بسم الله الرحمن الرحیم

وزارت علوم، تحقیقات و فناوری
دانشگاه تحصیلات تکمیلی علوم پایه
گاوازنگ - زنجان

تأثیر بار لیزوزیم و غلظت نمک بر فیبرهای اف‌ـاکتینی تشکیل شده در بیماری سیستیک فیبروز: شبیه‌سازی دینامیک مولکولی

پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد

سارا عبدالمالکی

استاد راهنما: **دکتر سارا محمدی‌نژاد**

فروردین ۱۳۹۴

بسم الله الرحمن الرحیم

تقدیم به مهربان فرشتگانی که:

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست

سپاسگزاری...

سپاس خدایی را که اوّل و آخر وجود است...

در آغاز از مهربان‌ترین همراهان زندگی‌ام، پدر و مادرم که حضورشان در فضای زندگیم مصداق بی‌ریای سخاوت بوده است و از خواهران مهربانم به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان، بی‌نهایت سپاسگزارم.

سپس وظیفه خود می‌دانم از زحمات بی‌دریغ استاد بزرگوارم، دکتر سارا محمدی‌نژاد، صمیمانه تشکر و قدردانی کنم که با حمایت‌ها و راهنمایی‌هایشان مرا به دقت، اندیشه، درک و تعمق واداشتند. همچنین مراتب سپاس و قدردانی خود را از استادان گرانقدر، دکتر سعید عمادی، دکتر حسین فضلی و دکتر لاله ملازاده، به پاس راهنمایی‌های استادانه‌شان ابراز می‌دارم.

در پایان، از دوستان عزیزم در دانشگاه تحصیلات تکمیلی در علوم پایه زنجان تشکر می‌کنم.

چکیده

در مخاط ریهٔ افراد مبتلا به بیماری ارثی سیستیک فیبروز، انباشته‌هایی فیبری شکل از اف‌ـاکتین‌ها در حضور پروتئین‌های کاتیونیِ لیزوزیم که یک پروتئین ضد میکروبی است تشکیل می‌شود. تشکیل فیبرهای اکتین‌ـلیزوزیم، علاوه بر اینکه عملکرد ضد میکروبی پروتئین‌های لیزوزیم را مهار می‌کند، چسبندگی و تشدید عفونت میکروبی در مخاط ریهٔ این بیماران را نیز در پی دارد. هدف از این پایان‌نامه مطالعهٔ ارتباط بین پایداری این فیبرهای اف‌ـاکتینی با بار الکتریکی لیزوزیم و غلظت نمک موجود در محیط است. در این پایان‌نامه با استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و با ارائه مدلی درشت‌دانه از اف‌ـاکتین و لیزوزیم نشان داده شد که با آزاد گذاشتن موقعیت مکانی و پیچش و چرخش اف‌ـاکتین‌ها، در حضور لیزوزیم‌های با بار $+۱۱e$، $+۹e$ و $+۷e$ جاذبه دیده می‌شود که نشان دهنده تشکیل فیبر در حضور این لیزوزیم‌ها است. در حالیکه در حضور لیزوزیم $+۴e$ اف‌ـاکتین‌ها یکدیگر را جذب نمی‌کنند و فیبری تشکیل نمی‌شود. فاصلهٔ تعادلی اف‌ـاکتین‌ها در حضور لیزوزیم‌های $+۹e$ محاسبه شد که تطابق خوبی با نتایج تجربی داشت.در یک چیدمان شبیه‌سازی مجزا، پتانسیل نیروی میانگین بین دو اف‌ـاکتین در حضور لیزوزیم‌های مختلف و در غلظت واقعی $۵۰mM$ نمک محاسبه شد و از مقایسه نتایج به دست آمده برای غلظت‌های مختلفِ نمک و بارهای مختلف لیزوزیم این نتیجه حاصل شد که کاهش بار لیزوزیم و افزایش غلظت نمک باعَث ناپایداری فیبرهای تشکیل شده می‌شود. سپس در قسمت بعدی پایان‌نامه، برای توجیه این رفتارها، در شبیه‌سازی جداگانه‌ای توزیع یون‌های مثبت نمک و توزیع لیزوزیم‌ها رسم شد و سازوکار جاذبه بین اف‌ـاکتین‌ها و دلیل رابطه بین پایداری فیبرها با بار لیزوزیم و غلظت نمک از روی توزیع پروتئین‌های لیزوزیم و نمک تک ظرفیتی، توضیح داده شد. نتایج به دست آمده در این پایان‌نامه بیان می‌کنند که بار الکتریکی لیزوزیم و غلظت نمک تک ظرفیتی فاکتورهایی هستند که می‌توان با دستکاری آنها به ناپایدار کردن فیبرهای تشکیل شده در ریه بیماران و در نتیجه درمان بیماری سیستیک فیبروز کمک کرد.

واژه‌های کلیدی: *اف‌ـاکتین، بیماری سیستیک فیبروز، پروتئین لیزوزیم، شبیه‌سازی دینامیک مولکولی درشت دانه، نمک تک ظرفیتی.*

فهرست

چکیده . . . . . پنج

پیش‌گفتار ۱

۱ مقدمات زیستی: اسکلت سلولی و اجتماعات اکتینی **۴**

۱.۱ مقدمه ۴

۲.۱ اف‌ـاکتین ۷

۱.۲.۱ جی‌ـاکتین واحد سازنده اف‌ـاکتین ۸

۲.۲.۱ ساختار و تقارن ۱۰

۳.۲.۱ خصوصیت مکانیکی ۱۲

۴.۲.۱ مدل چهار کره ۱۲

۳.۱ سازمان‌دهی اجتماعات اکتینی ۱۳

۱.۳.۱ اجتماع اف‌ـاکتین‌ها در حضور پروتئین‌های اتصالگر زیستی ۱۳

۲.۳.۱ ساختارهای دسته‌ای و شبکه‌های اف‌ـاکتینی در اندام‌های مختلف . . . ۱۷

۳.۳.۱ اجتماع اف‌ـاکتین‌ها در حضور یون‌های مخالف چندظرفیتی ۱۹

۴.۱ سیستیک فیبروز ۲۱

۱.۴.۱ ترشحات مجاری هوایی و خواص بیوفیزیکی آن ۲۳

۲.۴.۱ عدم فعالیت عوامل ضد میکروبی ۲۶
۳.۴.۱ پروتئین لیزوزیم و فیبرهای اف‌ـاکتینی تشکیل شده در سیستیک فیبروز ۲۶

۲ مقدمات فیزیکی و شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ۳۱

۱.۲ مقدمه ۳۱
۱.۱.۲ الکتروستاتیک در محیط‌های آبی ۳۴
۲.۱.۲ تقریب دبای‌ـهوکل ۳۶
۲.۲ روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ۳۸
۱.۲.۲ معادله‌های دیفرانسیلی حرکت و روش‌های انتگرال‌گیری ۴۰
۲.۲.۲ شرایط مرزی دوره‌ای ۴۳
۳.۲.۲ روش‌های مقیاس اتمی و درشت‌دانه ۴۶
۴.۲.۲ دستگاه واحدهای کاهیده در شبیه‌سازی دینامیک مولکولی ۴۸
۳.۲ بسته نرم‌افزاری اسپرسو ۴۹

۳ مطالعهٔ پایداری فیبرهای اف‌ـاکتینی در حضور لیزوزیم‌های با بار الکتریکی مختلف و غلظت‌های مختلف نمک با استفاده از روش دینامیک مولکولی ۵۱

۱.۳ مقدمه ۵۱
۲.۳ معرفی مدل ۵۳
۱.۲.۳ مدلِ اف‌ـاکتین ۵۳
۲.۲.۳ مدلِ پروتئین لیزوزیم و اِعمال برهم‌کنش پیوندی ۵۶
۳.۲.۳ مدلِ نمک تک‌ظرفیتی ۵۸
۳.۳ روش شبیه‌سازی ۶۰
۱.۳.۳ چیدمان اول شبیه‌سازی: مطالعه پدیدهٔ جذب بین رشته‌های اکتین در حضور پروتئین لیزوزیم ۶۱

۲.۳.۳ چیدمان دوم شبیه‌سازی: محاسبهٔ پتانسیل نیروی میانگین بین دو رشتهٔ اف‌ـاکتین در حضور لیزوزیم و نمک تک ظرفیتی ۶۳
۳.۳.۳ چیدمان سوم شبیه‌سازی:بررسی سازوکار انباشتگی اف‌ـاکتین‌ها تحت تأثیر لیزوزیم و نمک تک ظرفیتی ۶۵
۴.۳ نتایج و بحث ۶۶
۱.۴.۳ چیدمان اول شبیه‌سازی: مطالعه پدیدهٔ جذب بین رشته‌های اکتین در حضور پروتئین لیزوزیم ۶۶
۲.۴.۳ چیدمان دوم شبیه‌سازی: محاسبهٔ پتانسیل نیروی میانگین بین دو رشتهٔ اف‌ـاکتین در حضور لیزوزیم و نمک تک ظرفیتی ۶۹
۳.۴.۳ چیدمان سوم شبیه‌سازی: نحوهٔ توزیع پروتئین لیزوزیم و نمک در بین اف‌ـاکتین‌ها ۷۶
۴.۴.۳ محاسبه زاویهٔ پیچش اف‌ـاکتین ۸۲
۵.۴.۳ بردارهای جهتی توزیع لیزوزیم در بین رشته‌های اکتین ۸۳
۵.۳ جمع‌بندی ۸۴
۶.۳ چشم‌انداز آینده ۸۷

آ بسته نرم‌افزاری اسپرسو ۸۸
آ.۰.۱ تعریف جعبه و شرایط مرزی و گام زمانی ۸۸
آ.۰.۲ تعریف ذره در اسپرسو ۸۹
آ.۰.۳ تعریف برهم‌کنش بین ذرات ۹۰
آ.۰.۴ انتگرال‌گیری ۹۲
واژه‌نامه فارسی به انگلیسی ۱۰۰
واژه‌نامه انگلیسی به فارسی ۱۰۸

پیش‌گفتار

سلول‌های یوکاریوتی[۱] دارای اشکال متنوع و نیز درجه بالایی از سازمان یافتگی درونی‌اند. این سلول‌ها قادر به تغییر شکل هستند، اندامک‌های درونی خود را جابه‌جا می‌کنند و می‌توانند از جایی به جای دیگر تغییر مکان دهند. همهٔ این ویژگی‌ها وابسته به شبکهٔ پیچیده‌ای از رشته‌های پروتئینی است که در سیتوپلاسم جای دارد و «اسکلت سلولی» را تشکیل می‌دهد. اسکلت سلولی از سه نوع رشته پروتئینی ساخته شده که مهم‌ترین اجزای ساختمانی آنها رشته‌های اف‌ـاکتین است. اف‌ـاکتین‌ها در بسیاری از فعالیت‌های حرکتی و جنبشی سلول نقش اصلی را برعهده دارند. این رشته‌ها دارای گروه‌های یونیزه شونده هستند و با قرار گرفتن در محیط‌های آبی به رشته‌های باردار و یون‌های مخالف تجزیه می‌شوند. با وجود بار منفی فوق‌العاده زیاد اف‌ـاکتین‌ها، این رشته‌ها به‌واسطهٔ پروتئین‌های متصل‌شونده به اکتین (ABP[۲]) ، تجمعات مختلفی از جمله ساختارهای دسته‌ای موازی (فیبرهای انقباضی[۳] و غیرانقباضی[۴]) و یا شبکه‌ای تشکیل می‌دهند. اهمیت مطالعه این ساختارها زمانی دو چندان می‌شود که در مخاط ریهٔ بیماران مبتلا به سیستیک فیبروز، تجمعاتی ناخواسته از اف‌ـاکتین‌ها در حضور پروتئین‌های لیززویم تشکیل می‌شود. اف‌ـاکتین‌های حاصل از تجزیه باکتری‌ها که در مخاط ریه این بیماران پراکنده شده‌اند به همراه لیزوزیم‌هایی که به منظور از بین بردنِ باکتری‌ها در محیط حضور دارند تجمعات فیبری ناخواسته‌ای تشکیل می‌دهند که منجر به تشدید بیماری می‌شوند.

در مطالعات پیشین نشان داده شده است که پلی‌الکترولیت‌های اف‌ـاکتین، پپتیدهای کاتیونی را محصور می‌کنند. در نتیجه باکتری‌ها از مواجه شدن با این پپتیدها در امان می‌مانند و این پپتیدها نمی‌توانند فعالیت ضد میکروبی خود را به درستی انجام دهند. به علاوه مشاهدات تجربی نشان داده‌اند

---

۱ Eukaryotic

۲ Actin Binding Proteins

۳ Contractile fibers

۴ Non-contractile fibers

با کاهش بار سطحی لیزوزیم، فیبرهای مذکور ناپایدارتر شده و علاوه بر کم شدن چسبندگی در مخاط، لیزوزیم‌ها می‌توانند آزادانه در محیط به فعالیت ضد میکروبی خود بپردازد.

در این پایان‌نامه با استفاده از روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی و با ارائه مدلی درشت‌دانه از اف‌ـ اکتین و پروتئین‌های لیزوزیم به مطالعه ارتباط بین نحوه خوداجتماعی اف‌ـاکتین‌ها با خصوصیات پروتئین‌های لیزوزیم می‌پردازیم. پارامتر مهم مطالعه شده در این پایان‌نامه بار الکتریکی اتصالگرها است که مشاهده می‌شود این پارامتر در نحوه تجمع فیلامنت‌ها به صورت دسته‌های موازی تأثیر بسزایی دارد. علاوه بر این تأثیر نمک تک ظرفیتی که در محیط‌های زیستی همیشه حضور دارد، نیز روی پایداری فیبرها مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج نشان دادند افزایش غلظت نمک تک ظرفیتی نیز پایداری فیبرها را کاهش می‌دهد.

ساختار پایان‌نامه

در فصل اول، مقدمات زیستی در مورد رشته اکتین و نقش و اهمیت زیستی آن بیان می‌شود. به مطالعهٔ خصوصیات ساختاری و مکانیکی مونومرهای جی‌ـ اکتین، رشته‌های اف‌ـ اکتین و انواع انباشته‌هایی که این رشته‌ها در حضور پروتئین‌های اتصالگر و نمک ایجاد می‌کنند و همچنین وظایف آنها در موجودات زنده پرداخته می‌شود. در ادامه بیماری سیتیک فیبروز معرفی می‌شود و با مطرح کردن نقش فیبرهای اف‌ـ اکتینی و پروتئین‌های لیزوزیم در بیماری سیستیک فیبروز، به عامل تشدیدکننده علائم این بیماری در مخاط ریهٔ بیماران مبتلا اشاره می‌شود. در نهایت به آزمایش‌هایی اشاره می‌کنیم که نحوهٔ تشکیل فیبرهای اف‌ـ اکتینی را مورد بررسی قرار داده‌اند.

در فصل دوم به معرفی مقدمات فیزیکی کار پرداخته می‌شود. در مقدمه پلیمرها و پلی‌الکترولیت‌ها و تفاوت فیزیکی آنها مورد بررسی قرار می‌گیرد. سپس در مورد برهم‌کنش الکتروستاتیک در سیستم‌های باردار در محیط‌های آبی و معرفی چند پارامتر مهم در اینگونه سیستم‌ها پرداخته می‌شود. در ادامهٔ این

فصل، به مطالعهٔ مروریِ روش شبیه‌سازی دینامیک مولکولی پرداخته می‌شود و توضیحاتی نیز در مورد روش‌های مقیاس اتمی و درشت‌دانه شبیه‌سازی ارائه می‌شود.

در فصل سوم، با ارائهٔ مدلی دقیق برای اف‌ـاکتین و پروتئین لیزوزیم و برهم‌کنش‌های پیوندی و غیر پیوندیِ ضروری بین ذرات پرداخته می‌شود. سپس با تحلیل نتایج به دست آمده از اجرای شبیه‌سازی‌ها به بررسی نحوهٔ تجمع و پایداری دو رشتهٔ اکتین در حضور لیزوزیم با بارهای مختلف و همچنین نمک تک‌ظرفیتی می‌پردازیم. در این فصل پتانسیل نیروی میانگین بین دو اف‌ـاکتین در حضور لیزوزیم و در غلظت فیزیولوژیکی نمک تک ظرفیتی $۵۰mM$ مورد بررسی قرار می‌گیرد تا پایداری فیبرها در شرایط فیزیولوژیکی بررسی شود. در ادامهٔ این فصل برای توضیح سازوکار برهم‌کنش جاذبه بین اف‌ـاکتین‌ها و یافتن دلیلی برای ناپایداری آنها توزیع پروتئین‌های لیزوزیم و نمک تک ظرفیتی در بینابین یک دستهٔ اف‌ـاکتین مطالعه می‌شود. همچنین چگونگی نظم گیری لیزوزیم‌ها نسبت به یکدیگر و نسبت به اف‌ـاکتین‌ها بررسی می‌شود و زاویهٔ پیچش اف‌ـاکتین‌ها در حضور غلظت‌های مختلف لیزوزیم محاسبه می‌شود.

در پیوست، به مرور اجمالی بستهٔ نرم‌افزاری اسپرسو می‌پردازیم و در مورد مزیت‌های این بسته و همچنین کارکرد اولیهٔ آن توضیحاتی ارائه می‌شود.

فصل اول

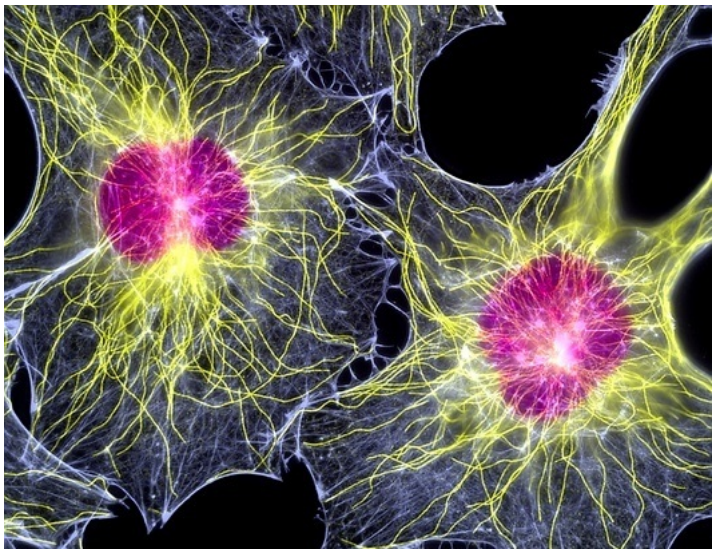
مقدمات زیستی: اسکلت سلولی و اجتماعات اکتینی

۱.۱ مقدمه

شکل یک سلول و عملکرد جهت‌دار آن به وسیلهٔ یک شبکهٔ پروتئینی رشته‌ای ۳ بعدی بنام اسکلت سلولی مشخص می‌شود. اسکلت سلولی همانطور که در شکل ۱.۱ نشان داده شده در درون سلول گسترده شده و در تمامی آن امتداد دارد، به غشاء پلاسمایی و اندامک‌های داخلی متصّل است و از این نظر، تأمین کنندهٔ چهارچوبی برای سازماندهی سلولی است. منظور از اصطلاحِ اسکلت سلولی یک ساختار ثابت و محکم همانند اسکلت نیست، در حقیقت، اسکلت سلولی می‌تواند بسیار پویا باشد و از اجزایی تشکیل شده که قادرند در کمتر از یک دقیقه خود را دوباره سازماندهی کرده و یا می‌تواند ساعت‌ها کاملاً پایدار بماند. در نتیجه طول و پویایی رشته‌ها[۱] می‌تواند بسیار متفاوت باشد، رشته‌ها می‌توانند

[۱] Filaments

انواع ساختارهای مختلف را تشکیل داده و می‌توانند به صورت موضعی در سلول تنظیم شوند [۱، ۲].

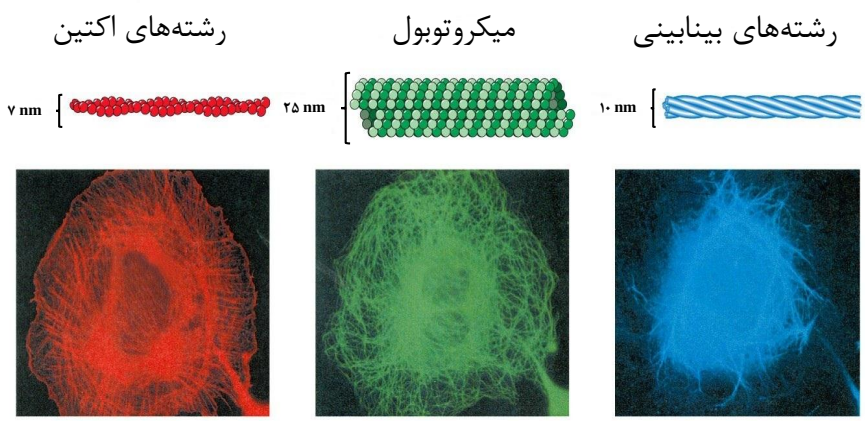


شکل ۱.۱: نمایی از اسکلت سلولی، فیلامنت‌های اکتین و میکروتوبول به ترتیب به رنگ‌های بنفش و زرد مشخص شده‌اند [۳].

اسکلت سلولی از سه رشتهٔ اصلی تشکیل شده است (شکل ۲.۱). همهٔ آنها از نظر زمانی و مکانی سازماندهی و تنظیم می‌شوند. هر کدام از این سه نوع رشته در واقع پلی‌مری از زیرواحدهای انباشته شده روی هم است. زیرواحدهای تشکیل دهندهٔ رشته‌ها، متحمل انباشتگی[۱] و جدا شدن‌های[۲] منظمی می‌شوند که به سلول انعطاف‌پذیری بالایی می‌دهد تا انواع مختلف ساختارهای مورد نیاز را فراهم آورد یا از هم جدا کند. در ادامه توضیح مختصری در مورد هر کدام از این رشته‌ها ارائه می‌شود:

- رشته‌های اکتین[۳] که به اختصار اف‌ـاکتین[۴] نامیده می‌شوند و دارای ساختاری رشته‌ای با قطر ۷ تا ۹ نانومتر هستند. در بخش‌های بعدی به تفصیل در مورد این رشته توضیح خواهیم داد.
- همان طور که در شکل ۲.۱ دیده می‌شود، میکروتوبول‌ها[۵] لوله‌های پروتئینی تو خالی، طویل

[۱] Assembly
[۲] Disassembly
[۳] Actin filament
[۴] F-actin
[۵] Microtubule



شکل ۲.۱ : اجزای تشکیل دهندهٔ اسکلت سلولی: هر نوع فیلامنت از زیرواحدهای خاصی در یک فرآیند برگشت‌پذیر آرایش می‌یابد به طوری که سلول‌ها قادرند فیلامنت‌ها را بنابر نیاز سلول، گردآوری کرده و یا از هم جدا کنند. ردیف بالا شکل شماتیکی از رشته‌های اکتین، میکروتوبول و بینابینی را نشان می‌دهد و ردیف پایین سه سیستم فیلامنتی را در سلول‌های مشابه کشت شده نشان می‌دهد (تصویر میکروسکوپ ایمونوفلورسانس) [۱].

و نسبتاً سختی با قطر nm ۲۵ هستند. میکروتوبول‌ها از ساختارهایی تحت عنوانِ مراکز سازماندهی میکروتوبول[۱] تشکیل هسته می‌دهند. در سلول‌هایی که در مرحلهٔ اینترفازی‌اند، مراکز سازماندهی میکروتوبول سنتروزوم[۲] نامیده می‌شود و عموماً نزدیک هسته قرار می‌گیرد و آرایش‌های شعاعی از میکروتوبول ایجاد می‌کند که انتهای مثبت آنها به سمت محیط سلول می‌باشد. این نمایش شعاعی، مسیرهایی را درون سلول ایجاد می‌کند که وزیکول‌ها، اندامک‌ها و سایر اجزاء سلولی می‌توانند از روی آنها عبور کنند. میکروتوبول‌ها عمدتاً مسئول تعیین موقعیت اندامک‌های غشادار در درون سلول و هدایت حمل و نقل سلولی هستند. این رشته‌ها، هنگام تقسیم سلولی باعث حرکت کروموزوم‌ها می‌شوند و علاوه بر این ساختمان داخلی تاژک‌ها و مژک‌ها را به وجود می‌آورند [۱، ۲].

- رشته‌های بینابینی[۳]، پروتئین‌های رشته‌ای سخت و پایداری با قطر nm ۱۰ هستند که در اغلب سلول‌های حیوانی یافت می‌شوند. رشته‌های بینابینی معمولاً شبکه‌ای را در سرتاسر سیتوپلاسم

[۱] Microtubule-organizing centers
[۲] Centrosome
[۳] Intermediate filaments

تشکیل می‌دهند که هسته را احاطه و آن را در جایگاه خاصی نگه داشته و به سمت محیط سلول امتداد می‌یابند. این رشته‌ها عمدتاً در سیتوپلاسمِ سلول‌هایی که در معرض تنش مکانیکی هستند از قبیل آکسونِ سلول‌های عصبی، سلول‌های ماهیچه‌ای و اپی‌تلیالی، یافت می‌شوند و با تحمل و توزیع نیروهای وارد شده، سلول‌ها و غشای آنها را از پاره شدن در برابر فشار مکانیکی حفظ می‌کنند [۱، ۲].

۲.۱ اف‌ـاکتین

رشته‌های اکتین، رشته‌های بسیار نازک و پروتئینی هستند که نخستین بار در سال ۱۸۸۷ به روش آزمایشگاهی توسط هالیبورتون[۱] مشاهده شدند. رشته‌های اکتین توسط زنت‌گیورگی[۲] کشف شد و استراب[۳] این رشته‌های پروتئینی را از سلول‌های ماهیچه‌ای که در آنها اکتین یک مولکول اصلی است تخلیص کرد، سپس رشته‌های اکتین در سلول‌های غیر ماهیچه‌ای نیز مشاهده شدند [۴]. در سال ۱۹۷۳ اسیدآمینه‌های پروتئین‌های جی‌ـاکتین به طور کامل توسط الزینگا[۴] و همکارانش تعیین توالی شد. ساختار کریستالی جی‌ـاکتین نیز در سال ۱۹۹۰ توسط کابش[۵] و همکارانش مشخص شد.

رشته‌های اکتین در همهٔ سلول‌های یوکاریوتی یافت می‌شود و برای بسیاری از انواع فعالیت‌های حرکتی، خصوصاً مواردی که با دخالت سطح سلول همراه هستند، ضروری می‌باشند. بعضی از رشته‌های اکتین همانند میکروتوبول‌ها ناپایدارند اما در بسیاری مواقع می‌توانند ساختمان‌های پایداری همچون دستگاه انقباضی موجود در ماهیچه را تشکیل دهند. اف‌ـاکتین‌ها می‌توانند به صورت رشته‌های قطبی با انتهای مشخص عملکردی، اجتماع یابند. این رشته‌ها به کمک پروتئین‌های متصل‌شونده به اکتین (ABP[۶])

---

۱ W. D. Halliburton
۲ Albert Szent-Györgyi
۳ Brunó Ferenc Straub
۴ M. Elzinga
۵ Kabcsh
۶ Actin Binding Proteins

به اشکال مختلف درمی‌آیند. سلول‌ها از اف‌ـاکتین‌ها در نقش‌های مختلفی استفاده می‌کنند که از جمله می‌توان: نقش ساختاری، استفاده از قدرت پلی‌مریزاسیون اف‌ـاکتین‌ها برای انجام کار، یا به عنوان ریل‌هایی برای موتورهای میوزین را نام برد [۱، ۲].

۱.۲.۱ جی‌ـاکتین واحد سازنده اف‌ـاکتین

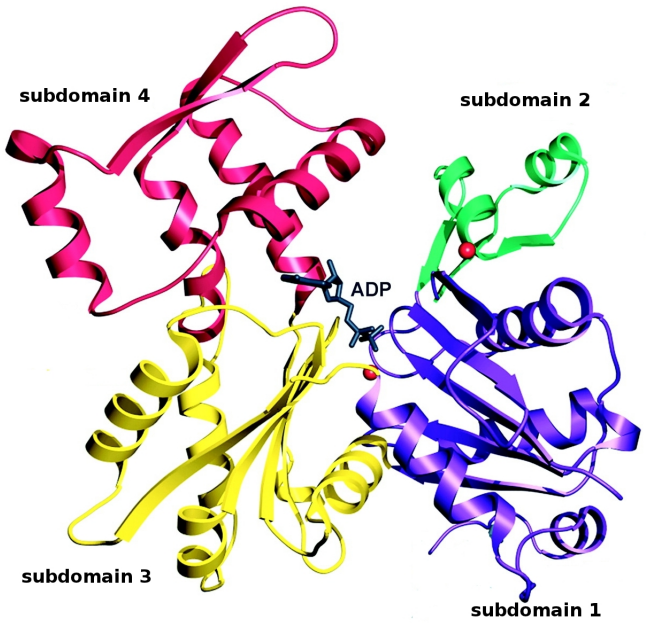
زیر واحدهای سازندهٔ اف‌ـاکتین، جی‌ـاکتین‌ها هستند. جی‌ـاکتین پروتئینی گلبولی[۱] و نسبتاً مسطح با ابعاد $(۳۵ \times ۵۵ \times ۵۵)\text{Å}^۳$ و وزن مولکولی $۴۲\ kDa$ است. پروتئین جی‌ـاکتین جزء مهمی از اسکلت سلولی است که ۵ تا ۱۰٪ کل وزن پروتئین‌های موجود در سلول و بیش از ۲۰٪ سلول‌های ماهیچه‌ای را تشکیل می‌دهد [۴]. جی‌ـاکتین دارای سه ایزوفرم آلفا، بتا و گاما است که فقط در ۲۵ اسیدآمینه از ۳۷۵ اسیدآمینه کل پروتئین به خصوص در انتهای N باهم متفاوت هستند. جی‌ـاکتینِ آلفا اساساً در سلول‌های ماهیچه‌ای (اسکلتی، صاف و قلبی) حضور دارد و به وجود آورندهٔ دستگاه انقباضی است. جی‌ـاکتین بتا در قشر سلول و لبهٔ پیش‌روندهٔ سلول‌های متحرک زیاد است و جی‌ـاکتین گاما در فیبرهای استرسی زیاد است که هر دو نوع آخر جنبش‌های داخلی سلول را وساطت می‌کنند [۱، ۵]. همانطور که در شکل ۳.۱ مشاهده می‌شود، هر جی‌ـاکتین به چهار زیردومِین[۲] تقسیم می‌شود و دارای دو شکاف است. در این شکاف‌ها نوکلئوتید آدنوزین (تری‌فسفات و دی‌فسفات) یافت می‌شود که در شرایط فیزیولوژیک جی‌ـاکتین، با منیزیم کمپلکس تشکیل می‌دهد. شکاف بالایی (بین زیردومِین‌های ۲ و ۴) اتصال مهمی را بین دومِین‌ها فراهم می‌کند در حالی‌که شکاف پایینی (بین زیردومِین‌های ۱ و ۳) جایگاه اتصال اکثر پروتئین‌های متصل‌شونده به جی‌ـاکتین‌ها می‌باشد [۶، ۸].

جی‌ـاکتین یک $ATPase$ ذاتی با فعالیت کم است. جی‌ـاکتین می‌تواند هم به ATP و هم به ADP متصل شود. ATP برای نگه داشتن جی‌ـاکتین‌ها کنار هم بسیار مهم است. جی‌ـاکتین/ADP

---

[۱] Globular protein

[۲] Subdomain



شکل ۱.۳: مونومر جی‌ـاکتین. هر مونومر جی‌ـاکتین از ۴ زیردومین تشکیل شده است، ۱ و ۳ زیردومین‌های اصلی هستند که به وسیلهٔ یک ساختار لولا مانند با هم در ارتباط هستند. این لولا باعث به وجود آمدن دو شکاف برای اتصالات اکتین می‌شود. در شکاف بالایی ATP و ADP می‌تواند متصل شود که برای نگه داشتن جی‌ـاکتین‌ها کنار هم مناسب است و در حضور ATP پایدارتر می‌باشد. شکاف پایینی نیز برای اتصال ABP ها به جی‌ـاکتین‌ها بهینه است [۶،۷].

پایداری و تمایل کمتری نسبت به جی‌ـاکتین/ATP دارد. بنابراین ATP برای تنظیم پلیمریزه شدن و دپلیمریزه شدن رشته‌های اکتین ضروری می‌باشد. این پروتئین‌های کروی شکل، در حضور Mg^{2+}، K^+ و Na^+ به رشته‌های اف‌ـاکتین پلیمریزه می‌شود [۶،۸].

فرآیند پلیمریزه شدن را می‌توان در سه مرحله بیان کرد. ابتدا در غلظت‌های مشخص داخل سلول، تعدادی جی‌ـاکتین به صورت هسته‌های پایدار تجمع می‌یابند که به این مرحله «هسته‌گذاری»[۱] گفته می‌شود. در مرحله دوم که مرحلهٔ «طویل شدن»[۲] نام دارد، به دو انتهای هستهٔ تشکیل شده، جی‌ـاکتین اضافه می‌شود. اضافه شدن جی‌ـاکتین تا جایی ادامه می‌یابد که از آن به بعد طول اف‌ـاکتین تغییری نکند و به مرحلهٔ «پایا»[۳] برسد. در این مرحله، سرعت افزوده شدن جی‌ـاکتین به اف‌ـاکتین برابر با سرعت جدا شدن جی‌ـاکتین از اف‌ـاکتین است. به دلیل قطبیت اف‌ـاکتین، سرعت طویل‌شدگی

[۱] Nucleation
[۲] Elongatoin
[۳] Steady state

در دو انتهای اف‌ـاکتین یکسان نیست، بلکه پلیمریزاسیون در انتهای مثبت با سرعت بالا و در انتهای منفی با سرعت پایین انجام می‌شود [۲].

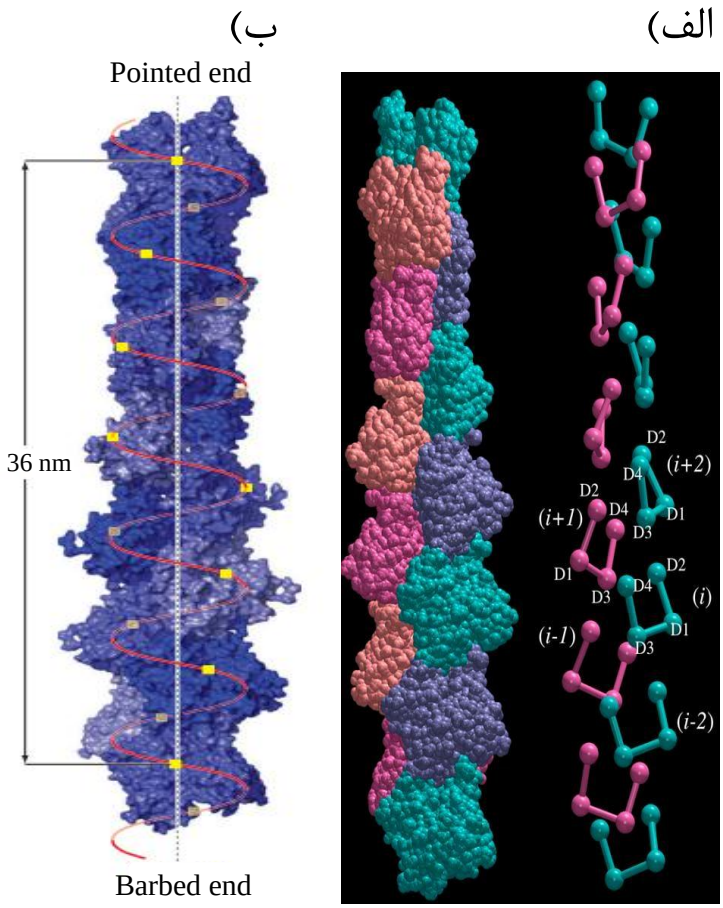
۲.۲.۱ ساختار و تقارن

بر خلاف جی‌ـاکتین‌ها که ساختار گلبولی دارند، یک رشتهٔ اف‌ـاکتین، رشته‌ای کشیده و دراز است و زیر میکروسکوپ الکترونی شبیه نخ‌هایی با قطر ۷ تا ۹ نانومتر دیده می‌شود. اف‌ـاکتین یک رشتهٔ مارپیچ چپگرد است که از قرار گرفتن مونومرهای جی‌ـاکتین روی هم با زاویهٔ پیچش $166/15^\circ$ ساخته شده است. دورهٔ تناوب این رشته به کمک میکروسکوپ الکترونی $36nm$ به دست آمده است[۱]. یک دورهٔ تناوب اف‌ـاکتین شامل ۱۳ مونومر است که در ۶ دور کامل در مارپیچ قرار دارند. بر این اساس گفته می‌شود که اف‌ـاکتین در حالت طبیعی، دارای تقارن هندسی ۱۳/۶ است. در شکل ۴.۱، طرح شماتیک از یک دورهٔ تناوب (پای پیچ) اف‌ـ اکتین برای ۱۳ مونومر نشان داده شده است [۹، ۱۰].

در pH خنثی هر پروتئین جی‌اکتین به تنهایی -14 الکترون بار دارد. در فرآیند پلیمریزه شدن اف‌ـاکتین، جی‌ـاکتین یک جفت از الکترون‌هایش را از دست می‌دهد. بنابراین در اف‌ـاکتین -12 الکترون بر روی هر زیرواحد جی‌ـاکتین قرار می‌گیرد [۱۱]. اف‌ـاکتین یک پلی‌الکترولیت است و در pH خنثی، چگالی خطی بار آن $\lambda_{F-actin} \sim \frac{-e}{2.5\text{Å}}$ است. در هر $1000nm$ از طول اف‌ـاکتین، ۳۷۰ زیرواحد جی‌ـاکتین وجود دارد. با توجه به اینکه هر مونومر جی‌ـاکتین $42\ kDa$ وزن مولکولی دارد، چگالی جرم خطی اف‌ـاکتین $15/5\ kDa/nm$ می‌باشد [۱۰، ۱۲].

همهٔ زیرواحدها، در یک رشتهٔ اکتین متوجه یک انتهای مشابه رشته می‌باشند، در نتیجه، رشته از خود قطبیت نشان می‌دهد و در واقع در این حالت یک انتهای رشته با انتهای دیگر تفاوت دارد. یکی از انتهاهای رشته‌ها تمایل به اضافه شدن زیرواحدهای اکتین دارد و تحت عنوان انتهای مثبت شناخته می‌شود، در حالی که انتهای دیگر تمایل به از هم جدا شدن زیرواحدها دارد و انتهای منفی نام دارد.

[۱] یک دورهٔ تناوب (پای پیچ) رشتهٔ اکتین، قسمتی از طول اف‌ـاکتین است که در طول رشته تکرار می‌شود.



شکل ۱.۴: الف.(چپ) مدل اتمی اف‌ـاکتین. الف.(راست) مدل درشت‌دانه. هر مونومر جی‌ـاکتین، ۴ جایگاه مشخص (زیردومین) دارد ($D1 - D4$). مونومرها نیز با i شماره‌گذاری شده است. ب) تقارن و پای پیچ اف‌ـاکتین [۷].

قطبیده بودن این رشته، دو پیامد اساسی و مهم دارد:

۱. پلیمریزه‌شدن این رشته از یک طرف، سریع‌تر اتفاق می‌افتد و این خاصیت می‌تواند به حرکت‌های سلولی یک طرفهٔ هدف‌دار منجر شود. پلیمریزه شدن اف‌ـاکتین نقش اساسی در حرکت‌های سلولی دارد. به عنوان مثال حرکت باکتری لیستریا[۱] به دلیل همین پدیده امکان‌پذیر است.

۲. باعث می‌شود موتورهای پروتئینی بتوانند حرکت هدف‌دار داشته باشند. این پدیده، از آن‌جا که نقل و انتقالات درون سلولی را هدف‌دار می‌کند خاصیت بسیار مهمی است [۲].

[۱] Listeria