همکاری در دنیای مولکول‌ها

زانیار قاضی‌زاده
دانشجوی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران

«همکاری»[1] پدیده‌ای جهان‌گستر است که در همه‌ی ترازهای زیستی، از درشت تا ریز وجود دارد. در نوعی همکاری که آن را «همیاری»[2] می‌نامیم، یک گونه، به گونه‌ای دیگر سود می‌رساند. «همکاری متابولیک»[3] در تراز مولکولی وجود دارد و در آن، یک آنزیم یا سوبسترای یک مسیر متابولیکی می‌تواند، با مسیر دیگری همکاری داشته باشد؛ مثلاً می‌تواند به عنوان سوبسترا یا تنظیم‌کننده‌ی آن مسیر عمل کند. در تراز میکروسکوپی‌تر، به همکاری «آلوستریک»[4] می‌رسیم که موضوع این مقاله است. در این همکاری، شکل مولکول تنظیم‌کننده، در بسیاری اوقات با شکل سوبسترای آنزیم متفاوت است.

آلوستری به یک رابطه‌ی لیگاند ـ پروتئینی (آنزیمی) اشاره دارد که باعث ایجاد تغییراتی قابل اندازه‌گیری در شکل کلی پروتئین (آنزیم) می‌شود. تغییر در شکل، به ایجاد تغییر در فعالیت پروتئین می‌انجامد. همکاری آلوستریک این ویژگی‌ها را دارد:

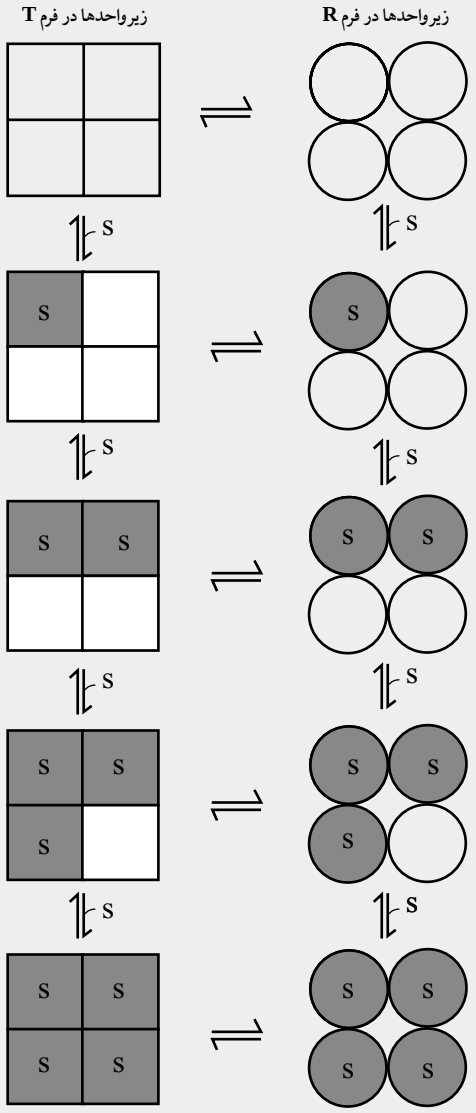
- وصل شدن لیگاند، باعث تغییر ساختار پروتئین می‌شود.
- تغییرات ساختاری که در زیر واحدهای یک آنزیم چند زیر واحدی اتفاق می‌افتند، درون مولکولی هستند.
- جایگاه اتصال در ابتدا همگی مشابه هم هستند.

این نوع همکاری که در بسیاری از آنزیم‌ها وجود دارد، در مطالعات تکاملی از اهمیت فراوانی برخوردار است؛ چون می‌تواند به عنوان الگویی برای فهمیدن نحوه‌ی تنظیم شبکه‌های آنزیمی مورد استفاده قرار گیرد.

همکاری را بار نخست **بوهر** کشف کرد. او نمودار سیگموئید اتصال O_2 به هموگلوبین را مشاهده و استنباط کرد که اتصال اولین مولکول O_2، اتصال سایر مولکول‌های O_2 را تسهیل می‌کند. مشابه بودن زنجیره‌های α و β در زیر واحدهای متفاوت هموگلوبین، وجود تغییرات ساختاری درون مولکولی و تغییر ساختاری کل پروتئین، هنگام اتصال O_2، نشان می‌دهند که هموگلوبین دارای همکاری آلوستریک است.

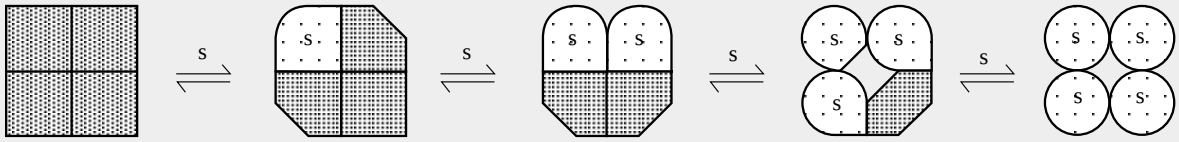
بعد از پی بردن به تغییرات ساختاری القا شده در هموگلوبین، پس از اتصال O_2، دو الگو برای این پدیده ارائه شد:

- الگوی MWC[5]: زیر واحدها به شکلی مرتب تغییر ساختار می‌دهند تا تقارن مولکول حفظ شود؛ به گونه‌ای که انگار کل مولکول از حالت با تمایل پایین (T) به حالت با تمایل بالا (R) تغییر ساختار می‌دهد (شکل ۱). R و T، به ترتیب از واژه‌های Tense و Relaxed گرفته شده‌اند. زیرا T توسط جفت‌های یونی بیش‌تری پایدار می‌شود که بسیاری از آن‌ها در سطح تماس α_1 و β_2 (α_2, β_1) قرار دارند.



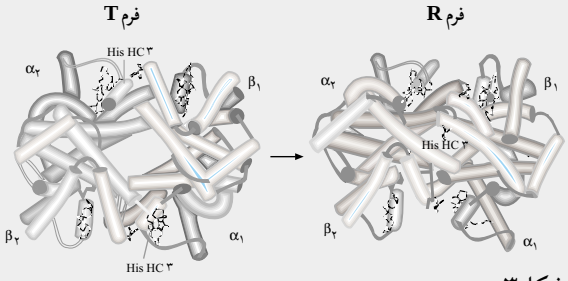
شکل ۱

شکل ۲



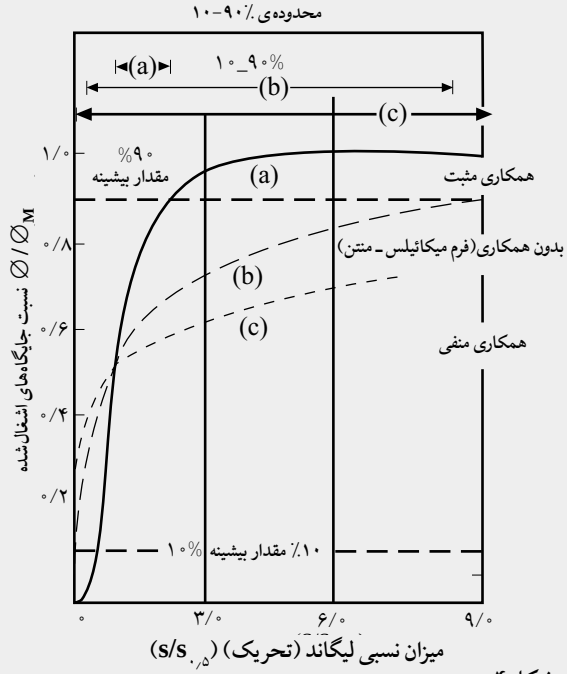
اتصال O_2 به هموگلوبین در فرم T، سبب آغاز تغییرشکل هموگلوبین به سمت فرم R می‌شود. طی این فرایند، بعضی از جفت‌های یونی پایدارکننده‌ی حالت T شکسته و بعضی از انواع جدید مجدداً تشکیل می‌شوند. تمایل فرم R برای O_2 بیش‌تر از فرم T است (شکل ۳).

● الگوی KNF[6]: هر زیر واحد، با اتصال لیگاند تغییر شکل می‌دهد و بنابراین، تغییر در یک زیرواحد، به تغییر شکل در سایر زیرواحدهای پروتئین منجر می‌شود (شکل ۲).



شکل ۳

مطالعات ریاضی نشان داده‌اند که هر دو الگو، نمودار سیگموئیدی اتصال O_2 را توجیه می‌کنند. به طور کلی دو نوع همکاری وجود دارد: همکاری مثبت[7] و همکاری منفی[8] (شکل ۴).



شکل ۴

همکاری مثبت: در صورت اتصال اولین لیگاند، تمایل مولکول برای اتصال به لیگاندهای بعدی بیش‌تر می‌شود. هم‌چنین، با جدا شدن اولین لیگاند، لیگاندهای بعدی نیز راحت‌تر جدا می‌شوند. این نوع همکاری، حساسیت پروتئین (آنزیم) را به لیگاند زیاد می‌کند؛ یعنی با تغییر کم غلظت لیگاند، میزان فعالیت پروتئین نسبت به حالتی که اتصال لیگاند به پروتئین از فرم میکائیلیس ـ منتن پیروی کند، تغییر زیادی پیدا می‌کند.

همکاری منفی: در صورت اتصال اولین لیگاند، تمایل مولکول برای اتصال به لیگاندهای بعدی کم‌تر می‌شود. هم‌چنین، با جدا شدن اولین لیگاند، لیگاندهای بعدی سخت‌تر جدا می‌شوند.

شاید در نگاه نخست چنین به نظر برسد که همکاری منفی از اهمیت کمی در سیستم‌های زیستی برخوردار است، ولی در واقع این طور نیست. نتایج حاصل از تحقیقات نشان می‌دهند، نسبت مولکول‌های دارای همکاری مثبت با نسبت مولکول‌های دارای همکاری منفی، تقریباً برابر است. اگر نمودار همکاری منفی به دقت بررسی شود، متوجه می‌شویم که پروتئین (آنزیم) خیلی دیر با لیگاند اشغال می‌شود. یعنی اگر یک مهارکننده به صورت همکاری منفی به آنزیم وصل شود، برای خاموش شدن آنزیم، غلظت بسیار زیادی از مهارکننده مورد نیاز است. CTP[9] برای آنزیم «کربامول فسفات سنتتاز»[10]، به عنوان یک مهارکننده‌ی آلوستریک عمل می‌کند. از این آنزیم، علاوه بر CTP، مسیرهای متفاوتی با محصولات متفاوت منشأ می‌گیرند. بنابراین، این آنزیم نباید با زیاد شدن غلظت CTP به کلی مهار شود. اتصال به صورت همکاری منفی باعث می‌شود که این آنزیم به صورت کامل مهار نشود و همه‌ی مسیرهایی که از آن منشأ می‌گیرند، به یکباره خاموش نشوند.

برای بررسی همکاری، هموگلوبین مثال خوبی است. هموگلوبین دارای زیرواحدهای α و β است که با اتصال O_2، شکل کلی زیرواحدها ثابت می‌ماند، ولی ساختار چهارم آن‌ها عوض می‌شود. ۲ تا از α ها هم‌چنان کنار هم می‌مانند، ولی نسبت به هم °۱۵ درجه می‌چرخند.

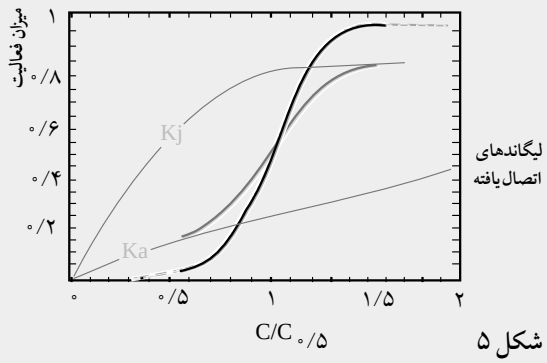
$$Hb \overset{k_1}{\rightleftharpoons} HbO_2 \overset{k_2}{\rightleftharpoons} Hb(O_2)_2 \overset{k_3}{\rightleftharpoons} Hb(O_2)_3 \overset{k_4}{\rightleftharpoons} Hb(O_2)_4$$

$$k_1 = [HbO_2]/[Hb][O_2]$$

$$k_2 = [Hb(O_2)_2]/[HbO_2][O_2] \quad ,...$$

که $k_1 < k_2 < k_3 < k_4$

اگر نمودار اشباع شدن هموگلوبین از O_2 را بر حسب غلظت O_2 رسم کنیم، نموداری سیگموئید به دست خواهد آمد. این نمودار سیگموئید، حالت میانگین وزنی دارد؛ یعنی مانند آن است که از نمودار اشباع شدن حالت‌های R و T هموگلوبین (در صورتی که به هم تبدیل نشوند)، میانگین گرفته شده است (شکل۵).



شکل ۵

اتصال همکاری O_2 به هموگلوبین را، اولین بار **ارچیبلد هیل**[11] آنالیز ریاضی کرد. از کارهای او یک الگوی عمومی برای اتصال همکاری لیگاند به پروتئین‌های چند زیرواحدی به دست آمد. می‌توان برای پروتئینی با n زیرواحد، با این فرض که اگر یکی از جایگاه‌های اتصال لیگاند در پروتئین اشغال شود، همه‌ی جایگاه‌ها فوراً دارای لیگاند خواهند شد، یعنی همکاری صددرصد وجود داشته باشد، معادلات زیر را نوشت:

$$P + nL \rightleftarrows PL_n$$

بنابراین «ثابت تشکیل»[12] به صورت زیر است:

$$K_a = \frac{[PL]}{[P][L]}$$

برای سادگی، به جای استفاده از K_a، از «ثابت تفکیک»[13] یا K_d استفاده می‌شود که برابر است با: $1/K_a$.

بنابراین:

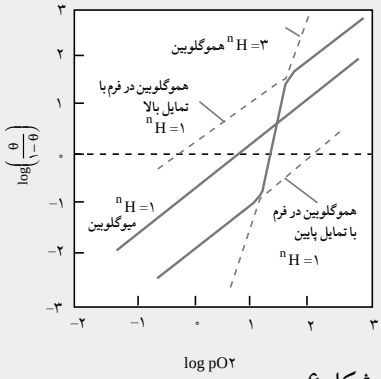
$$\theta = \frac{\text{جایگاه‌های اتصال اشغال شده}}{\text{تعداد کل جایگاه‌ها}}$$

$$\theta = \frac{[L]}{[L]+K_a}$$

$$\frac{\theta}{1-\theta} = \frac{[L]}{K_d}$$

$$\log\left(\frac{\theta}{1-\theta}\right) = n\log[L] - \log K_d$$

این معادله، «معادله‌ی هیل»[14] و نمودار $\log(\theta/1-\theta)$ بر حسب $\log[L]$، «نمودار هیل»[15] نام دارد. این نمودار با توجه به معادله، باید شیبی برابر با n داشته باشد، ولی دیده شده است که در عمل، شیب نمودار کم‌تر از تعداد زیرواحدهای پروتئین است. شیبی که در عمل برای نمودار هیل به دست می‌آید، با n_H نشان داده می‌شود و «ضریب هیل»[16] نام دارد که نمود عددی میزان همکاری مولکول است. $n_H = 1$ نشان می‌دهد که اتصال لیگاند به صورت همکاری نیست. اگر $n_H < 1$ نشان‌دهنده‌ی وجود همکاری مثبت باشد، بیش‌ترین میزان n_H از نظر تئوری برابر n است. در این حالت، همکاری کامل وجود دارد، یعنی همه‌ی جایگاه‌ها به یکباره از لیگاند پر می‌شوند و هیچ مولکولی را نمی‌توان پیدا کرد که به صورت نیمه‌اشباع باشد. در عمل نمی‌توان مولکولی یافت که $n_H = n$ باشد، چون همواره $n > n_H$ است (شکل۶).



شکل ۶

زیرنویس

1. Cooperativity
2. Mutualism
3. Metabolic Cooperativity
4. Allosteric Cooperativity (Allos: Other, Stereas: Solid)
5. Monod, Wyman, changeux
6. Koshland, Nemethy, Filmer
7. Positive Cooperativity
8. Negative Cooperativity
9. Cytidine 5´-triphosphate
10. Carbamoyl-phosphate Synthetase
11. Archibald Hill
12. Association Constant
13. Dissociation Constant
14. Hill Equation
15. Hill Plot
16. Hill Coefficient

منابع

1. Monod, J., Wyman, J., and Changeux, J. P. (1965) J. Mol. Cell Biol. **12**, 88-118.
2. Koshland, D. E., Jr., Nemethy, G., and Filmer, D. (1966) Biochemistry **5**, 365-385.
3. Martha R. Bethell, Kathryn E. Smith, Jean Spicer White, Mary Ellen Jones (1968) Carbamyl phosphate: An Allosteric Substrate For Aspartate Transcarbamy-lase of *Escherichia coli*, Biochemistry **60**, 1442-1449.
4. Daniel E. koshland, kambiz hamadani (2002) The Journal of Biological Chemistry, Vol. 277, No. 49, 46841-46844.
5. Ian Graham, Thomas Duke (2005) The Logical Repertoire of Ligand-Binding Proteins, Phys. Biol.2, 159-165.