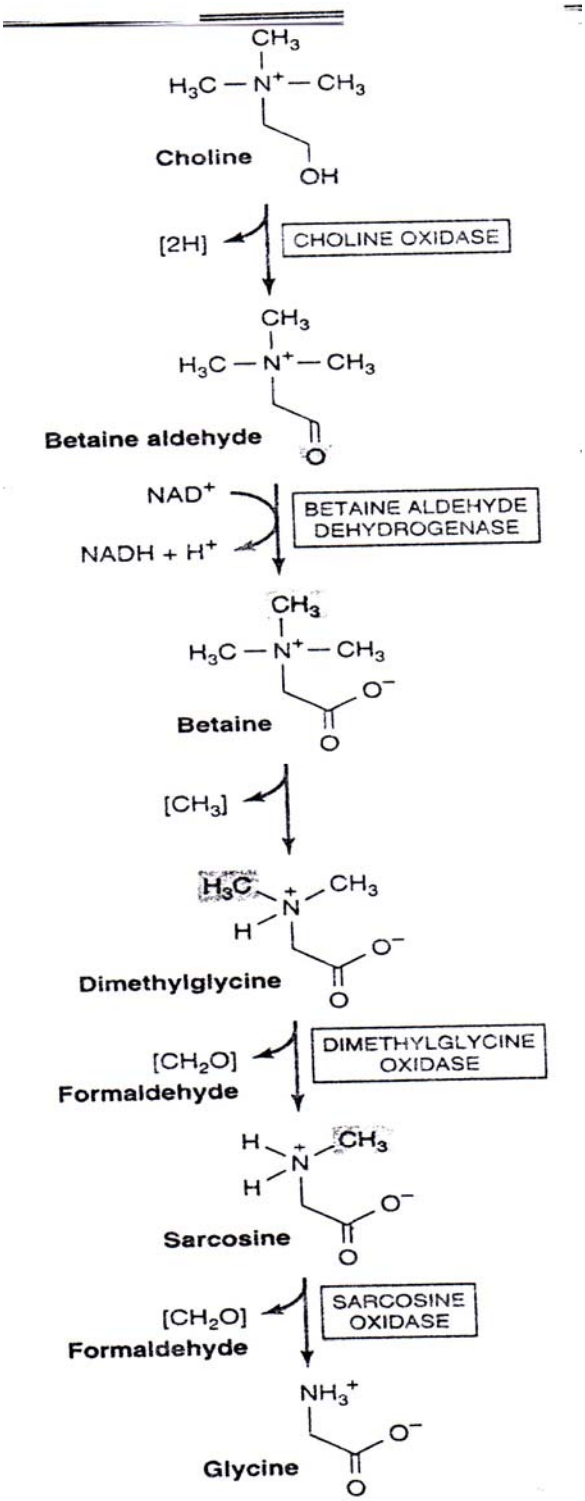


تعیین مقدار بعضی از آنزیم ها در گردش خون اطلاعات با ارزشی را در مورد تعدادی از بیماریها فراهم می آورد. آلانین آمینوتراسنفراز (ALT : یا گلوتامات پیروات ترانس آمیناز GPT) و آسپارتات آمینوترانسفراز فراز (AST یا گلوتامات اگر الواستات ترانس آمیناز ؛GOT) در تشخیص بیماریهای قلب و صدمات کبدی حاصل از حمله قلبی، مسمومیت داروئی یاعفونت مهم می باشند. بعد از یک حمله قلبی انواع مختلفی از آنزیم ها از جمله این آمینو ترانسفرازها از سلولهای آسیب دیده قلب بر داخل خون نشت می کنند. اندازه گیری غلظت این دو آنزیم، آزمونهای SGOT و SGPT (S مخفف سرم می باشد) و سایر آنزیم ها نظیر کراتین کیناز یا CPK می تواند شدت آسیب را نشان دهد .

■ج : ۳- فسفو گلیسرات که از حد واسط های مرحله بهره وری مسیر گلیکولیز می باشد طی ۳ مرحله به سرین تبدیل می گردد.

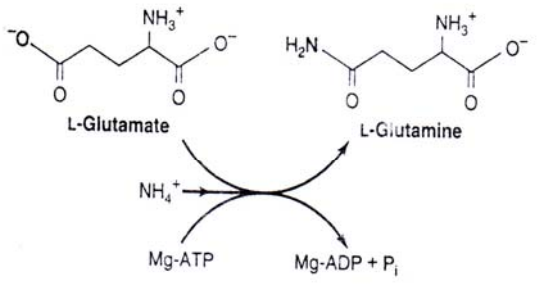


■ د : کولین نیز طی ۳ مرحله به گلیسین تبدیل می گردد


Choline
[2H]
CHOLINE OXIDASE
Betaine aldehyde
NAD+
NADH + H+
BETAINE ALDEHYDE DEHYDROGENASE
Betaine
[CH3]
Dimethylglycine
[CH2O]
Formaldehyde
DIMETHYLGLYCINE OXIDASE
Sarcosine
[CH2O]
Formaldehyde
SARCOSINE OXIDASE
Glycine

۲- سنتز NEAA (اسید آمینه غیرضروری) از NEAA (اسید آمینه غیر ضروری)

الف: ■ واکنش گلوتامین سنتاز



واکنش گلوتامین سنتتاز.

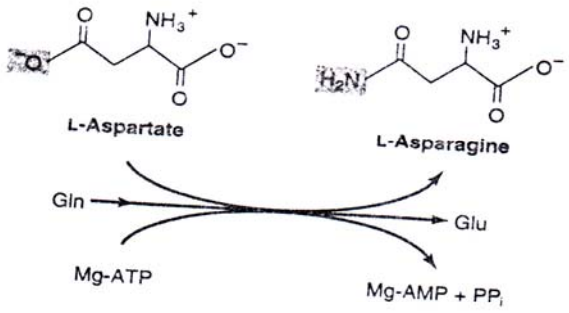
در این واکنش دهنده آمین، یون آمونیوم می باشد آمونیوم تولید شده در بافت ها به دلیل سمی بودن به صورت گلوتامین وارد خون شده به کبد و کلیه منتقل می شود .

گلوتامین ناقل آمونیاک در بدن است. بعلاوه احتمالاً اسید گلوتامیک به صورت گلوتامین به درون سلول وارد می گردد . زیرا قابلیت نفوذ گلوتامین از غشاء سلولی بیشتر از اسید گلوتامیک است.

مازاد NH_4^+ به صورت یون آمونیوم و یا به صورت اوره از ادرار دفع می گردد.

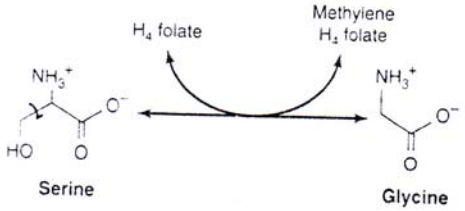
ب:■ واکنش آسپارژین سنتاز

با مصرف یک مولکول ATP انجام می گیرد لذا انرژیِ خواه می باشد ولی آسپارژین نقش مهمی در انتقال آمونیاک ندارد.



واکنش آسپاراژین سنتتاز. به شباهتها و تفاوتهای آن با واکنش گلوتامین سنتاز توجه کنید

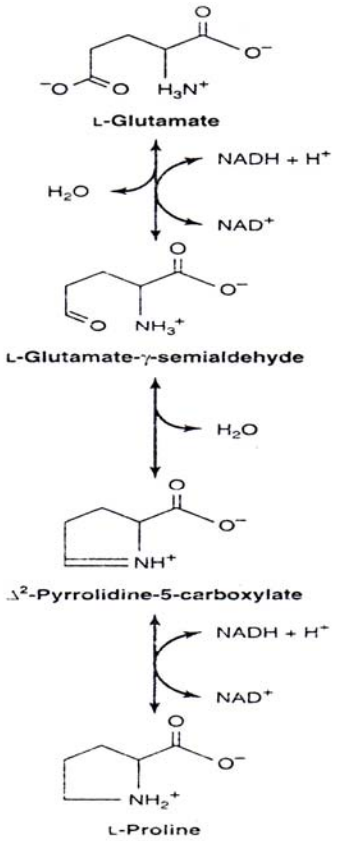
ج :■و اکنش تبدیل سرین به گلایسین و بالعکس.



واکنش سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز. این واکنش کاملاً برگشت‌پذیر است (H4 فولات، تتراهیدروفولات.)

دراین واکنش باکتریایی گلایسین با افزودن یک گروه هیدروکسی متیل توسط آنزیم سرین هیدروکسی متیل ترانسفراز به سرین تبدیل می گردد. تتراهیدروفولات (H4 folate) و PLP (پیریدوکسال فسفات) کوآنزیم های این واکنش می باشند.

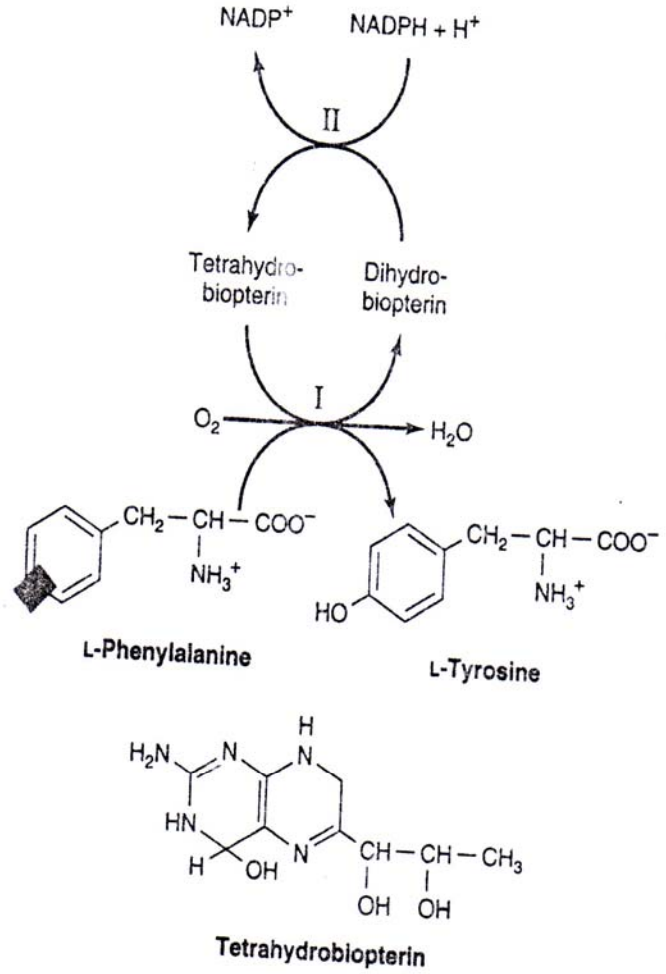
د: ■ پرولین – طی ۳ مرحله از گلوتامات تولید می شود.



ساخت پرولین از گلوتامات با برگشت واکنشهای کاتابولیسم پرولین.

۳- سنتز اسید آمینه غیرضروری(NEAA) از اسید آمینه(EAA)

فنیل آلانین تحت اثر آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز به تیروزین مبدل می شود. این واکنش واکنشی نسبتاً پیچیده است که مانند تمام واکنشهای هیدروکسیلاسیون از اکسیژن مولکولی استفاده می کند. فنیل آلانین هیدروکسیلاز یک آنزیم کبدی است که فقدان آن موجب بروز بیماری مادرزادی فنیل کیتونوری می گردد.

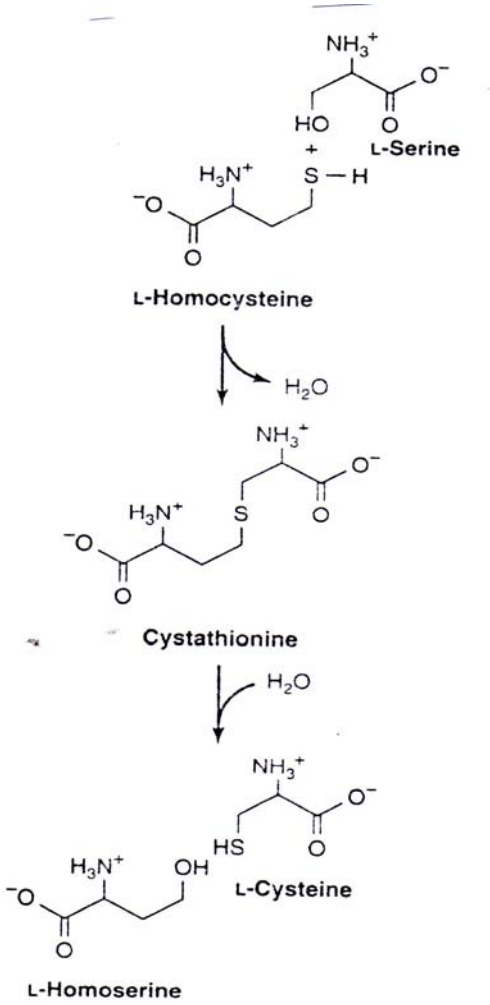


واکنش فنیل‌آلانین هیدروکسیلاز. دو فعالیت آنزیمی مجزا صورت می‌گیرد. فعالیت II به صورت احیای دی‌هیدروبیوپترین با NADPH است و فعالیت I شامل احیای O_2 به H_2O و اکسیداسیون فنیل‌آلانین به تیروزین است.

٤- سنتز اسید آمینه غیرضروری(NEAA) ازاسید آمینه ضروری (EAA) به کمکاسید آمینه غیر ضروری(NEAA)

■ سنتز سیستئین و هموسرین از متیونین

یک مولکول سرین و یک مولکول هموسیسئین که خود در اثر از دست دادن ریشه متیل از میتونین فعال به دست آمده در حضور آنزیم سیستاتیونین سنتاز با از دست دادن یک مولکول آب متراکم شده و یک مولکول سیستاتیونین ایجاد می کند سپس مولکول سیستاتیونین در اثر آنزیم سیستاتیوناز تولید سیستئین و هوموسرین می نماید.



تبدیل هموسیستئین و سرین به هموسرین و سیستئین.
توجه کنید که گوگرد سیستئین با ترانس‌سولفوراسیون از متیونین می‌آید، در حالی که اسکلت کربنی از سرین تأمین می‌شود.

کاتابولیسم پروتئین ها و نیتروژن اسیدهای آمینه

هضم پروتیئن : مولکول پروتئین به هر شکل و ساختار از ابتدا و انتها توسط آنزیم های اگزوپپتیداز و از وسط توسطآنزیم های اندوپپتیداز شکسته شده و تبدیل به واحدهای کوچکی به نام دی پپتید می شود که در نهایت هم این دی پپتید تبدیل به اسید آمینه می شود.

بهنگام تجزیه اسیدهای آمینه مولکول ازت آزاد می شود، تعادل نیتروژن به تفاوت بین مقدار کل دریافت نیتروژن و کل دفع نیتروژن در مدفوع، ادرار و خون اطلاق می شود (nitrogen balance)

تعادل مثبت نیتروژن هنگامی است که میزان مصرف نیتروژن پیش از دفع آن است و در کودکان در حال رشد و زنان حامله مشاهده می‌شود.

تعدل منفی نیتروژن هنگامی است که میزان دفع نیتروژن پیش از میزان در بافت آن است و این حالت به دنبال اعمال جراحی، سرطان پیشرفته مشاهده می شود. هم چنین در پیرمردها و پیرزن ها و ورزشکاران مشاهده می شود.

افراد سالم بزرگسال در حالت تعادل کامل نیتروژن بسر می برند. اگر در حال تعادل نباشند ایجاد مواد سمی می کند.

بیوسنتز اوره

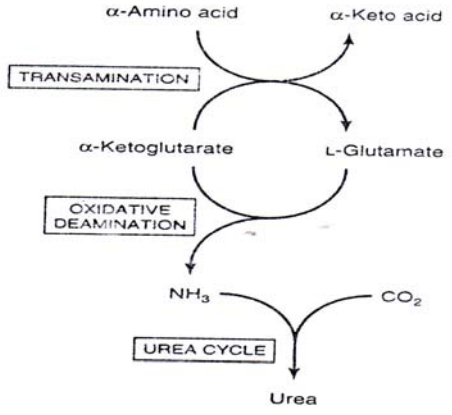
شامل چهار مرحله می باشد:

ترانس آمیناسیون

دزآمیناسیون اکسیداتیو

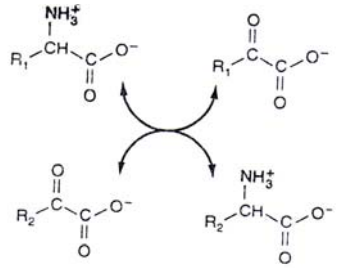
انتقال آمونیاک

سنتز اوره



جریان کلی نیتروژن در کاتابولیسم اسیدهای آمینه.

۱) ترانس آمیناسیون؛ انتقال آنزیمی یک گروه آمینوازیک α –آمینواسید به یک α–کتواسید که جایگاه آن سیتوزول سلول کبدی است و به کمک ویتامین B6 انجام می گیرد.

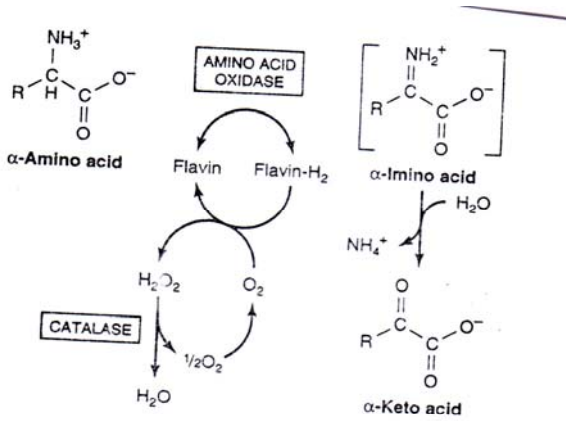


ترانس‌آمیناسیون. واکنش دو α-اسید آمینه و دو α-کتواسید دیده می‌شود. گروههای آمین و اکسوی غیر α نیز در ترانس‌آمیناسیون شرکت می‌کنند، ولی به صورت نسبتاً ناشایع. این واکنش کاملاً برگشت‌پذیر است و ثابت تعادل آن حدود ۱ می‌باشد.

– تمامی آمینوترانسفرازها دارای پیریدوکسال فسفات (PLP) به عنوان کوفاکتور هستند.

۲)دزآمیناسیون اکسیداتیو

واکنش هایی است کـه در آن عامـل آمـین حـذف مـی شـود آنـزیم هـائی کـه در ایـن واکـنش شـرکت مـی جوینـد عبارتنـد از آمینواسیداکسیدازها که کوآنزیم آنها از نوع فلاوین ها است و در آنها اکسیژن نقش پذیرنده هیدروژن را دارد. اگر کوآنزیم این آنـزیم هـا NAD^+ یا $NADP^+$ باشد دیگر O2 پذیرنده مستقیم ئیدروژن نیست ، این گونه واکنشهای اکسیداسیون را دهیدروژنه شدن و آنزیم آنرا دهیدروژناز می نامند .

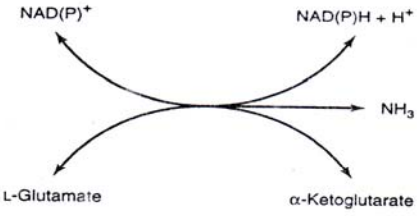


دزآمیناسیون اکسیداتیو تحت تأثیر آمینواسید اکسیداز (L-α آمینواسید: O_2 اکسیدوردوکتاز). α-اسید ایمینه که در کروشه دیده می‌شود، واسطه پایداری نیست.

۳) ■-انتقال آمونیاک

L گلوتامات دهیدروژناز:

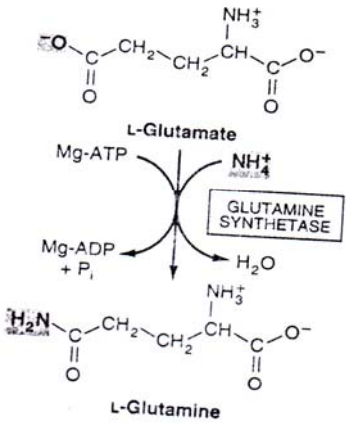
در بافتهای کبد، کلیه، مغز، قلب، عضله یک نوع آنزیم دهیدروژناز وجود دارد که اسید گلوتامیـک را بـه اسـید α- کتوگلوتازیـک و آمونیاک تبدیل می نماید.



واکنش L-گلوتامات دهیدروژناز. $NAD(P)^+$ یعنی چه NAD^+ و چـه $NADP^+$ مـی‌تواننـد سـوبسترا باشند. ایـن واکـنش برگشت‌پذیر است، ولی ثابت تعادل به نفع تشکیل گلوتامات است.

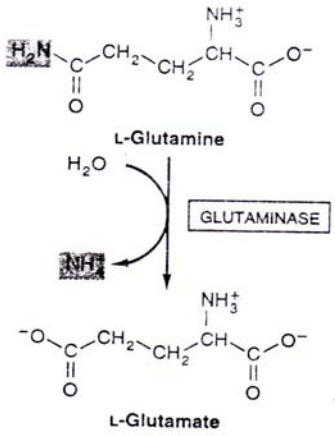
آمونیاک حاصل از باکتریهای روده که جذب خون وریدی شده و آمونیاک تولیدی در بافتها توسط کبد سریعا از گردش خون برداشته و تبدیل به اوره می شود. بنابراین درحالت طبیعی مقدار اندکی حدود ۱۰ – ۲۰ میکروگرم بر دسی لیتر آمونیاک در خون محیطی وجود دارد . آمونیاک برای دستگاه مرکزی اعصاب سمی است .

آمونیاک می تواند توسط راههای مختلف از خون برداشت شود برخی از این مسیرها عبارتند از :
واکنش گلوتامین سنتاز که آمونیاک را بصورت گلو تامین از گلوتامات تثبیت می کند



واکنش گلوتامین سنتاز. این واکنش قویاً به نفع تولید گلوتامین است.

به علاوه آمید گلوتامین و آسپارژین به کمک آنزیم گلو تامناز و آسپاژیناز برداشته می شوند



واکنش گلوتامیناز به صورت تقریباً برگشت‌ناپذیر در جهت ساخت گلوتامات و NH_4^+ پیش می‌رود. توجه کنید که نیتروژن آمید برداشته می‌شود، نه نیتروژن α-آمین.

٤) سیکل اوره

چرخه اوره در داخل میتوکندری کبد آغاز شده (۲ مرحله) ولی ۳ مرحله بعدی آن در داخل سیتوزول صورت می پذیرد.

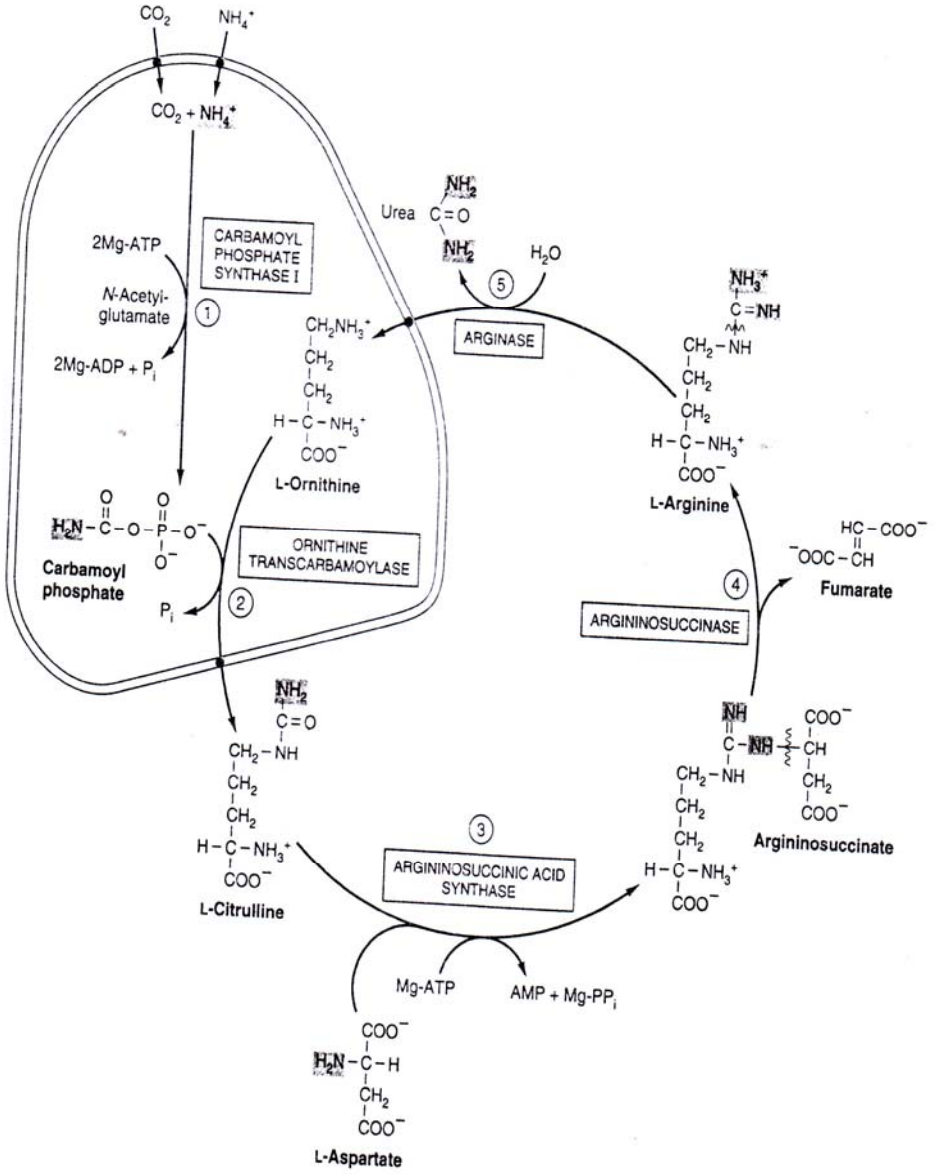
۱. $NH4^{+}$ تولیدی در داخل میتوکندری سلول های کبدی بلافاصله با Co2 (به شکل HCO_3^{-}) حاصل از تنفس میتوکندریایی ترکیب و در داخل ماتریکس میتوکندری تولید کرباميل فسفات را می نماید. این واکنش وابسته به ATP توسط کرباميل فسفات سنتاز I کاتالیزی می گردد که یک آنزیم تنظیمی است.

۲. کرباسیل فسفات گروه کرباسل خود را به اورنی تین داده و تولید سیترولین می کند که همراه با رها سازی Pi می باشد. سیترولین حاصل از میتوکندری وارد سیتوزول می گردد.

۳. دومین گروه آمینو توسط آسپارتات (حاصل ترانس آمیناسیون در میتوکندری که به سیتوزول انتقال می یابد) و طی یک واکنش کندانسیون بین گروه آمینو آسپارتات و گروه اوریدو (کربومیل) سیترولین و ایجاد آرژینوسوکسینات داده می شود. این واکنش نیاز به ATP دارد.

۴. سپس آرژینوسوکسینات به طور برگشت پذیر توسط آرژینوسوکسینات لیاز تجزیه شده و تولید آرژنین آزاد و فومارات می کند فومارات به داخل میتوکندری برگشته و وارد مخزن ترکیبات واسط چرخه ی اسید سیتریک می گردد.

۵. در آخرین واکنش آنزیم سیتوزولی آرژیناز سبب هیدرولیز آرژنین به اورنی تین و اوره می شود. اورنی نین به داخل میتوکندری منتقل شده تا دور بعدی اوره را آغاز نماید.



واکنشها و واسطه‌ها در ساخت اوره. گروههای حاوی نیتروژن که در ساخت اوره شرکت دارند به صورت سایه‌دار دیده می‌شوند. واکنشهای ۱ و ۲ در ماتریس میتوکندریهای کبد صورت می‌گیرند و واکنشهای ۳ تا ۵ در سیتوزول سلولهای کبدی. CO_2 (به صورت بیکربنات)، یون آمونیم، ارنیتین و سیترولین از طریق ناقلان خاص (●) موجود در غشای داخلی میتوکندریهای کبدی وارد ماتریس میتوکندریها می‌شوند.

کاتابولیسم اسکلت کربنی اسیدهای آمینه

اتم های کربن چربی ها، کربوهیدرات ها و پروتئین ها می توانند به طور متقابل به هم تبدیل شوند. روش تجزیه اسیدهای آمینه براساس ساختار و اندازه مولکولی آنها متفاوت است.

۱۳ اسید آمینه به کربوهیدرات (گلیکوژنیک)

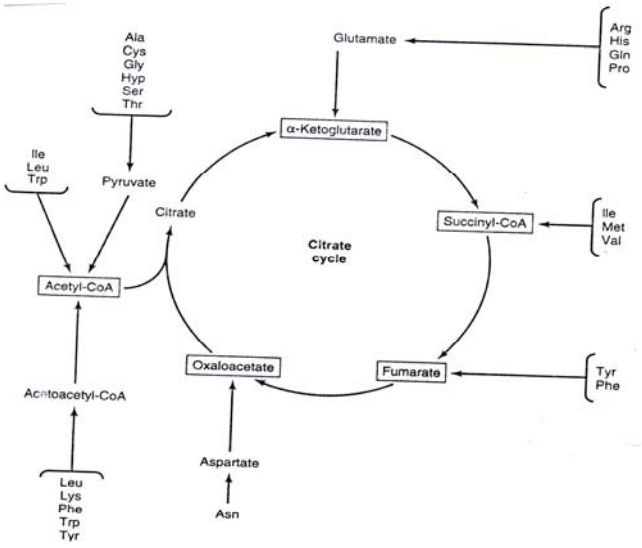
۱ اسید آمینه به چربی (کتیوژنیک)

و ۵ اسید آمینه هم به کربوهیدرات و هم به چربی (گلیکوژنیک و کتیو ژنیک) تبدیل می شوند.

جدول ۲: سرنوشت اسکلتی کربنی L-α- آمینو اسیدهای شایع

گلیکوژن (گلیکوژنیک)		چربی (کتوژنیک)	گلیکوژن و چربی (گلیکوژنیک و کتوژنیک)
Hyp	Ala	Leu	Ile
Met	Arg		Lys
Pro	Asp		Phe
Ser	Cys		Trp
Thr	Glu		Tyr
Val	Gly		
	His		

مسیرهای کاتابولیسم اسیدهای آمینه در مجموع به طور طبیعی تنها ۱۰٪ تا ۱۵٪ تولید انرژی را در بدن انسان شامل می گردند؛ این مسیرها به اندازه گلیکولیز و اکسیداسیون اسیدهای چرب فعال نمی باشند. ۲۰ مسیر کاتابولیک تنها به ۵ محصول ختم می شوند که تمامی آنها وارد چرخه اسید سیتریک می گردند. از اینجا به بعد ، اسکلتهای کربنی ممکن است در گلوکونئوژنز یا کتوژنز شرکت نموده و یا به طور کامل به CO_2 یا H_2O اکسید گردند.



واسطه‌های آمفی لیک حاصل از اسکلت کربنی اسیدهای آمینه.

تبدیل اسیدهای آمینه به محصولات خاص

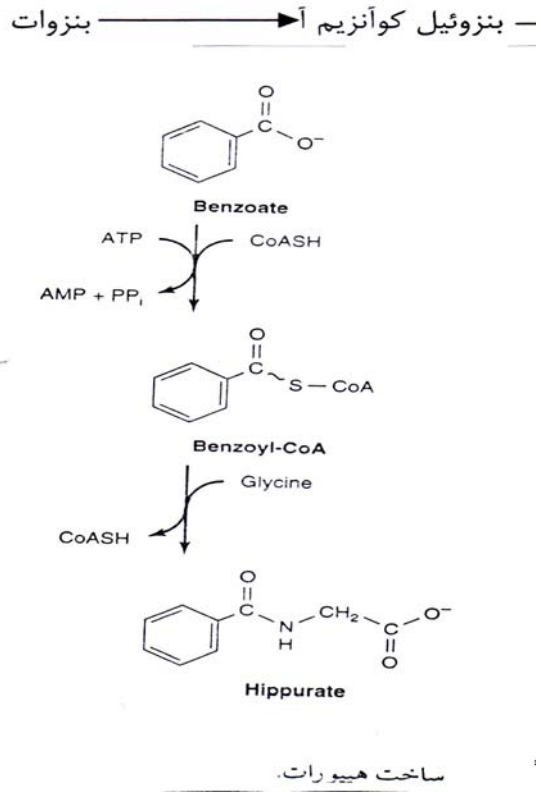
محصولات مهم فیزیولوژیک که از اسیدهای آمینه به دست می آیند شامل : هم (heme) ، پورین ها، پیریمیدین ها، هورمون هـا، مواد ناقل عصبی، پپتیدهای فعال بیولوژیک می باشند.

گلایسین:

۱) ترکیبات کونژوگه گلایسین بسیاری از متابولیت ها و مواد دارویی و صورت ترکیبات کونژوگه محلول گلایسین دفع می شوند. اسیدهای صفراوی کونژوگه ، گلیکولیک اسید.

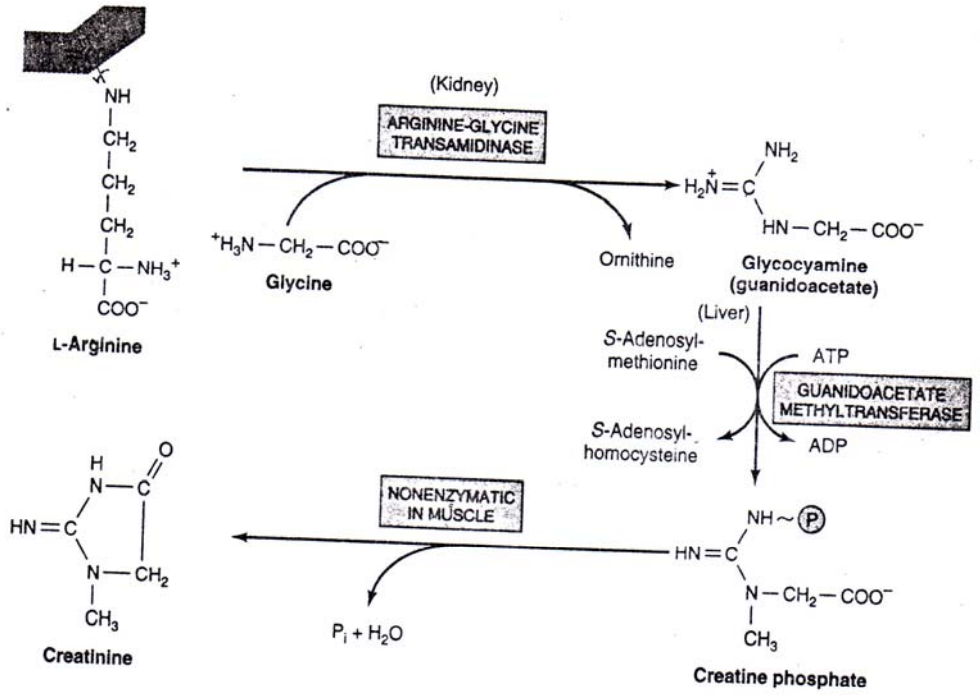
۲) بیوسنتز اسید هیپوریک

اسید هیپوریک ← بنزوئیل کوآنزیم آ ← بنزوات



ساخت هیپو رات.

۳- جزئی از ملکول گلوتاتیون
۴- دخالت در سنتز هم
۵- دخالت در سنتز کراتین
۶- دخالت در سنتز پورین ها

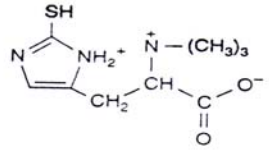


ساخت کراتین و کراتینین.

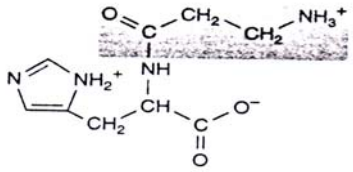
آلانین :

بخش عمده نیتروژن آمینی پلاسمای انسان مربوط به آلفا – آلانین و گلایسین می باشد. در باکتری ها، L آلانین و D آلانین اجزاء مهمی از دیواره سلولی را تشکیل می دهند. کارنوزین (Carnosine) یک دی پپتید بتا- آلانین و هستیدین است که در بافت عضله اسکلتی انسان یافت می شود. α- آلانین در سنتز پروتئین نقش دارد.

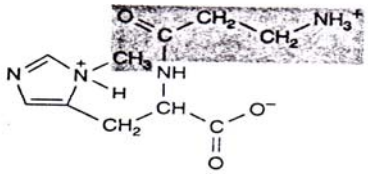
هموکارنوزین (Homocarnosine) در مغز انسان وجود دارد ساختمان مشابه کارنوزین دارد اما مقدار آن در مغز انسان حدود ۱۰۰ برابر بیشتر از کارنوزین است.



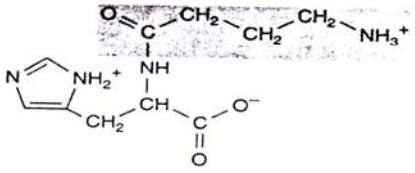
Ergothioneine



Carnosine



Anserine



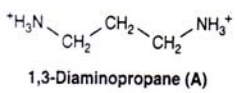
Homocarnosine

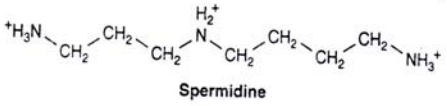
. ترکیبات مرتبط با هیستیدین. چهارگوشهای سایه‌دار نمایانگر اجزایی است که از هیستیدین ساخته نشده‌اند. گروه SH ارگوتیونین از سیستئین ساخته می‌شود.

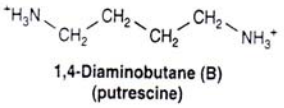
هیستامین از دکربوکسیلاسیون هستیدین ساخته می شود.

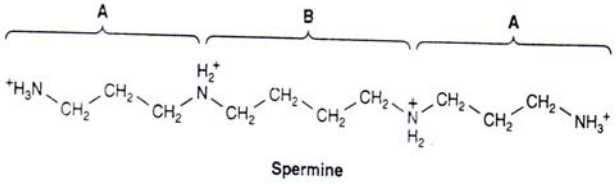
پلی آمین حیاتی

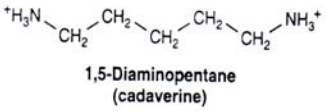
اسپرمین و اسپرمیدین پلیمرهای دی آمینو پروپان (A) و دی آمینو بوتان (B) می باشد. که در رشد و تکثیر سلول فعالند فاکتور رشد سلولهای کشت بافته پستانداران هستند . مقدار فارماکوژیک پلی آمینه های دما و فشار خون را کم می کند .
شکل زیر تبدیل اسپرمیدین به اسپیرمین را نشان می دهد .







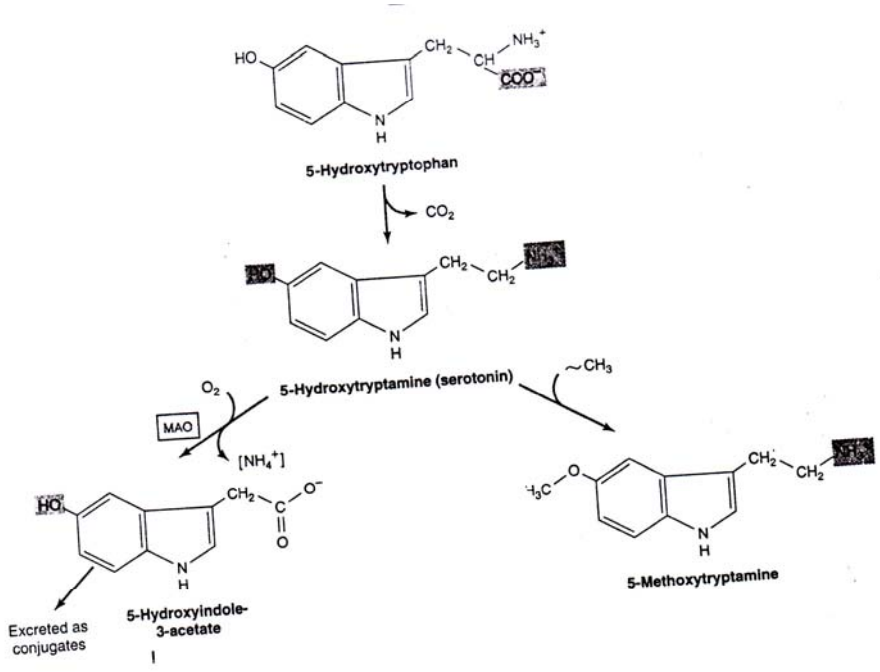




ساختمان پلی‌آمینهای طبیعی. می‌بینید که اسپرمیدین و اسپرمین پلیمرهای دی‌آمینوپروپان (A) و دی‌آمینوبوتان (B) هستند. دی‌آمینوپنتان (کاداورین) نیز در بافتهای پستانداران یافت می‌شود.

سنتز سروتونین :

همان ۵ هیدروکسی تریپتامین است که از دکربوکسیلاسیون ۵ هیدروکسی تریپتوفان بوجود می آید. این ترکیب خاصیت انقباض عروق و عضلات صاف را دارد .



فصل چهاردهم

متابولیسم نوکلئوتیدها

متابولیسم نوکلئوتیدها

هدف :

۱- نقش نوکلئوتیدها در واکنش های شیمیایی موجود زنده
۲- آشنائی با متابولیسم (آنابولیسم و کاتابولیسم) نوکلئوتیدها با باز پریمیدین و پورین.
۳- کنترل و تنظیم راههای متابولیکی

نوکلئوتیدها از مهمترین موادی هستند که در سلولها یافت می شوند و دارای نقشهای اساسی و متنوعی هستند که عبارتند از:

۱- واحدهای تشکیل دهنده اسیدهای نوکلئیک می باشند.
۲- نقش در متابولیسم انرژی دارند: مانند ATP که یکی از مهمترین فرم انرژی شیمیایی برای سلولهاست
۳- بعنوان حامل موقت مواد واسطه ای متابولیک عمل می کنند:
مانند UDP–گلوکز GDP- مانوز
۴- پیش ساز بعضی از کوآنزیمها هستند:
مانند GTP برای سنتز کوفاکتور تتراهیدرو بیوبترین
۵- در ساختمان بعضی از کوآنزیمها وجود دارند:
مانند AMP در ساختمان کوآنزیم FAD ، NAD^+
۶- بعنوان پیام آور ثانویه عمل می کنند:
مانند : cAMP و cGMP
۷- کنترل و تنظیم آنزیمها :
مانند آنزیم فسفو فروکتوکیناز که توسط غلظت بالای ATP مهار و توسط غلظت بالای AMP فعال می گردد.
۸- ADP در تجمع و چسبندگی پلاکتهاو در نتیجه فرآیند انعقاد خون کاربرد دارد.

سنتز نوکلئوتیدها:

در بدن انسان نوکلئوتیدها می توانند از دو راه ساخته شوند.

۱- مسیر de novo :

در این مسیر نوکلئوتیدها از مواد اولیه (ملکولهای کوچک) در بدن ساخته می شوند.

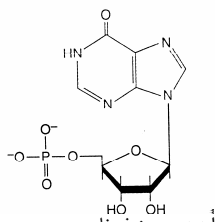
۲- مسیربازیابی (Salvage Pathway):

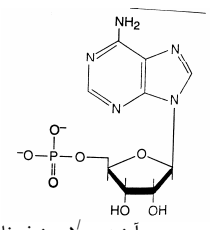
در این مسیر بازهای حاصله از تجزیه اسیدهای نوکلئیک (داخلی و کمتر خارجی بدن) دوباره می توانند برای بازسازی نوکلئوتیدها و در نهایت اسیدهای نوکلئیک مورد استفاده قرار گیرند.

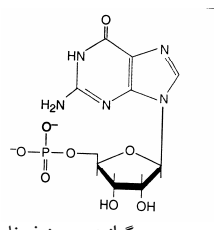
اسیدهای نوکلئیک بصورت نوکلئوپروتئین از طریق غذا وارد بدن می شوند و قسمت پروتئینی آن توسط آنزیمهای پروتئولیتیک جدا میشود و اسیدهای نوکلئیک در روده توسط آنزیمهای پانکراس (مثل نوکلئازها) و روده (فسفودی استرازها) هیدرولیز شده و تبدیل به نوکلئوتید← نوکلئوزید← قند پنج کربنه و باز ازت دار تبدیل می گردند.

سنتز نوکلئوتیدهای پورین دار و پیریمیدین دار جداگانه مورد بررسی قرار می گیرند

سنتز نوکلئوتیدهای پورین دار:


آینوزین مونوفسفات
(IMP)


آدنوزین ′۵ مونوفسفات
(AMP)


گوانوزین مونوفسفات
(GMP)

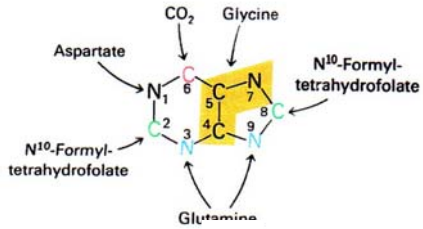
سنتز نوکلئوتیدهای پورین دار از راه de novo :

مواد لازم عبارتند از:

۱. بازهای پورین (آدنین، گوانین، هیپوزانتین)
۲. قند ریبوز فسفات

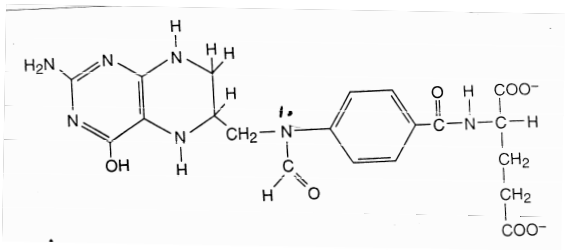
۱. بازپورین

مواد واسطه ای جهت سنتز حلقه بازپورین شامل اسیدهای آمینه (گلوتامین ، گلیسین، آسپارتات)CO_2 و N^{10} فرمیل تتراهیدروفولات (THF) می باشد . شکل :۱ A و B



A

شکل ۱: A: منابع اتمهای حلقه پورین



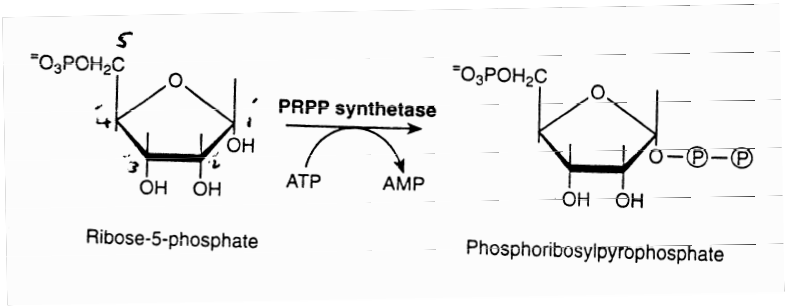
B

شکل ۱ :B: N^{10} فرمیل THF

۲. ریبوز/۵ مونوفسفات

یکی از راههای سنتز ریبوز/۵ مونوفسفات چرخه پنتوز فسفات است. اما قبل از آنکه بتوان از آن در سنتز نوکلئوتیدها استفاده کرد باید بفرم فعال فسفوریبوزیل پیروفسفات (PRPP) در بیاید شکل ۲.

ریبوز/۵ مونوفسفات + ATP $\xrightarrow{\text{PRPP سنتتاز}}$ PP+AMP



شکل ۲:

سنتز نوکلئوتیدهای پورین دار از راه de novo مسیر بسیار طولانی است و انرژی زیادی نیز لازم دارد. اولین نوکلئوتیدی هم که حاصل می شود اینوزین مونوفسفات (IMP) است.

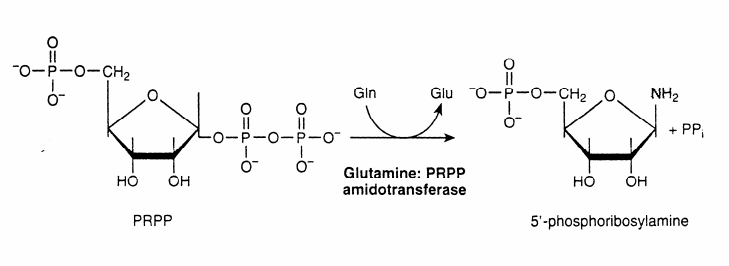
مراحل سنتز نوکلئوتید IMP

پس از ده مرحله نوکلئوتید IMP سنتز می شود.

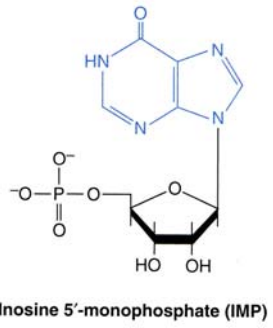
مرحله اول سنتز فسفوریبوزیل آمین است : فسفوریبوزیل پیروفسفات تحت اثر آنزیم گلوتامین فسفوریبوزیل آمیدوترانسفراز، با گلوتامین ترکیب شده و تولید فسفوریبوزیل آمین را می کند.

فسفوریبوزیل آمیدوترانسفراز

PRPP+ گلوتامین ⟶ PPi + گلوتامات + فسفوریبوزیل آمین

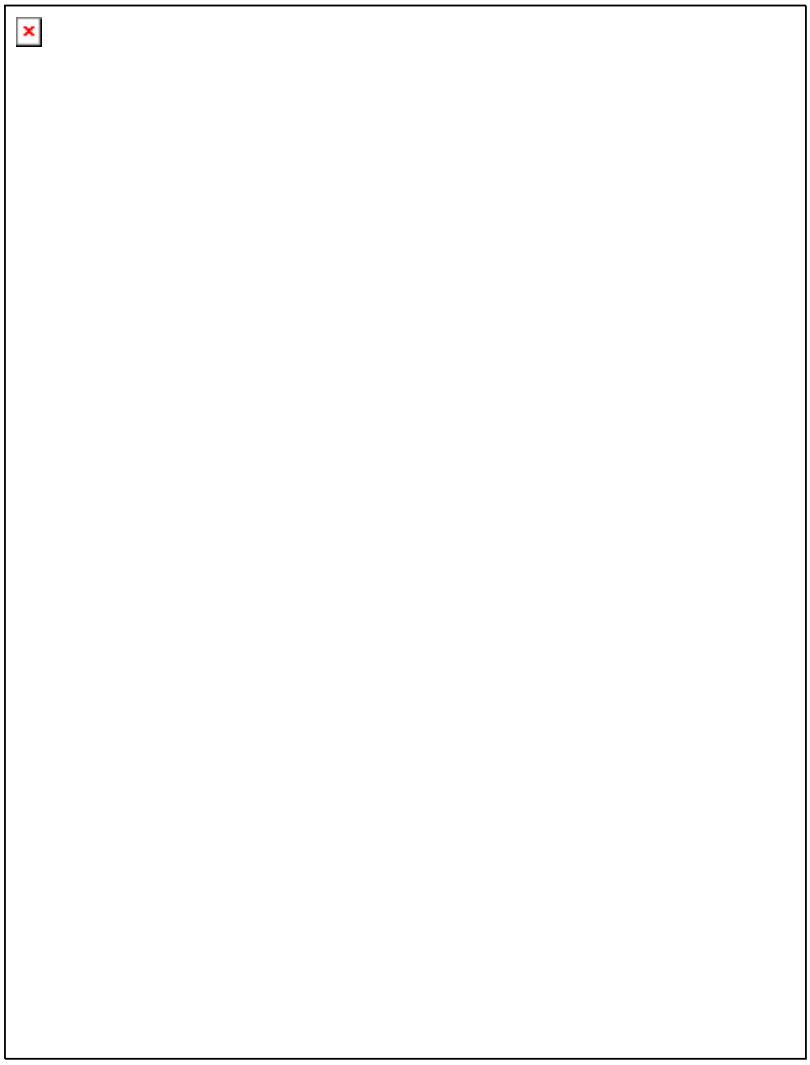


این واکنش مرحله کنترل کننده (Committed Step) می باشد. طی ۹ مرحله دیگر نوکلئوتید IMP حاصل می گردد شکل ۳ :



بیشتر بدانیم

مراحل تشکیل IMP



شکل ۳ : مراحل سنتز نوکلئوتیدIMP از راه de novo

سنتزGMP و AMP از IMP

اینوزین مونوفسفات (IMP) جسمی ناپایدار است و سریعاً به AMP یا GMP تبدیل می گردد و این شرایط محیط است که مشخص می کند کدامیک از این نوکلئوتیدها باید تولید گردد.

سنتز AMP از IMP:

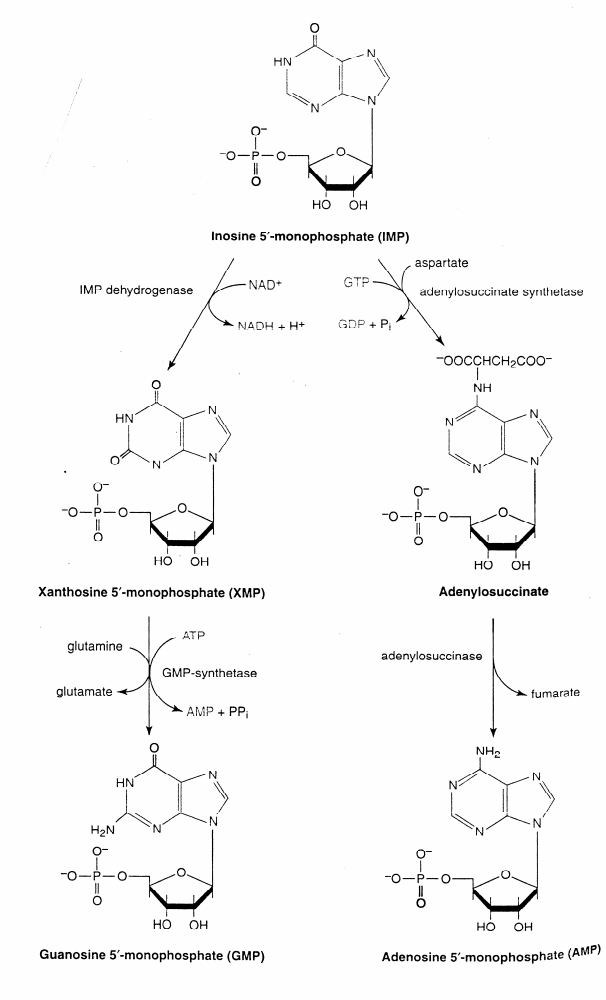
سنتز AMP از IMP در دو مرحله انجام می پذیرد

IMP تحت اثر آنزیم آدنیلوسوکسینات سنتتاز با اسید آمینه آسپارتات ترکیب شده و تولید آدنیلو سوکسینات را می کند (در این واکنش انرژی مورد نیاز توسط GTP میسر می گردد سپس آدنیلو سوکسینات، تحت اثر آنزیم آدنیلو سوکسینات لیاز یک مولکول فومرات ازاد شده و AMP تولید می گردد شکل ۴ :

سنتز GMP از IMP :

سنتز GMP از IMP در دو مرحله انجام می پذیرد

IMP تحت اثر آنزیم IMP دهیدروژناز به زانتوزین مونوفسفات (XMP) تبدیل می گردد و در مرحله بعدی این مولکول تحت اثر آنزیم گوانوزین مونوفسفات (GMP) سنتتاز یک گروه آمین از اسید آمینه گلوتامین گرفته و تبدیل به GMP می شود این واکنش انرژی مورد نیاز خود را از هیدرولیز ATP بدست می آورد. شکل ۴ :



شکل ٤ : مراحل سنتز AMP و GMP ازIMP

۱- کنترل و تنظیم سنتز نوکلئوتیدهای پورین دار از راه de novo

آنزیمهائی که در مراحل سنتز نوکلئوتیدها نقش کلیدی دارند توسط محصولات نهائی این مسیر مهار و یا فعال می شوند.

۱- دو آنزیم اولیه مسیر، PRPP سنتتاز و فسفوریبوزیل آمیدوترانسفراز، توسط غلظت بالای IMP، AMP و GMP مهار می شوند.

۲- در مسیر سنتز در سرشاخه شدن مسیر (IMP به AMP و GMP) هرکدام از محصولات نهائی می توانند سنتز خود را مهار کنند. غلظت بالای AMP آنزیم آدنیلو سوکسینات سنتتاز را مهار می کند و غلظت بالای GMP آنزیم IMP دهیدروژناز را مهار می کند.

۳- کنترل مثبت : غلظت بالای PRPP آنزیم فسفوریبوزیل امیدوترانسفراز را فعال می کند و ATP مسیر سنتز GMP را فعال می کند و GTP میسر سنتز AMP را فعال می کند. (شکل ۵) اختلال درکنترل متابولیسم منجر به ناهنجاریها میشود مانند بالا رفتن اسید اوریک خون.

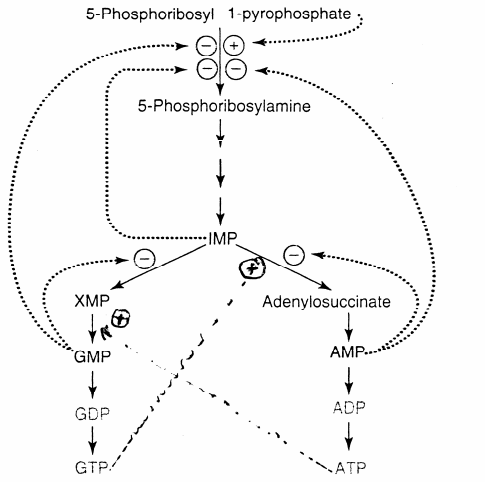


FIGURE 19.13
Regulation of purine nucleotide synthesis.

شکل ۵ : کنترل و تنظیم نوکلئوتیدهای پورین دار

۲- سنتز نوکلئوتیدهای پورین دار از راه بازیابی (Salvage Pathway):

همانطور که قبلاً اشاره شد سنتز از راه de novo طولانی بوده و به انرژی زیادی نیاز است. بعضی از سلولها مانند سلولهای مغز برای ساختن نوکلئوتید های مورد نیاز خود می توانند از بازهای حاصل از هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک استفاده کنند.

این راه اهمیت بسزایی دارد، زیرا علاوه بر اینکه در مصرف انرژی صرفه جوئی می شود بعضی از سلولها به دلیل نداشتن آنزیم گلوتامین آمیدوترانسفراز قادر به ساختن نوکلئوتید نیستند بنابراین می توانند نوکلئوتیدها را از این راه سنتز کنند.

در این مسیر می توان برای بازیابی از ۱- نوکلئوزید و یا ۲- باز پورین دار استفاده کرد.

۱- نوکلئوزید + ATP $\xrightarrow{\text{کیناز}}$ نوکلئو + ADP

مثال: گوانوزین + ATP $\xrightarrow{\text{گوانوزین کیناز}}$ GMP +ADP

۲- آدنین +PRPP $\xrightarrow{\text{آدنین فسفوریبوزیل ترانسفراز}}$ AMP+PPi

هیپوزانتین +PRPP $\xrightarrow{\text{هیپوزانین –گوانین–فسفوریبوزیل ترانسفراز}}$ IMP+PPi

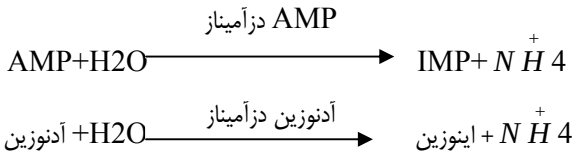
گوانین +PRPP $\xrightarrow[\text{(H-G-P-R-T)}]{\text{هیپو زانتین–گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز}}$ GMP+PPi

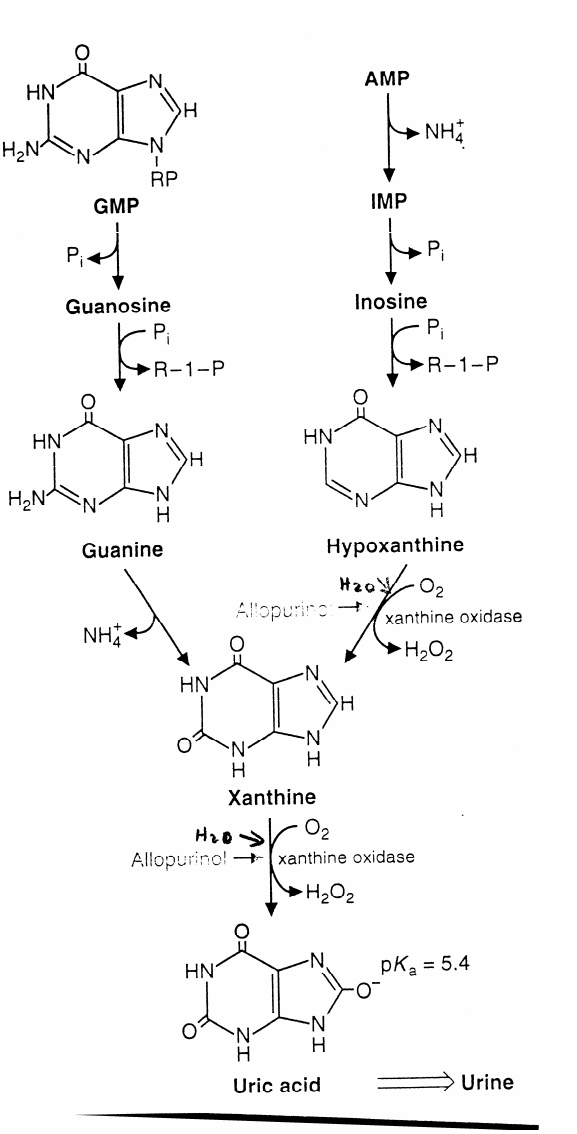
کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورین دار

نوکلئوتیدهای پورین دار دائماً در حال سنتز و شکسته شدن هستند (تقسیم سلولی و مرگ سلولی) در راه کاتابولیسم نوکلئوتیدها به نوکلئوتیدها و نوکلئوزیدها هم به قند ریبوز یا دزکسی ریبوز و بازهای پورین (آدنین ، گوانین و هیپوزانتین) تبدیل می گردند

هیپوزانتین و گوانین در نهایت به زانتین و زانتین هم توسط آنزیم زانتین اکسیداز به اسید اوریک تبدیل می گردد (شکل ۶) .

باز آدنین مستقیم به اسید اوریک تبدیل نمی شود بلکه در سطح نوکلئوتید (AMP به IMP) و یا در سطح نوکلئوزید (آدنوزین به اینوزین) تبدیل می گردد. (شکل ۶)

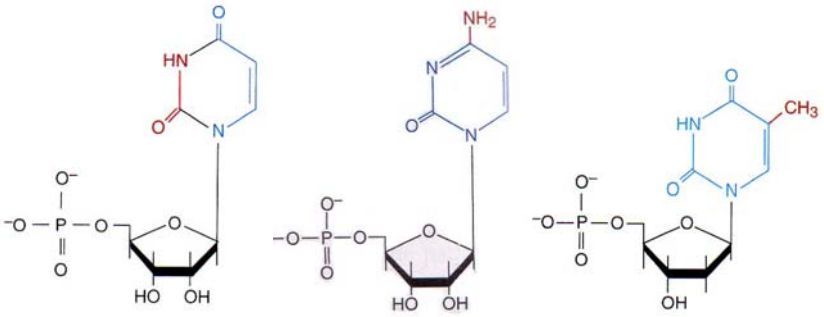




شکل٦ : مراحل کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورین دار

بیوسنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار

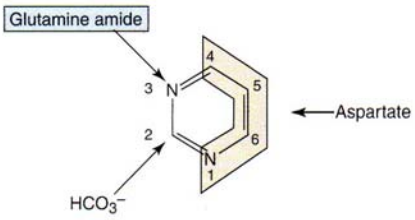
نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار، (اوریدین مونوفسفات = UMP سیتیدین مونوفسفات=CMP و دزکسی تیمیدین مونوفسفات = dTMP) همانند نوکلئوتیدهای پورین دار از دو راه بازیابی و de novo سنتز می شوند.



(UMP) (CMP) (dTMP)

سنتز نوکلئوتیدهای پیریمدین دار از راه de novo

برای سنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار اسیدهای آمینه آسپارتات، کار با موئیل فسفات و PRPP لازم است .

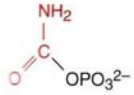


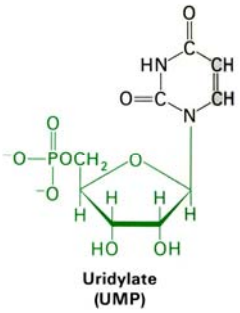
حلقه پیریمیدین = آسپارتات+ کاربامویل فسفات برای سنتز کاربامویل فسفات اسید آمینه گلوتامین لازم است.

سنتز دارای چند مرحله بوده و اولین نوکلئوتیدی که حاصل می شود اوروتیدین مونوفسفات (OMP) می باشد که پیش ساز UMP است و UMP هم بنوبه خود پیش ساز CMP و dTMP می باشد.

مراحل سنتز UMP

۱- تولید کاربامویل فسفات

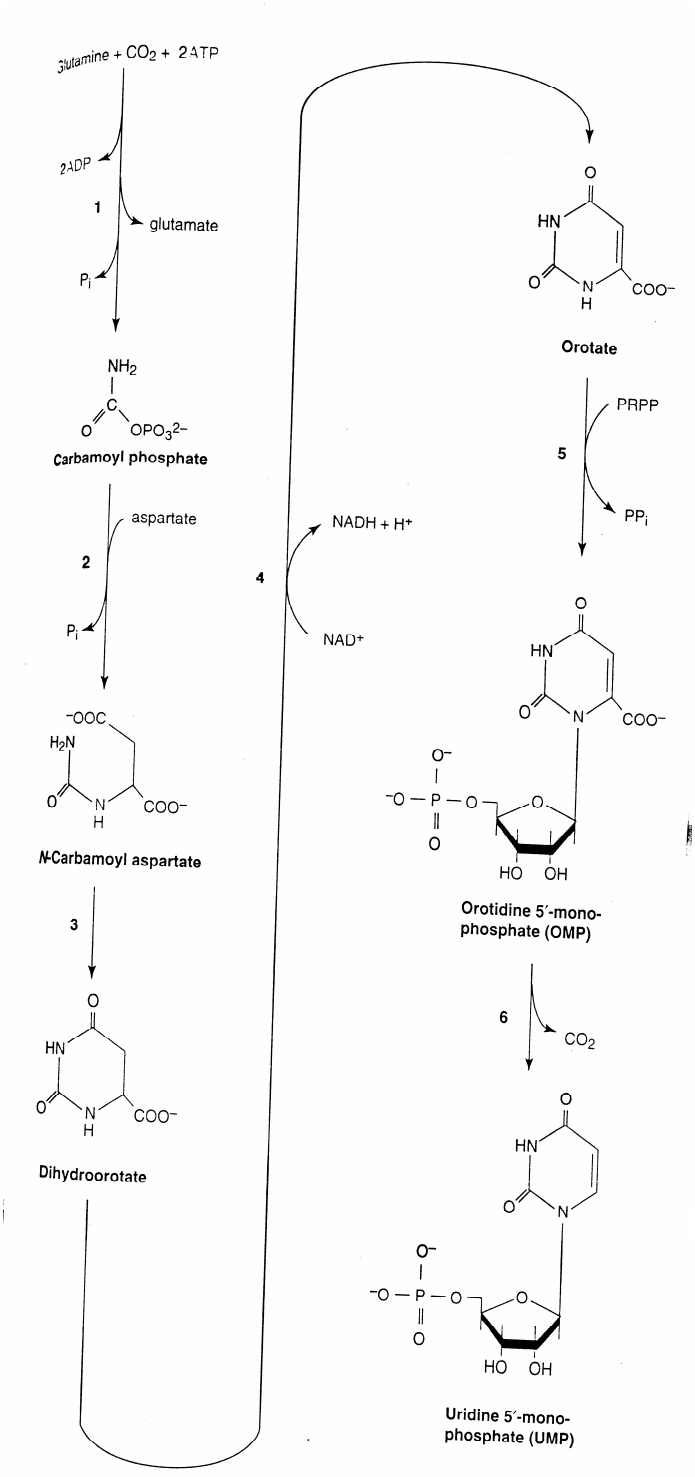
گلوتامات + + 2ADP  کاربامویل فسفات سنتتاز II ⟶ گلوتامین + CO_2+H_2O+2ATP



در مراحل بعدی کاربامو ئیل فسفات با آسپارتات ترکیب می شود و طی چند مرحله UMP سنتز می شود شکل ۸ :

یشتر بدانیم

1- کاربامویل فسفات سنتتاز II
2- آسپارتات ترانس کاربامیلاز
3- دی هیدرو اوروتاز
4- دی هیدرواوروتات دهیدروژناز
5- اوروتات فسفوریبوزیل ترانسفراز
6- OMP دکربوکسیلاز

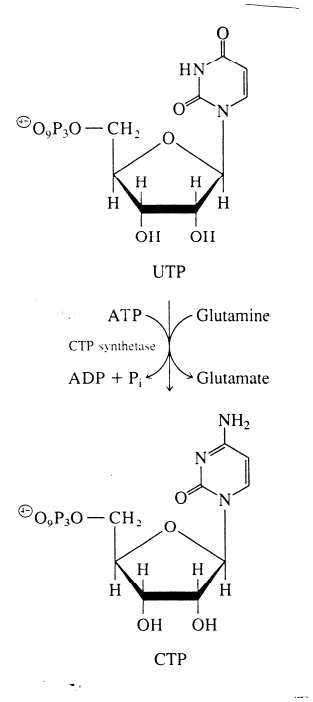


شکل ۸ : مراحل سنتز نوکلئوتید UMP

سنتز CMP از UMP

آنزیمی که بتواند مستقیماً UMP را به CMP تبدیل کند در بدن وجود ندارد و باید این عمل در سطح ملکولی تری فسفات انجام شود. بنابراین UTP یک گروه آمین از گلوتامین گرفته و تبدیل به CTP می شود . شکل ۹

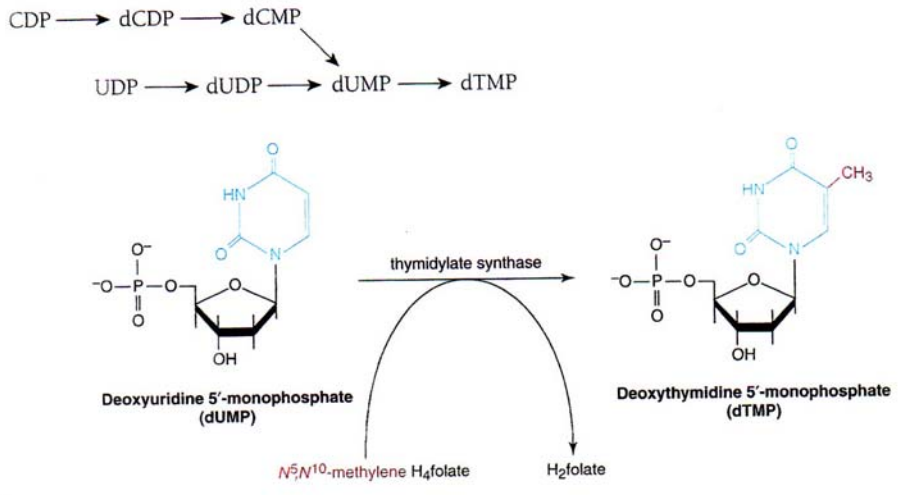
گلوتامات +CTP+ADP+Pi $\xrightarrow{\text{CTP سنتتاز}}$ گلوتامین+ATP+UTP



شکل ۹ : تبدیل UTP به CTP

سنتز dTMP از dUMP

دزآکسی اوریدین مونوفسفات dUMP تحت اثر آنزیم تیمیدیلات سنتاز یک گروه متیل گرفته و به دزآکسی تیمیدین مونوفسفات (dTMP) تبدیل می گردد. (شکل ۱۵)

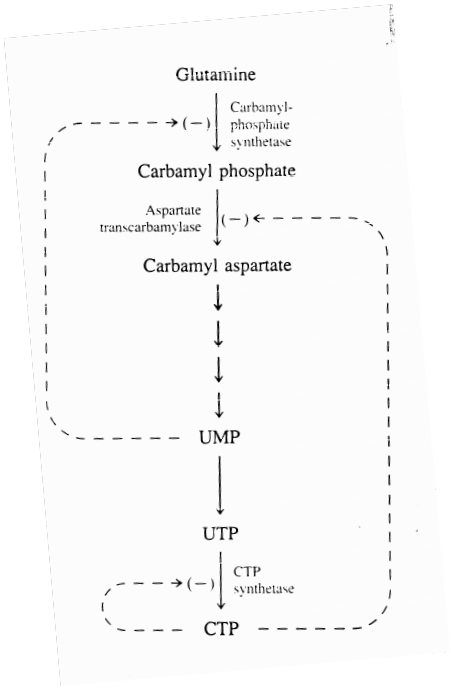


8

شکل ۱۰ : تبدیل dUMP به dTMP

کنترل و تنظیم سنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار

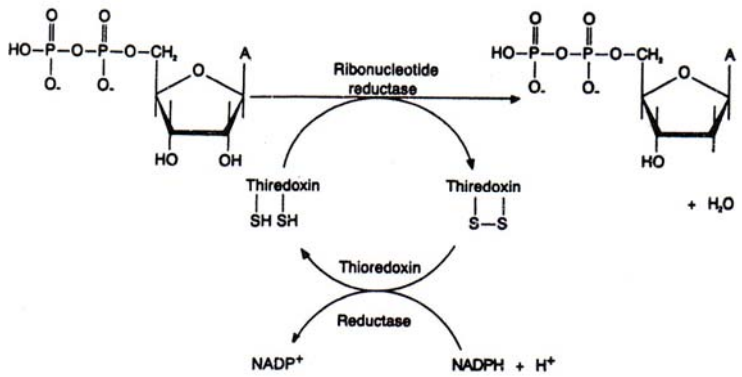
در پستانداران غلظت بالای UMP بعنوان مهار کننده پس نورد آنزیم اولیه، کاربامویل فسفات سنتتاز II را مهار می کند. غلظت بالای CTP آنزیم آسپارتات ترانس کاربامیلاز را تاحدی مهار می کند ولی این کنترل بیشتر در باکتری ها مهم است . (شکل ۱۱)



شکل ۱۱ : کنترل و تنظیم سنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار

سنتز قند دزآکسی ریبوز

دزآکسی ریبونوکلئوتیدها مستقیماً از احیاء ریبونوکلئوتیدها به وجود می آیند که این امر در سطح ملکولی نوکلئوتید دی فسفات انجام پذیر است. (شکل ۱۲)



شکل ۱۲ : سنتز دزآکسی ریبونوکلئوتید دی فسفات از ریبونوکلئوتید دی فسفات

۲- سنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدن دار از راه بازیابی (Salvage Pathway)

بازیابی پیریمیدین ها نیز همانند بازیابی پورین ها مقرون به صرفه می باشد.

در انسان بیشتر از نوکلئوزیدها برای سنتز نوکلئوتیدها استفاده می شود.

$$\text{ATP + اوریدین} \xrightarrow{\text{اوریدین – سیتیدین کیناز}} \text{UMP+ADP}$$

$$\text{ATP + سیتیدین} \xrightarrow{\text{اوریدین – سیتیدین کیناز}} \text{CMP+ADP}$$

و مقدار کمتر از باز استفاده می شود.

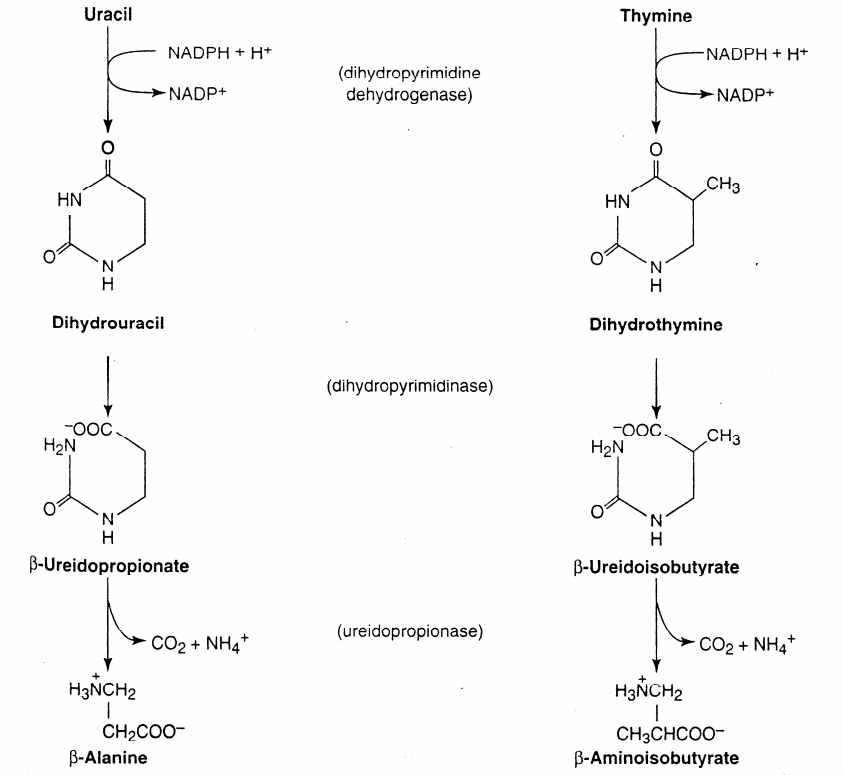
$$\text{ATP + اوراسیل} \xrightarrow{\text{اوراسیل–فسفوریبوزیل ترانسفراز}} \text{UMP+PPi}$$

کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار

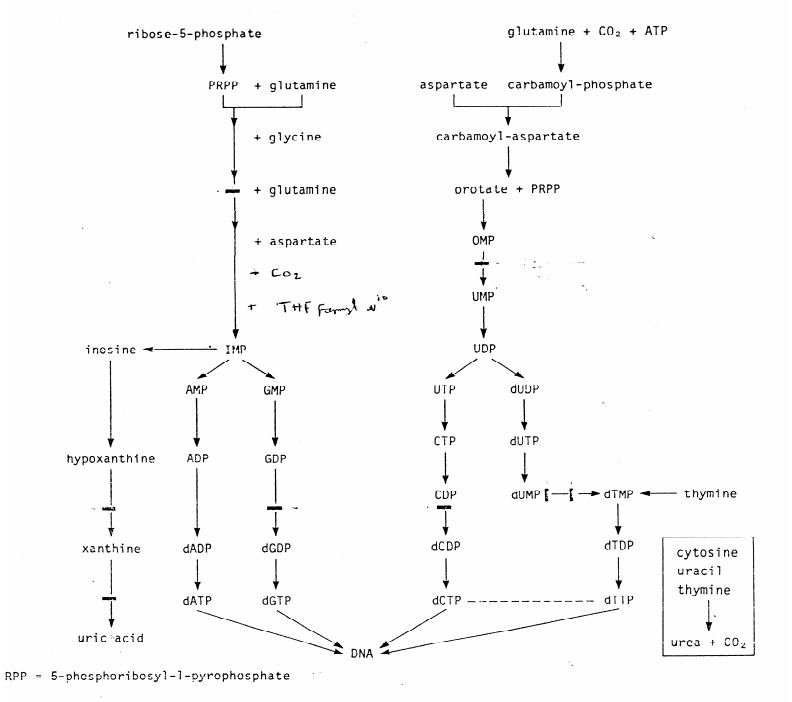
نوکلئوتیدها به نوکلئوزیدها و نوکلئوزیدها هم به باز و قند ریبوز و دزاکسی ریبوز تبدیل می گردند. کاتابولیسم پیریمیدین ها، عمدتاً در کبد رخ می دهد و برخلاف پورین ها محصول نهائی آنها محلول می باشند و براحتی از طریق ادرار، دفع می گردند.

باز سیتیدین آمونیاک خود را از دست داده به اوراسیل تبدیل می گردد و اوراسیل هم طی مراحلی به آمونیاک و CO_2 و بتا آلانین تبدیل می گردد که بتا آلانین می تواند در بدن به استیل کو A تبدیل شود. باز تیمین در نهایت به CO2 و آمونیاک و β- آمینوایزوبوتیرات تبدیل می شود که β- آمینوایزوبوتیرات می تواند در بدن به سوکسینال کو A تبدیل شود. (شکل ۱۳)

بیشتر بدانیم



شکل ۱۳ : کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پیریمیدین دار



شکل ۱۴ : خلاصه متابولیسم
نوکلئوتیدهای پورین دار و پیریمین دار

اختلالات در راه متابولیک

نوکلئوتیدهای پورین دار

۱- بالا رفتن اسید اوریک خون، بعلت اختلالات در ساختمان آنزیمهای PRPP سنتتاز و گلوتامین فسفوریبوزیل ترانسفراز و در نتیجه مهار نشدن این دو آنزیم توسط غلظت بالای محصولات نهائی (IMP, GMP, AMP)

۲- بیماری لش-نیهان (Lesch-Nyhan)

کمبود آنزیم H.G.P.R.T (هیپوزانتین – گوانین فسفوریبوزیل ترانسفراز) باعث بالا رفتن اسید اوریک خون و در صورت کمبودشدید آنزیم خود خوارگی و حالت تهاجمی در کودک ایجاد می شود.

۳- اختلالات نقص ایمنی

الف – نقص ایمنی حاد (Acute Combined Immunodefficiency) بعلت کمبود آنزیم آدنوزین دزآمیناز در نتیجه، اختلال در عملکرد سلولهای B و T (T-cell) و (B-cell)

$$\text{آدنوزین} + H_2O \xrightarrow[\text{آدنوزین دزآمیناز}]{} \text{اینوزین} + NH_4^+$$

ب – نقص ایمنی (Immunodefficiency)

کمبود آنزیم پورین نوکلئوزید فسفوریلاز و در نتیجه اختلال در سلولهای T cell

$$\text{ریبوز-۱-فسفات} + \text{بازپورین} \xrightarrow{\text{پورین نوکلئوزید فسفوریلاز}} \text{نوکلئوزید پورین دار} + Pi$$

اختلالات در راه متابولیک نوکلئوتیدهای پیریمین دار

بیماری اوروتیک اسیداوری (Orotate Acid Uria)

بعلت کمبود آنزیم اوروتات فسفوریبوزیل ترانسفراز و OMP دکربوکسیلاز حاصل می شود و بیمار دچار کم خونی و کمی رشد می شود.

فصل پانزدهم

متابولیسم RNA و پیرایش آن

متابولیسم RNA

بیان اطلاعات ژن بطور طبیعی شامل تولید ملکول RNA است که از DNA الگو نسخه برداری می شود . RNA تنها ماکرو ملکول شناخته شده است که علاوه بر ذخیره و انتقال اطلاعات بعنوان کاتالیست نیز عمل می نماید ، و منجر بـه تفکـر بیـشتر در مـورد نقـش احتمالی آن بعنوان یک میانجی شیمیائی ضروری در توسعه حیات در این سیاره شده است . رونـد سـنتز RNA را کـه توسـط DNA الگو هدایت می شود رونویسی می نامند ، در طی رونویسی ، یک سیستم آنزیمی ، اطلاعات ژنتیکی قطعه ای از DNA دو رشته ای را به رشته RNA تبدیل می نماید که توالی بازی آن مکمل یکی از رشته های DNA است . سه نوع RNA عمده تولیـد مـی شـود . RNA پیک (mRNA) توالی اسیدهای آمینه یک یا چند زنجیر پلی پتیدی را که توسط یک یا دسته ای ا زژنها تعیین می شود را کد می نماید . RNA ناقل (tRNA) اطلاعات کد شده mRNA را می خواند و در طی بیو سنتز پروتئین اسید آمینه مناسب را به زنجیر پلی پپتیدی در حال رشد منتقل می نماید . RNA ریبوزوی (rRNA) که از عناصر ریبو زومها هستند که خود محل سـنتزپروتئین در داخل سلول می باشد .

پیشنهاد اینکه RNA پیام ژنتیکی را برای بیو سنتز پروتئین حمل می نماید مبتنی بر این واقعیت بـود کـه DNA او کاریوتهـا تمامـا محدود به هسته می شود ، در حالیکه بیو سنتز پروتئین بر روی ریبوزوم و در سیتو پلاسم انجام مـی گیـرد . بنـابراین بعـضی از مـاکرو ملکول های دیگر باید پیام های ژنتیکی را از هسته به سیتو پلاسم منتقل نمایند .RNA ، نامزد منطقی برای این عمل بود زیرا هم در هسته و هم در سیتوپلاسم یافت می شود . همچنین مشاهده شده بود که شروع بیو سـنتز پـروتئین همـراه اسـت بـا افـزایش محتـوی RNA سیتو پلاسم و نیز نوسازی آن(turn ovre) . این مشاهدات همراه با مشاهدات دیگر منجـر بـه پیـشنهاد فرانـسیس کریـک (Francis crick) بعنوان قسمتی از اصال بنیادی (central dogma) شـد کـه RNA بکـار گرفتـه مـی شـود جهـت حمـل اطلاعات ارثی از DNA به روند بیوسنتز پروتئین در ریبوزوم . در اواخر سال 1961 فرانسیس جاکوب و جـاکوس مونـاد نـام RNA پیک را پیشنهاد نمودند برای قسمتی از RNA تام سلول که اطلاعات ژنتیکی را حمل می نماید از DNA بـه ریبـوزوم ، جـائی کـه پیک الگو را برای بیوسنتز زنجیرهای پلی پپسیدی با توالی اسیدهای آمینه معین فراهم می نماید .

فرایند سنتز DNA وRNA با یکدیگر مشابه هستند در اینکه آنها شامل . (۱) مراحل کلی شروع ، طویل شـدن و خاتمـه بـا قطبیـت $5'$به $3'$: (۲) کمپلکس های آغازی چند عنصری بزرگ ، (۳) و پیروی نمودن از قوانین واتسون – کریک در مورد جفت شـدن بازهـا هستند . این دو روند در چندین جنبه مهم با یکدیگر اختلاف دارند که شامل موارد گفته شده است : (۱) در سـنتز RNA ریبونوکلوتیـد ها مورد استفاده قرار می گیرد بجای دزو کسی ریبو نوکلوتید .(۲) U جانشین T می شود بعنوان جفت باز مکمل برای A در RNA ؛ (۳) در سنتز RNA ، آغازگر (Primer) دخالت ندارد (۴) فقط قسمت خیلی کوچکی از ژنوم نسخه برداری شده و تبـدیل بـه RNA می شود در حالیکه در طی همانند سازی DNA از تمام ژنوم نسخه براداری می شود : (۵) هنگام نسخه بـرداری RNA عمـل غلـط گیری وجود ندارد .

ساختمان و عمل RNA پلیمراز :

در سال ۱۹۶۰ چهار گروه از محققین بطور مستقل موفق به جدا کردن آنزیمی از عصاره باکتریها شدند که می تواند بـا اسـتفاده از ریبـو نوکلوئید های تری فسفات مولکول RNA را سنتز کند . این آنزیم RNA پلیمراز و یا RNA پلیمراز وابسته بـه DNA (DNA- dependent RNA polymerase) نامیده می شود .

RNA پلیمراز آنزیمی است که محتوی یون روی است و برای انجام عمل آن حضورهرچهار نوع ریبو نوکلوزیـد – $5'$ – تـری فـسفات (CTP,UTP,GTP,ATP) و همچنین یون منیزیم ضروری است . RNA پلیمراز، زنجیر RNA را طویـل مـی نماینـد توسـط اضافه نمودن واحدهای ریبو نوکلوئید به هیدروکسیل $3'$ انتهای زنجیر و RNA را در جهت $5'$ به $3'$ ($3'-5'$) می سـازد . گـروه هیدروکسیل بعنوان نوکلئوفیل عمل می نماید ، به فسفات نوکلئوزید تری فسفات وارد شوند حمله می نماید و پیروفسفات را آزاد مـی نماید (شکل ۱)

این آنزیم همچنین برای فعالیت خود احتیاج به DNA دارد که به عنوان الگو از آن استفاده می کند . اگر چه در شرایط خاص DNA تک رشته ای به عنوان الگو مورد بهره برداری آنزیم قرار می گیرد لکن DNA دو رشته ای در این مورد الگوی بهتری است . رشته ای را که برای سنتز RNA بعنوان الگو بکار برده می شود بنام رشته الگو یا رشته منفی (–) نامند .

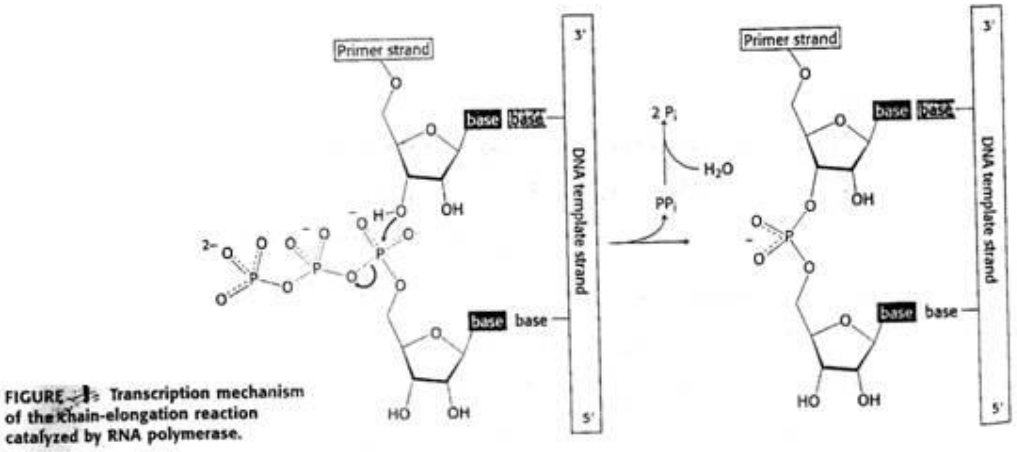


FIGURE ۲-۱۰ Transcription mechanism of the chain-elongation reaction catalyzed by RNA polymerase.

(5′) CGCTATAGCGTTT(3′) DNA nontemplate (+) strand
(3′) GCGATATCGCAAA(5′) DNA template (−) strand
(5′) CGCUAUAGCGUUU(3′) RNA transcript

Figure ۲ The two complementary str
DNA are defined by their function in tran
The RNA transcript is synthesized on the
mentary template (−) strand, and it is id
sequence (with U in place of T) to the nor
(+) or coding strand.

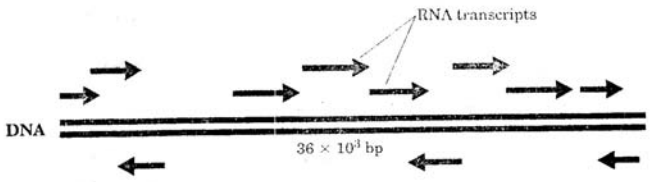


Figure ۳ The genetic information of
virus is encoded by a double-stranded DI
cule (36,000 base pairs), both strands of
code proteins. The information for most
is encoded by the top strand (transcribed
right), but some is encoded by the botton
and is transcribed in the opposite directi
sis of mRNAs in adenovirus is actually n
complex than shown here. Many of the n
shown for the upper strand are initially
sized as one long transcript derived from
than two-thirds of the length of the DNA
transcript is extensively processed to pro
mRNAs for most of the individual gene p
Adenovirus causes some types of upper r
tract infections in some vertebrates.

زنجیر DNA که مکمل زنجیر الگو است بنام رشته غیر الگو ، رشته مثبت (+) و یا رشته رمزدار (coding strand) می نامند . علت این نامگذاری آن است که توالی آن دقیقا (به جز جایگزین T به جای U) مانند رونوشت اولیه است که محصول پروتئین ژن را کد می کند (شکل۲) . بر خلاف DNA پلیمراز RNA پلیمراز ، برای شروع سنتز نیازی به پرایمر ندارد . در هر کروموزم ، ژنهای متفاوت ممکن است که زنجیرهای متفاوت را بعنوان الگو مورد استفاده قرار دهند (شکل ۳) . در باکتری اشریشیا کلی هر سه نوع RNA (mRNA, tRNA ,rRNA) توسط این آنزیم بر اساس DNA الگو ساخته می شوند . RNA پلیمراز فاقد فعالیت تصحیح کنند ه 3′ به 5′ اگزونوکلئازی بوده (مانند بسیاری از DNA پلیمرازها) و به ازاء هر 10^4 یا 10^5 ریبونوکلئوئیدی که درهنگام رونویس در ساختمان RNA قرار می دهند ، حدودا یک خطا ایجاد می نمایند . از آنجائی که از هر ژن منفرد تعداد زیادی از رونوشت های RNA تولید می شود و تمام RNA ها در نهایت تخریب و جایگزین می شوند ، عواقب وجود یک خطا در ملکول RNA برای سلول کمتر از خطا در ذخیره دائمی اطلاعات در DNA است . RNA پلیمراز که مسئول سنتز RNA (رونویس) در باکتری اشریشیا

کلی است دارای وزن ملکول تقریبی 350000 دالتون است . این آنزیم که دارای دو زیر واحد α، یک زیر واحد β، یک زیـر واحـد β'ویک زیر واحد ω است .
($\alpha_2 \beta \beta' \omega$) ، آنزیم مرکزی (corenzyme) نامیده می شود و مسئول طویل شدن رونویسی است (شکل۴). فـاکتور سـیگما (σ) با وزن ملکولی 70000 در جهت شناخت پیشبر (Promoter) و آغاز رونویس در محل صحیح لازم است .

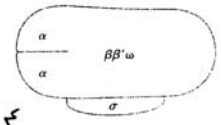


figure ۴
Structure of *E. coli* RNA polymerase and its function in transcription. The polymerase has six subunits. The α (two copies), β, β', and ω subunits have molecular weights of 36,500, 151,000, 155,000, and 11,000, respectively. The ω subunit is not required for activity in vitro, and its function is not known. The σ subunit functions only in promoter recognition and is not present during the elongation phase of transcription. The several types of σ subunits recognize different regulatory sequences. The major type is σ^{70}, reflecting its M_r of 70,000. The active site for RNA synthesis is believed to be formed by the β and β' subunits.

آنزیم کامل که تشکیل شده است از آنزیم مرکزی و فاکتور سیگما بنام هولو آنزیم (Holoenzyme) نامیده مـی شـود . بـاکتری هـا حاوی انواع مختلفی سیگما می باشند که دارای نقش تنظیم کننده بوده و قادراند مناطق مختلفـی را بـر روی رشـته DNA تـشخیص دهند . در اشریشیا کلی σ^{70} در رونویس بیشتر ژنها دخالت می نماید و σ^{32} در رونویسی ژن شوک حرارتی مداخله می نماید .

اعداد 37 و70 مربوط به وزن مولکولی فاکتورسیگما هستند . زیر واحد α جهت تجمع پروتئین های مرکـزی لازم اسـت و احتمـالا متصل به پیشبر می شوند . زیر واحد β ممکن است که در هر دو روند آغاز و طویل شدن رونویس مشارکت داشته باشد و فکر شده است که مرکز کاتا لیتکی آنزیم است . زیر واحد β'ممکن است که متصل به زنجیر الگو شود و عمل زیر واحد ω هنوز شناخته نشده است .

پیشبر(Promoter) :

ردیف DNA که RNA پلیمراز متصل و رونویسی آغاز می شود پیشبر (Promoter) خوانده می شود . ردیف DNA که مشارکت می نماید درعمل پروتئین اولین بار توسط مقایسه ردیف نوکلئوئیدهای دسته ای از ژنهای مختلفی که از E-coli جدا شده بودند تعیین هویت شد . این مقایسه آشکار نمود که نواحی بالا دست (Upstream) جایگاه آغاز رونویس حاوی دو دسته از ردیـف هـستند کـه در ژنهای متنوع مشابه یکدیگر هستند . این ردیف های عمومی هر کدام شش نوکلئوئید را در بر می گیرند که بطور تقریب در نواحی توالی های ۱۰- و ۳۵- قرار دارند . نقطه ای که رونویس آغاز می شود بنام نقطه آغاز نامیده می شود ، که همیشه پورین بوده و اغلـب آدنـین است . بطور تقریب ده بازهای بالا دست نقطه آغاز دارای توالی شش نوکلئوئیدی TATAAT بوده و توالی ۱۰- و یا پـرا ینوبـاکس (Pribnowbox) نامیده می شوند . بطور قرارداد نوکلئوتیدها را از نقطه آغاز (۱+) شماره گذاری می نمایند ، بـا اعـداد مثبـت بطـرف راست یا پایین دست (down stream) و اعداد منفی بطرف چپ یا بالا دست (upstream) . ۱- نوکلئوئید فوری بالا دست نقطـه شروع است (o وجود ندارد) . در نزدیک موقعیت ۳۵- توالی شش نوکلئوئیدی TTGACA وجود دارد که توالی ۳۵- نامیده می شود (۵)

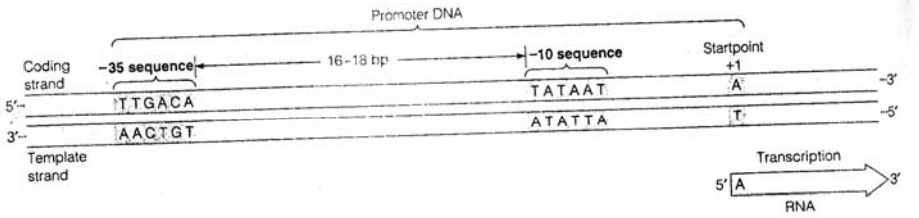


Figure **A Typical Prokaryotic Promoter.** The DNA promoter region in prokaryotes is a stretch of about 40 bp adjacent to and including the transcription startpoint. By convention, the critical DNA sequences are given as they appear on the coding strand (the nontemplate strand, which corresponds in sequence to the RNA transcript). The essential features of the promoter are the startpoint (designated +1 and usually an A), the six-nucleotide −10 sequence, and the six-nucleotide −35 sequence. As their names imply, the two key sequences are located approximately 10 nucleotides and 35 nucleotides upstream from the startpoint. The sequences shown here are consensus sequences, meaning that they have the most commonly found base at each position. The numbers of nucleotides separating the consensus sequences from each other and from the startpoint are important for promoter function, but the identity of these nucleotides is not.

رونویسی پروکاریوتها :

روند رونویسی دریک نمونه ژن E-coli را می توان به سه مرحله تقسیم نمود ، آغاز ، طویل شدن و ختم . شروع سنتز RNA از نقاط اتفاقی یک ملکول DNA یک روند فوق العاده بیهوده می باشد . اولین پله رونویسی اتصال RNA پلیمرازبه DNA است و بدنبال آن حرکت آنزیم بطرف پیشبر. RNA پلیمراز توسط روند جستجو پیشبر را پیدا می نماید ، بطوریکه عولو آنزیم با میل ترکیبی کم و بطور غیر اختصاصی متصل به DNA می شود و سپس در طول DNA حرکت می نماید تا اینکه به ردیف پیشبر می رسد و با میل ترکیبی بیشتر با آن متصل می شود . نقش سیگما هدایت پلیمراز است به پیشبر توسط اتصال آن برهر دو توالی های ۱۰- و ۳۵- که منجر به آغاز رونویسی می شود در ابتدای ژن (شکل ۶) .

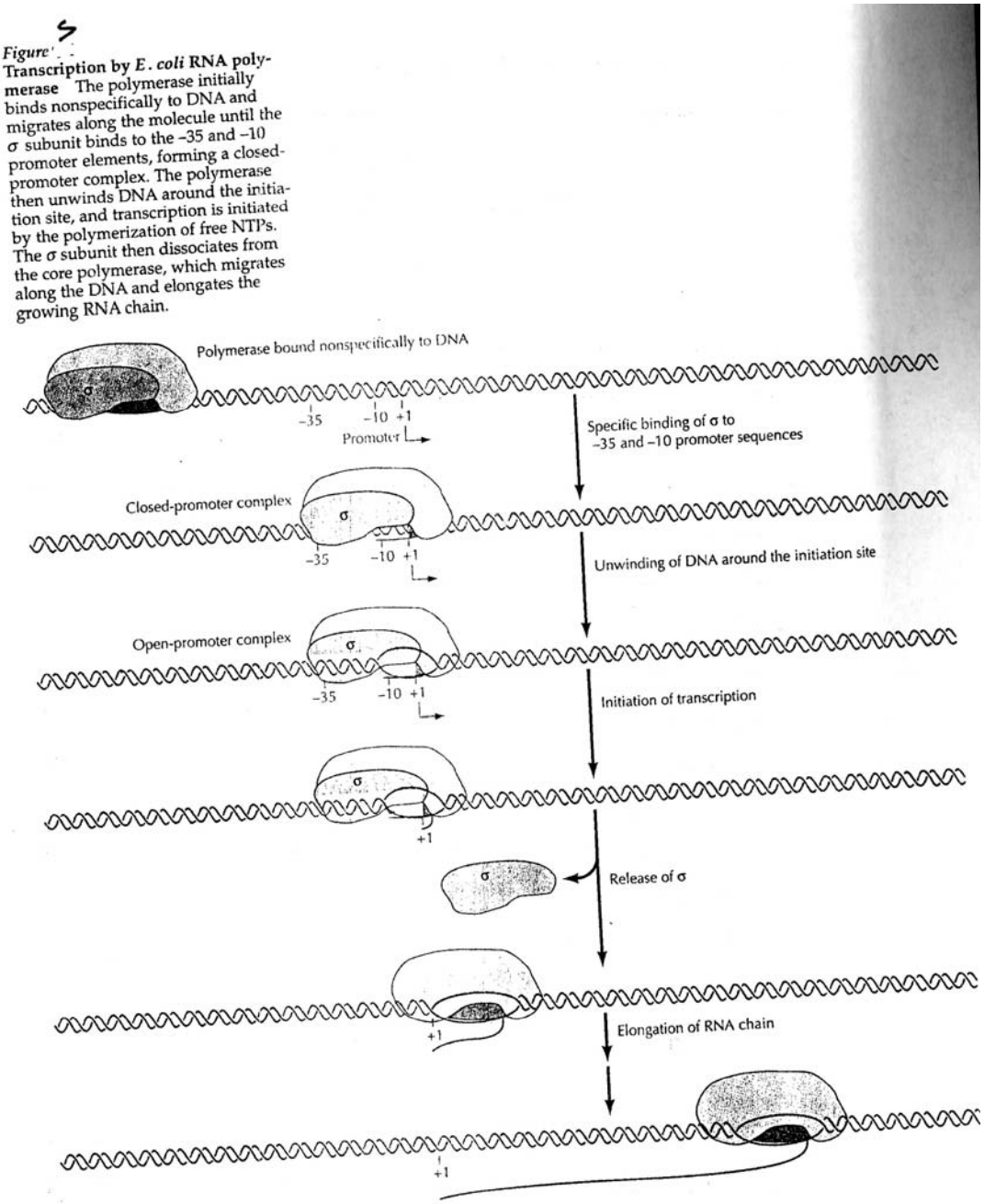


Figure 6
Transcription by *E. coli* RNA polymerase The polymerase initially binds nonspecifically to DNA and migrates along the molecule until the σ subunit binds to the −35 and −10 promoter elements, forming a closed-promoter complex. The polymerase then unwinds DNA around the initiation site, and transcription is initiated by the polymerization of free NTPs. The σ subunit then dissociates from the core polymerase, which migrates along the DNA and elongates the growing RNA chain.

اتصال اولیه بین پلیمراز و پیشبربنام کمپلکس بسته شناخته می شود چون DNA را هنوز باز نشده است . پلیمراز سپس ۱۵ جفت باز DNA رادر اطراف جایگاه آغازی از هم جدا نموده و تشکیل کمیکلس باز را می دهد ، بطوریکه زنجیر منفرد DNA بعنوان الگو برای رونویسی در دسترس قرار گیرد. RNA پلیمراز دارای دو جایگاه اتصالی برای نوکلئوزید سه فسفات ها می باشد ، جایگاه آغازی و جایگاه طویل شدن . جایگاه آغازی متصل به پورین تری فسفات (GTP یا ATR) می شود ، و یکی از اینها(معمولا ATP) اولین نوکلوئید رشته RNA می باشد . نوکلئوزید تری فسفات آغازی متصل به آنزیم تشکیل پیوند هیدروژنی را با باز مکمل خود بر روی DNA (باز+1) می نماید . جایگاه طویل شدن سپس با نکلئوزیدتری فسفات پر می شود که بطور دقیقی انتخاب شده است توسط استعدادش برای تشکیل پیوند هیدروژنی یا باز بعدی در رشته DNA . دو نوکلئوئید سپس بهم متصل می شوند ، هنگامیکه گروه اکسیژن $3'$ اولین نوکلئوتید حمله نوکلئوفیلی می نماید به فسفات دومین نوکلئوئید و پیروفسفات جدا شده و منجر به تشکیل پیوند

فسفو دی استرمی شود . گروه $5'$ تری فسفات واحد اولی ملکول RNA تازه سنتز شده بصورت پیروفسفات شکسته نشده و بطور دست نخورده در طی روند رونویس باقی می ماند . پس از اضافه شدن حدود۱۰ نوکلئوئید ، به زنجیر در حال رشد ، واحد سیگما (σ) از هولو آنزیم RNA پلیمراز جدا می شود . آنزیم پیشبر را ترک نموده و آنزیم مرکزی که بیشترین روند طول شدن زنجیر را انجام می دهد در طول DNA حرکت نموده و با توجه به زنجیر الگو RNA را سنتز می نماید . برای اینکه RNA پلیمراز بتواند رشته RNA مکمل یکی از رشته های DNA را سنتز نماید . لازم است که دو رشته DNA در یک فاصله کوتاهی باز شده و ایجاد « حباب» رونویسی را بنماید . در هنگام رونویسی ، RNA پلیمراز از موجود در E.col عموما ۱۷ جفت باز را جدا نگاه می دارد . در این ناحیه جدا شده ، یک هیپرید RNA-DNA کوتاه (هشت تا ۱۲ جفت باز) ایجاد می شود (شکل ۷) . رشد زنجیر RNA در جهت $5'$ به $3'$است و رشته الگو از جهت $3'$ به $5'$ خوانده می شود . حرکت RNA پلیمراز برروی DNA موجب ایجاد ابر پیچ مثبت

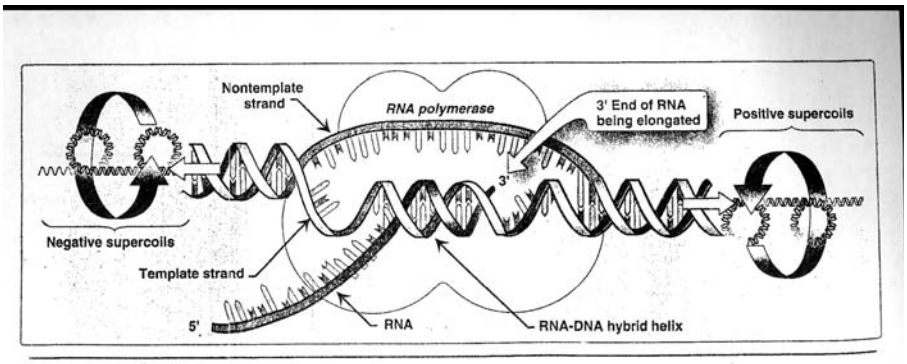


Figure
Local unwinding of DNA caused by *RNA polymerase*.

(Positrve supercoil) در جلو و ابر پیچ منفی (negative supercoil) درپشت سر حباب همانند سازی می شود که توسط آنزیم های توپوایزومراز آزاد می شوند. طویل شدن یک رونوشت توسط RNA پلیمراز E.coli با سرعت ۵۰ تا ۹۰ نوکلئوئید در ثانیه صورت می گیرد .

طویل شدن زنجیر باسرعت ثابت انجام نمی گیرد و در نقاط مختلف طول ملکول DNA کاهش سرعت و یا توقف وجود دارد که در بعضی موارد ممکن است که نقش تنظیمی داشته باشند . ختم سنتز RNA در توالی بازی معین ملکول DNA صورت می گیرد .

ختم بیوسنتز :

مکانیسم خاتمه سنتز RNA توسط RNA پلی مراز به خوبی مکانیسم شروع آن شناخته نشده است . به طور کلی برای پروکاریوتها دو مکانیسم جداگانه که کی وابسته به پروتئین رو (Rho) و دیگری مستقل از این پروتئین است پیشنهاد شده است .

مکانیسم مستقل از پروتئین رو (Rho) :

ساده ترین و عمومی ترین پیام ختم درE-coli تشکیل شده است توالیهای تکراری معکوس فراوان GC که به دنبال آن ۴ تا ۸ باقی مانده A وجود دارد . رونویسی توالی تکراری معکوس GC منجر به تشکیل ساختمان سنجاق مو یا حلقه – ساقه می شود که در اثر جفت شدن جفت بازهای مکمل ایجاد می شود . از ویژگیهای دیگر این روند وجود قطعه ای از ریشه های آدنیلات در رشته الگو می باشد که به ریشه های اوریدیلات در انتهای $3'$ ملکول RNA رونویسی می شود . هنگامیکه یک پلیمراز به جایگاه ختم با یک چنین ساختمانی می رسد ، متوقف می شود . تشکیل یک چنین ساختمان خود مکمل در RNA پیوستگی آنرا با DNA تخریب می نماید و رونویسی را ختم می نماید . چون پیوند هیدروژنی بین AU ضعیف تر از GC است ، حضور باقی مانده A در پایین دست توالی تکرار معکوس GC جدا شدن RNA را از زنجیر الگو تسهیل می نماید (شکل ۸) .

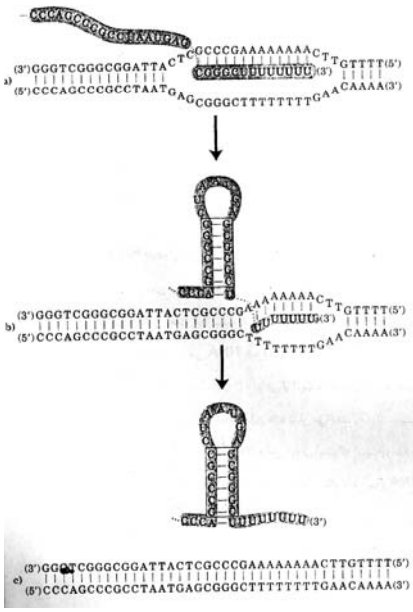


Figure ۸ - A model for ρ-independent termination of transcription in *E. coli*. **(a)** The poly(U) region is synthesized by RNA polymerase. **(b)** Intramolecular pairing of complementary sequences in the RNA forms a hairpin, destroying part of the RNA–DNA hybrid. The remaining A=U hybrid region is relatively unstable, and **(c)** the RNA dissociates completely.

مکانیسم وابسته به پروتئین رو (Rho)

پروتئین رو (Rho) یک پروتئین هگزامر است با فعالیت هلیکازی تحریک شونده با RNA و وابسته به ATP است کـه کمـیلکس در حال ساخت RNA- DNA را می شکند . این آنزیم متصل به ناحیه فراوان C بر روی زنجیر منفرد RNA در حال ساخت می شود و د رطول رونوشت به جهت انتهای ´3 حرکت می نماید و منجر به باز شدن انتهای ´3 رونوشـت از الگـو و آزاد شـدن آن مـی شـود (شکل ۹).

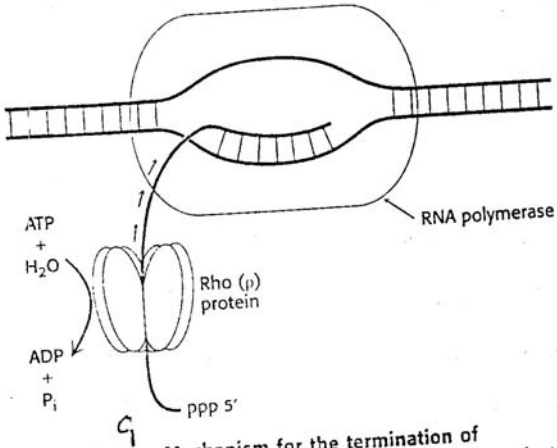


FIGURE ۹ - Mechanism for the termination of transcription by ρ protein. This protein is an ATP-dependent helicase that binds the nascent RNA chain and pulls it away from RNA polymerase and the DNA template.

RNA پلیمراز وابسته به DNA سلولهای پستانداران

در سلول های اوکاریوتها چندین نوع از RNA پلیمراز ها وجود دارد . اساس طبقه بندی RNA پلی مرازها در این سـلولها بـر مبنـای عکس العمل آنها نسبت به آلفا آمانتین استوار است . α- آمانتین یک سم پتیدی مربوط به قارچ آمانیتا فالوپیدس است که باز دارنده اختصاص RNA پلیمرازهای وابسته به DNA در هسته یوکاریوتهاست و از این نقش آن می توان به خوبی در تحقیقات استفاده کرد

(جدول ۱) ، انواعی از آنزیم ها که به وسیله این سم مهار نمی شوند به نام گروه A (۱) و در مقابل انـواعی کـه حـساسیت فـوق العـاده نسبت به این ماده نشان می دهند و با مقادیر بسیار کمی (10 nm) مهار می شوند بـه گـروه B (۱۱) موسـومند . سـرانجام گـروه C (۱۱۱) شامل انواعی است که نسبت به مقادیر زیاد این سم (۰/۱ mM) حساسند و مهار می شوند . RNA پلیمراز I در هـستک وجـود دارند و مسئول سنتز یک نوع RNA است ، یک رونوشت که به نام RNA پری ریبـوزومی(PreribosomalRNA) نامیـده مـی شود و پیش ساز ملکول های RNA ریبوزومی18S , 5.8S , 28S می باشد . RNA پلیمرازII در دو نوکلئوپلاسـم وجـود دارد و مسئول بیوسنتز پیش ساز RNA پیک(hnRNA) و نیز RNA کوچک هسته ای SnRNA مـی باشـد . RNA پلیمـراز III در نوکلئوپلاسم وجود دارد و مسئول بیوسنتز tRNA و RNA ریبوزمی 5S می باشد .

پروموتررهای RNA پلیمراز پستانداران .

پروموتورهای RNA پلیمراز I از نظر توالی بین گونه های مختلف بسیار متفاوت می باشند . پروموتورهای RNA پلیمراز III بخوبی شناخته شده اند . جالب است که تعدادی از توالی های لازم برای تنظیم شروع رونویسی توسـط RNA پلیمـراز III در قـسمت پـایین دست (downstream) جایگاه شروع رونویسی و در داخل خود ژن قرار دارند . پروموتررهای RNA پلیمراز II دارای ویژگیهای زیر است . ۱- توالی TATAAAT که ۲۵ جفت باز در قسمت بالا دست(Upstream) جایگـاه شـروع رونویـسی قـرار دارد کـه بنـام TATA و یـا هـوگنس بـاکس (Hogness box) شـناخته شـده اسـت (مـشابه پرایبنوبـاکس) . ۲- تـوالی عمـومی ناحیـه GG(T/C)CAATCT -75 ، که TوC با یک فراوانی مساوی در موقعیت ۳ قرار می گیرند . این توالی را جعبه CAAT گویند . عنصر سوم که توسط تعداد کمی از پروموتررها شناخته می شود جعبه GGGCGG,GC می باشد (شکل ۱۰) .

جدول ۱۰-۱ . حاصل عمل RNA پلی‌مراز در سلولهای اوکاریوت.

آنزیم	محصول	محل استقرار	حساسیت نسبت به آمانتین
RNA پلی‌مراز I	۲۸S، ۱۸S، ۵٫۸S rRNA$_s$	هستک	مقاوم
RNA پلی‌مراز II	hn RNA ،mRNA	نوکلئوپلاسم	حساس
RNA پلی‌مراز III	tRNA$_s$، ۵S rRNA	نوکلئوپلاسم	حساس در غلظتهای بالا

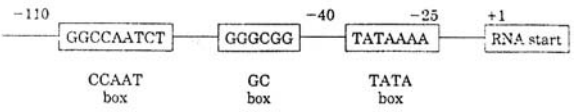
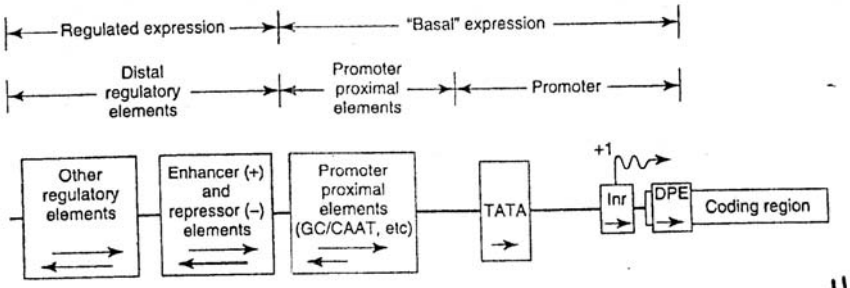


Figure 10-1 The consensus sequences of some common elements in promoters used by eukaryotic RNA polymerase II, derived from a comparison of 100 promoters of this type. A transcription factor (TFIID) binds at the A=T-rich sequence called a TATA box, facilitating the binding of the polymerase. This sequence is commonly found about 25 base pairs before the RNA start site. Two other elements are also sometimes present, found somewhere between −110 and −40: the CCAAT box and GC box are binding sites for other transcription factors that affect polymerase function. Other sequences, some quite distant in the DNA, can affect transcription (Chapter 27). Eukaryotic promoters are more variable than their bacterial counterparts, and some RNA polymerase II promoters lack all of the sequences shown. As in Fig. 25–5, the sequences are those in the coding (nontemplate) strand.

تعداد کمی از ژنها جعبه TATA ندارند . در این موارد توالی شروع کننده (Inintiator sequence یا Inr) و نیز عنصر پـایین دستی پروموتور (downstream promoter element یا DPE) ، RNA پلیمراز II را به سوی پروموتور راهنمـایی مـی کنند و بدین ترتیب رونویسی پایه از محل صحیح خود شروع می شود . پرومو تورهایی که هم جعبه TATA و هم Inr دارند ممکـن است قویتر از پروموتورهایی باشند که فقط یکی از این دو عنصر را دارند . در یک بررسی بر روی بیش از ۲۰۰ ژن یوکاریوتی حدود ۳۰٪ دارای تنها جعبه TATA و Inr۰ ، ۲۵٪ دارای Inr و DPE ، ۱۵٪ دارای هر سه جعبه و حدود ۳۰٪ دارای تنها جعبـه Inr بودنـد .

توالیهایی که کمی دورتر در بالا دست محل شروع رونویسی هستند ، تعداد دفعات رونویسی را مشخص می کنند (جعبه های CAAT, GC از نمونه های معمول این عناصر هستند) .

دسته دیگر از عناصر ، شروع رونویسی از ژنهای یوکاریوتی را تند یا کند نمایند . این عناصر را بسته به اثرشان، افزاینده (entancer) و یا سرکوبگر (repressor) می نامند (شکل ۱۱)



شکل ۱۱. طرحی از مناطق کنترل رونویسی در یک ژن فرضی یوکاریوتی از دسته II (مولد mRNA). چنین ژنی را می‌توان با کمک محل شروع رونویسی (پیکان موجدار؛ +۱)، به مناطق رمزدار و تنظیمی تقسیم کرد. منطقه رمزدار دارای همان توالی DNA است که به صورت mRNA رونویسی می‌شود تا نهایتاً به پروتئین ترجمه گردد. منطقه تنظیمی متشکل از دو دسته عنصر است. یک دسته از آنها بیان پایه را تضمین می‌کند. این عناصر عموماً دو جزء دارند. جزء نزدیک (عموماً جعبه TATA) یا اجزای Inr یا DPE، RNAP II را به محل صحیح راهنمایی می‌کند (دقت). در پروموترهای بدون TATA ممکن است یک عنصر شروع‌کننده (Inr) که در طرفین محل شروع (+۱) است، پلیمراز را به سوی این محل راهنمایی کند. جزء دیگر یعنی عناصر بالادست، دفعات شروع رونویسی را معین می‌کند. جعبه CAAT بهتر از بقیه اینها شناخته شده، ولی ژنهای گوناگون ممکن است از چند عنصر دیگر (Sp1، NF1، AP1 و غیره) استفاده کنند. دسته دوم عناصر تنظیمی دارای اثر سیس، مسئول تنظیم بیان ژنهاست. این دسته مشتمل بر عناصری است که بیان ژنها را کم یا زیاد می‌کنند، و نیز عناصر دیگری که واسطه پاسخ به پیامهای گوناگون از جمله هورمونها، شوک گرمایی، فلزات سنگین و مواد شیمیایی هستند. بیان اختصاصی بافت شامل توالیهای خاصی از این نوع نیز هست. پیکانهای درون جعبه‌ها، وابستگی این عناصر به جهت را نشان می‌دهند. مثلاً عنصر نزدیک (جعبه TATA) باید در جهت ۵′ به ۳′ باشد. عناصر بالادست در جهت ۵′ به ۳′ بهتر کار می‌کنند، ولی برخی از آنها می‌توانند معکوس نیز بشوند. محل برخی از عناصر نسبت به محل شروع رونویسی ثابت نیست. در واقع برخی عناصر مسئول تنظیم بیان ژنها می‌توانند در لابلای عناصر بالادست پخش باشند، یا در پایین‌دست محل شروع قرار گیرند.

آغاز روند رونویسی د ریوکاریوتها :

غیر مشابه با RNA پلیمراز باکتریها ، RNA پلیمراز II به تنهائی قادر به آغاز روند رونویسی نمی باشد و نیاز به اضافه شدن پروتئین های دیگر دارد که بنام فاکتورهای رونویسی عمومی(Genral trnscrption Factor) نامیده می شوند . فاکتورهای رونویسی عمومی مشارکت دارند در رونویس پورموتورهای تمام RNA پلیمراز ها و بنابراین تشکیل قسمتی از سیستم رونویسی پایه را می دهند . فاکتورهای رونویسی اضافی دیگر متصل به توالی های DNA می شوند که بیان ژنهای ویژه را کنترل نمایند ، و بنابراین مسئول تنظیم بیان ژن هستند . فاکتورهای رونویسی که موجب هدایت RNA پلیمراز II به جایگاه آغاز می شوند مجموعا بنام TFII شناخته شده اند (TF قرار گرفته است برای فاکتور رونویس و II مربوط است به RNA پلیمراز II) . اولین فاکتور رونویس که متصل به DNA می شود فاکتور رونویس TFIID است که از چندین زیر واحد تشکیل شده است منجمله پروتئین متصل شونده به TATA (TBP) که بطور اختصاصی متصل به توالی TATA می شود و نیز فاکتورهای همراه با TBP (TAFs) .

TBP یک پروتئین شبیه زین است که تشکیل شده است دو حوزه مشابه . سطح زین TBP جایگاه اتصالی را برای دیگر عناصر فراهم مینماید . فاکتورهای رونویسی بعدی که اتصال می یابند عبارتنداز RNA،TFIIB,TFIIA پلیمراز II همراه TFIIE,TIIF و TFIIH که منجربه تشکیل کمپلکس آغازی رونویس می شود (شکل ۱۲) . TFIIHخاصیت علیکازی دارد و قادر است که امتداد کوتاهی از پروموتور DNA را از هم باز نماید بطوریکه آنزیم بتواند رشته الگو را بشناسد وچند پیوند فسفودی استر را سنتتر نماید . TFIIH نیزخاصیت کینازی دارد و موجب فسفوریله شدن توالی های تکراری ناحیه C– انتهائی بزرگترین زیر واحد RNAپلیمراز ۱۱ می شود . فسفوریکه شدن موجب آزاد شدن آنزیم از کمپلکس آغازی شده وروند طویل شدن زنجیر را آغاز می نماید .

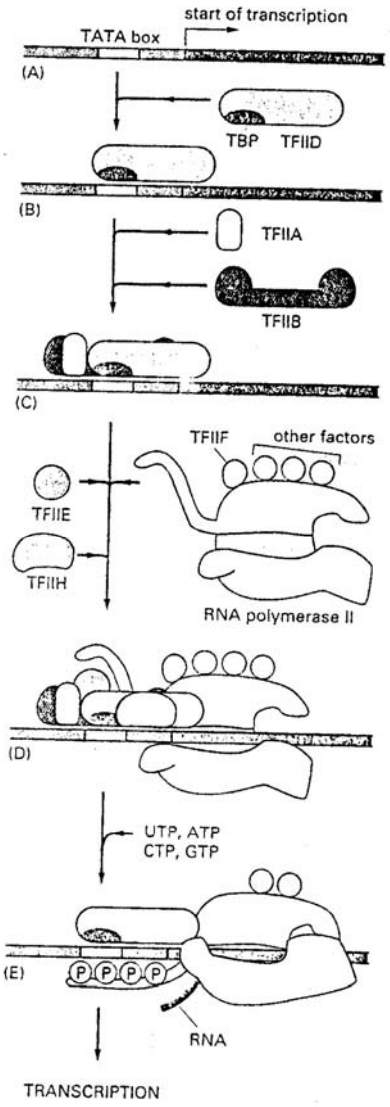


Figure ۱۲ Initiation of transcription of a eucaryotic gene by RNA polymerase II. To begin transcription, RNA polymerase requires a number of general transcription factors (called TFIIA, TFIIB, and so on). (A) The promoter contains a DNA sequence called the TATA box, which is located 25 nucleotides away from the site at which transcription is initiated. (B) The TATA box is recognized and bound by transcription factor TFIID, which then enables the adjacent binding of TFIIB (C). For simplicity the DNA distortion produced by the binding of TFIID (see Figure 6–18) is not shown. (D) The rest of the general transcription factors, as well as the RNA polymerase itself, assemble at the promoter. (E) TFIIH then uses ATP to pry apart the DNA double helix at the transcription start point, allowing transcription to begin. TFIIH also phosphorylates RNA polymerase II, changing its conformation so that the polymerase is released from the general factors and can begin the elongation phase of transcription. As shown, the site of phosphorylation is a long C-terminal polypeptide tail that extends from the polymerase molecule. The assembly scheme shown in the figure was deduced from experiments performed *in vitro*, and the exact order in which the general transcription factors assemble on promoters in cells is not known with certainty. In some cases, the general factors are thought to first assemble with the polymerase, with the whole assembly subsequently binding to the DNA in a single step. The general transcription factors have been highly conserved in evolution; some of those from human cells can be replaced in biochemical experiments by the corresponding factors from simple yeasts.

پیرایش مولکول :RNA

مولکول تازه سنتز شده RNA را رونوشت اولیه (Primary transcript) گویند . RNA حاصل از عمل رونویسی قبل از اینکه بتواند وظیفه خود را به طور فعال آغاز کند باید مورد تغییرات آنزیمی خاص قرار گیرد که به طور کلی پیرایش مولکول RNA نامیده می شود . رونوشت های اولیه در مولکولهای mRNA اوکاریوتها و همچنین در مولکولهای tRNA و rRNAهم باکتریایی و هم اوکاریوتی تحت پیرایش قرار می گیرند . قطعات غیر کد کننده ای که ناحیه کد کننده رونوشت را می شکنند اینترون (Entron) و قطعات که کننده را اگزون (Exon) گویند . حذف اینترون ها را از رونوشت اولیه و اتصال اگزون ها را بهم روند پیوند (splicing) گویند .

پیرایش RNA ریبوزومی :

مولکول RNA ریبوزومی در هر دو سلول پروکاریوتی واوکاریوتی از پیش سازهای بزرگتری بنام مولکول های RNA پری ریبوزومی (Preribosomal RNA) ساخته می شوند . در باکتریها ، مولکولهای RNA ریبـوزومی 5s,23s.16s (و بعـضی از ملکولهـای tRNA از یک پیش ساز 30S ایجاد می گردند . قبلا از شکسته شدن RNA پری ریبوزومی 30S روند متیله شدن بر روی بازهای ویژه انجام می شود . (شکل ۱۳)

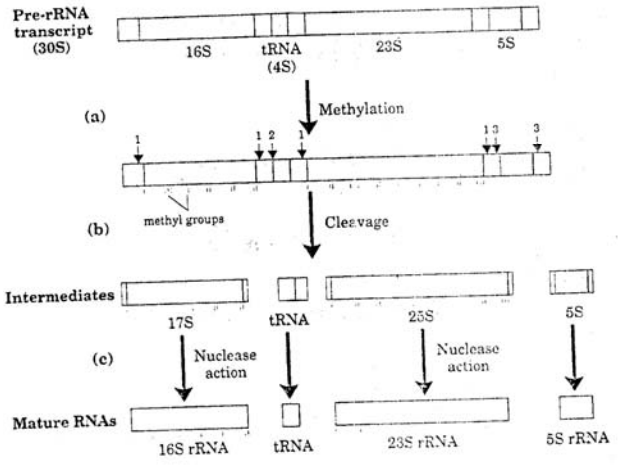


figure ۱۳
Processing of pre-rRNA transcripts in bacteria. **(a)** Before cleavage, the 30S RNA precursor is methylated at specific bases. **(b)** Cleavage liberates precursors of rRNAs and tRNA(s). Cleavage at the points labeled 1, 2, and 3 is carried out by the enzymes RNase III, RNase P, and RNase E, respectively. As discussed later in the text, RNase P is a ribozyme. **(c)** The final 16S, 23S, and 5S rRNA products result from the action of a variety of specific nucleases. The seven copies of the gene for pre-rRNA in the *E. coli* chromosome differ in the number, location, and identity of tRNAs included in the primary transcript. Some copies of the gene have additional tRNA gene segments between the 16S and 23S rRNA segments and at the far 3′ end of the primary transcript.

در اوکاریوت ها یک رونوشت 45Spre-rRNA در هستک پیرایش می شود . گروهای $2'-$ هیدروکسیل واحـدهای ریبـوزی ایـن رونوشت ابتدا متیله می شوند و سپس شکسته شده و تولید ملکول هـای RNA ریبـوزومی 5.8s,28s,185 را مـی نمایـد . ملکـول 5srRNA موجود در اکثر اوکاریوت ها بعنوان یک رونوشت کاملا مجزا توسط پلیمراز متفاوت (RNA پلیمراز III) ساخته می شود . (شکل ۱۴) .

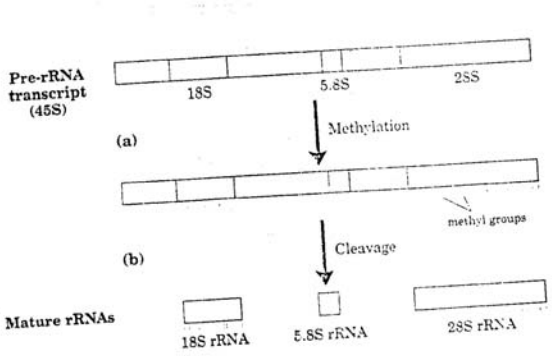
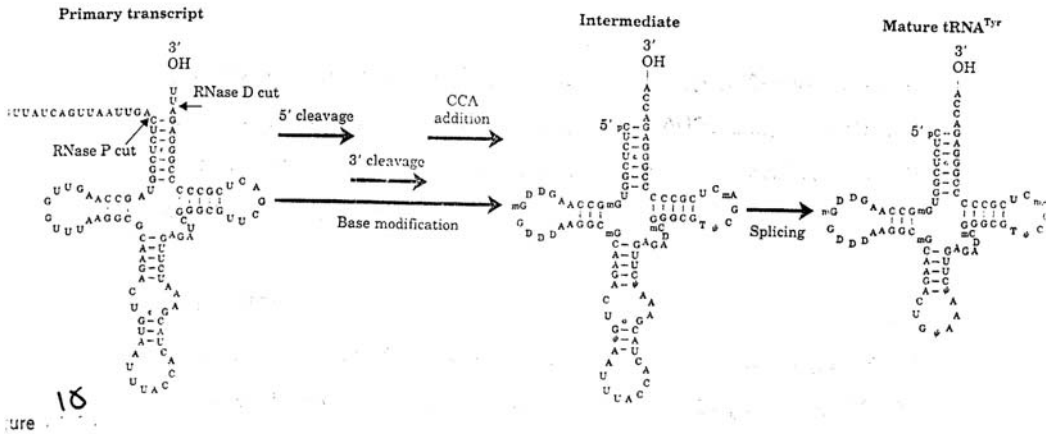


figure ۱۴
Processing of pre-rRNA transcripts in vertebrates. **(a)** The 45S precursor is methylated at more than 100 of its 14,000 nucleotides, mostly on the 2′-OH groups of ribose units retained in the final products. **(b)** A series of enzymatic cleavages produces the 18S, 5.8S, and 28S rRNAs. The cleavage reactions require RNAs found in the nucleolus, called small nucleolar RNAs (snoRNAs), within protein complexes reminiscent of spliceosomes. The 5S rRNA is produced separately.

پیرایش tRNA:

اکثر سلولها دارای ۴۰ تا ۵۰ مولکول tRNA متفاوت بوده وسـلولهای اکـاریوتی دارای چنـدین نـسخه از ژن هـای tRNA هـستند. ملکولهایRNAناقل از طریق برداشت آنزیمی نوکلوئیدها ازدو انتهای $5'$ و $3'$ پیش سازهای بلند تر tRNA ، ایجاد مـی شـود . گاهی در داخل رونوشت های tRNA اوکاریوتی اینترونهایی وجود دارند که لازم است که برداشت شوند . وقتی که دو یا چنـد ملکـول مختلف tRNA در یک رونوشت اولیه وجود دارد ، توسط شکست آنزیمی از یکدیگر جـدا مـی شـوند . ریبونوکلئـاز p (RNase p) نوکلئوئید ها را از انتهای $5'$ tRNA حذف می نماید و ریبونوکلتاز D (RNase D) نوکلئوتید ها را از انتهـای $3'$ tRNA حـذف می نماید . عناصرRNA موجود در RNase p جهت فعالیت لازم است و در سلولهای باکتریایی می تواند عمل پیرایش خود را حتـی در غیاب جزء پروتئینی با دقت انجام دهد . بنابراین RNase p مثالی از یک RNA کاتالتیک است. پیرایش بعدی شامل اضافه شدن

تری نوکلئوتید CCA است به انتهای 3′ tRNA که توسط فعالیت آنزیمی نوکلئوتید ترانسفراز صورت می گیرد پیرایش نهائی تغییرات بعض از بازها بطریق متیلاسیون ، دی آمیناسیون و یا احیاء می باشد . برای tRNA اوکاریوتها که در شکل ۱۵ نشان داده شده است آخرین روند پیرایش شامل روند پیوند و حذف ۱۴ نوکلئوتید اینترون می باشد .



۱۵

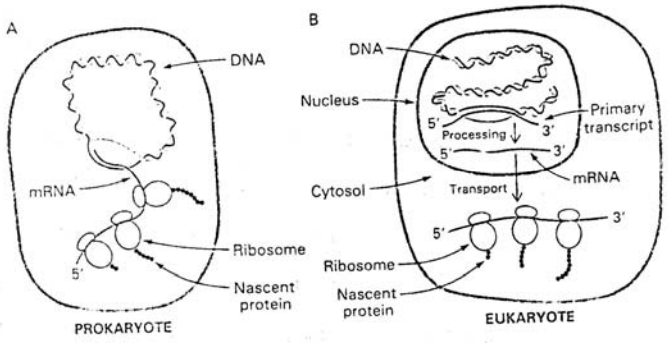
ure
ocessing of tRNAs in bacteria and eukaryotes. The
st tRNA^{Tyr} (the tRNA specific for tyrosine binding) is
d to illustrate the important steps. The nucleotide
quences shown in yellow are removed from the primary
nscript. The ends are processed first, the 5′ end before
3′ end. CCA is then added to the 3′ end, a necessary
p in processing eukaryotic tRNAs and those bacterial
NAs that lack this sequence in the primary transcript
ile the ends are being processed, specific bases in the
t of the transcript are modified (see Fig. 26–26). For
eukaryotic tRNA shown here, the final step is splicing
he 14 nucleotide intron. Introns are found in some
aryotic tRNAs but not in bacterial tRNAs.

پیرایش mRNA:

اوکاریوتها ، طبق تعریف حاوی هسته غشاء دار است ، جائی که رونویسی اتفاق می افتد در مقابل روند ترجمه خارج ازهسته انجام می شود . بنابراین رونویسی و ترجمه در اوکاریوتها در دو محفظه سلولی مختلف انجام می شود . در پرو کاریوتها رونوشت اولیه بعنوانmRNA بکار گرفته می شود و فورا بعنوان الگوجهت بیوسنتز پروتئین بکار گرفته می شوند . بنابراین در پروکاریوتها روند ترجمه آغاز می شود در حالیکه روند رونویسی هنوز ختم نشده است (شکل ۱۶) . جدائی جسمی وفضائی رونویسی و ترجمه در اوکاریوتها ، آنها را قادر می نماید که بیان ژن را بطور پیچیده تری کنترل نمایند روند پیرایش mRNA بترتیب شامل اضافه شدن در۷ متیل گوانورین (کلاهک) به انتهای 5′، اضافه شدن polyA به انتهای 3′ و روند پیوند (splicing) می باشد (شکل ۱۷).

۱۶

Figure
Transcription and translation are closely coupled in prokaryotes, whereas they are spatially and temporally separate in eukaryotes. (A) In prokaryotes, the primary transcript serves as mRNA and is used immediately as the template for protein synthesis. (B) In eukaryotes, mRNA precursors are processed and spliced in the nucleus before being transported to the cytosol. [After J. Darnell, H. Lodish, and D. Baltimore. *Molecular Cell Biology*, 2nd ed. (Scientific American Books, 1990), p. 230.]



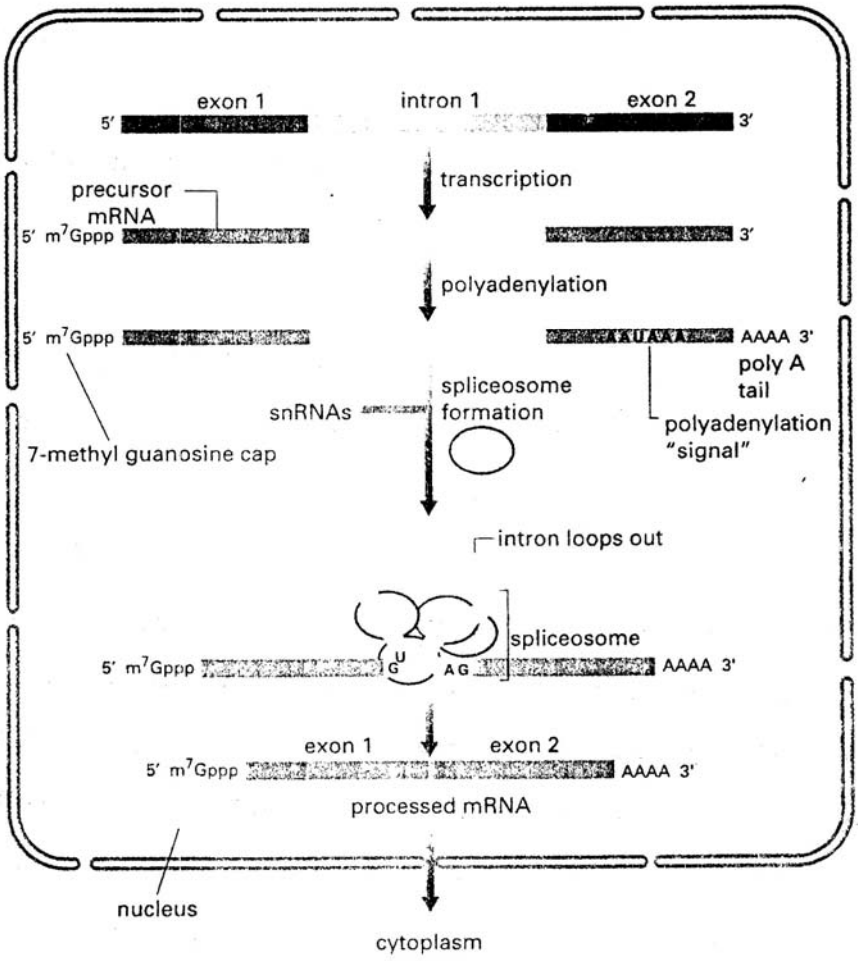


Figure ۱۷. mRNA processing in eukaryotes.

اضافه شدن کلاهک ۷- متیل گوانوزین :

کلاهک $5'$ در مراحل اولیه رونویسی که رونوشت اولیه حدود ۳۰-۲۰ نوکلئوتید طول دارد تشکیل می شود . روند تشکیل کلاهک با هیدرولیز فسفات انتهای شروع می شود و سپس گوانوزین منوفسفات به انتهای $5'$ متصل می شود از طریق تشکیل پیوند تری فسفات $5'-5'$ غیر معمول . واکنش توسط گوانیلیل ترانسفراز انجام می شود سپس ازت N-7 گوانین انتهائی متیله می شود توسط آنزیم گوانین - ۷- میتل ترانسفراز که در این واکنش S– آدنوزیل میتونین بعنوان دهنده متیل عمل می نماید . اغلب گروههای دیگر متیل ، به گروههای هیدروکسیل اولین و دومین نوکلئوتید مجاور این کلاهک افزوده می شود (شکل ۱۸)

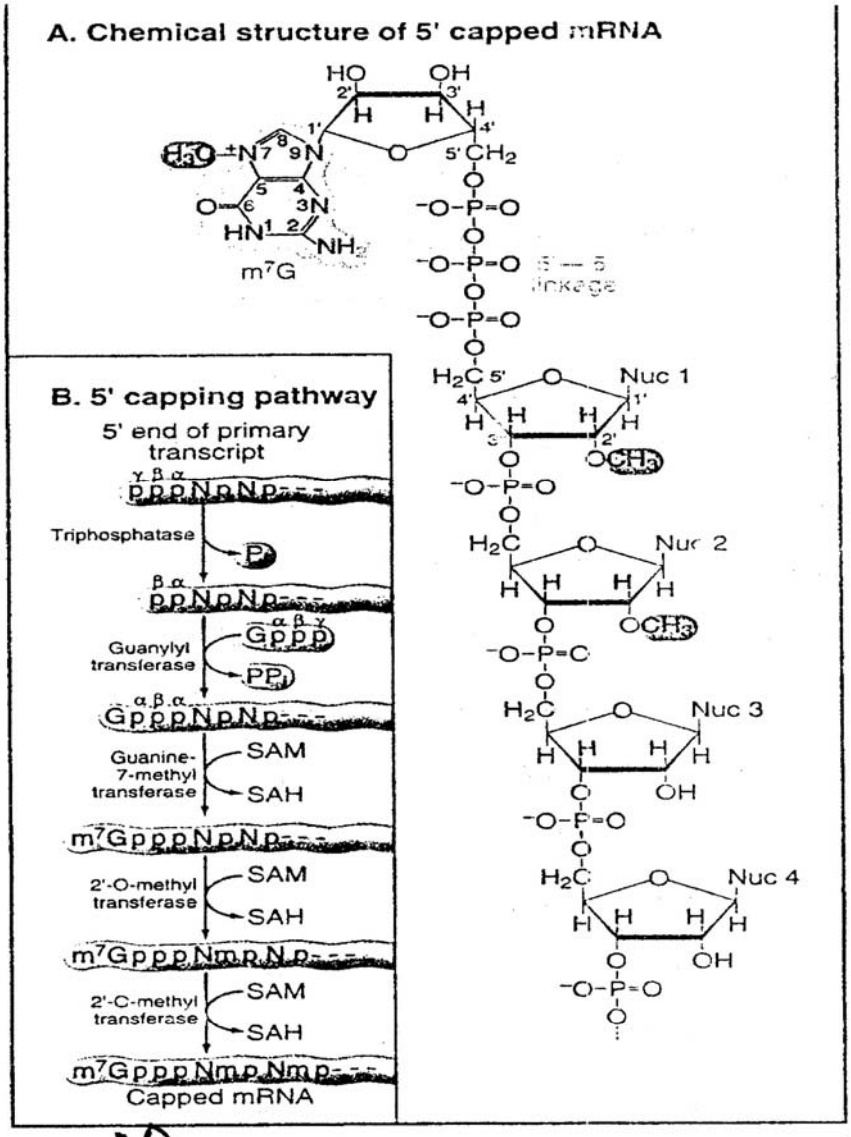
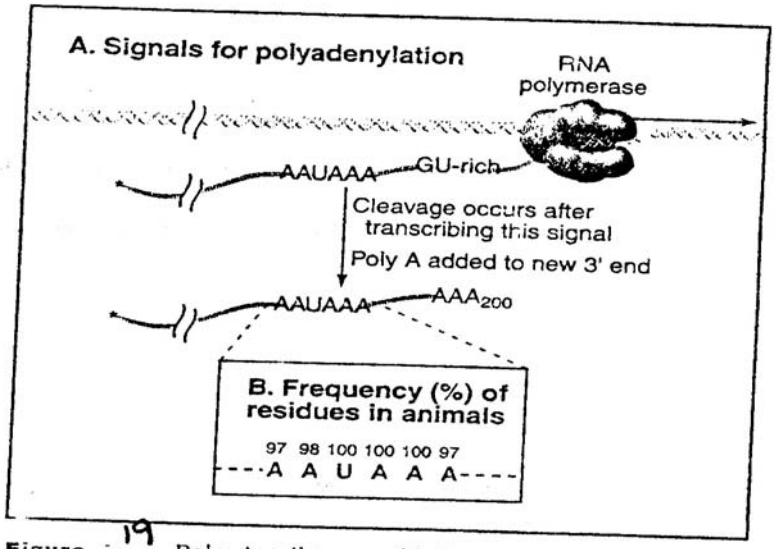


Figure 5.- A 7-methyl guanosine cap blocks the 5′ ends of mRNAs and leaves a 3′ OH. *A,* Newly synthesized mRNAs acquire a protective cap shortly after they emerge from the polymerase. The cap is formed by attachment of an inverted G via an unusual 5′-5′-triphosphate linkage. In addition methyl groups are added *(red shading)*: one at the N^7 position of the inverted G, one on the 2′ OH of the first nucleotide (Nuc1) of the initial transcript, and generally another on the 2′ OH of the second nucleotide (Nuc2). *B,* Messenger RNA capping is a multistep process. First the 5′ phosphate is removed by a triphosphatase, and guanylyl transferase adds the inverted monophosphate G. Next, methyl transferases to the S-adenosyl methionine (SAM) transfer the methyl group from N^7 position of the inverted G (m^7G) and the 2′ OHs of the first and second nucleotides (Nm), releasing S-adenosyl homocysteine (SAH).

اضافه شدن polyA به انتها ′3 mRNA

اوکاریوتها دارای ۱۰۰تا ۲۰۰ واحد باقی مانده آدنین دارند که در انتها ′3 آنها است . باقی مانده A توسط DNA کد نمی شود بلکه پس از پایان رونویس توسط polyA پلیمراز اضافه می شود ، توسط بکار بردن ATP بعنوان سوبسترا . قبل از اضافه شدن polyA به انتهای ′3 mRNA دو توالی AAUAAA و نیز GU توسط آنزیم اندونوکلتاز شناخته می شود و آنزیم ۱۰ تا ۳۰ نوکلئوتید را در قسمت پائین دست توالی AAUAAA میشکند و سپس polyA اضافه می شود (شکل ۱۹)



19

Figure Poly A tails are added to pre-mRNAs following transcription. *A,* After pol II transcribes the protein-coding region of the gene, it encounters and transcribes two sequence elements—AAUAAA and a GU-rich region—which serve as signals to a 3′ end processing complex that cleaves the nascent RNA, releasing it from the transcription complex. The newly created 3′ end is then modified by the subsequent addition of up to 200 adenosine (A) residues. *B,* The poly A signal is highly conserved in vertebrates.

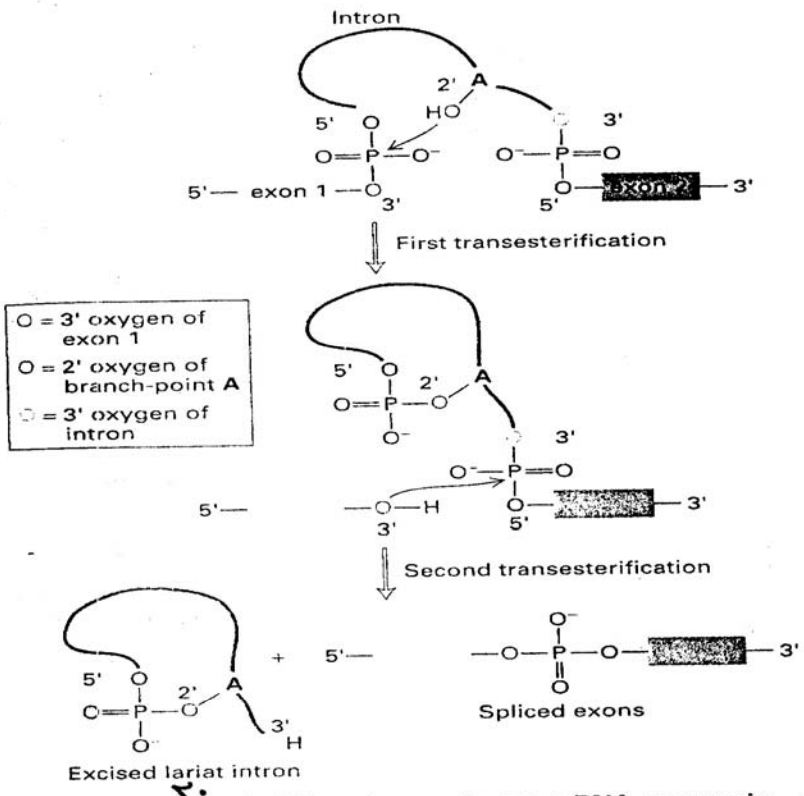
پیوند (splicing) :

توالی هائی از DNA که بیان می شوند(نگاهداری می شوند در محصول نهائی) اگزون و توالی های مداخله گر که بیان نمی شوند بنام اینترون نامیده می شوند . در اوکاریوتها تمام توالی DNA یک ژن هر دو اینترون و اکسون بیان شده و تولید پیشتازmRNA را می نمایند . قطع اینترونها و تشکیل ملکول mRNA نهائی توسط اتصال اگزونها بیکدیگر بنام پیوند (splicing) RNA گفته میشود . تعداد اینترونهای هر ژن بطور قابل ملاحضه ای متغیر است . یک اینترون برای ژن پروتئین اکتین عضلات ، دو تا برای زنجیرهای α و β هموگلوبین ، سه تا برای لیزوزوم و بیش از ۵۰ تا اینترون برای زنجیرهای α کلاژن وجود دارد . در طی روند کامل شدن mRNA در اوکاریوتهای عالی از ۳۰٪ تا ۹۰٪ رونوشت اولیه حذف می شود . قطعات کد کننده باقیمانده (اگزونها) توسط آنزیم های پیوند کننده جهت تشکیل ملکول mRNA قابل ترجمه بهم متصل می شوند . مطالعه توالی بازهای صدها اینترون روشن نموده است که انتهای ′5 اینترون باتوالی GU آغاز و درانتهای ′3 با توالی AG ختم می شود این دو ناحیه همراه با توالی نقطه شاخه ای که حاوی A است و حدود ۵-۱۰ واحد باقیمانده در قسمت بالا دست انتهای ′3اینترون قرار دارد در روند حذف اینترون نقش مهمی را بعهده دارند . پنج RNA کوچک هسته ای (snRNA) حاوی U فراوان که بصورت U_1 U_2 U_4 U_5 U_6 نشان داده می شوند در روند پیوند رونوشت اولیه mRNA شرکت می نمایند این RNA های کوچک هسته ای با ۶ تا ۱۰ پروتئین همراه

شد و تولید ذرات ریبونوکلئوپروتئین کوچک هسته ای (SnRNPs) را مینماید پنج SnRNPs پیوندی برروی mRNA پیشتاز جمع شده وتشکیل اسپلیسوزوم (spliceosome) را می دهند .

RNA های کوچک (U_1الی U_6)ایجاد ویژگی می نمایند برای اسپلیسوزومهای مختلف ، بطوریکه آنها گروههای مختلف اینتزون را شناسائی نمایند . اینترون ها بر حسب ساختمان سه بعدیشان تشخیص داده می شوند و هر گروه از اینترونها توسط مکانیسم های مختلف حذف می گردند . چهارگروه از اینترونها تشخیص داده شده اند .

اولین پله ، جهت حذف اینترون در گروه II شکسته شدن جایگاه پیوندی $5'$ رونوشت اولیه mRNA می باشد و سپس انتهای $5'$ اینترون متصل به نوکلئوتید داخل اینترون می شود . در این پله یک پیوند بین $5'$ اینترون و گروه هیدروکسیل $2'$ نوکلئوتید ادنین ایجاد می شود ، میانجی تشکیل شده یک ساختمان شبیه کمند است که اینترون تشکیل یک حلقه را می دهد . در مرحله دوم جایگاه پیوندی $3'$ شکسته شده و دو اگزون بیکدیگر متصل می شوند . اینترون نیز بشکل کمند آزاد می گردد . (شکل ۲۰) . چگونگی مشارکت اسپلیسوزوم و حذف اینترون گروه III بدین صورت است که ابتدا انتهای $5'$ ریبونوکلئوپروتئین کوچک هسته ای U1 SnRNP متصل می شود به جایگاه پیوندی $5'$ و سپس U_2 متصل می شود به جایگاه نقطه شاخه ای. کمیلکس سه تائی U_4 و U_5 وU_6 سپس ملحق می شوند به کمیلکس تشکیل شده و اسپلیسوزوم تشکیل می شود . فکر شده است که اتصال این SnRNA ها به اینترون توسط جفت بازهای مکمل ، اگزونها را بهم نزدیک کرده و موجب می شود که اینترون بصورت حلقه در آید . پروتئین های اسپلیسوزوم اینترون را حذف و اگزونها را بهم متصل می نماید . mRNA تشکلیل شده اکنون می تواند جهت بیوسنتز پروتئین به سیتو پلاسم منتقل شود . (شکل ۲۱)



▲ **FIGURE ۲۰.۰۰ Splicing of exons in pre-mRNA occurs via two transesterification reactions.** In the first reaction, the ester bond between the 5′ phosphorus of the intron and the 3′ oxygen (red) of exon 1 is exchanged for an ester bond with the 2′ oxygen (dark blue) of the branch-site **A** residue. In the second reaction, the ester bond between the 5′ phosphorus of exon 2 and the 3′ oxygen (light blue) of the intron is exchanged for an ester bond with the 3′ oxygen of exon 1, releasing the intron as a lariat structure and joining the two exons. Arrows show where the activated hydroxyl oxygens react with phosphorus atoms.

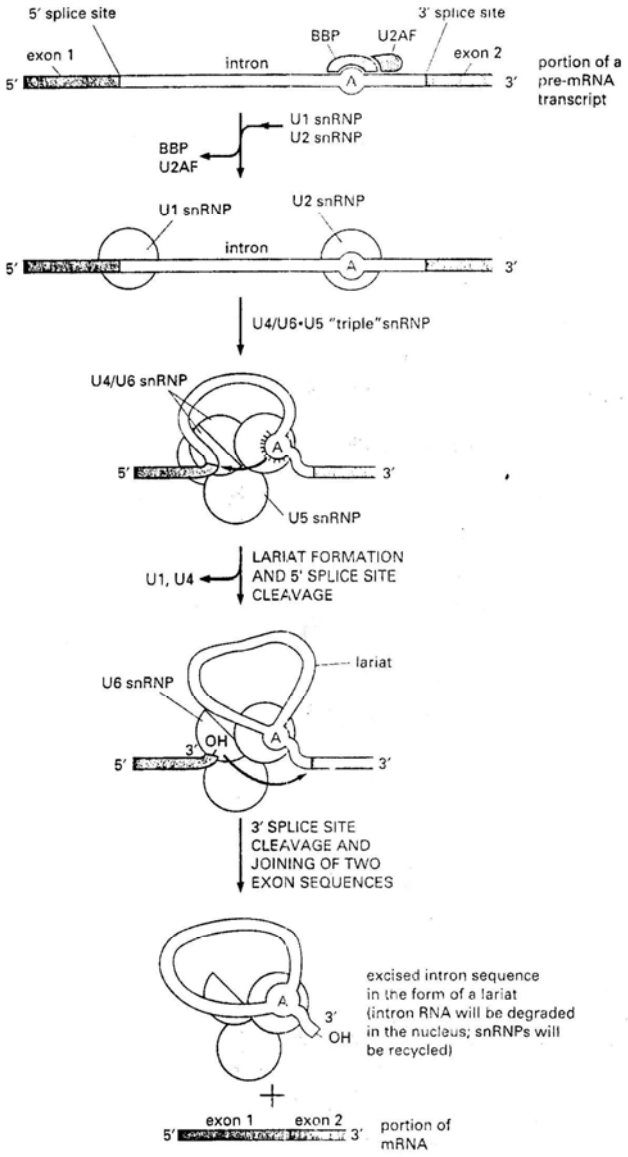


Figure 21 The RNA splicing mechanism. RNA splicing is catalyzed by an assembly of snRNPs (shown as *colored circles)* plus other proteins (most of which are not shown), which together constitute the spliceosome. The spliceosome recognizes the splicing signals on a pre-mRNA molecule, brings the two ends of the intron together, and provides the enzymatic activity for the two reaction steps (see Figure 6–26). The branch-point site is first recognized by the BBP (branch-point binding protein) and U2AF, a helper protein. In the next steps, the U2 snRNP displaces BBP and U2AF and forms base pairs with the branch-point site consensus sequence, and the U1 snRNP forms base-pairs with the 5′ splice junction (see Figure 6–30). At this point, the U4/U6•U5 "triple" snRNP enters the spliceosome. In this triple snRNP, the U4 and U6 snRNAs are held firmly together by base-pair interactions and the U5 snRNP is more loosely associated. Several RNA–RNA rearrangements then occur that break apart the U4/U6 base pairs (as shown, the U4 snRNP is ejected from the splicesome before splicing is complete) and allow the U6 snRNP to displace U1 at the 5′ splice junction (see Figure 6–30). Subsequent rearrangements create the active site of the spliceosome and position the appropriate portions of the pre-mRNA substrate for the splicing reaction to occur. Although not shown in the figure, each splicing event requires additional proteins, some of which hydrolyze ATP and promote the RNA–RNA rearrangements.

اثرات موتاسیون در جایگاه های پیوند :

موتاسیون ها در جایگاه پیوند (جایگاه های پیوند $5'$ ، $3'$ و یا جایگاه نقطه شاخه ای) می تواند منجر به پیوندغیر صحیح شده و تولید پروتئین های غیر عادی را نماید . تخمین زده شده است که پانزده درصد تمام بیماریهای ژنتیکی در نتیجه موتاسیونهائی است که در جایگاههای پیوندی ایجاد شده اند . برای مثال موتاسیوناتی که موجب پیوند ناصحیح در mRNA β گلوبولین می شود مسئول بعض از موارد β تالاسمی می باشد .

پیوند متناوب در ملکول mRNA :

ملکولهای پیشتاز mRNA (Pre-mRNA) بعضی از ژنها می توانند در بافت های مختلف بدو یا اشکال متفاوت بیشتر پیوند زده شوند . این موجب ایجاد mRNA های متفاوت و بنابراین پروتئین های متفاوت می نماید (شکل ۲۲). این ظاهرا مکانیسم تولید دسته

متنوعی از پروتئین ها است از گروه محدودی از ژنها . برای مثال انواع مختلف سلول های عضلات همه از ژن تروپومیوزین تولید یک رونوشت اولیه را می نمایند . با این حال طرح متنوعی از پیوند در انواع سلول های متفاوت تولید خانواده ای از ملکول های پروتئین تروپومیوزین ویژه بافت را می نمایند .

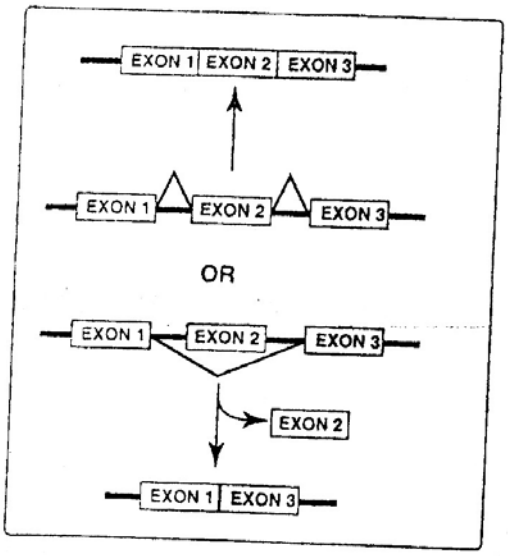


Figure ۲۳
Alternative splicing patterns in eukaryotic mRNA.

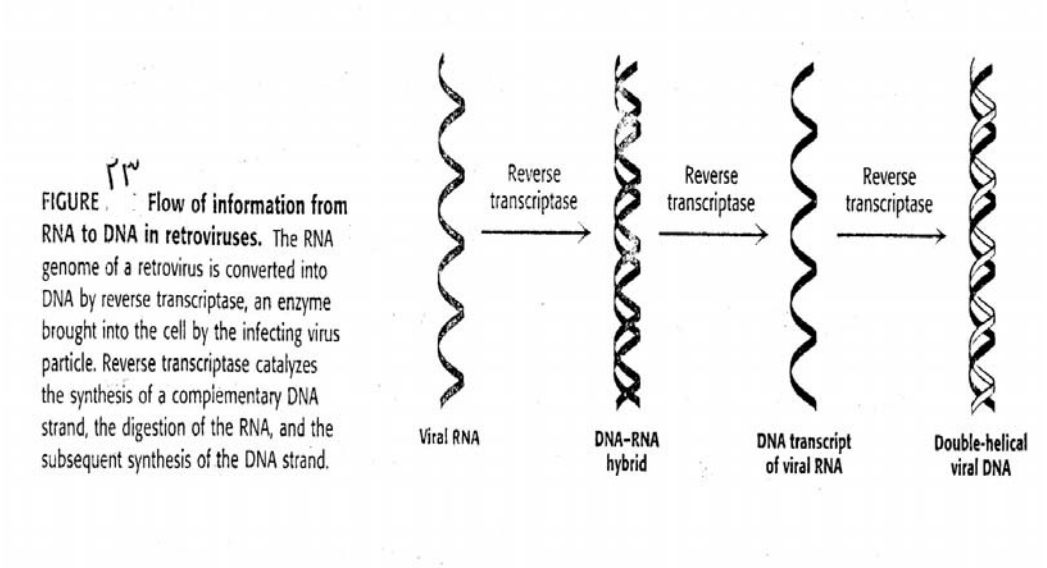
آنزیم رونوشت بردار معکوس (Reverse transcriptase) .

بعضی از ویروسها ی محتوی RNA که قادر به ایجاد عفونت در سلول های حیوانی هستند در داخل ذره ویروسی ، یک DNA پلیمراز وابسته به RNA بنام رونوشت بردار معکوس دارند . در هنگام ایجاد عفونت ژنوم RNA تک رشته ویروس همراه با این آنزیم وارد سلول میزبان می شود . رونوشت بردار معکوس ابتدا سنتز یک رشته DNA مکمل RNA ویروس را کاتالیزمی نماید و سپس با تخریب رشته RNA در هیبرید RNA-DNA ویروس آنرا با DNA جایگزین می نماید . DNA دو رشته ای حاصل اغلب در درون ژنوم سلول میزبان اوکاریوت قرار می گیرد . تحت بعضی از شرایط این ژنهای ویروسی ادغام شده (و نهفته) می توانند فعال و رونویسی شوند برای تولید ویروس های جدید . همانند بسیاری ازRNA وDNA پلیمرازها ، رونوشت بردار معکوس ویروسی دارای Zn^{2+} هستند . هر رونوشت بردار معکوس بیشترین فعالیت را برروی RNA ویروس خود دارد ولی می توان آنها را به طور تجربی برای ساختن DNA مکمل انواع مختلفی از ملکول های RNA مورد استفاده قرار داد . رونوشت بردار معکوس سه واکنش مجزا را کاتالیز می نماید (۱) سنتز DNA وابسته به RNA ، (۲) تخریب RNA و (۳) سنتز DNA وابسته به DNA (شکل ۲۳). رونوشت بردار معکوس برای سنتز DNA نیاز به یک پرایمر دارد ، که یک tRNA سلولی است و در داخل ذرات ویروس وجود داشته و در طی عفونت ابتدائی بدست می آید . tRNA در انتهای $3'$ خود با یک توالی مکمل در RNA ویروس ایجاد جفت باز می نماید. رشته جدید DNA در جهت $5'$ به $3'$ ساخته می شود . آنزیم رونوشت بردار معکوس فاقد فعالیت غلط گیری $3'$ به $5'$ اگزونوکلتازی می باشد و در نتیجه میزان خطای بالاتی را نشان می دهد که ممکن است عاملی باشد برای ظاهر شدن سوش های جدیدی از ویروس های عامل بیماری . ویروس های RNA دار حاوی آنزیم رونوشت بردار معکوس را رترو ویروس گویند . بیشتر رترو ویروس ها سلول میزبان خود را از بین نمی برند ، بلکه در داخل DNA سلول باقی مانده و همراه با آن همانند سازی می نمایند . بعضی از رترو ویروس ها تحت نام RNA ویروسهای توموری طبقه بندی می شوند . دارای اونکوژنی هستند که می تواند سبب رشد غیر طبیعی گردد. اولین رتروویروس که از این نوع مورد مطالعه قرار گرفت ، ویروس سارکوم راس (Rous sarcoma virus) یا ویروس سارکوم مرغ می

باشد که نام خود را از پیتون راس می گرفته است . این محقق تومورهایی را در مرغ مورد مطالعه قرار داد که هم اکنون می دانیم توسط این ویروس ایجاد می شود . تمام رترو ویروس ها سرطانزا نیستند . ویروس نقصی ایمنی انسان (HIV) که سبب سندرم نقص ایمنی اکتسابی (AIDS) می شود ، یک رترو ویروس است .

آنزیم RNA رپلیکاز:

بعضی از باکتریوناژهای E.coli نظیر FL1, R17, MS و $Q\beta$ دارای ژنوم RNA ائی هستند . کروموزم های RNA ای تک رشته این ویروس ها که بعنوان mRNA برای سنتز پروتئین های ویروس بکار می روند ، در سلول میزبان توسط یک RNA پلیمراز وابسته به RNA (RNA – پلیکاز) همانند سازی می شود . این آنزیم دارای چهار زیر واحد است . یکی از این زیر واحد ها که دارای جایگاه فعال همانند سازی است . سه زیر واحد دیگر این آنزیم پروتئین هائی از میزبان هستند که بطور طبیعی در سنتز پروتئین سلول شرکت می کنند این سه پروتئین سلول میزبان ، در قرار گیری RNA رپلیکاز نقش داشته و به انتهای $3'$ ملکول های RNA ویروسی متصل می گردند . RNA رپلیکاز جدا شده از سلول E-coli آلوده شده با QB تشکیل RNA مکمل RNA ویروسی را کاتالیز می نماید . واکنش در جهت $3' \rightarrow 5'$ پیش می رود . RNA رپلیکاز نیاز به RNA بعنوان الگو دارد و با DNA عمل نمی نماید . رشته مکمل ایجاد شده ، د رمرحله بعدی برای آنزیم RNA رپلیکاز بعنوان الگو مورد استفاده قرار می گیرد و مقدار زیادی رشته های RNA ، همانند RNA اولیه باکتریو فاژ تولید می شود .



۲۳
FIGURE . **Flow of information from RNA to DNA in retroviruses.** The RNA genome of a retrovirus is converted into DNA by reverse transcriptase, an enzyme brought into the cell by the infecting virus particle. Reverse transcriptase catalyzes the synthesis of a complementary DNA strand, the digestion of the RNA, and the subsequent synthesis of the DNA strand.

آنزیم پلی نوکلئوتید فسفوریلاز:

به نظر می رسد که این آنزیم تنها در پیکر باکتریها موجود باشد و با استفاده از نوکلئوتید های دی فسفات موجود در محیط و در حضور یون منیزیم واکنش زیر را کاتالیز و در نتیجه یک پلی ریبو نوکلئوتیدی را تولید می کند .

$$(NMP)_n + NDP \rightarrow (NMP)_{n+1} + Pi$$

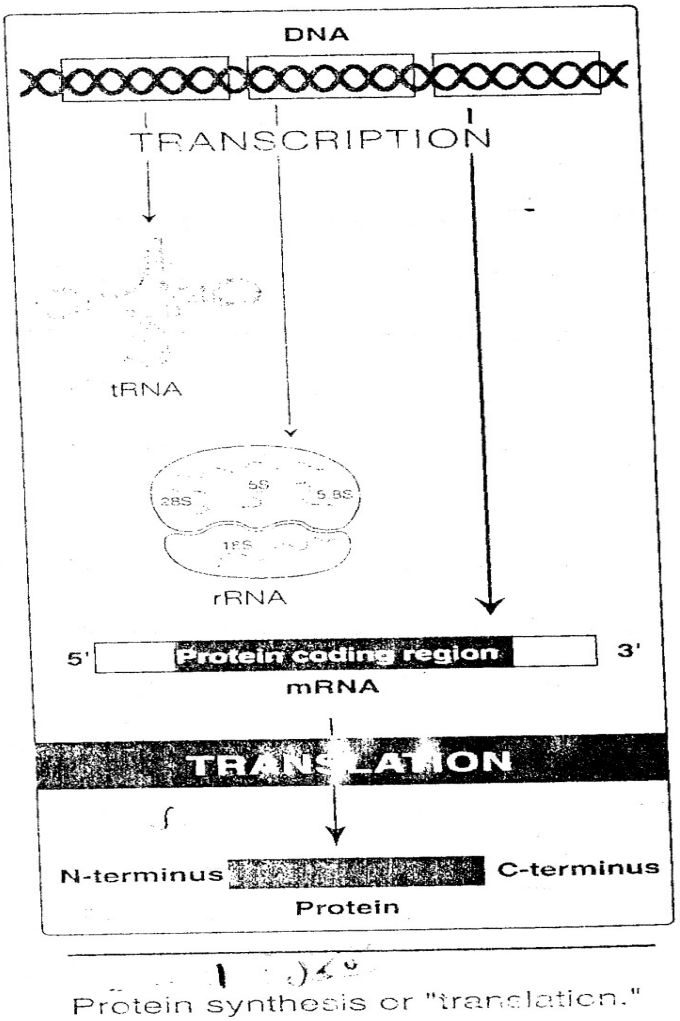
این آنزیم برای فعالیت خود احتیاج به الگو ندارد و به همین دلیل ترتیب قرار گرفتن بازهای موجود در رشته پلی نوکلئوتید ی حاصل از عمل آن نظم و ترتیب خاص ندارد وبستگی کامل به نوع و فراوانی نوکلئوتید های دی فسفات موجود در محیط دارد . برای مثال اگر آدنوزین دی فسفات (ADP) در محیط واکنش موجود داشته باشد ، حاصل پلی آدنیلیک اسید خواهد بود . از این آنزیم بیشتر در آزمایشگا های تحقیقاتی برای تعیین رمز سه گانه آمینو اسیدها استفاده می کنند . در صورتی که غلظت یون فسفات در محیط افزایش یابد واکنش فوق در جهت عکس پیشرفت می کند و در نتیجه سبب شکستن رشته های پلی ریبونوکلئوتیدی می شود . بر اساس این خصوصیت چنین بنظر می رسد که این آنزیم در باکتر یها سبب شکستن و از بین رفتن mRNA می شود .

فصل شانزدهم

بیوسنتز پروتئینها

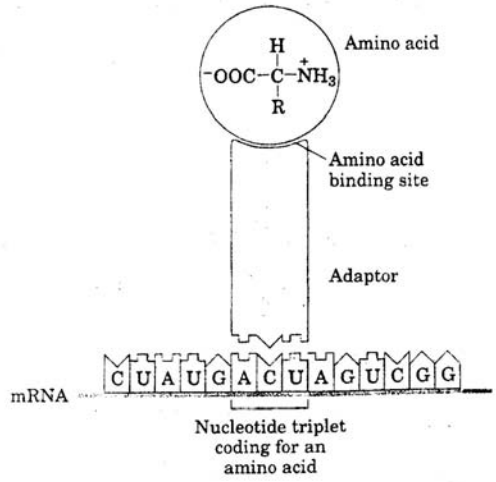
بیوسنتز پروتئین

اطلاعات ژنتیکی در کروموزم ها ذخیره شده اند و از طریق رونویسی به RNA منتقل می شوند و در مور د mRNA بعدا ترجمه (Translation) می شود به زنجیرهای پلی پپتیدی (شکل ۱) . راه سنتز پروتئین ترجمه نامید ه می شود . چون زبان توالی نوکلئوتید بر روی mRNA به زبان توالی اسیدهای آمینه ترجمه می شود . روند ترجمه نیاز به کد ژنتیکی دارد ، که از طریق اطلاعات موجود در توالی اسید نوکلئیک بیان می شود و تولید توالی ویژه اسید های آمینه را می نماید . هر تغییری در توالی اسید نوکلئیک ممکن است که منجر به قرار گرفتن اسید آمینه غلط در رشته پلی پتیدی شده و منجر به بیماری و یا مرگ موجود زنده شود .سه پیشرفت اصلی موجب کسب اطلاعات کنونی ما در مورد بیوسنتز پروتئین شد . در اوایل دهه ۱۹۵۰ اسیدهای آمینه نشاندار را به موش صحرایی تزریق نمودند و در فواصل زمانی مشخص پس از تزریق کبد آنها را جدا و بعد از هموژنیزه نمودن فراکسیو نهائی توسط سانتریفوژ بدست آمد . سپس فراکسیون های تحت سلولی جهت حضور پروتئین رادیو اکتیودار تحت مطالعه قرار گرفتند . هنگامیکه ساعتها و یا روزها از تزریق گذشته بود تمام فراکسیونهای تحت سلولی حاوی پروتئین های نشاندار بودند اما هنگامیکه فقط چند دقیقه از تزریق می گذشت ، پروتئین نشاندار فقط درذرات ریبونوکلئو پروتئین کوچک یافت شد که امروزه آنرا بنام ریبوزوم می شناسند . دومین پیشرفت کلیدی مربوط به فعال شدن اسیدهای آمینه بود . هنگامیکه اسیدهای آمینه همراه با ATP و فراکسیون سیتو سولیک سلولهای کبد اینگونه شده منجر به فعال شدن آنها شد و اسیدهای آمینه به مولکول های RNA محلول مقاوم به حرارت منتقل شدند که بعدا بنام RNA ناقل (tRNA) نامیده شدند . آنزیمی که این روند را کاتالیز می نماید ، آمینو اسید tRNA سنتتاز نامیده می شود .



Protein synthesis or "translation."

سومین پیشرفت مربوط به بررسی فرانسیس کریک بود که چگونه اطلاعات ژنتیکی کد شده توسط زبان چهار حرفی اسیدهای نوکلئیک به زبان بیست حرفی پروتئین ترجمه می شود . کریک استدلال نمود که یک اسید نوکلئیک کوچک (احتمالا RNA) می تواند نقش یک تطبیق دهنده را بازی نموده که از یک سمت به اسید آمینه اختصاصی متصل بوده و از سمت دیگر بتواند توالی نوکلئوتیدی کد کننده آن اسید آمینه را در mRNA شناسائی کند (شکل ۲) .

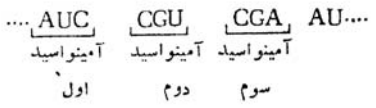


شکل ۲
Crick's adaptor hypothesis. Today we know that the amino acid is covalently bound at the 3′ end of a tRNA molecule and that a specific nucleotide triplet elsewhere in the tRNA interacts with a particular triplet codon in mRNA through hydrogen bonding of complementary bases.

کد ژنتیکی :

رمزهای ژنتیکی در ملکول mRNA به صورت توالی سه نوکلئوتید کدن نامیده می شود . موجودند . هر کدن تعیین کننده یک آمینو اسید بخصوص در رشته پلی پتیدی است . کدن ها به وسیله tRNA باز خوانی می شوند و به عبارت دیگر tRNA در زیست سنتز پروتئین ها نقش یک رابط را دارد بطوریکه میدانیم در ملکول mRNA تنها چهار نوکلئوتید ، گوانین ، آدنین ، سیتوزین و اورسیل موجود است . در صورتی که هر یک از این نوکلئوتید ها به تنهایی بعنوان رمز ژنتیکی برای آمینو اسید بخصوص در نظر گرفته شوند ، mRNA فقط قدرت دیکته کدون چهار نوع آمینو اسید را دارا خواهد بود در حالی که می دانیم پروتئین ها از ۲۰ نوع آمینو اسید متفاوت ساخته شده اند . چنانچه در mRNA دو نوکلئوتید متوالی تعیین کننده رمز یک آمینو اسید باشند در این صورت mRNA می تواند رمز $۴^۲=۱۶$ آمینو اسید را داشته باشد که دراین صورت نیز جوابگوی ۲۰ آمینو اسید موجود در ساختار پروتئین ها نخواهد بود . سرانجام چنانچه هر سه نوکلئوتید متوالی در mRNA بعنوان رمز یک آمینو اسید در نظر گرفته شود دراین صورت mRNA قدرت دیکته کدون $۴^۳=۶۴$ آمینو اسید متفاوت را دارا خواهد بود که به مراتب بیش از مقدار ۲۰ آمینو اسید موجود در پروتئین ها است .

بر این اساس رمز ژنتیکی که در DNA الگو به صورت توالی نوکلئوتید ها موجود است با عمل رونویس به mRNA منتقل می شود که به نوبه خود به صورت رمزهای سه گانه از ابتدا تا انتها بدون وقفه بازخوانی می شود (شکل ۳)



شکل ۳ رمزهای سه‌گانه وچگونگی بازخوانی آن در mRNA.

First Position (5' end)	Second Position: U	C	A	G	Third position (3' end)
U	UUU, UUC Phe; UUA, UUG Leu	UCU, UCC, UCA, UCG Ser	UAU, UAC Tyr; UAA, UAG Stop	UGU, UGC Cys; UGA Stop; UGG Trp	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG Leu	CCU, CCC, CCA, CCG Pro	CAU, CAC His; CAA, CAG Gln	CGU, CGC, CGA, CGG Arg	U C A G
A	AUU, AUC, AUA Ile; AUG Met	ACU, ACC, ACA, ACG Thr	AAU, AAC Asn; AAA, AAG Lys	AGU, AGC Ser; AGA, AGG Arg	U C A G
G	GUU, GUC, GUA, GUG Val	GCU, GCC, GCA, GCG Ala	GAU, GAC Asp; GAA, GAG Glu	GGU, GGC, GGA, GGG Gly	U C A G

= Chain-terminating codon
= Initiation codon

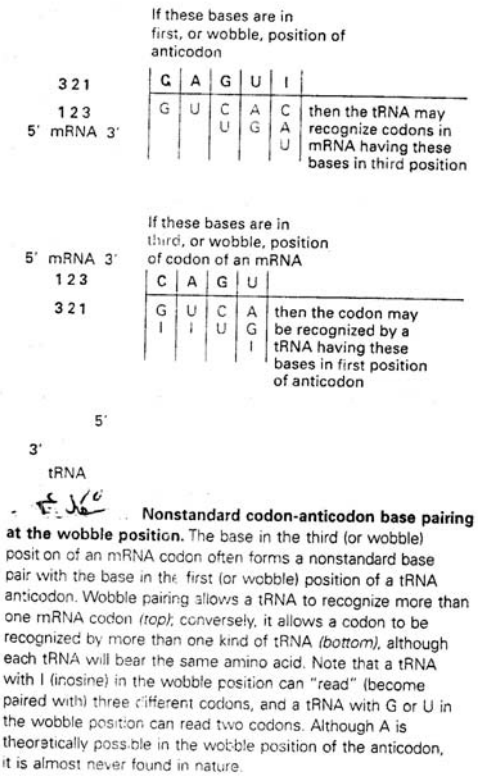
جدول ۱. The genetic code. The location of the nucleotide in first, second, and third position defines the amino acid encrypted by the code.

رمزهای سه گانه و چگونگی باز خوانی آن در mRNA

رمز تمام آمینو اسیدها در جدول ۱ نشان داده شده است و چنانچه مشاهده می شود برای هر آمینواسید ممکن است بیش از یک رمز سه گانه موجود داشته باشد برای مثال می توان رمزهای CAU و CAC را نام برد که هر دو مشخص کننده آمینو اسید هیستیدین هستند ، و بنابراین گفته می شود که کدهای ژنتیکی استحاله (degenerate) شده اند ، یعنی هر اسید آمینه می تواند بیش از یک کدون داشته باشد . روند استحاله شدن کدون های ژنتیکی همگون نیست ،برای مثال اسیدهای آمینه گلایسین وآلاتین دارای ۴کدون ،اسیدامینه لوسین وسرین دارای۶ کدون و اسیدهای آمینه متیونین وتریپتونان دارای یک کدن هستند .ازطرفی ابهامی درکدنهای ژنتیکی وجود ندارد و هر کدون معین فقط یک اسید آمینه را مشخص می کند . هنگامی که چندین کدون مختلف برای یک اسید آمینه بکار برده میشوند اختلاف آنها با هم معمولا در باز سوم (درانتهای 3′) قرار دارد . برای مثال آلانین دارای چهارکدون سه حرفی , GCG GCA , GCC , GCU می باشد که اختلاف کدون ها در باز شماره 3′ قرار دارد . دو حرف اول کدون ، شاخص های اصلی تعیین کننده ویژگی هستند .

به طوری که در جدول ۱ نیز نشان داده شده است هر یک از ۶۴ رمز سه گانه الزاما نمایانگر یک آمینو اسید نیستند به طوری که بعضی از این رمزهای سه گانه به عنوان رمز ختم و بعضی به عنوان رمز شروع عمل پروتئین سازی بکار برده می شوند . برای مثال رمزهای UGA , UAG , UAA به عنوان رمز خاتمه و رمز AUG اگر در ابتدای مولکول mRNA باشد به عنوان رمز شروع عمل پروتئین سازی میباشد و اگر درمحل دیگری غیر از ابتدای مولکول mRNA باشد نمایانگر اسید آمینه متیونین است . بجزء بعضی از استثنائات رمزهای ژنتیکی جهان شمول هستند . لغزش سبب می شود تا بعضی ملکول های tRNA بیش از یک کدون را شناسائی

نمایند : اگر جفت باز کامل واتسون – کریک بین کدون و آنتنی کدون مورد نیاز بود ، سلول باید حاوی ۶۱ tRNA مختلف می بود ، هر کدام برای هر کدون که یک اسید آمینه را تعیین می نمایند ، با این حال سلول حاوی تعداد کمتری از tRNA می باشد . توضیح این مسئله داشتن ظرفیت یک آنتن کدون tRNA منفرد است که می تواند بیش از یک کدون را شناسائی نماید این شناسائی صورت می گیرد بعلت جفت باز شدن غیر استاندارد بین بازهائی که در موقعیت لغزش (Wobble) قرار دارند که باز سوم (3′) کدون mRNA است و اولین باز(5′) مطابق آن در آنتی کدون tRNA . اولین و دومین باز کدون تقریبا همیشه تشکلیل جفت باز واتسون – کریک را می دهند با بازهای سومین و دوم انتها کدون tRNA . اولین باز در آنتی کدون (در جهت 5′ به 3′ بخوانید با باز سوم کدون جفت می شود) تعیین کننده تعداد کدون هایی است که توسط tRNA شناسائی می گردد. وقتی اولین باز آنتی کدون C یا A است ، ایجاد جفت باز اختصاصی بوده و تنها یک کدون توسط tRNA شناسائی می گردد . وقتی این باز U یا G می باشد ایجاد جفت باز کمتر اختصاص بوده و ممکن است دو کدون مختلف خوانده شود . اما وقتی اینوزین اولین نوکلئوتید (لغزان) یک آنتن کدون است ، سه کدون مختلف قابل شناسایی خواهد بود (شکل ۴) حداقل ۳۲ tRNA جهت ترجمه تمام ۶۱ کدون مورد نیاز است .



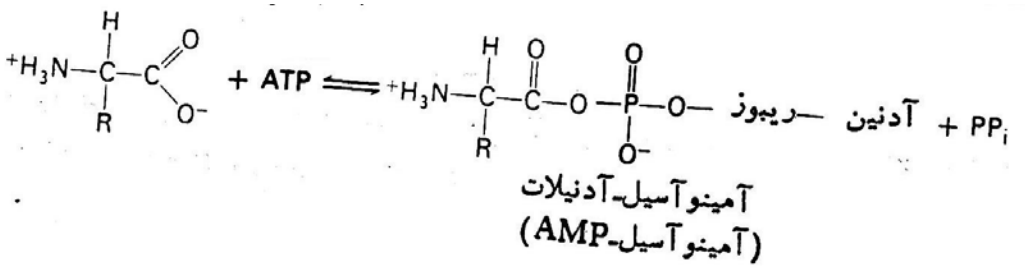
Nonstandard codon-anticodon base pairing at the wobble position. The base in the third (or wobble) position of an mRNA codon often forms a nonstandard base pair with the base in the first (or wobble) position of a tRNA anticodon. Wobble pairing allows a tRNA to recognize more than one mRNA codon *(top)*; conversely, it allows a codon to be recognized by more than one kind of tRNA *(bottom)*, although each tRNA will bear the same amino acid. Note that a tRNA with I (inosine) in the wobble position can "read" (become paired with) three different codons, and a tRNA with G or U in the wobble position can read two codons. Although A is theoretically possible in the wobble position of the anticodon, it is almost never found in nature.

مراحل بیوسنتز پروتئین :

مراحل بیوسنتز پروتئین شامل فعال شدن اسید آمینه ، آغاز ، طویل شدن ، ختم و آزاد شدن می باشد .

مرحله ۱ : فعال شدن اسیدهای آمینه .

سنتز پروتئین ها با فعال شدن آمینو اسیدهای مختلف آغاز می شود . هر یک از آمینو اسیدها به کمک آنزیم سنتتاز مخصوص به خود فعال می شود . این آنزیم ها که به طور کلی آمینو اسید – tRNA سنتتاز نامیده می شود قادرند که آمینو اسید متعلق به خود را شناسائی و آنرا به وسیله یک پیوند استری به tRNA مربوطه متصل کنند . اتصال آمینو اسید به tRNA مربوطه در سیتوسول سلول و در دو مرحله جداگانه در سطح کاتالیزوری آنزیم انجام می پذیرد . بدین ترتیب در اولین مرحله ، آمینو اسیدها با ATP ترکیب می شود و جسم واسطی به نام آمینو اسیل – آدنیلات تولید می کند .



در مرحله دوم گروه آمینو آسیل از مجموعه فوق جدا و به tRNA مربوط منتقل و در نتیجه آمینو آسیل – tRNA تشکیل می شود (شکل ۵) . واکنش کلی برای تشکیل آمینو آسیلtRNA را می توان به صورت زیر خلاصه کرد :

$$\text{آمینو اسید} + \text{ATP} + \text{tRNA} \longrightarrow \text{tRNA} - \text{آمینو آسیل} + \text{AMP} + \text{PPi}$$

در مجموعه آمینو آسیل – tRNA پیوند استری بین آمینو اسید و ملکول آدنوزین ازنظر انرژی با اتصال سومین گروه فسفات درملکول ATP یکسان است ($\Delta G^{\circ\prime} = -۷$ Kcal / mol) و تنها عاملی که موجب رانده شدن واکنش در جهت مجموعه آمینو اسیل – tRNA می شود هیدرولیز PPi به دو مولکول فسفر معدنی است .

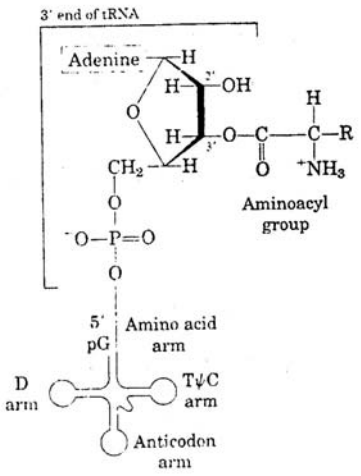
آنزیم آمینو آسیل – tRNA سنتاز همانند آنزیم DNA پلی مراز قادر است د رصورت بروز هر گونه اشتباهی (اتصال هر آمینو اسید غیر از آمینو اسید مربوط) محصول را دوباره مورد بررسی قرار دهد و عمل را تصحیح کنند . چنین به نظر می رسد که آنزیم آمینو آسیل – tRNA سنتاز دارای چهار مرکز متفاوت برای تشخیص ، کاتالیز و تصحیح اشتباهات است . از این چهار مرکز یکی برای بسته شدن آمینو اسید ، دیگری برای اتصال tRNA و سومین برای اتصال ATP و سرانجام چهارمین مرکز برای ورود آب جهت هیدرولیز آمینو آسیل آدنیلات اشتباهی اختصاص یافته است .

مرحله ۲ : یک اسید آمینه اختصاص سنتز پروتئین را شروع می نماید .

همانطور که در سال ۱۹۶۱ توسط هاوارد دینتزیس نشان داده شد ، سنتز پروتین از انتهای آمینو آغاز شده و با اضافه شدن مرحله به مرحله اسیدهای آمینه تا انتهای کربوکسیل پلی پپتدی ادامه می یابد . کدون AUG آغازی باقی مانده میتونین آمین انتهایی را تعیین می نماید . اگر چه میتونین فقط دارای یک کدون است (AUG) ، تمام موجودات دارای دو tRNA برای میتونین هستند . یکی منحصرا تنها زمانی بکار می رود که AUG ($5'$) کدون شروع سنتز پروتئین باشد و دومی برای کد نمودن متیونین در موقعیت داخلی زنجیر پلی پتیدی بکار می رود . در باکتریها دو نوع ملکول مجزای tRNA اختصاص برا ی متیونین بصورت $tRNA^{fmet}$ و $tRNA^{fmet}$ نمایش داده می شوند . بیوسنتز پروتئین در پروکاریوتها و نیز متیوکندری ها و کلرو پلاست ها که از اجداد باکتری منشاء گرفته اند با فرمیل میتونین آغاز می شود در حالیکه بیوسنتز پروتئین در اوکاریوتها با میتونین آغاز می گردد . لازم بذکر است که اوکاریوتها نیز دارای دو tRNA متفاوت هستند که یکی برای AUG آغاز ی مورد استفاده قرار می گیرد ویکی برای AUG که میتونین را در موقعیت داخلی زنجیر پلی پتیدی قرار میدهد .

در باکتریها میتونین در ابتدا متصل به tRNA آغازی() $tRNA^{fmet}$ می شود، $tRNA^{fmet}$ –Met تشکیل می شود و سپس میتونین فرمیله می شود . واکنش در دو پله صورت می گیرد : ابتدا میتونین توسط آنزیم Met-tRNA سنتتاز به $tRNA^{fmet}$ متصل میگردد (در E.coli هر دو ملکول $tRNA^{fmet}$ و $tRNA^{fmet}$ توسط آنزیم آمینو اسیله می شوند) .

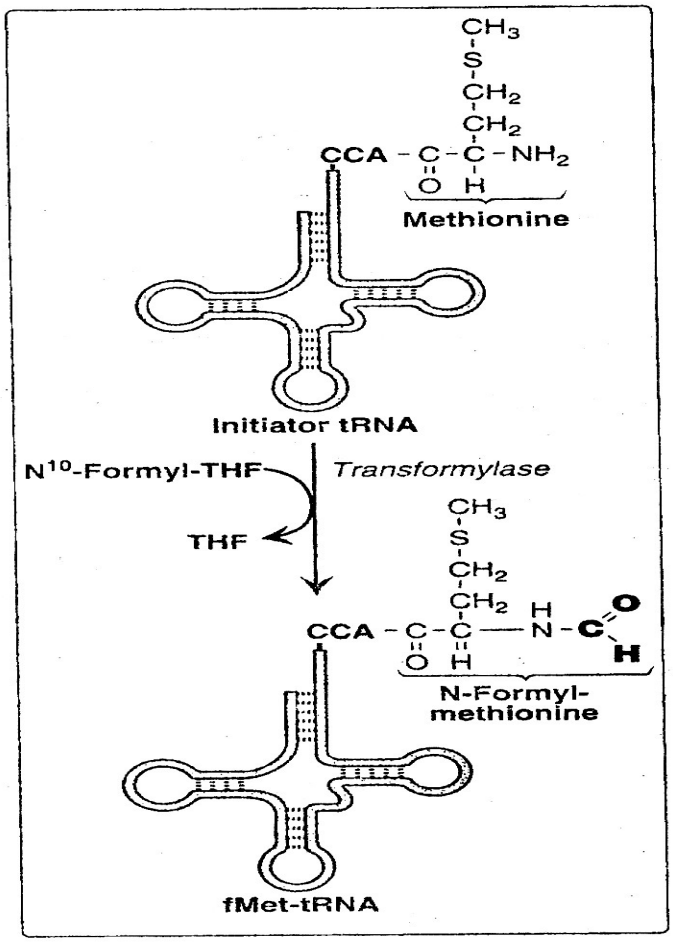
$$\text{Methionine} + tRNA^{fMet} + \text{ATP} \rightarrow \text{Met} - tRNA^{fMet} + \text{AMP} + \text{PPi}$$



General structure of aminoacyl-tRNAs. The aminoacyl group is esterified to the 3′ position of the terminal adenylate residue. The ester linkage that both activates the amino acid and joins it to the tRNA is shaded red.

در مرحله دوم یک گروه فرمیل توسط یک ترانس فرمیلاز از N^{10} – فرمیل تترا هیدرو فولات به گروه آمینـو ریـشه ئMet منتقـل میشود . (شکل ۶)

$$N^{10} - \text{Formyltetrahydrofolate} + \text{Met} - \text{tRNA}^{\text{fMet}} \longrightarrow \text{tetrahydrofolate} + \text{fMet - tRNA}^{\text{fMet}}$$



شکل ۶
Generation of the initiator N-formyl-methionyl-tRNA (fMet-tRNA).

این ترانس فرمیلاز انتخابی تراز met-tRNA سنتتاز بوده و برای ریشه های Met اتصال یافته به $tRNA^{fmet}$ اختصاص است که ممکن است به واسطه شناسائی بعضی از خصوصیات بی همتا آن باشد .

مراحل شروع بیوسنتز پروتئین در پروکاریوتها :

سنتز پلی پپتدها در باکتریها نیاز به (۱) زیر واحد 30S ریبوزومی . (۲) mRNA (۳) $Fmet- tRNA^{fmet}$ شروع کننده ، (۴) سه پروتئین که فاکتورهای شروع نامیده می شوند (IF-3 , IF-2 , IF1) ، (۵) GTP ، (۶) زیر واحد ریبوزومی 50s (۷) Mg^{2+} دارد

تشکیل کمیلکس شروع در سه مرحله انجام می گیرد .

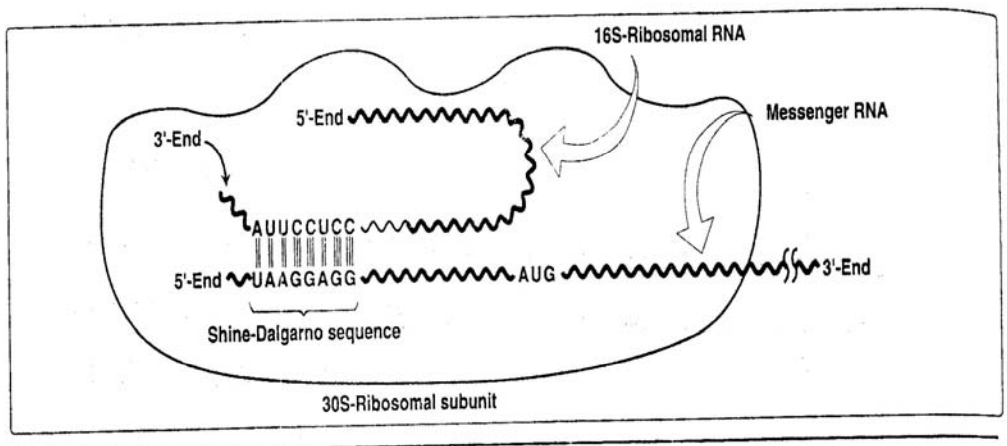
در مرحله اول IF-1 , IF-3 متصل به زیر واحد ریبوزومی 30S می شوند . IF-3 مانع از بهم پیوستن زود رس زیر واحدهای 50s 30s , بیکدیگر می شود . mRNA سپس متصل به زیر واحد 30s می شود . کدون AUG آغازی توسط توالی شاین – دالگارنو (Shine – Dalgarno Sequence) برروی mRNA به عمل صحیح خود هدایت می شود . این توالی مشترک یک پیام آغازی از ۴ تا ۹ باز پورین است که ۸ تا ۱۳ جفت باز در سمت $5'$ کدون شروع قرار دارد (شکل ۷) این توالی بایک توالی غنی از پیریمیدین

موجود در نزدیکی انتهای 3′ ملکول 16SrRNA زیر واحد 30s ریبوزومی ، ایجاد جفت باز می نماید . AUG ویژه که $Fmet-tRNA^{fmet}$ به آن متصل می شود توسط نزدیک بودنش به ردیف شاین – دالگا رنوبرروی mRNA از سایر کدون های متیونین تمیز داده می شود .

ریبوزوم های باکتریها دارای سه جایگاه اتصال برای آمینواسیل –tRNA هستند ، جایگاه A یا آمینواسیل ، جایگاه P یا پتیدیل و جایگاه E یا خروج . هر دو زیر واحدهای 30s , 50s مشارکت دارنددر جایگاههای A , P ، در حالیکه جایگاه E بیشتر محدود به زیر واحد 50S می شود.

در مرحله (۲) IF-2 متصل شده به GTP به همراه $Fmet-tRNA\ tRNA^{fmet}$ به کمپلکس تشکیل شده قبلی (mRNA , IF-1 , IF-3 , 30S) متصل می شود . آنتی کدون این tRNA بطور صحیحی با کدون آغازی mRNA جفت می گردد. AUG در موقعیت جایگاه P قرار دارد ، تنها محلی که $Fmet-tRNA^{fmet}$ می تواند اتصال یابد . فاکتور آغازی IF-1 به جایگاه A اتصال دارد و از اتصال tRNA در طی مرحله آغاز جلوگیری می نماید . سایر ملکول های ورودی آمینواسیل- tRNA ابتدا به جایگاه A وسپس به جایگاه های E,Pمتصل میشوند.جایگاه Eمحل اتصال ملکولهایtRNA بدون اسید آمینه می باشد که طی طویل سازی ریبوزوم را ترک می کنند .

در مرحله (۳) . این کمپلکس بزرگ با زیر واحد ریبوزومی 50s ترکیب می شود ، همزمان GTP اتصال یافته به IF-2 هیدرولیز می شود به GDP و Pi که از کمپلکس آزاد می شوند . هر سه فاکتور آغازی در این مرحله کمپلکس را ترک می نماید (شکل ۸). با تکمیل این مرحله ، یک ریبوزوم 70S وظیفه دار بنام کمپلکس شروع ، ایجاد میشود .



شکل ۷

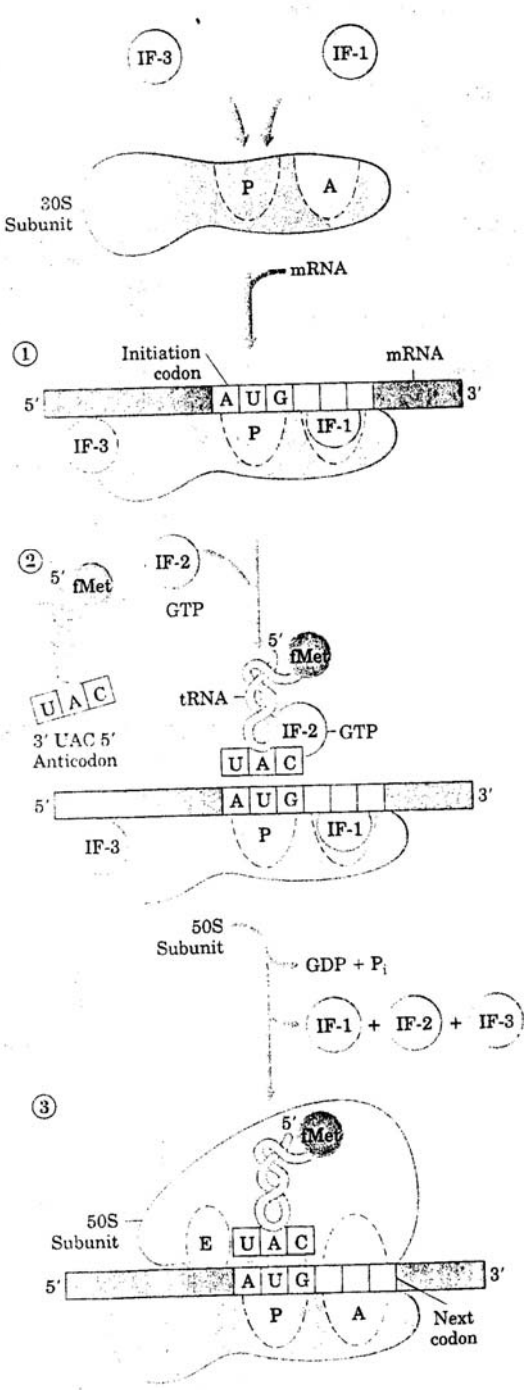
Complementary binding between prokaryotic mRNA Shine-Dalgarno sequence and 16S rRNA.

شروع در سلولهای اوکاریوت:

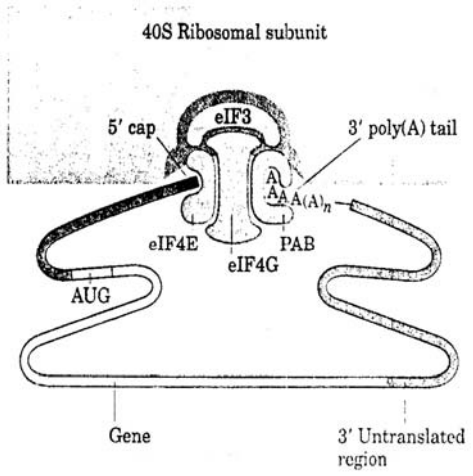
در سلول های اوکاریوت حداقل دارای ۹ فاکتور آغازی هستند . ملکول های mRNA اوکاریوتی به صورت کمپلکسی متشکل از چندین پروتئین اتصالی اختصاصی به ریبوزوم متصل می شود . فکر می شود که چندین پروتئین در دو انتهای 5′ و 3′موجب گره خوردن آنها بهم می شود . در انتهای 3′، mRNA متصل به پروتئین می شود که به نام پروتئین اتصالی پلی A خوانده می شود . کمپلکسی که بنام eIF4F خوانده می شود شامل پروتئین های eIF4E , eIF4A,eIF4G می باشد ، از طریق eIF4E به کلاهک 5′ می شود (شکل ۹) .

شکل ۸

Formation of the initiation complex. The complex forms in three steps (described in the text) at the expense of the hydrolysis of GTP to GDP and P_i. IF-1, IF-2, and IF-3 are initiation factors. P designates the peptidyl site. A the aminoacyl site, and E the exit site. Here the anticodon of the tRNA is oriented 3′ to 5′, left to right, as in Figure 27–8 but opposite to the orientation in Figures 27–18 and 27–20.



mRNA اوکاریوت ها حاوی ردیف شاین دالگارنو نیست و در عوض نزدیکترین AUG به انتهای ′5 mRNA معمولا بعنوان جایگاه شروع انتخاب می شود . ریبوزوم 40s متصل به کلاهک انتهای ′5 mRNA اوکاریوتها می شود و سپس بر روی mRNA به جهت ′3 جهت جستجوی کدون AUG حرکت می نماید جهت این حرکت ATP مصرف می شود (شکل ۱۰) . انتخاب AUG آغازی تسهیل میشود توسط نوکلئوتید های ویژه اطراف آن که توالی کوزاک نامیده می شود برای Marilyn kozak فردی که آنرا تعریف نمود ′3 ACC AUGG ′5.



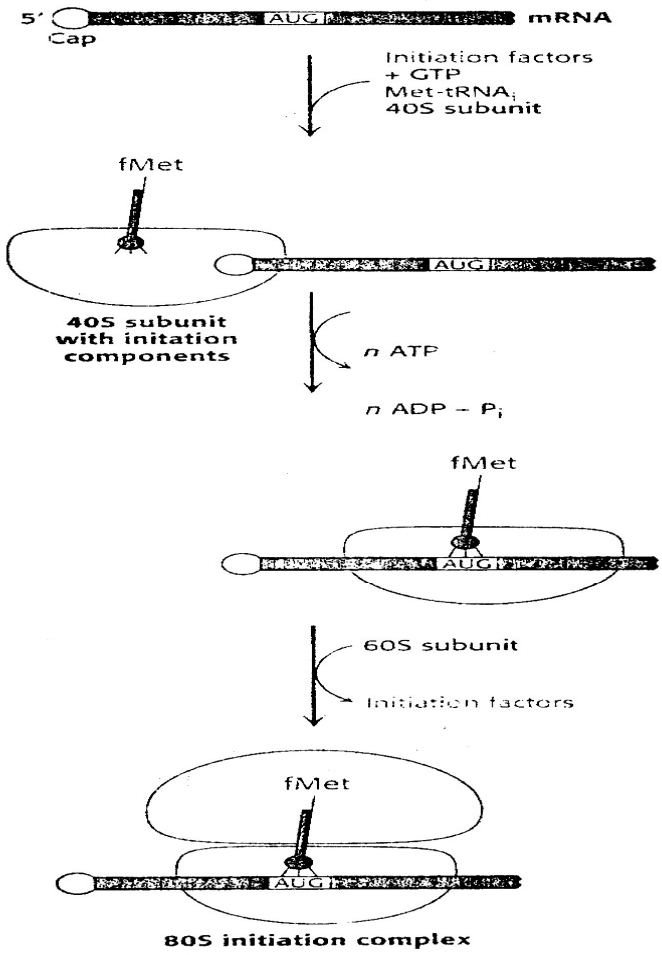
Protein complexes in the formation of a eukaryotic initiation complex. The 3′ and 5′ ends of eukaryotic mRNAs are linked by a complex of proteins that includes several initiation factors and the poly(A) binding protein (PAB). The factors eIF4E and eIF4G are part of a larger complex called eIF4F. This complex binds to the 40S ribosomal subunit.

مرحله ۳: طویل شدن :

مراحل طویل شدن خود شامل سه مرحله ۱- اتصال آمینو اسیل – tRNA به جایگاه A ۲- تشکیل پیوند پپتیدی ۳- جابجائی (Translocation) می باشد . در طی طویل سازی پروتئین های محلول بنام فاکتورهای طویل سازیEF-G,EF-EF-TU TS در باکتریها) و GTP مشارکت دارند .

۱- اتصال آمینو اسیل tRNA به جایگاه A :

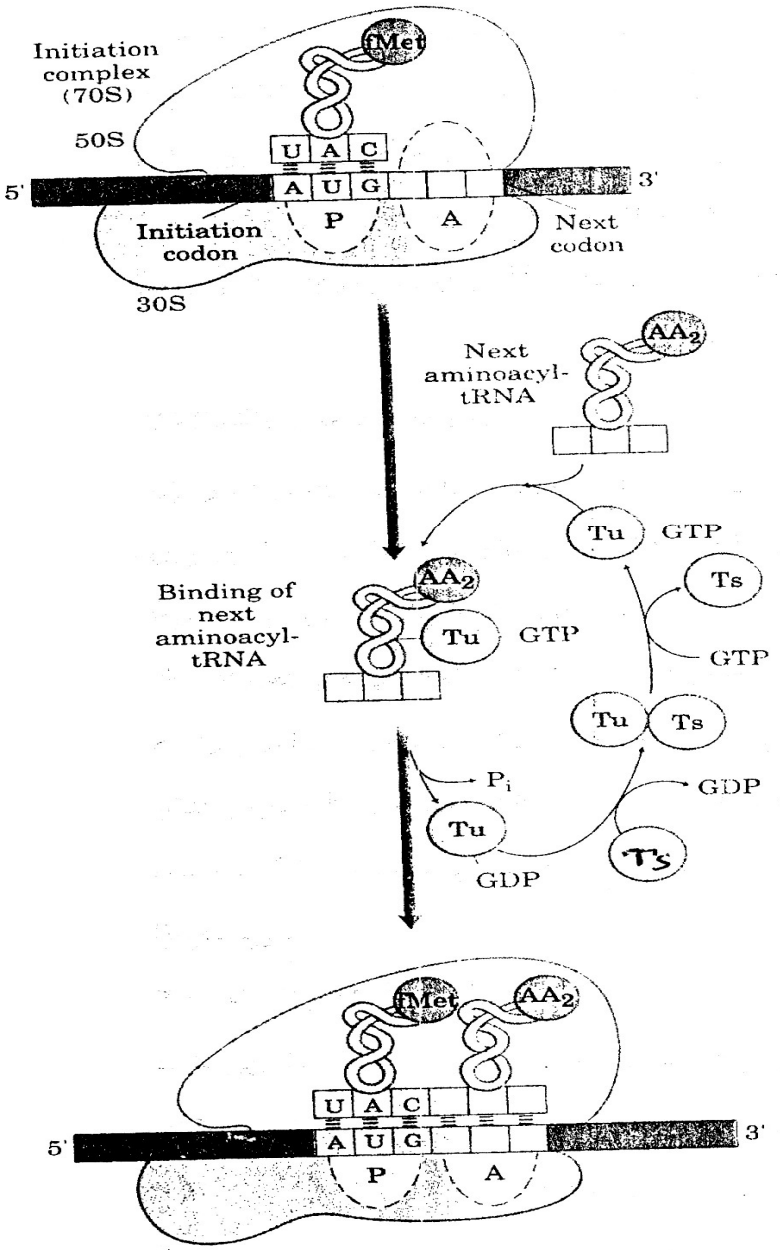
در اولین پله طویل سازی آمینو اسیل tRNA ورودی مناسب ابتدا به کمپلکس EF-TU که خود به GTP اتصال داردمتصل شده و کمپلکس حاصل آمینواسیل – GTP- tRNA . EF-TU به جایگاه A در کمپلکس شروع 70s متصل می شود . اتصال دومین آمینواسیل tRNA به جایگاه A همراه است با هیدرولیزGTP به GDP و Pi و آزاد شدن کمپلکس -EF. TU.GDP تعداد EF-TU بسیار فراوان است و اتصال آمینواسیل tRNA های متفاوت با آن متصل می شود که آمینو اسید tRNA ها را به جایگاه A منتقل نماید ، و اگر پیوند صحیح بین آنتی کدون tRNA و کدون mRNA برقرار شود GTP اتصال یافته EF-TU هیدرولیز می شود و در غیر اینصورت بر حسب روند آزمون و خطا آمینو اسیل tRNA دیگر متصل به جایگاه A می شود . کمپلکس TU-GTP دوباره از TU-GDP تشکیل میشود از طریق جانشین شدن Ts بجای GDP و تشکیل شدن کمپلکس TU-TS و سپس جانشین شدن GTP بجای TS که ایجاد کمپلکس TU-GTP را می‌نماید (شکل ۱۱)



شکل ۱۰ Eukaryotic translation initiation. In eukaryotes, translation initiation starts with the assembly of a complex on the 5′ cap that includes the 40S subunit and Met-tRNA$_i$. Driven by ATP hydrolysis, this complex scans the mRNA until the first AUG is reached. The 60S subunit is then added to form the 80S initiation complex.

۳) تشکیل پیوند پپتدی :

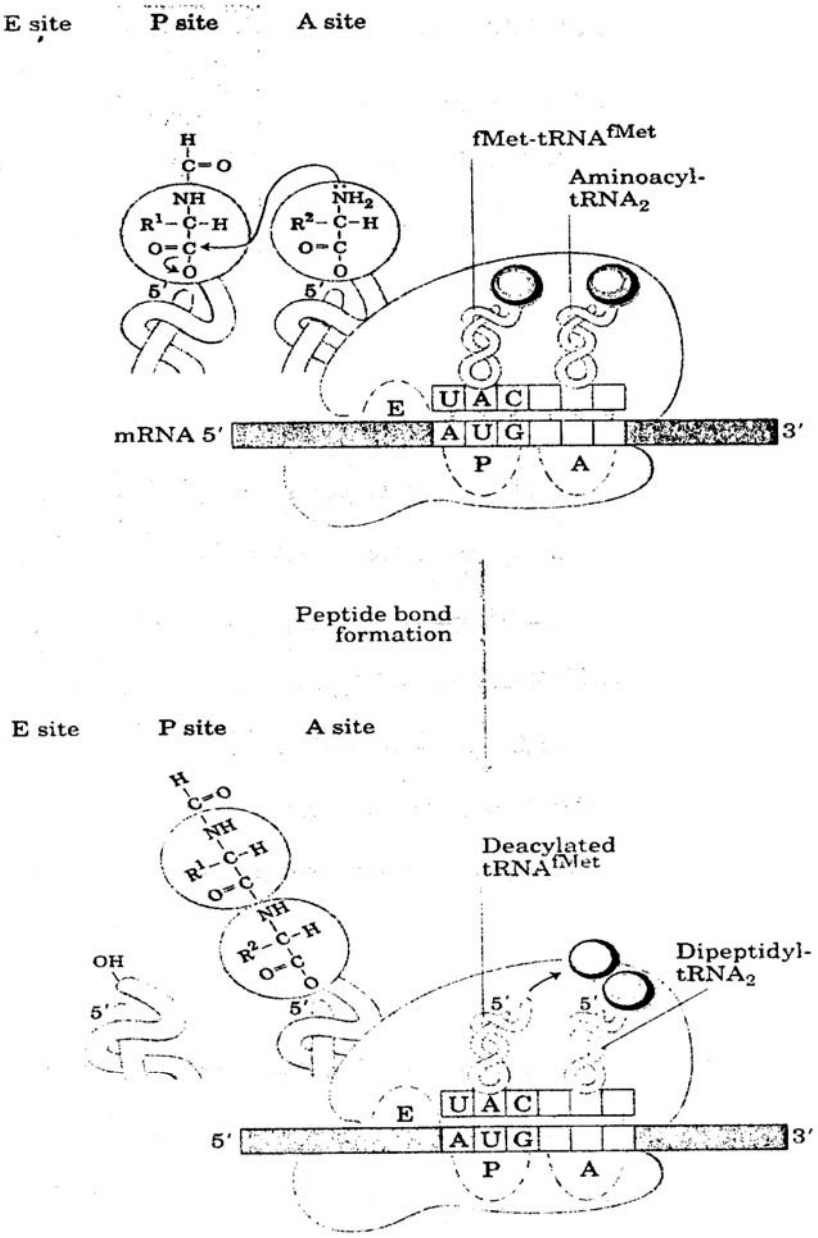
حال پیوند پپتدی بین دو اسید آمینه برقرار می شود که هنوز اتصال دارند به tRNA های خود در جایگاه های A , P ریبـوزوم . این روند توسط انتقال گروه فرمیل متیونین آغازی از tRNA خود به گروه آمینو دومین اسید آمینه که بر روی جایگـاه A دارد ، صورت میگیرد . بدین ترتیب در موضع A دی اپپتید tRNA تشکیل می شود . در موضع P یک tRNA خالی (فاقد آمینواسید) باقی می ماند. سپس همانطور که در شکل ۱۲ نشان داده شده است tRNA ها تغییر محل می دهند به حالت اتـصالی هیپریـد بطوریکه عناصر هر کدام از آنها بر روی دو جایگاه ریبوزومی قرار دارد . واکنش توسط آنزیم پپتیـدیل ترانـسفراز در قـسمت 50S ریبوزومی صورت می گیرد . این واکنش احتمالا توسط RNA ریبوزومی 23S صورت می گیرد که دراین صـورت بـه فهرسـت کاتالتیکی ریبوزیم های (ribozymes) شناخته شده افزوده می شود.



شکل ۱۱. First step in elongation: the binding of the second aminoacyl-tRNA. The second aminoacyl-tRNA enters bound to EF-Tu (shown as Tu), which also contains bound GTP. Binding of the second aminoacyl-tRNA to the A site in the ribosome is accompanied by hydrolysis of the GTP to GDP and P_i, and an EF-Tu·GDP complex leaves the ribosome. The bound GDP is released when the EF-Tu·GDP complex binds to EF-Ts, and EF-Ts is subsequently released when another molecule of GTP becomes bound to EF-Tu. This recycles EF-Tu and permits it to bind another aminoacyl-tRNA.

۳- جابجائی (Translocation) :

در آخرین پله طویل شدن جابجائی صورت می گیرد و ریبوزم باندازه یک کدون بجانب انتهای $3'$ ملکول mRNA حرکت می نماید . با این حرکت ، آنتی کدون دی پپتیدیل tRNA که هنوز به کدون دوم mRNA متصل است از جایگاه A به P جابجا شده و tRNA دی آسیله شده را از جایگاه P به جایگاه E جابجا می نماید . سپس این tRNA از جایگاه E به داخل سیتو سول آغاز می گردد . حال سومین کدون mRNA در جایگاه A و دومین کدون آن در جایگاه P قرار دارد . حرکت ریبوزوم بر روی mRNA نیاز به EF-G (ترانس لوکاز نیز گفته می شود) دارد و انرژی توسط هیدرولیز مولکول دیگری از GTP فراهم می شود . حال ریبوزوم همراه با دی پپتیدیل tRNA و mRNA آماده چرخه دوم طویل سازی و اتصال اسید آمینه سوم می باشد (۱۳).

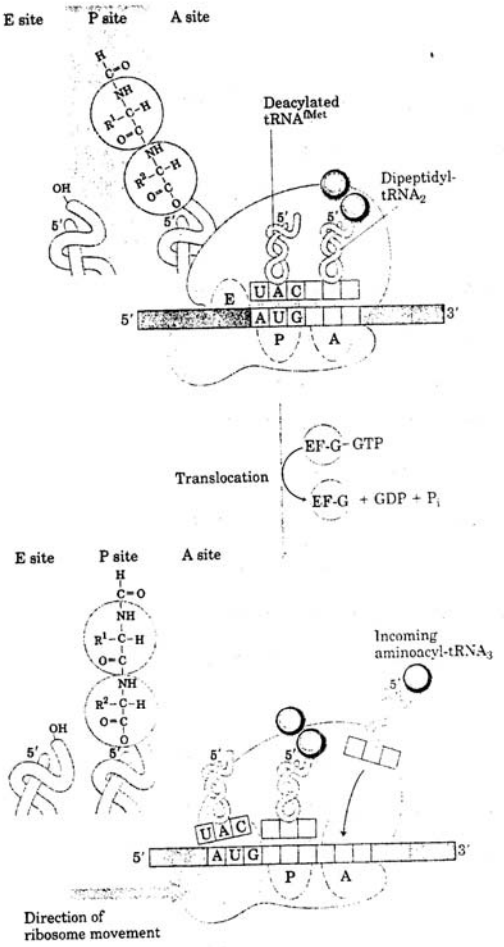


Second step in elongation (bacteria): formation of the first peptide bond. The peptidyl transferase catalyzing this reaction is probably the 23S rRNA ribozyme. The *N*-formylmethionyl group is transferred to the amino group of the second aminoacyl-tRNA in the A site, forming a dipeptidyl-tRNA. At this stage, both tRNAs bound to the ribosome shift position in the 50S subunit to take up a hybrid binding state. The uncharged tRNA shifts so that its 3′ and 5′ ends are in the E site. Similarly, the 3′ and 5′ ends of the peptidyl tRNA shift to the P site. The anticodons remain in the A and P sites.

در اوکاریوتها فاکتورهای طویل کننده eEF-1α ، eEF$\beta\gamma$ و eEF-2 به ترتیب جانشین فاکتورهای طویل کننده EF-TS , EF-TU و EF-G در پروکاریوتها می شوند (جدول۲)

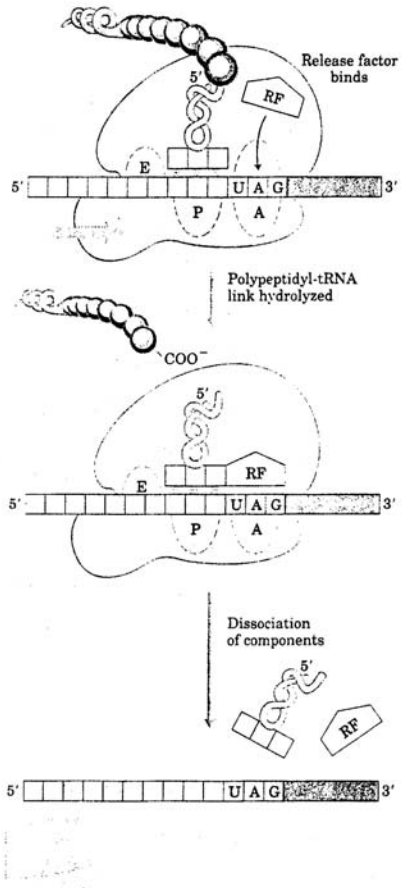
مرحله ٤ : ختم بیوسنتز پروتئین

با اضافه شدن آخرین آمینو اسید و تکمیل شدن زنجیر پلی پتیدی ، دستور ختم بیوسنتز بوسیله یکی از رمزهای سه گانه UGA , UAG , UAA موجود در ملکول mRNA به ریبوزوم ابلاغ می شود . این رمزهای سه گانه به وسیله ضدکدن هیچیک از آمینو اسیل – tRNA ها قابل شناسائی نیست و به همین دلیل به نام رمزهای سه گانه بی معنی نامیده می شوند و به منزله رمز ختم عمل می کنند. این رمزها ی سه گانه به جای شناسایی بوسیله آمینواسیل tRNA ها بوسیله پروتئین های خاص که عوامل آزاد کننده نامیده می شوند شناسائی می شوند سلولهای بروکاریوتها حاوی دو فاکتور آزاد کننده هستند که قادر به شناسایی کدون های ختم می باشند . RF-1 قادر به شناسایی UAA , UAG بوده و RF-2 قادر به شناسایی UAA , UGA می باشد . سلول های اوکاریوتها یک فاکتور آزاد کننده منفرد (eRF-1) قادر به شناسایی هر سه کدون ختم می باشد . در هر دو سلول های پروکاریوتها و اوکاریوتها دارای فاکتور آزاد کنند (RF-3 , eRF-3) می باشد که قادر به شناسایی کدون های ختم نیستند اما همراه با فاکتورهای آزاد کننده RF-1 (eRF-1) و Rf-2 عمل می نمایند . فاکتور های آزاد کننده متصل به کدون های ختم در جایگاه Aشده وموجب تحریک هیدرولیز پیوند بینtRNA وزنجیر پلی پپتیدی از جایگاه P میشوند که منجر به آزاد شدن پلی پپتید کامل شده از ریبوزوم میشود tRNAها آزاد شده و زیر واحدهای ریبوزومی و mRNA الگو نیز تجزیه می شوند (شکل ۱۴) .



شکل ۱۳

Third step in elongation (bacteria): translocation. The ribosome moves one codon toward the 3′ end of mRNA, using energy provided by hydrolysis of GTP bound to EF-G (translocase). The dipeptidyl-tRNA is now entirely in the P site, leaving the A site open for the incoming (third) aminoacyl-tRNA. The uncharged tRNA dissociates from the E site, and the elongation cycle begins again.



شکل ۱۴

Termination of protein synthesis in bacteria. Termination occurs in response to a termination codon in the A site. First, a release factor (RF_1 or RF_2 depending on which termination codon is present) binds to the A site. This leads to hydrolysis of the ester linkage between the nascent polypeptide and the tRNA in the P site and release of the completed polypeptide. Finally, the mRNA, deacylated tRNA, and release factor leave the ribosome, and the ribosome dissociates into its 30S and 50S subunits.

جدول ۲ Translation Factors

	Translation factors	
Role	Prokaryotes	Eukaryotes
Initiation	IF-1, IF-2, IF-3	eIF-1, eIF-1A, eIF-2, eIF-2B, eIF-3, eIF-4A, eIF-4B, eIF-4E, eIF-4G, eIF-5
Elongation	EF-Tu, EF-Ts, EF-G	eEF-1α, eEF-1βγ, eEF-2
Termination	RF-1, RF-2, RF-3	eRF-1, eRF-3

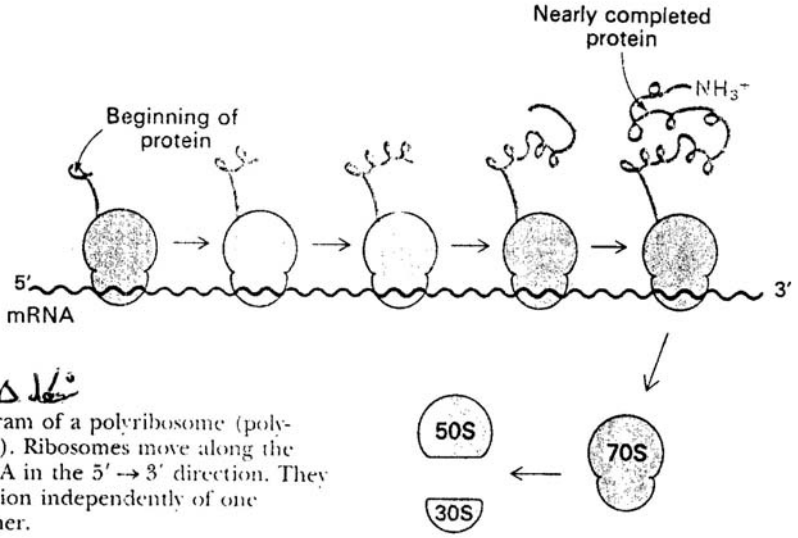
انرژی مصرفی در بیوسنتز پروتئین.

در جریان تشکیل آمینو اسیل – tRNA دوپیوند پر انرژی مصرف می شود ، یکی جهت برداشت پیروفسفات از ATP و یکی جهت هیدرولیز بعدی PPi به فسفات معدنی توسط پیروفسفا تاز . دو ملکول GTP نیز مصرف می شود یکی جهت قرار گرفتن آمینو آسیل – tRNA به جایگاه A و یکی جهت جابجایی (Translocation) . در نتیجه مجموعا چهار پیوند برای انرژی

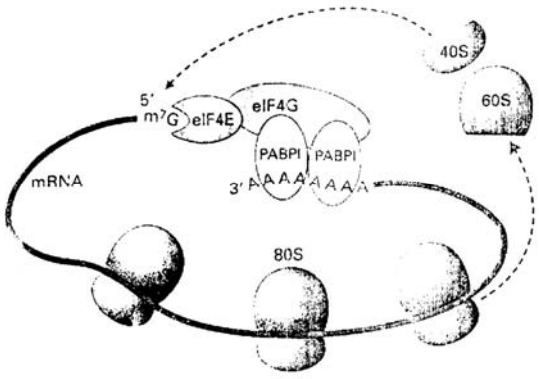
جهت تشکیل هر پیوند پپتیدی و اضافه شدن یک اسید آمینه به زنجیر در حال رشد پلی پپتید مورد نیاز است . لازم به ذکر است که ملکول های ATP , GTP اضافی نیز جهت تشکیل کمپلکس آغازی و ختم بیوسنتز پروتئین مورد نیاز هستند .

پلی ریبوزوم (Polyribosomes)

در هر دو سلولهای پروکاریوتها و اوکاریوتها mRNA می تواند بطور همزمان توسط چندین ریبوزوم ترجمه شود . گروههای ریبوزومی اتصال یافته به ملکول mRNA را پلی ریبوزوم یا پلی زوم (polysome) می گویند هنگامی که یک ریبوزوم از جایگاه آغاز دور می شود ریبوزوم دیگر می تواند به ملکول mRNA متصل شده و سنتز زنجیر پلی پپتیدی جدید را آغاز نماید . هر ریبوزوم در بین گروههای وظیفه دار بطور مستقل سنتز زنجیر پلی پپتیدی جداگانه ای را سنتز می نمایند (شکل ۱۵) . نظر به اینکه طول عمر mRNA بسیار کوتاه است و به سرعت تحت تاثیر نوکلئازها به اجزای تشکیل دهنده تبدیل می شود ، چنین می تواند نتیجه گیری کرد که پلی زومها با تسریع عمل پروتئین سازی کمک مهمی در رفع این مشکل می کنند . در سلولهای اوکاریوتها دو انتهای 5′ و 3′ ملکول mRNA توسط پروتئینهای مداخله گر به هم نزدیک شده mRNA حلقوی تشکیل می شود . چون دو انتهای پلی زوم نسبتا به یکدیگر نزدیک هستند ، ریبوزومهای خلاص شده از انتهای 3′ ملکول mRNA در موقعیت نزدیک 5′ ملکول mRNA قرار گرفته و می تواند موجب تسهیل آغاز دوباره روند ترجمه شوند (شکل ۱۶) .



شکل ۱۵
Diagram of a polyribosome (polysome). Ribosomes move along the mRNA in the 5′ → 3′ direction. They function independently of one another.



شکل ۱۶ **Model of protein synthesis on circular polysomes and recycling of ribosomal subunits.** Multiple individual ribosomes can simultaneously translate a eukaryotic mRNA, shown here in circular form stabilized by interactions between proteins bound at the 3′ and 5′ ends. When a ribosome completes translation and dissociates from the 3′ end, the separated subunits can rapidly find the nearby 5′ cap (m^7G) and initiate another round of synthesis.