بیوشیمی درآمدی کوتاه

مارک لورچ

مترجمان:
آذرمیدخت شینی
عضو هیئت علمی دانشگاه ملی مهارت
آسیه سادات موسویان
عضو هیئت علمی گروه دروس عمومی
دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان
بیتا پژواک

ویراستار علمی:
حسن درواخ
استادیار، گروه مهندسی مکانیک ، دانشگاه شهید چمران اهواز
پردیس صنعتی شهدای هویزه، دشت آزادگان، ایران

ناشر نمونه کشور در سال ۹۳

فهرست

فصل ۱

خاستگاه‌های بیوشیمی ۷

فصل ۲

آب، لیپیدها و کربوهیدرات‌ها ۴۱

فصل ۳

پروتئین‌ها: نانوموتورهای طبیعی ۵۹

فصل ۴

اسیدهای نوکلئیک: نقشه‌های زیستی حیات ۸۶

فصل ۵

تأمین انرژی سلول: زیست‌انرژی‌شناسی (بیوانرژتیک) ۱۰۵

فصل ۶

ساخت و نگهداری DNA ۱۲۳

فصل ۷

ردیابی بیوشیمی درون سلولی ۱۵۰

فصل ۸

زیست‌فناوری و زیست‌شناسی سنتزی (سنتتیک) ۱۷۲

پیش‌گفتار

از ساده‌ترین باکتری‌ها تا انسان‌ها، تمامی موجودات زنده از سلول‌هایی با انواع مختلف تشکیل شده‌اند. شگفت‌آور است که فارغ از جایگاه این موجودات در درخت تکامل، اساساً همه آن‌ها از یک شیمی زیستی بنیادی مشابه بهره‌مندند. این شیمی باید مکانیزم‌هایی فراهم آورد تا سلول‌ها بتوانند با محیط بیرونی تعامل داشته باشند، انرژی مورد نیاز خود را تأمین کنند، دستگاه‌هایی برای انجام فرآیندهای متنوع در اختیار داشته باشند، ساختاری منسجم داشته باشند که همه فعالیت‌ها در آن جریان یابد و همچنین نوعی نظام مدیریتی و کنترلی را برقرار سازند. در بسیاری از جهات، سلول‌ها شبیه اجتماعاتی هستند که تحت کنترل و نظارت شبکه‌ای از واکنش‌های شیمیایی متقابل قرار دارند. بیوشیمی، دانش مطالعه این واکنش‌ها، مولکول‌هایی است که در نتیجه آن‌ها ساخته، دست‌کاری و یا تخریب می‌شوند. همچنین ماکرومولکول‌های عظیمی مانند DNA، اسکلت سلولی، پروتئین‌ها و کربوهیدرات‌ها است که ماشین‌آلات و ساختارهای شیمیایی این واکنش‌ها را فراهم می‌آورند.

اروین شرودینگر، فیزیکدان برجسته، این موضوع را به‌طور موجز و درخشان چنین بیان کرده است: «در زیست‌شناسی... یک گروه منفرد از اتم‌ها، رویدادهای منظم و شگفت‌آوری را پدید می‌آورد که به دقت با یکدیگر و محیط پیرامون، بر اساس ظریف‌ترین قوانین هماهنگ شده‌اند.»

بیوشیمی، تلاشی است برای فهم این قوانین دقیق که بر این رویدادهای هماهنگ و منظم حاکمند؛ مطالعه مولکول‌های زیستی و تعاملات آن‌هاست و هدف آن، آشکار ساختن پایه‌های مولکولی حیات است.

زندگی در تمام عظمت خود فراتر از سلول‌های منفرد است. سلول‌ها گرد هم می‌آیند تا موجودات «چندسلولی» را بسازند که نیازمند راه‌هایی برای ارتباط و «مبادله» میان سلول‌های فردی هستند. این موجودات نیز به نوبه خود با یکدیگر تعامل دارند و شبکه‌های پیچیده‌ای را شکل می‌دهند که ما آن‌ها را به عنوان اکوسیستم‌ها می‌شناسیم. همه این تعاملات از طریق سازوکارهای بیوشیمیایی تنظیم و تسهیل می‌شوند. به عنوان نمونه، مولکول‌های رودوپسین در سلول‌های گیرنده نور، فوتون‌ها را شناسایی می‌کنند و اولین سیگنال‌های عصبی پردازش بصری را ایجاد می‌کنند. یا پروتئین‌های بویایی که با چند مولکول بسیار کوچک (آدلت‌ها) پیوند می‌خورند و به دنبال آن زنجیره‌ای از واکنش‌های بیوشیمیایی به راه می‌افتد که منجر به پردازش پویایی می‌شود. همچنین آنتی‌بادی‌ها که به عنوان نخستین مدافعان عمل کرده، مولکول‌های بیگانه یک انگل مهاجم را شناسایی کرده و پاسخ ایمنی را فعال می‌سازند. تمامی این فرآیندها در حوزه بیوشیمی جای می‌گیرند.

درک شیمی حیات به سرعت به تمایل برای دستکاری آن تبدیل شد. داروها و درمان‌ها همگی با هدف تغییر فرآیندهای بیوشیمیایی، چه در جهت بهبود و چه آسیب، طراحی شده‌اند؛ برای مثال، پنی‌سیلین که از یک نوع کپک خاص استخراج شده، مانع ساخت دیواره سلولی باکتری‌ها می‌شود؛ آسپیرین که منشاء آن پوست درخت بید است، آنزیم‌های درگیر در واکنش‌های التهابی را مهار می‌کند؛ و سم بوتولینوم (بوتاکس) در دوزهای بسیار زیاد می‌تواند با جلوگیری از ترشح نوروترنسمیترها از انتهای رشته‌های عصبی، باعث فلج و مرگ شود یا به طور متقابل، همان سم بوتولینوم در مقادیر بسیار کم، منجر به صاف شدن پیشانی و رفع چین و چروک می‌گردد. تمام این‌ها بخشی از بیوشیمی است.

توصیف دقیق این موضوعات می‌توانست به سادگی در این کتاب جای گیرد و برخی خوانندگان ممکن است احساس کنند که من در کنار دیگر موضوعات اساسی همچون ویتامین‌ها، هورمون‌ها، کروموزوم‌ها و تکنیک‌های متنوع بیوشیمی، از پرداختن به این مباحث کوتاهی کرده‌ام. اما این کتاب در نهایت یک معرفی بسیار مختصر است و ناچار بودم حد و مرزی برای مطالب تعیین کنم. به همین دلیل، بخش عمده‌ای از کتاب بر برخی از واکنش‌های شیمیایی درون سلول‌ها متمرکز شده است؛ چرا که در آن‌ها فرآیندهای شیمیایی بنیادین وجود دارند که همه حیات به آنها وابسته است.

در نهایت، مرزهای بیوشیمی به‌خوبی تعریف نشده‌اند و با رشته‌هایی چون ژنتیک، زیست‌شناسی مولکولی، زیست‌شناسی سلولی، بیوفیزیک و فناوری زیستی همپوشانی دارند. با توجه به این موضوع، من این جلد را با دو فصل پایانی به پایان می‌رسانم که به بررسی برخی از کشفیات بنیادی در بیوشیمی می‌پردازند که بر این رشته‌ها و جامعه به طور کلی تأثیرگذار بوده‌اند.

فصـــــل ۱

خاستگاه‌های بیوشیمی

در بسیاری از جهات، تاریخ بیوشیمی با درک اولیه‌ی بشر از شاید کهن‌ترین کاربردهای زیست‌فناوری، یعنی تخمیر و تولید نوشیدنی‌های الکلی و پنیر، گره خورده است. فرآیند ساخت پنیر احتمالاً هم‌زمان با توسعه‌ی کشاورزی و اهلی‌سازی بز و گوسفند، حدود ۱۰ هزار سال پیش آغاز شده است. شیر تازه‌ای که در شرایط گرم رها می‌شد، محیط مناسبی برای رشد میکروارگانیسم‌هایی مانند لاکتوکوکوس لاکتیس فراهم می‌کرد. این باکتری‌ها لاکتوز موجود در شیر را به اسید لاکتیک تبدیل می‌کردند؛ ماده‌ای که باعث انعقاد پروتئین‌های شیر و شکل‌گیری لخته‌ها (کازئین) می‌شد. در نتیجه، محتوای لاکتوز در لخته‌ها (و آب‌پنیر باقی‌مانده) کاهش می‌یافت؛ موضوعی که برای انسان‌های بالغ در دوران نوسنگی بسیار مفید بود، چرا که به‌طور طبیعی قادر به هضم لاکتوز نبودند (زیرا هنوز آنزیم تجزیه‌کننده‌ی این قند در بدن آن‌ها تکامل نیافته بود). به‌علاوه، این لخته‌ها را می‌توان فشرده و خشک کرد تا به‌صورت پنیر قابل نگهداری درآیند.

تقریباً در همان دوران، جوامع دیگر نیز از توانایی مخمر در تخمیر گلوکز و تبدیل آن به اتانول بهره می‌بردند. در طی این فرایند، مخمرها باکتری‌های مضر را از میدان به در می‌کردند و در نتیجه، نوشیدنی حاصل، از آب تصفیه‌نشده ایمن‌تر و سالم‌تر بود. و این‌گونه بود که آبجو متولد شد.

تخمیر و آنزیم‌ها

چند هزار سال به جلو می‌رویم؛ در قرن نوزدهم، مناقشه‌ای علمی بین دو چهره برجسته‌ی جهان علم بر سر فرایندهای شیمیایی درون‌زای تخمیر در جریان بود. لویی پاستور، میکروبیولوژیست و شیمی‌دانی که بیش از هر چیز به‌خاطر کشف واکسن‌ها و فرایند پاستوریزاسیون مشهور است، با یوستوس فون لیبیگ، که بیشتر به‌خاطر ابداع «کندانسور لیبیگ» و همچنین

بنیان‌گذاری صنعت کودهای شیمیایی و پدر شیمی آلی شناخته می‌شود، اختلاف‌نظر داشت.

لیبیگ از نظریه‌ی شیمیایی تخمیر حمایت می‌کرد. او بر اساس دیدگاه‌هایی که نخستین‌بار توسط آنتوان لاووازیه مطرح شده بود، معتقد بود مخمر در آغاز تخمیر حضور دارد و ممکن است آن را آغاز کند، اما پس از شروع واکنش‌ها، موجودات زنده دیگر نقشی ایفا نمی‌کنند. لیبیگ معتقد بود تخمیر، نتیجه‌ی انتقال بی‌ثباتی‌های مولکولی بین اجزای ماده‌ی در حال تخمیر است؛ فرایندی که آن را با تجزیه‌ی مواد آلی حیوانی و گیاهی (گندیدگی) مقایسه می‌کرد. از نگاه او، تخمیر کاملاً شیمیایی بود و نیازی به مداخله‌ی موجودات زنده نداشت.

در مقابل، پاستور رویکردی آزمایش‌محور در پیش گرفت. او نشان داد که در محلولی که میکروارگانیسم‌های آن از طریق جوشاندن از بین رفته‌اند، تخمیر رخ نمی‌دهد. به همین دلیل، نتیجه گرفت که تخمیر وابسته به فعالیت میکروارگانیسم‌های زنده است. او اظهار داشت:

«تخمیر الکلی، عملی مرتبط با حیات و سازمان سلول‌های مخمر است، نه با مرگ یا فساد آن‌ها.»

این جمله، آشکارا نقدی تند به نظریات لیبیگ بود و جرقه‌ای شد برای ادامه‌ی جدل میان این دو دانشمند که از اواخر دهه‌ی ۱۸۵۰ تا میانه‌ی دهه‌ی ۱۸۶۰، از طریق مقاله‌ها و نامه‌نگاری‌هایشان ادامه یافت. در برخی موارد، لحن نامه‌ها تلخ بود؛ مثلاً لیبیگ ادعا می‌کرد آزمایش‌های پاستور قابل تکرار نیست. البته واقعیت این است که هیچ‌کدام از دو نظریه، به‌طور کامل صحیح نبودند. در نهایت، این موضوع حدود سی سال بعد، توسط دو برادر آلمانی، هانس بوشنر (باکتری‌شناس) و ادوارد بوشنر (شیمیدان) روشن شد.

در همان زمانی که جدل تخمیر در جریان بود، حوزه‌ی آنزیم‌شناسی

(آنزیمولوژی) شکوفا شد. مدتی بود که مشخص شده بود موجودات زنده، مولکول‌هایی ترشح می‌کنند که موجب تسریع واکنش‌های شیمیایی در شرایط ملایم‌تری نسبت به شرایط غیرزیستی می‌شوند. این موضوع نخستین‌بار در سال ۱۸۳۳ توسط آنسم پین اثبات شد؛ او ترکیبی را از عصاره‌ی مالت استخراج کرد که می‌توانست نشاسته را به قند تبدیل کند. وی آن را «دی‌آستاز» نامید (امروزه به آن آمیلاز می‌گوییم).

مدتی بعد، در سال ۱۸۳۴، تئودور شوان آنزیم پپسین را از شیره‌ی معده استخراج کرد (واژه‌ای برگرفته از واژه‌ی یونانی πέψις به معنی «هضم»). پپسین قادر بود پروتئین‌های تخم‌مرغ را بسیار سریع‌تر از اسید معده تجزیه کند. دانشمندان دیگر نیز نمونه‌هایی مشابه یافتند: استخراجاتی که قادر به تجزیه‌ی ترکیبات مختلف زیستی بودند.

این ترکیبات بی‌شک نیاز به نامی داشتند. در نهایت، در سال ۱۸۷۶، ویلهلم کونِه[1] واژه‌ی آنزیم[2] را ابداع کرد؛ برگرفته از واژه‌ی یونانی ἔνζυμον به معنی «درون خمیر/مخمر». قابل توجه است که کونِه در همان زمان تأکید کرد که تعریف او از آنزیم، تنها مواد یافت‌شده در بیرون از سلول‌ها را شامل می‌شود.

کشف انقلابی خانواده بوشنر و آغاز بیوشیمی مدرن

در سال ۱۸۹۳، هانس بوشنر به‌طور جدی مشغول کار بر روی روشی برای استخراج مواد از باکتری‌ها به منظور ایمن‌سازی بود. از آنجا که پرورش باکتری‌ها در مقیاس زیاد دشوار بود، او تصمیم گرفت روش‌هایش را بر روی مخمر آزمایش کند (زیرا در مونیخ، که پر از کارخانه‌های آبجوسازی بود، مقدار زیادی مخمر به‌راحتی در دسترس بود).

1. Wilhelm Kühne
2. enzyme

هانس موفق شد با استفاده از پرس هیدرولیکی، سلول‌های مخمر را خرد کرده و محتویات درون آن‌ها یعنی سیتوپلاسم را استخراج کند. پس از این فرآیند، مخمرها به‌طور کامل از بین رفته بودند و بنابراین، بر اساس نظریه‌ی پاستور، عصاره‌ی به‌دست‌آمده نباید قادر به انجام تخمیر باشد.

با این حال، هنگامی که مخلوطی از سیتوپلاسم مخمر و گلوکز تهیه شد، گاز کربن‌دی‌اکسید (CO_2) به‌صورت حباب‌هایی که به‌تدریج به سطح ظرف واکنش می‌آمدند، مشاهده شد. این نشانه‌ی آشکار و غیرقابل‌انکار، اثبات می‌کرد که تخمیر می‌تواند بدون حضور عامل زنده‌ی فعال نیز رخ دهد.

رمز موفقیت کشف اتفاقی (سرندپیتی‌وار) خانواده‌ی بوشنر در نحوه‌ی استخراج محتویات سلولی نهفته بود. بسیاری از پژوهشگران پیش از آن تلاش کرده بودند تا سیتوپلاسم فعال را استخراج کنند، اما روش آن‌ها شامل استفاده از حرارت یا حلال‌های شیمیایی بود؛ روش‌هایی که علاوه بر از بین بردن سلول، باعث تخریب پروتئین‌های حساس درون آن نیز می‌شدند. و دقیقاً همین پروتئین‌ها به‌ویژه آنزیم‌های داخل سلول مسئول فرایند تخمیر بودند.

برای نخستین‌بار، خانواده‌ی بوشنر نشان دادند که مواد شیمیایی استخراج‌شده از سلول‌های زیستی می‌توانند همان واکنش‌های بیوشیمی را در خارج از سلول نیز انجام دهند. با استخراج آنزیمی که ادوارد بوشنر آن را زایماز[1] نامید، آن‌ها اثبات کردند که تخمیر می‌تواند بدون حضور موجود زنده رخ دهد، مشروط بر آن‌که ماده‌ی مورد نظر از یک سلول زنده مشتق شده باشد.

در واقع، آن‌ها موفق شدند موضع میانی بین دیدگاه‌های لیبیگ و پاستور را تثبیت کنند. افزون بر این، آن‌ها تعریف محدود ویلهلم کونه از آنزیم را نیز گسترش دادند و شامل آنزیم‌های درون سیتوپلاسم سلول‌ها کردند. این کشف، واقعاً یک انقلاب علمی به‌شمار می‌رفت و به‌نوعی میخ نهایی بر تابوت مکتب «نیروی حیاتی‌گرایی»[2] بود؛ دیدگاهی که تا آن زمان باور

1. zymase
2. vitalism

داشت موجودات زنده به‌سبب دارا بودن نوعی عامل غیرمادی، ذاتاً با مواد غیرزنده متفاوت‌اند.

پروتئین‌ها

با آزادسازی علم بیوشیمی (واژه‌ای که نخستین‌بار در معنای امروزی آن توسط فلیکس هوپه-زایلر در سال ۱۸۷۷ استفاده شد) از قید و بند حیاتی‌گرایی، خانواده‌ی بوشنر نشان دادند که عملکردهای درونی سلول‌ها نیز می‌توانند با همان روش‌هایی که در سایر شاخه‌های شیمی به‌کار می‌روند، مطالعه شوند. این گشایش، راه را برای شکل‌گیری بیوشیمی مدرن هموار ساخت و مسیر درک ماهیت آنزیم‌ها را آغاز کرد زیرا در آن زمان، هنوز مشخص نبود که آنزیم‌ها در واقع از جنس پروتئین هستند.

بررسی ماهیت پروتئین‌ها

درست هم‌زمان با گسترش مباحث مربوط به تخمیر و آنزیم‌شناسی، ماهیت پروتئین‌ها نیز در کانون توجه پژوهشگران قرار داشت. در دهه‌ی ۱۸۳۰، شیمیدانان با بهره‌گیری از یکی از معدود روش‌های تحلیلی موجود در آن دوران، یعنی آنالیز عنصری[1]، به بررسی مواد زیستی پرداختند.

این روش، اطلاعاتی درباره‌ی میزان نسبی عناصر تشکیل‌دهنده یک نمونه مانند کربن، نیتروژن، اکسیژن، هیدروژن، فسفر، گوگرد و... در اختیار پژوهشگران قرار می‌داد. از آنجا که ابزارهای تحلیلی دیگری در دسترس نبود، دانشمندان این روش را تقریباً برای همه‌ی انواع مواد طبیعی که در اختیار داشتند، به‌کار گرفتند.

نتیجه‌ی این تلاش‌ها، تولید جدول‌های حجیمی بود که ترکیب عنصری

1. Elemental Analysis

مواد گیاهی مختلف مانند چای سبز، قهوه، چای سیاه، شکر (به‌نظر می‌رسد که آن‌ها علاقه‌ی زیادی به نوشیدنی‌ها داشتند!)، پوست درخت، روغن و... را به‌دقت نشان می‌داد.

با این روش، پژوهشگران می‌توانستند درصد عناصر مختلف در نمونه را محاسبه کنند. برای نمونه، شکر معمولی (ساکارز) دارای حدود ۲۷٪ کربن، ۴۹٪ هیدروژن و ۲۴٪ اکسیژن بود. امروزه این ترکیب را به‌صورت فرمول تجربی $C_{12}H_{22}O_{11}$[1] نمایش می‌دهیم، که نشان‌دهنده‌ی نسبت اتم‌های کربن، هیدروژن و اکسیژن به‌ترتیب ۱۲:۲۲:۱۱ است.

تقریباً تمام موادی که این بیوشیمیدانان اولیه آزمایش کردند، نسبت‌های عنصری‌ای با مقادیر تک‌رقمی یا دورقمی (واحدها، دهگان یا بیستگان) نشان می‌دادند.

کشف غیرمنتظره‌ی مولدر

در سال ۱۸۳۸، پزشکی جوان که به‌تازگی به‌عنوان مدرس دانشگاه مشغول به کار شده بود، به‌نام گرت مولدر[2]، توجه خود را از نمونه‌های گیاهی به مواد حیوانی معطوف کرد. در آزمایشگاه خود در شهر روتردام، او از گروهی از دانشجویان خواست تا به بررسی سفیده‌ی تخم‌مرغ و بافت عضلانی بپردازند.

نتایج این بررسی‌ها، کاملاً غیرمنتظره بود: نسبت‌های کربن، هیدروژن، نیتروژن و اکسیژن در هر دو نمونه کاملاً یکسان بودند. افزون بر این، هر دو ترکیب دارای مقادیر اندکی از فسفر و گوگرد بودند و آن‌هم در نسبت‌های یکسان. این یافته بسیار شگفت‌انگیز بود، چرا که نشان می‌داد ترکیباتی با منشأ کاملاً متفاوت (یعنی بافت عضلانی و سفیده‌ی تخم‌مرغ) ممکن است

1. Empirical Formula
2. Gerrit Mulder

ترکیب عنصری یکسانی داشته باشند.

از همه عجیب‌تر، فرمول تجربی این ترکیبات چیزی شبیه به $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}S$ به‌دست آمد. تا آن زمان، تمام فرمول‌های تجربی به‌دست‌آمده از مواد دیگر، نظیر شکر ($C_{12}H_{22}O_{11}$) یا الکل (C_2H_6O)، دارای مقادیر کوچک‌تری برای هر عنصر بودند.

اما این ترکیب جدید، نشان‌دهنده‌ی ماده‌ای بود با ساختاری بسیار بزرگ‌تر و پیچیده‌تر، که راه را برای درک این موضوع هموار کرد که پروتئین‌ها ماکرومولکولهایی با ویژگی‌های منحصربه‌فرد هستند.

کشف واژه "پروتئین" و بحران اعتبار مولدر

فرمول جدیدی که مولدر ارائه داد، به‌روشنی نشان می‌داد مولکول‌هایی که او در الیاف عضله و سفیده‌ی تخم‌مرغ آزمایش می‌کرد، بسیار بزرگ‌تر از هر مولکولی بودند که تاکنون شناسایی شده بود. افزون بر آن، هنگامی‌که مولدر سایر مواد گیاهی و حیوانی مانند سرم خون (خون بدون سلول‌ها و پلاکت‌ها) یا آلبومین گندم (بخش محلول در آب دانه‌های گندم) را نیز بررسی کرد، آن‌ها نیز تقریباً همان فرمول تجربی را نشان دادند، به‌جز تفاوت‌های جزئی در مقادیر گوگرد و فسفر.

مولدر، که بسیار هیجان‌زده شده بود، یافته‌هایش را به استادش، یونس یاکوب برزلیوس شیمی‌دان کهنه‌کار سوئدی که سیستم نمادگذاری شیمیایی امروزی را پایه‌گذاری کرد ارسال کرد. آن دو با هم به این نتیجه رسیدند که بیشتر مواد حیوانی، منشأ گیاهی دارند؛ یعنی حیوانات، گیاهان را مصرف می‌کنند و سپس آن‌ها را به‌صورت یک ماده‌ی بنیادی (که در آلمانی به آن Grundstoff می‌گفتند، به‌معنای «پیش‌ساز شیمیایی» یا «ساختار اولیه») بازسازی می‌کنند.

برزلیوس اعتقاد داشت که این ماده‌ی جدید باید نام مناسبی داشته باشد. بنابراین، در سال ۱۸۳۸ واژه‌ی یونانی "پروتیوس"[1] به‌معنای "اولیه" یا "اساسی" را پیشنهاد داد که بعدها به پروتئین[2] تبدیل شد.

نتایج مولدر، بازتاب گسترده‌ای در جامعه‌ی علمی و به‌ویژه در رشته‌ی نوپای بیوشیمی داشت. برخی از نام‌های بزرگ، از جمله لیبیگ، به‌سرعت به این حوزه روی آوردند و لیبیگ نیز تصمیم گرفت کتابی در این زمینه تألیف کند. در همین حال، دیگر پژوهشگران تلاش کردند تا آزمایش‌های مولدر را بازتولید کنند. خیلی زود مشخص شد که تحلیل‌های مولدر درباره‌ی ترکیب پروتئین‌ها چندان دقیق نبوده است؛ هرچند این مولکول‌ها واقعاً بزرگ بودند، اما تفاوت‌های ساختاری قابل‌توجهی میان آن‌ها وجود داشت که در یافته‌های او نادیده گرفته شده بود.

در این زمان، کتاب لیبیگ که بر پایه‌ی نتایج مولدر نوشته شده بود، منتشر شد؛ اما با آشکار شدن نادرستی فرضیه‌ی اصلی کتاب یعنی اینکه پروتئین‌ها «عامل اصلی تغذیه‌ی حیوانات» هستند لیبیگ بسیار خشمگین شد. با این‌حال، ورود او به این بحث و کشمکش‌هایش با مولدر، توجه بسیاری از دانشمندان را به ماهیت این مولکول‌های جدید و عظیم‌الجثه، یعنی پروتئین‌ها، جلب کرد.

آیا آنزیم‌ها پروتئین هستند؟

تا قرن نوزدهم، بیوشیمیدانان (که آن زمان به آن‌ها «شیمی‌دانان فیزیولوژیک» گفته می‌شد) با دو مفهوم کلیدی پروتئین‌ها و آنزیم‌ها آشنا شده بودند. اما هنوز پاسخ روشنی به این پرسش وجود نداشت که:

آیا آنزیم‌ها خود پروتئین هستند؟

---

1. proteios
2. protein

در این باره، دو دیدگاه رقیب شکل گرفت:

۱. گروهی معتقد بودند که چون فعالیت آنزیمی همیشه همراه با حضور پروتئین‌ها است، بنابراین آنزیم‌ها باید خود پروتئین باشند.

۲. گروه دیگر ادعا می‌کردند که پروتئین‌ها فقط حامل آنزیم‌ها هستند و به نمونه‌هایی از مواد غیرپروتئینی اشاره می‌کردندکه قادر به کاتالیز واکنش‌ها بودند، درست همانند آنزیم‌ها.

هسته‌ی اصلی استدلال دوم بر این واقعیت استوار بود که در برخی آزمایش‌ها، فعالیت آنزیمی حتی در غیاب ظاهری پروتئین‌ها مشاهده شده بود. البته این مسأله بعدها با دقت توضیح داده شد: فناوری‌های تحلیلی آن زمان آن‌قدر دقیق نبودند که بتوانند مقادیر بسیار اندک پروتئین را تشخیص دهند. اما از آن‌جا که آنزیم‌ها کاتالیزگرهایی بسیار مؤثر هستند، فعالیت آن‌ها حتی در دوزهای بسیار پایین نیز قابل آشکارسازی بود.

اثبات قطعی سامنر: آنزیم‌ها پروتئین‌اند

در نهایت، این معما توسط روشی معکوس حل شد. در دهه‌ی ۱۹۲۰، جیمز سامنر تصمیم گرفت آنزیمی را به‌شکل کاملاً خالص جداسازی کند. تا آن زمان، هیچ‌کس موفق به چنین کاری نشده بود، و بسیاری از بیوشیمیدانان نیز این ایده را بی‌معنا و غیرممکن می‌دانستند.

با این حال، سامنر با پشتکار بالا، به‌تدریج آنزیم اوره‌آز[1] را از لوبیای جک[2] استخراج و تصفیه کرد. در نهایت، در سال ۱۹۲۶، موفق شد این آنزیم را به حدی خالص کند که به شکل بلور درآید؛ که این بالاترین نشانگر خلوص پروتئینی به‌شمار می‌رود.

مطالعه‌ی سامنر به‌روشنی اثبات کرد که منبع فعالیت آنزیمی، چیزی جز

1. urease
2. jack bean

پروتئین نمی‌تواند باشد. و به‌نظر می‌رسید که این یافته، به‌طور کامل بحث ماهیت آنزیم‌ها را پایان دهد.

اما باورهای علمی به‌سادگی تغییر نمی‌کنند. بنابراین، نیاز بود که این نتیجه توسط فرد دیگری نیز تأیید شود. این بار، در سال ۱۹۲۹، جان نورثراپ، آنزیم دیگری به‌نام پپسین[1] را به‌صورت بلوری‌شده و کاملاً خالص تهیه کرد. این موفقیت، در نهایت پایان رسمی مناقشه‌ی پروتئینی بودن آنزیم‌ها را رقم زد.

کشف اسیدهای آمینه

پیش‌تر دریافتیم که پروتئین‌ها ماکرومولکول‌هایی بسیار بزرگ هستند که عمدتاً از عناصر کربن، نیتروژن، هیدروژن، و اکسیژن تشکیل شده‌اند، همراه با مقادیر اندکی گوگرد و فسفر.

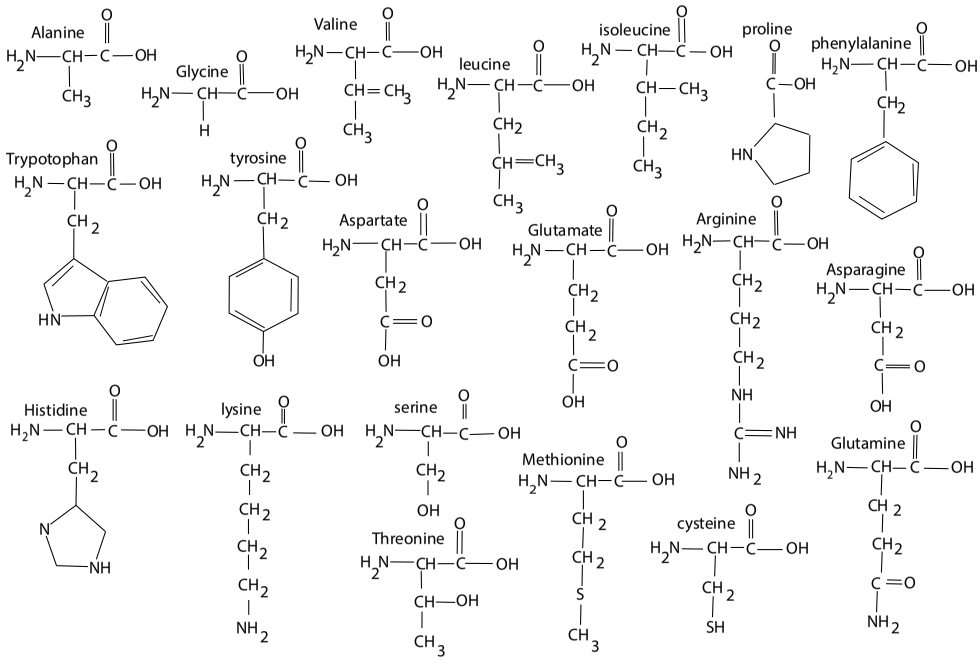
پس از جدال‌های لیبیگ و مولدر، دانشمندان تلاش کردند تا جزئیات ساختار مولکولی پروتئین‌ها را کشف کنند. این بخش از ماجرا نسبتاً ساده بود: پروتئین‌ها در برابر اسیدها به‌راحتی تجزیه می‌شوند.

در نتیجه، گروه بزرگی از پژوهشگران شروع به بررسی آن‌چه باقی می‌ماند کردند، زمانی‌که پروتئین‌ها را با اسید هیدروکلریک (HCl) واکنش می‌دادند. آنان به‌زودی متوجه شدند که در باقی‌مانده‌ی این واکنش‌ها، مولکول‌های متفاوتی یافت می‌شوند که همگی دارای یک گروه اسیدی (–COOH) و یک گروه آمینی ($-NH_2$) هستند.

به همین دلیل، این ترکیبات جدید را اسیدهای آمینه[2] نامیدند (شکل ۱).

(جالب آن‌که واژه‌ی "باقی‌مانده[3]" در همین‌جا وارد ادبیات علمی شد، و تا امروز نیز بیوشیمیدانان هنگام اشاره به اسیدهای آمینه، از واژه‌ی باقی‌مانده استفاده می‌کنند.)

1. pepsin
2. Amino Acids
3. residue



شکل ۱. ساختار ۲۰ اسد آمینه ی رایج

بیست اسید آمینه رایج و پیوند پپتیدی

در پی بررسی‌های گسترده، مشخص شد که تنها بیست اسید آمینه رایج در طبیعت وجود دارند که به‌طور معمول در ساختار پروتئین‌ها به‌کار می‌روند؛ به این اسیدهای آمینه اصطلاحاً پروتئوژنیک[1] می‌گویند.

(اگرچه بیش از ۵۰۰ نوع اسید آمینه در طبیعت شناخته شده‌اند، تنها همین بیست مورد در کد ژنتیکی رمزگذاری می‌شوند و به‌طور مستقیم در سنتز پروتئین‌ها نقش دارند.)

تفاوت میان این بیست اسید آمینه، به ساختار زنجیره جانبی[2] آن‌ها برمی‌گردد. این زنجیره‌ها از نظر اندازه، شکل و بار الکتریکی متفاوت‌اند:

- برخی از آن‌ها بسیار ساده‌اند، مانند گلیسین[3] که تنها دارای یک اتم هیدروژن به‌عنوان زنجیره جانبی است.
- برخی بسیار بزرگ‌اند، مانند تریپتوفان[4]، که دارای حلقه دوگانه کربنی است.
- تعدادی دارای زنجیره‌های جانبی اسیدی هستند، مانند آسپارتات و گلوتامات.
- برخی دارای زنجیره‌های قلیایی (باز) هستند، مانند آرژینین و لیزین.
- گروهی دیگر آب‌گریز و چرب (هیدروفوب) هستند، مانند لوسین و والین.

در میان آن‌ها، موردی خاص به‌نام پرولین[5] وجود دارد که زنجیره‌ی جانبی‌اش به عقب خم می‌شود و با کربن آلفای زنجیره اصلی حلقه‌ای بسته تشکیل می‌دهد.

---

1. Proteogenic
2. Side Chain
3. Glycine
4. Tryptophan
5. Proline

(از نظر فنی، این ویژگی پرولین را در دسته ایمینو اسیدها[1] قرار می‌دهد، اما بیوشیمیدانان معمولاً این تمایز را نادیده می‌گیرند.)

تنها دو اسید آمینه از میان بیست مورد، حاوی گوگرد هستند (که همین موضوع، دلیل کمبود گوگرد در تحلیل‌های اولیه از پروتئین‌ها بود). هیچ‌یک از آن‌ها نیز حاوی فسفر نیستند، چرا که فسفریلاسیون معمولاً در مراحل بعدی ساخت پروتئین‌ها انجام می‌شود.

پیوند پپتیدی: کشف نحوه اتصال اسیدهای آمینه

مسئله بعدی که بیوشیمیدانان با آن روبه‌رو شدند، این بود که اسیدهای آمینه چگونه به هم متصل می‌شوند تا پروتئین تشکیل دهند؟

این معما به‌طور هم‌زمان، اما با دو رویکرد کاملاً متفاوت، توسط امیل فیشر و فرانتس هوفمایستر حل شد. جالب آن‌که، این دو دانشمند نتایج تحقیقات خود را در یک همایش علمی مشترک در شهر کارلسباد (در جمهوری چک امروزی) در سال ۱۹۰۲ ارائه کردند.

هوفمایستر با استدلال‌های دقیق شیمیایی، به تحلیل این مسئله پرداخت. از منظر شیمیایی، راه‌های مختلفی برای اتصال اسیدهای آمینه وجود داشت: پیوندهای کربن-کربن، پیوندهای اتر، یا پیوندهای نیتروژن-کربن.

او تمام این گزینه‌ها را بررسی کرد و به‌کمک ویژگی‌های مشاهده‌شده در پروتئین‌ها، منطقی‌ترین شیوه‌ی اتصال را مشخص کرد. برای مثال، استدلال کرد که اگر گروه‌های کربوکسیلیک اسیدهای آمینه به‌صورت آزاد باقی بمانند، محلول‌های پروتئینی باید بسیار اسیدی باشند درحالی‌که این‌طور نیستند.

بر اساس این مشاهدات، هوفمایستر نتیجه گرفت که در پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه از طریق اتصال گروه کربوکسیل یک آمینو اسید به گروه آمینو

1. Imino Acids