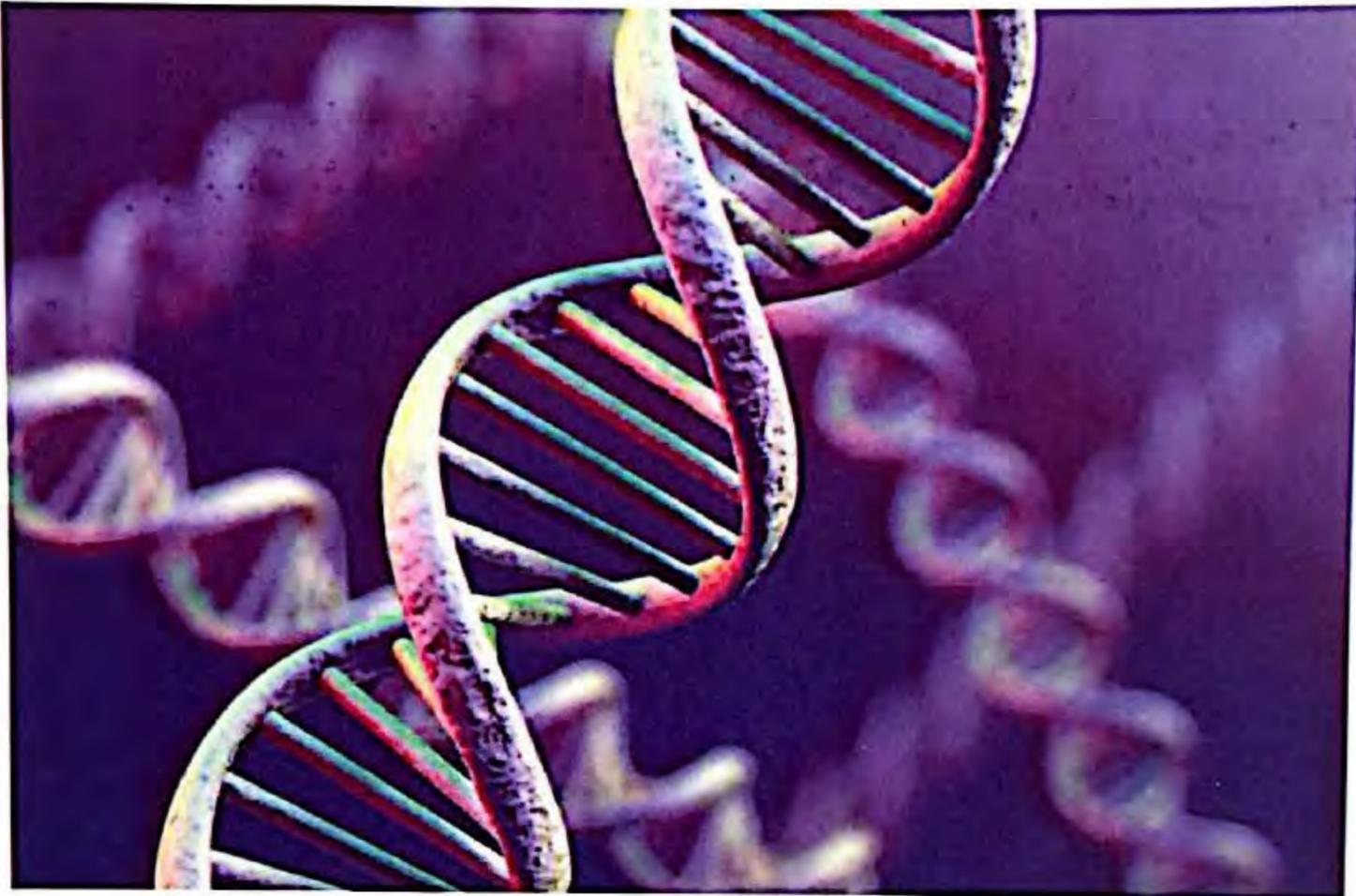


فصل ۱ - ملکول های اطلاعاتی



یکی از سوالاتی که پیدا کردن پاسخ آن بیش از پنجاه سال طول کشید این بود که ژن چیست و از چه ساخته شده است ؟

پاسخ این سوال در حال حاضر شاید خیلی ساده باشد ولی برای رسیدن به آن، تحقیق و آزمایش های زیادی انجام شد و در حال حاضر هم ادامه دارد .

در این فصل مطالب در قالب زنجیره ای از آزمایش ها توضیح داده می شود که نتایج آن ها فهم ما را از ژن و مولکول های مرتبط به آن یعنی دنا ، رنا و پروتئین بیشتر می کند . آشنا شدن با ساختار این مولکول ها مقدمه ای است برای فهم بهتر فصل های دیگر این کتاب ، در کنار آن با سازوکار مولکولی ذخیره و انتقال اطلاعات وراثتی آشنا می شویم .

• مدل ثابت کرد که صفات جنبه‌ی ملکوتی ندارند بلکه منبای مادری دارند .
• مورگان و پریچرز ثابت کردند که فاکتورهای مندلی روی کروموزومها قرار دارند .

• استرپتوکوک نومونیا و باسیلوس سابیلوس ، DNA را از هر منبع جذب میکنند .
• اما همونیلوس آنفولانزا و نیسریا گونوره فقط DNA هم‌گونه‌ی خود و یا گونه‌های بسیار نزدیک خود را از محیط دریافت میکنند .

✓
• فرم حاد و بیماریزای عامل ذات‌الریه (فرم S) می‌تواند با فراوانی سلول در هر ۱ سلول در هر ۱ سلول ، دچار جهش شده و به فرم غیر بیماریزا که فاقد کپسول است تبدیل شود .

گفتار ۱ - نوکلئیک اسیدها

هریک از یاخته‌های بدن ما ویژگی‌هایی دارند مانند شکل، اندازه، توانایی‌ها و ... این ویژگی‌ها تحت کنترل هسته است دستور العمل آنها در حین تقسیم از سلولی به سلول دیگر و در حین تولید مثل از نسلی به نسل دیگر منتقل می‌شود. در هسته اطلاعات و دستورالعمل‌های هدایت کننده سلول در کجا ذخیره می‌شود؟ قبلاً آموختیم که کروموزم‌ها در هسته قرار دارند و در ساختار آنها دنا و پروتئین مشارکت می‌کنند؟

در توانی‌های نوکلئوسیدی که زن‌ها را به وجود می‌آورند.

کدامیک از این دو ماده ذخیره کننده اطلاعات وراثتی است؟ DNA

پاسخ این سؤال مشخص شده و آن ماده دنا است که به عنوان ماده ذخیره کننده اطلاعات وراثتی عمل می‌کند.

اما چگونه دانشمندان به این پاسخ رسیده‌اند؟

بیشتر بدانید.



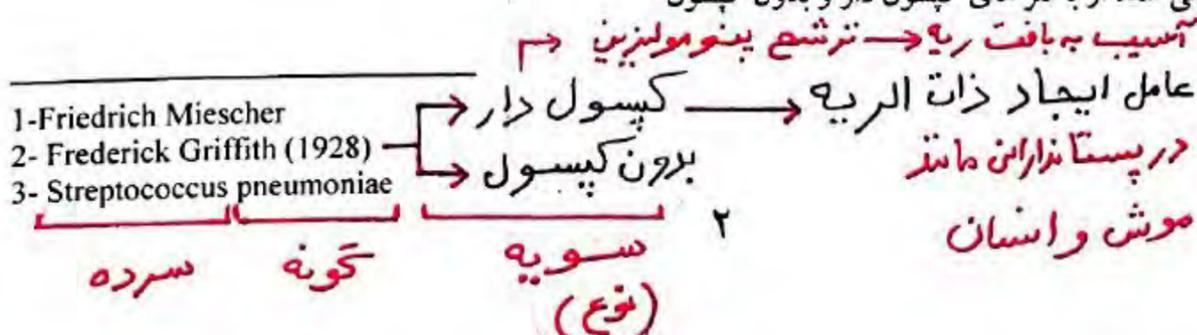
دانشمندی سوئسی به نام میشر در سال ۱۸۶۹ دنا را کشف کرد. او ترکیبات سفید رنگی را از هسته یاخته‌های بدن انسان و اسپریم ماهی استخراج کرد که نسبت نیتروژن و فسفات در این مواد با نسبت آن در ترکیبات سلولی دیگر متفاوت بود. همین باعث شد که میشر این ترکیب زیستی جدید را معرفی نماید. او این ماده را نوکلئیک اسید نامید. چون از هسته (Nucleus) استخراج شده بود و خاصیت اسیدی ضعیفی هم دارد.

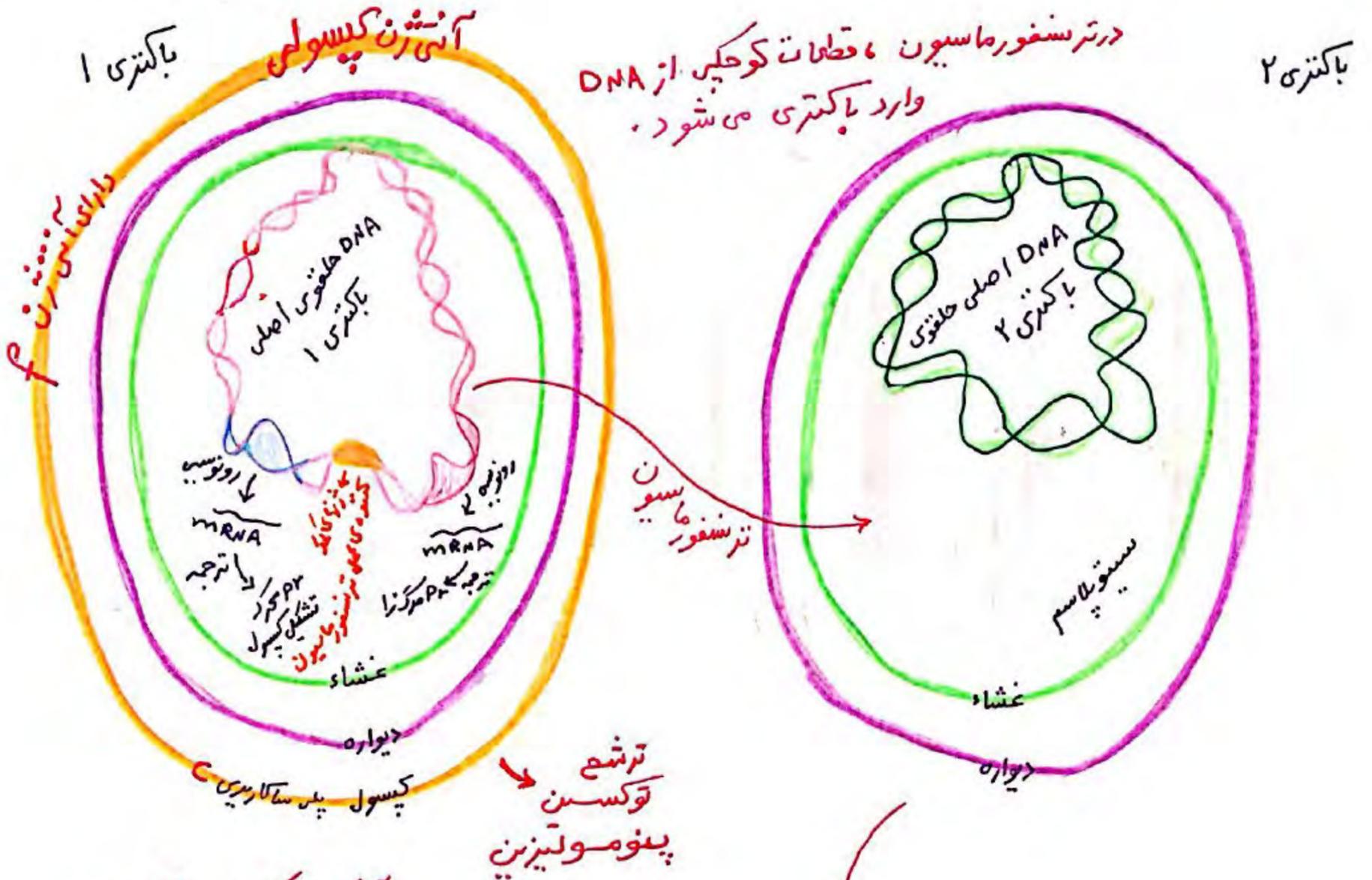
اطلاعات اولیه در مورد ماده وراثتی از کارهای باکتری‌شناسی انگلیسی به نام گریفیت^۱ بدست آمد. او سعی داشت واکنشی بر علیه آنفلوآنزا^۲ تولید کند. در آن زمان فکر می‌کردند عامل این بیماری باکتری به نام استرپتوکوکوس نومونیا^۳ است. این باکتری بیماری ذات‌الریه را باعث می‌شود. گریفیت با دو نوع از این باکتری آزمایشاتی را روی موش انجام داد. نوع بیماری‌زای آن که کپسول دار است در موش ایجاد ذات‌الریه می‌کند و نوع غیر بیماری‌زا و بدون کپسول موش را بیمار نمی‌کند. (شکل ۱)

- پنومونوس زمان رخ صیده که باکتری در فضای آلوتولس تکثیر شود. (و تولید پنومولیزین سم)
- پنومولیزین باعث رشد باکتری و ایجاد باکتریسمی (ورود باکتری به خون) می‌شود.

شکل اضافه می‌شود

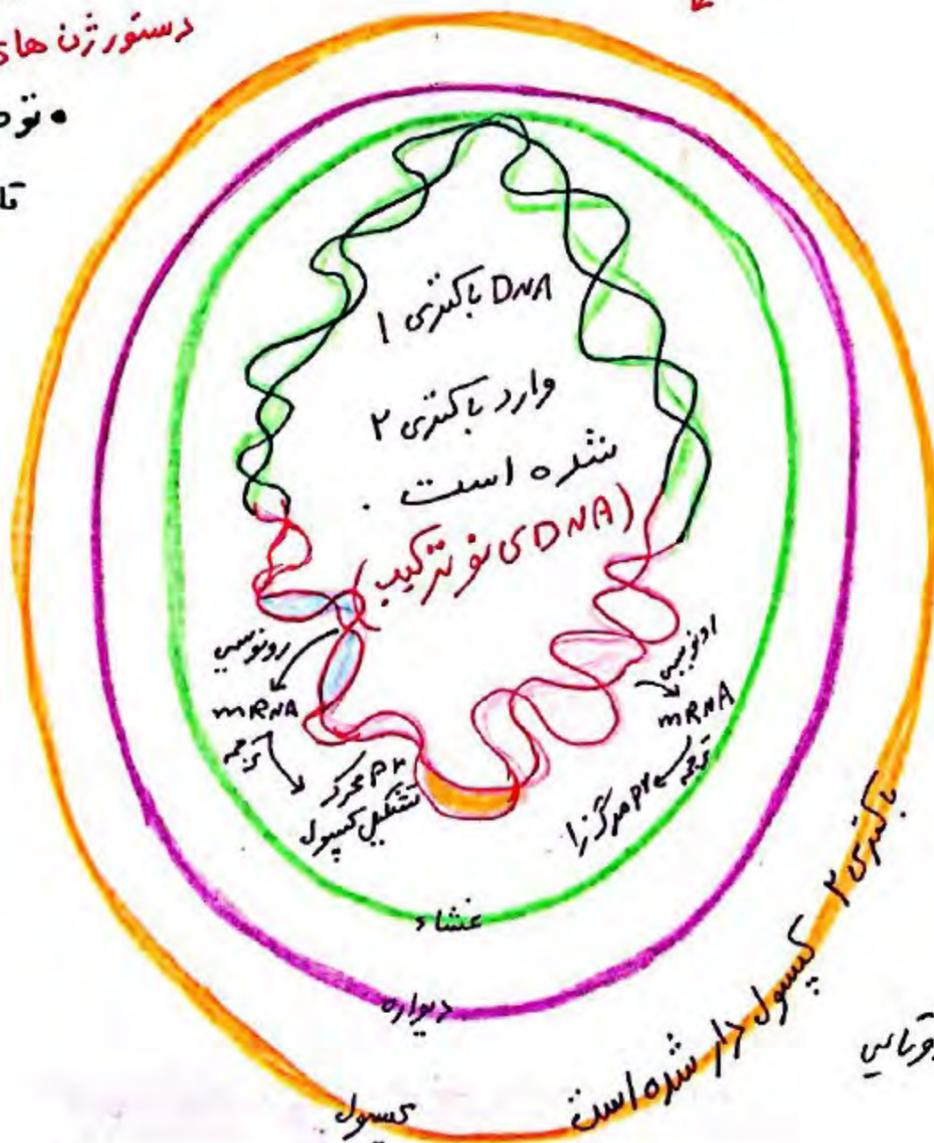
شکل ۱ - شکل رسامی شده از باکترهای کپسول دار و بدون کپسول





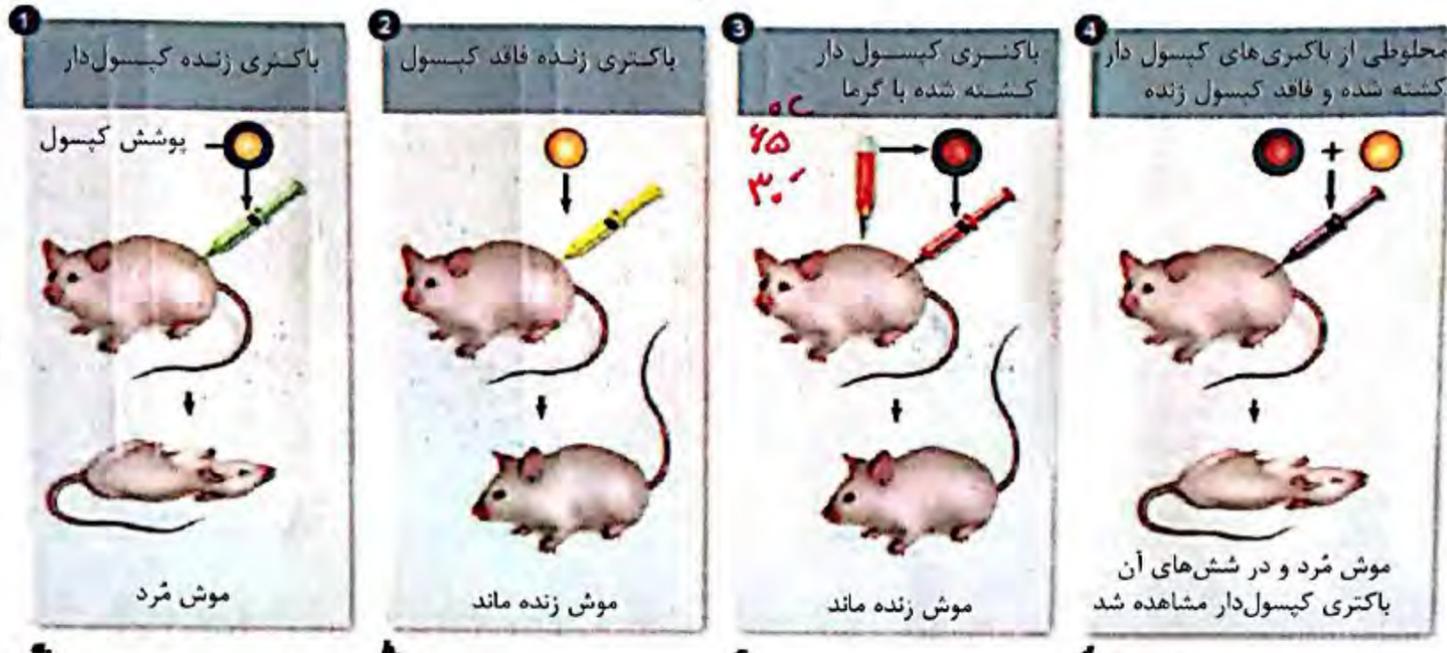
• آنتی ژنهایی که در سطح کپسول قرار گرفته و بیماریزایی می کنند ، با دستور ژن های درون باکتری ساخته شده اند .
• توجه کنید ؛ کپسول به تنهایی قابلیت بیماریزایی ندارد .

• باکتری بدون کپسول زنده قطعات کوچکی از DNA باکتری کپسول دار کشته شده را دریافت می کند ، اما بلافاصله کپسول دار نمی شود زاده های حاصل از تکثیر آن کپسول دار می شوند .



* تکثیر باکتری ها از نوع تقسیم دوقلوی است .

- (۱) تزریق باکتری کپسول دار به موش ← موش مرده
 (۲) " " " " برون کپسول به موش ← موش نمرده
 (۳) " " " " باکتری کپسول دار که با گرما کشته شده + برون کپسول نمرده ← موش نمرده
 (۴) " " " " ترکیب از باکتری کپسول دار کشته شده + برون کپسول نمرده ← موش مرده (نتیجه ترانسفورماسیون، باکتری برون کپسول، کپسول دار شد)
 آزمایش ها و نتایج کار گرفتیت را در شکل ۲ ملاحظه می کنید.



شکل ۲- آزمایشات گرفتیت و نتایج آن: تغییر رنگ سبزها نشان دهنده ترکیبات متفاوت تزریق است.

گرفتیت مشاهده کرد که تزریق باکتری کپسول دار به موش باعث بروز علائم بیماری و مرگ آن می شود در حالی که تزریق باکتری بدون کپسول به موش های مشابه در آنها علائم بیماری بروز نمی کند. در آزمایش دیگری باکتری کپسول دار کشته شده با گرما را به موش تزریق و مشاهده کرد که موش ها نمی میرند. نتیجه گرفت که وجود کپسول عامل مرگ موش ها نیست سرانجام مخلوطی از باکترهای کپسول دار کشته شده با گرما و بدون کپسول زنده را به موش تزریق کرد. برخلاف انتظار مشاهده کرد که موش ها نمرده اند. او در بررسی موش های مرده مقدار زیادی باکتری های کپسول دار زنده مشاهده کرد. مسلماً باکتری های مرده

در کتاب سلولس آلبرتنس و در کیمیا نوشته در خون و در رپون ۲۰۱۷ نوشته در شش

زنده نشده اند بلکه مقداری از باکتری های بدون کپسول تغییر کرده و کپسول دار شده اند.

از نتایج این آزمایش ها مشخص شد که ماده وراثتی می تواند بین سلول ها منتقل شود ولی ماهیت ماده و چگونگی

انتقال آن مشخص نشد. سه نوع انتقال ژن در باکتری ها موجب ترانسفر ژن می شود: ۱. هم یوژن (conjugation) ۲. انتقال بدون واسطه (Transformation) ۳. انتقال با واسطه (Transduction) عامل اصلی انتقال وراثتی دنا است.

کلیه موارد با هم تفاوت دارند. هم یوژن با واسطه انتقال ژن است. در باکتری ها هم یوژن با واسطه انتقال ژن است. در باکتری ها هم یوژن با واسطه انتقال ژن است.

عامل مؤثر در انتقال این صفت حدود ۲۵ سال بعد از گرفتیت ناشناخته ماند. اما نتایج کارهای دانشمندی به نام آوری و همکارانش عامل مؤثر در آن را مشخص کرد. آنها ابتدا مخلوطی از باکتری های کپسول دار کشته شده و بدون کپسول زنده که گرفتیت از آنها استفاده کرده بود را تهیه کردند. سپس از این مخلوط تقریباً همه پروتئین های موجود را جدا کردند. باقی مانده مخلوط را به محیط کشت اضافه کردند. مشاهده شد که انتقال پس نتیجه گیری از آزمایش وراثتی ۲۲ نیست. در باره روش Avery: در مقاله اصلی نوشته شده که با اضافه کردن کلمو فرم، صفت صورت می گیرد. پروتئین ها را جدا کردند و از طرفی اسمی از سائتر یفنیوژن برای جدا کردن سایر اجزاء در این مرحله برده نشده، سایر اجزاء با اضافه کردن تدریجی اتانول و باروش Alcohol fractionation جدا سازی شده اند.

۱. ترکیبات پس از آزار شدن از باکتری های کشته شده، سالم مانده

۲. می توانند از دیواره سلولی باکتری برون کپسول عبور کنند.

۳. یا اجزای ترنسکس باکتری برون کسول، نه ترکیب ترنسکس ایجاد کنند.

1- Oswald Avery (1944)

Oswald Avery

نتیجه:	اورگانولها را نشان	مواد به صورت	مخلوط به دست آمده را	ترکیب با کتریهای
انتقال صفت فقط توسط لایه ای که حاوی DNA بود صورت می گرفت	مواد را به صورت لایه لایه جدا کردند	صورت لایه لایه در آن مدن	ساختریغیوژ کردند	کپسول دار کشته شده + بدون کپسول زنده

• سوئدبرگ ۱۹۲۵ اولین اولترا سائتریغیوژ را اختراع کرد

• در سائتریغیوژ با شیب چگالی با استفاده از سازیم کلراید ، چگالی DNA حدود ۱٫۷ و چگالی پروتئین ۱٫۶ ذکر شده است .
یک محلول غلیظ ، معمولاً

• مقایسه ی چگالی $PR < DNA < RNA$

سلولها، اجزای سلول و مولکولهای بزرگ در اثر سانتریفیوژ کردن به میزان که مربوط به اندازه و شکل، چگالی و وزن مولکولی آنهاست، ته نشین میشوند. (اولتراسانتریفیوژ)



ابتدا کاملاً می‌کوبد و سپس وقتی مخلوط بدست آمده را در یک سانتریفوژ (گریزانه) با سرعت بالا قرار داده و مواد آن را به صورت لایه لایه جدا کردند با استفاده از آنها مشاهده کردند که انتقال صفت فقط با لایه‌ای که در آن دنا وجود دارد انجام می‌شود.

آزمایش در ۳ آوری

نتایج این آزمایشات انکارناپذیر بود و آوری و همکارانش را به این نتیجه رساند که عامل اصلی مؤثر در این انتقال دنا است و به عبارت ساده‌تر دنا همان ماده وراثتی است. با این حال نتایج بدست آمده مورد قبول عده‌ای قرار نگرفت چون بسیاری از دانشمندان این عقیده را داشتند که پروتئین‌ها ماده وراثتی هستند.

در آزمایش‌های دیگری عصاره‌ی باکتری‌های کپسول‌دار را استخراج و آن را به چند قسمت تقسیم کردند. به هر قسمت آنزیم تخریب کننده یک ماده آلی را اضافه کردند. هر کدام را به محیط کشت حاوی باکتری بدون کپسول منتقل و اجازه دادند تا فرصتی برای انتقال صفت و رشد و تکثیر داشته باشند. مشاهده شد که در همه ظروف ^{نرسفورماسیون} صورت می‌گیرد به جز ظرفی که حاوی آنزیم تخریب کننده دنا است.

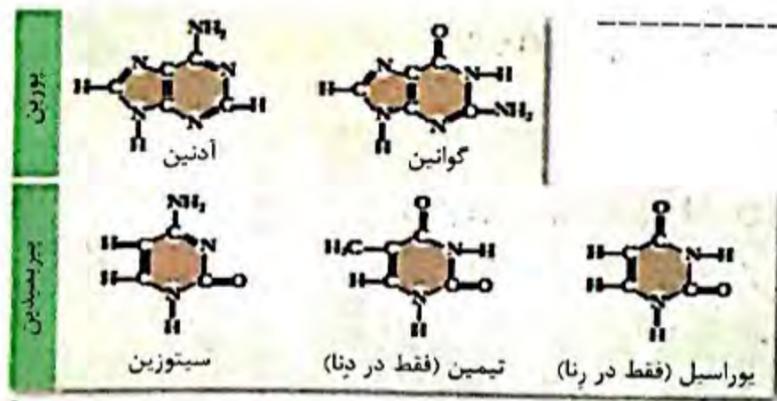
آزمایش سوم آوری

ساختار اسید های نوکلئیک

نوکلئیک اسیدها که شامل دئوکسی ریبونوکلئیک اسید (دنا - DNA) و ریبونوکلئیک اسید (رنا - RNA) هستند

همه پلی‌مرهایی از واحدهایی تکرارشونده به نام نوکلئوتید می‌باشند. با توجه به شکل ۴ هر نوکلئوتید شامل سه بخش است.

یک قند ۵ کربنه یا پنتوز که در دنا دئوکسی ریبوز و در رنا ریبوز است. دئوکسی ریبوز یک اکسیژن کمتر از ریبوز دارد. بخشی که دارای یک تا سه گروه فسفات (PO_4) است و یک باز آلی نیتروژن‌دار که می‌تواند پورین باشد که ساختار دو حلقه‌ای دارند شامل آدنین (A) یا گوانین (G) یا می‌تواند پیریمیدین باشد که ساختار تک حلقه‌ای دارد شامل تیمین (T) سیتوزین (C) و یوراسیل (U). در دنا باز یوراسیل کاربرد ندارد و به جای آن تیمین وجود دارد.



شکل - انواع بازهای آلی نیتروژن‌دار

پورین (دو حلقه‌ای) : G گوانین - A (آدنین)
پیریمیدین (تک حلقه‌ای) : C سیتوزین - U (یوراسیل) - T (تیمین)

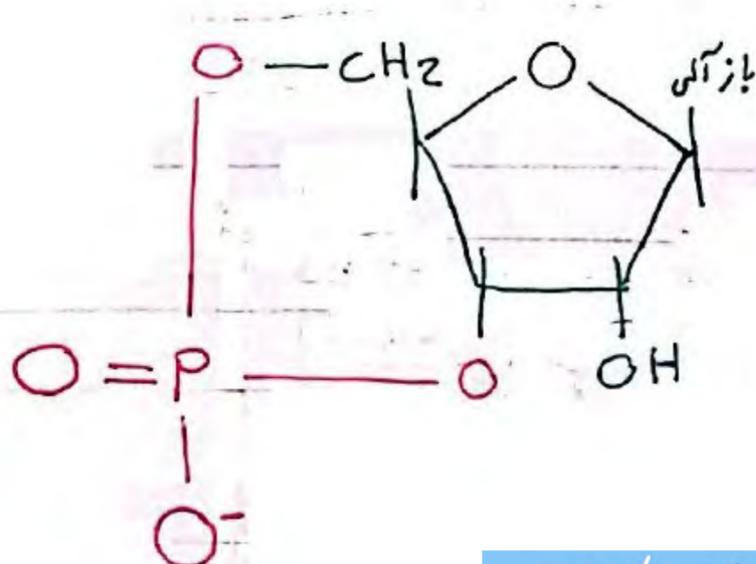
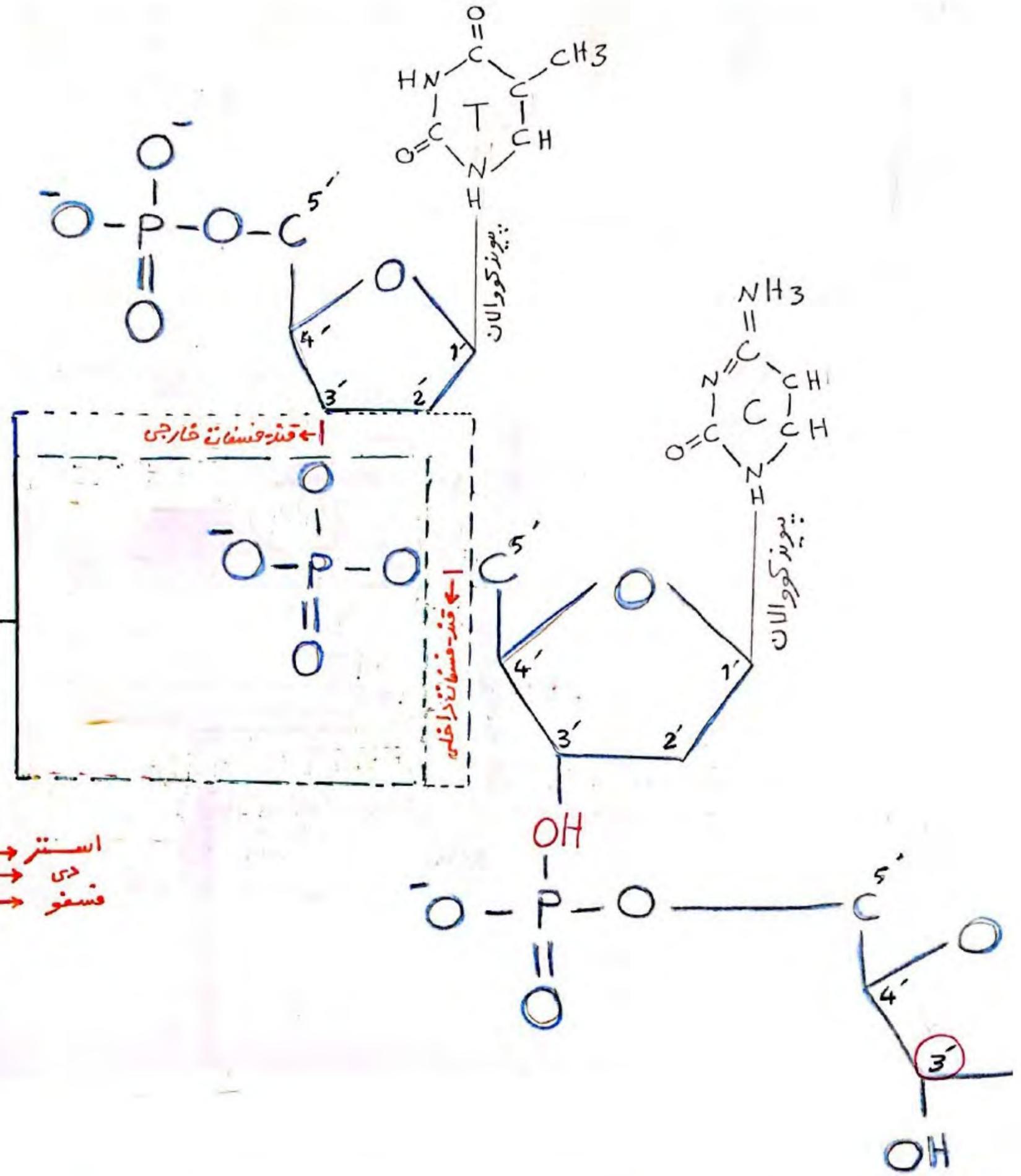
A-T-G-C : DNA در
A-U-G-C : RNA در

توجه

استثنا: در tRNA، بازهای یوراسیل تغیر یافته مشاهده می‌شود مثل سودر یوریدین و تیمین

Phosphodiester bond

(PDE) استتر
دی
فسفو



• فرمول Cyclic-AMP
• CAMP در برخی موارد به عنوان یک دومین (در روند عملکرد هورمون) عمل می کند.

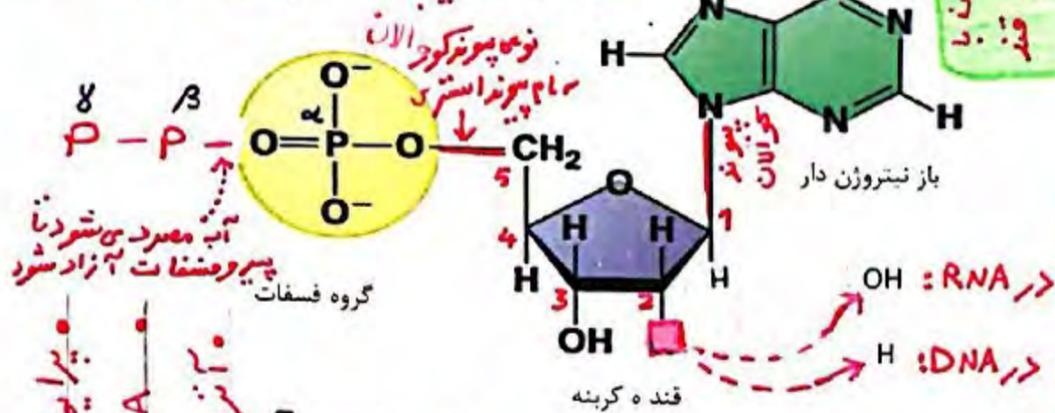
• افزودن شدن نوکلئوتید به زنجیره پلی نوکلئوتیدی در حال رشد با طول n نوکلئوتید، به صورت واکنش زیر نمایش داده می شود:

$$XTP + (XMP)_n \rightarrow (XMP)_{n+1} + P-P$$

برای تشکیل یک نوکلئوتید باز آلی نیتروژن دار و گروه فسفات به دو طرف قند با پیوند کوآلان متصل می شوند

قند ریبوز (در RNA) $C_5 H_{10} O_5$

قند دکسوز (در DNA) $C_5 H_{10} O_4$



(شکل ۴) پیوند کوآلان با کربن ۱ قند

• شرط افزودن شدن نوکلئوتید به نوکلئوتید قبلی، وجود $3'OH$ آزاد است.

• DNA پلیمریز III فقط در صورت وجود $3'OH$ آزاد، قادر به اضافه کردن نوکلئوتید به نوکلئوتید قبلی (با داشتن الگو) است.

• آنزیمی که می تواند بدون وجود $3'OH$ آزاد با داشتن الگو، نوکلئوتیدهای RNA را در زنجیره قرار دهد پرایماز است.

نوکلئوتیدها با پیوند فسفودی استر به هم متصل و رشته های پلی نوکلئوتیدی را می سازند. در پیوند فسفودی استر

فسفات یک نوکلئوتید به هیدروکسیل قند نوکلئوتید دیگر متصل می شوند. رشته های پلی نوکلئوتیدی یا به تنهایی

نوکلئیک اسیدها را می سازند مثل RNA یا به صورت دوتایی در کنار هم قرار گرفته و نوکلئیک اسیدها را می سازند مثل DNA.

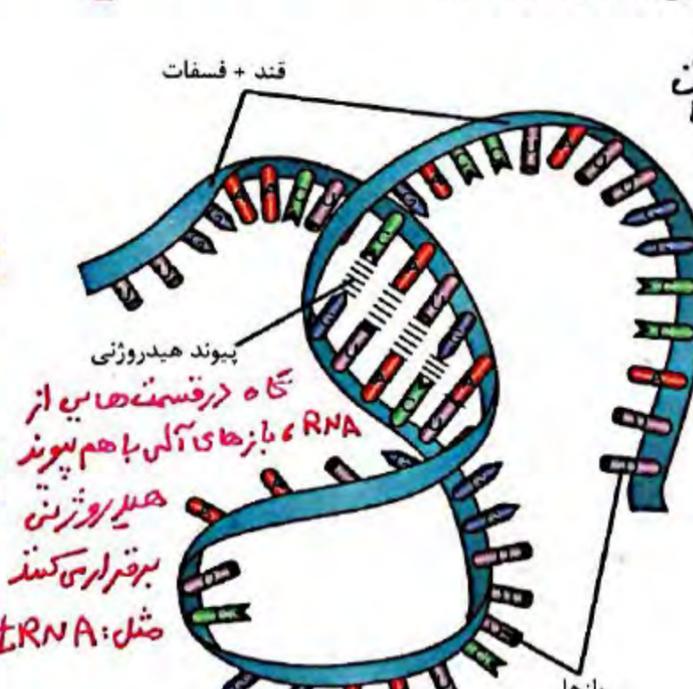
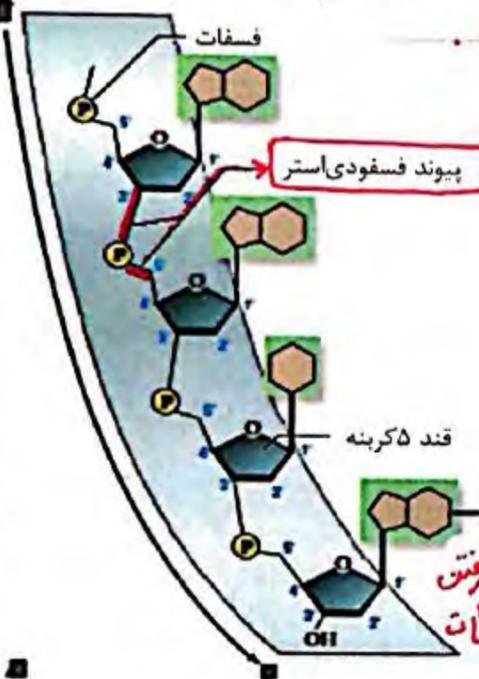
شکل ۴ و ۵ RNA ← تک رشته ای پلی نوکلئوتیدی [بدون در نظر گرفتن

DNA ← دو رشته ای پلی نوکلئوتیدی [برضی استثنائات

شکل ۴ - تشکیل رشته نوکلئیک اسید

قند یک نوکلئوتید:

- با کربن ۱ به باز آلی متصل است
- با کربن ۵ به گروه فسفات متصل است
- با کربن ۳ به نوکلئوتید مجاور متصل می شود.



شکل ۵ - DNA: استثناء: DNA تک رشته ای در فاژ M13 و G4 RNA دو رشته ای در روتاتوویروس

شکل ۵ - DNA دورشته ای و RNA تک رشته ای

پرایماز DNA پلیمریز III بعد از عملکرد پرایماز، با وجود $3'OH$ آزاد، می تواند ادامه رشته را بسازد. (با داشتن الگو) آنزیم هایی که DNA تک رشته ای را می سازند به الگو احتیاج ندارند مثل آنزیم پلی A پلیمریز - پلی نوکلئوتید پرایمازها

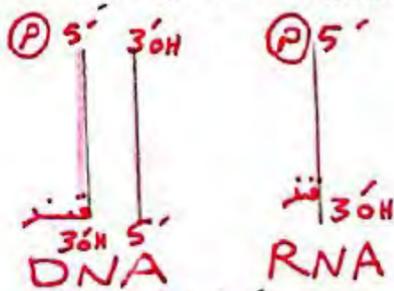
در بیشتر باکتری ها
در بعضی ویروس ها
در یوکاریوت ها (دررون میتوکندری - دررون کلروپلاست)

بیشتر بدانید

در مورد پیوند فسفودی استر اضافه می شود

دو انتهای رشته های پلی نوکلئوتید نیز می توانند با پیوند فسفودی استر به هم متصل شوند و نوکلئیک اسید **حلقوی** را ایجاد کنند برای مثال در باکتری ها دنا به صورت حلقوی است. در نوکلئیک اسیدهای خطی یا

گروه فسفات در یک انتها و گروه هیدروکسیل در انتهای دیگر آزاد است. بنابراین رشته های دنا و رنا خطی جدا از اندازه و تعداد مونومرهایشان همیشه دو سر متفاوت دارند.



دفعه و ترتیب

ساختار ملکولی دنا

در ابتدا تصور می شد که چهار نوع نوکلئوتید موجود در دنا به نسبت مساوی در سراسر مولکول توزیع شده اند. بر این اساس دانشمندان انتظار داشتند که مقدار 4 نوع باز در تمامی ملکول های دنا از هر جاندار که به دست آمده باشد با یکدیگر برابر باشد.

اما مشاهدات و تحقیقات شارگاف^۱ بر روی دناهای طبیعی نتیجه زیر را بدنبال داشت:

مقدار آدنین موجود در دنا همیشه با مقدار تیمین برابر است و مقدار گوانین در آن همیشه با مقدار سیتوزین

برابری می کند. تحقیقات بعدی دانشمندان دلیل این برابری نوکلئوتید ها را مشخص کرد

بیشتر بدانید **چرا بلزها که ممکن در شمارش زیر، کاملاً برابر هم نبودند؟ به علت ۱. خطای اندازه گیری و شمارش**

۲. وجود تلومر

۳. جهش های احتمالی

برخی از نتایج آزمایش های شارگاف (درصد)

۴. وجود مناطق 3 یا 4 رشته ای
DNA →

گونه	A	T	G	C	$\frac{A+G}{T+C}$	$\frac{A+T}{G+C}$
انسان	۳۱/۰	۳۱/۵	۱۹/۱	۱۸/۴	۱/۰۰	۱/۶۶
مگس سرکه	۲۷/۳	۲۷/۶	۲۲/۵	۲۲/۶	۰/۹۹	۱/۲۲
ذرت	۲۵/۶	۲۵/۳	۲۴/۵	۲۴/۶	۱/۰۰	۱/۰۴

مشاهدات Chargaff: $A=T$ $G=C$ $\frac{A}{T} = \frac{G}{C} = 1$

در مقایسه ی انسان و مگس سرکه و ذرت ↓

بیشترین A و T در انسان (۳۱)
بیشترین G و C در ذرت (۲۴)

$\frac{A+G}{T+C} = 1$ در انسان
 $\frac{A+G}{T+C} = 1$ در مگس سرکه
 $\frac{A+G}{T+C} = 1$ در ذرت

کمترین A و T در ذرت (۲۵)
کمترین G و C در انسان (۱۸-۱۹)

$\frac{A+T}{G+C} \rightarrow$ همواره مجموع A و T بیشتر از G و C بوده

۱- Erwin Chargaff کل نوکلئوتیدها $2A+2C =$

کل نوکلئوتیدها $2T+2C =$

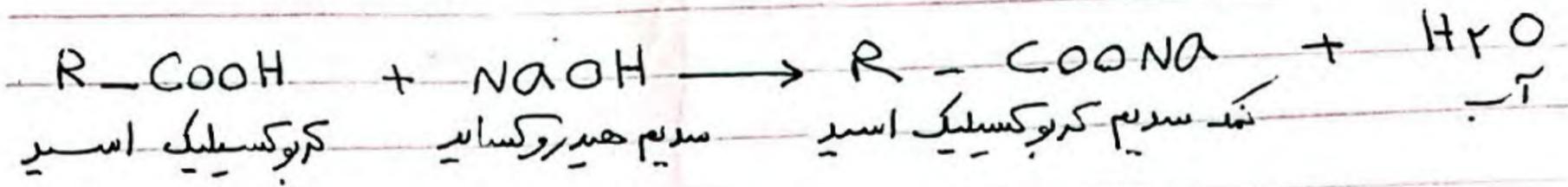
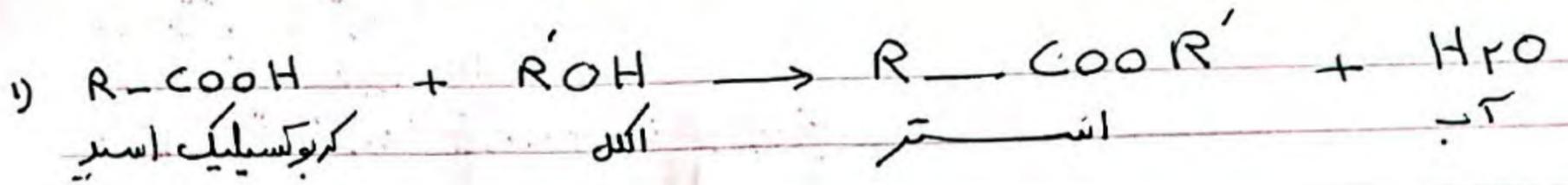
$2A+2G =$

$2T+2C =$

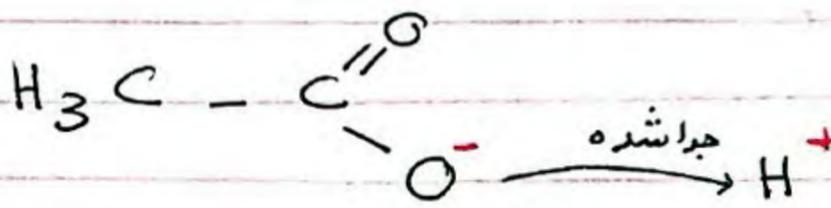
در انسان بیشترین (۱/۶۶)
در مگس سرکه (۱/۲۲)
در ذرت کمترین (۱/۰۴)

نسبت $\frac{A+T}{G+C}$

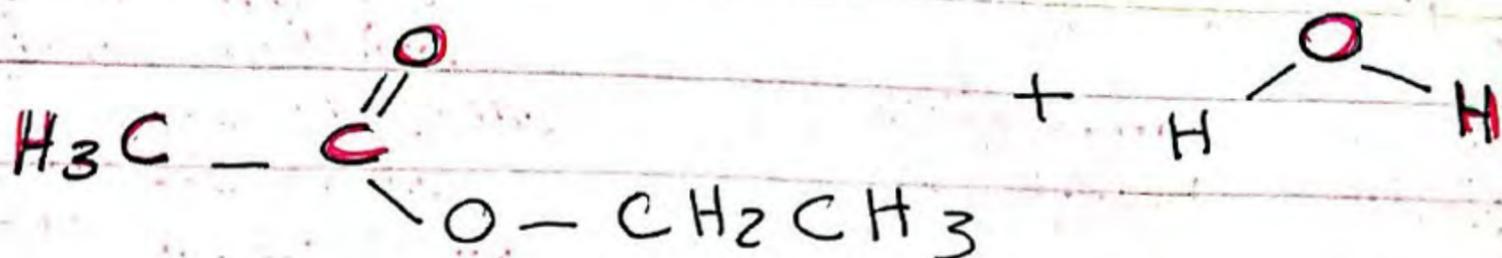
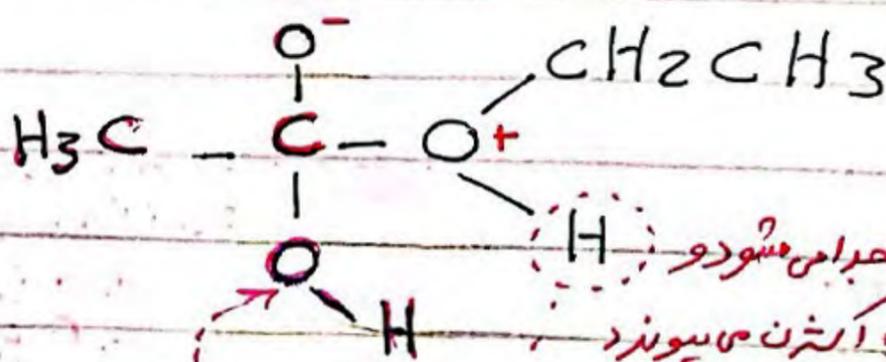
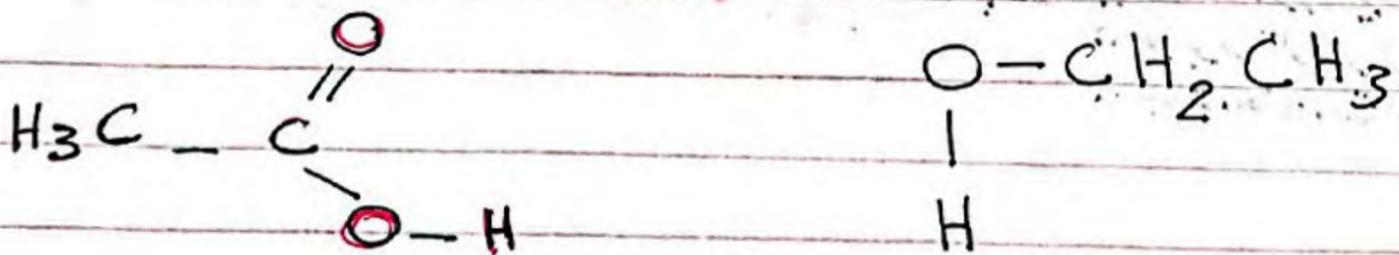
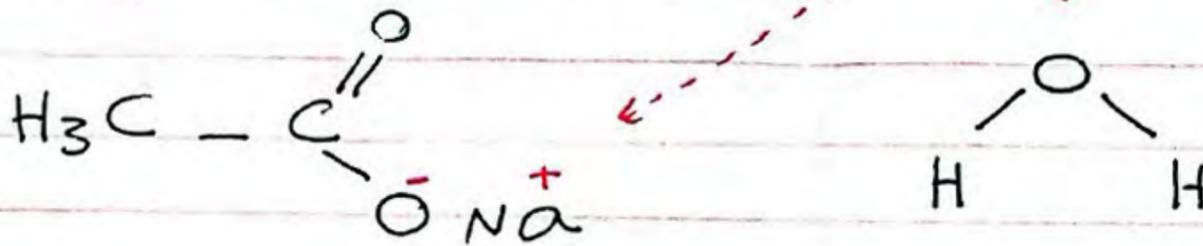
$A=T$ $G=C$



3) از H جدا می شود



(۴) Na^+ به سمت O می رود
 H^+ به سمت OH^- می رود





b.

استفاده از پرتو X برای تهیه تصویر از دنا (روزالین فرانکلین و موریس ویلیکینز) با استفاده از تصاویر تهیه شده با کمک پرتو X نیز نتایج بدست آمد (شکل ۶)

مهمترین نتیجه بدست آمده از آن این بود که دنا حالت مارپیچی دارد و بیش از یک رشته دارد با استفاده از این روش ابعاد ملکول ها را نیز تشخیص دادند.

• اشعه X را به بلور DNA (جامد) تابانند. پس از برخورد به DNA، اشعه متضرق شده و در روی فیلم حساسه عکاسی (که در پشت بلور DNA قرار داده شده بود) شکل مقابل را ایجاد کرد.

شکل ۶- تصویر تهیه شده با پرتو X از دنا

مدل ملکولی دنا



واتسون^۱ و کریک^۲ با استفاده از نتایج آزمایش‌های شارگاف و داده‌های حاصل از تصاویر تهیه شده با پرتوهای X و با استفاده از یافته‌های خود مدل ملکولی را ساختند که باعث شد سال ۱۹۵۳ جایزه نوبل را دریافت کنند. نتایج حاصل از این تحقیقات مورد تأیید تحقیقات امروزی نیز هست.

در کتاب دربربیتس - سال ۱۹۵۳ - در کتاب دکتر مجید - سال ۱۹۴۲

شکل ۷- واتسون و کریک و مدل دنا پیشنهادی آنها

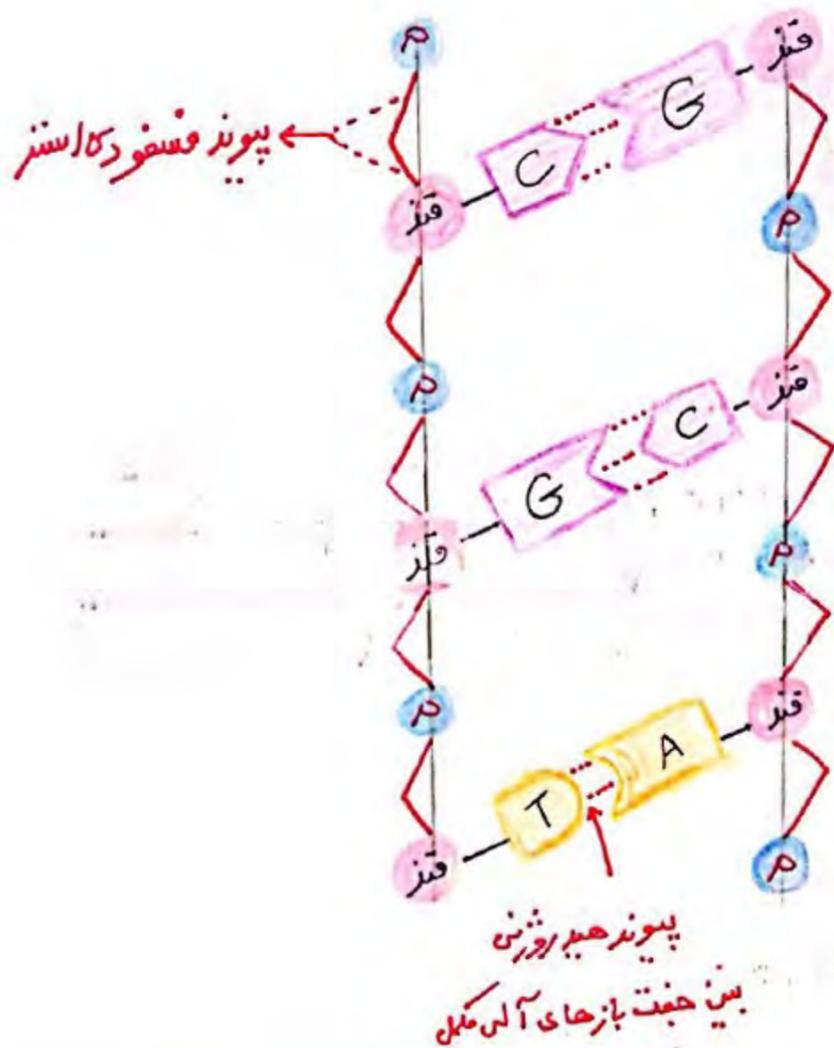
دو مورد وجود دارن که سبب پایداری مارپیچ DNA می‌شوند: (۱) نیروهای پیوندهای هیدروژن (۲) نیروهای انباشتگی حفته بازها

(base pair stacking forces)

پیوندهای هیدروژنی بین جفت بازهای آلان مکمل
در ناحیهی پله های نردبان مارپیچی DNA
وجود دارند و یکی از عوامل هستند که سبب
می شوند دو رشته ی DNA در کنار هم
باقی بمانند. بین A و T ۲ تا
تعداد پیوندهای هیدروژنی بین G و C ۳ تا

$$\text{تعداد پیوندهای هیدروژنی} = \left(\begin{matrix} \text{تعداد} \\ \text{A} \\ \text{T} \end{matrix} \times 2 \right) + \left(\begin{matrix} \text{تعداد} \\ \text{G} \\ \text{C} \end{matrix} \times 3 \right)$$

تعداد نوکلئوتیدها = تعداد پیوندهای هیدروژنی = تعداد نوکلئوتید G و یا C



$$\begin{aligned} \text{تعداد پیوندهای هیدروژنی در DNA} &= 2A + 3G \\ &= 2A + 3C \\ &= 2T + 3G \\ &= 2T + 3C \end{aligned}$$

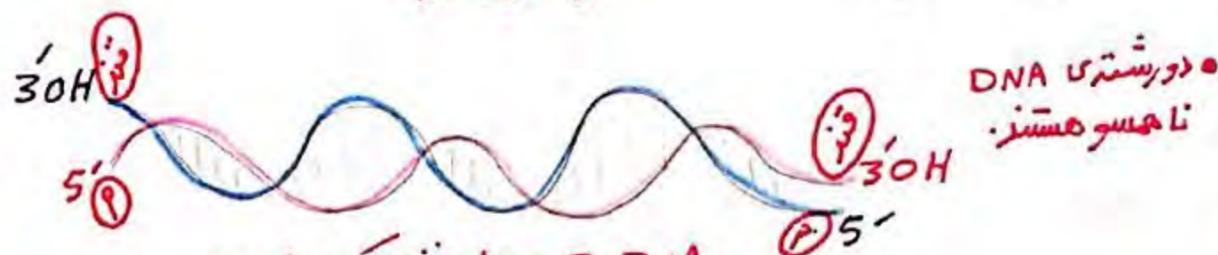
تعداد رشته (۱) - تعداد نوکلئوتید = (در یک رشته ی پلی نوکلئوتیدی خطی) تعداد پیوندهای فسفودی استر
تعداد رشته (۲) - تعداد نوکلئوتید = (در DNA خطی)
تعداد نوکلئوتید = (در DNA حلقوی)

- مار پیچ راست گردان
- مار پیچ DNA انعطاف پذیر است ، پس می تواند ضربه شود .



Major groove (شیار بزرگ)
minor groove (شیار کوچک)

نکات کلیدی مدنظر در این مدل: **ناهمسو**
- هر ملکول DNA در حقیقت از دو رشته پلی نوکلئوتیدی ساخته شده است که به دور محوری فرضی پیچیده شده و ساختار مارپیچ دو رشته ای را ایجاد می کند. این مارپیچ اغلب با یک نردبان پیچ خورده مقایسه می شود که در آن دو رشته نرده های کنار نردبان را تشکیل می دهند و در آن قند و فسفات تکرار شده و با پیوند فسفودی استوری به هم وصل شده اند. پله های این نردبان نیز بازهای آلی **مکمل** متصل به قند هستند که هر کدام با باز آلی رشته دیگر پیوند هیدروژنی تشکیل می دهند. شکل ۸



B. DNA = مدل فضا پیکر DNA

• در هر دور DNA = هر دور ۵/۵ - ۱۰ - حقت باز

شکل ۸ - مدل مارپیچ دو رشته ای DNA

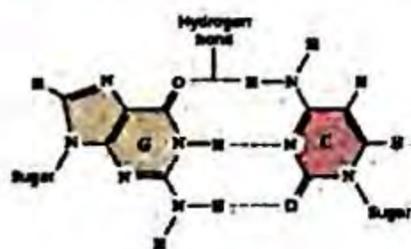
• حاصلی هر دو باز آلی ۳،۴ نافرمتن
• در هر دور DNA ۳،۴ - ۳،۴ نافرمتن

- پیوندهای هیدروژنی بین بازها، دو رشته DNA را در مقابل هم نگه می دارد. این پیوندها بین جفت بازها به صورت

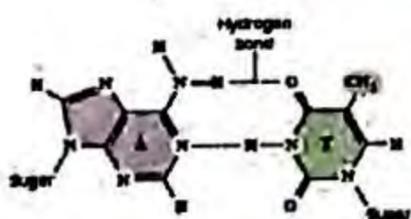
اختصاصی تشکیل می شوند. آدنین (A) با تیمین (T) در کنار هم قرار میگیرند و گوانین (G) با سیتوزین (C) **مکمل بودن این بازها به اندازه و شکل و ترکیب شیمیایی آنها بستگی دارد**. جفت می شوند. به این جفت بازها **بازهای مکمل** می گویند. بین C و G بیشترین پیوند هیدروژنی تشکیل می

شود. مکمل بودن بازهای آلی نتایج آزمایشات شارگف را نیز تایید می کند. **تعداد پیوندهای هیدروژنی بین C و G ۳ است** **بین A و T ۲ است**

بیشتر بدانید



۳ پیوند هیدروژنی بین C و G



۲ پیوند هیدروژنی بین A و T

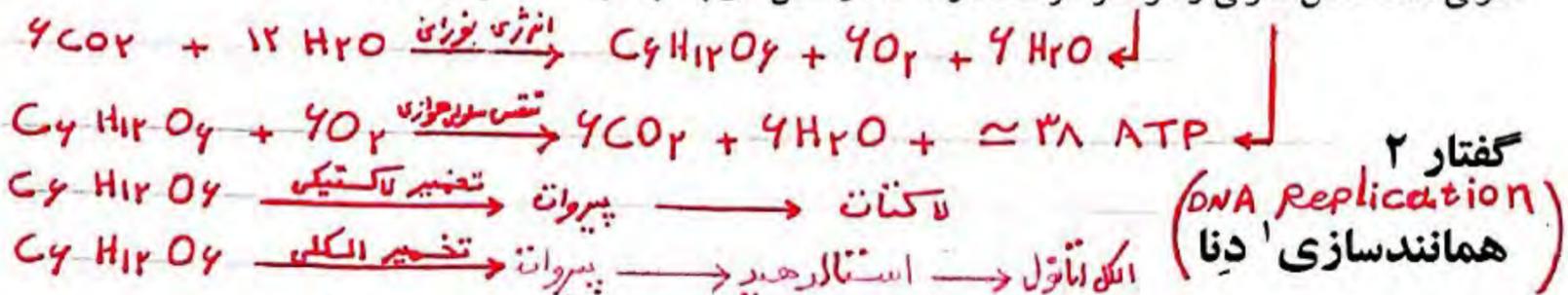
شکل ... بازهای مکمل (بیشتر بدانید است)

توجه: سایر جفت بازها نیز می توانند مکمل شوند اما پیوندهای هیدروژنی آنها، چندان پایدار نیست.

- نقش نوکلئوتید**
۱. ساخت اسید نوکلئیک : به منظور انتقال صفات وراثتی
 ۲. ساخت ATP : شکل رایج انرژی شیمیایی قابل مصرف در سلول
 ۳. ساخت مولکولهای ناقل الکترون (مثل NAD و FAD و NADP) : به منظور پیشبرد واکنش های نظیر تنفس سلولی (برای تولید انرژی) و فتوسنتز (برای تولید مواد آلی)
- دخالت نوکلئوتیدها در واکنش های سوخت و سازی**

علاوه بر اینکه نوکلئوتیدها واحدهای سازنده دنا و رنا هستند نقش های اساسی دیگری نیز در یاخته برعهده دارند. برای مثال نوکلئوتید آدنین دار ATP انرژی رایج در سلول است و سلول در فعالیت های مختلف از آن استفاده می کند.

انواع دیگری از ملکولها که نوکلئوتیدها در ساختار آنها شرکت دارند و به صورت ناقل الکترون در فرایندهای سلولی مانند تنفس سلولی و فتوسنتز شرکت دارند که در فصل های بعد با آنها آشنا خواهید شد.



با توجه به اینکه دنا به عنوان ماده وراثتی ، حاوی اطلاعات یاخته است چگونه این اطلاعات برای انتقال به سلول های دیگر آماده می شوند ؟ مدل واتسون و کریک و وجود رابطه مکملی بین بازها این امکان را بوجود می آورد که از روی هر یک از رشته ها، رشته ای مکمل ساخته شود. به ساخته شدن ملکول دنا جدید از روی دنا قدیمی **هماندسازی** گویند. اگر چه با وجود رابطه مکملی بین بازها تا حد زیادی هماندسازی دقیق دنا

قابل توضیح است ولی بر همین اساس هم طرح های مختلفی برای هماندسازی دنا پیشنهاد شده بود. شکل ۹ در مکانیسم حفاظتی، دورشته ای دختر یک مولکول دوگانه ای (duplex) جدید، مولکول DNA را ساخته و مارپیچ والرن دست نخورده می ماند.



- ۱- هماندسازی حفاظتی - در این طرح هر دو رشته دنا قبلی به صورت دست نخورده باقی مانده و وارد یکی از یاخته های حاصل از تقسیم می شوند و دو رشته دنا جدید هم وارد یاخته دیگر می شود. چون دنا اولیه در یکی از یاخته ها حفظ شده است به آن هماندسازی حفاظتی می گویند.
- ۲- هماندسازی نیمه حفاظتی - در این طرح در هر یاخته یکی از دو رشته دنا آن مربوط به دنا اولیه است و رشته دیگر با نوکلئوتیدهای جدید ساخته شده است. چون در هر یاخته حاصل فقط یکی از دو رشته دنا قبلی وجود دارد به آن نیمه حفاظتی می گویند.

شکل ۹- طرح های مختلف برای هماندسازی

- در مکانیسم نیمه حفاظتی رشته های والرن موقتاً از هم جدا شده و هر یک از رشته ها با رشته ای دخترتری جفت شده با آن، یک مولکول دوگانه را می سازد.
- طی آزمایشات معتبر انجام شده توسط مرلسون و اسال، شواهدی قطعی حاصل شد که DNA دورشته ای توسط مکانیسم نیمه حفاظتی هماندسازی می کند. (تکثیر DNA از محیط N^{15} به محیط N^{14} برده شد - E.Coli)
- بنابر این رونویسی یک رشته DNA الگو به یک رشته ای مکمل ویژگی عمومی هماندسازی DNA^۲ رونویسی DNA به RNA و ویژگی^۳ ترمیم و نوترکیب DNA

لودیش: بعضی ویروس ها، مولکول های RNA تک رشته ای به عنوان الگو جهت ساخت RNA مکمل و یا رشته های DNA عمل می کنند.

۳- همانندسازی غیر حفاظتی. در این طرح هر کدام از دناهای حاصل، قطعاتی از رشته های قبلی و رشته های جدید را به صورت پراکنده در خود دارند.

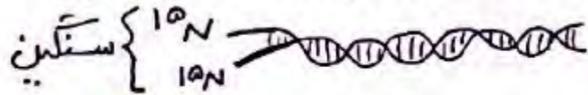
کدام طرح مورد تأیید قرار گرفته است؟

Stahl meselson

مزلسون^۱ و استال^۲ با بکارگیری روش علمی پاسخ این پرسش را بدست آوردند. آنها فرضیه های متعدد ارائه شده را در نظر گرفتند و با توجه به امکانات، آزمایشی را طراحی کردند تا بتوانند به پاسخ قانع کننده ای برسند. برای شروع کار آنها می بایست بتوانند رشته های دنا نوساز را از رشته های قدیمی تشخیص دهند. آنها با این هدف دنا را با استفاده از ایزوتوپ سنگین نیتروژن (N^{15}) نشانه گذاری کردند.

دناهایی که با N^{15} ساخته می شوند نسبت به دنا معمولی که در نوکلئوتیدهای خود N^{14} دارد چگالی بیشتری دارند بنابراین با ابزارهایی مثل سانتریفوژ سرعت بالا^۳ می توان آنها را از هم جدا کرد.

آنها ابتدا باکتری های را در محیطی حاوی N^{15} کشت دادند. N^{15} در ساختار بازهای آلی نیتروژن دار که در ساخت دنا باکتری شرکت می کنند وارد شدند. پس از چندین مرحله رشد و تکثیر در این محیط، باکتری های تولید شدند که دنا سنگین تری نسبت به باکتری های اولیه داشتند.



پس این باکتری ها را به محیط کشت حاوی N^{14} منتقل کردند. با توجه به اینکه تقسیم باکتری ها حدود ۲۰ دقیقه طول می کشد در فواصل ۲۰ دقیقه ای باکتری ها را از محیط کشت جدا و بررسی نمودند.

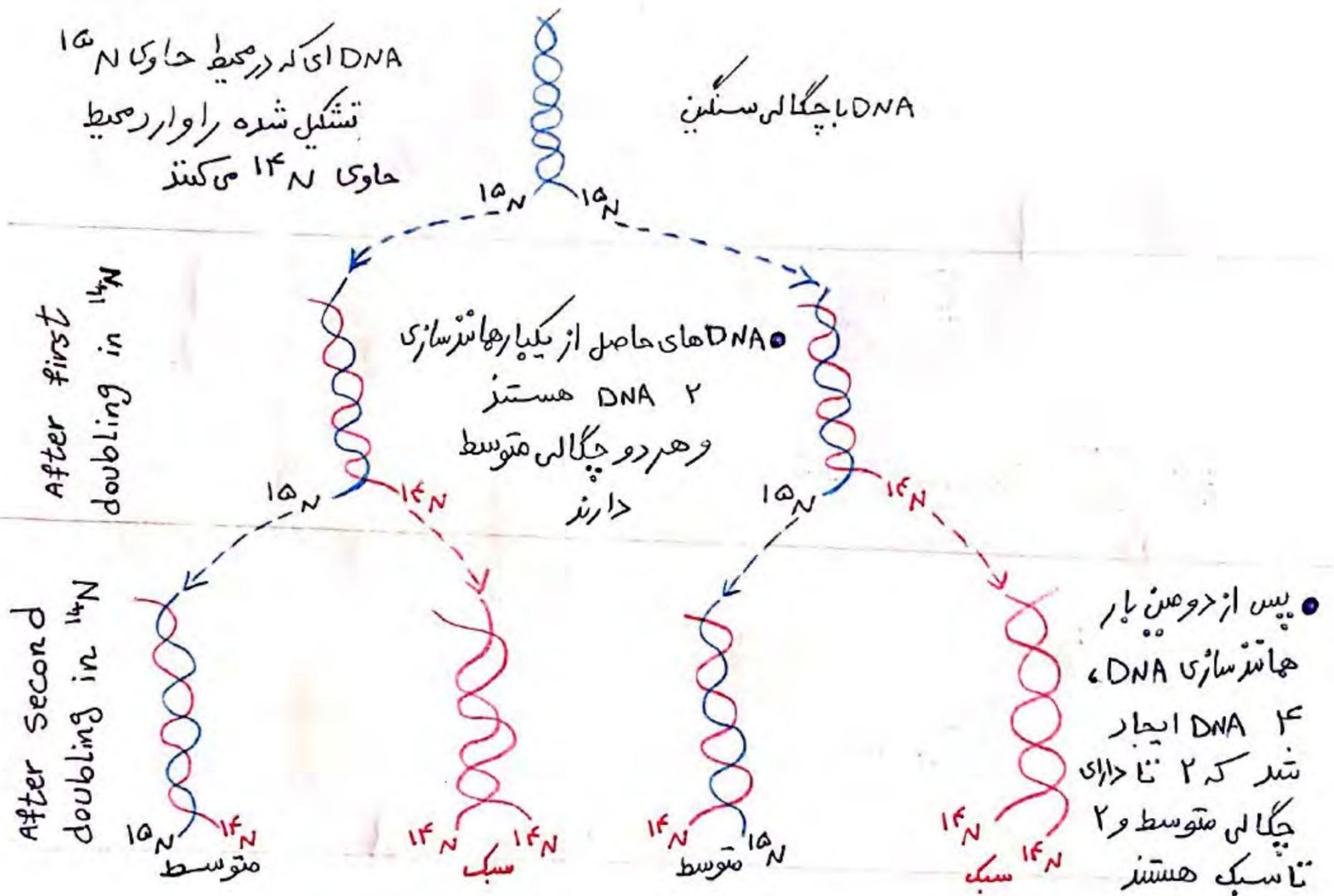
برای سنجش چگالی دناها در هر فاصله زمانی دنا باکتری ها را استخراج و در محلولی از سزیم کلراید در سرعتی بسیار بالا سانتریفوژ می کردند.

یک محلول غلیظ برای ایجاد شیب خلطت
عظمت آن از پایین به بالا کم می شود.

با توجه به اینکه در سانتریفوژ میزان حرکت مواد در محلول براساس چگالی است و مواد سنگین تر تندتر حرکت می کنند. توانستند براساس میزان حرکت نوع دنا تشکیل شده در هر مرحله را تشخیص دهند. مراحل آزمایش مزلسون و استال و نتایج آن را در شکل ... می بینید.

همانطور که مشاهده می کنید نتایج این آزمایش نشان داد که همانندسازی دنا، نیمه حفاظتی است.

۱- Meselson
۲- Stahl
۳- Ultracentrifuge



طبق مثال فوق :

$$\frac{2}{2^n \times 2} = \text{چند نسبت از رشته های DNA}$$

پس از n بار همانندسازی مادری هستند؟ (راديو اکتیو)

همه DNA ها ۲ رشته دارد

$$\frac{2^n - 2}{2 \times 2} = \text{چند نسبت از رشته های DNA اولیه}$$

پس از n بار همانندسازی غیر راديو اکتیو هستند؟

دفعات همانندسازی n ← تعداد DNA پس از n = ۲ بار همانندسازی

$$X_n = X_0 \times 2^n$$

تعداد DNA حاصل از n بار همانندسازی n مولکول DNA

تعداد DNA اولیه

$$X_n = X_0 \times 2^n$$

Q. در صورت وارد کردن سلول دارای DNA N^{15} به محیط غیر رادیواکتیو (N^{14})، پس از ۳ نسل هاست سازی :
الف / چند DNA در خود رشته‌ی رادیواکتیو دارند ؟
ب / چه نسبتی از DNA ها دارای چگالی سبک هستند ؟

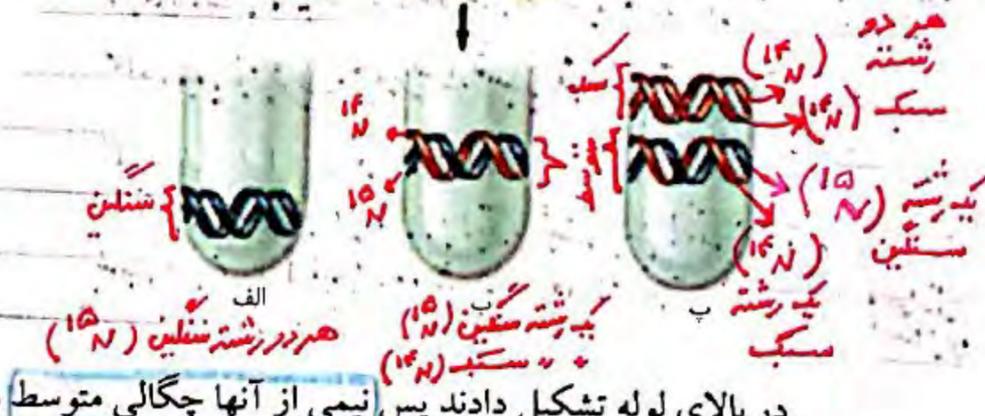


ابتدا: باکتری Ecoli که در محیط N^{15} رشد و تکثیر شده است.

محیط حاوی: N^{15} + سبک های آمونیم
نمای E ابتدا در محیط N^{15} رشد داده شد تا زمانی که تمامی DNA سلولی نشان (رشد) در این روش، ماکرومولکولها بر اساس چگالی مخصر نشان از هم جدا می شوند.



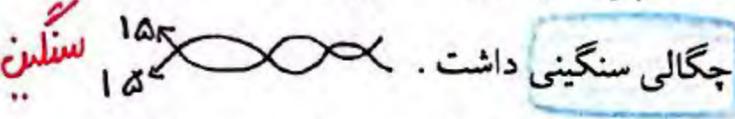
نمونه های تهیه شده در سه زمان متفاوت
بار دوم همانند سازی DNA
بعد از ۲۰ دقیقه (دور اول همانند سازی)
بعد از ۴۰ دقیقه (دور دوم همانند سازی)
نمونه ها سانتریفیوژ شدند و بر اساس چگالی از هم جدا شدند



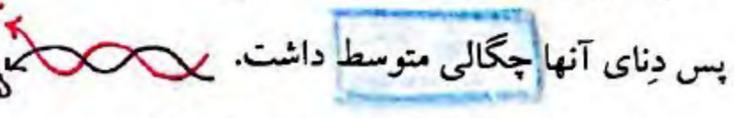
هر دو رشته (N^{14}) سبک
یک رشته (N^{15}) سنگین
یک رشته (N^{14}) سبک
الف هر دو رشته سنگین (N^{15})
ب یک رشته سنگین (N^{15}) و یک رشته سبک (N^{14})
پ نیمه از آنها چگالی متوسط

شکل..... آزمایشات مزلسون و استال و نتایج بدست آمده :

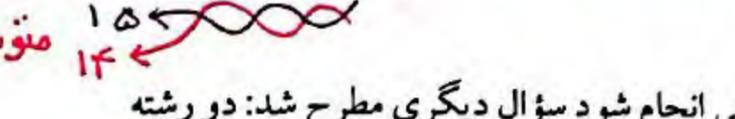
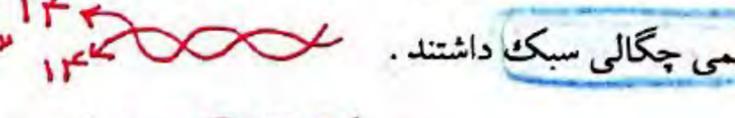
الف - دِنای باکتری های اولیه پس از سانتریفیوژ یک نوار در انتهای لوله تشکیل دادند چون هر دو رشته دِنای آنها N^{15} و



ب - دِنای باکتری های حاصل از دور اول همانند سازی (بعد از ۲۰ دقیقه) پس از سانتریفیوژ نواری در میانه لوله تشکیل دادند.



پ - دِنای باکتری های حاصل از دور دوم همانند سازی (بعد از ۴۰ دقیقه) پس از سانتریفیوژ دو نوار، یکی در میانه و دیگری



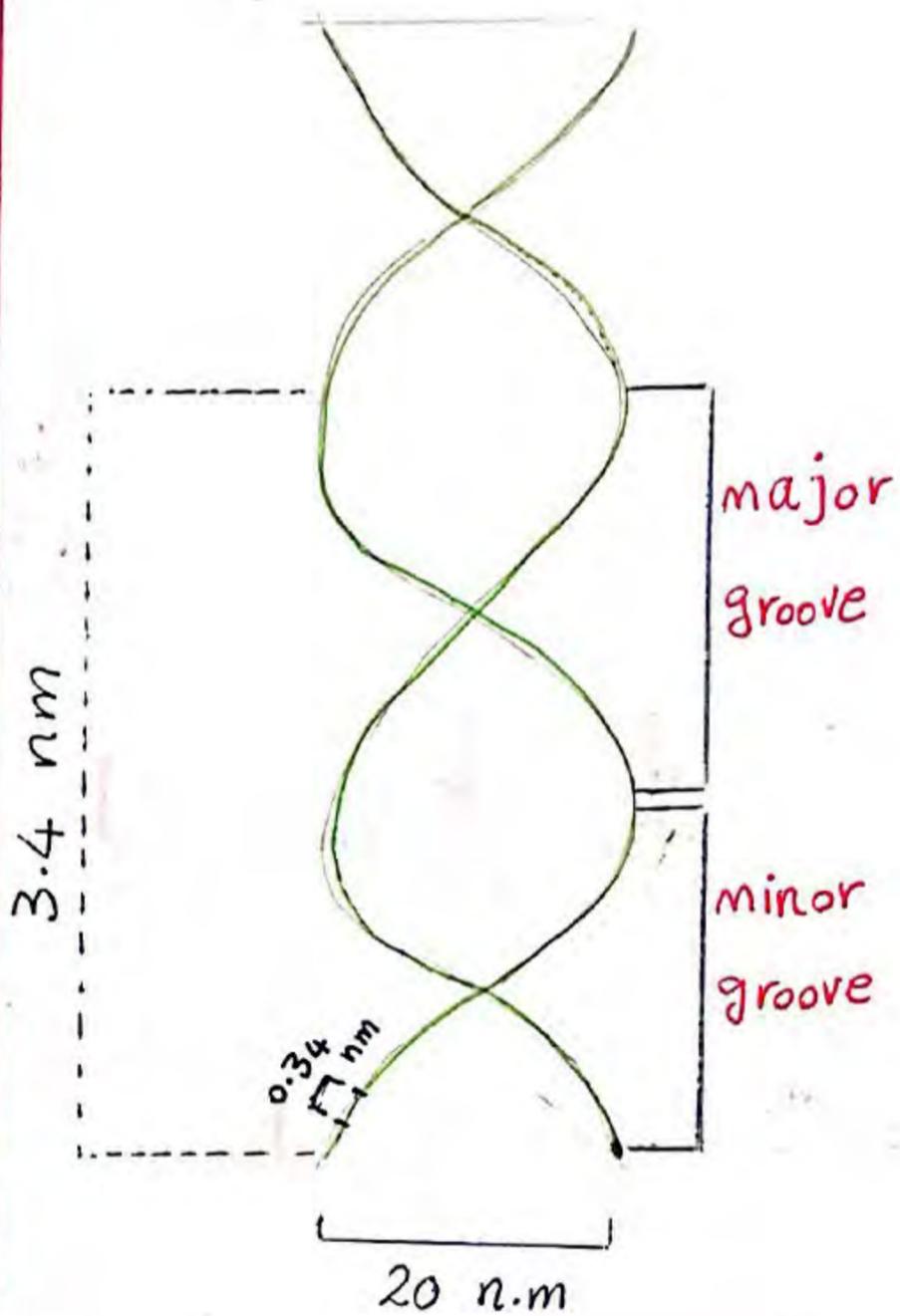
۱- با مشخص شدن اینکه همانند سازی به صورت نیمه حفاظتی انجام شود سؤال دیگری مطرح شد: دو رشته دِنای چگونه از یکدیگر باز می شوند؟ آیا هر دو رشته کاملاً از یکدیگر جدا می شوند و سپس همانند سازی انجام می شود یا جدا شدن دو رشته تدریجی و همراه با آن همانند سازی انجام می شود.
تحقیقات نشان داده است که فقط در محلی که قرار است همانند سازی انجام شود دو رشته از هم بازمی شوند. بقیه قسمت ها بسته هستند و به تدریج باز می شوند.

آتریم‌های همانندسازی و یوکاریوت‌ها:

- یوکاریوت‌ها 5 آتریم پلیمرازی دارند (آلفا - بتا - گاما) (دلتا - اپسیلون)
- خاصیت پلیمرازی 3' → 5' (هر 5 آتریم)
- خاصیت آنزوتوکلمازی 5' → 3' (لا - دلتا - اپسیلون)
- خاصیت آنزوتوکلمازی 3' → 5' (هیچکدام)
- شرکت در ترمیم (فقط بتا)
- فعالیت پیراییمازی (فقط DNA پیراز آلفا)
- نقش اصلی در همانندسازی DNA در هسته (دلتا - اپسیلون)

سه مدل پیشینهادی برای همانندسازی DNA حلقوی:

1. مدل تتا: در باکتری‌ها دیده می‌شود. یک نقطه آغاز همانندسازی داریم که از آنجا دو چنگال در دو جهت مخالف پیش می‌روند تا در نقطه مقابل origin site بهم برسند. در این مدل، یک حلقه ساده شبیه حرف تتا خواهیم داشت
2. مدل حلقه غلتان یا مدل سیگما: در ویروس‌ها مشاهده می‌شود. یک نقطه آغاز همانندسازی و تشکیل یک چنگال در آن. از محل آغاز، چنگال همانندسازی حرکت می‌کند تا دوباره به همان محل اولیه بازگردد. حلقه‌ها شبیه حرف سیگما تولید می‌شود.
3. مدل D: در DNA میتوکندری‌ها مشاهده می‌گردد. یک نقطه آغاز همانندسازی داریم ابتدا رشته رهبر همانندسازی می‌شود و حلقه‌ها شبیه حرف D ایجاد می‌شود و بعد از مدتی رشته پیرو هم همانندسازی خود را آغاز می‌کند.

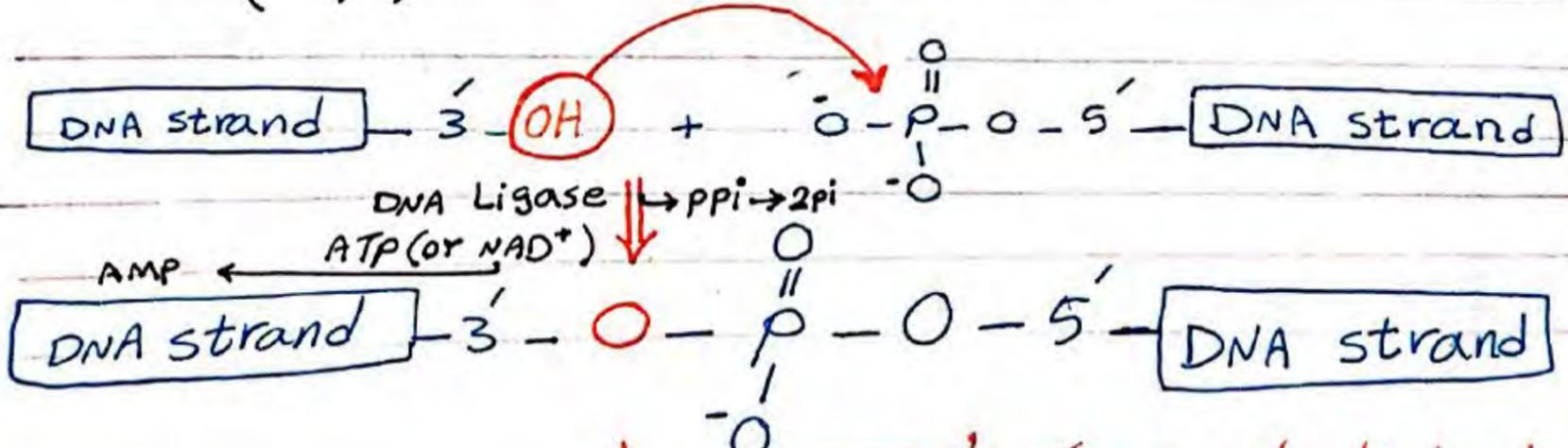


تشکیل پیوندها: برای تشکیل پیوندها، گروه گیرنده و دهنده پیوند (OH و H و N)،

موقعیت و جهت گیری و فاصله مهم هست. در جایگاه فعال آتریم این شرایط برای جهت بازهای آلن مناسب، فراهم می‌شود.

در پاره‌ی پیوند هیدرژن:

- وقتی در مولکول بهم نزدیک می‌شوند پیوند هیدرژن تشکیل می‌شود (چون پیوند ضعیف است)
- وقتی عامل جدا شدن خارج می‌شود پیوندها تشکیل می‌شوند (مثل دنا تیره شدن و زائره شدن در اثر گرما)



- هلیکازها ATP مصرف می کنند
- با توجه به اینکه آیا خود آنزیم هلیکاز باعث شکستن پیوندهای رزورنی می شود و نقش مستقیم در این شکستن دارد یا اینکه پیوندهای رزورنی خود به خود شکسته می شود و سپس آنزیم رشته جدا شده را اشغال می کند و پیش می رود در دو گروه "فعال" و "غیرفعال" دسته بندی می شوند.

در جهت 3 → 5

عوامل و مراحل همانندسازی

در همانندسازی سه عامل مؤثر است:

- ملکول دنا به عنوان الگو

- آنزیمی که نوکلئوتیدها را به صورت مکمل کنار یکدیگر قرار دهد.

- واحدهای سازنده دنا که بتوانند در کنار هم نسخه مکمل الگو را بسازند. این واحدها نوکلئوتیدهای سه فسفات هستند.

قبل از همانندسازی دنا باید پروتئین های اطراف آن یعنی هیستون ها از آن جدا شوند تا همانندسازی بتواند انجام شود پس از آن دو رشته الگو هم باید از هم باز شوند.

به نظر شما برای باز شدن دو رشته دنا چه پیوندهایی باید شکسته شوند؟ پیوندهای هیدروژنی (با مصرف آب)

آنزیم هلیکاز این کار را انجام میدهد. این آنزیم ابتدا مارپیچ دنا را باز می کند سپس دو رشته دنا را در محلی ایجاد چنگال همانندسازی

از هم فاصله میدهد. شکل 11

جایگاه آغاز همانندسازی = origin of replication



• هلیکاز هر دو رشته را می پوشاند و پیوند هیدروژنی بین دو رشته را می شکند و جلو می رود. (با مصرف آب)

• PR هلیکاز که جلوتر می رود، دو رشته ی DNA در پشت سر آن

بر هم متصل می شوند (یعنی تشکیل پیوندهای هیدروژنی). برای اینکه دو رشته به هم متصل نشوند، PR ای به تک رشته ها DNA متصل

می شود و از ایجاد مجدد پیوند هیدروژنی جلوگیری می کند. این PR SSBP است

شکل 11 - همانندسازی در دنا

انواعی دیگری از آنزیم ها با همدیگر فعالیت می کنند تا یک رشته دنا در مقابل رشته الگو ساخته شود. یکی

از مهمترین آن ها که نوکلئوتیدهای مکمل را با نوکلئوتیدهای رشته الگو جفت می کند دنا بسیاراز² (دنا پلی مرارز) است.

Single Strand Binding Proteins

سولومون پروتئین نا پایدار کننده مارپیچ

دو راهی همانندسازی

در محلی که دو رشته دنا از یکدیگر جدا شده اند، ساختار Y مانندی بوجود می آید که دو راهی همانندسازی

نام دارد. در این محل پیوند هیدروژنی بین دو رشته گسیخته و دو رشته از یکدیگر باز شده اند. همچنین پیوندهای

فسفودی استر جدیدی در حال تشکیل هستند. دنا بسیاراز نوکلئوتیدها را به انتهای رشته در حال تشکیل اضافه

• کاربرد آنزیم در آزمایشگاه برای همانندسازی: مثلاً Taq polymerase

که از باکتری های ترموفیل (حرارت دوست) استخراج شده و در PCR کاربرد دارد. 2 - Helicase

1 - Polymerase دنا

• اثر دما بر فعالیت آنزیم ها در آزمایش سنجهیده می شود. 13

در پروتکل های آزمایشگاهی، تنظیم، کنترل و یا تغییر دما یک وجه معمول است و در بسیاری زمینه ها مانند کشت بافت و آنکوباسیون، امپلیفیکاسیون DNA و در PCR و حتی در کارهای آزمایشگاهی تولید مثل و درمان ناباروری و ... می توان دانلود از اپلیکیشن پادرس بهره برد.

برای شکستن پیوندهای هیدروژنی و وسط هلیکاز

آنزیمی هیدرولازی است.

○ همانندسازی DNA

ابتدا آنزیم هلیکاز دورشته‌ی DNA را به صورت زیپ مانند از هم باز می‌کند (قطع پیوندهای هیدروژن بین جفت بازهای آکس) و چنگال همانندسازی را تشکیل می‌دهد.

• دانه‌هایی PR باعث می‌شوند تا دو رشته‌ی باز شده‌ی DNA درگیر به هم وصل نشوند.

• دورشته‌ی DNA پیشرو و پیرو باید از طرف 5 به 3 همانندسازی شوند و رشته‌های دختری ساخته شده با رشته‌ی مادری (الگو) ناهمسو باشند.

• در رشته‌ی پیشرو، رشته‌ی جدید به صورت پیوسته (5-3) در حال ساخت است.

• در رشته‌ی پیرو، رشته‌ی جدید به صورت قطعه قطعه (قطعات آکازاکی 5-3) ساخته شده و توسط آنزیم DNA لیگاز به هم متصل می‌شوند.

• در رشته‌ی پیرو: پرایماز - ساخت پرایمر در ابتدای قطعات آکازاکی - ادامه‌ی نوکلئوتیدهای قطعات آکازاکی از محل 3'OH آزاد

۱. سنتز DNA، در جایگاه آغاز همانندسازی شروع می‌شود.

۲. رشته‌ها در جایگاه آغاز همانندسازی از یکدیگر جدا می‌شوند و پیچ خوردگی توسط هلیکاز از بین می‌رود.

هلیکاز در طول مولکول DNA در جلوی آنزیم‌های سنتز کننده‌ی DNA حرکت می‌کند.

ناحیه‌ی فعال سنتز DNA همان منطقه‌ی دوراهی همانندسازی است که در محل تقاطع تک رشته‌ها و ناحیه‌ی دو رشته‌ای ایجاد می‌شود. هر دو رشته در نزدیکی دوراهی همانندسازی (در جهت 3-5) سنتز می‌شوند.

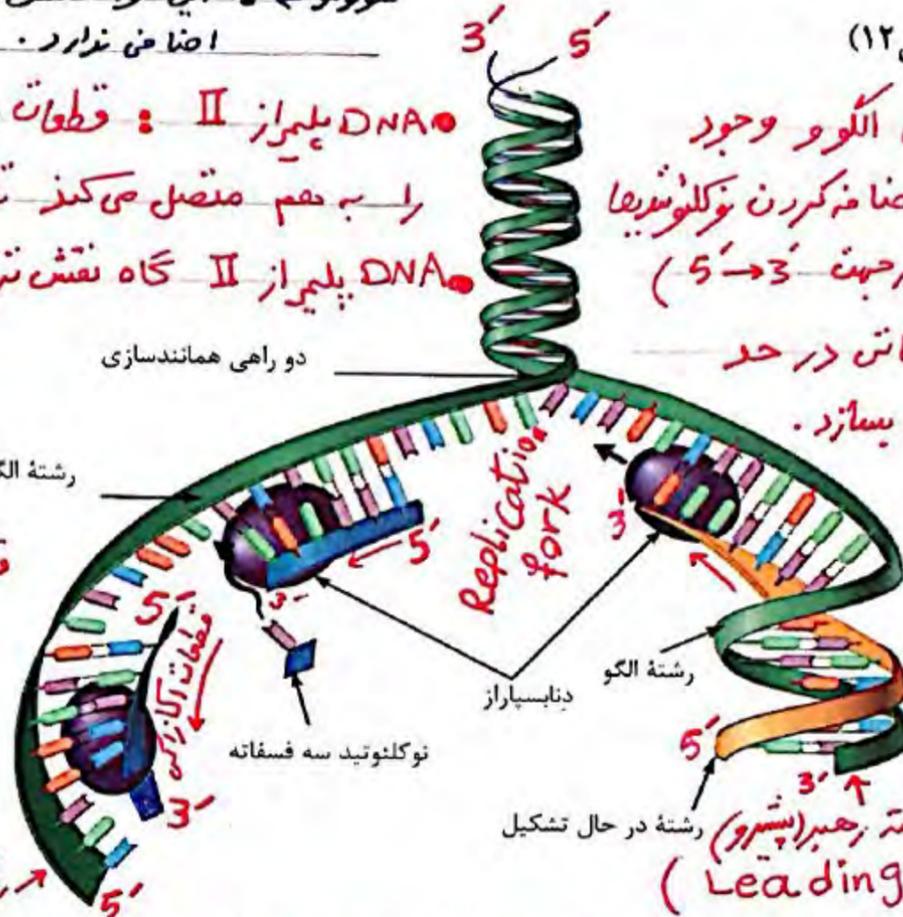
۳. حاصل همانندسازی ایجاد دو مولکول دختر است که هر کدام شامل یک رشته‌ی قدیمی و یک رشته‌ی تازه سنتز شده می‌باشد.

آنزیم‌هایی که در همانندسازی DNA شرکت می‌کنند (سولومون)	
DNA هلیکازها	بزرگ‌ترین پیچ‌مغزاف با شستن پیوندهای هم‌رشته‌ای که دورشته را به یکدیگر متصل نگه می‌دارند.
توپوایزومرازها	با دورشته‌ی DNA را بر می‌دهند، مانع افزایش پیچ خوردگی DNA در همانندسازی می‌شوند و سپس آن‌ها را به یکدیگر متصل می‌کنند.
DNA پلیمرازها	زیر واحدهای نوکلئوتیدی را به یکدیگر متصل می‌کنند.
DNA پرایماز	۱. RNA های پرایمر کوتاه را روی رشته‌ی پیرو سنتز می‌کنند. ۲. سبب شروع همانندسازی رشته‌ی پیشرو می‌شوند.
DNA لیگاز	اتصال قطعات آکازاکی
توپوایزومراز	DNA تلومری را طولی می‌کنند

- آنزیم‌هایی که در همانند سازی DNA شرکت می‌کنند : توپوایزومراز ، هلیکاز ، پرایماز ، DNA پلیمراز I و II و III
- توپوایزومراز : پیچش رشته‌های DNA را کم می‌کند. و مانع از ایجاد گره در طول همانند سازی می‌شود.
- هلیکاز : قطع پیوندهای هیدروژن بین جفت بازها و آکسی دو رشته DNA می‌کنند اضافه شدن یک نوکلئوتید بستگی دارد به نوع بازی که در نوکلئوتید رشته الگو قرار دارد. هر نوکلئوتید

باید با باز روی رشته الگو مکمل باشد. با اضافه شدن هر نوکلئوتید سه فسفات دو تا از فسفات‌های آن از ملکول سولوموتس و این واکنش قویاً انرژی‌زا است و نیاز به انرژی اضافی ندارد.

- DNA پلیمراز III : با داشتن الگو وجود 3'OH آزاد ، قادر به اضافه کردن نوکلئوتیدها به نوکلئوتید قبلی است (در جهت 5' → 3')
- DNA پلیمراز III می‌تواند قطعات در حد 4-5 کیلو دالتون از DNA بسازد.
- DNA پلیمراز II : قطعات ساخته شده توسط DNA پلیمراز III را به هم متصل می‌کند تا قطعات در حد 18-20 کیلو دالتون بسازد.
- DNA پلیمراز II گاه نقش ترمیمی (ویرایش غلطها) را نیز در جهت 5' → 3' دارد.



نقطه شروع همانند سازی با صدای قطعات آکازاکی متفاوت است.

ترجمه: در همه چنانها همانند سازی p2 ها و آنزیم‌ها، برای ساخته رشته‌ی دختر جمع می‌یابند.

رشته رهبر (پیشرو) رشته در حال تشکیل (Leading strand)

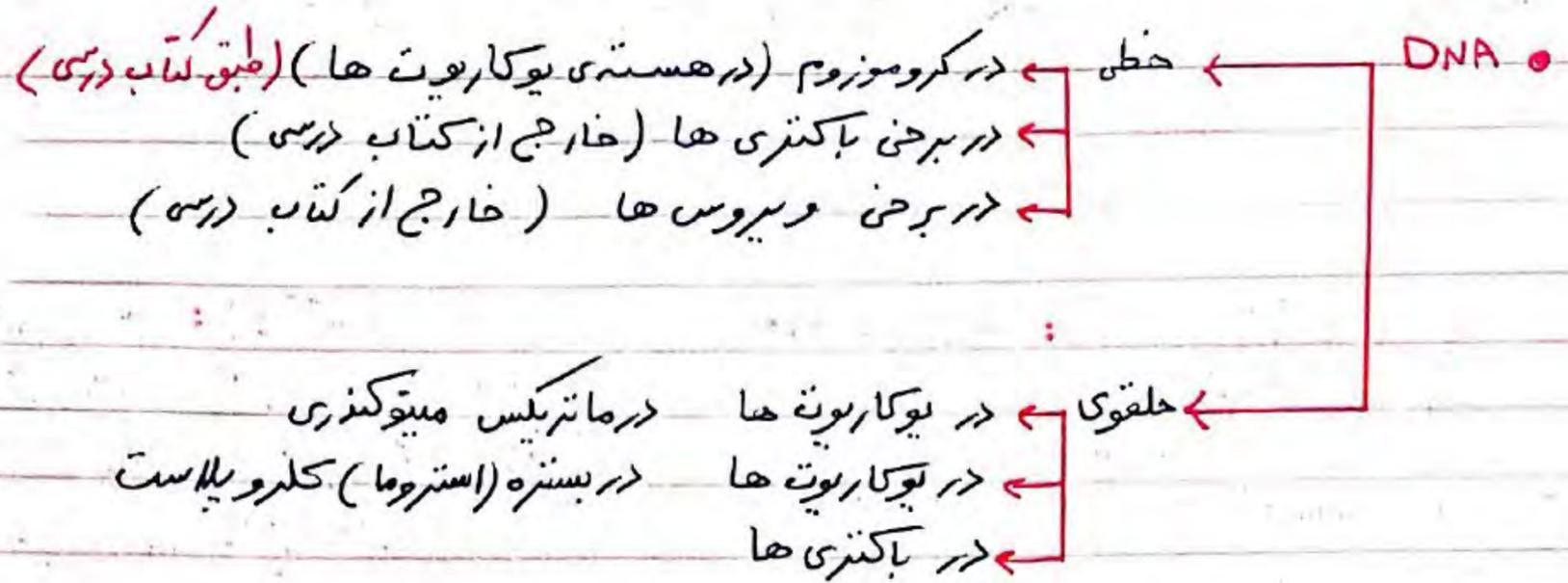
- DNA پلیمراز I : خاصیت لیگازی دارد و قطعات ساخته شده توسط DNA پلیمراز II را به هم متصل می‌کند تا قطعات درشت تری از مولکول DNA حاصل شود.

همانند سازی دنا با دقت زیادی انجام می‌شود این دقت تا حدود زیادی مرهون رابطه مکملی بین نوکلئوتیدها است. اگر چه آنزیم نوکلئوتیدها را بر اساس رابطه مکملی کنار هم قرار می‌دهد ولی گاهی در این مورد اشتباهی هم صورت می‌گیرد مثلاً در مقابل A به جای T، C قرار گیرد. برای جلوگیری از این اشتباه آنزیم دنا پلی‌مراز پس از برقراری پیوند فسفودی استر. یکبار برگشت می‌کند و نوکلئوتید را بازبینی می‌کند که رابطه آن صحیح است یا غلط. اگر اشتباه باشد آن را حذف می‌کند و نوکلئوتید صحیح را قرار می‌دهد. برای حذف نوکلئوتید غلط باید بتواند پیوند فسفودی استر را بشکند. توانایی بریدن دنا را فعالیت نوکلئازی گویند که در آن پیوند فسفودی استر می‌شکند. بنابراین آنزیم دنا سبازاز هم فعالیت سبازازی (پلیمرازی) دارد که در آن پیوند فسفودی استر را تشکیل می‌دهد و هم فعالیت نوکلئازی که در آن پیوند فسفودی استر را برای تصحیح اشتباه می‌شکند. فعالیت نوکلئازی دنا سبازاز که باعث تصحیح اشتباهات در همانند سازی می‌شوند را ویرایش می‌گویند.

• DNA پلیمراز I در پرکوت (GAPها) (فاصله‌ها) DNA نیز عمل می‌کند.

تأثیر DNA کامل شود و طول کروماتین حاصل شود. ویژگی ریبر DNA پلیمراز I : خاصیت تغییر و ترجمه همزمان می‌تواند هم خاصیت نوکلئازی و هم لیگازی و هم پلیمرازی داشته باشد.

- RNA پلیمراز ویژه ای به نام پرایماز ، پرایمر کوتاهی حدود 12 نوکلئوتید از جنس RNA به صورت مکمل با DNA الگویی سازد.
- DNA پلیمراز I با خاصیت نوکلئازی خود ، قطعه پرایمر را برش داده و در جای آن نوکلئوتیدهای کلمن DNA را پلیمریزه می‌کند.
- DNA پلیمراز I رشته‌ی تازه سنتز شده را 14 باز خوانی کرده در صورت برخورد با نوکلئوتید نامناسب ، با خاصیت نوکلئازی خود ، نوکلئوتید نامناسب را حذف و با خاصیت لیگازی خود، نوکلئوتید مناسب را متصل می‌کند.
- DNA پلیمراز I می‌تواند به عنوان ترمیم کننده استفاده شود تا آنکه نکات ترمیمی خاص را به زنجیره اضافه کند.



• **اپیزوم** : معادل یوکاریوتس پلازمیدهای باکتریایی هستند. در یوکاریوت ها به طور معمول اپیزوم ها، DNA های حلقوی بسته ای هستند که داخل هسته تکثیر پیدا می کنند مانند آدنوویروس ها، هرپس ویروس ها، پولیوما ویروس ها. برخی از اپیزوم های ویروسی در سیستم پلاسم تکثیر پیدا می کنند: مانند پوکس ویروس ها.

• نگاه ژنهای مشابه کروموزوم اصلی باکتری نیز دارند.

• **پلازمیدها** : برخی ویژگی ها را به باکتری می دهند که به بقای باکتری کمک می کند.

- اگر پلازمیدهای سلوله حذف شوند، سلول می تواند به زندگی خود ادامه دهد.
- همبندسازی پلازمید ارتباط چندانی با چرخه سلولی و تقسیم سلولی ندارد. آنها می توانند مستقل از چرخه سلولی به تعداد نامحدود تکثیر شوند.
- در هر سلول ممکن است چندین پلازمید مشابه وجود داشته باشد.
- از طریق **هم یوغی (conjugation)** به باکتری دیگر منتقل می شود.
- برخی پلازمیدها تخریب کننده ی نایون هستند. • برخی پلازمیدها باعث بیماری می شوند چون ژن های مربوط به توکسین برخی از باکتری ها روی پلازمید است.

• **چانداران** ← پروکاریوت : باکتری ها

• **یوکاریوت** : آغازیان - قارچ ها - گیاهان - جانوران

نوع موجودات	تعداد جا بگاه آغاز همبندسازی	تعداد چنگال (دروازه) همبندسازی	طول DNA	زمان همبندسازی DNA
یوکاریوت ها	زیاد (بسته به مراحل رشد و تکثیر)	زیاد	زیاد	طولانی
پروکاریوت ها	معمولاً کم	معمولاً دو تا	کم	کوتاه

- **تزیجایی که روی پلازمید هستند** (بسته به نوع پلازمید) می‌توانند ویژگیهای جدیدی به باکتری بدهند مثل:
 - مقاومت به آنتی بیوتیک (پلازمید R)
 - توانایی حذف باکتریهای دیگر از محیط کشت (پلازمید Col)
 - توانایی تشکیل پلیس (پلازمید F)

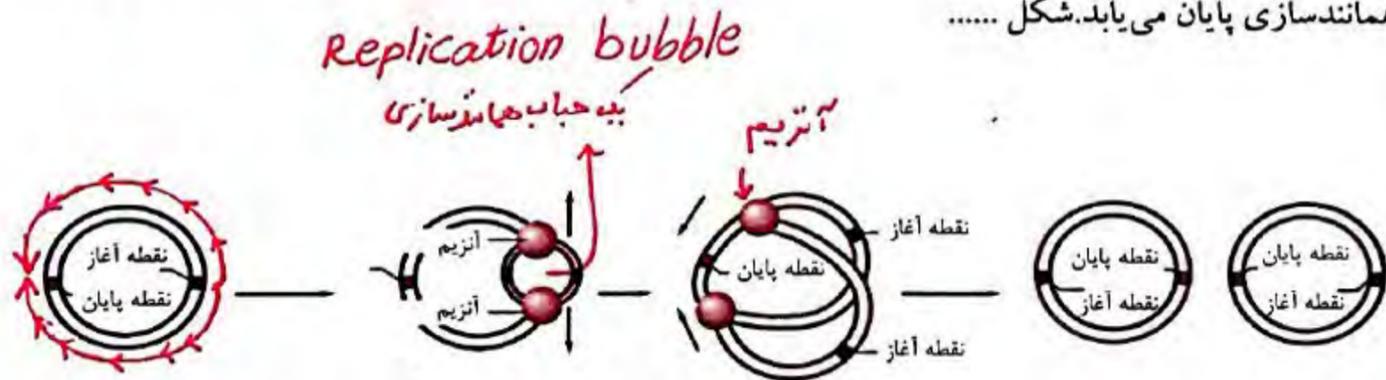
همانند سازی در پروکاریوتها و یوکاریوتها
پروکاریوتها که همه باکتریها را شامل می‌شوند اطلاعات وراثتی آنها در غشا محصور نشده است. کروموزوم

اصلی آنها به صورت یک ملکول دنا حلقوی است، در سیتوپلاسم قرار دارد و به غشای سلول متصل است. **به معمولاً حلقوی است. اما نمونه های خطی نیز دارد.**
پروکاریوتها علاوه بر دنا اصلی مولکول هایی از دنا دیگری را نیز به نام پلازمید در اختیار دارند. اطلاعات این ملکول ها می تواند ویژگی های اضافه تری را به میزبان بدهند. **مثلاً ژن مقاومت به آنتی بیوتیک در پلازمید وجود دارد.**
در یوکاریوتها که بقیه موجودات زنده یعنی آغازیان، قارچها، گیاهان و جانوران را شامل می شوند دنا در هر

کروموزوم به صورت خطی است و مجموعه ای از پروتئینها به نام هیستون در کنار آن قرار دارند. **کروموزوم کروماتینی = DNA + هیستون**
کروموزومها و دنا درون هسته قرار دارند و به آن دنا (دنا) هسته ای گفته می شود. در یوکاریوتها علاوه بر

هسته در سیتوپلاسم نیز مقداری دنا وجود دارد که به آن دنا سیتوپلاسمی گفته می شود. این نوع از دنا که

حالت حلقوی دارد در میتوکندری و کلروپلاست دیده می شود. **DNA در یوکاریوتها** **DNA هسته ای (خطی)**
DNA سیتوپلاسمی (حلقوی) **در میتوکندری و کلروپلاست**
اغلب پروکاریوتها فقط یک نقطه آغاز همانندسازی در دنا خود دارند این نقطه در جایگاه خاصی از دنا قرار دارد در این قسمت دو رشته دنا از هم باز می شوند. تحقیقات نشان داده است همانند سازی دو جهتی در باکتریها هم وجود دارد یعنی در یک نقطه در دو جهت همانندسازی شروع و ادامه می یابد تا به همدیگر رسیده و همانندسازی پایان می یابد. شکل
یوکاریوتها
آرکس باکتریها
چینه جایگاه
آغاز همانندسازی



شکل ۱۳- همانند سازی دو جهتی دنا در پروکاریوتها

در یوکاریوتها به دلیل وجود مقدار زیاد دنا و قرار داشتن در چندین کروموزوم که هر کدام از آنها چندین برابر یک دنا باکتری هستند مسئله همانندسازی دنا بسیار پیچیده است.

اگر فقط یک نقطه شروع در هر کروموزوم هم داشته باشند مدت زمان لازم برای انجام همانندسازی خیلی زیاد می شود. حل این مسئله در یوکاریوتها با شروع همانندسازی در چندین نقطه در هر کروموزوم انجام شده است.

تعداد نقطه های آغاز مورد استفاده در یوکاریوتها حتی می تواند بسته به مراحل رشد و نمو تنظیم شود ابتدا با تعدادی آغاز می شود هنگامی که سرعت تقسیم سلولی زیاد می شود تعداد نقاط شروع مورد استفاده نیز افزایش

↑ سرعت تقسیم سلولی ← ↑ تعداد نقاط شروع همانندسازی
مثال: مورولا و بلاستوسیت (در زن جنینی): سرعت تقسیم زیاد است.

↓ سرعت تقسیم سلولی ← ↓ تعداد نقاط شروع همانندسازی

مثال: پستانداران (در زن جنینی): سرعت تقسیم

تألیف : دکتر گستره امتیازی و

محسن کریمی

آرتم های شرکت کننده در هاندسازی DNA در باکتری منگ E. Coli (کتاب جانز زیست مولکولی و مندرسی ترجمه)

DNA پلیراز I :

- 1) خاصیت پلیرازی 5' → 3'
- 2) خاصیت آنزوتوکنازی در هر دو جهت 5' → 3' و 3' → 5'
- 3) حذف پرایمر

DNA پلیراز II :

- 1) فعالیت آنزوتوکنازی 3' → 5'

DNA پلیراز III :

- 1) خاصیت پلیرازی 5' → 3'
- 2) خاصیت آنزوتوکنازی در هر دو جهت 5' → 3' و 3' → 5'
- 3) یک هولوآرتم است با 10 زیر واحد (α ε θ β γ δ ε π λ)

مکانسیم های ترمیم و ویرایش متفاوتند :

ویرایش : تصحیح اشتباهات حین هاندسازی

(ترمیم) تعمیر : تصحیح اشتباهات در زمان های دیگر از چرخه سلولی

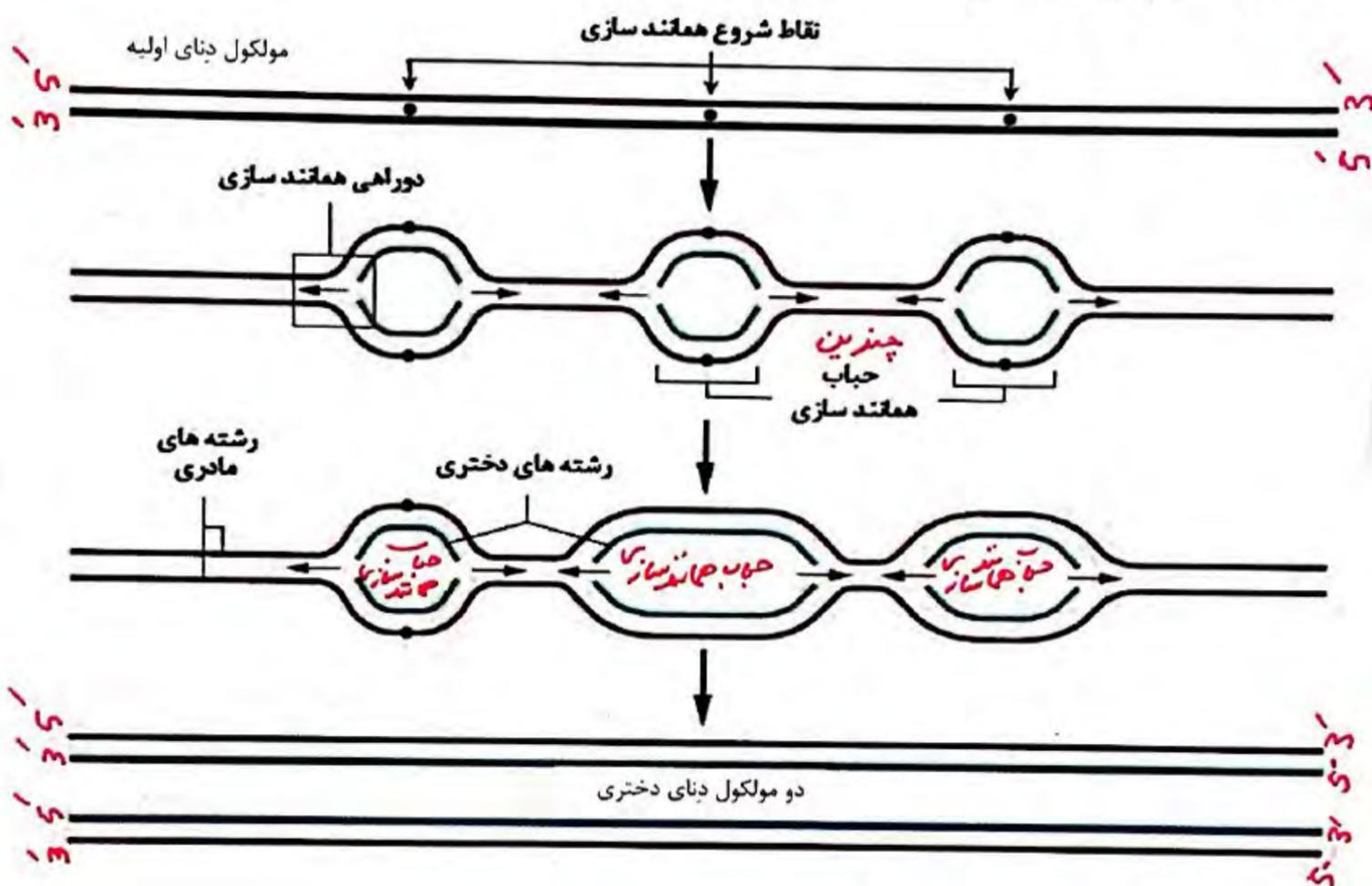
• برای شروع هاندسازی DNA ، در نقاط خاصی از ژنوم ، شکل گیری کمپلکس های pr ای در این نقاط ضروری است .

• عواملی مانند : استیلایسون و متیلاسیون هیستون ها ، موقعیت نوکلئوزوم ها ، ساختار کروماتین (یو کروماتین یا هترو کروماتین بودن) و محل قرارگیری کروموزوم ها در هسته (چتر پیر کروموزومی) در تنظیم شروع هاندسازی دخیل هستند .

• مدل ترومبون : دو DNA پلیراز در هر دو راهی هاندسازی در نطفه E. Coli به صورت دایره هستند .
Trombone model

• هیستون ها در تنظیم بیان ژن نقش مهمی دارند ، چراکه مسئول حفظ **مهاری بیان ژن** می باشند . می توان با ایجاد تغییرات در هیستون ها مهاری بیان ژن را به طور موضعی تقویت یا تضعیف کرد . معمولاً افزایش گروه های استیل به هیستون ها آنها را آزاد کرده و رونویسی را فعال می کند . معمولاً افزایش گروه های متیل به هیستون ها باعث مهاری رونویسی می شود . **(گیلبرت)** یابد . و پس از آن اگر بخواهد سرعت تقسیم کاهش یابد نقاط آغاز هم کاهش می یابند . مثلاً در دوران جنینی در مراحل مورولا و بلاستوسیت سرعت تقسیم زیاد و نقاط آغاز هم زیاد است ولی پس از تشکیل اندام ها سرعت تقسیم و نقاط آغاز کم می شوند .

بنابراین در یوکاریوتها در هر کروموزوم همانندسازی در چندین نقطه آغاز می شود که در هر کدام همانندسازی در دو جهت انجام می شود . شکل ۱۴



شکل ۱۴ همانند سازی در یوکاریوت ها

- DNA یوکاریوتی دارای چندین منشأ، همانندسازی هستند . (دوجبهتی)
- DNA پروکاریوتی اغلب دارای یک منشأ، همانندسازی هستند . (دوجبهتی)

- در یوکاریوت ها : چندین جایگاه آغاز همانند سازی
- چندین حباب همانند سازی
- چندین چنگال همانند سازی

• نقش یون های Mg^{2+} و Zn^{2+} در روند همانندسازی DNA

- ساخت پرایمر در ابتدای قطعات اکازاکی ← توسط RNA پرایماز (DNA G)
- در پروکاریوت ها ← " رشته رهبر ← توسط RNA پلیماز

• در یوکاریوت ها ← ساخت پرایمر در هر دورسته ی ۱۶ پیرو و پیشرو ← توسط DNA پلیماز آلفا

ساختار pr + خواص شیمیایی ویژه R در آمینواسیدها ← عملکرد pr

① pr ها از نظر عملکرد : (طبق لودش)

۱. pr های ساختاری : شکل سلول و ECM
 ۲. آنزیم ها : کاتالیز واکنش های شیمیایی
 ۳. pr های ناقل غشایی : جریان یون ها و مولکول ها در طول غشای سلولی امکان پذیر می کنند
 ۴. pr های تنظیمی : به عنوان پیام رسان ، حسگر و کلیدهای عمل می کنند که با تغییر عملکرد دیگر pr ها و وزن ها ، فعالیت سلولها را تنظیم می نمایند .
- ← pr های پیام رسان : از قبیل هورمون ها و گیرنده های سطح سلولی که پیام خارج سلولی را به داخل سلول ارسال می کنند .
- ← pr های حرکتی : مسئول حرکت دیگر pr ها ، انزیم ها ، سلول ها و حتی تمامی موجود زنده هستند

• توجه! : هر کدام از pr ها می توانند عضو پس از یک دسته از pr ها باشند

② چگونه pr ها این همه فعالیت های متنوع را انجام می دهند؟

آنها این اعمال را با حداکثر بهره برداری از فعالیت های ساده زیر به انجام می رسانند

- اساسی ترین فعالیت : اتصال pr ها به یکدیگر ، به ماکرومولکولهای دیگر مانند DNA و به مولکولها کوچک و یون ها
- در بسیاری از موارد این گونه اتصال می تواند تغییرات ساختاری در pr ها ایجاد نماید و بنابراین بر فعالیت آن تأثیر گذارد .

• فعالیت کلیدی دوم : کاتالیز آترسی است .

تاخوردگی مناسب یک pr موجب می شود که بعضی از زنجیره های جانبی آمینو اسید و گروه های کربوکسیلی و آمینو اسکلت pr در موقعیت هایی جا گیرند که کاتالیز پیوندهای کووالانسی را امکان پذیر سازد .

• فعالیت سوم : مستلزم تاخوردگی pr به گونه ای است که صغیر یا منقذی را در میان غشاء به وجود آورد که از طریق آن مولکول ها و یون ها جریان یابند .

• توجه! : فعالیت های فوق جزء فعالیت های حیاتی pr ها است . ولی فعالیت pr ها به آنها منحصر نمی گردد .

مثال: در بعضی ماهی های آب های یخ زده ، pr های ضد یخ زدگی وجود دارد .

گفتار ۳

پروتئین ها

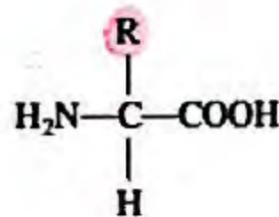
علاوه بر دنا و رنا که در سلول ذخیره و حمل اطلاعات را بر عهده دارند ملکول های دیگری نیز هستند که کمک می کنند فرایندهای مختلف سلولی به انجام برسد. از جمله این ملکول ها پروتئین ها هستند که نقش بسیار مهمی در فرایندهای سلولی دارند. ۲۰ آمینو اسید در ساختار پروتئین هستند و بقیهی انواع آمینو اسیدها منفرستند متابولیت یا حیاضی و یا تنظیم کننده و ... باشند.

ساختار پروتئین ها

(پلیمر) خطی از آمینو اسیدها هستند و ترتیب خاص آمینو اسیدها در پروتئین، ساختار و عمل آن را مشخص می کند. آمینو اسیدها همانطور که از نامشان بر می آید یک گروه آمین (NH_2) و یک گروه اسیدی کربوکسیل ($COOH$) دارند. همانطور که در شکل می بینید گروه آمین و کربوکسیل به همراه یک هیدروژن و گروه R همگی به یک کربن مرکزی متصل اند و چهار ظرفیت آن را پر می کنند. گروه R در آمینو اسیدهای مختلف متفاوت است و خصوصیات منحصر به فرد هر آمینو اسید به آن بستگی دارد.

هر آمینو اسید می تواند در شکل دهی پروتئین موثر باشد. تأثیر آن به ماهیت شیمیایی گروه R آن بستگی دارد.

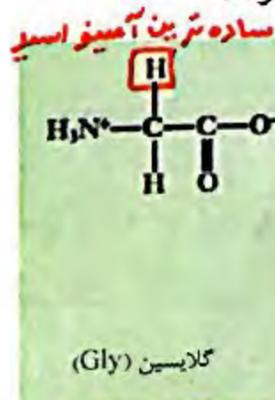
(تحت تأثیر ماهیت شیمیایی گروه R در آمینو اسید)



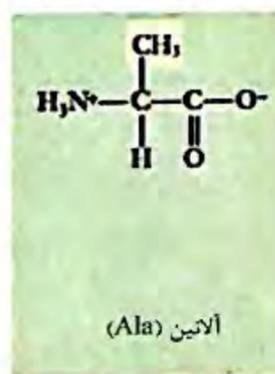
شکل ۱۵ ساختار عمومی یک آمینو اسید

بیشتر بدانید.

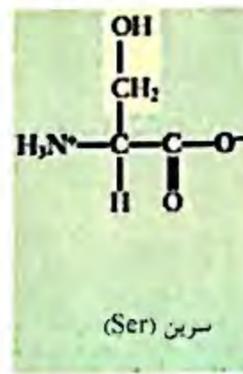
نمونه از آمینو اسیدها را در زیر می بینید که به دلیل تفاوت در R خصوصیات متفاوت دارند.



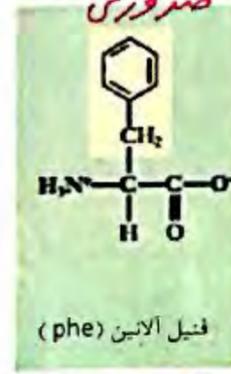
GGU-GGA
GGC-GGG



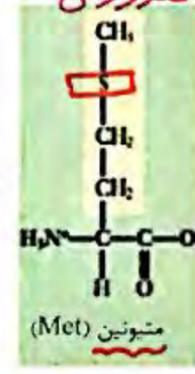
GCU-GCC
GCA-GCG



UCU-UCC-AGU
UCG-UCA-AGC



UUU-UUC



AUG

کدون ضروری
MRNA

اسید آمینه های ضروری (اساسی)	اسید آمینه های غیر ضروری
۱. لو سین	تیروزین
۲. ایزو لو سین	آلانین
۳. والین	آسپارتیک اسید
۴. فنیل آلانین	گلیسین
۵. ترئونین	گلوتامیک اسید
۶. متیونین	تائترین
۷. تریپتوفان	سیرین
۸. لیزین	اونیئین
۹. هیستیدین براه نوزادان	پرولین
۱۰. آرژنین بزرگ نوزاد حیوانات	آرژنین
۱۱.	سیستین
۱۲.	آسپاراژین
	گلوتامین

سلنوسیتین

چند مثال از کاربرد آمینو اسیدها :

- هیستیدین ← در ساخت هیموگلوبین اهمیت دارد .
 - ترئونین ← " " پورفیرین : شناخته ترین پورفیرین ها ، مولکول هم است که با یک اتم مرکزی آهن ، تشکیل دهنده ساختار هموگلوبین است .
 - والین ← به اتصال پروتئین ها به یکدیگر کمک می کند .
- مثال : در متابولیسم و آنزیمی در دفاع و ایمنی نقش دارد .
- نشأت می گیرد .
- بزرگ سرخ خون و بوی آن از همین مولکول

• آمینو اسیدهای قطبی : سیرین - ترئونین - سیستین - تیروزین - آسپاراژین - گلوتامین

• آمینو اسیدهای غیر قطبی : گلیسین - آلانین - والین - لو سین - ایزو لو سین - متیونین - فنیل آلانین - تریپتوفان - پرولین

۱. روش های جداسازی pH ها بر اساس جرم : ۱. سانتریفیوژ ۲. الکتروفورز در ژل
۲. کروماتوگرافی : روشی تجزیه و تحلیل است که جهت جداسازی pH ها استفاده می شود .
۳. روش های شناسایی pH ها : ۱. وسنر بلا تیگ (ایموبلا تیگ) ۲. استفاده از رادیو ایزوتوپ ها و اتورادیوگرافی
۴. روش های فیزیک برای تعیین ساختار pH ها : ۱. کریستالوگرافی اشعه X ۲. کریو الکترون میکروسکوپی ۳. اسپکتروسکوپی NMR



هنگامی که آمینو اسیدی در محیط آبی قرار می گیرد، گروه آمین آن بار مثبت و گروه کربوکسیل آن بار منفی به خود می گیرد. این دو گروه در آمینو اسیدهای مختلف می توانند به همدیگر نزدیک شوند و واکنش سنتز آبدهی را انجام دهند. در این نوع واکنش با خروج یک مولکول آب، مونومری با پیوند کوالان به مونومر یا مولکول دیگری متصل می شود. این پیوند کوالان بین آمینو اسیدها را پیوند پپتیدی می گویند. شکل



پیوند پپتیدی = پیوند کوالان آمیدی

شکل ۱۶ تشکیل پیوند پپتیدی

وقتی تعدادی آمینو اسید با پیوند پپتیدی به هم وصل شوند، زنجیره ای از آمینو اسیدها به نام پلی پپتید تشکیل می شود. پروتئین ها ترکیبی از یک یا چند زنجیره بلند و بدون شاخه از پلی پپتیدها هستند. برای پروتئین هایی که یک زنجیره پلی پپتید دارند هر دو واژه پلی پپتید و پروتئین را بکار می برند. هر نوع از پروتئین، ترتیب خاصی از آمینو اسیدها را دارد که با استفاده از روش های شیمیایی، آمینو اسیدها را جدا کرده و آنها را شناسایی می کنند. اگر چه آمینو اسیدها در طبیعت انواع گوناگونی دارند اما فقط ۲۰ نوع از آنها در پروتئین ها به کار می روند. این ۲۰ نوع، ۸ مورد آنها را ضروری (اساسی) می نامند. آمینو اسیدهای ضروری را بدن انسان نمی تواند بسازد و

باید به همراه مواد غذایی در اختیار بدن قرار گیرند. با توجه به اینکه در بیماری فنیل کتونوزیا، می توان با کنترل غذایی، جلوی ورود فنیل آلانین را به بدن گرفت، می توان نتیجه گرفت که فنیل آلانین در گروه آمینو اسیدها که ضروری قرار دارد.

سطوح مختلف ساختاری در پروتئین ها

شکل پروتئین نوع عمل آن را مشخص می کند یکی از راه های پی بردن به شکل پروتئین استفاده از پرتوهای X (روش فیزیکی) است. با استفاده از تصاویر حاصل از آن و روش های دیگر محققین به ساختار سه بعدی پروتئین ها پی می برند که

در آن حتی جایگاه هر اتم را می توانند مشخص کنند. اولین پروتئینی که ساختار آن شناسایی شد میوگلوبین بود. آیا به خاطر دارید میوگلوبین در بدن چه نقشی دارد؟ تخمروه هم در وسط ۸ مارپیچ آلفا قرار دارد.

ساختار پروتئین ها به چهار صورت است که هر ساختار مبنای تشکیل ساختار بعدی است.

میوگلوبین: ۸ مارپیچ آلفا دارد که در برخی نقاط دارای خمیدگی است. در ناحیه خمیدگی رسیده اسید آمینه پرولین وجود دارد و باعث خم شدن در ۱۸ میوگلوبین می باشند. میوگلوبین در ذخیره و انتقال اکسیژن در ماهی ها نقش دارد. (الفصل اکسیژن به گروه هم)

(لودیش : فصل ۳ . زیر نویس شکل ۳-۱)

یک توالی خطر پلیس پپتیدی از آمینو اسیدها یی که توسط پیوندهای پپتیدی به هم متصل می شوند (ساختار اول) این ساختار (ساختار اول) به صورت مارپیچ یا صفحات β تا می خورد (ساختار دوم) که پس از آن به صورت ساختارهای پیچیده ی بزرگ سه بعدی فشرده می گردد (ساختار سوم) بعضی از پلیس پپتیدهای خاص در تشکیل کمپلکس های چند زنجیره ای مشارکت دارند (ساختار چهارم)

(لودیش : فصل ۳)

• یک زنجیره ی α به یک شکل سه بعدی مشخص تا می خورد که این ساختار عمدتاً توسط برهم کشش ها غیر کووالانسی بین نواحی در توالی خطر آمینو اسیدها پدیدار می گردد .
• این امر که عملکرد α حاصل ساختار سه بعدی آن است مفهومی اساسی جهت درک چگونگی عملکرد α ها محسوب می شود .
• این ساختار سه بعدی هم توسط توالی آمینو اسیدی α و نیز برهم کشش های غیر کووالانسی درون مولکول ، تعیین می گردد .

(لودیش : زیر نویس شکل ۳-۲) « چهار سطح طبقه بندی ساختار پروتئین »

۱- توالی خطر آمینو اسیدها یی که توسط پیوند پپتیدی به یکدیگر متصل می شوند = ساختار اول
۲- تا خوردگی زنجیره پلیس پپتیدی به مارپیچ α و صفحات β = ساختار دوم
۳- واحدهای از ساختار دوم همراه با حلقه ها و پیچ های مختلف در یک زنجیره ی پلیس پپتیدی منقرض به صورت یک ساختار بزرگتر و مستقل پدیدار فشرده می شود که ممکن است این ساختار دارای درمین های مجزایی باشد = ساختار سوم
۴- تعدادی α ، متشکل از بیش از یک پلیس پپتیدی که در ارتباط با هم قرار می گیرند = ساختار چهارم

ساختارهای آنها ساختار دوم - تشکیل شده اند .

سوراخ های عثایی : ترجمه ی نادرستی از کانال های عثایی به نام **porin** است که از صفحات β با α ها در عثای خارجی میتوکندری ، برخی باکتری ها و پلاستیدها دیده می شود .

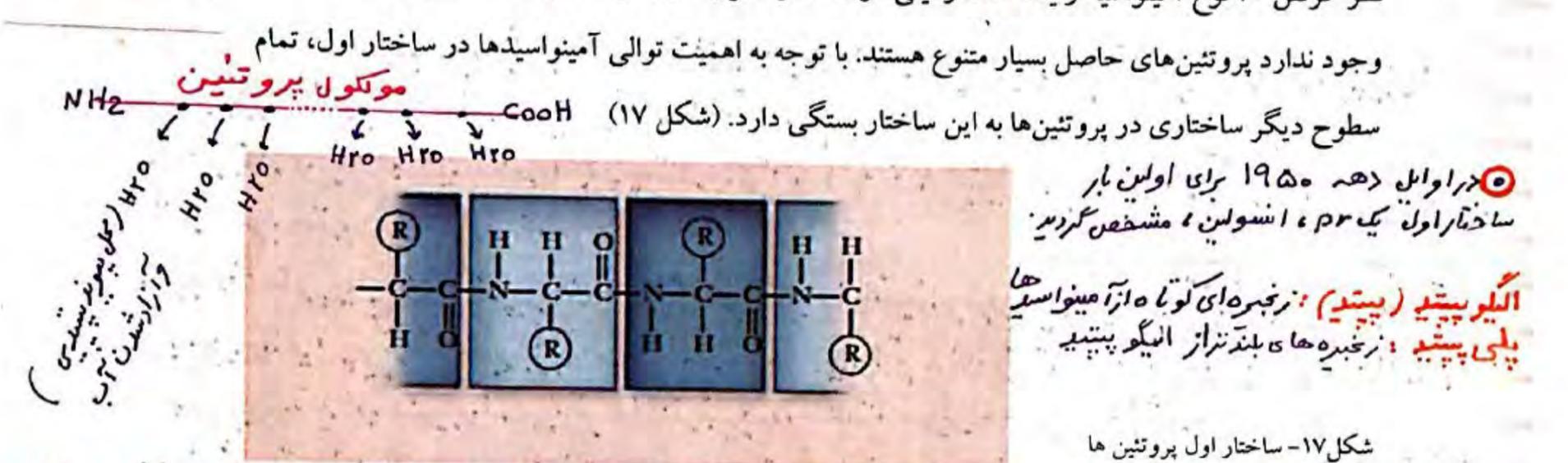
- porin proteins that form holes in membranes are composed of β sheets arranged to form a pore in the membrane.

ترجمه ی نادرستی متن فوق در پیش نویس کتاب به صورت زیر آمده :

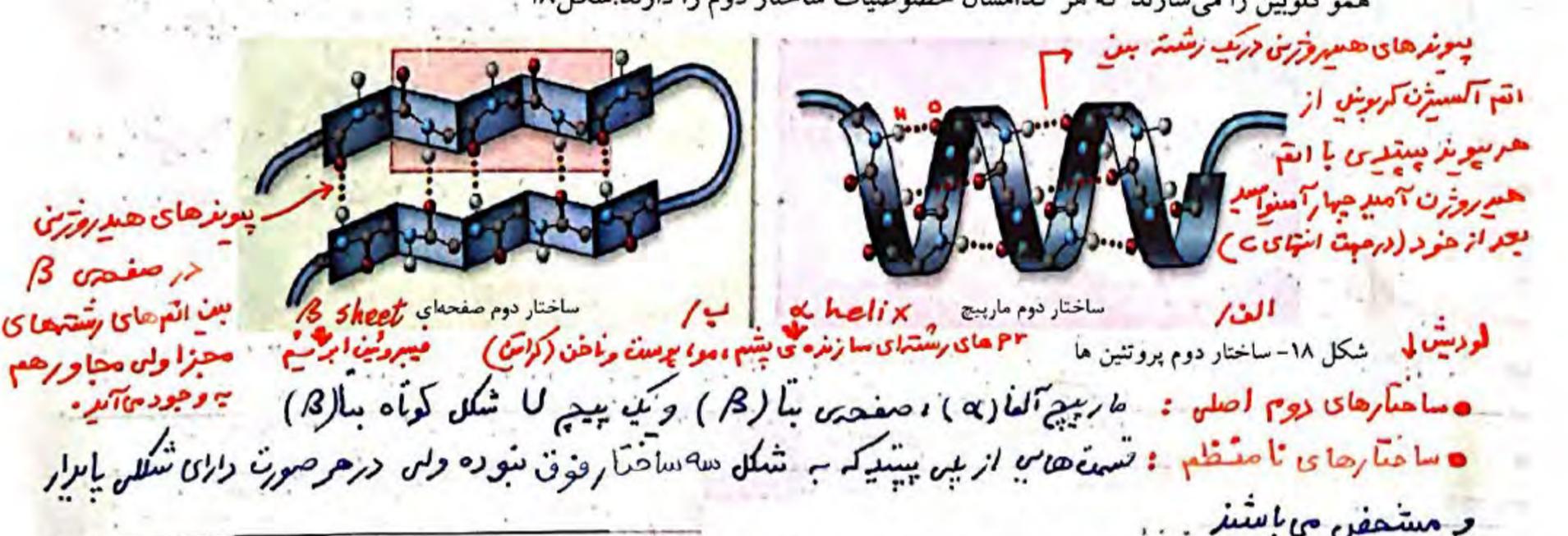
- سوراخ های عثایی ، مجموعه ای از α ها با ساختار صفحه ای هستند که در کنار هم منظم شده اند .

- تغییر α در هر جا یگانه ← تغییر در ساختار اول α ممکن است ← تغییر فعالیت آن α
- در نتیجه تشکیل پیوند پپتیدی، اسکلت مولکول α ساختاری جهت دار را به خود می‌گیرد (N به سمت C)
- بنابراین یک انتهای مولکول α دارای گروه آمینو (انتهای N) آزاد (غیر متصل) بوده و انتهای دیگر آن دارای
- گروه کربوکسیل آزاد (انتهای C) می‌باشند.

ترتیب قرار گرفتن آمینواسیدها به صورت خطی ساختار اول پروتئین‌ها را مشخص می‌کند، اینکه چه انواعی از آمینواسید، به چه تعداد و با چه ترتیبی قرار بگیرند، در ساختار اول هر پروتئین مطرح است. تغییر اسید آمینه در هر جایگاه موجب تغییر در ساختار اول آن می‌شود که ممکن است تغییر فعالیت آن را نیز باعث شود. با در نظر گرفتن ۲۰ نوع آمینواسید و اینکه محدودیتی در تعداد و تکرار آمینواسیدها در ساختار اول پروتئین‌ها



ساختار دوم - الگوهای از پیوندهای هیدروژنی در بخش‌هایی از زنجیره پلی پپتیدی می‌تواند پیوندهای هیدروژنی برقرار شوند. این پیوندها منشاء تشکیل ساختار دوم در پروتئین‌ها هستند. که به دو صورت مارپیچ α و صفحه‌ای β دیده می‌شوند. ساختار نهایی بعضی از پروتئین‌ها می‌تواند همین ساختار دوم باشد. سوراخ‌های غشایی، مجموعه‌ای از پروتئین‌ها با ساختار صفحه‌ای هستند که در کنار هم منظم شده‌اند. در هموگلوبین زنجیره‌های پپتیدی با همکاری هم مولکول هموگلوبین را می‌سازند که هر کدامشان خصوصیات ساختار دوم را دارند. شکل ۱۸



Random coil: قسمتی از زنجیره پلی پپتیدی که بسیار منعطف بوده و ساختار سه بعدی ثابت ندارند.

در یک α معمول: ۶٪ از زنجیره پلی پپتیدی به صورت مارپیچ آلفا و صفحات β وجود داشته و بقیه مولکول ساختار نامنظم و مارپیچ β و پیچ α می‌باشند.

دانشگاه از اپلیکیشن پادرس

لورین • مار پیچ آلفا و صفحات بتا ساختارهای اصلی درون در اغلب p2 ها هستند که آنها را شکل می دهند .
• مار پیچ آلفا: اتم اکسژن کربونیل از هر پیوند پپتیدی با اتم هیدروژن آمید چهار آمینو اسید بعد از خود (در جهت استرای C) پیوند هیدروژن تشکیل می دهد .

$$N-H \cdots O=C$$

 آرایش محکم و پایدار آمینو اسیدها در مار پیچ آلفا که با پیوند هیدروژن به هم متصل شده اند ، یک اسکلت مولکولی صاف و استوانه ای شکل را به وجود می آورد که زنجیره های جانبی از آن به سمت بیرون کشیده شده اند .
 - ویژگی آب دوست یا آب گریز بودن یک مار پیچ خاص در داخل یک p2 ، تنها توسط **خصوصیات زنجیره های جانبی** تعیین می شود

• صفحات بتا : از یک سری رشته های β تشکیل شده است که از چلو به هم فشرده شده اند . (پیوندهای هیدروژن تثبیت کننده بین رشته های β)
 - هر رشته ی بتا : یک قطعه ی پلی پپتیدی کوتاه (۵ تا ۸ بنیانی) است که تقریباً به طور کامل باز شده و امتداد یافته است
 - برخلاف مار پیچ آلفا که پیوندهای هیدروژن بین گروه های آمین و کربوکسیلی بنیانی های تقریباً مجاور هم در اسکلت مولکول به وجود می آید ، پیوندهای هیدروژن در صفحات β بین اتم های رشته های β مجزا ولی مجاور هم ، به وجود می آید به طوری که بر اتم های زنجیره ی اسکلت مولکول عمود می باشد .
 - این رشته های β ی جدا از هم ممکن است در داخل یک زنجیره ی پلی پپتیدی قرار داشته و تنها توسط حلقه های کوتاه یا بلند جدا شوند ، یا اینکه در زنجیره های پلی پپتیدی متفاوتی وجود داشته باشند

(لورین) ↓

• تا خوردگی کل زنجیره ی پلی پپتیدی ، ساختار سوم آن را به وجود می آورد .
• پایدار شدن ساختار سوم :

ابتدا : توسط برهم کنش های آب گریز بین زنجیره های جانبی غیر قطبی پایدار می گردد
 در کنار پیوندهای فوق : پیوندهای هیدروژن بین زنجیره های جانبی قطبی و گروه های آمین و کربوکسیلی اسکلت مولکول

• این نیروهای پایدار کننده ، ساختارهای شکل دهنده ساختار دوم ، مار پیچ آلفا ، رشته های β ، پیچها و کلافها را به صورت فشرده در کنار هم نگه می دارد .

• به علت آنکه برهم کنش های پایدار کننده در ساختار سوم p2 اغلب ضعیف هستند ، این ساختار p2 محکم نبوده و تحت نوسانات کوچک و مزاحم قرار می گیرد ؛ به همین علت بعضی از قطعات درون ساختار سوم یک p2 می توانند به شدت متحرک بوده و از آنها به عنوان **عوامل اغتشاش گر یاد می شود .**
 - این امر موجب می شود که **ساختار سوم p2 "قافذ یک ساختار سه بعدی پایدار و مشخص" باشد .**
 - این تغییرات به وجود آمده در این ساختار ، پیامدهای مهمی را در عملکرد و تنظیم p2 ها به جا می گذارد .

• دُمین : به نواحی مجزای ساختار سوم پروتئین ، اغلب دُمین اطلاق می گردد . سه دسته عمده دُمین p2 ای - موقعیتی

ساختار سوم : به ساختار کلی **یخچیریه پلی پپتیدی** اطلاق می شود که **آرایش سه بعدی تمامی بنیان ها که آمینو اسیدها** آن را در بر می گیرد.
 • برخلاف ساختار دوم که تنها توسط پیوندهای هیدروژن برقرار می شود، ساختار سوم ابتدا توسط برهم کنش های آب گریز بین زنجیره های جانبی غیر قطبی برقرار می گردد و در کنار این پیوندها، پیوندهای هیدروژن بین ساختار سوم - تاخورده و متصل به هم.
 ساختار سه بعدی پروتئین هاست که در آن با تاخوردگی بیشتر به شکل کروی در می آیند. شروع تشکیل این **بنیان زنجیره های جانبی غیر قطبی** در شکل گیری این ساختار با وجود نیروهای آب گریز است به این صورت که، قسمت هایی از پروتئین تمایلی به قرار گرفتن در کنار آب ندارند. با تشکیل پیوندهای یونی بین گروه های R آمینو اسیدها، نواحی ویژه ای در پروتئین ها به هم می چسبند تا بخش های آب گریز در معرض آب نباشند. **تثبیت این ساختار با تشکیل پیوندهای دیگری بین گروه های R مثل هیدروژنی، کوالان، آب گریز و یونی انجام می شود.** مجموعه این نیروها قسمت های مختلف پروتئین را به صورت به هم پیچیده در کنار هم نگه می دارند. بنابراین مسلم است که با وجود این نیروها که اغلب ضعیف هستند وجود عوامل اغتشاشی در پروتئین های دارای ساختار سوم **ثبات نسبی** دارند و بروز تغییر در آن حتی به صورت یک اسید آمینه هم می تواند قویا ساختار و عمل آن ها را تغییر دهد. شکل ۱۹ که **ضعیف بودن برهم کنش های پایدارکننده و وجود عوامل اغتشاشی که موجب می شود که ساختار سوم PR فاقد یک ساختار سه بعدی پایدار و مشخص باشد.**

پروتئین متصل شونده به DNA در Eukaryotes (CAP PR) میگویند کلاژن

وجود عوامل اغتشاشی در پروتئین



قطعاتی در درون ساختار سوم که به صورت متحرک هستند.
helix-Turn-helix
Amino acid sequence forms a
 • زنجیره های پلی پپتیدی می توانند:
 - هم مارپیچ α
 - هم صفحات β
 - ترکیبی از مارپیچ و صفحه باشند.
 شکل ۱۹ ساختار سوم پروتئین ها

هموگلوبین - کلاژن - پادتن
ساختار چهارم - آرایش زیر واحدها
 بعضی از پروتئین ها ساختار چهارم دارند و هنگامی شکل می گیرد که دو یا چند زنجیره پلی پپتید با همدیگر یک پروتئین را تشکیل می دهند. در این ساختار هر یک از زنجیره ها زیر واحدی از پروتئین محسوب می شوند و نقشی کلیدی دارند. آرایش دادن به این زیر واحدها ساختار چهارم پروتئین ها نامیده می شوند (شکل ۲۰). در مورد هموگلوبین گفتیم که چهار زنجیره دارد هر یک از زنجیره ها، ترتیب خاصی از آمینو اسیدها را در ساختار اول دارند در ساختار دوم به فرم مارپیچ در می آیند در ساختار سوم هر یک از زنجیره ها به صورت یک زیر واحد تاخوردگی هایی پیدا کرده و شکل خاصی پیدا کنند و در نهایت این چهار زیر واحد در کنار هم قرار گرفته و هموگلوبین را شکل می دهند.
 • هموگلوبین های جنینی α و β و γ و δ هستند.
 • بزرگسالان " α و β " هستند.
 • برای پروتئین هایی که فقط یک زنجیره پلی پپتید دارند ساختار نهایی همان سوم است.

- ۴ ژن α_1 و α_2 و α_3 و α_4 که روی کروموزوم ۱۶ قرار دارند بخش زنجیره های آلفای هموگلوبین را می سازند
- ۲ ژن β_1 و β_2 بخش زنجیره های بتا را می سازند

- هموگلوبین ساختار چهارم دارد.
- ساختار دوم هموگلوبین به صورت مارپیچی است.

• ژن های آلفا ۱ و آلفا ۲ روی کروموزوم ۱۶ در کنار هم قرار داشته و فرکانس کدینگ یکسان دارند.

- مولکول‌ها که p۲ به آن متصل می‌شود اغلب لیگاند نامیده می‌شود. در اغلب موارد اتصال به لیگاند موجب بروز تغییر در شکل یک p۲ می‌گردد.
- یکی از موارد اتصال پروتئین - لیگاند که در آن میل ترکیبی بالایی وجود دارد، اتصال آنتی بادی ها به آنتی ژن می باشد.
- آنتی بادی ها p۲ های هستند که در خون گردش کرده و توسط سیستم ایمنی در پاسخ به آنتی ژن تولید می‌شوند.
- کمپلکس آنتی ژن - آنتی بادی از واکنش های دفاعی را در سلول های سیستم ایمنی آغاز می‌نماید.

• نمونه های بسیاری از موارد اتصال پروتئین - لیگاند :

- اتصال هورمون به گیرنده ها
- اتصال مولکول های تنظیمی به DNA
- اتصال مولکول های چسبندگی سلول به ماتریکس خارج سلولی
- اتصال آنزیم ها به لیگاند



شکل ۲۰ ساختار چهارم پروتئین ها

نقش پروتئین ها

پروتئین ها متنوع ترین گروه ملکول های زیستی از نظر ساختار شیمیایی و عملکردی هستند. پروتئین ها در فرایندها و فعالیت های متفاوتی شرکت دارند از جمله **فعالیت آنزیمی** که در آن به صورت کاتالیزورهای زیستی عمل می کنند و سرعت واکنش شیمیایی خاصی را زیاد می کنند.

بعضی از پروتئین ها به صورت گیرنده هایی در سطح سلول ها قرار دارند و میکروبیوم های خارجی، یاخته های سرطانی یا مواد دیگر را تشخیص می دهند. اینها اساس کار دستگاه های هورمونی و ایمنی در بدن را تشکیل می دهند. **گلوبولین ها** هم که پادتن ها را می سازند پروتئین هستند.

برخی پروتئین ها مثل **هموگلوبین** مواد را در خون منتقل می کنند. **پمپ سدیم پتاسیم** نیز که با آشنا هستید

پروتئینی است، ضمن اینکه در ساختار غشا شرکت دارد، یون های سدیم و پتاسیم را در عرض غشا جابجا می کند و **فعالیت آنزیمی هم دارد**. مثال: **پمپ سدیم پتاسیم هم نقش ناقل غشایی و هم نقش آنزیمی دارد**.

پروتئین هایی مثل **فیبرین** در لخته خون و **کلاژن** در بافت های پیوندی از بخش های مختلف بدن **حفاظت** می کنند. **زردپی، رباط، استخوان و پوست** مقدار فراوانی از پروتئین کلاژن دارند.

انقباض ماهیچه ها ناشی از حرکت لغزشی دو نوع پروتئین بر روی یکدیگر یعنی **اکتین و میوزین** است.

هورمون های مثل **اکسی توسین و انسولین** که پیام های بین سلولی را در بدن جانوران رد و بدل می کنند تا

تنظیم های مختلف در بدن انجام شود پروتئین هستند.

همچنین پروتئین ها نقش های **تنظیمی متعددی** را در روشن و خاموش کردن ژن ها در حین تعابیر بر عهده دارند.

مثل مهار کننده ها که با آنها آشنا خواهید شد.

هزاران نوع مختلف از آنزیم‌ها شناسایی شده اند که هر یک از آنها یک واکنش شیمیایی منفرد یا گروهی از واکنش‌های به هم وابسته و نزدیک را کاتالیز می‌نمایند.

۱. آنزیم‌های خاصی در اکثریت سلول‌ها یافت می‌شوند، چرا که این آنزیم‌ها :

- ساخت ترکیبات سلولس معمول را کاتالیز نموده
- در برداشت انرژی از مواد غذایی مشارکت دارند
- مثل: $ATP \rightarrow ADP$ ، اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدها
- مثل: تولید انرژی توسط تبدیل گلوکز به CO_2 و آب طی تنفس سلولی

۲. آنزیم‌های دیگر تنها در نوع خاصی از سلول وجود دارند، چرا که آن‌ها :

- واکنش‌های شیمیایی را کاتالیز می‌کنند که منحصر به آن نوع سلول است
- مثل: آنزیم‌هایی که در فرورن تیروزین را به دوپامین تبدیل می‌کنند.

نوعی فرورن شیمیایی

بیشتر آنزیم‌ها از دو قسمت یکی پروتئین و دیگری غیر پروتئین تشکیل شده اند.

(کوآنزیم) **محل در آب**
کوآنزیم‌ها بیشتر از مشتقات ویتامین‌ها هستند که در مقابل حرارت تا ۷۰ درجه سانتیگراد مقاومند و قادرند از غشای دیالیز عبور کنند.

(آپوآنزیم)

کوفاکتور : بعضی آنزیم‌ها برای اینکه بتوانند فعالیت کنند، به فعال‌کننده‌هایی نیاز دارند.

این فعال‌کننده‌ها غیر پروتئینی بوده و **کوفاکتور** نام دارند.

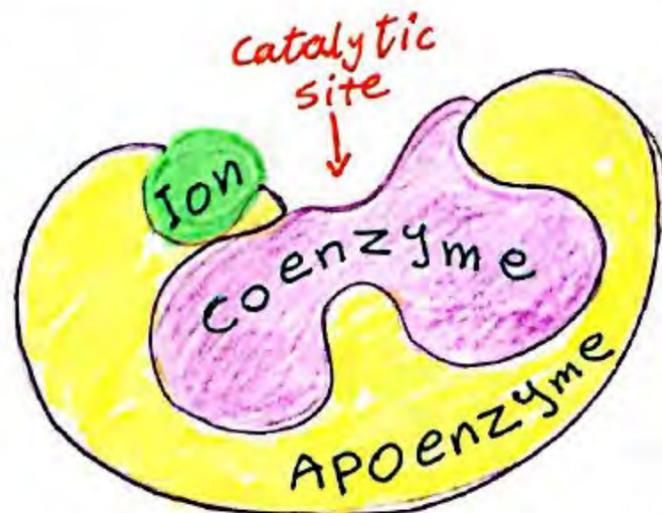
به دو گروه تقسیم می‌شوند :
 پروتئینی : $2+$
 غیر پروتئینی : $2+$
 مانند $Se - K - Ni - Fe - Cu - Mn - Zn$

۱. کوفاکتورهایی که شامل یک یون فلزی می‌باشند. این کوفاکتورها به دو صورت عمل می‌کنند.

- یونهای فلزی نقش یک واسطه را برای پیوند مولکولهای آنزیم یا سوبسترا به هم دارند
- برخی یونهای فلزی خود در عمل کاتالیز شرکت می‌کنند مثلاً آهن آهن کاتالاز نقش اصلی را در تجزیه H_2O_2 انجام می‌دهد.

coenzyme

۲. کوفاکتورهایی که از یک مولکول ترکیب آلی یافته‌اند (به این‌ها **کوآنزیم** می‌گویند)



Holoenzyme = apo-enzyme + cofactor

• **بزرگترین** از $p2$ ها که واکنش های شیمیایی، ایجاد و شکستن پیوندهای کووالانسی، را کاتالیز می کنند، آنزیم و لیگاند های آنها را سوبسترا می نامند.

• آنزیم ها دسته های بزرگ و مهمی از $p2$ ها را تشکیل می دهند. شکل دیگری از ماکرومولکول های کاتالیز کننده در

آنزیم ها سلول از RNA ساخته شده است. این RNA ها **ریبوزیم** نامیده می شوند.

واکنش های شیمیایی در صورتی انجام می شود که انرژی اولیه کافی برای انجام آن وجود داشته

باشد. این انرژی را انرژی فعال سازی گویند. انجام واکنش ها در بدن موجود زنده نیز که با عنوان سوخت و ساز

مطرح می شوند همینطور هستند. اما این واکنش ها با حضور آنزیم انجام می شود. آنزیم انرژی فعال سازی واکنش

را کاهش می دهد و با این کار سرعت واکنش هایی که در بدن موجود زنده انجام شدنی هستند را **زیاد**

می کند. بدون آنزیم ممکن است در دمای بدن سوخت و ساز سلول ها بسیار کند انجام شود و انرژی لازم برای

حیات نتواند تأمین شود. آنزیم هایی مثل آمیلاز بزاق، لپاز که در دستگاه گوارش عمل می کنند از یاخته هایی

ترشح می شود و در خارج سلول عمل می کنند ولی آنزیم های موثر در تنفس سلولی، فتوسنتز، همانندسازی و

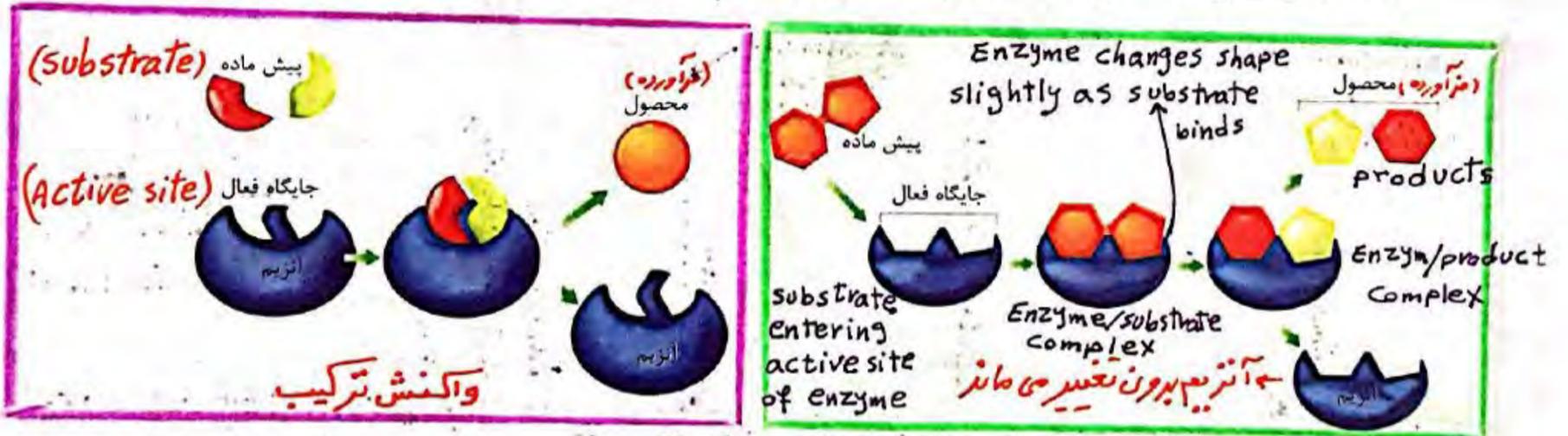
رونویسی، درون سلول فعالیت می کنند. البته آنزیم هایی مثل پمپ سدیم پتاسیم فعالیت خود را در غشاء انجام

می دهند. **محل فعالیت آنزیم ها:** ۱. بیرون از سلول ۲. درون سلول ۳. در غشاء ۴. در غشاء پتاسیم سدیم در غشاء سلول

ساختار آنزیم ها **ریبوزیم ها از جنس RNA هستند.** بیشتر آنزیم ها پروتئین هستند. آنزیم ها در ساختار خود بخشی به نام جایگاه فعال^۱ دارند. جایگاه فعال بخشی

است اختصاصی در آنزیم که پیش ماده در آن قرار میگیرد. ترکیباتی که آنزیم روی آنها عمل می کند پیش

ماده^۲ و ترکیباتی که حاصل فعالیت آنزیم هستند **فراورده**^۴ خوانده می شوند. شکل ۱: $E + S \leftrightarrow ES \rightarrow E + product$



شکل ۲۱- طرز عمل آنزیم در واکنش های سوخت و ساز (تجزیه و ترکیب)

بعضی آنزیم ها برای فعالیت به **یون های فلزی** مانند آهن، مس و **ویا مواد آلی** مثل ویتامین ها نیاز دارند. وجود بعضی

از **مواد سمی** در محیط مثل سیانید و آرسنیک می تواند جلوی فعالیت آنزیم ها را بگیرد. این مواد به جای پیش

ماده در جایگاه فعال آنزیم قرار می گیرند و مانع فعالیت آنزیم می شوند. بعضی از این مواد به همین طریق

باعث مرگ می شوند. **برخی سموم پس از زمان کوتاهی از جایگاه فعال آنزیم ها خارج می شوند پس سبب**

مرگ نمی شوند. مثلاً عمده ی مسمومیت های گوارشی

- 1- Metabolism
- 2- Active site
- 2- Substrate
- 4- Product

کوآنزیم ها آلتر استر استر و **ویتامین ها هستند:** B_1 - تیامین پیروفسفات (TPP)

B_2 - FMN و $FADH_2$ ← بیوتین

B_3 - NAD^+ و $NADP^+$ ← ۲۲

B_5 - کوآنزیم A ← تتراهیدروفلورات

B_6 - پیرویدوکسال فسفات ← B_{12} - فتا کالامین

ویتامین ها :

۱. محلول در آب

تیامین (B₁)

ریبوفلاوین (B₂)

نیاسین (B₃)

پانتوتنیک اسید (B₅)

پیریدوکسین (B₆)

بیوتین (H)

۲. محلول در چربی

رتینول (ویتامین A)

کوله کلسی فرول (ویتامین D₃)

α - توکو فرول (ویتامین E)

کینون (ویتامین K)

کوبال آمین (B₁₂)

اسید فولیک (B₉)

اسید اسکوربیک (ویتامین C)

• کاتالیزگرها ↓

- غیر آلی ← غیر اختصاصی عمل می کند

- آلی (آنزیم) ← اختصاصی عمل می کند (در عین حال، درجات مختلفه از تخصص وجود دارد.)

علت اختصاصی بودن آنزیم ها را باید در ساختار فضایی آن جستجو کرد
بعضی از آنزیم ها می توانند نه تنها بر روی یک سوبسترای معین اثر کنند، بلکه قادرند بر روی تمام موادی که دارای یک عامل شیمیایی هستند، موثر باشند.

عوامل موثر بر سرعت واکنش

Maximum enzyme activity
Optimum pH
PH

عوامل موثر بر سرعت واکنش - حرارت

Maximum enzyme activity
Optimum temperature
Denaturation
Reaction Rate
Temperature (C°)

• سرعت واکنش: میزان مصرف سوبسترا یا تولید محصول در واحد زمان

velocity at later time is slower
velocity at early time is faster
زمان

عوامل موثر بر سرعت واکنش - غلظت سوبسترا

$$E + S \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_1} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

substrate binding
reaction

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

• Km و Vmax برای هر آنزیمی اعداد ثابتی هستند.

Initial velocity, V₀ (μm/min)
V_{max}
1/2 V_{max}
substrate concentration [S] (mM)

• عوامل موثر بر سرعت واکنش

- فعالیت ویژه آنزیمی
- واحد آنزیمی

Enzyme concentration

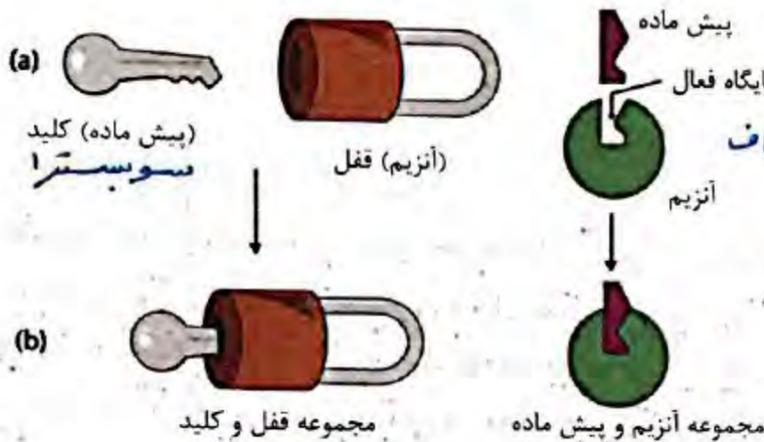
بعضی آنزیم‌ها روی تعدادی از ترکیبات که از نظر ساختمان سبب هستند، اثر می‌کنند. مثلاً کمپوتریپسین پیوندهای پپتیدی را هیدرولیز می‌کند که گروه کربونیل آنها مربوط به اسیدهای آمینه خنثی آلانین، تیروزین و تریتروفان باشد.

آنزیم‌ها مرکزهای (عمدتاً) پروتئین هستند که برای یک یا چند محل نفوذ سطحی (جایگاه‌های فعال) هستند که سوبسترا به این نواحی متصل می‌شود.

عملکرد اختصاصی آنزیم‌ها تحت تأثیر آنزیم‌ها، سوبسترا تغییر می‌کند و به یک یا تعدادی محصول تبدیل می‌شوند.

هر آنزیم روی یک یا چند پیش ماده خاص مؤثر است. شکل آنزیم در جایگاه فعال با شکل پیش ماده یا

بخشی از آن مطابقت دارد. این حالت شبیه به جفت شدن قفل و کلید است. شکل ۲۲



مناسب القایی: اگر چه می‌توان آنزیم و سوبسترا را هاستر قفل و کلید تصور کرد، اما این بدان معنی نیست که جایگاه فعال آنزیم، ساختمان سخت و غیرقابل انعطاف است. در بعضی از آنزیم‌ها، جایگاه فعال فقط بعد از آنکه ماده زمینه به آن متصل شد، دقیقاً مکمل سوبسترا می‌شود. این پدیده مناسب القایی نام دارد.

شکل ۲۲ شباهت آنزیم و پیش ماده به قفل و کلید

آنزیم‌ها در واکنش‌های مختلف شرکت می‌کنند در همه سرعت واکنش را زیاد می‌کنند اما در پایان همه

واکنش‌ها دست نخورده باقی می‌مانند تا بدن بتواند بارها از آنها استفاده کند. البته به مرور مقداری از آن از بین می‌روند.

عوامل مؤثر بر فعالیت آنزیم‌ها:

- اثر حرارت: افزایش دما به سرعت واکنش‌های آنزیمی - حرارت بسیار زیاد دما فوراً سبب آنزیم شدن می‌شود.
- اثر pH: بهترین pH برای عملکرد آنزیم، pH اینتیم خونازره می‌شود.
- غلظت آنزیم: سرعت واکنش آنزیمی با افزایش غلظت آنزیم به طور خطی افزایش می‌یابد.
- غلظت پیش ماده: افزایش غلظت پیش ماده تا حد خاص، موجب افزایش سرعت واکنش آنزیمی می‌شود ولی

عوامل متعددی از جمله اسیدیته، دما، غلظت آنزیم و پیش ماده بر سرعت فعالیت آنزیم‌ها تأثیر می‌گذارد. بیش از آن حرارت، دما،

اسیدیته محیط: اسیدیته بیشتر مایعات بدن بین ۶ و ۸ است مثلاً اسیدیته خون حدود ۷/۴ است. خارج از این محدوده، اسیدیته ترشحات معده است که حدود ۲ می‌باشد.

هر آنزیم در یک اسیدیته ویژه بهترین فعالیت را دارد که به آن اسیدیته بهینه گویند مثلاً پپسین که از معده ترشح؟! پپسین \leftarrow HCL

می‌شود اسیدیته بهینه آن ۲ است در حالی که آنزیم‌هایی که از لوزالمعده به روده کوچک وارد می‌شود اسیدیته بهینه ۸ دارند. تغییر اسیدیته باعث تغییر شکل آنزیم شده و امکان اتصال آن به پیش ماده از بین می‌رود در نتیجه میزان فعالیت آن تغییر میکند.

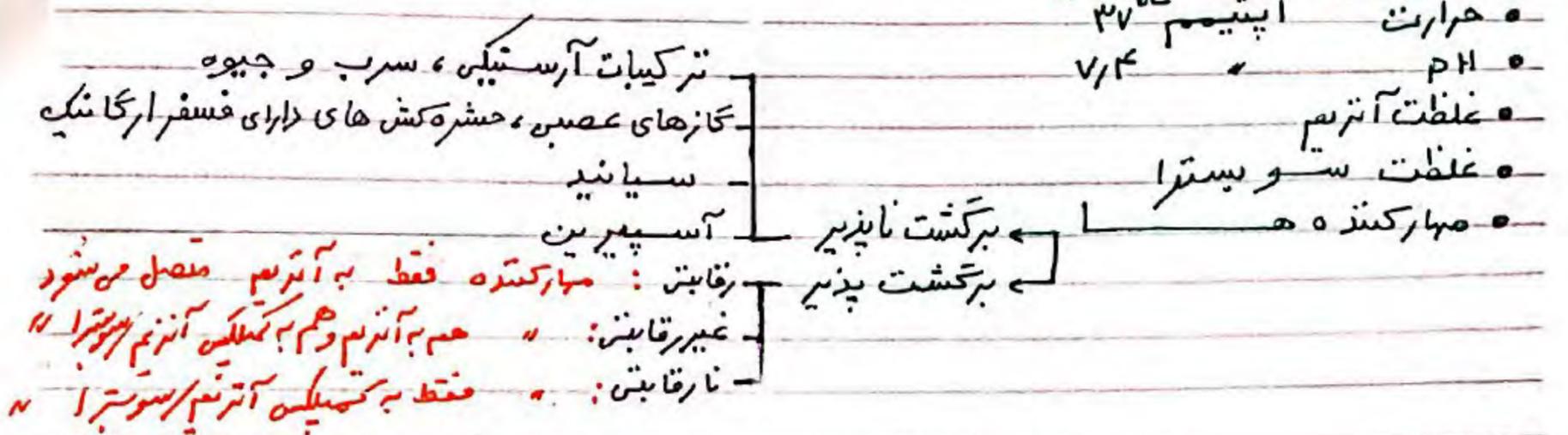
دما: آنزیم‌های بدن انسان در دمای ۳۷ درجه بهترین فعالیت را دارند. این آنزیم‌ها در دمای بالاتر ممکن است شکل غیر طبیعی یا برگشت‌ناپذیر پیدا کنند و غیر فعال شوند. آنزیم‌هایی که در دمای پایین غیر فعال می‌شوند با برگشت دما به حالت طبیعی، می‌توانند به حالت فعال برگردند.

فعالیت

- گفته می‌شود تب بالا خطرناک است، بین این مسئله و فعالیت آنزیم‌ها چه ارتباطی می‌بینید؟

کربوهیدراز
لیپاز
نوکلیاز
پروتئاز
کمپوتریپسینوزن
پروالاستاز
کالیکریپسینوزن
پروکربوکسیپستیداز
تریپسیپسینوزن

• عوامل موثر بر سرعت واکنش آنزیمی



• کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها

- واکنش های داخل سلولی با سرعت ثابت عمل نمی کنند.
- مسیرهای متابولیکی اغلب مراحل متوالی با دخالت آنزیم های متعده هستند.
- آنزیم های تنظیمی کنترل کل مسیر متابولیکی را برعهده دارند.
- آنزیم های تنظیمی در ابتدای مسیر متابولیکی فعالیت دارند.

- با توجه به تأثیر متفاوت دمای کم و زیاد روی آنزیم‌ها از این ویژگی آنزیم‌ها در آزمایشگاه‌ها چگونه می‌توان استفاده کرد. • آزمایش تجزیه نشاسته در دماهای ۲۰°C و ۳۵°C ، با مقدار یکسان از آنزیم آملایز و نشاسته آن بر معرف این واکنش یعنی محلول یو بیشتر بدانید - در دمای پایین یعنی ۲۰ و ۳۵ فعالیت آنزیم کم و در دمای بالا (۳۵°C) فعالیت آنزیم بیشتر است پس مقدار نشاسته هیدرولیز شده متفاوت بوده و رنگ‌های متفاوتی ایجاد خواهد شد •

Taq polymerase

باکتری‌های مقاوم به گرما

بعضی باکتری‌های در چشمه آب گرم زندگی می‌کنند. آنزیم‌های این باکتری‌ها در دمای حدود ۸۰ درجه

Thermus aquaticus

بیشترین فعالیت را دارند.

• این آنزیم توانایی تحمل دمای بالا را دارد و همین دلیل در تکنیک PCR (واکنش زنجیره‌ای پلیمریاز) کاربرد فراوانی یافته است •

غلظت آنزیم و پیش ماده : مقدار بسیار کمی از آنزیم کافی است تا مقدار زیادی از پیش ماده را در واحد

زمان به فراورده تبدیل کند. اگر مقدار آنزیم زیادتر شود تولید فراورده در واحد زمان افزایش می‌یابد. افزایش

غلظت پیش ماده در محیطی که آنزیم وجود دارد نیز می‌تواند تا حدی واکنش را با سرعت بیشتری انجام دهد.

تا زمانی که تمامی جایگاه‌های فعال آنزیم‌ها با پیش ماده اشغال شوند. در این حالت سرعت انجام واکنش ثابت

می‌شود. (در نقطه‌ای سرعت ماکزیمم واکنش آنزیمی)