

مطالعه اسپکتروسکوپی اثر محافظ پرتویی نمک سریم بر تغییرات ساختاری پروتئین آلبومین سرم گاوی القاء شده توسط پرتو گاما

مستعان بحرینی پور^۱، سید علی موسوی زرنندی^۱، هاجر زارعی^{۱*}، خدیجه اسکندری^۲ و سوسن کبودانیان اردستانی^۳

^۱دانشگاه صنعتی امیرکبیر، تهران، ایران.

^۲پژوهشکده نانویوتکنولوژی، دانشگاه بقیه‌الله، تهران، ایران

^۳آزمایشگاه ایمنولوژی، مرکز تحقیقات بیوشیمی - بیوفیزیک، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

*تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر، دانشکده مهندسی انرژی و فیزیک، کدپستی: ۱۵۸۷۵-۴۴۱۳

پست الکترونیکی: h.zarei@aut.ac.ir

چکیده

پرتوهای یونیزان مانند پرتو گاما می‌توانند موجب تغییرات ساختاری و در نتیجه عملکردی پروتئین‌ها شوند. در این پژوهش، اثر پرتو گاما با دز درمانی ۳ گری و اثر محافظ پرتویی نمک سریم ($H_8N_8C_6O_{18}$) بر ساختار و بارسطحی پروتئین آلبومین سرم گاوی (BSA) بررسی شد. ساختار اول، دوم، سوم و بار سطحی پروتئین BSA به ترتیب با استفاده از طیف‌سنجی UV-Vis، دورنگ‌نمایی دورانی (CD)، طیف‌سنجی فلوروسانس و پراکندگی نور الکتروفورز (ELS) مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که دز ۳ گری پرتو گاما، پیوندهای کووالانسی پروتئین را تخریب نکرده و بنابراین ساختار اول حفظ شده است. از طرف دیگر، ساختار دوم و سوم پروتئین پرتو دیده تغییر یافته و BSA غیرطبیعی شده است. نتایج CD بیانگر کاهش ۷٪ ساختار دوم آلفا و افزایش در ساختار نامنظم است. همچنین نتایج نشان داد که سریم یک محافظ پرتویی قوی جهت مهار تغییرات ایجاد شده در ساختار دوم و سوم پروتئین BSA پرتو دیده می‌باشد.

کلیدواژگان: پرتوهای یونیزان، پرتو گاما، دز درمانی، محافظ پرتویی، آلبومین سرم گاوی، طیف‌سنجی، الکتروفورز، پراکندگی نور.

۱. مقدمه

یکی از گسترده‌ترین منابع تنش زیست محیطی، پرتوهای یونیزان مانند ایکس و گاما می‌باشد که باعث استرس اکسیداتیو، تغییرات متابولیک و همچنین ایجاد اختلال در پارامترهای بیوشیمیایی خون می‌شود [۱]. چندین دهه است که پرتوهای یونیزان گاما و ایکس در علوم مختلف از جمله پزشکی، جهت تشخیص و درمان مورد استفاده قرار گرفته است [۲]. اگرچه در پرتودرمانی، باریکه تابشی بر بافت

سرطانی متمرکز می‌شود اما اثرات جانبی آن بر بافت‌های نزدیک به تومور به علت دریافت مقداری از دز پرتو تأیید شده اولیه غیر قابل اجتناب می‌باشد. بنابراین، ضمن پرتودرمانی امکان آسیب رسیدن به پروتئین سلول‌ها وجود دارد که این امر از عوارض جانبی پرتودرمانی به‌شمار می‌آید [۳]. پرتوهای یونیزان می‌توانند به دو روش مستقیم و غیرمستقیم با تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به

ماکرومولکول‌های حیاتی از قبیل پروتئین و DNA خسارت وارد کنند و در نهایت موجب آسیب رساندن به سلول و بافت مربوطه شوند [۴، ۵].

پرتوهای یونیزان با سیستم‌های زیستی که حدود ۷۰٪ آن را محیط آبی تشکیل می‌دهد، برهم‌کنش کرده و گونه‌های اکسیژن فعال شامل رادیکال‌های هیدروکسیل و آنیون سوپراکسید و پراکسید هیدروژن تولید می‌کنند [۵]. ROSها به پروتئین‌ها از جمله آلبومین پلاسمای خون حمله می‌کنند و به آن آسیب قابل توجهی می‌رسانند [۶]. اثرات جانبی پرتودرمانی ممکن است تغییراتی در ساختار اول، دوم و سوم پروتئین ایجاد نمایند و همچنین موجب تکه‌تکه شدن^۱، جمع‌شدگی^۲ و یا اتصال عرضی^۳ پروتئین گردند [۷، ۸]. پروتئین آلبومین سرم خون، فراوانترین پروتئین پلازما است که وظیفه حمل فلزات، اسیدهای چرب، کلسترول، رنگدانه‌ها و داروها و همچنین تنظیم فشار اسمزی و PH خون دارد [۹]. بر این اساس مطالعه تغییرات ساختاری آن تحت تاثیر تیمارهای شیمیایی و فیزیکی مانند پرتوهای یونیزان، همواره مورد توجه محققین بوده است. در مطالعات، معمولاً از پروتئین آلبومین سرم گاوی^۴ (BSA)، به دلیل شباهت ساختاری زیاد، تهیه و تخلیص آسان و مقرون به صرفه‌تر بودن نسبت به نوع آلبومین سرم انسانی^۵ (HSA) استفاده می‌شود [۱۰]. BSA پروتئین تک‌رشته‌ای شامل ۵۸۵ اسیدآمین است و ۶۶ کیلو دالتون وزن دارد [۱۱].

جابر^۶ و همکارانش در سال ۲۰۰۴ تاثیر پرتودهی در دزهای ۰، ۰/۵، ۱ و ۵ کیلوگری را بر ساختار اول طیف‌سنجی

بررسی کردند. نتایج کلی مطالعات نشان داد که پرتودهی موجب اختلال در ساختار مولکول BSA، همچنین تجزیه، اتصال عرضی و تجمع زنجیره‌های پلی پپتیدی می‌شود. نتایج FTIR نشان داد که پرتودهی موجب انتقال ساختار دوم پروتئین BSA از پیچه‌های بتا^۷ به صفحات بتا^۸ می‌گردد [۷]. میشر^۹ و همکارانش در سال ۲۰۱۳، آسیب‌های ساختاری ناشی از پرتودهی آلبومین در دزهای ۲۰۰ تا ۱۲۰۰ گری را با فرولیکاسید کنترل نمودند و آن را یک محافظ‌پرتو مناسب معرفی کردند [۱۲].

محافظ پرتوها یا آنتی‌اکسیدان‌ها حداقل به مدت ۵۰ سال است که مورد مطالعه قرار گرفته‌اند [۱۳]. محافظ‌های پرتویی، ترکیبات طبیعی (ویتامین‌های E و C) [۱۴، ۱۵] و یا سنتزی (نانو ساختارها) [۱۶-۱۸] هستند که قادرند با مهار رادیکال‌های آزاد تولید شده، اثرات مضر تابش در سیستم‌های زیستی را کاهش دهند [۱۳]. محافظ پرتوها دو نوع سازوکار دارند: الف) سازوکار آنتی‌اکسیدانی، ب) سازوکار محرک سیستم ایمنی (ایمونومدولاتور) [۱۹] و برخی از محافظ پرتوها هر دو سازوکار را باهم دارا می‌باشند.

ترکیبات سریم در صنعت پزشکی به خصوص در مواد دارویی ضد تهوع و استفراغ استفاده می‌شود. همچنین در طب جهت مقابله با عوارض جانبی ناشی از بیهوشی و شیمی درمانی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۲۰].

در این پژوهش، پروتئین BSA توسط پرتو گاما با دز درمانی ۳ گری پرتودهی شد و اثرات آن بر ساختار مولکولی اول، دوم و سوم پروتئین و بار سطحی به ترتیب با روش‌های طیف‌سنجی و پراکنندگی نور

1-Fragmentation

2-Aggregation

3-Cross linking

4-Bovine Serum Albumin

5-Human Serum Albumin

6-Mohamed H. Gaber

7-b- tum

8-b- sheet

9-K. Mishra

پروتئینی، ۱/۵ ساعت بعد از پرتو دهی در دمای اتاق انجام گرفته است.

۳.۲. دستگاه‌های مورد استفاده

۱.۳.۲. طیف‌سنجی UV-Vis

برای بررسی تغییرات ایجاد شده ناشی از پرتو گاما در ساختار اول پروتئین BSA، طیف جذبی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (UV3100 Shimadzu, Japan) در محدوده ۲۰۰-۳۸۰ نانومتر ثبت گردید.

۲.۳.۲. طیف‌سنجی دو رنگ‌نمایی دورانی

طیف‌سنجی دو رنگ‌نمایی دورانی^۴ (CD) بر اساس اختلاف جذب نور پلاریزه چپ گرد و راست گرد طیف‌ها در ناحیه فرابنفش دور (۱۹۰-۲۶۰ نانومتر) به وسیله دستگاه اسپکتروپلاریومتر انجام شد. هدف از آنالیز فوق، دسترسی به درصد ساختارهای دوم و منظم BSA است. نتایج حاصل بر حسب بیضی‌واری مولی^۵ ($[\theta]$) (deg.cm².dmol⁻¹) و همچنین بر اساس متوسط وزن هر آمینواسید (MRW) ۱۲۵ دالتون و برای آلبومین سرم گاوی با وزن مولکولی ۶۶ کیلودالتون بیان شدند. بیضی‌واری مولی را می‌توان به صورت زیر محاسبه نمود:

$$[\theta] = (100 \text{ (MRW)} \theta_{\text{obs}} / \text{CL}) \quad (1)$$

در اینجا، θ_{obs} درجه بیضواری در طول موج مورد نظر، C غلظت پروتئین بر حسب mg/mL، L طول مسیر عبور نور در سل و MRW میانگین وزن یک دنباله اسید آمینه در پروتئین است.

۳.۳.۲. طیف‌سنجی فلوروسانس

جهت بررسی ساختار سوم، طیف‌های فلوروسانس ذاتی نمونه‌های BSA پرتو دیده و پرتو ندیده توسط اسپکتروفلورومتر (Japan)MPF-4Hitachi در غیاب و

الکتروفورزی^۱ (ELS) مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت اثر محافظ پرتویی نمک سریم برای پروتئین پرتو دیده BSA با روش‌های طیف‌سنجی متفاوتی بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد

برای تهیه نمونه‌ها جهت پرتو دهی، BSA از شرکت Sigma، نمک آمونیوم سریم نترات ($\text{H}_8\text{N}_8\text{CeO}_{18}$)، پتاسیم دی هیدروژن فسفات (KH_2PO_4)، دی پتاسیم هیدروژن فسفات (K_2HPO_4) و اسید کلریک (HCl) از شرکت Merck خریداری و بدون خالص‌سازی بیشتر استفاده شد. برای تهیه تمام محلول‌ها، از آب یون‌زدایی شده به عنوان حلال استفاده شده است. تمام نمونه‌های BSA به صورت تازه قبل از پرتو دهی در محلول بافر فسفات^۲ (PBS) با غلظت ۱۰ میلی-مولار و pH=۷ تهیه شدند.

۲.۲. پرتو دهی نمونه‌ها

پرتو دهی نمونه‌های BSA در حضور پرتو گاما ساطع شده از چشمه کبالت-۶۰ (^{60}Co) (تراترون، ۷۸۰E، کانادا) با دز درمانی ۳ گری، اندازه میدان پرتو دهی ۲۵cm×۲۵cm و ۸۰cm SSD^۳ به مدت ۳/۸۱ دقیقه در بیمارستان امام خمینی (ره) تهران، انجام شد.

به این منظور، نمونه‌های BSA با غلظت ۰/۴ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر در بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و pH=۷، در حضور نمک سریم و بدون آن در غلظت‌های ۵، ۲۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند. مطالعات طیف‌سنجی و ELS نمونه‌های

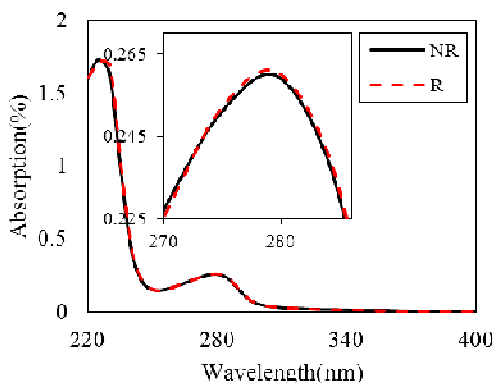
1-Electrophoretic Light Scattering

2-Phosphate-buffered saline

3-Source Skin Distance

4-Circular Dichroism (CD)

پیتیدی در زنجیره‌ی پلی‌پیتیدی پروتئین BSA است که در طول موج ۲۸۰ نانومتر بیشترین جذب را نشان می‌دهد [۱۱]. طیف‌های به‌دست آمده از نمونه پرتوندیده (NR) و پرتودیده (R) تغییرات محسوسی را در طول موج ماکزیمم و شدت پیک نشان نمی‌دهد. بنابراین، دز درمانی ۳ گری قادر به تخریب پیوندهای پیتیدی نبوده و ساختار اول بدون تغییر باقی مانده است.



شکل (۱): طیف جذبی BSA طبیعی (خط مشکی) و پرتو دیده (خط چین قرمز) محلول در بافر PBS ده میلی مولار و pH=۷

۲.۳. بررسی تغییرات ساختار دوم

طیف CD در ناحیه Far-UV (محدوده‌ی ۱۹۰-۲۶۰ نانومتر) محلول‌های پروتئین BSA پرتوده‌ی نشده و پرتوده‌ی شده با دز ۳ گری پرتو گاما در غیاب و حضور نمک سریم با غلظت‌های ۰، ۵، ۲۰ و ۲۵ mg/L، به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳، و بصورت تفکیک شده در شکل ۴ نشان داده شده است که نمایان‌گر ساختمان دوم ماریچی است. طیف‌ها شامل یک باند منفی با دو پیک کمینه^۴ در ۲۰۸ و ۲۲۲ نانومتر است که نشان دهنده‌ی بالا بودن محتوی ماریچج آلفا در ساختار BSA می‌باشد [۲۱]. به کمک نرم‌افزار تعیین ساختار دوم CDNN مدل ۲/۱، درصد هر کدام از ساختارهای دوم BSA در نمونه‌ها از روی طیف‌های CD آن‌ها بدست آمد که نتایج آن‌ها در

حضور نمک سریم انجام شد. طول موج تحریک ۲۸۰ نانومتر بود و پهنای نشر و جذب به ترتیب ۲/۵ و ۵ نانومتر تنظیم گردید.

۴.۳.۲. پتانسیل زتا

اغلب روی سطوح ذرات ریز و یا ماکروسکوپی در اثر تماس با یک محلول آبی، بارالکتریکی ایجاد می‌شود. پتانسیل زتا^۱ شاخص مهم و مفیدی برای نشان دادن این بار می‌باشد که می‌تواند برای پیش‌بینی و کنترل پایداری سوسپانسیون‌ها و امولسیون‌های کلوییدی استفاده گردد.

به‌عبارت دیگر پتانسیل زتا، تفاوت پتانسیل الکتریکی میان محیطی که پراکنش در آن رخ داده^۲ و لایه ساکن و بی-حرکی از سیال که متعلق به ذرات است؛ می‌باشد. پتانسیل زتای بیشتر، به معنای پایداری بهتر ذرات در سوسپانسیون است، زیرا ذرات باردار یکدیگر را دفع می‌کنند و بنابراین می‌توانند بر تمایلات ذاتی توده‌ای شدن^۳ غلبه کنند.

برای تعیین پتانسیل زتای BSA از محلول‌های پرتودیده و پرتوندیده در حضور نمک سریم با غلظت‌های ۰، ۵، ۸، ۱۲، ۲۰ و ۲۵ میلی‌گرم بر لیتر استفاده شد و به کووت‌های مربوطه منتقل گردید. برای انجام این مطالعات، دستگاه اندازه‌گیری پتانسیل زتا Brookhaven (Zetaplus, USA) برای پروتئین در حلال آبی در دمای محیط تنظیم شد.

۳. دستاوردها

۱.۳. بررسی تغییرات ساختار اول

شکل ۱، طیف جذبی BSA در ناحیه‌ی ۲۲۰ تا ۴۰۰ نانومتر را نشان می‌دهد. طیف به‌دست آمده نشان‌دهنده‌ی پیوندهای

1-Zeta Potential

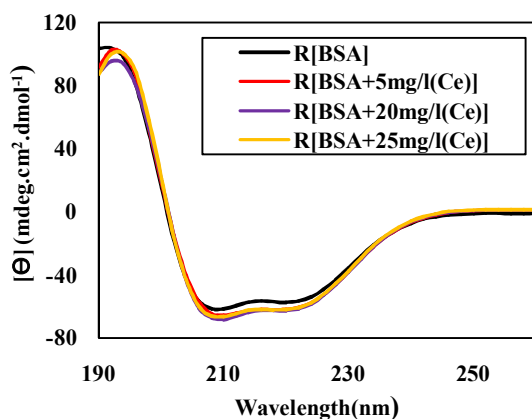
2-Dispersion Medium

3-Aggregation

4-Minimum

۳.۳. بررسی تغییرات ساختار سوم

تغییرات شدت فلئوئورسانس پروتئین در اثر عوامل خارجی نشان‌دهنده‌ی موقعیت تریپتوفان‌های پروتئین در ناحیه‌ی آب‌گریز^۲ یا ناحیه‌ی آب‌دوست^۳ است. به طوری که افزایش تغییرات شدت فلئوئورسانس نشان‌دهنده‌ی قرار گرفتن تریپتوفان‌ها در ناحیه‌ی آب‌گریز و کاهش شدت نشر نشان‌دهنده‌ی قرار گرفتن تریپتوفان‌ها در ناحیه‌ی آب‌دوست می‌باشد [۲۲].

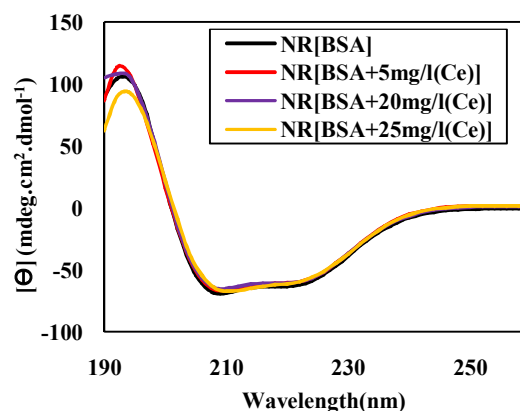


شکل (۳): طیف CD در ناحیه Far-UV. محلول پروتئین BSA پرتوده‌ی شده (R) در دز ۳ گری در حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم

نمونه‌های پرتوندیده در حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم در طول موج ۲۸۰ نانومتر تحریک و نشر حاصل از آن در طول موج‌های ۳۰۰-۴۴۰ نانومتر ثبت و در شکل ۵ ارائه شده است. شدت فلئوئورسانس نمونه‌ها با افزایش غلظت نمک سریم تغییر محسوسی نکرده که نشان می‌دهد نمک سریم اثری بر نواحی اطراف تریپتوفان نداشته‌است.

نشر فلئوئورسانس ذاتی نمونه‌های BSA پرتودیده در دز ۳ گری و میانگین نشر نمونه‌های پرتوندیده (NR) در حضور

جدول ۱ ارائه شده است. داده‌های موجود در جدول نشان می‌دهد که پرتوده‌ی BSA در دز ۳ گری سبب کاهش ۷ درصدی ساختار مارپیچ‌آلفا، افزایش ۳ درصدی ساختار پیچه‌های نامنظم^۱ و افزایش در ساختارهای بتا گردیده است. حضور نمک سریم با غلظت‌های ۰.۵، ۲۰ و ۲۵ mg/L سبب کاهش مارپیچ‌آلفا، افزایش پیچه نامنظم و افزایش ساختار بتای BSA پرتوندیده شده است و این تغییرات تقریباً ثابت و به غلظت نمک سریم وابسته نمی‌باشد (شکل ۲).



شکل (۲): طیف CD در ناحیه Far-UV. محلول پروتئین BSA پرتوده‌ی نشده (NR) در دز ۳ گری در حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم

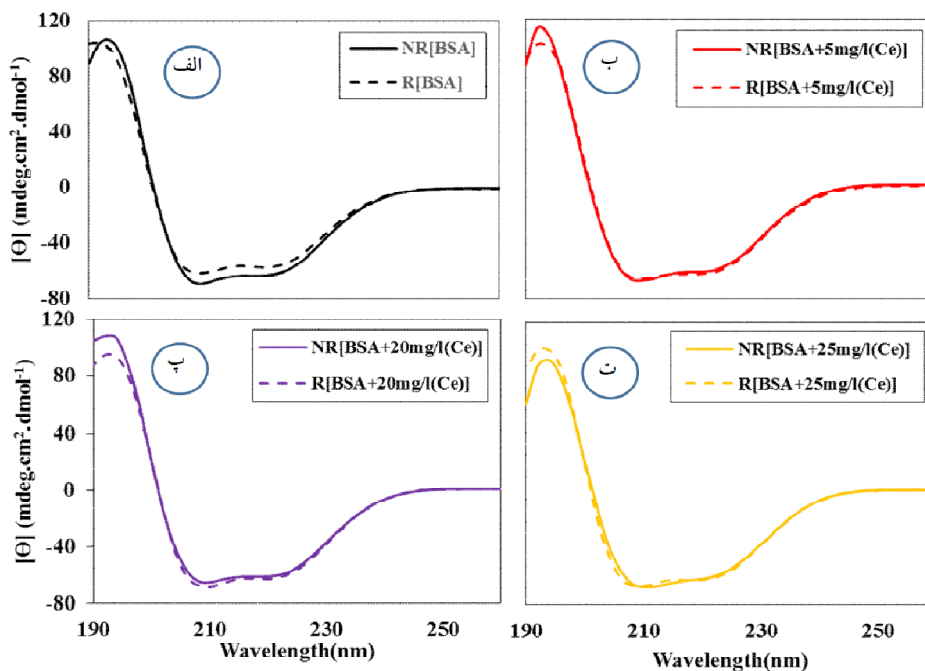
از طرف دیگر، حضور نمک سریم با غلظت‌های ۰.۵، ۲۰ و ۲۵ mg/L سبب افزایش مارپیچ‌آلفا، کاهش پیچه نامنظم و کاهش ساختار بتای BSA پرتودیده شده است (شکل ۳) و این تغییرات تقریباً ثابت است. مطابق شکل ۴ طیف CD نمونه پرتودیده و پرتوندیده در غلظت‌های ۰.۵، ۲۰ و ۲۵ mg/L تقریباً برهم منطبق می‌باشد. این نتایج اثر محافظ پرتویی نمک سریم را به خوبی نشان می‌دهد. پرتوده‌ی BSA سبب انتقال ساختمان منظم به ساختمان نامنظم می‌شود. این امر باعث ناپایدار شدن ساختار BSA می‌گردد، اما نمک سریم از این تغییرات جلوگیری می‌کند.

2-Hydrophobic

3-Hydrophilic

1-Random coils

غلظت‌های مختلف نمک سریم در شکل ۶ نشان داده شده- ادامه دارد. پس از آن شدت فلورسانس تقریباً به حالت پایدار است. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، پرتودهی سبب کاهش شدت فلورسانس BSA گردیده است. با افزایش غلظت سریم، میزان کاهش کمتر شده و این روند تا غلظت ۱۲mg/L



شکل (۴): طیف CD در ناحیه Far-UV، محلول پرتو تین BSA پرتو دهی شده (R) و پرتو دهی نشده (NR) در دز ۳ گری در حضور غلظت‌های ۰ (الف)، ۵ (ب)، ۲۰ (پ)، ۲۵mg/L (ت) نمک سریم

جدول (۱): درصد ساختارهای دوم BSA حاصل از تجزیه و تحلیل طیف‌های CD محلول پرتو تین BSA پرتو دهی نشده (NR) و پرتو دهی -

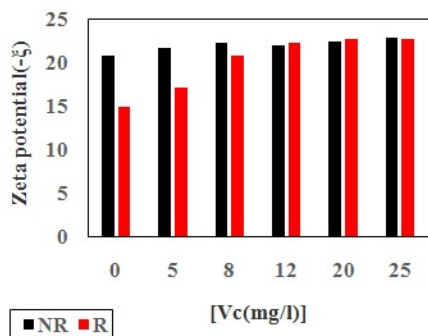
شده (R) در دز ۳ گری با حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم برنامه CDNN

Random. Coil (%)	b-turn (%)	b-sheet (%)	a-helix (%)	[V _C (mg/L)]	Dose(Gy)
NR					
۱۷/۴۰	۱۲/۹۸	۷/۵۰	۶۰/۱۰	۰	
۱۸/۳۰	۱۳/۲۵	۸/۰۳	۵۸/۰۵	۵	
۱۸/۷۵	۱۳/۳۰	۸/۱۵	۵۷/۵۳	۲۰	
۱۸/۴۵	۱۳/۱۸	۸/۰۳	۵۸/۲۳	۲۵	
R					
۲۰/۲۸	۱۳/۸۵	۹/۱۵	۵۳/۷۳	۰	
۱۸/۰۸	۱۳/۱۸	۷/۹۰	۵۸/۵۸	۵	
۱۷/۷۳	۱۳/۰۸	۷/۷۰	۵۹/۴۵	۲۰	۳
۱۸/۰۳	۱۳/۱۵	۷/۸۵	۵۸/۸۳	۲۵	

۴.۳. بررسی تغییرات بار سطحی

پتانسیل زتا، الکتروستاتیک بوده که به هر دو عامل بار سطحی و محیط احاطه‌کننده ذرات مربوط است. پتانسیل زتا در تمام نمونه‌های مورد بررسی منفی بوده که نشان می‌دهد اسیدآمین‌های منفی BSA در سطح از اسیدآمین‌های مثبت بیشتر است. پتانسیل زتای BSA پرتوندیده و پرتودیده به ترتیب $-20/8$ mV و $-14/9$ mV - اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل از پتانسیل زتا نشان می‌دهد که پرتو سبب تغییرات قابل ملاحظه‌ای در ساختار پروتئین گردیده است [۲۳]. بار سطحی موثر ذرات عمدتاً تعیین‌کننده‌ی پراکندگی و تجمع آن‌ها می‌باشد [۲۴].

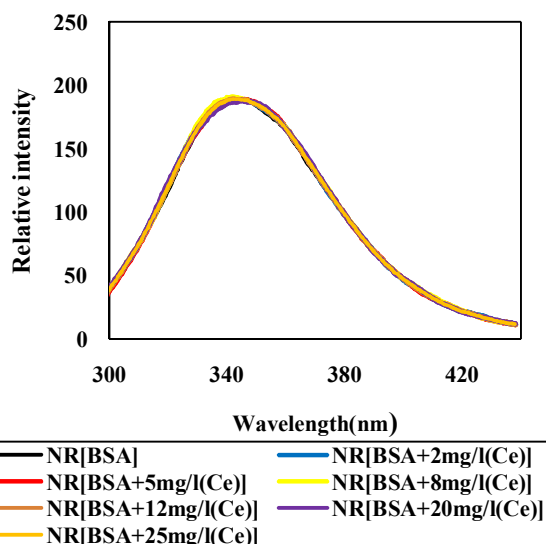
همچنین بار سطحی بر پایداری و ناپایداری پروتئین دلالت دارد که کاهش اندازه بار سطحی BSA سبب کاهش ثبات پراکندگی و پایداری آن می‌گردد. مطابق شکل ۷، حضور نمک سریم سبب افزایش اندازه‌ی پتانسیل زتای BSA پرتودیده در دز ۳ گری شده بطوری‌که در محدوده غلظتی $12-25$ mg/L، پتانسیل زتای نمونه BSA پرتودیده و پرتوندیده تقریباً برابر است.



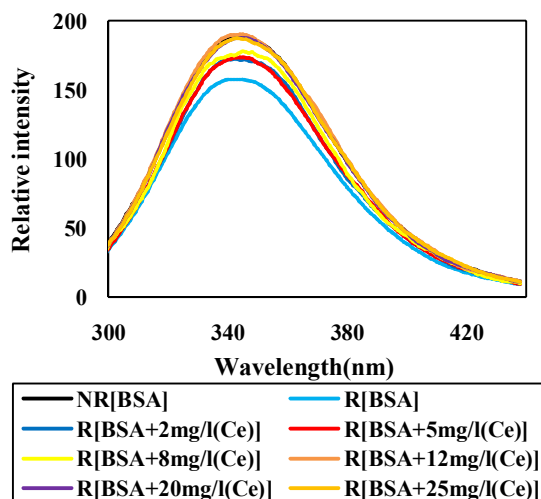
شکل (۷): ELS نمونه‌های BSA پرتوندیده (NR) و پرتودیده (R) در دز ۳ گری در حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم

۴. نتیجه‌گیری

در این مقاله، اثر پرتو گاما ساطع شده از ^{60}Co با دز درمانی ۳ گری بر ساختار مولکولی و بار سطحی پروتئین BSA و



شکل (۵): نشر فلورسانس ذاتی نمونه‌های BSA پرتوندیده (NR) در حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم با طول‌موج تحریک 280 نانومتر طول‌موج بیشینه‌ی نشر برای همه نمونه‌ها تقریباً ثابت و حدود 345 نانومتر است. غلظت 12 mg/L نمک سریم محافظ پرتویی مناسبی بوده و روند غیرطبیعی شدن ساختار BSA را به طرز چشمگیری کاهش داده است.



شکل (۶): نشر فلورسانس ذاتی نمونه‌های BSA پرتودیده (R) در دز ۳ گری و میانگین نشر نمونه‌های پرتوندیده (NR) در حضور غلظت‌های مختلف نمک سریم با طول‌موج تحریک 280 نانومتر

نکرده است. بنابراین پرتودهی سبب ناپایدار شدن ساختار پروتئین و آب‌دوست‌تر شدن نواحی اطراف تریپتوفان‌های آن گردیده است. نمک سریم در چند غلظت متفاوت، از تغییرات ایجاد شده بر پروتئین در اثر تشعشعات گاما جلوگیری کرد و غلظت بهینه محافظ‌پرتویی نمک سریم ۱۲mg/L تعیین گردید.

همچنین اثر محافظ‌پرتویی نمک سریم با روش‌های طیف‌سنجی متفاوتی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج طیف‌سنجی CD و فلورسانس نشان داد که پرتودهی تغییرات چشمگیری در ساختار دوم و سوم BSA ایجاد می‌کند. اما مطالعات طیف‌سنجی UV-vis نشان داد که ساختار اول تغییر

۵. مراجع

- 281 (1975) 945-947.
- [15] N. Singh, C.A. Cohen, B.A. Rzigalinski, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1122 (2007) 219-230.
- [16] S. BarathManiKanth, K. Kalishwaralal, M. Sriram, S.R.K. Pandian, H.-s.Youn, S. Eom, S. Gurunathan, (2010).
- [17] L. Gao, J. Zhuang, L. Nie, J. Zhang, Y. Zhang, N. Gu, T. Wang, J. Feng, D. Yang, S. Perrett, *Nature nanotechnology*, 2 (2007) 577-583.
- [18] M. Kajita, K. Hikosaka, M. Iitsuka, A. Kanayama, N. Tushima, Y. Miyamoto, *Free radical research*, 41 (2007) 615-626.
- [19] H.-J. Kim, M.-H. Kim, Y.-Y. Byon, J.W. Park, Y. Jee, H.-G. Joo, *Journal of veterinary science*, 8 (2007) 39-44.
- [20] <https://www.pinterest.com/londoncommodity/cerium/>.
- [21] D. Charbonneau, M. Beauregard, H.-A. Tajmir-Riahi, *The Journal of Physical Chemistry B*, 113 (2009) 1777-1784.
- [22] S. Zolghadri, A. Saboury, E. Amin, A. Moosavi-Movahedi, *Journal of the Iranian Chemical Society*, 7 (2010) S145-S153.
- [23] L. Jiang, J. Wang, Y. Li, Z. Wang, J. Liang, R. Wang, Y. Chen, W. Ma, B. Qi, M. Zhang, *Food Research International*, 62 (2014) 595-601.
- [24] X. Song, C. Zhou, F. Fu, Z. Chen, Q. Wu, *Industrial Crops and Products*, 43 (2013) 538-544.
- [1] S.A. Fattah, T.M. Fahim, N. El-Fatih, *Egyptian Journal of Hospital Medicine* (Oct. 2011), 45 (2011) 415.
- [2] C. Borek, *The Journal of nutrition*, 134 (2004) 3207S-3209S.
- [3] H.K. KB, M. Sabu, P. Lima, R. Kuttan, *Journal of radiation research*, 45 (2004) 549-555.
- [4] N. Madhu, *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9 (2013) 23-29.
- [5] M. Abdou, O. Abbas, *J Biosci Res*, 6 (2009) 1-11.
- [6] H.H. Mansour, H.F. Hafez, N.M. Fahmy, N. Hanafi, *Biochemical pharmacology*, 75 (2008) 773-780.
- [7] M.H. Gaber, *Journal of bioscience and bioengineering*, 100 (2005) 203-206.
- [8] K. Mishra, H. Ojha, S. Kallepalli, A. Alok, N.K. Chaudhury, *INTERNATIONAL JOURNAL OF RADIATION RESEARCH*, 12 (2014) 113-121.
- [9] N. El Kadi, N. Taulier, J. Le Huerou, M. Gindre, W. Urbach, I. Nwigwe, P.C. Kahn, M. Waks, *Biophysical journal*, 91 (2006) 3397-3404.
- [10] X.M. He, D.C. Carter, (1992).
- [11] M. Chen, Y. Liu, H. Cao, L. Song, Q. Zhang, *Journal of Luminescence*, 158 (2015) 116-124.
- [12] K. Mishra, P. Srivastava, N. Chaudhury, *Radiation research*, 176 (2011) 613-623.
- [13] J.S. Greenberger, *In vivo*, 23 (2009) 323-336.
- [14] J. Duchesne, R. Gilles, F. Mosora, *Comptesrendushebdomadaires des seances de l'Academie des sciences. Serie D: Sciences naturelles*,