۹۴۶

مطالعه مقایسه ای ساختاری کالمودولین و آپو کالمودولین جداشده از مغز گاو

سیده سمانه حسینی[۱]، غلامعلی نادری[۲]، حسین نادری منش[۱]، نجمه هادیزاده شیرازی[۱]، لیلا حسنی[۱]، بیژن رنجبر[۱]
۱.تهران، دانشگاه تربیت مدرس دانشکده علوم پایه، گروه بیوفیزیک
۲.تهران، دانشگاه علوم پزشکی شاهد، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی

چکیده: سیگنال کلسیم در بسیاری از اعمال سلولی از قبیل تمایز و سیکل سلولی دخیل است. این سیگنال با پروتینهای متصل شونده به کلسیم ردیابی و منتقل میشود که از میان آنها کالمودولین یکی از فراگیرترین پروتینهایی است که بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک را تنظیم می کند. در این تحقیق به منظور مقایسه کالمودولین و آپو کالمودولین از نظر ساختاری و ترمودینامیکی، این پروتئین از مغز گاو استخراج و تخلیص گردید. کالمودولین به ترتیب با رسوب سولفات آمونیوم، کروماتوگرافی تعویض یونی روی ستون *DEAE*- سفارز و در نهایت با استفاده از فیلتر آمیکون تخلیص شد. نتایج دورنگ نمایی دورانی و پارامترهای نوری بیانگر فشرده شدن ساختار، افزایش درصد آلفا هلیکس و افزایش میزان آنیزوتروپی در اثر اتصال کلسیم به کالمودولین می باشد. همچنین بررسی پارامترهای ترمودینامیکی نشان می دهد که ساختار آپو کالمودولین نسبت به کالمودولین دارای پایداری حرارتی کمتری است. بعبارت دیگر کلسیم موجب القا ساختار آلفا هلیکس و افزایش پایداری پروتئین می گردد.

واژگان کلیدی: *کالمودولین، آپو کالمودولین تخلیص، دورنگ نمایی دورانی*

۹۴۷

مطالعه سینتیکی و ساختاری آنزیم کربنیک انیدراز II در حضور برخی از ترکیبات دارویی متعلق به خانواده سولفونامیدها

فاطمه باقری- شاهرخ صفریان -علی اکبر موسوی موحدی
دانشگاه تهران- پردیس علوم- دانشکده زیست شناسی-گروه سلولی ومولکولی

چکیده: کربنیک انیدرازها متالوآنزیم های دارای یون روی می باشند که در تمام موجودات از باکتری ها تا یوکاریوتهای عالی مانند انسان وجود دارد. فعالیت کاتالیتیک آنها، هیدراتاسیون دی اکسید کربن به بیکربنات و پروتون و عملکردهای فیزیولوژیک آنها برای همه ارگانیسم ها ضروری می باشد. این آنزیم در تنفس، انتقال CO_2 بین بافتهای متابولیک و جایگاه های دفع، ترشح الکترولیت ها در بافتها وارگانل های مختلف، تنظیم pH وهموستاز بدن، تثبیت CO_2، گلوکونئوژنز ولیپوژنز و ایجاد تومور نقش دارد. مهار این آنزیم می تواند در درمان بیماری های مختلف از جمله گلوکوم، صرع و بیماری های ماهیچه و اعصاب و انواعی از سرطان ها موثر واقع شود. در همین راستا ما مطالعات کینتیکی وساختاری درمورد آنزیم را در حضور چهار داروی متعلق به خانواده کربنیک انیدراز ها که از مهار کننده های آنزیم هستند به انجام رسانیدیم. در حضور سولفاتیازول و سولفاستامید تغییر قابل توجهی در فعالیت آنزیم در حضور سوبسترای *PNPA* مشاهده نشد. اما سولفابنزامید و بویژه استازولامید آنزیم را در حد قابل توجهی مهار کردند. لذا در این مطالعه نظر ما بیشتر معطوف به بررسی تغییرات ساختاری وکینتیکی القاء شده به روی آنزیم و در حضور استازولامید بوده است. در انجام این مطالعات از روشهای مختلفی چون اسپکتروفتومتری افتراقی، اسپکتروفوتومتری دو رنگ نمائی دورانی *(CD)*، و اسپکتروفوتومتری فلوئورسانس استفاده گردید. نتایج حاصله نشان داد که آنزیم دارای دو جایگاه فعال برای اتصال سوبسترای خود *(PNPA)* می باشد که اشغال هر دو جایگاه برای انجام فعالیت آنزیمی ضروری می باشد. مطالعات پیوندی انجام شده نشان داد که اتصال استازولامید به آنزیم با نسبت ۱:۱ صورت می گیرد به نحوی که ثابت تجزای اتصال $۳/۲۹ \times ۱۰^{-۷}$ و انرژی اتصال $\Delta G^0_v = -۲۸۳\ kJ/mol$ می باشد. مدل سازی سینتیکی و انجام محاسبات مربوطه نشان داد که اتصال یک مولکول استازولامید به یکی از این جایگاه برای مهار کامل فعالیت آنزیم کافی می باشد. انجام مطالعات ساختاری نشان داد که تغییرات ساختاری اعمال شده در پی اتصال مهارکننده به روی آنزیم اعم از تغییرات ساختاری حادث شده در ساختمان دوم و یا سوم پروتئین ناچیز می باشد. مطالعات ساختاری با استفاده از دستگاه فلونورسانس نشان داد که اتصال استازولامید به پروتئین با در معرض قرار گرفتن دو تریپتوفان داخلی (به غیر از یک تریپتوفان در معرض که در حالت طبیعی آنزیم وجود دارد ۲۴۰ *Trp*) همراه است که احتمالاً واحدهای تریپتوفان ٤و ۱۹۰ می باشند. اندازه گیری دمای ذوب (T_m) با استفاده از اسپکتروفتومتری روبشی حرارتی نشان داد که اتصال استازولامید به یکی از جایگاه های فعال آنزیم با پایدار سازی جزئی پروتئین همراه می باشد به نحوی که T_m پروتئین از $۷۲\ ^oC$ در حالت طبیعی به $۷۳\ ^oC$ افزایش می یابد.

واژگان کلیدی: *کربنیک انیدراز II، استازولامید، مهار،تغییرات ساختاری*