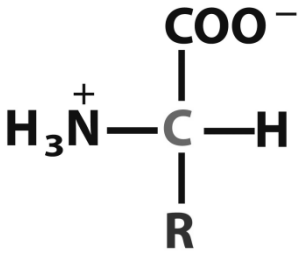
فصل اول: اسیدهای آمینه و پروتئین‌ها

اسیدهای آمینه (انیمیشن۸۳،۲۶۶)

اسیدهای آمینه به عنوان واحدهای ساختمانی ساختار پپتیدها و پروتئین ها می باشند.

- در طبیعت در حدود ۳۰۰ اسید آمینه وجود دارد که تنها ۲۰ اسید آمینه از این تعداد در ساختمان پپتیدها و پروتئین ها شرکت می کنند که به این ۲۰ اسید آمینه، اسید آمینه استاندارد می گویند.
- اسیدآمینه دارای حداقل چهار گروه متصل به کربن α (کربن متصل به گروه کربوکسیل را کربن α گویند) می-باشد لذا این کربن یک کربن نامتقارن می‌باشد.
- تمامی اسیدهای آمینه به جز اسید آمینه گلایسین به دلیل داشتن کربن α نامتقارن دارای فعالیت نوری می باشند.
- گروه های متصل به کربن α شامل: گروه کربوکسیل (COOH) ، یک گروه آمین (NH_2) ،یک اتم هیدروژن و زنجیره جانبی یا ریشه R می باشند.
- اختلاف گروههای R از نظر ساختمان ، اندازه و بار الکتریکی روی حلالیت اسیدهای آمینه در آب اثر می گذارد.
- تمامی ۲۰ اسید آمینه موجود در پروتئینها از نوع α – آمینو اسید می‌باشند. بتا آمینواسیدها و گاماآمینواسیدها نیز وجود دارند که در ساختار پروتئین شرکت نمی‌کنند.



- بتا و گاما آمینواسیدها بترتیب حاوی یک و دو گروه کربنی بیشتر در ساختار خود هستند و عامل آمین بر روی کربن بتا و گاما قرار دارد.

- اسیدهای آمینه به واسطه نحوه اتصال گروه آمین متصل به کربن α نامتقارن دارای دو ایزومر D و L می باشند.
- L-amino acid فرم رایج اسیدهای آمینه در پروتئین ها می باشد.

تقسیم بندی اسیدهای آمینه(انیمیشن ۸۲، ۱۱۹)

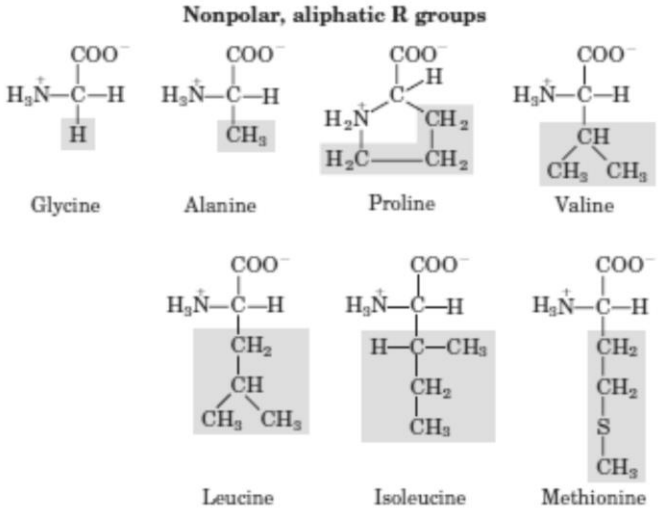
بر اساس ویژگی های گروه های R شامل: قطبیت و تمایل به داشتن میانکنش با مولکول آب در pH بیولوژیک اسیدهای آمینه در ۵ گروه طبقه بندی می شوند:

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

Amino acid	Abbreviation/ symbol	M_r	pK_a values pK_1 (—COOH)	pK_2 (—NH_3^+)	pK_R (R group)	pI	Hydropathy index*	Occurrence in proteins (%)†
Nonpolar, aliphatic R groups								
Glycine	Gly G	75	2.34	9.60		5.97	−0.4	7.2
Alanine	Ala A	89	2.34	9.69		6.01	1.8	7.8
Proline	Pro P	115	1.99	10.96		6.48	1.6	5.2
Valine	Val V	117	2.32	9.62		5.97	4.2	6.6
Leucine	Leu L	131	2.36	9.60		5.98	3.8	9.1
Isoleucine	Ile I	131	2.36	9.68		6.02	4.5	5.3
Methionine	Met M	149	2.28	9.21		5.74	1.9	2.3
Aromatic R groups								
Phenylalanine	Phe F	165	1.83	9.13		5.48	2.8	3.9
Tyrosine	Tyr Y	181	2.20	9.11	10.07	5.66	−1.3	3.2
Tryptophan	Trp W	204	2.38	9.39		5.89	−0.9	1.4
Polar, uncharged R groups								
Serine	Ser S	105	2.21	9.15		5.68	−0.8	6.8
Threonine	Thr T	119	2.11	9.62		5.87	−0.7	5.9
Cysteine	Cys C	121	1.96	10.28	8.18	5.07	2.5	1.9
Asparagine	Asn N	132	2.02	8.80		5.41	−3.5	4.3
Glutamine	Gln Q	146	2.17	9.13		5.65	−3.5	4.2
Positively charged R groups								
Lysine	Lys K	146	2.18	8.95	10.53	9.74	−3.9	5.9
Histidine	His H	155	1.82	9.17	6.00	7.59	−3.2	2.3
Arginine	Arg R	174	2.17	9.04	12.48	10.76	−4.5	5.1
Negatively charged R groups								
Aspartate	Asp D	133	1.88	9.60	3.65	2.77	−3.5	5.3
Glutamate	Glu E	147	2.19	9.67	4.25	3.22	−3.5	6.3

۱- اسیدهای آمینه غیرقطبی با زنجیره جانبی آلیفاتیک(نان پولار non polar یا آلیفاتیک):

در این گروه اسیدهای آمینه غیر قطبی و آبگریز با زنجیره آلیفاتیک قرار دارند که شامل : گلایسین ، آلانین ، پرولین، والین ، لوسین ، ایزولوسین و متیونین می باشند.

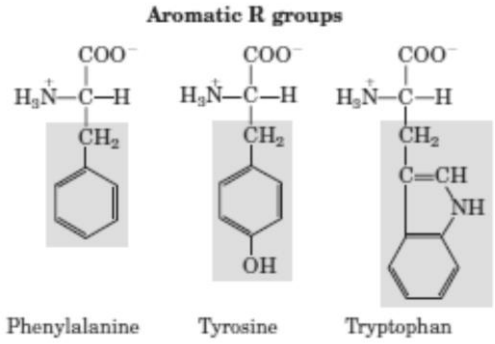


استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

- زنجیره جانبی این اسیدهای آمینه به علت غیرقطبی بودن تمایل دارند تا در داخل پروتئین ها بصورت مجتمع با یکدیگر از طریق واکنش های متقابل هیدروفوب (آبگریز) قرار گیرند
- گلایسین ساده ترین ساختمان اسید آمینه ای را دارد.
- گلایسین تنها اسید آمینه ای است که دارای کربن α- نامتقارن می باشد، زیرا زنجیره جانبی آن تنها یک اتم هیدروژن می‌باشد.
- هرچند گلایسین در این طبقه قرار دارد ولی از آنجا که زنجیره جانبی آن بسیار کوچک و انعطاف پذیر است هیچ همکاری را در ایجاد پیوند های هیدروفوب از خود نشان نمی‌دهد.
- والین، لوسین و ایزولوسین سه اسیدآمینه شاخه‌دار هستند. ایزولوسین در ساختار خود دارای دو کربن نامتقارن می-باشد.
- متیونین ، اسید آمینه گوگردار است که در ساختمان زنجیره جانبی خود یک تیواتر غیرقطبی دارد.
- پرولین در حقیقت یک آلفا ـ ایمینو **(α-imino)** است که به دلیل آزاد نبودن عامل آمین ، عامل ایمین در یک کانفورماسیون محکم و انعطاف ناپذیری قرار دارد که این مساله نقش مهمی در تعیین ساختمان فضایی پروتئین‌ها برعهده دارد.

۲- اسیدهای آمینه حلقوی (Aromatic) :

اسیدهای آمینه فنیل آلانین ، تیروزین و تریپتوفان در این طبقه قرار دارند.



تمام اسیدهای آمینه زیر در شاخه جانبی خود گروه های حلقوی دارند، بجز(ارشد ۸۲-۸۱)

۱)تیرورین ۲) هیستیدین ۳) تریپتوفان ۴) آسپارتیک اسید

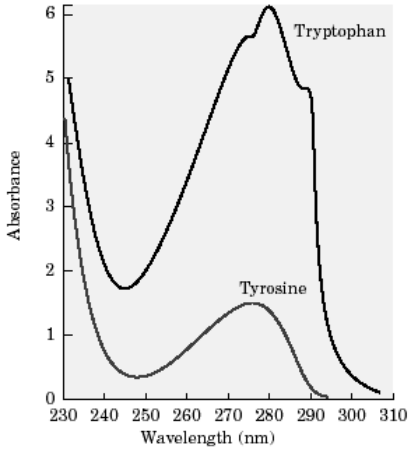
پاسخ: گزینه ۴

- این اسیدهای آمینه بطور نسبی غیرقطبی هستند.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

- اسیدهای آمینه حلقوی آروماتیک تیروزین و تریپتوفان و به میزان کمتری فنیل آلانین نور را در منطقهٔ فرا بنفش **(Ultra violet)** به صورت قابل ملاحظه‌ای جذب می‌کنند.

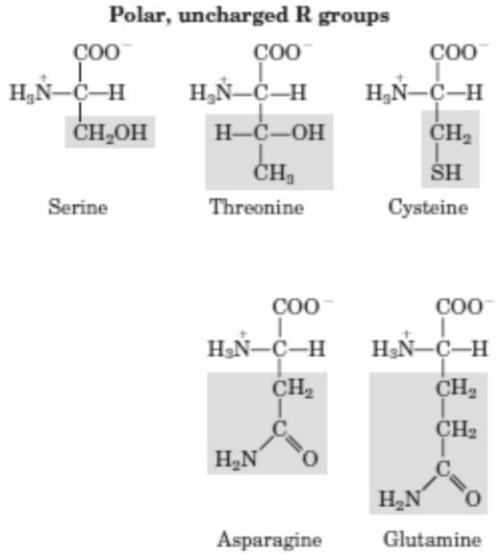
- اندازه‌گیری جذب نور در طول موج ۲۸۰ نانومتر به وسیلهٔ اسپکتروفتومتر، روشی سریع برای تخمین زدن مقدار پروتئین یک محلول است.
- تمام اسیدهای آمینه در فرابنفش دور (کمتر از ۲۲۰ نانومتر) نور را جذب می‌کنند.



۳- اسیدهای آمینه قطبی بدون بار

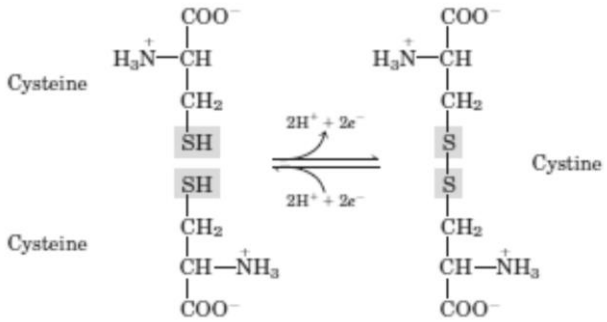
این گروه از اسیدهای آمینه به دلیل داشتن گروههای عاملی که می توانند در آب پیوند هیدروژنی تشکیل دهند ، قطبی بوده لذا در آب قابلیت حل شدن دارند. اسیدهای آمینه این گروه شامل اسیدهای آمینه سرین ، ترئونین ، سیستئین ، آسپاراژین و گلوتامین می باشند.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



- ترئونین شبیه ایزولوسین دارای یک مرکز نامتقارن اضافی است ولی فقط یک نوع ایزومر آن در پروتئین ها وجود دارد.

- سیستئین دارای یک گروه سولفیدریل یا تیول (-SH) است
- قطبیت سرین و ترئونین به دلیل گروه هیدروکسیل ، در سیستئین به دلیل گروه تیول و در آسپاراژین و گلوتامین به واسطه گروههای آمیدی آنها می باشد.
- گروه های سولفیدریل(تیول) از دو اسید آمینه سیستئین ممکن است اکسید شده و پیوندهای دی سولفیدی (S-S) را تشکیل دهند ، که این پیوند نقش مهمی در پایداری ساختار پروتئین دارد.



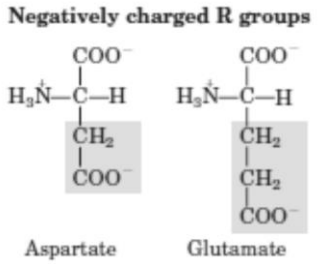
٤- اسیدهای آمینه با بار منفی(اسیدی)

اسیدهای آمینه آسپارتات و گلوتامات در این گروه قرار دارند که در ساختار خود علاوه بر گروه کربوکسیل متصل به کربن آلفا ، دارای یک گروه کربوکسیل در زنجیره جانبی خود می باشند.

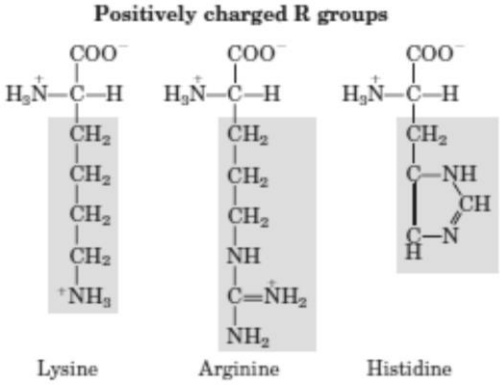
- گروه کربوکسیل موجود در زنجیره جانبی در pH فیزیولوژیک یونیزه شده دارای بار منفی است.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

- این دو اسید آمینه و به خصوص گلوتامات نقش مهمی در انتقال عامل آمین در متابولیسم اسیدهای آمینه دارند.



۵- اسیدهای آمینه با بار مثبت (بازی)



این گروه از اسیدهای آمینه شامل اسیدهای آمینه لیزین، آرژنین و هیستیدین می‌باشند.

- لیزین در اکثر پروتئین‌ها خصوصاً هیستونها به میزان زیادی یافت می‌شود.
- در کلاژن پس از اتمام سنتز، بعضی از لیزینهای موجود اکسید شده، تولید دلتا هیدروکسی لیزین می کند.
- آرژنین در ساختار پروتئین‌هایی مانند هیستون و پروتامین به فراوانی یافت می‌شود.
- آرژنین بسیار بازی است وگروه انتهایی این اسید آمینه شامل ۳ ازت می‌باشد که به آن گوانیدین (Guanidine) می گویند.
- هیستیدین در اکثر پروتئینها وجود دارد ولی مقدار آن در هموگلوبین نسبتاً زیاد است.

کدام اسید آمینه در زنجیره جانبی خود گروه هیدروکسی ندارد؟(ارشد ۸۳-۸۲)

۱)هیستیدین ۲)سرین ۳)تیروزین ۴)تره اونین

پاسخ: گزینه ۱ (به جز هیستیدین بقیه اسید آمینه الکلی هستند)

- هیستیدین تنها اسیدآمینه‌ای است که در pH فیزیولوژیک نقش تامپونی دارد.

در PH فیزیولوژیک کدام اسید آمینه ظرفیت ماکزیمم دارد؟(ارشد ۸۵)

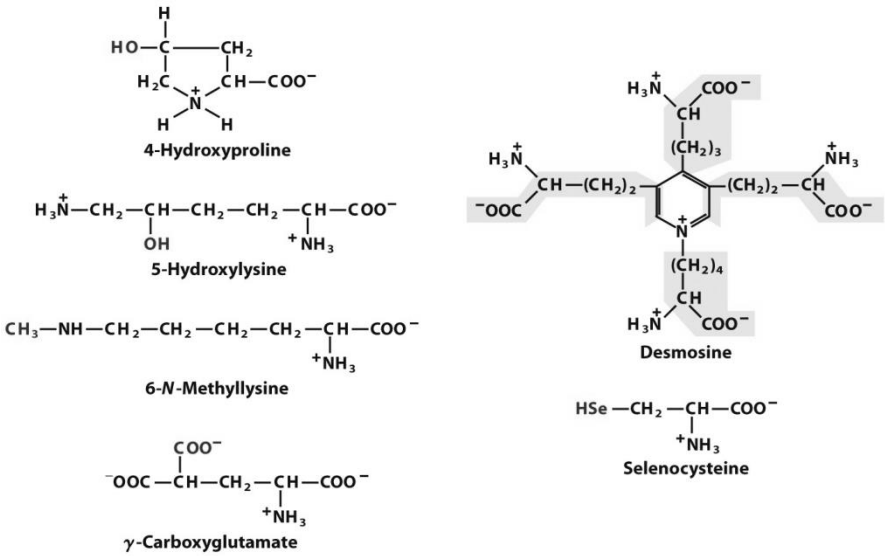
۱)آرژنین ۲)هیستیدین ۳)والین ۴)اسید گلوتامیک

پاسخ: گزینه ۲

اسیدهای آمینه غیر استاندارد

این اسیدهای آمینه مشتقات برخی از اسیدهای آمینه استاندارد می‌باشند.

- ۴ـ هیدروکسی پرولین از پرولین و۵- هیدروکسی لیزین از لیزین مشتق می شوند که در اثر عمل هیدروکسیلاسیون پس از اتمام سنتز کلاژن تولید می شوند.



- ۶- N – متیل لیزین شکل متیله لیزین است که در ساختار میوزین پروتئین ماهیچه سیتوکروم c وجود دارد. تری‌متیل لیزین در پروتئین کالمدولین وجود دارد.
- گاما- کربوکسی گلوتامات در فاکتورهای انعقادی نظیر پروترومبین وجود دارد.
- دسموزین (Desmosine) مشتقی از چهار اسید آمینه لیزین است که در پروتئین رشته‌ای الاستین (Elastin) وجود دارد.

سیستین از پیوند دی‌سولفیدی بین دو اسیدآمینه سیستئین ایجاد می‌شود.

- سلنوسیستئین در اثر جانشینی سلنیوم به جای گوگرد در ساختار اسید آمینه سیستئین ایجاد می شود.

متیل هیستیدین در ساختار اکتین و میوزین و دی‌پپتید آنسرین وجود دارد.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

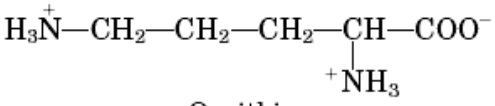
اسیدهای آمینه غیر پروتئینی

اغلب این اسیدهای آمینه مشتقاتی از ال ـ آلفا اسیدهای آمینه موجود در پروتئین‌ها هستند ولی هیچگاه در پروتئین‌ها دیده نمی‌شوند. اسیدهای آمینه بتا، گاما و دلتا نیز شناخته شده‌اند.

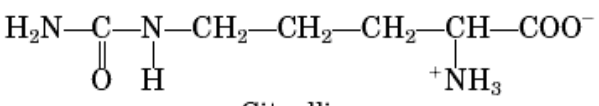
۱ ـ نوع آلفا (α) : مانند اورینیتین (Orinithine) و سیترولین (Citrullin) که از مشتقات آرژنین بوده، در سیکل اوره بعنوان واسطه شیمیایی عمل می کنند.

۲ ـ نوع بتا (β) : در این اسیدهای آمینه، عامل آمین روی کربن β قرار دارد، مانند β ـ آلانین که جزئی از ساختمان اسید پانتوتنیک (ویتامین B_5) می‌باشد.

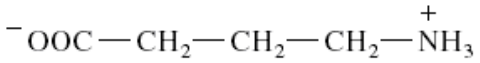
۳ ـ نوع گاما (γ) : در این اسیدهای آمینه عامل آمین روی کربن γ قرار دارد، مانند اسید گاما ـ آمینو بوتیریک (γ- Aminobutyric acid) که به عنوان یک واسطه شیمیایی جهت انتقال جریان عصبی عمل می کند



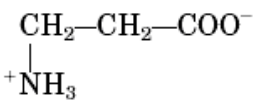
Ornithine



Citrulline



γ-Aminobutyrate



β-Alanine

نکته: کربن متصل به عامل کربوکسیل را آلفا می‌نامند و سایر کربن‌های موجود در آمینواسید را به ترتیب فاصله‌ای که از کربن آلفا دارند، با حروف بتا، گاما و دلتا نشان می‌دهند.

- برخی از اسیدهای آمینه غیر پروتئینی دارای آرایش فضایی D می‌باشد.
- D-glutamic acid در دیوارهٔ سلولی بسیاری از باکتریها یافت می شود D-Alanine در لارو یا شفیره برخی از حشرات و D-Serine در کرم خاکی وجود دارند.

یونیزاسیون اسیدهای آمینه

اسیدهای آمینه دارای عوامل آمین و کربوکسیل هستند که بصورت محلول یونیزه می شوند. یونیزاسیون عامل NH_2 و COOH نسبت به pH محلول متغیر است و بار خالص هر اسید آمینه بستگی به pH محیط دارد.

- در pH خنثی، اسیدهای آمینه فاقد گروه R قابل یونیزه شونده در محیط آبی دارای گروه های کربوکسیل و آمین به صورت COO^- و NH_3^+ بوده و اسیدهای آمینه به صورت یک مولکول دو قطبی می باشند.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

- به مولکول که دارای بار (+) و (-) اصطلاحاً زویتریون (Zwittrion) می‌گویند که می‌تواند هم به عنوان اسید و هم به عنوان باز عمل کند.ترکیباتی که دارای چنین ماهیتی هستند، آمفوتر و گاهی آمفولیت (ampholyte) خوانده می شوند.

منحنی تیتراسیون اسیدهای آمینه (انیمیشن ۱۱۵)

جهت رسم منحنی تیتراسیون اسیدهای آمینه ، محیط را اسیدی نموده و سپس اسید آمینه را با یک باز تیتر می کنند. با قرار دادن تغییرات pH در محور y و میزان باز مصرفی در محور x منحنی تیتراسیون شکل می گیرد.

- گلایسین و اسیدهای آمینه ای که فاقد گروه R قابل یونیزه شونده هستند تقریباً دارای منحنی مشابه یکدیگر هستند.

منحنی تیتراسیون اسید آمینه گلایسین

- در pH اسیدی تا نقطه ای که (pK_1= ۲,۳۴) قدرت اسیدی محیط بیشتر از قدرت اسیدی گروه COOH اسید آمینه است، این گروه یونیزه نمی شود. در حالیکه گروه آمین یک پروتون از محیط گرفته یونیزه می شود در نتیجه در این نقطه بار گلایسین ۱+ است.
- در ادامه تیتراسیون از قدرت اسیدی محیط نسبت به گروه COOH اسید آمینه کاسته می شود. در نتیجه این گروه یونیزه می شود که در این نقطه مجموع بار مثبت و منفی اسید آمینه صفر می شود و اسید آمینه هیچ بار خالصی ندارد.
- به pH ای که در آن مجموع بارهای مثبت (NH_3^+) و منفی (COO^-) اسیدهای آمینه برابر صفر بوده و اسید آمینه در این pH فاقد بار الکتریکی است ، pH ایزوالکتریک (pH_i) گویند.

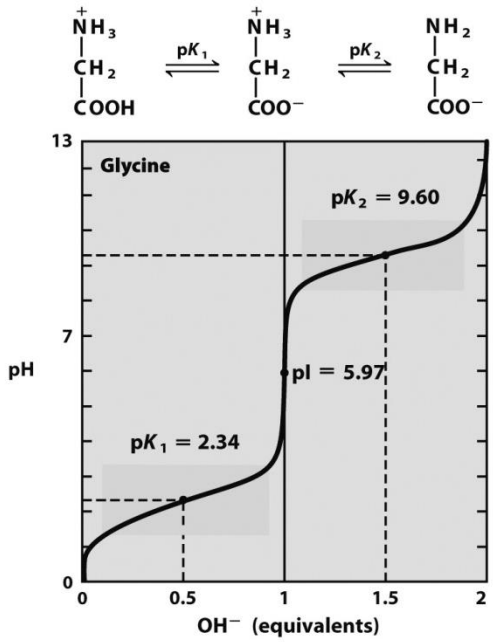
حضور کدام دسته از اسیدهای آمینه زیر باعث می شود تا PH ایزوالکتریک پروتئین بالاتر باشد؟(ارشد ۸۵)

۱) Thr, Ile, Leu, Ala ۲) Phe, Trp, Gly, Pro

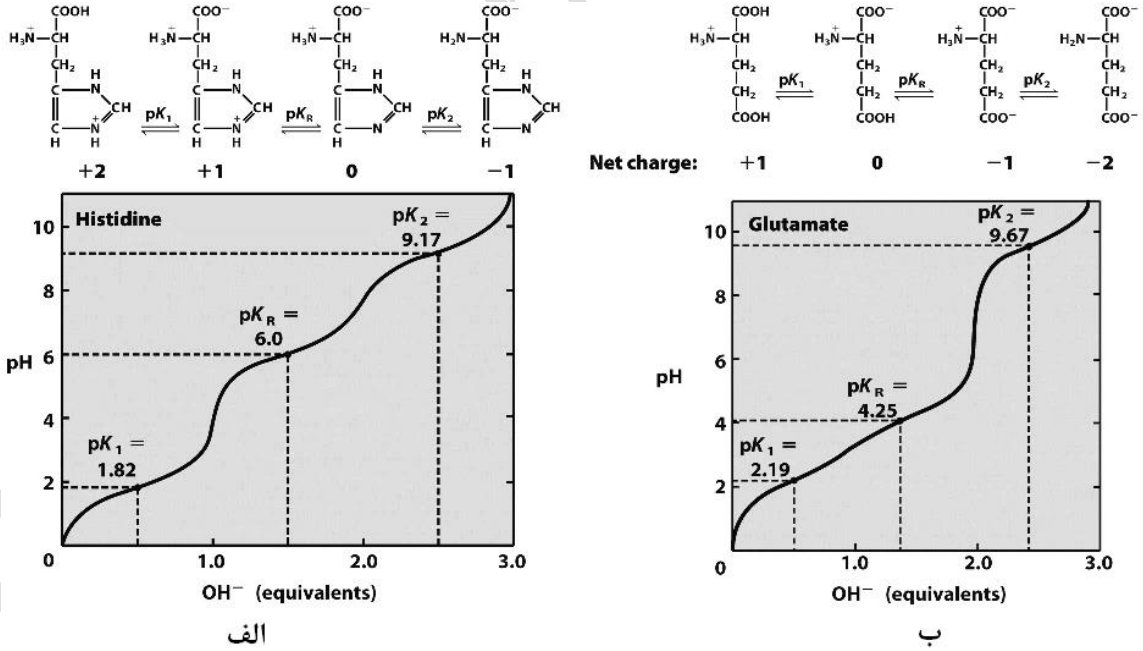
۳) Gln, Cys, Glu, Asp ۴) Gly, Tyr, Arg, Lys

- با ادامه روند تیتراسیون گروه آمین نیز یونیزه شده و از حالت NH_3^+ به NH_2 تغییر می کند. در این نقطه (pK_2) مجموع بار اسید آمینه ۱- می باشد.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



- شکل منحنی تتراسیون و همچنین بارخاص در pH های متفاوت برای اسیدهای آمینه بار دار مثل گلوتامات و هیستیدین متفاوت است.



الف ب

pH ایزوالکتریک (pH_i)

در این pH ، مجموع بارهای مثبت (NH_3^+) و منفی (COO^-) اسیدهای آمینه برابر صفر است.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

- چنانچه اسید آمینه در محیطی قرار بگیرد که pH آن محیط ، پایین تر از pH_i باشد ، اسید آمینه دارای بار مثبت بوده ، خاصیت اسیدی پیدا می کند (فرمهای NH_3^+ و COOH غالب می باشند).
- چنانچه اسید آمینه در محیطی قرار بگیرد که pH آن محیط ، بالاتر از pH_i باشد ، اسید آمینه دارای بار منفی بوده ، خاصیت قلیایی پیدا می کند (فرمهای NH_2 و COO^- غالب می باشند).

محاسبه pH_i اسیدهای آمینه

۱- جهت محاسبه pH_i اسیدهای آمینه Asp و Glu (دارای زنجیره جانبی اسیدی) ،pK عوامل اسیدی را جمع و بر ۲ تقسیم می کنیم.

$$pH_i = \frac{pK_1(\alpha - COOH) + pK_2(R - COOH)}{2}$$

۲- جهت محاسبه pH_i اسیدهای آمینه His، Lys و Arg (دارای زنجیره جانبی قلیایی) ، pK عوامل قلیایی را جمع و بر ۲ تقسیم می کنیم.

$$pH_i = \frac{pK_2(\alpha - NH_3) + pK_3(R)}{2}$$

۲- جهت محاسبه pH_i اسیدهای آمینه دیگر (دارای زنجیره جانبی غیر یونی) pK عامل آمین را با عامل کربوکسیل جمع و بر ۲ تقسیم می کنیم.

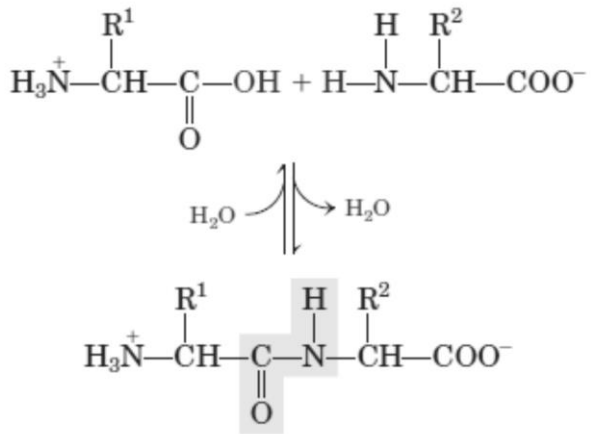
$$pH_i = \frac{pK_1(\alpha - COOH) + pK_2(\alpha - NH_3)}{2}$$

پپتیدها (انیمیشن۸۶، ۸۷، ۱۱۶، ۱۱۷، ۲۶۴، ۲۶۸)

اتصال اسید های آمینه به دنبال یکدیگر ایجاد یک توالی منظم از اسید آمینه را سبب می شود که به این مولکول ایجاد شده پپتید گویند.

- برای اتصال دو اسید آمینه عامل کربوکسیل کربن آلفا از اسید آمینه اول و گروه آمین از اسید آمینه دوم وارد واکنش می شوند. با کم شدن یک مولکول آب از این دو اسید آمینه یک پیوند کووالان موسوم به پیوند پپتیدی (peptide bond) ایجاد می شود.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

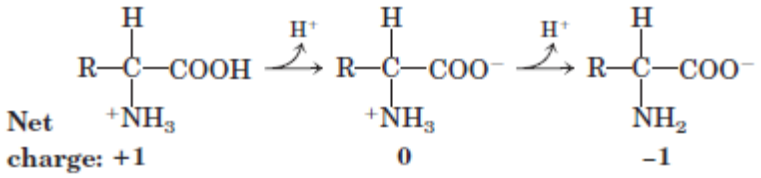


- اگر دو، سه یا چهار اسید آمینه به هم اتصال یابند به ترتیب دی، تری، ترا پپتید شکل می گیرد.
- اگر تعداد کمی اسید آمینه به هم متصل شوند به آن اولیگوپپتید (oligopeptide) گویند.
- اگر تعداد زیادی اسید آمینه به هم اتصال یابند، ساختار حاصله را پلی پپتید (polypeptide) می خوانند.
- در ساختار یک پپتید یا پروتئین به هر یک از اسیدهای آمینه شرکت کننده یک باقیمانده آمینواسیدی (amino acid residue) گویند.
- برای نشان دادن ساختار پپتیدها روی صفحه قسمت آمین آزاد انتهایی (N-terminal) را در طرف چپ صفحه و قسمت کربوکسیل آزاد انتهایی (C-terminal)را در طرف راست قرار می‌دهند.
- از پپتیدهای مهم می توان به تری پپتید گلوتاتیون ، دی پپتید کارنوزین و دی پپتید آسپارتام اشاره کرد.
- بعضی از آنتی بیوتیکها، مانند گرامیسیدین S و تیروسیدین A دارای ساختار پپتیدی هستند و غالباً در ساختار آنها آمینو اسید از سری D نیز مشاهده می‌شود.
- گروهی از هورمونها نیز دارای ساختار پپتیدی هستند که از آن جمله می‌توان به هورمون ضد ترشح ادرار یا وازوپرسین، هورمون تحریک کنندهٔ غده فوق کلیوی یا ACTH و برادی کینین موجود در پلاسما (تنظیم کنندهٔ فشار خون) اشاره کرد.

خصلت اسیدی و بازی پپتیدها

اسیدهای آمینه حداقل دارای ۲ گروه اسیدی (-COOH) و آمینی (-NH۲) هستند. در pH اسیدی تمامی اسیدهای آمینه دارای بار مثبت هستند. در pH ایزوالکتریک ، اسیدهای آمینه بدون بار (برآیند بارهای موجود صفر است) و در pH بازی دارای بار منفی می باشند.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



- در pH های شدیداً اسیدی که تمامی گروهها پروتونه هستند ، بار خالص همه اسیدهای آمینه مثبت است ($-NH_3^+$ CHR-COOH).
- اسیدهای آمینه لیزین ، آرژینین و هیستیدین در pH های شدیداً اسیدی دارای بار ۲+ هستند و سایر اسیدهای آمینه بار ۱+ دارند.
- در pH های شدیداً قلیایی همه اسیدهای آمینه دارای بار منفی‌اند (NH_2-CHR-COO^-).
- اسیدهای آمینه گلوتامات و آسپارتات که در زنجیره جانبی خود دارای گروه عاملی($-COO^-$) هستند، در pH های شدیداً قلیایی دارای بار خالص ۲- هستند.

پپتیدی با ساختمان Val-Trp-Glu-Asp-Lys-Leu-Met در شرایط فیزیولوژیک دارای کدام بار الکتریکی است؟(ارشد ۸۹-۸۸)

۱)۲-　　۲)۱-　　۳)صفر　　۴)۱+

پاسخ: گزینه ۲ (در pH فیزیولوژیک Asp و Glu دارای بار منفی و Lys ، Arg و His دارای بار مثبت است. در تست بالا برایند این بارها ۱- است)

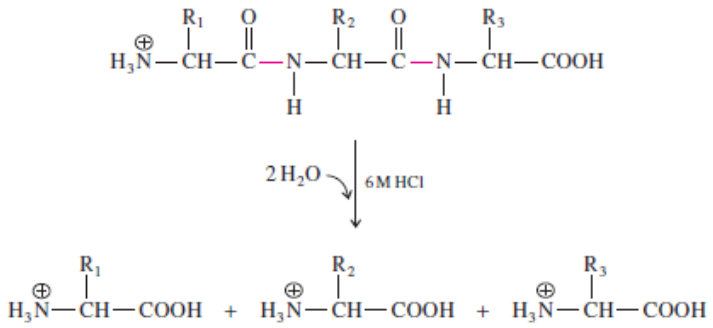
تعیین توالی و نوع اسیدهای آمینه در پپتیدها

برای تعیین تعداد و انواع اسیدهای آمینه تشکیل دهنده یک قطعه پپتیدی ، پلی پپتیدی یا پروتئین ابتدا باید تمام پیوندهای پپتیدی هیدرولیز شود که توسط اسید ، باز یا آنزیم این فرایند انجام می گیرد.

هیدرولیز اسیدی

بیشتر پروتئین ها در حضور اسیدهای قوی مثل HCl ، ۶ نرمال و دماهای بالا به طور کامل هیدرولیز می شوند.یکی از معایب بزرگ این روش تخریب اسیدهای آمینه ای مثل Trp ، Thr ، Ser و یا تبدیل اسیدهای آمینه مثل Gln و Asn به Glu و Asp می باشد.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



هیدرولیز قلیایی

هیدرولیز قلیایی پروتئین ها با جوشاندن در محیط NaOH غلیظ انجام می شود. هیدرولیز قلیایی فقط برای شناسایی اسید آمینه تریپتوفان انجام می گیرد که در هیدرولیز اسیدی ناپایدار است. هیدرولیز قلیایی نیز مانند هیدرولیز اسیدی دارای معایبی است که می توان به تجزیه اسیدهای آمینه سرین، ترئونین، آرژینین و سیستئین اشاره نمود. همچنین در این روش اسیدهای آمینه دچار راسمیزاسیون (racemization) شوند.

هیدرولیز آنزیمی (انیمیشن۱۲۰، ۱۲۱، ۱۲۲، ۱۲۳)

در داخل سلول هیدرولیز پیوند پپتیدی به وسیله گروه خاصی از آنزیم ها به نام پپتیدازها (peptidases) صورت می گیرد که به عناوین پروتئاز (protease) و یا پروتئیناز (proteinase) نیز شناخته می شوند. هیدرولیز آنزیمی نسبت به هیدرولیز اسیدی آهسته تر صورت می گیرد. پپتیدازها به دو صورت وجود دارند:

الف) اگزوپپتیدازها (Exopeptidases) که باعث هیدرولیز اسیدهای آمینه انتهایی شده و به دو گروه تقسیم می شوند :

۱- آمینوپپتیدازها (Aminopeptidases)، باعث هیدولیز زنجیره پلی پپتیدی از سمت انتهای آمینو می شوند.

۲- کربوکسی پپتیدازها Carboxypeptidases) که هیدولیز زنجیره پلی پپتیدی را از سمت انتهای کربوکسی انجام می دهد.

ب) اندوپپتیدازها (Endopeptidases) پیوندهای پپتیدی را در داخل یک زنجیر پلی پپتیدی هیدرولیز می کنند که به مهم ترین آنها در جدول زیر آورده شده است:

بعد از هیدرولیز پروتئین ها، اسیدهای آمینه حاصله را می توان به وسیله کروماتوگرافی یا الکتروفورز از هم جدا نمود.

آنزیم	

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

تریپسین	پیوند پپتیدی ازسمت کربوکسیل باقیمانده های آمینو اسیدی Lys و Arg در صورتیکه باقیمانده بعدی Pro (R_n) نباشد.
کیموتریپسین انیمیشن۳۱۲	پیوند پپتیدی ازسمت کربوکسیل باقیمانده های آمینو اسیدی Phe ، Tyr ، Trp و Leu در صورتیکه باقیمانده بعدی Pro (R_n) نباشد.
پپسین	پیوند پپتیدی ازسمت آمین باقیمانده های آمینو اسیدی Phe و Tyr ، Trp و Leu در صورتیکه باقیمانده قبلی Pro (R_{n-1}) نباشد.
ترومبین	پیوند پپتیدی ازسمت کربوکسیل باقیمانده آمینو اسیدی Arg
پروتئاز ۷۸	پیوند پپتیدی ازسمت کربوکسیل باقیمانده های آمینو اسیدیAsp و Glu
الاستاز	پیوند پپتیدی ازسمت کربوکسیل باقیمانده های آمینو اسیدی Ala ، Gly ، Ser و Val در صورتیکه باقیمانده بعدی Pro (R_n) نباشد
ترومولیزین	پیوند پپتیدی ازسمت آمین باقیمانده های آمینو اسیدی Ile، Met، Phe،Trp، Tyr و Val در صورتیکه باقیمانده قبلی Pro (R_{n-1}) نباشد.

علاوه بر روش های آنزیمی ذکر شده از برومو سیانوژن(CNBr) به عنوان یک روش شیمیایی که باعث هیدرولیز باقیمانده آمینو اسیدی Met از سمت کربوکسیل آن می شود نیز می توان استفاده نمود.

ترکیب CNBr پیوند پپتیدی در محل کدام اسید آمینه در زنجیرهٔ پلی پپتیدی را می شکند؟(ارشد ۸۶)

۱) Asn ۲) Val ۳) Gly ۴) Met

پاسخ: گزینه ۴

لازم به ذکر است اگر پروتئینی در ساختار خود دارای پیوندهای دی سولفیدی می باشد باید ابتدا این پیوندها تخریب شود که توسط اسید پرفرمیک (performic acid)پیوند دی سولفیدی اکسید شده و ایجاد دو باقیمانده اسید سیستئیک می کند. بتای اسیدهای آمینه دارای گروه آمینو آزاد با **نین هیدرین** کمپلکس رنگی ایجاد می‌کنند (بجز پرولین که گروه ایمینو دارد). **فلورسکامین** نقشی مشابه با نین هیدروین ایفا می‌کند و حساسیت بالاتری از آن دارد.

از روش کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) برای جداسازی اسیدهای آمینه از مایعات بدن استفاده می‌کنند که در تشخیص اولیه بیماری‌های متابولیکی اسیدهای آمینه کاربرد دارد.

از روش‌های زیر برای تعیین مقدار اسیدآمینه در مایعات بدن استفاده می‌شود: ۱- کروماتوگرافی گازی ۲- کروماتوگرافی با کارآیی زیاد (HPLC) ۳- کروماتوگرافی تعویض کاتیونی ۴- الکتروفورز ۵- اسپکترومتری جرمی (MS).

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

تعیین توالی اسیدهای آمینه

برای تعیین توالی باقیمانده های آمینو اسیدی از دو روش مرسوم استفاده می شود.

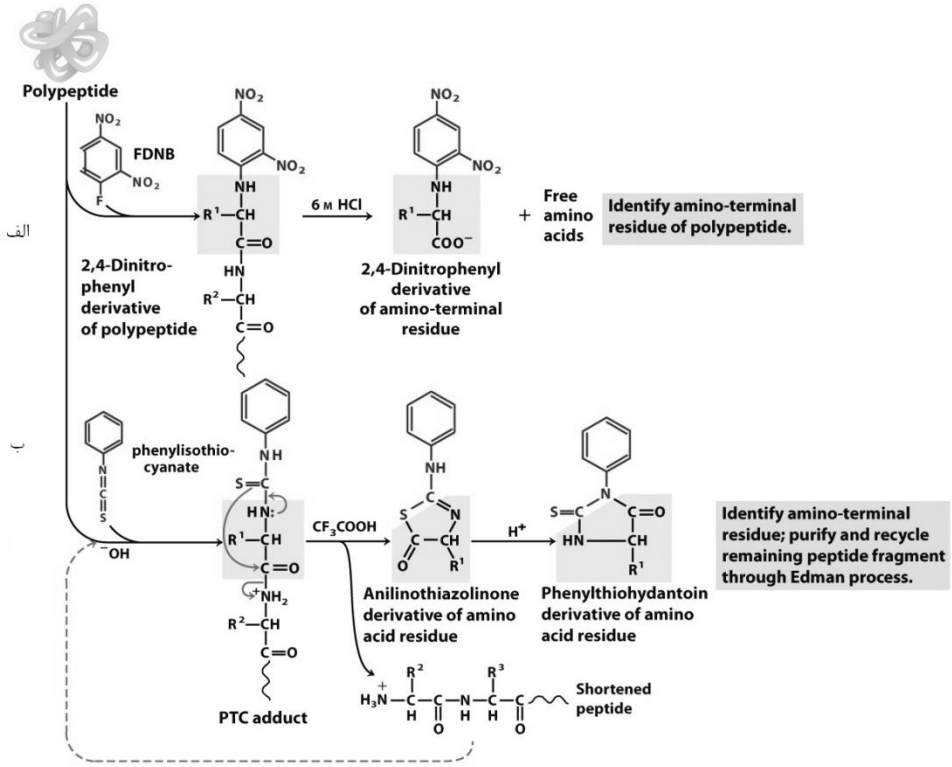
الف) روش سنگر یا فلئورودی نیترو بنزن(FDNB) (انیمیشن ۱۲۴، ۱۲۱)

فردریک سنگر(Fredrick sanger) در سال ۱۹۵۳ برای اولین بار موفق به تعیین توالی هورمون انسولین شد. سنگر برای این فرایند از ترکیب ۱-فلئورو-۲و۴-دی نیتروبنزن(FDNB) استفاده کرد که با انتهای آمینی باقیمانده آمینو اسیدی پلی پپتید ترکیب و نشانه گذاری می شود. در اثر مجاورت با اسید و هیدرولیز کامل پلی پپتید، اسیدهای آمینه آزاد و همچنین اسید آمینه انتهایی نشانه گذاری شده در محیط ایجاد می گردد که می توان آن را شناسایی نمود. از این روش فقط می توان برای شناسایی اسیدهای آمینه انتهایی استفاده نمود (قسمت الف شکل زیر).

به کمک کدام واکنش به سادگی می توان اولین اسید آمینه در یک زنجیره پلی پپتیدی را شناخت؟(ارشد ۸۲-۸۱)

۱)سانگر ۲) ادمن ۳) نین هیدرین ۴) دنسیل کلراید

پاسخ: گزینه ۱



استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

ب) روش ادمن(Edman) یا فنیل ایزو تیوسانات

با کمک روش ادمن کل یک پپتید را می توان تعیین توالی نمود.در این روش در شرایط قلیایی ملایم فنیل ایزوتیوسیانات (phenylisothiocyanate) با عامل آمین انتهای پپتید واکنش داده و تشکیل (PTC) فنیل تیوکرباموبل (phenylthiocarbamyl) می دهد. در این هنگام پیوند پپتیدی مجاور فنیل تیوکرباموبل توسط اسید انیدریدتری فلئوراستیک (trifluoroacetic acid) تجزیه می‌شود که نتیجه آن یک مشتق آنیلینوتیازولینون (anilinothiazolinone) است که در خود دارای اسید آمینه انتهای پپتید است.در اثر این تجزیه پپتید کوتاهی شکل می گیرد که می تواند همین مراحل را تکرار کند. آنیلینوتیازولینون در محیط اسیدی به مشتق پایدار دیگری به نام فنیل تیوهیدانتوئین (phenylthiohydantoin) تبدیل می شود که مورد شناسایی قرار می گیرد. در حال حاضر تعیین توالی انواع پپتیدها با روش ادمن در دستگاهی به نام سکوئناتور (sequenator) به طور اتوماتیک و با دقت بسیار بالایی انجام می گیرد.

پروتئین ها (انیمیشن ۶۷–۸۵–۱۰۶–۱۱۲–۱۱۴–۲۶۰–۵۵۹)

در اثر اتصال تعداد زیادی اسید آمینه پلی پپتیدهایی با وزن مولکولی بالا ایجاد می شود که به آن پروتئین (Protein) می گویند.

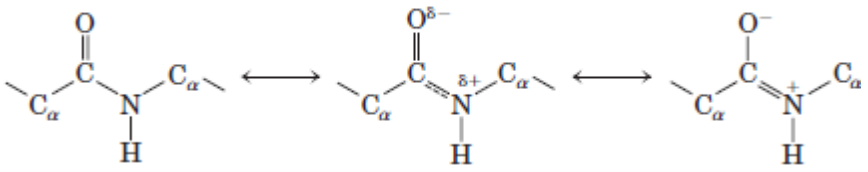
نکته: چنانچه پلی پپتیدی دارای وزن بیش از ۱۰۰۰۰ باشد به آن پروتئین و اگر کمتر از ۱۰۰۰۰ باشد به آن پلی پپتید گویند.

ساختار پروتیئن (Protein structure) (انیمیشن ۹۹)

ساختار اول (Primary structure) (انیمیشن ۶۸)

ساختار اول پروتئینها، ترتیب قرار گرفتن اسیدهای آمینه در یک رشته پروتئینی را نشان می‌دهد.

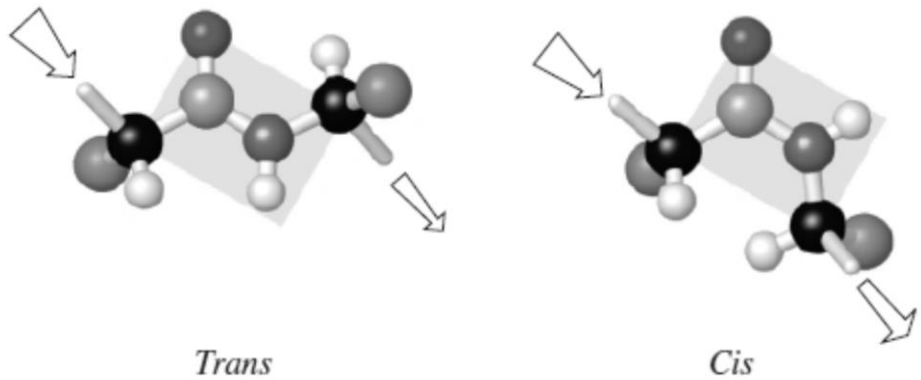
- این ساختار می‌تواند شامل پیوندهای دی سولفیدی (- S - S -) نیز باشد.
- اتصال بین اتم کربن گروه کربونیل و اتم نیتروژن گروه پپتیدی (- NH - CO -) دارای خاصیت پیوندهای دوگانه است و آزادی چرخش در اطراف این پیوند وجود ندارد.



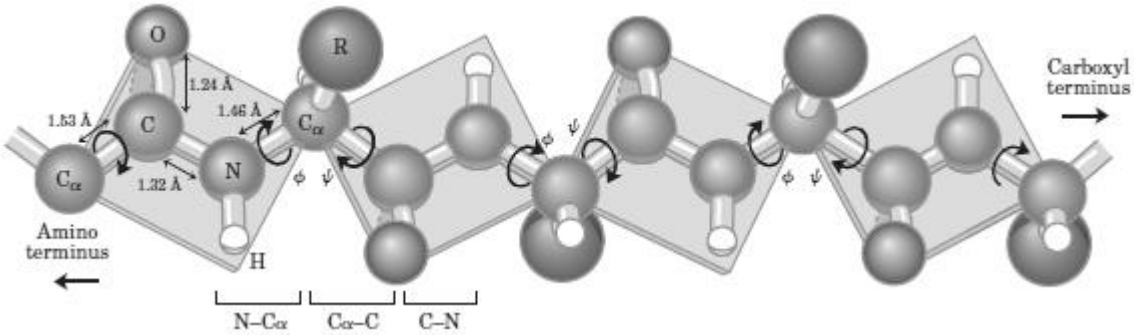
- دو آرایش فضایی سیس و ترانس برای پیوند پپتیدی مسطح امکان پذیر است.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

- در آرایش فضایی ترانس دو اتم کربن α در دو سمت مخالف پیوند پپتیدی قرار دارند. در آرایش سیس این دو گروه در یک سمت پیوند پپتیدی قرار دارند.
- تقریباً تمام پیوند های پپتیدی در پروتئین ها به صورت ترانس هستند.

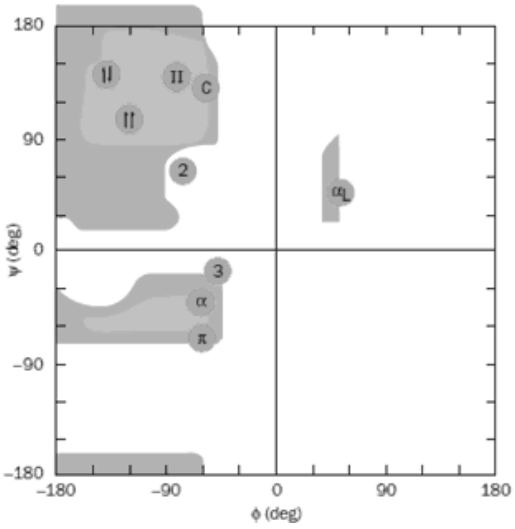


- پیوند بین گروه آمین و اتم کربن α و همچنین کربن α با کربن گروه کربونیل پیوندهای کاملاً ساده می باشند.
- دو واحد پپتیدی انعطاف پذیر مجاور هم می توانند حول این پیوندها بچرخند و جهت گیریهای مختلفی به خود بگیرند.



- آزادی چرخش حول دو پیوند هر آمینواسید ، تاخوردن پروتئینها در جهات مختلف را امکان پذیر می سازد.
- زاویه چرخش حول پیوند بین نیتروژن واتم کربن α ، فی φ و زاویه چرخش حول پیوند کربن α و کربن گروه کربونیل را سای ψ نامیده می شود.
- زوایای چرخشی از صفر تا ۱۸۰± قابل فرض می باشد.
- از آنجاییکه زنجیره های جانبی قادر به ایجاد ممانعت فضایی با یکدیگر هستند این زوایا محدود می باشند.
- راماچاندران مقادیر مجاز برای زوایای φ و ψ را در یک صفحه دوبعدی بصورت نقشه ای ترسیم کرد که با نام خود وی معروف است. شکل زیر نقشه راماچاندران برای پلی L- آلانین را نشان می دهد.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



Secondary Structure	ϕ (deg)	ψ (deg)
Right-handed α helix (α)	−57	−47
Parallel β pleated sheet (↑↑)	−119	113
Antiparallel β pleated sheet (↑↓)	−139	135
Right-handed 3_{10} helix (3)	−49	−26
Right-handed π helix (π)	−57	−70
2.2_7 ribbon (2)	−78	59
Left-handed polyglycine II and poly-L-proline II helices (II)	−79	150
Collagen (C)	−51	153
Left-handed α helix (α_L)	57	47

چنانچه در شکل مشاهده می شود زوایایی از φ و ψ که در محدوده پر رنگ واقع شده اند معرف ساختمان هایی هستند که در آنها زنجیره های جانبی با یکدیگر تداخلی ندارند و نواحی بدون رنگ ، نواحی هستند که اگر زوایای φ و ψ در آن محدوده واقع شوند ، ممانعت فضایی میان زنجیره های جانبی خواهیم داشت.

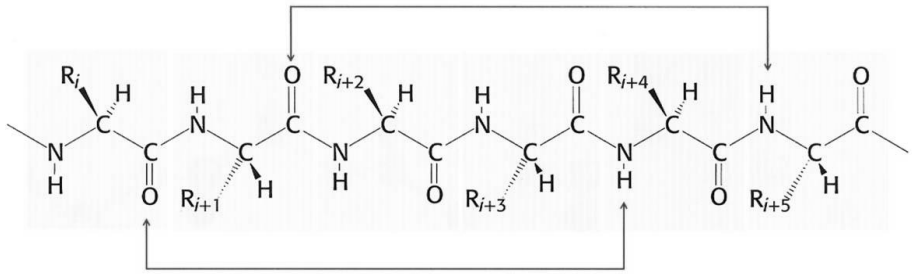
ساختار دوم (Secondary Structure) (انیمیشن ۶۹)

- ساختارهای منظم و تکراری شامل مارپیچ α و صفحه چین دار β می باشند.
- عامل اصلی تشکیل این ساختارها پیوند هیدروژنی است.

۱- مارپیچ α (α-helix)

مارپیچ α یکی از شایع ترین اشکال ساختار ثانویه در ساختمان پروتئین های کروی و رشته ای می باشد.

- اسکلت پلی پپتیدی حول یک محور فرضی به طور محکم پیچیده می شود که در آن ساختار بین گروه کربونیل باقیمانده i و گروه آمین چهار باقیمانده بعد خود یعنی باقیمانده i+۴ پیوند هیدروژنی برقرار می شود.



استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

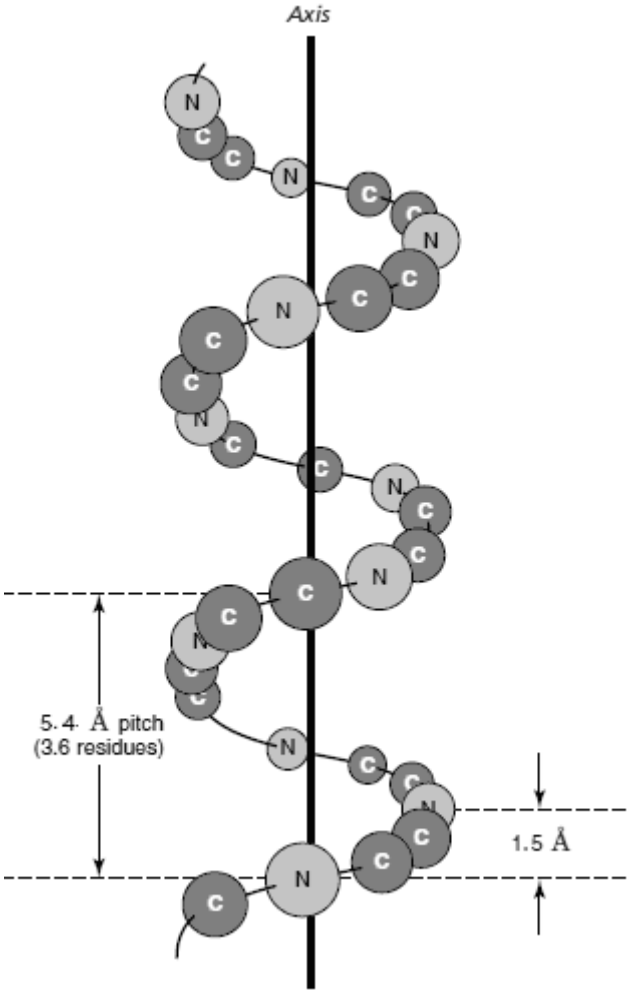
- برای نزدیک شدن این دو باقیمانده ، زنجیره پلی پپتیدی حول یک محور فرضی در جهت عقربه های ساعت و یا در خلاف جهت عقربه های ساعت پیچ می خورند.
- در صورت حضور اسیدهای آمینه با ساختار L مارپیچ در جهت عقربه های ساعت یا به عبارتی بصورت راست گرد ایجاد پیچ می کند و در صورت وجود اسیدهای آمینه فرم D یک مارپیچ به صورت چپ گرد و در جهت خلاف عقربه های ساعت ایجاد می شود.
- شکل طبیعی ساختمان مارپیچ α بصورت راست گرد می باشد و فرم چپ گرد مارپیچ α در پپتیدهای مصنوعی با اسیدهای آمینه در فرم D وجود دارد.
- در ساختمان مارپیچ α در یک دور کامل مارپیچ (p) که ۵/۴Å ارتفاع دارد تعداد ۳/۶ باقیمانده آمینواسیدی (n) قرار دارد. ارتفاع یک باقیمانده آمینواسیدی به موازت محور طولی مارپیچ(d) برای مارپیچ α برابر ۱/۵Å می‌باشد. d را می توان از فرمول زیر محاسبه نمود:

$$d = \frac{p}{n}$$

- در ساختمان مارپیچ α گروه های R ریشه های اسیدآمینه به سمت خارج ساختمان مارپیچ قرار می گیرد.
- زاویه مجاز برای ریشه های اسیدآمینه های موجود در ساختمان مارپیچ α بصورت ψ = -۴۷ و φ =-۵۷ درجه می باشد.
- مارپیچ α به علت سهولت در ایجاد مارپیچ به عنوان فراوان ترین ساختمان در بین پروتئین ها می باشد بطوریکه در حدود ۲۵ درصد اسیدهای آمینه موجود در یک پلی پتید در ساختمان α حضور دارند.

www.nokhbegaan.com

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



در کنار پایداری این ساختار عواملی نیز وجود دارد که می تواند برهم زننده این نظم مناسب باشند که شامل:

۱- تاثیر زنجیره های جانبی اسیدهای آمینه:

وجود تعداد زیادی اسیدهای آمینه باردار مثل Glu در کنار هم می توانند به دلیل داشتن با منفی در pH=۷ ایجاد دافعه کند.همچنین در مورد اسیدهای آمینه ای مثل Lys یا Arg که در pH=۷ دارای بار مثبت هستند نیز صادق باشد.

۲- شکل و یا حجم گروه های R :

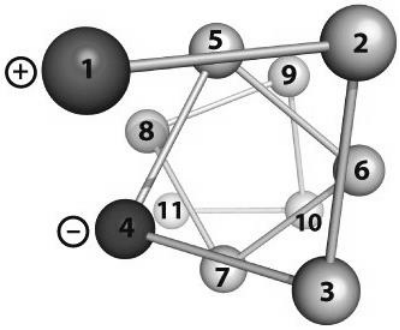
حجم و شکل اسیدهای آمینه ای مثل Asn ، Thr ، Leu و یا سرین نیز سبب ناپایداری مارپیچ α می شوند.

۳- میانکنش بین گروه های R با فاصله ۳ یا ۴ باقیمانده از هم:

باقیمانده های دارای بار مثبت یا منفی در ساختمان مارپیچ α در فاصله ۳ و گاهی ۴ اسیدآمینه از یکدیگر قرار می گیرند.در غیر اینصورت به علت ایجاد دافعه بین آنها مارپیچ α تشکیل نمی شود.باقیمانده های آمینواسیدی دارای بار مثبت اغلب به

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

فاصله ۳ باقیمانده از اسیدهای آمینه دارای با منفی قرار می گیرند تا امکان ایجاد یک جفت آنیونی فراهم شود.همین مسئله در ارتباط با اسیدهای آمینه آروماتیک که امکان واکنش های آب گریز را دارند نیز صادق است.



۴- باقیمانده های Pro و Gly :

وجود باقیمانده های Pro و Gly باعث از بین رفتن مارپیچ α می شود.در ساختمان اسیدآمینه پرولین به دلیل اینکه اتم نیتروژن بخشی از یک حلقه محکم بوده و محدودیت زاویه φ ($N-C_\alpha$) دارد، ایجاد یک پیچیدگی شدید در مارپیچ α می کند که باعث از بین رفتن و شکستن این ساختمان می شود.

- پرولین معمولا در دور اول مارپیچ α می تواند قرار گیرد.
- Gly نیز به علت انعطاف پذیری بالایی که دارد بیشتر تمایل به ایجاد اشکال فنری شکل دارد

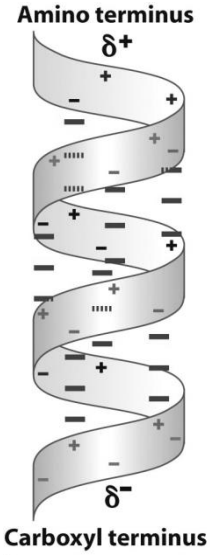
۵- وجود باقیمانده های باردار در دو انتهای مارپیچ α :

وجود دوقطبی های حقیقی ایی که در دو انتهای ساختمان مارپیچ α وجود دارد باعث افزایش طول مارپیچ می گردد.این دوقطبی ها که بصورت مثبت در انتهای آمین و منفی در انتهای کربوکسیل رشته پلی پپتیدی موجود در مارپیچ α می باشد باعث می شود که چهار باقیمانده آمینواسیدی در هر انتها در ساختار مارپیچ α شرکت نکنند.

- قرار گرفتن باقیمانده های آمینواسیدی با بار منفی در انتهای کربوکسیل و همچنین باقیمانده های آمینواسیدی مثبت در انتهای آمین می تواند باعث ناپایداری مارپیچ α گردد.

www.nokhbegaan.com

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد



- اسیدهای آمینه ای مثل آلانین و لوسین تمایل بسیاری به حضور در این فرم را دارند گلیسین ، آسپاراژین و پرولین برای حضور در ساختمان مارپیچ α از خود تمایل زیادی نشان نمی دهند.

Amino acid	α helix	β sheet	Turn
Ala	**1.29**	0.90	0.78
Cys	**1.11**	0.74	0.80
Leu	**1.30**	1.02	0.59
Met	**1.47**	0.97	0.39
Glu	**1.44**	0.75	1.00
Gln	**1.27**	0.80	0.97
His	**1.22**	1.08	0.69
Lys	**1.23**	0.77	0.96
Val	0.91	**1.49**	0.47
Ile	0.97	**1.45**	0.51
Phe	1.07	**1.32**	0.58
Tyr	0.72	**1.25**	1.05
Trp	0.99	**1.14**	0.75
Thr	0.82	**1.21**	1.03
Gly	0.56	0.92	**1.64**
Ser	0.82	0.95	**1.33**
Asp	1.04	0.72	**1.41**
Asn	0.90	0.76	**1.28**
Pro	0.52	0.64	**1.91**
Arg	0.96	0.99	0.88

کدام دسته از اسیدهای آمینه زیر تمایل بیشتری برای مشارکت درساختار دوم مارپیچ – آلفا دارند؟(ارشد ۸۸-۸۹)

۱)گلایسین و پرولین ۲) گلوتامیک اسید و متیونین ۳)گلایسین و گلوتامیک اسید ۴)پرولین و میتونین

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

پاسخ: گزینه ۲

کدام اسید آمینه در ساختمان مارپیچ α کمتر دیده می شود؟(ارشد۹۲-۹۱)

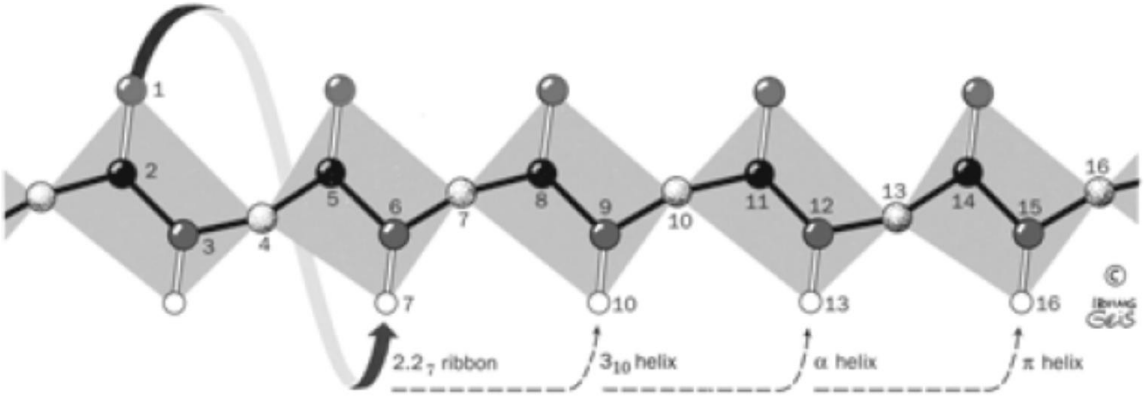
Lys(۱ Gly(۲ Glu(۳ Leu(۴

پاسخ: گزینه ۲

ساختمان سایر مارپیچ ها

- علاوه بر مارپیچ α ، مارپیچ های دیگری نیز می تواند در ساختمان پروتئین ها تشکیل شود.
- ساختمان مارپیچ ها را بصورت n_m نمایش می دهند که در آن n معرف تعداد باقیمانده های موجود در یک دور کامل و m تعداد اتم های موثر در ایجاد آن دور کامل می باشد.
- ساختمان مارپیچ α به صورت $۳/۶_{۱۳}$ بیان می شود.

سایر مارپیچ ها شامل:



ریبون $۲/۲_۷$ (Ribbon $۲,۲_۷$) :

با توجه به زوایای چرخشی غیرمجاز برای این ساختار ، این ساختار در پروتئین دیده نمی شود.

مارپیچ راست گرد $۳_{۱۰}$ ($۳_{۱۰}$ helix):

ارتفاع مارپیچ در این ساختار Å ۶ می باشد که نسبت به مارپیچ α دارای ساختاری بلندتر وهمچنین باریکتر می باشد.

- زوایای چرخشی این ساختار در ناحیه نزدیک به ساختار مارپیچ α قرار دارد.
- فقط در موارد کمی در انتهای یک مارپیچ α و بخش بعدی یک زنجیره پلی پپتیدی به عنوان یک دور(turn) دیده می شوند.

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد

مارپیچ π (π helix) :

این مارپیچ که به نام مارپیچ ۴/۴$_{۱۶}$ نیز خوانده می شود به دلیل پهن و گسترده بودن فقط در انتهای تعداد کمی از مارپیچ های α دیده می شود.

۲- صفحات چین دار β (β-Sheet)

در ساختمان کونفورماسیون β رشته های پلی پپتیدی (که به آنها رشته های β گفته می شود) به صورت یک ساختار زیگزاگی و نه بصورت مارپیچی، پهلو به پهلوی یکدیگر قرار می گیرند. در نتیجه ایجاد پیوندهای هیدروژنی بین گروهای CO و NH ، ۲ زنجیره پلی پپتیدی که به موازات هم قرار دارند ، صفحه β تشکیل می شود.

نکته مهم: داوطلبین محترم توجه فرمایید که با تهیه این جزوات دیگر نیاز به خرید هیچ گونه کتاب مرجع دیگری نخواهید داشت. برای اطلاع از نحوه دریافت جزوات کامل با شماره های زیر تماس حاصل فرمایید.

۰۲۱/۶۶۹۰۲۰۶۱–۶۶۹۰۲۰۳۸-۰۹۳۷۲۲۲۳۷۵۶

۰۱۳/۳۳۳۳۸۰۰۲(رشت)

۰۱۳/۴۲۳۴۲۵۴۳(لاهیجان)

استفاده از جزوات مخصوص افراد ثبت نامی نخبگان بوده و هر گونه کپی برداری پیگرد قانونی دارد