sina-pub.ir

تنوع انتقال دهنده های ABC: وارد کنندگان نوع I، II و III

چکیده

انتقال‌دهنده‌های کاست متصل به ATP پمپ‌های غشایی چند زیر واحدی هستند که سوبستراها را از غشا عبور می‌دهند. از آنجائیکه فرآیندهای انتقالی بسیار زیادی وجود دارد، از این رو با تنوع بالایی از ساختار انتقال دهنده‌ها مواجهیم که تازه شروع به شناسایی آن‌ها کرده‌ایم. این واگرایی ممکن است دیدگاهی راجع به مکانیسم‌های انتقال و هموستاز سوبسترا به ما بدهد. تا همین اواخر، انتقال دهنده‌های ABC به دو نوع دسته بندی می‌شدند، اما با ظهور انتقال دهنده‌های از نوع فاکتور جفت شونده با انرژی (ECF) سه نوع از انتقال دهنده‌ها شناسایی شده‌اند. در این مقاله‌ی مروری، حجم انبوه مطالعات راجع به انتقال‌دهنده‌های ABC را به صورت خلاصه شرح داده و بر اصول عمل واردکنندگان ABC مانند ساختار، زیر واحدها و مکانیسم آن‌ها تأکید خواهیم کرد.

کلمات کلیدی: انتقال دهنده‌های ABC، دومین جانبی، ECF، واردکنندگان، انتقال ریزمغذی‌ها و فلزات، دومین متصل شونده به نوکلئوتید، دومین تنظیمی، نوع I، نوع II، نوع III.

مقدمه

انتقال دهنده‌های ABC، که در همه‌ی موجودات وجود دارند، یکی از بزرگترین فوق خانواده‌های تراغشایی[1] را تشکیل می‌دهند. واژه‌ی ABC مخفف کاست‌های متصل به ATP است و با توجه به ویژگی این خانواده مبنی بر توانایی اتصال و هیدرولیز ATP به منظور انتقال سوبسترا از غشای دولایه‌ی لیپیدی نامگذاری شده است. پمپ‌های خارج کننده‌ی ABC که تاکنون مطالعات زیادی بر روی آن‌ها صورت گرفته است، در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها وجود داشته، و نقش اساسی در فرایندهای زیستی ایفا می‌کند، همچنین در ارتباط با مقاومت چند دارویی، چندین

[1] Transmembrane

sina-pub.ir

بیماری انسانی بوده و به طور گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته‌اند. واردکنندگان[1] ABC نقش عمده‌ای در جذب مواد مغذی، بیماری‌زایی و شدت بیماری داشته و تمرکز بر این مجموعه‌ی متنوع از انتقال دهنده‌ها را آشکارتر می‌کند. وارد کنندگان ABC در گیاهان، پروکاریوت‌ها و آرکی باکترها مسئول انتقال مواد مغذی حیاتی از غشای دولایه‌ی لیپیدی است. بعلاوه، بسیاری از عوامل بیماری‌زای پروکاریوت از واردکنندگان ABC برای دور زدن پاسخ ایمنی ذاتی میزبان استفاده می‌کنند، که سبب جذب توجهات بیشتر به این دسته از انتقال دهنده‌ها خواهد شد.

همه‌ی انواع انتقال دهنده‌های ABC ساختار پایه‌ای مشترکی دارند و آن وجود دو دومین[2] متصل به نوکلئوتید (NBDs) و دو دومین تراغشایی (TMDs) است. این دومین‌ها یک واحد انتقال دهنده‌ی ABC را تشکیل می‌دهند. در خارج کنندگان ABC، دو دومین TMD و NBD می‌توانند به روش‌های مختلفی در یکدیگر ادغام شوند و سبب ایجاد انتقال دهنده‌های یک، دو یا چهار زنجیره‌ای شوند که در اینصورت راسته‌ی دومین‌ها می‌تواند بسیار گسترده باشد. در وارد کنندگان، زیرواحدهای هسته‌ی TMD و NDB به صورت زنجیره‌های منفرد است که می‌تواند باعث ایجاد TMDهای هومو یا هترو دایمری کند که به هومودایمرهای NBD متصول شده‌اند. دومین NBD بوسیله‌ی مجموعه‌ای از دومین‌ها طبقه بندی می‌شودو شامل واکر A (لوپ P)، واکر B و موتیف مخصوص ABC است که در انتقال دهنده‌های ABC شایع است اما ساختارها فقط به این محدود نمی‌شود. این موتیف‌ها، در رابطه با مناطق حفاظت شده‌ی NBD (لوپ H/منطقهی تبدیل، لوپ Q) هستند و نقش مهمی را در اتصال به ATP ایفا می‌کنند. تصور بر این است که اتصال و هیدرولیز ATP در NBDها به منظور کنترل باز و بسته شدن TMDها باشد.

برخلاف NBD، توالی TMD بطور قابل توجهی کمتر محافظت شده است. در واردکنندگان ABC، حتی ممکن است تعداد هلیکس‌ها (مارپیچ‌ها) در هر زیر واحد TMD از 5 تا 10 متغیر باشد و در نتیجه سبب تغییر تعداد کل مارپیچ‌های تراغشایی در هر انتقال دهنده شود. دومین‌های TMD در سیستم‌های جذب ABC شامل موتیف EAA (لوپ L) است، یک لوپ سیتوپلاسمی حاوی دو مارپیچ کوتاه که تغییرات کنفورماسیونی NBD و TMD را با یکدیگر

[1] Importer
[2] Domain

sina-pub.ir

جفت می‌کند. دومین‌های TMD و NBD در کنار یکدیگر تشکیل کمپلکسی برای ساخت واحد هسته‌ای انتقال دهنده می‌دهند. برای اکثر واردکنندگان ABC، سوبسترا از طریق یک پروتئین متصل به سوبسترا (SBP) به یک کمپلکس وارد کننده تحویل داده می‌شود. پروتئین‌های SBP به مجموعه‌ی گسترده‌ای از سوبستراها با محدوده‌ی تمایل اتصال نانومولار تا میکرومولار متصل می‌شوند. این پروتئین‌ها در فضای پری‌پلاسمی موجودات گرم منفی قرار گرفته یا به غشای باکتری‌های گرم مثبت متصل شده‌اند. اکثر اکتشافات اخیر در مورد انتقال‌دهنده‌های ECF یا فاکتور جفتی با انرژی نشان دهنده‌ی واگرایی در انتقال دهنده‌های ABC است. انتقال دهنده‌های ECF حاوی دومین‌های NBD و TMD است اما پروتئین SBP اضافی برای تحویل سوبسترا ندارند. در عوض، یک جزء جاسازی شده در غشاء در انتقال دهنده‌ی ECf به سوبسترا متصل می‌شود. توپولوژی کلی و مکانیسم‌های هر نوع از واردکنندگان مورد استفاده بر ای انتقال سوبستراها بر تنوع بالای واردکنندگان ABC تاکید می‌کند.

ساختارهای پروکاریوتی دست نخورده نشان دهنده‌ی تنوع بالای انتقال دهنده‌های ABC است

ساختار وارد کنندگان ABC نشان دهنده‌ی واگرایی در ساختار کلی است که هنوز بطور کامل شناسایی نشده است. تا امروز، 12 ساختار بلوری با کیفیت از واردکنندگان با منشأ پروکاریوتی مشخص شده است. بر اساس توپولوژی کلی و مکانیسم‌های انتقال، چندین وارد کننده‌ی ABC در گروه I از نظر شاختاری مشخص شده اند و عبارتند از: کنفورماسیون‌های متعدد انتقال دهنده‌ی مالتوز MalFGK2، انتقال دهنده‌ی متیونین MetNL و انتقال دهنده‌ی مولیبدات ModBC از گونه‌های *Archaeoglobus fulgidus* و *Methanosarcina acetivorans*. اما گروه II واردکنندگان متفاوت بوده و بر اساس ساختارهای انتقال دهنده‌ی ویتامین ب 12 BtuCD، انتقال دهنده‌ی هم HmuUV و انتقال دهنده‌ی مولیبدات MolBC از گونه‌ی *Haemophilus influenza* دسته بندی شده اند. تنوع ساختاری انتقال دهنده‌های ECF یا وارد کنندگان نوع III با ساختارهای کامل انتقال دهنده‌های فورات و هیدروکسی‌کتیل پیریمیدین از گونه‌ی *Lactobacillus brevis* نشان داده شده‌اند.

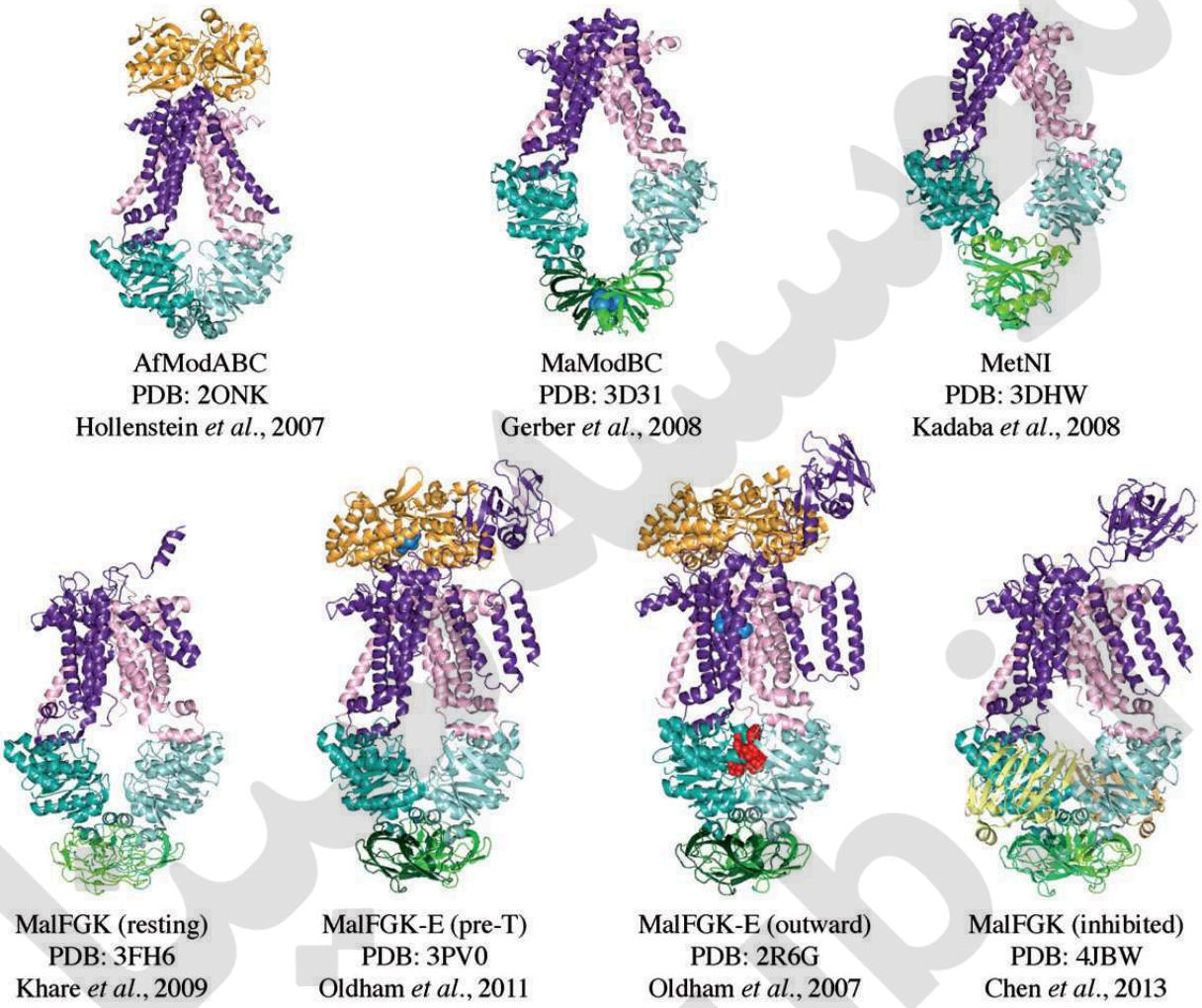
sina-pub.ir

بررسی‌های مروری قبلی جنبه‌های حفاظت شده‌ی انتقال دهنده‌های ABC را پوشش می‌دادند یا بر ویژگی‌های ساختاری و تقسیمات اولیه‌ی نوع I و II وارد کنندگان تمرکز می‌کردند. از آن زمان تا کنون نتایج زیادی به این زمینه افزوده شده‌اند که درک فعلی ما را از تنوع انتقال دهنده‌ها (شامل انتقال دهنده‌های ECF) گسترش می‌دهند. این مقاله نقطه‌ی اوج پیشرفت‌های اخیر برای هر سه نوع وارد کننده‌ی ABC است و بر ساختارها یا مکانیسم‌های مورد استفاده در انتقال سوبسترا از غشای لیپیدی دولایه تمرکز بیشتری می‌کند.

واردکنندگان ABC نوع I

شواهد ساختاری و بیوشیمیایی اجازه‌ی تقسیم بندی انواع مختلف واردکنندگان ABC را می‌دهند. به طور کلی، وارد کنندگان نوع I دارای مارپیچ‌های تراغشایی کمتر در مقایسه با واردکنندگان نوع II هستند. در غیاب SBPها، انتقال دهنده‌های نوع I سطح ناچیزی از فعالیت ATPase را نشان داد؛ با این حال، این فعالیت بوسیله‌ی SBP متصل به لیگاند تحریک می‌شود. واردکنندگان نوع I شناخته شده از نظر ساختاری تنوع بالایی از دومین تراغشایی را نشان می‌دهند (تصویر 1). وارد کنندگان نوع I متیونین (MetNI) در هر دومین TMD خود دارای مجموعه‌ای با حداقل 5 پیچ TM است که در کل سبب تشکیل 10 مارپیچ هومودایمر خواهد شد. ساختار دو انتقال دهنده‌ی مولیبدات (همولوگ‌های ModBC) در هر مونومر خود یک پیچ TM اضافی نیز دارند و در کل دارای 12 پیچ هستند. بر خلاف سایر وارد کنندگان ABC، که تشکیل هومودایمر می‌دهند، دومین‌های TMD انتقال دهنده‌ی مالتوز تشکیل یک هترودایمر از MalF و MalG خواهد کرد که بترتیب 8 و 6 مارپیچ دارند. با وجود تنوع عملکردی، مقایسه‌ی دومین‌های TMD برای 4 وارد کننده‌ی نوع I نشان می‌دهد که توپولوژی بالا و پایین سبب تشکیل آرایش‌های مشترک در مارپیچ TM واردکنندگان نوع I خواهد شد.

sina-pub.ir



تصویر 1. ساختارهای بلوری واردکنندگان نوع I. زیرواحدهای TMD به رنگ صورتی و بنفش تیره، زیرواحدهای NBD به رنگ فیروزه‌ای و سبز روشن هستند، SBPها نارنجی، TDها سبز تیره و روشن فاکتور تنظیمی EIIA زرد کم‌رنگ، سوبسترا آبی و نوکلئوتیدها قرمز رنگ هستند. از چپ به راست در ردیف بالا، ساختارها نشان دهنده‌ی کنفورماسیون‌های بدون نوکلئوتید هستند: ModBC از گونه‌ی *A. fulgidus*، ModBC از *M. acetivorans* و انتقال دهنده‌ی متیونین MetN2I2 از *E. coli*. انتقال دهنده‌ی MaModB2C2 در حالت مهار شده با مولیبدات متصل به RD نشان داده شده است. ردیف پایین نشان دهنده‌ی ساختارهای انتقال دهنده‌های مالتوز از E. coli (MalFGK2-E) در کنفورماسیون‌های زیر است (از چپ به راست): سمت درونی؛ حالت پیش از انتقالی؛ بمت بیرونی، متصل به نوکلئوتید؛ و مهاری، متصل به EIIAglu.

sina-pub.ir

بعلاوه، برخی از واردکنندگان نوع I دارای یک دومین تنظیم کننده (RD) متصل به دومین‌های شدیدا حفاظت شده‌ی NBD هستند، که فعالیت این واردکنندگان را کنترل می‌کند. سه نوع از چهار واردکننده‌ی شناخته شده از نظر ساختاری (همه به غیر از انتقال دهنده‌ی مولیبدات، ModBC در گونه‌ی *A. fulgidus*) دارای دومین تنظیمی هستند. دومین تنظیمی انتقال دهنده‌های مالتوز (MalFGK) و مولیبدات (ModBC) در گونه‌ی *M. acetivorans* دارای یک تاخوردگی کلی نشان دهنده‌ی ساختارهای بتا بارل[1] متشکل از دو ساندویچ بتا هستند. دومین تنظیمی انتقال دهنده‌ی متیونین MetNI یک تاخوردگی شبه فرودوکسین را نمایش می‌دهند. هنگامی که سوبسترا یا پروتئین‌های تنظیمی به RD متصل می‌شود، هیدرولیز ATP و انتقال سوبسترا متوقف خواهد شد. با تعدیل فعالیت انتقالی، دومین‌های جانبی مانند RDها می‌توانند فعالیت اضافی به انتقال دهنده‌ی اصلی اضافه کنند.

واردکنندگان نوع I سوبسترا را با یک مکانیسم دسترسی جایگزین انتقال می‌دهند

اگرچه تعداد پیچ‌های TMD در واردکنندگان نوع I می‌توانند متفاوت باشند، اما سوبستراهایشان را با یک مدل مشابه دسترسی جایگزین منتقل می‌کنند. واردکنندگان در حال تعویض بین دو کنفورماسیون هستند، بخش درونی و بیرونی که مسیر انتقالی تنها در یک سمت غشاء صورت خواهد گرفت.

جزئیات مکانیسم انتقال مشخص شده بوسیله‌ی انتقال دهنده‌های نوع I را می‌توان با انتقال دهنده‌ی مالتوز توضیح داد، که یکی از شناخته شده‌ترین سیستم‌های نوع I است. انتقال مالتوز با اتصال انتقال دهنده‌ی MaLE بارگذاری شده با سوبسترا به MalFGK بدون نوکلئوتید آغاز می‌شود (تصویر 2، بخش 1). انتقال دهنده‌ی MaIE بارگذاری شده با سوبسترا سبب تغییر کنفورماسیونی MalFGK شده، و سبب القای بسته شدن جزئی دایمر MaIK خواهد شد (تصویر 2، بخش 2). هنگامی که دومین‌های NBD در حالت نیمه باز بدون نوکلئوتید هستند و MaIE بارگذاری شده با سوبسترا نیز بسته شده است، زیرواحدهای TMD به سمت مرکز انتقال دهنده چرخیده و سبب باریک شدن مسیر انتقال خواهد شد. با این حال، بخش پری‌پلاسمی انتقال دهنده هنوز بسته است. اتصال دو

[1] Beta barrel: بتا شیت‌های بزرگی که اولین رشته از یک دومین با اخرین رشته از دومین دیگر پیوند هیدروژنی داده‌اند و با پیچ و تاب خوردن تشکیل یک ساختار بسته می‌دهند.

sina-pub.ir

مولکول ATP به MalFGK در حالت قبل از انتقال سبب القای تغییرات کنفورماسیونی می‌شود، که شامل بسته شدن دایمر MalK، باز شدن MalE و تغییر کنفورماسیون خارجی دومین TMD با یک مارپیچ است (تصویر 2، بخش 3). مطالعات EPR[2] نشان می‌دهند که MalE بسته به اتصال ATP به MalK بین دو کنفورماسیون باز و بسته تعویض می‌شوند. نتایجی که MalE و ATP برای بسته شدن دایمر MalK لازم است، به همراه مطالعات ERP نشان دهنده‌ی این است که ارتباط میان MalE و MalK در غشاء مرحله‌ی اصلی فرآیند انتقال است. با تغییر از حالت قبل از انتقال به حالت بخش بیرونی، MalFGK قادر به انتقال مالتوز از MalE به بخش اتصالی موقت در MalF خواهد بود (تصویر 2، بخش 4). پس از هیدرولیز ATP، ADP و فسفات آلی آزاد شده و MalFGK به حالت استراحت (کنفورماسیون داخلی) باز خواهد گشت. در این حالت، دایمر بسته‌ی MalK باز شده و MalE نیز از انتقال دهنده جدا خواهد شد.

سازه‌های اضافی وارد کنندگان ABC نوع I مکانیسم تعریف شده با انتقال دهنده‌ی مالتوز را تأیید کرد. ساختارهای انتقال دهنده‌های ModBC و MetNI از گونه‌ی *A. fulgidus* کنفورماسیون حالت استراحت را در انتقال دهنده‌های ABC در حالت‌های بدون نوکلئوتید و به صورت کمپلکس با SBPهای بارگذاری شده با سوبسترا تأیید کردند. در حالت استراحت، واردکنندگان نوع I یک کنفورماسیون داخلی (با مسیر انتقال به سمت سیتوپلاسم) تشکیل می‌دهند و دو دومین NBD یک کونفورماسیون باز و بدون نوکلئوتید را تشکیل می‌دهند. پس از آن، اتصال ATP به دایمر NBD، زیر واحدهای NBD را به یکدیگر رسانده (همانطور که در MalFGK متصل به نوکلئوتید دیده شده) و سبب کنفورماسیون داخلی (در معرض قرار گگیری کحل اتصال سوبسترا به فضای پلاسمی) خواهد شد.

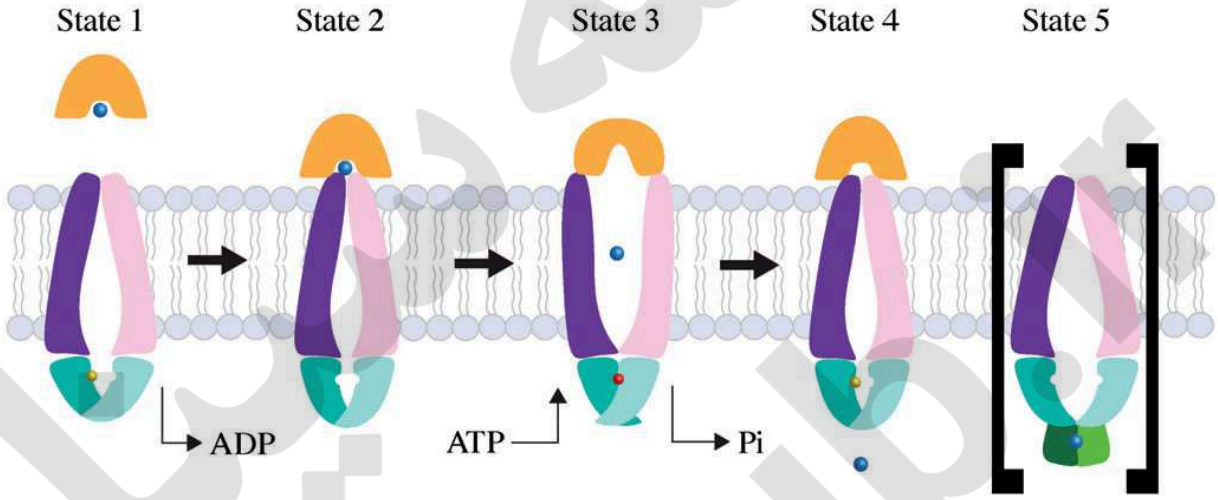
با توجه به حضور دومین تنظیمی، کنفورماسیون داخلی در واردکنندگان نوع I دیده می‌شود. ساختار MaModBC نشان دهنده‌ی یک حالت مهار شده است که در آن دو یون تنگستن به دومین‌های تنظیمی دایمر NBD متصل می‌شوند (تصویر 2، بخش 5) در این حالت مهاری، MaModBC فاصله‌ی بیشتری میان پیچ‌های

[2] Electron paramagnetic resonance

sina-pub.ir

جفتی نسبت به سایر وارد کنندگان دارند. بون‌های تنگستن متصل از طریق جلوگیری از بسته شدن دایمر NBD اطراف ATP سبب مهار انتقال در MaModBC خواهند شد. در واقع تنها تماس‌های میان دو زیر واحد ModC در حالت مهاری از طریق دومین‌های تنظیمی تشکیل خواهند شد.

تا امروز ساختار واردکنندگان نوع I به صورت یک نمای کلی شناخته شده است؛ القای دومین‌های NBD باز که با کنفورماسیون داخلی واردکنندگان جفت شده‌اند، با اتصال ATP به NBD صورت خواهد گرفت و سبب بسته شدن دایمر NBD می‌شوند. تناوب میان این دو کنفورماسیون سبب حرکت سوبسترا در غشاء خواهد شد.



تصویر2. مکانیسم واردکنندگان نوع I. دو زیرواحد TMD بنفش و صورتی، و دو زیرواحد NBD آبی فیروزه‌ای و سبز هستند. پروتئین‌های اتصالی پری‌پلاسمی به صورت کره‌های آبی نمایش داده شده‌اند. مولکول‌های ATP و ADP نیز گلوله‌های زرد و قرمز هستند. پروتئین SBP به منفورماسیون درونی انتقال دهنده متصل می‌شود (حالت 1)، و سبب بسته شدن دو زیرواحد NBD خواهد شد (حالت 2). اتصال به ATP باعث بسته شدن دو زیرواحد NBD، جهت گیری مجدد زیرواحدهای TMD، باز شدن SBP و در نهایت رهایی سوبسترا بخ زیرواحدهای TMD خواهد شد (حالت 3). تفکیک مولکولی مولکول‌های ADP سبب بازگشت انتقال دهنده به حالت استراحت خواهد شد (حالت 4). حالت مهاری (حالت 5) در براکت نشان داده شده است؛ زمانی که سطوح پری پلاسمی سوبسترا به اندازه‌ی کافی زیاد باشد، سوبسترا به RD متصل شده و از تغییرات کنفورماسیونی منجر به هیدرولیز ATP جلوگیری می‌کند.

sina-pub.ir

آغاز چرخه‌ی انتقال با پروتئین متصل به سوبسترا القا می‌شود

چرخه‌ی انتقال با تعامل SBP با دومین‌های TMD آغاز خواهد شد. در حالیکه SBPها با توجه آرایش بتاشیت‌های هسته‌ای به سه رده تقسیم می‌شوند، داده‌های رو به رشد زیادی منجر به طبقه بندی مجدد SBPها با توجه به ساختارهای سه بعدی آن‌ها به شش خوشه شده‌اند. لازم به ذکر است که پروتئین‌های متصل به سوبسترا در واردکنندگان نوع I متعلق به خوشه‌های B و F است. با این حال، انتقال دهنده‌های نوع I مانند OppBCDF و PotBCD، اپرون‌هایی با SBPهای خوشه‌های دیگر مانند C و D را به اشتراک می‌گذارند. پیشنهاد می‌شود که اکثر SBPها از دو دومین کروی ایجاد شده‌اند که توسط یک لولا از یکدیگر مجزا می‌شوند که لیگاند به آن متصل شده و با یک چرخش بین دومینی محصور می‌شوند. اتصال به لیگاند تقریبا سبب تغییرات کنفورماسیونی زیادی در پروتئین خواهد شد، و بنظر می‌رسد که این تغییر کنفورماسیونی القا شده توسط لیگاند یکی از ویژگی‌های SBPها بدلیل ارتباط با انتقال دهنده‌های نوع I باشد. اشکال بارگذاری شده و بارگذاری نشده‌ی MalE می‌توانند به MalFGK متصل شود. با این حال، فقط اتصال MalE بارگذاری شده با سوبسترا به انتقال دهنده می‌تواند باعث بسته شدن کامل دو دومین NBD شود.

لوپ اضافی TMD به فرآیند منحصر بفرد انتقال در انتقال دهنده‌ی مالتوز کمک می‌کند

در انتقال دهنده‌ی مالتوز، تعامل میان MalE و لوپ پری‌پلاسمی MalF-P2 به واسطه گری شناخت سوبسترا بوسیله‌ی القای تغییر کنفورماسیونی فعال MalE خواهد پرداخت، که مرحله‌ی پیشین در انتقال سوبسترا است. لوپ P2 یک دومین پری‌پلاسمی بزرگ شبه Ig (20کیلودالتون) است که پیچ‌های 3 و 4 پیچ‌ها را به یکدیگر متصل می‌کند و تنها در همولوگ MalF در باکتری‌های روده‌ای مشاهده شده است. لوپ P2 اطراف MalE حلقه زده و تشکیل گیرنده‌ای می‌دهد که SBPها را می‌شناسد و به MalE و MalF اجازه می‌دهند از طریق چرخه‌ی کاتالیتیک

sina-pub.ir

در تماس نزدیک با یکدیگر باقی بمانند. مقایسه‌ی ساختاری لوپ P2 از دو حالت مختلف انتقال دهنده‌ی مالتوز نشان می‌دهد که لوپ P2 بسیار انعطاف پذیر بوده و نقشی کلیدی در حفظ تماس با MalE صرف نظر از حالت کنفورماسیونی انتقال دهنده ایفا می‌کنند. انعطاف پذیری لوپ P2 بوسیله‌ی ساختار انتقال دهنده‌ی مالتوز حالت داخلی حمایت خواهد شد، جایی که لوپ انعطاف پذیر P2 در فقدان MalE مشاهده نمی‌شود.

تنظیم پس از ترجمه‌ای واردکنندگان نوع I به دومین تنظیمی بستگی دارد

مکانیسم تنظیمی مورد استفاده در واردکنندگان نوع I برای هر انتقال دهنده مجزا است، حتی اگر تاخوردگی دومین تنظیمی مشابهی مانند MalFGK و MaModBC را به اشتراک گذارند یا سوبستراهای مشابهی همچون AfModBC و MaModBC را انتقال دهند.

دومین تنظیمی انتقال دهنده‌ی مالتوز با اتصال به MalT (فاکتور رونوشت برداری که بخشی از اوپرون IIAGLC، آنزیم مهار کننده‌ی فعالیت انتقالی) به وظایف تنظیمی کمک می‌کند. اخیرا، ساختار کمپلکس MalFGK با IIAglc نشان می‌دهد که دو IIAglc به دایمر MalK متصل می‌شود. این تعامل با جلوگیری از بسته شدن دایمر MalK و تثبیت MalFGK در حالت استراحت درونی، سبب مهار انتقال خواهد شد (مشابه با تصویر 2ف حالت 5).

واردکنندگان ABC نوع II

چندین خصوصیت انتقال دهنده‌های نوع II را از نوع I مجزا می‌کند. بطور کلی ارتباط SBP با انتقال دهنده‌های نوع II با اتصال سوبسترا ضعیف‌تر خواهد شد. انتقال دهنده‌های نوع II دارای تعداد بیشتری پیچ TM است، پیچ‌های هسته‌ای نیز تحت تغییرات کنفورماسیونی مجزایی قرار می‌گیرند تا بتوانند سوبسترا را منتقل کنند. در حالی که انتقال دهنده‌های نوع II این شباهت‌های مشابه را به اشتراک می‌گذارند، شواهدی مبنی بر وجود تفاوت‌ها میان زیر خانواده‌های نوع I و II وجود دارد. با وجود سوبستراهایی در محدوده‌ی مولیبدات تا ویتامین ب 12، تنوع در سایر سوبسترا می‌تواند توضیحاتی برای تنوع مشاهده شده در میان انتقال دهنده‌های نوع II بدهد.

جذب با واسطه‌ی SBP در سیستم‌های نوع II

sina-pub.ir

مشابه با واردکنندگان نوع I، اختصاصیت سوبسترا در سیستم‌های انتقالی نوع II با SBP تعریف می شود. جالب توجه است، با وجود طیف گسترده ی سایز و شیمی سوبسترا، واردکنندگان نوع II شناخته شده به رده ی مشابهی از SBPها متصل می گردند (خوشه ی A، رده ی III). ویژگی های متمایز SBPهای خوشه ی A یک مارپیچ سخت در منطقه ی لولا است که دو لب[3] اتصالی به سوبسترا را متصل می کنند. سایر SBPها یک لولای انعطاف پذیر دارند، و نیروهای اتصال به سوبسترا سبب تغییر کنفورماسیون لب ها به "ونوس مگس خوار" می شود. تغییر کنفورماسیون SBPهای خوشه‌ی A به بازآرایی محلی لوپ و چند درجه بسته شدن محدود شده است. هرچند SBPهای خوشه‌ی A بعد از اتصال به سوبستراها تا 10 برابر تغییر حجم می‌دهند، اکثریت تفاوت‌های ساختاری میان SBPهای مختلف به لوپ‌ها در پاکت‌های متصل به سوبسترا محدود است.

با وجود اثرات محدود سوبسترا بر کنفورماسیون SBP در سیستم‌های نوع II، سوبستراها به طرز معنی داری تمایل SBP را به انتقال دهنده‌های نوع II تغییر می‌دهند. در غیاب سوبسترا، انتقال دهنده‌های نوع II تشکیل کمپلکس‌هایی با میل ترکیبی بالا با استفاده از پروتئین‌های اتصالی هم ریشه‌ی خود می‌دهند. سوبستراها این میل ترکیبی را با افزایش نرخ تفکیک (مانند BtuCD) یا کاهش نرخ ارتباط (مانند MolBC) کاهش می‌دهند. اثرات لیگاند بر تشکیل کمپلکس نوع II برعکس انتقال دهنده‌های نوع I است، که برای تشکیل کمپلکس نیازمند نوکلئوتید یا سوبسترا است. مقایسه‌ی نزدیک میل ترکیبی MolA برای مولیبدات و MolBC برای MolA پیشنهاد می‌دهد که مولیبدات ارتباط کمپلکس را از طریق یک سایت اتصالی آلوستریک بر MolBC ضعیف‌تر می‌کند. با این حال، سایت اتصال به سوبسترا برای یک انتقال دهنده‌ی نوع II مشاهده شده است، هرچند چنین سایت‌هایی در انتقال دهنده‌های نوع I نیز گزارش شده است.

آنالیز ساختاری سبب روشن شدن تنوع و تغییرات کنفورماسیونی در انتقال دهنده‌های نوع II می‌شود

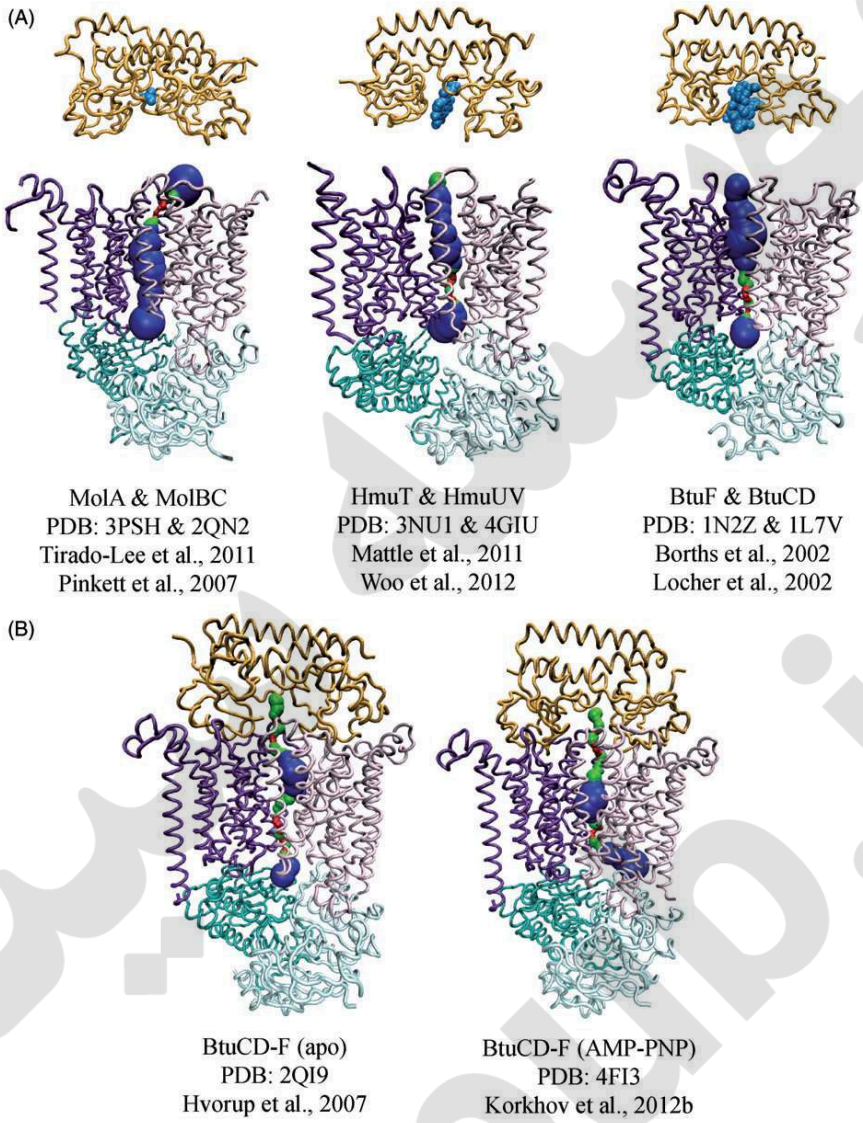
[3] Lobe

sina-pub.ir

وارد کنندگان نوع I و II برای اولین بار بر اساس تفاوت‌ها در سایز و ساختار کلی هسته‌ی انتقال دهنده‌ها تفکیک شدند. انتقال دهنده‌های نوع I بزرگ‌تر هستند، با هومودایمرهای شناخته شده‌ی TMD که 20 مارپیچ دارند (10 مارپیچ در هر دایمر TM 1-10). مقایسه‌ی نزدیک TMDها پیشنهاد می‌دهند که اکثریت تغییرات کنفورماسیونی به مارپیچ‌های هسته TM 3، 4، 5، a5 و 10 و لوپ میان TM 2 و 3 محدود است. این از انتقال دهنده‌های نوع I مجزا هستند، که دچار تغییرات کنفورماسیونی گسترده‌ی دومینی می‌شوند.

مارپیچ‌های هسته‌ای دسترسی به مسیر انتقال را کنترل کرده و در مکانیسم انتقال نقش مرکزی دارند. سه انتقال دهنده‌ی هسته‌ای نوع II شناسایی شده از نظر ساختاری با SBPهای هم ریشه‌ی آن‌ها در سمت پری‌پلاسمی TMDها در تصویر 3(A) نشان داده شده‌اند. مسیر انتقال با استفاده از MolAxis برجسته شده‌اند، که بر کنفورماسیون‌های متفاوت هر ساختار و دسترسی به مسیر انتقال تاکید دارد. کنفورماسیون‌های بدون نوکلئوتید BtuCD و HmuUV یک مسیر انتقالی مشابه در TMD اندود شده با TM 5، a5، 10 و لوپ TM 2-3 را نشان می‌دهند. در این ساختارهای اتصالی، مسیر انتقال در یک کنفورماسیون بیرونی با انسداد ایجاد شده بوسیله‌ی سمت سیتوپلاسمی TM5 (دروازه‌ی سیتوپلاسمی I) است. تفاوت کلیدی میان دو انتقال دهنده، حجم مسیر انتقال است. با یک حجم داخلی تقریبی 3400 انگستروم مکعب، BtuCD قادر به جادادن ویتامین ب 12 با چند برخورد فضایی است، در حالیکه HmuUV با فضای داخلی تقریبی 1300 انگستروم مکعب، قادر به جا دادن یک مولکول هم می‌باشد (حجم فضا بوسیله‌ی سرور اینترنتی 3VEE و یک پروب بزرگ و کوچک 10 و 2 انگستروومی محاسبه می‌شود).

sina-pub.ir



تصویر3. تنوع کنفورماسیونی در میان ساختار بلوری واردکنندگان نوع II با مسیر انتقالی پیش بینی شده MolAxis.

زیرواحدهای TMD در هر انتقال دهنده به شکل بنفش تیره و لوله‌های صورتی رنگ نشان داده شده است، زیرواحدهای NBD فیروزه‌ای و سبز هستند، SBPها نارنجی رنگ و سوبسترا آبی روشن هستند. برنامه‌ی MolAxis برای یافتن و آنالیز مسیر انتقال با تناسب بزرگترین کره‌های ممکن از حفره‌ی مرکزی مورد استفاده قرار می‌گیرد. کره‌های با قطر 51/4 انکشتروم قرمز، 4-1/4 انگستروم شیز و 44 انکستروم آبی رنگ هستند. (A) وارد کنندگان نوع II ، MolB2C2 از *H. influena*، و HmuU2V2 از *Y. pestis* و BtuC2D2 از *E. coli* که در غیاب

sina-pub.ir

نوکلئوتید مشخص شده‌اند. پروتئین‌های هم جنس SBP (بترتیب MolA، HmuT و BtuF) در بالای دروازه‌های پری‌پلاسمی به صورت آماده قرار دارند. (B) وارد کنندگان نوع II به صورت کمپلکس با SBP. ساختار BtuCD-F در سمت راست با AMP-PNP متصل شده است.

یک تفاوت کنفورماسیونی بزرگ‌تر با MolBC بدون نوکلئوتید مشاهده شده است، جایی که یک دروازه‌ی بسته‌ی پری‌پلاسمی (تشکیل شده با TM5) و دروازه‌ی باز پری‌پلاسمی I، انتقال دهنده را در کنفورماسیون داخلی قرار می‌دهند. لازم به ذکر است که بنظر می‌رسد دسترسی از طریق دروازه‌ی پری‌پلاسمی با سایز سوبسترا در ارتباط است، و این پیشنهاد می‌دهد که مسیر انتقالی می‌تواند از طریق یک مکانیسم فیلتر مشابه به قدرت انتخابی سوبسترا اضافه شود.

همچنین انتقال دهنده‌ی ButCD در حضور یا عدم حضور نوکلئوتید می‌تواند با پپتید متصل به سوبسترایش (BtuF) در کمپلکس باز شود، که این به ما اطلاعاتی راجع به انعطاف پذیری کنفورماسیونی انتقال دهنده‌های نوع II می‌دهد. کمپلکس بدون نوکلئوتید BtuCD-F کنفورماسیون نامتقارن TM 5 و a5 با یک زیرواحد TMD شبیه به MolBC داخلی را نشان می‌دهد. این کنفورماسیون مسیر انتقال بسته شده و مسیر کافی برای سوبسترا بوجود آورد. در حضور نوکلئوتید، یک فضای داخلی بزرگ بوسیله‌ی لوپ TM 2-3 بین دروازه‌ی بسته‌ی پری‌پلاسمی و دروازه‌ی ثانویه‌ی سیتوپلاسمی بسته (دروازه‌ی II) تشکیل داد. اگرچه سوبسترا در این ساختار موجود نیست اما حفره برای نگهداری ویتامین ب 12 به همراه چند درگیری فضایی کافی است.

جزئیات مکانیکی واردکنندگان نوع II، BtuCD

تصاویر ساختاری، آنالیزهای بیوشیمیایی و اسپکتروسکوپی EPR در BtuCD در یک مکانیسم انتقال از نوع II شناخته شده به اوج خود رسید. در اینجا، می‌توان مکانیسم را در 4 حالت توضیح داد. آنالیز نرخ ارتباط کمپلکس در یک حضور $ATP\text{-}Mg^{2+}$ پیشنهاد می‌دهد که اکثریت جمعیت‌های انتقال دهنده BtuCD را می‌توان در حالت اتصال به ADP یافت (تصویر A4، حالت 1؛ معمولا به عنوان حالت پس از هیدرولیز نیز شناخته می‌شود)، که دارای یک

sina-pub.ir

کنفورماسیون تقریبا یکنواخت به انتقال دهنده‌ی بدون نوکلئوتید هستند. با باز شدن دروازه‌ی پری‌پلاسمی (5 TM و a5) و بسته شدن دروازه‌ی سیتوپلاسمی I (5 TM)، حالت بدون نوکلئوتید در سمت بیرونی ایجاد می‌شود. در این حالت BtuF به BtuCD متصل شده و سوبسترا را به مسیر انتقال بیرونی می‌رساند (تصویر a4، حالت 2).

کمپلکس BtuCD-F تمایل ترکیبی بسیار کمی با ویتامین ب 12 دارد و انتقال سوبسترا می‌تواند با باز شدن اندک لب‌ها و لوپ‌های BtuF از دروازه‌ی پری‌پلاسمی به سمت جیب‌های متصل به سوبسترا تقویت شود. انتقال دهنده‌ی متصل به ADP، با دروازه‌ی سیتوپلاسمی 1 بسته، عبور سوبسترا به سیتوپلاسم را مهار می‌کند. زمانی که BtuCD-F به نوکلئوتید متصل می‌شود (تصویر A4، حالت 3)، دومین‌های NBD بسته می‌شوند، و این باعث کشیده شدن مارپیچ‌ها به نزدیک یکدیگر خواهند شد. این سبب بسته شدن دروازه‌ی پری پلاسمی و باز شدن دروازه‌ی I سیتوپلاسمی و بسته شدن دروازه‌ی II سیتوپلاسمی به صورت همزمان خواهد شد، که سوبسترا را در یک حفره‌ی انتقالی بزرگ به تله می‌اندازد.

مطالعات با آنالوگ‌های ATP نشان دهنده‌ی حالت پیش هیدرولیزی متصل به ATP (ATP+EDTA، AMP-PNP) است و حالت حد واسط قبل از خروج فسفات (ADP-Mg^{2+} + وانادات) نیز کنفورماسیون‌های مشابهی را نشان می‌دهند. این پیشنهاد می‌دهد که تغییرات کنفورماسیونی بعد از هیدرولیز همزمان با خروج فسفات رخ می‌دهد. زمانی که نوکلئوتید هیدرولیز شد، دومین‌های NBD نیز جدا می‌شوند، فسفات حرکت می‌کند، دروازه‌ی II سیتوپلاسمی باز شده و حفره‌ی انتقالی با مارپیچ‌های TM5 فرو می‌ریزد و سبب چپاندن ویتامین ب 12 به سیتوپلاسم خواهد شد. بعد از خروج سوبسترا، BtuCD-F یک کنفورماسیون ناپایدار و بسته دارد (تصویر A4، حالت 4). مکانیسم جدایی کمپلکس انتقال دهنده‌ی نوع II هنوز کاملا شناخته نشده است، اما لووینسون و همکاران (2010) پیشنهاد دادند که احتمالا هیدرولیز ATP بازال و آزاد شدن احتمالی سوبسترا نقش مهمی داشته باشد.

تنوع مکانیکی در میان سیستم‌های انتقالی نوع II

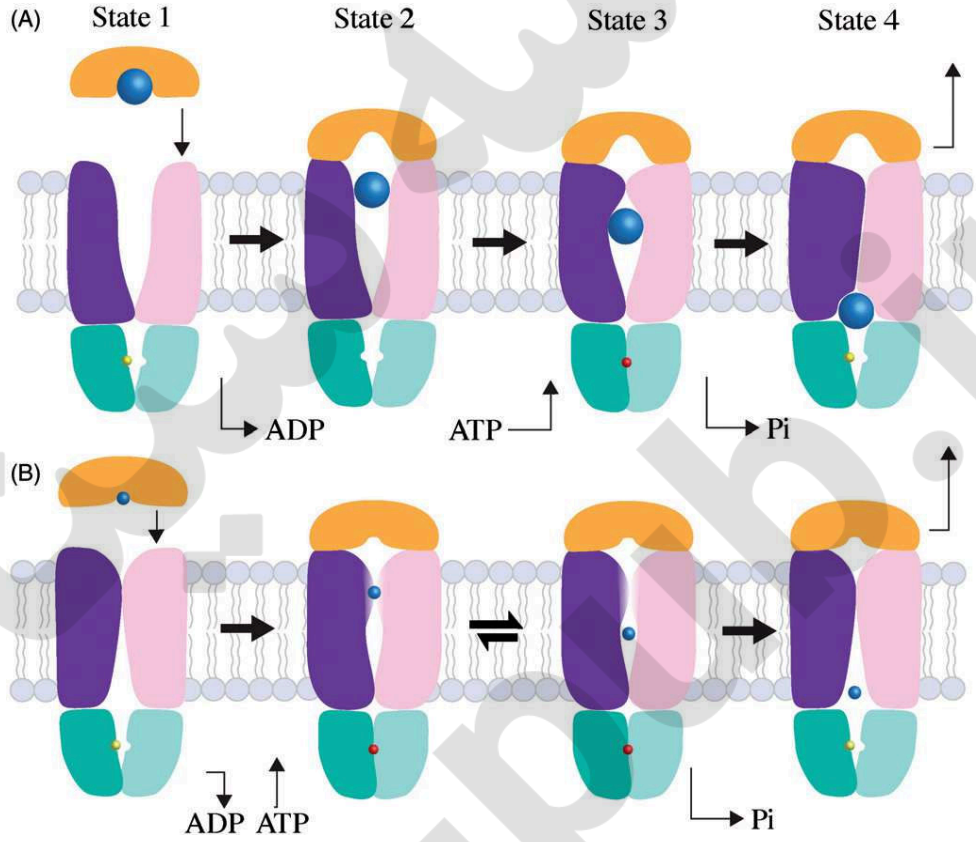
sina-pub.ir

مطالعات وارد کننده‌ی مولیبدات MolBC ویژگی‌های جدیدی از مکانیسم انتقال نوع II را روش کرد. مطالعات EPR و ارتباطات متقابل MolBC-A ساختار بلوری درونی و بدون نوکلئوتید MolBC را تایید کرد (تصویر 4 B، حالت 1). در MolBC، حرکت وابسته به نوکلئوتید در دروازه‌ی پری‌پلاسمی محدودتر از BtuCD می‌باشد، با تغییر جداسازی کافی TM 5a به منظور اختلال در ارتباط متقابل دی سلوفید. این امر سبب افزایش تحرک اسپین نشاندار شده در امتداد مارپیچ شده و احتمالا اجازه‌ی عبور سوبستراهای نسبتا کوچک مانند مولیبدات را می‌دهد. ما گمان می‌بریم که در حضور نوکلئوتید، سوبسترا از SBP به سمت مسیر انتقال حرکت می‌کند (تصویر B4، حالت 2). زمانی که نوکلئوتید به انتقال دهنده متصل می‌شود، انتهاهای سیتوپلاسمی مارپیچ‌های TM5 از یکدیگر دور شده و دیگر یک ساختار بسته به حساب نمی‌آیند، بنابراین این منطقه از MolBC را نمی‌توان یک دروازه دانست. حرکت بیرونی TM5 به احتمال زیاد با حرکت داخلی دروازه‌ی II جفت شده که در حضور نوکلئوتید بسته می‌شود. پیش بینی شده است که کنفورماسیون منتج (تصویر B4، حالت 3) با سوبسترای بدام افتاده در حفره‌ی انتقال مشابه با BtuCD-F (تصویر A4، حالت 3) باشد. در حال حاضر هیچ شاهدی حمایت از ساختار مسدود MilBC-A وجود ندارد. در عوض هیدرولیز ATP انتقال دهنده را به یک حالت داخلی شبه متصل برمی‌گرداند (تصویر B4، حالت4)، جایی که سوبسترا اجازه‌ی ورود به سیتوپلاسم را پیدا می‌کند. این احتمال وجود دارد که تفاوت‌های مکانیکی میان MolBC و MolCD به تفاوت در سایز سوبسترا مربوط باشد و درنتیجه منافذ بزرگ پری‌پلاسمی برای عبور مولیبدات لازم نباشد. و دروازه‌ی پری پلاسمی بسته در کنفورماسیون بدون نوکلئوتید، نیازی به دروازه‌ی سیتوپلاسمی I نیست. هنوز مکانیسم MolBC برای سایر سوبستراهای وارد کنندگان نوع II مشاهده نشده و تغییرات اضافی بر روی انتقال دهنده‌های نوع II نیز یافت نشده‌اند.

با توجه به تفاوت در سوبستراها، جای تعجب نیست که ساختارها و مکانیسم‌های انتقال دهنده‌های نوع II بسیار متنوع‌اند. با ادامه‌ی اکتشاف زیر خانواده‌ی نوع II ما می‌توانیم انتظار یافتن انواع دیگری را داشته باشیم. بزرگ‌ترین پرسش باقی مانده برای انتقال دهنده‌های نوع II در بحث تنظیم است. با وجود اینکه انتقال دهنده‌های نوع I

sina-pub.ir

مکانیسم‌های کاملا مشخص تنظیمات انتقالی و پس از ترجمه‌ای دارند، تنظیم انتقال نوع II تا حد زیادی ناشناخته است. مانند انتقال دهنده‌های نوع I، سیستم‌های نوع II می‌توانند در سطح رونویسی بوسیله‌ی سوبسترا تنظیم شوند. یک مکانیسم تنظیم پس از ترجمه‌ای برای یک سیستم نوع II تایید شده است، اما جستجو در پایگاه داده‌ی (http://exon.niaid.nih.gov/abctransporter/) می‌تواند پیشرفت‌ها در زمینه‌ی انتقال دهنده‌های هسته‌ای را نشان دهد که ممکن است وجود دومین‌های تنظیمی شبه نوع I یا سایر دومین‌های جانبی را ثابت کند.



تصویر 4. مکانیسم‌های سوبستراهای بزرگ و کوچک انتقال دهنده‌های نوع II. زیرواحدهای TMD صورتی و بنفش تیره‌اند، زیرواحدهای NBD فیروزه‌ای و سبز هستند، SBP نارنجی و سوبسترا آبی روشن هستند. رنگ بقیه‌ی بخش‌ها مشابه تصویر 3 می‌باشند. (A) انتقال یک سوبسترای بزرگ در زمان اتصال پروتئین‌های اتصالی بارگذاری شده با سوبسترا به سطح پری‌پلاسمی انتقال دهنده آغاز می‌شود. در حالت 1، انتقال دهنده با اتصال به ADP (زرد) نشان داده شده است، اما حالت بدون نوکلئوتید از نظر کنفورماسیونی یکسان است. در حالت 2، ما شاهد اتصال SBP

sina-pub.ir

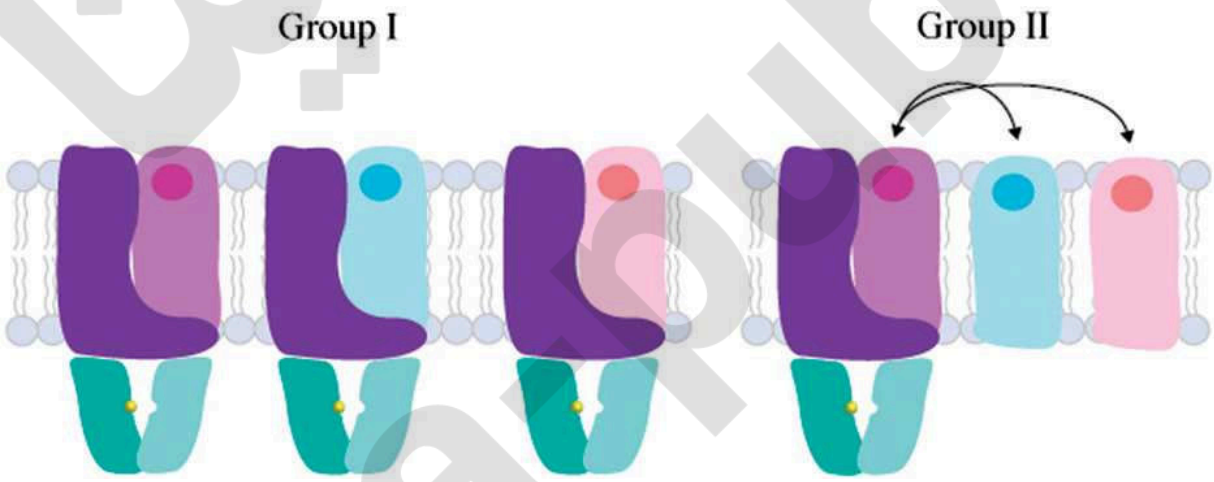
قبل از ATP با توجه به میل ترکیبی بالاتر انتقال دهنده برای SBP بارگذاری شده در غیاب نوکلئوتید و کنفورماسیون کمی باز دروازه‌ی پری‌پلاسمی BtuCD-F در غیاب نوکلئوتید هستیم. حالت 3 نشان می‌دهد که اتصال ATP (قرمز) سوبسترا (آبی) را در یک حفره‌ی انتقالی بدام می‌اندازد. پس از هیدرولیز، NBDها باز شده و اجازه‌ی تخریب فسفات و کولاپس همزمان حفره‌ی انتقالی را می‌دهد. با پیشرفت به سمت کمپلکس مسدود شده، سوبسترا به سمت سیتوپلاسم مسدود خواهد شد (حالت 4). چرخه‌ی انتقال در زمان تجزیه‌ی کمپلکس مسدود راه اندازی مجدد می‌شود. (B) انتقال سوبسترای کوچک در زمان اتصال SBP بارگذاری شده به انتقال دهنده آغاز می‌شود (حالت 1). هرچند سوبسترای کوچک هنوز در کمپلکس II گیر افتاده است، ما انتظار داریم که سوبسترا تا زمان اتصال ATP به دروازه‌ی پری‌پلاسمی باز نتواند عبور کند (حالت 2). بعد از انتقال، سوبسترای کوچک می‌تواند در یک حفره‌ی داخلی قابل مقایسه با سوبسترای بزرگ نگه داشته شود (حالت 3). امکان بازگشت از حالت 3 به حالت 2 را نمی‌توان رد کرد، و ممکن است از حفره‌ی بسته شده‌ی سوبسترای بزرگ در انتقال دهنده‌ی نوع II متفاوت باشد. بعد از هیدرولیز نوکلئوتید، انتقال دهنده‌ی سوبسترای کوچک به حالت درونی شبه متصل باز می‌گردد که در آن سوبسترا می‌تواند به سیتوپلاسم وارد شود.

ظهور سیستم انتقال ECF: نوع III انتقال دهنده‌ها؟

انتقال‌دهنده‌های فاکتور جفتی با انرژی (ECF) برای اولین بار در دهه‌ی 1970 کشف شدند، اما به تازگی به عنوان دسته‌ی جدیدی از انتقال دهنده‌های ABC انتخاب گشته‌اند. این پروتئین‌ها نقش حیاتی در جذب ریز مغذی در باکتری‌ها و آرکی باکترها ایفا می‌کند. مشابه با نوع I و II، انتقال دهنده‌های ECF شامل دو دومین اتصالی به نوکلئوتید (EcfA و EcfA´)، یک دومین جفتی تراغشایی (EcfT) و یک جزء اتصالی به غشا (EcfS). اجزای EcfA می‌توانند به صورت هوموداِیمر و هتروداِیمر بوده و کمپلکس EcfA-EcfA´-EcfT تشکیل یک ماژول انرژی‌زا می‌دهند. با وجود اینکه وارد کنندگان نوع I و II برای تحویل ترکیبات به مسیر انتقال، یک پروتئین متصل به سوبسترا دارند،

sina-pub.ir

انتقال دهنده‌های ECF حاوی یک خصوصیت ویژه‌اند: جزء EcfS یا جزء یک پروتئین غشایی اینتگرال است که با میل ترکیبی نانومولار به سوبسترا متصل می‌شوند. همچنین جزء S از نظر سازمان بندی ژنتیکی نیز متفاوت است و روشی که آن‌ها با ماژول‌های انرژی تعامل می‌دهند، آن‌ها را از انتقال دهنده‌های دو گروه دیگر مجزا می‌کنند (تصویر 5). برای گروه I انتقال دهنده‌های ECF، هر جزء S تشکیل یک کمپلکس با ماژول انرژی‌زای منحصر بفردی را می‌دهد و در اوپرون‌های مشابهی نیز جای گرفته‌ا است. گروه II انتقال دهنده‌های ECF شامل اجزاء S مدولار است که به آرایه‌های متنوعی از سوبسترا متصل می‌شود، با این حال اجزای متعدد S ماژول‌های انرژی‌زای مشابه خود را به اشتراک می‌گذارند تا تولید یک انتقال دهنده‌ی کامل کنند (S، T، A و A´). در گروه II انتقال دهنده‌های ECF، اجزای S در سراسر ژنوم پراکنده‌اند. هر سه جزء (T، A و A´) برای جزء S لازم هستند تا یک کمپلکس را تشکیل دهند و هر چهار جزء برای انتقال سوبسترا از غشاء ضروری هستند. با وجود تنوع سوبستراها و مسائلی که این انتقال دهنده‌ها را از نوع I و II انتقال دهنده‌های ABC جدا می‌کنند، انتقال دهنده‌های ECF همچنین توانایی استفاده از ATP برای منتقل کردن سوبسترا از غشای لیپیدی دولایه را دارد.



تصویر 5. ساختار و ساخت دومین انتقال دهنده‌های گروه I و ECF II. انتقال دهنده‌های ECF شامل یک ماژول انرژی (A و A´، بترتیب به رنگ فیروزه‌ای و سبز)، جزء تراغشایی (T، بنفش رنگ) و جزء اتصالی به سوبسترا (S، بنفش روشن، آبی روشن و صورتی روشن). در انتقال دهنده‌های ECF گروه I واحدهای S باواحدهای اختصاصی T، A

sina-pub.ir

و A´ در ارتباط هستند، در حالیکه انتقال دهنده‌های ECF گروه II واحدهای مشابه T، A و A´ برای اجزاء مختلف S بکار می‌روند.

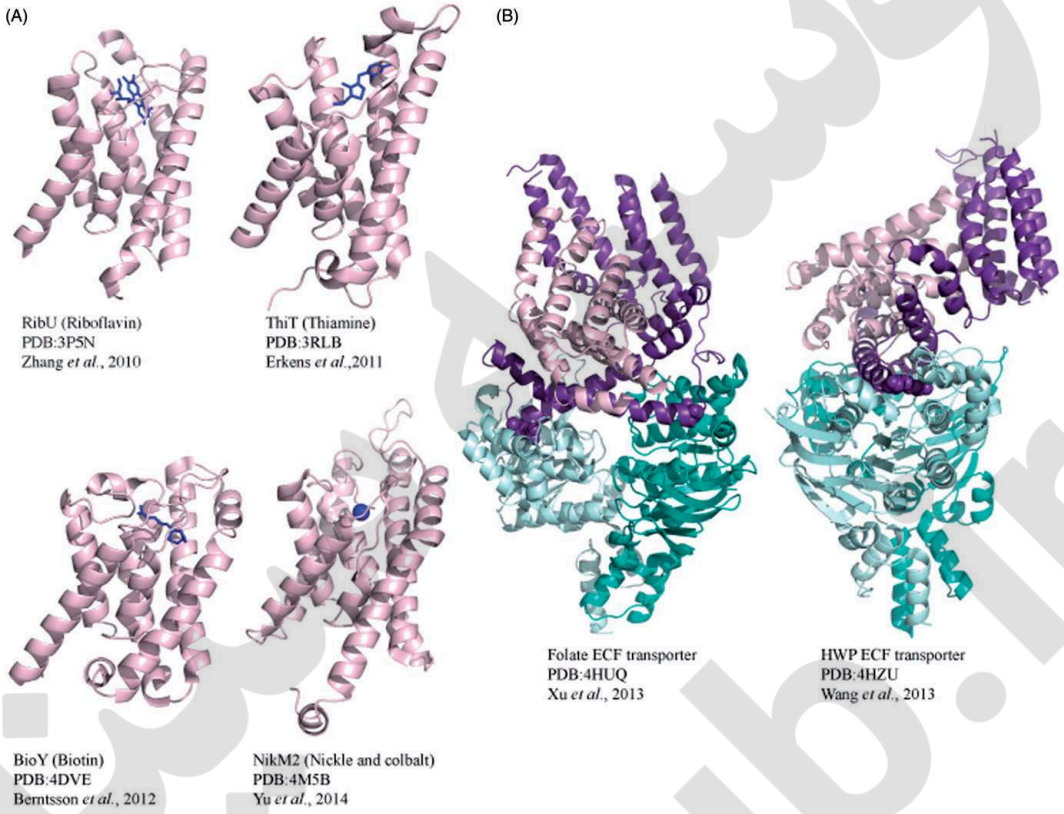
جزء S مسئول اتصال به سوبسترا است

از تیامین گرفته تا فلاوین، اجزای S به طیف وسیعی از سوبستراها متصل می‌شوند. تا به امروز، ساختارهای اجزای S نوع ThiT (تیامین) و BioY (بیوتین) از گونه‌ی *Lactococcus lactis*، RibU (ریبوفلاوین) از گونه‌ی *Staphylococcus aureus* و NikM (نیکل) از گونه‌ی *Thermoanaerobacter tengogenesis* تعیین شده است (تصویر A6). بعلاوه، ساختارهای کمپلکس کامل انتقال دهنده‌های فولات و هیدروکسی‌متیل پیریمیدین (HMP) از گونه‌ی *Lactococcus brevis* در غیاب سوبسترا تعیین شده است (تصویر B6).

با وجود اینکه از نظر توالی مشابه نستند، اما ساختارهای RibU، BioY و ThiT نشان می‌دهد که مارپیچ‌های 4، 5 و 6 بترتیب در تعامل مستقیم با ریبوفلاوین، بیوتین و تیامبن هستند. لوپ طولانی L1 بین مارپیچ‌های 1 و 2 سبب پوشش جیب‌های اتصالی به سوبسترا در ستختارهای متصل به سوبسترا خواهد شد، اما در ساختار کامل، این لوپ جیب اتصالی را پوشش نمی‌دهد، و این بصورت بالقوه نشان دهنده‌ی یک مکانیسم درک کننده‌ی سوبسترا است. متاسفانه، تنوع توالی در جیب اتصالی به EcfS نشان دهنده‌ی اختصاصیت است، اما اجزای S تمایل ترکیبی متنوعی از نانو مولار تا پیکومولار دارند. جزء S انتقال دهنده‌ی ttNikM2ECF (NikM) از گونه‌ی *Thermoanaerobacter tengogenesis* با زیر رده‌ی جزء S انتقال دهنده‌ی فلزی متناسب است که بخشی از سیستم انتقال گروه I بحساب می‌آید. مشابه با اجزای S مواد مغذی، NikM شامل هسته‌ای با 6 مارپیچ بوده و دارای دو تغییر اضافی است که این گروه را منحصر بفرد می‌سازد. نه اسید آمینه‌ی ابتدایی که یک مارپیچ به سمت لوپ 1 را می‌سازد در میان اجزای S انتقال دهنده‌یACF مخصوص فلزات حفاظت شده است. این لوپ N-terminal

sina-pub.ir

(انتهای آمینی) می‌تواند سایت‌های اتصال به ویتامین یافت شده در سایر اجزای S را بلوکه کند. هر دو فرم یک سایت اتصالی مخصوص فلزات در ترکیب با یک مارپیچ N-terminal اضافی می‌توانند از اتصال ویتامین جلوگیری کنند.



تصویر 6. ساختارهای بلوری واردکنندگان ECF نوع II. (A) دیاگرام‌های کارتونی ساختار بلوری اجزاء S (RibU) از *S. aureus*، ThiT و BioY از *L. lactis* و NikM2 از *T. tengcongensis*. هر جزء S متصب به سوبسترا به صورت میله‌های آب رنگ نمایش داده شدا است. (B) ساختار بلوری کامل و بدون سوبسترای انتقال دهنده‌های فولات و HMP در *L. brevis*. برای ساختارهای کامل، اجزای انرژی‌زا (بنفش رنگ) عمدتا با جزئ متصل به سوبسترای صورتی رنگ تعمال می‌دهند. دومین‌های EcfA و EcfA´ به رنگ فیروزه‌ای و سبز نشان داده‌اند.

ساختارهای کامل سبب روشن کردن ساخت و مکانیسم انتقال دهنده‌های ECF خواهد شد

sina-pub.ir

اکثر ساختارهای اخیر انتقال دهنده‌های ECF فولات و HMP از گونه‌ی *L. brevis* به ما یک دیدگاه اجمالی در مورد ساخت و مکانیسم این رده از انتقال دهنده‌ها می‌دهند. این ساختارهای کامل دیدگاه اول دومین EcfT را به ما داده و این که چگونه اجزای ECF قطعات را برای ساخت یک انتقال دهنده‌ی کامل به یکدیگر مونتاژ می‌کنند (تصویر 6).

دومین EcfT شامل هشت مارپیچ است، پنج تای آن‌ها هسته‌ی دومین EcfT عمود بر غشا را می‌سازند و مارپیچ‌های باقی مانده وارد فضای سیتوپلاسمی میشوند که شکلی شبیه به L به دومین می‌دهد. ساختار کامل در غیاب سوبسترا نشان می‌دهد که چگونه اجزای S با اجزای انرژی‌زای EcfT واکنش می‌دهند. جزء S میان هسته‌ی پنج مارپیچی و مارپیچ‌های سیتوپلاسمی قرار گرفته و با 5 یا 6 EcfS در تعامل با مارپیچ‌های EcfT قرار می‌گیرد. در کمپلکس، هلیکس‌های 1، 2 و 6 EcfS مسئول اکثر واکنش‌های آب گریز با EcfT هستند. مشخص شده که ساختارهای موجود بر روی موتیف حفاظت شده (AXXXA، X معمولا آب گریز است) مارپیچ 1 برای تعاملات با ماژول‌های انرژی‌زا ضروری هستند.

مارپیچ‌های EcfT (نه مارپیچ‌های EcfS) تعامل مستقیمی با EcfA و EcfA´ دارند. مارپیچ‌های EcfT 6 و 7 شامل توالی حفاظت شده‌ای بنام ماژول جفتی (XRX) هستند که در تعامل مستقیم با یک شیار در هر دومین اتصالی به نوکلئوتید است. موتاسیون دوتایی اسید آمینه‌ی حفاظت شده‌ی آرژنین سبب تفکیک کمپلکس ECF و از دست دادن فعالیت ATPase خواهد شد. مارپیچ‌های جفتی نیز در واردکنندگان و خارج کنندگان ABC به عنوان ابزار ارتباطی میان دومین‌های TMD و NBD وجود دارد.

ساختار دایمریزه شده‌ی EcfA و EcfA´ در ساختارهای کامل مشابه است با ساختارهای هومودایمر CbiO از ماژول انرژی EcfA-EcfA´ در انتقال دهنده‌ی کبالت CbiMNQO از گونه‌ی *Thermoanaerobacter tengogenesis* و ساختار هترودایمر گونه‌ی *T. maritime* است. مشابه با انتقال دهنده‌های نوع I و II، دومین NBD از یک زیر دومین مارپیچی و دومین شبه RecA با موتیف‌های حفاظت شده به منظور اتصال به ATP و

sina-pub.ir

هیدرولیز آن تشکیل شده است. ساختارهای انتقال دهنده‌ی ECF نشان دهنده‌ی وجود دو مارپیچ C-terminal است که تشکیل یک بسته‌ی چهار مارپیچی خواهد داد و در نتیجه ساختارهای دایمر در تمام انتقال دهنده‌های ABC مشابه نخواهند بود.

اگرچه هر دو سخاختار کامل ECF بدون نوکلئوتید و سوبسترا است، اما دانشمندان بدنبال فراهم کردن شواهدی برای یک مکانیسم محتمل هستند. کنفورماسیون EcfA-EcfA´ بیشترین شباهت را به کنفورماسیون باز بدون نوکلئوتید دارد، و باعث این تفکر می‌شودکه ساختار در حال حاضر در یک کنفورماسیون داخلی بسر می‌برد. فرض بر این است که برای هر دو گروه انتقال دهنده‌های نوع I و II، القای تغییرات کنفورماسیونی بوسیله‌ی ATP با انتقال سوبسترا و رهایی بعدی آن به سیتوپلاسم جفت می‌شود. ساختارها نشان می‌دهند که جزء S در انتقال دهنده‌ی ECF به موازات سطح غشاء قرار گرفته است و احتمالا در کنفورماسیونی است که به سوبسترا اجازه‌ی رد شدن از غشاء به سمت سیتوپلاسم بدهد. در هر دو ساختار کامل، زاویه‌ی جزء S سبب تولید دروازه‌ی جیب اتصالی به سوبسترای در دسترس برای غشای لیپیدی دو لایه خواهد شد. بر اساس این کنفورماسیون، مکانیسم پیشنهادی می‌تواند با حالت استراحت بدون نوکلئوتید آغاز گردد، جایی که جزء EcfS عمود بر EcfT در غشا بوده و اجزای EcfA-EcfA´ از یکدیگر دور هستند. اتصال به ATP سبب نزدیک شدن EcfA-EcfA´ به یکدیگر و تشکیل یک فرم بسته شده و چرخش ماژول EcfS به یک موقعیت موازی سبب اتصال ان به سوبسترای خارج سلولی خواهد شد. هیدرولیز ATP می‌تواند انتقال دهنده‌ی ECf را به عقب و حالت استراحت بچرخاند تا سوبسترای بعدی در سیتوپلاسم رها گردد. همانطور که با این واردکنندگان ABC نوع III جلو می‌رویم، پرسش‌های اصلی شامل انتقال سوبسترای اتصالی به حالت نوکلئوتید و تغییرات کنفورماسیونی لازم برای آزاد شدن سوبسترا هستند. ما در انتظار ساختارهای کامل بارگذاری شده با سوبسترا و متصل به نوکلئوتید انتقال دهنده‌های ECF به منظور روشن شدن مکانیسم‌های پیشنهادی هستیم.

نتیجه‌گیری

sina-pub.ir

نقطه‌ی اوج مطالعات ژنتیکی، بیوشیمیایی و ساختاری واردکنندگان ABC تا به امروز نشان دهنده‌ی سه سیستم متفاوت است که از ATP برای انتقال طیفی از سوبستراها در غشای سلولی استفاده می‌کنند. با وجود اینکه تفاوت‌های کلی ساختاری میان انواع I، II و III انتقال دهنده‌ها منعکس کننده‌ی تنوع در هر دو مکانیسم انتقال و تنظیم است، اما این سیستم‌ها تنها خراشی سطحی بر روی پیچیدگی این خانواده است. وارد کنندگان ABC به منظور استفاده از مکانیسم‌های متعدد برای انتقال مواد مغذی و زنده ماندن در شرایط همیشه در حال تغییر محیط تکامل یافته‌اند.

آنالیز ژنوم سبب کشف واردکنندگان متعددی شد که سوبستراهای مشابه را درون یک موجود منتقل می‌کنند. مطالعات بر روی سیستم‌های مول و مود در گونه‌ی *H. influenza* نشان دهنده‌ی وجود همزمان سیستم انتقالی با میل ترکیبی بالا و پایین برای مولیبدات در برخی از موجودات بود. این پدیده در گونه‌ی *E. coli* نیز دیده شده، البته با اختصاصیت کمتر برای یک سوبسترا. در گونه، سیستم‌های انتقالی سیس، مود و یک سیستم انتقالی غیر اختصاصی برای انتقال مولیبدات و سولفات وجود دارد. در چندین موجود باکتریایی، حضور دو سیستم انتقال سولفات در اوپرون‌های متفاوت به اثبات رسیده است و این پیشنهاد اهمیت افزایش سیستم‌های جذب در برخی از باکتری‌ها را می‌دهد.

همچنین ما تنوع غیر منتظره‌ای در سوبستراهای متصل شونده به سیستم‌های انتقالی و SBP ها را یافتیم. اوپرون sap (sapABCDFZ) از گونه‌ی *Haemophilus influenza* (NTHI) واردکنندگانی را کد می‌کند که پپتیدهای ضد میکروبی (AMPs) را انتخاب کرده و به سیتوپلاسم منتقل می‌کند و قبل از تجمع در سلول آن‌ها را تخریب می‌کنند تا از آسیب‌های احتمالی که به سلول وارد می‌کنند در امان باشند. پروتئین اتصالی SapA قابلیت انتخاب هم و AMP را دارد که در محیط‌های کوچکی در سلول میزبان وجود دارند. همچنین بنظر می‌رسد که این مکانیسم در سایر باکتری‌ها نیز به صورت حفاظت شده وجود داشته باشد تا به آن‌ها کمک کند تحت استرس‌های

sina-pub.ir

محیطی زنده بمانند. این سیستم‌ها تنوع در شناسایی سوبسترا و همچنین تنوع احتمالی در کمپلکس‌های تشکیل شده میان SBP و دومین‌های تراغشایی را پیشنهاد می‌دهند.

با وجود اینکه در ابتدا گمان آن می‌رفت که واردکنندگان ABC به ازای هر انتقال دهنده از یک SBP در همان اوپرون استفاده می‌کنند، در حال حاضر ما مثال‌هایی از SBPهای ممتعدد در هر کمپلکس انتقالی دیده‌ایم. به عنوان مثالف وارد کننده‌ی GlnPQ از گونه‌های *E. faecalis* و *S. pneumonia* دارای SBPهای متعددی با شباهت بالای توالی آمینواسیدی هستند، اما در عین حال میل ترکیبی متفاوتی به گلوتامین دارند. به علاوه ایت SBPها می‌توانند با میل ترکیبی پایین به آسپاراژین متصل شوند که این نشان دهنده‌ی تنوع موجود در SBPها است که با سیستم‌های انتقالی مشابه در تعامل هستند.

همانطور که ما شروع به روشن کردن ساختاری و عملکردی سیستم‌های انتقال دهنده‌ی اضافی با ساختاری کلی متفاوتی درک کنونی خود کرده‌ایم، هنوز هم پتانسیل کشف تنوع بالاتری در میان سیستم‌های انتقالی وجود دارد. با حرکت به جلو درک ما از سیستم‌های انتقالی نه تنها به درک جزئیات ویژگی‌های متمایز کننده‌ی انتقال دهنده‌های نوع I و II و نقش سایز سوبسترا در مکانیسم انتقال بستگی دارد، بلکه آنالیزهای کلی سیستم‌های انتقالی در یم موجود نیز در این راه به کمک ما می‌آیند. تعدد در اجزای انتقال، چه به صورت سیستم‌های انتقالی تکراری و چه SBPهای متعددی که با انتقال دهنده‌های مشابه در تعامل هستند، همه سبب علکردهای چندگانه در این انتقال دهنده‌ها خواهد شد. از آنجائیکه جذب مواد مغذی به بقای باکتری و بیماری‌زایی آن مرتبط است، درک جزئیات فعل و انفعالات میان سیستم‌های انتقالی ضروری بنظر می‌رسد.