چاپرون‌های مولکولی و کاربرد آن‌ها در پزشکی

گردآورنده: رباب احمدی
دبیر زیست‌شناسی شهرستان داراب

چکیده

پس از انجام فرایند پروتئین سازی در سلول و تولید پروتئین نوساز، نوبت به تاخوردگی رشته‌های پلی پپتید می‌رسد. در پروتئین‌هایی که چند زیر واحد دارند این موضوع از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. آنزیم‌ها و پروتئین‌هایِ کمکیِ شناخته شده جهتِ تسهیلِ تاخوردگیِ پروتئین‌ها عبارت‌اند از: آنزیم دی سولفید ایزومراز، آنزیم پرولیل سیس- ترانس ایزومراز و چاپرون‌های مولکولی.

چاپرون‌های[1] مولکولی دارای شکل‌های هم‌ساختار هستند و در باکتری، میتوکندری، کلروپلاست و سیتوزول سلول‌های یوکاریوتی یافت می‌شوند. نوع مشخص و شناخته‌شده‌ی چاپرون‌های مولکولی، چاپرونین GroEL است که با کمک یک چاپرونین GroES در مجموع نقشِ تاخوردگیِ صحیحِ پلی پپتیدهای نوساز، باز کردن پلی پپتیدهای غلطْ‌تاخورده و جلوگیری از تجمع پروتئین‌ها را ایفا می‌کند. GroEL دارای دو حلقه‌ی استوانه‌مانند است و خاصیت ATPآزی دارد و GroES حکم سرپوش برای GroEL دارد که ساختاری تک‌حلقه‌ای گنبدی و توخالی دارد. با قرار گرفتن باقی‌مانده‌ی آمینو اسیدهای آب گریز پلی پپتید در کنار چاپرونین، فرآیند تاخوردگی با هیدرولیز ATP و مصرف انرژی آغاز می‌شود و سپس با برداشتن سرپوش GroES پلی پپتید تاخورده به بیرون می‌ریزد. این چرخه چندبار تکرار می‌شود.

چاپرون‌های مولکولی در زمینه‌های مختلف کاربرد دارند: ۱ـ هدایت صحیح پروتئین‌های سلولی به اندامک‌های هدف، ۲ـ انتقال یون‌های فلزی به اندامک‌های مختلف سلولی، ۳ـ کمک به سنتز گیرنده‌های آنتی ژنی دستگاه ایمنی، ۴ـ دخالت در تولید پریون‌های طبیعی، ۵ـ جلوگیری از پیری سلول و مبارزه با سلول‌های سرطانی، ۶ـ تنظیم مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلول (اپوپتوز)، ۷ـ کمک به تجزیه‌ی پروتئین‌های نادرست تاخورده و تجمع یافته، ۸ـ استفاده‌ی فرایند از تاخوردگی مجدد پروتئین در مقاصد صنعتی (تولید پروتئین‌های مهندسی شده)، ۹ـ دخالت در تولید پروتئین‌های فعال در دستگاه‌های عصبی، قلبی و عروقی، تنفسی و پوست. امید است که در آینده از چاپرون‌های مولکولی در مبارزه با بیماری‌های عفونی و سرطان‌ها، بهبود زخم‌ها و محافظت پوست از پرتوهای خطرناک فرابنفش خورشید و جلوگیری از پیری سلول، استفاده شود.

تاخوردگی پروتئین و ساز و کار آن:

فرایند پروتئین‌سازی در سلول، شامل مراحل همانندسازی، رونویسی و ترجمه است. سلول با استفاده از انرژی، ویرایش انجام می‌دهد تا از خطا جلوگیری شود. پروتئین‌های نوساز پس از ساخته‌شدن در ریبوزوم باید به شکل صحیح تا[2] بخورند و به شکل فعال درآیند.

براساس دانش فعلی، به نظر می‌رسد که چین‌خوردگی پروتئین‌های مولتی مروپلی پپتیدها طی مراحلی صورت می‌گیرد: ابتدا بخشی از ساختار دوم پروتئین (مناطق مارپیچ، صفحه‌ی β، خم β و غیره) تشکیل می‌شود و سپس با گسترش این مناطق به تشکیل یک ناحیه[3] می‌انجامد. ناحیه‌های چین‌خورده به هم می‌پیوندند تا ساختاری به نام گویچه‌ی مذاب[4] بسازند که ساختار دوم گسترده ولی ساختار سوم تقریباً نامنظم است. تغییرات پیاپی در شکل فضایی باعث می‌شود که این گویچه‌ی مذاب به شکل فشرده با ساختار سوم منظم درآید. سپس تغییرات کوچکی در شکل فضایی ایجاد می‌شود که نهایتاً آن را به صورت ساختار طبیعی پلی پپتید

در می‌آورد.

اکنون فرآیند چین خوردن برای پروتئین‌های مونومر کامل شده است، اما در پروتئین‌های دارای ساختار چهارم، این پلی‌پپتیدهای منظم به‌عنوان زیرواحد در ساخت مجموعه‌ی مولتی‌مر به‌کار می‌روند. بسیاری از پروتئین‌های واسرشته در خارج از بدن به‌طور خودبه‌خودی چین می‌خوردند و به حالت فعال زیستی برمی‌گردند. این موضوع باعث شد تا آنفینسن[5] در سال ۱۹۷۳ چنین نتیجه بگیرد که ساختار اول پلی‌پپتیدها به‌تنهایی برای هدایت چین‌خوردن پروتئین‌ها کافی است. البته چین‌خوردن مجدد و خودبه‌خودی به ساعت‌ها وقت لازم دارد. اگرچه نتیجه‌گیری آمفینسن معتبر است، ولی به چیزی نیاز دارد که دربرگیرنده‌ی شرکت پروتئین‌های کمکی تسریع‌کننده‌ی روند چین‌خوردن در هدایت پروتئین‌ها به سوی مسیرهای خاص باشد. این پروتئین‌های فرعی عبارت‌اند از: پروتئین دی‌سولفید ایزومراز[6]، پرولیل‌سیس-ترانس ایزومراز[7] و چاپرونین‌ها[8]. آنزیم دی‌سولفید ایزومراز با تسریع متقابل دی‌سولفیدها و درنتیجه تسریع روند کلی چین‌خوردن پروتئین «سرخوردن» پیوندهای دی‌سولفیدی S-S را تسهیل می‌کند. پرولیل‌سیس-ترانس ایزومراز با کاتالیز ایزومرازسیون ترانس نوساز به سیس بالغ به روند چین‌خوردن پروتئین کمک می‌کند. چاپرون‌های مولکولی که موضوع بحث ما هستند، به‌عنوان ابزار ویرایش در تاخوردگی صحیح پروتئین‌های تازه‌ساز در چند دهه‌ی اخیر شناخته شده است. با توجه به این‌که در ساختار دوم پروتئین‌ها بخش‌های باقی‌مانده‌ی آمینو اسیدهای آب‌گریز در معرض قرار می‌گیرند، بنابراین تمایل به تجمع[9] وجود دارد. چاپرون‌ها با برقراری پیوند با بخش‌های باقی‌مانده‌ی آب‌گریز «در معرض» در پلی‌پپتیدهای ساختار دوم، از تجمع پروتئین جلوگیری می‌کنند. تاخوردگی صحیح با کنترل چرخه‌ی برقراری پیوند-آزادسازی پلی‌پپتید از چاپرون صورت می‌گیرد. در شرایطی، مانند استرس یا گرمای زیاد، چاپرون‌های مولکولی القا می‌شوند و به‌دنبال آن تاخوردگی تخصصی در توالی خطی آمینو اسیدها توسط آن‌ها صورت می‌گیرد.

ساختار چاپرون‌های مولکولی:

مطالعات مختلف نشان می‌دهند که چاپرون‌های مولکولی در همه‌ی موجودات زنده و اندامک‌های همزیست از جمله باکتری‌ها، سیتوزول، میتوکندری، کلروپلاست و شبکه‌ی اندوپلاسمی در سلول‌های یوکاریوتی یافت می‌شود. هم‌چنین نتایج تحقیقات روی ویروس‌ها، نمایانگر وجود پروتئین‌هایی شبیه به چاپرون‌ها به نام چوب‌بست[10] در آن‌هاست که نقش تاخوردگی صحیح را در پروتئین‌های کپسید و پروتئین‌های ویروسی دیگر ایفا می‌کنند.

چاپرون‌ها ساختارهایی وابسته به ATP هستند که به‌طور کلی به دو گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول شامل چاپرونین‌هایی هستند که در ابتدا به‌طور تکاملی در رابطه با اجزای سیتوزولی باکتریایی (GroEL)، ماتریکس میتوکندری (Hsp۶۰)[11] و بستره‌ی کلروپلاست (RBP)[12] یافت شده‌اند و دارای درجه‌ی بالایی از توالی هومولوگ هستند. گروه دوم چاپرون‌ها که با سطح پایین‌تری از توالی هم‌ساختار دیده می‌شوند.

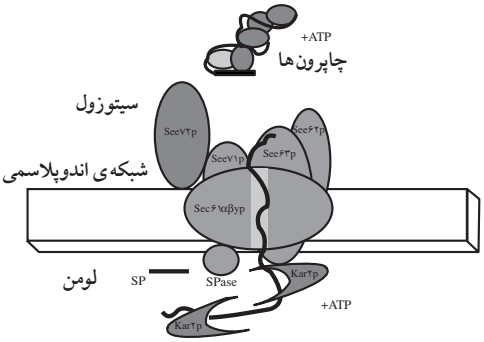
GroEL بهترین چاپرونین مشخص شده است که به‌عنوان نماینده‌ی چاپرونین‌ها مورد مطالعه قرار می‌گیرد. ساختار GroEL یک هومو الیگومر استوانه‌مانند شامل دو حلقه‌ی هپتامراز زیرواحدهای ۵۷ کیلودالتونی است که پشت‌به‌پشت هم قرار گرفته است. GroES ساختار تک‌حلقه‌ی گنبدی توخالی شامل ۷ زیرواحد است که به‌عنوان سرپوش روی GroEL قرار می‌گیرد.

GroEL دارای سه ناحیه‌ی سطحی، حدواسط و استوایی است که هریک از این نواحی نقش خاصی در تاخوردگی صحیح پروتئین ایفا می‌کند. ناحیه‌ی سطحی شامل جایگاه‌های اتصال پروتئین نوساز و کمک چاپرونین GroES است. این ناحیه دارای انعطاف‌پذیری درونی برای سازگاری و تطابق گسترده‌ای از پروتئین‌های نوساز روی سطح آب‌گریز است. ناحیه‌ی حدواسط: نقش بزرگی در انتقال پیام بین نواحی سطحی و استوایی دارد. ناحیه‌ی استوایی بزرگ‌ترین ناحیه است که بیش‌ترین جایگاه‌های تماس بین زیرواحدها را فراهم می‌کند و محل اتصال نوکلئوتیدهاست.

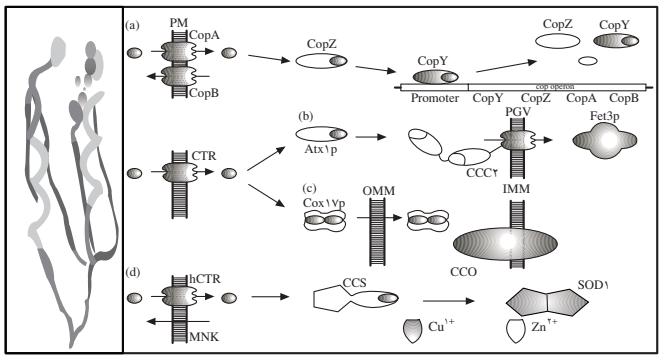
سیر واکنش GroEL: GroEL-GroES مانند جعبه‌ای است که پروتئین نوساز در آن تا می‌خورد. پس از تاخوردگی صحیح پروتئین و تولید پروتئین فعال نوبت به مرحله‌ی آزادسازی پروتئین نهایی می‌رسد که این عمل از طریق هیدرولیز ATP و مصرف انرژی و به‌دنبال آن برداشته شدن سرپوش GroES صورت می‌گیرد. به‌علاوه GroEL، موجب باز شدن پروتئین‌های نادرست تاخورده و پروتئین‌هایی که مستعد به تجمع هستند، می‌شود.

عملکرد چاپرون‌های مولکولی:

۱- هدایت صحیح پروتئین‌های سلولی به اندامک‌های هدف (میتوکندری، کلروپلاست، پراکسی‌زوم، لیزوزوم، ...) (شکل ۱).



شکل ۱ . ورود پلی‌پپتید نوساز به شبکه‌ی اندوپلاسمی **ER**



شکل ۲ . ساختار چاپرون مسی و نحوه‌ی انتقال

۲ـ انتقال یون‌های فلزی به اندامک‌های مختلف سلولی و قرار دادن یون‌های فلزی خاص در ساختار آنزیم‌های فلزی (شکل ۲)؛ مس برای همه‌ی سیستم‌های زنده ضروری است. چاپرون مسی[۱۳]، واسطه‌ی پروتئین تحویل مس به پروتئین‌های هدف است. هم‌چنین، سلول‌ها از مس به‌عنوان عنصر ساختاری در پروتئین‌های تنظیمی و انتقال تک‌الکترون استفاده می‌کنند.

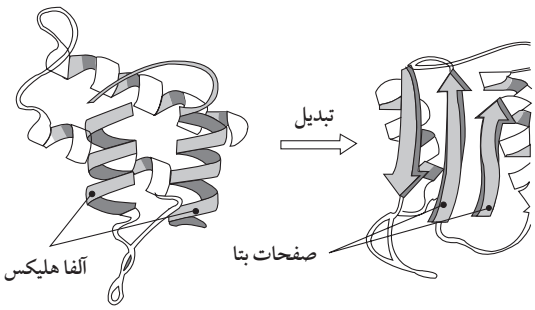
چرخه‌ی اکسایش ـ کاهش بین Cu^{++} و Cu^{+} رادیکال‌های هیدروکسیل فوق‌العاده سمی را کاتالیز می‌کند که متعاقب آن خطراتی برای لیپیدها، پروتئین‌ها، DNA و سایر مولکول‌های زیستی دارد. انتقال مس در سیتوپلاسم به جایگاه مصرف که توسط چاپرون مسی صورت می‌گیرد، از تعامل‌های نامناسب مس با سایر اجزای سلولی جلوگیری می‌کند. در زمینه‌ی انتقال یون‌های فلزی واسطه‌ی دیگر مانند آهن، مولیبدن، روی و نقره به جایگاه‌های مصرف سلولی نیز چاپرون‌های فلزی دخالت دارند.

۳ـ کمک به سنتز گیرنده‌های آنتی‌ژنی دستگاه ایمنی:

در شبکه‌ی آندروپلاسمی قبل از قرار گرفتن و بیان گیرنده‌های آنتی‌ژنی اولیگومری روی سطح لنفوسیت‌ها، گیرنده‌ها باید به‌طور صحیح تا بخورند و ساختار فضایی مناسب به‌دست آورند. این کار به کمک نوع خاصی از چاپرون‌های مولکولی صورت می‌گیرد.

۴ـ دخالت در تولید پریون[۱۴]های طبیعی:

پریون‌ها، پروتئین‌های عفونت‌زایی هستند که فاقد هر گونه نوکلئیک‌اسید هستند و موجب چند بیماری کشنده‌ی مخرب اعصاب می‌شوند (شکل ۳). بیماری‌های اسکراپی[۱۵] در گوسفند و



شکل ۳ . تبدیل ساختار طبیعی **Prpc** به ساختار غیرطبیعی **Prpsc**

انسفالوپاتی گاوی (BSE)[۱۶] بر اثر رسوب پروتئین‌های نامحلول در فیبریل‌های پایدار آمیلویید ایجاد می‌شوند. ژن PrP (پروتئین مرتبط با پریون)[۱۷] به‌صورت دو ایزوفرم Prpc حساس به پروتئاز[۱۸] و PrPsc مقاوم به پروتئاز[۱۹] روی کروموزوم شماره‌ی ۲۰ قرار داد. ساختار اول و تغییرات پس‌ترجمه در Prpc و PrPsc یکی است ولی ساختار سوم و چهارم آن‌ها متفاوت است. ساختار Prpc غنی از مارپیچ α است درحالی‌که ساختار PrPsc از صفحه β تشکیل شده است. ملانوسیت‌ها و فیبروبلاست‌های پوست و شُش یافت می‌شود و از پیری سلول‌ها جلوگیری می‌کند.

بررسی‌های سال‌های اخیر نشان می‌دهد که داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAID) و پروستانوئیدها دارای خصوصیات تنظیمی شوک حرارتی هستند. هم‌چنین آسپیرین و اندومتاسین با پایین آوردن آستانه‌ی پاسخ hsp در سلول‌های انسانی موجب القای رونویسی ژن hsp۷۰ و درنتیجه حفاظت سلول می‌شوند. مشتقات هیدروکسیل آمین موجب القای hsp۷۰ و بهبود زخم می‌شوند بدون این‌که سمیت را به‌دنبال داشته باشد.

محققان علت پیری سلول را کوتاه شدن تلومرهای کروموزوم‌های سلول می‌دانند که به‌دلیل عملکرد نامناسب آنزیم تلومراز در اثر اختلال در شکل فضایی صورت می‌گیرد. تحقیقات نشان می‌دهد که چاپرون‌های P۲۳ و HSP۹۰ برای عملکرد طبیعی تلومراز لازم است به‌طوری که بررسی آزمایش‌ها بیانگر وجود چاپرون‌های بیمار در سلول‌های پیر است.

۶ـ تنظیم آپوپتوز[۲۰] (مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلول):

نتایج تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که کاهش میزان چاپرون Hsp۶۰ موجب افزایش انتقال عامل القاکننده‌ی آپوپتوز (bax) به میتوکندری می‌شود و درنتیجه میزان مرگ برنامه‌ریزی‌شده‌ی سلول افزایش می‌یابد.

۷ـ کمک به تجزیه‌ی پروتئین‌های نادرست تاخورده و تجمع‌یافته‌ی غیرفعال:

آزمایش‌های انجام‌شده روی جهش‌یافته‌های GroEL-GroES نشان می‌دهد که چاپرون‌ها با اتصال به باقی‌مانده‌ی آمینو اسیدهای غیرقطبی پروتئین‌های غیرطبیعی محیط در سلول، آن‌ها را به سمت

یکی از مسیر دوگانه‌ی تجزیه‌ای توسط پروتئازهای سلولی یا تاخوردگی مجدد هدایت می‌کنند.

۸ـ استفاده از چاپرون‌ها در صنعت:

از فرایند تاخوردگی مجدد پروتئین‌ها در مقاصد صنعتی استفاده می‌شود. به این ترتیب که از رسوبات پروتئین‌های غیر فعال باکتریایی (اجسام حجیم و گنجایشی)[21] طی فرآیندهای بیوشیمیایی و مرحله‌ای به تولید تجاری پروتئین‌های مهندسی شده (ژنتیک) می‌پردازند.

۹ـ مداخله در تولید پروتئین‌های فعال در دستگاه‌های عصبی، قلب و عروق، تنفسی و پوست:

مطالعه جهش‌هایی که در رمز ژن چاپرون‌های مولکولی صورت گرفته است، نشان می‌دهد که اختلال در بیان این ژن‌ها موجب بروز بیماری‌های ارثی انسان می‌شود:

ـ بیماری قلبی سندرم مکوسیک‌ـ کافمن (MkkS)

ـ بیماری سندرم بیدل باردت (BBS)

ـ بیماری شبکیه‌ای تخریب سلول‌های عصبی (SACS) که موجب اختلال در هدایت حسی و حرکتی می‌شود. علت این بیماری میلینی شدن فیبرهای عصبی شبکیه‌ای است.

ـ بیماری پارکینسون جوانان (ARJP) که به علت ناتوانی در عملکرد پروتئین لیگازیوبیکوتینه مسئول تجزیه‌ی پروتئین صورت گرفته و درنتیجه آن پروتئین در سلول تجمع می‌یابد.

ـ بیماری آلزایمر که به علت عملکرد نادرست چاپرون‌ها در تاخوردگی است و موجب تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی (B پپتیدها) در مغز می‌شود.

ـ بیماری دیستروفی شبکیه‌ای که به دلیل تاخوردگی غلط پروتئین رودوپسین[22] (رنگیزه‌ی بینایی) در اثر جهش در ژن NinaA صورت گرفته است.

ـ بیماری آمفیزم که یک بیماری دستگاه تنفسی است در اثر جهش در ژن پروتئین کانال کلر (CFTR) ایجاد می‌شود.

ـ پوست: پوست به‌عنوان سد محافظ در مقابل پرتوهای فرابنفش خورشید (UV) است. HSP‌ها یکی از ساز و کارهای دفاعی طبیعی بدن در برابر UV هستند. در سلول‌های پوستیِ تحت استرس، HSP بیان بیش‌تری داشته است. بدین منظور که در برابر UV که مرگ سلولی را القا می‌کند، مقاومت لازم را ایجاد می‌کند. UV خود قادر به القا بیان HSPهای خاص است. بنابراین HSPها ممکن است یک پاسخ سلولی سازشی در مقابل افزایش UV داشته باشند. از این خاصیت HSPها می‌توان در زمینه‌ی پیشرفت القاگرهای غیر سمی شوک حرارتی در زمینه‌ی پزشکی سود جست.

همچنین از کمپلکس پپتیدـ HSP برای درمان سرطان‌ها و بیماری‌های عفونی می‌توان استفاده کرد.

کاربرد پزشکی چاپرون‌های مولکولی Hsp۷۰ در آینده‌ی نزدیک در درمان ایسکمی[23] (بسته شدن رگ‌ها) در مغز و قلب، مورد نظر محققان است.

زیرنویس

1. Chaperones
2. Folding
3. Domain
4. Melting globule
5. Anfinsen
6. Disulfide isomerase
7. Prolyl cis-trans isomerase
8. Chaperonins
9. Aggregation
10. Scaffolding Protein
11. Heat Shock Protein 60 (Hsp 60)
12. Rubisco binding Protein (RBP)
13. Cupper Chaperone
14. Prion
15. Scrappy
16. Bovine encephalopathy
17. Protein related With prion
18. Prp Cellulur
19. Prp Sensitive
20. Apoptosis
21. Inclusion bodies
22. Rhodopsin
23. Ischemia

منابع

1. Max E Gottesman & Wayne A Hendrickson, Cancer, research, 3:197-202 (2000)
2. Kenzo Ohtsuka & Tatsuo Suzuki, Roles of molecular Chaperones in the nervous System, Vol. 53, No, 2. pp: 141-146 (2000)
3. J. paul Chapple, Celene Grayson, Unfolding retinal dystrophies, Molecular medicine Vol. 7. No. 9. pp: 414-416 (2001)
4. Franz Trantinger, Heat Shock Proteins in the photobiology of human Skin, Journal of Photobiology B:Biology 63: pp: 70-77 (2001)
5. Anne M. salvotinek & Leslie G. Biesecker, Unfolding the role of Chaperones and Chaperonins in human disease, Gsenetice Vol. 17 No.9 (2001)
6. Mark D. Harrison, Christopher E. Jones, Intracellular Copper routing: the role of Copper Chaperones, Tibs 25 p. 29 (2000)
7. S. Gupta, phD, AA. Knowlton, MD, Cytosolic Heat Shock protein 60, Hopoxia apoptosis, Circulation p: 2727 (2002)
8. Pramod k. Srivastava, Heat Shock Proteins: the Swiss Army knife, Vaccines against cancers and infectious agents, Vaccine 19. pp: 2590-2597 (2001)