

مشخصه های ساختاری پروتئین های غشا:

اکثر مشخصات عمومی ساختاری و ترمودینامیکی پروتئین های غشا از مقایسه با مشخصات پروتئین های محلول سیتوزولی بدست آمده است ، چگونه مشخصه های عمومی پروتئین های غشا با مشخصات عمومی پروتئین های محلول سیتوزولی مقایسه می شود؟

یک نمونه حضور پل های نمکی در برخی از پروتئینهای محلول سیتوپلاسمی است که نقش مهمی را ایفا می کند ، اما اندازه گیری های دقیق ترمودینامیکی که بر روی پروتئینه ای غشایی انجام شده است نشان می دهند که ثبات پل های نمکی از نظر ترمودینامیکی و انرژی در پروتئین های غشایی بسیار کم بوده لذا هیچ پل نمکی به طور کلی در پروتئین های ساختاری غشا وجود ندارد.

تجربه ای که بر روی یک ساختار پروتئین غشا انجام گرفته نشان داده شده که همه ی اسیدهای آمینه داخل پروتئین غشا تقریباً به صورت غیرقطبی بوده و به همان سختی و محکمی که پروتئینهای محلول سیتوپلاسمی بسته بندی می شوند ، این پروتئینها نیز بسته بندی می گردند. این مشاهدات برای تمامی ساختارهای پروتئین های α -helix غشا صدق نموده به جز پروتئین های کانالی که درون آنها با آب پر شده است. بنابراین داخل پروتئینهای محلول سیتوزولی است . همچنین درون پروتئین های غشایی مانند درون پروتئین های محلول سیتوپلاسمی از α -helix و β -sheet تشکیل شده است. هرچند که میانگین هیدروفوبیسیته داخل پروتئین های غشایی به اندازه میانگین هیدروفوبیسیته پروتئین های محلول سیتوپلاسمی است اما اسیدهای آمینه سطح بیرونی پروتئینهای محلول سیتوپلاسمی بیشتر هیدروفیل هستند .

یکی دیگر از مشخصه های متمایز کننده پروتئین های ساختاری این است که همهء آنها در فضا به یک مسیر مشابه سوق پیدا می کنند. برخی از اسیدهای آمینه مکان های خاصی را در طول پروتئین های α -

helix غشایی بر می گزینند. به عنوان مثال اسیدهای آمینه آرژنین و لیزین در نواحی ستوپلاسمی که به نواحی پری پلاسمایی (periplasma) پروتئین های غشا وابسته اند ، به وفور یافت می شود. این یافته ، پیش بینی توپولوژی پروتئین های غشایی را بهبود می بخشد. یکی از نمونه های بارز دیگر انتشار اسیدهای آمینه آروماتیک به ویژه فنیل آلانین (phe) ، تریپتوفان (trp) و تیروزین (Try) است که اغلب در مناطقی از پروتئین وجود دارد که با مناطق بینابینی (inter face) یعنی ناحیه ای که سرهای قطبی فسفولیپیدی غشا در تماس بیشتری با آن ناحیه قرار می گیرد. مطالعات آماری نشان می دهد که این مزیت در تمام پروتئین های غشایی وجود دارد.

مقایسه پروتئین های β -Barrel با پروتئین های α -helix

پروتئین های TM غشایی که به صورت صفحات β درمی آیند نسبت به آنهایی که α -helix بوده ، انعطاف پذیر تر بوده و راحت تر تشکیل بلور می دهند ، لذا ساختار تعدادی از صفحات β توسط روشی به نام X-ray christalography مشخص شده است (شکل 12-5 ص 38). تعداد کلاف های (رشته = strand) β در پروتئین هایی از نوع β -barrel گوناگون بوده و از 8 تا 22 رشته در پروتئین های مختلف تغییر می کند. β -barrel در غشاء خارجی میتوکندری ها، کلروپلاست ها و بسیاری از باکتری ها فراوان هستند. بعضی از آنها تشکیل کانالی در غشا می دهند که آب درون کانال ها را پر نموده و مولکول های هیدروفیل از این کانال ها عبور می کنند. پورین ها (porins) مثال بارز از β -barrel ها هستند که از 16 کلاف غیر موازی صفحات β تشکیل شده است . این کلاف ها گردهم آورده و تشکیل استوانه یا بشکه را می دهند. دنباله های هیدروفیل اسیدهای آمینه این پلی پپتیدها درون کانال را می پوشاند و برعکس دنباله های هیدروفوب اسیدهای آمینه در سطوح خارجی کانال قرار می گیرد و بالای لیپیدی برهم کنش می دهد. در این حالت اغلب چند حلقه پلی پپتیدی به سمت مجرای داخلی

کانال بیرون زدگی پیدا نموده و مسیر عبور را تنگ تر می نماید لذا فقط مولکول های خاصی می توانند از کانال ها عبور نمایند. این مکانیسم در پروتئین مالتوپورین که به مالتوز والیگومرهای مالتوزی اجازه عبور از غشاء خارجی E.Coli را می دهد دیده می شود.

در این شکل (شکل 5-12 ص 38) پروتئینی به نام **fepa** نشان داده شده است. این پروتئین بسیار پیچیده تر از سایر پروتئین های β -barrel بوده و به عنوان پروتئین ناقل یون آهن از عرض غشاء خارجی باکتری ها عمل نموده که از 22 رشته یا **Strand** ساخته شده و یک دومین **intramembranal** از نوع گلوبولار بسیار بزرگ دارد و داخل آن کاملاً پر شده است یون های آهن به این **domain** خاص متصل شده و تصور می شود که به هنگام انتقال آهن شکل فضایی این پروتئین تغییر می کند. از طرف دیگر همه β -barrel ها به صورت ناقل و یا کانال نبوده بلکه تعدادی به شکل لوله های کوچکی هستند که کاملاً توسط زنجیره های جانبی (**side chain**) اسیدهای آمینه پر شده است. عمل این پروتئین ها اغلب سپتوری بوده و یا در مواردی نقش آنزیمی نیز دارد. پروتئین های β -barrel اعمال متفاوتی برعهده دارند. همانطور که دیدید آنها به تعداد زیادی بر روی غشاء خارجی باکتری ها، میتوکندری ها و کلروپلاست حضور دارند. در عین حال بیشتر پروتئین های **TM** غشایی در سلول های یوکاریوت و در غشاء پلاسمایی باکتری ها از پروتئین های α -helix غشایی نیز ساخته شده اند. این **helix** ها می توانند روی یکدیگر سر بخورند که این حالت به پروتئین ها تغییر شکل فضایی (**Conformation change**) می دهد مانند کانال های یونی که می توانند باز و یا بسته شوند. از طرف دیگر از آنجایی که پروتئین های β -barrel کمتر قادر به تغییر شکل می باشند زیرا انعطاف پذیری کمتری دارند لذا دسته کمی از این پروتئین ها در ساختمان پروتئین های ناقل یونی

، آب و نیز پروتئین های تبدیل کننده سیگنال های خارج سلولی به داخل سلولی مشارکت می کند زیرا که تغییر شکل فضایی دیواره پروتئین های β -barrel بسیار بعید به نظر می رسد.

پروتئین های TM غشایی پلی پپتیدهایی هستند که به شکل α -helix از دولایه غشایی می گذرند :

بیشتر پروتئین های TM غشایی معمولاً یک جهت یابی منحصر به فرد در غشا دارد یعنی اینها اغلب در ER ساخته می شوند و سپس در دولایه لیپیدی قرار می گیرند. این نوع پروتئین های یک ناحیه سیتوزولی ، یک ناحیه خارج سلولی و یک زنجیره پلی پپتیدی دارند که همچنین پلی از غشا عبور نموده و دو ناحیه مذکور را به هم متصل می کند. ناحیه α -intramembranal اغلب از اسیدهای آمینه با زنجیره جانبی هیدروفوب تشکیل شده که با ناحیه هیدروفوب دولایه لیپیدی بر هم کنش می دهد. از آنجایی که خود پیوندهای لیپیدی قطبی بوده و از طرفی مولکول های آب در داخل غشا حضور ندارد بنابراین پیوندهای پپتیدی وادار می شوند تا با یکدیگر پیوند هیدروژنی تشکیل دهند ناراین تعداد پیوندهای هیدروژنی زمانی به حداکثر می رسد که زنجیره پلی پپتیدی به صورت α -helix درآید.

در نظر بگیرید که زنجیره پلی پپتیدی که وارد دولایه می شود و قرار است از تمام غشا بگذرد ، قبل از تغییر جهت ، زنجیره نیاز دارد خم شود بنابراین بایستی تعدادی پیوند هیدروژنی داشته باشد. پیوندهای هیدروژنی (H-bond) قبلاً دیدیم که در غیاب آب به حداکثر خود می رسد به این ترتیب پروتئین هایی که چند بار از غشا می گذرند فشرده می شوند به طوری که داخل فضای α -helix با هسته هیدروفوبیک (Hydrophobic Core) دولایه لیپیدی تماس بسیار کمی دارند. این ناحیه از پروتئین ها نیاز به برقراری پیوند هیدروژنی زیادی ندارند و آنها می توانند ساختار های دوم پروتئین متفاوتی داشته باشند. به این دلیل اکثر پلی پپتیدهای TM غشایی پیچ خورده و می توانند به صورت SINGLE

PASS و Multipel Pass از غشا عبور نمایند. در زنجیره های پلی پپتیدی چند بار TM، یک راه دیگر برای ارضاء نیاز به تشکیل پیوند هیدروژنی عبور از غشا به صورت صفحات β می باشد. به این ترتیب که صفحات β گرد هم آمده و ساختار لوله مانندی را ایجاد می کنند که همان β - barrel ها هستند به عنوان مثال در β - barrel های پورین تعداد پیوندهای هیدروژنی زمانی حداکثر می شود که هر رشته (STAND) تمام عرض غشا را طی کرده باشد. از آنجایی که پروتئین های اینتگرال از نوع α - helix به سختی متبلور می شوند بنابراین روش کریستالوگرافی برای تعیین ساختار آنها کاربرد چندانی ندارد. در صورتی که پروتئین های β - barrel همانطور که دیدید انعطاف پذیرتر بوده و راحت تر تشکیل بلور می دهند. امروزه مطالعه ساختار و عمل domin های مختلف پروتئین های TM با ارزش است. به عنوان مثال مطالعه ساختار α - helix چند بار گذرنده از غشا با پروتئین های یک بار گذرنده از غشا یکسان است. دو α - helix گذرنده از غشا دارای توالی آمینو اسیدهای هیدروفوب بوده و شامل اطلاعاتی است که میان کنش Pro-Pro (pro-pro interaction) را ایجاد می کند. به عنوان مثال در α - helix نشان داده شده در کانال آبی Aquaporin.

امروزه جهت مطالعه و بررسی عملکرد domin های زنجیره های پلی پپتیدی α - helix از نوع TM می توانیم از یک آنزیم پروتئاز استفاده کنیم که پورهای زنجیره های پلی پپتیدی را که α - helix های متصل به یکدیگر را بریده و سپس helix هایی را که با هم می مانند و به طور طبیعی عملشان را انجام می دهند با این روش مشخص می گردد. در روش های دیگر می توان به وسیله مهندسی ژنتیک نشان دهیم که کدام تکه های جدا شده از یک پروتئین T.M در سلول زنده کد نمی شود و می توان فهمید که کدام یک از تکه های جدا شده به طور صحیح جمع می شوند تا یک پروتئین اینتگرال کاربردی را تشکیل دهند. ساختار α - helix های پروتئینی چند بار گذرنده از غشا در حالتی ویژه به وسیله helix نزدیک به هم تعیین می

شود. این میان کنش ها برای ساختار و عمل بسیاری از کانال ها و ناقل ها که مولکول ها را از دولایه لیپیدی جابه جا می کنند لازم است. در پروتئین های T.M که چند بار از غشا گذشته اند، ساختار پروتئین توسط لیپیدهای غشا حمایت می شود. ترکیب این helix ها از نوع آمینواسیدهای هیدروفوب بوده و در شکل 5-16 ص 20 چگونگی folding پروتئین های T.M نشان داده شده است.

بیشتر پروتئین های غشا گلیکوزیله هستند :

در یک گلیکولیپید، قند در فضای آندوپلاسمی و یا گلژی به آن اضافه می شود به این دلیل زنجیره های اولیگوساکاریدی همیشه روی سطح EF (در سطح غیر سیتوزولی) غشا حضور دارند. یک تفاوت بین پروتئینهای دوطرف غشا ناشی از تغییرات محیطی سیتوزول است این محیط احتمال تشکیل پیوندهای دی سولفیدی بین مولکولی (interchain disulfate bond) و پیوندهای درون مولکولی (intrachain disulfate bond) (شکل 5-18 ص 19) که بین اسیدهای آمینه سیستئین (cys) در لایه سیتوزولی (pf) رخ می دهد را کم می کند. این پیوند ها غالبا در نیمه EF غشا شکل می گیرد و در پایداری هر چه بیشتر ساختار folded پلی پپتیدها کمک می نماید.

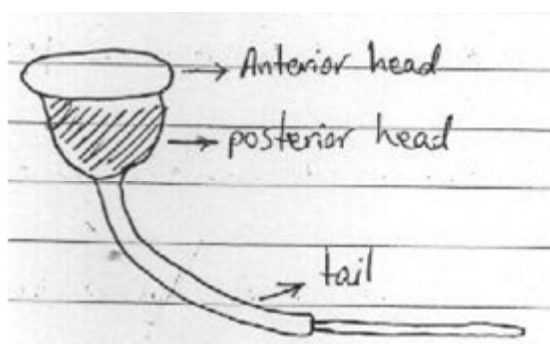
به عنوان یک تانوم، پروتئین ها یغشاء پلاسمایی به صورت عریان در سطح خارجی سلول قرار نمی گیرد بلکه توسط کربوهیدراتها پوشیده می شوند. این کربوهیدرات ها تمام سلول یوکاریوتی را می پوشانند و به صورت الیگوساکارید به مولکول های پروتئینی و یا به مولکول های لیپیدی متصل می شوند. همچنین کربوهیدرات های مذکور به صورت الیگوساکاریدی به پروتئوگلیکان های بنیادی غشا نیز متصل می شوند. پروتئوگلیکان ها دارای یک هسته پروتئینی و زنجیره های بلند پلی ساکاریدی می باشند و عمدتا در خارج از سلول به عنوان بخشی از ماهه ضمیمه ای خارج از سلولی یافت می شود.

در بعضی موارد پروتئوگلیکان های بخش پروتئینی به دولایهء لیپیدی متصل می شوند. اطلاع پوشش سلولی و یا گلیکوکالیکس (Glyco calyx) اغلب برای اشاره به منطقهء مملو از کربوهیدرات های سطح سلول استفاده می شود. این منطقه را می توان با رنگ آمیزی های مختلف برای اشاره به منطقهء مملو از کربوهیدراتهی سطح سلول استفاده می شود. این منطقه را می توان با رنگ آمیزی های مختلف از جمله **Rotenium Red** مشاهده نمود. این ترکیب رنگی میل ترکیبی شدیدی با پروتئین های لکتینی دارند اخیرا مشخص شده که لکتین های متصل به غشای پلاسمایی، الیگوساکاریدهای خاصی را در سطح سلولها وارد عمل می نماید. فرآیندهایی از قبیل برهم کنش اسپرم و تخم، انعقاد خون و پاسخ های تحریک برانگیز التهابی مثال هایی از این نوع هستند.

گلیکوکالیکس، هم شامل گلیکوپروتئینها و هم شامل گلیکولیگاندهای بنیادی است. این مولکول ها به فضا های خارج سلولی ترشح شده و در طرح خارجی سلول جای گیر می گیرند. یکی از کاربرهای معمول گلیکوکالیکس محافظت از سلول در برابر آسیب های شیمیایی و فیزیکی است. همچنین گلیکوکالیکس بین اجسام خارجی و سلول های مجاور فاصله می اندازد تا از برهم کنش نامطلوب پروتئین ها روی یکدیگر جلوگیری به عمل آورد. زنجیره های جانبی الیگوساکاریدی گلیکوپروتئین ها و گلیکولیپیدها بسیار منشعب می باشد و اگر چه اغلب کمتر از 15 مونوساکارید دارند اما بسیار شاخه دار هستند. این مونوساکاریدها با انواع اتصالات در خارج سلول به یکدیگر پیوند خورده و تشکیل شبکه هایی را به نام **GMN (Global molecular network)** می دهند که انشعابات الیگوساکاریدی در سطح سلول در فرآیند های شناسایی سلولی موثر بوده و باعث شناسایی نوع سلول می شوند.

محصورشدن پروتئین ها و لیپیدها در یک ناحیه خاص از غشا:

امروزه روشن شده است که تصور حرکات آزادانه پروتئین ها در غشاء پلاسمایی تصویری بسیار ساده انگارانه است. بسیاری از سلول ها از روش هایی استفاده می کنند که پروتئین های غشا را در نواحی خاصی محصور می نماید مثال بارز این موضوع در سلول های اپیتلیومی که مخاط روده و یا لوله های کلیوی را می پوشانند دیده می شوند، به طوری که بعضی از آنزیم های غشاء پلاسمایی و پروتئین های انتقال دهنده در سطح لومینال سلول محصور می شوند در حالی که سایر پروتئین ها نظیر Na^+K^+ ATPase در سطوح قاعده ای جانبی (basolateral) قرار می گیرد. این عدم تقارن در پراکندگی پروتئین ها برای عملکرد سلول های اپیتلیومی ضروری است. همچنین ترکیب لیپیدی این دوناچه نیز متفاوت می باشد. این موضوع ثابت می کند که سلول های اپیتلیومی می توانند جلوی انتشار مولکول های لیپیدی را گرفته، در عین حال جدایی پروتئین ها و لیپیدها توسط موانع بخصوصی حفظ می شوند. این موانع در واقع نوعی پیوند گاه می باشند که به آنها اتصالات فشرده یا **tight junction** اطلاق می گردد. مسلماً پروتئین های غشا که ساختار این اتصالات درون سلولی را می سازند هیچ گونه آزادی حرکات جانبی ندارند. همچنین یک سلول می تواند نواحی خاصی را در غشای پلاسمایی بدون استفاده از اتصالات درون سلولی ایجاد نماید. به عنوان مثال اسپرم پستانداران سلولی است که از بخش های ساختاری و عملکردی مجزایی تشکیل شده است. این سلول توسط یک غشای پلاسمایی پیوسته پوشیده می شود. هنگامی که یک اسپرم توسط آنتی بادی های گوناگو به روشهای ایمونوفلورسانس نشان دار می شوند مشاهده گردیده که غشاء پلاسمایی اسپرم از سر بخش مجزاتشکیل شده است.



میان کنش بین پروتئین های غشای پلاسمایی با پروتئین های اسکلت سلولی :

ویژگی مقعر بودن دوطرفه سلولهای قرمز و نتیجه آن میان کنش های بین غشای پلاسمایی با اسکلت سلولی زیرین است که اساساً شامل پروتئین های فیلامنت شبکه ای به نام اسپکترین (spectrine) می باشد. اسپکترین ، پروتئین های میله ایبلند و نازکی هستند که حدود 200 mm طول و وزن مولکولی 400 هزار دالتون دارد. فیلامنت های اسپکترین اغلب به طور بسته با سطح سیتوزولی غشا در ارتباط می باشد. اسپکترین قادر است که استرس های وارده به غشا را تحمل کند. موش و انسان با نقص ژنتیکی در اسپکترین دچار کم ونی داسی شکل می شوند. در واقع با کمبود اسپکترین کم خونی افزایش پیدا می کند. این پروتئین باعث تشکیل اسکلت سلولی شبکه ای در زیر غشاء پلاسمایی گلبول قرمز می شود که از این طریق انتشار پروتئین ها را محدود کرده و مانع انتشار آزاد پروتئین های غشا می گردد زیرا پروتئین های غشا به آن متصل هستند. این مساله پروتئین های غشا را در domain های کوچک محدود می کند.

تحقیقات نشان می دهد که گاه گاهی جنبشهای حرارتی باعث می شوند که لایه های فیلامنتی اسپکترین کمی از غشا به طور گذرا جدا شده و به پروتئینه اجازه عبور به داخل domain های کوچک

داده شود اما به طور کلی انتشار پروتئین ها بسیار نادر ولی سریع بوده و در هر domain اختصاصی محدود شده است.

اسپکترین مولکول ترکیبی است که در سمت سیتوپلاسمی غشاء پروتئین ناقل آنیونی (Anion transport protein) متصل می شود. اسپکترین شامل دو زیر واحد است یک زیر واحد α با وزن مولکولی 240 هزار دالتون و β با وزن 225 هزار دالتون. این زیر واحدها به دور یکدیگر پیچیده شده و به صورت سربه سربه هم متصل می شوند و یک تترامر به طول 200 نانومتر را به وجود می آورند. اسپکترین از یک طرف به فیلامنت های حاوی اکتین سیتوپلاسم و از طرف دیگر به پروتئین دیگری به نام Ankyrine متصل است. Ankyrine به نوبه خود به یک پروتئین یک پارچه غشای اریتروسیت که به آن پروتئین 3- tetramer با وزن مولکولی 100 هزار دالتون اطلاق می شود، اتصال می یابد (شکل ص 12) این پروتئین 3-tetramer به عنوان یک گذرگاه آنیونی در غشاء اریتروسیت عمل می نماید. اگر اسپکترین از سلول استخراج شود غشاء اریتروسیت خرد شده و به صورت وزیکول های کوچکی درمی آید که نشان دهنده اهمیت این پروتئین به عنوان قسمت مهمی از cytoskeletal غشایی است. پروتئین های مشابه اسپکترین در سلول هایی از قبیل اپیتلیومی روده یافت شده است ، نظیر پروتئین fodrine که این پروتئین از نظر ساختمان و عمل با اسپکترین تشابه دارد. پروتئین های مذکور به ثابت نگه داشتن شکل این سلولها از طریق مشارکت در اسکلت زیر غشایی کمک می نماید.

باکتریوردوپسین یک پمپ نوری در غشای دولایه:

باکتریوردوپسین از اولین پروتئین های TM غشایی بوده که ساختارش مشخص گردید. غشاء ارغوانی از هالوباکتریوم سالینارومی (Halobacterium salinarum) دارای یک بخش ویژه در غشاء پلاسمایی است که شامل یک نوع پروتئین سیگنالی ویژه به نام باکتریوردوپسین است. انواع خاصی از

باکتری های هالوفیل مانند هالوباکتریوم سالینارومی قادرند که با استفاده از انرژی نور خورشید ATP را سنتز نمایند وکلروفیل در این فرآیند درگیر نمی باشد. غشاء این باکتری ها دارای پروتئین باکتریوردوپسین بوده که حاوی رنگیزه خاصی است به طوری که انرژی نور خورشید را جذب نموده و پروتون به خارج از سلول پمپ می کند که موجب ایجاد شیب الکتروشیمیایی در عرض غشاء باکتری و سنتز ATP می شود. پروتئین باکتریوردوپسین یک پروتئین پروموفور (Promofor) بوده و ارغوانی است و در ساختمان آن شکلی از ویتامین A (رتینال= Retinal) شرکت دارد. رتینال به طور کووالانسی به زنجیره جانبی اسیدآمینه لیزین پروتئین باکتریوردوپسین متصل است. وقتی مولکول رتینال به وسیله یک سیگنال نوری فعال شد، پروموفور تحریک شده و شکل آن تغییر می کند و سبب یک تغییر conformation کوچک در پروتئین می شود که در نتیجه آن یک پروتون از داخل به خارج جا به جا می شود..

با تحریک نور، هر مولکول باکتریوردوپسین می تواند چند درصد پروتون را در هر ثانیه پمپ نماید. نور با جا به جا کردن پروتون یک گرادیان در غشای پلاسمایی ایجاد می نماید . یک عضو از خانواده بزرگ پروتئین های غشایی با ساختارهای مشابه و اعمال مختلف است که تحت عنوان خانواده GPCR (G-protein coupled receptors) نامیده می شود. باکتریوردوپسین در سلولهای شبکه مهره داران و پروتئینهای گیرنده سطح سلولی که مولکول های سیگنالی خارج سلولی به آن متصل می شوند حضور داشته و از هفت α -helix گذرنده از غشا (T.M) ساخته شده است.. عمل این پروتئین ها جا به جا کردن سیگنال هاست بطوری که همهء پاسخ ها به یک سیگنال خارج سلولی به وسیله فعال شدن پروتئین های درون سلولی انجام می شود. هر مولکول باکتریوردوپسین که به شکل α -helix می باشد از میان دولایهء لیپیدی گذشته و زنجیره آن اندکی با