Archive of SID

بسمه تعالی

دانشگاه تهران

مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک

گروه بیوفیزیک

بررسی مقایسه ساختاری و چپرونی گونه‌های فسفوریله و نافسفوریله کازئین‌های αS_1 شیر شتر و گاو

نگارش

جلیل بدراقی

استادان راهنما

دکتر علی اکبر موسوی موحدی، دکتر علی اکبر صبوری

رساله برای دریافت درجه دکتری در رشته بیوفیزیک

آبان ۱۳۸۸

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

استادان راهنما

۱- دکتر علی اکبر موسوی موحدی

استاد دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی- بیوفیزیک دانشگاه تهران

۲- دکتر علی اکبر صبوری

استاد دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی- بیوفیزیک دانشگاه تهران

استادان مشاور

۳- دکتر هدایت الله قورچیان

استاد دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی- بیوفیزیک دانشگاه تهران

۴- دکتر توماس هارتل

استاد مرکز ملی تحقیقات کشاورزی، آزمایشگاه برهمکنش مولکول های طبیعی مواد غذایی، فرانسه

www.SID.ir

Archive of SID

... أَفَلَا يَنظُرُونَ إِلَى الْإِبِلِ كَيْفَ خُلِقَتْ ...

...آیا به شتر نمی‌نگرند که چگونه آفریده شده...

www.SID.ir

Archive of SID

فرازهایی از مناجات شهید چمران:

خدایا، هدایتم کن زیرا می دانم که گمراهی چه بلای خطرناکی است.

www.SID.ir

Archive of SID

خدایا، هدایتم کن که ظلم نکنم. زیرا می دانم که ظلم چه گناه نابخشودنی ای است.

خدایا، نگذار دروغ بگویم ، زیرا دروغ ظلم کثیفی است.

خدایا، ارشادم کن که بی انصافی نکنم . زیرا کسی که انصاف ندارد شرف ندارد.

خدایا ، مرا از بلای غرور و خودخواهی نجات ده، تا حقایق وجود را ببینم و جمال زیبای تو را مشاهده کنم.

www.SID.ir

Archive of SID

خدایا، پستی دنیا و ناپایداری روزگار را همیشه در نظرم جلوه‌گر ساز، تا فریب زرق و برق عالم خاکی مرا از یاد تو دور نکند.

خدایا، من کوچکم. ضعیفم. ناچیزم. پرکاهی در مقابل توفان ها هستم. به من دیده ای عبرت بین ده تا ناچیزی خود را ببینم و عظمت و جلال تو را به راستی بفهمم و به درستی تسبیح کنم.

اهداء:

www.SID.ir

Archive of SID

رساله حاضر نخستین ورود به عرصه پژوهش و تحقیق است، تقدیم

می شود به:

روح بلند و ملکوتی حضرت امام روح الله که نفس مسیحایی او بر

امت اسلامی ما مدتی دمید.

ارواح پاک و مطهر پدر و مادرم که موفقیت حاضر مدیون زحمات

شبانه روزی ایشان در طول زندگی ام است.

و

www.SID.ir

Archive of SID

همسر خوبم که در تمام مراحل تحصیلم همواره یار و یاورم بوده و

هست.

www.SID.ir

Archive of SID

من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق

از استادان راهنمای خودم جناب آقای دکتر علی اکبر صبوری و جناب آقای دکتر علی اکبر موسوی موحدی به خاطر زحمات فراوانی که در مدت راهنمایی این رساله متقبل شدند، تشکر بعمل می آید.

از جناب آقای دکتر هدایت الله قورچیان به خاطر تقبل مشورت رساله تشکر بعمل می آید.

از کلیه دوستان خوبم در مرکز تحقیقات بیوشیمی- بیوفیزیک، دانشجویان و کارکنان که در مدت تحصیلم حق دوستی را اداء کردند، تشکر و سپاسگزاری می گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

خلاصه:

توده ای شدن پروتئین که ممکن است در اثر موتاسیون و یا تغییرات شیمیایی یا فیزیکی محیط سلولی بوجود آید، منشاء بیش ازبیست نوع بیماری نظیر آلزایمر، پارکینسون، هونتینگتون، کاتاراکت و نظائر آنها می باشد. جلوگیری ویا حتی مهار جزئی توده ای شدن هنوز در مراحل آزمایشگاهی است. در این پایان‌نامه استخراج،تخلیص،نافسفوریله کردن کازئین αS_1 حاصل از شیر شتر وشیر گاو گونه ایرانی ،بررسی وجود فعالیت چپرونی آنها در جهت پایدارسازی وجلوگیری از توده ای شدن انسولین و کاتالاز ، اثر پارامترهای مختلف نظیر گروه های فسفات، نمکها وغلظتهای مختلف سدیم دو دوسیل سولفات بر ساختار و فعالیت چپرونی کازئین αS_1 برای اولین بار مورد مطالعه و بررسی قرار گرفته است. پایداری گرمایی کازئین αS_1 نا فسفوریله و فسفوریله شیر شتر بیشتر از کازئین αS_1 نا فسفوریله و فسفوریله شیر گاو می باشد. کازئین αS_1 شیر شتر وشیر گاو در حالت فسفوریله از طریق بر همکنش هیدروفوب با بخش هیدرو فوب پروتئین هدف سبب کاهش بر هم کنش هیدروفوب بین مولکولهای انسولین- انسولین و یا کاتالاز – کاتالاز شده ودر نهایت سبب کاهش توده ای شدن آنها می شوند. نافسفوریله شدن کازئین αS_1 شیر شتر وشیر گاو توانائی آنها را در جلوگیری از توده ای شدن کاهش می دهد، ولی این توانایی را از بین نمی برد. نتایج ما حاکی از نقش نواحی هیدروفوب کازئین در قابلیت چپرونی آن است. با افزودن غلظت هر دو کازئین αS_1 حاصل از شیر شتر و گاو قابلیت چپرونی آنها افزایش می یابد. غلظت های مختلف DTT سبب تغییرات ساختاری هر دو کازئین αS_1 می شود. افزایش قدرت یونی سبب افزایش در معرض قرار گیری بخش های هیدروفوب پروتئین می شود. این موضوع می تواند منجر به افزایش بر همکنش هیدروفوبیک بین مولکولی گردد. لذا افزایش قدرت یونی به توده ای شدن هم چپرون و هم پروتئین هدف مساعدت می کند. افزودن NaCl KCl و NaNO3 به مخلوط واکنش سبب تشدید توده ای شدن پروتئین های هدف می شود. افزودن نمکها به همراه کازئین αS_1 بطور کامل توانائی آنها را در جلوگیری از توده ای شدن پروتئین های هدف از بین می برد. بر اثر خاصیت هیدریشن نمک فضای اطراف پروتئین دی هیدره میشود. مقدار دی هیدریشن پروتئین بر طبق سریهای هاف مایستر به نوع نمک بستگی داشته ولذا نمکهای مختلف به طور متفاوت از یکدیگر سبب تغییر آرایش فضائی یکی ویا هر دو پروتئین میشوند. در نتیجه این تغییرات آرایش فضائی، مقدار توده ای شدن پروتئین های هدف در حضور نمکهای مختلف متفاوت بوده و در حضور کازئین توده ای شدن آن بیشتر می شود. بر اساس نتایج حاصله در این تحقیق SDS اثر دو گانه بر روی توده ای شدن انسولین دارد. در غلظتهای بالای ۱۰ میکرو مولار از توده ای شدن انسولین جلوگیری و نقش افزاینده فعالیت چپرونی کازئین αS_1 را ایفا می کند، درحالیکه در غلظتهای پائینتر از یک میکرو مولار سبب توده ای شدن بیشتر انسولین شده و نقش کاهنده فعالیت چپرونی کازئین αS_1 را ایفا می کند. در غلظتهای بالای SDS بر طبق قانون کولن دافعه الکترواستاتیکی بین کازئین αS_1 و سرهای باردار SDS بیشتر از نیروی دافعه میان انسولین و سرهای باردار SDS است. بنابراین رانده شدن مولکولهای SDS از طرف کازئین αS_1 سبب بیشتر شدن واکنشهای هیدرو فوب میان دم هیدروفوب SDS و انسولین میشود ولذا ازتوده ای شدن انسولین جلوگیری میکند. ولی در غلظتهای کم نیروی دافعه میان انسولین و سرهای

www.SID.ir

Archive of SID

باردار SDS مانع از نزدیک شدن دمهای هیدروفوب می شود و لذا بر همکنش هیدروفوب انسولین- انسولین سبب اافزایش توده ای شدن انسولین میشود.

www.SID.ir