بسم الله الرحمن الرحيم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی

عنوان

پیش‌بینی مکان استقرار درون‌هسته‌ای پروتئین‌ها با استفاده از سیستم ایمنی مصنوعی

نگارش

زینب پیریائی

استاد راهنما

دکتر مهدی صادقی

بهمن ۱۳۹۱

حق استفاده از مفاد پایان‌نامه برای پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست‌فناوری محفوظ است.

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

رساله جهت کارشناسی ارشد رشته زیست‌شناسی سلولی ومولکولی

موضوع پایان‌نامه

پیش‌بینی مکان استقرار درون هسته‌ای پروتئین‌ها با استفاده از سیستم ایمنی مصنوعی

نگارش

زینب پیریائی

این پایان‌نامه در تاریخ ۱۳۹۱/۱۱/۲۹ توسط کمیته داوری مورد تایید قرار گرفته و با درجه‌ی عالی ارزیابی گردید.

- استاد راهنما : جناب آقای دکتر مهدی صادقی
- داور داخلی : سرکار خانم دکتر زرین مینوچهر
- داور خارجی : جناب آقای دکتر شهریار عرب
- مدیر اداره تحصیلات تکمیلی : جناب آقای دکتر فرید حیدری

پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

تقدیر و تشکر

سپاس دارم از استاد ارجمند جناب آقای دکتر مهدی صادقی به عنوان استاد راهنما که در انجام این پایان‌نامه از بزرگواری‌ها و راهنمایی ارزشمندشان برخوردار بوده‌ام.

چکیده

یکی از مسائل مهم در علم بیوانفورماتیک که در طی سال‌های اخیر مورد توجه دانشمندان قرار گرفته است، پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین‌ها در سلول و اندامک‌های آن می‌باشد. هسته‌ی سلول مهمترین اندامک سلول به شمار می‌آید. هسته‌ی سلول به چندین بخش تقسیم شده که به هر بخش یک زیرهسته گفته می‌شود. پروتئین‌ها براساس کارکردشان در هر یک از مکان‌های زیرهسته قرار می-گیرند. به طوری‌که اگر پروتئین در مکانی غیر از مکان خود مستقر شود، باعث سوء عملکرد و ایجاد بیماری می‌گردد. بنابراین رابطه‌ی مستقیمی بین مکان استقرار پروتئین و کارکرد آن وجود دارد. در نتیجه دانستن مکان استقرار پروتئین به یافتن عملکرد یک پروتئین کمک می‌کند. هر چند روش‌های آزمایشگاهی متفاوتی برای تشخیص مکان استقرار یک پروتئین در سلول یا به طور جزئی‌تر در یک اندامک سلولی مانند هسته وجود دارند، از معایب این روش‌ها می‌توان به زمان‌بر بودن و پرهزینه بودن آنها اشاره کرد. به همین دلیل روش‌های پیشگویی مبتنی بر ماشین‌های یادگیری در این زمینه بسیار متداول و کارامد هستند. رویکردهای مختلفی که برای حل مسئله‌ی پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین در سلول ارائه می‌شوند، شامل دو مرحله مجزا می‌باشند:

۱- روش‌های بازنمایی پروتئین که هر یک براساس تحلیل توالی‌های اسید آمینه، ویژگی‌های متفاوتی را بدست می‌دهد.

۲- استفاده از الگوریتم‌های طبقه‌بندی برای تعیین پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین‌ها.

یکی از سیستم‌های ماشینی که می‌توان آن را به عنوان یکی از طبقه‌بندهای قابل بررسی در این زمینه مورد توجه قرار داد، سیستم‌های ایمنی مصنوعی است.

با توجه به قابلیت‌های سیستم ایمنی مصنوعی در زمینه‌ی طبقه‌بندی الگو و نظر به این که تا به حال از این سیستم در پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین‌ها در هسته استفاده نشده است لذا در این پایان‌نامه به بررسی سیستم ایمنی مصنوعی در جهت پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین‌ها در هسته پرداخته شده است. در این پایان‌نامه ابتدا بازنمایی‌های مختلف برای توالی‌های پروتئین بدست آمده است. در ادامه الگوریتم‌های سیستم ایمنی مصنوعی به عنوان یک طبقه‌بند با روش آموزش همه در برابر همه، یکی در برابر همه، یکی در برابر یکی و روش تست متقاطع بر روی هر یک از ۳۷ بازنمایی انجام شده است. سپس با استفاده از رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی، طبقه‌بندی انجام گرفته است. الگوریتم انتخاب منفی با دقت کلی ٥٦.٣٤٪ بالاترین دقت در بین الگوریتم‌های ایمنی مصنوعی را دارا می‌باشد. با مقایسه‌ی نتایج این و روشNuc-ploc، این روش عملکرد ضعیف‌تری نسبت به روش Nuc-ploc داشته است.

کلید واژه : هسته، مکان‌یابی، بازنمایی توالی پروتئین، سیستم ایمنی مصنوعی.

فهرست مطالب

۱- مقدمه..... ۲

۱-۱ مسئله‌ی پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین در هسته..... ۲

۱-۲ مفاهیم اولیه..... ۲

۱-۲-۱سلول..... ۳

۱-۲-۲ هسته..... ۵

۱-۲-۲-۱ پوشش هسته..... ۸

۱-۲-۲-۲ شیره‌ی هسته..... ۹

۱-۲-۲-۳ هستک..... ۹

۱-۲-۲-٤ کروماتین..... ۱۰

۱-۲-۲-۵ هتروکروماتین..... ۱۰

۱-۲-۲-٦ ماتریکس هسته‌ای..... ۱۱

۱-۲-۲-۷ کمپلکس منفذ هسته..... ۱۲

۱-۲-۲-۸ خال‌های هسته ای..... ۱۲

۱-۲-۲-۹ جسم PML ۱٤

۱-۲-۳ پروتئین‌ها..... ۱٤

۱-۲-۳-۱ سطوح مختلف ساختار پروتئین..... ۱٦

۱-۳ سیستم ایمنی بدن انسان..... ۲۰

۱-۳-۱ تعریف سیستم ایمنی..... ۲۰

۱-۳-۲-۱ عناصر اصلی ایمنی ذاتی..... ۲۲

۱-۳-۲-۲ عناصر ایمنی اکتسابی ۲۳

۱-۳-۲-۳ پاسخ‌های ایمنی اکتسابی..... ۲٤

۱-۳-۳ فرآیند فعال شدن سیستم ایمنی بدن انسان..... ۲٤

۱-۳-۳-۱ بلوغ سلولT ۲۵

۱-۳-۳-۲ فرآیندهای پس از فعال شدن یک سلولT ۲٦

۱-٤ چکیده‌ای از کار انجام شده ۲۷

۲- مروری برمنابع..... ۳۰

۲-۱ تعیین مکان استقرار پروتئین‌ها در سلول و اندامک‌های آن..... ۳۰

۲-۱- ۱روش‌های تجربی و آزمایشگاهی تعیین مکان استقرار پروتئین‌ها در سلول و اندامک‌های آن ۳۱
۲-۱-۱-۱ برچسب‌زنی اپی‌توپ ۳۱
۲-۱-۱-۲ میکروسکوپ ایمونو فلوئورسانس ۳۲
۲-۱-۲ روش‌های محاسباتی پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین‌ها در سلول و اندامک‌های آن ۳۲
۲-۱-۲-۱ مجموعه داده‌ی بکار رفته ۳۳
۲-۱-۲-۲ روش‌های بازنمایی پروتئین ۳۵
۲-۱-۲-۲-۱ بازنمایی براساس درصد ترکیب اسید آمینه ۳۵
۲-۱-۲-۲-۲ بازنمایی براساس درصد ترکیب n- پپتیدی ۳۶
۲-۱-۲-۲-۳ بازنمایی براساس درصد ترکیب اسید آمینه کاذب (همراه با در نظر گرفتن خواص فیزیکی وشیمیایی) ۳۷
۲-۱-۲-۲-٤ بازنمایی براساس ماتریس امتیاز ویژه‌ی مکان ٤۰
۲-۱-۲-۲-۵ بازنمایی براساس دومین عملکردی ٤۳
۲-۱-۲-۲-٦ بازنمایی براساس درصد ترکیب ویژگی‌های اسیدهای آمینه ٤۵
۲-۱-۲-۲-۷ بازنمایی براساس پیش بینی سطح در دسترس اسیدهای آمینه ٤٦
۲-۱-۲-۲-۸ بازنمایی براساس پیش‌بینی عناصر ساختار دوم پروتئین ٤۸
۲-۱-۲-۲-۹ بازنمایی براساس ترکیب پیش‌بینی ساختار دوم پروتئین و پیش بینی سطح در دسترس اسیدهای آمینه ۵۲
۲-۱-۲-۲-۱۰ بازنمایی براساس همترازی دوبدوی توالی‌ها ۵۳
۲-۲ مروری بر کارهای گذشته ۵٤
۳- مواد و روش‌ها ۵۷
۳-۱ سیستم ایمنی مصنوعی (AIS) ۵۷
۳-۱-۱ الگوریتم انتخاب منفی(NSA) ۵۸
۳-۱-۲ الگوریتم انتخاب کلونال(CSA) ۵۹
۳-۱-۳ شبکه‌ی ایمنی مصنوعی(aiNet) ٦۱
۳-۱-٤ الگوریتم سیستم تشخیص ایمنی مصنوعی(AIRS) ٦۵
۳-۱-۵ الگوریتم طبقه‌بندی انتخاب کلونال(CSCA) ۷۳
۳-۲ روش‌های آموزش و تست ۷٤
۳-۳ معیارهای تعیین میزان دقت و ارزیابی ۷۵
۳-٤ متعادل کردن مجموعه داده ۷٦

٤- نتایج و بحث.....۷۹
٥- پیشنهادات.....۹۳
٦- منابع ۹٥

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱ علائم اختصاری اسیدهای آمینه..... ۱۵
جدول ۲-۱ نه مکان تعریف شده در هسته به همراه تعداد توالی‌های قرارگرفته در هر مکان..... ۳٤
جدول۳-۱ نگاشت بین مفاهیم سیستم ایمنی و AIRS..... ٦۵
جدول ٤-۱مقایسه‌ی معیار MCC الگوریتم انتخاب منفی با روش یکی در برابر همه و رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی و روش Nuc-ploc ۸۰
جدول ٤-۲ مقایسه‌ی معیار MCC الگوریتم انتخاب منفی با روش یکی در برابر یکی با رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی و روش Nuc-ploc ۸۰
جدول ٤-۳ محاسبه‌ی دقت برای هرکلاس براساس معیار حساسیت و اختصاصیت در الگوریتم انتخاب منفی با روش یکی در برابر یکی با رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی..... ۸۱
جدول ٤-٤ مقایسه‌ی معیار MCC الگوریتم aiNet با روش یکی در برابر همه رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی وروشNuc-ploc ۸۲
جدول ٤-۵ مقایسه‌ی معیار MCC الگوریتم aiNet با روش یکی در برابر یکی رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی و روشNuc-ploc ۸۲
جدول ٤-٦ محاسبه‌ی دقت برای هرکلاس براساس معیار حساسیت و اختصاصیت در الگوریتم aiNet با روش یکی در برابر یکی با رأی‌گیری بین ۳۷ بازنمایی..... ۸۳
جدول ٤-۷ نتایج الگوریتم AIRS2 برای هر ویژگی به طور جداگانه و با روش همه در برابر همه..... ۸۳
جدول ٤-۸ مقایسه‌ی معیار MCC الگوریتم AIRS2 با بازنمایی (λ=2) NucpLoc – PseAA و روش Nuc-ploc ۸۵
جدول ٤-۹ محاسبه‌ی دقت برای هرکلاس براساس معیار حساسیت و اختصاصیت در الگوریتم AIRS2 با روش همه در برابر همه با بازنمایی (λ=2) NucpLoc – PseAA..... ۸۵
جدول ٤-۱۰ نتایج الگوریتم CSCA برای هر ویژگی به طور جداگانه و با روش همه در برابر همه..... ۸٦
جدول ٤-۱۱ مقایسه‌ی معیار MCC الگوریتم CSCA با بازنمایی NucpLoc –PSSM (20D) و روش Nuc-ploc ۸۸
جدول ٤-۱۲ محاسبه‌ی دقت برای هرکلاس براساس معیار حساسیت و اختصاصیت در الگوریتم CSCA با روش همه در برابر همه با بازنمایی(NucpLoc –PSSM (20D ۸۸

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱ تصویر شماتیک از سلول یوکاریوتی و اندامک‌های آن ۵
شکل۱-۲ هسته در زمان تقسیم..... ٦
شکل۱-۳ تصویر شماتیک از نه جایگاه تعریف شده در هسته ۷
شکل ۱-٤ تصویر شماتیک از کمپلکس منفذ هسته ۱۲
شکل ۱-۵ ارتباط خال‌های هسته‌ای با اجسام کژال ۱۳
شکل ۱-٦ چرخه‌ی پیرایش UsnRNP ها ۱٤
شکل ۱-۷ پایه‌ی اسیدهای آمینه ۱٦
شکل ۱-۸ یک زنجیره‌ی تری‌پپتیدی..... ۱۷
شکل ۱-۹ مارپیچ آلفا و صفحات بتا ۱۹
شکل ۱-۱۰ منشاء سلول‌های سیستم ایمنی و تقسیم‌بندی آنها..... ۲۱
شکل۱-۱۱ ایمنی ذاتی و اکتسابی. دفاع اولیه در برابر عفونت‌ها با ایمنی ذاتی آغاز شده و بعد از آن ایمنی اکتسابی با فعال‌سازی لنفوسیت‌ها آغاز می‌گردد..... ۲۲
شکل ۲-۱ مسیر بیولومینسانس در Aequorea Victoria ۳۲
شکل ۲-۲ (a) نمایش شماتیک زنجیر یکی مابینی، (b) زنجیر دوتا مابینی، (c) زنجیر سه تا مابینی..۳۸
شکل ۲-۳ تصویر صفحه‌ی وب‌سرویس PseAA برای بدست آوردن بازنمایی درصد ترکیب اسید آمینه کاذب (همراه با در نظر گرفتن خواص فیزیکی وشیمیایی)..... ٤۰
شکل ۲-٤ وب‌سرویس ebi برای عملیات PSI-Blast ٤۳
شکل ۲-۵ وب‌سرویس PORTER برای پیش‌بینی سطح در دسترس اسیدهای آمینه و پیش‌بینی عناصر ساختار دوم پروتئین..... ٤۷
شکل ۳-۱ تصویر شماتیک از انتخاب منفی..... ۵۸
شکل ۳-۲ روند الگوریتم انتخاب منفی..... ۵۹
شکل۳-۳ (a) Epitope : بخشی از آنتی‌ژن که توسط آنتی‌بادی شناسایی می‌شود. Paratope : قسمتی از آنتی‌بادی که Epitope آنتی‌ژن را شناسایی می‌کند. (b) Idiotope : Epitope روی سطح آنتی‌بادی و ارتباط آنتی‌بادی‌ها با هم نمایش داده شده است..... ٦۲
شکل۳-٤ نمای کلی الگوریتم تشخیص ایمنی مصنوعی..... ٦۸
شکل ۳-۵ روند کلی الگوریتم CSCA..... ۷٤
شکل ۳-٦ تصویر شماتیک از (a): Undersampling، (b): Oversampling، (c): Smote، (d): Tomek link..... ۷۷

مقدمه

۱- مقدمه

۱-۱ مسئله‌ی پیش‌بینی مکان استقرار پروتئین در هسته

بدن موجودات زنده از واحدهای سازنده‌ای به نام سلول تشکیل شده است که حفظ حیات و تولید مثل و بقاء موجود زنده، مستلزم فعالیت و کارکرد درست و هماهنگ همه‌ی سلول‌های بدن می‌باشد. یک سلول متشکل از قسمت‌ها و یا اندامک‌های[۱] بسیار گوناگونی است (شکل ۱-۱) که هر یک، ویژه‌ی انجام فعالیت‌ها و وظایف متفاوتی می‌باشد. اکثر این فعالیت‌ها که برای بقا سلول حیاتی هستند، توسط پروتئین‌های موجود در سلول انجام می‌شوند (Alberts, 2002). یک سلول نمونه‌ای تقریبا شامل ۱ بیلیون ($۱۰^۹$) مولکول‌های پروتئینی می‌باشند که در قسمت‌ها و یا اندمک‌های مختلف سلول مستقر می‌باشند. یکی از این اندامک‌ها هسته‌ی سلول است که مهمترین جزء سلول به شمار می‌آید. بنابراین یکی از اهداف اساسی در زیست‌شناسی سلولی و پروتئومیکس مشخص کردن مکان استقرار پروتئین در سلول و به طور خاص در هسته، و فعالیت‌های این پروتئین‌ها می‌باشد. اطلاعات مکان استقرار پروتئین‌ها می‌تواند یک راهنمای مفید در جهت فهمیدن عملکرد و فعالیت آنها فراهم کند (Chou and Shen, 2007).

این مسئله به نوبه‌ی خود می‌تواند موجب تسریع طراحی دارو برای بسیاری از بیماری‌های مرتبط با هسته گردد. بنابراین مسئله‌ی شناسایی مکان استقرار پروتئین‌ها در هسته، یک مسئله‌ی پژوهشی بسیار جدی در علم بیوانفورماتیک می‌باشد.

۱-۲ مفاهیم اولیه

از آنجا که پایه و اساس علم بیوانفورماتیک، مفاهیم زیستی می‌باشد، بنابراین برای حل هرچه بهتر مسائل باید مفاهیم زیستی مرتبط با مسئله دانسته شود. در این بخش به بررسی سلول و اجزای مختلف پرداخته خواهد شد. به دلیل تمرکز این پایان‌نامه بر روی هسته و پروتئین‌های مستقر در آن، مطالب پیرامون هسته به طور مجرا و با جزئیات بیشتر، بررسی شده است. پروتئین که واحد عملیاتی هر سلول بوده و در این پایان‌نامه نقش اصلی را ایفا می‌کند نیز و درباره اجزای سازنده‌ی آن، ساختار آن در فضا به طور خاص مورد بررسی قرار گرفته است.

[۱] Organelles

۱-۲-۱سلول

همه موجودات زنده از سلول ساخته شده‌اند. واحدهای کوچکی که توسط غشا محصور شده و با مایع غلیظی از مواد شیمیایی پر شده‌اند. این مواد به سلول توانایی فوق‌العاده‌ای در رشد و تقسیم اعطا می‌کند تا نسخه‌هایی از خودشان را ایجاد کنند. ساده‌ترین شکل حیات، سلول‌های مجزا هستند. موجودات عالی‌تر از جمله خود ما، مجموعه‌ای از سلول‌های حاصل از رشد و تقسیم یک سلول منفرد اولیه هستند. جانوران، گیاهان و یا قارچ‌ها اجتماع گسترده‌ای از سلول‌های مجزا می‌باشند که اعمال تخصصی انجام داده و توسط دستگاه‌های پیچیده‌ی ارتباطی هماهنگ شده‌اند (Alberts,2002). بنابراین، سلول‌ها واحدهای اساسی حیات هستند و در زیست شناسی سلولی به دنبال پاسخ به این سوال هستیم که حیات چیست و چگونه عمل می‌کند؟ با درک عمیق ساختار، عملکرد، رفتار و تکامل سلول‌ها می‌توان به بررسی مسائل مهم تاریخی حیات بر روی زمین پرداخت; مسائلی مانند منشأ اسرارآمیز حیات، تنوع مبهوت کننده‌ی آن و وجود حیات در هر زیستگاه قابل تصور (Alberts,2002).

علی‌رغم تفاوت‌های متعدد در بین انواع مختلف، سلول‌ها دارای خصوصیات ساختمانی مشترک هستند. غشای پلاسمایی محیط سلول را معین نموده و محتویات آن را از محیط اطراف جدا می‌نماید. این غشا از مولکول‌های متعدد لیپید و پروتئین تشکیل شده است که توسط واکنش‌های متقابل آب-گریز غیر قطبی در کنار یکدیگر قرار گرفته و ایجاد یک لایه نازک انعطاف پذیر محکم آب‌گریز در اطراف سلول می‌نماید. این غشا به عنوان سدی در برابر عبور یون‌های معدنی و بیشتر ترکیبات باردار یا قطبی می‌باشد. پروتئین‌های انتقالی موجود در غشای پلاسمایی امکان عبور بعضی از یون‌ها و مولکول‌ها را از عرض این غشا فراهم می‌سازند. سایر پروتئین‌های غشایی شامل گیرنده‌هایی هستند که پیام‌ها را از خارج به داخل سلول انتقال داده و همچنین تعدادی از آنزیم‌ها در داخل غشا وجود دارند که در یک سری مسیرها مرتبط با غشا شرکت می‌نمایند (Alberts, 2002).

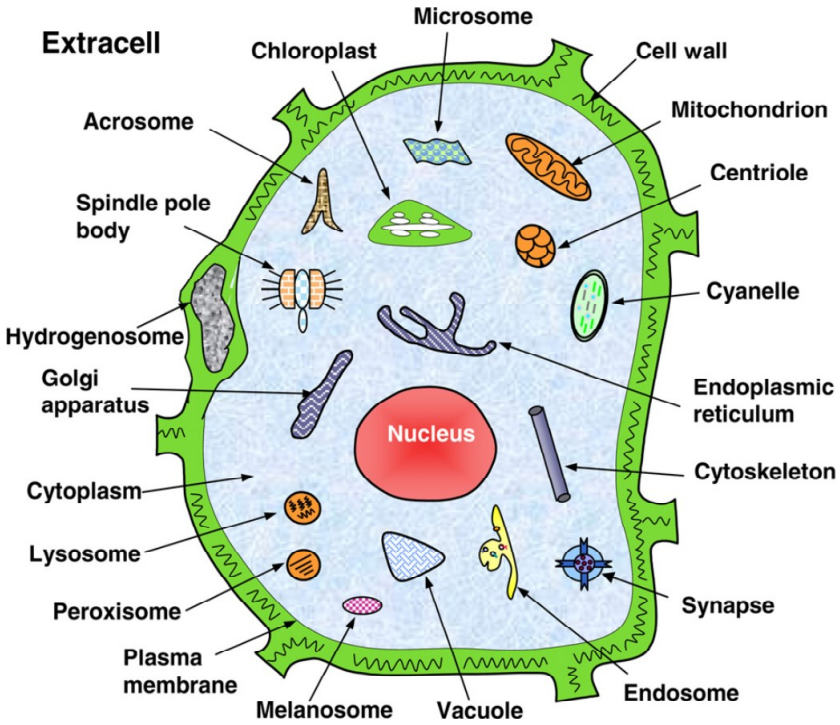
از آنجایی که مولکول‌های لیپیدی و پروتئینی موجود در غشای پلاسمایی به طور کووالان به یکدیگر اتصال ندارند، این ساختمان دارای انعطاف‌پذیری قابل توجهی بوده که به تغییر در شکل و اندازه سلول کمک می‌نماید. با رشد یک سلول، مولکول‌های جدید لیپیدی و پروتئینی ساخته شده و در داخل غشای پلاسمایی قرار داده می‌شوند؛ با تقسیم سلولی دو سلول ایجاد شده و هر کدام غشای خود را خواهند داشت. رشد و شکافت غشا بدون ازدست‌رفتن یکپارچگی آن به انجام می‌رسد. در حالت معکوس فرآیند شکافت، دو غشا می‌توانند بدون از دست دادن یکپارچی خود، با یکدیگرادغام گردند. شکافت و ادغام، مکانیسم‌های اصلی انتقال مواد به داخل و خارج سلول هستند که به ترتیب

آندوسیتوز[۱] و اگزوسیتوز[۲] نامیده می‌شوند (Nelson et al., 2008). ماده داخلی سلول که توسط غشای پلاسمایی احاطه شده است، به‌نام سیتوپلاسم[۳]، از محلول آبی، به نام سیتوزول[٤]، تشکیل شده است که در آن انواع مختلفی از ذرات نامحلول به شکل معلق وجود دارند. سیتوزول یک محلول آبی غلیظ می‌باشد که دارای ترکیب پیچیده و قوام ژل‌مانند است. در داخل سیتوزول مواد محلول متعددی وجود دارد: بسیاری از آنزیم‌ها و مولکول‌های RNA کدکننده‌ی آنها؛ زیر واحدهای منومری (اسیدهای آمینه و نوکلئوتیدها) که این ماکرومولکول‌ها از آنها ساخته می‌شوند؛ صدها مولکول آلی کوچک، به‌نام متابولیت[٥]، که به عنوان ترکیبات واسط در مسیرهای بیوسنتیک و تخریبی شرکت می‌نمایند؛ کوآنزیم‌ها، ترکیباتی با وزن مولکولی ۲۰۰ تا ۱۰۰۰ که برای شرکت بسیاری از آنزیم‌ها در واکنش ضروری هستند؛ و یون‌های معدنی. ریبوزوم‌ها، ذرات کوچک با قطر ۱۸ nm متشکل از بیش از ۵۰ نوع مولکول پروتیئن و RNA می‌باشند که سنتز پروتئین بر روی آنها به انجام می‌رسد. ریبوزوم‌هایی که در سنتز پروتئین شرکت می‌نمایند، اغلب بصورت دستجاتی به‌نام پلی‌زوم (پلی-ریبوزوم) دیده می‌شوند که توسط رشته‌ای از RNA پیک در کنار یکدیگر قرار می‌گیرند. در داخل سیتوپلاسم بسیاری از سلول‌ها، گرانول‌ها و قطرات حاوی مواد غذایی ذخیره شده، نظیر نشاسته و چربی، نیز وجود دارد (Nelson et al., 2008).

تمامی سلول‌های زنده، حداقل برای قسمتی از عمر خود، دارای یک هسته یا یک ساختمان هسته‌مانند می‌باشند که در داخل آن ژنوم (سری کامل ژن‌ها که از DNA تشکیل شده است) ذخیره و همانند-سازی می‌گردد. مولکول‌های DNA همیشه بسیار طویل‌تر از خود سلول‌ها بوده و بصورت کمپلکس‌های سوپرامولکولی همراه با پروتئین‌ها، در داخل هسته یا نوکلوئید شدیداً تا و بسته‌بندی می‌شوند. نوکلوئید باکتری توسط غشا از سیتوپلاسم جدا نشده ولی در موجودات عالی، ماده‌ی هسته در داخل یک غشای دوتایی، یا پوشش هسته، قرار گرفته است. سلول‌های دارای پوشش هسته‌ای را یوکاریوت (کلمات یونانی eu و karyon به ترتیب با معانی" واقعی" و"هسته") و سلول‌های فاقد پوشش هسته‌ای (سلول‌های باکتریایی) را پروکاریوت (کلمه یونانی pro به معنی" قبل از") می‌نامند (Nelson et al., 2008). برخلاف باکتری‌ها، یوکاریوت‌ها دارای اندامک‌های متصل به غشای متعددی، شامل میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی، کمپلکس‌های گلژی، لیزوزوم‌ها و واکوئل‌ها (به ترتیب، اندامک‌های مرتبط موجود در سلول‌های حیوانی و گیاهی) و کلروپلاست‌ها (در سلول‌های فتوسنتیک)، در سیتوپلاسم خود هستند (Nelson et al., 2008). در شکل۱-۱ تصویر شماتیکی از سلول یوکاریوتی و اجزای مختلف آن به نمایش در آمده است.

---

[۱] Endocytosis
[۲] Exocytosis
[۳] Cytoplasm
[٤] Cytosol
[٥] Metabolit



شکل ۱-۱ تصویر شماتیک از سلول یوکاریوتی و اندامک‌های آن (Chou and Shen, 2007).

۱-۲-۲ هسته

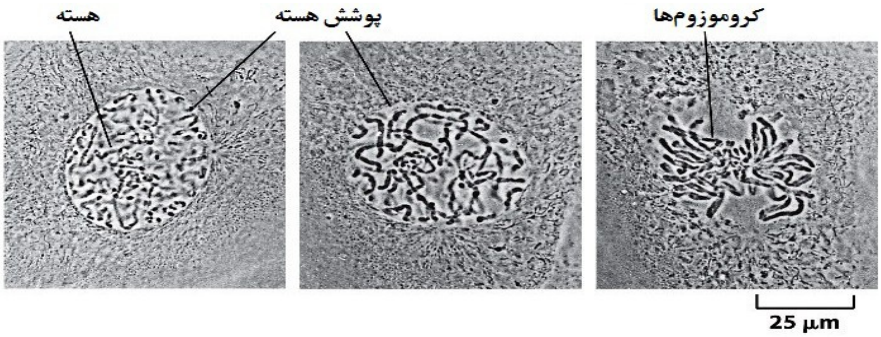
معمولا هسته برجسته‌ترین اندامک در سلول یوکاریوتی است. هسته در میان دو غشای هم مرکز واقع شده که پوشش هسته را تشکیل می‌دهند. مولکول‌های DNA درون هسته قرار می‌گیرند، این مولکول‌ها پلیمرهای بسیار طویلی هستند که اطلاعات ژنتیکی موجود زنده را رمزگردانی می‌کنند.

این مولکول‌های عظیم DNA در زیر میکروسکوپ نوری بصورت کروموزوم‌های[۱] منفرد قابل رویت هستند. البته زمانی که مولکول‌های DNA متراکم‌تر شده و برای تقسیم به دو سلول دختری آماده می‌شوند، می‌توان آنها را مشاهده نمود. همانطور که در شکل ۱-۲ مشاهده می‌شود زمانی که سلول یوکاریوتی برای تقسیم آماده می‌شود، DNA بصورت کروموزوم‌های نخ‌مانندی قابل مشاهده است. همچنین DNA اطلاعات ژنتیکی را در سلول‌های پروکاریوتی ذخیره می‌کند. این سلول‌ها فاقد هسته‌ی مشخص هستند این موضوع به این مفهوم نیست که آنها فاقد DNA باشند، بلکه به خاطر اینست که DNA خود را درون پوشش هسته‌ای قرار نمی‌دهند و در نتیجه DNA از مابقی اجزای سلول جدا نمی‌گردد (Alberts, 2002).

هسته توسط یک پوشش هسته احاطه شده است که خود از دو غشای دو لایه تشکیل شده که توسط یک فضای باریک از یکدیگر جدا شده و با شبکه آندوپلاسمی خشن در ارتباط است. فواصل بین

[۱] Chromosome

غشاهای داخلی و خارجی، در اطراف سوراخ‌ها (منافذ هسته) به یکدیگر متصل می‌گردند؛ این منافذ قطری حدود ۹۰nm دارند. ساختمان‌های پروتئینی، به‌نام کمپلکس‌های منفذ هسته، به این منافذ اتصال یافته که به عنوان ترانسپورترهای اختصاصی امکان جابجایی ماکرومولکول‌ها بین سیتوپلاسم و فاز آبی هسته (نوکلئوپلاسم)[1] را فراهم می‌آورند. رفت و آمد از طریق این کمپلکس‌های منفذ هسته، مربوط به آنزیم‌ها و پروتئین‌هایی می‌باشد که در سیتوپلاسم سنتز شده و برای همانندسازی و ترمیم DNA لازم می‌باشند. به علاوه، پیش‌سازه‌های RNA پیک، همراه با پروتئین‌های مربوطه، از طریق این منافذ از هسته وارد سیتوزول شده و بر روی ریبوزوم‌های سیتوپلاسمی ترجمه می‌گردند (Alberts, 2002).



شکل۱-۲ هسته در زمان تقسیم.

در کلیه‌ی سلول‌های یوکاریوتی هسته دارای پوشش مشخصی است که به دلیل قدرت پراش‌نوری زیادی که دارد از سال‌ها قبل به‌وسیله‌ی میکروسکوپ‌های نوری شناخته شده است (Majd and shariat zadeh, 2008).

در بیشتر سلول‌ها، هسته کروی یا کم و بیش بیضی شکل است، اما در سلول‌های جانوران مختلف هسته تنوع شکلی زیادی دارد. در سلول پارانشیمی بالغ، عدسی شکل، در سلول عضلانی مخطط و در سلول‌های پروکامبیومی گیاهان، استوانه‌ای شکل است، حتی گاهی هسته شکل نامنظمی به خود می‌گیرد. در بسیاری از سلول‌ها و به ویژه سلول‌های جوان، هسته بصورت معمول در وسط سلول قرار دارد. وقتی سلول‌ها تمایز می‌یابند و به ویژه در سلول‌های گیاهی که تمایز آنها به طور معمول با گسترش سیستم واکوئلی همراه است، هسته به طرف کناره‌های سلول رانده می‌شود. طی مراحل مختلف زیست سلول هسته دستخوش تغییرات و تحولات زیادی می‌شود به‌طور معمول و از آنجا که این تغییرات بیشتر مربوط به وضع کروماتین درون هسته می‌شود، متناسب با تغییرات کروماتین، دو حالت یعنی هسته اینترفازی (گاهی تحت عنوان در حال آزمایش) و هسته به حال تقسیم درنظر می‌گیرند. هنگام تقسیم سلول از تحولات و تغییرات کروماتین، رشته‌های رنگ‌پذیر کرومزوم‌ها پدیدار

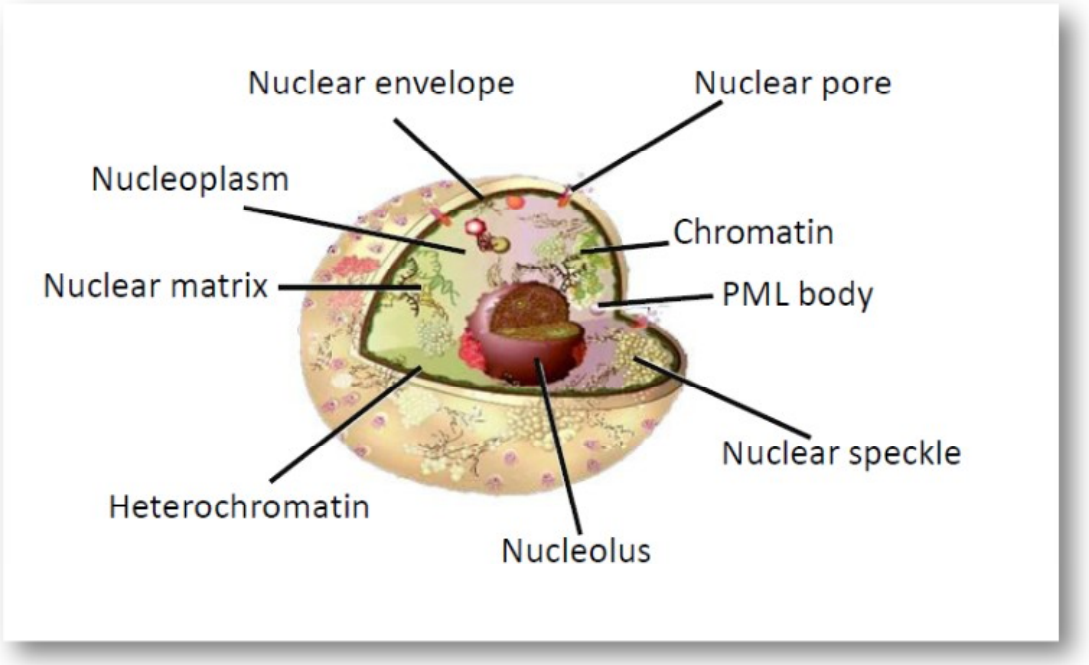
[1] Nucleoplasm

می‌شوند. مشاهدات انجام شده با میکروسکوپ‌های الکترونیکی نشان داده است که ساختمان هسته به بخش‌های اصلی که عبارتند از: پوشش هسته‌ای، شیره‌ی هسته (نوکلئوپلاسم)، اسکلت هسته‌ای، کروماتین و هستک تقسیم می‌شود (Majd and shariat zadeh, 2008).

اما همانطور که گفته شد به دلیل اینکه تمرکز اصلی این پایان‌نامه در رابطه با هسته و مکان استقرار پروتئین‌های آن می‌باشد، با این دیدگاه به بررسی این مکان ها می‌پردازیم (Shen and Chou, 2007).

با توجه به شکل ۱-۳، نه مکان در هسته که پروتئین‌های هسته در این مکان‌ها استقرار یافته‌اند شناخته شده است که عبارت اند از:

۱- پوشش هسته[۱] ۲- شیره‌ی هسته یا نوکلئوپلاسم ۳- هستک[۲] ٤- کروماتین[۳] ٥- هتروکروماتین[٤] ٦- ماتریکس هسته‌ای[٥] ۷- کمپلکس منفذ هسته[٦] ۸- خال‌های هسته‌ای[۷] ۹- جسم PML[۸]



شکل ۱-۳ تصویر شماتیک از نه جایگاه تعریف شده در هسته (Shen and Chou, 2007).

در ادامه درباره‌ی هریک از این بخش‌ها توضیح مختصری ارائه می‌شود.

---

[۱] Nuclear envelope
[۲] Nucleolus
[۳] Chromatin
[٤] Heterochromatin
[٥] Nuclear matrix
[٦] Nuclear pore complex
[۷] Nuclear speckle
[۸] Nuclear promyelocytic leukaemia (PML) body

۱-۲-۲-۱ پوشش هسته

اطراف هسته‌ی سلول‌های یوکاریوتی را پوشش هسته‌ای شامل غشای بیرونی، غشای درونی، فضای بین دو غشا و منافذ هسته‌ای پوشانده است. غشای درونی و بیرونی در محل‌هایی با هم ادغام می-شوند و منافذ هسته را ایجاد می‌کنند. غشای بیرونی یک غشای زیستی متشکل از دو لایه‌ی فسفولیپیدی و پروتئین‌های پراکنده در بین آنها است که شباهت زیادی به غشای آندوپلاسمی دارد و همانند غشای شبکه خشن دارای تعدادی ریبوزوم است، ضخامت متوسط این غشا حدود ٦٠ تا ٧٠ آنگستروم می‌باشد. بخش‌هایی از این غشا در امتداد پیوستگی با غشای شبکه‌ی آندوپلاسمی است (Majd and shariat zadeh, 2008). فضای بین دو غشا یا فضای دور هسته‌ای[1] فضایی به وسعت حدود ٦٠ تا ١٠٠ آنگستروم در بین دو غشای هسته است که وسعت آن در همه جای پوشش هسته یکنواخت نیست. فضای دور هسته از ترکیبی بسیار سیال که در آن آب، نمک‌های کانی، یون‌ها، مواد آلی مختلف از جمله لیپیدها، پروتئین‌ها، ترکیبات گلوسیدی، نوکلئوتیدهای پرانرژی و مانند آن وجود دارد. فراوانی آب، لیپیدها و تا حدی پروتئین‌ها به حالت سیال محتویات بین دو غشا کمک می‌کند. غشای داخلی یک غشای زیستی به ضخامت ٦٠ تا ٧٠ آنگستروم، شبیه غشای شبکه آندوپلاسمی و فاقد ریبوزم است. این غشا با واسطه لایه نازک پروتئینی (پروتئین‌های لامینایی) با کروماتین ارتباط دارد (Majd and shariat zadeh, 2008).

در پوشش هسته‌ای ساختمان‌های پروتئینی فعال و ویژه‌ای به اسم منافذ هسته‌ای وجود دارد. این ساختمان‌ها در حقیقت منافذ غیرفعالی که همه مواد بتوانند از آنها بگذرند و بین سیتوپلاسم و هسته جابه‌جا شوند، نیستند بلکه گذرگاه‌های فعالی هستند که مبادله مواد بین هسته و سیتوپلاسم را کنترل می‌کنند. منافذ هسته‌ای ساختمان‌های دائمی و پایداری نیستند و متناسب با نیاز سلول ایجاد می‌شوند یا تعدادی از آنها ناپدید می‌گردند. در سلول‌هایی که فعالیت متابولیکی زیادی دارند و مبادله مواد از جمله RNA ها و پروتئین‌ها بین هسته و سیتوپلاسم زیاد است تعداد منافذ هسته‌ای زیاد می‌شوند و در مجموع وسعتشان تا ٣٦٪ از سطح کل پوشش هسته‌ای می‌رسد. برعکس در سلول‌هایی که مبادلات هسته و سیتوپلاسم کم باشد تعداد منافذ هسته‌ای کاهش می‌یابد و تنها در حدود ٥٪ از سطح کل پوشش هسته‌ای را اشغال می‌کند (Majd and shariat zadeh, 2008).

[1] Space Prenuclear

۱-۲-۲-۲ شیره‌ی هسته

مایعی است از نظر کلی شبیه سیتوزول و کمی متراکم‌تر از آن به دلیل فراوانی اسید نوکلئیک pH اسیدی دارد. از نظر ترکیب شیمیایی بخش اعظم آن را آب تشکیل می‌دهد، همچنین مواد کانی و آلی مختلفی در آن قرار دارند. از مهمترین مواد کانی آن می‌توان Na^{++},K^{++}، Ca^{++} و مانند آن را نام برد. از مواد آلی مقدار کمی لیپید و از قندها، گلوسیدهای موثر در تشکیل نوکلئوتید مثل (ریبوز و دزوکسی‌ریبوز) در آن وجود دارند. در شیره‌ی هسته شبکه کروماتین و هستک یا هستک‌ها وجود دارند (Majd and shariat zadeh, 2008).

مواد پروتئینی موجود در شیره‌ی هسته به دو گروه تقسیم می‌شوند:

- پروتئین‌های آنزیمی: که مهمترین آنها عبارتند از DNA سنتتازها، RNA سنتتازها، لیگازها که عامل اتصال نوکلئوتیدها به هم و تشکیل قطعات پلی‌نوکلئوتیدی ضمن همانندسازی هستند. آنزیم‌های آندونوکلئاز و اگزونوکلئاز که بخش‌های آسیب‌دیده‌ی DNA را برش می‌دهند و اصلاح می‌کنند و در ترمیم بخش‌های آسیب دیده‌ی DNA موثرند. در اثر پرتوهای شدید آفتاب به پوست نوعی جهش ایجاد می‌شود که اگر توسط این آنزیم اصلاح نگردد، پایدار می‌شود. فسفاتازهای اسیدی که گروه‌های فسفات اضافی را از نوکلئوتیدهای تری‌فسفات به هنگام اتصالشان به یکدیگر جدا می‌کنند (Majd and shariat zadeh, 2008).

- پروتئین‌های ساختمانی: از مهمترین پروتئین‌های ساختمانی موجود در شیره‌ی هسته هیستون‌ها هستند که به‌ویژه در سلول‌های بدنی فراوانند و پروتامین‌های که در هسته‌ی سلول‌های جنسی زایشی وجود دارند (Majd and shariat zadeh, 2008).

۱-۲-۲-۳ هستک

هستک از اجزای ساختمانی سلول است که بصورت یک اندامک درون هسته‌ای و بدون غشا در شیره‌ی هسته قرار دارد. تعداد آن به طور معمول یک یا دو هستک در هسته هر سلول و حتی در موارد چند هستک نیز مشاهده می‌شود. هستک‌ها معمولا کروی شکل و بصورت ذراتی متراکم هستند. با میکرسکوپ نوری اغلب بصورت ذراتی متراکم و همگن دیده می‌شوند و گاهی در آنها بخش‌هایی روشن با تراکم کمتر و یا برعکس بخش‌های متراکم‌تر دیده می‌شود. بین درشتی هستک و فعالیت بیوسنتزی پروتئینی سلول وابستگی وجود دارد و به طور معمول سلول‌های دارای سنتز پروتئین بیشتر، هستک‌های درشت‌تری دارد. هستک‌ها به راحتی با پیرونین رنگ می‌گیرند و پرتوهای نانوبنفش را به خوبی جذب می‌کنند این ویژگی‌ها نشانه‌ی فراوانی RNA در آنها است. یک منطقه

کروماتینی متراکم و کمابیش حلقه‌وار اطراف هستک را احاطه کرده است (Majd and shariat zadeh, 2008).

ساختمان اصلی دارای RNA در هسته، هستک است. هستک اندامکی بسیار متراکم و پراش‌دهنده‌ی پرتوها است. در ساختمان هستک مقدار زیادی پروتئین وجود دارد. مقدار RNA های موجود در هسته از ۳ تا ۱۰٪ ماده خشک هسته را تشکیل می‌دهد. هستک فقط در زمان اینترفاز قابل رویت است و در اغلب موارد هستک به وسیله‌ی حلقه‌ای از هتروکروماتین احاطه شده که می‌تواند به درون هستک نفوذ کند. مهمترین وظیفه‌ی هستک تولید و سازماندهی زیرواحدهای پیش‌ریبوزومی می‌باشد (Majd and shariat zadeh, 2008).

۱-۲-۲-٤ کروماتین

ترکیب اصلی هسته کروماتین است. شبکه کروماتین از درهم رفتن رشته‌های کروماتینی تشکیل شده و این رشته‌ها در حقیقت حالت بسیار کم‌تراکم‌شده‌ای از کروموزم‌ها هستند. رشته کروماتین یا کروموزم اینترفازی، مجموعه‌ی مولکولی پیچیده‌ای است که در آن DNA، دارای اطلاعات ژنتیکی و پروتئین‌های مختلف وابسته به آن که نقش ساختمانی یا عملی دارند و نیز مقداری از RNA ها وجود دارد (Majd and shariat zadeh, 2008).

در ساختمان پروتئین دو گروه از پروتئین‌ها وجود دارد. یک گروه از پروتئین‌هایی که بسیار همگن هستند و تنها در ۵ تیپ مولکولی در ساختمان کروماتین سلول‌های یوکاریوتی وجود دارند. این گروه هیستن‌ها از پروتئین‌های فازی هستند. گروه دوم پروتئین‌هایی که از نظر شیمیایی و فیزیولوژی بسیار متنوع هستند و دارای نقش‌های آنزیمی، ساختمانی، تنظیم‌کننده‌گی و مانند آن هستند. این پروتئین‌ها، پروتئین‌های غیر هیستونی هستند. هیستون‌ها پروتئین‌هایی کوچکند که وزن مولکولی آنها بین ۱۰ تا ۲۰ کیلو دالتون است. تجزیه کلی آنها نشان می‌دهد که این پروتئین‌ها سرشار از دو اسید آمینه‌ی بازی یعنی لیزین و آرژینین هستند (Majd and shariat zadeh, 2008).

۱-۲-۲-۵ هتروکروماتین

برای کروماتین دو حالت در نظر می گیرند :

یوکروماتین[۱] : بخش های کروماتینی است که پیچیدگی‌های آن کم است و تراکم نوکلئوزوم‌ها در آن خیلی زیاد نیست. در مشاهدات میکروسکوپی رنگ روشنی دارد. ژن‌های سازنده‌ی آن دارای امکان رونویسی و بنابراین بروز هستند و به عبارت دیگر با بروز ژن‌ها در فعالیت‌های زیستی به ویژه فعالیت‌های متابولیکی سلول شرکت فعال دارد. در بخش‌های یوکروماتینی مقدار پروتئین های غیر

[۱] Euchromatine