

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 محرك بسیاری از آثار و پدیده‌ها در سیستم‌های بیولوژیکی است. تاکنون تعداد زیادی درجه‌بندی آب‌گریزی برای اسیدهای آمینه پیشنهاد شده است. از این درجه‌بندی‌ها برای پیش‌بینی توبوژی 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 جزوی از یک زنجیره‌ی پلی‌پیتدی بستگی به سطح جانبی ملکول و محتوای الکتروناتیویته آن دارد، رابطه‌ای که آب‌گریزی را به سطح جانبی ملکول اسید آمینه و تعداد اتم‌های اکسیژن و نیتروژن والکتروناتیویته اکسیژن و نیتروژن در ملکول اسید آمینه مربوط می‌سازد پیشهاد شد و از روی آن اسیدهای آمینه از نقطه نظر آب‌گریزی درجه‌بندی شدند. بدوسیله این درجه‌بندی با استفاده از روش متوسط‌گیری با پنجره‌ی لغزندۀ ملأتونین گیرنده MeI_{1a} ملاتونین انسان و پروتئین پرایون (عامل جنون گاوی) رسم شد. به کمک این منحنی‌ها ساختمان داخل غشایی گیرنده MeI_{1a} ملاتونین و هسته‌ی آب‌گریز پروتئین پرایون معلوم و با نتایج موجود در مراجع مقایسه شد.

نتایج: درجه‌بندی پیشهاد شده در این کار با درجه‌بندی پیشهاد شده توسط Engelman و همکارانش مطابقت دارد. ساختمان پیش‌بینی شده در این مقاله برای قسمت داخل غشایی گیرنده MeI_{1a} ملاتونین انسان و هسته‌ی آب‌گریز پروتئین پرایون با آنچه در منابع مربوط است مطابقت بسیار دارد.

نتیجه‌گیری: از درجه‌بندی پیشهاد شده می‌توان برای پیش‌بینی توبوگرافی پروتئین‌های غشایی و پروتئین‌های توده‌ای شکل استفاده کرد.

کلید واژه‌ها: آب‌گریزی / اسیدهای آمینه / پریون‌ها / گیرنده 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 شده است.^{۲۸} مورد از آن‌ها در یک گزارش آمده است.^(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 تحریبی 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 و ^{۲۵}).[.] یک

آب‌گریزی یعنی بهم پیوستن گروه‌های غیرقطبی ملکول‌ها در یک محیط آبکی که این خود ناشی از تمایل آب به دورکردن گروه‌های غیرقطبی ملکول‌ها از خود است^(۱). تعریف ساده‌ای از آب‌گریزی از روی ضربی تقسیم ماده‌ی مورد نظر بین دو فاز آبکی و آلی نیز ارایه شده است^{(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 سویسترا به جایگاه فعال آنزیم، انتقال ملکول‌ها در عرض غشاء، کنترل آب‌گریزی یون‌ها و غیره^{(۴) – (۱۸)}.

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 شده است می‌تواند پیش زمینه‌ی نظری برای آب‌گریزی و توضیحی برای بعضی از درجه‌بندی‌های مهم از جمله درجه‌بندی Engelman و همکارانش فراهم سازد. بر اساس درجه‌بندی بدست آمده به کمک روش متوسط‌گیری با پنجره‌ی لغزندۀ منحنی آب‌گریزی برای گیرنده M_{la} 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 ارایه شده برای ساختمان آن‌هادر 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 متواالی در امتداد ملکول عمل می‌نماید (۴۰ و ۳۹). بنابراین فرض می‌شود که آب‌گریزی به مساحت سطح ملکول، تعداد عناصر الکترونگاتیویتر از کربن و الکترونگاتیویته 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 نحوه پیچ و تاب خوردن پروتئین‌ها و سیر تکاملی پروتئین‌ها به دست می‌دهد. در گزارشی یک درجه‌بندی برای آب‌گریزی اسیدهای آمینه بر پایه‌ی آب‌گریزی اتم‌های متشكله اسیدهای آمینه ارایه شده است (۲۷). یک درجه‌بندی هم بر پایه‌ی آب‌گریزی نسبی گروه‌هایی مثل متیل، اتیل، هیدروکسیل و غیره ساخته شده است (۲۸).

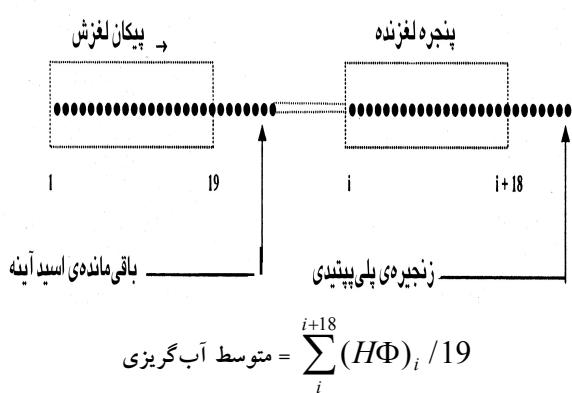
آب‌گریزی بستگی به مساحت سطح ملکول و محتوای دوقطبی آن دارد (۱، ۳ و ۲۹). سطح قابل دسترسی اسیدهای آمینه به عنوان جزئی از یک زنجیره‌ی پلی‌پیتیدی تعیین شده است (۳۱) و اهمیت بارها و اعمال متقابل دو قطبی در ملکول پروتئین‌ها در یک گزارش دوره شده است (۳۲).

سهیم آب‌گریزی اسیدهای آمینه در پیتیدهای کوچک به بعضی پارامترهای شیمی فیزیکی آنها مثل: وزن ملکولی، توانایی تشکیل پیوند هیدروژنی، گشتاور دوقطبی و شاخصی که نشان‌دهنده حضور گروه آمین نوع اوّل 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 غشائی پروتئین‌ها عبارت است از رسم منحنی آب‌گریزی که با رسم میزان متوسط آب‌گریزی ترادفی از اسیدهای آمینه بر حسب موقعیت آن ترادف در زنجیره‌ی پیتیدی 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 آب گریزی استفاده کرد. برای این کار لازم است ابتدا مساحت سطح زنجیره‌ای جانبی را به دست آورد. اگر مساحت سطح گلایسین 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 آب گریزی آن استفاده می‌کنیم.

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



که در آن $(H\Phi)_i$ عبارتست از آب گریزی باقی‌مانده‌ی آم، به دست آمده از رابطه (۱)

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

ضخامت غشاء به طور معمول حدود ۳۰ آنگستروم است که می‌تواند یک مارپیچ آلفا حاوی ۲۰ اسید آمینه را در خود جای دهد. برای گیرنده MeI_{1a} ملاتونین انسان که پروتئینی غشایی است، طول پنجره لغزنده معادل ۱۹ اسید آمینه در نظر گرفته می‌شود و متوسط آب گریزی برای این نوزده اسید آمینه محاسبه می‌شود. بنابراین محاسبه روی اسیدهای آمینه ۱ تا ۱۹، ۲۰ تا ۳، ۲۰ تا ۲۱ و به طور کلی ۱ تا ۱۸ + ۱ انجام می‌شود. متوسط

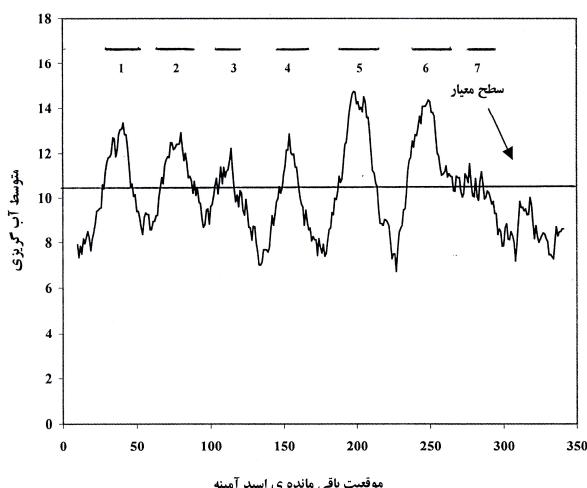
بر حسب انگستروم مریع. X_O ، X_N به ترتیب عبارتند از الکترونگاتیویته‌ی اتم‌های اکسیژن و نیتروژن. n_O و n_N به ترتیب عبارتند از تعداد اتم‌های اکسیژن و نیتروژن موجود در باقی‌مانده‌های اسید آمینه. از روی رابطه‌ی ۱ آب گریزی هر کدام از باقی‌مانده‌های اسیدهای آمینه محاسبه می‌شود. داده‌های مربوط به مساحت سطح باقی‌مانده‌های اسیدهای آمینه به عنوان جزئی از یک زنجیره‌ی پلی پپتیدی 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 $\frac{3}{5}$ هستند.

برای تعیین شاخص آب گریزی 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، به عنوان مثال برای تعیین مساحت سطح ۳-متیل‌هیستیدین لازم است که مساحت سطح گروه $-\text{CH}_2-$ را بدانیم. برای تعیین مساحت سطح گروه $-\text{CH}_2-$ کافی است که مساحت سطح اسید آسپارتیک را از مساحت سطح اسید گلوتامیک کم کرد. به این ترتیب مساحت سطح گروه $-\text{CH}_2-$ تعیین می‌شود. حال اگر مساحت سطح $-\text{CH}_2-$ 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 آب گریزی آنها را تعیین کرد. از رابطه ۱ می‌توان برای تعیین شاخص آب گریزی

آمینه ثبت می شود. این کار تا انتهای ترافق ادامه پیدامی کند. برای رسم منحنی آب گریزی هم برنامه ساده ای در متلب (MATLAB) نوشته شد. شکل ۶ با استفاده از paint از روی مدل نواری ارائه شده (۳۸) به صورت مدل سیلندر (برای مارپیچ آلفا) و پیکان (برای صفحات پلیسه ای بتا) دوباره رسم شد. نتایج ساختاری به دست آمده از منحنی آب گریزی پروتئین پرايون (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. ترافق اسیدهای آمینه در نیمه دوم پروتئین پرايون (۴۳).



شکل ۴. منحنی آب گریزی گیرنده MeI_{1a} ملاتونین انسان. خطوط شماره گذاری شده از ۱ تا ۷ نشان دهنده محل های مارپیچ های داخل غشاء هستند که در (۳۷) پیشنهاد شده اند.

آب گریزی به ترتیب به اسیدهای آمینه ۱۲، ۱۱، ۱۰ و بطور کلی به $i+9$ نسبت داده می شود. بنابراین منحنی متوسط آب گریزی پنجره بر حسب عدد وسط پنجره رسم می شود. در مورد پروتئین پرايون (عامل جنون گاوی) چون در هر پیچ مارپیچ آلفای آن تقریباً ۴ باقی مانده ای اسید آمینه وجود دارد، طول پنجره لغزندۀ معادل ۳ اسید آمینه محاسبه می شود و منحنی متوسط سه اسید آمینه داخل پنجره بر حسب عدد وسط پنجره رسم می شود. به این ترتیب منحنی آب گریزی برای دو پروتئین مذکور به دست می آید. ترافق اسیدهای آمینه برای پروتئین گیرنده MeI_{1a} ملاتونین انسان (۳۷) و برای پروتئین پرايون (PrP) انسان (۴۳) موجود است. این ترافقها به ترتیب در شکل های ۲ و ۳ آمده اند.

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 - N - N

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

برنامه های کامپیوتری: برنامه ای به زبان بیسیک BASIC برای متوسط گیری به روش پنجره لغزندۀ نوشته و استفاده شد. در این برنامه با دادن علامت تک حرفی اسید آمینه از ترافق پروتئین مورد نظر (شکل ۲ و ۳) پنجره به اندازه یک اسید آمینه به جلو لغزیده و متوسط گیری انجام می شود و متوسط $(i+9)$ امین اسید

جدول ۱: شاخص آب گریزی باقی ماندهای اسیدهای آمینه

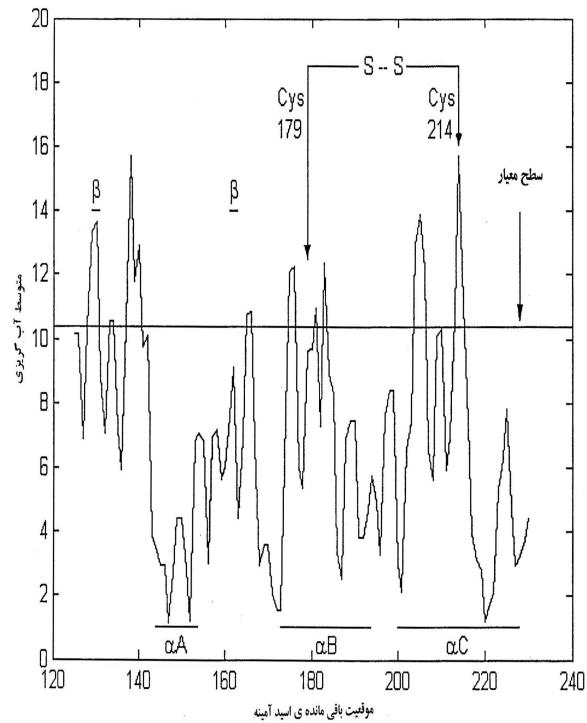
<i>aa</i>	<i>n_O</i>	<i>n_N</i>	<i>A</i>	<i>HΦ</i>
Phe	۱	۱	۲۱۰	۲۰/۰۰۰
Met	۱	۱	۱۸۵	۱۷/۶۲۰
Ile	۱	۱	۱۷۰	۱۶/۶۶۷
Leu	۱	۱	۱۷۰	۱۶/۱۹۰
Val	۱	۱	۱۰۰	۱۴/۷۶۲
Pro	۱	۱	۱۴۵	۱۳/۸۱۰
Cys	۱	۱	۱۳۰	۱۲/۸۵۷
Ala	۱	۱	۱۱۰	۱۰/۹۵۲
Trp	۱	۲	۲۰۰	۸/۰۹۰
Gly	۱	۱	۷۰	۷/۱۴۳
Lys	۱	۲	۲۰۰	۷/۳۵۰
Tyr	۲	۱	۲۳۰	۶/۲۵۹
Thr	۲	۱	۱۴۰	۳/۸۱۰
Ser	۲	۱	۱۱۰	۳/۱۲۹
His	۱	۳	۱۹۰	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	۲۲۰	۰/۷۹

اسید آمینه: *n_O*: تعداد اکسیژن در باقی مانده اسید آمینه

تعداد نیتروژن در باقی مانده اسید آمینه: *n_N*

سطح جانبی باقی مانده اسید آمینه بر حسب انگسترم مربع: *A*

آب گریزی باقی مانده اسید آمینه: *HΦ*



شکل ۵: منحنی آب گریزی نیمه‌ی دوم پروتئین پرايون.

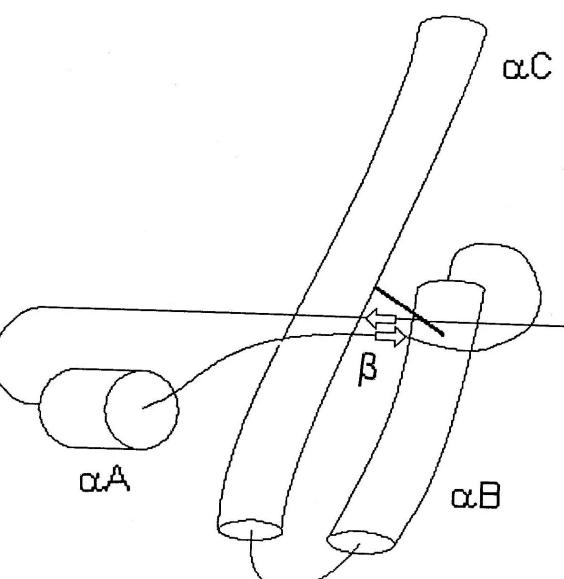
α B، α A ترادف سه مارپیچ آلفا را نشان می‌دهند. که مربوط به صفحه‌ی پلیسه‌ای بتا است. جای پیوند دی‌سولفید بین دو سیستین

۱۷۹ و ۲۱۴ نشان داده شده است

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

کار حاضر	Engelman و همکاران [۲۳] ΔG (Kcal/mol)
Phe	۲۰/۰۰۰
Met	۱۷/۶۲۰
Ile	۱۶/۶۶۷
Leu	۱۶/۱۹۰
Val	۱۴/۷۶۲
Pro	۱۳/۸۱۰
Cys	۱۲/۸۵۷
Ala	۱۰/۹۵۲
Trp	۸/۰۹۰
Gly	۷/۱۴۳
Lys	۷/۳۵۰
Tyr	۶/۲۵۹
Thr	۳/۸۱۰
Ser	۳/۱۲۹
His	۲/۰۶۴
Gln	۱/۷۲۳
Asn	۱/۴۵۱
Glu	۱/۴۰۰
Asp	۱/۱۶۶
Arg	۰/۷۹

ΔG : انرژی آزاد انتقال



شکل ۶: ساختمان دوم و سوم نیمه‌ی دوم پروتئین پرايون

نتایج

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

Mel_{1a} پیشنهاد شده منحنی‌های آب‌گریزی گیرنده ملاتونین انسان و نیمه دوام 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 آمینه 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: مقایسه‌ی ترتیب اسیدهای آمینه از چند درجه‌بندی آب‌گریزی. از بالا به پایین آب‌گریزی کاهش می‌یابد

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

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

HΦ	n _N	n _O	A	مشتق اسیدآمینه
۰/۱۳۷	۳	۵	۲۱۵	۷ - کربوکسی گلوتامیک اسید
۴/۴۹۰	۱	۲	۱۶۵	۴ - هیدروکسی پرولین
۱/۸۱۴	۲	۲	۲۰۰	۵ - هیدروکسی لايسين
۹/۲	۲	۱	۲۹۰	-N,N,N-E
۲/۵۴	۲	۲	۲۸۰	N-E-استيل لايسين
۲/۳۸۱	۳	۱	۲۲۵	۳ - متيل هيسپيدين

علام اختصاری همان علام اختصاری معرفی شده در جدول ۱

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

کار حاضر		Engelman و همکاران (محاسبه شده از جدول ۲)	
	ΔG (Kcal/mol)		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	۷/۱۲	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 آب گریزی موضوعی بسیار بحث برانگیز 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 آب گریزی مربوط هستند مورد توجه بوده‌اند. درجه‌بندی پیشنهاد شده در این مقاله به طور اساسی با آنچه قبلًا به وسیله محققین پیشنهاد شده است فرق می‌کند. در این مقاله شاخص آب گریزی به یک خاصیت ملکولی (مساحت سطح ملکول اسید

شاخص آب گریزی 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 آب گریزی حاصل از جدول ۱ با درجه‌بندی آب گریزی به دست آمده 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 مارپیچ 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، $H\Phi$ در رابطه ۱ را می‌توان سطح جانبی ΔG مؤثر تلقی کرد و علت اینکه $H\Phi$ از رابطه ۱ با

اثر متقابل بین زنجیره‌ی جانبی و گروههای کربوکسیل و آمین نیز گنجانده شده است. حال اگر اثر گروههای مشابه در اسیدهای آمینه یعنی گروههای کربوکسیل، آمین و کربن آلفا را حذف کنیم باید انتظار داشته باشیم که ترتیب درجه‌بندی باقی‌مانده‌های زنجیره‌های جانبی با ترتیب درجه‌بندی خود اسیدهای 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 آمده است نشان داده شده است. 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 فنی‌آلانین (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 دهنده 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 جنون‌گاوی) که مطابق آنچه در قسمت مواد و روش‌ها گفته شد به دست آمده است. در این شکل سه ناحیه‌ی مارپیچ 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 یک خاصیت 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 باقی مانده 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 دوقطبی‌های 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 شده است. همان‌طور 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 باقی‌مانده 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 شده است، بنابراین به‌طور ضمنی

تعیین مراکز آب گریزی در پروتئین‌های توده‌ای شکل (مثل پروتئین پرایون) نیز به تعیین ساختمان آنها کمک می‌نماید. مشخص کردن ناحیه‌های آب گریز پروتئین‌های غشایی و مراکز آب گریز پروتئین‌های توده‌ای شکل به کمک رسم منحنی آب گریزی آن‌ها انجام می‌شود. برای رسم منحنی آب گریزی لازم است که یک درجه‌بندی معتبر آب گریزی برای اسیدهای آمینه در دست باشد. براساس فرض‌های قابل تعدیل آروینی می‌توان یک درجه‌بندی آب گریزی معتبر برای اسیدهای آمینه فراهم کرد. این فرض‌ها عبارتند از این که آب گریزی 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 آب گریزی ارتباط ساختمان سه بعدی و ترافق اسیدهای آمینه را می‌توان آشکار ساخت.

پیوند دی سولفیدین زنجیره‌های جانبی دو سیستئن ۲۱۴ و ۱۷۹ دو ناحیه‌ی آب گریز از مارپیچ‌های B و C را به هم نزدیک می‌کند و یک هسته‌ای آب گریز به وجود می‌آورد. صفحه‌ی پلیسه‌ای بتا (شامل دو قسمت) که ناحیه‌ی کوچکی را تشکیل می‌دهد به طور عمده آب گریز است. و بنابراین باید نزدیک مرکز آب گریز ذکر شده در بالا قرار گیرد. مارپیچ α A کاملاً آب‌دوست است و باید دور از مرکز آب گریز باشد. این نتایج که می‌تواند از منحنی آب گریزی پروتئین پرایون به دست آید با ساختمانی که برای نیمه‌ی دوم پروتئین پرایون گزارش (۳۸) شده (شکل ۶) کاملاً مطابق است.

عمل متقابل آب گریزی اهمیت زیادی در سیستم بیولوژیکی دارد. مسئله‌ی مهم در تخمین توپوگرافی پروتئین‌های غشائی (مثل گیرنده‌ها) مشخص کردن ناحیه‌هایی از این پروتئین است که در غشاء قرار دارند.

منابع

- Smith, DA, Waterbeemed Han Vande , Walker DK. Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design , Medicinal Chemistry. Vol.13. Toronto: Wiley - VCH, 20001: 1-13.
- Ben - Naim A. Statistical Thermodynamics for Chemists and Biochemists. NewYork; Plenum Press. 1992: 502-503.
- Finkelstein AV, Ptitsyn OB. Protein Physics. London; Academic Press, 2002.
- Carug O. Prediction of Polyptide Fragments Exposed to the Solvent. In Silico Biology 2003; 3:0035.
- Konieczny L, Brylinski M , and Roterman I, Gauss - Function - Based Model of Hydrophobicity Density in Proteins. In Silico Biology 2006; 6: 0002.
- Eriksson KO. Hydrophobic Interaction Chromatography. in: Janson JC, Rydes L. Protein Purification. Toronto; Wiley - VCH – Liss, 1998; 283-309.
- Kisliuk RL. Amino Acids, Peptides and Proteins. In: Foye WO. Principles of Medicinal Chemistry. 2 nd edition. Philadelphia; Lea and Febiger, 1981; 613-637.
- White SH. Hydropathy Plots and the Prediction of Membrane Protein Topology. In: White SH. Membrane Protein Structure. Oxford; Oxford University Press; 1994; 97-124.
- Ferre F, From Sequence to Structure. In: Cabibbo A, Grant RP, Helmer -Citterich M. Internet for Cell and Molecular Biologists. Nrfolk (UK); Horizon Scientific Press, 2002; 233- 309.
- Hebrant M, Tondre C. Liquid Membrane Transport of Amino Acids Mediated by Reverse Micelles. Analyt Sci 1998; 14: 109-115.
- 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.
- Beschiashvili G, Seeling J. Peptide Binding to Lipid Bilayer, Nonclassical Hydrophobic Effect and Membrane - Induced PK Shifts. Biochem 1992; 31: 10044-10053.
- Copeland RA. Enzyme. 2nd edition. Toronto; Wiley – VCH, 2000: 62-63.
- 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 Letters* 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 Holle KE , Ahren KG. Biochemistry. SanFrancisco; AddisonWeseley 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 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 Biochemsitrty. Toronto; Academic Press, 1986; 22: 120-157.
33. Shiu PD, Lien EJ. Correlation of Physicochemical Parameters to the Hydrophobic Contribution Cosntants 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; Kluver 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 Publisbers, 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 hyrophobicity scale for the amino acids is obtained. Using this scale and a sliding window averaging method hrdrophobicity 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 tran membrane and globular proteins.

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