صفحاتی از مبحث پروتئین‌سازی

(زیست‌شناسی پیش‌دانشگاهی)

بیماری آلکاپتونوریا

✓ نوعی بیماری ارثی و ژنتیکی است که از والدین به ارث می‌رسد (اتوزومی مغلوب).

✓ هموجنتیسیک اسید (HGA) هم در بدن افراد سالم و هم در بدن افراد بیمار ساخته می‌شود. در افراد سالم، این اسید در همان سلولِ ساخته شده، به ترکیبات ساده‌تر تجزیه می‌شود؛ بنابراین، **در مایع میان‌بافتی، خون و ادرارِ فرد سالم، برخلاف افراد مبتلا، نمی‌توان هموجنتیسیک اسید را یافت.**

✓ در افراد مبتلا (به دلیل نقص ژنی)، آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید وجود ندارد؛ در واقع، ژن رمزکننده‌ی این آنزیم در افراد مبتلا، به دلایل ارثی نقص دارد و این آنزیم ساخته نمی‌شود؛ به همین دلیل، هموجنتیسیک اسید تجزیه نشده و مقدار آن در مایع میان‌بافتی و خون افزایش می‌یابد. این امر سبب می‌شود محیط داخلی بدن اسیدی‌تر گردد ($PH < ۷$). هموجنتیسیک اسید در نهایت، با **تراوش** به درون نفرون‌ها، از طریق ادرار دفع می‌گردد.

✓ ادرار افراد مبتلا به آلکاپتونوریا، به علت دارا بودن «هموجنتیسیک اسید» و همچنین افزایش دفع یون هیدروژن (H^+) توسط کلیه‌ها، اسیدی‌تر از افراد سالم می‌شود.

✓ در افراد سالم، این اسید پایدار نمی‌ماند، چون آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید، آن را در همان سلولِ تولیدشده، به آب و دی‌اکسیدکربن تجزیه می‌کند.

✓ توجه فرمایید هموجنتیسیک اسید در افراد مبتلا به آلکاپتونوریا، بیش‌تر از افراد سالم تولید نمی‌شود؛ فقط تفاوت در این است که در افراد مبتلا، این اسید نمی‌تواند تجزیه شود و در نتیجه، میزان آن در خون افزایش می‌یابد.

✓ ادرار افراد مبتلا به این بیماری ـ به دلیل وجود اسید هموجنتیسیک در ادرار ـ در مجاورت هوا سیاه می‌شود **(ادرار افراد مبتلا، سیاه‌رنگ نیست، بلکه اکسید آن سیاه‌رنگ می‌باشد.)**؛ به بیان دیگر می‌توان گفت هموجنتیسیک اسید (همانند هموگلوبین و میوگلوبین)، میل زیادی به ترکیب با اکسیژن دارد.

✓ **نخستین بار**، دکتر آرچیبلدگرو بیان داشت که آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید در

افراد مبتلا به آلکاپتونوریا وجود ندارد؛ به عبارت دیگر، وی توانست بین یک نقص ژنی (بیماری آلکاپتونوریا) و یک نقص آنزیمی (آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید) رابطه برقرار کند و بدین ترتیب، **اندیشه‌های اولیه‌ی** نظریه‌ی «یک ژن ـ یک آنزیم»، توسط آرچیبلدگرو شکل گرفت. (توجه فرمایید نظریه‌ی «یک ژن ـ یک آنزیم» متعلق به بیدل و تیتوم است.)

خلاصه

- **ژن رمزکننده‌ی آنزیم سازنده‌ی هموجنتیسیک اسید:**

فرد سالم: وجود دارد (آنزیم سازنده‌ی هموجنتیسیک‌اسید ساخته می‌شود)

فرد بیمار: وجود دارد (آنزیم سازنده‌ی هموجنتیسیک‌اسید ساخته می‌شود)

- **آنزیم سازنده‌ی هموجنتیسیک اسید:**

فرد سالم: وجود دارد (هموجنتیسیک‌اسید ساخته می‌شود)

فرد بیمار: وجود دارد (هموجنتیسیک‌اسید ساخته می‌شود)

- **ژن رمزکننده‌ی آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید:**

فرد سالم: وجود دارد (آنزیم تجزیه‌کننده هموجنتیسیک‌اسید ساخته می‌شود)

فرد بیمار: وجود دارد، ولی معیوب است (آنزیم تجزیه‌کننده هموجنتیسیک‌اسید ساخته نمی‌شود) (نقص ژنی)

- **آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید:**

فرد سالم: وجود دارد (هموجنتیسیک‌اسید تجزیه می‌شود)

فرد بیمار: وجود ندارد (هموجنتیسیک‌اسید تجزیه نمی‌شود.) (نقص آنزیمی)

نتیجه: در بیماری آلکاپتونوریا، هم نقص ژنی و هم نقص آنزیمی دیده می‌شود؛ در واقع می‌توان گفت: آلکاپتونوریا، یک نقص ژنی (ژنتیکی) است که موجب ایجاد نقص آنزیمی می‌شود.

تذکر: با توجه به نمودار زیر، آنزیم ۱ (که توسط ژن ۱ ساخته شده)، ماده‌ی A را به هموجنتیسیک اسید تبدیل می‌کند. آنزیم ۲ نیز هموجنتیسیک اسید را تجزیه کرده و به ماده‌ی B تبدیل می‌کند، حال اگر ژن ۲ نقص داشته باشد، آنزیم ۲ ساخته نمی‌شود و هموجنتیسیک اسید نیز تجزیه نخواهد شد.

$$A \xrightarrow{\text{آنزیم ۱}} \text{هموجنتیسیک اسید} \xrightarrow{\text{آنزیم ۲}} B$$

ژن ۱ ↓ آنزیم ۱ ؛ ژن ۲ ↓ آنزیم ۲

نکته‌ی ترکیبی

✓ در افراد مبتلا به آلکاپتونوریا، چون اسید هموجنتیسیک تجزیه نمی‌شود، مقدار اسید خون زیاد شده و در نتیجه، PH خون این افراد اسیدی‌تر می‌گردد (کاهش می‌یابد)؛ بنابراین، کلیه‌ها برای تنظیم تعادل اسید و باز بدن (تعادل PH خون)، باعث افزایش دفع یون هیدروژن (H^+) و کاهش دفع یون بی‌کربنات (OH^-) می‌گردند؛ به بیان دیگر، کلیه‌ها باعث افزایش ترشح یون هیدروژن و افزایش بازجذب یون بی‌کربنات می‌گردند که این مورد، به علاوه‌ی وجود اسید هموجنتیسیک در ادرار، موجب می‌شود که ادرار افراد مبتلا، اسیدی‌تر از ادرار افراد سالم باشد. لازم به ذکر است در حالت عادی، PH خون افراد سالم نیز اسیدی است. (فصل هفتم سال دوم)

نکات:

۱. پسوند «اوریا» به معنی « ادرار» است. «آلکاپتون» به معنی «سیاه» نیز، نام قدیمی هموجنتیسیک اسید می‌باشد.

۲. هموجنتیسیک اسید، ساختار پروتئینی ندارد؛ بنابراین، ژن سازنده‌ای نیز ندارد (هموجنتیسیک اسید، یک اسید آلی است)؛ لذا توسط یک آنزیم پروتئینی ساخته می‌شود؛ در واقع، آنزیم تولیدکننده‌ی هموجنتیسیک اسید، دارای ژن سازنده می‌باشد. (در همین فصل، مطالب بیش‌تری در این باره خواهیم خواند).

۳. نقص ژنی در افراد مبتلا به آلکاپتونوریا، تحت تأثیر یک بیماری ارثی (از پدر یا مادر) است و الزاماً به دلیل جهش در ژن‌های خود فرد بیمار ایجاد نمی‌شود؛ در واقع در این بیماری، نقص ذاتی در ژن‌ها باعث شده است که ژن معیوب از نسلی به نسل دیگر منتقل شود.

۴. در بیماری آلکاپتونوریا، رژیم غذایی در کاهش عوارض بیماری تأثیری ندارد، چون آنزیم تجزیه-کننده‌ی هموجنتیسیک اسید (نوعی پروتئین)، به محض مصرف غذایی (همچون همه‌ی پروتئین‌ها)، به مونومرهای خود (آمینواسیدها) تجزیه، و جذب بدن می‌گردد. برای کاهش عوارض بیماری آلکاپتونوریا، باید آنزیم تجزیه‌کننده‌ی هموجنتیسیک اسید را به بدن تزریق کرد.

انواع محیط کشت

محیط کشت حداقل: شامل آب و مخلوط رقیقی از انواع نمک‌ها، کمی شکر (دی ساکارید ساکارز) و ویتامین بیوتین (از ویتامین‌های گروه B).

✓ کپک‌های سالم، در این محیط رشد می‌کنند، چون خودشان می‌توانند به جز مواد موجود در محیط کشت حداقل، همه‌ی آمینواسیدها و سایر مواد آلی مورد نیازشان «مانند پروتئین‌ها (و آنزیم‌های پروتئینی)، ویتامین‌ها (به جز بیوتین)، نوکلئیک‌اسیدها و لیپیدها» را در محیط کشت حداقل بسازند، البته توجه داشته باشید که کپک‌ها نمی‌توانند قندها و مواد غذایی مورد نیاز خود را تولید کنند، **چون هتروتروف‌اند.**

✓ شکر، هم به عنوان منبع انرژی (ATP) و هم به عنوان منبع تهیه‌ی کربن، برای ساخت سایر ترکیبات آلی مورد استفاده قرار می‌گیرد. توجه فرمایید شکر (یا ساکارز)، دی‌ساکارید است (گلوکز + فروکتوز) و تنها ماده‌ی آلی با اسکلت کربنی است که در محیط کشت حداقل حضور دارد.

✓ کپک نوروسپورا کراسا نمی‌تواند دی‌ساکارید ساکارز را بسازد، ولی آنزیم تجزیه‌کننده‌ی ساکارز (ساکاراز) را دارد و می‌تواند ساکارز را به مونوساکاریدهای گلوکز و فروکتوز تجزیه کند.

✓ کپک نوروسپورا کراسا، ژن مربوط به تولید بیوتین را ندارد، چون اگر داشت، بیوتین را در محیط کشت حداقل قرار نمی‌دادیم.

محیط کشت کامل: شامل محیط کشت حداقل، به علاوه‌ی همه‌ی مواد آلی که کپک سالم آن را می‌سازد (طبق شکل ۱ ـ ۱ کتاب درسی، افزودن ۱۰ ماده به محیط کشت حداقل، آن را به محیط کشت کامل تبدیل می‌کند).

محیط کشت غنی شده: شامل محیط کشت حداقل، به علاوه‌ی حداقل یکی از مواد آلی که کپک سالم آن را می‌سازد.

تذکر: طبق شکل ۱ ـ ۱ کتاب درسی، برای این‌که محیط کشت حداقل به محیط کشت کامل تبدیل شود، به ۱۰ ماده نیاز داریم؛ بنابراین اگرفقط یک ماده از این ۱۰ ماده موجود نباشد، یک محیط کشت غنی‌شده خواهیم داشت.

آزمایشات بیدل و تیتوم

هدف: بررسی این نکته که آیا ژن در تولید آنزیم دخالت دارد یا نه؟

✓ این دو محقق برخلاف دیگران (که صفات قابل مشاهده، مانند ژن‌های رنگ چشم در مگس سرکه (مورگان) یا ژن‌های کنترل‌کننده‌ی رنگیزه‌ها (نه تولیدکننده‌ی رنگیزه‌ها!) در گیاهان (مندل) را بررسی می‌کردند)، جهش‌هایی را مورد مطالعه قرار دادند که قابل مشاهده نبودند (ژن‌های کنترل‌کننده‌ی واکنش‌های مهم متابولیک از قبیل تولید ویتامین‌ها و آمینواسیدها را مورد بررسی قرار دادند).

مراحل آزمایش

۱. ابتدا در لوله‌ی آزمایش و در محیط کشت حداقل، هاگ‌های غیرجنسی کپک نوروسپورا، رشد داده شده و تکثیر پیدا کردند. دلیل این امر، **اطمینان از سالم‌بودن هاگ‌ها** و همچنین **سالم‌بودن مسیرهای متابولیسمی آن‌ها**، بود.

۲. سپس به این هاگ‌ها، اشعه‌ی X یا فرابنفش تاباندند و در نتیجه، **تعدادی از** (نه همه‌ی و نه بیش‌تر!) هاگ‌ها جهش یافتند (جهش مؤثر)؛ یعنی پس از اثر پرتو:

الف. جهش در تعدادی از هاگ‌ها مؤثر بود.

ب. جهش در تعدادی از هاگ‌ها، از نوع بی‌اثر بود.

ج. تعدادی از هاگ‌ها نیز جهش نیافتند.

آن‌ها می‌خواستند ببینند با وجود ژن‌های آسیب‌دیده، باز هم واکنش‌های مهم متابولیسمی مانند سنتز ویتامین یا آمینواسید در سلول انجام می‌شود یا خیر؟

۳. **همه‌ی هاگ‌ها** (اعم از جهش‌یافته یا جهش‌نیافته) را در محیط کشت کامل قرار دادند. دلیل انجام این کار، **تولیدمثل جنسی** و تکثیر همه‌ی هاگ‌ها و نیز **ایجاد تنوع** بین آن‌ها بود.

۴. هر هاگ حاصل از تولیدمثل جنسی در محیط کشت کامل اول (جهش‌یافته و جهش‌نیافته)، به‌طور جداگانه در یک محیط کشت کامل دیگر قرار داده شد تا بتواند طی **تولیدمثل غیرجنسی**، تعداد زیادی هاگ **از یک نوع** ایجاد کند، زیرا برای انجام آزمایشات متعدد و متنوع بر روی هاگ‌های جهش یافته، به تعداد زیادی از این هاگ‌ها نیاز داشتند.

۵. هاگ‌هایی که در محیط کشت کاملِ دوم (و طی فرایند تولیدمثل غیرجنسی) تکثیر شده بودند را در محیط کشت حداقل قرار دادند تا ببینند این هاگ‌ها در این محیط رشد می‌کنند یا خیر؟ در صورتی که هاگ‌ها در محیط کشت حداقل رشد کنند، سالم‌اند (و یا این‌که در صورت ایجاد جهش، جهش بی‌اثر داشته‌اند). این هاگ‌ها نمی‌توانستند در ادامه‌ی آزمایش، به بیدل و تیتوم کمک کنند، ولی اگر در محیط کشت حداقل رشد نکنند، جهش‌یافته‌اند که در این‌صورت، در مرحله‌ی بعدی آزمایش مورد استفاده قرار می‌گیرند؛ به بیان دیگر، بیدل و تیتوم فقط به هاگ‌هایی نیاز داشتند که جهش‌یافته باشند و در محیط کشت حداقل رشد نکنند.

۶. در این مرحله:

الف. هاگ‌های جهش‌یافته که در محیط کشت کامل دوم تکثیر شده بودند، را به طور جداگانه در یکی از انواع محیط‌های کشت غنی‌شده قرار دادند، تا ببینند هاگ جهش‌یافته، در کدام محیط کشتِ غنی‌شده رشد می‌کند و از این طریق بتوانند مسیر جهش‌یافته را کشف کنند. (در واقع، باید مشخص شود هاگ جهش یافته، به چه دلیلی نمی‌تواند رشد کند؛ به بیان دیگر، در تولید کدام ماده، مشکل دارد؟)

پ. علاوه بر این، در این مرحله، از محیط کشت حداقل (شاهد) نیز به منظور آزمایش کنترل استفاده کردند.

این دانشمندان، ده محیط کشت غنی‌شده و متفاوت را در نظر گرفتند. در هر کدام از آن‌ها، به جز محیط کشت حداقل (شاهد)، یکی از مواد آلی مورد نیاز هاگ برای رشد، قرار داده شده است (موادی که کپک سالم، خودش می‌تواند آن‌ها را بسازد). حال باید دید هاگ جهش‌یافته‌ی موردنظر، در کدام محیط رشد می‌کند؟ نتیجه این که در هر محیط غنی‌شده‌ای که هاگ جهش‌یافته رشد کند، در واقع نسبت به همان ماده، جهش یافته است (یعنی در حالت عادی نمی‌تواند رشد کند، ولی با وجود ماده‌ای که در محیط کشت غنی‌شده قرار داده شده، می‌تواند رشد کند). بدین صورت مشخص می‌شود که تولید کدام ماده در کپک، در اثر جهش متوقف شده است.

برای آموزش بهتر مراحل آزمایش بیدل و تیتوم، توصیه می‌شود

هم‌زمان با مطالعه‌ی مراحل فوق، شکل مربوطه را به دقت ملاحظه فرمایید.

نکات:

۱. بیدل و تیتوم به دلایل زیر در آزمایشات خود، از کپک نوروسپورا استفاده کردند:

الف. کپک نوروسپورا هاپلوئید است؛ بنابراین جهش مؤثر می‌تواند برخلاف جانداران دیپلوئید، به سرعت اثر فنوتیپی خود را نشان دهد. (چون این جاندار هاپلوئید است، الل جهش‌یافته‌ی مغلوب، به دلیل این‌که الل دیگری در مقابل خود ندارد، به سرعت قابل شناسایی است؛ یعنی برخلاف جانداران دیپلوئید، کروموزوم همتایی ندارد که بتواند اثر ژن مغلوب خود را مخفی نگاه دارد.)

ب. در مدت‌زمان کوتاهی، مقدار فراوانی هاگ تولید می‌کند؛ بنابراین می‌توان در زمان کوتاه‌تر، آزمایشات متنوع‌تری روی آن انجام داد.

۲. بیدل و تیتوم، از جهش و چگونگی انجام آن اطلاعی نداشتند. جهش از دیدگاه آنان، یعنی عدم رشد کپک نوروسپورا در محیط کشت حداقل! ؛ در صورتی که امروزه می‌دانیم « هر نوع تغییر در ماده‌ی ژنتیکی (DNA)، جهش نام دارد.

۳. قارچ نوروسپورا کراسا، بیش‌تر تولیدمثل غیرجنسی دارد، ولی بیدل و تیتوم، بر روی هاگ‌های جنسی این قارچ، آزمایشات خود را انجام دادند.

خلاصه‌ی مراحل آزمایشات بیدل و تیتوم

مراحل آزمایشات بیدل و تیتوم، به ترتیب زیر انجام شد:

۱. رشد هاگ‌های غیرجنسی در محیط کشت حداقل.

۲. تاباندن اشعه‌ی X یا فرابنفش به هاگ‌های تولیدشده.

۳. تولیدمثل جنسی هاگ‌ها در محیط کشت کاملِ اول.

۴. تولیدمثل غیرجنسی و تکثیرِ هر هاگ جهش‌یافته، در محیط کشت کاملِ دوم.

۵. قراردادن هاگ‌های حاصل از محیط کشت کاملِ دوم، در محیط کشت حداقل، برای اطمینان از وقوع جهش.

۶. قراردادن هاگ‌های جهش‌یافته به‌طور جداگانه در محیط‌های کشت غنی‌شده و نیز محیط کشت حداقل (شاهد)، برای کشف مسیر جهش‌یافته.

نکات ترکیبی فصل یازدهم پیش‌دانشگاهی

چگونگی تولیدمثل جنسی در کپک نوروسپورا: کپک نوروسپورا کراسا آسکومیست است. در هنگام تولیدمثل جنسی:

۱. دو نخینه از دو کپک + و - ، درهم ادغام می‌شوند. هسته‌های هاپلوئید از یک قارچ به قارچ دیگر فرستاده می‌شوند.

۲. در نخینه‌ی جدید **هسته‌های دو قارچ مختلف** جفت می‌شوند، ولی ادغام نمی شوند؛ بنابراین در نخینه‌ی جدید، سلول ها دیپلوئید نیستند، ولی دو هسته‌ی هاپلوئید دارند. از رشد نخینه‌ی جدید، آسکوکارپ (هاپلوئید) تشکیل می‌شود.

۳. در رأس آسکوکارپ، سلول‌های نخینه‌های دو هسته‌ای، کیسه‌های میکروسکوپی به نام آسک (هاگدان جنسی) تولید می‌کنند. هر آسک، دو هسته‌ی غیرمشابه (از دو والد) دارد. بعضی از هسته‌های جفت‌شده، درون آسک‌ها (نه یک آسک) با هم ادغام می‌شوند و درون هر آسک، یک زیگوت دیپلوئید (۲n) تشکیل می شود.

۴. زیگوت در درون آسک، با انجام میوز، چهار هسته‌ی هاپلوئید (n) را پدید می‌آورد. این چهار هسته به روش میتوز تقسیم می‌شوند و هشت هسته‌ی هاپلوئید تولید می‌کنند. **(در مجموع یک میوز و ۴ میتوز)**؛ در نهایت، هر هسته‌ی هاپلوئید، به یک هاگ نمو می‌یابد؛ در نتیجه، **۸ هاگ جنسی** به وجود می‌آید.

✓ کپک نوروسپورا کراسا مانند همه‌ی قارچ‌ها، دیواره‌ی کیتینی دارد.

✓ نوروسپورا کراسا هتروتروف است و با ترشح آنزیم‌های گوارشی، مواد آلی موجود در محیط را به مولکول‌های قابل جذب تجزیه می‌کند و با جذب این مولکول‌ها، غذای خود را به دست می‌آورد.

✓ کپک نوروسپورا مانند همه‌ی قارچ‌ها، میتوز هسته‌ای دارد؛ یعنی در مرحله‌ی پروفاز، غشای هسته از بین نمی‌رود و وقایع میتوز، در درون هسته روی می‌دهد.

✓ این قارچ، هر دو نوع تولید مثل غیرجنسی و جنسی را دارد، ولی تولید مثل غیرجنسی در آن، بیش‌تر از تولید مثل جنسی روی می‌دهد.

✓ نوروسپورا کراسا فقط هاگدان جنسی (آسک) دارد و فاقد هاگدان غیرجنسی می‌باشد (هر چند که بیش‌تر تولید مثل آن، از نوع غیرجنسی است). هاگ‌های جنسی در نوک نخینه‌ها ایجاد می‌شوند.

✓ هم هاگ‌های جنسی و هم هاگ‌های غیرجنسی، **محصول مستقیم تقسیم میتوز** می‌باشند.