چکیده:

کاتالاز از جمله آنزیم های آنتی اکسیدانی است که در موجودات هوازی وعمدتا در ارگانل پراکسی زوم پستانداران موجود است ویکی از آنزیم های بسیار مهم در حفاظت سلول از آسیب های اکسیداتیو است.کاتالاز آنزیمی بسیار فعال است و می تواند در هر ثانیه میلیون ها مولکول پراکسید هیدروژن را بهH_2OوO_2تبدیل کند. این آنزیم یک هوموتترامر است و هر کدام از این منومرها به طور محکمی در وسط به گروه هم و در سطح خود به NADPHاتصال دارند. کاتالاز کبدی گاو EC(1.11.1.6) دارای وزن ملکولی به اندازه ۳۰۰-۲۳۰ کیلو دالتون است،که دارای ۸۴ رزیدوی تیروزین و ۲۴ رزیدوی تریپتوفان است و در ساختار دوم خود دارای تعداد ۲۱ آلفا هلیکس،۱۸ رشته ی بتا و۷ ترن است. در این مطالعه اثر اسپرمین، پوترسین و ستیل تری متیل آمونیم برماید، دودسیل تری متیل آمونیم برماید ونانوذرات اکسید روی، اکسید سیلیسیوم، کادمیوم تلوراید، اکسید آهن ونمک روی بر سینتیک آنزیم کاتالاز،توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و۷,۴= pH (بافر فسفات سدیم)، مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل نشاندهنده ی نقش مهارکنندگی نانو ذرات است, به صورتی که نانو ذرات اکسید روی واکسید سیلیسیوم و کادمیوم تلوراید به صورت نارقابتی واکسید آهن به صورت غیررقابتی باعث کاهش فعالیت کاتالیتیکی کاتالاز شدند. همچنین نتایج حاصل از مطالعات سینتیکی بیانگر عملکرد فعال کنندگی ستیل تری متیل آمونیم برماید، دودسیل تری متیل آمونیم برماید و اسپرمین برفعالیت آنزیم کاتالاز است. درحالی که پلی آمین پوترسین به صورت رقابتی و نمک روی با مهار نارقابتی بر فعالیت آنزیم کاتالاز اثر می گذارد وآن را کاهش می دهد.

کلمات کلیدی: کاتالاز, پراکسید هیدروژن, سینتیک ,نانو ذرات, پلی آمین, دترجنت کاتیونی ,اسپکترو فتومتری

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول ۱

۱-۱-پروتئین ها: ۱

۱-۲-انحلال پروتئین ها: ۲

۱-۲-۱-pH: ۲

۱-۲-۲-قدرت یونی : ۲

۱-۲-۳-خاصیت دی الکتریکی : ۳

۱-۲-۴-حرارت : ۳

۱-۳-ساختار پروتئین ها: ۳

۱-۳-۱-ساختار اول: ۳

۱-۳-۲-ساختار دوم: ۵

۱-۳-۳-ساختار سوم: ۶

۱-۳-۴-ساختار چهارم: ۷

۱-۳-۵-عوامل متعددی ساختار های نوع سوم و چهارم را پایدار می کنند: ۸

۱-۴-دگرگونی پروتئین: ۸

۱-۴-۱-درجه حرارت بالا: ۸

۱-۴-۲-اسید وبازها: ۹

۱-۴-۳-حلال های آلی ۹

۱-۵-کار با پروتئین ها ۹

۱-۶-آنزیم ها: ۹

۱-۷- ساختار فضایی آنزیم ها: ۱۰

۱-۸- گروه های پروستتیک، کوفاکتور ها و کوآنزیم ها نقش مهمی در کاتالیز بازی می کنند: ۱۱

۱-۹- نحوه عملکرد آنزیم: ۱۲

۱-۱۰- کاتالیز در جایگاه فعال انجام می گیرد: ۱۲

۱-۱۱- نظریه هایی که درمورد نحوی عمل آنزیم بیان شده است: ۱۳

۱-۱۲- مکانیسم عملکرد آنزیم: ۱۳

۱-۱۲-۱- کاتالیز بر اثر همجواری: ۱۳
۱-۱۲-۲- کاتالیز اسیدی-بازی:..... ۱۳
۱-۱۲-۳- کاتالیز تحت کشش: ۱۴
۱-۱۲-۴- کاتالیز کووالانسی:..... ۱۴
۱-۱۳- طبقه بندی آنزیم ها: ۱۴
۱-۱۳-۱- اکسیدوردوکتازها: ۱۴
۱-۱۳-۲- ترانسفرازها ۱۵
۱-۱۳-۳- هیدرولازها: ۱۵
۱-۱۳-۴- لیازها: ۱۵
۱-۱۳-۵- ایزومرازها: ۱۵
۱-۱۳-۶- لیگازها ۱۵
۱-۱۴- آنزیم های آلوستریک وایزوزیم ها:..... ۱۵
۱-۱۵- ترمو دینامیک آنزیم ها: ۱۶
۱-۱۶-سوبسترا ها موجب تغییر آرایش فضایی در آنزیم می شوند : ۱۷
۱-۱۷-حالت گذار: ۱۷
۱-۱۸-سینتیک واکنش های آنزیمی: ۱۸
۱-۱۸-۱- سینتیک واکنش های تک سوبسترایی: ۱۸
۱-۱۸-۲-تفاوتهای سینتیک و ترمودینامیک:..... ۱۹
۱-۱۹- سینتیک میکائیلیس–منتن:..... ۲۰
۱-۱۹-۱-تغییرات بریگس هالدن در معادله میکائیلیس منتن: ۲۰
۱-۱۹-۲-پارامتر های معادله میکائیلیس منتن: ۲۲
۱-۱۹-۳-انواع مختلف رسم داده های سینتیکی:..... ۲۳
۱-۱۹-۳-۱-معادله لینویور برک: ۲۴
۱-۱۹-۳-۲- معادله ادی هوفستی:..... ۲۴
۱-۱۹-۳-۳- معادله هانز:..... ۲۴
۱-۲۰- تنظیم: ۲۵
۱-۲۱- مهار آنزیمی:..... ۲۵

۱-۲۱-۱-مهار رقابتی:.....۲۵
۱-۲۱-۲- مهار غیر رقابتی:.....۲۶
۱-۲۱-۳- مهار نا رقابتی: ۲۷
۱-۲۲- مهارکننده های غیر قابل برگشت: ۲۸
۱-۲۳- کاربرد آنزیم ها:.....۲۸
۱-۲۴- نانو ذرات ۲۸
۱-۲۴-۱-کاربردها وگوناگونی مواد نانوذره‌ای:.....۲۹
۱-۲۴-۲- روش‌های ساخت نانو ذرات:.....۲۹
۱-۲۵- اسپکتروفتومتری: ۲۹
۱-۲۵-۲- قانون بیر-لامبرت:.....۳۰
۱-۲۵-۳- مسیرنور:.....۳۰
۱-۲۵-۴- آشکارساز: ۳۱
۱-۲۵-۵- مفسر: ۳۱
۱-۲۵-۶- استفاده از اسپکتروفوتومتر: ۳۱
۱-۲۶- آنزیم کاتالاز.....۳۲
۱-۲۶-۱- خصوصیات کاتالازکبد گاو:.....۳۲
۱-۲۶-۲- ساختار مونومر کاتالاز کبد گاو:.....۳۳
۱-۲۶-۳- مکانیسم عمل آنزیم کاتالاز: ۳۴
۱-۲۶-۴- نقش آنزیم کاتالاز به عنوان یک آنتی اکسیدانت:.....۳۴
۱-۲۷- اهداف و پیشینه تحقیقات: ۳۶
فصل دوم.....۳۷
موادو روش ها: ۳۷
۲-۱- مواد: ۳۷
۲-۲-تهیه ی محلول های مورد نیاز: ۳۸
۲-۲-۱- تهیه ی تامپون فسفات سدیم(NaH_2PO_4): ۳۸
۲-۲-۲-تهیه ی محلول هیدروژن پراکساید(H_2O_2) : ۴۱
۲-۲-۳-تهیه ی محلول هایZnO و CdTe :.....۳۸

۲-۲-۴-تهیه ی محلول های SiO_2و Fe_2O_3 : ۳۸
۲-۲-۵-تهیه ی محلول اسپرمین: ۳۸
۲-۲-۶- تهیه ی محلول پوترسین: ۳۹
۲-۲-۷-تهیه ی محلول های DTABو CTAB : ۳۹
۲-۲-۸-تهیه ی محلول یون Zn : ۳۹
۲-۳- مطاالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور مواد مختلف: ۳۹
۲-۳-۱-مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور پلی آمین های اسپرمین و پوترسین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۳۹
۲-۳-۲- مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور دترجنت های کاتیونی ستیل تری متیل آمونیم برماید(CTAB) و دودسیل تری متیل آمونیم برماید (DTAB) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۳۹
۲-۳-۵-مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره اکسید روی(ZnO) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۰
۲-۳-۶-مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره کادمیوم تلوراید(CdTe) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۰
۲-۳-۷-مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره اکسید سیلیسیوم(SiO_2) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۰
۲-۳-۸-مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره اکسید آهن(Fe_2O_3) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۱
۲-۳-۹-مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نمک روی(Zn^+) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۱
فصل سوم ۴۶
نتایج: ۴۲
۳-۱- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور محلول های مختلف: ۴۲
۳-۱-۱- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور پلی آمین اسپرمین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۲
۳-۱-۲- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور پلی آمین پوترسین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۳
۳-۱-۳- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور دترجنت کاتیونی CTAB در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۴

۳-۱-۴- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور دترجنت کاتیونی DTAB در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۵

۳-۱-۵-بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره اکسید روی(ZnO) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۶

۳-۱-۶-بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره کادمیوم تلوراید($CdTe$) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۷

۳-۱-۷- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره اکسید سیلیسیوم(SiO_2) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۸

۳-۱-۸- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذره اکسید آهن(Fe_2O_3) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۴۹

۳-۱-۹- بررسی نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نمک روی(Zn^+) در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۵۰

۳-۱-۱۰-بررسی مقایسه ای نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور نانو ذرات اکسید آهن، اکسید روی، کادمیوم تلوراید واکسید سیلیسیوم در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۵۱

۳-۱۱- بررسی مقایسه ای نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور پلی آمین های اسپرمین و پوترسین در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و$pH=۷,۴$: ۵۲

فصل چهارم..... ۵۶

بحث ونتیجه گیری: ۵۶

منابع ۶۸

فهرست نمودار، جداول و اشکال

عنوان صفحه

شکل۱-۱-پیوند پپتیدی.....۴

شکل ۲-۱-تشکیل پیوند پپتیدی.....۴

نمودار ۱-۱- تاثیر آنزیم بر پیشرفت واکنش.....۱۰

نمودار ۲-۱: منحنی انرژی برای واکنش های کاتالیز شده در برابر واکنش های کاتالیز نشده.....۱۸

نمودار ۳-۱-نمودار سرعت اولیه در مقابل غلظت اولیه سوبسترا در غلظت ثابت آنزیم در واکنش کاتالیز شده تک سوبسترایی.....۱۹

نمودار۴-۱-منحنی تئوری مرحله محدود کننده سرعت برای واکنش های$E+S\leftrightarrow ES \leftrightarrow EP\rightarrow E+P$ و$EP\rightarrow E+P$.....۲۱

نمودار ۵-۱-منحنی V0در مقابل [S0] در غلظت ثابت آنزیم و واکنش تک سوبسترایی که تابع معادله میکائیلیس-منتن است...۲۱

نمودار۶-۱- تغییر سرعت با غلظت سوبسترا .نقطه ای که نصف بیشینه سرعت را دارد برابر با Km می باشد.....۲۳

نمودار۷-۱-نمودار لینویور برک.....۲۴

شکل ۳-۱-کمپلکس آنزیم سوبسترا و آنزیم مهار کننده در مهار رقابتی.....۲۵

نمودار۸-۱-مهار رقابتی.....۲۶

شکل۴-۱-کمپلکس های آنزیم -سوبسترا، آنزیم -مهار کننده و آنزیم -سوبسترا -مهار کننده در مهار غیر رقابتی.....۲۶

نمودار۹-۱-مهار غیر رقابتی.....۲۷

شکل ۵-۱-کمپلکس آنزیم -سوبسترا و آنزیم -مهار کننده در مهار نارقابتی..... ۲۷

نمودار۱۰-۱مهارنارقابتی.....۲۷

جدول: مواد مورد نیاز.....۳۷

نمودار ۱-۳-اثر غلظت های مختلف اسپرمین بر سینتیک آنزیم کاتالازدر pH=۷,۴و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد.....۴۳

جدول ۱-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف اسپرمین در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۳

نمودار۲-۳-اثر غلظت های مختلف پوترسین بر سینتیک آنزیم کاتالازدر pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۴

جدول ۲-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف پوترسین در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۴

نمودار۳-۳-اثر غلظت های مختلف CTAB بر سینتیک آنزیم کاتالازدر pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۵

جدول ۳-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف CTAB در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۵

نمودار۴-۳-اثر غلظت های مختلف DTAB بر سینتیک آنزیم کاتالازدر pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۶

جدول ۴-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف DTAB در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۶

نمودار۵-۳-اثر غلظت های مختلف نانو ذره اکسید روی بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۷

جدول ۵-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف اکسید روی در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۷

نمودار۶-۳-اثر غلظت های مختلف نانو ذره کادمیوم تلوراید بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۸

جدول ۶-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف کادمیوم تلوراید در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۸

نمودار۷-۳-اثر غلظت های مختلف نانو ذره اکسید سیلیسیوم بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۹

جدول ۷-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف اکسید سیلیسیوم در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۴۹

نمودار۸-۳-اثر غلظت های مختلف نانو ذره اکسید آهن بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۵۰

جدول ۸-۳:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف نانو ذره اکسید آهن در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۵۰

نمودار۹-۳-اثر غلظت های مختلف نمک روی(+Zn) بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۵۱

جدول ۳-۱:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت های مختلف نمک روی(+Zn) در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد..... ۵۱

نمودار ۳-۱۰- اثر مقایسه ای غلظت۰,۰۰۵میلی مولار نانوذرات اکسید آهن اکسید روی کادمیوم تلوراید و اکسید سیلیسیوم بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد.....۵۲

جدول ۳-۱۰:تغییرات Vmax آنزیم کاتالاز در غلظت ۰,۰۰۵ میلی مولار نانوذرات مختلف در pH=۷,۴ ودمای ۳۷ درجه سانتی گراد.....۵۲

نمودار ۱۰-۳-اثر مقایسه ای غلظت۱ میلی مولار پلی آمین های اسپرمین وپوترسین بر سینتیک آنزیم کاتالاز در pH=۷,۴ و دمای ۳۷ درجه سانتی گراد.....۵۳

جدول۱۰-۳-بررسی مقایسه ای نتایج مطالعه سینتیک آنزیم کاتالاز در حضور پلی آمین های اسپرمین وپوترسین در دمای 37 درجه سانتی گراد وpH=۷,۴:.....۵۳

فصل اول

مقدمه:

۱-۱-پروتئین ها:

پروتئین‌ها مواد آلی بزرگ و یکی از انواع درشت ملکول‌های زیستی هستند که از زیرواحدهایی به نام اسید آمینه ساخته شده‌اند. پروتئین از لغت یونانی پروتئوس[1] گرفته شده که به معنای اولیه است یعنی پروتئین ها عامل اولیه واساس حیات محسوب می شوند به طوری که بیش از نصف وزن خشک سلول ها را تشکیل می دهند. در ساختار همه اندامکها و اجزای فعال سلولها یافت می‌شوند و در ساخت و کار آنها نقش بنیادی دارند. بخش مهمی از ساختار غشای سلول و اندامکها، اسکلت سلولی، اتصالهای سلولی از پروتئینهای ساختاری (ساختمانی) متنوعی تشکیل شده است. پروتئینهای آنزیمی ابزار کار سلولند و در انجام واکنشهای بیوشیمیایی سلولها به عنوان کاتالیزور ضرورت دارند. برخی پروتئینها عمل دفاعی دارند(پادتنها) و برخی در اعمال مهم زیستی دیگری نقش دارند.پروتئین ها از لحاظ ترکیب ساختمانی به دو دسته ساده وترکیبی تقسیم می شوند : پروتئین های ساده پروتئینهایی هستند که از هیدرولیز آنها فقط اسیدهای آمینه بدست می‌آید و خود به دو دسته یعنی پروتئینهای کروی و رشته ای تقسیم می‌شوند. پروتئین های کروی آنهایی هستند که مولکول آنها دارای شکل کروی یا بیضی بوده و در آب و محلولهای نمکی رقیق محلول‌اند و مهمترین آنها عبارتند از :آلبومین، گلوبولینها، هیستونها، پروتامینها. پروتئینهایی هستند که از مولکولهای

1-proteose

خیلی طویل رشته مانند ساخته شده‌اند و می‌توان آنها را به دو دسته تقسیم کرد. دسته اول که در محلولهای نمکی غلیظ محلول‌اند و دسته دوم که کاملا غیر محلول بوده و به آنها اسکلرو پروتئین گویند. در مورد پروتئینهای محلول دو مثال عمده، فیبرینوژن (از اجتماع این در خون، فیبرین بوجود می‌آید و همین موجب انعقاد خون می‌شود) و میوزین و اکتین (پروتئینهای انقباضی) رامی توان نام برد.فیبروئین، پروتئین رشته ابریشم است و مقاومت مکانیکی آن بسیار زیاد است.در مورد پروتئینهای غیر محلول به کلاژن، کراتین و فیبروئین اشاره می‌کنند. کلاژن در بدن جانوران فراوان بوده و در پوست، غضروف و قرنیه چشم به مقدار زیاد یافت می‌شود کراتین نیز در مو، ناخن و چشم یافت می‌شود و رشته ها ی خیلی طویلی را ایجاد می‌کند. پروتئین های ترکیبی, که این نوع پروتئینها، علاوه بر زنجیر پلی پپتیدی یک قسمت غیر پروتئینی به نام ریشه پروستتیک دارند و فعالیت زیستی آنها اغلب مربوط به این ریشه اضافی است وشامل : کرومو پروتئین ها ,لیپو پروتئین ها ,گلیکو پروتئین ها وفسفو پروتئین ها می باشند. پروتئین‌ها مانند زنجیری از یک کلاف سه‌بعدی ساختار هایی هستند که از ترکیب اسیدهای آمینه حاصل می‌شوند. اسیدهای آمینه مثل یک زنجیر خطی توسط پیوند پپتیدی میان گروه‌های کربوکسیل و آمین مجاور به یکدیگر متصل می‌شوند تا یک پلی پپتید را به وجود بیاورند. ترتیب اسیدهای آمینه در یک پروتئین توسط ژن مشخص می‌شود.(palmer,2OO1)

۲-۱-انحلال پروتئین ها:

بیشتر پروتئین ها در آب محلول یا در املاح نمکی حل می شوند ولیکن در مجاورت اسید های آلی دناتوره می شوند. البته برخی از پروتئین ها در حلال های آلی نیز حل می شوند که از آن برای طبقه بندی پروتئین ها مورد استفاده قرار می گیرد.اتصالات ضعیف از جمله پیوند هیدروژنی بین حلال وجسم حل شونده و اتصالات الکتریکی بین مولکول های جسم حل شونده نیز روی حلالیت تاثیر می گذارد. مهمترین عواملی که بر روی ثابت انحلال پروتئین های کروی تاثیر دارند عبارتند از:

pH-۱-۲-۱:

انحلال بیشتر پروتئین ها ی کروی تحت pH سیستم قرار دارد. به عنوان مثال قابلیت انحلال بتالاکتوگلوبولین (یکی از پروتئین ها ی شیر) در pH=۵,۲ از کمترین مقدار برخوردار است. ولی با تغییر pH قابلیت انحلال آن سریعاً افزایش می یابد چون از نقطه ایزوالکتریک دور می شود. در pH ایزوالکتریک مولکول ها دارای بار خاصی نبوده و هیچ نیروی الکترواستاتیکی وجود ندارد که آنها را از هم دفع کند به همین دلیل مولکول ها میل به تجمع در رسوب دارند ولی با تغییر pH ایزوالکتریک ایجاد بار شده و مولکول های پروتئین همدیگر را دفع می کنند.

۱-۲-۲-قدرت یونی :

نمک های خنثی در قابلیت انحلال پروتئین های کروی بسیار موثرند. بعبارتی بیشتر پروتئین ها در آب خالص کاملاً نامحلول هستند و لیکن با افزودن مقدار کمی املاح غیر آلی میزان حلالیت پروتئین افزایش

می یابد و چنانچه مقدار زیادی از این املاح افزوده شود حلالیت پروتئین ممکن است کاهش یابد. این پروسه را به ترتیب Salting in و salting out گویند. مهمترین فاکتوری که بر روی محلولیت پروتئین تاثیر می گذارد قدرت یونی محلول است تا غلظت نمک. قدرت یونی به این صورت تعریف می شود: CiZi(ci =غلظت یون و Zi = بار الکتریکی یون)

۱-۲-۳-خاصیت دی الکتریکی :

افزودن برخی از حلال های آلی مثل اتانول و استون می تواند قابلیت انحلال پروتئین را کاهش داده و آن ها را رسوب دهد. چون ثابت دی الکتریک اتانول و استون پایین تر از آب است افزودن آن ها به محلول آبی منجر به کاهش نیروی جاذبه بین بارهای مخالف شده و موجب کاهش یونیزاسیون گروه های R می گردد.

۱-۲-۴-حرارت :

تاحدی با افزایش حرارت می توان انحلال پروتئین را افزایش داد. در دمای بیش از ۵۰ درجه بیشتر پروتئین ها دناتوره می شوند. تمامی پروتئین ها در درجه حرارت های پایین پایدارند.در آنزیم ها افزایش دما موجب افزایش سرعت واکنش می شود بطوری که معمولا به ازای هر ۱۰ درجه سانتیگراد افزایش دما سرعت واکنش دو برابر می شود. اما به دلیل ماهیت پروتئینی آنزیم ها این افزایش سرعت محدودیت دارد. به گونه ای که تا دمای مشخصی که ویژه هر آنزیم است سرعت واکنش به حداکثر می رسد و از آن پس با افزایش دما سرعت کم شده و بالاخره به صفر می رسد;زیرا دمای بالا موجب دناتوره شدن آنزیم می شود.

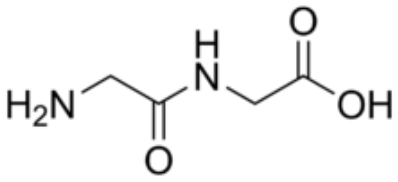
۱-۳-ساختار پروتئین ها:

فعالیت اصلی پروتئین وابسته به ساختمان فضایی آن هاست. چهار ساختمان فضایی برای پروتئین ها در نظر گرفته شده است. همه پروتئین ها ساختارهای اول تا سوم را دارند لیکن ساختار چهارم در تعداد محدودی از پروتئین ها دیده می شود.

۱-۳-۱-ساختار اول:

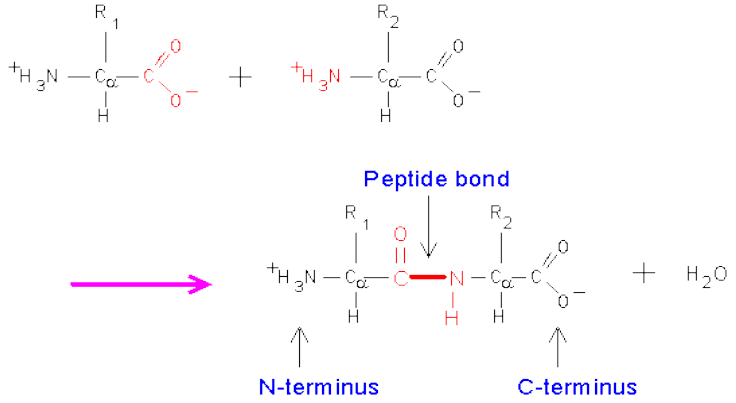
به توالی پروتئین که به صورت رشته‌ای از اسیدهای آمینه می‌باشد گفته می‌شود. پروتئین‌ها پلی‌مرهایی خطی از اسیدهای آمینه هستند که با پیوند پپتیدی بهم متصل شده‌اند. ساختمان اول پروتئین مستقیماً زیر نظر ژن سنتز می شود. نوع، تعداد و موقعیت اسید های آمینه را نوع و موقعیت کدهای موجود در ژن تعیین می کنند. ساختمان اول تعداد و محل پیوند های دی سولفاید را نیز مشخص می کند.پیوند پپتیدی یک پیوند شیمیایی بین دو مولکول است که از واکنش گروه کربوکسیل یک مولکول با گروه آمین مولکول دیگر ایجاد می‌شود و به این وسیله یک مولکول آب آزاد می‌شود(سنتز آبدهی) و بیش‌تر میان دو اسید آمینه برقرار می‌شود. پیوند پپتیدی میان دو اسید امینه است. اگر شمار اسید آمینه‌هایی که به یکدیگر پیوند می خورند کم باشد به آن الیگو پپتید می‌گویند و اگر شمار اسید آمینه‌هایی که به یکدیگر پیوند

می‌خورند زیاد باشد به آن پلی پپتید می‌گویند. اگر وزن مولکولی یک زنجیره پپتیدی کمتر از ۱۰۰۰۰Da باشد به آن پلی پپتید می‌گویند و اگر بیش‌تر از این باشد به آن پروتئین می‌گویند (stryer,2007).



شکل۱-۱-پیوند پپتیدی

در یک پپتید، ریشه اسید آمینه موجود در انتهای دارای گروه α-آمینو آزاد را ریشه انتهای آمینو[۲] (یا انتهای N) و ریشه موجود در انتهای دیگر دارای یک گروه کربوکسیل آزاد را ریشه انتهای کربوکسیل[۳] (یا انتهای C) گویند.



شکل ۲-۱-تشکیل پیوند پپتیدی

تشکیل پیوند پپتیدی مثالی از یک واکنش کندانساسیون است که یکی از کلاس های معمول واکنش ها در سلولهای زنده می باشد. تحت شرایط بیوشیمیایی استاندارد، تعادل واکنش بالا بیشتر به سمت مواد شرکت کننده در واکنش است تا محصول دی پپتیدی. برای اینکه این واکنش از نظر ترمودینامیکی قابل انجام باشد، لازم است گروه کربوکسیل دچار تغییر شیمیایی شده و یا به طریقی فعال گردد که گروه هیدروکسیل آن راحت تر برداشت شود. هرچند هیدرولیز یک پیوند پپتیدی یک واکنش انرژی زا است، بخاطر انرژی فعالسازی بالای آن، به آهستگی صورت می گیرد. لذا پیوندهای پپتیدی موجود در پروتئین کاملاً پایدارند و تحت اکثر شرایط داخل سلول، نیمه عمری حدود ۷ سال دارند (stryer, 2OO7).

2-N-Terminal
3-C-Terminal

۱-۳-۲-ساختار دوم:

ساختار دوم به نظم‌های موضعی گفته می‌شود که پروتئین در حین تاشدگی به خود می‌گیرد; که بعضی از این ساختارها تکرار پذیرند مثل ماپیچ آلفا و صفحات بتا و برخی دیگر تکرار پذیر نیستند مثل پیچ ها ولوپ ها. ساختار دوم پروتنئین‌ها خود به چند دسته تقسیم می‌شود:

۱-مارپیچ آلفا[۴]: مارپیچ آلفا یکی از ساختارهای دوم رایج در پروتئین‌هاست. مارپیچ آلفا یک مارپیچ راست‌گرد است که ساختار آن هر ۵/۴ آنگستروم یک‌بار تکرار می‌شود. در هر دو مارپیچ آلفا، ۳/۶ اسید آمینه وجود دارد. یعنی هر ۱/۵ آنگستروم یک اسید آمینه در طول مارپیچ آلفا قرار می‌گیرد. هر گروه کربوکسیل و آمین در مارپیچ آلفا با اسید آمینه‌ای با فاصله چهار تا از خود، دارای باند هیدروژنی می‌باشد و این الگو در سراسر مارپیچ، غیر از چهار اسیدآمینه در دو انتهای آن تکرار شده‌است. مارپیچ آلفا در پروتئین وقتی پیدا می شود که دریک قطعه از توالی، همگی زوایای φ و ψ تقریباً -۵۷ و -۴۷ داشته باشند.

۲-صفحات بتا[۵]: ساختار صفحه‌های بتا، ساختار دوم بسیارکشیده و چین‌دار می‌باشد. یکی از تفاوت‌های مهم صفحه‌های بتا با مارپیچ آلفا این است که اسیدآمینه‌هایی که معمولاً در ساختار اول زنجیره پروتئینی با فاصله زیاد از هم قرارگرفته‌اند، برای تشکیل این ساختار در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند بنابراین صفحه‌های بتا تمایل به سختی داشته و انعطاف‌پذیری ناچیزی دارند. بر خلاف مارپیچ آلفا که از یک منطقه پیوسته ساخته شده است، این مناطق رشته های بتا، معمولاً ۵ تا ۱۰ اسید آمینه طول دارند. پیوندهای هیدروژنی بین‌رشته‌ای که میان گروه‌های CO یک رشته بتا و NH رشته بتای مجاور ایجاد می‌شوند، به صفحات بتا پایداری می‌بخشند و باعث می‌شوند که این صفحات ظاهری زیگزاگ داشته باشند. صفحات بتا از چندین رشته بتا تشکیل میشوند که چین خورده و اتم های کربن آلفا به ترتیب در بالا وپایین صفحات بتا قرار می گیرند. زنجیره های جانبی در طول یک رشته بتا نیز بطور متناوب بالا و پایین صفحه بتا قرار میگیرند. رشته های بتا به دو طریق میتوانند برای تشکیل صفحات چین خورده با هم میانکنش داشته باشند یا به حالت صفحه موازی[۶] همسو و یا به حالت موازی ناهمسو[۷] مشاهده میشود.

۳-پیچ بتا[۸]**:** بخش هایی وجود دارد که نه آلفا است و نه بتا، بلکه رابط بین این ساختارها است که آلفا را به بتا متصل می کند. به این قسمت ها در مواردی پیچ یا Turn و در بعضی موارد قوس یا Loop گفته می شود.اگر تعداد اسیدهای آمینه تا حداکثر ۵ باشد گفته می شود پیچ و اگر بیشتر از ۵ اسید آمینه بود قوس است.این ها جزو ساختارهای دوم تکرار ناپذیرند. با اینکه لوپ ها فاقد نظم ساختاری واضح هستند ولی در آنها یک آرایش فضایی خاص وجود دارد که این آرایش توسط پیوند هیدروژنی، پلهای نمکی و تداخلات آبگریزی با سایر قسمت های پروتئین پایدار میشود .با این حال لزوما تمام قسمت های پروتئین ها مرتب نیستند. یکی از

4-α-helix
5-β-sheet
6-parallel
7-anti paralle
8- β-turn

معروف ترین پیچ ها β-turn است که این پیچ رابط بین دو زنجیره ی بتای ناهم سو است.این پیچ دارای ۴ اسید آمینه است که بین اسید آمینه ی اول و چهارم یک چرخش ۱۸۰ درجه و همینطور یک پیوند هیدروژنی است. در موقعیت دوم(اسید آمینه ی دوم) معمولا پرولین و در موقعیت سوم معمولا گلیسین است. ۱ و ۴ می تواند مختلف باشد که پیوند هیدروژنی روی این دو تشکیل می شود و ۲ و۳ چون R کوچکی دارند سر پیچ هستند که به علت کوچک بودن این گروه R ممانعتی برای چرخش وجود ندارد (Ponting et al., 2OOO; Ponting and Russell, 2OO2).

۴- موتیف[9]: یک ساختار فرا دوم است، از اجزای ساختمان دوم تشکیل شده و یک شکل خاص را تشکیل می‌دهد. موتیف ها عملکرد متفاوتی دارند. مثلا بعضی ها عملکردشان اتصال به DNA، کلسیم و... است.موتیف مارپیچ -لوپ -مارپیچ قسمت متصل شونده به اولیگو نوکلئوتید مربوط به پروتئین های متصل شونده به DNA مثل سرکوب کننده ها و فاکتور های رونویسی را تامین می کند .موتیف های ساختاری مثل موتیف مارپیچ-لوپ -مارپیچ که مابین ساختار های نوع اول و دوم قرار می گیرند، ساختار های مافوق دوم نامیده می شوند .از آنجا که بسیاری از لوپ ها و خمیدگی ها در سطح پروتئین ها جای می گیرند، بنابراین درمعرض حلال ها قرار دارند و نواحی در دسترس برای اتصال را تشکیل می دهند(et al., 2OOO; Ponting and Russell, 2OO2).

۱-۳-۳-ساختار سوم:

ساختمان سوم پروتئین، ساختمان سه بعدی و ساختارهای فضایی کلی پروتئین را نشان می دهد. با طولانی شدن زنجیر پروتئینی اسیدهای آمینه ای که در ساختار اول از هم خیلی دور بودند، در ساختار سوم به همدیگر نزدیک می شوند. پیچ و تابخوردگی های پروتئین در قسمت های مختلف یک زنجیر, به ساختمان سوم پروتئین پایداری بیشتری می دهد. عمل زیستی به ساختار سه بعدی مولکول های پلی پپتیدی ارتباط دارد. این ساختار سه بعدی بوسیله توالی اسیدهای امینه آنها تعیین می گردد. حتی بر اساس محاسبات پیچیده بیوفیزیکی و معادلات پیچیده ریاضی و با در نظر گرفتن مقدار انرژی حاصل از روابط بین اتمی می توان پایدارترین شکل فضایی را برای یک توالی پلی پپتیدی محاسبه و تعیین کرد. یک آمینو اسید معین در طول زنجیره پلی پپتید ممکن است تمایل به آب داشته باشد(آبدوست) در حالیکه دسته ای دیگر ازآب دوری می کنند(آب گریز). پروتئینها طوری فولد می شوند که اسید آمینه های آبدوست[10] در سطح یعنی در معرض آب و اسید آمینه های آب گریز[11]در وسط یعنی دور از آب قرار می گیرند. سه عامل موثر در فولد شدن[12] پروتئین ها در ساختار سوم تاثیر دارند که عبارتند از:۱-میزان سختی اسکلت پروتئینی۲-واکنش بین آمینو اسید ها, مثل نیروهای الکترو استاتیک, واندروالس, محدودیت های فضایی و باند های هیدروژنی و دی سولفیدی۳-واکنش بین آمینو اسید ها با آب که رزیدو های هیدرو فوبیک وهیدرو فیلیک در آن نقش دارند. اسید آمینه ای که در تشکیل ساختمان سوم نقش مهمی دارد، پرولین است؛ زیرا پیوند پپتیدی پرولین با

9-mutif
10-hydrophilic
11-hydrophobic
12-folding

اسید آمینه ی قبل از خود قابلیت چرخش دارد. با وجود اسید آمینه ای همچون پرولین خمیدگی در زنجیر حاصل می شود که در مجموع پروتئین ساختمان کروی به خود می گیرد.پیوند دی سولفید (-s-s-) غالبا وقتی که سیستئین یا سیستین جزئی از سلسله اسید آمینه‌ای است، دیده می‌شود. مهمترین نیرویی که در تشکیل و پایداری ساختارسوم دخیل است، نیروی هیدروفوبیک است. پروتئین های ساده پروتئینهایی هستند که از هیدرولیز آنها فقط اسیدهای آمینه بدست می آید و خود به دو دسته یعنی پروتئینهای کروی و رشته ای تقسیم میشوند. به دو شکل فیبری وکروی وجود دارند که نوع فیبری از مهمترین پروتئین های حیوانی بوده که غیر محلول و مقاوم به هضم آنزیم های پروتئولیتیک[۱۳] می باشند;این پروتئین در ساختمان پشم و مو و سم و بافت های اتصال دهنده،ناخن و استخوان ها وجود دارد مانند کلاژن وکراتین;ونوع کروی در آب املاح نمکی ضعیف، اسید ها، باز ها، اتانول محلول بوده و شامل آنزیم ها و پروتئین های اتصال دهنده اکسیژن، هورمون ها و... می باشد مانند آلبومین وهیستون ها.(ringia garrett et al.,2011)

۱-۳-۴-ساختار چهارم:

اگر چند زنجیره پلی پپتیدی مستقل در کنارهم پیوند بخورند و یک کمپلکس بزرگتر را تشکیل دهند در این صورت پروتئینی حاصل خواهد شد که خواص جدید نسبت به حالت جدا از هم رشته ها خواهد داشت(پروتئین اولیگومریک[۱۴]). بسیاری از پروتئین ها در بدن از نوع کمپلکس می باشند. هموگلوبین ۴ زنجیر، کلاژن ۳ زنجیر و علاوه بر آن ممکن است برخی از پروتئین ها دارای یک گروه پروستتیک هم باشند که اسید آمینه نباشد ولیکن برای فعالیت آن پروتئین مورد نیاز و ضروری باشد. گروه های پروستتیک ممکن است کربوهیدرات یا متال هم باشد(پروتئین ترکیبی). به طور کلی ریشه های R زنجیر های پلی پپتیدی بین هم از طریق پیوند های ضعیف شیمیایی به یکدیگر متصل و در کنار هم قرار گیرند و تفاوت آن با ساختمان نوع سوم این است که در ساختمان نوع سوم پیوند های ضعیف بین ریشه های R یک زنجیر پلی پپتیدی صورت می گرفت ولی در ساختمان نوع چهارم این پیوند ها بین دو زنجیر R جداگانه می باشد. مشاهده شده که در بیشتر آنزیم ها واحد های تشکیل دهنده مولکول آنزیم کاملا به هم وابسته اند به طوری که تغییر جزئی در روی یکی از آن ها ساختمان فضایی واحد های دیگر را هم به هم می ریزد ودر نتیجه ساختمان فضایی مولکول آنزیم تغییر می یابد. روش‌های تعیین ساختار پروتئین کشف ساختار سوم و چهارم یک پروتئین راهنمای بسیار مهمی برای تعیین کارکرد این پروتئین است. از روشهای معمول می‌توان به پراش اشعه ایکس و تشدید مغناطیسی هسته[۱۵] اشاره کرد. این دو روش اطلاعات اتمی خوبی درباره ساختار پروتئین مورد نظر جمع آوری می‌کنند(harper,2OO9).

13-ptoteolytic
14-oligomeric
15-NMR

۱-۳-۵-عوامل متعددی ساختار های نوع سوم و چهارم را پایدار می کنند:

ترتیب های رده بالاتر ساختار پروتئینی به طور عمده و اغلب منحصرا توسط برهم کنش های غیر کووالانسی پایدار می شوند. مهم ترین آنها بر هم کنش های آبگریز هستند که زنجیره های جانبی آمینواسیدی را که دارای بیشترین خاصیت آبگریزی هستند به درون قسمت داخلی پروتئین می رانند و بدین ترتیب آن ها را از آب دور می کنند . سایر برهم کنش هایی که به ساختار پروتئینی پایداری می بخشند شامل پیوند های هیدروژنی و پل های نمکی بین کربوکسیلات های مربوط به اسید آسپارتیک و گلوماتیک و زنجیره های جانبی با بار مخالف مربوط به رزیدوهای پروتونه لیزیل، آرژینیل و هیستیدیل می باشند .هرچند این برهم کنش ها به خودی خود نسبت به یک پیوند کووالانسی با قدرت ۸۲/۱۲۲ Kcal/mol، ضعیف هستند- ولی در مجموع به علت تعداد زیاد درجه بالایی از پایداری به آرایش فضایی پروتئینی فعال از نظر زیست شناختی اعطا می کنند. برخی پروتئین ها حاوی پیوند های دی سولفید کووالانسی هستند که گروه های سولفیدریل مربوط به رزیدوهای سیستئین را به هم متصل می کنند. تشکیل پیوند های دی سولفیدی مستلزم اکسیداسیون گروههای سولفیدریل مربوط به سیستئین بوده و نیازمند اکسیژن است .پیوند های دی سولفیدی درون پلی پپتیدی باعث پایداری بیشتر آرایش فضایی خمیده مربوط به یک پپتید می شود، در حالی که پیوند های دی سولفیدی بین پلی پپتیدی ساختار نوع چهارم پروتئین های اولیگومریک خاص را پایدار می کنند (Richardson et al., 1992).

۱-۴-دگرگونی[۱۶] پروتئین:

ساختمان دوم , سوم وچهارم پروتئین ها به وسیله پیوند های ضعیف پایدار می باشد, اگر این ساختمان پایداری خود را از دست بدهد و تغییر شکل فضایی پیدا کند پروتئین دچار دگرگونی گردیده وفعالیت زیستی خود را به طور برگشت پذیر از دست می دهد زیرا که با وجود دگرگونی ساختمان دوم و سوم وچهارم , ساختمان اول پروتئین پایدار باقی مانده است.اما اگر پروتئین ساختمان اول خود را نیز از دست بدهد دگرگونی به صورت برگشت ناپذیر صورت گرفته است (devlin and harwood,2OO2).

مهمترین عواملی که باعث دگرگونی پروتئین ها می شود عبارتند از:

۱-۴-۱-درجه حرارت بالا:

حرارت باعث از بین رفتن پیوند های ضعیف مثل پیوند هیدروژنی وپیوند هیدروفوب می شود ودر صورت پایین آوردن درجه حرارت,پروتئین به حالت اولیه خود برگشته وماهیت خود را به دست می آورد.ولی اگر درجه حرارت از حد معینی تجاوز کند (این حد برای پروتئین های مختلف متفاوت است) ممکن است که در ساختمان اول پروتئین تغییراتی برگشت ناپذیر حاصل شود(lehninger,2OO8).

16-Denaturation

۱-۴-۲-اسید وبازها:

اسیدها وبازها با پروتئین ها ایجاد پیوند های یونی می کنند که اگر این پیوند ها خیلی قوی باشند پروتئین ماهیت خود را به طور برگشت ناپذیر از دست می دهد, مثلا در حضور اسید استیک یک پروتئین ماهیت خود را به صورت قابل برگشت ودر حضور اسید تری کلرواستیک به طور برگشت ناپذیر از دست میدهد(lehninger, 2OO8).

۱-۴-۳- حلال های آلی:

حلال های آلی در سرما با پروتئین ها ایجاد پیوند های هیدروژنی می کنند که موجب تغییرات برگشت پذیر ساختمان پروتئین می گردند در صورتی که این حلال ها در حرارت های بالا موجب تغییرات برگشت ناپذیر پروتئین ها می شوند(lehninger, 2OO8).

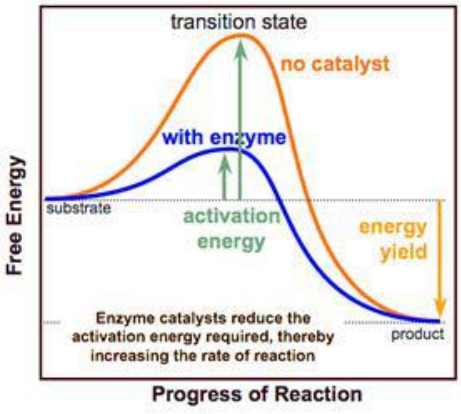
۱-۵-کار با پروتئین ها

شناخت ما از ساختار و عمل بسیاری از پروتئین ها، حاصل مطالعات انجام شده بر روی تعداد زیادی ازپروتئین ها می باشد. برای مطالعه جزئیات هر پروتئین، ابتدا ملزم است آن را از تمامی پروتئین های دیگر جدا نمود و همچنین لازم است برای تعیین ویژگی های آنها فن آوری هایی در دسترس باشد. روش های مورد نیاز از شیمی پروتئین مشتق شده که خود قدمتی به اندازه عمر بیوشیمی داشته و نقش مهمی را در تحقیقات بیوشیمیایی ایفا می نماید (Richardson et al., 1992).

۱-۶-آنزیم ها:

آنزیمها پروتئینهای هستند که توسط سلولهای موجودات زنده یرای انجام عمل ویژۀ کاتالیزواکنشهای شیمیایی، اختصاص یافته اند ,البته استثناهایی هست مانند آنزیم های ریبوزومی که اساس آنها RNA است. جرم ملکولی آنزیمها از ۱۵۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ متغیر می‌باشد. آنزیمها سرعتی که در آن، واکنشها به حالت تعادل نزدیک می شوند را حداقل ۱۰ برابر نسبت به واکنش بدون حضور آنزیم, افزایش می دهند. کاتالیزورها بطوراعم و آنزیمها بطور اخصّ دارای دو ویژگی مهّم هستند که نباید فراموش شود: اوّلین ویژگی این است که آنزیم با وجود وارد شدن درواکنش شیمیایی، تغییرنمی کند. ویژگی دوّم اینکه: آنزیم، ثابت تعادل واکنش را تغییر نمی دهد و فقط باعث افزایش سرعتی می شود که در آن واکنش به حالت تعادل نزدیک می گردد. بنابراین، یک کاتالیزور باعث افزایش سرعت واکنش می شود ولی خواص ترمو دینامیکی سیستم را، تغییرنمی دهد.نمودار۱-۱ تاثیر آنزیم بر پیشرفت واکنش را نشان می دهد. اکثر واکنشهای حیاتی بدن بخاطر وجود آنزیمها در دمای پایین بدن قابل انجام هستند, تا تعیین ساختمان و نحوه عمل آنزیمها در تشخیص بیماریها و مکانیسم رشد موجودات زنده تاثیر فراوانی داشته باشد. بسیار از امراض ناشی از فعالیت غیر طبیعی آنزیم ها می باشد , مثلا اندازه گیری فعالیت آنزیم ها در پلاسما , گلبول های قرمز یا نمونه های بافتی در بررسی بعضی از بیماری ها دارای اهمیت است. از آنجائیکه آنزیمها در تمام ارگانیزمهای زنده موجود هستند، در تئوری، انتظار میرود که آنزیمهای فراوانی وجود داشته باشند که پیوسته تولید میگردند; در حالیکه از نظر اقتصادی، استخراج آنها ممکن است محدود باشد. از سوی دیگر با پیشرفت دانش مربوط به

خصوصیات آنزیم ها در حلال های غیر آلی و یونی، در سال های آینده بیش از پیش شاهد کاربردهای بسیار متنوع و گسترده ی این بیوکاتالیزورها در صنایع شیمیایی – دارویی خواهیم بود. بر این اساس میزان قابل ملاحظه ای از تحقیقات دارویی به یافتن مهار کننده های خاصی می پردازد که فعالیت این آنزیم ها را تنظیم نماید. از این رو جزئیات مربوط به خصوصیات و نحوه عمل آنزیم ها از دیرباز مورد توجه دانشمندان بوده و امروزه یکی از بحث های مهم در بیوتکنولوژی محسوب می شود.امروزه آنزیمها از نمونه های باکتری و قارچی مخصوصی تولید میگردند. آنزیم ها دارای نقش موثری در توسعه و پیشرفت شوینده های جدید خانگی و صنعتی هستند. مهمترین این آنزیم ها شامل: پروتئاز،لیپاز،آمیلاز و سلولاز می باشند. امروزه علاوه بر پروتئاز؛ لیپاز و آمیلاز نیز،جهت افزایش اثر پاک کنندگی محصولات شستشوی البسه در آب سرد و محصولات پاک کننده صنعتی در pHهای پایین تر،مورد استفاده قرار می گیرد. مثل تمام کاتالیزورها، آنزیم ها نه مصرف می شوند ونه در اثر شرکت دریک واکنش دچار تغییردائمی می شوند.آنزیم ها علاوه بر کارایی بالا، کاتالیزورهایی بسیار انتخابی هستند برخلاف کاتالیزورهای مورد استفاده در شیمی، آنزیم ها هم برای نوع واکنش کاتالیز شده و هم برای یک سوبسترای خاص یا یک مجموعۀ کوچک از سوبسترا هایی که ارتباط نزدیک دارند، اختصاصی هستند ومعمولافقط واکنش مربوط به ایزومرهای فضایی خاص مربوط به یک ترکیب معین را کاتالیز می کنند.از آنجایی که ساختمان آنزیم پروتئینی است فعالیت کاتالیتیکی آن به کونفورماسیون[17] پروتئین طبیعی آن بستگی دارد به طوری که ساختمان اول دوم سوم وچهارم آنزیم پروتئینی برای فعالیت آنها ضروری می باشند(Palmer,1981; Segel Irwin, 1993).



نمودار ۱-۱- تاثیر آنزیم بر پیشرفت واکنش

۱-۷- ساختار فضایی آنزیم ها:

در این ساختمان جایگاه های مختلفی یافت می شوند.اتصال اختصاصی سوبسترا به آنزیم از طریق جایگاه اتصال به سوبسترا صورت می گیرد.با این اتصال بخشی از سوبسترا که قرار است تغییر داده شود در جایگاه فعال[18] یا کاتالیتیک آنزیم قرار می گیرد.در آنزیم های تنظیمی ,جایگاه دیگری به نام جایگاه تنظیمی[19] وجود

17-Conformation
18-Active site

دارد که عوامل تنظیم کننده فعالیت آنزیم به آن اتصال می یابند.با تغییر ساختمان فضایی آنزیم این جایگاه ها ممکن است از بین رفته ویا ایجاد گردند که نتیجه آن تغییر فعالیت آنزیم می باشد.

آنزیمها ساختار پروتئینی دارند. برخی مثل پپسین از پروتئینهای ساده و برخی از پروتئینهای ترکیبی بوجود آمده‌اند. ساختمان پروتئینی به نام آپوآنزیم[20] و ساختمان غیر پروتئینی به نام کوآنزیم[21] معروف است. خاصیت برخی از آنزیمها کاملا اختصاصی است و واکنش بخصوصی را تسریع می‌کنند. مانند اوره‌آز که فقط واکنش هیدرولیز اوره را (حتی در غلظت ppm۰,۱) کاتالیز می‌کند و در هیدرولیز متیل اوره یا تیو اوره که ساختمانی بسیار شبیه اوره دارند، دخالتی نمی‌کند. برخی از آنزیمها عده‌ای از واکنش‌های هم‌نوع را کاتالیز می‌کنند. عمل کاتالیز در نقاط معینی از آنزیم به نام نقاط فعال صورت می‌گیرد. آنزیمها پیچیده‌ترین کاتالیزورها هستند.همانند پروتئین ها که دوساختار ساده ومرکب دارند آنزیم ها را نیز می توان به دو دسته تقسیم کرد,فعالیت تعدادی از آنزیم ها تنها به ساختمان پروتئینی آنها بستگی دارد ,در حالی که برخی دیگر از آنزیم ها برای انجام فعالیت کاتالیزوری خود به ترکیبات فعال کننده غیر پروتئینی (کوفاکتورها) نیاز دارند. (Murray et al., 2OO3.).

۱-۸- گروه های پروستتیک، کوفاکتور ها و کوآنزیم ها نقش مهمی در کاتالیز بازی می کنند:

الف-کوفاکتورهایی که تنها شامل یک یون فلزی هستند(گروه های پروستتیک): گروه های پروستتیک توسط الحاق پایدار و محکم به ساختار یک پروتئین به وسیله نیرو های کووالانسی یا غیر کووالانسی مشخص می شوند. مانند :فلاوین مونو نوکلئوتید (FMN) ,فلاوین دی نوکلئوتید(FAD) , Zn ,Mg ,Na ,Fe ,Cu ,Mn ,K وتیامین پیرو فسفات می باشند.نقش این گونه کوفاکتورها به دو صورت انجام پذیر است:۱-یون های فلزی نقش یک حدواسط را برای پیوند مولکول های آنزیم با سوبسترا به عهده دارند.۲-برخی از یون های فلزی , خود در عمل کاتالیز شرکت می کنند از جمله آهن در آنزیم کاتالاز که نقش اصلی را در تجزیه پراکسید هیدروژن انجام می دهد. فلزات شایع ترین گروه های پروستتیک هستند. تقریبا یک سوم کل آنزیم ها که حاوی یون های فلزات محکم متصل شده هستند، متالو آنزیم ها نامیده می شوند. یون های فلزی که در واکنش های ردوکس شرکت می کنند معمولا با گروه های پروستتیک مثل هم یا تجمعات سولفور آهن ترکیب می شوند. همچنین فلزها ممکن است اتصال و جهت یابی سوبسترا، تشکیل پیوند های کووالانسی با واسطه های واکنش (+Co در کوآنزیمB12)، یا برهم کنش با سوبستراها را برای افزایش خواص الکتروفیلی (با کمبود الکترون) یا نوکلئوفیلی(غنی از الکترون) تسهیل می کنند(Schlimme, 199O) .

ب-کوفاکتورهایی که از یک مولکول ترکیب آلی تشکیل یافته اند: این گونه کوفاکتورها را کوآنزیم می نامند. پیوند کوآنزیم با قسمت پروتئینی آنزیم اغلب از نوع پیوند های ضعیف و کم انرژی است به طوری که

19-regulatory site

20-apo enzyme

21-coenzyme