بسم الله الرحمن الرحيم

چکیده:

TNF-α یک سایتوکاین پیش التهابی است که اساسا بوسیله ماکروفاژهای تحریک شده ترشح می‌شود تا سیستم‌های کنترلی درگیر در تکثیر سلولی، تمایززدایی، التهاب، مرگ و تنظیم ایمنی را فعال کند. گرچه سطح طبیعی TNF-α برای تنظیم پاسخ های ایمنی بسیار مهم است، اما افزایش سطح آن باعث التهاب - های مزمن، بیماری های خودایمنی و عفونت می‌شود. بنابراین هدف قرار دادن TNF-α با استفاده از آنتی بادی ها می‌تواند یک استراتژی درمانی موثر در کنترل و درمان چنین بیماری‌هایی باشد. از سویی اغلب آنتی بادی‌های موجود علیه TNF دارای عوارض جانبی گسترده‌ای می‌باشند که پروسه‌ی درمان را با مشکل مواجه می‌کند، از این رو نیاز به طراحی و تولید آنتی بادی‌های جدید با کارایی بالاتر و عوارض جانبی کمتر ضروری به نظر می‌رسد. قبل از تولید یک ترکیب دارویی جدید، در ابتدا باید ساختار آن طراحی گردیده و فعالیت و عملکرد بیولوژیکی آن ارزیابی گردد. عملکردهای بیولوژیکی ماکرومولکول‌ها مثل پروتئین‌ها اساسا توسط ساختار مولکولی آنها تعیین می‌شود. روش‌های تجربی مختلف مثل کریستالوگرافی اشعه X و رزونانس مغناطیس هسته‌ای (NMR)، برای توصیف و درک جزئیات اطلاعات ساختاری در سطح اتمی مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما استفاده از روش‌های فوق جهت بدست آوردن اطلاعات ساختمانی بیوماکرومولکول‌ها بسیار مشکل و مستلزم هزینه‌های گزاف است .امروزه روش‌های محاسباتی مدلبندی مولکولی جهت پیش بینی و طراحی ساختار سه بعدی ماکرومولکول‌ها بسیار مناسب بوده و اخیرا بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

شبیه سازی مولکولی پروتئین‌ها و کمپلکس‌های پروتئین-پروتئین، اطلاعات مفیدی در مورد ساختار و برهمکنش‌های احتمالی ماکرومولکول‌ها بدست می‌دهد. هدف از این مطالعه ، پیش بینی ساختار سه بعدی برای کمپلکس‌های ایجاد شده بین TNF-α و آنتی بادی‌تک زنجیره‌ای hD2 می‌باشد. هدف کلی این کار طراحی و مدلبندی یک آنتی بادی تک زنجیره(scFv) انسانی شده علیه hTNF-α و بررسی اینتراکشن آنهاست.مطالعه‌ی حاضر نشان داد که از بین مدل‌های ایجاد شده یرای آنتی بادی hD2 توسط الگوهای مختلف، مدلی که براساس الگوی توالی پروتئینی مربوط به 2GHW ایجاد شده، بهترین انطباق را از لحاظ برهمکنش با نقاط اساسی و مهم در TNF-α (اسیدآمینه های مناطق ۱۴۱–۱۴۸) نشان می‌دهد. همچنین نتایج Ala-scanning نشان داد جهش در هر کدام از اسیدآمینه‌های مهم hD2 در برهمکنش با TNF-α باعث بهبود ساختار کمپلکس hD2-TNF-α نشد. همچنین جهش زایی به اسیدآمینه‌هایی به غیر از آلانین نشان داد که فقط تبدیل Y27 F باعث کاهش انرژی آزاد و افزایش پایداری ساختمان کمپلکس hD2-TNF-α می‌گردد.

کلمات کلیدی: فاکتور نکروز دهنده‌ی تومور، آنتی بادی تک زنجیره، مدل‌بندی مولکولی

# فهرست مطالب

**عنوان**..... **صفحه**

چکیده.....یک

مقدمه.....I

مروری بر مطالعات گذشته.....II

**فصل اول: کلیات**

۱-۱) سایتوکاین ها.....۲

۱-۲) TNF-α.....۳

۱ -۲-۱) ژن کدکننده TNF-α.....۴

۱-۲-۲) گیرنده‌های TNF-α.....۴

۱-۲-۳) نقش بیولوژیکی TNF-α.....۶

۱-۲-۴) مکانیسم عمل TNF-α.....۷

۱-۲-۵) TNF-αنقش TNF-α در بیماری‌ها.....۹

۱-۲-۶) مهارکننده‌های TNF-α.....۹

۱-۳) مدل‌بندی مولکولی.....۱۱

۱-۳-۱) مدل‌بندی مقایسه ای ساختار پروتئین.....۱۱

۱-۳-۲) اهمیت مدل‌بندی مقایسه ای.....۱۲

۱-۳-۳) مراحل مدل‌بندی مقایسه ای.....۱۳

۱-۳-۳-۱) جستجو برای الگوها.....۱۴

۱-۳-۳-۲) انتخاب الگو.....۱۵

۱-۳-۳-۳) همردیفی ما بین توالی پروتئین های الگو و هدف.....۱۵

۱-۳-۳-۴) ساخت مدل.....۱۶

۱-۳-۳-۵) ارزیابی مدل.....۱۶

۱-۴) محاسبه انرژی آزاد پیوند (Binding Free Energy).....۱۷

۱-۵) شبیه سازی دینامیک مولکولی.....۱۷

۱-۶) انطباق مولکولی.....۱۹

**فصل دوم: مواد و روش‌ها**

۲-۱) سرورها و برنامه‌های مورد استفاده در این مطالعه.....۲۲

۲-۱-۱) BLAST.....۲۲

۲-۱-۲) Amber.....۲۲

۲-۱-۳) Swiss model.....۲۴

۲-۱-۴) VMD.....۲۵

۲-۱-۵) Clustal W.....۲۵

۲-۱-۶) Protein Data Bank.....۲۶

۲-۱-۷) MolProbity.....۲۶

۲-۱-۸) PROCHECK.....۲۶

۲-۲) جستجو و بررسی برای یافتن آنتی بادی تک زنجیره‌ای علیه TNF-α.....۲۶

۲-۳) انسانی کردن آنتی بادی تک زنجیره‌ای D2.....۲۷

۲-۴) انتخاب الگوی مناسب.....۲۷

۲-۵) مدل‌بندی مولکولی ساختار سه بعدی hD2 در Deep View ..... ۲۷

۲-۶) بهینه سازی ساختارhD2 در AMBER نرم افزار ..... ۲۷

۲-۷) انجام مطالعات Docking بین TNF-α و آنتی بادی تک زنجیره‌ای hD2 ..... ۲۸

۲-۸) محاسبه انرژی آزاد بین کمپلکس hD2–TNF-α ..... ۲۸

۲-۹) مطالعات Ala-Scanning بصورت *in-silico* ..... ۲۹

**فصل سوم: نتایج، بحث و پیشنهادات**

۳-۱)

نتایج ..... ۳۱

۳-۱-۱) انتخاب آنتی بادی تک زنجیره‌ای ..... ۳۱

۳-۱-۲) انسانی کردن آنتی بادی تک زنجیره‌ای ..... ۳۱

۳-۱-۳) انتخاب الگوی مناسب ..... ۳۲

۳-۱-۴) پیش بینی ساختار سه بعدی hD2 با استفاده از الگوها ..... ۳۵

۳-۱-۵) بهینه سازی مدل‌ها در Amber ..... ۳۵

۳-۱-۶) ارزیابی مدل‌ها ..... ۳۹

۳-۱-۷) محاسبه‌ی RMSD مدل‌ها ..... ۴۵

۳-۱-۸) مطالعات انطباق مولکولی ..... ۴۶

۳-۱-۹) بررسی پیوندهای موجود در کمپلکس hD2-TNF-α ..... ۴۸

۳-۱-۹) محاسبه انرژی پیوند برای کمپلکس hD2-TNF-α ..... ۵۲

۳-۱-۱۰) نتایج مطالعات Ala-Scanning ..... ۵۳

۳-۲) بحث ..... ۵۶

۳-۳) نتیجه گیری ..... ۶۰

۴-۳)پیشنهادات..... ۶۰

منابع..... ۶۱

فهرست جداول

**عنوان**.....**صفحه**

جدول ۱-۱) کاربردهای معمول از مدل‌های ساختمانی تطبیقی.....۱۳

جدول۳-۱) مقایسه‌ی RMSD بین مدل‌ها.....۴۵

جدول۳-۲) اسیدآمینه‌های درگیر در برهمکنش مدل hD2 براساس الگوی 2GHW با TNF-α در۵ حالت مختلف..... ۴۷

جدول ۳-۳) آمینواسیدهای hD2 درگیر در پیوند هیدروژنی با hTNF-α.....۴۹

جدول ۳-۴) آمینواسیدهای hD2 درگیر در پیوند هیدروژنی با hTNF-α.....۴۹

جدول ۳-۵) محاسبه‌ی انرژی پیوند به ازای هر اسیدآمینه در محل اتصال برای مدل hD2 براساس الگوی 2GHW.....۴۳

جدول۳-۶) نمایش تغییرات انرژی اتصالی در نتیجه‌ی جهش به آلانین در مدل ایجاد شده بر اساس الگوی 2GHW.....۴۴

جدول۳-۷) تغییرات انرژی پیوندی در نتیجه‌ی جهش به اسیدآمینه‌های مختلف.....۴۵

فهرست شکل‌ها

**عنوان**.....**صفحه**

شکل ۱-۱) ساختمان کریستالی TNF-α .....۳

شکل۱-۲) نمایشی از گیرنده های TNF-α و مراحل فعالسازی سیگنالینگ توسط TNF-α.....۴

شکل ۱-۳) نمایش مسیرهای سیگنالینگ TNF-α.....۷

شکل۱-۴) نمایشی از مراحل مدلبندی مقایسه‌ای.....۱۳

شکل۳-۱) توالی آنتی بادیD2 .....۲۸

شکل۳-۲) توالی تاملینسون.....۲۹

شکل۳-۳) توالی آنتی‌بادی تک زنجیره‌ای hD2 و CDR**های** آن.....۲۹

شکل۳-۴) نمایش همردیفی بین D2 و 2GHW با استفاده از نرم افزار ClustalW.....۳۰

شکل۳-۵) نمایش همردیفی بین D2 و 2YBR با استفاده از نرم افزار ClustalW.....۳۱

شکل۳-۶) نمایش همردیفی بین D2 و 2UZI با استفاده از نرم افزار ClustalW.....۳۲

شکل۳-۷) .مدل ساختاری بهینه شده‌ی انرژی hD2 براساس الگوی 2YBR.....۳۳

شکل۳-۸) مدل ساختاری بهینه شده‌ی انرژی hD2 براساس الگوی 2GHW.....۳۳

شکل۳-۹) مدل ساختاری بهینه شده‌ی انرژی hD2براساس الگوی 2UZI.....۳۴

شکل۳-۱۰) نمودار راماچاندران برای مدل ساختاری hD2 براساس الگوی 2YBR حاصل از نرم افزار ارزیابی مدل PROCHEC.....۳۵

شکل۳-۱۱) نمودار راماچاندران برای مدل ساختاری hD2 براساس الگوی 2GHW حاصل از نرم افزار ارزیابی مدل PROCHECK.....۳۶

شکل۳-۱۵) نمودار راماچاندران برای مدل ساختاری hD2 براساس الگوی 2UZI حاصل از نرم افزار ارزیابی مدل PROCHECK ..... ۴۱

شکل۳-۱۶) نمودار راماچاندران برای مدل ساختاری hD2 براساس الگوی 2YBR حاصل از نرم افزار ارزیابی مدل Molprobity ..... ۴۲

شکل۳-۱۷) نمودار راماچاندران برای مدل ساختاری hD2 براساس الگوی 2GHW حاصل از نرم افزار ارزیابی مدل Molprobity ..... ۴۲

شکل۳-۱۸) نمودار راماچاندران برای مدل ساختاری hD2 براساس الگوی 2UZI حاصل از نرم افزار ارزیابی مدل Molprobity ..... ۴۳

شکل ۳-۱۹) نوسان انرژی پتانسیل برای مدل ساختاری ایجاد شده hD2 براساس الگوی2YBR طی شبیه سازی دینامیک مولکولی ..... ۴۴

شکل ۳-۲۰) نوسان انرژی پتانسیل برای مدل ساختاری ایجاد شده hD2 براساس الگوی 2GHW طی شبیه سازی دینامیک مولکولی ..... ۴۴

شکل ۳-۲۱) نوسان انرژی پتانسیل برای مدل ساختاری ایجاد شده hD2 براساس الگوی 2UZI طی شبیه سازی دینامیک مولکولی ..... ۴۵

شکل۳-۲۲) نمایش داکینگ hD2-TNFα ..... ۴۸

شکل ۳-۲۳) نمایش پیوندهای موجود در کمپلکس hD2-TNF-α ..... ۵۰

شکل ۳-۲۴) نمایش پیوندهای موجود در کمپلکس hD2-TNF-α ..... ۵۰

شکل ۳-۲۵) نمایش پیوندهای موجود در کمپلکس hD2-TNF-α ..... ۵۱

شکل ۳-۲۶) نمایش پیوندهای موجود در کمپلکس hD2-TNF-α ..... ۵۱

**مقدمه:**

TNF-α[1] یک سایتوکاین چندعملکردی است که اساسا بوسیله ماکروفاژهای فعال شده ایجاد می‌شود(۱). یک جز ضروری در پروسه های التهابی است که واکنش های فاز بحرانی را تحریک می‌کند و نقش اساسی آن در تنظیم سلولهای ایمنی است(۲). بیان بیش از حد TNF-α سبب ایجاد بیماری‌های مختلف از جمله عفونت های شدید، سوء هاضمه، سرطان وبیماری های خود ایمنی می‌شود. هدف استراتژی‌های جدید درمانی مهار عملکرد TNF-α توسط پروتئین های اتصالیanti-TNF-α می‌باشد(۳).

آنتی بادی‌های کامل انسانی علیه TNF-α مورد توجه ترین ترکیبات برای استفاده به عنوان مواد درمانی می‌باشند(۴). برای طراحی آنتی بادی‌های این چنین نیاز به انجام طراحی و مدل‌بندی مولکولی می‌باشد. ساختار سه بعدی پروتئین توسط توالی اسیدآمینه‌ای آن تعیین می‌شود(۵). از سوی دیگر عملکرد بیوشیمیایی یک پروتئین توسط کنش متقابل آن با سایر مولکولها تعریف می‌شود و عملکرد بیولوژیکی آنها نتیجه‌ای از این کنش‌های متقابل است. شناسایی عملکرد یک پروتئین یکی از مشکلات رایج در بیولوژی است که نیازمند بدست آوردن اطلاعات دقیق از ساختمان سه بعدی پروتئین می‌باشد. ساختمان سه بعدی پروتئین به روش تجربی با استفاده از تکنیک NMR وکریستالوگرافی ممکن می‌باشد که استفاده از چنین تکنیک‌های تجربی پیشرفته مستلزم صرف هزینه‌های گزاف و دقت زیاد می‌باشد. کمتر از یک درصد از کل توالی اسیدآمینه‌ای پروتئین‌های شناخته شده توسط این دو روش شناسایی می‌شود. امروزه روش های محاسباتی مدلبندی مولکولی برای تعیین ساختمان و پیش بینی کنفورماسیون پروتئین‌ها مورد توجه بسیاری از دانشمندان قرار گرفته که بدین ترتیب سبب کاهش هزینه ها نیز می‌گردد. مدلبندی مولکولی براساس تشابه[1] از جمله‌ی این روش‌هاست که می‌تواند روش مناسب برای پیش بینی ساختار پروتئین‌مورداستفاده‌قرارگیرد(۶).

---

۱-Tumor necrosis factor- α

**مروری بر مطالعات گذشته**

TNF-α یک سایتوکاین پیش التهابی است که تاثیرات مختلفی را بر روی انواع مختلف سلولها دارد(۲). فاکتور اساسی در پاسخ به باکتری‌های گرم منفی و سایر ذرات عفونی می‌باشد. لیپوپلی ساکارید باکتریایی به عنوان مهم ترین القا کننده‌ی TNF-αمی‌باشد(۴).

TNF بر روی بازوی کوتاه کروموزوم۶ (p.۲۱.۳۶) در نزدیکی ژن‌های MHC[1] قرار گرفته است. ژن TNF بنام TNF-α در سال ۱۹۸۵ کلون شد. ژن TNF-α حدود ۳ کیلو باز اندازه دارد و شامل ۴ اگزون است، آخرین اگزون بیش از ۸۰ درصد پروتئین‌های ترشحی را کد می‌کند. منطقه mRNA 3′UTR در آن غنی از AU می‌باشد. از لحاظ ساختاری TNF–α به شکل یک مخروط مثلثی شکل است که هر مونومر آن از۲ صفحه بتا و هر صفحه بتا از ۸ رشته غیرموازی تشکیل شده است. TNF-α تاثیرات بیولوژیکی خود را از طریق ۲ گیرنده (۵۵KDa) R۱ و (۷۵KDa) R۲ اعمال می‌کند.

در حالی که سطح سرمی طبیعی TNF-α برای هموئوستاز ایمنی بسیار مهم است، تولید نامناسب و بیش از حد آن در ایجاد بیماری‌های مختلف انسانی مثل سرطان ، دیابت و... نقش دارد (۸،۹). بلوکه کردن فعالیت TNF-α در شرایطی که بیش از حد طبیعی تولید می‌شود، یک استراتژی درمانی تاثیرگذار است. آنتی بادی‌های مونوکلونال جهت دهی شده علیه TNF–α از جمله ابتدایی ترین روش‌های درمانی برای درمان بیماری‌های مربوط به TNF-α بود. در سال ۱۹۹۳ یک مونوکلونال آنتی بادی موشی بنام A۲ با تمایل و ویژگی بالا برای TNF–α انسانی ایجاد شد. با استفاده از تکنیک‌های مهندسی ژنتیک، برای افزایش فواید درمانی بخش ثابت انسانی را جایگزین بخش ثابت موشی کردند در حالی که مناطق اتصالی به آنتی ژن موشی باقی ماند (۱۰). مشکل اساسی آنتی بادی‌هایی از این نوع، پاسخ ایمونولوژی بالای نسبی آن است که به علت حضور توالی آنتی بادی موشی است که مانع از عملکرد صحیح ومناسب این ذرات به عنوان یک ترکیب درمانی می‌شود (۴). از این رو تحقیقات برای ترکیبات جدید علیه TNF-α انجام شد. از جمله این تحقیقات تمرکز بر روی آنتی بادی‌های موجود برای انسانی کردن آنها و کاهش

---

۱–Homology modeling

2-complementarity determining region

پاسخ ایمنی و افزایش تمایل اتصالی می‌باشد. به عنوان مثال یک مونوکلونال آنتی بادی موشی بنام m357 که فعالیت خنثی سازی بالایی نسبت به hTNF-α نشان می‌دهد، برای انسانی شدن مورد گزینش واقع شد. اسیدهای آمینه‌ی غیرحفاظت شده در مناطق ساختاری زنجیره‌های متغیر سبک و سنگین بوسیله شبیه سازی مولکولی m357 بوسیله برنامه‌های شبیه سازی همولوژی کامپیوتری مورد شناسایی واقع شد. پس از شناسایی این اسیدآمینه‌ها با جایگزینی آنها با همتاهای انسانی یک نسخه انسانی h357 ایجاد شد (۱۱). همچنین قبلا فعالیت خنثی سازی سه مونوکلونال آنتی بادی بنام های D2،E6،F6 بررسی شد. نتایج نشان داد که هر سه ی آنها می‌توانند فعالیت سایتوتوکسیته TNF-α را خنثی نمایند. میزان فعالیت خنثی سازی به صورت D2>F6>E6 می‌باشد (۱۲). با نتایج بدست آمده، در این مطالعه آنتی بادی D2 را به عنوان آنتی بادی مورد نظر برای طراحی و مدل‌بندی مولکولی انتخاب شد.

فصل اول:

# کلیات

## ۱-۱) سایتوکاین‌ها

سایتوکاین که از کلمات یونان cyto به معنی سلول و kinos به معنی حرکت گرفته شده است، مولکول های پروتئینی کوچک پیام رسان سلولی‌اند که بوسیله شمار زیادی از سلول‌ها ترشح می‌شود و به عنوان جزئی از مولکول‌های پیام رسان می‌باشند که بطور گسترده در ارتباطات بین سلولی نقش دارد(۱۳). سایتوکاین‌ها گلیکوپروتئین‌هایی با وزن مولکولی کم و یا پلی‌پپتیدهایی کوچک‌اند که به عنوان مولکول-های پیامبر داخل سلولی عمل کرده و در فرآیندهایی از جمله سیستم دفاع میزبان، رشد بافت، تعمیر، نگهداری و کنترل نئوپلاسم شرکت می‌کند.

مطالعات سلولی و مولکولی در طول دهه‌های ۱۹۸۰ و۱۹۹۰ قویا این امر را تایید کردند که سلول‌های ایمنی (لنفوسیت T و ماکروفاژ) و سلول‌هایی که بطور معمول جزء سلول‌های سیستم ایمنی محسوب نمی‌شوند (کراتینوسیت و فیبروبلاست)، طیف گسترده‌ای از سایتوکاین‌ها را طی دوره پاسخ ایمنی تولید می‌کنند، از آنجا که هر سایتوکاین توانایی تنظیم بیان خود و همچنین بیان سایر سایتوکاین‌ها را بصورت اتوکرین[1] و پاراکرین[2] دارد، پاسخ التهابی می‌تواند افزایش یابد و بنابراین باید به شدت کنترل شود (۱۴).

طی ۲۵ سال اخیر، سایتوکاین‌ها به عنوان ترکیبات مهم در پزشکی به عنوان مواد تشخیصی، پیش تشخیصی و درمانی در بیماری‌های انسانی مطرح شدند. استفاده از ترکیباتی که بطور ویژه فعالیت سایتوکاین را بلوکه می‌کند، بدرستی نقش سایتوکاین را در بیماری‌های یا در پاسخ‌های ایمنی نشان می-دهد (۱۵). در حالی که برخی از علل بیماری‌های التهابی مزمن ناشناخته است، بسیاری از آنها توسط عدم تنظیم شبکه‌های سایتوکاینی است که اغلب به سمت تولید سایتوکاین پیش التهابی هدایت می‌شود. در راس این شبکه سایتوکاینی فاکتور نکروز دهنده ی تومور (TNF-α) به عنوان آغازگر برای پاسخ التهابی بواسطه افزایش سنتز سایر سایتوکاین‌های پیش التهابی عمل می‌کند، از آنجا که کلونینگ TNF-α در اواسط دهه ۱۹۸۰ انجام شد، خواص بیوشیمیایی و بیولوژیکی آن بطور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۴).

---

1-Autocrine
2-Paracrine

## TNF-α (۲-۱

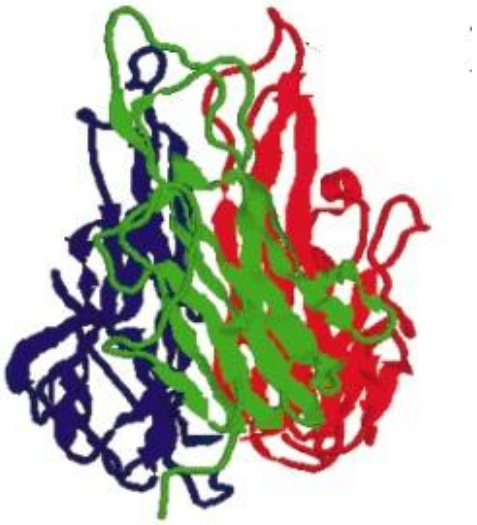
TNF-α انسانی یک سایتوکاین پیش التهابی با وزن مولکولی ۱۷ کیلو دالتون، حاوی ۱۵۷ اسید آمینه همراه با یک پیش توالی ۷۶ آمینواسیدی می‌باشد. TNF-α می‌تواند در فرم محلول یا غشایی وجود داشته باشد. فرم غشایی در واقع فرم پیرایش نیافته TNF-α می‌باشد که حاوی ۲۳۳ آمینواسید و ۲۶ کیلو دالتون می‌باشد (۱۶).

نوع غشایی TNF-α توسط آنزیم تبدیل کننده‌ی TNF-α (TACE)[1] که یک متالوپروتئیناز متصل به غشا است از محل اسیدآمینه‌های آلانین و والین شکسته و باعث تشکیل یک زنجیره‌ی پلی پپتیدی ۱۵۷ آمینواسیدی (۱۷کیلو دالتون) می‌شود سپس سه عدد از این زنجیره‌های ۱۷ کیلو دالتونی با هم پلیمریزه می‌شوند تا TNF-α موجود در گردش خون با وزن مولکولی ۵۱ کیلودالتون را تشکیل دهند. بعد از رها سازی TNF-α محلول باقی مانده‌های دمین سیتوپلاسمی به داخل سلول‌های تولید کننده‌ی TNF-α برمی‌گردند (۱۷,۱۸). گرچه هر دو فرم TNF-α دارای عملکرد است اما گفته می‌شود فرم محلول فعال تر است و با گیرنده‌ی نوع اول و نوع دوم TNF (TNFRII - TNFRI)[2] برای اعمال خود کنش متقابل دارد (۱۶).

TNF-α ترشحی شبیه هرم سه گوش است که هر ضلع آن توسط یک زیر واحد ساخته شده است و جایگاه‌های اتصال به گیرنده‌ها در قاعده‌ی هرم قرار دارند و این می‌تواند باعث اتصال همزمان سایتوکاین به سه مولکول گیرنده شود. مونومرها تقریباً ۶۰ انگستروم طول و ۳۰ انگستروم عرض دارند صفحات خارجی غنی از باقی مانده‌های هیدروفیل هستند در حالیکه صفحات داخلی هیدروفوب و دارای قطعه‌ی C ترمینال می‌باشند که در نزدیکی محور مرکز تریمرها قرار گرفته‌اند (۱۷و۱۹). ساختار TNF-α در زیر نشان داده شده است (شکل ۱-۱)(۱۹).

1-TNF-converting enzyme

2-TNF-α receptor I, TNF-α receptor II



شکل ۱-۱) ساختمان کریستالی TNF-α (۱۹)

## ۱-۲-۱) ژن کدکننده TNF-α

ژن TNF انسانی (TNF-α) اولین بار در سال ۱۹۸۵ کلون شد. ژن کد کننده فاکتور نکروز کننده تومور ژنی تک کپی است که بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ قرار داشته و تقریباً ۳ کیلوباز طول دارد. این ژن دارای چهار اگزون و سه اینترون می‌باشد. اگزون چهار بیش از ۸۰٪ توالی آن را در بر گرفته و اگزون های I و II توالی پپتیدی رهبر را کد می‌کنند. انتهای ′۵ ژن TNF-α دارای توالی‌های افزاینده κB[1] می‌باشد (۲۰).

## ۱-۲-۲) گیرنده‌های TNF-α

فعالیت‌های مختلف TNFα بواسطه دو گیرنده مجزا با افینیته‌ی بالا میانجیگری می‌شود که cDNA مربوط به هر دوی آنها جداسازی و شناسایی شده است (۱۶).

در شکل (۱-۲) گیرنده‌ی نوع I (TNFR1 یا TNFRI ) و گیرنده‌ی نوع II (TNFR2 یا TNFRII ) نشان داده شده است (۱۷).

1-κB enhancer elements