

معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان

محمدحسین خانجانی^{۱*}، زینب نوری‌هاشم‌آباد^۲ و محمد اکبری^۳

۱ و ۳. دانشجوی دکتری تکثیر و پرورش آبزیان، دانشکده علوم و فنون دریایی و جوی، دانشگاه هرمزگان.
۲. دانشجوی دکتری فرآوری محصولات شیلاتی، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.
khanjani.phd@hormozgan.ac.ir

چکیده

دما یک فاکتور مهم برای بقا و زنده‌مانی موجودات است. هنگامی که دما پایین می‌آید موجودات با یک چالش بزرگ روبه‌رو می‌شوند. موجوداتی که در شرایط اقلیمی با دمای زیر صفر زندگی می‌کنند، سازگارهای مختلفی برای مقابله با سرما دارند. یکی از این سازگاری‌ها توسعه پروتئین‌های خاصی است که پروتئین‌های ضد انجماد (Antifreeze proteins) نامیده می‌شوند و از رشد یخ جلوگیری می‌کنند. پژوهش‌های گسترده‌ای روی پروتئین‌های ضد انجماد در رابطه با ساختار آن‌ها، نحوه برخورد با کریستال‌های یخ و مکانیسم کار آن‌ها صورت گرفته است. پروتئین‌های ضد انجماد پتانسیل بالایی در کاربردهای تجاری دارند، صنعت غذا بخش قابل توجهی است که پروتئین‌های ضد انجماد در آن کاربرد دارد. با استفاده از روش‌ها و پروتکل‌های ترانس ژنیک، پروتئین‌های ضد انجماد را می‌توان به درون ماهی، مخمر، میوه‌ها و سبزیجات القا کرد که خصوصیات مفید جدیدی به این موجودات می‌دهد. پروتئین‌های ضد انجماد به ارگانیسم‌های خاص اجازه می‌دهند که در محیط‌های سرد زندگی کنند و بقاء خود را در دمای زیر صفر درجه حفظ کنند آن‌ها با جلوگیری از رشد یخ و کریستاله شدن مجدد در مایعات داخلی از طریق اتصال به سطح یخ عمل می‌کنند. در این مقاله انواع پروتئین‌های ضد انجماد، ساختار و محل تشکیل آن‌ها، نحوه برخورد با کریستال‌های یخ و کاربردهایی که این پروتئین‌های ضد انجماد دارند مورد بررسی قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: پروتئین‌های ضد انجماد، ماهی، دما، سازگاری.

مقدمه

با کشف پروتئین‌های ضد انجماد کنجکاوی در بین دانشمندان آغاز شد که چگونه ماهیان در شرایط اقلیمی سرد زنده می‌مانند. در سال ۱۹۵۰ بقاء ماهیان استخوانی قطب جنوب در دمای زیر صفر درجه سانتی‌گراد بررسی شد که دلیل آن را علاوه بر حضور نمک حضور مواد ضد انجمادی خاصی می‌دانستند (۲۵). پژوهش‌ها مشخص کرد که این مواد ضد انجمادی پروتئین بوده که می‌توانند دمای انجماد را در ماهیان قطب کاهش دهند و ماهی را از صدمات ناشی از سرما حفظ کنند (۸). پژوهش‌ها بر روی پروتئین‌های ضد انجماد از سال ۱۹۵۰ در ماهیان آغاز شد و انواع متنوعی از پروتئین‌های ضد انجماد در گونه‌های مختلف ماهیان شناسایی شده است. بررسی‌ها در مورد اینکه ماهیان استخوانی در آب سرد چگونه با چالش انجماد روبه‌رو می‌شوند، پژوهش‌هایی چند مجهولی است که شامل اکوفیزیولوژی، فیزیولوژی ارگانسیم، بیوشیمی پروتئین، فیزیک یخ، زیست‌شناسی ساختمان و تکامل مولکولی، تکامل ارگانسیم و جغرافیای قطب است که در پایان نتایج جمعی این پژوهش‌ها

سبب ایجاد یک تصور کلی می‌شود که ماهیان قطبی چگونه از انجماد شدن در امان می‌مانند (۳). پروتئین‌های ضد انجماد به ارگانسیم‌های خاص اجازه می‌دهند که در محیط‌های سرد زندگی کنند و بقاء خود را در دمای زیر صفر درجه حفظ کنند، پروتئین‌های ضد انجماد از مسیرهای گوناگون مانند کاهش دمای انجماد، تعدیل یا ممانعت از رشد بلورهای یخ، جلوگیری از تبلور مجدد و محافظت غشایی سلول در برابر آسیب ناشی از سرما، موجودات زنده را در برابر سرما محافظت می‌کنند. مکانیسم عمل این پروتئین‌ها از طریق اثر بر رشد کریستال‌های یخ مورد بررسی قرار گرفته است (۱۹).

استراتژی جلوگیری از انجماد

ماهیان وقتی که در معرض آب سرد و منجمد ناحیه ساحلی قرار می‌گیرند دو عکس‌العمل را از خود بروز می‌دهند: الف) از ناحیه ساحلی به طرف آب‌های باز که دمای بالاتری دارند حرکت می‌کنند. ب) یا این‌که به طرف پایین آب فرو می‌روند و ماکرومولکول‌های پروتئین‌های ضد انجماد را تولید می‌کنند. میزان املاح دریا نزدیک ۱۰۰۰

"خانجانی و همکاران، معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان"

پروتئین‌های ضد انجماد (AFP)

پروتئین‌های ضد انجماد در قالب تعریف، به معنی جلوگیری از رشد یخ هستند و در گونه‌های مختلف زیادی شامل ماهی‌ها، حشرات، باکتری‌ها، قارچ‌ها و گیاهان یافت شده‌اند. وظیفه پروتئین‌های ضد انجماد جلوگیری و کنترل رشد یخ تا یک نقطه معین است، که از منجمد شدن جلوگیری می‌کنند (۲۲). تاکنون یک نوع گلیکوپروتئین ضد انجماد و چهار نوع پروتئین ضد انجماد شامل پروتئین ضد انجماد نوع ۱، پروتئین ضد انجماد نوع ۲، پروتئین ضد انجماد نوع ۳ و پروتئین ضد انجماد نوع ۴ شناسایی شده است. این چهار نوع پروتئین ضد انجماد به قند و کربوهیدرات متصل نیستند که بر اساس تفاوت ساختمانی و ترتیب زمانی که کشف شده‌اند نام گذاری شده‌اند (۲).

گلیکوپروتئین ضد انجماد (Antifreeze Glycoprotein)

(AFGP)(Glycoprotein)

ماهیان نوتوتینی اید قطب جنوب و اعضای از خانواده روغن ماهیان قطب شمال حاوی این گلیکوپروتئین ضد انجماد هستند. این گلیکوپروتئین از تکرار واحدهای یک مونومر ساده گلیکوتری پپتیدی (ترونین Thr، آلانین

میلی اسمول است که همین امر سبب می‌شود نقطه انجماد دریا پایین آمده و نزدیک $-1/9$ درجه سانتی‌گراد شود. ماهیان استخوانی نسبت به آب دریا هیپواسموتیک هستند و غلظت مایعات بدن آنها حدود 400 تا 600 میلی اسمول و کمتر از آب دریا است و این بدین معنی است که در دمای 1 درجه زیر صفر منجمد می‌شوند که $0/9$ درجه بالاتر از نقطه انجماد آب دریاست، ماهیان قطب که در ناحیه ساحلی فرو می‌روند پروتئین‌های ضد انجماد را تولید کرده و اسمولیت‌ها خون خود را بالا برده و سبب کاهش $1/4$ درجه سانتی‌گراد نقطه انجماد می‌شوند و از این طریق با چالش انجماد مقابله می‌کنند (۳ و ۱).

- Free point (FP) نقطه انجماد آب دریا: $-1/9$ درجه سانتی‌گراد.

- اسمولیت‌ها خون ماهیان دریایی 600 میلی اسمول: 1 درجه سانتی‌گراد.

- حضور پروتئین ضد انجماد (30 تا 40 میلی گرم در هر میلی لیتر): $1/4$ درجه سانتی‌گراد.

- مجموعاً سبب کاهش نقطه انجماد: $2/4$ درجه سانتی‌گراد.

- جلوگیری از انجماد مایعات بدن: $0/5$ درجه سانتی‌گراد حفاظت.

Ala، آلانین (Ala.) با یک دی ساکارید گالاکتوز- استیل گالاکتوز آمین که به هر ترونین متصل شده تشکیل شده است (۳). بر اساس حرکت در ژل پلی آکریل آمید، AFGP نشان دار شده با فلورسنت، ۸ اندازه از AFGP شناسایی شده است که ایزوفرم هم هستند و AFGP ۸ کوچکترین (با وزن مولکولی ۲/۶ کیلودالتون) و AFGP ۱ بزرگترین (با وزن مولکولی ۳۴ کیلو دالتون) آن هاست که برای اولین بار در ماهی قطب جنوب *Pagothenia borchgrevinki* شناسایی شده است.

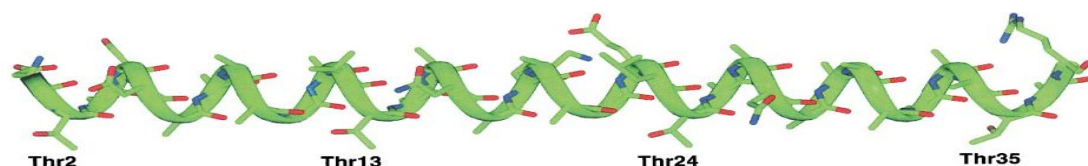
پروتئین ضد انجماد نوع ۱

پروتئین ضد انجماد نوع ۱ در ۳ گروه از ماهیان فلاندرها، ماهیان پهن راسته کفشک ماهی شکلان، عقرب ماهی و حلزون ماهیان قطب شمال راسته عقرب ماهی شکلان یافت شده است. وزن مولکولی این پروتئین ۴ تا ۷ کیلودالتون و غنی از اسید آمینه آلانین (بالای ۶۰ درصد) است (۲). این نوع پروتئین یک

توالی، تکرار یازده تایی از اسیدهای آمینه است که در هر تکرار یازده تایی یک اسید آمینه ترونین (Thr) در انتها قرار می گیرد (یا به عبارت دیگر با ترونین توالی یازده تایی شروع می شود) که همین اسید آمینه با مولکول های یخ پیوند برقرار می کند و از رشد کریستال های یخ جلوگیری می کند. در ماهی فلاندر زمستانی ساختار AFP نوع ۱ به کمک اشعه X با وضوح بالایی به صورت مارپیچ آلفا مشخص شده است (۳).

پروتئین ضد انجماد نوع ۲

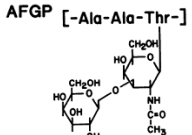
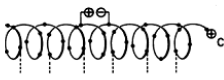
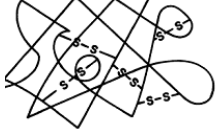
پروتئین ضد انجماد نوع ۲ در ۳ گروه از ماهیان مختلف شامل قزل آلا راسته آزاد ماهی شکلان، هرینگ راسته شگ ماهیان و ماهی raven sea راسته عقرب ماهی شکلان وجود دارد. وزن مولکولی این پروتئین ۱۱ تا ۲۴ کیلو دالتون و غنی از اسید آمینه سیستئین است. ساختار این پروتئین نشان می دهد که این پروتئین ساختار کروی با حالت β با تعداد کمی پیوندهای دی سولفید دارد (۷ و ۲).



شکل ۱- ساختار پروتئین ضد انجماد نوع ۱ را به کمک اشعه X نشان می دهد ساختار بصورت مارپیچ آلفا است (۱۳).

"خانجانی و همکاران، معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان"

جدول ۱- انواع پروتئین‌های ضد انجماد و ساختار آنها در ماهیان (۴).

پروتئین ضد انجماد	وزن مولکولی	ساختار	موجود در ماهیان	ساختار فضایی
AFGP	دارای بیشترین محدوده سائزی کیلو دالتون ۲/۵ تا ۳۳	توالی‌های تکراری AAT با مولکول قند آلانین-آلانین- تیرونین	Antarctic notothenioids, northern cods (Atlantic cod,	
AFP نوع ۱	کوچکترین نوع، سائز ۳ KD تا ۵	مارپیچ آلفا، غنی از آلانین	winter flounder, shorthorn sculpin	
AFP نوع ۲	بزرگترین نوع، سائز ۱۴ KD	کروی، پیوندهای دی سولفید	Sea raven , smelt, herring	
AFP نوع ۳	متوسط در سائز ۶ KD تا ۷	کروی، بتا ساندویچ	Ocean pout wolffish	
AFP نوع ۴	(۱۲ تا ۱۳ KD)	مجموعه مارپیچ چهار تایی غیر موازی، محتوای بالایی از گلوتامین	longhorn sculpin	

پروتئین ضد انجماد نوع ۳

پروتئین ضد انجماد نوع ۳ در ماهیان zoarcid eel pouts و anarhichadid wolf (راسته سوف ماهی شکلان) یافت شده است. این پروتئین ساختار کروی با رشته‌های آلفا و بتا دارد، همچنین دارای وزن مولکولی ۷ تا ۱۴ کیلو دالتون است (۲۰ و ۲۵).

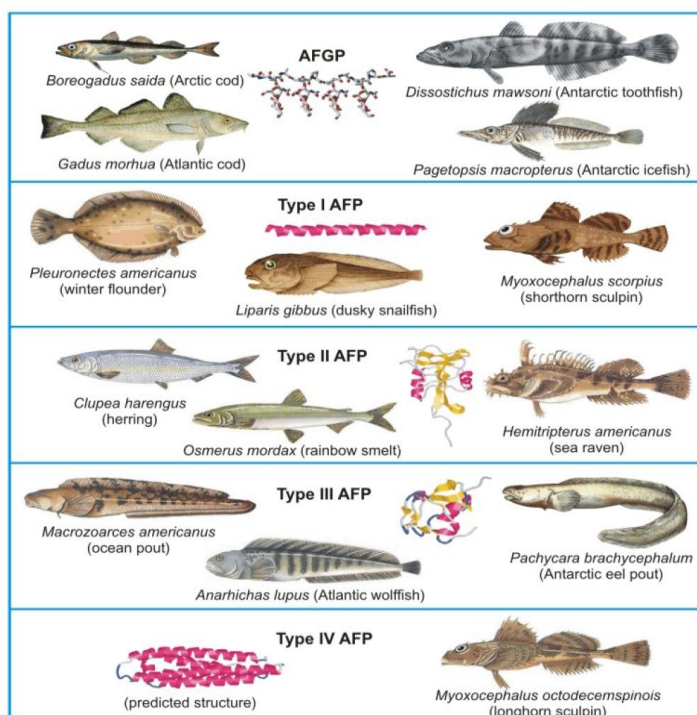
پروتئین ضد انجماد نوع ۴

پروتئین ضد انجماد نوع ۴ در ماهی long-

horn sculpin از راسته عقرب ماهی شکلان یافت شده است این پروتئین دارای ساختار پیچیده به صورت یک مجموعه مارپیچی ۴ تایی غیرموازی است (۴) و دارای محتوای بالایی (حدود ۱۷ درصد) از گلوتامین است، این نوع پروتئین در کبد تولید می‌شود (۱۸).

وظیفه و خاصیت ضد انجمادی

با وجود ساختارهای متفاوت همه



شکل ۲- ساختار انواع پروتئین‌های ضد انجماد و انواع ماهیانی که حاوی این نوع پروتئین هستند را نشان می‌دهد (۳).

محدوده‌ای بین ۰/۷۵ تا ۱/۴ است که در نتیجه از انجماد ماهی در دماهای محیطی زیر صفر (۱/۷۵- تا ۲/۴-) یا حتی پایین‌تر جلوگیری خواهد کرد (۳).

مکانیسم جذب و ممانعت از عمل انجماد

به‌طور کلی مکانیسم قابل قبول خاصیت ضد انجمادی، یک مکانیسم جذب-بازدارندگی است. نخستین پژوهش‌ها در سال ۱۹۹۷ صورت گرفت، مدل‌های فرضی که پروتئین ضد انجماد از طریق

پروتئین‌های ضد انجماد یک وظیفه مشابه را انجام می‌دهند، این پروتئین‌ها کریستال‌های یخ را تشخیص داده، به آن‌ها متصل می‌شوند و مانع از رشد کریستال‌های یخ در محدوده دمایی زیر صفر، جایی که ماهی در آنجا زندگی می‌کند می‌شود. پروتئین‌های ضد انجماد اسمولیت‌ها را افزایش داده و همچنین اثر خود را روی دمای انجماد نشان می‌دهند، Thermal Hysteresis میزان دمایی که این پروتئین‌ها می‌توانند نقطه انجماد مایعات بدن را کاهش دهند که به‌طور معمول

"خانجانی و همکاران، معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان"

سطوح منشوری کریستال‌ها متصل می‌شود و از رشد یخ در طول محور a جلوگیری می‌کند.

کاربردهای تجاری و جنبه‌های ایمنی

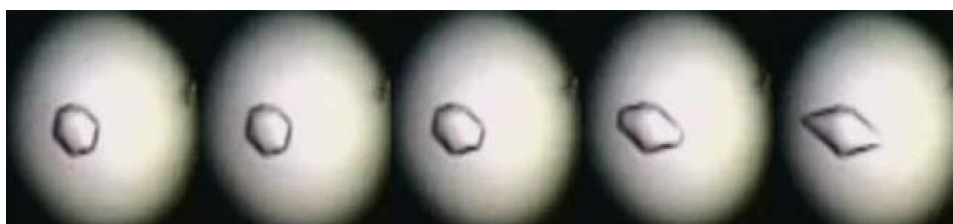
زیستی پروتئین‌های ضد انجماد

ایجاد ماهیان تراریخته و کمک به عملیات

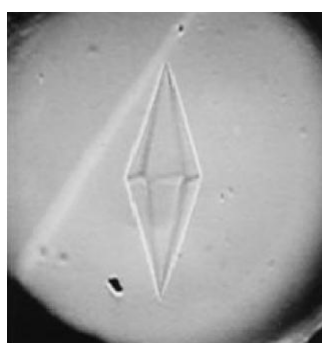
آبزی پروری

تراریخته: فرآیند بیوتکنولوژی است که در آن یک موجود زنده خاصیت فیزیولوژیک یا بیولوژیک جدیدی را با معرفی یک ژن

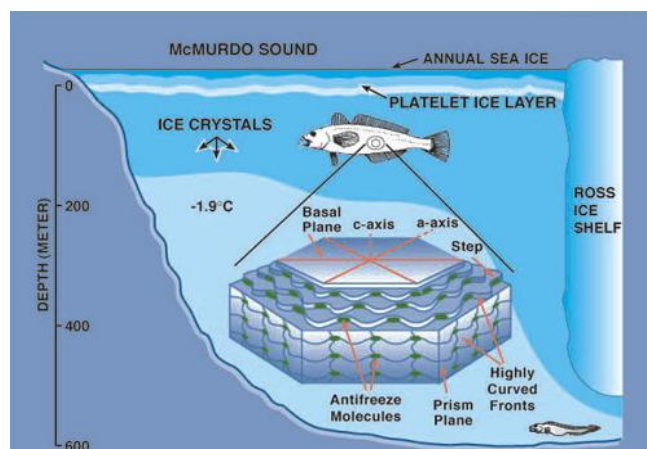
پیوندهای هیدروژنی به یخ متصل می‌شود (۳). هنگامی که آب منجمد می‌شود یک مولکول آب با سه مولکول کناری خود پیوند هیدروژنی برقرار می‌کند و ساختار شش وجهی به خود می‌گیرد. مولکول‌های یخ در حالت طبیعی به صورت صفحات شش وجهی هستند و زمانی که پروتئین‌های ضد انجماد به آنها متصل می‌شوند به صورت کریستال‌های هرمی و ساختارهای استوانه‌ای در می‌آیند (۵). این نشان می‌دهد که پروتئین ضدانجماد به



شکل ۳- تغییرات در مورفولوژی یخ رشد یافته در کنار پروتئین ضد انجماد (نوع ۳) ماهی *Zoarces Viviparus* را نشان می‌دهد (تغییرات از چپ به راست) (۲۱).



شکل ۴- مورفولوژی یخ در حضور پروتئین ضد انجماد نوع ۴ در ماهی longhorn sculpin *Myoxocephalus octodecimspinosis* (۵).



شکل ۵- جذب- بازداری از رشد کریستال‌های یخ در محیط ماهی را نشان می‌دهد (۳).

پرورش ماهیان تجاری را در طول زمستان اجازه خواهد داد و دامنه آبی‌پروری را در نواحی اطلس شمالی گسترش می‌دهد. پژوهش‌های انجام شده در زمینه انتقال پروتئین ضد انجمادی نوع ۱ از کفشک زمستانی به آتلانتیک سالمون و قزل‌آلای رنگین کمان سبب مقاومت به سرما در این ماهیان شده است. قزل‌آلای رنگین کمان گونه‌ای است که توانایی تحمل سرما را ندارد اما بعد از تزریق مستقیم پروتئین ضد انجماد نوع ۱ ثابت شده که می‌تواند در دمای پایین تر تا $-1/4$ هم بقاء خود را حفظ کند (۸).

تولید گیاهان تراریخته (میوه‌ها و سبزیجات)

غذاهای مختلفی وجود دارند که با انجماد تغییرات منفی در آنها ایجاد می‌شود به‌ویژه

خارجی بدست می‌آورد. ژن خارجی تراژن نامیده می‌شود که یک بخش جداسازی شده از دی.ان.ا و شامل یک توالی ژنی است، در طول این فرآیند بخشی از دی.ان.ا جداسازی شده از یک موجود زنده به موجود زنده دیگری انتقال داده می‌شود (۱۳). در بخش‌های شمالی اقیانوس اطلس شرایط محیطی مانعی برای توسعه آبی‌پروری ایجاد می‌کند. یکی از دلایل مهم مهاجرت برخی از ماهیان تجاری در طول زمستان بخاطر دمای پایین آب دریاست. کاهش دما به $-1/9$ درجه سانتی‌گراد برای بسیاری از گونه‌ها کشنده است که پرورش در قفس‌های دریایی و یا دیگر روش‌های پرورش را غیرعملی می‌کند (۸).

تلاش در عملیات آبی‌پروری منجر شد ماهیان بتوانند انجماد را تحمل کنند، که

"خانجانی و همکاران، معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان"

تولید کرد (۲۲). این روش برای گیاهانی مثل گوجه‌فرنگی که بافت خارجی آن تعیین کیفیت می‌شود بسیار مهم است.

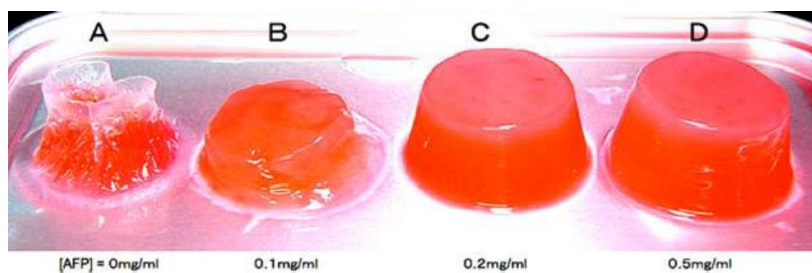


شکل ۶- تصویری از یک نیمه گوجه‌فرنگی که بافت و کیفیت مطلوب را نشان می‌دهد.

بستنی‌سازی

امروزه تقاضا برای کیفیت و کمیت بیشتر تولید بستنی پیوسته در حال رشد است. استفاده از پروتئین ضد انجماد در بستنی‌سازی می‌تواند منجر به بهبود بافت و مزه بهتر بستنی با جلوگیری از رشد کریستال‌های یخ در مخلوط بستنی شود. یکی از مشکلات درباره تولید بستنی کریستاله شدن مجدد با تغییرات دما در طول ذخیره‌سازی است که کریستال‌های کوچک یخ ذوب شده تبدیل به کریستال‌های بزرگتر با انجماد مجدد می‌شود، کریستال‌های بزرگ یخ مزه و بافت بستنی را تخریب می‌کند که حضور پروتئین ضد انجماد از این عمل جلوگیری می‌کند (۱۷).

غذاهایی که کیفیت آن‌ها با بافت خارجی‌شان تعیین می‌شود و نمی‌توانند کیفیت خود را حفظ کنند. کریستال‌های یخ به‌خاطر صدمه‌ای که در اثر از دست دادن آب ایجاد می‌کنند در بافت‌های داخل سلولی و خارج سلولی تغییرات نامطلوبی را در کیفیت غذا و میوه‌ها می‌گذارند. این امر می‌تواند منجر به خسارت پلاسما شود که هر دو با تشکیل کریستال‌های مجدد یخ ایجاد می‌شوند (۱۱). اگر کریستاله شدن با سرعت پایین انجام شود سبب ایجاد کریستال‌های یخی بزرگ در بافت میوه‌ها می‌شود و خسارت زیادی وارد می‌کند و اگر کریستاله شدن با سرعت بالا انجام شود منجر به تشکیل کریستال‌های بسیار کوچک در بافت‌های خارج سلولی و درون سلولی می‌شود و سبب خرابی کمتر بافت می‌شود ولی با توجه به اینکه انجماد سریع هزینه‌بر است از پروتئین‌های ضد انجماد در میوه‌ها و سبزیجات استفاده می‌شود. پروتئین‌ها می‌توانند با مخلوط کردن، تزریق، خیساندن، تصفیه خلاء و انتقال ژن به غذا اضافه شوند، که ایجاد کردن گیاهان تراریخته نسبت به روش‌های دیگر هزینه کمتری دارد و از این راه می‌توان گیاهان مقاوم به سرما و انجماد



شکل ۷- آزمایش یافتن غلظت مناسب پروتئین ضد انجماد در تشکیل ژل را نشان می‌دهد که با افزودن بیشتر پروتئین ضد انجماد شکل‌گیری ژل در مرحله انجماد و سپس ذوب بهبود می‌یابد.

پروتئین ضد انجماد در مخمر نانوائی

تقاضا برای فرآورده‌های خمیری منجمد به سرعت روبه افزایش است، اگرچه انجماد در طول ذخیره‌سازی در بیشتر مواقع برای سلول‌های مخمر کشنده است و تعداد زیادی اثرهای منفی مثل تغییر ماهیت ماکرومولکول‌ها، گسیختگی غشاها و چروکیدگی سلول‌ها را با از دست دادن آب سبب می‌شود که اثر منفی روی کیفیت نان می‌گذارد. یک راه برای حل این مشکل انتقال ژن پروتئین ضد انجماد به مخمر نانوائی *Saccharomyces cerevisiae* است که میزان گاززدگی و تولید کل گاز را در خمیرهای منجمد افزایش می‌دهد. دانشمندان در تلاش هستند که یک روش برای استفاده از پروتئین ضد انجماد در تولیدات خمیری منجمد با استفاده از یک مسیر بیان که حاوی یک توالی

کدگذاری پروتئین ضد انجماد است توسعه دهند. پروتئین ضد انجمادی که در آزمایش استفاده کرده‌اند یک پروتئین ضد انجماد نوع ۱ است که GS-۵ نامیده می‌شود و از ماهی Grubby sculpin جداسازی شده است (۱۴). نتایج آزمایش نشان داد که ژن نو ترکیب پروتئین ضد انجماد نوع یک قدرت تحمل انجماد در مخمر را افزایش می‌دهد.

بهبود کیفیت گوشت

در پژوهشی برای بهینه کردن کیفیت گوشت منجمد، ۲۴ ساعت قبل از ذبح گوسفند، گلیکوپروتئین‌های ضد انجماد به حیوان تزریق شدند، بعد از ذبح نمونه‌های گوشت در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ هفته نگهداری شدند، مشاهده شد که اندازه بلورهای یخ با حضور پروتئین‌های ضد انجماد کاهش می‌یابد و کیفیت گوشت

"خانجانی و همکاران، معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان"

پس از انجماد بهبود می‌یابد (۹).

نگهداری عضوهای پیوندی

امروزه برای نگهداری عضو پیوندی مثل قلب از پروتئین‌های ضد انجماد استفاده می‌شود در این روش عضو پیوندی در مقایسه با نگهداری در اتانول و اتیلن گلیکول می‌تواند در دماهای پایین‌تر برای مدت بیشتری سالم بماند (۱۵).

نگهداری اسپرم برای استفاده در تلقیح

مصنوعی

بعد از کشف پروتئین‌های ضد انجماد پژوهش‌های متعددی در زمینه نگهداری اسپرم با پروتئین‌های انجام شد. پژوهش‌ها نشان دادند که حضور پروتئین‌های ضد انجماد ضمن نگهداری سرمایی سبب افزایش باروری اسپرماتوزوئید می‌شود و با نگهداری اسپرم می‌توان به ذخایر ژنتیک جانوران (ماهی و گاو) کمک کرد (۲۳).

بحث و نتیجه‌گیری

مکانیسم جذب-بازدارندگی وظیفه کاربردی پروتئین ضد انجماد است که در ماهیان مناطق قطبی بسیار اهمیت دارد، مسیرهای ورود یخ به بدن ماهی (۱) بلع غذای

مملو از یخ و آب دریاست که کریستال‌های یخ را به مجرای روده وارد می‌کند (۲) از طریق اپی‌تلیوم سلول منفرد نازک آبشش یا از طریق پوست و با خراش‌های که در سطح این دو بافت اتفاق می‌افتد کریستال‌های یخ را به گردش خون وارد می‌کند. مکان اولیه ساخت پروتئین ضد انجماد در بیشتر ماهیان کبد است که پروتئین را به سیستم گردش خون ترشح می‌کند و از آنجا به سراسر فضای خارج سلولی منتشر می‌شود. غلظت این پروتئین در خون ماهی بستگی به نوع گونه و شرایط سختی محیط دارد که به‌طور معمول دامنه‌ای از ۱۰-۳۵ میلی‌گرم در لیتر است (۱۳). علاوه بر کبد در سال‌های اخیر مشخص شده که پانکراس مکان اصلی دیگر برای تولید پروتئین‌های ضد انجماد در ماهیان نوتوتینی و گلیکو پروتئین‌های ضد انجماد روده‌ای هست که به‌طور مستقیم از ترشحات پانکراس مشتق می‌شود. آنزیم‌های گوارشی و پروتئین ضد انجماد سبب هضم غذا و مانع انجماد مایع روده‌ای توسط یخی می‌شوند که با فرو بردن غذا وارد می‌شود که این همان توانایی سازش فیزیولوژیک است (۳ و ۱). از دید علمی پروتئین‌های ضد انجماد، پروتئین‌های جدیدی

هستند که در نمونه‌های بسیار کمی وجود دارند. پژوهش‌های مولکولی به مکانیسم و روند تکاملی پروتئین‌های ضد انجماد در تبدیل یا انتقال یک پروتئین قدیم به جدید با یک کارایی جدید اشاره می‌کند. با وجود ساختارهای متفاوتی که پروتئین‌های ضد انجماد دارند ولی وظیفه و کارایی مشابهی را انجام می‌دهند، اتصال به یخ و جلوگیری از رشد یخ و تبدیل کریستال‌های بزرگ به کوچک مشخصه پروتئین‌های ضد انجماد است که می‌توان از این پتانسیل برای محافظت سرمایی یا محدود کردن صدمات ناشی از یخ در ایجاد گیاهان مقاوم به سرما، نگهداری عضوهای پیوندی، سلول‌های خاص، سبزیجات و گیاهان خوراکی، گوشت، مخمر نان و انجماد سازی اسپرماتوزوئیدهای جانداران برای ایجاد تنوع ژنتیک در نسل‌های مختلف استفاده کرد. نگهداری اسپرم بوسیله پروتئین‌های ضد انجماد توجه زیادی را به خود معطوف کرده که کارگاه‌های تکثیر ماهی را قادر به ذخیره کردن اسپرم هزاران ماهی نر می‌سازد. از آنجا که استفاده از اسپرم منجمد در شرف عملی شدن است با این روش

مدیران کارگاه‌های تکثیر می‌توانند با صرف حداقل هزینه، توان تولید مثل موثر را در مورد برخی گونه‌ها افزایش دهند. پروتئین‌های ضد انجماد از راه‌های مختلف به موجود و ماده مورد نظر اضافه می‌شوند یا ژن آن‌ها در گیاه یا حیوان وارد و بیان می‌شود که نتیجه این تلاش‌ها تولید مواد غذایی با کیفیت غذایی بیشتر و ایجاد جانداران و گیاهان تراریخته مقاوم به سرما است.

چشم‌اندازی به آینده

دورنمای آینده پروتئین ضد انجماد را می‌توان به سه بخش تقسیم کرد. بخش اول: توسعه روش‌ها و تکنیک‌هایی جهت انتقال و بیان ژن پروتئین ضد انجماد به ماهیان، گیاهان و غیره، بخش دوم: توسعه کاربردهای موجود و ابداع امکانات جدید، بخش سوم: کشف پروتئین‌های ضد انجماد جدید از دیگر جانداران اکوسیستم است. با درک مکانیسم دقیق و شناسایی پروتئین‌های ضد انجماد دیگر امید است در آینده بتوان کاربردهای بیشتری از این پروتئین‌ها را کشف و مورد استفاده قرار داد.

"خانجانی و همکاران، معرفی و کاربرد پروتئین‌های ضد انجماد و نقش آن‌ها با تاکید روی ماهیان"

References

منابع مورد استفاده

1. Cheng C-HC, DeVries A L .(1991). The role of antifreeze glycopeptides and peptides in the freezing avoidance of cold-water fish. In: di Prisco G (ed) *Life Under Extreme Conditions*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg, 1-14 pp.
2. Cheng, C.-H.C. (1998). Origin and mechanism of evolution of antifreeze glycoproteins in polar fishes. In "Evolution of the Antarctic Ichthyofauna" (Eds. G. di Prisco, E. Pisano, and A. Clarke), pp. 311-328, Springer-Verlag, Italy.
3. Cheng, C.-H.C. (2003). Freezing avoidance in polar fishes. In "Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS) - Theme 6.73 Extremophiles" (Ed. C. Gerday), Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers, UK
4. Davies, Peter L. and Hew, Choy L. (1990)Biochemistry of fish antifreeze proteins, *The FASEB Journal*, Vol. 4 .
5. Deng, G. J., Andrews, D. W., Laursen, R. A., (1997). Amino acid sequence of a new type of antifreeze protein, from the longhorn sculpin, *Myoxocephalus octodecimpinosus*. *FEBS Letters* 402, 17-20.
6. Eduardo, I. Howarda, M. P. Blakeley, b., Michael, H.,C, Isabelle, Petit-Haertlein, B.C., Andre, M., Stuart, J. Fisherb,e., Alexandra, C. S., Andrés, G. S., Alexandre, P., Christoph, M. D., Tatiana, P. and Alberto, P. (2011). Neutron structure of type-III Antifreeze Protein allows the reconstruction of AFP-ice interface.*Journal of Molecular Recognition*. 24, 4 724".
7. Ewart KV, Fletcher GL .(1993). Herring antifreeze protein primary structure and evidence for a C-type lectin evolutionary origin. *Mol Mar Biol Biotech* 2:20-27
8. Ewart KV, Hew CL. (2002). *Fish antifreeze proteins*. World Scientific: London ISBN: 9789810248994.
9. Hew C.L, Ewart K.V.(2002). *Fish antifreeze proteins*, World Scientific publishing, 213-221, ISBN 981-02-4899-7.
10. Hew CL, Yang DSC .(1992). Protein interaction with ice. *Eur J Biochem* 203:33-42.
11. Hightower, R., Baden, C., Penzes, E., Lund, P., Dunsmuir, P. (1991). Expression of antifreeze proteins in transgenic plants. *Plant Molecular biology* 17: 1013-1021.

12. Margaret, M. Harding, P., Leanne, G. W. and Haymet, A. D. J. (1999). Type I 'antifreeze' proteins, Structure±activity studies and mechanisms of ice growth inhibition. *Eur. J. Biochem.* 264: 653-665.
13. Nelson D.L, Cox M.M, (2005). *Lehninger Principles of Biochemistry*, Fourth edition, W. H. Freeman and Company, Chapter 9, 306-308, ISBN 978-0-7167-4339-2.
14. Panadero, Joaquin; Randez-Gil, Francisca; Prieto, Jose A. (2005). Heterologous Expression of Type I Antifreeze Peptide GS-5 in Baker's Yeast Increases Freeze Tolerance and Provides Enhanced Gas Production in Frozen Dough *J. Agric. Food Chem.*, 2005, 53 (26), 9966-9970.
15. Queen's University, New Antifreeze Protein Found In Fleas May Allow Longer Storage Of Transplant Organs. 2005.
16. Raymond JA, DeVries AL. (1977). Adsorption inhibition as a mechanism of freezing resistance in polar fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74: 2589–2593.
17. Regand, A. and Goff, H. D. (2006). Ice Recrystallization Inhibition in Ice Cream as Affected by Ice Structuring Proteins from Winter Wheat Grass. American Dairy Science Association. *J. Dairy Sci.* 89:49–57.
18. Scotter, A. J., Marshall, C. B., Graham, L. A., Gilbert J. A., Garnharm, C., P., Davies, P. L., (2006). The basis for hyperactivity of antifreeze proteins. *Cryobiology* 53 229–239.
19. Siemer AB, Huang K-Y, McDermott AE. (2010). Protein-ice interaction of an antifreeze protein observed with solid-state NMR. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 107: 17580-17585.
20. Siemer AB, McDermott AE. (2008). Solid-State NMR on a Type-III Antifreeze Protein in the Presence of Ice. *J. Am. Chem. Soc.* 130: 17394-17399.
21. Simon, K. Jørgensen, K. Sercan, K., Dimitrios, K, Peter, W. C. and Birgitte, N. (2008). Antifreeze Proteins The applications of antifreeze proteins in the food industries. ROSKILDE UNIVERSITY. 54p.
22. Venketesh S, Dayananda C. (2008). Properties, potentials, and prospects of antifreeze proteins. *Crit. Rev. Biotechnol.* 28: 57–82.
23. Watson PF. The cause of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim Reprod Sci* 2000 Jul 2;60 -61 :481 -92.
24. Yeh, Y., Feeney, R. E., (1996). Antifreeze Proteins: Structures and Mechanisms of Function. *Chemical reviews* Volume 96, Number 2.
25. Zelensky AN, Gready JE .(2003). Comparative analysis of structural properties of the C-type-lectin-like domain (CTLD). *Proteins* 52: 466–477.