فصل اول
خصوصیات[1] ماکرومولکول‌ها

۱-۱. اصطلاحات پایه:

واژه ماکرومولکول به معنای یک مولکول بزرگ است ولی بر حسب قرارداد این واژه به معنای یک پلی مر است. تعداد مونومرها در پلی مر، درجه پلی مریزاسیون نامیده می شود. حد پایینی پلی مریزاسیون تعریف نشده است ولی معمولا یک تترامر را ماکرومولکول نمی نامند اما به یک مولکول تشکیل شده از بیست مونومر، ماکرومولکول اطلاق می شود. واژه اولیگومر به ماکرومولکولی اطلاق می شود که از بیش از یک مونومر تشکیل شده باشد ولی به اندازه کافی بزرگ نیست که پلی‌مر نامیده شود. محدوده اندازه ماکرومولکول ها بسیار بزرگ می باشد. مثلا کوچکترین مولکول RNA، $۲/۵ \times ۱۰^{۴}$ Da و بزرگترین مولکول DNA شناخته شده ۲×۱۰^{۱۰} Da وزن دارد. اگر پلی‌مر از تنها یک نوع مونومر تشکیل شده باشد، هوموپلی مر نامیده می شود ولی اگر پلی‌مر از دو یا چند نوع مونومر متفاوت تشکیل شده باشد، کوپلی‌مر نامیده می‌شود. مولکول‌های پروتئین که توالی خطی از اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک که توالی خطی از نوکلئوتیدها، و پلی‌ساکاریدها که پلی‌مر قندها هستند، مثال‌هایی از کوپلی مرهای بیولوژیک می‌باشند.

۱-۲. سطوح ساختمانی پلی‌مرها:

ساختمان اول: ساختمان اول یک پلی مر اشاره بر تعداد، نوع و توالی مونومرها در ساختمان پلی مر دارد. مثلا، توالی اسیدهای آمینه در پروتئین ها و توالی نوکلئوتیدها در اسیدهای نوکلئیک، ساختمان اول آنها محسوب می‌شود.

ساختمان دوم: وجود نظم های متوالی و میان کنش های به ویژه هیدروژنی ساختمان دوم نامیده می شود. مثلا در پروتئین ها، ساختمان های آلفا و بتا و در اسیدهای نوکلئیک، ساختمان مارپیچ های مضاعف ساختمان دوم نامیده می‌شوند.

ساختمان سوم: تمامی میان کنش های اتم های یک ماکرومولکول در فضای سه بعدی ساختمان سوم آن نامیده می‌شود.

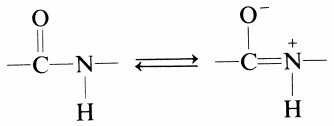
---

[1] Characterization

ساختمان چهارم: بسیاری از پلی مرهای بیولوژیک با یکدیگر میان‌کنش کرده و تشکیـل ساختمان های پیچیده‌ای از قبیل، پروتئین های چند زیرواحدی، ویروس ها، غشاء ها، فیلامان ها و غیره را می دهند. این ساختمان‌ها، ساختمان چهارم نامیده می‌شوند.

۱-۲-۱. چرخش حول پیوندهای شیمیایی در ساختمان ماکرومولکول‌های حیاتی:

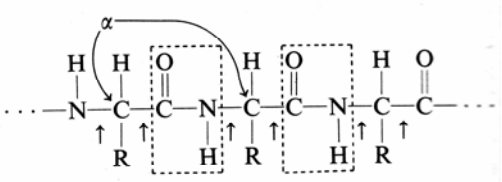
پیوند پپتیدی مسطح است و امکان چرخش ندارد ولی تمامی پیوندهای دیگر کربن آلفا انعطاف پذیرند و جهت یابی های متنوعی را می توانند داشته باشند. در شکل (۱-۱) ساختمان رزونانسی پیوند پپتیدی و صلبیت[۲] اعمال شده توسط خصیصه جزیی پیوند دوگانه پیوند پپتیدی نشان داده شده است:



شکل (۱-۱): ساختمان رزونانسی پیوند پپتیدی. پیوند پپتیدی به واسطه داشتن خصلت جزیی پیوند دوگانه انعطاف‌پذیر نیست.

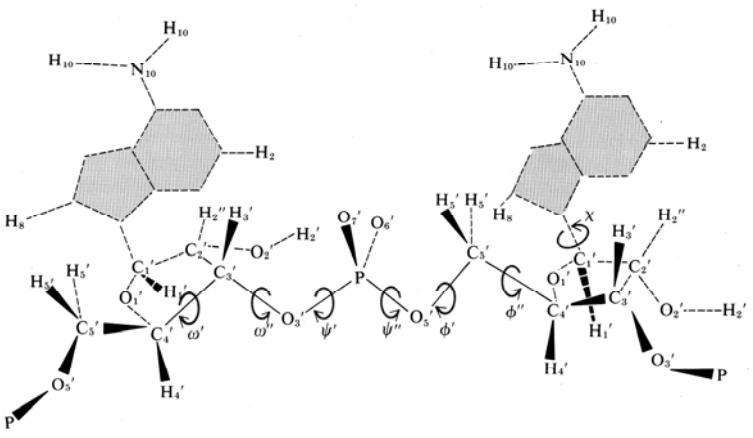
هر کربن آلفا به دو صفحه پپتیدی مسطح متصل می باشد. چرخش صفحات پپتیدی نسبت به یکدیگر به وسیله دو زاویه ψ و φ توصیف می شود. زاویه ψ عبارت است از زاویه چرخش حول پیوندی که کربن آلفا و کربن گروه کربونیل را به هم متصل می کند و زاویه φ، زاویه چرخش حول پیوندی است که کربن آلفا و اتم نیتروژن گروه آمید را به هم متصل می کند. پس هر باقی مانده اسید آمینه یک جفت زاویه ψ و φ دارد و در نتیجه کلیت ستون فقرات پروتئین توسط جفت زوایای ψ و φ توصیف می شود. شکل (۱-۲) بخشی از یک زنجیره پلی پپتیدی را نشان می دهد. فلش ها اشاره به پیوندهای قابل چرخش دارد و واحدهای پپتیدی صلب توسط مستطیل‌های نقطه چین نشان داده شده است:

[۲] Rigidity



شکل (۱-۲): بخشی از یک رشته پلی‌پپتیدی. واحدهای پپتیدی که توسط مستطیل‌های نقطه‌چین نشان داده شده‌اند، قابلیت چرخش ندارند. پیوندهای قابل چرخش در ستون فقرات زنجیره پلی‌پپتیدی توسط فلش نشان داده شده‌اند.

علاوه بر پیوندهای فسفودی استر، چند پیوند دیگر نیز در ساختمان اسیدهای نوکلئیک انعطاف پذیر محسوب می شوند. پیوندهایی که در ساختمان اسیدهای نوکلئیک چرخش حول آنها امکان پذیر است در شکل (۱-۳) نشان داده شده است:

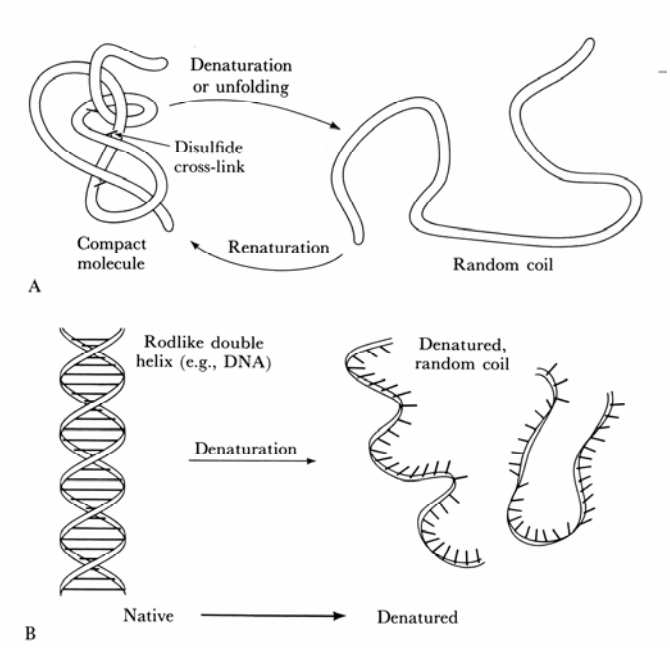


شکل (۱-۳): پیوندهای قابل چرخش در ساختمان اسیدهای نوکلئیک.

ولی چون بازها از سیستم های حلقوی آب گریز مسطح تشکیل شده‌اند، تمایل دارند که بر روی یکدیگر انباشته[۳] شوند و در نتیجه حداقل تماس با آب را داشته باشند. از اینرو ساختمان پلی نوکلئوتیدها حتی در یک ساختمان تک‌زنجیره‌ای نیز دارای صلبیت می‌باشد.

[۳] Stack

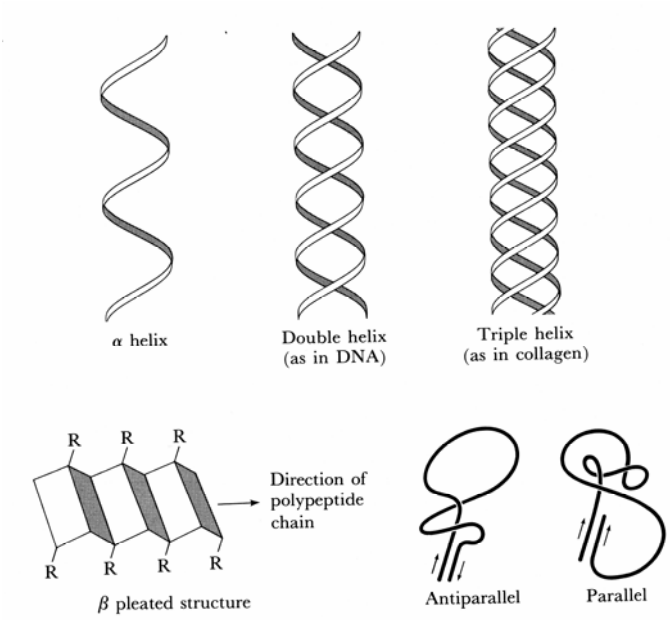
یک پلی مر خطی که حول تمامی پیوندهایش دارای چرخش آزاد می باشد و هیچ میان کنشی بین زنجیرهای جانبی اش وجود ندارد، پیچه نامنظم[۴] نامیده می شود. ساختمان طبیعی یک ماکرومولکول را ساختمان طبیعی[۵] آن و ساختمان غیرطبیعی شده آنرا ساختمان غیرطبیعی شده[۶] می نامند. تبدیل ساختمان طبیعی یک ماکرومولکول به ساختمان غیرطبیعی شده آن، غیرطبیعی شدن[۷] یا بازشدگی[۸] و تبدیل ساختمان غیرطبیعی شده به ساختمان طبیعی، دوباره تاخوردن[۹] یا دوباره طبیعی شدن[۱۰] نامیده می شود. شکل های ساختمانی طبیعی و غیرطبیعی شده ماکرومولکول ها و تبدیل این ساختمان ها به یکدیگر در شکل (۱-۴) نشان داده شده است:



شکل (۱-۴): فرآیند غیرطبیعی شدن (A) پروتئین و (B) DNA.

[۴] Random Coil
[۵] Native
[۶] Denatured
[۷] Denaturation
[۸] Unfolding
[۹] Refolding
[۱۰] Renaturation

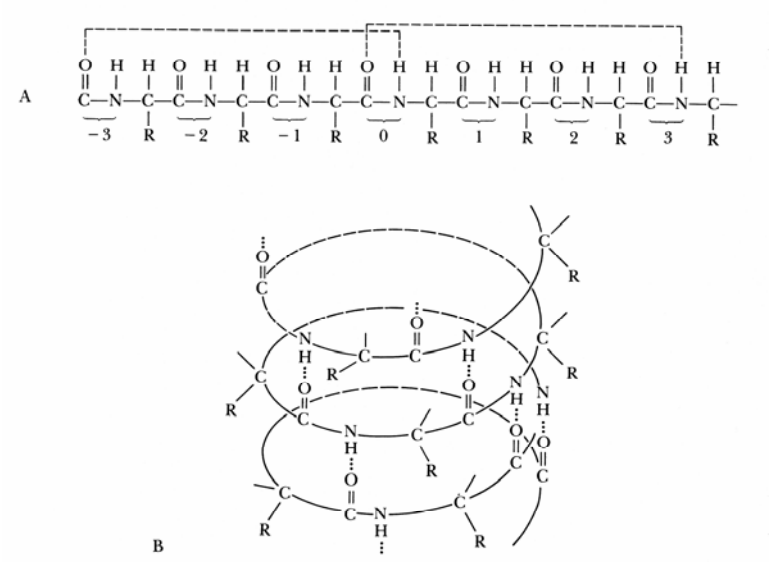
یک پیچه نامنظم، ساختمان سه بعدی و یا اندازه معینی ندارد زیرا به طور مداوم توسط حرکت براونی ساختمان و اندازه آن به هم می ریزد. ماکرومولکول های بیولوژیک معمولا به صورت پیچه‌های نامنظم نیستند و دارای آرایش فضایی پیچیده ویژه ای می باشند که برای فعالیت ماکرومولکول ضروری است. ساختمان سوم به وسیله نیروها و میان کنش‌های زیادی از قبیل پیوندهای هیدروژنی، میان کنش های آب گریز، پیوندهای دی سولفید، نیروهای واندروالس، پیوندهای یونی و دافعه الکترواستاتیک تعیین می شود. غالبا این میان کنش ها حجم مولکول را نسبت به حالت پیچه نامنظم کاهش داده و آن را به صورت فشرده در می آورند. بسیاری از پلی مرها دارای ساختمان مارپیچی هستند. مثال هایی از ساختمان‌های مارپیچی را در شکل (۱-۵) مشاهده می‌نمایید:



شکل (۱-۵): برخی از بناهای فضایی ماکرومولکول‌ها.

ساختمان مارپیچی وقتی تشکیل می شود که واحدهای مونومری ساختمان به وسیله چرخش ثابت حول محور به همراه انتقال ثابت در امتداد محور به هم مربوط باشند. مارپیچ آلفا در پروتئین ها نمونه ای از این ساختمان است. در یک مارپیچ آلفا، بین گروه C=O یک گروه پپتیدی و گروه NH یک گروه پپتیدی دیگر که به اندازه سه باقی مانده اسیدآمینه از آن فاصله دارد، پیوند هیدروژنی بوجود می آید.

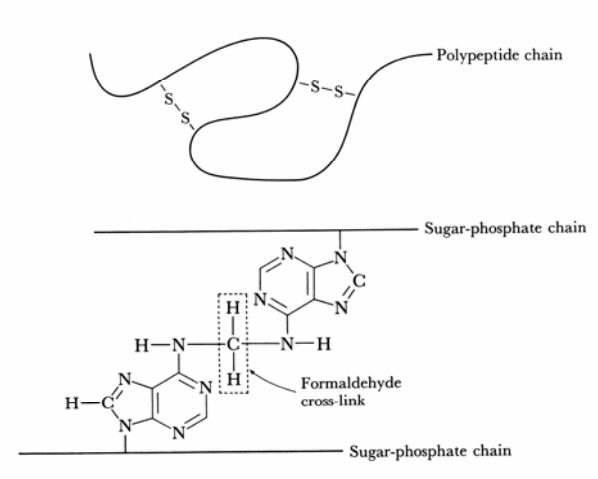
گروه NH واحد پپتیدی اول نیز با گروه C=O اسیدآمینه‌ای که به اندازه سه واحد قبل از آن قرار دارد تشکیل پیوند هیدروژنی داده است. در نتیجه هر واحد پپتیدی درگیر دو پیوند هیدروژنی است. بنابراین می توان گفت که پیوند هیدروژنی بین باقی‌مانده اسیدهای آمینه n و $n+4$ تشکیل شده است و لووپ حاصله حاوی ۱۳ اتم خواهد بود. (توجه داشته باشید که زنجیرهای جانبی در تشکیل مارپیچ آلفا شرکت ندارند و نیز هر واحد پپتیدی از گروه‌های NH و C=O باقی‌مانده‌های مجاور تشکیل شده است). ساختمان های مارپیچی دیگری نیز وجود دارند. به عنوان مثال، در پلی نوکلئوتیدها، بازهای مسطح پلی نوکلئوتیدها یکی بر روی دیگری انباشته شده‌اند ولی هنوز قدری چرخش دارند. در DNA، دو رشته پلی نوکلئوتیدی به وسیله پیوندهای هیدروژنی به هم متصلند و تشکیل یک مارپیچ دو رشته ای را می‌دهند. برخی از مولکول ها مثل کلاژن می‌توانند مارپیچ سه رشته‌ای تشکیل دهند. تشکیل ساختمان مارپیچ آلفا در زنجیرهای پلی‌پپتیدی را در شکل (۱-۶) مشاهده می کنید:



شکل (۱-۶): (A) در ساختمان مارپیچ آلفا، پیوند پپتیدی بین گروه C=O یک پیوند پپتیدی و گروه NH یک پیوند پپتیدی دیگر که به اندازه سه باقی‌مانده اسید آمینه از آن فاصله دارد تشکیل می‌شود. توجه داشته باشید که برای سادگی، پیوندهای پپتیدی به صورت سیس نشان داده شده‌اند. (B) یک مارپیچ آلفا توسط پیوندهای هیدروژنی و همچنین تماس‌های واندروالس بین اتم‌های تشکیل‌دهنده ستون فقرات مارپیچ پایدار می‌شود.

۱-۲-۲. اتصالات عرضی[۱۱]:

مواد شیمیایی و عوامل فیزیکی معینی می‌توانند بین دو نوکلئوتید پیوند کووالان ایجاد کنند. این اتصالات کووالان، اتصالات عرضی نامیده می شوند که می‌توانند درون زنجیری[۱۲] و یا بین زنجیری[۱۳] باشند. اتصالات درون زنجیری از تشکیل پیچه نامنظم جلوگیری می‌کنند در حالی که اتصالات عرضی بین زنجیری از تفکیک زنجیرها جلوگیری می کنند. دو نمونه از اتصالات عرضی در ساختمان پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در شکل (۱-۷) مشاهده می‌شود:



شکل (۱-۷): دو نوع اتصال عرضی در ساختمان ماکرومولکول‌ها. در بخش بالا، دو اتصال عرضی پل دی‌سولفیدی در یک زنجیر پلی‌پپتیدی که هر یک دو باقی‌مانده سیستئین را به یکدیگر متصل کرده‌اند نشان داده شده است. در بخش پایینی، یک اتصال عرضی پل‌متیلنی که در اثر واکنش فرم‌آلدئید با گروه‌های آمینوی دو باز آدنین موجود در یک پلی‌نوکلئوتید دو رشته‌ای ایجاد گردیده، نشان داده شده است.

[۱۱] Cross Links
[۱۲] Intrachain
[۱۳] Interchain

۱-۳. جرم مولی[۱۴]:

جرم مولی در مورد ماکرومولکول ها معنای متفاوتی دارد. در یک محلول سوکروز، تمامی مولکول‌های حل شونده جرم مولی یکسانی دارند و روش های مختلف تعیین جرم مولی مقدار عددی یکسانی را حاصل خواهند داد. همچنین محلول حاوی مولکول های هموگلوبین و یا دیگر پروتئین ها، جرم‌های مولی یکسانی خواهند داشت (با فرض این که تفکیک به زیرواحدها صورت نگرفته باشد). ولی برای پلی استایرن، DNA، پروتئین های رشته ای، لاستیک و دیگر مواد پلی مری چنین نخواهد بود. در هر یک از این سیستم ها، مولکول ها یکسان نیستند و توزیعی از جرم های مولکولی وجود خواهد داشت. یک سیستم پلی مری که تمامی مولکول هایش جرم مولی یکسانی دارند، مونودیسپرس[۱۵] نامیده می شود در حالی که یک سیستم پلی‌مری که تمام مولکول‌هایش جرم مولی یکسانی ندارند، پلی دیسپرس[۱۶] نامیده می‌شود. جرم مولی پلی‌مر را به روش‌های مختلف می‌توان تعریف کرد. دو تعریف که غالبا مورد استفاده قرار می گیرند عبارتند از: میانگین عددی جرم مولی[۱۷] و میانگین وزنی جرم مولی[۱۸].

۱-۳-۱. میانگین عددی جرم مولی $(\overline{M}_n)$:

یک سیستم پلی‌مری با N مولکول حاوی n_1 مولکول با جرم مولی M_1، n_2 مولکول با جرم مولی M_2 و .... را در نظر بگیرید. میانگین عددی جرم مولی این پلی‌مر به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$\overline{M}_n = \frac{n_1 M_1 + n_2 M_2 + n_3 M_3 + \cdots}{n_1 + n_2 + n_3 + \cdots} = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i} = \frac{\sum_i n_i M_i}{N} = \sum_i f_i M_i \qquad (۱-۱)$$

که در آن، $f_i = \frac{n_i}{N}$ و $\sum_i n_i = N$

---

[۱۴] Molar Mass
[۱۵] Monodisperse
[۱۶] Polydisperse
[۱۷] Number-Average Molar Mass
[۱۸] Weight-Average Molar Mass

n_i تعداد مولکول‌های با جرم مولی M_i و f_i کسری از تعداد کل مولکول‌هاست که دارای جرم مـولی M_i هستند. بنابراین $\overline{M}_n$ در واقع برابر با میانگین حسابی[۱۹] تمام جرم‌های مولی است.

۱-۳-۲. میانگین وزنی جرم مولی ($\overline{M}_w$):

میانگین وزنی جرم مولی به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i w_i M_i}{\sum_i w_i} \;,\; w_i = n_i M_i \;\Rightarrow\; \overline{M}_w = \frac{n_1 M_1^2 + n_2 M_2^2 + \cdots}{n_1 M_1 + n_2 M_2 + \cdots} = \frac{\sum_i n_i M_i^2}{\sum_i n_i M_i} \qquad (۲-۱)$$

که در آن، w_i کسری از مولکول هایی است که دارای جرم مولکولی M_i هستند. با تقسیم صورت و مخرج معادله (۱-۲) بر تعداد کل مولکول‌ها (N) خواهیم داشت:

$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i f_i M_i^2}{\sum_i f_i M_i} = \frac{\sum_i f_i M_i^2}{\overline{M}_n} \qquad (۳-۱)$$

همچنین می‌توانیم بنویسیم:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_i w_i}{\sum_i \frac{w_i}{M_i}} \qquad (۴-۱)$$

برای یک سیستم پلی‌دیسپرس، $\overline{M}_w \rangle \overline{M}_n$ است و برای یک سیستم مونودیسپرس، $\overline{M}_w = \overline{M}_n$ می‌باشد. از اینرو تعیین جرم مولی با دو روش مختلف می‌تواند نشان دهنده تجانس[۲۰] و یا عدم وجود آن باشد.

---

[۱۹] Arithmetic Mean
[۲۰] Homogeneity

مثال: مقادیر $\overline{M}_n$ و $\overline{M}_w$ برای مجموعه ای از مولکول ها که در آنها یـک چهارم مولکول ها وزن مولکولی ۵×۱۰^۴، نیمی از مولکول‌ها وزن مولکولی ۲×۱۰^۵ و یک چهارم دیگر مولکول‌ها وزن مولکولی ۱×۱۰^۷ دارند را محاسبه نمایید.

حل:

$$f_۱ = \frac{۱}{۴} \quad و \quad M_۱ = ۵ \times ۱۰^۴$$

$$f_۲ = \frac{۱}{۲} \quad و \quad M_۲ = ۲ \times ۱۰^۵$$

$$f_۳ = \frac{۱}{۴} \quad و \quad M_۳ = ۱ \times ۱۰^۷$$

$$\overline{M}_n = \sum_i f_i M_i$$

$$\overline{M}_n = [\frac{۱}{۴}(۵ \times ۱۰^۴)] + [\frac{۱}{۲}(۲ \times ۱۰^۵)] + [\frac{۱}{۴}(۱ \times ۱۰^۷)] = ۲/۶ \times ۱۰^۶$$

$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i f_i M_i^۲}{\overline{M}_n}$$

$$\overline{M}_w = \frac{[\frac{۱}{۴}(۵ \times ۱۰^۴)^۲] + [\frac{۱}{۲}(۲ \times ۱۰^۵)^۲] + [\frac{۱}{۴}(۱ \times ۱۰^۷)^۲]}{(۲/۶ \times ۱۰^۶)} = ۹/۶ \times ۱۰^۶$$

همان طور که مشاهده می شود، مقدار $\overline{M}_w$ بزرگتر از $\overline{M}_n$ است زیـرا $\overline{M}_w$ قویا تحت تاثیر مولکول‌های سنگین‌تر قرار می‌گیرد. در واقع $\overline{M}_w$ میانگین کسرهای جرمی مولکول‌هاست در حالی که $\overline{M}_n$ میانگین تعدادی مولکول‌هاست. چون مولکول‌های سنگین‌تر جرم بیشتری از مولکول‌های سبک‌تر دارند، $\overline{M}_w$ نسبت به مولکول‌های سنگین‌تر حساس‌تر است در حالی که $\overline{M}_n$ نسبت به مولکول‌های سبک‌تر حساس‌تر می‌باشد.

مثال: مقادیر $\overline{M}_n$ و $\overline{M}_w$ برای یک نمونه حاوی یک نوع مولکول با وزن مولکولی ۲×۱۰^۵ که توسط یک ناخالصی به مقدار ۲٪ وزنی و جرم مولکولی ۳۰۰ آلوده شده چقدر است؟

حل:

درصد وزنی مولکول مورد نظر: ٪۱۰۰ - ٪۲ = ٪۹۸

$$w_۱ = ۰/۹۸$$
$$M_۱ = ۲ \times ۱۰^۵$$
$$w_۲ = ۰/۰۲$$
$$M_۲ = ۳۰۰$$

$$\sum_i w_i = ۰/۹۸ + ۰/۰۲ = ۱ \quad \text{و} \quad \overline{M}_n = \frac{\sum_i w_i}{\sum_i \frac{w_i}{M_i}}$$

$$\overline{M}_n = \frac{۱}{[(\frac{۰/۹۸}{۲ \times ۱۰^۵}) + (\frac{۰/۰۲}{۳۰۰})]} = ۱/۴ \times ۱۰^۴$$

$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i w_i M_i}{w_i} = \frac{[(۰/۹۸) \times (۲ \times ۱۰^۵) + (۰/۰۲) \times (۳۰۰)]}{(۰/۹۸ + ۰/۰۲)} = ۱/۹۶ \times ۱۰^۵$$

توجه داشته باشید که $\overline{M}_n$ نسبت به حضور ناخالصی با جرم مولکولی کم حساس می‌باشد در حالی که $\overline{M}_w$ نزدیک به مقدار واقعی M است.

مثال: مقادیر $\overline{M}_n$ و $\overline{M}_w$ برای یک نمونه با جرم مولکولی واقعی ۲×۱۰^۵ که دارای یک ناخالصی با جرم مولکولی ۱×۱۰^۷ به مقدار ۲٪ وزنی است، چقدر می‌باشد؟

حل:

$$\overline{M}_n = \frac{\sum_i w_i}{\sum_i \frac{w_i}{M_i}} = \frac{۱}{(\frac{۰/۹۸}{۲\times۱۰^{۵}}) + (\frac{۰/۰۲}{۱\times۱۰^{۷}})} = ۲/۰۲\times۱۰^{۵}$$

$$\overline{M}_w = \frac{\sum_i w_i M_i}{w_i} = \frac{[(۰/۹۸)\times(۲\times۱۰^{۵}) + (۰/۰۲)\times(۱\times۱۰^{۷})]}{(۰/۹۸+۰/۰۲)} = ۳/۹۶\times۱۰^{۵}$$

در این مثال، بر عکس مثال قبلی، ناخالصی با جرم مولکولی بالا $\overline{M}_w$ را تحت تاثیر قرار می‌دهد و نه $\overline{M}_n$ را. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که یک ناخالصی با وزن مولکولی پایین موجب می شود $\overline{M}_n$ به طور قابل ملاحظه‌ای کمتر از مقدار حقیقی M شود ولی اثر کمی بر روی $\overline{M}_w$ دارد و یک ناخالصی با وزن مولکولی بالا موجب افزایش مقدار $\overline{M}_w$ می شود ولی اثر زیادی بر روی $\overline{M}_n$ ندارد. اهمیت این مقادیر میانگین همان طور که گفته شد در آن است که برخی تکنیک های اندازه گیری جرم مولی، $\overline{M}_n$ را حاصل می‌دهند (مثل اسمومتری و کاهش نقطه انجماد)، در حالی که برخی تکنیک های دیگر (مثل ته‌نشین‌سازی تعادلی و تفرق نور) $\overline{M}_w$ را حاصل می‌دهند.

۱-۴. ابعاد ماکرومولکول‌ها:

ابعاد ماکرومولکول ها نیز اهمیت ویژه ای دارد. اگر مولکول صلب باشد و ساختمان منظمی داشته باشد (مثلا به صورت میله یا کره باشد)، ابعادی از قبیل طول و شعاع معنی دار خواهند بود. برای مولکول DNA، جرم در واحد طول ثابت است در نتیـجه طول مولکول متناسب با وزن مولکولی آن است. ولی بیشتر مولکول های میله ای شکل قدری انعطاف پذیرند و به طور مداوم توسط مولکول های حلال بمباران می شوند و از اینرو شکل آنها در هر لحظه تغییر می کند. بنابراین ابعاد یک مولکول میله ای شکل به طور مداوم با زمان تغییر می کند و یک مقدار میانگین برای توصیف آن مورد نیاز می باشد. دو پارامتری که به طور معمول مورد استفاده قرار می گیرند عبارتند از فاصله ته به ته[۲۱] و شعاع چرخشی[۲۲]. ماکرومولکول ها آنقدر بزرگ هستند که فضای زیادی را اشغال می کنند و این ویژگی اثرات

[۲۱] End-to-End Distance
[۲۲] Radius of Gyration

مهمی بر خواص محلول های ماکرومولکول ها دارد. در تئوری معمول محلول‌ها، اندازه مولکول های حلال و حل شونده تقریبا هم اندازه در نظر گرفته می شوند ولی ماکرومولکول ها هزاران (و یا صدها هزار) بار بزرگتر از مولکول های حلالند و چون مولکول ها دایما در حال چرخشند، حجم موثر آنان بیشتر از حجم واقعی شان است. پارامتر حجمی که توصیف کننده این خاصیت است، حجم منع شده یا اخراج شده[۲۳] نامیده می شود. در واقع این اثر حجم منع شده است که عامل اصلی غیرایده آل بودن محلول های ماکرومولکول هاست. به همین دلیل در اندازه گیری های محلول ماکرومولکول ها معمولا باید تمامی مقادیر را تا غلظت صفر برون‌یابی نمود تا خواص غیرایده‌آلی ناشی از حجم منع‌شده حذف گردد.

۱-۴-۱. فاصله ته به ته:

فاصله ته به ته (h) میانگین جدایی بین دو انتهای یک مولکول خطی است. برای یک میله صلب، h معادل طول مولکول است ولی برای یک مولکول انعطاف پذیر، h بستگی به وزن مولکولی و میزان انعطاف پذیری مولکول دارد. برای یک پیچه نامنظم (که واقعا به صورت یک مولکول انعطاف پذیر است)، h را می‌توان با حل مسئله آماری قدم تصادفی[۲۴] محاسبه نمود. در یک حرکت اتفاقی (قدم تصادفی) یک بعدی، جسم می تواند در یک خط مستقیم حرکت کند ولی انتخاب حرکت بعدی به سمت جلو یا عقب اتفاقی است. اگر N مرحله با طول l از مبدا برداشته شوند، بعد از N مرحله اتفاقی، جسم به طور میانگین به اندازه $\sqrt{N}$ از مبدا فاصله گرفته است. برای یک فضای سه بعدی نیز نتیجه مشابه خواهد بود. این آنالیز معادل با تعیین فاصله ته به ته یک پیچه نامنظم است با فرض اینکه تمامی زوایای پیوندی بتوانند هر مقداری را داشته باشند. پس برای فاصله ته به ته می‌توان نوشت:

$$h = N^{۱/۲} l \qquad (۵-۱)$$

$$h = (N l)^{۱/۲} l^{۱/۲} = L^{۱/۲} l^{۱/۲} \qquad (۶-۱)$$

$$N l = L = \text{طول کل} \qquad (۷-۱)$$

[۲۳] Excluded Volume
[۲۴] Random Walk

L، طول هم ارز[۲۵] مولکول نامیده می‌شود. چون L متناسب با وزن مولکولی مولکول است، h نیز متناسب با $M^{1/2}$ است. البته زاویه بین دو مونومر وقتی که در یک پلی‌مر به هم متصل شده باشند اتفاقی نیست ولی با خطای کمی می‌توان پذیرفت که این زاویه اتفاقی است و l را به عنوان طول قطعه‌ای موثر[۲۶] یک پیچه نامنظم فرضی در نظر گرفت. اگر این طول، دقیقا طول مونومر باشد، N درجه پلی‌مریزاسیون خواهد بود. این طول موثر را سپس می‌توان با ابعاد خطی واقعی یک مونومر مقایسه نمود. اگر آنها مشابه باشند، ماکرومولکول انعطاف پذیر است و اگر خیلی با هم تفاوت داشته باشند، ماکرومولکول باید صلب باشد و اگر مولکول صلب باشد، بایستی خیلی بلند و نازک باشد.

مقدار h را (هر چند که خیلی دقیق نیست) می‌توان به وسیله اندازه‌گیری‌های ته‌نشین‌سازی تعیین نمود ولی l را می توان از رابطه $h = N^{1/2} l$ محاسبه کرد. برای پلی‌مرهای آلی شدیدا انعطاف‌پذیر مثل پلی اتیلن، $l = 2 - 3\ \text{A}^\circ$ (برابر با طول گروه متیلن) بدست می‌آید ولی برای مولکول‌های خیلی صلب مثل DNA، l حدودا معادل $1000\ \text{A}^\circ$ است که خیلی بزرگتر از طول واحد قند- فسفات می‌باشد. بنابراین مولکول DNA، مولکول بسیار صلبی است.

۱-۴-۲. مدل قدم تصادفی:

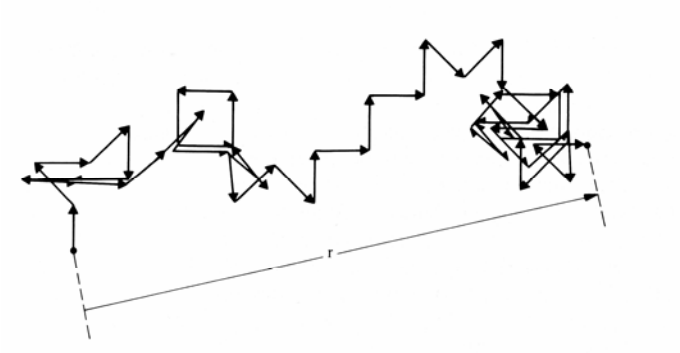
یک زنجیر پلی‌مر طویل را درنظر بگیرید که از واحدهای یکسانی (مثلا $-CH_2-$) تشکیل شده و در یک حلال حل شده است. برای سادگی از تمامی میان‌کنش‌های حل شونده-حل شونده و حل شونده- حلال صرف نظر کنید. چنین ماکرومولکولی در حالت محلول چه شکلی خواهد داشت؟ در دو حالت حدی، این ماکرومولکول می‌تواند کاملا کشیده و یا کاملا فشرده باشد ولی درواقع شکل ماکرومولکول چیزی بین این دو حالت حدی خواهد بود.

اگر واحدهای تکرار شونده هیچ جهت یابی ترجیح داده شده‌ای نداشته باشند، مدل قدم تصادفی می‌تواند جوابگو باشد. فرض کنید یک شخص دچار سرگیجه مفرط را در یک اتاق تاریک رها نموده‌اید. وی در مرکز اطاق قراردارد و او را وادار به قدم برداشتن با قدم‌های یکسان کرده‌اید. فرض کنید هیچ محدودیتی در جهت قدم‌های او وجود ندارد و بنابراین هر قدم کاملا مستقل از قدم قبلی خواهد بود. تعقیب مسیر قدم‌های این شخص می‌تواند نشان دهنده آرایش زنجیر یک پلی‌مر باشد.

---

[۲۵] Contour Length
[۲۶] Effective Segment Length

البته این شباهت دقیق نیست زیرا پلی‌مرها ساختمان سه بعدی دارند در حالی که قدم تصادفی بر روی یک صفحه دو بعدی است. شکل (۱-۸) نشان دهنده یک زنجیر پلی‌مر است که از ۵۰ واحد یکسان تشکیل شده است:



شکل (۱-۸): مدل قدم تصادفی دو بعدی با ۵۰ مرحله.

کمیت مورد علاقه، فاصله بیـن دو انتهای زنجیر (h یا r) است که به آن فاصله ته به ته می‌گویند و به ما ایده‌ای در مورد اندازه مولکول می دهد. بر اساس محاسبات آماری که میانگین قدم های تصادفی زیادی بوده است، نشان داده شده که میانگین مجذور فاصله r برابر است با:

$$\overline{r^2} = nl^2 \qquad (۸-۱)$$

که در این رابطه n تعداد پیوندها و l طول هر پیوند می‌باشد. ریشه میانگین مجذورها[۲۷] برابر است با:

$$r_{RMS} = h = \sqrt{\overline{r^2}} = l\sqrt{n} \qquad (۹-۱)$$

به عنوان مثال، در یک ماکرومولکول که دارای ۱۰۰۰ پیوند C–C می‌باشد و طول هر پیوند $۱/۵۴\ \text{A}^\circ$ است، خواهیم داشت:

$$h = r_{RMS} = ۱/۵۴\sqrt{۱۰۰۰} = ۴۸/۷\ \text{A}^\circ$$

[۲۷] Root Mean Square

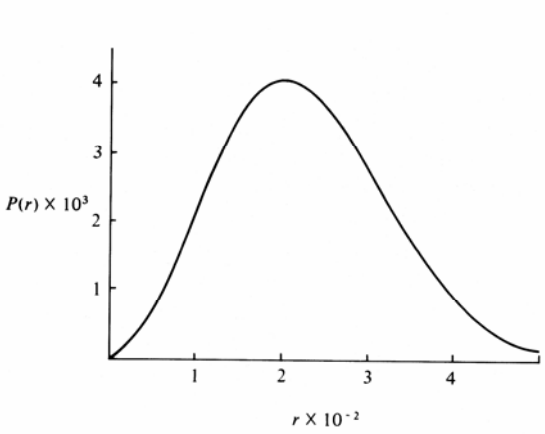
که به مقدار قابل توجهی کوتاهتر از طول یک زنجیر کاملا گسترده است $(۱۰۰۰\times۱/۵۴=۱۵۴۰\ \mathrm{A}^\circ)$. همچنین می‌توان حجم اشغال شده توسط یک پلی‌مر را تخمین زد. اگر قطر این پلی‌مر $۴۸/۷\ \mathrm{A}^\circ$ باشد، حجم آن برابر خواهد بود با:

$$\frac{۴}{۳}\pi r^۳=\frac{۴}{۳}\pi(\frac{۴۸/۷\mathrm{A}^\circ}{۲})^۳=۶/۱\times۱۰^۴\ \mathrm{A}^{\circ۳}$$

حجم واقعی اشغال شده توسط پلی‌مر تنها کسر کوچکی از کره اندازه‌گیری شده خواهد بود زیرا ابعاد زنجیر پلی‌مر در محلول ثابت نیست و به طور مداوم شکل و اندازه‌اش به علت حرکت گرمایی تغییر می‌کند. حجم محاسبه شده نشان دهنده فضایی است که به طور متوسط پلی‌مر در آن فضا وجود دارد. کمیت مهم دیگر، احتمال یافتن دو انتهای یک زنجیر پلی‌مر است که به وسیله فاصله r از هم جدا شده‌اند. این احتمال را با $P(r)$ نشان می‌دهند و برابر است با:

$$P(r)=Ar^۲\exp(\frac{-۳r^۲}{۲nl^۲})\qquad(۱۰-۱)$$

که در این رابطه، A یک ثابت است. نمودار $P(r)$ در مقابل r، که زنگوله‌ای شکل می‌باشد، در شکل (۱-۹) نشان داده شده است:



شکل (۱-۹): نمودار تغییرات $P(r)$ در مقابل r.

همان طور که نمودار نشان می‌دهد، احتمال یافتن دو انتها در $r = ۰$ و $r \to \infty$ ، صفر است. مقدار r در بیشترین مقدار $P(r)$، محتمل‌ترین فاصله[۲۸] یا r_{MP} نامیده می‌شود.

نتایج ساده فوق، تصویر بسیار روشنی از یک زنجیر ماکرومولکول در محلول بدست می دهد ولی باید توجه داشت که مدل قدم تصادفی علاوه بر اینکه جوابگوی مدل سه بعدی نیست، به طرق زیر نیز ساده‌شده[۲۹] است:

۱- پیوندها در زنجیر پلی‌مر آزاد نیستند که هر جهتی را نسبت به یکدیگر انتخاب کنند. مثلا در ترکیبات هیدروکربنی مثل پلی‌اتیلن، زوایای پیوندی باید به ۱۰۹° نزدیک باشند.

۲- میان‌کنش‌های فضایی بین هیدروژن‌های کربن‌های مجاور را باید در نظر داشت.

هر دوی این اثرات باعث کاهش فشردگی زنجیر و افزایش مقدار r_{RMS} می شوند. تصحیحی که بر روی این مدل صورت‌گرفته بدین شکل است:

$$\overline{r^{۲}} = C\,nl^{۲} \qquad (۱۱-۱)$$

که در این معادله، C ثابتی است که بستگی به نوع ویژه پلی مر دارد و در اکثر موارد بین ۱۰–۲ قرار دارد.

۳- شخص مورد نظر می تواند چندین بار از یک مسیر بگذرد ولی هیچ دو اتمی در یک پلی‌مر نمی‌توانند فضای یکسانی را اشغال کنند. این اثر را اثر اخراج حجم[۳۰] می‌گویند که به حساب آوردن آن در محاسبات تئوریک مشکل است ولی معادله فوق برای بیشتر محاسبات مناسب می‌باشد.

در واقع بنای فضایی یک پلی‌مر بستگی به ماهیت حلال نیز دارد. در یک حلال خوب[۳۱]، (حلالی که گرمای اختلاط آن با پلی مر صفر و یا منفی است، یعنی انحلال در آن یک فرآیند اگزوترمیک است)، زنجیر پلی مر در فرم گسترده‌ای خواهد بود. در یک حلال ضعیف[۳۲] (حلالی که گرمای اختلاط آن با

[۲۸] Most Probable Distance
[۲۹] Oversimplified
[۳۰] Volume Exclusion Effect
[۳۱] Good Solvent
[۳۲] Poor Solvent

پلی‌مر مثبت است، یعنی انحلال در آن یک فرآیند اندوترمیک است)، زنجیر پلی‌مر تمایل دارد که به هم فشرده شود.

۱-۴-۳. شعاع چرخشی:

شعاع چرخشی (R_G) ریشه میانگین مجذورهای فواصل تمامی بخش های یک مولکول از مرکز جرم آن است و به صورت زیر تعریف می‌شود:

$$R_G = \sqrt{\frac{\sum_i m_i r_i^2}{\sum_i m_i}} \qquad (۱۲-۱)$$

که در این رابطه، m_i جرم عنصر iام در فاصله r_i از مرکز جرم است. برای شکل های ساده و همچنین پیچه نامنظم، R_G را می‌توان محاسبه نمود:

برای شکل کره، $R_G = \sqrt{\frac{۳}{۵}} r$ است که در آن r شعاع کره می‌باشد.

برای یک مولکول میله‌ای شکل، $R_G = \sqrt{\frac{۱}{۱۲}} L$ است که در آن L طول میله می‌باشد.

و برای یک پیچه نامنظم، $R_G = \sqrt{\frac{N}{۶}} l$ است که در آن N تعداد واحدهای سازنده به طول l می‌باشد.

مقدار R_G را می توان جهت تخمین شکل یک مولکول به وسیله مقایسه مقدار اندازه‌گیری شده $(R_{G,\ observed})$ با آنچه که برای یک کره مورد انتظار است $(R_{G,\ sphere})$ به کار برد. این محاسبه نیازمند نوشتن r (شعاع کره) بر حسب مقادیر قابل اندازه‌گیری است. حجم یک کره برابر با $\frac{۴}{۳}\pi r^3$ یا $M\bar{\nu}/N_A$ است که درآن M جرم مولی، $\bar{\nu}$ حجم ویژه جزیی[۳۳] و N_A عدد آووگادرو است. حجم ویژه جزیی عبارت است از افزایش حجم وقتی یک گرم از حل شونده خشک در مقدار زیادی از حلال حل می‌شود. به عبارت دیگر، $\bar{\nu} = \Delta V / \Delta m$ بنابراین، می‌توان نوشت:

[۳۳] Partial Specific Volume

$$R_{\mathrm{G},\,sphere}=\sqrt{\frac{۳}{۵}}\,(\frac{۳M\bar{\nu}}{۴\pi N_{\mathrm{A}}})^{\frac{۱}{۳}} \quad و \quad r=(\frac{۳M\bar{\nu}}{۴\pi N_{\mathrm{A}}})^{\frac{۱}{۳}}$$

مقادیر $R_{\mathrm{G},\,\mathrm{observed}}$ (که از تکنیک تفرق نور[۳۴] بدست آمده است) و $R_{\mathrm{G},\,\mathrm{sphere}}$ برای پروتئین‌های لایزوزیم، مایوگلوبین، مایوزین و اسیدهای نوکلئیک tRNA و DNA در جدول (۱-۱) نشان داده شده است:

جدول (۱-۱): شعاع های چرخشی چند ماکرومولکول.

مولکول	جرم مولکولی	$\bar{\nu}$	$R_{\mathrm{G},\,\mathrm{observed}}\,(\mathrm{A}^{\circ})$	$R_{\mathrm{G},\,\mathrm{sphere}}\,(\mathrm{A}^{\circ})$	$R_{\mathrm{G},\,\mathrm{observed}}/R_{\mathrm{G},\,\mathrm{sphere}}$
لایزوزیم	۱۳۹۳۰	۰/۷۰	۱۴/۳	۱۲/۲	۱/۱۷
مایوگلوبین	۱۶۸۹۰	۰/۷۴	۱۶/۰	۱۳/۲	۱/۲۱
tRNA	۲۶۶۰۰	۰/۵۳	۲۱/۷	۱۳/۸	۱/۵۷
مایوزین	۴۹۳۰۰۰	۰/۷۳	۴۶۸	۴۵/۲	۱۰/۴
DNA	$۴\times{}^{۶}۱۰$	۰/۵۵	۱۱۷۰	۷۴	۱۵/۸

اطلاعات موجود در این جدول نشان می دهد که لایزوزیم و مایوگلوبین شکل کروی ندارند ولی در عین حال شکل کلی‌شان خیلی هم غیرکروی نیست. از طرف دیگر، مایوزین و DNA خیلی غیرکروی می‌باشند. مقادیر R_{G} برای این مولکول ها پیشنهاد می‌کند که آنها میله‌ای شکل هستند. با مقایسه $R_{\mathrm{G,observed}}$ و R_{G} یک میله صلب می‌توان ایده‌ای از میزان انعطاف‌پذیری آن بدست آورد. برای DNA، مقدار جرم به ازای واحد DNA (که از مطالعات پراش اشعه ایکس بدست آمده است) برابر ۲۰۰ واحد جرم مولکولی در هر آنگستروم است. بنابراین برای یک مولکول DNA با جرم مولکولی ۴×۱۰^{۶} و طول $۲\times۱۰^{۴}\ \mathrm{A}^{\circ}$، $R_{\mathrm{G,rod}}=\sqrt{\frac{۱}{۱۲}}\times(۲\times۱۰^{۴})\ \mathrm{A}^{\circ}=۵۷۷۴\ \mathrm{A}^{\circ}$ خواهد بود که تقریبا پنج برابر بزرگتر از مقدار مشاهده شده است.

پس می توان نتیجه گرفت که DNA به کشیدگی یک میله صلب نیست و قدری انعطاف پذیری دارد. با این وجود، DNA به واسطه انباشتگی بازهای آن و همچنین ساختمان مارپیچی مضاعف آن یک

[۳۴] Light Scattering

مولکول سفت محسوب می شود زیرا $R_{G,\ observed}$ آن خیلی بزرگتر از $R_{G,\ sphere}$ است. چنین نتیجه‌گیری را برای مایوزین نیز می‌توان بکار برد.

۱-۵. نیروهای بین مولکولی و درون مولکولی در زیرواحدها:

ساختمان سه‌بعدی یک ماکرومولکول توسط سه فاکتور تعیین می‌شود:

۱- زوایای پیوندی مجاز

۲- میان‌کنش بین اجزاء ماکرومولکول (بین مونومرها)

۳- میان‌کنش بین اجزاء ماکرومولکول و حلال

میان‌کنش‌های حلال نیز بر دو نوعند:

۱- حلال‌پوشی یا اتصال حلال که جاذبه بین اجزاء ماکرومولکول و مولکول‌های حلال است.

۲- میان کنش آب گریز که میان کنش حل شونده- حل شونده می باشد و ناشی از عدم توانایی میان کنش حل‌شونده با حلال و یا میان‌کنش اجتنابی[۳۵] است.

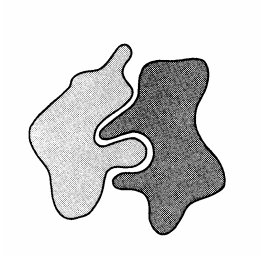
قانون اصلی میان کنش آب گریز این است که اگر مجموعه ای از مولکول ها قابل آب پوشی شدن نباشند در عوض، این مولکول‌ها تنگ هم می‌چسبند تا تماس با حلال را به حداقل ممکن برسانند. این اثر را می‌توان در اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها به وضوح مشاهده نمود.

میان کنش های اصلی مثبت در ماکرومولکول ها، پیوندهای هیدروژنی، پیوندهای یونی و جاذبه های واندروالس است. پیوندهای هیـدروژنی مسئول شکل‌گیری ساختمان مضاعف DNA و ساختـمان‌های آلفا و بتای پروتئین‌هاست. پیوندهای یونی در پروتئین ها، بارهای مثبت و منفی موجود در زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه را به هم متصل می کنند و در نوکلئوپروتئین‌ها بارهای مثبت زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه لایزین و آرژنین را به فسفات های منفی ستون فقرات اسیدهای نوکلئیک متصل می‌نمایند. نیروهای جاذبه واندروالس نیروهای ضعیفی هستند که بین تمامی مولکول ها وجود دارند و تنها در فواصل بسیار کوتاه عمل می کنند. اگر دو ناحیه یک ماکرومولکول شکل های مکمل یکدیگر داشته باشند، این دو ناحیه می توانند کاملا به یکدیگر نزدیک شده و پیـوندهای واندروالس قوی تشکیل دهند. تمامی میان‌کنش‌های بین زیرواحدهای ماکرومولکول ها باعث می‌شوند که ماکرومولکول ساختمان سه بعدی خاص خود را بدست آورد که متناسب با عملکرد بیولوژیک خاص آن است. سطح

[۳۵] Avoidance Interaction

یک ماکرومولکول ممکن است قادر باشد با سطح یک ماکرومولکول دیگر میان‌کنش کرده و در نتیجه عملکرد خاصی را موجب شود. بسیاری از پروتئین ها به وسیله وصله‌های[۳۶] آب گریز بر روی سطح شان با هم مجتمع می شوند. این وصله ها به حل شدن پروتئین های منفرد کمک نمی‌کنند بلکه دو مولکولی که چنین وصله‌هایی را دارند با یکدیگر جفت کرده و تماس غیرمطلوبشان با آب را کاهش می‌دهند. به همین دلیل است که هموگلوبین تترامری است که از چهار زنجیر پلی پپتیدی میان‌کنش کننده تشکیل شده است.

وجود بخش هایی با اشکال مکمل در ماکرومولکول ها باعث می شود نیروهای جاذبه واندروالس ضعیف تقویت شده و موجب به هم چسبیدن دو ماکرومولکول و یا زیرواحدهای یک ماکرومولکول به یکدیگر شوند (شکل ۱-۱۰):



شکل (۱-۱۰): دو پروتئین به وسیله میان‌کنش از طریق شکل‌های مکمل‌شان به هم متصل شده‌اند.

۱-۶. مفاهیم ساختمان‌های طبیعی و غیرطبیعی‌شده:

واژه ساختمان طبیعی ماکرومولکول معمولا مورد استفاده قرار می گیرد و تعریف آن مشکل است ولی می‌توان آن را به صورت‌های زیر تعریف نمود:

۱- ساختمان یک ماکرومولکول به طوری که در طبیعت وجود دارد.

۲- ساختمان یک ماکرومولکول ایزوله شده اگر فعالیت آنزیمی خودش را حفظ کرده باشد.

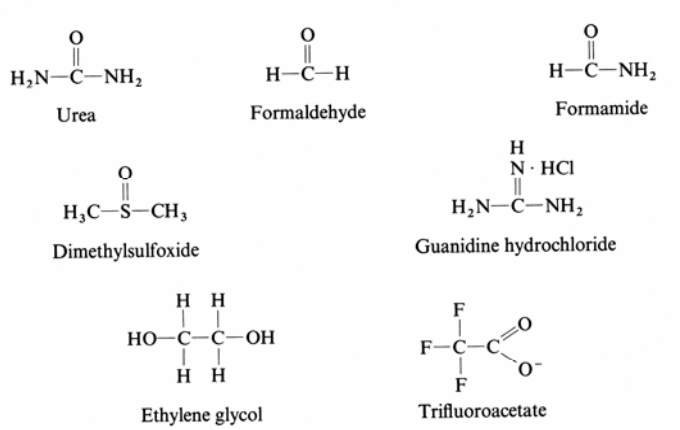
۳- شکلی از یک ماکرومولکول که هیچ فعالیت بیولوژیک ندارد ولی ساختمان دوم دارد.

غالبا تعریف دوم برای توصیف حالت طبیعی مورد استفاده قرار می گیرد. واژه غیرطبیعی شده بدین معنی است که ماکرومولکول ساختمان دوم کمتری نسبت به شکل طبیعی دارد. برای پروتئین ها،

[۳۶] Patches

غیرطبیعی شدن به معنای پذیرفتن ساختمان پیچه نامنظم و یا نزدیک به پیچه نامنظم است. برای DNA با ساختمان مارپیچی مضاعف طبیعی، واژه غیرطبیعی شده به معنای به صورت تک رشته‌ای درآمدن است که ممکن است دارای پیوندهای هیدروژنی درون رشته‌ای باشد و یا به صورت اتفاقی با دیگر رشته‌های منفرد، مجتمع شده باشد. اگر بخشی از ساختمان طبیعی یک ماکرومولکول از دست رفته باشد، گفته می‌شود که ماکرومولکول به طور جزیی غیرطبیعی‌شده[۳۷] است.

انتقال از ساختمان منظم به ساختمان غیرمنظم غالبا یک انتقال مارپیچ- پیچه[۳۸] نامیده می شود حتی اگر حالت طبیعی خود غیرمارپیچی باشد. انتقالات مارپیچ- پیچه معمولا به وسیله تعقیب نمودن تغییر در برخی خواص فیزیکی ماکرومولکول (مثل ویسکوزیته ذاتی، چگالی نوری، ضریب ته نشین سازی و ...) مورد مطالعه قرار می گیرد. عوامل القاء کننده انتقال مارپیچ- پیچه که معمولا مورد استفاده قرار می گیرند عبارتند از: pH ، قدرت یونی[۳۹] (I)، حرارت و غیرطبیعی کننده های شیمیایی از قبیل DTAB[۴۰]، SDS[۴۱]، اوره و گوانیدین هایدروکلراید برای پروتئین ها و فرم آمید، فرم آلدئید و اتیلن گلایکول برای اسیدهای نوکلئیک. ساختمان برخی از این عوامل غیرطبیعی کننده در شکل (۱-۱۱) نشان داده شده است:



شکل (۱-۱۱): ساختمان شیمیایی چند غیرطبیعی‌کننده مرسوم.

[۳۷] Partially Denatured
[۳۸] Helix-Coil Transition
[۳۹] Ionic Strength
[۴۰] Dodecyltrimethylammonium Bromide
[۴۱] Sodium Dodecyl Sulfate

معمول‌ترین عامل غیرطبیعی‌کننده، حرارت است و به غیرطبیعی کردن ماکرومولکول ها توسط افزایش حرارت، غیرطبیعی کردن حرارتی[۴۲] می گویند. یک انتقال مارپیچ- پیچه می تواند متعاون[۴۳] و یا غیرمتعاون[۴۴] باشد. با مثال زیر می‌توان این دو نوع انتقال را از هم تشخیص داد:

پروتئینی را در نظر بگیرید که ساختمان آن به وسیله میان کنش یونی بین یک جفت اسید آمینه A و B (که یکی از آنها بار مثبت و دیگری بار منفی دارد) پایدار می شود. در هر دما، بین مولکول هایی که در آنها A و B جفت شده اند (شکل مارپیچی) و مولکول هایی که در آنها A و B از هم جدا شده اند (شکل پیچه ای) تعادل وجود دارد. در دمایی که جفت شدن بسیار پایدار است، بیشتر مولکول ها به صورت طبیعی می باشند در حالی که در دماهای بالاتر بیشتر مولکول‌ها (و نه همه آنها) به صورت غیرطبیعی شده در می‌آیند. یک محدوده دمایی وجود خواهد داشت که در آن تعادل سریعا تغییر می‌کند یعنی اگر نمودار کسر[۴۵] A و B غیرجفت شده در مقابل دما رسم شود، افزایش شدیدی در این محدوده دمایی مشاهده خواهد شد. از آنجایی که تنها یک جفت A و B در هر مولکول وجود دارد، این محدوده دمایی بسیار باریک بوده و به عنوان یک انتقال تیز[۴۶] محسوب می‌شود. برای مولکولی که شکل آن توسط تعداد زیادی جفت عوامل میان کنش کننده تعیین می شود، این حالت تیز الزاما صادق نخواهد بود زیرا دو نوع مختلف انتقال وجود دارد. در یک انتقال غیرمتعاون، احتمال حضور یک جفت مستقل از حضور جفت های دیگر است در حالی که در یک انتقال متعاون، احتمال حضور یک جفت وابسته به حضور جفت‌های دیگر می‌باشد. به طور کلی، تمامی جفت‌ها قدرت یکسانی ندارند زیرا آنها از نظر شیمیایی متفاوتند و یا در موقعیت های متفاوتی در ساختمان ماکرومولکول واقع شده‌اند. بنابراین، در یک انتقال غیرمتعاون با افزایش دما جفت‌ها در دماهای متفاوتی از هم گسسته خواهند شد و در نتیجه انتقال مارپیچ-پیچه تیز نخواهد بود.

در یک انتقال متعاون، گسستن اولین جفت بسیار مشکل تر از گسستن آخرین جفت خواهد بود زیرا اولین جفت به وسیله حضور دیگر جفت ها پایدار می شود ولی آخرین جفت تنها به وسیله انرژی اتصالی ذاتی خودش پایدار می‌شود. بنابراین اولین جفت (نسبت به حالتی که اگر تنها یک جفت موجود بود)

---

[۴۲] Thermal Denaturation
[۴۳] Cooperative
[۴۴] Non-Cooperative
[۴۵] Fraction
[۴۶] Sharp Transition

در دمای بالاتری گسسته خواهد شد و این مطلب برای دومین جفت، سومین جفت و .... هم صادق خواهد بود ولی برای آخرین جفت صدق نخواهد کرد. وقتی اولین جفت گسسته شد، دومین جفت کمی پایداری اش را از دست می دهد و وقتی دومین جفت گسسته شد، سومین جفت تضعیف می شود و الاآخر. در نتیجه وقتی تعاونی وجود دارد (نسبت به عدم حضور تعاونی) انتقال بسیار تیز خواهد بود. انتقال‌های غیرمتعاون در ماکرومولکول‌های بیولوژیک نادر است. حال پروتئینی را در نظر بگیرید که کسر بزرگی از اسیدهای آمینه‌اش در پیوندهای هیدروژنی شرکت دارند. در هر دمایی پروتئین توسط مولکول های حلال بمباران می شود که در نتیجه در هر لحظه نواحی مختلف پروتئین نسبت به یکدیگر حرکت می کنند. این حرکت خیلی زیاد نیست زیرا نواحی متحرک توسط پیوندهای هیدروژنی محبوس شده اند. با افزایش دما، پروتئین توسط نیروی بزرگتری بمباران می‌شود ولی صلبیت تحمیل شده به وسیله پیوندهای هیدروژنی هنوز ساختمان را پا برجا نگاه داشته است تا اینکه به دمایی برسیم که در آن یک پیوند هیدروژنی شکسته شود. شکسته شدن این پیوند هیدروژنی باعث می شود دو ناحیه ای که توسط این پیوندهای هیدروژنی در کنار یکدیگر قرار گرفته بودند، حال نسبت به یکدیگر به طور آزادانه تری حرکت کنند و در نتیجه پیوندهای هیدروژنی مجاور تحت فشار قرار می گیرند. اکنون، افزایش کمتری در انرژی برای شکستن پیوندهای هیدروژنی مجاور مورد نیاز می‌باشد که بعد از شکسته شدن این پیوندها نیز دوباره انعطاف پذیری افزایش یافته و پیوندهای هیدروژنی باقی مانده برای شکسته شدن مستعدتر خواهند بود. این فرآیند به وسیله افزایش مقدار کمی انرژی ادامه پیدا می کند تا این که پیوندهای هیدروژنی موجود در ساختمان پروتئین شکسته شوند و ساختمان مولکول پروتئین کاملا از هم گسسته شود.

برای مولکول DNA نیز وضعیت مشابهی وجوددارد. ساختمان مارپیچ مضاعف DNA توسط دو نیروی عمده پایدار می‌شود:

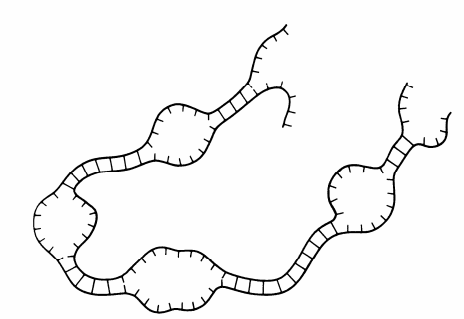
۱- تمایل بازهای آب‌گریز در یک رشته برای انباشته‌شدن آنها بر روی یکدیگر

۲- پیوندهای هیدروژنی بین رشته‌ای بین دو رشته DNA

قدرت یک پیوند هیدروژنی کم است و توسط زاویه بین دو گروه تشکیل دهنده پیوند هیدروژنی مورد تاثیر قرار می گیرد. بنابراین پیوند هیدروژنی در یک پلی نوکلئوتید ضعیف است مگر اینکه بازها روی هم انباشته شوند زیرا انباشته شدن بازها روی یکدیگر مهیا کننده جهت یابی فضایی مورد نیاز برای تشکیل همزمان تعداد زیادی پیوند هیدروژنی است. در یک دمای معین، بمباران DNA توسط

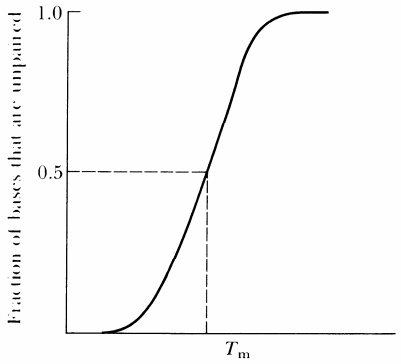
مولکول‌های حلال تمایل به شکستن پیوندهای هیدروژنی و تغییر جهت‌یابی فضایی نسبی بازها نسبت به یکدیگر دارد. شکستن اولین پیوند هیدروژنی مشکل است زیرا انباشتگی بازها عامل بسیار پایدارکننده‌ای برای پیوندهای هیدروژنی محسوب می‌شود و در واقع به علت وجود همین انرژی پایداری حاصل از انباشتگی بازهاست که انتقال مارپیچ- پیچه در DNA در حدود $۳۰-۴۰^{\circ}C$ بالاتر از دمای لازم برای انتقال مارپیچ- پیچه در پروتئین ها روی می‌دهد. توجه داشته باشید که جفت شدن بازها باعث می شود که آنها نسبت به ستون فقرات قند- فسفات در بخش درونی مارپیچ مضاعف قرار گرفته و در نتیجه بازها چنان بر روی یکدیگر انباشته می شوند که ایجاد پیوند هیدروژنی و انباشتگی بازها، به صورت کمک‌کننده[۴۷] یکدیگر عمل می‌نمایند. مستعدترین پیوندهای هیدروژنی برای شکسته شدن آنهایی هستند که در دو انتهای DNA واقع شده‌اند زیرا جفت بازهای انتهایی تنها به وسیله یک جفت باز انباشته شده پایدار می شوند. بنابراین با افزایش دما، پیوندهای هیدروژنی واقع شده در دو انتهای مولکول DNA ابتدا شکسته می‌شوند. شکسته شدن پیوندهای هیدروژنی بین این بازها موجب ناپایدار شدن جفت بازهای بعدی شده و غیرطبیعی شدن ادامه می‌یابد. علاوه بر دو انتهای DNA، توالی های غنی از جفت بازهای AT دارای دو پیوند هیدروژنی هستند و ذاتا پایداری کمتری نسبت به جفت های GC (با سه پیوند هیدروژنی) دارند. یک ناحیه درونی که در آن جفت بازها از هم گسسته شده‌اند، حباب[۴۸] نامیده می‌شود. شکسته شدن بعدی پیوندهای هیدروژنی ترجیحا در دو انتهای این حباب‌ها روی می‌دهد زیرا این نواحی نیز تقریبا معادل دو انتهای مولکول DNA می باشند. بنابراین غیرطبیعی شدن DNA توسط بزرگ شدن حباب ها و باز شدن DNA از دو انتها پیش می‌رود. ساختمان یک مولکول DNA که به صورت جزیی غیرطبیعی شده است، در شکل (۱-۱۲) نشان داده شده است:

[۴۷] Synergistic
[۴۸] Bubble



شکل (۱-۱۲): یک مولکول DNA به طور جزیی غیرطبیعی شده است. باز شدن دو رشته DNA خطی در حین غیرطبیعی‌شدن از دو انتها و نیز نواحی درونی (ساختمان حباب) آغاز می‌شود.

انتقال مارپیچ- پیچه معمولا به وسیله دمایی که در آن ۵۰٪ انتقال کامل شده است، توصیف می شود. این دما، دمای ذوب[۴۹] یا T_m نامیده می‌شود. در شکل (۱-۱۳) انتقال مارپیچ-پیچه برای مولکول DNA و T_m آن نشان داده شده است:



شکل (۱-۱۳): انتقال مارپیچ- پیچه برای مولکول DNA و T_m آن.

مقدار T_m بستگی به روش آشکارسازی[۵۰] انتقال دارد. به عنوان مثال، T_m تعیین شده توسط تعقیب تغییرات جذب نور یک محلول DNA معادل T_m تعیین شده توسط تعقیب تغییرات ویسکوزیته محلول

[۴۹] Temperature of Melting
[۵۰] Detection

DNA نیست. دمای انتقال بعضی اوقات وسط ناحیه انتقالی نامیده می‌شود ولی باید توجه داشت که T_m، دمای نقطه میانی بین دماهایی که انتقال شروع شده و پایان می‌یابد نیست. درواقع منحنی‌های ذوب در محور دما در محدوده T_m متقارن نیستند.

تا به حال انتقال مارپیچ- پیچه را به عنوان تبدیل حالت منظم به حالت نامنظم بررسی کردیم ولی می‌توانیم فرآیند معکوس یعنی انتقال پیچه- مارپیچ[۵۱] را هم مورد توجه قرار دهیم. در این نوع انتقال، پروتئینی را در نظر بگیرید که در آن اسیدهای آمینه بسیاری با هم جفت شده‌اند. توجه داشته باشید که حالات جفت شدن جایگزین[۵۲] مختلفی ممکن است وجود داشته باشند که درنتیجه ساختمان منتج از هر یک از این حالات جفت شدن کاملا هم پایدار باشد، اگر چه ممکن است فاقد فعالیت بیولوژیک باشد. یکی از این حالات (جفت شدن اسیدهای آمینه) از نظر ترمودینامیکی پایدارترین حالت است. اگر بپذیریم مولکولی که کانفیگوراسیون صحیح را دارد دارای میان کنش های قوی متعاون است و مولکول هایی که کانفیگوراسیون صحیح را ندارند دارای میان‌کنش های قوی متعاون نیز نمی باشند، نقش تعاونی در خلق کانفیگوراسیون صحیح روشن خواهد شد. انتقال یک پروتئین تازه سنتز شده (غیرمنظم) به کانفیگوراسیون صحیح خود را در نظر بگیرید. از آنجایی که میان کنش های زنجیرهای جانبی اسیدهای آمینه ضعیف است و به آسانی به وسیله ارتعاشات حرارتی گسسته می‌شوند، اولین جفت اسیدآمینه تشکیل شده پایداری کمی خواهد داشت و خود بخود شکسته خواهد شد. ممکن است جفت دیگری نیز در لحظه بعد تشکیل شود ولی این جفت نیز شکسته خواهد شد. اگر میان کنش هایی که موجب نگاهداری ساختمان صحیح پروتئین می شوند متعاون باشند و تشکیل و شکسته شدن جفت‌ها نیز روی دهد، تشکیل اولین جفت صحیح نتیجه متفاوتی خواهد داشت. این بدان علت است که وقتی اولین جفت صحیح تشکیل شد، احتمال تشکیل دومین جفت صحیح افزایش می‌یابد و از این گذشته، وقتی دومین جفت صحیح تشکیل شد، اولین جفت تشکیل شده پایدار می‌شود. بدین شکل احتمال تشکیل جفت های صحیح بعدی افزایش یافته و پایداری تمامی جفت های تشکیل شده بیشتر می شود. برای تشکیل مارپیچ مضاعف DNA نیز چنین استدلالی (رفتار متعاون) صحیح می باشد. مثال های بالا نشان دهنده دو دلیل مهم هستند که چرا ماکرومولکول های بیولوژیک با میان کنش های متعاون مسیر تکامل را طی کرده‌اند.

---

[۵۱] Coil-to-Helix Transition
[۵۲] Alternate Modes

اول، پایداری یک ساختمان منظم که در آن میان کنش های متعاون حضور دارند نسبت به گسسته شدن حرارتی بیشتر است. اگر پایداری بیشترین اهمیت را دارد، پس چرا مولکول ها در مسیر تکامل پیوندهای ضعیف را به جای پیوندهای قوی کووالان انتخاب کرده اند؟ پاسخ این سوال، دلیل دوم یعنی پدیده تعاونی است. برای انجام عمل بیولوژیک و تطبیق با شرایط متغیر طبیعت، ماکرومولکول های بیولوژیک میان‌کنش‌های متعاون را انتخاب کرده‌اند زیرا یک مولکول غالبا بایستی بتواند کانفیگوراسیون خود را تغییر دهد. اگر ماکرومولکول ها ساختمانشان به طور کلی به وسیله پیوندهای کوالان پایدار می‌شد، به راحتی قادر به تغییر کانفیگوراسیون خود نبودند و برای تغییر پذیری ساختمان، پیوندهای ضعیف مورد نیاز می‌باشند و به منظور مهیا کردن پایداری ناشی از این پیوندها نیز، تعداد زیادی از آنان مورد نیاز است.

دلیل اصلی مطالعات انتقال مارپیچ- پیچه آن است که این مطالعات، اطلاعات با ارزشی را در مورد ساختمان یک ماکرومولکول ویژه حاصل می‌دهند. قوانینی که در این مطالعات مورد استفاده قرار می‌گیرند به صورت زیر می‌باشند:

قانون اول: اگر یک عامل T_m را پایین بیاورد، این عامل باید برخی فاکتورهای پایدارکننده حالت طبیعی را کاهش داده و یا حذف کرده باشد. اگر T_m افزایش پیدا کند تاثیر این فاکتور باید افزایش پیدا کرده باشد.

قانون دوم: اگر تغییر در pH موجب یک انتقال مارپیچ- پیچه شود، pH ای که در آن انتقال به اندازه ۵۰٪ کامل شده است بایستی نزدیک به pK یک جزء در ساختمان ماکرومولکول باشد که جهت پایداری ساختمان طبیعی مورد نیاز است.

قانون سوم (الف): اگر با افزایش قدرت یونی T_m افزایش یابد، مولکول دارای گروه‌هایی با بار همنام است که یکدیگر را دفع می کنند و اگر T_m با افزایش قدرت یونی کاهش یابد، نشان دهنده وجود بارهای غیرهمنام در ساختمان مولکول است.

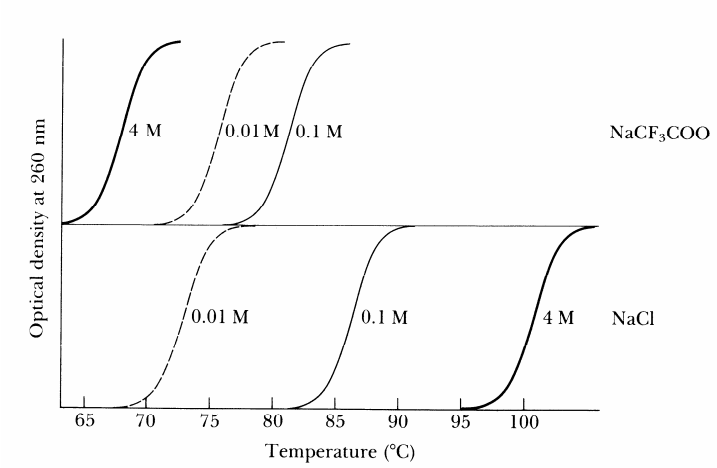
قانون سوم (ب): اگر با افزایش قدرت یونی T_m افزایش یابد و نشان داده شده باشد که گروه های باردار همنام در ساختمان وجود ندارند می توان نتیجه گرفت که نیروی عمده پایدارکننده موجود در ساختمان، میان کنش های آب گریز است. این بدان دلیل است که گروه های غیرقطبی تمایل کمتری به تماس با محلول نمکی نسبت به آب دارند. در نتیجه نمک باعث می‌شود که گروه‌های غیرقطبی به

یکدیگر فشرده‌تر شده و نیروهای آب گریز تقویت شوند و از اینرو حرارت بیشتری برای شکستن این ساختمان مورد نیاز خواهد بود.

قانون سوم (الف) توضیح معمول برای اثر نمک بر روی غیرطبیعی شدن DNA است در حالی که قانون سوم (ب) غالبا توصیف کننده غیرطبیعی شدن پروتئین هاست. موارد استفاده از این قوانین را در مثال‌های زیر خواهیم دید:

مثال: اثر سدیم تری‌فلوئورو استات[۵۳] و کلرید سدیم بر پایداری DNA:

شکل (۱-۱۴) نشان دهنده انتقال مارپیچ- پیچه برای DNA در غلظت های ۰/۰۱ M، ۰/۱ M و ۴ M از سدیم تری فلوئورو استات می‌باشد. مقادیر T_m به ترتیب ۷۵، ۸۲ و ۶۶ $^\circ C$ می باشد. در محلول های با غلظت ۰/۰۱ M، ۰/۱ M و ۴ M از NaCl مقادیر T_m به‌ترتیب ۷۲، ۸۵ و ۹۹ $^\circ C$ است.



شکل (۱-۱۴): منحنی های ذوب DNA در حضور غلظت های مختلف سدیم تری فلوئورو استات و کلرید سدیم. دمای ذوب DNA با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش می یابد در حالی که در غلظت های بالاتر از ۱/۵ M سدیم تری‌فلوئورو استات، T_m کاهش می‌یابد.

[۵۳] $NaCF_3COO$

برای هر دو نمک، T_m مربوط به غلظت ۰/۱ M بزرگتر ازغلظت ۰/۰۱ M است. این بدان علت است که در قدرت یونی پایین، گروه های فسفات منفی موجود بر روی دو رشته یکدیگر را دفع کرده و میان کنش بین دو رشته را تضعیف می‌کنند. این بارها به طور جزیی در محلول ۰/۱ M خنثی می شوند. در محلول حاوی NaCl ۴ M، T_m بزرگتر از محلول ۰/۱ M است زیرا نیروی دافعه الکترواستاتیک در محلول ۰/۱ M به طور ناقص حذف شده است ولی در محلول حاوی سدیم تری فلوئورو استات ۴ M، T_m شدیدا کاهش می‌یابد که نشان می‌دهد بین غلظت های ۰/۱ M و ۴ M یک نیروی پایدارکننده حذف شده است.

سدیم تری فلوئورو استات از جمله نمک‌هایی است که حلالیت مولکول های آلی با قطبیت کم را در آب بالا می برند و در نتیجه میان‌کنش‌های آب گریز را تضعیف می‌کنند. این نوع نمک‌ها را نمک‌های کائوتروپ[۵۴] می نامند. در حضور غلظت بالای این نمک کائوتروپ، تمایل بازها به انباشتگی کاهش یافته و پایداری حرارتی DNA نیز کاهش می‌یابد.

۱-۶-۱. انتقال پیچه- مارپیچ (دوباره طبیعی‌شدن):

یک نمونه حاوی مولکول های DNA حل شده در یک محلول با قدرت یونی پایین (مثلا در NaCl ۰/۰۱ M) را در نظر بگیرید. در این محلول، بیشتر گروه های فسفات رشته‌های داکسی ریبوز فسفات توسط یون های همراه[۵۵] Na^+ پوشش داده[۵۶] نشده‌اند و در نتیجه، بارهای منفی کامل برای میان کنش الکترو استاتیک حضور دارند. از اینرو گروه های فسفات یکدیگر را دفع می‌کنند و در نتیجه DNA در یک محلول NaCl ۰/۰۱ M ناپایدارتر از DNA در محلولی (مثلا NaCl ۰/۵ M) است که در آن تقریبا تمامی گروه‌های فسفات خنثی شده‌اند. بنابراین T_m DNA در محلول NaCl ۰/۰۱ M کمتر از T_m آن در محلول NaCl ۰/۵ M می باشد. اگر DNA در محلول NaCl ۰/۰۱ M تا دمایی که جدا شدن رشته‌ها روی می‌دهد حرارت داده شده و سپس به دمای اطاق بازگردانده شود، دافعه دو جانبه فسفات‌های باردار منفی دو رشته را از هم جدا نگاه می‌دارد. ولی برای DNA در محلول NaCl ۰/۵ M، وضعیت کاملا متفاوت خواهد بود. در این حالت به علت عدم وجود دافعه بین بارهای منفی فسفات ها، تشکیل پیوندهای هیدروژنی هم به صورت درون رشته‌ای (در یک رشته) و هم به صورت

---

[۵۴] Chaotropic Salts
[۵۵] Counter Ions
[۵۶] Shielded

بین رشته‌ای (بین دو رشته) روی خواهد داد. باید توجه داشت که در یک مولکول پیچیده بسیار طویل که حاوی دهها هزار جفت باز می‌باشد، تشکیل پیوندهای هیدروژنی که منجر به تشکیل دوباره مارپیچ اولیه شود غیرمحتمل است. این بدان دلیل است که توالی های کوتاه مکمل زیادی وجود دارند که می‌توانند با یکدیگر تشکیل جفت باز دهند در حالی که توالی‌های غیرمکمل آنها به صورت جفت نشده باقی می‌مانند. این پدیده را تشکیل پیوند هیدروژنی اتفاقی[۵۷] می گویند. نکته مهم در مورد این نواحی جفت شده این است که آنها کوتاهند و غالبا حاوی باز های جفت نشده در میان واقع شده[۵۸] می‌باشند. بنابراین، این تکه‌های کوتاه دو رشته‌ای خیلی پایدار نیستند و در دماهای پایین تر از T_m گسسته خواهند شد و نتایج زیر را به بار خواهند آورد:

اگر یک نمونه DNA که حاوی پیوندهای هیدروژنی اتفاقی درون و یا بین رشته‌ای است دوباره تا چند درجه زیر T_m گرم شود، تمامی این نواحی جفت شده ضعیف خواهند شکست و نمونه کاملا به صورت رشته‌های مجزا در خواهد آمد. با توجه به اینکه در دماهای زیر T_m، حالت دو رشته‌ای پایدارتر از رشته های منفرد است، بدون نیاز به انرژی فعال سازی، رشته های منفرد دوباره DNA دو رشته ای را تشکیل می دهند. تشکیل دو رشته بدین صورت است که دو رشته با یکدیگر برخورد کرده و جفت بازهای اتفاقی تشکیل می دهند ولی چون در دمای دوباره طبیعی شدن پایدار نیستند، این جفت بازها بی درنگ خواهند شکست ولی بعضی اوقات برخورد دو رشته منجر به تشکیل ساختار دو رشته‌ای صحیح می گردد.

در این مورد یک میان کنش متعاون روی داده و مولکول دو رشته‌ای دوباره تشکیل می شود. توجه داشته باشید که فرآیند دوباره طبیعی شدن در دمای اتاق روی نمی‌دهد زیرا این فرآیند، نیازمند تامین انرژی فعال سازی است که صرف شکستن پیوندهای هیدروژنی می‌شود که به صورت اتفاقی تشکیل شده‌اند. در چند درجه زیر T_m، هیچ جفت باز اتفاقی تشکیل نشده است و از اینرو نیازی به انرژی فعال‌سازی نیست و دوباره طبیعی شدن روی می‌دهد.

برای دو باره طبیعی‌شدن سه شرط لازم است:

۱- وجود رشته‌های منفرد مکمل در نمونه.

۲- قدرت یونی محلول حاوی DNA تک‌رشته‌ای باید بالا باشد ($I > ۰/۲$ M).

---

[۵۷] Random Hydrogen-Bond Formation

[۵۸] Interval

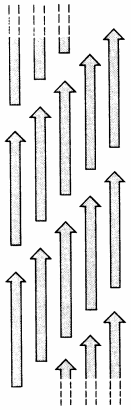
۳- غلظت DNA به حد کافی بالا باشد تا برخوردهای بین مولکولی با فرکانس قابل قبولی روی دهد.

۱-۷. ارتباط بین ساختمان و عملکرد[۵۹]:

اصلی‌ترین دلیل مطالعه ساختمان یک ماکرومولکول، درک عملکرد بیولوژیک آن است. مثال های بسیار زیادی وجود دارد که در آنها ارتباط بین ساختمان و عملکرد به وضوح آشکار است. کلاژن مثال بسیار خوبی در این مورد است. وظیفه کلاژن در تاندون مهیا کننده نیروی کشش در یک فیبر طویل است. با توجه به وظیـفه کلاژن، این پروتئین باید رشته‌ای باشد تا کروی. کلاژن حاوی تعداد زیادی اسید آمینه پرولین می باشد. پرولین در واقع یک ایمینو اسید است و قادر به تشکیل یک پیوند پپتیدی شاخص[۶۰] نیست. پیوند پپتیدی تشکیل شده توسط پرولین انعطاف پذیری بسیار کمی دارد و این انعطاف پذیری کم به پروتئین کمک می کند تا خود را در شکلی که خیلی گسترده تر از پیچه نامنظم می باشد، حفظ کند. رشته های منفرد گسترده کلاژن توسط پیوندهای هیدروژنی بین رشته ای کنار هم قرار گرفته و در نتیجه یک مارپیچ سه رشته‌ای به وجود می‌آید. نیروی اضافی به وسیله تجمع کنار به کنار مارپیچ های سه تایی بدست می آید. کلاژن قادر به تجمع کنار به کنار می باشد زیرا دارای تعداد زیادی اسیدهای آمینه با بار مثبت و منفی است که در امتداد زنجیرهای پلی پپتیدی‌اش آرایش یافته‌اند و توسط پیوندهای یونی با یکدیگر میان‌کنش می‌کنند. داشتن بارهای غیرهمنام بر روی یک زنجیر منفرد باید کلاژن را متمایل به تاخوردن به روی خودش کند زیرا این میان‌کنش‌های درون مولکولی سهل‌تر از میان کنش های بین مولکولی است ولی چنین میان کنشی (درون مولکولی) روی نمی دهد که علت آن این است که مولکول به صورت مارپیچ سه تایی است و چنان صلب است که قادر به خم شدن نمی باشد. به منظور تشکیل یک فیبر طویل (همانگونه که در تاندون مورد نیازاست)، تجمع های کنار به کنار همچنین باید قادر به اتصال طولی باشند. این اتصالات طولی به وسیله میان‌کنش‌های ته به ته انجام نمی‌شود بلکه نپوشیده بودن مارپیچ های سه تایی به وسیله یک چهارم طول مولکول تامین می‌شود. یک مدل نمایش کلاژن با مارپیچ‌های سه‌تایی در آرایش نپوشیده در شکل (۱-۱۵) نشان داده شده است:

---

[۵۹] Structure-Function Relationship
[۶۰] Typical



شکل (۱-۱۵): مدلی از پروتئین کلاژن که در آن مارپیچ های سه تایی در یک آرایش نپوشیده در کنار هم قرار گرفته‌اند.

آخرین عامل تقویت کننده فیبرها به وسیله تغییر شیمیایی[۶۱] باقی مانده های پرولین و لایزین به ۴-هیدروکسی پرولین و ۵–هیدروکسی لایزین ایجاد می‌شود. این اسیدهای آمینه هیدروکسیله می‌توانند باعث اتصال عرضی زنجیرها شوند. بنابراین، اشکال مختلف ساختمانی مولکول با هم ترکیب شده و آرایش ماکرومولکولی پیچیده‌ای را تشکیل می‌دهند که دارای ساختار نیروی کششی است.

همچنین شکل های معینی از ساختمان آنزیم ها در مطابقت با نقش کاتالیتیک آنان است. به عنوان مثال، ویژگی اتصالی یک مولکول سوبسترا به آنزیم مستلزم آن است که جایگاه اتصال آن شکل ثابت و معینی داشته باشد. به عبارت دیگر، جایگاه اتصال آنزیم بایستی تقریبا مشخص باشد. از طرف دیگر، تنظیم فعالیت یک آنزیم معمولا همراه با تغییر شکل جایگاه اتصال آن است. از اینرو، ساختمان آنزیم نبایستی کاملا هم صلب باشد. در واقع، در مطابقت با این نیازهاست که یک مولکول آنزیم کروی و فشرده که حاوی تعداد زیادی اسیدهای آمینه میان‌کنش‌کننده می باشد، ایجاد ساختمانی فشرده و تا حدی صلب را می‌نماید. برخی از میان‌کنش‌های اسیدهای آمینه در درون یک پروتئین وابسته به یکدیگرند به طوری که وقتی یک مولکول تنظیم کننده به جایگاه اتصال در ساختمان آنزیم متصل

[۶۱] Chemical Modification

می شود، این اتصال می‌تواند موجب تغییرشکل جایگاه اتصال سوبسترا گردد. بایستی خاطر نشان کرد که فعالیت تمام آنزیم‌ها بدین شکل تنظیم نمی‌شود. بسیاری از آنزیم‌های تنظیمی از حداقل دو نوع زنجیر پلی‌پپتیدی تشکیل شده‌اند که یکی حاوی جایگاه کاتالتیک و دیگری حاوی جایگاه تنظیمی است.

۱-۷-۱. تعیین وزن مولکولی ماکرومولکول‌ها:

اندازه‌گیری وزن مولکولی (M) اهمیت زیادی در علوم زیستی دارد. مثلا برای مطالعه بر روی یک ماکرومولکول ابتدایی ترین اطلاعات مورد نیاز، وزن مولکولی آن است. همچنین وزن مولکولی غالبا پارامتر مفیدی در بسیاری از مطالعات بیوشیمیایی و بیوفیزیکی است زیرا اغلب می‌توان با استفاده از وزن مولکولی یک ماکرومولکول آن را در یک مخلوط شناسایی نمود. دو دسته روش عمده برای اندازه‌گیری وزن مولکولی وجود دارد:

۱- روش‌های مطلق و ۲- روش‌های نسبی.

در روش‌های مطلق می‌توان با اندازه‌گیری پارامتر های شناخته شده‌ای از قبیل غلظت یا توزیع غلظت، وابستگی زاویه ای شدت نور متفرق شده، فشار اسمزی و غیره، وزن مولکولی را بدون هیچ فرضی در مورد ساختمان مولکولی یا خواص ویژه مولکول، محاسبه کرد. در مقابل، در روش‌های نسبی می‌توان وزن مولکولی را از نسبت اندازه‌گیری شده وزن مولکولی مولکول مورد نظر به وزن مولکولی مولکولی که وزن مولکولی‌اش معلوم است، محاسبه نمود. وزن مولکولی تعیین شده به این طریق را با علامت M_r نشان می دهند که r اشاره به نسبی بودن آن دارد. وزن های مولکولی اندازه گیـری شده توسط خواص کولیـگاتیو، ته نشین سازی تعادلی، تفرق نور و نشان دارکردن گروه انتهایی، وزن مولکولی مطلق محسوب می شوند در حالی که وزن های مولکولی تعیین شده توسط ته نشین سازی سرعتی، ویسکوزیته، میکروسکوپ الکترونی، ژل الکتروفورز و کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون، وزن های مولکولی نسبی به شمار می‌آیند.

۱-۷-۲. تعیین ساختمان ماکرومولکول‌ها:

تکنیک های فیزیکی متنوعی برای تعیین ساختمان یک ماکرومولکول مورد نیاز می‌باشد. پیش از آغاز مطالعه بر روی ماکرومولکول ها به منظور تعیین ساختمان آنان بایستی ماکرومولکول ها را ایزوله و خالص کرد. تکنیک‌های اصلی برای این هدف عبارتند از: کروماتوگرافی، ته‌نشین سازی و الکتروفورز.

همچنین برخی اطلاعات را می توان از نمونه های ناخالص بدست آورد ولی در نهایت این نمونه ها را نیز باید خالص کرد. تعیین ساختمان شیمیایی ماکرومولکول ها نیازمند به کارگرفتن تکنیک های شیمیایی است ولی غالبا آنالیزهای کروماتوگرافی و الکتروفورز نیز نقش بسیار عمده ای در این میان ایفاء می کنند. به عنوان مثال، تعیین ترکیب اسیدهای آمینه یک پروتئین توسط هیدرولیز اسیدی و سپس جداسازی اسیدهای آمینه آزاد شده توسط تکنیک‌های کروماتوگرافی انجام می‌شود.

بسیاری از خواص فیزیکی ماکرومولکول ها از قبیل ابعاد مولکول، وزن مولکولی، موقعیت مونومرهای منفرد و کانفیگوراسیون سه بعدی به وسیله تنوعی از اندازه گیری های نوری و هیدرودینامیکی تعیین می شود. همچنین ممکن است بتوان برخی اطلاعات شیمیایی از قبیل اینکه آیا یک اسید آمینه ویژه بر روی سطح یک پروتئین تاخورده واقع شده و یا در عمق ساختمان سه بعدی آن قرار گرفته است را بدست آورد. چنین اطلاعاتی را می توان با استفاده از نشان دارکردن رادیواکتیو، اسپکتروسکوپی فلوئورسانس، رزونانس مغناطیسی هسته و غیره بدست آورد. به عنوان مثال، شناسایی اسیدهای آمینه موجود در جایگاه اتصال یک آنزیم هدف اصلی چنین مطالعاتی است.

برای تعیین ساختمان سه بعدی کامل یک ماکرومولکول، اطلاعات حاصل از تکنیک پراش اشعه ایکس مورد نیاز می‌باشد. پراش اشعه ایکس، ترجیح داده شده‌ترین تکنیک مورد استفاده جهت تعیین ساختمان ماکرومولکول ها محسوب نمی شود زیرا با وجود قوی بودن این تکنیک، انجام آن بسیار طاقت فرسا، پرهزینه و بسیار زمان‌بر است. اما با این وجود، اطلاعات بدست آمده از آنالیز پراش اشعه ایکس به همراه اطلاعات بدست آمده ازدیگر تکنیک های متنوع اسپکتروسکوپی و نیز هیدرودینامیکی می‌تواند مهیاکننده اطلاعات مفصل ساختمانی در مورد ماکرومولکول مورد مطالعه باشد.