بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی (علوم سلولی و مولکولی)

بررسی فراوانی چند شکلی‌های ژنتیکی *GSTM1* و *GSTT1* در جمعیت‌های ترکمن، کرد، سیستانی و بلوچ

به کوشش:

غلامرضا ناصری

استاد راهنما:

دکتر مصطفی سعادت

بهمن ماه ۱۳۹۲

به نام خدا

اظهارنامه

اینجانب **غلامرضا ناصری** به شماره دانشجویی ۹۰۹۱۲۸ دانشجوی رشته‌ی **زیست‌شناسی** گرایش **سلولی- مولکولی** دانشکده **علوم** اظهار می‌نمایم که این پایان‌نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهائی که از منابع دیگران استفاده کرده‌ام، نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته‌ام. همچنین اظهار می‌کنم که تحقیق و موضوع پایان نامه‌ام تکراری نمی‌باشد و تعهد می‌نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام‌خانوادگی: **غلامرضا ناصری**

تاریخ و امضاء:

به نام خدا

بررسی فراوانی چند شکلی‌های ژنتیکی *GSTM1* و *GSTT1* در جمعیت‌های ترکمن، کرد، سیستانی و بلوچ

به کوشش:

غلامرضا ناصری

پایان نامه

ارائه شده به تحصیلات تکمیلی دانشگاه شیراز به عنوان

بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

در رشته‌ی

زیست شناسی سلولی-مولکولی

از دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی شده توسط کمیته‌ی پایان نامه، با درجه: عالی

دکتر مصطفی سعادت، استاد بخش زیست شناسی (رئیس کمیته)

.....

دکتر ایرج سعادت، دانشیار بخش زیست شناسی

.....

بهمن ماه ۱۳۹۲

تقدیم به جامعه علمی

ایران

سپاسگزاری

سپاس خدای را که دریای بی‌کران علم است، آفریدگار بی‌نیازی که توان آموختن ارزانیم داشت و وجود بی وجودم را در جاده‌های دانش بشری سوق داد تا با ذره ای از بی‌کران علم آشنا شوم، با آن که بدون قدرت و اراده‌ی او قادر به انجام هیچ‌کاری نیستم و اوست که مرا نیرو بخشیده است.

تقدیر و تشکر فراوان از :

- **محضر استاد مهربان و ارجمندم جناب آقای دکتر مصطفی سعادت که نه تنها راهنمای علمی بلکه سرلوحه انسانیت من بودند.**
- **جناب آقای دکتر ایرج سعادت به خاطر آموزش‌های کامل و دقیق ایشان در طول دوران تحصیل.**
- **پدر و مادر مهربانم که لحظه لحظه‌ی رشد و تعالیم را مدیون زحمات این بزرگواران هستم .**
- **همسر گراممیم و همچنین فرزندانم مهتا و متین که در طول دوران تحصیل گرفتاری و مشغله‌های اینجانب را با صبر و بردباری تحمل نمودند.**

چکیده

بررسی فراوانی چند شکلی‌های ژنتیکی *GSTM1* و *GSTT1* در جمعیت‌های ترکمن، کرد، سیستانی و بلوچ

به کوشش:

غلامرضا ناصری

گلوتاتیون S-ترانسفراز خانواده خیلی بزرگی از آنزیم‌های سم‌زدایی بوده و نقش حیاتی را در فاز دوم بیوترانسفورماسیون بسیاری از زنوبیوتیک ها، داروها و عوامل سرطان‌زا ایفاء می‌کنند. چندشکلی‌های ژنتیکی این آنزیم‌ها ممکن است استعداد افراد به ابتلاء به بیماری‌های ناشی از اثرات مخرب متابولیت‌های اکسیداتیو را، تحت تاثیر قرار دهد. مطالعات گذشته در میان جمعیت‌های مختلف نشان داده‌اند که فراوانی حذف شدگی‌های هموزیگوت (ژنوتیپ Null) در ژن‌های *GSTM1* و *GSTT1* در این جمعیت ها اختلاف معنی‌داری نسبت به یکدیگر دارد. به همین دلیل، در مطالعه حاضر به منظور شناخت بهتر هتروژنیسیته اقوام مختلف ایرانی، فراوانی ژنوتیپ Null این ژن‌ها در میان چهار قوم بلوچ، سیستانی، کرد و ترکمن بررسی گردید. برای این منظور، ۱۶۸ فرد سالم با قومیت بلوچ، ۱۵۲ نفر سیستانی، ۲۰۰ نفر کرد و ۲۰۰ نفر ترکمن جهت بررسی فراوانی چند شکلی‌های ژنتیکی ژن های *GSTM1* و *GSTT1* به روش Multiplex PCR مورد ارزیابی قرار گرفتند. تفاوت معنی‌داری میان جنسیت افراد با توزیع فراوانی ژنوتیپ Null این ژن‌ها در هیچیک از قومیت‌های مورد مطالعه مشاهده نگردید. نتایج این مطالعه نشان داد که فراوانی ژنوتیپ Null ژن *GSTM1* در جمعیت‌های بلوچ ۵۰٪، سیستانی ۵۱/۳٪، کرد ۵۶٪ و ترکمن ۵۳٪ بوده و فراوانی ژنوتیپ Null ژن *GSTT1* در در جمعیت های بلوچ ۲۰/۸٪، سیستانی ۱۷/۸٪، کرد ۱۸/۵٪ و ترکمن ۲۳٪ بدست آمد که در محدوده فراوانی‌های گزارش شده در نژادهای هندواروپایی و آسیایی می‌باشد. آنالیز آماری مربع کای هیچگونه تفاوت معنی‌داری میان توزیع فراوانی ژنوتیپی چندشکلی Null و Present ژن‌های *GSTM1* (χ^2=1.48, df = 1, P = 0.685) و *GSTT1* (χ^2 = 1.936, df = 1, P = 0.586) در جمعیت‌های مورد مطالعه نشان نداد.

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول ۱

مقدمه ۲

۱-۱- مقدمهای بر تفاوتهای نژادی اقوام ایرانی ۲

۱-۲- اقوام بلوچ ۲

۱-۳- اقوام سیستانی ۳

۱-۴- اقوام کرد ۴

۱-۵- اقوام ترکمن ۴

۱-۶- آنزیم های گلوتاتیون S-ترانسفراز ۵

۱-۷- معیارهای طبقه بندی آنزیمهای *GST* در پستانداران ۷

۱-۸- کلاس Mu آنزیمهای *GST* و ارتباط آن با ریسک ابتلاء به بیماریها ۱۰

۱-۹- کلاس Theta آنزیمهای *GST* و ارتباط آن با ریسک ابتلاء به بیماریها ۱۲

۱-۱۰- ژنوتیپ Null آنزیمهای *GST* و ارتباط آن با بیماریها ۱۴

فصل دوم ۱۶

مروری بر تحقیقات انجام شده ۱۷

۲-۱- مطالعات انجام شده در جمعیتهای اروپایی و آفریقایی ۱۷

۲-۲- مطالعات انجام شده در جمعیتهای آسیایی ۲۲

فصل سوم ۲۷

روش انجام کار ۲۸

۳-۱- نمونه گیری ۲۸

۳-۲- وسایل مورد نیاز ۲۹

۳-۳- مواد مورد نیاز ۲۹

۳-۳-۱- محلول های لازم جهت استخراج DNA ۲۹

۳-۳-۲- مواد لازم جهت انجام واکنش PCR ۳۰

۳-۳-۳- مواد لازم جهت انجام الکتروفورز: ۳۰
۳-۴- تهیه محلول ها ۳۰
۳-۵- استخراج DNA از خون محیطی ۳۱
۳-۶- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۳۱
۳-۷- تعیین ژنوتیپها ۳۳
۳-۸- الکتروفورز ۳۳
۳-۹- رنگ آمیزی ژل ۳۴
۳-۱۰- تحلیل آماری ۳۵

فصل چهارم ۳۶

نتایج ۳۷
۴-۱- مشخصات افراد شرکت کننده در مطالعه ۳۷
۴-۲- آنالیز فراوانی ژنوتیپهای چند شکلی ژنتیکی در *GSTM1* و *GSTT1* به تفکیک قومیتهای مورد مطالعه ۳۸
۴-۳- بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپ Null ژن *GSTM1* در جمعیتهای کرد و بلوچ ۳۹
۴-۴- بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپ Null ژن *GSTT1* در جمعیتهای سیستانی و ترکمن ۴۰
۴-۵- بررسی رابطه جنسیت با میزان فراوانی ژنوتیپهای Null و Present ژن *GSTM1* در اقوام مورد مطالعه ۴۱
۴-۶- بررسی رابطه جنسیت با میزان فراوانی ژنوتیپ های Null و Present ژن *GSTT1* در اقوام مورد مطالعه ۴۲

فصل پنجم ۴۳

بحث و نتیجه گیری ۴۴

فصل ششم ۵۲

فهرست منابع و مأخذ ۵۳

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول۱-۱- اعضای کلاس سیتوزولیک خانواده آنزیمی گلوتاتیون S-ترانسفراز (*GSTs*) ۹

جدول۱-۲- گوناگونیهای ژنتیکی کلاس سیتوزولی خانواده آنزیمی گلوتاتیون S-ترانسفراز..... ۱۳

جدول۲-۱- فراوانی ژنوتیپ Null ژنهای *GSTM1* و *GSTT1* در نژادهای مختلف جهان..... ۱۸

جدول۲-۲- توزیع جغرافیایی ژنوتیپ Null ژنهای *GSTM1* و *GSTT1* در نژاد هندواروپایی ۱۹

جدول۳-۱- مشخصات جمعیت مورد مطالعه..... ۲۸

جدول ۳-۲- مواد مورد نیاز برای تهیه مخلوط واکنش PCR ۳۲

جدول ۳-۳- برنامه ی تنظیم شده برای واکنش PCR جهت تکثیر ژن های *GSTM1* و *GSTT1* ۳۲

جدول۳-۴- توالی پرایمرهای مورد استفاده..... ۳۳

جدول۴-۱- مشخصات جمعیتهای مورد مطالعه ۳۷

جدول۴-۲- آنالیز فراوانی ژنوتیپهای Null و Present ژنهای *GSTM1* و *GSTT1* به تفکیک قومیتهای مورد مطالعه ۳۸

جدول ۴-۳- بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپ Null ژن *GSTM1* در جمعیتهای کرد و بلوچ ۳۹

جدول ۴-۴- بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپ Null ژن *GSTM1* در جمعیتهای سیستانی و ترکمن..... ۴۰

جدول ۴-۵- بررسی رابطه جنسیت با میزان فراوانی ژنوتیپ های Null و Present ژن *GSTM1* در اقوام مورد مطالعه..... ۴۱

جدول ۴-۶- بررسی رابطه جنسیت با میزان فراوانی ژنوتیپهای Null و Present ژن *GSTT1* در اقوام مورد مطالعه ۴۲

جدول۵-۱- توزیع جغرافیایی ژنوتیپ Null ژنهای *GSTM1* و *GSTT1* در جمعیتهای جهان ۴۷

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل۱-۱- کراسینگ اور نابرابر میان لوکوس‌های ژنی *GSTM1* و *GSTM2* و ایجاد Null genotype ۱۱

شکل۱-۲- مکانیسم حذف‌شدگی در ژن *GSTT1* ۱۲

شکل۱-۴- تعیین ژنوتیپ *GSTM1* و *GSTT1* ۳۵

فصل اول

مقدمه

مقدمه

۱-۱- مقدمه‌ای بر تفاوت‌های نژادی اقوام ایرانی

کشور ایران از نظر نژادی یکدست و یکپارچه نیست. موقعیت ویژه جغرافیایی و قرارگرفتن آن در تقاطع کشورهای عرب، ترکیه و آسیای مرکزی، و تغییر پیوسته مرزی آن طی سالیان دراز امپراطوری ایران، باعث گردیده اقوام و نژادهای متنوع و مختلفی در ایران امروزی زندگی کنند. به دلیل همین تنوع جمعیتی و قرن‌ها اختلاط نژادی- مهاجرتی، تفکیک حد و مرز جغرافیایی نژادهای ساکن در ایران امروزی امری بسیار مشکل است (۱).

۱-۲- اقوام بلوچ

پژوهش‌گران بر این باورند که آریایی‌ها در روزگاری بسیار کهن در دشت پامیر، آسیای میانه، ارمنستان، ارتفاعات کارپات، ساحل‌های رود دانوب پایین، آلمان، اسکاندیناوی و به بیان دیگر در شمال اروپا و آسیا زندگی می‌کرده‌اند. بعدها یعنی حدود ۴۰۰۰ سال پیش از میلاد، در اثر زیادشدن جمعیت و یا برخی علل‌های دیگر، از این سرزمین‌ها به مهاجرت پرداخته و هردسته از آنان به جایی رهسپار شده و در آنجا اقامت گزیدند. گروهی از این قبیله‌ها از راه خوارزم به سوی بلخ و پیرامون آن سرازیر شده و در حدود شرقی و شمال‌شرقی ایران کنونی ساکن گردیدند. بعدها همین گروه به‌سوی غرب پیش رفته و به شعب و قبایل گوناگون بخش شدند. شاهان هخامنشی، بخش اعظم این سرزمین‌ها و اقوامی را که در آن زندگی می‌کرده‌اند را به زیر فرمان خود در آوردند. در برخی از کتیبه‌های داریوش از جمله کتیبه بیستون که در آغاز سال ۵۲۰ پیش از میلاد به

فرمان وی در صخره‌ای از کوه بیستون کنده شده از ایالت‌های ۲۳ گانه هخامنشی از جمله ماکا (بلوچستان) نام برده شده است. بی‌تردید قوم سخت‌کوش بلوچ نیز از همین اقوام آریایی جدا شده و پس از گذشتن از بخش‌های شمالی به ناحیه جنوب آمده اند. در این مورد نزدیکی زبان بلوچی به زبان باستانی اقوام مادی، موید این نظر است. با توجه به بررسی و اندازه‌گیری‌های انجام شده توسط دانشمندان نژادشناس از درازای بدن همه طوایف و قبایل از جمله مردم بلوچستان، آشکار شده است که مشخصات بلوچها و آریاییان کاملاً شبیه و یکسان بوده و درنتیجه قوم بلوچ، ایرانی نژاد و همانند کُرد، لُر، فارس، آذری، تاجیک و... شعبه‌ای از نژاد آریایی ایران می‌باشند (۲).

مردم بلوچ یکی از اقوام ایرانی‌تبار ساکن در پاکستان، ایران و افغانستان هستند. این مردم به زبان بلوچی سخن می‌گویند که یکی از زبان‌های شاخه شمال غربی ایران است. بیشتر مردم بلوچ، مسلمان و اهل سنت هستد. جمعیت مردم بلوچ در حدود ۱۵ میلیون نفر برآورد شده‌است. که به طور تخمینی۱۰میلیون نفر در پاکستان، ۳ میلیون نفر در ایران، ۵۰۰ هزار نفر در افغانستان، ۴۱۰ هزار نفر در عمان، ۲۰۰ هزار نفر در امارات، و ما بقی در دیگر کشورها مثل هند، ترکمنستان، تانزانیا، اروپا و آمریکا زندگی می‌کنند (۲).

۱-۳- اقوام سیستانی

مردم سیستانی، آمیخته‌ای از اقوام آریایی پارس و سکاهای پارسی هستند که با ورود آخرین دسته از آریایی‌ها در حدود سال ۱۲۸ ق.م. که سکه نامیده می‌شدند و از شمال فلات ایران به طرف جنوب یعنی مرکز ایران و سپس به طرف غرب مهاجرت کردند و در منطقه سیستان امروزی سکنی گزیدند. این اقوام را سیستانی می‌نامند. بنابر شواهد و مدارک مشهود سیستانیان از اصیل‌ترین اقوام آریایی‌های ایران بوده اند. ولی سیستانیان کنونی علاوه بر وجود اکثریت آریایی از در هم آمیختن سایر تبارها، مانند شیرازی‌ها، مردم ری قدیم و تهران، عرب‌ها، مغول‌ها، ترک‌ها، بلوچ‌ها، افغان‌ها، خراسانی‌ها و کرمانی‌ها نیز شکل گرفته اند. اما به هر حال نسب سیستانی‌ها به آریایی‌های ایرانی می‌رسد. بنابر اطلاع رسانی‌های غیر رسمی، جمعیت سیستانی‌تبار ایران را حتی

چهار میلیون نفر می‌دانند که اکثریت آن‌ها در سه استان سیستان و بلوچستان، خراسان و گلستان پراکنده‌اند (۳).

۱-۴- اقوام کرد

مردم کُرد، ایرانی هستند که در بخش‌هایی از خاورمیانه و آسیای مرکزی و در ایران به ویژه در شمال شرق و غرب ایران زندگی می‌کنند. قائل شدن ریشه ایرانی و به تبع آن هندواروپایی برای کردان، از لحاظ تاریخی بدین سبب بوده‌است که کردی از زبان‌های ایرانی است. پس فرضیه ایرانی‌تبار بودن کردان با توجه به قراین زبان‌شناختی بوده است و نه ژن‌شناختی (۴).

پژوهش‌های میان‌رشته‌ای اخیر، بویژه با در نظر گرفتن DNA این مردمان، تصویر دشوارتری از واقعیت ترسیم کرده‌است. طبق این پژوهش‌ها، قدیمی‌ترین نیاکان کردان از اخلاف بومیان اولیه هلال خصیب در عصر نوسنگی بوده‌اند. جایگاه جغرافیایی آنان بیرون از ایران امروزی و جایی در شمال غربی آن بوده است. از جمله نتایج جالبی که از مطالعات ژن‌شناختی حاصل شده است، قرابت توارثی کردان و یهودیان است. که بعنوان مثال می‌توان از نزدیکی یهودیان به کردها تا به عرب های فلسطین نام برد (۴).

۱-۵- اقوام ترکمن

ترکمن‌های ایران، یکی از اقوام ترک‌تبار ایران هستند که عمدتا در کناره‌های شرقی دریای خزر شامل بخش‌های شمالی و شرقی استان گلستان و در بخش‌هایی از خراسان موسوم به ترکمن‌صحرا سکونت دارند. این اقوام در حدود دو درصد از جمعیت ایران را تشکیل می دهند (۵).

۱-۶- آنزیم های گلوتاتیون S-ترانسفراز

امروزه به خوبی ثابت شده‌است که آنزیم‌های گلوتاتیون ترانسفراز نقش کلیدی در فاز II سم‌زدایی آنزیمی بر عهده دارند. ارگانیسم‌های زنده به طور پیوسته در معرض گونه‌های شیمیایی خارجی غیر خوراکی (زنوبیوتیک‌ها) قرار دارند. این زنوبیوتیک‌ها ممکن است به طور زیان‌آوری با یک ارگانیسم بر هم‌کنش دهند و اثرات سمی و سرطان‌زایی برای آن ارگانیسم داشته باشند. ترکیبات سمی طبیعی شامل سم‌های گیاهی و قارچی (مثل فنل‌های گیاهی و افلاتوکسین‌ها) و نمونه‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می باشند. در میان مکانیسم‌های بیوشیمیایی مختلف جهت مقابله و حذف این ترکیبات سمی در موجودات زنده (مانند تجزیه[۱]، جمع آوری کردن[۲] و اتصال[۳])، مکانیسم بیوترانسفورماسیون کاتالیتیک[۴] یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌هاست. سلول‌ها دارای یکسری آنزیم‌های کارآمدی هستند که قادرند بیوترانسفورماسیون طیف وسیعی از ساختارها و گروه‌های عاملی شیمیایی را انجام دهند. سم زدایی آنزیمی زنوبیوتیک‌ها در سلول به سه فاز مشخص تقسیم بندی می شود که به طور کاملا یکپارچه عمل می‌کنند. فاز I و II شامل تبدیل یک زنوبیوتیک چربی‌دوست[۵] و غیر قطبی به یک ترکیب حلال در آب (قطبی) و در نتیجه متابولیتی با سمیت کمتر می باشد که در نهایت می‌تواند در طی فاز III به راحتی از سلول حذف گردد (۶).

فاز I به طور اساسی توسط سیستم سیتوکروم P450 در سلول کاتالیز می‌شود. این خانواده از پروتئین‌های میکروزومال، مسئول سم‌زدایی طیف وسیعی از واکنش‌های شیمیایی را که در آنها اکسیداسیون بسیار حائز اهمیت می‌باشند را بر عهده دارند. آنزیم‌های فاز II، کونژوگاسیون زنوبیوتیک‌های فعال‌شده، به یک سوبسترای حلال در آب داخل سلولی مثل گلوتاتیون احیاءشده (GSH)، UDP-گلوکورونیک اسید و یا گلایسین را کاتالیز می‌کنند. از لحاظ کمی، اتصال یا

[1] Sequestration
[2] scavenging
[3] Binding
[4] Catalytic biotransformation
[5] Lipophilic

کونژوگاسیون GSH به زنوبیوتیک‌های فعال‌شده که توسط آنزیم‌های گلوتاتیون S-ترانسفرازها (*GSTs*) کاتالیز می‌شود، در بسیاری از گونه‌ها اصلی‌ترین واکنش فاز II بیوترانسفورماسیون آنزیمی می‌باشد (۶).

آنزیم‌های *GST* می‌توانند جابه‌جایی حلقه‌های آروماتیکی هسته دوست، واکنش افزایشی مایکل[۶] به کتون‌های غیر اشباع α و β و واکنش‌های حلقه‌های باز اپوکسید که همگی آنها در نهایت منجر به تولید کونژوگه‌های GSH می‌گردند، به علاوه احیاء هیدروپروکسیدها که منجر به تولید گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) می شود را کاتالیز کنند (۶و۷).

در فاز III فرایند بیوترانسفورماسیون مکانیسم‌های انتقالی متعددی جهت حذف کونژوگه‌های گلوتاتیونی تشکیل شده در سلول وجود دارد از جمله: پمپ GS-X وابسته به ATP[۷]،

(DnP-SG A broad specificity anion transporter of dinitrophenol S_GSH conjogates ATPase، P-glycoprotein (پمپ مقاومت دارویی ۱۷۰KD) و Multi drug resistance-associated protein (MRP) که یک گلیکوپروتئین ۱۹۰KD می‌باشد (۶).

GST ها پروتئین‌هایی به شکل دایمر، عموما سیتوزولی و آنزیم‌هایی هستند که علاوه بر نقش کاتالیتیک‌شان در سم‌زدایی، در فرایندهای دیگری چون سنتز هورمون‌های استروئیدی، سنتز و غیرفعال‌سازی ایکوزانوئیدها و تعدیل برخی مسیرهای سیگنالینگ سلولی نقش ایفاء می‌کنند. همچنین این آنزیم‌ها در بسیاری از فرایندهای مقاومت سلولی از جمله مقاومت به داروهای شیمی-درمانی جهت درمان سرطان‌ها، مقاومت به حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها و آنتی‌بیوتیک‌های میکروبی نقش به سزایی ایفا می‌کنند (۷).

علاوه بر کلاس سیتوزولی که اصلی‌ترین این آنزیم‌ها است کلاس دیگری به نام میکروزومال نیز برای این آنزیم‌ها وجود دارد که کاملا از نوع سیتوزولی مجزا بوده و یک سری

[6] Michael addition reaction
[7] Multi specific organic anion transporter (MOHT)

پروتئین‌های وابسته به غشاء سلولی می‌باشند که به طور اختصاصی در متابولیسم ایکوزانوئیدها و گلوتاتیون[8]، نقش دارند (۷).

GSTها یک خانواده خیلی بزرگ آنزیمی هستند که بر اساس معیارهای گوناگونی همچون سکانس نوکلئوتیدی و آمینواسیدی، خصوصیات ایمونولوژیکی، کینتیکی و ساختارهای سوم و چهارم به چند زیر خانواده تقسیم بندی می‌شوند. ساختارهای کریستالی که برای اکثر کلاس‌های این خانواده آنزیمی وجود دارد حاکی از تفاوت‌های ساختاری به خصوص در اطراف جایگاه فعال و یا Inter-subunite interface در این کلاس است. ژن‌های کدکننده آنزیم‌های *GST* و پروتئین‌های حاصل از آن‌ها به خصوص در موش صحرایی، انسان و موش خانگی به طور اختصاصی شناسایی شده‌اند. ولی مطالعات انجام شده در غیر پستانداران نشان دهنده وجود کلاس-های جدید و متفاوتی از این آنزیم‌ها در گیاهان و جانداران غیر پستاندار بوده که اطلاعات ما را از ساختار و عملکردهای گوناگون این پروتئین‌ها افزایش می‌دهد (۶).

۱-۷- معیارهای طبقه بندی آنزیم‌های *GST* در پستانداران

هنوز معیار کاملا مشخصی جهت برآورد میزان شباهت لازم در توالی آمینواسیدی، برای قرار دادن آنزیم‌های *GST* در کلاس‌های مجزا وجود ندارد، ولی به طور عمومی پذیرفته شده که آنزیم‌های *GST* ای که بیش از ۶۰ درصد شباهت در توالی آمینواسیدی خود دارند را در یک کلاس و آنهایی که کمتر از ۳۰ درصد شباهت دارند را در کلاس‌های مجزا قرار دهند. در ضمن بیشترین تاکید، بر وجود شباهت در ساختار اولیه بخش N-terminal آنزیم است. زیرا در میان آنزیم‌های یک کلاس این ناحیه به خوبی حفاظت شده‌است. در ضمن این ناحیه بخش مهمی از جایگاه فعال آنزیم را نیز تشکیل می‌دهد. این بخش شامل یک رزیدو کاتالیتیک بسیار مهم به نام تیروزین، سرین و یا سیستئین می‌باشد که قادر است با گروه تیول سوبسترای *GST* برهمکنش دهد و PKa آنزیم را از

[8] (MAPEG) Membrane-Associated Proteins in Eicosanoid and Glutathione metabolism

عدد ۹ به حدود ۶ تا ۷ کاهش دهد. به همین دلیل، این بخش به عنوان یک بخش بسیار مهم کاتالیزی در آنزیم‌های *GST* شناخته شده است (۶).

گاهی اوقات جهت تقسیم‌بندی آنزیم‌های *GST* از واژه خانواده آنزیمی به جای کلاس آنزیمی استفاده می‌شود که این امر بدین علت است که این آنزیم ها دارای ساختارهای ژنی کاملا متمایز از یکدیگر بر روی کروموزوم‌های مجزا می‌باشند بطوریکه ژن‌های کدکننده کلاس‌های Alpha، Mu، Pi و Theta از لحاظ اندازه و ساختارهای اینترون/اگزون کاملا با یکدیگر متفاوت می-باشند (۶).

بر اساس معیارهای نام برده شده، سوپر خانواده آنزیمی *GST* در انسان به سه زیر خانواده بزرگ *GST* های سیتوزولیک، میتوکندریایی و میکروزومی باند شده به غشاء (MAPEG) طبقه-بندی می‌شوند. نوع میکروزومی همانطور که گفته شد شامل یک پروتئین محیطی متصل به غشاء است که در متابولیسم ایکوزانوئیدها و گلوتاتیون نقش دارد. به علاوه گفته شده نوع میکروزومی از لحاظ ساختاری کاملا از نوع سیتوزولی متمایز می‌باشد ولی از لحاظ عملکردی به یکدیگر مشابه بوده و هر دو قادرند کونژوگاسیون GSH به ترکیبات الکتروفیلیک را کاتالیز کنند (۷).

خانواده آنزیمی *GSTs* سیتوزولیک، در پستانداران به صورت پپتیدهای منومری ۱۹۹-۲۴۴ آمینواسیدی در سیتوزول سلول حضور دارند و وقتی که به حالت همودایمر یا هترودایمر در می‌آیند از لحاظ کاتالیتیکی فعال می‌گردند. این خانواده به ۸ کلاس مختلف آنزیمی تقسیم بندی می‌شود که شامل آنزیم‌های *alpha* (*GSTA*)، *mu* (*GSTM*)، *Pi* (*GSTP*)، *Sigma* (*GSTS*)، *Theta* (*GSTT*)، *Zeta* (*GSTZ*)، Omega (*GSTO*)، *Kappa* (*GSTK*) می‌باشد که در ادامه به بررسی کلاس‌های Mu و Theta از این خانواده آنزیمی می‌پردازیم (۷و۸) (جدول۱-۱).

جدول۱-۱- اعضای کلاس سیتوزولیک خانواده آنزیمی گلوتاتیون S-ترانسفراز (*GSTs*)

کلاس	ژن	جایگاه کروموزومی
Alpha	A1-1	6p12
	A2-2	6p12.2
	A3-3	6p12
	A4-4	6p12
	A5-5	6p12.1
Mu	M1-1	1p13.3
	M2-2	1p13
	M3-3	1p13.3
	M4-4	1p13.3
	M5-5	1p13.3
Pi	P1-1	11q13
Sigma	S1-1	4q22.3
Theta	T1-1	22q11.2
	T2-2	22q11.2
Zeta	Z1-1	14q24.3
Omega	O1-1	10q25.1
	O2-2	10q25.1