

درجه‌بندی اسیدهای آمینه از نقطه نظر میزان آب‌گریزی آنها

دکتر عنایت فروحی*

*استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان

تاریخ دریافت مقاله: ۸۵/۹/۱۹

تاریخ پذیرش: ۸۶/۷/۳

چکیده

مقدمه: آب‌گریزی ملکول‌ها عامل محرک بسیاری از آثار و پدیده‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی است. تاکنون تعداد زیادی درجه‌بندی آب‌گریزی برای اسیدهای آمینه پیشنهاد شده‌است. از این درجه‌بندی‌ها برای پیش‌بینی توپولوژی پروتئین‌ها استفاده می‌شود. هدف: در کار حاضر با توجه به بعضی ملاحظات نظری درجه‌بندی جدیدی برای آب‌گریزی اسیدهای آمینه ساخته می‌شود. مواد و روش‌ها: با این فرض که آب‌گریزی اسیدهای آمینه به عنوان جزئی از یک زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی بستگی به سطح جانبی ملکول و محتوای الکترونگاتیویته‌ی آن دارد، رابطه‌ای که آب‌گریزی را به سطح جانبی ملکول اسید آمینه و تعداد اتم‌های اکسیژن و نیتروژن والکترونگاتیویته‌ی اکسیژن و نیتروژن در ملکول اسید آمینه مربوط می‌سازد پیشنهاد شد و از روی آن اسیدهای آمینه از نقطه نظر آب‌گریزی درجه بندی شدند. به‌وسیله این درجه‌بندی با استفاده از روش متوسط‌گیری با پنجره‌ی لغزنده، منحنی آب‌گریزی گیرنده MeI_a ملاتونین انسان و پروتئین پرایون (عامل جنون گاوی) رسم شد. به کمک این منحنی‌ها ساختمان داخل‌غشایی گیرنده MeI_a ملاتونین و هسته‌ی آب‌گریز پروتئین پرایون معلوم و با نتایج موجود در مراجع مقایسه شد. نتایج: درجه‌بندی پیشنهاد شده در این کار با درجه‌بندی پیشنهاد شده توسط Engelman و همکارانش مطابقت دارد. ساختمان پیش‌بینی شده در این مقاله برای قسمت داخل‌غشایی گیرنده MeI_a ملاتونین انسان و هسته‌ی آب‌گریز پروتئین پرایون با آنچه در منابع مربوط است مطابقت بسیار دارد. نتیجه‌گیری: از درجه‌بندی پیشنهاد شده می‌توان برای پیش‌بینی توپوگرافی پروتئین‌های غشایی و پروتئین‌های توده‌ای شکل استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: آب‌گریزی / اسیدهای آمینه / پرایون‌ها / گیرنده‌ی ملاتونین

مقدمه

اسیدهای آمینه از نقطه نظر آب‌گریزی، یک مقدار عددی به عنوان شاخص آب‌گریزی به‌هر اسید آمینه نسبت داده می‌شود. تاکنون تعداد زیادی درجه‌بندی آب‌گریزی برای اسیدهای آمینه پیشنهاد شده‌است. ۲۸ مورد از آن‌ها در یک گزارش آمده‌است (۴). درجه‌بندی‌های سنتی در کتاب‌ها ارایه می‌شود (۳، ۱۹ و ۲۰).

اگرچه تنوع درجه‌بندی آب‌گریزی اسیدهای آمینه زیاد است، اما روش‌های به دست آوردن درجه‌بندی به چند تا محدود می‌شود که عبارتند از: (الف) روش تجربی با اندازه‌گیری میزان تقسیم اسیدهای آمینه بین فاز قطبی (آب) و فاز غیرقطبی، (ب) روش تخمین شیمی فیزیکی بر پایه‌ی تقسیم بین دو فاز و ملاحظات دیگر (۲۰ و ۲۴-۲۲) و (ج) ملاحظات آماری پروتئین‌هایی که دارای ساختمان شناخته شده هستند (۸، ۲۴ و ۲۵). یک

آب‌گریزی یعنی به‌هم پیوستن گروه‌های غیرقطبی ملکول‌ها در یک محیط آبی که این خود ناشی از تمایل آب به دور کردن گروه‌های غیرقطبی ملکول‌ها از خود است (۱). تعریف ساده‌ای از آب‌گریزی از روی ضریب تقسیم ماده‌ی مورد نظر بین دو فاز آبی و آلی نیز ارایه شده‌است (۲ و ۳). عمل متقابل آب‌گریزی دارای اهمیت نخست در سیستم‌های بیولوژیکی از جمله در پیچ و تاب خوردن پروتئین‌های توده‌ای شکل، به هم پیوستن زیر واحدهای پروتئین‌ها، جاگرفتن پروتئین‌های غشایی در غشاء، بندشدن ملکول‌های کوچک به پروتئین‌ها مثل بندشدن سوپسترا به جایگاه فعال آنزیم، انتقال ملکول‌ها در عرض غشاء، کنترل آب‌گریزی یون‌ها و غیره (۱۸-۴).

بحث در مورد آب‌گریزی سطوح و شکاف‌ها در پروتئین بر پایه‌ی آب‌گریزی اسیدهای آمینه است. در درجه‌بندی

مقاله رابطه‌ای پیشنهاد می‌شود که طی آن آب‌گریزی اسید آمینه به مساحت سطح ملکول و محتوای الکترونگاتیویته‌ی آن ارتباط داده می‌شود. درجه‌بندی به دست آمده برای اسیدهای آمینه از این رابطه با درجه‌بندی پیشنهاد شده توسط Engelman و همکارانش مقایسه می‌شود. چون درجه‌بندی حاضر براساس بعضی ملاحظات نظری فراهم شده‌است می‌تواند پیش زمینه‌ی نظری برای آب‌گریزی و توضیحی برای بعضی از درجه‌بندی‌های مهم از جمله درجه‌بندی Engelman و همکارانش فراهم سازد. بر اساس درجه‌بندی به دست آمده به کمک روش متوسط‌گیری با پنجره‌ی لغزنده منحنی آب‌گریزی برای گیرنده MeI_a ملاتونین انسان و پروتئین پرایون (عامل جنون گاوی) رسم می‌شود. نتایجی که از منحنی آب‌گریزی این دو پروتئین در رابطه با ساختمان آن‌ها به دست می‌آید با نتایج ارزیابی شده برای ساختمان آن‌ها در مراجع مربوط (۳۷ و ۳۸) مقایسه می‌شود.

مواد و روش‌ها

درجه‌بندی آب‌گریزی: آب‌گریزی به مساحت سطح مولکول (۳) و قطبی بودن آن (۱، ۲۹ و ۳۰) بستگی دارد. اثرهای پیوندهای قطبی به کمک اثر القایی در امتداد طول ملکول منتقل می‌شود. اثر القایی بستگی به تمایل ذاتی استخلاف‌ها به رهاسازی یا کشیدن الکترون یعنی الکترونگاتیویته دارد که با ایجاد قطبی‌های متوالی در امتداد ملکول عمل می‌نماید (۳۹ و ۴۰). بنابراین فرض می‌شود که آب‌گریزی به مساحت سطح ملکول، تعداد عناصر الکترونگاتیوتر از کربن و الکترونگاتیویته‌ی این عناصر بستگی دارد. با توجه به این مطالب رابطه‌ی زیر برای ارتباط بین این عوامل پیشنهاد می‌شود.

$$\text{رابطه ۱: } H\Phi = \frac{A}{(X_O)^{n_O} \cdot (X_N)^{n_N}}$$

که در آن $H\Phi$ عبارت است از شاخص آب‌گریزی، A عبارت است از مساحت سطح باقی‌مانده‌ی اسید آمینه

درجه‌بندی آب‌گریزی دوتایی برای تعیین توزیع آماری باقی‌مانده‌های اسیدهای آمینه در طول زنجیره‌های پروتئین به کار گرفته شده است (۲۶). این نوع درجه‌بندی استنباط‌هایی از نحوه‌ی پیچ‌وتاب‌خوردن پروتئین‌ها و سیر تکاملی پروتئین‌ها به دست می‌دهد. در گزارشی یک درجه‌بندی برای آب‌گریزی اسیدهای آمینه بر پایه‌ی آب‌گریزی اتم‌های متشکله اسیدهای آمینه ارائه شده است (۲۷). یک درجه‌بندی هم بر پایه‌ی آب‌گریزی نسبی گروه‌هایی مثل متیل، اتیل، هیدروکسیل و غیره ساخته شده است (۲۸).

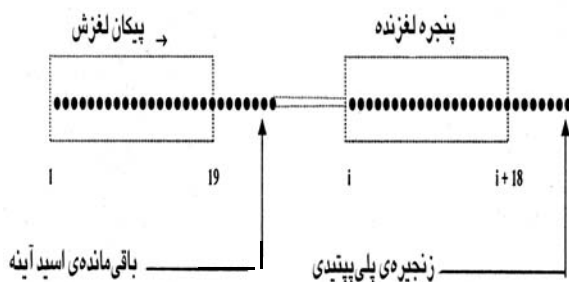
آب‌گریزی بستگی به مساحت سطح ملکول و محتوای دو قطبی آن دارد (۱، ۳، ۲۹ و ۳۰). سطح قابل دسترسی اسیدهای آمینه به عنوان جزئی از یک زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی تعیین شده است (۳۱) و اهمیت بارها و اعمال متقابل دو قطبی در ملکول پروتئین‌ها در یک گزارش دوره شده است (۳۲).

سهم آب‌گریزی اسیدهای آمینه در پپتیدهای کوچک به بعضی پارامترهای شیمی فیزیکی آنها مثل: وزن ملکولی، توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی، گشتاور دو قطبی و شاخصی که نشان‌دهنده حضور گروه آمین نوع اول در زنجیره‌ی جانبی می‌باشد ارتباط داده شده است (۳۳).

تشخیص قسمت‌هایی از پروتئین‌های غشائی که در داخل غشاء قرار می‌گیرند از روی بررسی درجه آب‌گریزی اسیدهای آمینه در امتداد طول زنجیره‌ی پروتئینی با دقت بسیار بالایی امکان‌پذیر است (۸، ۲۵، ۳۴ و ۳۵). یک روش برای تعیین قسمت‌های داخل غشایی پروتئین‌ها عبارت است از رسم منحنی آب‌گریزی که با رسم میزان متوسط آب‌گریزی ترادفی از اسیدهای آمینه برحسب موقعیت آن ترادف در زنجیره‌ی پپتیدی به دست می‌آید (۳۶). تعداد اسیدهای آمینه در این ترادف ۱۵ تا ۲۵ انتخاب می‌شود. در این

باقی‌مانده‌ی زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه و درجه‌بندی آنها از نظر آب‌گریزی استفاده کرد. برای این کار لازم است ابتدا مساحت سطح زنجیره‌های جانبی را به دست آورد. اگر مساحت سطح گلايسين از مساحت سطح اسید آمینه aa کم شود مساحت سطح باقی‌مانده‌ی زنجیره‌ی جانبی اسید آمینه aa به دست می‌آید. پس از تعیین مساحت سطح باقی‌مانده‌ی زنجیره‌ی جانبی از رابطه ۱ برای تعیین شاخص آب‌گریزی آن استفاده می‌کنیم.

رسم منحنی آب‌گریزی: برای رسم منحنی آب‌گریزی از روش متوسط‌گیری با پنجره‌ی لغزنده (۲۰ و ۸) استفاده می‌شود. اصول کلی این روش در شکل ۱ آمده است.



$$\text{متوسط آب‌گریزی} = \sum_i^{i+18} (H\Phi)_i / 19$$

که در آن $(H\Phi)_i$ عبارتست از آب‌گریزی باقی‌مانده‌ی i ام، به‌دست آمده از رابطه (۱)

شکل ۱. اصول روش متوسط‌گیری با پنجره‌ی لغزنده (۲۰ و ۸)

ضخامت غشاء به طور معمول حدود ۳۰ آنگسترم است که می‌تواند یک ماریپیج آلفا حاوی ۲۰ اسید آمینه را در خود جای دهد. برای گیرنده MeI_a ملاتونین انسان که پروتئینی غشایی است، طول پنجره لغزنده معادل ۱۹ اسید آمینه در نظر گرفته می‌شود و متوسط آب‌گریزی برای این نوزده اسید آمینه محاسبه می‌شود. بنابراین محاسبه روی اسیدهای آمینه‌ی ۱ تا ۱۹، ۲۰ تا ۳، ۲۱ و به طور کلی i تا $i + 18$ انجام می‌شود. متوسط

برحسب انگسترم مربع X_O ، X_N به ترتیب عبارتند از الکترون‌گاتیویته‌ی اتم‌های اکسیژن و نیتروژن. n_O و n_N به ترتیب عبارتند از تعداد اتم‌های اکسیژن و نیتروژن موجود در باقی‌مانده‌های اسید آمینه. از روی رابطه‌ی ۱ آب‌گریزی هرکدام از باقی‌مانده‌های اسیدهای آمینه محاسبه می‌شود. داده‌های مربوط به مساحت سطح باقی‌مانده‌های اسیدهای آمینه به عنوان جزئی از یک زنجیره‌ی پلی‌پپتیدی در منابع (۱۳، ۳۱ و ۴۱) موجود هستند. مقادیر الکترون‌گاتیویته‌ی عناصر را می‌توان از کتابهای درسی شیمی (۴۲) به دست آورد. مقادیر الکترون‌گاتیویته برای اکسیژن و نیتروژن در معیار پاولینگ Pauling به ترتیب برابر ۳ و ۳/۵ هستند.

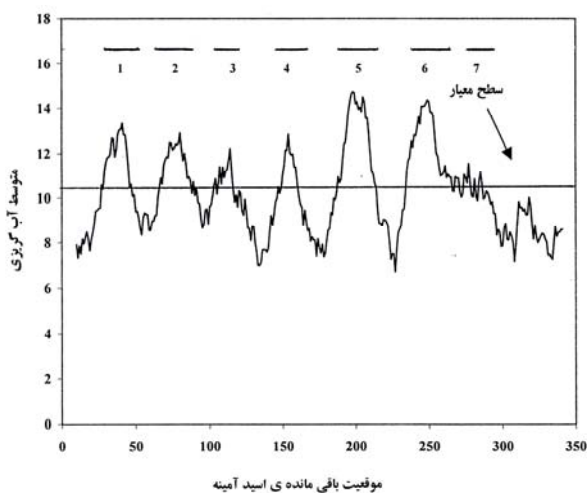
برای تعیین شاخص آب‌گریزی بعضی از مشتقات اسیدهای آمینه که در پروتئین‌ها وجود دارند نیز از رابطه ۱ استفاده می‌شود، ولی باید ابتدا مساحت سطح این مشتقات تعیین شود، به‌عنوان مثال برای تعیین مساحت سطح ۳-متیل‌هیستیدین لازم است که مساحت سطح گروه $-CH_2-$ را بدانیم. برای تعیین مساحت سطح گروه $-CH_2-$ کافی است که مساحت سطح اسید آسپارتیک را از مساحت سطح اسید گلوتامیک کم کرد. به این ترتیب مساحت سطح گروه $-CH_2-$ تعیین می‌شود. حال اگر مساحت سطح $-CH_2-$ به مساحت سطح هیستیدین اضافه شود، مساحت سطح ۳-متیل‌هیستیدین به دست می‌آید. به همین ترتیب از مساحت سطح اسیدهای آمینه می‌توان مساحت سطح گروه‌های هیدروکسی، کربوکسی، آمین و غیره را به دست آورد و مساحت سطح تعدادی از مشتقات اسیدهای آمینه را که در پروتئین‌ها موجود هستند حساب کرد. همان‌طور که گفته شد پس از تعیین مساحت سطح این مشتقات اسیدهای آمینه با استفاده از رابطه ۱ می‌توان شاخص آب‌گریزی آنها را تعیین کرد.

از رابطه ۱ می‌توان برای تعیین شاخص آب‌گریزی

آمینه ثبت می‌شود. این کار تا انتهای ترادف ادامه پیدا می‌کند. برای رسم منحنی آب‌گریزی هم برنامه‌ی ساده‌ای در مَتَلَب (MATLAB) نوشته شد. شکل ۶ با استفاده از paint از روی مُدل نواری ارائه شده (۳۸) به صورت مُدل سیلندر (برای ماریپیچ آلفا) و پیکان (برای صفحات پلیسه‌ای بتا) دوباره رسم شد. نتایج ساختاری به دست آمده از منحنی آب‌گریزی پروتئین پرایون (شکل ۵) با ساختمان این پروتئین در شکل ۶ مقایسه خواهد شد.

```
L-G-G-Y-M-L-G-S-A-M-S-R-P-I
|
E-R-Y-Y-R-D-E-Y-D-S-G-F-H-I
|
N-M-H-R-Y-P-N-Q-V-Y-Y-R-P-M
|
V-C-D-H-V-F-N-N-Q-N-S-Y-E-D
|
N-I-T-I-K-Q-H-T-V-T-T-T-T-K
|
R-E-M-M-K-V-D-T-E-T-F-N-E-G
|
V-V-E-Q-M-C-I-T-Q-Y-E-R-E-S
|
S-S-G-R-Q-Y-Y-A-Q
```

شکل ۳. ترادف اسیدهای آمینه در نیمه‌ی دوم پروتئین پرایون (۴۳).



شکل ۴. منحنی آب‌گریزی گیرنده‌ی MeI_{1a} ملاتونین انسان. خطوط شماره‌گذاری شده از ۱ تا ۷ نشان‌دهنده‌ی محل‌های ماریپیچ‌های داخل غشاء هستند که در (۳۷) پیشنهاد شده‌اند.

آب‌گریزی به ترتیب به اسیدهای آمینه‌ی ۱۰، ۱۱، ۱۲ و بطور کلی به $i+9$ نسبت داده می‌شود. بنابراین منحنی متوسط آب‌گریزی پنجره بر حسب عدد وسط پنجره رسم می‌شود. در مورد پروتئین پرایون (عامل جنون گاوی) چون در هر پیچ ماریپیچ آلفای آن تقریباً ۴ باقی‌مانده‌ی اسید آمینه وجود دارد، طول پنجره‌ی لغزنده معادل ۳ اسید آمینه محاسبه می‌شود و منحنی متوسط سه اسید آمینه‌ی داخل پنجره بر حسب عدد وسط پنجره رسم می‌شود. به این ترتیب منحنی آب‌گریزی برای دو پروتئین مذکور به دست می‌آید. ترادف اسیدهای آمینه برای پروتئین گیرنده MeI_{1a} ملاتونین انسان (۳۷) و برای پروتئین پرایون (PrP) انسان (۴۳) موجود است. این ترادف‌ها به ترتیب در شکل‌های ۲ و ۳ آمده‌اند.

```
NH2 - M-Q-G-N-G-S-A-L-P-N-A-S-Q-P-V-L-R-G
|
F-I-L-V-C-A-L-A-S-A-L-W-S-P-R-A-G-D
|
T-I-V-V-D-I-L-G-N-L-L-V-I-L-S-V-Y-R
|
A-V-A-L-S-V-V-F-I-N-G-A-N-R-L-K-K-N
|
D-L-V-V-A-I-Y-P-Y-P-L-V-L-M-S-I-F-N
|
G-M-L-F-G-S-V-Q-C-H-L-Y-G-L-N-W-G-N
|
L-S-V-I-G-S-I-F-N-I-T-G-I-A-I-N-R-Y
|
S-N-K-S-S-Y-L-K-D-Y-K-L-S-H-C-I-Y-C
|
L-C-Y-V-L-L-I-W-L-L-T-L-A-A-V-L-P-N
|
A-F-T-C-S-Y-I-R-P-D-Y-Q-L-T-G-A-R-L
|
Q-S-V-S-S-A-Y-T-I-A-V-V-V-F-H-F-L-Y
|
Q-L-V-L-I-W-I-R-L-Y-C-F-I-V-I-I-M-P
|
V-R-Q-R-V-K-P-D-R-K-P-K-L-K-P-Q-D-F
|
A-W-C-I-A-F-L-V-F-V-V-F-M-T-V-F-N-R
|
P-L-N-F-I-G-L-A-V-A-S-D-P-A-S-M-V-P
|
S-N-F-Y-A-M-Y-Y-S-A-V-F-L-W-E-P-I-R
|
C-L-N-A-I-I-Y-G-L-L-N-Q-N-F-R-K-E-Y
|
S-S-D-V-F-F-V-R-A-T-C-L-S-V-I-I-R-R
|
N-D-V-A-D-R-V-K-W-K-P-S-P-L-M-T-N-N
|
HOOC-V-S-D-V-K-V-V-N
```

شکل ۲. ترادف اسیدهای آمینه در گیرنده‌ی MeI_{1a} ملاتونین انسان (۳۷).

برنامه‌های کامپیوتری: برنامه‌ای به زبان بیسیک BASIC برای متوسط‌گیری به روش پنجره‌ی لغزنده نوشته و استفاده شد. در این برنامه با دادن علامت تک حرفی اسید آمینه از ترادف پروتئین مورد نظر (شکل ۲ و ۳) پنجره به اندازه‌ی یک اسید آمینه به جلو لغزیده و متوسط‌گیری انجام می‌شود و متوسط ($i+9$) آمین اسید

جدول ۱: شاخص آب گریزی باقی مانده های اسیدهای آمینه

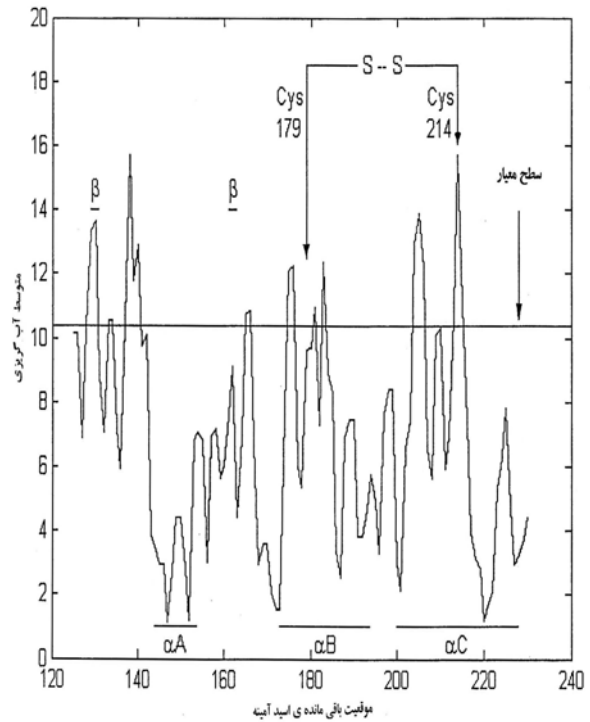
aa	n_O	n_N	A	HΦ
Phe	۱	۱	۲۱۰	۲۰/۰۰۰
Met	۱	۱	۱۸۵	۱۷/۶۲۰
Ile	۱	۱	۱۷۵	۱۶/۶۶۷
Leu	۱	۱	۱۷۰	۱۶/۱۹۰
Val	۱	۱	۱۵۵	۱۴/۷۶۲
Pro	۱	۱	۱۴۵	۱۳/۸۱۰
Cys	۱	۱	۱۳۵	۱۲/۸۵۷
Ala	۱	۱	۱۱۵	۱۰/۹۵۲
Trp	۱	۲	۲۵۵	۸/۰۹۵
Gly	۱	۱	۷۵	۷/۱۴۳
Lys	۱	۲	۲۰۰	۶/۳۵۰
Tyr	۲	۱	۲۳۰	۶/۲۵۹
Thr	۲	۱	۱۴۰	۳/۸۱۰
Ser	۲	۱	۱۱۵	۳/۱۲۹
His	۱	۳	۱۹۵	۲/۰۶۴
Gln	۲	۲	۱۹۰	۱/۷۲۳
Asn	۲	۲	۱۶۰	۱/۴۵۱
Glu	۳	۱	۱۸۰	۱/۴۰۰
Asp	۳	۱	۱۵۰	۱/۱۶۶
Arg	۱	۴	۲۲۵	۰/۷۹

aa: اسید آمینه n_O : تعداد اکسیژن در باقی مانده ی اسید آمینه
 n_N : تعداد نیتروژن در باقی مانده ی اسید آمینه
 A: سطح جانبی باقی مانده ی اسید آمینه بر حسب انگسترم مربع
 HΦ: آب گریزی باقی مانده ی اسید آمینه

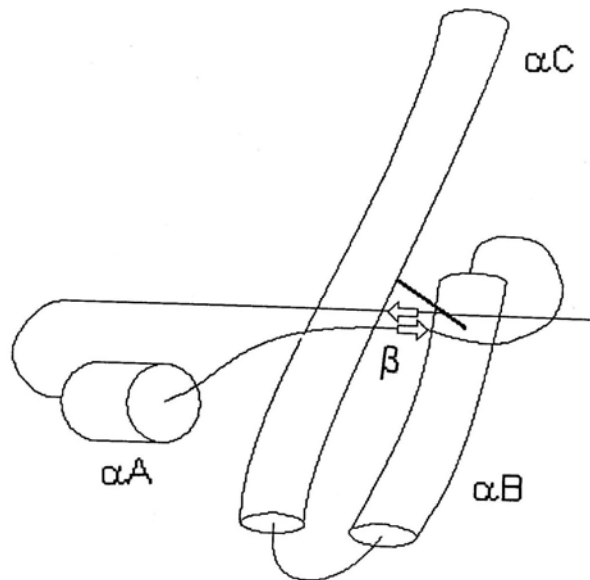
جدول ۲: مقایسه دو درجه بندی آب گریزی برای اسیدهای آمینه

کار حاضر		Engelman و همکاران [۲۳]	
		ΔG (Kcal/mol)	
Phe	۲۰/۰۰۰	Phe	۳/۷
Met	۱۷/۶۲۰	Met	۳/۴
Ile	۱۶/۶۶۷	Ile	۳/۱
Leu	۱۶/۱۹۰	Leu	۲/۸
Val	۱۴/۷۶۲	Val	۲/۶
Pro	۱۳/۸۱۰	Cys	۲/۰
Cys	۱۲/۸۵۷	Trp	۱/۹
Ala	۱۰/۹۵۲	Ala	۱/۶
Trp	۸/۰۹۵	Thr	۱/۲
Gly	۷/۱۴۳	Gly	۱/۰
Lys	۶/۳۵۰	Ser	۰/۶
Tyr	۶/۲۵۹	Pro	-۰/۲
Thr	۳/۸۱۰	Tyr	-۰/۷
Ser	۳/۱۲۹	His	-۳/۰
His	۲/۰۶۴	Gln	-۴/۱
Gln	۱/۷۲۳	Asn	-۴/۸
Asn	۱/۴۵۱	Glu	-۸/۲
Glu	۱/۴۰۰	Lys	-۸/۸
Asp	۱/۱۶۶	Asp	-۹/۲
Arg	۰/۷۹	Arg	-۱۲/۳

ΔG : انرژی آزاد انتقال



شکل ۵: منحنی آب گریزی نیمه ی دوّم پروتئین پرایون. αA ، αB ، αC ترادف سه ماریچ آلفا را نشان می دهند. که مربوط به صفحه ی پلیسه ای بتا است. جای پیوند دی سولفید بین دو سیستئین ۱۷۹ و ۲۱۴ نشان داده شده است



شکل ۶: ساختمان دوّم و سوّم نیمه ی دوّم پروتئین پرایون

نتایج

از رابطه ی پیشنهاد شده (رابطه ۱) شاخص آب گریزی ۲۰ اسید آمینه محاسبه و در جدول ۱ ارایه شده است.

Mel_{1a} پیشنهاد شده منحنی‌های آب‌گریزی گیرنده ملاتونین انسان و نیمه دوّم پروتئین پرایون مطابق روش ذکر شده در قسمت مواد و روش رسم و به ترتیب در شکل‌های ۴ و ۵ ارایه شده‌اند.

با همان رابطه شاخص آب‌گریزی بعضی از مشتقات اسیدهای آمینه‌ی موجود در بعضی پروتئین تعیین و در جدول ۴ آمده است. درجه‌بندی آب‌گریزی باقی‌مانده زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه که از رابطه ۱ محاسبه شده در جدول ۵ ارائه شده است. از درجه‌بندی

جدول ۳: مقایسه ی ترتیب اسیدهای آمینه از چند درجه‌بندی آب‌گریزی. از بالا به پایین آب‌گریزی کاهش می یابد

Tanford	Radzicka & Wofenden	Radzicka & Wofenden	Wertz & Scheraga	Engelman & coworkers	کارحاضر	نویسنده یا نویسندگان
۷	۸	۸	۶	۲۳		مرجع
Trp Ile Tyr Phe Pro Leu Val Lys His Met Ala Arg Cys Glu Asp Thr Ser Gly Asn Gln	Leu Ile Val Phe Met Trp Ala Cys Tyr Gly Thr Ser His Lys Gln Asn Glu Asp Arg	Trp Ile Leu Phe Val Met Cys Tyr Pro Ala Thr His Gly Ser Gln Asn Glu Asp Lys Arg	Phe Trp Cys Ile Leu Met Val His Tyr Ala Ser Arg Asn Gly Thr Glu Asp Pro Gln Lys	Phe Met Ile Leu Val Cys Ala Thr Ser Pro Tyr His Gln Asn Glu Lys Asp Arg	Phe Met Ile Leu Val Pro Cys Ala Trp Gly Lys Tyr Ser Thr Gln Asn Glu Asp Arg	ترتیب اسیدهای آمینه
اتانل به آب	اکتانول به آب	سیکلوهگزان به آب	ملاحظات آماری پروتئین‌ها	عشاء به آب	رابطه‌ی (۱)	سیستم یا منبع

جدول ۴: شاخص آب‌گریزی بعضی از مشتقات اسیدهای آمینه‌ی موجود در بعضی پروتئین‌ها

$H\Phi$	n_N	n_O	A	مشتق اسید آمینه
۰/۱۳۷	۳	۵	۲۱۵	γ - کربوکسی گلو تامیک اسید
۴/۴۹۰	۱	۲	۱۶۵	ϵ - هیدروکسی پرولین
۱/۸۱۴	۲	۲	۲۰۰	δ - هیدروکسی لایسین
۹/۲	۲	۱	۲۹۰	ϵ - N,N,N -تری متیل لایسین
۲/۵۴	۲	۲	۲۸۰	ϵ - N -استیل لایسین
۲/۳۸۱	۳	۱	۲۲۵	β - متیل هیستیدین

علائم اختصاری همان علائم اختصاری معرفی شده در جدول ۱

جدول ۵: مقایسه‌ی دو درجه‌بندی آب‌گریزی برای باقی مانده‌ی زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه

کار حاضر		Engelman و همکاران (محاسبه شده از جدول ۲) ΔG (Kcal/mol)	
Phe	۱۳۵/۰۰	Phe	۲/۷
Met	۱۱۰/۰۰	Met	۲/۴
Ile	۱۰۰/۰۰	Ile	۲/۱
Leu	۹۵/۰۰	Leu	۱/۸
Val	۸۰/۰۰	Val	۱/۶
Pro	۷۰/۰۰	Cys	۱/۰
Cys	۶۰/۰۰	Trp	۰/۹
Trp	۶۰/۰۰	Ala	۰/۶
Tyr	۴۴/۲۹	Thr	۰/۲
Pys	۴۱/۶۷	Ser	-۰/۴
Ala	۴۰/۰۰	Pro	-۱/۲
Thr	۱۸/۵۷	Tyr	-۱/۷
Ser	۱۷/۱۴	His	-۴/۰
His	۱۳/۸۹	Gln	-۵/۱
Gln	۱۰/۹۵	Asn	-۵/۸
Asn	۸/۱۰	Glu	-۹/۲
Glu	۸/۵۷	Lys	-۹/۸
Asp	۶/۱۲	Asp	-۱۰/۲
Arg	۵/۵۶	Arg	-۱۳/۳

ΔG : انرژی آزاد انتقال

بحث و نتیجه‌گیری

از درجه‌بندی Engelman و همکارانش هم‌آهنگی دارد این است که به هر حال در هر فاز سطح مؤثر باید به حداقل ممکن کاهش یابد.

موضوع درجه‌بندی کمی اسیدهای آمینه از نظر آب‌گریزی موضوعی بسیار بحث‌برانگیز است. گاهی درجه‌بندی‌های مختلف از نظر ترتیب اسیدهای آمینه کاملاً با هم فرق می‌کنند (جدول ۳). معلوم می‌شود که در درجه‌بندی‌های مختلف خواص متفاوتی از اسیدهای آمینه که کم و بیش به آب‌گریزی مربوط هستند مورد توجه بوده‌اند. درجه‌بندی پیشنهاد شده در این مقاله به‌طور اساسی با آنچه قبلاً به وسیله محققین پیشنهاد شده است فرق می‌کند. در این مقاله شاخص آب‌گریزی به یک خاصیت ملکولی (مساحت سطح ملکول اسید

شاخص آب‌گریزی بیست اسید آمینه به عنوان جزئی از زنجیره‌ی پپتیدی که از رابطه ۱ محاسبه شده است در جدول ۱ آمده است. در جدول ۲ درجه‌بندی آب‌گریزی حاصل از جدول ۱ با درجه‌بندی آب‌گریزی به دست‌آمده توسط Engelman و همکارانش مقایسه شده است. توافق خوبی بین ترتیب اسیدهای آمینه در این دو درجه‌بندی وجود دارد. در درجه‌بندی پیشنهاد شده توسط Engelman و همکارانش اسیدهای آمینه به عنوان جزئی از یک زنجیره‌ی ماریچ الفا که در غشاء جا گرفته است بر حسب انرژی آزاد انتقال (ΔG بر حسب کیلو کالری بر مول) از غشاء به آب مرتب شده‌اند، در رابطه ۱ را می‌توان سطح جانبی مؤثر تلقی کرد و علت اینکه $H\Phi$ از رابطه ۱ با ΔG

اثر متقابل بین زنجیره‌ی جانبی و گروه‌های کربوکسیل و آمین نیز گنجانده شده‌است. حال اگر اثر گروه‌های مشابه در اسیدهای آمینه یعنی گروه‌های کربوکسیل، آمین و کرین آلفا را حذف کنیم باید انتظار داشته باشیم که ترتیب درجه‌بندی باقی‌مانده‌های زنجیره‌های جانبی با ترتیب درجه بندی خوداسیدهای آمینه یکسان نباشد و این همان چیزی است که از رابطه ۱ حاصل می‌شود.

در شکل ۴ منحنی آب‌گریزی برای گیرنده‌ی Mel_{1a} ملاتونین انسان که مطابق آنچه در قسمت مواد و روش‌ها بیان شده به دست آمده‌است نشان داده شده‌است. این که چه قسمت‌هایی از زنجیره‌ی این گیرنده می‌تواند در غشا باشد به کمک آستانه تصمیم‌گیری یا سطح معیار (Criterion level) معلوم می‌شود. در شکل ۴ سطح معیار برابر است با متوسط شاخص‌های آب‌گریزی فنیل‌آلانین (آب‌گریزترین اسید آمینه) و آرژنین (آب دوست‌ترین اسید آمینه) یعنی متوسط ۲۰ و ۰/۷۹ که برابر است با ۱۰/۴. قله‌های مثبت در شکل ۴ نشان دهنده‌ی قسمت‌هایی از پروتئین هستند که در غشاء قرار دارند. همان طور که دیده می‌شود گیرنده‌ی Mel_{1a} ملاتونین دارای ۷ ناحیه‌ی غشایی است. در شکل ۴ نواحی پیشنهاد شده در (۳۷) با خطوط ضخیم افقی در بالای این منحنی مشخص شده‌اند. توافق بسیار خوبی بین نتایج به دست آمده از منحنی شکل ۴ و نتایج ارایه شده در (۳۷) مشاهده می‌شود.

در شکل ۵ منحنی آب‌گریزی برای نیمه دوم پروتئین پرایون (prion protein: عامل بیماری جنون‌گاو) که مطابق آنچه در قسمت مواد و روش‌ها گفته شد به دست آمده‌است. در این شکل سه ناحیه‌ی ماریپچ آلفا $(\alpha C, \alpha B, \alpha A)$ ، دو ناحیه‌ی کوچک پلیسه‌ای بتا و محل پیوند دی‌سولفید (برگرفته از مطالعات قبلی (۳۸)) مشخص شده‌اند. همان‌طور که در شکل ۵ دیده می‌شود.

آمینه) و به یک‌خاصیت عنصری (الکترونگاتیویته) در ملکول حل شده (اسید آمینه) ارتباط داده شده است. الکترون‌ها در ملکول حل شده آن چنان جا به جا می‌شوند که بار باقی مانده روی هر اتم صفر یا خیلی صفر شود. البته بار باقی‌مانده روی عناصر الکتروپوزیتیو کمی مثبت و روی عناصر الکترونگاتیو کمی منفی است (۴۲). همان‌طور که ذکر شد آثار القایی به تمایل ذاتی استخلاف‌ها در ملکول حل شده به رهاسازی یا کشیدن الکترون یعنی الکترونگاتیویته بستگی دارد که در امتداد طول ملکول عمل می‌نماید. اما عامل دیگری هم هست که آثار میدان نامیده می‌شود و عبارت است از عمل متقابل دو قطب‌های حاصل از پیوندهای قطبی از طریق فضا یا محیط اطراف (۴۰). با توجه به آثار میدان دلیل تفاوت درجه‌بندی‌های مختلف که به وسیله پژوهشگرهای مختلف که حلال‌های آلی متفاوتی را در مقابل آب مورد استفاده قرار داده‌اند مشخص می‌شود. در صورتی که پروتئین حاوی مشتقات اسیدهای آمینه باشد از مقادیر ارایه شده در جدول ۴ می‌توان برای رسم منحنی آب‌گریزی استفاده کرد.

در جدول شماره ۵ آب‌گریزی باقی‌مانده زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه به دست آمده از رابطه ۱ با مقادیر حاصل از یافته‌های Engelman و همکارانش مقایسه شده‌است. همان طور که دیده می‌شود در درجه‌بندی ارایه شده به وسیله Engelman و همکارانش درجه‌بندی باقی‌مانده زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه با درجه‌بندی اسیدهای آمینه یکسان است، اما در درجه‌بندی به دست آمده از رابطه ۱، درجه‌بندی باقی‌مانده‌ی زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه با درجه‌بندی اسیدهای آمینه یکسان نیست و اندکی فرق می‌کند. این بیانگر آن است که رابطه ۱ دارای انعطاف‌پذیری است. در رابطه ۱ اثر متقابل بین عناصر الکترونگاتیو گنجانده شده‌است، بنابراین به‌طور ضمنی

تعیین مراکز آب‌گریزی در پروتئین‌های توده‌ای شکل (مثل پروتئین پرایون) نیز به تعیین ساختمان آنها کمک می‌نماید. مشخص کردن ناحیه‌های آب‌گریز پروتئین‌های غشایی و مراکز آب‌گریز پروتئین‌های توده‌ای شکل به کمک رسم منحنی آب‌گریزی آنها انجام می‌شود. برای رسم منحنی آب‌گریزی لازم است که یک درجه‌بندی معتبر آب‌گریزی برای اسیدهای آمینه در دست باشد. براساس فرض‌های قابل تعدیل آروینی می‌توان یک درجه‌بندی آب‌گریزی معتبر برای اسیدهای آمینه فراهم کرد. این فرض‌ها عبارتند از این که آب‌گریزی اسید آمینه به سطح ملکول و به محتوای الکترونگاتیویته‌ی آن بستگی دارد. با استفاده از یک چنین درجه‌بندی (رابطه‌ی ۱ و جدول ۱) برای اسیدهای آمینه به کمک رسم منحنی آب‌گریزی ارتباط ساختمان سه بعدی و ترادف اسیدهای آمینه را می‌توان آشکار ساخت.

پیوند دی سولفیدین زنجیره‌های جانبی دو سیستمین ۱۷۹ و ۲۱۴ دو ناحیه‌ی آب‌گریز از مارپیچ‌های B و C را به هم نزدیک می‌کند و یک هسته‌ی آب‌گریز به وجود می‌آورد. صفحه‌ی پلیسه‌ای بتا (شامل دو قسمت) که ناحیه‌ی کوچکی را تشکیل می‌دهد به طور عمده آب‌گریز است. و بنابراین باید نزدیک مرکز آب‌گریز ذکر شده در بالا قرار گیرد. مارپیچ αA کاملاً آب‌دوست است و باید دور از مرکز آب‌گریز باشد. این نتایج که می‌تواند از منحنی آب‌گریزی پروتئین پرایون به دست آید با ساختمانی که برای نیمه‌ی دوم پروتئین پرایون گزارش (۳۸) شده (شکل ۶) کاملاً مطابق است. عمل متقابل آب‌گریزی اهمیت زیادی در سیستم بیولژیکی دارد. مسئله‌ی مهم در تخمین توپوگرافی پروتئین‌های غشایی (مثل گیرنده‌ها) مشخص کردن ناحیه‌هایی از این پروتئین است که درغشاء قرار دارند.

منابع

1. Smith, DA, Waterbeemed Han Vande , Walker DK. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design , Medicinal Chemistry. Vol.13. Toronto: Wiley - VCH, 20001: 1-13.
2. Ben - Naim A. Statistical Thermodynamics for Chemists and Biochemists. NewYork; Plenum Press. 1992: 502-503.
3. Finkelstein AV, Ptitsyn OB. Protein Physics. London; Academic Press, 2002.
4. Carug O. Prediction of Polyepitope Fragments Exposed to the Solvent. In Silico Biology 2003; 3:0035.
5. Konieczny L, Brylinski M , and Roterman I, Gauss - Function - Based Model of Hydrophobicity Density in Proteins. In Silico Biology 2006; 6: 0002.
6. Eriksson KO. Hydrophobic Interaction Chromatography. in: Janson JC, Rydes L. Protein Purification. Toronto; Wiley - VCH - Liss, 1998; 283-309.
7. Kisliuk RL. Amino Acids, Peptides and Proteins. In: Foye WO. Principles of Medicinal Chemistry. 2 nd edition. Philadelphia; Lea and Febiger, 1981; 613-637.
8. White SH. Hydropathy Plots and the Prediction of Membrane Protein Topology. In: White SH. Membrane Protein Structure. Oxford; Oxford University Press; 1994; 97-124.
9. Ferre F, From Sequence to Structure. In: Cabibbo A, Grant RP, Helmer -Citterich M. Internet for Cell and Molecular Biologists. Norfolk (UK); Horizon Scientific Press, 2002; 233- 309.
10. Hebrant M, Tondre C. Liquid Membrane Transport of Amino Acids Mediated by Reverse Micelles. Analyt Sci 1998; 14: 109-115.
11. Green SM, Meeker AK, and Shortle D. Contribution of the Polar, Uncharged Amino Acids to the Stability of Staphylococcal Nucleuse. Biochem 1992; 31: 5717-5728.
12. Beschiaschvili G, Seeling J. Peptide Binding to Lipid Bilayer, Nonclassical Hydrophobic Effect and Membrane - Induced PK Shifts. Biochem 1992; 31: 10044-10053.
13. Copeland RA. Enzyme. 2nd edition. Toronto; Wiley - VCH, 2000: 62-63.
14. Vila A, Ripoll DR , Villegas ME , Vorobjev YN, Sheraga HA. Role of Hydrophobicity and Solvent Mediated Charge - Charge Interaction in

- Stabilizing Alpha Helices. *Biophys J* 1998; 75: 2637-2646.
15. Johanson G. Partitioning of Proteins. In: Walker H, Brooks DE, Fisher D. Partitioning in Aqueous Two Phase Systems. London: Academic Press, 1985: 161-226.
 16. Chittchang M, Alurr HH, Mitra AK, Johnson TP. Poly (L - Lysine) as a Model Drug Macromolecule with which to Investigate Secondary Structure and Membrane Transport. *J Pharm pharmacol* 2002; 54: 315-320.
 17. Nagano N, Ota M, Nishikawa K. Strong Hydrophobic Nature of Cysteine Residues in Proteins. *FEBS Lett* 1999; 458: 69-71.
 18. Connors K. A Textbook of Pharmaceutical Analysis. Toronto: John Wiley and sons, 1982: 352-353.
 19. Volkenshtein MV. Biophysics. Moscow; Mir Publishers, 1983: 114-119.
 20. Mathews CK, Van Hole KE, Ahren KG. Biochemistry. San Francisco; Addison Wesley Longman Inc, 2000.
 21. Shallenberger RS. Taste Chemistry. London; Blackie Academic Professional, 1993: 219-220.
 22. Kyte J, Doolittle RF. A Simple Method for Displaying the Hydrophobic Character of a Protein. *J Mol Biol* 1982; 157: 105-132.
 23. Engelman DM, Steitz TA, Goldman A. Identifying Transbilayer Helices in Amino Acid Sequences of Membrane Proteins. *Annu Rev Biophys Chem* 1986; 15: 321-353.
 24. Edelman J, White SH. Linear Optimization of Predictors for Secondary Structure - Application to Transbilayer Segments of Membrane Proteins. *J Mol Biol* 1989; 210: 195-209.
 25. Pilpel Y, Ber - Tal N, Lancet D. Knowledge Based Scale for The Propensity of Residue Orientation in Transmembrane Segments. *J Mol Biol* 1999; 57: 921-933.
 26. White SH, Jacobs RE. Statistical Distribution of Hydrophobic Residues Along the Length of Protein Chains. *Biophys J* 1990; 57: 911-921.
 27. Eisenberg D, McLahan AD. Solvation Energy in Protein Folding and Binding. *Nature* 1986; 319: 199-203.
 28. Lesser GS, Rose GD. Hydrophobicity of Amino Acid Subgroups in Proteins. *Proteins* 1990; 8: 6-13.
 29. Schulz GE, Schirmer RH. Principles of Protein Structure. Berlin; Springer-verlag 1979; 12-13.
 30. Holder AJ, Ye L, Yourtree DM, Agarwal A, Eick DJ, Chappelow CC. An Application of the QM - QSAR Method to Predict and Rationalise Lipophilicity of Simple Monomers. *Dent Mater* 2005; 591-598.
 31. Zielenkiewicz P, Saenger W. Residue Solvent Accessibilities in the Unfolded Polypeptide Chain. *Biophys J* 1992; 63: 1483-1486.
 32. Demchenko AP. Fluorescence Analysis of Protein Dynamics, In: Marshale RD, Tipton KF. Essays in Biochemistry. Toronto; Academic Press, 1986; 22: 120-157.
 33. Shiue PD, Lien EJ. Correlation of Physicochemical Parameters to the Hydrophobic Contribution Constants of Amino Acids Residues in Small Peptides. *Pharms Res* 1996; 13(8): 1191-1195.
 34. White SH, Ladokhin AS, Jayasinghe S, Hristova K. How Membrane Shape Protein Structure. *J Biol Chem* 2001; 279: 32395-32398.
 35. Jayasinghe S, Hristova K, White SH. Energetics, Stability, and Prediction of Transmembrane Helices. *J Mol Biol* 2001; 312: 927-934.
 36. Varaidi A, Tusnady GE, Sarkadi B. Membrane Topology of the Human ABC Transporter Proteins. In: Holland IB, Cole SPC, Kucher K, Higgins CF. ABC Proteins. Paris: Academic Press; 2000: 37-46.
 37. Reppert SM, Weaver DR, Godson C. Melatonin Receptors Step in to the Light. *Trends in Pharmacological Science* 1996; 17: 100-102.
 38. Govaerts C, Wille H, Prusiner SB, Chohen FE. Structural studies of prion protein In: Prusiner SB. Prion Biology and Diseases. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004; 243- 282.
 39. Morrison RT, Boyd RN. Organic Chemistry. 4th edition. London: Allyn and Balon Inc, 1983: 235.
 40. Carey FA, Sundberg RJ. Advanced Organic Chemistry. London; Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000: 18.
 41. Sing J, Thorton M. Atlas of Protein Chain Interaction. Oxford; IRL Press (Oxford University Press), 1992: 6-9.
 42. Sethi M, Satake M. Principles of Inorganic Chemistry. New Delhi; South Asian Publishers, 1995.
 43. Giles K, Prusiner SB. Prion Protein (PrP) and Doppel (Dpl) Sequences. In: Prusiner SB. Prion Biology and Diseases. New York; Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2004: 1023-1032.
 44. Karshikoff A. Non - covalent Interactions in Proteins. London; Imperial College Press, 2006: 91-128.

A Hydrophobicity Scale for the Amino Acids

Forouhi E.(Ph.D)

Abstract

Introduction: The hydrophobic interaction is a major driving force behind many effects and phenomena in biological systems many hydrophobicity scales have already been proposed and have been used to predict the topography of proteins.

Objective: In the present work based on some theoretical considerations a new hydrophobic scale for the amino acids is proposed.

Materials and Methods: From the empirically justified assumptions that hydrophobicity of the amino acid residues as part of a polypeptide chain is dependent on the surface area and the electronegativity content of the residues, an equation which relates the hydrophobicity to the surface area; and the number, and electro negativity of oxygen and nitrogen of the residue is proposed. From this equation a new hydrophobicity scale for the amino acids is obtained. Using this scale and a sliding window averaging method hydrophobicity plots for the human melatonin Mel_{1a} receptor and prion protein (the cause of mad cow disease) are drawn; and the intramembrane structure of melatonin Mel_{1a} receptor and hydrophobic core of the second half of the prion protein are determined and compared with those from literatures.

Results: the proposed hydrophobicity scale in this work is in good agreement with that of Engelmann and coworkers. The intramembrane structure of melatonin Mel_{1a} receptor and the structure of the hydrophobic core of the prion protein predicted in this article are in good agreement with those proposed in the literatures.

Conclusion: the proposed hydrophobicity scale in this work is suitable for predicting the topography of the transmembrane and globular proteins.

Key words: Amino Acids/ Hydrophobicity/ Prions/ Receptors, Melatonin