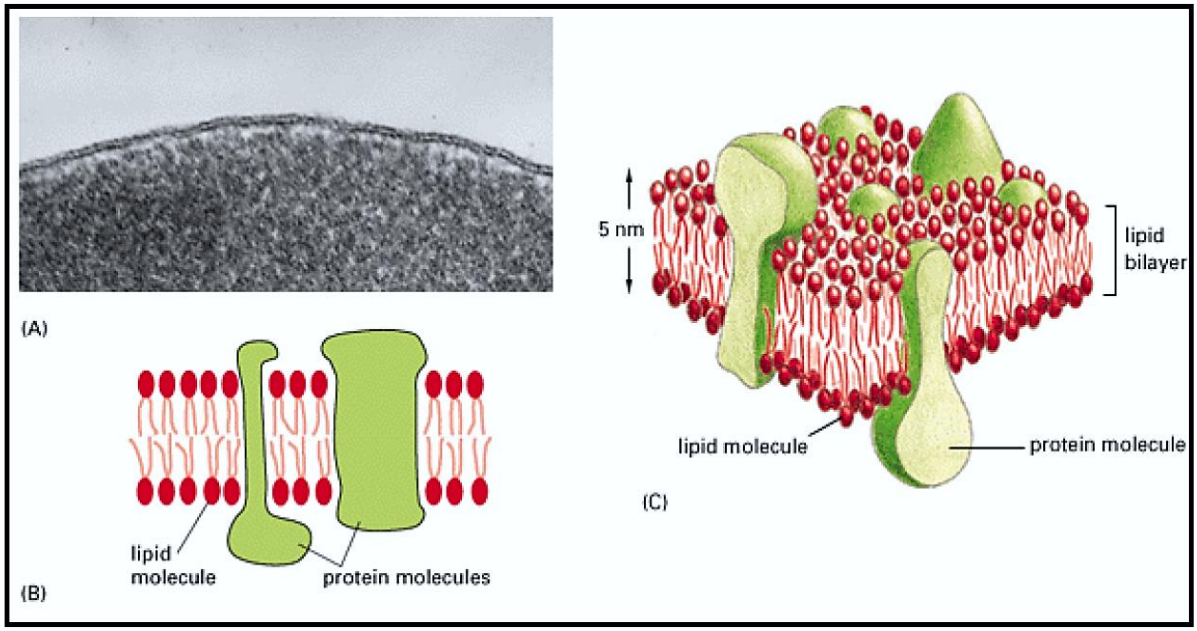
فصل اول: غشاء پلاسمایی

غشاء پلاسمایی سبب جدا سازی سیتوپلاسم و محیط سلول می گردد. این غشاء یک فیلتر با خاصیت انتخاب پذیری بسیار بالا بوده و ورود مواد مغذی و خروج مواد دفعی از سلول را کنترل می نماید. غشاء سلول در ایجاد اختلاف غلظت یون ها بین داخل و خارج سلول نقشی اساسی دارد. از طرفی غشاء سلول به عنوان یک حس گر برای سیگنال های خارجی عمل نموده و سلول را قادر می سازد تا به محرک های محیطی پاسخ دهد. تمامی غشاء های بیولوژیکی همچون غشاء پلاسمایی و اندامک های داخلی سلول های یوکاریوتی دارای یک ساختار عمومی هستند که عبارت است از ترکیب لیپید و پروتئین که توسط پیوندهای غیر کووالانسی در مجاورت هم نگه داشته شده اند. غشاءهای سلولی ساختارهای مایع و دینامیک بوده و بیشتر مولکول های لیپید و پروتئین آن قادر هستند در صفحه غشایی تحرک داشته باشند.

مولکول های لیپیدی غشاء به صورت دو لایه و با ضخامت ۵ نانومتر در غشاء مستقر هستند. این مولکول های لیپیدی دو لایه، ساختار اصلی غشاء را تشکیل داده و به عنوان سدی نسبتاً نفوذناپذیر در برابر عبور ترکیبات محلول در غشاء عمل می کنند.

مولکول های پروتئینی موجود در غشاء، عملکردهای ویژه ای دارند و به عنوان مثال برخی پروتئین ها سبب انتقال مولکول های ویژه به داخل یا خارج سلول شده و برخی دیگر به عنوان آنزیم عمل می نمایند.



شکل ۱-۱: ساختار سه بعدی از بخش کوچکی از غشاء سلول. (A) میکروگراف برش عرضی غشاء زیر میکروسکوپ الکترونی. (B و C) طرح های شماتیک از ساختار دو بعدی و سه بعدی غشاء سلول.

برخی دیگر از پروتئین های غشاء سبب اتصال غشاء پلاسمایی به سیتواسکلتون و یا سبب اتصال به ماتریکس خارج سلولی و یا سلول مجاور می گردند. گیرنده های غشاء نیز ساختار پروتئینی داشته و به سیگنال های خارجی و محیطی پاسخ گو می باشند.

غشاء های سلولی ساختارهای نامتقارنی می باشند چرا که لیپیدها و پروتئین های سطح خارجی و داخلی غشاء با همدیگر متفاوت بوده و در نتیجه از نظر عملکرد نیز یکی نیستند.

دو لایه لیپیدی غشاء

ساختار دو لایه لیپیدی غشاء اولین بار از مطالعات انجام شده روی غشاء گلبول های قرمز در سال ۱۹۲۵ آشکار شد. به کمک تکنیک های تفرق اشعه ایکس[۱] و تکنیک شکست انجمادی[۲]، دو لایه ای بودن لیپیدهای غشاء به اثبات رسیده است. لیپیدهای غشاء مولکول های آمفی پاتیک[۳] می باشند. مولکول های لیپیدی در آب غیرمحلول بوده ولی در حلال های آلی به راحتی حل می شوند. لیپیدها حدود ۵۰٪ غشاء پلاسمایی سلول های حیوانی را تشکیل می دهند. در یک سلول حیوانی کوچک حدود ۱۰[۶] مولکول لیپیدی شرکت می نمایند. سه نوع اصلی لیپیدهای غشاء عبارتند از: الف) فسفولیپیدها[۴] ب) کلسترول[۵] و ج) گلیکولیپیدها[۶]. هر سه نوع لیپیدها آمفی پاتیک یا آمفی فیلیک[۷] می باشند. یعنی دارای یک انتهای آب دوست (یا قطبی) و یک انتهای آب گریز (غیرقطبی) می باشند. به عنوان مثال، یک مولکول فسفولیپید نمونه در شکل ۱-۲ نشان دهنده یک گروه سر قطبی و دو دم هیدروکربنی آب گریز می باشد. دم فسفولیپید از نظر مولکول متغیر می باشد (معمولاً بین ۱۴ الی ۲۴ اتم کربن در ساختار دم شرکت می نماید).

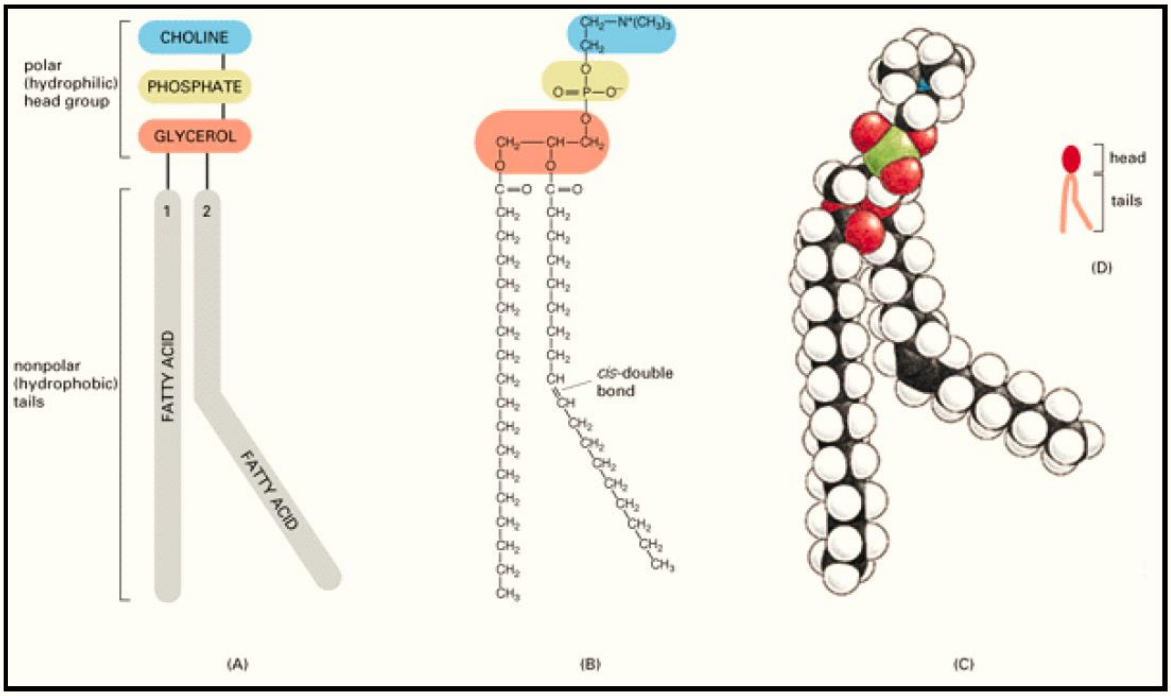
از طرفی حضور یا عدم حضور باندهای دوگانه سیس[۸] در دم های مختلف، متفاوت می باشد. باندهای دوگانه سبب ایجاد وضعیت غیر اشباع در لیپید می گردند. طول دم و اشباع بودن لیپید، دو فاکتور مؤثر در میزان سیالیت غشاء می باشند.

طبیعت آمفی پاتیک مولکول های لیپیدی سبب می شوند تا آنها در محیط های آبی، تشکیل یک ساختار دو لایه را بدهند. با قرار گرفتن لیپیدها در محیط های آبی، دم های آب گریز آنها به سمت داخل و سرهای قطبی

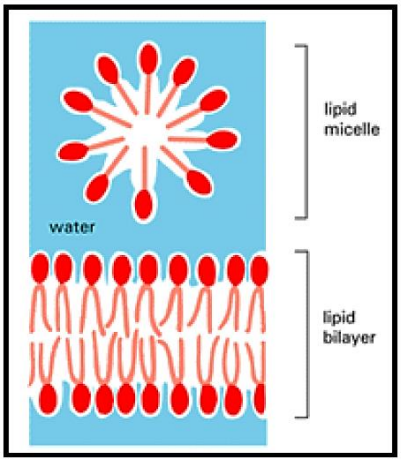
---

۱. X-ray diffraction
۲. Freeze-fracture
۳. Amphipathic
۴. Phospholipids
۵. Chlesterol
۶. Glycolipids
۷. Amphiphilic
۸. Cis-double bonds

و آب دوست آنها به سمت محیط آبی تجمع می یابند. ای نوع تجمع سبب می شود تا مولکول های لیپیدی در محیط های آبی به دو شکل میسل[۱] و دو لایه[۲] سازمان دهی شوند.



شکل ۱-۲: ساختار مولکول فسفولیپید (فسفاتیدیل کولین) به صورت شماتیک (A)، فرمول شیمیایی (B)، مدل فضایی (C) و به صورت نشانه ای (D) به تصویر کشیده شده است. باند سیس دوگانه در مولکول فسفولیپید به صورت یک خم شدگی مشخص در دم لیپید مشخص است.



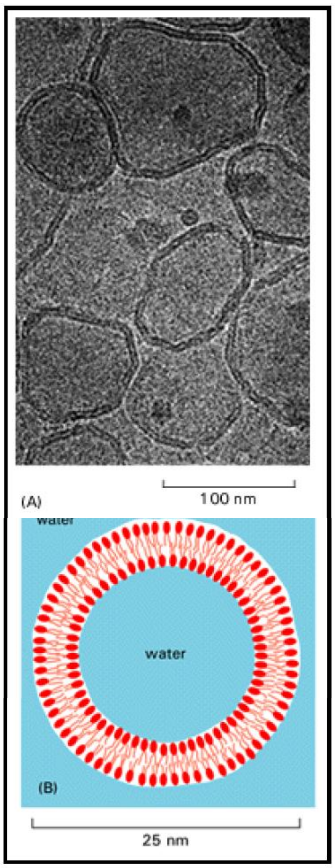
شکل ۱-۳: میسل فسفولیپید و دو لایه فسفولیپید در برش عرضی مشخص است. مولکول های فسفولیپید در محیط های آبی بلافاصله به این دو فرم در می آیند.

۱. Micelle
۲. Bilayer

بیشتر فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها در محیط های آبی تشکیل ساختار دو لایه ای ذکر شده را می دهند.

دو لایه لیپیدی یک مایع دو بعدی[1] است

در اوایل سال ۱۹۷۰ محققین متوجه شدند که مولکول های لیپیدی منفرد قادر هستند آزادانه در داخل دو لایه لیپیدی منتشر گردند. بیشتر اطلاعات از مطالعه دو لایه لیپیدی سنتتیک به دست آمده است. دو نوع از غشاءهای دو لایه لیپیدی سنتتیک که مورد بررسی قرار گرفته اند عبارتند از: ۱) دو لایه لیپیدی که تشکیل وزیکول های کروی را می دهند و اندازه آن ها از ۲۵ نانومتر تا ۱ میکرومتر متغیر بوده و به لیپوزوم[2] معروف می باشند، (شکل ۱-۴). ۲) دو لایه لیپیدی صفحه ای که غشاهای سیاه[3] نیز نامیده شده و اشاره به غشاء لیپیدی دارد که در فضا و سوراخ ما بین محیط آبی مستقر شده است (شکل ۱-۵).

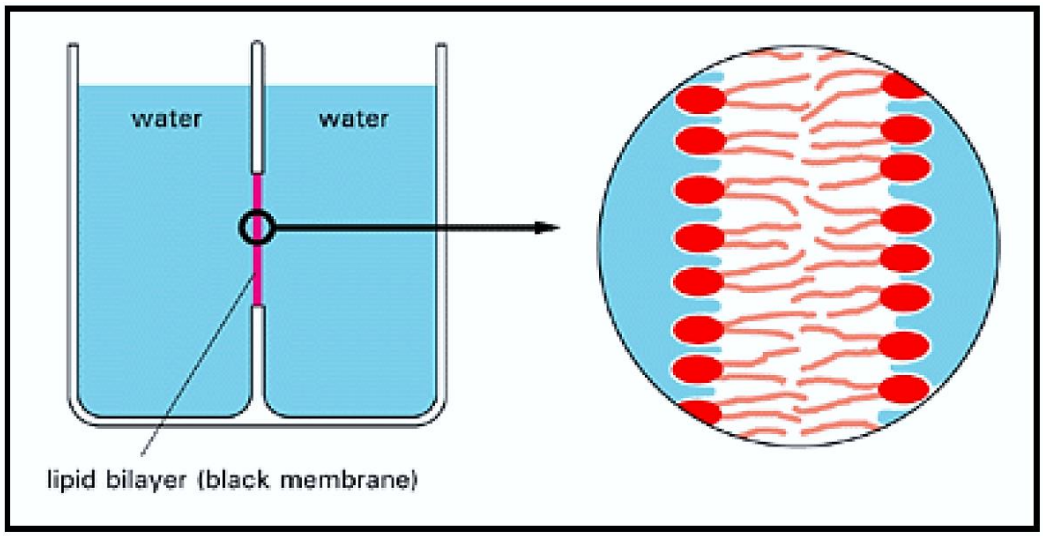


شکل ۱-۴: (A) میکروگراف الکترونی از وزیکول های فسفولیپیدی (لیپوزوم ها) تثبیت نشده و رنگ آمیزی نشده در محیط آبی. توجه کنید که ساختار دو لایه لیپیدی وزیکول ها به خوبی مشخص است. (B) نقاشی یک لیپوزوم کروی کوچک در برش عرضی. لیپوزوم ها عموماً به عنوان مدل های غشایی در مطالعات تجربی استفاده می شوند.

۱. Two-dimensional fluid

۲. Liposome

۳ Black membranes



شکل ۱-۵: ساختار غشاء سیاه به عنوان یک دو لایه لیپیدی سنتتیک در سوراخ بین دو محیط آبی. غشاهای سیاه در اندازه گیری خصوصیات نفوذپذیری غشاهای مصنوعی مورد استفاده قرار می گیرند.

انواع حرکات مولکول های فسفولیپیدی در غشاء سلول

۱- حرکت فلیپ فلاپ[۱]:

این حرکت بسیار به ندرت در غشاهای سلولی به وقوع می پیوندد (حدود یک بار طی یک ماه برای هر مولکول فسفولیپید). در این نوع حرکت، مولکول فسفولیپید موجود در یک سمت غشاء جای خود را با مولکول فسفولیپید موجود در سمت مخالف، عوض می نماید. وجود آنزیم فیلیپاز[۲] الزامی بوده و نیاز به انرژی[۳] وجود دارد.

۲- حرکت انتشار جانبی:

در این نوع حرکت مولکول های لیپید به آسانی جای خود را با مولکول لیپید مجاور در همان لایه عوض می نمایند. این حرکت حدود $۱۰^{۷}$ بار در یک ثانیه رخ می دهد.

۳- حرکت چرخشی[۴]:

مولکول های لیپیدی قادر هستند خیلی سریع حول محور خود بچرخند، زنجیره های هیدروکربنی انعطاف پذیر بوده و بیشترین درجه خمش نزدیک مرکز دو لایه لیپیدی به وقوع پیوسته و کمترین درجه آن در نزدیکی سر قطبی می باشد.

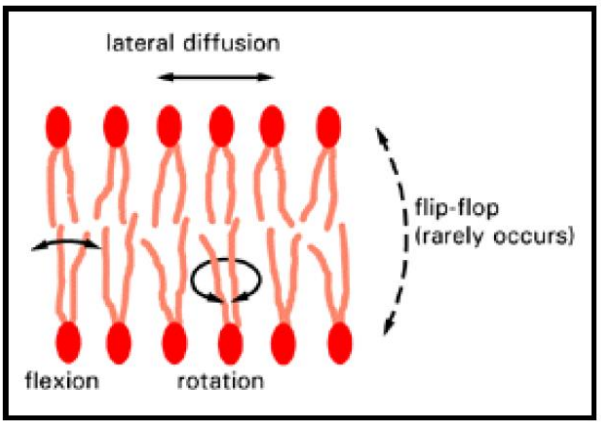
---

۱. Flip-flop
۲. Flippase
۳. ATP
۴. Rotation

۴- حرکت خمشی[۱]:

در این حالت، درجاتی از خمیدگی در ناحیه دم های هیدروکربنی لیپید به وقوع می پیوندد.

لازم به ذکر است به دلیل عملکرد جابجا کننده های فسفولیپیدی[۲] تحت عنوان فلیپاز[۳] در غشاء شبکه اندوپلاسمی، حرکت فلیپ فلاپ ۱۰۰,۰۰۰ برابر سریع تر به وقوع می پیوندد. این حرکت توسط فلیپازها بیشتر برای فسفولیپیدهای حاوی کولین اتفاق می افتد نه برای فسفولیپیدهای حاوی اتانول آمین، سرین یا اینوزیتول. به همین دلیل است که فسفاتیدیل کولین بسیار سریع تر از فسفاتیدیل اتانول‌آمین یا فسفاتیدیل سرین (و یا فسفاتیدیل اینوزیتول) به سطح لومینال[۴] می رسند.



شکل۱-۶: تحرک فسفولیپیدهای غشاء. انواع حرکات احتمالی برابر مولکول های فسفولیپید در دولایه لیپیدی.

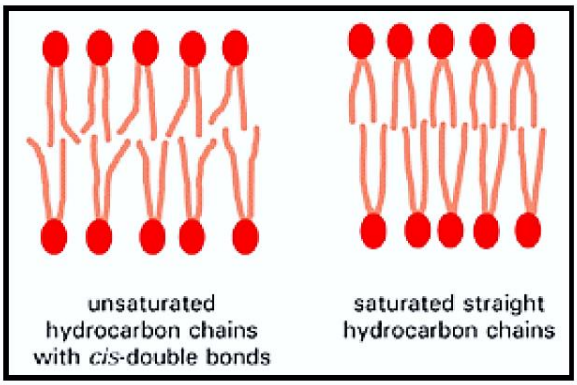
سیالیت دو لایه لیپیدی وابسته به ترکیب آن است

زمانی که دو لایه لیپیدی غشاء فقط از یک نوع فسفولیپید تشکیل شده باشد تغییر ساختار غشاء از وضعیت مایع به وضعیت کریستالین[۵] یا ژل[۶] در یک نقطه انجماد امکان پذیر است. این تغییر وضعیت (از حالت مایع به حالت ژل) به جابجایی فاز[۷] معروف می باشد. در صورتیکه زنجیره های هیدروکربنی لیپید کوتاه بوده و یا دارای باندهای دوگانه باشند، دمایی که در آن جابجایی فاز صورت می گیرد پایین تر خواهد بود (یعنی غشاء سخت تر، به حالت انجماد در می آید). کوتاه بودن طول زنجیره لیپیدی تمایل دم های هیدروکربنی را جهت

---

۱. Flexion
۲. Phospholipid Translocators
۳. Flippase
۴. Luminal
۵. Crystalline
۶. Gel
۷. Phase Transition

واکنش با همدیگر کاهش داده و باندهای دوگانه سیس نیز با ایجاد اتصال در زنجیره های هیدروکربنی، قرار گرفتن آن ها (به صورت یک بسته) را به سوی همدیگر با مشکل واجه می سازد (شکل ۱-۷).



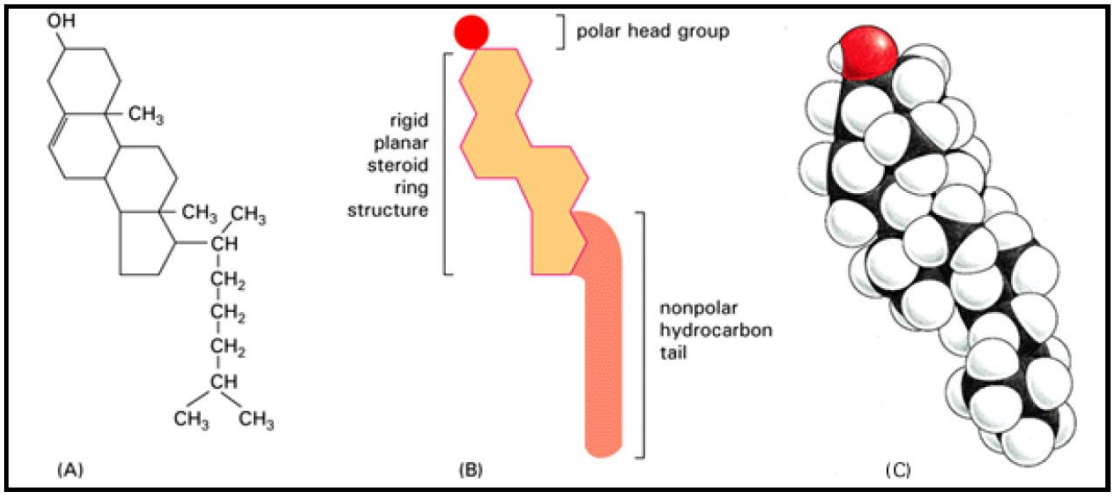
شکل ۱-۷: تأثیر باندهای دوگانه در زنجیره های هیدروکربن. باندهای دوگانه در زنجیره های هیدروکربنی غیراشباع، سیالیت دو لایه فسفولیپیدی را افزایش می دهد. افزایش سیالیت به این دلیل است که زنجیره های حاوی باندهای دوگانه به سختی قادرند به حالت بسته بندی شده با هم قرار بگیرند.

در دولایه لیپیدی مصنوعی که حاوی ترکیبی از فسفولیپیدها با درجات مختلفی از اشباع باشد (و بنابراین دارای نقاط مختلف جابجایی فاز خواهد بود) جداسازی فاز[۱] اتفاق می افتد. در این حالت زمانی که نقاط انجماد فسفولیپیدها فرا می رسد، فسفولیپیدهای منفرد از یک نوع به صورت خودبخودی در داخل دو لایه لیپیدی مجتمع شده و تشکیل تکه های یخ زده را می دهند.

در غشاهای بیولوژیکی، زنجیره های اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع معمولاً در طول یک مولکول لیپیدی به صورت زنجیره شده به هم قرار گرفته اند (یعنی، یکی از زنجیره ها غیراشباع بوده در حالی که دیگری اشباع می باشد) در نتیجه جداسازی فاز این نوع غشاها غیر محتمل می باشد.

یکی دیگر از عواملی که سیالیت غشاء را تعیین می نماید، کلسترول می باشد. غشاهای پلاسمایی سلول های یوکاریوتی حاوی مقادیر زیادی کلسترول می باشد، به عبارتی یک مولکول کلسترول به ازای یک مولکول فسفولیپید در غشاء حضور دارد. نحوه قرار گیری مولکول کلسترول در غشاء سلول به این صورت است که گروه های هیدروکسیل کلسترول در مجاورت گروه های سر قطبی مولکول های فسفولیپید قرار می گیرند و از طرفی حلقه های استروئیدی سفت مولکول کلسترول، با زنجیره های هیدروکربنی فسفولیپید که در مجاورت سر قطبی فسفولیپید هستند واکنش داده و در نتیجه بخش انتهائی زنجیره فسفولیپید از خاصیت انعطاف پذیری بالایی برخوردار است (شکل ۱-۸).

۱. Phase separation



شکل ۱-۸: (A) ساختار فرمولی کلسترول (B) نقاشی شماتیک کلسترول و مدل فضایی کلسترول (C).

اگرچه کلسترول در این حالت تمایل دارد تا سبب کاهش سیالیت غشاء شود ولی در غلظت های بالای کلسترول که در غشاهای یوکاریوتی یافت می شود، کلسترول مانع از تجمع زنجیره های هیدروکربنی لیپیدها و کریستالیزه شدن غشاء می شود، در این حالت کلسترول سبب مهار انتقالات فازی (انتقال از وضعیت مایع به وضعیت ژل) می گردد.

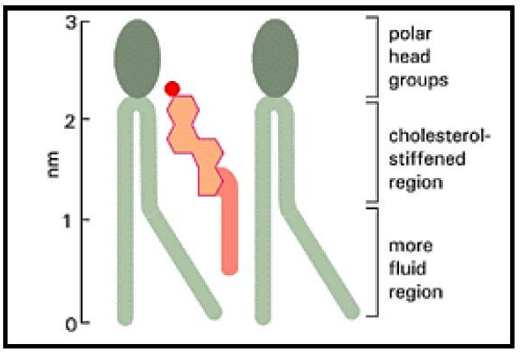
علاوه بر تأثیر روی سیالیت غشاء، کلسترول نفوذپذیری دو لایه لیپیدی را به مولکول های کوچک محلول در آب کاهش داده و لذا تصور می شود سبب افزایش انعطاف پذیری و ثبات مکانیکی[۱] دو لایه لیپیدی می گردد.

تغییرات در شکل غشاء سلول نیازمند این است که دو طرف دو لایه لیپیدی غشاء فشرده شده و یا پخش گردند و در این حالت کلسترول برخلاف فسفولیپیدها در پاسخ به این نیروها (فشردگی یا پخش شدگی) به آسانی می تواند بین دو لایه لیپیدی با حرکت فلیپ- فلاپ دوباره توزیع گردد. فلیپ فلاپ مولکول های کلسترول با انرژی کم قابل وقوع بوده و از طرفی این حرکت سریع نیز می باشد. چرا که سر قطبی کوچک مولکول کلسترول (گروه هیدروکسیل) نسبتاً به آسانی از مرکز دو لایه لیپیدی می گذرد، با مطالعه سلول های متعلق به جانوران جهش یافته که قادر به سنتز کلسترول نمی باشند، نقش کلسترول در ثبات مکانیکی غشاء بیشتر آشکار می شود. مشخص شده سلول های این جانوران به آسانی قادر به تجزیه بوده و سریع محتویات داخل سلول به بیرون ریخته می شود ولی با اضافه شدن کلسترول به غشاء این سلول ها ثبات مکانیکی غشاء تأمین می گردد.

۱. Mechanical stability

سیالیت غشاء پلاسمایی از نظر زیست شناسی اهمیت بالایی دارد چرا که باکتری ها، مخمرها و سایر موجودات خون سرد که دمای بدنشان با دمای محیط در نوسان است، ترکیب اسید چرب غشاء پلاسمایی خود را تغییر می دهند تا یک سیالیت نسبتاً ثابتی را به دست آورند. برای مثال زمانی که درجه حرارت افت می نماید، اسیدهای چرب با باندهای دوگانه سیس بیشتر ساخته می شود تا از کاهش سیالیت غشاء تحت تأثیر کاهش حرارت، اجتناب شود.

مشخص شده بیشتر فرایندهای نقل و انتقال غشایی و فعالیت آنزیم ها با افزایش ویسکوزیته (یا کاهش سیالیت) غشاء از یک حد آستانه، متوقف می گردد.



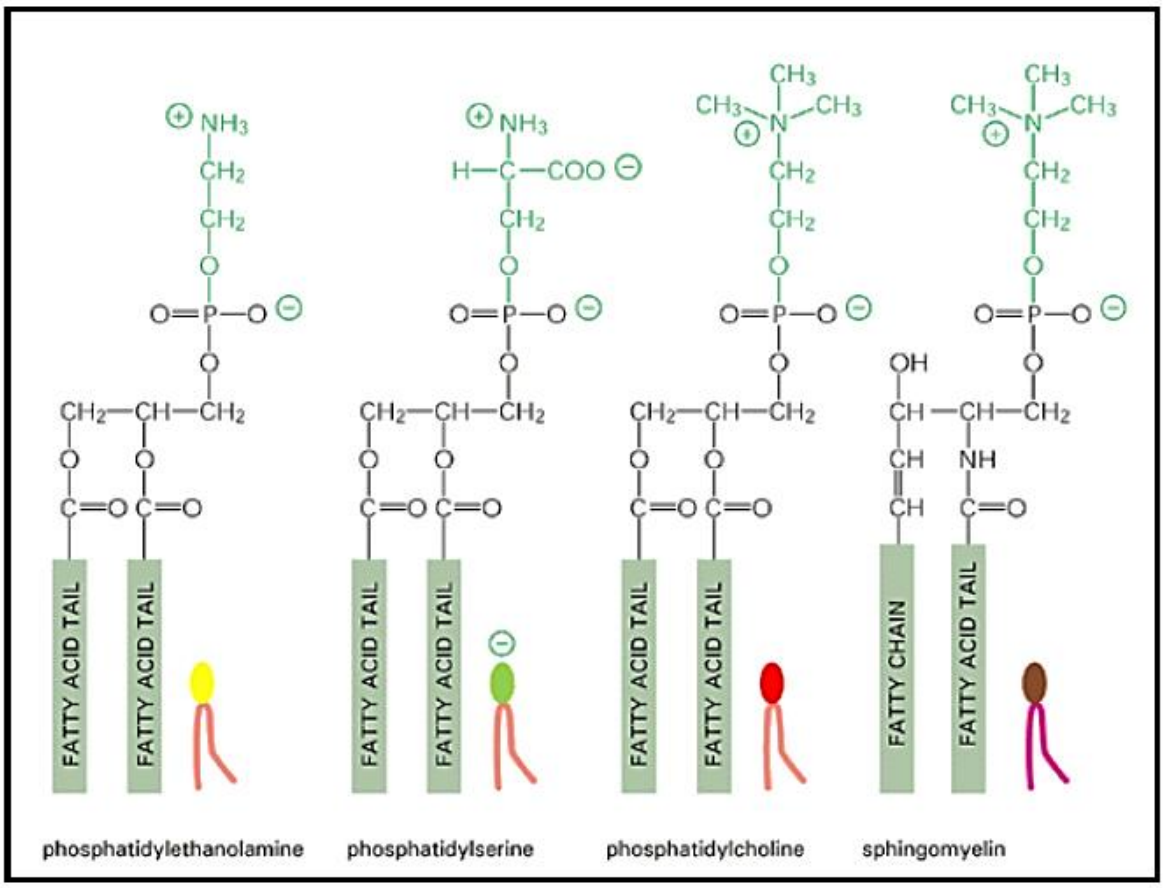
شکل ۱-۹: کلسترول در دو لایه لیپیدی. طرح شماتیک یک مولکول کلسترول در تداخل با دو مولکول فسفولیپیدی در یک لایه از غشاء سلول.

دو لایه لیپیدی به عنوان یک حلال برای پروتئین های غشاء عمل می نماید

ترکیب لیپیدی چندین غشاء بیولوژیکی در جدول ۱-۱ مقایسه شده است. توجه کنید که غشاهای پلاسمایی باکتری ها اغلب از یک نوع فسفولیپید اصلی تشکیل شده و فاقد کلسترول می باشد. در غیاب کلسترول، ثبات مکانیکی غشاء توسط روکش دیواره سلولی تأمین می گردد.

با این حال غشاهای پلاسمایی اغلب سلول های یوکاریوتی نه تنها حاوی مقادیر بالایی از کلسترول می باشد بلکه دارای انواع زیادی از فسفولیپیدها است. برای مثال غشاء پلاسمایی بیشتر سلول های پستانداران حاوی

چهار فسفولیپید اصلی است: فسفاتیدیل کولین[۱]، فسفاتیدیل سرین[۲]، اسفنگومیلین[۳] و فسفاتیدیل اتانول آمین[۴]. ساختار این مولکول ها در شکل ۱-۱۰ نشان داده شده است.



شکل ۱-۱۰: فرمول ها و علائم چهار نوع فسفولیپید اصلی در غشاهای پلاسمایی پستانداران. دقت کنید که گروه های مختلف سر توسط علائم متفاوت در این شکل نشان داده شده است. تمامی مولکول های لیپیدی نشان داده شده به استثنای اسفنگومیلین (که از سرین مشتق شده است) از گلیسرول مشتق شده اند.

با توجه به شکل ۱-۱۰، فسفاتیدیل سرین یک بار منفی خالص را حمل می نماید ولی سه تای بعدی در pH فیزیولوژیکی از نظر الکتریکی خنثی می باشند چرا که یک بار مثبت و یک بار منفی را همزمان دارا می باشند. این ۴ نوع فسفولیپید همراه با هم بیش از نصف توده لیپیدی را در اکثریت غشاها تشکیل می دهند (جدول ۱-۱).

۱. Phosphatidylcholine (PC)
۲. Phosphatidylserine (PS)
۳. Sphingomyelin
۴. Phosphatidylethanolamine

فسفولیپیدهای دیگر همچون فسفولیپیدهای اینوزیتول[1] به میزان کم در غشاء حضور داشته ولی در سیگنالینگ سلول نقش دارند. غشاء پلاسمایی سلول های یوکاریوتی با داشتن انواع مختلف فسفولیپیدها که دارای سرهای قطبی متفاوت از لحاظ اندازه، شکل و بار می باشند شگفت انگیز می باشند. با این حال تنوع فسفولیپید با تنوع پروتئین های غشایی تا حدودی قابل توجیه است چرا که برخی از پروتئین های غشاء فقط در حضور گروه های سر فسفولیپید ویژه ای عمل می نمایند همان طور که بیشتر آنزیم ها در یک محیط آبی نیازمند یک یون ویژه برای فعالیت شان هستند.

	Percentage of Total Lipid by Weight					
Lipid	Liver Plasma Membrane	Erythrocyte Plasma Membrane	Myelin	Mitochondrion (inner and outer membranes)	Endoplasmic Reticulum	*E. coli*
Cholesterol	17	23	22	3	6	0
Phosphatidyl-ethanolamine	7	18	15	35	17	70
Phosphatidylserine	4	7	9	2	5	trace
Phosphatidyl-choline	24	17	10	39	40	0
Sphingomyelin	19	18	8	0	5	0
Glycolipids	7	3	28	trace	trace	0
Others	22	13	8	21	27	30

جدول ۱-۱: ترکیب تقریبی لیپیدها در غشاء سلول های مختلف.

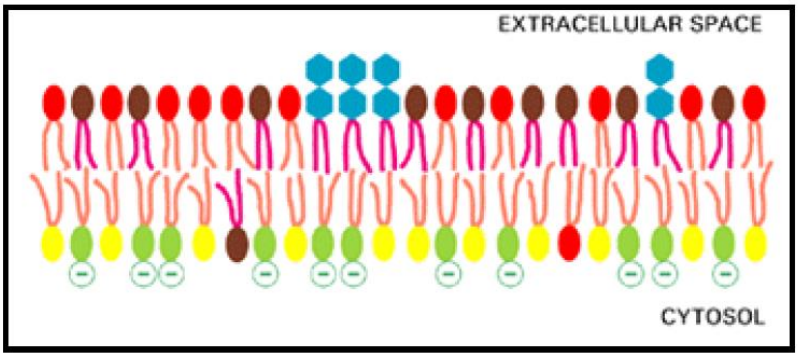
دو لایه لیپیدی نامتقارن[2] می باشد

ترکیب لیپیدی دو نیمه غشاء با همدیگر متفاوت می باشد. برای مثال در غشاء گلبول های قرمز انسان، تقریباً تمامی مولکول های لیپیدی که دارای کولین[3] در بخش سر خود می باشند (یعنی فسفاتیدیل کولین و اسفنگومیلین) در نیمه خارجی دو لایه لیپیدی غشاء مستقر بوده، در حالی که تقریباً تمامی مولکول های فسفولیپیدی که دارای یک گروه آمین انتهایی می باشند (فسفاتیدیل اتانول امین و فسفاتیدیل سرین) در نیمه داخلی دو لایه لیپیدی حضور دارند (شکل ۱-۱۱).

۱. Inositol Phospholipids

۲. Asymmetrical

۳. Choline



شکل ۱-۱۱: توزیع نامتقارن فسفولیپیدها و گلیکولیپیدها در دو لایه لیپیدی گلبول های قرمز انسان. گلیکولیپیدها با گروه های سر قطبی شش ضلعی مشخص شده اند. کلسترول (نشان داده نشده است) به صورت یکسان در هر دو لایه توزیع گشته است.

دم های اسید چرب فسفاتیدیل کولین و اسفنگومیلین بیشتر از دم های فسفاتیدیل اتانول آمین و فسفاتیدیل سرین اشباع می باشد. بنابراین علاوه بر وجود عدم تقارن در گروه های سر مولکول های فسفولیپید، این عدم تقارن در نحوه توزیع دم های هیدروکربنی نیز به چشم خورده و این وضعیت سبب می شود تا نمیه داخلی دو لایه لیپیدی در مقایسه با نیمه خارجی سیالیت بیشتری داشته باشد.

به علاوه از آنجایی که فسفاتیدیل سرین حاوی بار منفی در نیمه داخلی دو لایه لیپیدی مستقر است در نتیجه دو نیمه غشاء از نظر بار الکتریکی نیز با هم متفاوت می باشند.

بیشتر غشاها در سلول های یوکاریوتی از جمله غشاء پلاسمایی در شبکه اندوپلاسمی ساخته می شود و عدم تقارن فسفولیپیدی توسط جابجا کننده های فسفولیپیدی[۱] در شبکه اندوپلاسمی به انجام می رسد که سبب حرکت مولکول های فسفولیپیدی ویژه از یک لایه به لایه دیگر می گردند. اگرچه نقش این عدم تقارن تا حد زیادی نامشخص است ولی نشان داده شد که یک سری از آنزیم های متصل به غشاء از این عدم تقارن سود می برند. به عنوان مثال زمانی که پروتئین کیناز C [۲] فعال می شود این آنزیم به سطح سیتوپلاسمی غشاء پلاسمایی متصل می گردد. در این سطح از غشاء فسفاتیدیل سرین با تراکم بالا حضور دارد و پروتئین کیناز C نیازمند این فسفولیپید با بار منفی است تا عملکرد ویژه خود را به انجام برساند.

۱. Phospholipid translocators

۲. Protein Kinase C

گلیکولیپیدها در سطح تمامی غشاهای پلاسمایی حضور دارند ولی نقش انها چندان شناخته شده نیست

گلیکولیپیدها یا مولکول های لیپیدی حاوی الیگوساکارید در غشاهای پلاسمایی سلول های حیوانی بیشترین عدم تقارن را نشان می دهند. گلیکولیپیدها فقط در نیمه خارجی دو لایه لیپیدی یافت شده و گروه های قندی این ترکیبات به سمت سطح سلول، واقع شده اند،

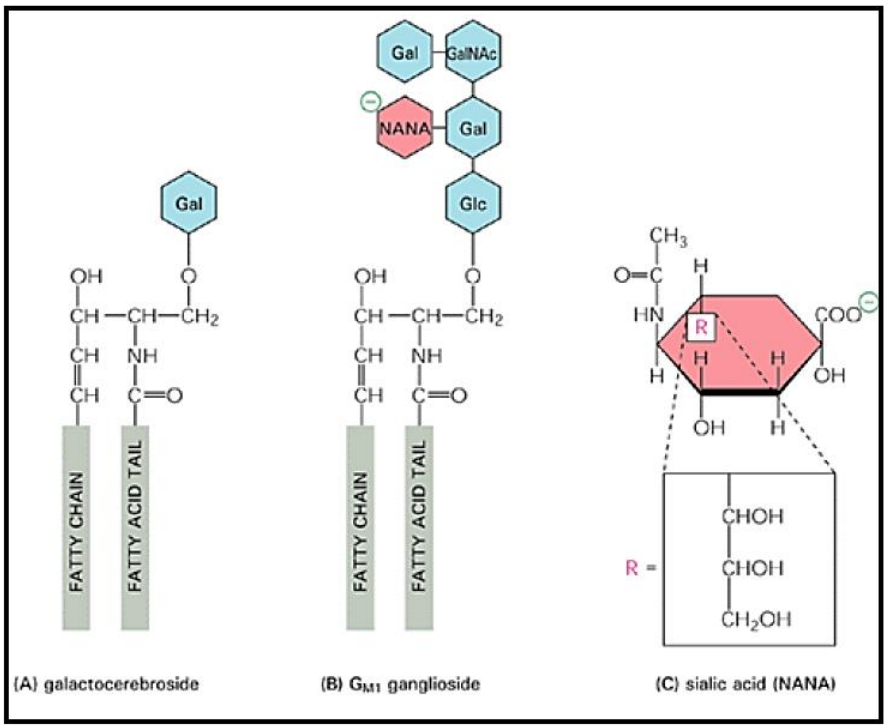
آرایش بخش قندی گلیکولیپیدها به سمت خارج سلولی بیانگر نقش این ترکیبات در برقراری ارتباط سلول با محیط اطراف خود می باشد. گلیکولیپیدها احتمالاً در غشاهای پلاسمایی تمامی سلول های جانوری حضور داشته و معمولاً حدود ۵٪ مولکول های لیپیدی غشاء را در لایه خارجی به خود اختصاص می دهند. این ترکیبات لیپیدی به طور قابل توجهی از یک گونه حیوانی به گونه دیگر متفاوت بوده و حتی در بافت های مختلف یک گونه نیز تنوع نشان می دهند. در باکتری ها و سلول های گیاهی اغلب تمامی گلیکولیپیدها از لیپیدهای با پایه کلسترول مشتق می شوند، با این وجود در سلول های حیوانی، گلیکولیپیدها همیشه از سرامید[۱] که در فسفولیپید اسفنگومیلین حضور دارد، مشتق می شوند.

گلیکواسفنگولیپیدها[۲] دارای یک ساختار عمومی مشابه لیپیدهای با پایه گلیسرول هستند، به عبارتی دارای یک گروه سر قطبی و دو زنجیره اسید چرب هیدروفوب می باشند. با این حال، یکی از زنجیره های اسید چرب با سرین جفت شده و تشکیل الکل آمینی تحت عنوان اسفنگوزین[۳] را می دهد، در حالی که با اضافه شدن زنجیره اسید چرب دوم، سرامید شکل می گیرد.

۱. Ceramide

۲. Glycosphingolipids

۳. Sphingosine



شکل ۱-۱۲ : مولکول های گلیکولیپید. گالاکتوسربروزید (A)، گلیکولیپید خنثی نامیده می شود چرا که بنیان قندی که سرگروه آن را تشکیل می دهد غیرباردار است. یک گانگلیوزید (B) همیشه دارای یک یا بیشتر بنیان های اسید سیالیک با بار منفی است (که N- استیل نورامینیک اسید یا NANA نامیده می شود) که ساختار آن در بخش (C) نشان داده شده است. در حالیکه در باکتری ها و گیاهان اغلب تمام گلیکولیپیدها از گلیسرول مشتق می شوند چرا که فسفولیپید اصلی است. در سلول های حیوانی گلیکولیپیدها از اسفنگوزی تولید می شوند. اسفنگوزین یک آمین الکل مشتق شده از سرین است. Gal= گالاکتوز، Glc= گلوکز، GalNAc= N استیل گالاکتوز-آمین، هر سه بنیان قندی غیرباردار می باشند.

گلیکولیپیدها از همدیگر توسط گروه سر قطبی شان متمایز می گردند که این ناحیه سر ممکن است حاوی یک بار بیشتر از بنیان های قندی باشد.

گلیکولیپیدهای خنثی[۱] بیشترین توزیع را در غشای پلاسمایی سلول های یوکاریوتی و پروکاریوتی دارا بوده و سرهای قطبی این ترکیبات از حدود ۱ الی ۱۵ بنیان قندی خنثی (بدون بار الکتریکی) (بسته به نوع موجود و نوع سلول) تشکیل شده است.

یک مثال در این زمینه عبارت است از گالاکتوسروبروزید که یکی از ساده ترین گلیکولیپیدها بوده و سر قطبی این ترکیب حاوی فقط گالاکتوز می باشد (شکل ۱-۱۱). گالاکتوسروبروزید اصلی ترین گلیکولیپید میلین می باشد. غلاف میلین دور آکسون برخی سلول های عصبی می پیچد و نقش مهمی در هدایت جهشی پتانسیل های عمل ایفاء می نماید. در واقع سلول های میلینه با داشتن مقادیر زیادی از گالاکتوسروبروزید در غشای

۱. Neutral Glycolipids

پلاسمایی خود قابل تشخیص بوده و گالاکتوسروبروزید حدود ۴۰٪ لایه خارجی غشاء را تشکیل می دهد. گالاکتوسروبروزید در غشای پلاسمایی سلول های دیگر معمولاً حضور نداشته و فقط در سلول های عصبی میلینه نقش مهمی در انتقال ایمپالس های عصبی دارد.

پیچیده ترین گلیکولیپیدها عبارت است از گانگلیوزیدها[۱] که دارای یک یا بیشتر از بنیان های اسید سیالیک (همچنین معروف به N- استیل نورامینیک اسید NANA)[۲] بوده که این بنیان یک بار منفی خالص به مولکول می بخشد (شکل ۱-۱۲).

گانگلیوزیدها اغلب به میزان فراوان در غشاء پلاسمایی سلول های عصبی حضور داشته و حدود ۱۰-۵ ٪ توده چربی را به خود اختصاص می دهند. البته در سایر سلول ها نیز به میزان کمتر حضور دارند. گانگلیوزید GM_1 به عنوان یک گیرنده سطح سلولی برای سم باکتریایی وبا عمل می نماید. سم وبا با اتصال به GM_1 در سطح سلول، وارد سلول اپی تلیایی روده شده و با افزایش غلظت AMP حلقوی[۳] منجر به خروج وسیع سدیم و آب از سلول اپی تلیایی به داخل لومن روده می گردد (اسهال). لذا گانگلیوزیدها می توانند به عنوان گیرنده برای سیگنالینگ سلول طبیعی یا غیر طبیعی (بیماری وبا) عمل نمایند.

پروتئین های غشاء

اگرچه لیپیدها ساختار پایه غشاهای بیولوژیکی را تشکیل می دهند ولی بیشتر اعمال اختصاصی غشاء توسط پروتئین ها به انجام می رسد.

میزان و انواع پروتئین در غشاء بسیار متغیر می باشد به عنوان مثال در غشاء میلین که به عنوان عایقی روی آکسون سلول عصبی کشیده شده است کمتر از ۲۵٪ توده غشایی متعلق به پروتئین ها می باشد، در حالی که در غشاهای درگیر در انتقال انرژی (همچون غشاهای داخلی میتوکندری و کلروپلاست) حدود ۷۵٪ غشاء از پروتئین تشکیل شده است. در غشاء پلاسمایی نیز معمولاً پروتئین ها ۵۰٪ را به خود اختصاص می دهند. از آنجایی که مولکول های لیپیدی در مقایسه با مولکول های پروتئینی کوچک می باشند لذا تعداد مولکول های لیپید در مقایسه با مولکول های پروتئین بیشتر می باشد به عبارتی برای هر ۵۰ مولکول لیپیدی، یک مولکول پروتئین متصور می شود.

۱. Gangliosides

۲. N-acetylneuraminic acid

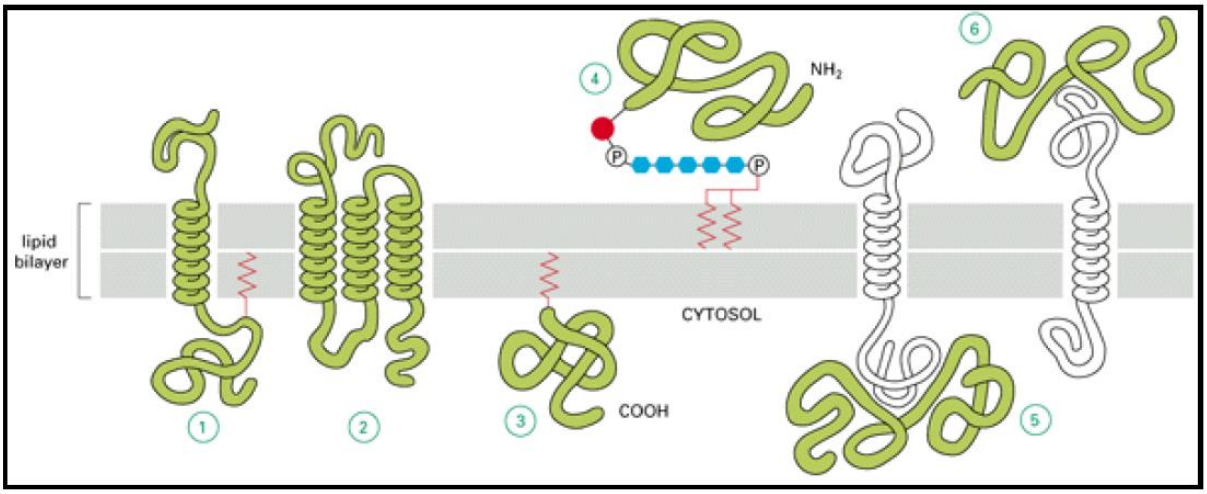
۳. cAMP

زنجیره پلی پپتید بیشتر پروتئین های غشاء یک بار (یا بیشتر) از عرض غشاء عبور می نمایند

بیشتر پروتئین های غشایی در عرض دو لایه لیپیدی کشیده شده اند (مثال ۱ و ۲ در شکل ۱-۱۳). این پروتئین ها به پروتئین های غشاء گذر[۱] معروف بوده و مشابه مولکول های لیپیدی مجاور خود آمفی پاتیک می باشند. این پروتئین ها دارای نواحی آب دوستی هستند که به سمت بخش آبی غشاء (سمت سیتوپلاسمی و سمت خارج سلولی) متمایل بوده و نیز دارای نواحی آب گریزی هستند که از بخش دو لایه لیپیدی غشاء رد شده و با دم های آب گریز مولکول های لیپیدی در بخش داخلی دو لایه لیپیدی تداخل می نمایند. خاصیت آب گریزی تعدادی از این پروتئین های غشایی با اتصال کووالانسی پروتئین به یک زنجیره اسید چرب در نیمه داخلی دو لایه لیپیدی افزایش می یابد (مثال ۱ در شکل ۱-۱۳).

برخی از پروتئین های غشایی داخل سلولی فقط به کمک زنجیره اسید چرب مستقر در غشاء قادر به برقراری اتصال با دو لایه لیپیدی می باشند (مثال ۳ در شکل ۱-۱۳).

ازطرفی یک سری از پروتئین های سطح سلول نیز فقط با برقراری اتصال کووالانسی (از طریق یک الیگو ساکارید ویژه) به فسفاتیدیل اینوزیتول (به عنوان کوچک ترین فسفولیپید) در نیمه خارجی غشاء پلاسمایی، ارتباط خود را با غشاء پلاسمایی حفظ می نمایند (مثال ۴ در شکل ۱-۱۳). برخی از پروتئین ها، اصلاً به داخل بخش آب گریز دو لایه لیپیدی نفوذ نمی نمایند ولی با برقراری تداخلات غیر کووالانسی با سایر پروتئین های غشایی(۵) قادرند به یکی از سطوح دو لایه لیپیدی غشاء متصل گردند.



۱. Transmembrane Proteins

شکل ۱-۱۳: ۶ شیوه رایج در استقرار پروتئین های غشایی در دو لایه لیپیدی: پروتئین های غشاء گذر در عرض غشاء پلاسمایی یا به صورت یک زنجیره مارپیچ α[۱] (آلفا هلیکس) (۱) و یا به صورت چندین مارپیچ α[۲] (۲) مستقر شده اند. برخی از این پروتئین های تک گذر و چند گذر با اسیدهای چرب مستقر در بخش داخلی غشای پلاسمایی، اتصال کووالانسی برقرار می نمایند (۱).برخی دیگر از پروتئین های غشایی از طریق اتصال به زنجیره اسید چرب موجود در نیمه داخلی غشاء، به دو لایه لیپیدی متصل می گردند (۳). اتصال از طریق الیگوساکارید به کوچک ترین فسفولیپید تحت عنوان فسفاتیدیل اینوزیتول در نیمه غیر سیتوپلاسمی دو لایه لیپیدی گزارش شده است (۴).سرانجام بیشتر پروتئین ها فقط از طریق تداخل غیرکووالانسی با دیگر پروتئین های غشاء قادرند با غشاء دو لایه ارتباط برقرار کنند (۵ و ۶).

بیشتر پروتئین های گروه ۵ در شکل ۱-۱۳، با ارائه محلول های یونی ضعیف، قوی و یا تحت تأثیر pH بالا، قادرند به آسانی از غشاء دو لایه کنده شوند بدون اینکه دو لایه لیپیدی غشاء آسیبی ببینند، این پروتئین ها به پروتئین های غشایی محیطی[۳] نیز معروف می باشند. مطابق با شکل ۱-۱۴، پروتئین هایی که داخل سیتوزول هستند توسط یک یا چند پیوند کووالانسی که با زنجیره اسیدچرب یا با سایر زنجیره های چربی به نام گروه پرنیل[۴] برقرار می کنند به غشاء سلول ملحق می گردند (شکل ۱-۱۴). از طرفی آن دسته از پروتئین های داخل غشایی که به فسفاتیدیل اینوزیتول متصل هستند و یا توسط زنجیره های اسیدهای چرب موجود در غشاء نگه داشته شده اند نیاز به محلول های آلی یا دترجنت جهت جدا شدن خود از غشاء می باشند و به پروتئین های غشایی[۵] سرتاسری معروف می باشند.

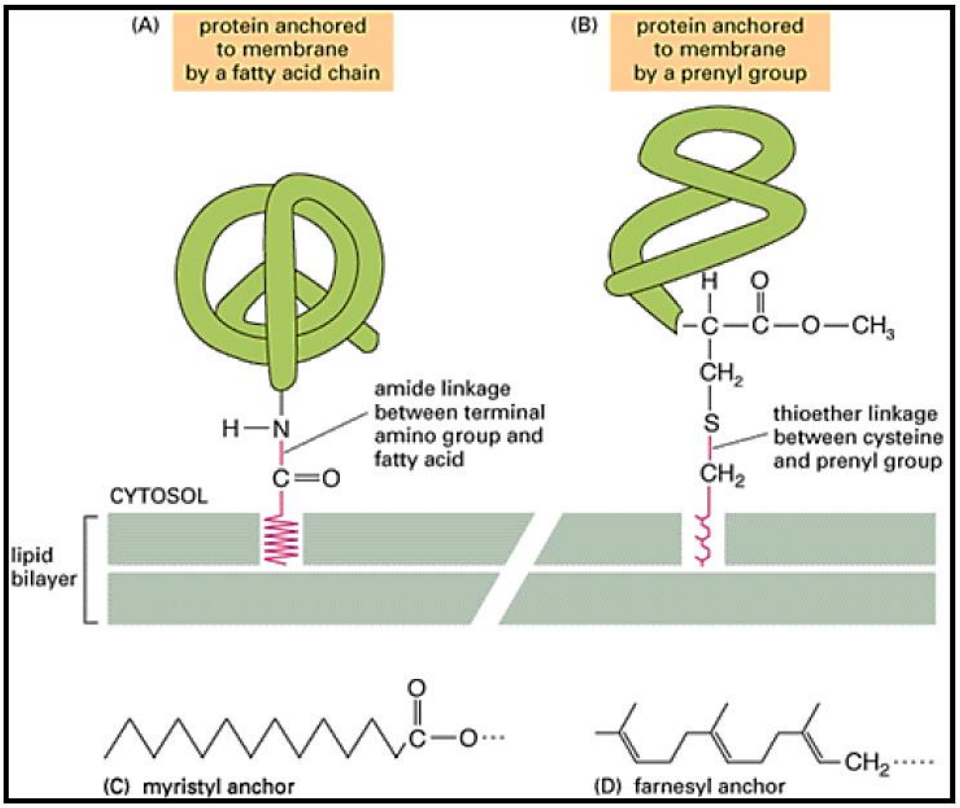
۱. α-Helix

۲. Multiple α-Helix

۳. Peripheral Membrane Proteins

۴. Prenyl group

۵. Integral Membrane Proteins



شکل ۱-۱۴: اتصال کووالانسی یکی از دو نوع گروه های لیپید می تواند کمک کند که پروتئین محلول در آب بعد از سنتز در سیتوزول به غشاء متصل شود. (A) یک زنجیره اسید چرب (یا میرستیک[۱] یا پالمتیک اسید[۲])از طریق یک اتصال آمیدی به گلیسین متصل گردد. (B) یک گروه پرنیل (یا فارنزیل[۳] یا گروه بلندتر مثل گروه گرنیل گرنیل[۴]) که هر دو به کلسترول مرتبط هستند از طریق اتصال تیوتر[۵] به بنیان سیستئین که چهارمین بنیان از پایانه کربوکسیلی است متصل گردد. به دنبال این پرنیلاسیون، سه اسید آمینه پایانی قطع شده و پایانه کربوکسیل جدید قبل از نفوذ به غشاء متیله می گردد. ساختار دو لنگر لیپیدی در بخش پایین شکل تحت عنوان (C) لنگر میرستیل[۶] (اسید چرب اشباع ۱۴ کربنه است) و لنگر فارنزیل (که زنجیره هیدروکربن غیر اشباع ۱۵ کربنه است) نشان داده شده است.

در پروتئین های غشاءگذر، بخش هایی از زنجیره پلی پپتید که در محیط آب گریز دو لایه لیپیدی مدفون شده اند بیشتر از اسیدهای آمینه با زنجیره های جانبی غیر قطبی تشکیل شده است. اما خود اتصالات پپتیدی قطبی می باشد و از آنجایی که آب حضور ندارد تمامی اتصالات پپتید در دو لایه لیپیدی از اتصالات هیدروژن یکی با دیگری مشتق شده است. اتصال هیدروژنی بین باندهای پپتید به حد ماکزیمم خواهد رسید اگر زنجیره

۱. Myristic
۲. Palmitic acid
۳. Farnesyl
۴. Granyl geranyl
۵. Thioether linkage
۶. Myristyl anchor

پلی پپتید تشکیل یک مارپیچ α معمولی را هنگام گذر از دو لایه لیپیدی شکل دهد و بیشتر زنجیره های پلی پپتید از غشاء به شکل مارپیچ α عبور می نمایند (شکل ۱-۱۵).

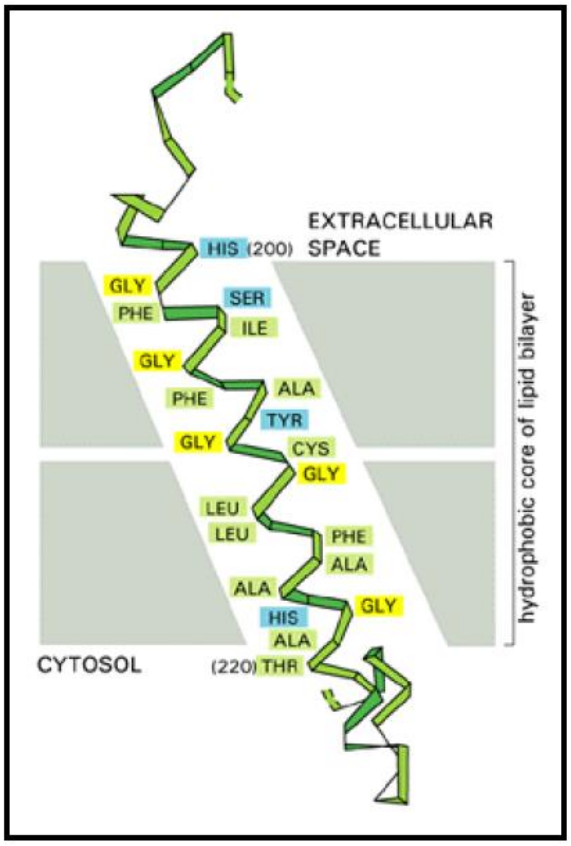
زمانی که رشته های چندگانه از زنجیره پلی پپتید عرض دو لایه لیپیدی را طی می نمایند، اگر رشته ها به صورت صفحات β[۱] مرتب شده باشند، باندهای هیدروژنی مورد نیاز خواهد بود.

با این وجود در چنین پروتئین های غشایی چند گذر[۲]، زنجیره پلی پپتید معمولاً به صورت ردیف های مارپیچ α در عرض دو لایه لیپیدی قرار می گیرند تا به صورت صفحات بتا (مشابه مورد ۲ در شکل ۱-۱۳).

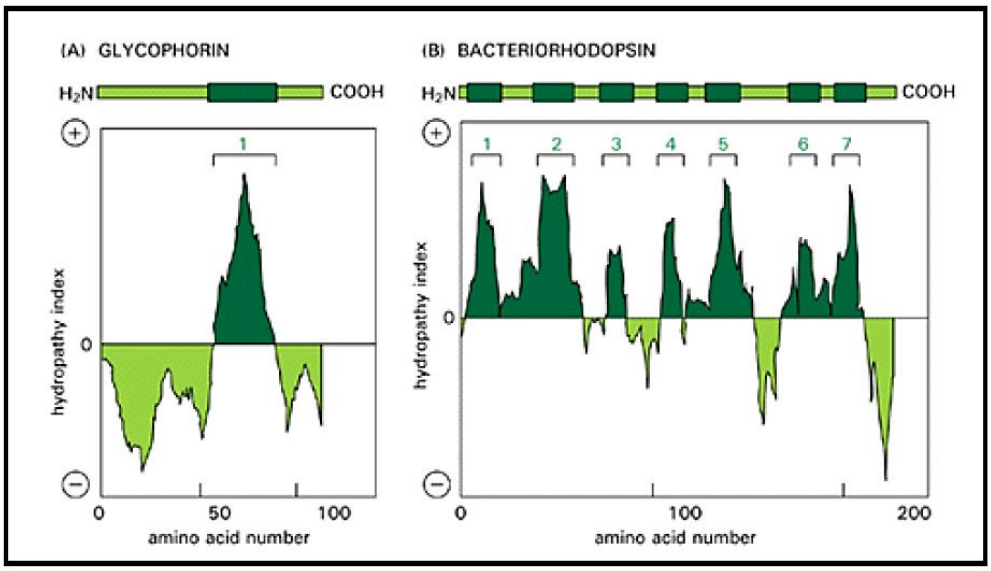
با استفاده از نقشه هیدروپاتی، موقعیت مکانی قطعات α- هلیکس غشاءگذر در یک زنجیره پلی پپتید قابل ردیابی است (شکل ۱-۱۶).

همیشه پروتئین های غشاءگذر دارای یک جهت گیری منحصر به فرد در غشاء می باشند. این وضعیت منعکس کننده هم شیوه نامتقارنی است که این پروتئین ها در شبکه آندوپلاسمی ساخته شده و در دو لایه لیپیدی وارد می گردند و هم بیانگر اعمال متفاوت این بخش ها یا دمین های سیتوپلاسمی[۳] و خارج سلولی می باشد، بخش اعظم پروتئین های داخل غشایی به صورت گلیکوزیله می باشد. مشابه با گلیکولیپیدها، زنجیره های الگو ساکارید همیشه به سمت بخش خارج سلولی غشاء گسترده است و بنیان های قندی در لومن شبکه اندوپلاسمی و دستگاه گلژی اضافه می گردند. اضافه شدن گروه های سولفیدریل[۴] به پروتئین در دمین های سیتوپلاسمی و یا وجود باندهای دی سولفید (S-S) در دمین های خارج سلولی بین و داخل زنجیره ها، عدم تقارن بیشتری را به پروتئین ها می بخشد (شکل ۱-۱۷).

۱. B Sheet
۲. Multipass
۳. Cytoplasmic domains
۴. Sulfhydryl (SH)

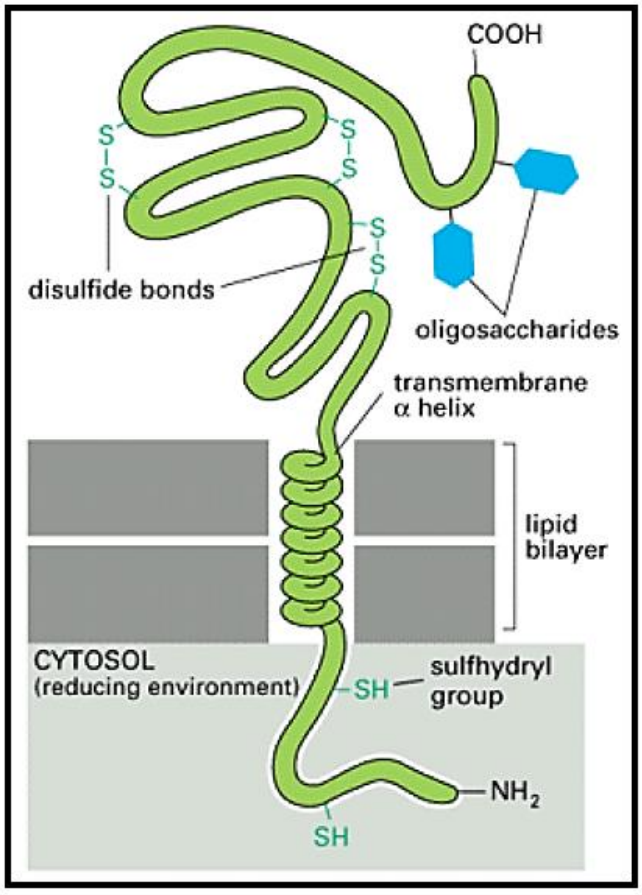


شکل ۱-۱۵: بخشی از زنجیره ها پلی پپتید داخل غشایی که از دو لایه لیپیدی به صورت مارپیچ α، گذر نموده است. فقط اسکلت کربن α زنجیره پلی پپتید نشان داده شده است. زنجیره های جانبی غیر قطبی بنیان های اسید آمینه (نشان داده نشده) با زنجیره های اسید چرب آب گریز در بخش داخلی دو لایه لیپیدی با همدیگر تداخل می نمایند.



شکل ۱-۱۶: لوکالیزاسیون قطعات α- هلیکس اسپن کننده غشاء در یک زنجیره پلی پپتیدی با استفاده از نقشه های هیدروپاتی. انرژی آزاد مورد نیاز برای انتقال قطعات متوالی یک زنجیره پلی پپتید از یک حلال غیر قطبی به آب از تشکیلات اسیدآمینه هر

قطعه با استفاده از داده های مدل قابل محاسبه است. این محاسبه برای قطعات با سایز مشخص (حدود ۱۰ اسید آمینه) که با اسید آمینه متوالی در هر زنجیره شروع می شود، امکان پذیر است. شاخص هیدروپاتی قطعه α- هلیکس روی محور y به عنوان عملکردی از موقعیت مکانی آن قطعه در زنجیره قابل نمایش است. مقدار مثبت، بیان کننده انرژی آزاد موردنیاز برای انتقال به آب می باشد (یعنی قطعه هیدروفوبیک است) و مقدار ذکر شده بیانگر میزان انرژی موردنیاز می باشد. قله ها در شاخص هیدروپاتی در موقعیت قطعات هیدروفوبیک در سکانس اسیدهای آمینه آشکار می شود. دو مثال از پروتئین های غشایی نشان داده شده در این شکل عبارتند از: (A) گلیکوفورین که دارای یک مارپیچ α منفرد و اسپن کننده غشاء است. این پروتئین دارای یک قله در نقشه هیدروپاتی است. (B) باکتریورودوپسین دارای هفت مارپیچ α اسپن کننده غشاء و هفت قله مربوطه است.



شکل ۱-۱۷: نمونه یک گلیکو پروتئین داخل غشایی تک گذر[1] در این شکل نشان داده شده است. توجه کنید که زنجیره پلی پپتید به صورت مارپیچ α راست دست[2] در غشاء دو لایه مستقر بوده و زنجیره های الیگوساکارید و باندهای دی سولفید بین گروه های سولفیدریل روی منطقه سیتوپلاسمی پروتئین قرار نمی گیرند (به دلیل محیط کاهشی[3] در سیتوزول).

پروتئین های غشایی توسط شوینده ها قادر به انحلال و تخلیص می باشند

۱. Single Pass

به طور کلی پروتئین های داخل غشایی (و دیگر پروتئین های غشایی که به طور محکم با دو لایه لیپیدی اتصال برقرار نموده اند) فقط توسط شوینده هایی که ارتباطات آب گریزی این پروتئین ها را با دو لایه لیپیدی تخریب می نمایند، قادر به جدا شدن از غشاء می باشند. شوینده ها مولکول های آمفی پاتیک کوچک هستند که تمایل دارند در محیط آبی تشکیل میسل را بدهند (شکل ۱-۱۸). زمانیکه شوینده ها با غشاها مخلوط می گردند، انتهاهای آب گریز شوینده ها به نواحی آب گریز پروتئین های غشایی متصل شده و در نتیجه سبب جابجایی مولکول های لیپیدی غشاء می گردند. از آنجایی که انتهای دیگر مولکول شوینده قطبی است، این اتصال تمایل دارد تا پروتئین هایی غشایی را به داخل محلول بکشاند (به صورت مجموعه های شوینده-پروتئین)، شکل ۱-۱۹.

انتهای قطبی شوینده ها می تواند باردار باشد (یونی) مثل سدیم دو دسیل سولفات[۱] و یا به صورت غیرباردار باشد (غیر یونی) مثل شوینده های تریتون[۲].

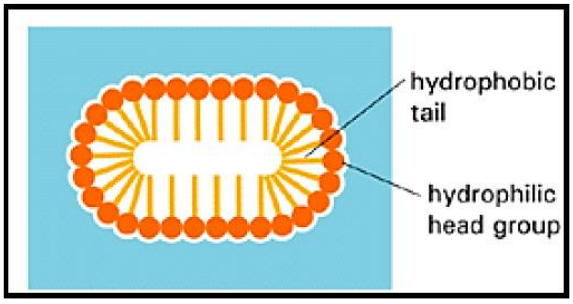
ساختار این دو شوینده عمومی در شکل ۱-۲۰ نشان داده شده است. به کمک شوینده های یونی قوی همچون SDS، حتی آب گریز ترین پروتئین های غشایی نیز قادر به حل شدن می باشند. این وضعیت سبب مطالعه پروتئین ها توسط تکنیک الکتروفورز ژل SDS- پلی آکریل آمید[۳] می گردد. در حضور شوینده های ملایم با غلظت کم، آن دسته از پروتئین های غشایی که خاصیت آب گریزی کمتری دارند قادر به حل شدن می باشند. در صورتیکه اگر بعد از مدتی شوینده در غیاب فسفولیپیدها از محیط حذف گردد، مولکول های پروتئین های غشایی معمولاً مجتمع شده و در محلول ته نشین می گردند (شکل ۱-۲۰).

با این حال اگر پروتئین تخلیص شده قبل از حذف شوینده با فسفولیپیدها مخلوط گردد، پروتئین فعال معمولاً به داخل دو لایه لیپیدی شکل گرفته توسط فسفولیپیدها وارد می گردد (شکل ۱-۲۱). در این روش سیستم های پروتئینی غشایی فعال (از نظر عملکردی) قادر هستند از عناصر تخلیص شده دوباره بازسازی گردند. به عنوان مثال اگر یک پروتئین تخلیص شده در غیاب دیگر پروتئین ها قادر به پمپ یون ها از عرض غشاء دو لایه لیپیدی مصنوعی باشد، در این صورت این پروتئین یک پمپ یونی است و با دسترسی به ATP و یون قادر به انجام وظیفه خود می باشد.

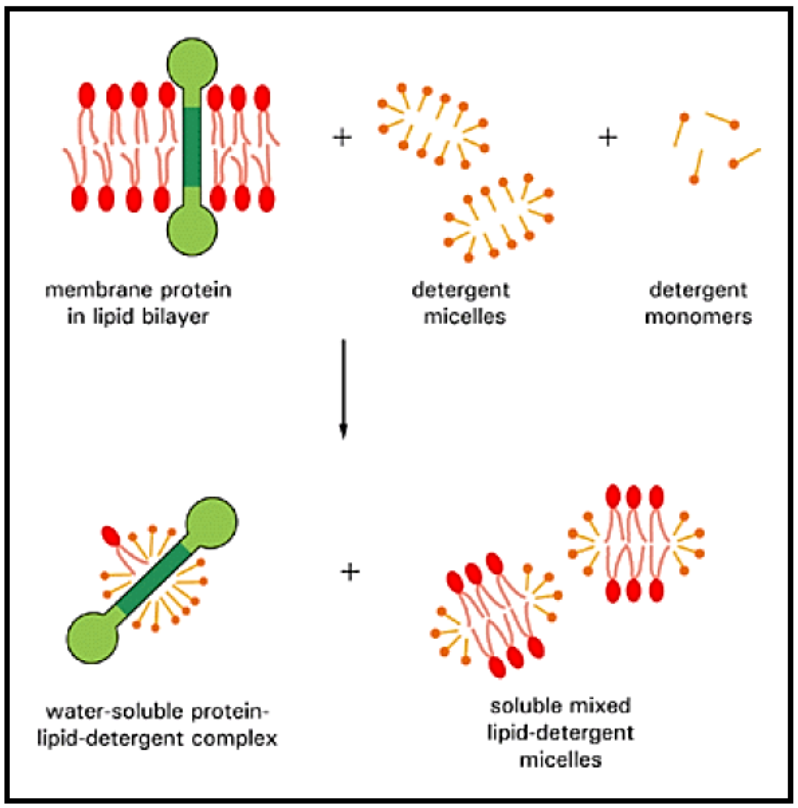
۱. Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)

۲. Triton

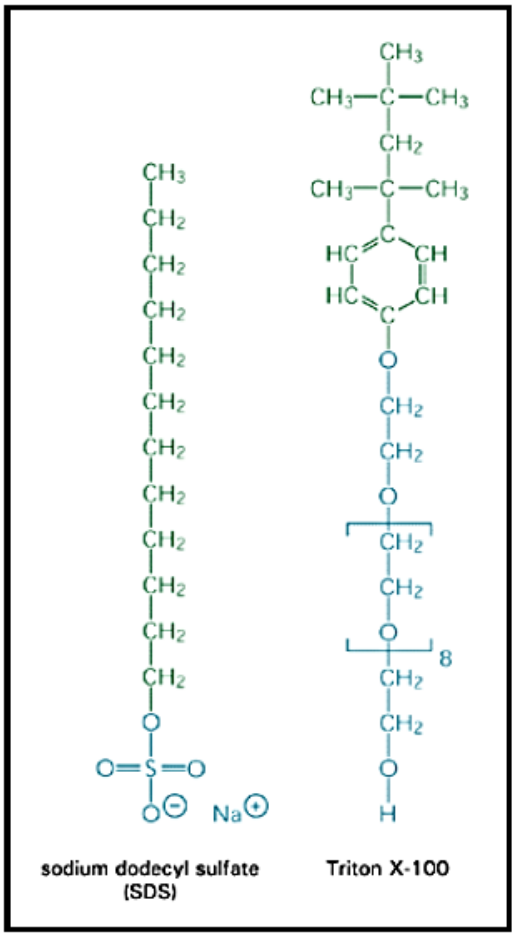
۳. SDS Polyacrylamide- Gel Electrophoresis



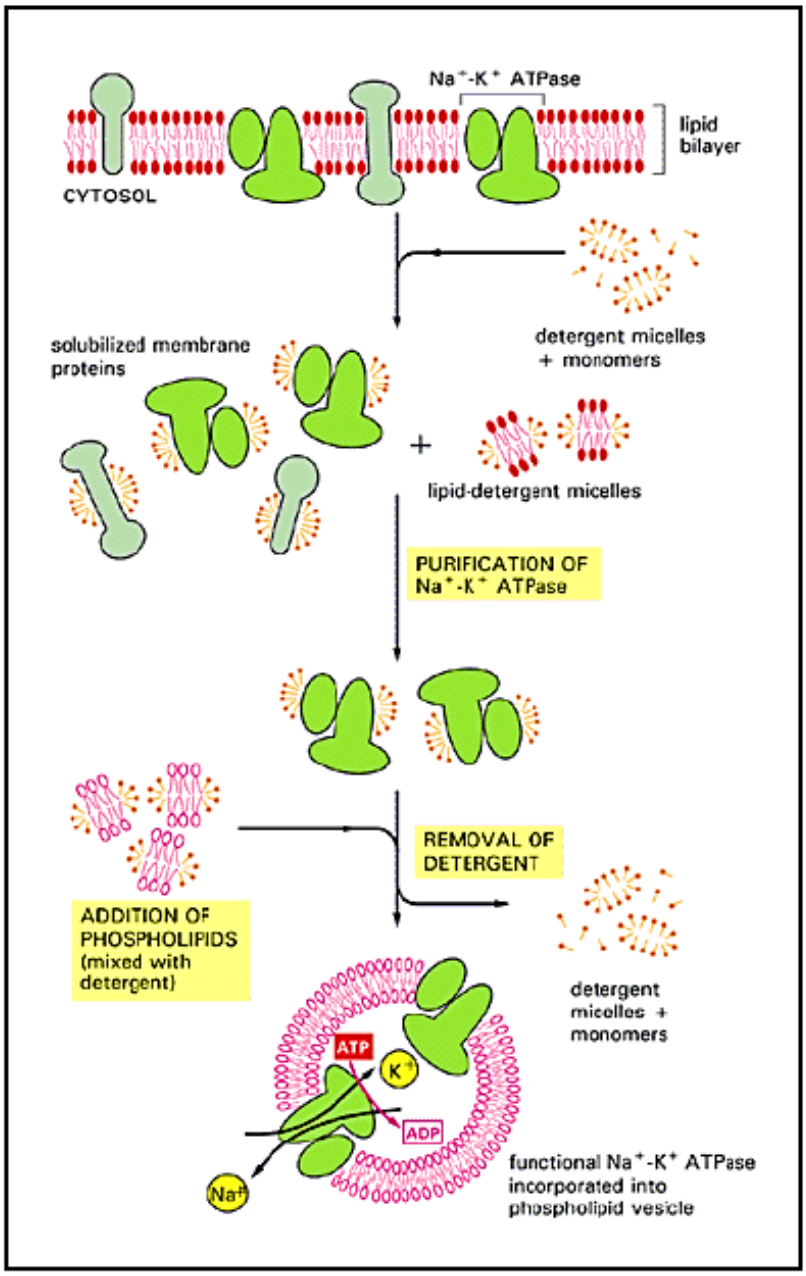
شکل ۱-۱۸: میسل شوینده در آب به صورت برش عرضی نشان داده شده است. از آنجایی که این مولکول ها دارای انتهاهای قطبی و غیر قطبی هستند لذا مولکول های شوینده به صورت آمفی پاتیک می باشند.



شکل ۱-۱۹: حل کردن پروتئین های غشایی توسط شوینده. شوینده سبب تخریب دو لایه لیپیدی شده و پروتئین را به صورت مجموعه های شوینده – لیپید- پروتئین[1] به داخل محلول می آورد. فسفولیپیدهای غشاء نیز توسط شوینده به حالت محلول در می آیند.



شکل ۱-۲۰: ساختار دو شوینده عمومی: سدیم دو دسیل سولفات (SDS) به عنوان شوینده آنیونی و تریتون x-100[1] به عنوان یک شوینده غیر یونی.



شکل ۱-۲۱: حل کردن، تخلیص کردن و تشکیل دوباره مولکول های عملکردی Na^+/K^+ ATPase به داخل وزیکول های فسفولیپیدی.

پمپ سدیم/پتاسیم ATPase یک پمپ یونی است که در غشاء پلاسمایی بیشتر سلول های حیوانی حضور داشته و با مصرف انرژی سبب خروج سدیم از سلول و ورود پتاسیم به داخل سلول می گردد. بازسازی پمپ در حضور سدیم و ATP بالا صورت می گیرد.

حذف شوینده یا توسط دیالیز طولانی مدت و یا توسط اشکال مختلف کروماتوگرافی صورت می گیرد.

پروتئین های غشایی موجود در سمت سیتوپلاسمی غشاء در شبح های سلول قرمز خون، قابل مطالعه می باشند

در زمینه غشاء پلاسمایی گلبول های قرمز خون بیشتر از بقیه سلول ها مطالعه صورت گرفته است. دلیل این موضوع عبارت است از:

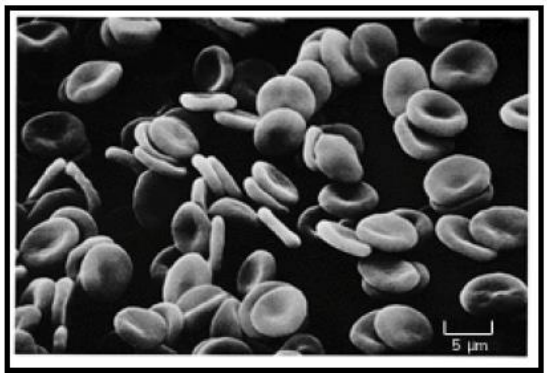
۱) در نمونه های خونی، سلول های قرمز خون به میزان زیاد در دسترس می باشند.
۲) این سلول ها، فاقد هسته و سایر اندامک های داخلی بوده و لذا غشاء مورد بررسی همان غشاء پلاسمایی سلول است و غشاء دیگری آن را آلوده نساخته است.
۳) با قرار دادن سلول در محلول های نمکی هیپوتونیک، غشاهای گلبول قرمز خالی یا اشباح[۱]، قابل حصول می باشند. با قرار گرفتن سلول در محلول نمکی هیپوتونیک، آب وارد گلبول قرمز شده و با ایجاد تورم سبب پارگی سلول و خروج هموگلوبین می گردد.
۴) از پاره شدن گلبول قرمز، هم اشباح نشت پذیر قابل حصول بوده و هم می توان با مسدود نمودن بخش پاره شده، اشباح با غشاء سالم را به دست آورد. در وضعیتی که شبح گلبول قرمز نشت پذیر می باشد و پارگی غشاء ترمیم نشده است هر ماده ای به راحتی داخل شده و مولکول های موجود در هر دو سطح غشاء را تحت تأثیر قرار می دهد.

بعد از مسدود نمودن بخش پاره شده غشاء، ترکیبات محلول در آب توان رسیدن به نیمه داخلی غشاء را ندارند. از طرفی می توان از شبح های گلبول قرمز، وزیکول هایی را آماده نمود که در آنها بخش سیتوپلاسمی غشاء به سمت بیرون و بخش غیر سیتوپلاسمی به سمت داخل قرار گرفته باشند یعنی دقیقاً مخالف وضعیت طبیعی. این وزیکول ها به وزیکول های سمت داخل رو به خارج[۲] معروف هستند. در عین حال وزیکول های طبیعی که دو سمت غشاء، در موقعیت طبیعی خود مستقر هستند قابل حصول است و این وزیکول ها به وزیکول های "سمت درست به سوی خارج واقع شده[۳]" معروف هستند.

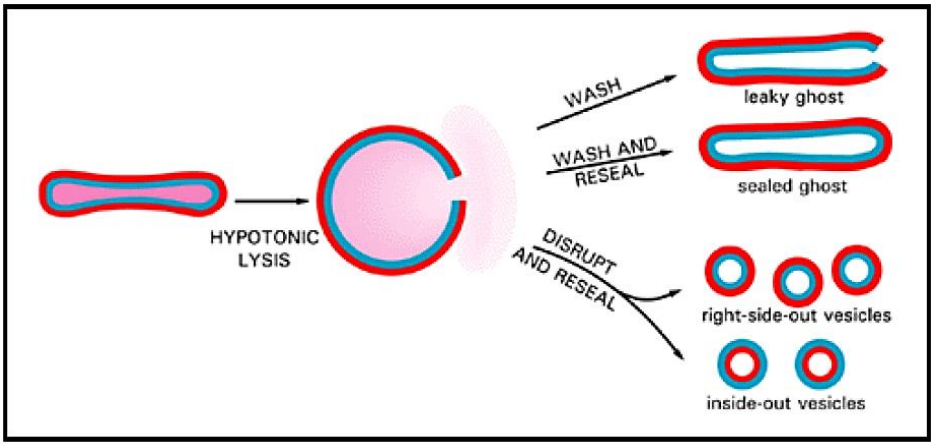
برای تعیین موقعیت قرار گیری (در سمت سیتوپلاسمی یا غیر سیتوپلاسمی) یک پروتئین در غشاء چندین روش وجود دارد. در یکی از این روش ها، از ترکیبات نشان دار (همچون نشان گرهای حامل رادیواکتیو یا فلورسنت) کووالان استفاده می شود. این ترکیبات محلول در آب بوده لذا قادر به نفوذ از دو لایه لیپیدی غشاء

۱. Ghosts
۲. Inside-out Vesicles
۳. Right-side-out Vesicles

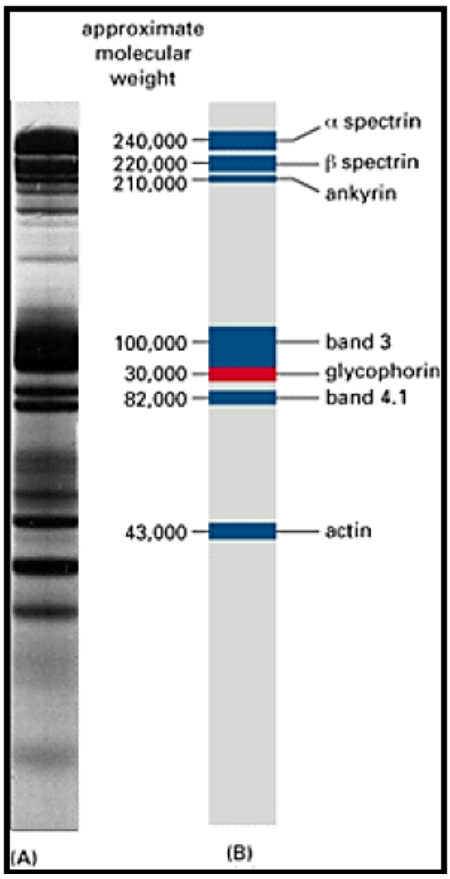
نیستند. ترکیبات مذکور به صورت کووالانسی به گروه های ویژه ای فقط در سمتی از غشاء که نمایان گردیده است، متصل می گردند.



شکل ۱-۲۲: میکروگراف الکترونی از گلبول های قرمز انسان با اشکال مقعرالطرفین و فاقد هسته.



شکل ۱-۲۳: آماده سازی اشباح سلول قرمز مسدود شده و مسدود نشده (محل پارگی باز می باشد) و نیز تشکیل دو نوع وزیکول نشان داده شده است. با پاره شدن غشاء گلبول قرمز در یک نقطه اشباح گلبول قرمز با یک سوراخ روی غشاء شکل می گیرند. با شکستن و ترکاندن مکانیکی اشباح دو نوع وزیکول با جهت گیری خاص غشاء، شکل می گیرند. جهت گیری غشاء در این دو نوع وزیکول می تواند به صورت وارونه یا به صورت صحیح قرار گرفته باشد.



شکل ۱-۲۴: الگوی الکتروفورز ژل SDS پلی آکریل آمید در غشاء گلبول های قرمز رنگ آمیزی شده با کوماسی بلو[۱]، (A). موقعیت برخی از پروتئین های اصلی موجود در ژل به صورت شماتیک در تصویر B به نمایش گذاشته شده است (B). وجود مولکول های زیاد کربوهیدراتی در ساختار پروتئین گلیکوفورین سبب جابجایی کند این پروتئین شده و در نتیجه همانند مولکول های درشت (مثل Band3) به آرامی حرکت می نماید.

سپس غشاها به حالت محلول درآورده شده و پروتئین ها توسط الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید جدا شده و پروتئین های نشان دار از طریق رادیواکتیویته (توسط اتورادیوگرافی ژل) و یا از طریق فلورسنس (تأثیر نور فرابنفش بر ژل) قابل شناسایی هستند. باند پروتئین روی ژل، جهت گیری پروتئین را مشخص می سازد. در صورتی که باند این پروتئین هم از سطح خارجی غشاء (زمانی که سلول های دست نخورده یا اشباح ترمیم شده، نشان دار می شوند) و هم از سطح داخلی غشاء یا بخش سیتوپلاسمی (زمانی که وزیکول های ترمیم شده با سطح داخلی غشاء رو به سمت بیرون نشان دار می شوند) به دست آید بیانگر این است که این یک پروتئین سرتاسری است. در روش دیگر سطوح خارجی یا داخلی غشاء تحت تأثیر آنزیم های پروتئولیتیک نفوذناپذیر واقع می شود حال اگر پروتئین از هر دو سطح مورد هضم قرار گرفته باشد باز این پروتئین یک پروتئین سرتاسری است. از طرفی آنتی بادی های نشان دار نیز می توانند در شناسایی پروتئین های سرتاسری

۱. Coomassie Blue

کمک نمایند. با استفاده از تکنیک الکتروفورز ژل SDS پلی آکریل آمید حدود ۱۵ باند اصلی پروتئین با محدوده وزن مولکولی ۱۵۰۰۰ تا ۲۵۰۰۰۰ شناسایی گردیده است. سه پروتئین موجود در غشاء گلبول قرمز تحت عناوین اسپکترین[۱]، گلیکوفرین[۲] و باند۳ [۳] بیش از ۶۰ درصد کل پروتئین های غشاء را تشکیل می دهند (شکل ۱-۲۴).

اسپکترین یک پروتئین سیتواسکلتونی است که به صورت غیرکووالانسی با سمت سیتوپلاسمی غشاء گلبول های قرمز در ارتباط است

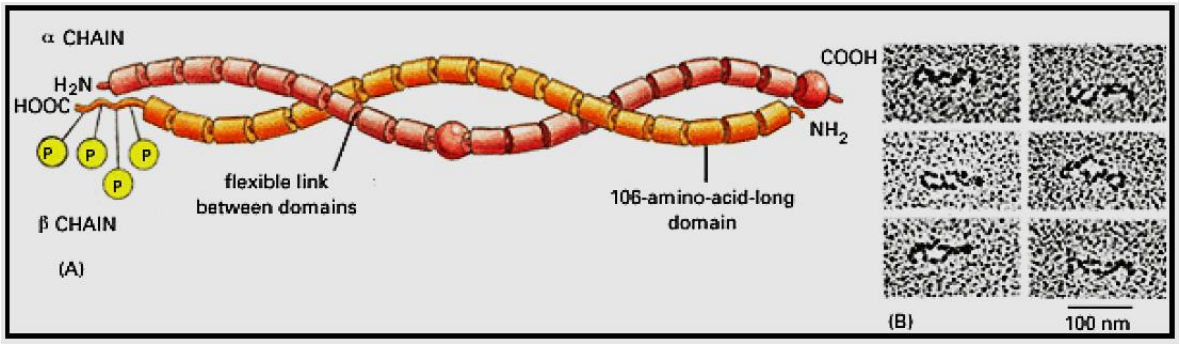
بیشتر مولکول های پروتئینی غشاء گلبول های قرمز انسان، پروتئین های محیطی هستند که در نیمه سیتوپلاسمی دو لایه لیپیدی غشاء مستقر شده اند. فراوان ترین این پروتئین ها، اسپکترین می باشد که حدود ۲۵٪ توده پروتئینی غشاء را به خود اختصاص می دهد. این پروتئین وضعیت مقعر الطرفین غشاء گلبول قرمز را موجب می گردد (شکل ۱-۲۲).

اسپکترین از ۲ زنجیره پلی پپتید بزرگ، تحت عنوان آلفا-اسپکترین و بتا- اسپکترین تشکیل شده است. هترودایمرهای اسپکترین به صورت سر به سر، به هم متصل شده و تشکیل تترامر را می دهند. پایانه های دمی ۵ یا ۹ تترامر با برقراری ارتباط با رشته های کوتاه اکتین و پروتئین دیگر(پروتئین باند ۴.۱)[۴] به هم دیگر متصل گشته و تشکیل یک ساختار شبکه مانند را در سطح سیتوپلاسمی غشاء می دهند. در واقع حضور پروتئین اسپکترین در غشاء گلبول قرمز و ارتباط آن با شبکه سیتواسکلتون سبب می شود تا این سلول ها، استرس وارده هنگام عبور از مویرگ های باریک را متحمل شوند. در حیوانات یا انسان هایی که از لحاظ ژنتیکی پروتئین اسپکترین در آن ها غیر طبیعی است، غشاء گلبول های قرمزشان نیز بسیار شکننده بوده و گلبول های قرمز به جای ساختار مقعر، از یک ساختار کروی برخوردار هستند. به دلیل نقص اسپکترین، شدت کم خونی در این موجودات بالا است. آزمایشات نشان داده اند که پروتئین آنکرین[۵] هم به اسپکترینβ و هم به دمین سیتوپلاسمی پروتئین غشاءگذر باند۳ متصل بوده و مسئول اتصال سیتواسکلتون اسپکترین به غشاء گلبول های قرمز می باشد. با اتصال پروتئین باند۳ به اسپکترین، آنکرین شبکه اسپکترین را به غشاء متصل نموده و از سرعت انتشار مولکول های باند۳ در دولایه لیپیدی به شدت می کاهد.

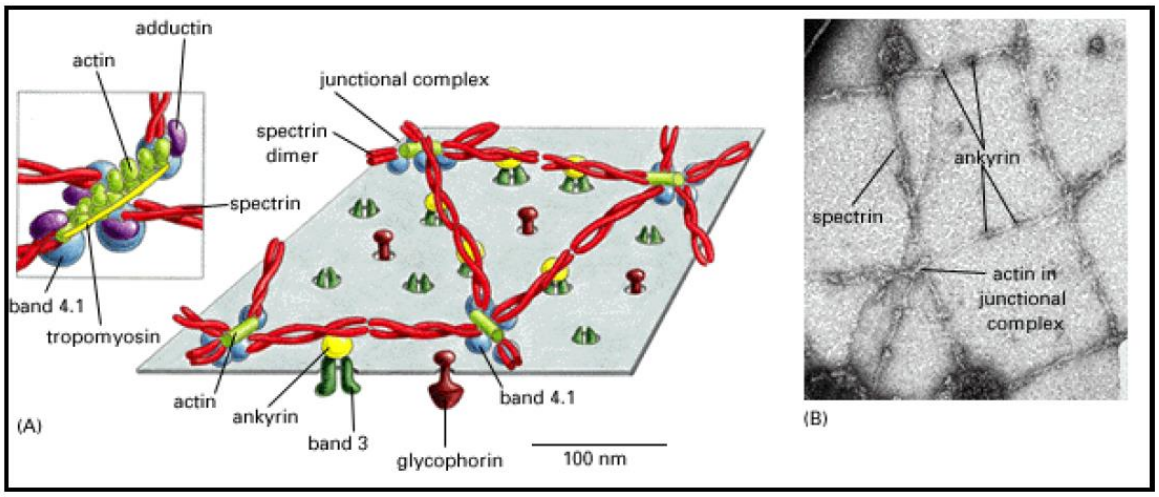
---

۱. Spectrin
۲.Glycophorin
۳. Band 3
۴. Band 4.1
۵. Ankyrin

سیتواسکلتون با پایه اسپکترین، ممکن است توسط یک مکانیسم ثانویه نیز به غشاء متصل گردد که عبارت است از پروتئین باند ۴,۱ که به اسپکترین و اکتین متصل بوده و نشان داده شده که دمین سیتوپلاسمی گلیکوفورین[۱] (پروتئین غشاءگذر بزرگ در گلبول های قرمز) نیز متصل می گردد.



شکل ۱-۲۵: مولکول های اسپکترین از سلول های قرمز انسان به صورت شماتیک در شکل A و به صورت میکروگراف الکترونی در شکل B نشان داده شده اند.هر هترو دایمر اسپکترین از دو زنجیره پلی پپتیدی، غیر موازی تشکیل شده است که به صورت سست به هم پیچیده اند. این دو زنجیره به صورت غیرکووالانسی در چندین نقطه (از جمله در انتهاها) به هم متصل شده اند.انتهای سر فسفریله در سمت چپ نشان داده شده است. در این ناحیه دو دایمر به هم متصل می شوند تا تشکیل تترامر را بدهند. هر دو زنجیره α و β از دمین های تکرار شده زیاد با ۱۰۶ اسید آمینه تشکیل شده اند.



شکل ۱-۲۶: تصویر شماتیک (A) و میکروگراف الکترونی (B) سیتواسکلتون وابسته به اسپکترین در سمت سیتوپلاسمی غشاء گلبول های قرمز انسان نشان داده شده است. دایمرهای اسپکترین به صورت سر به سر[۲] به هم متصل می شوند تا تشکیل تترامر را بدهند. نحوه قرارگیری سایر پروتئین ها از جمله آنکرین، باند۳ و گلیکوفورین نشان داده شده است.

۱. Glycophorin
۲. Head-to-Head

گلیکوفورین در طول دو لایه لیپیدی سلول قرمز به صورت یک مارپیچ منفرد α گسترده شده است

گلیکوفورین یکی از دو پروتئین بزرگ در سطح خارجی سلول های قرمز خون انسان بوده و یکی از اولین پروتئین های غشایی است که توالی اسیدهای آمینه آن به طور کامل معین گردیده است. این پروتئین، یک گلیکوپروتئین کوچک غشاءگذر بوده (با ۱۳۱ اسید آمینه) که بیشترین توده آن در سطح خارجی غشاء (جائی که انتهای آمینی آب دوست آن قرار گرفته است) مستقر شده است.

این بخش از پروتئین تمامی کربوهیدرات گلیکوفورین را حمل می نماید (حدود ۱۰۰ بنیان قندی روی ۱۶ زنجیره جانبی و مجزای الیگوساکارید). بنیان های قندی ۶۰ درصد توده مولکول پروتئین را به خود اختصاص می دهند. درواقع بخش اعظم کربوهیدرات کل سطح غشاء گلبول قرمز شامل بیش از ۹۰ درصد از اسید سیالیک می باشد لذا بیشترین بار منفی سطح توسط مولکول های گلیکوفورین حمل می شود. دم انتهایی کربوکسیلی و آب دوست گلیکوفورین به سمت سیتوپلاسم بوده در حالی که قطعه مارپیچ α آب گریز آن (با ۲۳ اسید آمینه)، از غشاء دو لایه گذر نموده است. لذا گلیکوفورین، غنی از اسید سیالیک بوده و به سیالوگلیکوپروتئین[۱] نیز معروف می باشد.

اسید سیالیک موجود در گلیکوفورین به سلول های قرمز خون یک پوشش باردار آب دوست می بخشد. این وضعیت سبب می شود گلبول های قرمز بدون اتصال به دیگر سلول ها یا دیواره عروق خونی، گردش نمایند.

گلیکوفورین ها به ۴ گروه تقسیم می شوند: گلیکوفورین A، B، C و D.

مشخص شده گلیکوفورین D زیر نوعی از گلیکوفورین C می باشد. پروتئین گلیکوفورین پروتئین تک گذر[۲] می باشد.

پروتئین باند۳ یک پروتئین انتقال دهنده آنیونی است

برخلاف گلیکوفورین، پروتئین باند۳ نقش مهمی در سلول ایفاء می نماید. نام این پروتئین به دلیل موقعیت قرارگیری آن نسبت به سایر پروتئین های غشاء بعد از الکتروفورز گرفته شده است (شکل ۱-۲۴).

مشابه گلیکوفورین، پروتئین باند ۳ نیز یک پروتئین غشاءگذر می باشد، اما برخلاف گلیکوفورین، یک پروتئین چند بار گذر[۳] از غشاء می باشد. هر گلبول قرمز دارای حدود $۱۰^۶$ زنجیره پلی پپتیدی پروتئین باند β می

۱. Sialoglycoprotein
۲. Single Pass
۳. Multipass

باشد که تصور می شود تشکیل زنجیره های دایمر و تترامر را در غشاء بدهند. پروتئین باند۳ به مبادله کننده آنیونی۱ (AE1)[۱] نیز معروف می باشد که سبب عبور کلر به داخل گلبول قرمز و خروج یون بی کربنات از گلبول قرمز می گردد. در تمامی مهره داران این پروتئین ساختار مشابهی داشته و در انسان در دو ناحیه مشخص یافت می شود:

الف) غشاء گلبول های قرمز

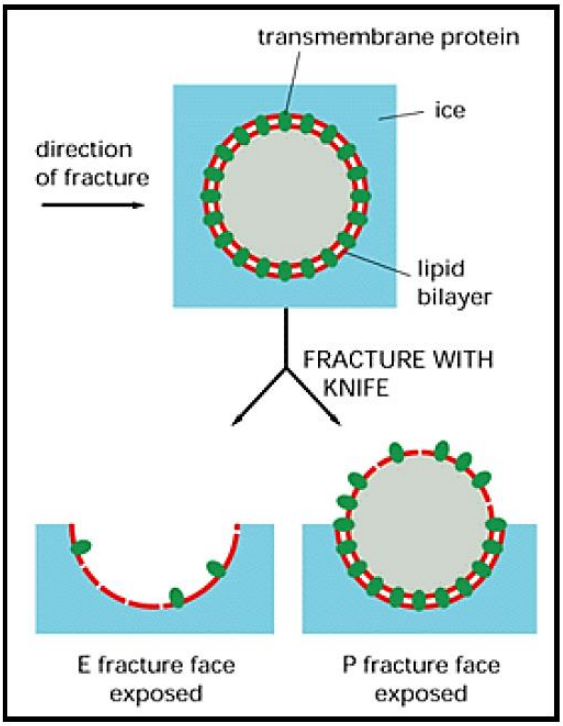
ب) سطح قاعده ای جانبی[۲] سلول های اینترکاله (سلول های مترشحه هیدروژن) در مجاری جمع کننده کلیه. اشکال گلبول قرمز و کلیه ایزوفرم های مختلف یک پروتئین هستند.

پروتئین باند۳ علاوه بر مبادله بی کربنات و کلر، سبب اتصال فیزیکی غشاء پلاسمایی به شبکه سیتواسکلتون زیری می شود (از طریق اتصال با آنکرین و پروتئین ۴.۲) جهش در ژن AE1 سبب ایجاد اسفروسیتوز ارثی[۳] می شود که با همولیز غشاء گلبول های قرمز همراه می باشد. از طرفی با موتاسیون ژن AE1، نشت سدیم و پتاسیم از گلبول قرمز صورت می گیرد. در صورتی که ایزوفرم کلیوی AE1 دچار اختلال گردد، کلیه ها قادر به تولید ادرار اسیدی نخواهند بود (هرچند خون شدیداً اسیدی شده باشد). بنابراین پروتئین باند۳ بی کربنات را که غلظتش در داخل گلبول قرمز بالاست (ترکیب دی اکسید کربن + آب) به بیرون هدایت نموده و در مقابل یون کلر را که دارای غلظت بیشتری در خارج است به داخل می آورد. این پدیده به تعویض کلر[۴] نیز معروف است. در دیگر سلول های هسته دار، جهت کنترل pH داخل سلول ترانسپورتر آنیونی مشابه با پروتئین باند۳ مشاهده می شود. در شکل ۱-۲۷ و ۱-۲۸ به کمک تکنیک شکست انجمادی و استفاده از میکروسکوپ الکترونی سطح پروتوپلاسمیک و سطح خارجی دو لایه لیپیدی غشاء قابل مطالعه است.

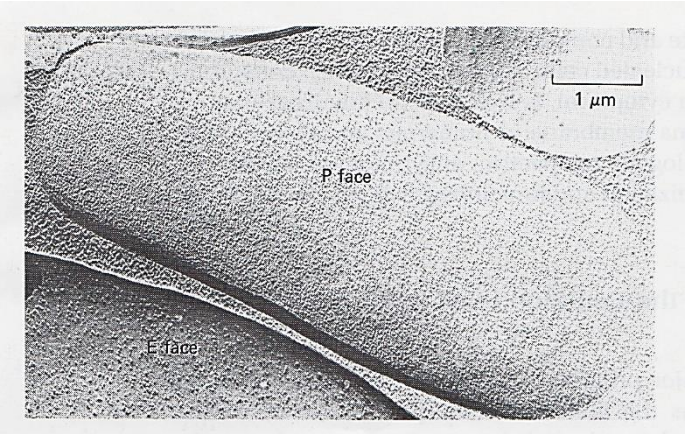
به کمک تکنیک شکست انجمادی و استفاده از میکروسکوپ الکترونی پروتئین باند۳ به صورت ذرات درون غشایی مجزاء قابل رؤیت می باشد. بعد از انجماد سلول و ایجاد برش در ناحیه دو لایه لیپیدی غشاء (شکل ۱-۲۹)، دو بخش در این شکست قابل رؤیت می باشد: الف) بخش داخلی و آب گریز دو لایه لیپیدی که به سمت سیتوپلاسم می باشد و به سطح P [۵] معروف بوده و بخش داخلی و آب گریز دو لایه لیپیدی که به سمت خارج سلول گسترده شده و به سطح E [۶] معروف می باشد. همانگونه که در شکل ۱-۲۹ نیز مشخص است بخش اعظم پروتئین باند۳ در سطح P مستقر بوده و بخش اعظم پروتئین گلیکوفورین در سطح E قرار گرفته است. ساختار پروتئین باند۳ به صورتی است که قادر است مسیری را برای عبور یون های کلر و بی کربنات در

۱. Anion Exchanger 1 (AE1)
۲. Basolateral
۳. Hereditary Spherocytosis
۴. Choloride Shift
۵. P Face
۶. E face

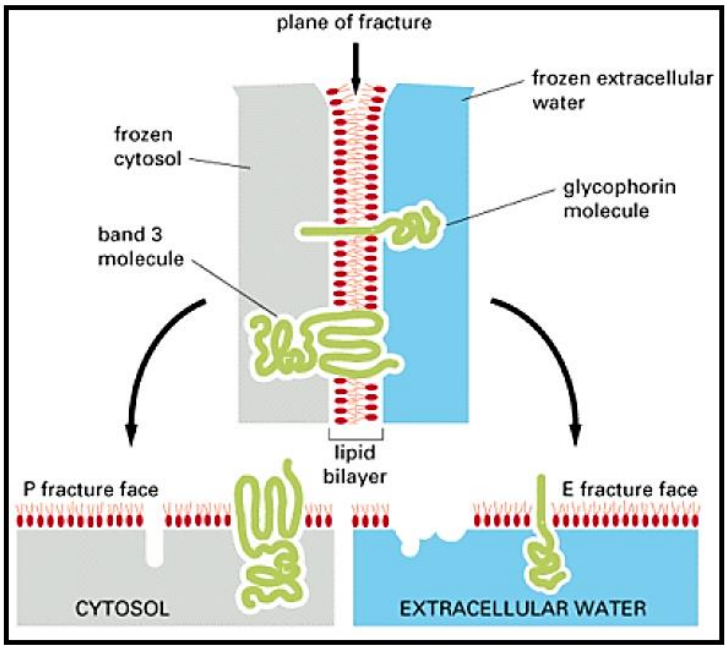
طول دو لایه لیپیدی غشاء فراهم بیاورد. در حالی که پروتئین گلیکوفورین از دو لایه لیپیدی به صورت تک زنجیره مارپیچ آلفا رد شده و توانایی تشکیل کانال برای انتقال ترکیبات بین دو سوی غشاء را ندارد.



شکل ۱-۲۷: تکنیک شکست انجمادی همراه با میکروسکوپ الکترونی، نیمه داخلی پروتوپلاسمیک (سطح P) و نیمه خارجی غشاء (سطح E) دولایه را مشخص می نماید.



شکل ۱-۲۸: میکروگراف الکترونی از شکست انجمادی گلبول های قرمز انسان. دقت کنید تراکم اجزاء درون غشایی در سطح پروتوپلاسمیک (سطح P) بیشتر از سطح خارجی (سطح E) می باشد.



شکل ۱- ۲۹: تصویر شماتیک از نحوه قرارگیری پروتئین باند۳ و پروتئین گلیکوفورین در غشاء گلبول های قرمز. بعد از شکافته شدن غشاء سلول توسط تکنیک شکست انجمادی، پروتئین باند۳ بیشتر در نیمه داخلی و سطح پروتوپلاسمیک p غشاء خود را نشان می دهد در حالی که بیشترین میزان گلیکوفورین در سطح E مستقر می باشد. هر چند بخشی از دم پروتئین گلیکوفورین به منطقه پروتوپلاسمیک نفوذ نموده است.

هرچه شناخت ما از ساختار سه بعدی پروتئین بیشتر باشد، تکمیل اطلاعات در زمینه عملکرد آن پروتئین نیز آسانتر است.

اولین پروتئین انتقالی غشاء که جزئیات آن شناخته شد پروتئین باکتریو رودوپسین[۱] می باشد. این پروتئین، به عنوان یک پمپ هیدروژنی فعال شونده توسط نور[۲] در غشاء پلاسمایی باکتری های ویژه ای انجام وظیفه می نماید. باکتریو رودوپسین یک پمپ پروتونی است که هفت بار از دو لایه لیپیدی به صورت مارپیچ آلفا رد شده است. این پروتئین ۷ بار از غشای پلاسمایی عبور نموده است و جزء پروتئین های ۷ گذر[۳] می باشد. غشاء پلاسمایی و ارغوانی رنگ باکتری هالوباکتریوم هالوبیوم[۴] غنی از پروتئین باکتریو رودوپسین است (شکل ۳۰-۱). هر مولکول باکتریو رودوپسین حاوی یک گروه جذب کننده نور تحت عنوان کروموفور[۵] می باشد.

۱. Bacteriorhodopsin
۲. Light-Activated Proton Pump
۳. Seven-Pass
۴. Halobacterium Halobium
۵. Chromophore

کروموفور یا رتینال از نظر ساختاری به ویتامین A مرتبط بوده و همانند کروموفور موجود در رودوپسین[1] سلول های استوانه ای شبکیه چشم مهره داران می باشد.

رتینال به اسید آمینه لیزین زنجیره جانبی پروتئین به صورت کووالانسی متصل می باشد. زمانیکه رتینال توسط یک فوتون نوری (بسته نوری) تحریک می شود، کروموفور تحریک شده سبب یک تغییر شکل فضایی در مولکول پروتئین می شود و این تغییر شکل نیز به انتقال یک یا دو یون H^+ از داخل سلول به بیرون سلول منجر می گردد.

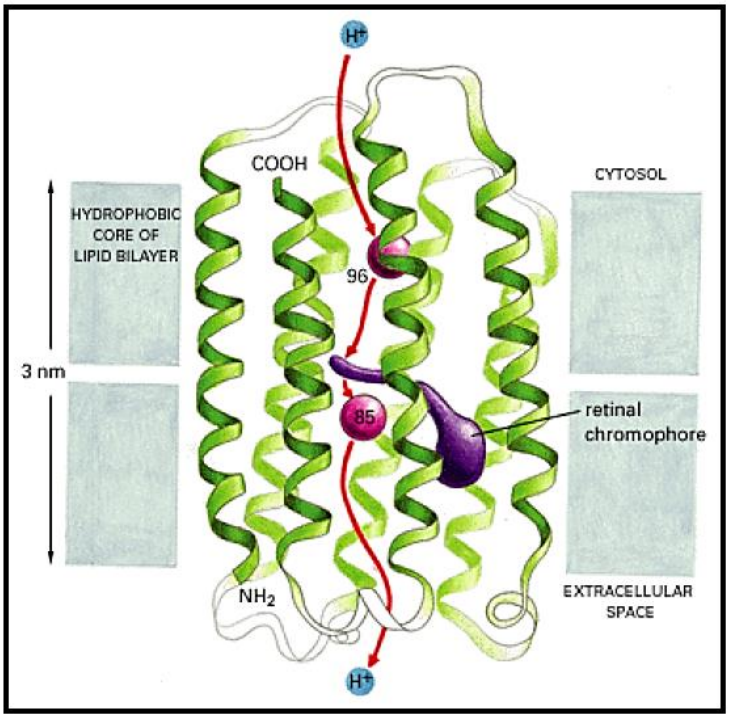
شکل ۳۰-۱: طرح شماتیک از باکتری هالوباکتریوم هالوبیوم که بیانگر تکه های غشای ارغوانی است که محتوی مولکول های باکتریورودوپسین می باشد. این باکتری ها که در استخرهای آب شور در معرض نور شدید خورشید زندگی می کنند از لحاظ تکاملی دارای انواعی از پروتئین های فعال شونده توسط نور هستند. به عنوان مثال باکتریورودوپسین که یک پمپ هیدروژن فعال شونده توسط نور در غشاء پلاسمایی باکتی است مثالی از این نوع پروتئین های فعال شونده توسط نور می باشد.

انتقال یون هیدروژن به بیرون از سلول سبب ایجاد یک گرادیان هیدروژنی (گرادیان ولتاژ) از عرض غشاء پلاسمایی شده و این گرادیان در نهایت منجر به تولید ATP توسط یک پروتئین ثانویه در غشاء پلاسمایی سلول می گردد. مولکول های باکتریورودوپسین به میزان زیادی در غشاء پلاسمایی باکتری به صورت شبکه های کریستالین مستقر شده اند. شکل ۱-۳۰ تصویر شماتیک از باکتری هالوباکتریوم هالوبیوم می باشد که تکه های غشایی حاوی مولکلول های باکتریورودوپسین در تصویر مشخص است. این باکتری در مخازن آب شور زندگی می کند و توسط این رنگدانه، نور خورشید را جذب نموده و از گرادیان یون هیدروژن در تولید انرژی شیمایی سود می برد.

هر مولکول باکتریورودوپسین از ۷ بسته مارپیچ α راست گرد (که هر بسته شامل ۲۵ اسیدآمینه می باشد) تشکیل شده است. باکتریورودوپسین عضوی از خانواده پروتئین های غشایی ۷گذر از غشاء بوده که همگی دارای ساختار مشابه ولی عملکرد متفاوت می باشند. به عنوان مثال پروتئین گیرنده نور (یا رودوپسین) در سلول های استوانه ای شبکیه چشم مهره داران و تعدادی از پروتئین های گیرنده سطح سلول که به هورمون ها پاسخ می دهند (گیرنده- بتا- آدرنرژیک و گیرنده موسکارینی استیل کولین) جزء این خانواده می باشند.

۱. Rhodopsin

این پروتئین ها به عنوان مبدل سیگنال[1] عمل می نمایند نه به عنوان ترانسپورتر، چرا که این پروتئین ها به سیگنال خارجی از طریق فعال نمودن یک پروتئین غشایی پلاسمایی پاسخ می دهند. به عبارت دیگر پروتئین ثانویه فعال شده توسط گیرنده های ۷ بار گذر از غشاء سبب پیشبرد یک سیگنال شیمیایی در سیتوزول می گردد.

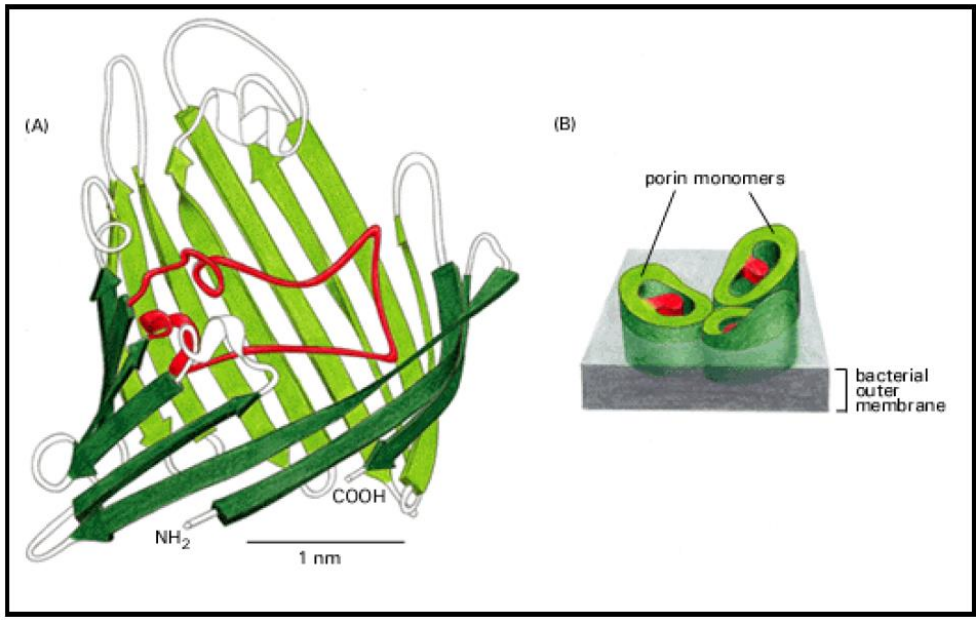


شکل ۱-۳۱: ساختار سه بعدی یک مولکول باکتریورودوپسین و ارتباط آن با دو لایه لیپیدی غشاء. زنجیره های پلی پپتیدی باکتریورودوپسین ۷ بار از غشاء پلاسمایی به صورت مارپیچ آلفا، عبور نموده اند. موقعیت کروموفور و مسیر احتمالی که توسط پروتون ها طی چرخه پمپ فعال شونده توسط نور اتفاق می افتد، نشان داده شده است. زمانی که توسط یک فوتون فعال می شود، کروموفور سبب انتقال یون هیدروژن به زنجیره جانبی اسید آسپارتیک (کره شماره ۸۵) می شود. به همین ترتیب سه یون هیدروژن دیگر سبب تکمیل چرخه از اسید آسپارتیک ۸۵ به فضای خارج سلولی می گردد، یعنی از اسید آسپارتیک ۹۶ (کره ۹۶) به کروموفور و از سیتوزول به اسید آسپارتیک ۹۶.

پورین ها پروتئین های غشـــاءگذر تشکیل دهنده منفذ هستند که دو لایه لیپیدی را به شکل بشکه β قطع می نمایند

۱. Signal Transducers

پورین ها در غشـاء خارجی بسـیاری از باکتری ها وجود دارند. بسـیاری از باکتری ها مثل E-coli در غشـاء خـارجی خود دارای پورین بوده و بـه محلول هـای هیدروفیلیک تا ۶۰۰ دالتون اجازه عبور از عرض دو لایه لیپیدی را می دهند. پروتئین های تشـکیل دهنده منفذ[۱] در غشـاء خارجی میتوکندری و کلروپلاسـت نیز وجود دارند. پورین از تری مر تشـکیل شده است که که هر مونومر آن به شکل توبول بشکه بتا[۲] است. یعنی در واقع به شـکل یک کانال پر شده از آب در دو لایه غشاء می باشد. هر مونومر یا هر بشکه، تشکیل شده از ۱۶ رشـته ناموازی صـفحه بتا که طوری انحناء یافته اند که شکل سیلندر و استوانه را پیدا کرده اند. زنجیره های قطبی در میانه کانال و زنجیره های غیر قطبی در خارج سـتون بوده و در مجاورت نواحی هیدروفوبیک غشاء هستند (شکل ۱-۳۲).



شـکل۱-۳۲: سـاختمان یک پورین تریمر را نشـان می دهد. هر کدام از اسـتوانه های بتا خودشان از ۱۶ رشته ناموازی تشکیل شده اند که در کل شکل یک کانال را ایجاد می کنند. این ۳ مونومر یا در واقع سه کانال کنار هم جمع شده و در واقع ۳ کانال مجزا چسـبیده به هم را می سـازنند. از این ۱۶ رشته، ۲ رشته توسط یک لوپ طویل پلی پپتیدی به هم وصل هستند که این لوپ در داخل لومن کانال قرار می گیرد و کانال را تنگ تر می کند.

۱. Pore-forming
۲. β-barrel

جزئیات ساختاری مرکز واکنش فتوسنتزی[۱]:

گاهی اوقات، زنجیره های پلی پپتیدی مختلف با همدیگر جمع شده و تشکیل تجمعات چند آنزیمی[۲] را می دهند که این مجموعه به دلیل تعاونی زیر واحدهایش قادر است واکنش های پیچیده را با کارآرائی بالا، به انجام برساند.

کمپلکس پروتئینی مشابهی تحت عنوان "مرکز واکنش فتوسنتزی" در غشاء پلاسمایی باکتری فتوسنتز کننده ارغوانی به نام رودوپزودوموناس ویریدیس[۳] وجود دارد. این پروتئین غشایی از انرژی نورانی به دام انداخته شده جهت ایجاد یک الکترون پر انرژی استفاده می نماید که این الکترون از عرض غشاء در کمتر از نانو ثانیه عبور نموده و به یک حامل الکترونی دیگر در غشاء پلاسمایی می رسد که این حامل از انرژی آزاد شده توسط فرایند انتقال الکترون جهت سنتز ATP در سیتوزول استفاده می نماید. پروتئین مرکز واکنش فتوسنتزی تترامری است که از ۴ زیر واحد تشکیل شده است به نام های L، M، H و یک سیتوکروم[۴]. ساختار سه بعدی این پروتئین بعد از تخلیص توسط تکنیک تفرق اشعه X مشخص شده است. کمپلکس پروتئینی شامل ۴ مولکول کلروفیل و ۸ مولکول کوآنزیم است که الکترون ها را حمل می نمایند.

مشخص شده زیر واحدهای L و M، هومولوگ بوده و هر کدام حاوی پنج مارپیچ α هستند که دو لایه لیپیدی غشاء پلاسمایی را گذر نموده اند (شکل ۱-۳۳). این دو زیرواحد تشکیل یک هترو دایمر را می دهند که مرکز واکنش پروتئین بوده و ۱۰ مارپیچ آلفای آن ها، حاملین الکترونی را احاطه نموده است. زیر واحد H دارای یک مارپیچ آلفای غشاء گذر می باشد، در حالی که بقیه زنجیره پلی پپتیدی به داخل یک دمین[۵] گوی مانند پیچیده خورده و این بخش نیز به هترو دایمر L-M در بخش سیتوپلاسمی غشاء متصل گردیده است. سیتوکروم نیز یک پروتئین غشایی محیطی است که به هترو دایمر L-M در سمت غیر سیتوپلاسمی غشاء متصل می گردد. دو زیرواحد واقع در خارج از دو لایه لیپیدی (یعنی زیرواحد M و H) به طور قابل توجهی، کارآئی واکنش فتوسنتزی کاتالیز شده توسط هترودایمر L-M را بالا می برند. به این صورت که سیتوکروم سبب حفظ و ابقاء هترو دایمر L-M غنی از الکترون شده در حالی که زیرواحد H سبب مزدوج شدن پروتئین مرکز واکنش با پروتئین های جمع کننده نور در سطح داخلی سلول می گردند. هترودایمر L-M در طول تکامل شدیداً حفظ شده و ارتباط نزدیکی با پروتئین هایی دارد که تصور می شود هسته یکی از پروتئین های مرکز واکنش فتوسنتزی در گیاهان سبز را شکل می دهد.

---

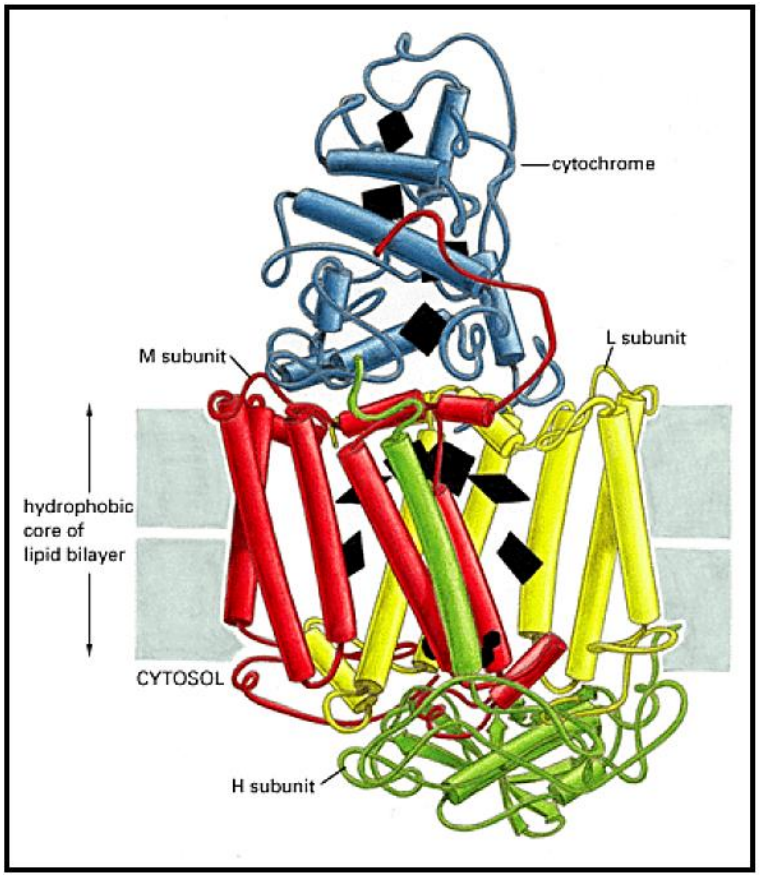
۱. Photosynthetic Reaction Center

۲. Multienzyme Assemblies

۳. *Rhodopseudomonas viridis*

۴. Cytochrome

۵. Domain



شکل ۱-۳۳: ساختار سه بعدی پروتئین مرکز واکنش فتوسنتزی در باکتری رودوپزودوموناس ویریدیس توسط تکنیک تفرق اشعه X مشخص گردیده است. کمپلکس پروتئینی شامل ۴ زیرواحد L، M، H و سیتوکروم می باشد. زیرواحدهای L و M هسته پروتئین بوده و هر کدام شامل ۵ مارپیچ آلفا می باشند که از غشاء پلاسمایی رد شده اند. موقعیت کوآنزیم های حامل الکترون به صورت اشکال مکعب مانند تیره در شکل مشخص است.

انتشار و تحرک پروتئین ها در سطح غشاء پلاسمایی

پروتئین های غشایی قادر به انجام حرکت فلیپ فلاپ[۱] از عرض غشاء سلول نمی باشند اما می توانند حرکات چرخشی حول محوری عمود بر سطح غشاء دو لایه[۲] از خود نشان دهند. از طرفی حرکات جانبی یا انتشار جانبی[۳] نیز از پروتئین های غشاء گزارش شده است.

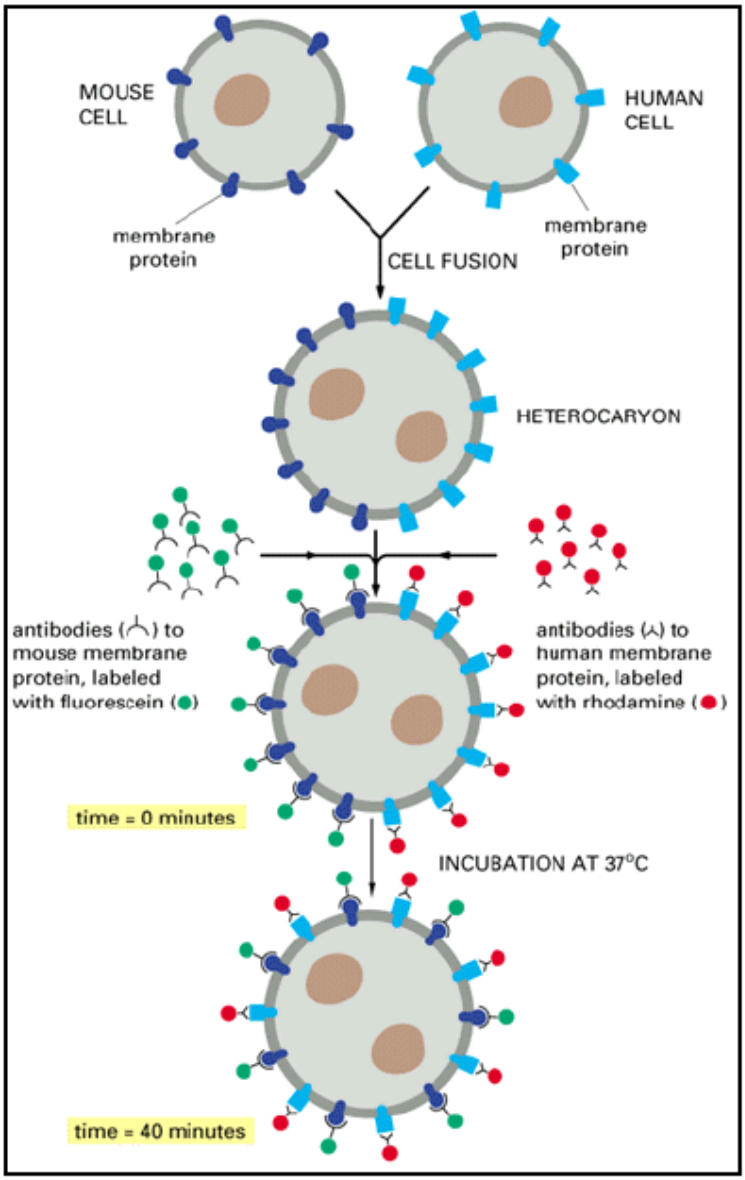
اولین بار در سال ۱۹۷۰ با بررسی سلول های هیبریدی حاصل از الحاق سلول موش با سلول انسانی، تحرک برخی از پروتئین ها در غشاء سلول به اثبات رسید. به عبارت دیگر اگر سلول موش و سلول انسانی که حاوی پروتئین های متفاوتی در سطح غشاء پلاسمایی خود می باشند توسط ویروس کشته شده سندایی و یا ترکیب پلی اتیلن گلیکول کشت داده شوند، این دو سلول با هم ادغام شده و سلول هیبرید انسان و موش حتی تا مرحله آمیزش هسته و تقسیم سلولی نیز پیشرفت می کنند. سپس سلول ها را با آنتی بادی هایی برعلیه آنتی ژن های سطحی موجود در غشاء دو سلول (که به مواد فلورسنت متصل شده اند) رنگ آمیزی می نمایند. در این روش مولکول های پروتئینی (آنتی ژن های سطحی) آزادانه در دریایی از ترکیبات لیپیدی شناور می شوند. این مدل، همان مدل موزائیک مایع غشاء[۴] می باشد.

مطابق شکل ۱-۳۴، سلول انسانی و سلول موش هر کدام دارای آنتی ژن های مخصوص خود بوده و بعد از جوش خوردن دو سلول، سلول حاصله سلول ناجور هسته یا هتروکاریون[۵] نامیده می شود. هتروکاریون حاوی دو هسته بوده و از طرفی پروتئین های سطحی دو سلول موش و انسان در هتروکاریون حاصله هر کدام یک نیمه سلول را پر نموده اند (یعنی پروتئین های سلول موش در سمت چپ و پروتئین های سلول انسانی در سمت راست، سلول هتروکاریون توزیع گشته اند). در مرحله ی بعدی سلول ها در معرض ۲ نوع آنتی بادی قرار می گیرند: الف) آنتی بادی مخصوص آنتی ژنهای انسانی که توسط رودامین[۶]؛ نشان دار شده اند. ب) آنتی بادی های مخصوص آنتی ژن های موش که با فلورسین[۷] نشان دار گشته اند. سپس سلول ها در دمای ۳۷ دجه سانتی گراد انکوبه شده و اتصال آنتی بادی های ویژه به آنتی ژن های خود صورت می گیرد.

در سلول نهایی همانطور که مشاهده می شود کمپلکس های آنتی ژن- آنتی بادی متعلق به هر دو جانور (موش و انسان) در سرتاسر سلول (به صورت یک در میان) پراکنده اند. این موضوع بیانگر تحرک پروتئین های موش و انسان در سرتاسر غشاء سلول می باشد. در زیر میکروسکوپ فلورسنس، فلورسین به رنگ سبز و رودامین به رنگ قرمز مشخص می گردد.

---

۱. Flip-flop
۲. Rotentional diffusion
۳. Lateral diffusion
۴. Fluid mosaic model
۵. Heterocaryon
۶. Rhodamine
۷ . Florescein

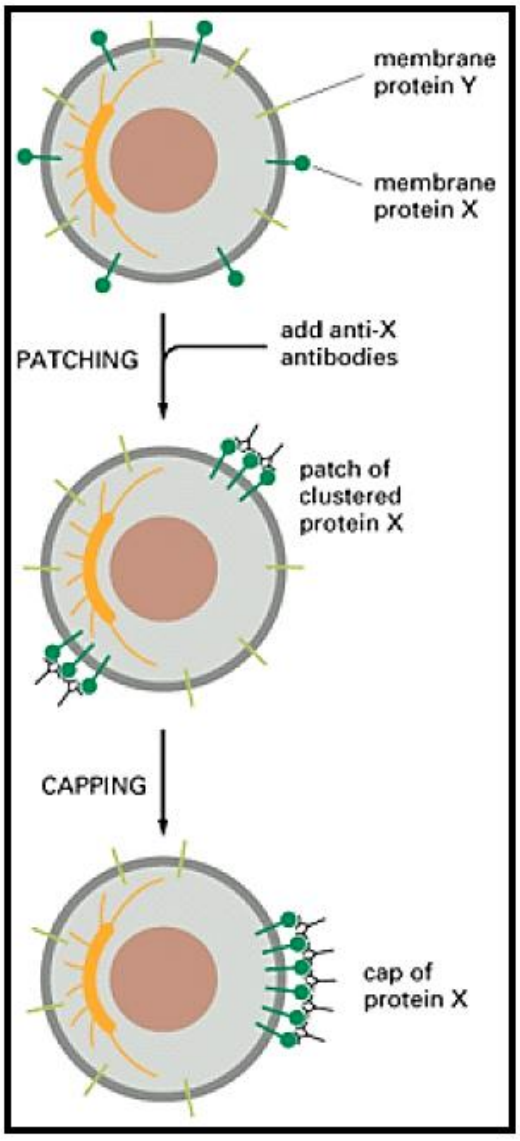


شکل ۱-۳۴: مراحل آزمایش مربوط به ترکیب پروتئین های غشایی سلول موش و سلول انسانی.

به غیر از ترکیب سلول موش و انسان و بررسی حرکت پروتئین های غشاء، راه دیگر برای بررسی حرکت پروتئین ها در غشاء، استفاده از روش patching & capping است. در این روش از لیگاند یا آنتی بادی هایی استفاده می شود که دارای بیش از یک محل اتصال[۱] هستند، یعنی لیگاندهای چند ظرفیتی[۲] می باشند. این لیگاندها به پروتئین های خاصی در غشاء متصل شده بعد پروتئین ها با برقراری اتصالات عرضی[۳] به هم

۱. Binding site
۲. Multivalent ligand
۳. Cross linking

نزدیک شده و یک خوشه بزرگ یا یک تکه[1] را می سازنند. این موضوع بیانگر این است که پروتئین ها دارای انتشار جانبی هستند. سپس این پچ ها یا تکه ها به طور فعال حرکت کرده و به یک قطب سلول حرکت کرده (قطبی که در آن جا آنتی بادی قرار گرفته است) و شکل یک کلاهک[2] را می سازند. این نوع حرکت در گلبول های سفید عمومیت دارد (۱-۳۵).



شکل ۱-۳۵: تکه دار شدن و تشکیل شدن کلاهک (patching & capping) تحت القاء آنتی بادی در پروتئین های سطحی سلول گلبول سفید. پس از اضافه شدن آنتی بادی (آنتی-X به محیط کشت سلول)، این آنتی بادی ها به پروتئین های X موجود در غشاء سلول متصل شده و تشکیل تکه ها و پچ های خوشه ای شده در سطح را می دهند. سپس این پچ های مستقر در دو

۱. Patch
۲. Cap

سوی سلول به یک سمت سلول (انتهای دمی) حرکت کرده و کلاهک را به وجود می آورند. سنتروزوم[1] که قطبیت سری-دمی سلول را کنترل می کند به صورت هلالی شکل در کنار هسته سلول مشخص است.

سرعت های انتشار جانبی پروتئین های غشاء با استفاده از تکنیک FRAP یا Fluorescence Recovery After Photobleching قابل اندازه گیری است. در این روش معمولاً پروتئین های موردنظر با یک گروه فلورسنت ویژه علامت گذاری می شوند. این علامت گذاری یا توسط یک لیگاند فلورسنت همچون آنتی بادی علامت گذاری شده توسط فلوروفور (Fluorophore-labeled antibody) صورت می گیرد که به پروتئین موردنظر متصل می شوند، یا از تکنولوژی DNA نوترکیب، جهت معرفی پروتئین های جوش خورده به پروتئین فلورسنت سبز (GFP)[2] استفاده می شود. سپس گروه فلورسنت در منطقه کوچکی از غشاء توسط باریکه ای از نور لیزر سفید[3] می شود. مدت زمانی که پروتئین های غشایی مجاور سپری می کنند تا لیگاند غیرسفیدشده[4] یا GFP را به داخل منطقه سفید شده پخش نمایند، اندازه گیری می گردد (شکل ۱-۳۶، بخشA). تکنیک مکمل عبارت است از فقدان فلورسنس در سفیدکاری توسط نور[5] یا FLIP. در این روش یک باریکه ای از نور لیزر به طور مداوم به منطقه کوچکی از غشاء سلول تابیده می شود تا سبب سفید شدن مولکول های فلورسنتی شود که به آن منطقه منتشر شده اند. بنابراین به تدریج سبب تهی و خالی شدن غشاء مجاور از مولکول های علامت گذاری شده توسط فلورسنت می گردد (شکل ۱-۳۶، بخش B). با استفاده از اندازه گیری های FRAP و FLIP می توان ضریب انتشار[6] پروتئین های علامت گذاری شده در سطح سلول را محاسبه نمود. مقادیر ضریب انتشار برای پروتئین های مختلف غشاء در سلول های متفاوت شدیداً متغیر می باشد چرا که تداخل با سایر پروتئین های غشاء سبب ممانعت از انتشار پروتئین ها به میزان زیاد می شود. اندازه گیری پروتئین هایی که به طور مینیمم در این روش ممانعت شده اند بیان گر این است که غشاهای سلولی دارای ویسکوزیته ای قابل مقایسه با روغن زیتون می باشند. یکی از معایب تکنیک های FRAP و FLIP این است که این تکنیک ها حرکت جمعیت بزرگی از مولکول ها را در یک منطقه نسبتاً بزرگی از غشاء نظارت می نماید. به عبارتی در این تکنیک ها تعقیب مولکول های پروتئینی منفرد امکان پذیر نیست. برای مثال اگر یک پروتئین در مهاجرت به منطقه سفید شده شکست بخورد، نمی توان با قاطعیت گفت که آیا این مولکول واقعاً غیرمتحرک است یا حرکتش به منطقه کوچکی از غشاء توسط پروتئین های سیتو اسکلتونی محدود شده است. تکنیک "ردیابی ذره-منفرد[7]" با نشانه گذاری مولکول های غشاء با آنتی بادی

---

۱. Centrosome

۲. Green Fluoroscent protein

۳. Bleach

۴. Unbleached Ligand

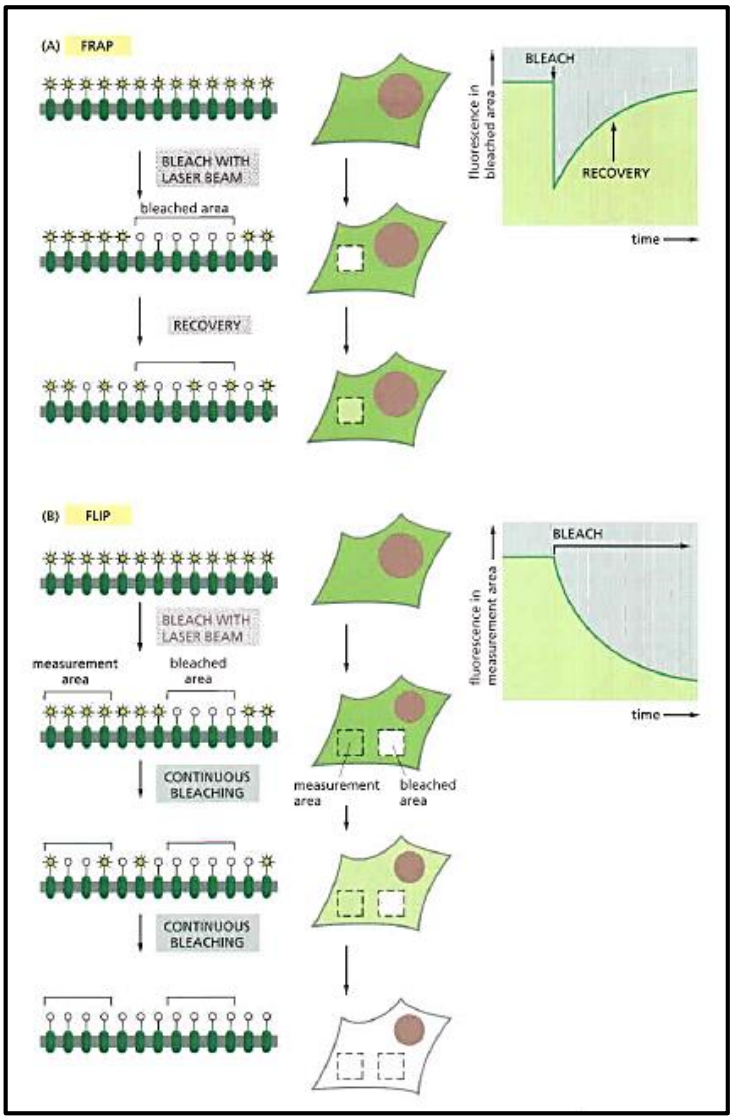
۵. Fluoroscene Loss in photobleching (FLIP)

۶. Diffusion coefficient

۷. Single-Particle tracking techniques

های جفت شده به رنگ های فلورسنت یا ذره های کوچک طلا و ردیابی حرکت این مولکول ها توسط میکروسکوپ مجهز به دوربین، به این مشکل غلبه نموده است.

با استفاده از این تکنیک "ردیابی ذره- منفرد" محقق می تواند مسیر انتشار یک مولکول پروتئینی منفرد غشاء را طی یک دوره زمانی طولانی ثبت نماید. اطلاعات به دست آمده از کلیه تکنیک های ذکر شده بیان کننده این است که پروتئین های غشاء پلاسمایی از نظر خصوصیات انتشاری به طور وسیعی متفاوت هستند. معمولاً ضریب انتشار پروتئین های غشاء یک دهم تا یک صدم مقدار مربوط به فسفولیپیدهای غشاء است.



شکل ۱-۳۶: اندازه گیری سرعت انتشار جانبی یک پروتئین غشایی توسط تکنیک سفیدسازی توسط نور یا فتوبلیچینگ. یک پروتئین ویژه می تواند به صورت یک پروتئین جوش خورده با پروتئین فلورسنت سبز (GFP) بیان گردد. (A) در تکنیک FRAP مولکول های فلورسنت در یک منطقه کوچکی از غشاء توسط باریکه ای از نور لیزر سفید می گردد. شدت فلورسنس با انتشار مولکول های سفید شده به اطراف و نیز انتشار مولکول های غیرسفید شده به سمت منطقه نور تابیده شده بهبود می یابد

(در این شکل در بخش کناری و بالا نشان داده شده است). ضریب انتشار از نمودار سرعت بهبود یا ریکاوری قابل محاسبه است: ضریب انتشار بزرگتر پروتئین های غشاء با سرعت بیشتر بهبود متناسب است. (B) در تکنیک FLIP منطقه کوچکی از غشاء به صورت مداوم پرتوافکنی می شود و فلورسنس در یک ناحیه ویژه اندازه گیری می گردد. در ناحیه دوم فلورسنس به طور پیش رونده ای با انتشار پروتئین های فلورسنت به سمت خارج و انتشار مولکول های سفید شده به سمت داخل، کاهش می یابد.در نهایت تمامی مولکول های پروتئینی فلورسنت تا زمانی که متحرک هستند و به طور محکم به سیتواسکلتون یا ماتریکس خارج سلولی متصل نشده اند، سفید می گردند.

توانایی سلول ها در حبس نمودن پروتئین ها و لیپیدها در مناطق ویژه ای از غشاء

بیشتر سلول ها، برخی از پروتئین های غشایی را به مناطق ویژه ای از دو لایه لیپیدی منحصر می نمایند. به عنوان مثال در باکتری هالوباکتریوم، کریستال های دو بعدی باکتریورودوپسین در مناطق ویژه ای از غشاء سلول مستقر هستند. از طرفی در سلول های اپی تلیالی روده یا کلیه، آنزیم های ویژه غشاء پلاسمایی و یا پروتئین انتقال دهنده در سطح رأسی[۱] سلول محبوس شده اند (شکل ۱-۳۷).

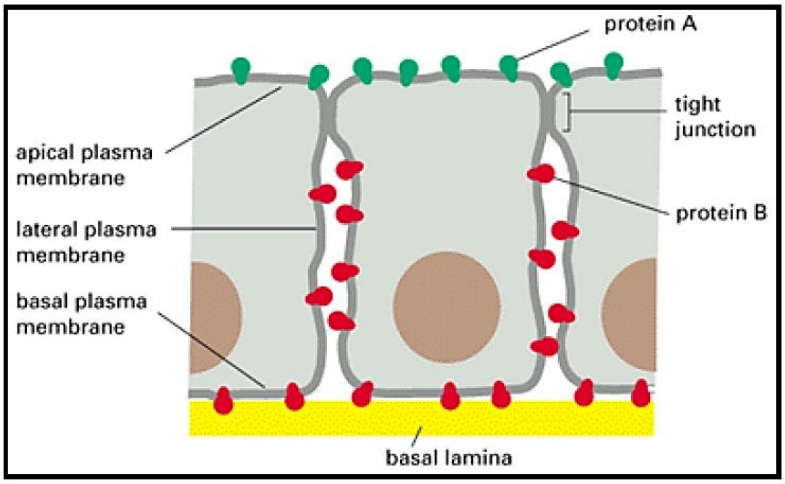
در واقع جهت انتقال برخی از یون ها، از غشاء سلول اپی تلیال نفرون، نیاز به چنین قرارگیری ویژه می باشد. به عنوان مثال می توان به حضور کوترانسپورتر سدیم- ۲کلر- پتاسیم در غشاء رأسی قطعه ضخیم بالارو هنله اشاره نمود. توزیع منطقه ای و نامتقارن پروتئین ها در غشاء سلول جهت عملکرد مؤثر سلول الزامی می باشد. ترکیب لیپیدی این دو منطقه از غشاء سلول (غشاء رأسی و غشاء جانبی) نیز متفاوت است و این وضعیت بیانگر این است که سلول های اپی تلیالی از انتشار لیپیدها همانند انتشار پروتئین ها بین این دو منطقه ممانعت می نماید. تجارب انجام شده با لیپیدهای نشان دار مشخص نموده که فقط مولکول های لیپیدی موجود در تک لایه خارج سلولی[۲] غشاء به این شیوه محبوس گشته اند. حضور اتصالات محکم[۳] همانند سدی است که سبب جداسازی پروتئین و لیپیدهای دو بخش رأسی و قاعده ای- جانبی غشاء سلول اپی تلیال می‌گردد.

حتی پروتئین های غشایی موجود در محل اتصالات محکم، خود نیز قادر به انتشار جانبی به غشاء سلول مجاور نیستند. ممکن است یک سلول حتی بدون استفاده از اتصالات بین سلولی (اتصالات محکم) قادر به توزیع نامتقارن پروتئین های ویژه در سطوح معینی (سطح رأسی، سطح جانبی یا قاعده ای) از غشاء باشد.

۱. Apical surface

۲. Outer monolayer

۳. Tight junction

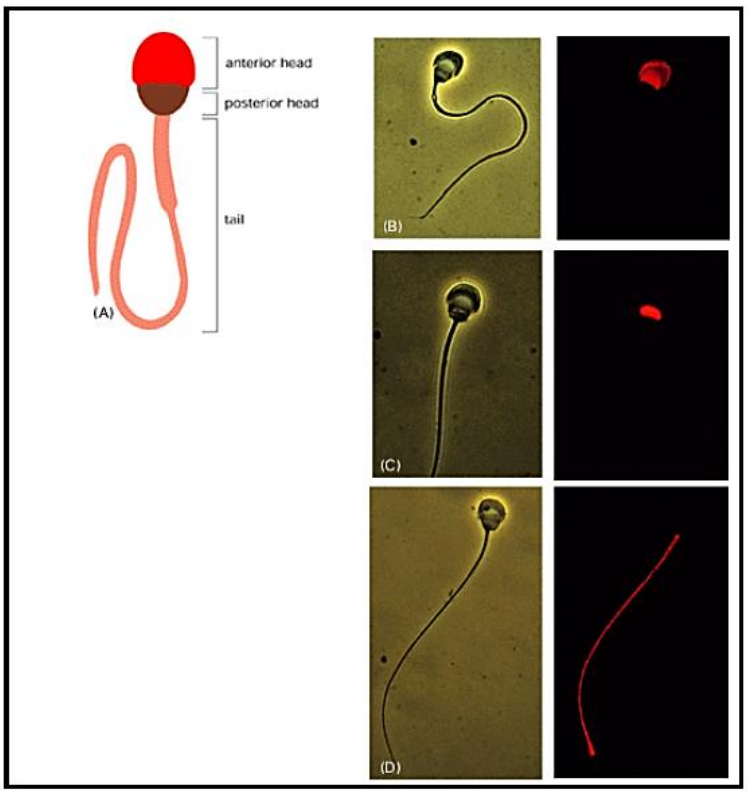


شکل ۱-۳۷: محدود شدن پروتئین های غشایی خاص به نواحی ویژه ای از غشاء سلولی: در این تصویر، سه سلول اپی تلیالی نشان داده شده است. پروتئین A در غشاء رأسی سلول حضور داشته و پروتئین B در غشاء جانبی و قاعده ای سلول مستقر شده است. پروتئین A یا B قادرند به صورت جانبی در قلمرو خودشان منتشر گردند ولی از ورود آن ها به قلمروهای دیگر ممانعت می شود. تصور می شود بخشی از این ممانعت به دلیل حضور اتصالات محکم باشد. مولکول های لیپیدی در تک لایه خارجی (غیر سیتوپلاسمی) غشاء پلاسمایی همانند پروتئین های ذکر شده قادر به انتشار بین دو قلمرو نمی باشند ولی لیپیدهای موجود در تک لایه داخلی (بخش سیتوپلاسمی) قادر به انجام این عمل هستند (در تصویر نشان داده نشده است). تیغه پایه[۱] همانند حصیر نازکی از ماتریکس خارج سلولی است که سبب جداسازی سلول های اپی تلیالی از بافت های زیرین خود می گردد.

به عنوان مثال غشاء سلول اسپرم پستانداران دارای نواحی معینی است که از لحاظ ساختاری و عملکردی با هم متفاوت می باشند. زمانی که سلول اسپرم توسط میکروسکوپ ایمونوفلورسنس و به کمک انواعی از آنتی بادی ها مورد مطالعه قرار می گیرد، مشخص می شود که هر کدام از این آنتی بادی ها با نواحی معینی از غشاء سلول وارد واکنش می گردند (شکل ۱-۳۸).

برخی از مولکول های غشاء قادرند آزادانه در داخل محدوده قلمرو خود، پراکنده گردند. ماهیت مولکولی حصاری که مانع می شود تا مولکول ها، قلمرو خود را ترک نمایند هنوز مشخص نشده است.

۱. Basal lamina

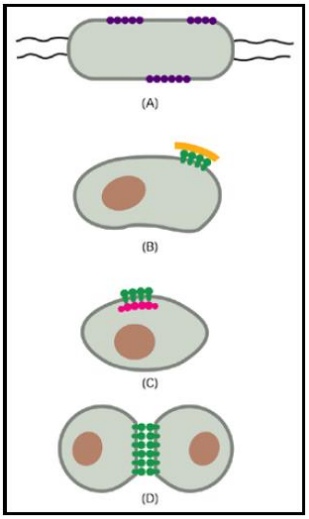


شکل ۱-۳۸: سه قلمرو در غشاء پلاسمایی اسپرم خوک. A) تصویر شماتیک از اسپرم خوک در سه جفت از میکروگراف های نشان داده شده میکروگراف فاز-کنتراست در سمت چپ بوده و همان سلول با رنگ آمیزی ایمونوفلورسنس در سمت راست نشان داده شده است. آنتی بادی های مونو کلونال مختلفی به صورت انتخابی مولکول های سطح سلول را بخش قدامی سر (B)، بخش خلفی سر (C) و روی دم (D) نشان دار نموده اند.

بیشتر سلول های دیگر نیز دارای یک سری حصارهای غشایی مشابهی هستند که مانع از پراکنده شدن پروتئین های غشایی به قلمروهای خاصی از غشاء می شوند و به عبارتی هر پروتئین قلمرو خاص خود را در غشاء داشته و عملکرد خاص خود را در همان نقطه از غشاء به انجام می رساند. برای مثال غشاء پلاسمایی سلول های عصبی دارای یک قلمرو برای جداسازی جسم سلولی و دندریت و نیز یک قلمرو برای جداسازی جسم سلولی و آکسون می باشد. تصور می شود کمربندی از رشته های اکتین که با غشاء پلاسمایی در ارتباط تنگاتنگ می باشند در شکل گیری بخشی از سدهای ذکر شده در اتصال نقش دارند. ۴ مکانیسم برای محدود کردن مولکول ها وجود دارد که از مطالعه باکتری هالوباکتریوم به دست آمده است: ۱) گاهی پروتئین ها، خود مجتمع[۱] هستند و اجتماعات پروتئینی را در غشاء به خودی خود تشکیل می دهند. ۲) گاهی یک مجموعه ماکرومولکولی در خارج سلول پروتئین ها را مجاور هم نگه می دارد. ۳) گاهی یک مجموعه ماکرومولکولی در

۱. Self-assemble

داخل سیتوپلاسم سلول پروتئین ها را مجاور هم نگه می دارد. ۴) گاهی پروتئین های دو سلول مجاور به علت برهمکنشی که با هم دارند همدیگر را در یک ناحیه غشاء نگه می دارند (شکل ۱-۳۹).



شکل ۱-۳۹: چهار روشی که طی آن حرکت جانبی پرتئین های غشاء پلاسمایی می تواند محدود گردد. گاهی پروتئین ها می توانند به داخل انبوهه ای از پروتئین ها، خود مجتمع شوند (همچون پروتئین باکتریورودوپسین در غشاء ارغوانی رنگ ها هالوباکتریوم) (A) برخی از پروتئین ها به دلیل تداخل با ماکرومولکول های خارج سلولی (B) یا داخل سلولی (C) در منطقه ویژه ای از غشاء افسار می گردند. برخی اوقات نیز تداخلی بین پروتئین های سطحی دو سلول اتفاق می افتد (D).

گلیکوپروتئین ها و غشاء سلول

در سلول های جانوری، بیشتر پروتئین های غشاء گذر، گلیکوزیله می باشند. مشابه گلیکولیپیدها بنیان های قندی در لومن شبکه اندوپلاسمی و دستگاه گلژی به پروتئین ها اضافه می شوند. لذا زنجیره های الیگوساکاریدی همیشه در سمت غیر سیتوزولی غشاء حضور دارند. به دلیل اتصال بنیان های قندی به مولکول های پروتئینی غشاء، سطح سلول های یوکاریوتی دارای پوششی از کربوهیدرات می باشد.

پروتئوگلیکان ها دارای زنجیره های پلی ساکاریدی طویلی می باشند که به صورت کووالانسی به مرکز پروتئین متصل گردیده اند. پروتئوگلیکان ها بیشتر در ماتریکس خارج سلولی حضور دارند و ساختمان اصلی بستر بافت همبند را تشکیل می دهند.

گلیکوپروتئین ها و پروتئوگلیکان ها دارای ۴ فرق اساسی می باشند:

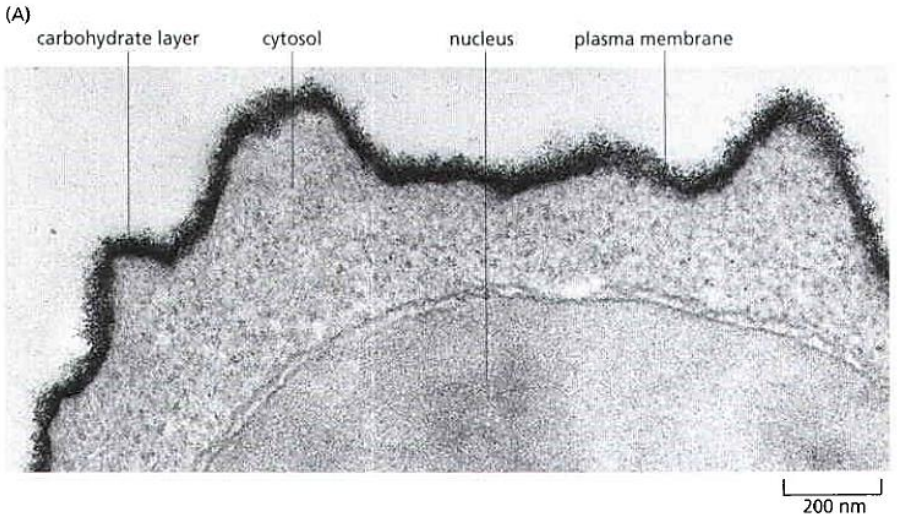
۱) پروتئوگلیکان ها از گلیکوپروتئین ها بزرگ تر می باشند.

۲) در ساختار گلیکوپروتئین ها اولیگوساکارید و در ساختمان پروتئوگلیکان ها پلی ساکارید حضور دارد.

۳) زنجیره های الیگوساکاریدی گلیکوپروتئین ها منشعب بوده ولی پلی ساکاریدهای پروتئوگلیکان ها بیشتر مستقیم و غیر منشعب می باشد.

۴) در اولیگوساکاریدهای گلیکوپروتئین ها تنوع قندی زیاد است در حالی که در پلی ساکاریدهای پروتئوگلیکان ها، واحدهای تکرار شده دی ساکاری وجود دارد.

گاهی اوقات به نواحی غنی از کربوهیدرات در سطح سلولی، پوشش سلولی[۱] یا گلیکوکالیس[۲] اطلاق می شود. جهت مشاهده لایه کربوهیدراتی در سطح سلول، از رنگ قرمز روتنیوم[۳] و یا از لکتین[۴] استفاده می شود. لکتین ها، پروتئین های متصل شونده به کربوهیدرات می باشند. لکتین ها خود با رنگ های فلورسنت (از سایر نشان گرهای قابل مشاهده) نشان دار می شوند. لذا با استفاده از لکتین های نشان دار متصل به گلیکوکالیس، لایه کربوهیدراتی در سطح غشاء سلول قابل رؤیت می باشد (شکل ۱-۴۰).



شکل ۱-۴۰: لایه کربوهیدراتی در سطح غشاء سلول. میکروگراف الکترونی از سطح یک لنفوسیت رنگ آمیزی شده با روتنیوم به لایه ضخیم غنی از کربوهیدرات در اطراف سلول توجه کنید.

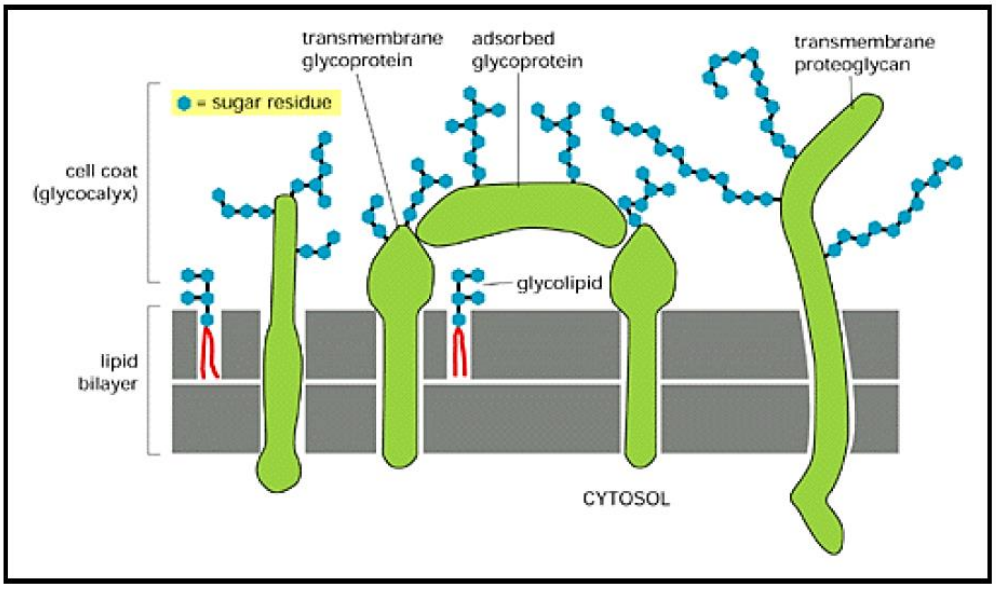
اگرچه کربوهیدرات ها اساساً به مولکول های غشاء پلاسمایی ذاتی سلول متصل می شوند ولی گلیکوکالیس موجود در سطح غشاء سلول هم حاوی پروتئوگلیکان و هم گلیکوپروتئین می باشد که به داخل فضای خارج سلولی ترشح شده و سپس روی سطح سلول جذب می گردند (شکل ۱-۴۱). برخی از این ماکرومولکول های

۱. Cell coat
۲. Glycocalyx
۳. Ruthenium red
۴. Lectin

جذب شده، از اجزای ماتریکس خارج سلولی می باشند، لذا اغلب اوقات تعیین مرز دقیق بین غشای پلاسمایی و ماتریکس خارج سلولی، امکان پذیر نمی باشد.

لایه کربوهیدراتی در سطح سلول، سبب محافظت سلول در برابر عوامل آسیب رسان شیمیایی و یا عوامل مخرب مکانیکی می گردد. از طرفی سلول را در برابر تداخلات پروتئین – پروتئین[1] ناخواسته محافظت می نماید. بر خلاف اسید های آمینه در پلی پپتیدها که از طریق اتصالات پپتیدی مشابه به همدیگر متصل می شوند، اتصال بنیان های قندی موجود در گلیکوپروتئین ها و پروتئوگلیکان ها، از طریق پیوندهای کووالانسی متفاوت صورت می گیرد.

از آنجایی که گلیکوکالیس در سطح خارجی غشاء سلول مستقر می باشد لذا در فرایند ویژه تشخیص سلول نقش اساسی ایفاء می نماید. گلیکوکالیس در فرایندهای اتصال سلول به سلول همچون فرایندهای درگیر در تداخل اسپرم- تخمک، لخته شدن خون، بسیج دوباره لنفوسیت ها و پاسخ های التهابی، انجام وظیفه می نماید.



شکل ۱-۴۱: دیاگرام ساده از پوشش سلولی (گلیکوکالیس). لایه کربوهیدرات از زنجیره های جانبی اولیگوساکارید گلیکولیپیدها و گلیکوپروتئین های سرتاسری غشاء و نیز از زنجیره های پلی ساکارید موجود در روی پروتئوگلیکان های سرتاسری غشاء تشکیل شده است. به علاوه گلیکوپروتئین و پروتئوگلیکان های جذب شده از ماتریکس خارج سلولی در بیشتر سول ها، در شکل گیری گلیکوکالیس نقش دارند (در این تصویر نشان داده نشده است). توجه کنید که تمامی کربوهیدرات روی سطح غیرسیتوزولی غشاء می باشد.

۱. Protein- protein interaction

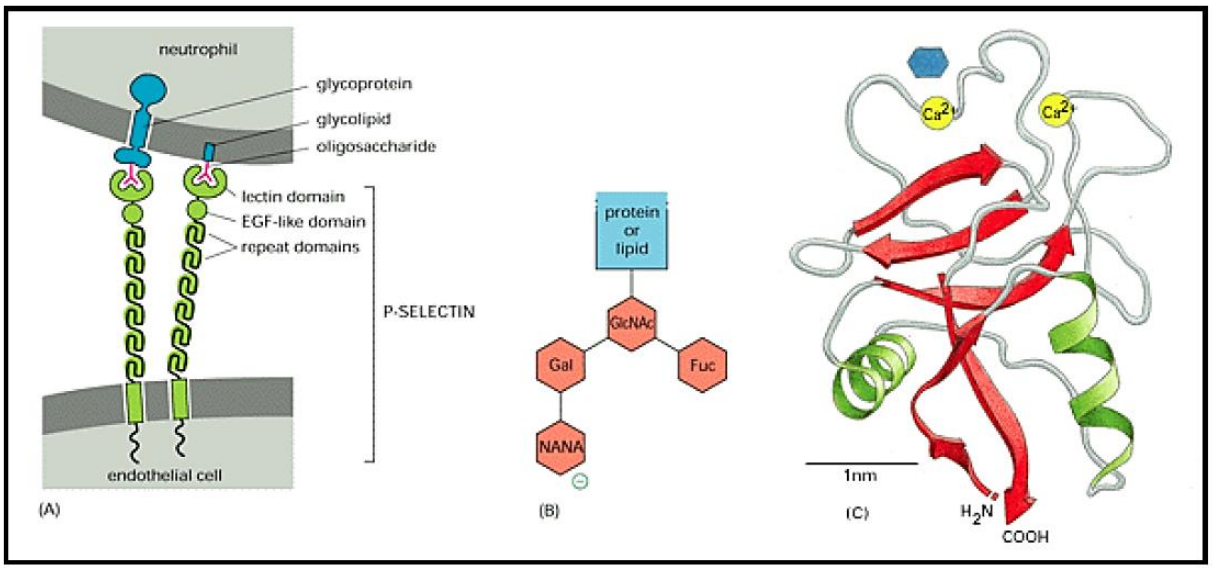
سلکتین ها پروتئین های متصل شونده به کربوهیدرات مستقر در سطح سلول هستند که چسبندگی موقت سلول به سلول را در جریان خون میانجی گری می نمایند

یکی از بهترین مثال های شناخته شده از تشخیص پروتئین- کربوهیدرات در پاسخ های التهابی رخ می دهد، یعنی زمانی که سلول های سفید خون (نوتروفیل ها) از جریان خون به سمت بافت ملتهب حرکت می کنند. ابتدا نوتروفیل ها به سلول های اپی تلیال مفروش کننده عروق به صورت ضعیفی می چسبند و بعد محکم تر متصل شده و از لابه‌لای سلول های اپی تلیالی مجاور به خارج از عروق خونی مهاجرت می کنند. این اولین مرحله چسبندگی است که در شناخت پروتئین- کربوهیدرات درگیر می گردد. در محل عفونت، از سلول های عفونی، واسطه های شیمیایی موضعی ترشح می شود که به سلول های اندوتلیال سیگنال می دهند تا گلیکوپروتئین غشاءگذر سلکتین-p را بیان نمایند. این سلکتین از خانواده مولکول های چسبنده سلول به سلول است. این سلکتین ها دارای یک دمین لکتین[۱] متصل شونده کربوهیدرات هستند که در انتهای ساقه[۲] گسترده پروتئین قرار گرفته است. این بخش گسترده از سطح سلول به سمت بیرون گسترش یافته است (شکل A ۱-۴۲) دمین لکتین متعلق به سلکتین-p، اولیگوساکاریدهای ویژه ای را همان طور که در شکل B ۱-۴۲) نشان داده شده، تشخیص می دهد. از آنجایی که این اولیگوساکاریدها روی هر دوی مولکول های گلیکولیپید و گلیکوپروتئین موجود در سطح نوتروفیل ها بیان می شوند، لذا نوتروفیل ها به طور اختصاصی به سلول های اندوتلیال آستر کننده عروق در محل التهاب می چسبد. اتصال هر دمین لکتین به ساکارید ویژه اش نسبتاً دارای میل ترکیبی پایینی است و به نظر می رسد که هم اتصال و هم جدا شدن بعدی دمین از اولیگوساکارید به طور سریعی رخ می دهد. این وضعیت باعث می شود سلکتین ها بتوانند سلول های خونی در حال عبور را به دیواره عروق بچسبانند و در همان زمان اجازه می دهد سلول های چسبیده شده در طول اندوتلیوم در محل ملتهب غل بخورند. این غل خوردن ادامه پیدا می کند تا زمانی که مکانیسم اتصال سلول به سلول دیگری که توسط شاخه متفاوتی از پروتئین های غشاءگذر به نام اینتگرین ها[۳] میانجی گری می گردد، فعال شده و سبب قوی شدن اتصال مربوطه می گردد و نیز سبب می شود نوتروفیل ها از غل خوردن دست برداشته و از عروق خونی به سمت بافت خارج شوند. ترتیب مشابهی از وقایع اتصال میانجی گری شده توسط سلکتین و اینتگرین در زمانی که نوتروفیل ها به خارج از عروق خونی و به سمت گره های لنفاوی مهاجرت می نمایند مشاهده می شود.

۱. Lectin domain

۲. Stalk

۳. Integrins



شکل ۴۲-۱۰: تعامل پروتئین- کربوهیدرات که چسبندگی گذرای نوتروفیل ها به سلول های اندوتلیال را در مکان های التهاب به راه می اندازد. (A) دمین لکتین متعلق به سلکتین-p به اولیگوساکاریدهای ویژه که در بخش (B) نشان داده شده متصل می گردد. این اولیگو ساکاریدها هم روی مولکول های گلیکولیپید و هم گلیکوپروتئین سطح سلول حضور دارند. دمین لکتین متعلق به سلکتین ها، هومولوگ با دمین های لکتین موجود در دیگر پروتئین های متصل شونده به کربوهیدرات در جانداران است. از آنجایی که اتصال لکتین به لیگاندهای قندی مخصوص خودشان نیازمند کلسیم خارج سلولی است لذا به این لکتین ها، لکتین های نوع C [۱] گفته می شود. ساختار سه بعدی یکی از این دمین های لکتین که توسط کریستالوگرافی اشعه x تعیین شده است در شکل C نمایش داده شده است. Gal= گالاکتوز، GlcNAc= N- استیل گلوکز آمین، Fuc= فروکتوز، NANA= سیالیک اسید.

۱. C-type lectins