بررسی ساختار پروتئین‌های کمپلکس منفذ هسته و انتقال انتخابی از خلال منافذ هسته

بوشهری، صابر[۱]؛ محمدی نژاد، سارا[۲]

[۱] دانشکده فیزیک، مرکز تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

[۲] دانشکده علوم زیستی، مرکز تحصیلات تکمیلی علوم پایه زنجان

چکیده

کمپلکس منفذ هسته (NPC) تنها راه ارتباطی میان هسته و سیتوپلاسم در سلول‌های یوکاریوتی می‌باشد. تحقیقات پیشین نشان داده‌اند که پروتئین‌هایی به نام نوکلئوپورین‌های FG (ناپ‌های FG) که در طول رشته خود غنی از تکرارهای موتیف فنیل‌آلانین-گلیسین هستند، این انتقال با انتخابگری بالا را فراهم می‌کنند. با این وجود هنوز تصویر دقیقی از سازوکار عبور محموله و همچنین ساختار پروتئین‌های کمپلکس منفذ هسته وجود ندارد. برای همین منظور ما در این تحقیق قصد داریم ساختار انفرادی برخی از این پروتئین‌ها را بوسیله‌ی یک مدل درشت‌دانه و روش شبیه‌سازی دینامیک لانژوئنی بررسی کنیم. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نشان می‌دهد که بعضی از پروتئین‌های فرش‌کننده کمپلکس منفذ هسته ساختار دوقسمتی و بعضی دیگر، ساختار تک قسمتی اتخاذ می‌کنند. این نتایج مطابق با نتایج تجربی هستند. در قسمت دوم، با ارائه یک مدل برای قسمت مرکزی این منافذ، عبور محموله با شعاع‌های متفاوت از درون این منافذ را بررسی کردیم. نتایج بررسی ما نشان می‌دهد، محموله با شعاع‌های متفاوت از نواحی مختلف کانال عبور می‌کنند.

An Investigation on the Structure of Proteins of Nuclear Pore Complex and Selective Transport through it

Boushehri, Saber[1]; MohammadiNejad, Sarah[2]

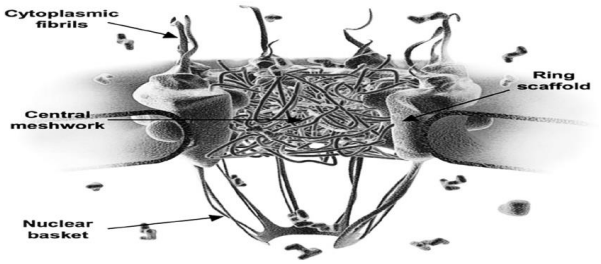
[1] Department of Physics, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan
[2] Department of Biological Sciences, Institute for Advanced Studies in Basic Sciences (IASBS), Zanjan

In all eukaryotic cells, Nuclear Pore Complexes (NPCs) are the only gateways between nucleus and cytoplasm. Previous studies have shown that proteins contain FG-repeating motif, named FG nucleoporin (FG-nup), are responsible for selective function of the NPCs. Currently, there is no clear picture of the configuration of FG-nup and the mechanism of transport through the NPC. In this research, we use a coarse-grained molecular simulation to study equilibrium structure of individual FG-nups. Our results indicate that some FG-nups adopted a configuration with two distinct regions and others adopted a configuration with one region. At the second part, we study transport of cargo of different radii by presenting a model for the central channel of NPC. Our results show that cargo of different radii transport from different zones of channel.

مقدمه

در سلول‌های یوکاریوتی، هسته بوسیله پوششی غشایی از سیتوپلاسم جدا می‌شود. اما سلول برای ادامه حیاتش به تبادل مواد بین هسته با سیتوپلاسم نیاز دارد. برای همین منظور بر روی سطح غشای هسته منافذ بسیار ریزی وجود دارد که هسته را به سیتوپلاسم متصل می‌کنند. به این منافذی که تنها راه ارتباطی میان هسته و سیتوپلاسم می‌باشند، کمپلکس منفذ هسته (NPC) می‌گویند. کمپلکس منفذ هسته تمام تبادلات بین هسته و سیتوپلاسم را کنترل می‌کند که از مهمترین این تبادلات می‌توان به ورود پروتئین‌های تنظیم‌کننده به هسته و خروج RNAها از هسته اشاره کرد [۲]. کمپلکس منفذ هسته دارای جرم مولکولی حدود ۶۵

مگادالتون (مخمرها) تا ۱۲۵ مگادالتون (پستانداران) می‌باشد. در شکل ۱ ساختار کلی یک کمپلکس منفذ هسته بصورت شماتیک نشان داده شده است که از حدود ۳۰ نوع پروتئین مختلف که نوکلئوپورین (ناپ) نامیده می‌شوند ساخته شده است و در هر ساختار حدود ۴۵۰ ناپ وجود دارد. حدود نیمی از این ناپ‌ها که فاقد FG هستند (ناپ‌های غیر FG)، ساختار کلی کمپلکس منفذ هسته را تشکیل می‌دهند که یک کانال استوانه‌ای شکل با قطری حدود ۳۸ نانومتر و طولی حدود ۳۷ نانومتر می‌باشد. بقیه ناپ‌های دارای موتیف FG (ناپ‌های FG) که سطح داخلی دیواره کانال را فرش می‌کنند، کانال مرکزی انتقال را تشکیل می‌دهند. این ناپ‌ها با ساختار نامنظم ذاتی، دارای تکرارهای زیادی از آمینواسیدهای فنیل‌آلانین و گلیسین در توالی‌های خود هستند و بوسیله برهمکنش آبگریزی FGهای خود باگیرنده‌های انتقالی، انتقال با انتخابگری بالا را فراهم می‌کنند [۴، ۱].



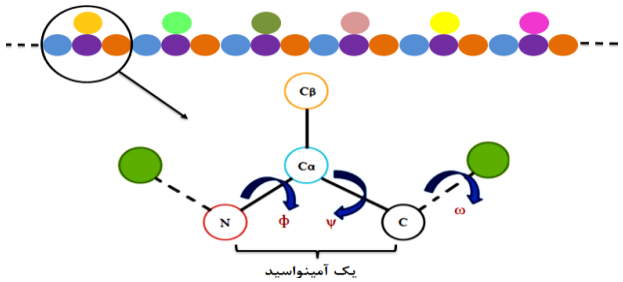
شکل ۱ : طرح شماتیکی از کمپلکس منفذ هسته [۵].

به طور کلی دو نوع انتقال مواد از میان این منافذ وجود دارد: انتشار ساده (برای ذرات با قطر کوچکتر از ۹ نانومتر) و انتشار تسهیل شده (برای ذرات بزرگ با قطر بین ۹ تا ۴۰ نانومتر). ذرات کوچکتر از ۹ نانومتر (مانند یون‌ها و متابولیت‌ها) می‌توانند به راحتی از میان این ساختار عبور کنند اما ذرات بزرگتر (مانند ریبوزوم، RNA و بعضی پروتئین‌ها) برای عبور نیازمند به اتصال به گیرنده‌های انتقالی می‌باشند. گیرنده‌های انتقالی بوسیله‌ی برهمکنش با پروتئین‌های فرش‌کننده این منافذ، به نام ناپ‌های FG، امکان انتقال با انتخابگری بالا را در کمپلکس منفذ هسته فراهم می‌کنند (از مهمترین گیرنده‌های انتقالی می‌توان به خانواده کاریوفرین‌ها اشاره کرد) [۴]. به خاطر عدم وجود ابزارهای عکس برداری دقیق از آنچه که در درون کانال کمپلکس منفذ هسته اتفاق می‌افتد، هنوز تصویر روشنی از شکل دقیق ناپ‌ها و سازوکار عبور محموله از میان کمپلکس منفذ هسته وجود ندارد.

در این پژوهش، ابتدا بوسیله یک مدل درشت دانه از پروتئین، ساختار ناپ‌های تکی را بررسی می‌کنیم. سپس با درنظر گرفتن نتایج بدست آمده برای ساختار ناپ‌ها، مدلی را برای عبور محموله در ناحیه مرکزی کانال ارائه می‌کنیم و عبور محموله‌ها را از میان این کانال بررسی می‌کنیم.

معرفی مدل و روش شبیه‌سازی برای بررسی ناپ‌های FG

در این تحقیق، ما از روش دینامیک لانژوئنی در مقیاس درشت‌دانه و بسته نرم‌افزاری اسپرسو برای مطالعه ساختارهای تعادلی برخی از ناپ‌های FG استفاده کردیم. در گام اول باید یک مدل درشت‌دانه برای مدل‌سازی پروتئین‌ها در نظر گرفت که علاوه بر دقت کافی، بازدهی مناسبی نیز داشته باشد. برای همین منظور ما از مدل درشت‌دانه پروتئین‌ها که توسط تریستن و همکارانش [۳] ارائه شده استفاده کردیم. در این مدل همانطور که در شکل ۳ نشان داده شده هر آمینواسید با چهار کره مدل می‌شود که به ترتیب کره اول گروه آمینو (N)، کره دوم گروه کربن آلفا (C_α)، کره سوم زنجیره جانبی (C_β) و کره چهارم گروه کربوکسیل (C) مربوط به هر اسیدآمینه می‌باشد.



شکل ۲ : مدل درشت‌دانه‌ای مورد استفاده برای مدل کردن هر آمینواسید [۳].

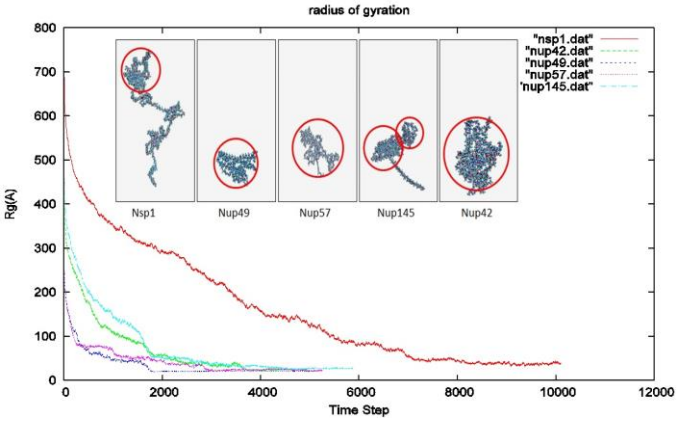
برهمکنش‌های لازم بین چهار کره سازنده هر آمینواسید در این مدل، شامل برهمکنش‌های پیوندی و غیرپیوندی می‌باشد. برهمکنش‌های پیوندی شامل برهمکنش دوذره‌ای هارمونیک، برهمکنش سه‌ذره‌ای زاویه‌ی پیوندی و برهمکنش چهارذره‌ای دوسطحی می‌باشد که زنجیره پروتئین متشکل از هر آمینواسیدها را

با درنظر گرفتن خمش‌ها و پیچش‌های واقعی آنها نسبت به هم، در کنار هم نگه می‌دارد. برهمکنش غیرپیوندی در این مدل نیز شامل پتانسیل لنارد–جونز، برهمکنش آبگریزی و پیوند هیدروژنی می‌باشد. در این مدل تفاوت بین اسیدآمینه‌های مختلف، توسط قدرت متفاوت برهمکنش آبگریزی در زنجیره جانبی آنها لحاظ می‌شود. در این مدل، دینامیک سیستم با حل معادله لانژون در مورد تمام ذرات سیستم بدست می‌آید.

گام زمانی شبیه‌سازی برابر با $dt=0.01\tau_0$ می‌باشد که τ_0 زمان مشخصه لنارد–جونز است. بعد از پیاده‌سازی مدل، ساختارهای ناپ‌های FG از جمله Nsp1، Nup49، Nup42، Nup145N و Nup57 را بصورت انفرادی بررسی می‌کنیم. برای اینکار این پروتئین‌ها را بصورت ساختارهایی کاملا کشیده در راستای z درون جعبه شبیه‌سازی با مساحت ۷۰×۷۰ نانومترمربع قرار دادیم که در دو راستای x و y شرایط مرزی متناوب را داراست. ارتفاع جعبه (L_z) را متناسب با طول کشیده ناپ قرار دادیم و با ثابت کردن C–ترمینال در هر پروتئین، تحولات ساختاری و ساختار تعادلی آنها را بررسی کردیم.

نتایج بررسی ناپ‌های FG

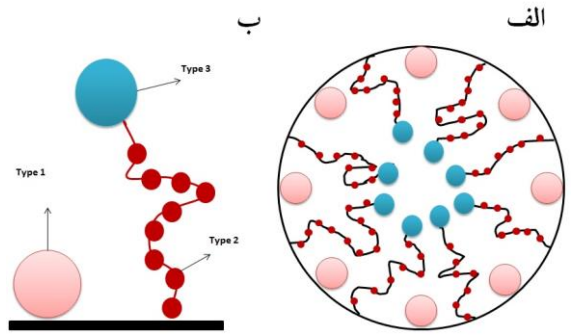
در این تحقیق، تحولات ساختاری پنج پروتئین پر اهمیت در کانال مرکزی NPC به نامهای Nsp1، Nup49، Nup42، Nup145N و Nup57 به صورت انفرادی بررسی شدند و شبیه‌سازی تا به تعادل رسیدن ناپ‌ها ادامه داده شد. تحولات زمانی شعاع ژیراسیون برای این پنج پروتئین در شکل ۳ نشان داده شده است. بر اساس نتایج یامادا و همکارانش [۱]، انتظار می‌رود Nsp1 ساختار درختی و Nup49، Nup42، Nup145N و Nup57 ساختار بوته‌ای اتخاذ کنند. یک نمونه از ساختارهای تعادلی بدست آمده حاصل از شبیه‌سازی‌ها در شکل ۳ (شکل الحاقی) نشان داده شده است. همانطور که در این شکل دیده می‌شود نتایج بدست آمده از مدل ما تطابق خوبی با نتایج تجربی دارد [۱]. ساختار نهایی بدست آمده برای Nup49، Nup42، Nup145N و Nup57 کاملا مشابه با مارپیچ‌های فروریخته شده است درحالی که برای Nsp1 یک ساختار دوقسمتی با یک قسمت کشیده و یک قسمت فروریخته بدست آمده است.



شکل۳ : تحولات زمانی شعاع ژیراسیون برای ناپ‌های Nsp1، Nup49، Nup42، Nup145N و Nup57. شکل الحاقی: ساختار تعادلی حاصل از شبیه‌سازی پروتئین‌های ناپ.

معرفی مدل و روش شبیه‌سازی برای بررسی کانال مرکزی کمپلکس منفذ هسته

در قسمت دوم، انتقال محموله را ناحیه مرکزی کانال را بررسی می‌کنیم. با توجه به نتایج بدست آمده در قسمت قبل و همچنین نتایج یامادا و همکارانش [۱] می‌توان ناپ‌های ناحیه مرکزی کانال را به دو دسته تقسیم کرد: بوته‌ای و درختی. بنابراین می‌توان از این خصوصیتِ دو ساختاری بودن بهره برد و پروتئین‌ها را با تعداد ذرات کمتری و به صورت ساده‌تر مدل کرد. در این مدل درشت دانه، ناپ‌های بوته‌ای را با توجه به شکل کاملا فروریخته‌ای که بخود می‌گیرند، بصورت یک ذره با شعاع هیدرودینامیکی ۲/۵ نانومتر مدل کردیم (نوع ۱). همچنین سر فروریخته‌ی ناپ‌های درختی را بصورت یک ذره با شعاع هیدرودینامیکی ۳/۱ نانومتر (نوع ۳) و در قسمت ساقه‌ای این ناپ هر یک از دمین‌های FG را بصورت یک ذره با شعاع ۰/۹ نانومتر (نوع ۲) و بقیه آمینواسیدها را بصورت یک فنر غیرخطی مدل کردیم. سپس چهار لایه از این ناپ‌ها را مطابق شکل ۴ درون یک استوانه به شعاع ۲۵ نانومتر قرار دادیم.



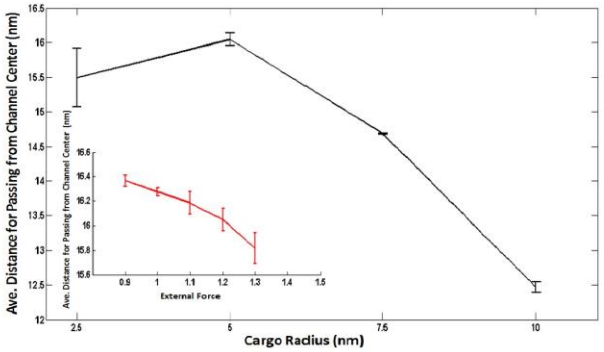
شکل۴ : الف) نحوه قرارگیری ناپ‌ها در هر لایه و ب) نحوه مدل کردن ناپ‌های بوته‌ای، درختی.

در این مدل از سه نوع پتانسیل برهمکنشی که عبارتند از لنارد–جونز، غیرخطی فنر (FENE) و زاویه خمش استفاده کردیم که پتانسیل لنارد–جونز بین همه ذرات عمل می‌کند اما دو پتانسیل دیگر تنها بین ذرات نوع دو قرار دارند.

نتایج بررسی ناحیه مرکزی کانال کمپلکس منفذ هسته

محموله‌های فاقد برهمکنش آبگریزی: در این حالت عبور سه محموله متفاوت با شعاع‌های ۲/۵، ۵ و ۷/۵ نانومتر که فاقد برهمکنش آبگریزی هستند را از درون کانال (ده تکرار مستقل شبیه‌سازی) بررسی کردیم. همانطور که انتظار داشتیم محموله با شعاع ۲/۵ نانومتر در همه تکرارهای شبیه‌سازی از کانال عبور کرد، اما تنها دو محموله با شعاع ۵ نانومتر از کانال عبور کردند و در شعاع ۷/۵ نانومتر هیچ محموله‌ایی از کانال عبور نکرد. این نتایج تطابق خیلی خوبی با نتایج بدست آمده در تحقیقات پیشین دارد [۱].

محموله‌های دارای برهمکنش آبگریزی: در قسمت قبل دیدیم که محموله‌های با شعاع ۵ نانومتر و بزرگتر که دارای برهمکنش با ناپ‌ها نیستند نمی‌توانند از کانال عبور نمی‌کنند. برای همین منظور ما برهمکنش آبگریزی و یک نیروی خارجی ثابت که راستای آن عمود بر مرکز کانال می‌باشد را به محموله اضافه کردیم. سپس با درنظر گرفتن کمترین نیروی خارجی لازم برای عبور محموله، فاصله میانگین از مرکز کانال را برای سه محموله با شعاع‌های ۵، ۷/۵ و ۱۰ نانومتر بدست آوردیم.



شکل۵ : فاصله‌ی عبور محموله‌های با شعاع مختلف از محور کانال. شکل الحاقی: فاصله‌ی عبور محموله با شعاع ۵ نانومتر از محور کانال برحسب نیروی خارجی.

همانطور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود با افزایش شعاع محموله، فاصله‌ی عبور محموله از محور کانال کاهش می‌یابد. این نشان می‌دهد که ذرات بزرگتر نواحی نزدیکتر به مرکز کانال را برای عبور ترجیح می‌دهند. همچنین در شکل الحاقی مشاهده می‌شود که با افزایش نیرو، ذره در فواصل نزدیک به مرکز کانال عبور می‌کند و به عبارتی تمایل کمتری برای برهمکنش آبگریزی (جاذبه‌ای) با ناپ‌های فروریخته و ثابت شده اطراف کانال دارد. محموله علاوه بر برهمکنش آبگریزی با ناپ‌های داخلی (FGهای مربوط به قسمت ساقه‌ی ناپ‌های کشیده شده) با ناپ‌های ثابت شده در اطراف کانال نیز برهمکنش آبگریزی دارد. برهمکنش جاذبه با ناپ‌های ثابت شده، باعث می‌شود که حرکت محموله از سه بعد به دو بعد کاهش پیدا کند (مدل کاهش ابعادی) و همچنین وجود برهمکنش آبگریزی و حجم اشغالی محموله با ناپ‌های داخلی باعث باز شدن فضای مناسب میان این ناپ‌ها برای انتقال می‌شود (مدل فاز ژل). طبق این نتایج برای عبور محموله با شعاع ۵ نانومتر، مشارکتی از دو مدل کاهش ابعادی و فاز ژل را خواهیم داشت.

مرجع‌ها

[۱] Yamada et al. *Molecular & Cellular Proteomics*, **9**(10): 2205–2224, 2010.
[۲] Moussavi-Baygi et al. *PLoS Comput Biol*, **7**: e1002049, 2011.
[۳] Tristan and Markus. *The Journal of chemical physics*, **130**(23): 235106, 2009.
[۴] Gamini, Han, Stone, *Schulten. PLoS Comput Biol* **10**(3): e1003488, 2014.
[۵] Tagliazucchi, Szleifer. *Soft Matter*, **8**: 7292, 2012.