

فعالیت آنزیمی و ویژگی سوبسترای آنزیم کالیکرین انسانی ۱۳

دکتر علی اوسط ملتی^۱، دکتر الفتریاس دیامندیس^۲

خلاصه

سابقه و هدف: کالیکرین انسانی ۱۳ (hK13) آنزیمی است که توسط ژن hK13 از خانواده‌ی کالیکرین کد می‌شود. مطالعات متعددی وجود hK13 را در مایع منی، مایع آسیتی بیماران با سرطان تخمدان و شیر مادران گزارش کرده‌اند. در این مطالعه فعالیت آنزیمی و ویژگی سوبسترای hK13 مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: دی ان آی نو ترکیب ویژه‌ی آنزیم hK13 در داخل سیستم ژنوم *Pichia Pastoris* قرار داده و تکثیر شد. سپس از محلول رویی پس از سانتریفوژ با استفاده از کروماتوگرافی مایع با قدرت سریع آنزیم فوق جدا شده و با استفاده از اوترا فیلتراسیون تغلیظ شد. با استفاده از دستگاه اسپکتروفلورومتر و ویکتور سرعت اولیه‌ی کاتالیزوری آنزیم تعیین شده و برای تعیین ضریب ثابت میکائیلیس و منتون از نرم‌افزار کینتیک آنزیمی مدل ۱/۱ متصل به برنامه‌ی گرافی سیگما استفاده شد.

یافته‌ها: دو تری پپتید والینیل - پرولینیل - آرژینین و فنیل آلانینیل - سرینیل - آرژینین متصل به ۷-آمینو ۴ - متیل کومارین (AMC) بسیار سریع‌تر از سایر سوبستراها توسط hK13 هیدرولیز شدند و میزان ضریب ثابت میکائیلیس و منتون بر ضریب ثابت کاتالیتیکی محاسبه شده برای آن‌ها، نسبت به سایر سوبستراها بسیار بالاتر بود. آنزیم مذکور به سختی قادر به هیدرولیز پیوندهای پپتیدی از طرف عامل کریوکسیل لیزین بود. میزان ضریب ثابت کاتالیتیکی بر ضریب ثابت میکائیلیس و منتون برای هیدرولیز سوبسترای والینیل - پرولینیل - آرژینین توسط تریپسین ۱/۵ برابر هیدرولیز این سوبسترا توسط آنزیم hK13 بود.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: تری پپتید والینیل - پرولینیل - آرژینین متصل به ۷-آمینو ۴ - متیل کومارین بهترین نوع سوبسترا (در بین ۶ نوع تری پپتید مختلف) برای این آنزیم است. بنابراین شاید بتوان از افزایش اندک میزان hK13 به عنوان یک شاخص تومور برای کمک به تشخیص بیماری‌های سرطان (به ویژه سرطان پستان و تخمدان) استفاده نمود. استفاده از تکنیک‌های پیشرفته‌ی آزمایشگاهی جهت ساختن سوبستراهای ویژه hK13 و مرتفع نمودن مهار فعالیت آنزیم در جریان خون توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: کالیکرین، hK13، تریپسین، سوبسترا، فعالیت آنزیمی

مقدمه

در گذشته در این مکان فقط سه نوع ژن شناسایی شده بود که سه نوع پروتئین کالیکرین ۱ و کالیکرین ۲ و کالیکرین ۳ یا آنتی ژن اختصاصی پروستات^۳ را کد می‌کنند. در بین این سه نوع کالیکرین معروف‌ترین آن‌ها آنتی ژن اختصاصی پروستات می‌باشد که به طور گسترده‌ای برای تعیین کمک به تشخیص بیماران با سرطان پروستات مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴). اما در سه سال اخیر تعداد بیشتری ژن در این مکان کشف شده است.

کالیکرین‌ها^۱ زیر مجموعه‌ای از سرین پروتئازها بوده که در بافت‌ها و مایعات بیولوژیکی مختلف یافت می‌شوند. واژه‌ی کالیکرین که اولین بار در سال ۱۹۳۰ به وسیله ورله و هم‌کاران وی به کار برده شد (۱) آنزیمی است که تبدیل مولکول پیش‌ساز کاینینوژن^۲ غیر فعال را به مولکول پپتیدی فعال کینین که وازواکتیو می‌باشد، تسریع می‌کند (۲،۳). مکان ژنی کالیکرین انسان بر روی کروموزوم ۱۳/۴ ۱۹q قرار دارد.

^۱ Kallikreins

^۲ Kininogen

^۳ Prostate - Specific Antigen (PSA)

^۱ دکتری بیوشیمی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

^۲ فوق تخصص بیوشیمی، استاد دپارتمان پاتولوژی، دانشگاه تورنتو، کانادا